

Full Paper

CB₁ Cannabinoid Receptor Stimulation Modulates Transient Receptor Potential Vanilloid Receptor 1 Activities in Calcium Influx and Substance P Release in Cultured Rat Dorsal Root Ganglion CellsKyoko Oshita^{1,*}, Atsuko Inoue², He-Bin Tang², Yoshihiro Nakata², Masashi Kawamoto¹, and Osafumi Yuge¹¹Department of Anesthesiology and Critical Care, Division of Clinical Medical Science,

Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Kasumi 1-2-3, Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan

²Department of Pharmacology, Division of Clinical Pharmaceutical Sciences, Programs of Pharmaceutical Sciences,

Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Kasumi 1-2-3, Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan

Received November 25, 2004; Accepted January 13, 2005

Abstract. Cannabinoids have been reported to have analgesic properties in animals of acute nociception or of inflammatory and neuropathic pain models, but the mechanisms by which they exert such alleviative effects are not yet fully understood. We investigated whether the CB₁-cannabinoid-receptor agonist HU210 modulates the capsaicin-induced ⁴⁵Ca²⁺ influx and substance P like-immunoreactivity (SPLI) release in cultured rat dorsal root ganglion (DRG) cells. HU210 attenuated the capsaicin-induced ⁴⁵Ca²⁺ influx and this effect was reversed by the CB₁ antagonist AM251. Treatment of DRG cells with 100 nM bradykinin for 3 h potentiated capsaicin-induced SPLI release accompanied with the induction of cyclooxygenase-2 mRNA expression. The potentiation of SPLI release by bradykinin was reversed by HU210 or the protein kinase A (PKA) inhibitor H-89. HU210 also reduced forskolin-induced cyclic AMP production and forskolin-induced potentiation of SPLI release. These results suggest that CB₁ could inhibit either the capsaicin-induced Ca²⁺ influx or the potentiation of capsaicin-induced SPLI release by a long-term treatment with bradykinin through involvement of a cyclic-AMP-dependent PKA pathway. In conclusion, CB₁-receptor stimulation modulates the activities of transient receptor potential vanilloid receptor 1 in cultured rat DRG cells.

Keywords: CB₁ cannabinoid receptor, dorsal root ganglion, protein kinase A, substance P, transient receptor potential vanilloid receptor 1

Introduction

Cannabinoids, the major pharmacologically active molecules found in the plant *Cannabis sativa*, not only attenuate capsaicin-evoked hyperalgesia in rats (1) but also cause anti-hyperalgesia in a model of neuropathic pain (2–4). They are known to bind two cannabinoid receptors, CB₁ cannabinoid receptor and CB₂ cannabinoid receptor. Both receptors are G-protein-coupled receptors; and the CB₁ receptor is abundantly expressed in key areas involved in nociception, including periaqueductal gray matter, the dorsal horn of the spinal cord, and dorsal root ganglion neurons (5, 6), while the CB₂

receptor is predominantly expressed in immune cells (7). The endocannabinoid anandamide inhibited capsaicin-evoked neuropeptide release from an isolated rat hind-paw skin preparation and attenuated inflammatory hyperalgesia via a CB₁-receptor-mediated mechanism when administered peripherally (8). CB₁-receptor immunoreactivity has been localized to small as well as large neurons in cultured rat dorsal root ganglion (DRG) cells (9). Thus the activation of CB₁ receptor on these nociceptive small C-fibers could result in analgesic effects (8, 10), but the mechanism of nociceptive modulation by the activation of CB₁ receptor remains unclear.

Transient receptor potential vanilloid receptor 1 (TRPV1), a cloned capsaicin receptor, is a nonselective cation channel and can be activated by capsaicin, noxious heat, extracellular protons, and a structurally hetero-

*Corresponding author. FAX: +81-82-257-2569

E-mail: oshitak@hiroshima-u.ac.jp

geneous group of compounds named vanilloids, encompassing also the endocannabinoids, anandamide, *N*-arachidonoyldopamine and *N*-oleoyldopamine (11–15). Moreover, TRPV1 knockout mice have deficits in thermal inflammation-induced hyperalgesia (16, 17). Thus TRPV1 is now considered to be a molecular detector that perceives various pain stimuli. In cultured adult rat DRG cells, TRPV1 is co-expressed in as many as 82% of the CB₁-receptor-positive cells, which belong to a small soma size subpopulation of DRG neurons (9). These histological data suggest an anatomical basis of regulation of nociceptive transmission by cannabinoids to modulate the activities of TRPV1.

Bradykinin is a potent pro-inflammatory mediator, which can stimulate a pain response in various animal models and in humans (18–22). A line of electrophysiological studies has shown that bradykinin sensitizes TRPV1 by means of endogenous substances produced by the activation B₂ bradykinin receptors in DRG cells (13, 23) and by activating protein kinase C (PKC) (24, 25). We have already observed that bradykinin sensitizes TRPV1 in cultured rat DRG cells where a short-term treatment with bradykinin for 10 min significantly enhances capsaicin-induced ⁴⁵Ca²⁺ influx (26). Thus the activities of TRPV1 can be modulated by bradykinin, which should lead to the regulation of pain sensations. However we have confirmed in this study that a short-term treatment with bradykinin for 10 min did not potentiate capsaicin-induced substance P-like immunoreactivity (SPLI) release in our cultured rat DRG cells. We therefore investigated whether a long-term treatment with bradykinin for 3 h could modulate the TRPV1 activities to release SPLI.

To investigate the mechanisms for anti-nociceptive and anti-hyperalgesic effects by peripheral activation of CB₁ receptor, we tested the ability of CB₁ receptor to modulate TRPV1 activities in cultured rat DRG cells. As a result, we observed that the synthetic cannabinoid receptor agonist HU210 inhibited the capsaicin-induced influx of ⁴⁵Ca²⁺ and blocked the facilitation by a long-term treatment with bradykinin of the capsaicin-induced SPLI release in cultured rat DRG cells.

Materials and Methods

Materials

HU210 ((-)-11-hydroxy- Δ^8 -tetrahydrocannabinol-dimethylheptyl) and AM251 (*N*-(4-hydroxyphenyl)arachidonamide) were from Tocris Cookson (Bristol, UK). Dulbecco's modified Eagle's medium was from Nissui Pharmaceutical Co. (Tokyo). Horse serum and penicillin and streptomycin were from Gibco BRL (Gaithersburg, MD, USA). Mouse laminin was from

Upstate Biotechnology (Lake Placid, NY, USA). Collagenase, capsaicin, capsazepine, forskolin, IBMX (3-isobutyl-1-methyl-xanthine), and HOE 140 [D-Arg (Hyp³, Thi⁵, D-Tic⁷, Oic⁸) bradykinin] were from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Trypsin was from Invitrogen Corporation (Burlington, Canada). Nerve growth factor (2.5S) was from Promega (Madison, WI, USA). ⁴⁵Ca²⁺ (2.4 mCi/ml) was from Amersham Pharmacia Biotech (Buckinghamshire, UK). [α -³²P]UTP was from Amersham Biosciences (Piscataway, NJ, USA). Bradykinin was from Peptide Institute, Inc. (Osaka). H89 (*N*-[2-(*p*-bromocinnamylamino) ethyl]-5-isoquinolinesulfonamide) was from Seikagaku Corporation (Tokyo). Capsaicin and forskolin were dissolved in ethanol and HU210, AM251, and H89 were dissolved in dimethyl sulfoxide to a concentration of 10 mM and stored at -20°C; then they were used at the indicated final concentrations in Krebs-HEPES buffer (110 mM NaCl, 4.5 mM KCl, 1.3 mM CaCl₂, 1.2 mM KH₂PO₄, 1.2 mM MgSO₄, 25 mM NaHCO₃, 11.7 mM glucose, 5 mM HEPES [pH 7.4]).

Culture of rat DRG cells

Male Wistar rats weighing 200–300 g were housed in cages under a 12-h light/dark cycle with free access to food and water. All procedures used in the animal experiments were approved by the Animal Care and Use Committee of Hiroshima University School of Medicine. The isolation and culture of adult rat DRG cells have been described previously (27). In brief, the cells from the DRG were dissociated using 0.125% collagenase, 0.25% trypsin, and mechanical trituration. They were suspended in Dulbecco's modified Eagle's medium supplemented with 10% horse serum, 4 mM glutamine, 100 units/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin, and 50 ng/ml 2.5S mouse salivary glands nerve growth factor. They were seeded at the respective cell densities: DRG cells from 9–10 dorsal root ganglia in 35-mm-diameter tissue culture dishes or DRG cells from 4–5 dorsal root ganglia in 12-well plates coated with polyethylenimine and laminin; cells were maintained in an atmosphere of 5% CO₂/95% air at 37°C for 5 days before the experiment. The medium was changed every 3 days. On the fifth day of culture, neurons exhibited globular cell bodies and fine axonal processes. Various non-neuronal cells, such as Schwann cells, fibroblasts, and satellite cells, were also present as background.

Calcium assay

⁴⁵Ca²⁺ influx assays were performed as previously described (26). In brief, the DRG cells grown in 12-well plates were washed once with Krebs-HEPES buffer and then exposed to 700 μ l of Ca²⁺ free Krebs-HEPES

buffer containing 0.375 $\mu\text{Ci/ml}$ $^{45}\text{Ca}^{2+}$ with or without capsaicin for 10 min at 37°C. To investigate the effects of TRPV1 antagonist and CB₁ agonist on the reaction to capsaicin, the DRG cells were pre-incubated with the test drugs for 10 min and stimulated with capsaicin for 10 min. To stop the reaction, DRG cells were rapidly placed back into cold Krebs-HEPES buffer, washed two additional times, and then solubilized with 500 μl of 1 M NaOH. The radioactivity in aliquots of the solubilized cell extracts was counted in a liquid scintillation counter.

Cyclic AMP assay

DRG cells cultured in 12-well plates were washed and incubated with 700 μl of Krebs-HEPES buffer containing 2 mM 3-isobutyl-1-methyl-xanthine (IBMX, a phosphodiesterase inhibitor) at 37°C for 10 min prior to the incubation with cannabinoids or vehicle for 10 min. Then the cells were exposed to 700 μl of Krebs-HEPES buffer containing forskolin for 20 min. Intracellular cyclic AMP was measured according to the instructions of the manufacturer for the enzyme-linked immunoassay (EIA) kit (Amersham Biosciences, Amersham, UK).

SPLI release assay

DRG cells cultured in 35-mm dishes were washed once with 1.0 ml of Krebs-HEPES buffer containing peptidase inhibitors [phosphoramidon (10 μM), captopril (10 μM), and bacitracin (40 $\mu\text{g/ml}$)] and 0.1% bovine serum albumin; and then they were stimulated with capsaicin for 10 min at 37°C. To investigate the effect of the TRPV1 antagonist capsazepine and CB₁ agonist HU210 on the response to capsaicin, test drugs were administered in the culture medium for 10 min before washing. Then DRG cells were stimulated with capsaicin together with the test drugs for 10 min. Aliquots (500 μl) of the Krebs-HEPES buffer in which the cells were drug-treated were collected from each dish for a radioimmunoassay. Radioimmunoassay was performed as described previously (28). The limit of detection was 5 pg per tube.

Measurement of cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA in cultured DRG cells

Total RNA in cultured rat DRG cells was prepared by the method of Chomczynski and Sacchi (29). Measurement of COX-2 mRNA was performed by a ribonuclease protection assay as described before (30). In brief, ^{32}P -UTP radiolabeled antisense RNA probes were synthesized in vitro using the template cDNA encoding rat COX-2 (P_{CX2} , protected segment 517 bases) and rat β -actin (P_{Ac} , protected segment 230 bases) prepared by RT-PCR from cultured rat DRG cells. The labeled probes were 632 bases in length for COX-2 and 278

bases for β -actin. The radiolabeled antisense RNA probe for COX-2 (approximately 100,000 cpm) was hybridized to the total RNA (5–10 μg) of cultured DRG cells together with radiolabeled antisense RNA probe for β -actin (approximately 5,000 cpm) in hybridization buffer for 12 h at 45°C. After digestion with RNase A, hybridized and protected RNA was analyzed by electrophoresis on a 4% polyacrylamide/7 M urea gel. After electrophoresis, the gels were dried and exposed to an Imaging Plate to analyze the intensity of each band using a bioimaging analyzer (BAS 2000; Fuji Film, Tokyo).

Data analyses

Data are expressed as the mean and S.E.M. from at least three independent experiments. Analysis of variance was used to compare the different treatments, and if a significant difference was observed, the Fisher's PLSD post hoc test was performed. Differences were considered to be significant when the *P* value was less than 0.05.

Results

CB₁ agonist inhibits capsaicin-induced $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx in DRG cells

Capsaicin induced $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx in cultured rat DRG cells in a concentration-dependent manner (Fig. 1a). The EC₅₀ value estimated from Hill plots fitted to the data was 207 nM (*n* = 5). Co-incubation of the competitive TRPV1 antagonist capsazepine (10 μM) completely abolished the capsaicin-induced $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx (Fig. 1b), suggesting that this augmentative effect of capsaicin was mediated by TRPV1.

The CB₁-receptor agonist HU210 (1 μM) alone had no significant effect on basal $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx ($97 \pm 0.7\%$ of basal level, *n* = 5), whereas 0.1 or 1 μM HU210 significantly reduced the capsaicin-induced $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx (Fig. 2). This inhibitory effect of HU210 was reversed by the CB₁ receptor antagonist AM251 (1 μM). AM251 (1 μM) did not modulate capsaicin-induced $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx ($99.6 \pm 3.1\%$ of capsaicin alone, *n* = 5) (Fig. 2).

Effects of HU210 on capsaicin-induced SPLI release

Capsaicin induced SPLI release from cultured rat DRG cells in a concentration-dependent manner at concentrations of 10–100 nM with an estimated EC₅₀ value of 20.3 nM (*n* = 4). The maximal release of SPLI was achieved at 100 nM concentration. At higher concentrations of capsaicin (200–1000 nM), the amount of induced SPLI was markedly reduced, producing a bell shaped dose-response curve (Fig. 3a). Co-incubation of 10 μM capsazepine abolished the 100 nM

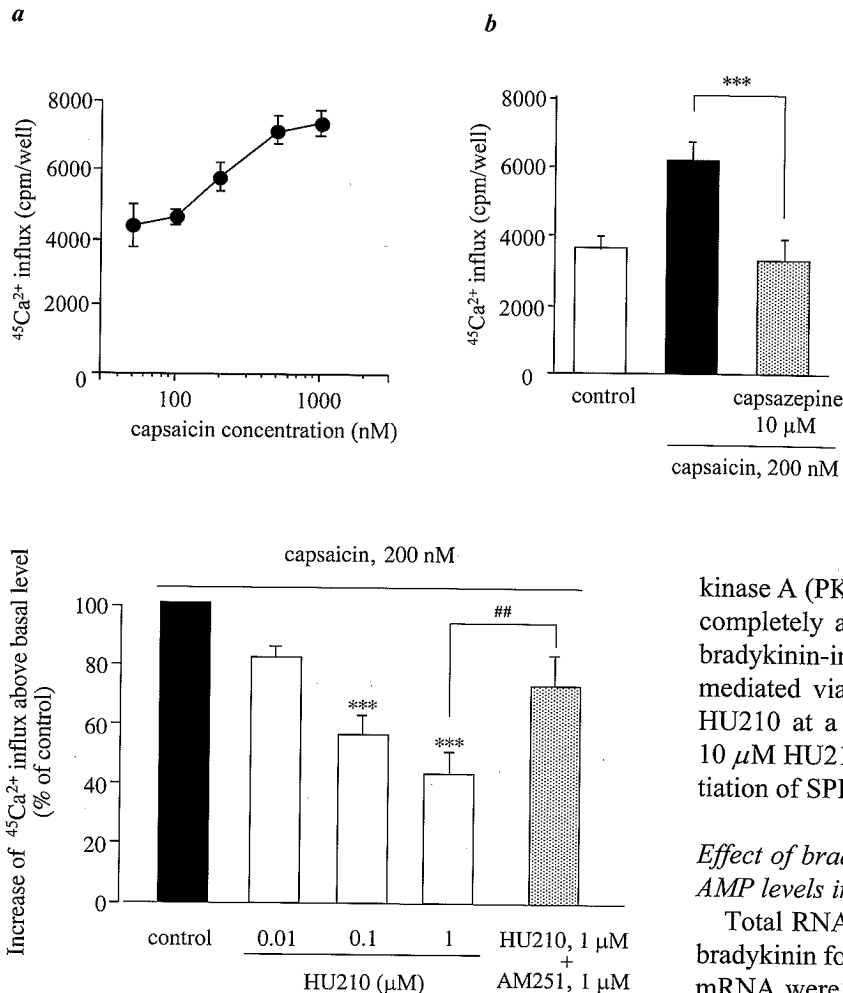


Fig. 1. $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx in cultured rat DRG cells. a: Concentration-dependent effects of capsaicin on $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx in cultured rat DRG cells. Radioactivities of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ in the cells incubated with various concentrations of capsaicin for 10 min at 37°C are shown. b: $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx in cultured rat DRG cells incubated with capsaicin (200 nM) in the presence or absence of capsazepine (10 μM) is shown. Values are expressed as the mean and S.E.M. from 3–5 independent experiments. *** P <0.001, significantly different from capsaicin alone.

