

マウスの記憶に及ぼすリドカインの影響 (補遺) — マウス脳内アセチルコリン含量に及ぼすリドカインの影響 —

小田島 潤一

岩手医科大学歯学部歯科薬理学講座

(主任：伊藤 忠信 教授)

(受付：1995年6月7日)

(受理：1995年7月7日)

Abstract : The present study examined the effects of lidocaine, a local anesthetic, on the central cholinergic system in mouse brain. The mice were killed 5, 10, 20 and 60 min after the intraperitoneal injection of a non-convulsive dose (40 mg/kg) or a convulsive dose (80 mg/kg) of lidocaine. The acetylcholine (ACh) contents in the striatum, hippocampus, cerebral cortex and hypothalamus were measured by HPLC-ECD. The ACh contents in the striatum and hippocampus increased 60 min after the injection of the non-convulsive dose of lidocaine. Those in the cerebral cortex increased 20 and 60 min after the injection of the non-convulsive dose of lidocaine. On the other hand, the changes in ACh contents in the striatum, cerebral cortex and hypothalamus after the injection of the convulsive dose of lidocaine showed a time-dependent diphasic pattern : the ACh contents in these brain regions decreased 5 min after the injection of the convulsive dose of lidocaine, and increased 20-60 min after the injection. These findings suggest that lidocaine has an influence on the central cholinergic system.

Key words : lidocaine, acetylcholine, mouse brain

緒 言

リドカインは、その化学的安定性や浸透性などの優れた特性を有することから、さまざまな局所麻酔や神経ブロックのほか、全身麻酔の補助薬、心室性不整脈の第一選択薬として広く用いられている^{1,2)}。このように、リドカインは臨床的にもきわめて有用性の高い薬物であるが、一方では中枢神経系や呼吸器系などに対する広範囲な副作用も有している。とくに、リドカイン中毒では初発症状として中枢神経症状が最も多い³⁻⁷⁾。

リドカインは投与後、血中濃度が中毒量近くまで高まると、血液脳関門を容易に通過し、

種々の中枢神経系の刺激症状を発現する¹⁾。したがって歯科臨床においても、その投与方法、投与量、投与部位を誤ったり、全身状態を考慮せずに使用した場合には、けいれん、興奮、意識消失など重篤な結果を招く可能性のあることが指摘されている^{1,7)}。

けいれんを誘発する中枢興奮薬は、さまざまな記憶プロセスに影響を与えることが知られている⁸⁻¹⁰⁾。著者¹¹⁾も、中枢興奮薬と同様にけいれん誘発作用を持つリドカインが、マウスの記憶プロセスに影響を及ぼすことを報告した。一般に、記憶プロセスには、中枢 GABA 神経系よりも中枢コリン作動性神経系がより密接に関与していると考えられている^{12,13)}。このことは、現

Modification of memory induced by lidocaine injection after learning in mice (Supplement)

— The effect of lidocaine on the contents of brain acetylcholine in mice —

Jun-ichi ODASHIMA

(Department of Pharmacology, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka, 020 Japan)

在, 使用されている多くの脳機能改善薬の主な機序が, 中枢コリン作動性神経系の賦活作用にあることから理解できる^{14,15)}。したがって, 記憶プロセスに影響を与えるリドカインは, 中枢コリン作動性神経系に対しても影響を及ぼす可能性が考えられる。

本研究では, リドカインの記憶プロセスに及ぼす作用をさらに明らかにする目的で, 脳内アセチルコリン (ACh) 含量に及ぼすリドカインの影響について, マウスを用いて検討した。

実験方法と材料

1) 動物

実験には, 5週齢 (体重 26 g から 28 g) の ddY 系雄性マウス (日本 SLC, 浜松) 90 匹を用いた。マウスは実験期間中, 室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 12 時間照明 (午前 7 時から午後 7 時まで点灯) の環境下に置き, 餌と水は自由に摂取させた。

