

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 倉部 美起
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 715 号
学位授与の日付 平成 28 年 9 月 20 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 Intravenous administration of lidocaine directly acts on spinal dorsal horn and produces analgesic effect: An *in vivo* patch-clamp analysis
(静脈内投与したリドカインは脊髄後角ニューロンに作用して鎮痛効果を発揮する)

論文審査委員 主査 教授 日比野 浩
副査 教授 遠藤 直人
副査 教授 馬場 洋

博士論文の要旨

【背景】

リドカインは、局所投与により電位依存性 Na⁺チャネルを阻害し、末梢神経伝導を遮断することで鎮痛作用を発揮する。一方で、静脈内投与により、神経障害性痛や術後痛を軽減することが知られている。しかし、静脈内投与による詳細な鎮痛機序は明らかになっていない。リドカインが Na⁺チャネル阻害作用を持つことは明らかだが、静脈内投与した際の血中濃度は末梢神経や脊髄後角ニューロンで Na⁺チャネル阻害作用を発揮するリドカイン濃度と比べ著しく低い。また、リドカインが様々なイオンチャネルや蛋白質とも相互作用を持つことも示唆されている。

脊髄後角は痛覚伝達の中枢への入り口となる場所であり、申請者はリドカインが脊髄後角ニューロンにおけるシナプス伝達を修飾することによって鎮痛作用を發揮しているのではないかと仮説を立てた。そこで、実際に静脈内投与によって起こる脊髄シナプス応答を解析することができる、*in vivo* パッチクランプ記録法を用いて検討を行った。

【方法】

全ての実験には、6 - 10 週の Wistar 系雄性ラットを使用した。

1. 行動実験

行動実験には、Dynamic Plantar Aesthesiometer (Ugo Basile)を用いた。尾静脈より生理食塩水、またはリドカイン 1, 3, 10 mg/kg を投与し、応答閾値 (g) を計測した。

2. *in vivo* 脊髄標本からの電気生理学的記録

ラットをウレタンで麻酔後、尾静脈に静脈カテーテルを挿入した。椎弓切除を行い、脊椎固定装置に固定した。実体顕微鏡下に硬膜を切除し、くも膜と軟膜の一部を電極刺入用に剥離した。マイクロマニピレーターを用いて、電極を脊髄内に刺入し、脊髄背側表面から 50 μ m - 150 μ m の深さよりブラインドホールセルパッチクランプ記録を行った。

【結果】

初めに、実際にリドカインが正常ラットの機械的刺激に対する応答閾値を変化させるかどうかを調べるために行動実験を行った。静脈内投与したリドカインは機械的刺激に対する応答閾値を濃度依存性に上昇させた。

in vivo パッチクランプ法では下肢受容野に触刺激や痛み刺激を与えることにより、誘発性興奮性シナプス後電流が記録できる。リドカイン (10 mg/kg) 投与により、誘発性興奮性シナプス後電流は抑制され、行動実験の結果を支持するものであった。

次にリドカインの自発性興奮性シナプス後電流への影響を調べた。リドカイン (1, 3, 10 mg/kg) 投与により、濃度依存性に発生頻度のみが減少したが振幅に変化は認めなかった。リドカインのこの作用がシナプス前性のものが後性のものであるかを調べるためにテトロドトキシン (0.5 μ M) 存在下に微小興奮性シナプス後電流を観察した。その結果、電流の発生頻度のみが減少し振幅に変化は認められなかった。つまり、静脈内投与したリドカインは脊髄後角においてシナプス前性に作用してグルタミン酸の放出を減少させることが示された。また、リドカイン投与によって一部ニューロンにおいて外向き電流が観察された。つまり、膜電位を過分極側にシフトさせる作用を持つ可能性が示唆された。一方、リドカイン投与により抑制性シナプス後電流の発生頻度および振幅は変化しなかったことから、抑制性シナプス伝達には影響を与えないことが示された。

【考察】

静脈内投与したリドカインは、脊髄後角ニューロンにおいてシナプス前終末からのグルタミン酸の放出を抑制し、その結果として脳への痛覚伝達が抑制され、鎮痛作用を発揮している可能性が示唆された。過去の報告では、神経障害時の静脈内投与リドカインの作用機序として、神経損傷によって新たに発現し、リドカイン感受性が高くなった Na⁺チャネルへの阻害作用が最も考えやすいと考察されている。しかし、申請者は正常ラットにおいてもリドカインが、脊髄後角において神経終末からの興奮性伝達物質の放出を減少させること、急性痛に対しても鎮痛作用をもつことを in vivo パッチクランプ法を用いて初めて報告した。リドカイン静脈内投与時の血中濃度が数³0 μ M 程度であるのに対し、脊髄後角ニューロンにおけるリドカインの Na⁺チャネルに対する IC₅₀ は約 100 μ M であることから、Na⁺チャネルへの作用とは考えにくく、詳細な機序は不明であるが、それ以外への作用が考えられる。

近年、リドカインが Na⁺チャネル阻害作用以外の作用を持つことが報告されている。例えば高濃度リドカインは、Ca²⁺チャネルや N-methyl-D-aspartate 受容体などを抑制すると報告されている。また、リドカイン静脈投与によって、髄腔内のアセチルコリン濃度が上昇したり、グリシントランスポーターが阻害されることが報告されている。今回観察された興奮性シナプス伝達の抑制には、Na⁺チャネル阻害作用というよりも他の受容体や蛋白への作用が関与している可能性がある。今後、これらの関与について検討する必要がある。

【結語】

静脈内投与したリドカインは、脊髄後角ニューロンにおいて興奮性シナプス伝達を抑制した。このことがリドカイン静脈投与による鎮痛機序のひとつである可能性がある。

審査結果の要旨

リドカインは、局所投与により電位依存性 Na⁺チャネルを阻害し、末梢神経伝導を遮断することで鎮痛作用を発揮する。一方、静脈内投与により、神経障害性痛や術後痛を軽減することが知られているが、この詳細な鎮痛機序は明らかになっていない。リドカインを静脈内投与した際の血中濃度は末梢神経や脊髄

後角ニューロンでNa⁺チャンネル阻害作用を発揮する濃度と比べ著しく低い。また、リドカインが様々なイオンチャンネルに作用することも示唆されている。脊髄後角は痛覚伝達の中枢への入り口である。これらを踏まえ、リドカインが脊髄後角ニューロンにおけるシナプス伝達を修飾することによって鎮痛作用を発揮しているとの仮説を立てた。そして、*in vivo* パッチクランプ記録法を駆使して静脈内投与により起こる後角ニューロンのシナプス応答を観察し、薬物の鎮痛機序の理解を目指した。誘発性興奮性シナプス電流、自発性興奮性シナプス電流、抑制性シナプス後電流などの検討により、リドカインは、シナプス前終末からのグルタミン酸放出を抑制することが示唆された。

本研究は、臨床の現場で汎用されるリドカインの作用過程を電気生理学的手法により初めて詳細に示したものとして、極めて重要な成果である。また、より効果的な鎮痛薬の開発にもつながる可能性がある。以上の点に、学位論文としての価値があると判定した。