Fig. 2. Inhibition of the response to capsaicin in the presence of HU210 and reversal by AM251 in cultured rat DRG cells. Radioactivities of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ in the cells incubated with HU210 (0.01, 0.1, or 1 μM) or AM251 (1 μM) for 10 min are shown. Values are expressed as the mean and S.E.M. of the percentage of the increase of the $^{45}\text{Ca}^{2+}$ above the basal radioactivity in the non-treated cells. The increase of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx in the DRG cells incubated with capsaicin (200 nM, control) was 2569.2 ± 740.3 cpm ($n=8$). *** P <0.001, significantly different from the control; ## P <0.01, significantly different from capsaicin plus 1 μM HU210.

capsaicin-induced SPLI release (Fig. 3b), suggesting that this effect of capsaicin was mediated by TRPV1.

HU210 by itself at a concentration of 1 or 10 μM did not induce SPLI release, and in contrast to the results of the $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake assay, HU210 at these concentrations did not affect capsaicin-induced SPLI release (Fig. 4).

Effects of HU210 on potentiation of capsaicin-induced SPLI release by bradykinin

In cultured rat DRG cells exposed to 100 nM bradykinin for 3 h, capsaicin-induced SPLI release was increased by 1.5-fold (Fig. 5). Co-incubation of a protein

kinase A (PKA) inhibitor H89 (10 μM) with bradykinin completely abolished this potentiation, suggesting this bradykinin-induced potentiation of SPLI release was mediated via a cyclic AMP-dependent PKA pathway. HU210 at a dose of 1 μM significantly inhibited and 10 μM HU210 abolished the bradykinin-induced potentiation of SPLI release (Fig. 5).

Effect of bradykinin on COX-2 mRNA levels and cyclic AMP levels in DRG cells

Total RNA from cultured rat DRG cells treated with bradykinin for 3 h was isolated, and the levels of COX-2 mRNA were evaluated. Figure 6a shows the autoradiography of the ribonuclease protection assay for COX-2 mRNA. COX-2 mRNA was detected as a 577-bases-long band, and β-actin mRNA was detected as an internal standard at a position corresponding to 230 bases. As described previously (30), low levels of COX-2 mRNA were detected in non-treated DRG cells. Treatment with 100 nM bradykinin for 3 h significantly increased the band densities of COX-2 mRNA (Fig. 6a) and analysis using a bioimaging analyzer showed that bradykinin increased the levels of COX-2 mRNA several fold (Fig. 6b). This induction of COX-2 mRNA by bradykinin was completely blocked by the bradykinin- B_2 -receptor antagonist HOE 140. We also investigated the effect of bradykinin on intracellular cyclic AMP production. Treatment with 100 nM bradykinin for 3 h significantly increased the level of intracellular cyclic AMP from 10.4 ± 1.6 to 18.4 ± 1.2 pmol/well (P <0.05, $n=5$).

Effects of HU210 on the forskolin-induced intracellular cyclic AMP production

CB_1 receptor is negatively coupled to adenylate cyclase through Gi/o proteins. We therefore investi-

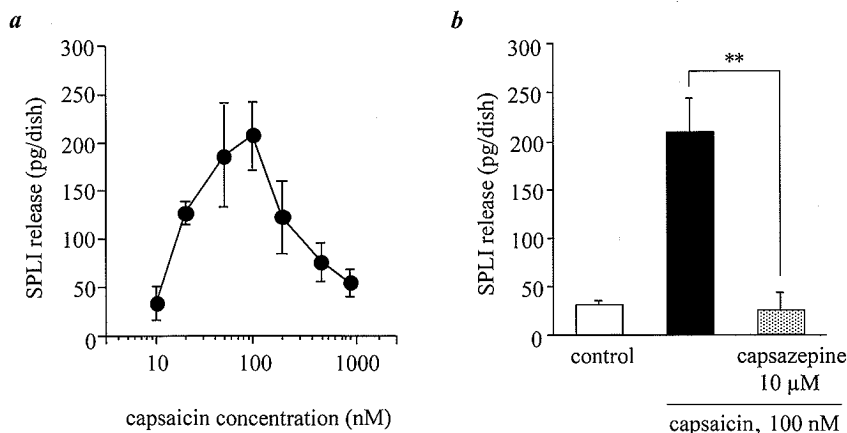


Fig. 3. Effects of capsaicin on SPLI release from cultured rat DRG cells. a: The amount of SPLI in the Krebs-HEPES buffer surrounding the cells incubated with various concentrations of capsaicin for 10 min at 37°C is shown. b: The amount of SPLI in the Krebs-HEPES buffer surrounding the cells incubated with capsaicin (100 nM) in the presence or absence of capsazepine (10 μM) is shown. Values are expressed as the mean and S.E.M. from 3 or 4 independent experiments. ** $P < 0.01$, significantly different from capsaicin alone.

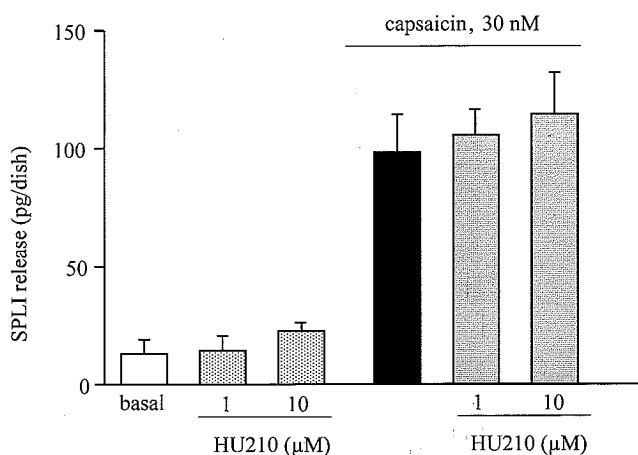


Fig. 4. Effects of HU210 on basal or capsaicin-induced SPLI release from cultured rat DRG cells. The amount of SPLI in the Krebs-HEPES buffer surrounding the cells incubated with or without (basal) capsaicin (30 nM) and in the presence or absence of HU210 (1 or 10 μM) for 10 min at 37°C is shown. Values are expressed as the mean and S.E.M. from 5 independent experiments.

gated the effect of HU210 on forskolin-induced intracellular cyclic AMP production in cultured rat DRG cells. As non-neuronal cells increase gradually with time in culture, stimulation of 5-day-cultured DRG cells by forskolin causes cyclic AMP production derived from increased non-neuronal cells. We used 1-day-cultured DRG cells to investigate the function of the CB₁ receptor, which is exclusively expressed in sensory neurons. Forskolin (1 μM) induced a 10-fold increase of intracellular cyclic AMP production. HU210 (1 or 10 μM) significantly inhibited the forskolin-induced intracellular cyclic AMP production (Fig. 7a).

Effects of HU210 on potentiation of the capsaicin-induced SPLI release by forskolin

Treatment with forskolin alone for 10 min did not

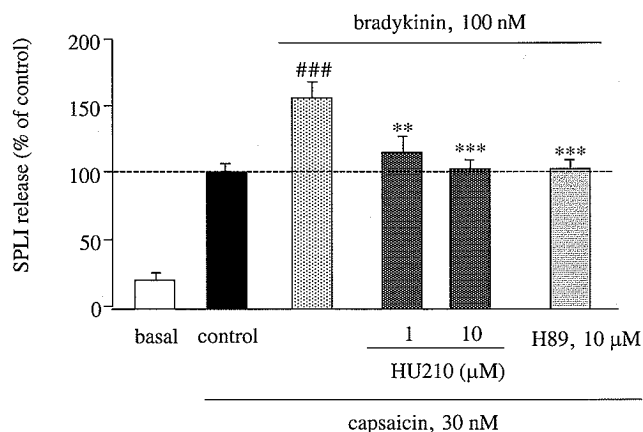


Fig. 5. Effects of HU210 on potentiation of capsaicin-induced SPLI release by bradykinin in cultured rat DRG cells. The amount of SPLI in the Krebs-HEPES buffer surrounding the cells pre-incubated with bradykinin (100 nM) in the presence or absence of HU210 (1 or 10 μM) for 3 h at 37°C and incubated with or without (basal) capsaicin (30 nM) for 10 min at 37°C is shown. Values are expressed as the mean and S.E.M. of the percentage of release compared with that induced by capsaicin alone (control) from 4–6 independent experiments. The amount of SPLI released from the cells treated with capsaicin alone (control) was 107.6 ± 17.8 pg/dish. ### $P < 0.001$, significantly different from capsaicin alone; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, significantly different from capsaicin plus bradykinin.

induce SPLI release (24.7 ± 5.9 pg/dish, basal; 21.6 ± 6.2 pg/dish, 1 μM forskolin). Pretreatment with 1 μM forskolin (10 min) potentiated capsaicin-induced SP release by 1.9-fold, in agreement with previous studies (31, 32). To investigate whether HU210 modulates the forskolin-induced potentiation of SP release, DRG cells were pre-incubated with HU210 for 10 min prior to forskolin treatment. HU210 at a concentration of 1 or 10 μM significantly inhibited the potentiation by forskolin (Fig. 7b).

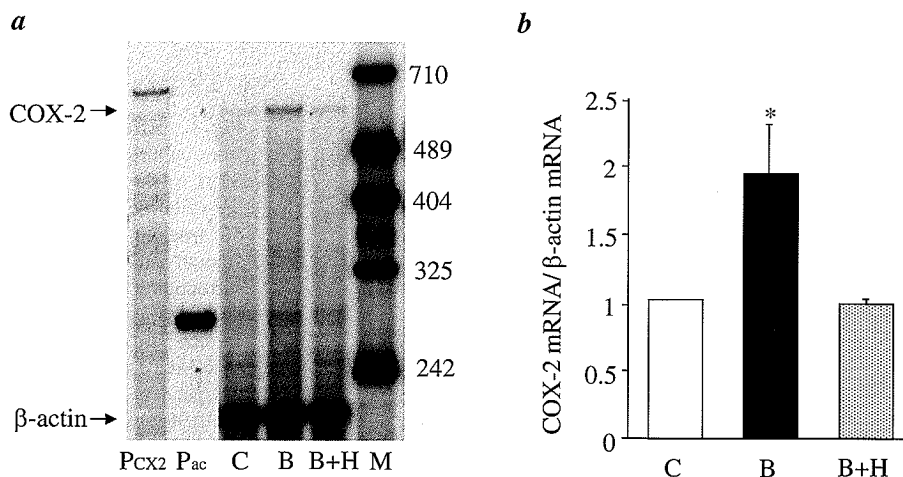


Fig. 6. Effect of bradykinin on COX-2 mRNA levels in cultured rat DRG cells. a: Autoradiography of bands for COX-2 mRNA analyzed by ribonuclease protection assay. The lanes show the labeled probe for COX-2 (P_{CX2}, 632 bases), for β -actin (P_{ac}, 280 bases), the protected bands of COX-2 mRNA from non-treated DRG cells (C) or DRG cells incubated with bradykinin (100 nM) for 3 h without HOE 140 (B) or with (B + H) or size markers (M; pBSSKH_{pal}, 710, 489, 404, 325, and 242 bases). b: Relative hybridization levels for COX-2 mRNA are expressed as the band intensity ratio of mRNA (intensity of COX-2 mRNA / intensity of β -actin mRNA) in the cultured rat DRG cells determined as described in the legend for panel a. Data represent the mean and S.E.M. of the percentage of the band intensity ratio compared with that of non-treated cells (control) from 3 independent experiments. * $P < 0.05$, significantly different from the control.

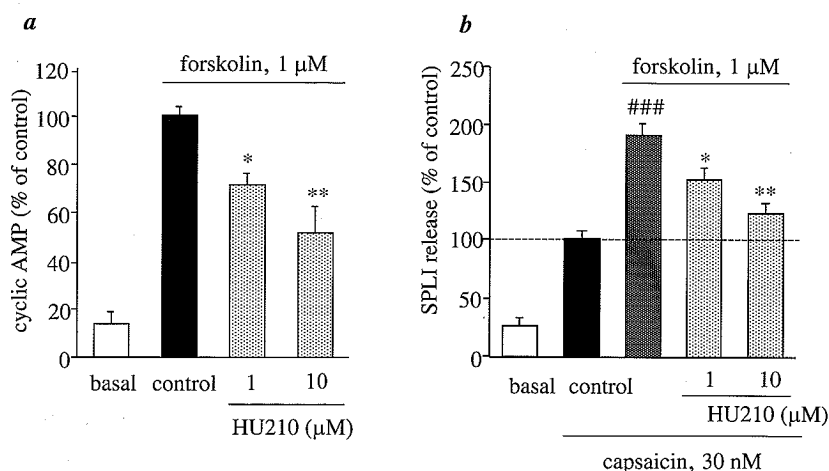


Fig. 7. Effects of forskolin on cyclic AMP production and capsaicin-induced SPLI release in cultured rat DRG cells. a: Inhibition of forskolin-induced cyclic AMP production by HU210. Values are expressed as the mean and S.E.M. of the percent production compared to that with forskolin alone from 4 independent experiments. * $P < 0.01$, significantly different from the control. b: Inhibitory effects of HU210 on the potentiation of capsaicin-induced SPLI release by forskolin in cultured rat DRG cells. The amount of SPLI in the Krebs-HEPES buffer surrounding the cells incubated with or without (basal) capsaicin (30 nM) and forskolin (1 μ M) in the presence or absence of HU210 (1 or 10 μ M) for 10 min at 37°C is shown. Values are expressed as the mean and S.E.M. of the percentage of release compared with that induced by capsaicin alone (control) from 3–6 independent experiments. The amount of SPLI released from the cells treated with capsaicin (control) was 163 ± 13 pg/dish. ### $P < 0.001$, significantly different from capsaicin alone; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from capsaicin plus forskolin.

Discussion

Cannabinoids are likely to attenuate not only capsaicin-evoked nociception (1) but also hyperalgesia in a model animal of neuropathic pain (2–4), which might be

involved in both anti-nociceptive and anti-hyperalgesic effects (8, 10). The mechanisms under which cannabinoids exert such dual effects on the sensation of pain remain unclear. In the present study, we could demonstrate that CB₁-receptor agonist HU210 suppresses

capsaicin-induced $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx into cultured rat DRG cells and also returns potentiation of capsaicin-induced SPLI release by the addition of forskolin or by a long-term treatment for 3 h with bradykinin to the level of SP release induced by capsaicin itself. Each interaction between the CB₁ receptor and TRPV1 may be reflected by a mechanism by which peripheral activation of CB₁ receptor produces either anti-nociceptive or anti-hyperalgesic effects in pain states.