2) 局所麻酔薬

実験には塩酸リドカイン (2%キシロカイン注射液, 藤沢) を用いた。

3) 投与量

90 匹のマウスをリドカイン 40 mg/kg 投与群 (45 匹) と 80 mg/kg 投与群 (45 匹) の 2 群に分け, 各群をさらに 9 匹ずつの 5 群に分けた。5 群のうち 1 群には対照群 (0 分値) として生理的食塩水 (大塚生食注, 大塚) を腹腔内に投与し, ただちに屠殺した。残りの 4 群には生理的食塩水で希釈したリドカインを腹腔内に投与し, 投与 5 分, 10 分, 20 分, 60 分後に屠殺した。マウスに対する注射量は体重 10 g あたり 0.05 ml の割合とした。なお, 屠殺には死後変化による ACh の分解を防ぐためにマイクロ波照射装置 (TMW-6402 A, 4kW, 0.8sec, TOSHIBA) を用いた。

4) 試料の調整

Glowinski and Iversen 法¹⁶⁾により摘出したマウスの線条体, 海馬, 大脳皮質, 視床下部を 0.1M 過塩素酸溶液中で超音波破碎器 (Model 200, Branson, Danbury, CT) を使用してホモジナイズし, 遠心分離 (12,000 g \times 10 min,

4°C) 後, 0.45 μm フィルター (Type HV, 日本ミリポア) で濾過した上清を測定試料とした。

5) ACh の測定

Murai らの方法¹⁷⁾に準じて, 電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィー (HPLC-ECD) を用いて測定した。

6) 統計処理

測定結果は, 平均値 \pm 標準誤差で表した。結果の統計学的有意性は, Dunnett の多重比較法を用いて判定した。

結 果

1. マウス脳内 ACh 含量に及ぼすリドカイン非けいれん量 (40 mg/kg) の影響

リドカイン 40 mg/kg を投与したマウスは, 5 分後には運動抑制を示したが, 投与の 20 分後から 60 分後には運動抑制は消失し, 歩き回るようになっていた。

リドカイン投与によりマウスの線条体および海馬の ACh 含量はリドカイン投与 60 分後には, 対照群に対して有意に増加した。大脳皮質の ACh 含量はリドカイン投与 20 分後から 60 分後まで持続的に有意に増加した (Table 1)。

2. マウス脳内 ACh 含量に及ぼすリドカインけいれん量 (80 mg/kg) の影響

リドカイン 80 mg/kg の投与群では, 投与 5 分後において, すべてのマウスに間代性けいれんが発現し, そのうち数匹のマウスには強直性けいれんへの移行が観察された。しかし, リドカイン投与 20 分後から 60 分後のマウスにはけいれんは認められず, 歩行するまでに回復していた。

リドカイン 80 mg/kg 投与により, 測定したすべてのマウス脳部位の ACh 含量は対照群に対して有意に影響した (Table 2)。とくにマウスの線条体, 大脳皮質, 視床下部の ACh 含量は, リドカインを投与した 5 分後では対照群に対して有意に減少し, リドカイン投与 20 分後から 60 分後では有意に増加するという時間依存的な二相性の変化を示した。海馬の ACh 含量は, リドカインを投与した 20 分後までは対照群に対して有意な変化は示さず, リドカイン

Table 1. Effect of a non-convulsive dose (40mg/kg) of lidocaine on the contents of acetylcholine (nmol/g) in the brains of mice.

Region	Time after injection				
	0 min (9)	5 min (9)	10 min (9)	20 min (9)	60 min (9)
Striatum	77.7±3.0	80.1±0.7	83.0±1.0	83.2±2.0	85.7±1.9*
Hippocampus	25.4±0.5	24.7±0.4	25.1±0.4	26.6±0.5	27.3±0.3*
Cerebral cortex	16.2±0.7	15.7±0.6	17.1±0.6	19.1±0.6**	18.8±0.5*
Hypothalamus	27.5±1.5	27.5±1.7	26.2±0.9	27.3±1.3	28.1±0.6

*P<0.05 and **P<0.01 vs. control group (0min) by Dunnett multiple comparisons test.

Values represent the mean ± SEM. The numbers in parentheses represent those of animals.

