

〔原 著〕

カルシウム拮抗薬のもつ局所麻酔様作用

國分 正廣, 小田 和明*, 河合 拓郎, 大桶 華子,
加藤 元康, 工藤 勝, 新家 昇

北海道医療大学歯学部歯科麻酔学講座
*北海道医療大学薬学部薬化学講座

(主任: 新家 昇教授)
*(主任: 町田 實教授)

Local Anesthetic Effects of Calcium Antagonists (Diltiazem, Verapamil, and Nicardipine) on Extracted Rabbit Vagus Nerve

Masahiro KOKUBU, Kazuaki ODA*, Takurou KAWAI, Hanako OHKE,
Motoyasu KATO, Masaru KUDO and Noboru SHINYA

Department of Dental Anesthesiology, Faculty of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido

*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido

(Chief: Prof. Noboru SHINYA)
(Chief: Prof. Minoru MACHIDA)

Abstract

The local anesthetic effects of calcium antagonists (diltiazem, verapamil, and nicardipine) on extracted rabbit vagus nerve (Fig. 1) and their binding ability to the phospholipid membrane model were examined by $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy. Effective concentrations of these drugs for vagus nerve blockage were examined with 12 ~ 14V electrical stimuli. The minimum effective concentration of calcium antagonist which completely blocked the compound action potential was 0.5mM for diltiazem, and 0.2mM for verapamil. Nicardipine did not show any conduction blocking effect at 1.0mM. Local anesthetic effects of diltiazem and verapamil were characterized by a slower onset (over 20 min) and longer duration (over 30 min) compared with lidocaine (Table 1). The local anesthetic effects of diltiazem and verapamil may be due to the SA and AV nodal blocking effect and reductions in the ventricular rate by these drugs. However, in the SA and AV nodes, depolarization is largely dependent on the movement of Ca^{2+} through the slow channel. The results of $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy indicated that poor electros-

tatic binding with the phospholipid membrane occurred only with diltiazem (Fig. 2). Local anesthetic effects of calcium antagonists may not be based on electrostatic binding with the nerve membrane as in the case of local anesthetics.

Key words : Calcium Antagonist, Local Anesthetic Action, NMR-Spectroscopy, Nerve Blockage.

緒 言

降圧剤として広く用いられているCa拮抗薬について、金井ら¹⁾はザリガニ巨大軸索の活動電位の抑制から、diltiazemとverapamilにリドカインよりも強い局所麻酔作用を認めたと報告した。これ以前にも、Ca拮抗薬がヒト心房筋細胞での内向きNa電流を抑制するとの報告もあるが²⁾、動物の種によって異なるともされている³⁾。一般に、Ca拮抗薬はCa²⁺に依存した脱分極を抑制して、陰性変力作用を現すとされている⁴⁾。特に、verapamil誘導体であるD-600はCa²⁺の流入を阻害して、心筋活動電位のプラトー相を変化させる事が知られている⁵⁾。したがって、diltiazemやverapamilには強い房室伝導抑制作用、心筋収縮抑制作用が認められているのに対して⁴⁾、nicardipineやnifedipineの房室伝導抑制作用、心筋収縮抑制作用は弱いとされている。そこで本研究では0.2~1.0mMのdiltiazem, verapamilおよびnicardipineについて同モルのリドカインと局所麻酔様作用を比較した。

方 法

0.2~1.0mMのdiltiazem, verapamilおよびnicardipine (Sigma) について同モルのリドカインと局所麻酔様作用を比較した。

日本白色ウサギを空気栓塞によって死亡させた後、速やかに40mm程の頸部迷走神経を摘出し、酸素を通気したmodified Liley溶液中⁶⁾ (NaCl, 136.8mM; KCl, 5.0mM; CaCl₂, 2.0

mM; MgCl₂, 1.0mM; dextrose, 11.0mM; Hepes buffer, 2.53mM; 0.1N NaOHにてpH7.4に調整)に保存した。局所麻酔効果の判定は既報の如く^{7,8)}、ウサギの摘出迷走神経 (sheath intact) に12~14Vの電気刺激 (矩形波, 持続時間10msec/毎秒) を32回与え、得られた複合活動電位 (以下APと略す) を加算平均し、その抑制の程度から、局所麻酔様効果 (作用発現時間onset time, 効果持続時間duration time) をリドカインのそれと比較した。なお、すべての薬剤は酸素を通気したmodified Liley溶液に溶かして用いた (pH3.8~4.6)。なお、すべての実験は室温下 (20~25°C) に行った。

