

京都大学	博士 (医学)	氏名	若松 拓彦
論文題目	The intravenous anesthetics barbiturates inhibit hypoxia-inducible factor 1 activation (静脈麻酔薬バルビツレイトは低酸素誘導性因子1の活性化を阻害する)		
(論文内容の要旨)			
<p>低酸素誘導性因子1 (hypoxia-inducible factor 1, HIF-1) は血管増生因子、解糖系酵素、アポトーシス誘導因子などの低酸素誘導性遺伝子の発現を調節することによって細胞の低酸素応答に主要な役割を果たしている転写因子である。HIF-1 はαサブユニット(HIF-1α)とβサブユニット(HIF-1β)で構成される二量体であり、HIF-1の転写活性は主に HIF-1αの量と活性により制御されている。HIF-1βが構成的に発現しているのに対し、HIF-1αの量は酸素濃度依存的に厳密に調節されている。HIF-1αは、正常酸素濃度下ではプロリン残基が水酸化されユビキチン・プロテアソーム系により分解されるのに対して、低酸素下ではプロリン残基の水酸化が阻害されるので分解が抑制されて細胞内に蓄積する。HIF-1は各種臓器における虚血耐性獲得、炎症反応制御、免疫応答などにおいて重要な役割を担っている。各種の麻酔薬や周術期使用薬が HIF-1 活性に影響を与えることが報告されている。バルビツレイトは全身麻酔薬としてだけでなく、周術期において脳虚血に対する脳保護目的等でも用いられる一連の薬物であるが、HIF-1 活性に与える影響については報告がない。今回、代表的なバルビツレイトであるチオペンタールとチアミラルールが HIF-1 活性に与える影響について検討した。</p> <p>神経由来 SH-SY5Y 細胞株ならびに非神経由来 HEK293 細胞株を使用し、20%酸素もしくは1%酸素下において、チアミラルールあるいはチオペンタールを添加して、HIF-1 活性化について検討した。HIF-1 蛋白量は抗 HIF-1α抗体と抗 HIF-1β抗体を用いたウェスタンブロット法、HIF-1 支配下遺伝子の発現ならびに HIF-1αの mRNA 量は半定量リアルタイム PCR 法、HIF-1 の転写活性はレポーター遺伝子を用いたルシフェラーゼアッセイ法、HIF-1αサブユニットのプロリン残基の水酸化状態は組み替え蛋白質を用いた <i>in vitro</i> プルダウンアッセイ法を用いて評価した。さらに、ヒトマクロファージ様 THP-1 細胞株を使用し、バルビツレイトがリポポリサッカライド(LPS)による HIF-1α発現に及ぼす影響をウェスタンブロット法により評価した。</p> <p>チオペンタールとチアミラルールはいずれも、SH-SY5Y 細胞ならびに HEK293 細胞において、1%酸素下における HIF-1α蛋白量増加を可逆的かつ用量依存的に抑制し、HIF-1 活性化を抑制した。また、1%酸素下における HIF-1 支配下遺伝子発現はチオペンタールとチアミラルールのいずれによっても阻害されたが、HIFαプロリン水酸化酵素の活性、HIF-1α蛋白の安定性、HIF-1αの mRNA 量は変化しなかった。さらに、チオペンタールは THP-1 細胞において LPS による HIF-1α発現を阻害した。</p> <p>これらの結果から、バルビツレイトは HIF-1α蛋白の合成を抑制することにより HIF-1 の活性化とその支配下遺伝子の発現を阻害することが示された。</p> <p>バルビツレイトを長期間投与するバルビツレイト療法は、脳虚血に対する脳保護を目的として広く行われているが、しばしば合併症として肺炎などの感染症が問題となる。感染症を引き起こす機序の一つとして、バルビツレイトによる HIF-1 活性の抑制とそれに伴う免疫能低下が考えられ、HIF-1 活性の抑制を防ぐことによりバルビツレイト療法に伴う合併症を軽減し得る可能性がある。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

低酸素誘導性因子1 (hypoxia-inducible factor 1, HIF-1) は低酸素応答に主要な役割を果たす転写因子であり、各種臓器における虚血耐性獲得、炎症反応制御、免疫応答などに重要な役割を担っている。各種の麻酔薬や周術期使用薬が HIF-1 活性に影響を与えることが報告されているが、静脈麻酔薬バルビツレイトについては報告がない。

今回、代表的なバルビツレイトであるチオペンタールとチアミラルールが HIF-1 活性に与える影響について検討した。チオペンタール及びチアミラルールは神経由来細胞株 SH-SY5Y ならびに非神経由来細胞株 HEK293 において、HIF-1 活性の主要な決定要因である HIF-1 α 蛋白合成および低酸素下における HIF-1 α 蛋白細胞内蓄積を抑制した。またチオペンタールはヒト単球様細胞 THP-1 においてリポポリサッカライドによる HIF-1 α 発現を阻害した。チオペンタール及びチアミラルールは HIF-1 の活性化とその支配下遺伝子の発現を阻害した。これらの結果は、バルビツレイトによる HIF-1 活性抑制とそれに伴う免疫能低下がバルビツレイト長期間投与の合併症の一因であり、HIF-1 がバルビツレイトの副作用克服の制御点の一つとなる可能性を示唆している。

以上の研究は、バルビツレイトが生体の低酸素応答に与える影響の解明に貢献し、周術期使用薬の副作用解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成22年1月18日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降