

氏名	鎌田 俊
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	岩医大院歯博第285号
学位授与の日付	平成24年3月9日
学位論文題目	塩酸メピバカインの血管平滑筋に対する作用および作用機序の検討

## 論文内容の要旨

### I 研究目的

塩酸メピバカインは KCl (脱分極性刺激)、ノルアドレナリン (NA: 受容体刺激) によるブタ舌動脈血管平滑筋の収縮張力および細胞内  $Ca^{2+}$  濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) の上昇を濃度依存性に抑制し、この結果、塩酸メピバカインは KCl, NA 刺激による血管収縮を抑制し、これには  $[Ca^{2+}]_i$  の抑制が関与していることが示唆された。今回、平滑筋の収縮機構において  $[Ca^{2+}]_i$  の増減に関する最も重要な因子である 2 つの経路 (細胞外  $Ca^{2+}$  の細胞内流入と細胞内  $Ca^{2+}$  ストアからの細胞内放出) のどの部位に塩酸メピバカインが作用するかを明らかにするため、ブタ舌動脈血管平滑筋を用いて塩酸メピバカインが各種刺激薬による収縮張力および  $[Ca^{2+}]_i$  変化に及ぼす影響を同時測定した。

### II 研究方法

屠殺ブタ (月齢 6 ヶ月) の舌動脈を用いて、血管内皮細胞を剥離し輪状標本を作製し、蛍光 Ca 指示薬を負荷した。

1. 細胞内  $Ca^{2+}$  プールを枯渇した状態にて 5 mM NA と塩酸メピバカインを同時間灌流し、その際に発する等尺性収縮張力および  $[Ca^{2+}]_i$  を測定した。
2. 細胞外液に  $Ca^{2+}$  が存在しない状態にて 5 mM NA, 5 mM Histamine, 25 mM Caffeine と塩酸メピバカインを同時間灌流し、その際に発生する等尺性収縮張力および  $[Ca^{2+}]_i$  を測定した。

### III 研究成績

1. 細胞内  $Ca^{2+}$  プールを枯渇した状態では、塩酸メピバカインは、NA 刺激による収縮張力および  $[Ca^{2+}]_i$  の上昇を、濃度依存性に抑制した。
2. 細胞外液に  $Ca^{2+}$  が存在しない状態では、塩酸メピバカインは、NA 刺激, Histamine 刺激による収縮張力および  $[Ca^{2+}]_i$  の上昇を濃度依存性に抑制した。
3. 細胞外液に  $Ca^{2+}$  が存在しない状態では、塩酸メピバカインは、Caffeine 刺激による収縮張力および  $[Ca^{2+}]_i$  の変化に影響はみられなかった。

### IV 考察及び結論

塩酸メピバカインは、細胞外  $Ca^{2+}$  の細胞内への流入機構である電位依存性  $Ca^{2+}$  チャネル (VDCC) と受容体活性化  $Ca^{2+}$  チャネル (RACC) および細胞内  $Ca^{2+}$  ストアから細胞内への  $Ca^{2+}$  放出機構である  $IP_3$  誘導性  $Ca^{2+}$  放出系 (IICR) の上昇機構を抑制する。また、細胞内  $Ca^{2+}$  ストアからのもう一つの  $Ca^{2+}$  放出機構である  $Ca^{2+}$  誘導性  $Ca^{2+}$  放出系 (CICR) を抑制しないことが明らかとなった。

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査 教授 城 茂 治 (口腔外科学講座 歯科麻酔学分野)

副査 教授 佐 原 資 謹 (生理学講座 病態生理学分野)

副査 教授 加 藤 裕 久 (薬理学講座 病態制御学分野)

多くの局所麻酔薬は血管拡張作用を有するため、歯科では血管収縮薬を添加した局所麻酔薬が日常使われている。しかし、血管収縮薬は循環器疾患、代謝性疾患に重篤な影響を与えるため、これらの合併症を有する歯科治療患者には、血管収縮薬無添加である3%塩酸メピバカイン製剤が局所麻酔薬として頻用されている。塩酸メピバカインはKClの脱分極性刺激、ノルアドレナリン (NA) の受容体刺激によるブタ舌動脈血管平滑筋の収縮張力を濃度依存性に抑制し、これには細胞内  $Ca^{2+}$  濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) の抑制が関与していることをすでに報告した。今回、塩酸メピバカインの血管平滑筋に対する作用機序を解明するために、ブタ舌動脈の血管内皮細胞を剥離した輪状標本を用いて、 $[Ca^{2+}]_i$  の動態に関わる2つの経路 (細胞外  $Ca^{2+}$  の細胞内への流入と細胞内  $Ca^{2+}$  ストアからの細胞内放出) のどの部位に作用するのかを明らかにする実験を行った。その結果、1) 細胞内  $Ca^{2+}$  プールを枯渇した状態にて、塩酸メピバカインは、NA 刺激による等尺性収縮張力および  $[Ca^{2+}]_i$  の上昇を、濃度依存性に抑制した。2) 細胞外液に  $Ca^{2+}$  が存在しない状態にて、塩酸メピバカインは、NA 刺激、Histamine 刺激による等尺性収縮張力および  $[Ca^{2+}]_i$  の上昇を濃度依存性に抑制した。3) 細胞外液に  $Ca^{2+}$  が存在しない状態にて、塩酸メピバカインは、Caffeine 刺激による等尺性収縮張力および  $[Ca^{2+}]_i$  の上昇を、抑制しなかった。

以上より、塩酸メピバカインは、細胞外  $Ca^{2+}$  からの流入経路である電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネル (VDCC) と受容体活性化  $Ca^{2+}$  チャンネル (RACC) および細胞内  $Ca^{2+}$  ストアからの  $Ca^{2+}$  放出機構である  $IP_3$  誘導性  $Ca^{2+}$  放出系 (IICR) を抑制する。一方、もう一つの細胞内  $Ca^{2+}$  放出機構である  $Ca^{2+}$  誘導性  $Ca^{2+}$  放出系 (CICR) を抑制しないことが明らかとなった。

### 試験・試問の結果の要旨

本研究の目的、方法、結果など概要について本人から説明をうけ、 $[Ca^{2+}]_i$  の調節機序、平滑筋の収縮機序に関する基本的事項について質問を行った。また、本研究において問題となる点、今後の研究の展開に関しても試問を行ったところ、適切かつ十分な解答が得られたことから、学位に値する十分な学識と研究能力を有するものと認めた。