さらに、神経モデル膜との相互作用を知るために、diltiazem, verapamilおよびnicardipineをリン脂質膜と混在させた時の¹H-NMR spectroscopyをリドカインのそれと比較した。¹H-NMRの解析は膜のコリンメチルのピークの半値幅の拡大の程度 (broadening), すなわち電子の自由度の測定から行った⁹⁾。

結 果

Fig. 1はCa拮抗薬によるAP抑制の1例を示す。活動電位が完全に消失した時点を効果発現までの時間 (onset time) とし、薬剤を除去し、数回洗浄後、一旦消失した活動電位が対照値の40%までに回復した時点までを効果持続時間 (duration time) とした。また、この活動電位の再現性も併せて示した。この結果、リドカインでは0.5mMから局所麻酔様効果を発現したのに対して、diltiazemでは0.5mM, verapamil

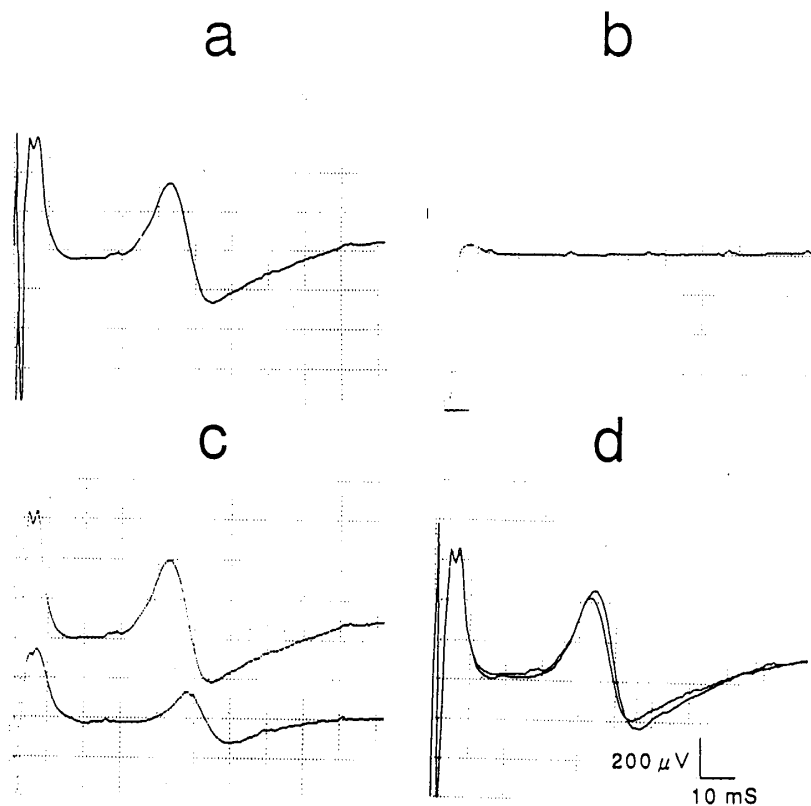


Fig. 1 Compound action potentials (AP) of rabbit vagus nerve.
 a : the control amplitude ($340\mu\text{V}$). b : the AP completely disappeared 20 min after the addition of 0.5mM diltiazem. c : the AP amplitude recovered to $240\mu\text{V}$ (70.5% of the control AP) after an adequate rinse with modified Liley solution consisting of 136.8mM NaCl, 5.0mM KCl, 2.0mM CaCl_2 , 1.0mM MgCl_2 , 11.0mM dextrose, and 2.53mM Hepes buffer, pH 7.4. d : the reproductibility of the AP after 18 min.

