

| | |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | 佐藤尚武(北海道) |
| 学位の種類 | 博士(歯学) |
| 学位記番号 | 乙第55号 |
| 学位授与の日付 | 平成13年9月14日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条1項該当(課程博士) |
| 学位論文題目 | 局所麻酔薬“塩酸リドカイン”はキサンチン酸化酵素の存在下で酸素ラジカル種を発生する |
| 論文審査委員 | 主査 教授 金子昌幸 副査 教授 新家昇 副査 教授 東城庸介 |

論文内容の要旨

【目的】

局所麻酔薬、特に塩酸リドカインが代表するアミド系局所麻酔薬は、代謝の過程で脱アルキル化によってアルデヒド類を生成する。このことは塩酸リドカインがキサンチン酸化酵素(XOD)の存在下で酸素ラジカルの発生を惹起する可能性があることを示唆するものである。しかるに局所麻酔薬と酸素ラジカル発生についての報告は皆無に近いのが現状である。そこで演者は日常の歯科臨床でも最も多用されている局所麻酔薬“塩酸リドカイン”がキサンチン酸化酵素(XOD)の存在下で酸素ラジカルの発生を惹起するか否かを検索することを目的として以下の実験を行った。

【材料と方法】

1) 試料の調整

アミド系局所麻酔薬としては塩酸リドカインを使用した。塩酸リドカインの濃度を2.0Mとした高濃度塩酸リドカイン群と日常の臨床に用いる75mMの低濃度塩酸リドカイン群の2群について検索することとした。実験の手順は、まず最初にDETAPAC 35 μ lの存在下で塩酸リドカイン50 μ l, PBS 50 μ l, DMPO 15 μ lを混合した後にXOD 50 μ lあるいはPBS 50 μ lを添加して合計200 μ lとし、XOD添加あるいはPBS添加1分後からESRによる測定を開始することとした。DMPOによる検索に続き、DMPO 15 μ lにかえてM₄PO 100 μ lを用いて同様の検索を行った。

2) 酸素ラジカルの検出と同定

酸素ラジカルの検出はESRスピントラッピング法

で行った。同定は得られたESRスペクトルからDMPOアダクトとM₄POアダクトの超微細結合定数(hfcc)を求める方法と、SOD 50 μ lをPBSに替えて添加する方法で行った。

3) ESRによる測定の条件

ESRによる測定は周波数9.04GHz, 中心磁場334.8 mT, 掃引幅 \pm 7.5mT, 出力20mW, 変調幅 \pm 0.1mT, 感度500, 時定数0.1sec, 掃引時間2.0min.の条件下で、すべての操作を室温下で行った。

【結果】

・DMPOを用いた高濃度塩酸リドカイン群

1) キサンチン酸化酵素(XOD)無添加群

XOD無添加群のESRスペクトルでは2種類のDMPOアダクトのシグナルが重複して認められた。1つはESRスペクトルの超微細結合定数(hfcc) AN=1.41mT, AH β =1.77mTが得られたことから、DMPOアシルラジカルアダクト(DMPO/ \cdot C(O)R)に由来するものであり、他の1つは超微細結合定数(hfcc) AN=1.24mT, AH β =1.00mT, AH γ =0.09mTが得られたことからDMPOアシロキシラジカルアダクト(DMPO/ \cdot OC(O)R)に由来するものであると同定された。DMPOヒドロペルオキシラジカルアダクト(DMPO/ \cdot OOH)とDMPOヒドロキシラジカルアダクト(DMPO/ \cdot OOH)のシグナルは認められなかった。

2) キサンチン酸化酵素(XOD)添加群

XOD添加群のESRスペクトルでは4種類のDMPOのアダクトのシグナルが重複して認められなかった。

最も強いシグナルはESRスペクトルの超微細結合定数 (hfcc) AN=1.43mT, AH β =1.13mT, AH γ =0.13mTが得られたこと, SODの添加によってこのシグナルが消去されたことからDMPOヒドロペルオキシラジカルアダクト (DMPO/ \cdot OOH) であると同定された。また, 極めて弱いDMPOヒドロキシラジカルアダクト (DMPO/ \cdot OC(O)R) の発生がESRスペクトルの超微細結合定数 (hfcc) AN=1.49mT, AH β =1.49mT, を得たことで確認された。SOD添加後に残された2つのシグナルはESRスペクトルの超微細結合定数 (hfcc) AN=1.24mT, AH β =1.00mT, AH γ =0.09mTが得られたことから, XOD無添加時と同様にDMPOアシルラジカルアダクト (DMPO/ \cdot C(O)R) とDMPOアシロキシラジカルアダクト (DMPO/ \cdot OC(O)R) であることが確認された。