TRPV1 is a nonselective cation channel that is expressed almost exclusively in the DRG neurons of small diameter (C-fiber) and is known to be activated by capsaicin to increase intracellular Ca^{2+} concentration. We demonstrated that capsaicin produced a concentration-dependent increase in $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx, which was inhibited by the TRPV1 antagonist capsazepine. The concentration dependency of the capsaicin-induced increase of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx in this study was similar to those in previous studies (33, 34). In the present study, we found that HU210 suppressed the capsaicin-induced $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx by CB₁, but not by interacting with TRPV1 directly since the effect of HU210 was inhibited by the CB₁ antagonist AM251. These inhibitory effects of CB₁-receptor agonists on the activities of TRPV1 basically coincide with the previous study by Millns et al. (35) who showed that CB₁-receptor agonist inhibited the capsaicin-induced increase of intracellular Ca^{2+} concentration in rat DRG neurons. Therefore, the CB₁ receptor could regulate intracellular Ca^{2+} concentration by modulating the activity of TRPV1, which may be one of the mechanisms of cannabinoid peripheral anti-nociceptive effects.

Because CB₁-receptor agonists were reported to inhibit capsaicin-evoked neurotransmitter release (8, 36, 37), we tried to examine the effect of HU210 on capsaicin-evoked substance P (SP) release in cultured DRG cells. However, as shown in Fig. 4, HU210 unexpectedly did not have any inhibitory effect on either spontaneous or capsaicin-evoked SP release. Therefore, we further investigated interactions between TRPV1 and CB₁ receptor in sensory neurons. Several lines of studies have reported that the inflammatory mediator bradykinin modulates the activities of TRPV1. Bradykinin lowers the threshold temperature for heat activation of TRPV1 through PKC activation (25), releases TRPV1 from the inhibitory control of phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphosphate through the phospholipase C signaling pathway (23), and causes production of prostanoids that sensitize TRPV1 (13). In terms of the potentiation of capsaicin-induced SP release by bradykinin, a long-term treatment with bradykinin for 3 h was prerequisite for an augmentation of SP release in our cells as shown in Fig. 5. As far as we know, this is the first report that

bradykinin enhances capsaicin-induced SP release by incubation for 3 h. We observed that the incubation with bradykinin for 10 min potentiated the capsaicin-induced $^{45}\text{Ca}^{2+}$ influx (26) but did not potentiate the capsaicin-induced SP release (data not shown). Skoff et al. (38) also reported that incubation for 10 min with bradykinin did not cause release of SP and did not potentiate the action of capsaicin in adult rat sensory neurons, unlike embryonic and neonatal rat sensory neurons. Requirement of a long-term treatment with bradykinin suggests that this effect was exerted through some intermediates produced by bradykinin. Our finding that bradykinin induced the expression of COX-2 mRNA and the production of cyclic AMP suggest that bradykinin may induce the production and release of prostaglandin E₂, leading to sensitization of TRPV1 activity through the cyclic AMP-PKA pathway. Bradykinin has been reported to cause COX-2 mRNA expression in cultured fibroblasts (39) and human airway smooth muscle cells (40). Furthermore, Jenkins et al. (41) reported that prostaglandin E₂ is released from adult rat cultured trigeminal neurons after the incubation with bradykinin for 1 h. These phenomenon induced by bradykinin might account one possible mechanism of hyperalgesia in inflammatory states.

We demonstrated that HU210 inhibited the potentiation of capsaicin-induced SP release by 3-h treatment with bradykinin (Fig. 7). CB₁ is negatively coupled to adenylate cyclase through Gi/o proteins and the activities of TRPV1 were reported to be enhanced by the cyclic AMP-PKA pathway (42–44). Thus it is postulated that the inhibitory effect of HU210 on the potentiation of capsaicin-induced SP release by bradykinin is possibly due to the suppression of cyclic AMP production by prostanoids formed by COX-2 induced by a long-term treatment with bradykinin. To elucidate this possibility, we used forskolin to elevate cyclic AMP. Forskolin produced intracellular cyclic AMP and was able to potentiate capsaicin-induced SPLI release by 1.9 fold in our DRG cells, in agreement with previous studies (31, 32). HU210 had an inhibitory effect on the production of cyclic AMP, and at concentrations of 1 or 10 μM , it significantly inhibited the potentiation by forskolin. Furthermore, we demonstrated that the potentiation of SPLI release by bradykinin was completely blocked by the PKA inhibitor H89. These results suggest that the CB₁ receptor can inhibit the potentiating effects of a long-term treatment with bradykinin by suppressing adenylate cyclase activities, which may be one of the mechanisms for the peripheral anti-hyperalgesic actions of cannabinoids.

The inhibitory effects of HU210 in general are consistent with several reports of cannabinoid inhibition

of capsaicin-evoked responses in DRG neurons (33), in spinal cord (34), and in skin (8, 35). However Khasabova et al. (45) reported that cannabinoid inhibited the Ca^{2+} influx evoked by a high potassium concentration, but did not inhibit capsaicin-evoked Ca^{2+} influx in cultured adult rat DRG neuron. This discrepancy about whether cannabinoid inhibited capsaicin-induced Ca^{2+} influx or not may be due to the difference of culture conditions. Khasabova et al. used DRG neurons cultured with 100 ng/ml nerve growth factor for 20–28 h. The phenotype of adult DRG neurons changes with time in culture (46) and nerve growth factor (47). It is possible that the difference of culture condition affects functional CB_1 -receptor expression. In conditions similar to our preparation (cultured for 1 week with 50 ng/ml nerve growth factor), the CB_1 receptor is expressed in 57% of the total population of cultured adult rat dorsal root ganglion neurons and TRPV1 is expressed in 42%. They are co-expressed in as many as 82% of the CB_1 -receptor-positive cells in the same preparation (9). Thus, TRPV1 and CB_1 receptor are co-localized on the same sensory neurons and CB_1 receptor may exert a functional inhibitory influence on TRPV1 activities in adult rat primary afferent neurons.

In conclusion, we have demonstrated that cannabinoids inhibit TRPV1 activity and the sensitization of TRPV1 mediated by a PKA pathway in primary afferent neurons. These observations provide new information about the mechanisms by which peripheral administration of cannabinoids produces anti-nociceptive and anti-hyperalgesic effects. Based on these results, we speculate that the peripheral application of cannabinoids is a candidate treatment for therapeutic alleviation of inflammation-induced hyperalgesia.

Acknowledgments

This study was supported by grants from the Tsuchiya foundation.

References

- Johanek LM, Heitmiller DR, Turner M, Nader N, Hodges J, Simone DA. Cannabinoids attenuate capsaicin-evoked hyperalgesia through spinal and peripheral mechanisms. *Pain*. 2001; 93:303–315.
- Bridges D, Ahmad K, Rice ASC. The synthetic cannabinoid WIN55,212-2 attenuates hyperalgesia and allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Br J Pharmacol*. 2001;133:586–594.
- Fox A, Kesingland A, Gentry C, McNair K, Patel S, Urban L, et al. The role of central and peripheral cannabinoid 1 receptors in the antihyperalgesic activity of cannabinoids in a model of neuropathic pain. *Pain*. 2001;92:91–100.
- Wallace VC, Cottrell DF, Brophy PJ, Fleetwood-Walker SM. Focal lysolecithin-induced demyelination of peripheral afferents results in neuropathic pain behavior that is attenuated by cannabinoids. *J Neurosci*. 2003;23:32–33.
- Tsou K, Brown S, Sanudo-Pena MC, Mackie K, Walker JM. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB_1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience*. 1998; 83:393–411.
- Hohmann AG, Herkenham M. Localization of central cannabinoid CB_1 receptor messenger RNA in neuronal subpopulations of rat dorsal root ganglia: a double-label in situ hybridization study. *Neuroscience*. 1999;90:923–931.
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaa M. Molecular characterisation of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 1993;365:61–65.
- Richardson JD, Kilo S, Hargreaves KM. Cannabinoids reduce hyperalgesia and inflammation via interaction with peripheral CB_1 receptors. *Pain*. 1998;75:111–119.
- Ahluwalia J, Urban L, Capogna M, Bevan S, Nagy I. Cannabinoid 1 receptors are expressed in nociceptive primary sensory neurons. *Neuroscience*. 2000;100:685–688.
- Nackley AG, Suplita RL 2nd, Hohmann AG. A peripheral cannabinoid mechanism suppresses spinal fos protein expression and pain behavior in a rat model of inflammation. *Neuroscience*. 2003;177:659–670.
- Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*. 1997;389:816–824.
- Huang SM, Bisogno T, Trevisani M, Al-Hayani A, De Petrocellis L, Fezza F, et al. An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and naive vanilloid VR1 receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:8400–8405.
- Shin J, Cho H, Hwang SW, Jung J, Shin CY, Lee SY, et al. Bradykinin-12-lipoxygenase-VR1 signaling pathway for inflammatory hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:10150–10155.
- Chu CJ, Huang SM, De Petrocellis L, Bisogno T, Ewing SA, Miller JD, et al. N-oleyl dopamine, a novel endogenous capsaicin-like lipid that produces hyperalgesia. *J Biol Chem*. 2003;278:13633–13639.
- Toth A, Kedei N, Wang Y, Blumberg PM. Arachidonyl dopamine as a ligand for the vanilloid receptor VR1 of the rat. *Life Sci*. 2003;73:487–498.
- Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, Martin WJ, Trafton J, Petersen-Zeitz KR, et al. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science*. 2000;288:306–313.
- Davis JB, Gray J, Gunthorpe MJ, Hatcher JP, Davey PT, Overend P, et al. Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia. *Nature*. 2000;405:183–187.
- Kameyama T, Nabeshima T, Yamada S, Sato M. Analgesic and anti-inflammatory effects of 2-(10,11-dihydro-10-oxodibenzo [b,f] thiepin-2-yl) propionic acid in rat and mouse. *Arzneimittelforschung*. 1987;37:19–26.
- Manning DC, Raja SN, Meyer RA, Campbell JN. Pain and hyperalgesia after intradermal injection of bradykinin in humans. *Clin Pharmacol Ther*. 1991;50:721–729.
- Hargreaves KM, Roszkowski MT, Swift JQ. Bradykinin and inflammatory pain. *Agents Actions Suppl*. 1993;41:65–73.
- Pyne S, Pyne NJ. Differential effects of B2 receptor antagonists upon bradykinin-stimulated PLC and D in guinea-pig cultured

- tracheal smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 1993;110:477–481.
- 22 Vasko MR, Campbell WB, Waite KJ. Prostaglandin E2 enhances bradykinin-stimulated release of neuropeptides from rat sensory neurons in culture. *J Neurosci.* 1994;14:4987–4997.
- 23 Chuang HH, Prescott ED, Kong H, Shields S, Jordt SE, Basbaum AI, et al. Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns (4,5)P₂-mediated inhibition. *Nature.* 2001;411:957–962.
- 24 Premkumar LS, Ahern GP. Induction of vanilloid receptor channel activity by protein kinase C. *Nature.* 2000;408:985–990.
- 25 Sugiura T, Tominaga M, Katsuya H, Mizumura K. Bradykinin lowers the threshold temperature for heat activation of vanilloid receptor 1. *J Neurophysiol.* 2002;88:544–548.
- 26 Tang HB, Inoue A, Oshita K, Nakata Y. Sensitization of vanilloid receptor 1 induced by bradykinin via the activation of second messenger signaling cascades in rat primary afferent neurons. *Eur J Pharmacol.* 2004;498:37–43.
- 27 Inoue A, Ikoma K, Morioka N, Kumagai K, Hashimoto T, Hide I, et al. Interleukin-1 beta induces substance P release from primary afferent neurons through the cyclooxygenase-2 system. *J Neurochem.* 1999;73:2206–2213.
- 28 Inoue A, Hashimoto T, Hide I, Nishio H, Nakata Y. 5-Hydroxytryptamine-facilitated release of substance P from rat spinal cord slices is mediated by nitric oxide and cyclic GMP. *J Neurochem.* 1997;68:128–133.
- 29 Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* 1987;162:156–159.
- 30 Morioka N, Takeda K, Kumagai K, Hanada T, Ikoma K, Hide I, et al. Interleukin-1 β -induced substance P release from rat cultured primary afferent neurons driven by two phospholipase A₂ enzymes: secretory type IIA and cytosolic type IV. *J Neurochem.* 2002;80:989–997.
- 31 Hingtgen CM, Waite KJ, Vasko MR. Prostaglandins facilitate peptide release from rat sensory neurons by activating the adenosine 3',5'-cyclic monophosphate transduction cascade. *J Neurosci.* 1995;15:5411–5419.
- 32 Southall MD, Vasko MR. Prostaglandin receptor subtypes, EP₃C and EP₄, mediate the prostaglandin E₂-induced cAMP production and sensitization of sensory neurons. *J Biol Chem.* 2001;276:16083–16091.
- 33 Olah Z, Karai L, Iadarola MJ. Anandamide activates vanilloid receptor 1 (VR1) at acidic pH in dorsal root ganglia neurons and cells ectopically expressing VR1. *J Biol Chem.* 2001;276:31163–31170.
- 34 Winter J, Forbes CA, Sternberg J, Lindsay RM. Nerve growth factor (NGF) regulates adult rat cultured dorsal root ganglion neuron responses to the excitotoxin capsaicin. *Neuron.* 1988;1:973–981.
- 35 Millns PJ, Chapman V, Kendall DA. Cannabinoid inhibition of the capsaicin-induced calcium response in rat dorsal root ganglion neurones. *Br J Pharmacol.* 2001;132:969–971.
- 36 Ellington HC, Cotter MA, Cameron NE, Ross RA. The effect of cannabinoids on capsaicin-evoked calcitonin gene-related peptide (CGRP) release from the isolated paw skin of diabetic and non-diabetic rats. *Neuropharmacology.* 2002;42:966–975.
- 37 Richardson JD, Aanonsen L, Hargreaves KM. Antihyperalgesic effects of spinal cannabinoids. *Eur J Pharmacol.* 1998;345:145–153.
- 38 Skoff AM, Resta C, Swamydas M, Adler JE. Nerve growth factor (NGF) and glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) regulate substance P release in adult spinal sensory neurons. *Neurochem Res.* 2003;28:847–854.
- 39 Tanaka K, Kawasaki H, Kurata K, Aikawa Y, Tsukamoto Y, Inaba T. T-614, a novel antirheumatic drug, inhibits both the activity and induction of cyclooxygenase-2 (COX-2) in cultured fibroblasts. *Jpn J Pharmacol.* 1995;67:305–314.
- 40 Pang L, Knox AJ. PGE₂ release by bradykinin in human airway smooth muscle cells: involvement of cyclooxygenase-2 induction. *Am J Physiol.* 1997;273:L1132–L1140.
- 41 Jenkins DW, Sellers LA, Fenik W, Humphrey PPA. Characterization of bradykinin-induced prostaglandin E₂ release from cultured rat trigeminal ganglion neurons. *Eur J Pharmacol.* 2003;469:29–36.
- 42 De Petrocellis L, Harrison S, Bisogno T, Tognetto M, Brandi I, Smith GD, et al. The vanilloid receptor (VR1)-mediated effects of anandamide are potently enhanced by the cAMP-dependent protein kinase. *J Neurochem.* 2001;7:1660–1663.
- 43 Hu HJ, Bhave G, Gereau RW 4th. Prostaglandin and protein kinase A-dependent modulation of vanilloid receptor function by metabotropic glutamate receptor 5: potential mechanism for thermal hyperalgesia. *J Neurosci.* 2002;22:7444–7452.
- 44 Rathee PK, Distler C, Obreja O, Neuhuber W, Wang GK, Wang SY, et al. PKA/AKAP/VR-1 module: A common link of Gs-mediated signaling to thermal hyperalgesia. *J Neurosci.* 2002;22:4740–4745.
- 45 Khasabova IA, Simone DA, Seybold VS. Cannabinoids attenuate depolarization-dependent Ca²⁺ influx in intermediate-size primary afferent neurons of adult rats. *Neuroscience.* 2002;115:613–625.
- 46 Petersen M, Klusch A, Ekert A. The proportion of isolated rat dorsal root ganglion neurons responding to bradykinin increase with time in culture. *Neurosci Lett.* 1998;252:143–146.
- 47 Winston J, Toma H, Shenoy M, Pasricha PJ. Nerve growth factor regulates VR-1 mRNA levels in cultures of adult dorsal root ganglion neurons. *Pain.* 2001;89:181–186.