Table. 1 Local anesthetic effects of calcium antagonists compared with lidocaine

		onset time	duration time
lidocaine	0.2mM	none	none
	0.5mM	$12.0 \pm 1.5\text{min}$	$2.0 \pm 1.4\text{min}$
	1.0mM	$6.3 \pm 1.8\text{min}$	$7.6 \pm 2.3\text{min}$
diltiazem	0.2mM	none	none
	0.5mM	$20.2 \pm 11.8\text{min}$	$17.5 \pm 11.1\text{min}$
	1.0mM	$23.8 \pm 11.3\text{min}$	$20.0 \pm 12.2\text{min}$
verapamil	0.2mM	$40.0 \pm 14.6\text{min}$	$33.3 \pm 8.5\text{min}$
	0.5mM	$20.0 \pm 3.5\text{min}$	$31.3 \pm 17.5\text{min}$
	1.0mM	$7.5 \pm 2.5\text{min}$	$50.0 \pm 20.5\text{min}$
nicardipine	0.2mM	none	none
	0.5mM	none	none
	1.0mM	none	none

Minimum effective concentrations of calcium antagonist which completely blocked the compound action potential was 0.5mM for diltiazem, and 0.2mM for verapamil. Nicardipine did not show any neuro conduction blocking effect at 1.0mM .

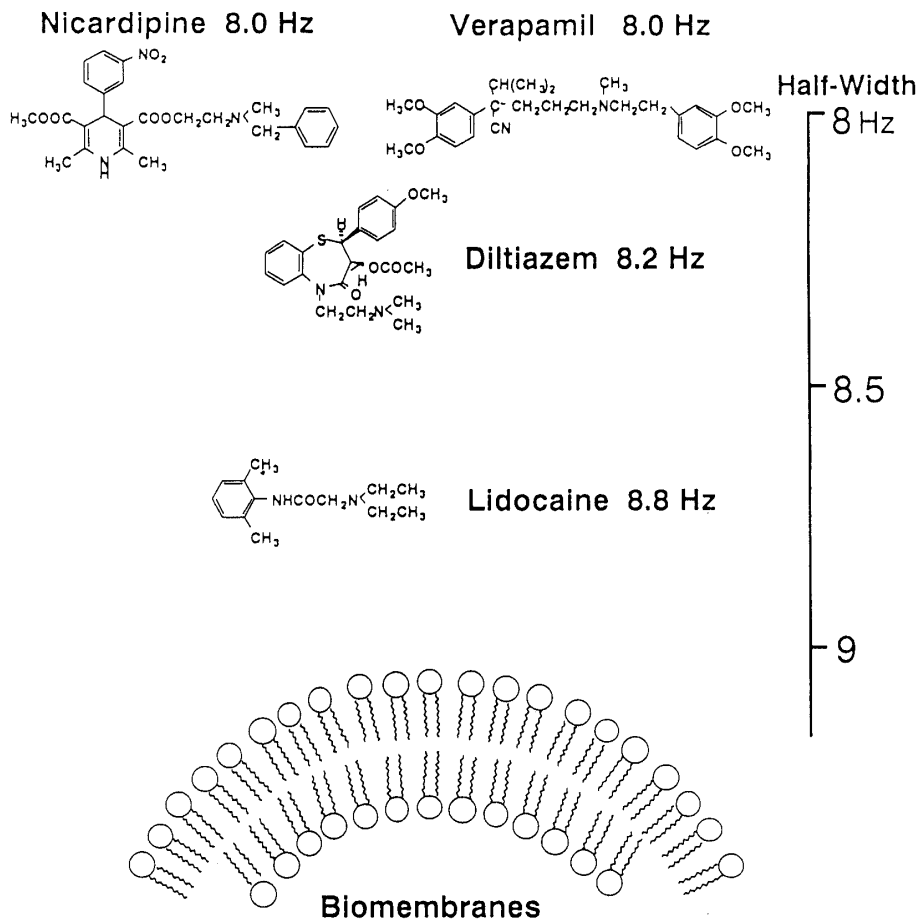


Fig. 2 Proximity between the phospholipid membrane and calcium antagonists. (diltiazem, verapamil, and nicardipine) compared with lidocaine. Poor electrostatic binding was seen only in diltiazem (8.0 Hz \rightarrow 8.2 Hz).