Table 2. Effect of a convulsive dose (80mg/kg) of lidocaine on the contents of acetylcholine (nmol/g) in the brains of mice.

Region	Time after injection				
	0 min (9)	5 min (9)	10 min (9)	20 min (9)	60 min (9)
Striatum	74.2±2.2	65.4±1.9**	80.4±2.3	82.8±1.4*	91.8±1.8**
Hippocampus	27.4±0.5	26.8±0.6	26.8±0.9	28.9±0.7	31.8±1.2**
Cerebral cortex	18.1±0.6	14.7±0.5*	21.1±0.8	21.2±1.4*	21.8±0.6*
Hypothalamus	30.9±1.0	23.8±1.1**	31.0±1.1	33.0±1.2	34.9±1.1*

*P<0.05 and **P<0.01 vs. control group (0min) by Dunnett multiple comparisons test.

Values represent the mean ± SEM. The numbers in parentheses represent those of animals.

投与 60 分後において有意に増加した。

考 察

本実験において、マウスに対するリドカインの投与量は、非けいれん量の 40 mg/kg とけいれん量の 80 mg/kg を用いた。一般に、実験動物で用いる用量をヒトでの相当量に換算するには、体重あたりではなく、体表面積あたりの用量で計算するのが妥当であると考えられている¹⁸⁾。マウスの体重を 30 g、身長を 7 cm とし、ヒトの体重を 60 kg、胸囲を 90 cm とした場合、小池の式¹⁹⁾と越智の式¹⁹⁾から体表面積比を計算すると、マウス対ヒトでは 1 : 168 となる。したがって、体重 30 g のマウスに 40 mg/kg のリドカインを投与することは、ヒトに絶対量として約 200 mg のリドカインを投与することに相当する。この量は、歯科临床上ヒトに投与できる最大用量 (総量 300 mg²⁰⁾) より少ない用量であ

る。また、マウスに対するリドカイン 80 mg/kg の投与量はけいれんをおこす量として十分な用量であり、ヒトに絶対量として約 400 mg のリドカインを投与することに相当する。

本実験において、マウスにおけるリドカインの非けいれん量の投与では、マウスの線条体、海馬、大脳皮質で、対照群に対して ACh 含量で有意な増加を認めた。一方、けいれん量の投与では、マウスの線条体、大脳皮質、視床下部ではリドカイン投与直後に ACh 含量が減少し、その後増加する二相性の変化を示した。

最近、松下²¹⁾は、GABA インバースアゴニストによる抗健忘作用および脳機能賦活作用を報告している。その作用機序は、Cl⁻ イオンチャンネルの開閉頻度を減少させ、結果的に抑制性神経系である中枢 GABA 神経系の活動を抑え、細胞の興奮性を高めるものであると考えている。柄内²²⁾は、リドカインもまた GABA レセプターに作用し、GABA 応答の阻害効果により

Clイオンチャネルの開閉頻度を抑制すると報告している。この知見は、リドカインがGABAインバースアゴニストと同様の作用をもつことを示唆している。一般に脳内ACh含量の増加が記憶を促進させる多くの報告がある^{23,24}。また、GABAインバースアゴニストの抗健忘作用および脳機能賦活作用は、GABA神経系に対する直接作用によるものではなく、二次的に発現するACh代謝回転の増大によると考えられている²¹。本実験において認めた非けいれん量のリドカインによるマウス脳内ACh含量の増加は、GABAインバースアゴニストにおける傾向と一致する。したがって、著者¹¹が示した非けいれん量のリドカインによる記憶の固定促進は、GABAインバースアゴニストと同様に、GABA神経系の抑制による中枢興奮に伴う二次的なACh含量の増加によると解釈される。