参 考 论 文

術後呼吸不全により診断された筋萎縮性側索硬化症の一例

山田 恭子*1, 井上 徹英*2, 西岡 憲吾*2
日高 昌三*2, 吉田 敬*2

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis:ALS) は上位, 下位運動ニューロンの変性により, 錐体路徴候, 筋力低下, 筋萎縮をきたし, 多くは呼吸不全で死亡する原因不明の変性疾患である¹⁾。われわれは, 術前に高度の拘束性肺機能障害を認め, 術後に呼吸不全をきたしたため精査した結果, ALS と診断された症例を経験したので報告する。

症 例

患者は75歳, 男性であり, 身長 153 cm, 体重 58.5 kg であった。

既往歴としては肋膜炎, 再生不良性貧血, 一過性脳虚血発作があった。

現病歴: 平成5年11月, 食欲不振, 歩行時のふらつきを主訴に入院し, 胃腫瘍と診断され, 胃全摘術が予定された。

術前検査所見: 血液一般, 生化学, 尿検査, 心電図には異常所見を認めなかった。呼吸機能検査で肺活量 1250 ml, %肺活量 42.5%, 一秒率100%と拘束性肺機能障害が認められた。階段の昇降は不能でトイレ歩行も困難であり, Hugh-Jones IV度の労作時呼吸困難と評価された。しかしながら, 血液ガス所見は空気呼吸下で PaCO₂ 42.9 mmHg, PaO₂ 91 mmHg と問題なく, 胸部X線写真上も異常所見は認められなかった。

術中・術後経過: 手術室入室30分前に硫酸アトロピン 0.5 mg, 塩酸ヒドロキシジン 50 mg を筋注した。麻酔導入に先立ち第9-第10胸椎間より持続硬膜外カテーテルを挿入, 留置した。導入はサイアミラール 275 mg, ベクロニウム 6 mg, フェンタニール 0.2 mg で行い, 気管内挿管後, 酸素 3 L/min, 亜酸化窒素 3 L/min, イソフルラン1.5-3.0%で維持した。術中血液ガス所見に異常は認められなかった。筋弛緩薬は手術開始30分後にベクロニウム 2 mg を追加したのみであった。術中硬膜外麻酔は併用せず, 術後疼痛管理に使用予定とした。手術時間は2時間30分, 麻酔時間は3時間55分であった。術前の肺機能低下を考慮して手術当日は人工呼吸管理をおこなった。疼痛管理として手術直後より0.25%プピカイン 40 ml にブプレノルフィン 0.2 mg を加え, 3 ml/hr で2日間硬膜外持続投与をおこなった。翌日には覚醒良好で十分な自発呼吸が得られたので気管内チューブを抜去した。一般病棟に転棟後, 経過は順調であったが, 術後3日目に突然の胸痛, チアノーゼ, 発汗過多とともに強い呼吸困難を訴えた。心電図上I, aVL, V₂~V₅ 誘導においてSTが上昇しており(図1), 胸部X線写真上軽度の肺うっ血像が認められたため, 急性心筋梗塞を疑い, ICU に再収容し人工呼吸管理, 循環管理を開始した。FiO₂ 0.7 で PaO₂ 104 mmHg, PaCO₂ 40.1 mmHg と酸素化能の悪化を認めたが, 人工呼吸開始とともに ST 変化は消失し, 循

環動態も安定した。心筋逸脱酵素の上昇はなく, 心エコー検査においても dyskinesia や asynasia はみられず収縮力は保たれており, 急性心筋梗塞は否定的となった。術後6日目には FiO₂ 0.4 で PaO₂ 152 mmHg, PaCO₂ 38.8 mmHg, と改善したため, 人工呼吸器から離脱し, 抜管したが, 術後8日目に再び呼吸困難を訴えた。FiO₂ 1.0 の調節呼吸下で PaO₂ 64 mmHg, PaCO₂ 50.1 mmHg, と低酸素血症, 高炭酸ガス血症をきたしており, 胸部X線写真上, 左下肺の無気肺と肺炎像が認められた。抗生物質を投与しつつ気管支ファイバースコープを用いて喀痰吸引を頻回に行い, 呼吸器からの離脱を試みたが, 気管内チューブを抜去するとすぐに浅呼吸, 頻呼吸となり, 高炭酸ガス血症をきたして再挿管を余儀なくされ, 呼吸器から離脱することができなかった。

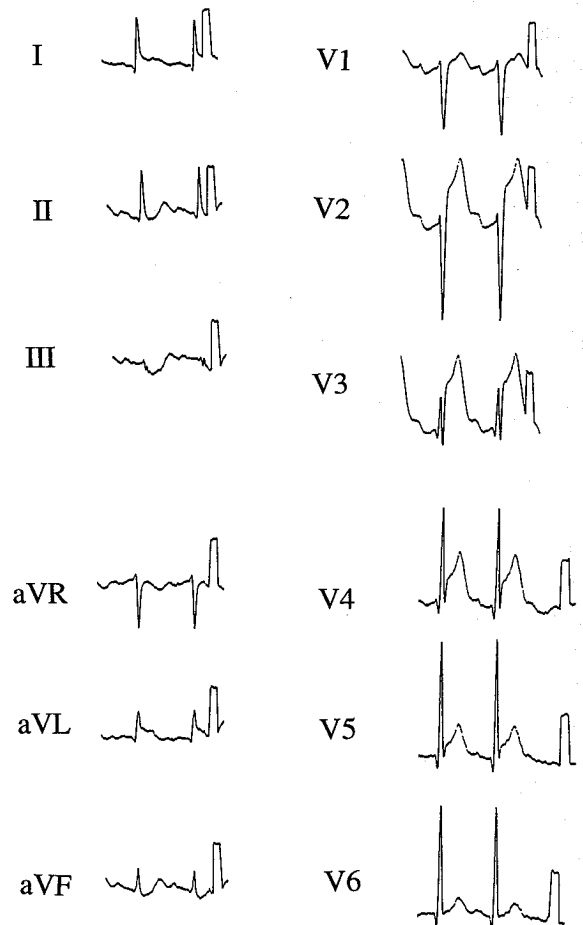


図1 心電図

Key words: amyotrophic lateral sclerosis, respiratory failure, preoperative evaluation

*1 現中国労災病院麻酔科

*2 北九州総合病院麻酔集中治療科

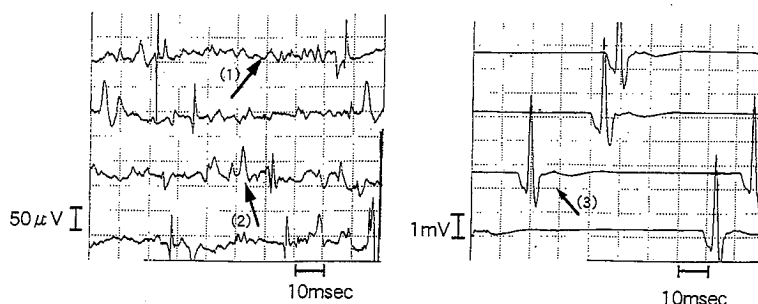


図2 筋電図

(1) fibrillation potential, (2) fasciculation potential, (3) giant spike

四肢の動きは比較的良好で筋力も保たれていたが、呼吸筋運動が異常に弱く、喀痰排出困難、換気障害が呼吸器離脱困難の原因と思われた。創部の治癒は良好で、縫合不全や感染は全く見られておらず、その時点で神経筋疾患を疑い、術後18日目に神経内科に紹介した。

神経学的所見では下肢の筋力はほぼ正常であったが、舌、上肢の筋力は低下しており、四肢に fasciculation を認めた。知覚障害はなく、病的反射は認められなかったが、腱反射は上下肢ともに低下していた。筋電図では、筋の自発放電を示す線維自発電位 (fibrillation potential) や線維束電位 (fasciculation potential)、神経が障害を受けた後に他の神経によって再支配されたことを示す巨大スパイク (giant spike) が認められた (図2)。いずれも神経原性の変化であり、ALS の所見と一致していた。体性感覚誘発電位、頸部 CT で異常所見はなく、診断は確定的となった。以後、筋力低下は徐々に進行し、呼吸器から離脱できないまま術後11ヵ月目に呼吸不全にて死亡した。

考 察

神経筋疾患における呼吸不全、とくに呼吸筋の筋力低下による呼吸不全は、通常、疾患がある程度進行した段階で起こる²⁾が、ALS には四肢の筋力低下や球麻痺症状を呈する通常の病型の他に、四肢の筋力低下よりも呼吸筋の筋力低下が主症状である病型も報告されている³⁾。本症例も、半年前より歩行時のふらつき、左上肢挙上困難などの症状は出現していたものの、神経筋疾患は疑われておらず、整形外科で肩関節周囲炎と診断され、理学療法を行っていた。ALS における呼吸不全の特徴として、疾患の進行とともに %VC は徐々に低下するものの、血液ガス所見は末期まで比較的正常に保たれていると言われている²⁾。したがって呼吸筋障害の評価には血液ガス分析より肺機能検査のほうが有用であると考えられる。本症例においても手術前の肺機能検査では著明な肺活量の低下を認めているにもかかわらず、血液ガス所見は正常であった。このように ALS の臨床診断は一般的に困難である場合が多い。

ALS 患者の全身麻酔管理上、最も問題となるのは筋弛緩薬の投与である。脱分極性筋弛緩薬は高カリウム血症をきたすため、禁忌とされている⁴⁾。また、非脱分極性筋弛緩薬も作用の遷延をおこす⁵⁾ため投与量を考慮する必要がある。実際に筋弛緩薬は全く用いずに全身麻酔をおこなった⁶⁾という報告や、筋弛緩モニター下に少量ずつ投与したにもかかわらず作用の遷延を認めたとの報告⁷⁾もある。本症例は導入時にベクロニウムを 6 mg 投与し、手術開始30分後に 2 mg 追加したのみで、その後は筋弛緩薬の投与

は必要としなかった。このことより、本症例においては筋弛緩薬の作用遷延が疑われるが、術前より予防的に人工呼吸管理をする予定であったため筋弛緩モニターによる評価、及び筋弛緩薬の拮抗薬の投与は行っておらず、遷延性呼吸障害が筋弛緩薬によるものかどうかは断定はできない。いずれにしても ALS では脊髄前角細胞の変性によりアセチルコリンの合成酵素が減少している可能性⁸⁾もあり、筋弛緩薬の使用には十分な注意が必要である。硬膜外麻酔及び、脊椎麻酔は、麻酔を契機とした神経症状の急性増悪が見られた場合、麻酔手技の関与を積極的に否定できないため、避けるべきとされている⁹⁾が、全身麻酔の悪影響を減じることを考えて選択し、合併症なく経過したとの報告¹⁰⁾もあり、意見が別れるところである。本症例では術直後より2日間、持続硬膜外麻酔による疼痛管理をおこなったが、麻酔域が胸髄レベルであったこと、ブプレノルフィンを投与していたことより、呼吸抑制の原因の一つとなった可能性も考えられる。他には全身麻酔薬の呼吸抑制、嚥下反射の低下による影響が挙げられる。本症例では、術前から呼吸筋力低下、嚥下反射の低下が存在しており、呼吸予備力が低下していた。この状態に手術侵襲、全身麻酔及び筋弛緩薬による呼吸抑制が加わり、相対的に呼吸筋への負担が増大し換気量が低下した。さらに咳嗽反射、嚥下反射の低下が加わり重篤な呼吸不全を発現させたものと考えられた。

本症例では術前診察時に周術期の呼吸器合併症の可能性が高いことを外科医に伝え、手術計画の再検討を要請している。しかし、悪性疾患であったために術前に肺機能低下の原因を十分に評価しないまま、手術を施行した事が反省される。原因不明の肺活量低下に四肢の筋力低下をともなっている場合、神経筋疾患の合併を疑う必要があると考えられる。呼吸不全を起こす疾患として ALS を再認識し、呼吸予備能に応じた手術適応の決定、麻酔法の選択が大切であると思われた。

引用文献

- 1) 高橋 昭：内科学. pp. 1486-1488. 朝倉書店、東京、1989
- 2) 磯崎英治、小島 進、高木昭夫、他：神経筋疾患における呼吸機能の検討。神経内科、25：371-378、1986
- 3) 平田幸一、片山宗一、森山俊男、他：呼吸筋麻痺を初発症状とした筋萎縮性側索硬化症。神経内科、22：383-385、1985
- 4) Cooperman LH: Succinylcholine-induced hyperkalemia in neuromuscular disease. JAMA 213:1867-1871, 1970
- 5) 布 昌彦、上田隆夫、斉藤道夫、他：筋萎縮性側索硬化症患者の麻酔経験。臨床麻酔、11：113-114、1987
- 6) 林 進、浜谷 進、前川信博、他：筋萎縮性側索硬化症の

- 麻酔. 臨床麻酔, 8:105-106, 1984
- 7) 窪田 武, 石原弘規, 松木明知, 他: 筋萎縮性側索硬化症のイソフルレン麻酔. 臨床麻酔, 15:1073-1074, 1991
- 8) Azar I: The response of patients with neuromuscular disorders to muscle relaxants; A Review. *Anesthesiology* 61:173-187, 1984
- 9) Vandam LD, Dripps RD: Exacerbation of pre-existing neurologic disease after spinal anesthesia. *New Eng J Medicine* 255:843-849, 1956
- 10) Kochi T, Oka T, Mizuguchi T: Epidural anesthesia for patients with amyotrophic lateralsclerosis. *Anesth Analg* 68:410-412, 1989

—1995年8月25日 受—

ABSTRACT

A Case of Amyotrophic Lateral Sclerosis Diagnosed as a Result of Postoperative Respiratory Failure

Kyoko YAMADA*¹, Tetsuhide INOUE*², Kengo NISHIOKA*²
Shozo HIDAKA*² and Takashi YOSHIDA*²

*¹ Department of Anesthesia, Chugoku Rosai General Hospital, Hiroshima, Japan

*² Department of Anesthesia, Kitakyushu General Hospital, Fukuoka, Japan

A 75-year-old male was scheduled for subtotal gastrectomy under general anesthesia. Preoperative examinations showed almost normal status, but vital capacity was 42.5 percent of predicted value. The operation was completed with no major complications; however in consideration of possible impairment of respiratory function, mechanical ventilation was used for the first postoperative day. The trachea was extubated on the second postoperative day, but the patient fell in severe respiratory failure on the third postoperative day, and weaning

from the respirator was difficult because of respiratory muscle weakness. He diagnosed as having amyotrophic lateral sclerosis (ALS), based on electromyography conducted postoperatively. In conclusion, we experienced an unexpected case of ALS diagnosed as a result of postoperative respiratory failure. We should consider the possible existence of neuromuscular disorders when we evaluate patients showing decreased vital capacity in the absence of lung disease.