では0.2mMから弱い局所麻酔様作用を示した。しかし、その作用発現時間はdiltiazem (0.5 mM)で20.2分, verapamil (0.2mM)で40.0分と極めて遅く、逆に作用持続時間は数十分と極めて長かった。また、nicardipineは全く局所麻酔様作用を示さなかった (Table. 1)。¹H-NMRでのリン脂質膜との近接はdiltiazemでわずかにbroadeningが認められただけで (8.0Hz \rightarrow 8.2Hz), verapamilおよびnicardipineでは膜との近接は認められなかった (8.0Hz, Fig. 2)。

考 察

一般に興奮細胞における脱分極はNa⁺の細胞内流入による早い反応 (fast response) とCa²⁺

の細胞内流入による遅い反応 (slow response) とによって引き起こされる。しかも、部位により陽イオンの細胞内流入が異なるとされている。例えば、正常な心房筋、心室筋での活動電位は主としてfast responseであり、洞房結節や房室結節での興奮はslow responseであるとされている¹⁰⁾。

Ca拮抗薬は洞房結節と房室結節でのCa²⁺に依存した脱分極を抑制して、陰性変力作用を現すとされている¹⁰⁾。したがって、心室筋細胞のようにその電氣的興奮が主にNa⁺電流によっている細胞では、Ca拮抗薬の投与によって活動電位に著しい影響はないが、Ca²⁺電流に依存する興奮細胞である洞房結節細胞や房室結節細胞では

活動電位が消失する事がわかっている¹¹⁾。

本研究でもdiltiazemとverapamilには末梢神経伝導遮断作用が認められたが、nicardipineには認められなかった。これはdiltiazemとverapamilは単にslow channelを通るCa²⁺電流を抑制するだけでなく、チャネルの再分極を遅らせる¹²⁾。これに対してnicardipineはslow channelの回復には影響を与えない¹²⁾ことが関与しているのかもしれない。

電位依存性のCa²⁺チャネルはそのコンダクタンスと電位に対する感受性によって、L, N, T, P, QおよびRの少なくとも6種のサブタイプに分類される¹⁴⁾。そのうち、Ca拮抗薬で遮断されるのはL型のみであるといわれている¹⁰⁾にもかかわらず、本研究でみられたように、高濃度では神経細胞の興奮を停止し、末梢神経伝導を完全に遮断する作用が長時間持続した。一般にCa拮抗薬のチャネル遮断作用はnM~ μ Mオーダーで発現し、本研究に用いたような高濃度(mM)は必要ない。しかし、局所麻酔薬と同程度(mM)になると局所で神経伝導遮断作用を現すことがわかった。

本研究でみられたように、迷走神経のAP消失はCa拮抗薬による、slow channelを通じたCa²⁺の神経細胞内流入阻害が持続的になると、fast responseの抑制すなわち、Na⁺の細胞内流入阻害を招く可能性があることを示唆している。したがって、作用発現の遅い、しかも長時間持続した局所麻酔様作用がみられたのではないかと考えている。いずれにしても、Ca拮抗薬はNaイオンチャネルに何らかの阻害作用を持つといえよう。しかし、本研究では迷走神経の静止膜電位は測定していない。したがって、静止膜電位に変化があつて複合活動電位を抑制する可能性は否定できないが、過去の結果から⁷⁾、本実験条件で標本が不活性化は否定できる。

また、本研究で¹H-NMRを用いた神経膜モデルとの近接状態ではdiltiazemでわずかに

broadeningが認められただけで、verapamilおよびnicardipineでは膜との近接は認められなかった。すなわち、リン脂質膜に対する結合力は弱いことがわかった。

既報のように¹⁵⁻¹⁹⁾、局所麻酔薬では細胞膜との結合力がその局所麻酔作用を大きく左右する。細胞膜との結合力と毒性は相関するし⁸⁾、最小有効濃度も比例する^{20,21)}。

したがって、diltiazemとverapamilにみられた、効果発現の遅い、しかも長時間持続する局所麻酔様作用は、局所麻酔薬のように細胞膜に対する静電結合によって、Na⁺チャネルを閉鎖する^{9,15,20)}のではない可能性が高い。すなわちCa拮抗薬はNa⁺チャネルに何らかの作用を及ぼす可能性がある。

結 語

Ca拮抗薬(diltiazem, verapamilおよびnicardipine)について、ウサギ摘出迷走神経の複合活動電位に対する抑制作用を検索した。この結果、

1. diltiazemとverapamilには局所麻酔薬と同程度の濃度(mMオーダー)で、作用発現は遅く、しかし長時間持続する末梢神経伝導遮断作用が認められた。
2. nicardipineには末梢神経伝導遮断作用は認められなかった。