また、著者¹¹は、リドカインによるマウスのけいれん発現は記憶の固定障害を引き起こすことを報告した。本実験においては、マウスに対してリドカインのけいれん量投与での脳内ACh含量を測定し、記憶障害との関連について考察した。リドカインのけいれん量投与5分後では、マウスの線条体、大脳皮質、視床下部のACh含量は対照群に対して有意に減少した。従来から中枢ACh含量の減少が記憶の障害を発現させることは広く知られている^{23,24}。したがって、著者¹¹が報告したリドカインによる記憶の固定障害は、けいれん発現により中枢コリン作動性神経系の活性が抑制される結果、獲得した情報の固定化に障害が起きたためと考えられる。また、リドカインをマウスの腹腔内に投与して20分後から60分後では、リドカインによるけいれんは完全に消失しており、その時測定したすべてのマウス脳部位のACh含量は増加していた。脳内ACh含量の増加は、本来なら記憶の固定促進に働くと考えられる。しかし、記憶はけいれんに伴うコリン作動性神経の活性低下により、リドカイン投与直後に失われたため、コリン作動性神経系の活性増強が引き起こされても、記憶の促進は起こらないと考

えられる。本実験の結果は、著者¹¹の行動薬理学的研究の結果を裏付けるものであり、記憶プロセスに及ぼすリドカインの作用機序には、GABA神経系を介して中枢コリン作動性神経が関与していることを示唆するものであった。

本実験において、リドカインのけいれん量投与ではACh含量に対して二相性の効果を示した。中枢神経系に対して、リドカインが二相性の影響を及ぼすことは、電気生理学的研究^{25,26}や脳内グルコース代謝²⁷および脳酸素消費量⁶の研究などにおいても報告されている。また、リドカインは少量では強い抗けいれん作用を示すが、大量では逆にけいれんを誘発することも知られている^{7,8,27}。著者¹¹の行動薬理学的研究においても、リドカインは記憶の固定促進作用と障害作用の二相性の効果を示していることから、リドカインは中枢神経系に対してさまざまな形式で二相性の作用を示すものと考えられる。

歯科・口腔外科領域における難抜歯や骨整形術、あるいは種々の腫瘍切除および再建術に際しては、多量のリドカインを使用することがある。このようなときには本実験の結果から、高濃度のリドカインが脳内に移行し、中枢コリン作動性神経系に対しても影響を及ぼす可能性が示唆される。

結 論

著者¹¹の行動薬理学的研究において、リドカインが非けいれん量では記憶の固定促進作用を、けいれん量では記憶の固定障害作用を示したことから、本研究においては、マウスの中枢コリン作動性神経系に及ぼす局所麻酔薬リドカインの影響について検討した。

1. マウスにリドカインの非けいれん量を投与した場合、投与した60分後の線条体および海馬と、20分後および60分後の大脳皮質にそれぞれACh含量の有意な増加を認めた。
2. マウスにリドカインのけいれん量を投与した場合、線条体、大脳皮質、視床下部のACh含量は時間依存的な二相性の変化、すなわち投与直後にACh含量が減少し、その後増加する変

化を認めた。

以上の神経化学的分析の結果は、著者¹¹⁾の行動薬理学的研究で得られた結果と相関性を示し、リドカインの記憶プロセスに及ぼす作用機序のなかに、中枢コリン作動性神経系が関与していることを示唆する。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご懇篤なるご指導、ご校閲を賜りました本学歯学部歯科薬理学講座伊藤忠信教授に感謝いたします。さらに、ご校閲を頂きました本学歯科麻酔学講座 城 茂治教授および口腔外科学第一講座 工藤啓吾教授に厚く御礼申しあげます。