睡眠時無呼吸を呈した Hunter 症候群の麻酔経験

山田 恭子 中川 五男 久保田 稔
仁井内 浩 神谷 達

麻 酔
第 46 卷 第 7 号 別 刷
克 誠 堂 出 版 株 式 会 社

睡眠時無呼吸を呈した Hunter 症候群の麻酔経験

山田 恭子* 中川 五男* 久保田 稔*
仁井内 浩* 神谷 達*

要 旨

Hunter 症候群はムコ多糖が全身に沈着するムコ多糖症 (MPS) の II 型であり、麻酔管理上、気道確保の困難性、呼吸器系合併症が問題となる。われわれは気管切開、気管支ファイバーの準備下で自発呼吸を残したまま緩徐導入し、術後は予防的に人工呼吸を行い、安全に管理することができた。本疾患では術前に上気道の評価を行ったうえで、十分な準備のもとで麻酔導入を行い、術後も厳重な呼吸管理が必要である。

Hunter 症候群は先天性酵素欠損によりムコ多糖が全身に異常沈着するムコ多糖症 (mucopolysaccharidosis: 以後 MPS と略す) の II 型に属するまれな疾患で、気道確保困難、心・呼吸器系合併症を伴い麻酔管理上さまざまな問題点がある。われわれは、睡眠時無呼吸を呈した Hunter 症候群の麻酔管理を経験したので報告する。

1. 症 例

患児は2歳1カ月の男児、身長84.7 cm、体重14.1 kgであった。帝王切開にて出生し、1歳時の検診までに異常を指摘されたことはなかった。

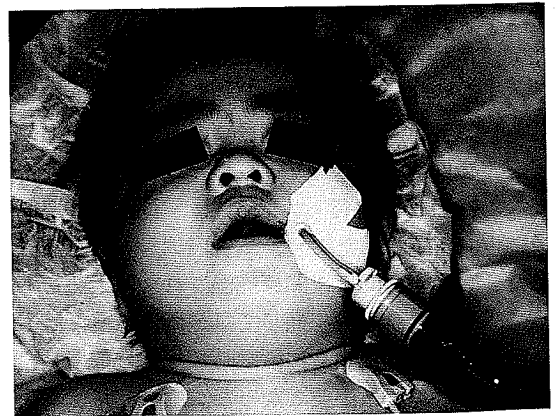
現病歴：1歳時に気管支炎のため入院。呼吸困難から不穏状態となり、人工呼吸管理を施行されているが、そのさいに気管内挿管が非常に困難であったとの指摘を受けた。退院後より睡眠時に呼吸困難および無呼吸を生じるようになり、しだいに増悪していった。上気道狭窄、特有な顔貌、体型より MPS が疑われ、尿中ムコ多糖分析が施行

された。デルマトン硫酸 (DS)、ヘパラン硫酸 (HS) の上昇が認められ、MPS と診断された。上気道狭窄を改善するため、アデノイド切除術が予定された。

入院時身体所見：ガルゴイル様顔貌 (図)、短頸、多毛、肝腫大、臍ヘルニアが認められたが、巨舌、歯肉腫脹、環椎軸椎亜脱臼、明らかな脊椎の変形はなかった。運動発達は年齢相応であったが、言語発達遅滞を認めた。

検査所見：血液生化学所見では軽度の肝機能低下のみで他に異常はなかった。胸部 X 線写真では肺野は異常なかったが、肋骨はオール状に変形しており、心胸郭比は58%と拡大していた。心電図上不完全右脚ブロックがあり、心エコーでは心室中隔、左室後壁の肥厚、三尖弁閉鎖不全を認めしたが、心機能は保たれていた。

呼吸状態：安静時より上気道狭窄音を聴取し、就眠すると陥没呼吸、無呼吸となった。夜間は右



図

* 中国労災病院麻酔科

1996年11月19日受領：1996年12月25日掲載決定

鼻腔より経鼻エアウエイを挿入し、気道確保、吸引を行い、睡眠時無呼吸は軽快していた。血液ガス所見では、空気呼吸下で PaO_2 69.5 mmHg、 Paco_2 37.4 mmHg と軽度の低酸素血症が認められた。耳鼻科で施行された喉頭ファイバーでは、咽喉頭の軟部組織は浮腫状に腫脹しており、声帯の肥厚はないものの、声門付近のオリエンテーションはつきにくいとの所見であった。また、左鼻腔はアデノイドで閉塞しており、ファイバーは通過できなかった。

麻酔経過：気道閉塞の危険性を考慮して前投薬は投与しなかった。静脈確保を行ったのちに手術室に入室し、アトロピン0.15 mg を静注した。気道確保困難が予想されたため、夜間使用している経鼻エアウエイ、気管支ファイバー、気管切開の準備をしたうえで麻酔導入を行った。自発呼吸を残したまま、純酸素を投与しながらセボフルレン濃度を0.5%から徐々に上げて5%とした。上気道狭窄音、軽度の陥没呼吸は認められたが、マスク換気は十分に可能であった。フェンタニル50 μg 、ベクロニウム2 mg を投与し、喉頭展開したところ術前の喉頭ファイバーの所見どおり、咽喉頭は浮腫状で、声門は背側がかるうじて観察された。2回目の挿管操作で半盲目的に気管内チューブを挿入した。気管内挿管後、気管内、口腔内より多量の分泌物を吸引した。麻酔維持は酸素-笑気-セボフルレンで行い、吸入酸素濃度を0.5~0.66として Sao_2 を97~100に保った。術中の喉頭ファイバー所見では、アデノイドが上咽喉頭を占拠しており、左後鼻腔は閉塞していた。アデノイド切除後、後鼻腔が見えるようになり、鼻呼吸が可能な状態となった。麻酔経過は問題なく、手術時間は36分、麻酔時間は1時間50分であった。手術操作による咽喉頭の腫脹、再出血による気道閉塞が懸念されたため、術後はICUにて人工呼吸管理を行った。翌日、術後約12時間後に止血を確認したのち、気管内チューブを抜去した。術後4日間は夜間は加湿された酸素テント下で経鼻エアウエイを通じて気道確保するとともに吸引を行った。徐々に睡眠時無呼吸は改善し、経鼻エアウエイは不要となった。肺炎、気管支炎などの呼吸器合併症は起こらず、術後7日目に退

院となった。後日、酵素診断の結果、スルホイズロン酸スルファターゼの欠損が認められ、Hunter症候群と診断された。

2. 考 察

Hunter症候群はMPSのII型で伴性劣性の遺伝形式をとり、頻度は出生男児3.6~7.8万あたり1人程度とされている。主な臨床症状としては、顔貌の異常、肝脾腫、低身長、ヘルニア、多毛、多発性骨異形成、関節の運動制限、心障害、精神運動発達遅滞がある。気道感染は反復して出現し、鼻咽腔の変形、巨舌による上気道狭窄、脊椎体の後側彎および胸郭発達不良による呼吸運動の制限などによる呼吸障害が加齢に伴い増強し、重症型では15歳までに肺炎または心不全で死亡する¹⁾。まれな疾患であるが、臍ヘルニア、鼠径ヘルニア、水頭症などを高率に合併し、手術適応となることが多い。

Hunter症候群の麻酔管理上もっとも問題となるのは、気道確保の困難性と呼吸器系合併症である。狭い気管、厚い声帯、上気道の肉厚な諸組織、巨舌などが気道狭窄の原因となり、また環軸関節の不安定のために過度の伸展は避けなければならないため、本疾患に対する気道確保は非常に困難な場合がある²⁾。麻酔導入の方法としては、自発呼吸を残して意識下挿管を行ったという報告³⁾や、マスク換気中に分泌物による気道閉塞を起こしたため急速導入に切り替えたという報告⁴⁾、ラリンジアルマスクを用いたという報告⁵⁾、気管内挿管は避け局所麻酔を併用したマスク麻酔を行ったとの報告⁶⁾などがある。本症例では術前に睡眠時無呼吸を呈していたが、経鼻エアウエイで気道確保が可能であることが判明していたため、自発呼吸を残しながらセボフルレン濃度を徐々に上げていき、マスク換気が可能であることを確認したのちに筋弛緩薬の投与を行った。今回は上気道狭窄の解除を目的とした手術であったため、術前に睡眠時呼吸障害のパターンの把握、ファイバーによる鼻腔、咽喉頭付近の観察がなされていたこと、経鼻エアウエイでの気道確保が可能なが分かっていたことで、本症例では麻酔導入を比較的円滑に行うことができた。本疾患

のように挿管困難が予想される症例では、術前の気道の状態を評価することは麻酔管理上非常に重要である。頸部 X 線写真から挿管困難度の予測を行うことは一般的に行われているが、軟部組織の評価は可視範囲にとどまっていることが多い。術前に耳鼻科医に依頼して喉頭ファイバーの所見をビデオ撮影し、有用であったとの報告⁷⁾もあり、本疾患では上気道狭窄の主な原因となる軟部組織のより詳細で視覚的な評価が必要であると思われる。また、本症例では手術後に Hunter 症候群との確定診断がついたが、MPS では病型により気道確保困難度が異なるため、術前に明確な診断をつけるほうが望ましいと思われる。麻酔導入にさいしては挿管が不可能である可能性を考慮して、気管支ファイバー、気管切開などの十分な準備が必須であり、自発呼吸下に導入を開始し、マスク保持が可能であることを確認したうえで筋弛緩薬を投与するほうがより安全であろう。

本疾患では口腔内、気管内分泌物過多を伴い、周術期に無気肺、肺炎などの呼吸器合併症を起こしやすい。導入時の口腔内分泌過多は気道閉塞、喉頭痙攣の原因となるため、前投薬としての抗コリン薬の投与が有用と思われる。啼泣による分泌過多を防ぐ目的で鎮静薬を使用したという報告⁸⁾もあるが、術前および術後の呼吸抑制、気道閉塞を起こす危険性があるため使用しないほうがよいと思われる。実際、本症例では検査のさいに投与したリン酸トリクロルエチルナトリウムで気道閉塞を起こした既往があり、術前には使用しなかったが、導入時に多少の啼泣はあったものの気道閉塞を生じるほどの分泌過多はみられなかった。挿管後は気管内分泌物が多く、術中、術後ともに頻回の吸引を要した。術前に睡眠時無呼吸などの気道閉塞症状を示す患者は、術後も高率に気道閉塞を生じると報告⁹⁾されており、抜管は慎重に行うべきである。抜管後も呼吸器系感染症を予防するために喀痰排泄、抗生物質投与を行い、嚴重な呼吸状態の観察が必要であると思われた。

以上、Hunter 症候群の麻酔管理上もっとも問題となるのは気道確保困難、呼吸器系合併症である。術前に上気道の状態の詳細な評価を行ったうえで、十分な準備のもとで麻酔導入を行い、術

中・術後を通して嚴重な呼吸状態の観察が必要であると思われた。

引用文献

- 1) 谷口 昂：遺伝性ムコ多糖症. 小児内科 21: 257, 1989
- 2) Sigren P, Pedersen T: Anesthetic problems in Hurler-Scheie syndrome. Report of two cases. Acta Anaesthesiol Scand 30: 484, 1986
- 3) 杉本匡弘, 竹本 潔, 宮崎道彦ほか：ムコ多糖症 (Scheie's syndrome) の麻酔経験. 日臨麻誌 16: 375, 1996
- 4) 鈴木美佐子, 塚越完子, 芦沢直文ほか：Mucopolysaccharidosis 患者の麻酔経験. 麻酔 25: 977, 1976
- 5) 小林俊哉, 大久保義則, 篠原昌之：ラリンジアルマスクを用いた Hunter 症候群の麻酔経験. 臨床麻酔 19: 421, 1995
- 6) 竹中元康, 下中浩之, 赤松 繁ほか：Hunter 症候群の麻酔経験. 麻酔 37: 1542, 1988
- 7) 立山俊朗, 土居久栄, 高野修身ほか：ムコ多糖症患者の喉頭周囲所見と硬膜外腔造影所見. 麻酔 41: S 912, 1992
- 8) 村上 剛, 中村祐二, 井本真帆ほか：ムコ多糖症の麻酔経験. 臨床麻酔 14: 1497, 1990
- 9) Belani KG, Krivit W, Carpenter BL, et al: Children with mucopolysaccharidosis: perioperative care, morbidity, mortality, and new findings. J Pediatr Surg 28: 403, 1993

ABSTRACT

Anesthetic Management of a Child with Hunter Syndrome Associated with Sleep Apnea

Kyoko YAMADA, Itsuo NAKAGAWA,
Minoru KUBOTA, Hiroshi NIINAI
and Toru KAMIYA

Department of Anesthesia, Chugoku Rosai General
Hospital, Kure, 737-01

A 2-year-old boy with Hunter syndrome was

scheduled for adenotomy under general anesthesia. Preoperative examinations of this patient revealed that he had stridor, sleep apnea, short neck, and a hypertrophic pharyngeal structure as revealed by fiberoptic pharyngoscopy, from which we expected to encounter difficulty in mask ventilation and tracheal intubation. On standby with settings for an emergency fiberoptic laryngoscopy and an emergency tracheotomy, we first attempted slow induction technique preserving spontaneous breathing. Thereafter mask ventilation was possible and a muscle relaxant was administered. On the second

trial, almost blind orotracheal intubation was successful. Postoperatively, mechanical ventilation was performed for 12 hours, in consideration of the airway obstruction due to pharyngeal bleeding and edema.

The most severe anesthetic complication in the case of Hunter syndrome is the difficulty of intubation and respiratory disorder. Preoperative evaluation of the upper airway and careful perioperative monitoring and observation of respiration are of the greatest importance.

塩酸シルチアゼムが内頸静脈血酸素飽和度に及ぼす影響

山田 恭子 中川 五男 久保田 稔 仁井内 浩
神谷 達 采谷 英男 酒井 明彦

麻 酔
第 47 卷 第 4 号 別 刷
克 誠 堂 出 版 株 式 会 社

phy before and during general anaesthesia.
Acta Anaesthesiol Scand 37: 549, 1993

ABSTRACT

Positive End-expiratory Pressure Facilitates Washout of Nitrous Oxide in Patients with Obstructive Pulmonary Disease

Yutaka YAMAZAKI, Mitsuko MIMURA*,
Hajime SONODA, Sumihiko SEKI**
and Akiyoshi NAMIKI***

*Department of Anesthesiology, Kushiro City
General Hospital, Kushiro, 085-0822, *Takikawa
Municipal Hospital, Takikawa, 073-0022 and
**Sapporo Medical University School of Medicine,
Sapporo, 060-0061*

This study was designed to investigate the relationship between nitrous oxide elimination and each value of pulmonary function tests: percent vital capacity, air way resistance and percent of forced expiratory pressure ($FEV_{1.0}\%$) in patients undergoing general anesthesia. Furthermore, the

effect of positive end-expiratory pressure (PEEP) on nitrous oxide elimination was studied. Thirty nine patients, anesthetized by oxygen, nitrous oxide and sevoflurane, were allocated randomly to one of two groups; one, with PEEP 10 cmH_2O during nitrous oxide elimination and the other, without. After discontinuation of nitrous oxide, the concentration of nitrous oxide was measured at 15 sec intervals under controlled ventilation with 100% oxygen-sevoflurane.

There was a significant correlation between nitrous oxide washout time and $FEV_{1.0}\%$ ($P < 0.05$). Patients were further divided into two subgroups: $FEV_{1.0}\%$ of over 70% (normal FEV) and that of less than 70% (low FEV). In the normal FEV group, the washout time was unaffected by PEEP. In the low FEV group, the washout times, with and without PEEP, were 7.07 ± 0.93 min and 9.13 ± 2.32 min, respectively. The difference was significant ($P < 0.05$).

These results suggest that patients with chronic obstructive lung disease are at risk of delay in nitrous oxide elimination. This delay was found to be preventable with PEEP.