• M₄POを用いた高濃度塩酸リドカイン群

1) キサンチン酸化酵素 (XOD) 無添加群

XOD無添加群ESRスペクトルではノイズ程度のM₄POアダクトシグナルが認められるのみであった。

2) キサンチン酸化酵素 (XOD) 添加群

XOD添加群のESRスペクトルでは2種類のM₄POアダクトのシグナルが重複して認められた。最も強い6本線のピークを持つシグナルはESRスペクトルの超微細結合定数 (hfcc) AN=1.40mT, AH β =0.64mTが得られたこと, SODの添加によってこのシグナルが消去されたことからM₄POヒドロペルオキシラジカルアダクト

(M₄PO/ \cdot OOH) であると同定された。極めて弱いM₄POヒドロキシラジカルアダクト (DMPO/ \cdot OC(O)H) の発生がESRスペクトルの超微細結合定数 (hfcc) AN=1.53mT, AH β =1.69mTを得たことで確認された。

• DMPOを用いた低濃度塩酸リドカイン群

1) キサンチン酸化酵素 (XOD) 無添加群

高濃度塩酸リドカイン群と同様の結果が得られた。

2) キサンチン酸化酵素 (XOD) 添加群

高濃度塩酸リドカイン群と同様の結果が得られた。

• M₄POを用いた低濃度塩酸リドカイン群

1) キサンチン酸化酵素 (XOD) 無添加群

高濃度塩酸リドカイン群と同様の結果が得られた。

2) キサンチン酸化酵素 (XOD) 添加群

高濃度塩酸リドカイン群と同様の結果が得られた。

[考察と結論]

以上の結果はXODの存在下で塩酸リドカインがスーパーオキシドラジカル (O₂ \cdot^-) を発生することを示すものであった。塩酸リドカインは代謝の過程で脱アルキル化によって2分子のアセトアルデヒドを生じることから, このアルデヒドが2次的にXODと反応してO₂ \cdot^- を発生するものと考えられた。

生体内では常に少量ながらXODが存在することから, 局所麻酔薬の使用時には上述の反応が常に生じ得るものであり, 日常の歯科臨床でも十分に留意する必要があるものと考えられる。

学位論文審査の要旨

生体内ではキサンチン酸化酵素 (XOD) が少量ながら常に存在している。XODはヒポキサンチンやキサンチンを基質としてスーパーオキシドラジカル (O₂ \cdot^-) を発生することも良く知られている事実である。このXODはアルデヒド類を基質とした時, アルデヒド酸化酵素としても働き, この際に, O₂ \cdot^- を発生する。従って, 塩酸リドカインから脱アルキル化や加水分解でアルデヒド類が発生するならば, 発生したアルデヒド類がXODの基質となってO₂ \cdot^- の発生を惹起することが十分に考えられる。しかるに, 塩酸リドカインと活性酸素との関係は塩酸リドカインの抗酸化剤あるいは消去剤としての働きを中心に研究されているものがほとんどであり, O₂ \cdot^- の発生源としての研究は認められないのが実状である。そこで本研究では, 塩酸リドカインがXODの存在下でO₂ \cdot^- の発生を惹起するか否かを, DMPOとM₄POによるESRスピントラップ法で実験的に検索し, 以下の結果を得た。

1. 塩酸リドカインは高濃度あるいは低濃度にかかわら

ず, キサンチン酸化酵素 (XOD) の存在下でスーパーオキシドラジカル (O₂ \cdot^-) を発生することが確認された。

2. O₂ \cdot^- の発生は塩酸リドカインの脱アルキル化や加水分解で生じるアルデヒド類とXODが2次的に反応して惹起されると考えられた。

3. 塩酸リドカインとXODの反応で認められるDMPOヒドロキシラジカルアダクト (DMPO/ \cdot OH) ならびにM₄POヒドロキシラジカルアダクト (M₄PO/ \cdot OH) の発生はラジカル反応でないことが確認された。

以上の結果は, 局所麻酔薬にはO₂ \cdot^- の生成があるものと考えられ, 日常の歯科臨床でも十分に注意を払う必要があるものと考えられた。

本研究で得られた以上の結果は歯学の臨床的分野ならびに基礎的分野に寄与するところが大きく博士 (歯学) の学位を授与するに値するものと判定した。