

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 ( 医 学 )	氏名	大月 幸子
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
Myotoxicity of local anesthetics is equivalent in individuals with and without predisposition to malignant hyperthermia (局所麻酔薬による筋毒性は悪性高熱症の素因の有無に関わらず同等である)			
論文審査担当者			
主 査	教授	酒 井 規 雄	印
審査委員	教授	橋 本 浩 一	
審査委員	教授	廣 橋 伸 之	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>悪性高熱症(malignant hyperthermia: MH)は、吸入麻酔薬や脱分極性筋弛緩薬により生じる常染色体優性遺伝の筋疾患である。骨格筋での細胞内 <math>Ca^{2+}</math>濃度の異常な上昇が原因とされており、1 型リアノジン受容体 (RYR1)の関与が考えられている。日本における MH の素因診断は、<math>Ca^{2+}</math>-induced <math>Ca^{2+}</math> release (CICR) 速度検査により行われており、当院では以前からこれを行ってきた。これまでも局所麻酔薬による筋毒性については報告があり、細胞内 <math>Ca^{2+}</math>濃度の上昇がその主な病態と考えられてきた。筋毒性はダントロレンで抑制されカフェインで増強されることから、RYR1 の関与が示唆されている。一般に、局所麻酔薬は MH 素因者にも安全に使用できるとされているが、末梢神経ブロックなどで多量の薬液を投与した際の筋毒性に関しては検討されていない。細胞内 <math>Ca^{2+}</math>濃度の調節異常のある MH 素因者では、非素因者よりも少ない量の局所麻酔薬で <math>Ca^{2+}</math>濃度の上昇をきたす可能性も想定される。この研究では素因診断後の余剰筋を用いて、MH 素因者で局所麻酔薬が細胞内 <math>Ca^{2+}</math>濃度に与える影響について調べた。</p> <p>倫理委員会の承認と個別承諾を得て、当院で MH の素因診断を行った 22 名を対象に CICR 速度検査を行い、その結果が亢進していた 14 名(亢進群; MH 素因者)と非亢進であった 8 名(非亢進群; MH 非素因者)の 2 群に分けた。素因診断後の余剰筋を培養し、多核の筋管細胞を得た。この筋管細胞に蛍光色素 Fura-2 AM を負荷し、340 nm と 380 nm 波長の励起光を照射し、蛍光顕微鏡で観察を行った。それぞれの試薬を負荷した際の 340/380 nm の蛍光強度比を測定して細胞内 <math>Ca^{2+}</math>動態の変化を検討した。(1)筋管細胞の性質を確認するために、RYR1 刺激薬であるカフェイン (0.25-20 mM) とクレゾール (3.0-1000 <math>\mu</math>M) をそれぞれ負荷した。(2) 10 mM のカフェインで細胞内 <math>Ca^{2+}</math>が上昇した細胞を RYR1 が発現していると判断して、局所麻酔薬の負荷に使用した。すなわち、リドカイン (0.1-8.0 mM)、レボブピバカイン (0.025-2.0 mM)、ロピバカイン (0.1-4.0 mM) を負荷し、細胞内 <math>Ca^{2+}</math>濃度の変化を観測した。それぞれの用量反応曲線から 50% 効果濃度(half-maximal effective concentration: <math>EC_{50}</math>)を求め、亢進群と非亢進群で比較した。値は平均値<math>\pm</math>標準偏差で示し、統計学的検討は t 検定で行い、p 値&lt;0.05 を有意とした。</p> <p>その結果以下のことが明らかになった。すなわち、(1)カフェインとクレゾールの濃度が上昇するにつれ、すべての細胞で細胞内 <math>Ca^{2+}</math>濃度が上昇した。亢進群と非亢進群の <math>EC_{50}</math> は、それぞれカフェインが <math>3.11 \pm 0.54</math> mM と <math>4.85 \pm 0.64</math> mM (p&lt;0.0001)、クレゾールが <math>144.8 \pm 30.7</math> <math>\mu</math>M と <math>249.8 \pm 34.3</math> <math>\mu</math>M (p&lt;0.0001)であった。カフェインとクレゾールの <math>EC_{50}</math> から、今回使用した CICR 亢進群の筋管細胞は、MH 素因があると考えられた。(2)亢進群と非亢進群の <math>EC_{50}</math> は、リドカインが <math>1.52 \pm 0.72</math> mM と <math>1.75 \pm 0.37</math> mM (p=0.42)、レボブピバカインが <math>0.72 \pm 0.36</math> mM と <math>0.79 \pm 0.46</math> mM (p=0.68)、ロピバカインが <math>1.21 \pm 0.35</math> mM と <math>1.62 \pm 0.57</math> mM (p=0.06)であった。3 つの局所麻酔薬の <math>EC_{50}</math> は、いずれも亢進群、非亢進群ともに臨床的に使用する濃度より低く、また統計学的にも有意差はなかった。これらのことから、局所麻酔薬は、臨床的に使用した際に MH 素因者、非素因者の何れにも拘わ</p>			

らず、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を上昇させるが、筋毒性の程度は MH 素因の有無に関係なく同等であると考えられ、局所麻酔薬は、たとえ対象が MH 素因者であっても、臨床においては MH 非素因者と同等に使用できる薬剤であることが示唆された。

以上の結果から、本論文は臨床麻酔における局所麻酔薬の使用に関して、MH 素因の有無にかかわらず、安全に適応できることを示した重要な研究であると考えられる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が申請者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

別記様式第7号（第16条第3項関係）

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	大月 幸子
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
<p>Myotoxicity of local anesthetics is equivalent in individuals with and without predisposition to malignant hyperthermia</p> <p>（局所麻酔薬による筋毒性は悪性高熱症の素因の有無に関わらず同等である）</p>			
最終試験担当者			
主査	教授	酒井 規雄	印
審査委員	教授	橋本 浩一	
審査委員	教授	廣橋 伸之	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成31年1月7日の第77回広島大学研究科発表会（医学）及び平成31年1月8日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p>			
<ol style="list-style-type: none"> <li>1 悪性高熱症の発生頻度とその実態</li> <li>2 筋管細胞の形態的特徴と同定方法</li> <li>3 1型リアノジン受容体を介さない細胞内カルシウム濃度の変動要因</li> <li>4 局所麻酔薬の濃度と細胞内カルシウム濃度の関係</li> <li>5 筋毒性の本態と臨床症状</li> </ol>			
<p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			