塩酸ジルチアゼムが内頸静脈血酸素飽和度に及ぼす影響

山田 恭子** 中川 五男* 久保田 稔* 仁井内 浩*
神谷 達*** 采谷 英男* 酒井 明彦*

要 旨

低用量 ($2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) の塩酸ジルチアゼムを 180 分間投与し、血中濃度を測定するとともに脳血流、脳代謝の指標としての内頸静脈酸素飽和度 (SjO_2) に及ぼす影響を検討した。全経過を通じて平均血圧、 SjO_2 に有意な変化は認められなかった。血中濃度は有効域に達し、投与中の動脈血と内頸静脈血の濃度曲線下面積に有意差が認められた。以上により、本投与量の塩酸ジルチアゼムは脳組織内への取り込みが認められたが、 SjO_2 には影響を与えないことが示された。

塩酸ジルチアゼムはその冠血管拡張作用により抗狭心症薬として広く利用されてきたカルシウム拮抗薬であるが、最近では降圧薬として高血圧緊急症にも用いられている。さらに脳血管障害患者の急性期の血圧管理にも使われているが、その血管拡張作用により脳血流を増加させ、頭蓋内圧亢進を惹起する可能性がある¹⁾。われわれは低用量の塩酸ジルチアゼムが脳血流と脳代謝の指標としての内頸静脈酸素飽和度 (SjO_2) に及ぼす影響を検討した。

1. 対象と方法

対象は内頸動脈閉塞症に対し浅側頭動脈-中大脳動脈吻合術を予定された患者 7 症例で、男性 4 症例、女性 3 症例であった。年齢は 62 ± 7 (52~74) 歳で、身長 $156 \pm 7 \text{ cm}$ 、体重 $55.2 \pm 6.5 \text{ kg}$ であった。患者には研究の概要を説明し、

同意を得た。術前合併症として 5 症例に高血圧、全症例に脳梗塞、一過性脳虚血発作の既往が認められたが、いずれの症例も ASA リスク分類 2 であった。

麻酔前投薬として手術室入室 1 時間前にジアゼパム 5~10 mg を経口投与した。麻酔導入はチアミラール、フェンタニル、ベクロニウムで行い、気管内挿管後、酸素 $2 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ 、亜酸化窒素 $4 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ 、イソフルラン 0.5~1% で維持した。換気量は Paco_2 が 35~40 mmHg となるように調節した。術前に施行された脳血管造影で内頸静脈に走行異常のないことを確認したのち、内頸静脈より SjO_2 測定用の内頸静脈カテーテル (Opticath™4 F) を挿入し、内頸静脈球部に先端を留置した。手術開始後、開頭、硬膜切開が終了して循環動態が安定したのち、塩酸ジルチアゼムの投与を開始し、 $2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ で 180 分間持続投与を行った。

測定項目は血圧、心拍数、 SjO_2 、塩酸ジルチアゼム動脈血、内頸静脈血中濃度とし、塩酸ジルチアゼム投与前、投与開始後 30 分ごとに 180 分後まで、投与終了後 30、60、90、150 分の 11 時点において測定を行った。検体は採血後ただちに 3000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、血漿は測定まで凍結保存した。血漿中濃度は UV-HPLC 法にて定量した。血漿中濃度の解析は山岡らの薬物速度論用マイクロコンピュータ用プログラム、非線形最小自乗法 MULTI 2 (BAYES) を用いて、薬物動態パラメータを算出した。アルゴリズムはシンプレックス法を用い、濃度曲線下面積 (area under the curve : AUC) は台形公式で算出した。

数値は平均値 ± 標準偏差で表わした。統計学的

* 中国労災病院麻酔科

** 中国労災病院麻酔科

(現：広島大学医学部麻酔・蘇生学教室)

*** 中国労災病院麻酔科 (現：吉田総合病院麻酔科)

1997 年 5 月 28 日受領：1997 年 9 月 5 日掲載決定

処理は血圧、心拍数、 SjO_2 についてはANOVAを、AUCについてはpaired t検定を用いて行い、 $P < 0.05$ を有意とした。

2. 結果

1) 血行動態

平均血圧、心拍数は全経過を通じて有意な変化は認められなかった。房室ブロック、高度の徐脈を起こした症例はなかった。 SjO_2 も全経過を通じて有意な変化は認められなかった(表1)。

2) 血中濃度

動脈血では投与開始後より血中濃度は上昇し、180分後に最高値をとった。投与終了後より血中濃度は速やかに減少した。内頸静脈血中濃度は投与中は動脈血とほぼ同様の傾向を示し、投与終了後は動脈血濃度より高値をとった(表2)。

3) 薬物動態パラメータ

動脈血中濃度より算出した分布容積は $2.10 \pm 0.56 \text{ l} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、消失速度定数は $0.74 \pm 0.14 \text{ hr}^{-1}$ 、半減期は $0.97 \pm 0.17 \text{ hr}$ 、クリアランスは $1.49 \pm 0.23 \text{ l} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ であった。塩酸ジルチアゼム投与中のAUCは動脈血で $147 \pm 27 \text{ ng} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$ 、内頸静脈血で $126 \pm 25 \text{ ng} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$ と有意差が認められた。

3. 考察

カルシウム拮抗薬の血管拡張作用は血管平滑筋のL型カルシウムチャンネルに結合し、カルシウムの細胞内流入を遮断することにより発現する²⁾。脳血管の収縮・弛緩機構は他の末梢血管に比べL型チャンネルへの依存度が高いため、カルシウム拮抗薬の血管収縮抑制作用は脳動脈において選択的に強いことが犬での実験で明らかにされている³⁾。このことから、カルシウム拮抗薬は体血圧を低下させるが脳血流量を増加させ、頭蓋内圧亢進を惹起して脳灌流圧を下げると思われる。しかしながら、塩酸ジルチアゼムに関しては、 $180 \text{ mg} \cdot \text{day}^{-1}$ の8週間経口投与で ^{133}Xe 吸入法による脳血流量が不変であったとの報告⁴⁾があるが、ヒトでカルシウム拮抗薬投与中の脳血流量を測定した報告はきわめて少ない。

今回、脳血流と脳酸素代謝の指標として SjO_2 を用いた。 SjO_2 値はFickの原理の式より以下のごとく導かれる。

$$SjO_2 = SaO_2 - (CMR O_2 / CBF \times Hbg)$$

(SaO_2 : 動脈血酸素飽和度, $CMR O_2$: 脳酸素

表1 平均血圧, 心拍数, SjO_2 の変化

| | 投与前 | 投与開始後 | | | | | | 投与終了後 | | | | (min) |
|----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|-------|
| | | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 | 180 | 30 | 60 | 90 | 150 | |
| 平均血圧 (mmHg) | 80.2 ±6.1 | 80.0 ±4.4 | 77.1 ±5.1 | 75.7 ±6.9 | 73.5 ±7.5 | 76.2 ±7.4 | 74.7 ±6.8 | 77.0 ±6.1 | 75.1 ±7.6 | 73.8 ±6.4 | 79.3 ±15.5 | |
| 心拍数 (bpm) | 74.2 ±8.9 | 73.1 ±10.2 | 72.4 ±12.4 | 74.4 ±7.7 | 74.1 ±7.5 | 72.1 ±9.0 | 72.4 ±10.0 | 69.5 ±8.6 | 73.6 ±12.7 | 70.8 ±10.5 | 73.3 ±9.2 | |
| SjO_2 (%) | 64.8 ±8.1 | 63.6 ±10.4 | 64.0 ±9.1 | 62.7 ±10.0 | 62.7 ±8.9 | 62.0 ±8.2 | 63.1 ±7.9 | 63.7 ±8.6 | 66.0 ±8.4 | 66.8 ±9.2 | 72.7 ±11.2 | |

(mean±SD)

表2 塩酸ジルチアゼム血中濃度の変化

| | 投与前 | 投与開始後 | | | | | | 投与終了後 | | | | (min) |
|---|-----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|-------|
| | | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 | 180 | 30 | 60 | 90 | 150 | |
| 動脈血 ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) | 0 | 26.5 ±13.5 | 46.7 ±10.4 | 52.6 ±11.6 | 60.7 ±11.8 | 67.9 ±10.3 | 75.0 ±14.2 | 44.7 ±7.7 | 34.4 ±5.9 | 28.3 ±5.8 | 20.0 ±5.3 | |
| 内頸静脈血 ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) | 0 | 18.5 ±11.6 | 37.0 ±11.4 | 44.7 ±12.1 | 53.7 ±8.9 | 63.4 ±11.9 | 69.0 ±13.3 | 48.2 ±11.5 | 37.9 ±7.0 | 31.8 ±7.2 | 19.3 ±6.7 | |

(mean±SD)

消費量, Hbg: 血中ヘモグロビン濃度)

よって, 動脈血酸素飽和度と血中ヘモグロビン濃度が一定の場合, 脳血流量と脳酸素消費量の比によって規定される。本研究では測定中に麻酔薬をほぼ一定に保っており, 体温も大きな変化がないため脳代謝の変動は軽度であり, 脳酸素消費量の変化は少ないと思われる。また, 術中に動脈血酸素飽和度の変化や急性の出血を来した症例はなく, 動脈血炭酸ガス濃度, 吸入気イソフルラン濃度はほぼ一定に保たれており, さらに脳血流へ大きな影響を与えるような手術操作はなかった。以上により, 本研究における SjO_2 値は脳血流の動態を反映すると考えてよいと思われる。したがって, 今回の結果から本投与量の塩酸ジルチアゼムは, 脳血流量を変化させないと推察される。この結果は, 正常脳圧患者においては塩酸ジルチアゼムは頭蓋内圧を変化させない⁵⁾, 軽度脳圧亢進患者においてもニカルジピン, ニトログリセリンに比し, 脳圧の上昇は軽度であった⁶⁾というこれまでの報告と矛盾しない。

今回の動脈血血中濃度より算出した薬物動態パラメータは上野らの報告⁷⁾とほぼ同じであった。動脈血血中濃度は 90 分後には冠拡張作用の有効血中濃度である $50 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ 以上に達していた。また, 中毒量である $200 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ を超えた症例はなかった。動脈血, 内頸静脈血間の AUC の較差は脳組織内に取り込まれた薬物量を表わす。塩酸ジルチアゼム投与中の 180 分間の AUC は動脈血, 内頸静脈血間で有意差が認められた。このことから, 本投与量の塩酸ジルチアゼムは有効血中濃度に達し, 脳組織内に取り込まれ脳内で何らかの作用を及ぼしていることが示唆された。これらの結果より, 本投与量は脳内に作用を及ぼすにたる量であるが, 体血圧, 脳血流量に有意な影響を及ぼさず, 安全に使用できるものと考えられる。

今回の研究では, 高血圧を合併した患者も術前に内服薬でコントロールされており, 導入後に異常高血圧を呈した患者はいなかった。また, すべての患者は虚血性脳疾患を合併しているため低血圧を避けねばならず, $2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ という低用量の投与となった。本投与量は一般に冠血管収縮抑制作用を期待して用いられる量である

が, 実際の臨床でしばしば問題となるのは, 頭蓋内圧亢進を伴った高血圧緊急症の患者に対し, 体血圧を低下させる量の塩酸ジルチアゼムを投与した場合である。カルシウム拮抗薬の脳血流増加作用は用量依存性とされており⁸⁾, また脳血流自己調節能が及ぼす影響も考慮しなければならないため, 今回の結果をそのままより高用量の投与量に適應することは難しく, さらなる検討が必要であろう。また, 今回の研究対象となった虚血性脳疾患合併患者では脳血管の正常な反応性や自己調節自体が失われている場合があり, また脳血管拡張物質による脳内盗血現象 (intracerebral steal phenomenon) の可能性もあるため, 今回の結果がそのまま脳疾患のない患者に適應できるかは明確でない。 SjO_2 は侵襲的なモニタリングであるため, 脳疾患のない患者における同様の研究の報告はほとんどないが, 今後は正常者での検討も必要となろう。

以上, 低用量の塩酸ジルチアゼムが SjO_2 に及ぼす影響を検討した。本投与量では, 薬物動態より脳組織に取り込まれていることが示唆されたが, SjO_2 に有意な影響は与えなかった。

引用文献

- 1) Mazzoni P, Griffin JP, Cottrell J, et al: Intracranial pressure during diltiazem-induced hypotension in anesthetized dogs. *Anesth Analg* 64: 1001, 1985
- 2) 遠藤政夫: カルシウム拮抗薬—解明された基礎と臨床への応用—. 東京, 医薬ジャーナル社, 1995, p 11
- 3) Simizu K, Ohta T, Toda N: Evidence for greater susceptibility of isolated dog cerebral arteries to Ca antagonists than peripheral arteries. *Stroke* 11: 261, 1980
- 4) 長木淳一郎: Ca 拮抗剤 diltiazem の局所脳血流量および血圧に及ぼす影響—慢性期脳血管障害および非合併高血圧症の比較—. *脈管学* 26: 1297, 1986
- 5) 黒川 泰, 阿美古征生, 池山幸英: 開頭術後の頭蓋内圧に及ぼす Diltiazem の影響. *薬理と治療* 20: 249, 1992
- 6) Hirayama T, Katayama Y, Kano T, et al:

Control of systemic hypertension with diltiazem, a calcium antagonist, in patients with a mildly elevated intracranial pressure: A comparative study. *Neurol Res* 16: 97, 1994

- 7) 上野和行, 田中一彦, 平松謙二ほか: 麻酔中におけるジルチアゼムの薬物動態. *TDM 研究* 2: 83, 1994
- 8) 小張昌弘: カルシウム拮抗薬と脳循環. *脳卒中* 6: 371, 1984

ABSTRACT

Effect of Diltiazem on Jugular Bulb Oxygen Saturation (SjO₂)

Kyoko YAMADA, Itsuo NAKAGAWA*,
Minoru KUBOTA*, Hiroshi NINAI*,
Toru KAMIYA**, Hideo UNETANI*
and Akihiko SAKAI*

*Department of Anesthesiology and Critical Care
Medicine, Hiroshima University School of Medicine,
Hiroshima, 734-0037*

*Department of Anesthesia, *Chugoku Rosai General
Hospital, Kure, 737-0134 and **Yoshida General
Hospital, Hiroshima, 731-0501.*

We investigated the effect of diltiazem on jugular bulb oxygen saturation (SjO₂) in patients undergoing superficial temporal artery-middle cerebral artery anastomosis. In the presence of stable vital signs, diltiazem was administered by continuous infusion (2 μg · kg⁻¹ · min⁻¹).

There was no significant change in blood pressure, heart rate, SjO₂ in response to diltiazem administration. The arterial plasma concentration of diltiazem reached 75 ± 14.2 ng · ml⁻¹ after 180 min. The difference of areas under the curve between the arterial and jugular venous diltiazem concentrations from start of infusion to the end was significant. We conclude that this dose of diltiazem produced effective concentration and uptake in the brain tissue, but produced no significant effect on jugular bulb oxygen saturation (SjO₂).

モルヒネによる呼吸抑制に対する フルマゼニルとピククリンの作用の比較

笠 羽 敏 治* 竹下美智代* 高 崎 眞 弓*

要 旨

モルヒネ (M) による呼吸抑制をフルマゼニル (F), またはピククリン (B) が拮抗するのか調べた。ラットを用い横隔神経活動を記録した。M を発射リズムがベースライン (ベース) の約半分になるまで投与した。ここで, F または B を, 続いてナロキソン (N) を投与した。吸気時間は, F 群は M で 0.7 から 2.0 秒に延長, F 投与で 2.1 秒に N でベースに戻った。B 群は M で 0.7 から 1.7 秒に延長, B 投与で 0.8 秒に短縮し N でベースに戻った。呼気時間には変化がなかった。振幅は, F 群は M で 73% に, F 投与で 54% に, N で 125% になった。B 群は M で 72% に B 投与で 125% に, N で 176% と有意に増加した。M による呼吸抑制に対し, F は効果なく, B は呼吸回数の増加と吸気運動の増強で拮抗した。

オピオイドとジアゼパム, ミダゾラムなどのベンゾジアゼピン (BDZ) 系薬物は, 鎮静, 鎮痛の目的で通常よく併用される¹⁾。このとき, オピオイドによる呼吸抑制, 鎮静作用は BDZ により増強される²⁾。しかしながら, オピオイドによる呼吸抑制と他の伝達系との関係において, BDZ 拮抗薬のフルマゼニルは, 呼吸抑制に対し効果がない³⁾⁴⁾, 拮抗する⁵⁾, さらに抑制を増強する症例もある⁶⁾との報告も見られ, はっきりしていない。γ-aminobutyric acid (GABA) 受容体は BDZ 受容体と複合体を形成している⁷⁾。この GABA による呼吸抑制も GABA 拮抗薬のピククリンで拮抗することが報告されている⁸⁾が, オピオイドとの相互作用ははっきりしていない。そこ

で, 今回, モルヒネによる呼吸抑制に対するフルマゼニルとピククリンの拮抗作用について検討した。

1. 対象および方法

実験方法を図 1 に示す。実験にはラットを用いた (N=12, 250~370 g)。ペントバルビタール麻酔下 (50 mg · kg⁻¹の腹腔内投与および 50 mg · kg⁻¹ · h⁻¹で持続静脈内投与) に気管切開し, 人工呼吸器 (シナノ, SN 480-7) で換気した。血圧と動脈血採血のため動脈ラインを, 輸液と薬物の投与のため静脈ラインを確保した。パンクロニウム (0.3 mg · kg⁻¹) にて不動化し, 動脈血炭酸ガス分圧は 45~55 mmHg の範囲に設定した。両側迷走神経を切除した。背側の頸部を切開し横隔神経を露出し流動パラフィンにて被覆保護した。銀線双極電極を用いて横隔神経の発射活動を導出記録した。さらに, 発射活動は整流し, 0.1 秒ごとに積分 (日本光電, EI-601-G) した。信号はオシロスコープ (日本光電, VC-11) に表示し, 記録器 (三栄, Omnice, RT 2108) で記録した。ベースラインの記録を行ったのち, モルヒネを 0.4 mg · kg⁻¹ · min⁻¹で静脈内へ持続投与し, 発射活動のリズムがベースラインの約半分になるまで投与した。その後, 5~10 分, 発射活動が安定しているのを確かめたのち, ピククリン (B 群, N=6) を 0.04 mg · kg⁻¹ · min⁻¹で 10 分間持続投与した。ピククリンは, ジメチルスルホキシド (和光純薬) にて溶解した。フルマゼニル [(アネキセート™, 山之内製薬) F 群, N=6] は, 0.025 mg · kg⁻¹ · min⁻¹で 10 分間持続投与した。それぞれピククリン, フルマゼニルの呼吸に対する作用を比較し, その後ナロキソンを

* 宮崎医科大学麻酔学教室

1997 年 6 月 5 日受領: 1997 年 9 月 5 日掲載決定

Quantitative Measurement of Thromboelastography as a Function of Platelet Count

Kyoko Oshita, MD*, Toshiharu Az-ma, MD, PhD*†, Yasuhiro Osawa, MD*, and Osafumi Yuge, MD, PhD*

*Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine, Hiroshima University School of Medicine, Minami-ku; and †Department of Anesthesia, Hiroshima Red Cross and Atomic Bomb Survivors Hospital, Naka-ku, Hiroshima, Japan

Thromboelastography (TEG) analyzes the status of blood coagulation, including abnormalities associated with low platelet count (1). Using TEG to guide platelet transfusion has thus been advocated by several investigators (2–6). However, it is not clear whether TEG variables, assessed from the shape of its tracing, are regulated by platelets quantitatively, because these variables are concurrently under the influence of coagulation factors. We examined the modulation of TEG variables by the amount of platelet, which was controlled by the dilution of platelets into the patient's plasma without affecting other factors. We also attempted to evaluate the critical platelet counts in coagulation by using this technique.