文 献

- 1) 森川定雄：局所麻酔薬反応—基礎と臨床—，改訂増補，診療新社，東京，23-95 ページ，1991。
- 2) 鈴木隆雄，吉山 毅，辻本登志英，川口吉明，寒川孝佳，木下達之：リドカインの薬原性神経症状について，麻酔，41：830-836，1992。
- 3) 池田正弘：局所麻酔薬痙攣の発現機序に関する研究—とくにγ-アミノ酪酸 (GABA) との関係について—，広歯誌，8：120-132，1976。
- 4) 高木雅矩：局所麻酔剤痙攣，麻酔と蘇生，9：207-211，1973。
- 5) 辻本 明，池田正弘：局所麻酔薬痙攣の発現機序，麻酔，28：1-10，1979。
- 6) 藤村光廣：局所麻酔剤中毒の実験的研究，日歯麻誌，4：12-35，1976。
- 7) 坂部武史：局所麻酔剤の中核作用，麻酔，12：1161-1169，1974。
- 8) Castellano, C., Intorini-Collision, I. B., Pavone, F. and McGaugh, J. L. : Effects of naloxone and memory consolidation in CD 1 mice : involvement of GABAergic mechanisms. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 32 : 563-567, 1989.
- 9) McGaugh, J. L. : Drug facilitation of learning and memory. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 13 : 229-241, 1973.
- 10) Nabeshima, T., Noda, Y., Tohyama, K., Itoh, J. and Kameyama, T. : Effects of DM-9384 in a model of amnesia based on animals with GABAergic neuronal dysfunctions. *Europ. J. Pharmacol.* 178 : 143-149, 1990.
- 11) 小田島潤一：マウスの記憶に及ぼすリドカインの影響—多重迷路実験法による検討—，歯基礎誌，36：486-497，1994。
- 12) Perry, E. K., Tomlinson, B. E., Blessed, G., Bergmann, K., Gibson, P. H. and Perry, R. H. : Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in dementia. *Br. Med. J.* 2 : 1457-1459, 1978.
- 13) Plotkin, D. A. and Jarvik, L. F. : Cholinergic dysfunction in Alzheimer's disease : cause or effect? . *Prog. Brain Res.* 65 : 91-103, 1986.
- 14) Freeman, A. E. and Dawson, P. M. : Tacrine : a pharmacological review. *Prog. Neurobiology* 36 : 257-277, 1991.
- 15) Sarter, M., Hagan, J. and Dudchenko, P. : Behavioral screening for cognition enhancers : from indiscriminate to valid testing, Part 1. *Psychopharmacology* 107 : 144-159, 1992.
- 16) Glowinski, J. and Iversen, L. L. : Regional studies of catecholamines in the rat brain. *J. Neurochem.* 13 : 655-669, 1966.
- 17) Murai, S., Miyate, H., Saito, H., Nagahama, H., Masuda, Y. and Itoh, T. : Simple determination of acetylcholine and choline within 4 min by HPLC-ECD and immobilized enzyme column in mice brain areas. *J. Pharmacol. Methods* 21 : 255-262, 1989.
- 18) グッドマン・ギルマン薬理書 上巻，第8版，廣川書店，東京，63 ページ，1992。
- 19) 日本大百科全集 14巻，小学館，東京，514 ページ，1987。
- 20) 田中 潔：現代の薬理学 第15版，金原出版，東京，170 ページ，1988。
- 21) 松下 亨：ベンゾジアゼピンインバースアゴニスト—その抗痙攣薬としての可能性—，神経精神薬理，16：775-782，1994。
- 22) 柄内明啓：GABA_A-receptor の機能に対する lidocaine の阻害効果ならびに阻害様式と diazepam の干渉作用，岩医大歯誌，19：169-178，1994。
- 23) Murai, S., Saito, H., Abe, E., Masuda, Y., Odashima, J. and Itoh, T. : MKC-231, a choline uptake enhancer, ameliorates working memory deficits and decreased hippocampal acetylcholine induced by ethylcholine aziridinium ion in mice. *J. Neural. Transm.* 98 : 1-13, 1994.
- 24) Abe, E., Murai, S., Masuda, Y., Saito, H. and Itoh, T. : α -Sialylcholesterol reverses AF64A-induced deficit in passive avoidance response and depletion of hippocampal acetylcholine in mice. *Br. J. Pharmacol.* 108 : 387-392, 1993.
- 25) de Jong, R. H. : Local anesthetic seizures (Editorial Views). *Anesthesiology* 30 : 5-6, 1969.
- 26) Wagman, I. H., de Jong, R. H. and Prince, D. A. : Effects of lidocaine on spontaneous cortical and subcortical electrical activity : production of seizure discharges. *Arch. Neurol.* 18 : 277-290, 1968.
- 27) Wagman, I. H., de Jong, R. H. and Prince, D. A. : Effects of lidocaine on the central nervous system. *Anesthesiology* 28 : 155-172, 1967.