文 献

1. 金井裕子, 香月 博, 高崎真弓: カルシウムチャネル遮断薬の局所麻酔作用, *J Anesthesia*, 11 (suppl, 抄録), p199, 1997.
2. Bustamante JO: Block of sodium currents by the calcium antagonist D600 in human heart cell segments, *Pflügers Arch*, 403 : 225-227, 1985.
3. Hay DWP, Wadsworth RM: Local anesthetic activity of organic calcium antagonists: Relevance to their actions on smooth muscle, *European J pharmacol*, 77 : 221-228, 1982.
4. Bigger JT, Hoffman BF: (Hardman JG and Limbird LE ed, 藤原元始他訳): 抗不整脈薬 (グッ

- ドマン・ギルマン薬理書), 第8版, 廣川書店, 東京, 1025-1061, 1997.
5. Kohlhardt M, Bauer B, Krause H, et al: Differentiation of the transmembrane Na and Ca channels in mammalian cardiac fibers by the use of specific inhibitors, *Pfluegers Arch*, **335**: 309-322, 1972.
 6. Gissen AJ, Covino BG, Gregus J: Differential sensitivities of mammalian nerve fiber to local anesthetic agents. *Anesthesiology*, **53**: 467-474, 1980.
 7. 國分正廣, 大桶華子, 河合拓郎, 他: 全身麻酔薬およびベンゾジアゼピン系薬剤のウサギ摘出迷走神経の活動電位に対する抑制作用, *日歯麻誌*, **26**(1): 50-55, 1998.
 8. Kokubu M, Oda K, Machida M, et al: New lidocaine ester derivatives with a prolonged anesthetic effects, *J Anesthesia*, **4**: 270-274, 1990.
 9. Kokubu M, Oda K, Kudo M, et al: Correlation between the anesthetic potency of local anesthetics and their binding ability to a model membrane, *J Anesthesia*, **11**: 121-125, 1997.
 10. Murad F: (Hardman JG and Limbird LE ed, 藤原元始他訳): 狭心症治療薬: 有機硝酸化合物, カルシウムチャンネル遮断薬, β -アドレナリン遮断薬 (グッドマン・ギルマン薬理書), 第8版, 廣川書店, 東京, 931-956, 1997.
 11. Fleckenstein A: Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle, *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, **17**: 149-166, 1977.
 12. Ehara T, Kaufmann R: The voltage- and time-dependent effects of (-)verapamil on the slow inward current in isolated cat ventricular myocardium, *J Pharmacol Exp Ther*, **207**: 49-55, 1978.
 13. Kohlhardt M, Fleckenstein A: Inhibition of the slow inward current by nifedipine in mammalian ventricular myocardium, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **298**: 267-272, 1977.
 14. 渡辺康雄: 麻酔と脳の薬理—神経細胞内Ca²⁺動態を中心に—, *日本麻酔薬理学会誌*, **11**: 62-64, 1997.
 15. Kokubu M, Oda K, Kudo M, et al: Determination by ¹H-NMR of binding sites of local anesthetics on lipid bilayer membrane model, *Higashi Nippon Dental Journal*, **13**(1): 19-26, 1994.
 16. 小田和明, 國分正廣, 新家 昇, 他: ¹H-NMRを用いたリドカイン誘導体のリン脂質膜モデルとの相互作用に関する検索, *麻酔*, **40**: 72-79, 1991.
 17. 遠藤祐一, 小田和明, 國分正廣: リドカインの局所麻酔効果に及ぼすリポソームおよび陽イオンの影響, *日歯麻誌*, **22**(2): 260-274, 1994.
 18. 國分正廣, 小田和明, 大桶華子, 加藤元康, 河合拓郎, 工藤 勝, 新家 昇: 局所麻酔薬はモデル膜(リン脂質)を通過するか, *日歯麻誌*, **25**(3): 324-329, 1997.
 19. 國分正廣(金子 謙編): どのようにして局所麻酔薬は効くのか(歯科局所麻酔ハンドブック), *日本歯科評論*, 東京, 55-62, 1991.
 20. 國分正廣, 小田和明, 大桶華子, 安孫子勲, 河合拓郎, 工藤 勝, 新家 昇: 非電荷型(中性)リドカインの合成とその局所麻酔作用について, *日誌麻誌*, **25**(2): 169-173, 1997.
 21. 國分正廣, 小田和明, 河合拓郎, 大桶華子, 加藤元康, 工藤 勝, 新家 昇: 多電荷型リドカインの合成とその局所麻酔作用について, *日誌麻誌*, **26**(1): 65-70, 1998.