Methods

After approval by the local institutional review board, six volunteers (26–38 yr old; two male, four female) scheduled for elective surgery gave their informed, written consent to participate in our study. No patients received anticoagulant and/or antiplatelet medications. No patient had any abnormality in coagulation, either clinically or by measurements of prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), fibrinogen, bleeding time, and platelet count. They received 0.5 mg of atropine and 50 mg of hydroxyzine IM as premedication approximately 1 h before anesthesia. Blood samples were obtained just before the induction of general anesthetic from a 20-gauge plastic cannula inserted in a forearm vein using a two-syringe technique. After the first 6–10 mL of blood was

drawn and discarded, the second blood sample was drawn into a polypropylene tube containing 1.2 mL of 3.8% sodium citrate, resulting in 12 mL of citrated blood. Platelet-rich plasma (PRP) was obtained by the centrifugation of citrated blood at 240g for 10 min. A one-half volume of PRP was further centrifuged at 3000g for 5 min to obtain platelet-poor plasma (PPP). PRP and PPP were mixed at preselected ratios (5:0, 4:1, 3:2, 2:3, 1:4, and 0:5 vol/vol) to give a series of plasma containing various amounts of platelet from each patient. The platelet count in each sample was measured by an automated blood cell/platelet counter (MEK-6108; Nihon Kohden, Tokyo, Japan) after mixing PRP and PPP. PT, aPTT, and the concentration of fibrinogen of these samples were measured by the Coagulation Laboratory (ACL 2000; Instrumentation Laboratory, Milano, Italy). There was no significant difference in these values among the samples in each series, which confirmed that the process of mixing PRP and PPP at various ratios did not influence coagulation factors.

TEG of citrated plasma was performed by adding Ca^{2+} . In brief, 250 μL of the PRP/PPP mixture was pipetted into the prewarmed (37°C) cuvette of a thromboelastograph (Hellige, Freiburg, Germany). Coagulation was achieved by adding 50 μL of 0.4% CaCl_2 to the plasma. CaCl_2 was uniformly mixed by lowering and raising the pin of the thromboelastograph three to four times before layering liquid paraffin on the surface of plasma. TEG variables (reaction time [r], coagulation time [k], and maximal amplitude [MA]) were measured from each tracing (Fig. 1). All samples were measured within 3 h after the blood sampling.

Statistical analysis included linear regression and analysis of variance, followed by Bonferroni's test for multiple comparison, as indicated in Results. The statistical significance of the linear regression was confirmed by analysis of variance. A value of $P < 0.05$ was considered significant. Data are expressed as mean \pm SD.

This study was supported in part by Grant-in-Aid for Scientific Research 09771160 from the Ministry of Education, Science and Culture of Japan.

Accepted for publication April 16, 1999.

Address correspondence and reprint requests to Toshiharu Az-ma, MD, PhD, Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine, Hiroshima University School of Medicine, Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan. Address e-mail to azm@ma3.seikyuu.ne.jp.

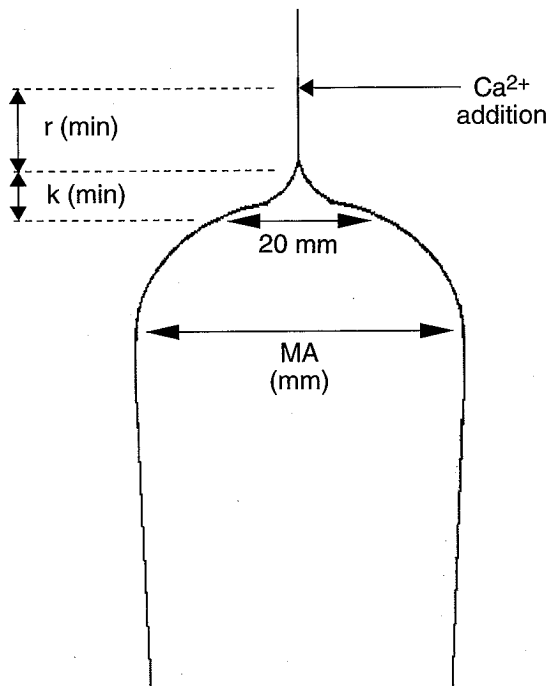


Figure 1. The thromboelastogram measurement was commenced by adding Ca^{2+} in the citrated plasma. Reaction time (r) was defined as the time from CaCl_2 was added in the cuvette until the amplitude of the thromboelastogram tracing reached 2 mm. Coagulation time (k) was defined as the interval when the trace amplitude reached 20 mm after r . Maximal amplitude (MA) was defined as the greatest amplitude on thromboelastogram tracing.

Results

We studied the TEG tracings of 36 samples obtained from six individual series of citrated plasma containing various amounts of platelet. Nine samples were omitted because the platelet count was under the detection limit of the particle counter. TEG variables were plotted against the logarithm of platelet count ($\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$). A potent linear relationship between MA and $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ was observed ($R^2 = 0.739$, $P < 0.0001$) (Fig. 2A-1). An inverse linear regression of $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ with k was also seen, although the statistical significance was less potent than with MA ($R^2 = 0.356$, $P = 0.001$) (Fig. 2B-1). We found from each individual plot that $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ was significantly related to MA in every series, whereas two of the six series showed no significant relationship of $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ with k (Fig. 2). In contrast, no significant relationship between $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ and r was observed in every series (Table 1).

To determine the critical platelet counts in coagulation, we defined the normal limit of TEG as the 2^{sd} limit of each TEG variable from samples containing normal platelet counts ($\geq 150 \times 10^3 / \mu\text{L}$) (Table 2). From each individual plot of MA and k against $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$, we calculated the platelet counts at which a linear regression line surpasses the lower

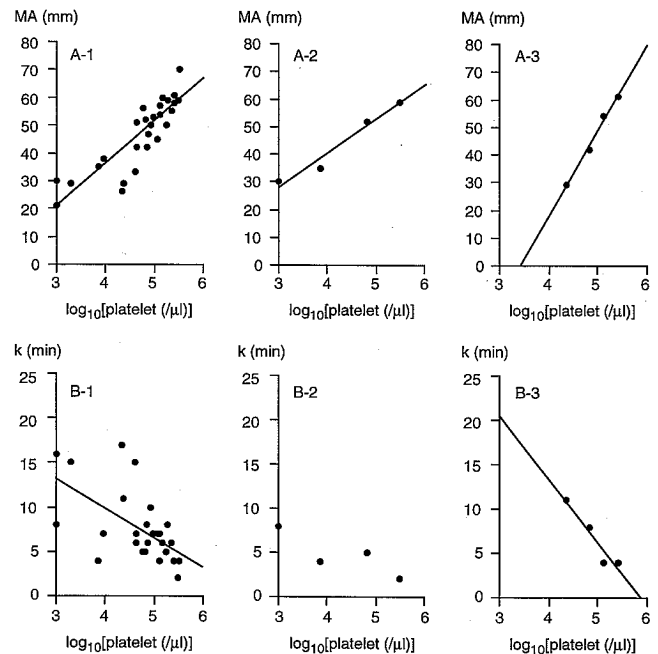


Figure 2. A-1, The relationship of the maximal amplitude (MA) in thromboelastography (TEG) with the logarithm of platelet count ($\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$). Six individual series of citrated plasma containing various amounts of platelet were obtained by mixing platelet-rich plasma and platelet-poor plasma from each patient at various ratios ($n = 27$). The measurement of TEG was commenced by adding Ca^{2+} in the citrated plasma. A-2 and A-3, Two representative MA- $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ plots obtained from individual series (Patients 1 and 3, respectively). A similar significant linear relationship of $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ with MA was observed in every series. B-1, The relationship of the coagulation time (k) with $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ obtained from the same patients shown in A-1 ($n = 27$). B-2 and B-3, Two representative k - $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ plots obtained from the corresponding patients shown in A-2 and A-3. A significant linear relationships of $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ with k was observed from four individual series in total six patients.

and longer limits of normal ranges for MA and k , respectively. The platelet count showing the lower limit of normal MA range (46.7 mm) was $58 \pm 29 \times 10^3 / \mu\text{L}$, and the longer limit of k (8.5 min) was $145 \pm 62 \times 10^3 / \mu\text{L}$. The values of individual critical platelet counts are shown in Table 1.

The samples were also grouped into four levels according to the logarithm of platelet count. A significant decrease in MA and a prolongation in k at platelet counts $< 66 \times 10^3 / \mu\text{L}$, compared with the corresponding values at normal platelet counts ($\geq 150 \times 10^3 / \mu\text{L}$), were observed (Table 2).

Discussion

Platelet aggregation to form a plug at injured vascular endothelium is the initial step of hemostasis. The following coagulation cascade occurs on the surface of aggregated platelets because phospholipids in the

Table 1. Critical Platelet Count Determined from the 2SD Limit of TEG Variables at Normal Platelet Counts ($\geq 150 \times 10^3/\mu\text{L}$)

| Patient | r | | k | | MA | | Critical platelet count ($\times 10^3/\mu\text{L}$) ^a | n |
|---------------|----------------|--------|----------------|---------|----------------|---------|--|---|
| | R ² | P | R ² | P | R ² | P | | |
| 1 | 0.425 | 0.3481 | 0.735 | 0.1429 | 0.968 | 0.0162* | 31 | 4 |
| 2 | 0.125 | 0.5586 | 0.009 | 0.8819 | 0.918 | 0.0102* | 29 | 5 |
| 3 | 0.088 | 0.7028 | 0.913 | 0.0446* | 0.989 | 0.0055* | 89 | 4 |
| 4 | 0.975 | 0.1336 | 0.996 | 0.0424* | 0.996 | 0.0390* | 81 | 3 |
| 5 | 0.183 | 0.4725 | 0.832 | 0.0310* | 0.946 | 0.0054* | 35 | 5 |
| 6 | 0.075 | 0.5982 | 0.947 | 0.0011* | 0.953 | 0.0008* | 81 | 6 |
| Mean \pm SD | | | | | | | 58 \pm 29 | |

n = samples from each subject.

TEG = thromboelastogram.

* P < 0.05.

^a The critical platelet count was calculated individually from the linear-regression line.

Table 2. Changes in TEG Variables

| Platelet count ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | r (logarithm) | k (min) | MA (mm) | n |
|--|-----------------|----------------|------------------|------------|
| <66 | (<4.82) | 13.6 \pm 3.8 | 35.5 \pm 10.6* | 11 |
| <100 | (<5.00) | 11.0 \pm 2.4 | 48.8 \pm 4.4† | 5 |
| <150 | (<5.18) | 12.8 \pm 2.9 | 54.0 \pm 6.5† | 4 |
| ≥ 150 | (≥ 5.18) | 12.9 \pm 2.5 | 58.9 \pm 6.1† | 7 |
| ANOVA | | P = 0.5082 | P = 0.0238 | P < 0.0001 |

Data represent mean \pm SD.

n = samples in each group.

TEG = thromboelastogram, ANOVA = analysis of variance, MA = maximal amplitude.

* Significant difference from normal platelet counts ($\geq 150 \times 10^3/\mu\text{L}$).

† Significant difference from $< 66 \times 10^3/\mu\text{L}$ platelet counts.

platelet membrane are required for the activation of coagulation factor X and prothrombin (7), which suggests that the amount of platelet influences clot formation. The quantitative abnormality of platelets is thus an important factor in deciding whether the indication of therapeutics (e.g., platelet transfusion, regional anesthesia) is proper during perioperative management. TEG has been advocated as a useful guide of blood transfusion practice in cardiac surgery (2), liver transplantation (3-5), and intensive care medicine (6). The diagnostic use of TEG for patients at risk of coagulopathy, in whom epidural anesthesia is indicated, has also been attempted by several investigators (8,9). It has been reported that several TEG variables are associated with platelet dysfunction (8-10), whereas the resultant changes in TEG are also influenced by coagulation factors, causing the evaluation complex.

We measured TEG of citrated plasma after recalcification. Our method made it possible to analyze the modulation of TEG merely by the amount of platelet because we could obtain a series of plasma with various platelet counts from one patient at a time without affecting the concentration of coagulation factors. Using this method, a potent linear relationship of $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ with MA was demonstrated. We then attempted to determine

the critical level of platelet count in coagulation by two approaches. First, from an individual linear regression line of MA against $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$, we determined the critical platelet count at which MA value is less than the normal limit, i.e., mean - 2SD of MA from samples in normal platelet counts ($\geq 150 \times 10^3/\mu\text{L}$). Because MA reflects clot strengthening (1), it has been suggested that the abnormality in hemostasis occurs under the calculated value ($58 \pm 29 \times 10^3/\mu\text{L}$). However, the widespread variance of these individual critical platelet counts indicated that the significance of platelet count regarding the strength of clot varied among individuals, possibly due to the complex interaction of platelet function with other factors relating to blood coagulation. We also studied the individual plot of k as a function of platelet count. The k time is thought to be affected by the amount of platelet, as well as the concentration of coagulation factors, because it represents the velocity to form a clot as a result of fibrin cross-linkage at the surface of platelets (1). However, a linear-relationship of $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$ with k was observed only in two thirds of the six individual series of platelet-containing plasma, in contrast to that of MA, which was observed in every series. This indicates that the amount of platelet is not the principal factor of the clot-forming rate and suggests that the calculated critical platelet count for k

($69 \pm 46 \times 10^3/\mu\text{L}$) has further limiting value, compared with that for MA.

The second approach to determining the critical platelet count was to evaluate the change in MA among the groups classified by the logarithm of platelet count. We found that the MA of the group at platelet counts $<66 \times 10^3/\mu\text{L}$ was significantly smaller than that of the group at normal platelet counts ($\geq 150 \times 10^3/\mu\text{L}$). The k time of the group at $<66 \times 10^3/\mu\text{L}$ platelet counts was also significantly prolonged compared with that of the group at normal platelet counts, the same as shown for the change in MA.

In summary, two variables of TEG, MA and k, were linearly related with $\log_{10}[\text{platelet } (/ \mu\text{L})]$. We propose that the platelet count $<66 \times 10^3/\mu\text{L}$ is implicated in the risk of dysfunction to form a clot, whereas the critical platelet count evaluated by using TEG varied among individuals.

