

一 般 講 演

1. ラット耳下腺遊離細胞を用いた局所麻酔薬の細胞毒性試験の試み

内田雅巳, 東城庸介, 松本仁人
(歯科薬理)

局所麻酔薬はラット耳下腺遊離細胞からのアミラーゼ溶出を引き起こす。細胞のトリパンブルー染色性や乳酸脱水素酵素 (LDH) の溶出が増大することから, この作用は薬物の細胞膜毒性によると思われる。

今回, 耳下腺細胞を用いた毒性試験確立のための基礎的知見を得るため, ラットの耳下腺細胞からのアミラーゼ溶出に対する各種局所麻酔薬の効果を *in vitro* で調べ, 従来から知られている毒性や麻酔効力と比較した。局所麻酔薬としては, コカイン, プロカイン, リドカイン, テトラカイン及びジブカインを用いた。

1. ジブカインは 1 mM 以上で, テトラカインは 2.5mM 以上で, 顕著なアミラーゼ溶出増加を引き起こした。
2. コカイン, リドカインは 10~20mM, プロカインは 20~40mM で溶出をひき起こしたが, その程度は低かった。
3. 各局所麻酔薬のアミラーゼ溶出能は, ジブカイン > テトラカイン > コカイン \geq リドカイン > プロカインの順であった。これは, LD₅₀ 値に基づく毒性試験の結果

とよく一致する。

4. pH の上昇に伴ない, アミラーゼ溶出増加の傾向がみられたことから, 局所麻酔薬の非イオン型が細胞毒性を起こすものと思われる。

今回の実験は, 局所麻酔薬の毒性を知る為の新しい試験法の試みであり, まだ予備実験の段階である。この方法では各種局所麻酔薬のおおまかな毒性を知る事は可能だが, 正確に定量化する事は困難だと思われる。今後, 更なる実験と検討が必要であろうと考える。

質 問 田隈 泰信 (口腔生化)

1. 毒性のメカニズムをどうお考えか。
2. Ca-free 液で毒性チェックをしましたか。

テトラカインは Ca transport を変化させるので, 局所麻酔薬の究極の毒性は Ca の流入によるのではないか。

回 答 内田 雅巳 (薬理)

1. 現在のところ, 細胞膜に対する直接的な障害と考えます。
2. Ca-free 系では検索しておりません。

2. 耳下腺細胞からのアミラーゼ遊離に及ぼすカルシウムと EGTA の効果

相良りか子, 松井聡子, 東城庸介
松本仁人 (歯科薬理)

ラット耳下腺からのアミラーゼ分泌は主に交感神経の β -受容体刺激により促進され, その際の細胞内セカンドメッセンジャーは, サイクリック AMP (cAMP) であると考えられている。しかし, Ca²⁺の重要性を指適する研究者も多く, 必ずしも充分には解明されていない。そこで, 我々はアミラーゼ分泌過程における Ca²⁺の意義を検索するため外液 Ca²⁺と Ca キレート剤のアミラーゼ分泌に対する影響をラット耳下腺細胞を用いて *in vitro* で調べた。

結果: 耳下腺細胞を Ca 無添加ハンクス液にサスペンションし, Ca キレート剤 EGTA (2 mM) あるいは CaCl₂ (50 μ M - 1 mM) で 30 分間処置した。続いて 1 μ M

イソプロテレノール (Iso) で分泌刺激したところ, EGTA 前処置したものは前処置なしに比べアミラーゼ分泌量は有意に減少した。逆に CaCl₂ で前処置したものは分泌が著しく促進された。アミラーゼ分泌の増強効果は, わずか 50 μ M CaCl₂ で前処置することにより誘起され, 0.25 mM でほぼ最大の分泌量に達した。刺激薬として 1 mM ジブチリル cAMP (DBcAMP) を用いた場合も, EGTA 前処置でアミラーゼ分泌は減少し CaCl₂ 前処置で有意に促進された。次に, 細胞膜を容易に透過し細胞内の Ca²⁺ をキレートすると考えられている BAPTA-AM (100 μ M) の効果を調べた。30 分間 BAPTA-AM で前処置したところ, Iso あるいは DBcAMP 刺激によるアミラー