References

1. Mallett SV, Cox DJA. Thrombelastography. *Br J Anaesth* 1992; 69:307-13.
2. Tuman KJ, Spiess BD, McCarthy RJ, et al. Comparison of viscoelastic measures of coagulation after cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 1989;69:69-75.
3. Kang YG, Martin DJ, Marquez J, et al. Intraoperative changes in blood coagulation and thromboelastographic monitoring in liver transplantation. *Anesth Analg* 1985;64:888-96.
4. McNicol PL, Liu G, Harley ID, et al. Patterns of coagulopathy during liver transplantation: experience with the first 75 cases using thromboelastography. *Anaesth Intensive Care* 1994;22: 659-65.
5. Hardings SA, Mallett SV, Peachey TD, et al. Use of heparinase modified thromboelastography in liver transplantation. *Br J Anaesth* 1997;78:175-9.
6. Clayton DG, Miro AM, Kramer DJ, et al. Quantification of thromboelastographic changes after blood component transfusion in patients with liver disease in the intensive care unit. *Anesth Analg* 1995;81:272-8.
7. Wintrobe MM, Lee GR, Boggs DR, et al. Blood coagulation. In: Wintrobe MM, ed. *Clinical hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981:405-52.
8. Wong CA, Liu S, Glassenberg R. Comparison of thromboelastography with common coagulation tests in preeclamptic and healthy parturients. *Reg Anesth* 1995;20:521-7.
9. Orlikowski CEP, Rocke DA, Murray WB, et al. Thrombelastography changes in pre-eclampsia and eclampsia. *Br J Anaesth* 1996;77:157-61.
10. Zuckerman L, Cohen E, Vagher JP, et al. Comparison of thromboelastography with common coagulation tests. *Thromb Haemostas* 1981;46:751-6.

群発頭痛の治療法とその効果—10症例における検討

大下 恭子*, 森脇 克行*, 福田 秀樹*
前原 康宏*, 河本 昌志*, 弓削 孟文*

はじめに

群発頭痛は一側眼窩周辺の耐え難い激痛が発作性、群発性、周期性に出現する特徴的な頭痛である。同側の眼球結膜充血、鼻汁、流涙等の自律神経失調症状を伴う¹⁾。病態生理学的に不明な点が多く、さまざまな治療法が試みられているが、いまだ決定的なものはない²⁾。われわれは、最近10年間に経験した群発頭痛10症例について治療法とその効果について検討したので報告する。

I 対象と方法

1987年から1998年の10年間に当院麻酔科蘇生科外来で加療した International Headache Society (1988) の周期性群発頭痛

表1 治療の有効性判定基準

I. 予防療法

1) 星状神経節ブロック (SGB):

・SGB 施行前または前回の SGB 後と、次回の SGB までの期間で比較して、発作の回数が減少したか、あるいは発作時の疼痛の程度や持続時間が短縮し、かつ、治療開始2週間以内に全体的な発作の回数の減少、あるいは発作時の疼痛の緩和、消失が記載されている場合に、SGB が有効とし、それ以外は無効とした。

2) 内服薬物療法:

・ケトチフェン、フルナリジン、ジメトチアジン、リマプロストアルファデクス³⁾の予防治療効果は、内服開始後10日目以降の全体的な発作回数の減少、あるいは発作時の疼痛の緩和、消失が記載されている場合に有効とし、それ以外は無効とした。
・酒石酸エルゴタミンの予防治療効果は発作予兆時や、発作の予測される時間に服用した場合の発作の回避、疼痛の緩和が記載されている場合に有効とし、それ以外は無効とした。

II. 頓挫療法

1) 外来治療:

・SGB, 酸素吸入, 眼窩上神経ブロックについては、外来受診中の発作に対して施行され、疼痛が軽減あるいは緩和したという記載がある場合に有効とし、それ以外は無効とした。

2) 内服薬物治療:

・酒石酸エルゴタミン, 非ステロイド系消炎鎮痛剤については、服用後、疼痛が軽減、消失するとの記載がある場合に有効とし、それ以外は無効とした。

(episodic cluster headache) の診断基準¹⁾を満たす群発頭痛症例10症例を対象とした。診療記録から施行された治療法とその効果についてレトロスペクティブに調査した。治療法は疼痛発作の予防を目的としたもの(予防療法)、発作時の疼痛軽減を目的としたもの(頓挫療法)に分けて検討した。予防療法、頓挫療法の治療効果判定基準は表1に示した。なお今回の検討では痛みの程度と頻度に重点を置き、自律神経症状の評価検定は行わなかった。

II 結果

1) 患者背景 (表2)

患者の年齢は24~53歳, 男性9症例, 女性1症例であった。疼痛側は右側6症例, 左側3症例, 左右交代性が1症例であった。発作時期は春, 秋の季節の変わり目が多く, 発作頻度は1年に1~2回から6年に1回であった。発作期間は1週間程度のものから5ヶ月続くものまでさまざまであったが, いずれも14日以上寛解期を有していた。全症例で流涙, 鼻汁, 発汗などの自律神経失調症状をともなっていた。

2) 予防療法とその効果 (表3)

星状神経節ブロック (以下 SGB) は全例において毎日~週1回施行したが, 発作頻度の減少, 疼痛の軽減, 発作期間の短縮などの効果が全例に認められた。酒石酸エルゴタミン 2~3 mg/day は9症例において経口投与し, 2症例において発作予兆時の内服により発作の回避が得られた。抗ヒスタミン作用を有するフマル酸ケトチフェン 2 mg/day を4症例において経口投与し, うち1症例においては発作の頻度, 程度の減少が認められたが, 3症例では無効であった。フルナリジン 10 mg/day は4症例に投与し, 随伴症状の軽減, 疼痛の軽減がそれぞれ1例ずつに認められた。メシル酸ジメトチアジン 60 mg/day を4症例に, リマプロストアルファデクス 30 µg/day を1症例に投与したが明らかな自覚症状の改善は認められなかった。

3) 頓挫療法とその効果 (表4)

SGB は発作時5例に施行したが, 有効例は1例のみであった。酒石酸エルゴタミン 10~20 mg を9症例において処方し, 8症例で疼痛の軽減が認められた。しかし, そのうち5症例は, 一旦発作が重症化するとエルゴタミン内服が無効となった。酒石酸エルゴタミンが無効であった1症例において眼窩上神経ブロック, SGB の併用で疼痛の軽減が認められた。酸素吸入は外来受診時に発作がおこった5例で施行し, 全例において疼痛が軽減または消失した。非ステロイド系消炎鎮痛剤は4例中2例で効果を認めた。

* 広島大学医学部麻酔蘇生学教室

Key words: 群発頭痛 (cluster headache), 予防療法 (prophylactic treatments), 頓挫療法 (abortive treatments)

表2 患者背景

| 症例 | 年齢 | 性別 | 部位 | 頻度 | 時期 | 期間 | 自律神経症状 |
|----|----|----|----|---------|------|--------|------------|
| 1 | 24 | 女 | 左 | 1回/年 | 春, 秋 | 1~3週 | 流涙, 鼻汁, 発汗 |
| 2 | 34 | 男 | 左 | 1回/6年 | 冬~春 | 5カ月 | 流涙 |
| 3 | 35 | 男 | 右 | 1回/年 | 春, 秋 | 1~2カ月 | 流涙, 鼻汁 |
| 4 | 41 | 男 | 右 | 1回/1~3年 | 春, 秋 | 2~3週 | 流涙 |
| 5 | 53 | 男 | 左 | 1~2回/年 | 春, 秋 | 2週 | 流涙, 鼻汁 |
| 6 | 52 | 男 | 両 | 1~2回/年 | 春, 秋 | 1~2カ月 | 発汗 |
| 7 | 40 | 男 | 右 | 1回/3年 | 秋 | 3週 | 流涙 |
| 8 | 44 | 男 | 右 | 1回/3年 | 秋 | 1週~1カ月 | 羞明, 流涙 |
| 9 | 39 | 男 | 右 | 1回/年 | 春, 秋 | 1週 | 流涙 |
| 10 | 48 | 男 | 右 | 1回/2~3年 | 春, 秋 | 1週 | 流涙, 鼻閉 |

表3 予防療法とその効果

| 治療法 | 総数 | 効果あり | 効果なし |
|--------------------------|----|------|------|
| 星状神経節ブロック | 10 | 10 | 0 |
| 酒石酸エルゴタミン | 9 | 2 | 7 |
| ケトチフェン (抗ヒスタミン剤) | 4 | 1 | 3 |
| フルナリジン (カルシウム拮抗薬) | 4 | 2 | 2 |
| ジメトチアジン (抗セロトニン剤) | 4 | 0 | 4 |
| リマプロスタアルファデクス (PGE1 誘導体) | 1 | 0 | 1 |

(症例)

表4 頓挫療法とその効果

| 治療方法 | 総数 | 効果あり | 効果なし |
|--------------|----|-------|-------|
| 星状神経節ブロック | 5 | 1 | 4 |
| 酒石酸エルゴタミン | 9 | 8 (3) | 1 (6) |
| 酸素吸入 | 5* | 5 | 0 |
| 非ステロイド系消炎鎮痛剤 | 4 | 2 | 2 |
| 眼窩上神経ブロック | 1 | 1 | 0 |

() は重症発作時

* 外来受診時の軽症発作に使用

III 考 察

1) 発生機序と治療

群発頭痛は従来、血管性頭痛である片頭痛の亜型として分類されてきた。しかし、最近ではその痛みの性質から二次的な血管径の変化を伴った神経原性の痛みであると考えられており、International Headache Society (1988) の分類では片頭痛とは別の分類にされている。疼痛の発生機序としてはヒスタミン、サブスタンスP、セロトニン、プロスタグランジンなどのケミカルメディエーター、中枢神経オピオイド、三叉神経軸索反射、内分泌、代謝、免疫因子、自律神経系の異常などがあげられているが、未だ不明な点が多い³⁾。従って治療法にも決定的なものはなく、さまざまな推測に基づく治療が試みられている。今回の検討症例でもさまざまな治療を試みた。

2) 予防療法

今回の検討で予防効果が少なくとも1例以上認められたのは、SGB、フルナリジン、酒石酸エルゴタミン、フマル酸ケトチフェンであった。SGBは発作時には痛みを完全に消失させることはできなかったが(表4)、発作の頻度、痛みの程度を軽減する予防効果が全例において認められた。SGBの発作予防効果の機序としては自律神経機能異常の安定化、血管壁の浮腫や炎症の抑制、交感神経疼痛の遮断などが考えられているが詳細は不明である⁴⁾。

カルシウム拮抗薬は、発作時に施行された血管造影で認められる初期の内頸動脈攣縮⁵⁾を抑制することで発作を抑制するとされる。臨床的には予防的効果の報告が多数ある⁶⁾。しかし効果発現まで数週間を要するため、あらかじめ予想される発作期の数週前に投与を開始するべきとされている。今回フルナリジンを投与した4症例はいずれも発作期に入ってから投薬を開始しており、まだ短期間で無効と判断し投薬を中止した症例もある。患者の来院直後から継続して投与するなど、予防的投与方法についても今後検討が必要である。

一方、発作期に血中ヒスタミン値が著しく上昇し、ヒスタミンの皮下注射によって発作が再現されること⁷⁾から、群発頭痛発作の発現にヒスタミンが関与しているとする説がある。フマル酸ケトチフェンは肥満細胞からのヒスタミン遊離を抑制し、アレルギー疾患の治療に用いられている。同系列の薬物であるトラトニストの投与により血中のヒスタミン値が正常範囲に抑えられ、自覚症状の軽減が認められたとの報告⁸⁾もある。今回の検討では1症

例においてのみ有効であったが、病態生理から考えて予防的効果を有する可能性があり、今後症例を重ねて検討する必要がある。

酒石酸エルゴタミンは拡張した脳血管を収縮させ、主に発作時の頓挫療法として投薬し有用であった。予兆時や発作の予測される時間に服用する等、予防的にも用いた。しかしながら完全に発作を回避することは難しかった。酒石酸エルゴタミンは予防療法としてよりむしろ発作早期に服用することで発作の重症化を防ぐ効果があると考えられる。

3) 頓挫療法

発作時の頓挫療法で少なくとも1例以上で効果が認められた治療は酸素吸入、酒石酸エルゴタミン、非ステロイド系消炎鎮痛剤、眼窩上神経ブロック、SGBであった。酒石酸エルゴタミンは投与された9症例中8症例において有効であったが、約半数において激痛発作時には無効であった。酸素吸入は脳血管を収縮することで頭痛を軽減する⁹⁾。効果的で副作用のない治療法であるが、酸素供給源のある場所は限られることが難点である。頓挫療法における神経ブロック療法も同様に治療の汎用性に問題がある。海外では5-HT_{1D}-like receptor agonistであるスマトリプタンの皮下注が行われ、有効性が確認されている¹⁰⁾。疼痛改善は、脳血管収縮作用と同時に、セロトニン、サブスタンスPの遊離を抑制する作用によると考えられている。本邦でも発売が開始され、有力な治療薬として期待されている。

今回の検討は、レトロスペクティブな検討であり、また数種類の治療が併用されていること、診療医により治療法が異なり一貫した治療法の継続が必ずしもなされていないことなど、治療効果の判定に制約があった。より正確な治療効果の判定には、今後コントロールされた臨床研究が必要である。

IV 結 語

10年間にペインクリニック外来で加療した10症例の群発頭痛患

者についてレトロスペクティブに検討した。予防的治療としての星状神経節ブロックの有用性が示唆された。一方、重症発作では約50%の症例で頓挫療法が無効であった。

確実な発作時の治療薬や予防的治療法の確立が必要である。

引 用 文 献

- 1) Headache Classification Committee of the International Headache Society: Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia* 8 (Suppl 7), 1988
- 2) Ekbom K. Treatment of cluster headache: clinical trials, design and results. *Cephalalgia* 15 (supple 15): 33-6, 1995
- 3) Marilyn J. Connors, DO: Cluster headache: A review, *JAOA*. 95: 533-539, 1995
- 4) 大瀬戸清茂：片頭痛・群発頭痛の神経ブロック療法。ペインクリニック, 14: 354-362, 1993
- 5) Ekbom K, Grietz T: Caroid angiography in cluster headache. *Acta Radiol Diagn* 10: 177-186, 1970
- 6) Gabai II, Spierings EL: Prophylactic treatment of cluster headache with verapamil. *Headache* 29: 167-168, 1989
- 7) Kudrow L: Cluster headache: New concepts. *Neurol Clin* 1: 369-383, 1983
- 8) 中嶋一雄, 後藤幸生, 高橋光太郎, 他: Mast Cell Stabilizer や Ca 拮抗薬が効果を示したと思われる群発頭痛の症例。ペインクリニック, 8: 669-671, 1987
- 9) Ekbom K, Monstad I, Prusinski A: the Sumatriptan Cluster Headache Study Group: Subcutaneous sumatriptan in the acute treatment of cluster headache. *Acta Neurol Scand* 88: 63-69, 1993

—2001年2月7日 受—

ABSTRACT

Treatment for Cluster Headache—A Study of 10 Cases

Kyoko OSHITA*, Katsuyuki MORIWAKI*, Hideki FUKUDA*
Yasuhiro MAEHARA*, Masashi KAWAMOTO* and Osafumi YUGE*

* Department of Anesthesia and Critical Care Medicine, Hiroshima University, Faculty of Medicine, Hiroshima, Japan

Ten patients with typical cluster headache, nine males and one female, ranging in age from 24 to 53 years old, were retrospectively studied on the efficacy of treatments. Stellate ganglion block, ergotamine, ketotifen, flunarizine, dimetozazine P.O. or prostaglandin E1 derivatives I.V. was applied as prophylactic measures. Stellate ganglion block, supraorbital nerve block, oxygen inhalation, oral administration of ergotamine and NSAIDs were used as abortive treatments when patients were in the attack. Stellate ganglion block was effective to alleviate the degree of the oncoming attack and

prolonged the intervals between attacks in all the patients, but oral and intravenous medications were less effective. Ergotamine and oxygen inhalation were two of the most effective abortive treatments for the mild to moderate attack. Their effective rates were 88.9% and 100%, respectively. However, the pain was refractory to all of the treatments when it was severe. Development of more effective prophylactic and strong abortive treatments are mandatory for adequate treatments of cluster headache.