

京都大学	博士（医学）	氏名	大条 紘 樹
論文題目	Fentanyl activates hypoxia-inducible factor 1 in neuronal SH-SY5Y cells and mice under non-hypoxic conditions in a μ -opioid receptor-dependent manner (神経芽細胞腫株 SH-SY5Y 及びマウスにおいて、フェンタニルは μ オピオイド受容体依存性に低酸素誘導性因子を常酸素下で活性化する)		
(論文内容の要旨)			
<p>低酸素誘導性因子(hypoxia-inducible factor 1、以下HIF-1と略す)は、低酸素下で活性化し解糖や血管新生、赤血球産生などの重要な生理応答を仲介する転写因子で、細胞の低酸素に対する適応反応において中心的役割を果たすと考えられている。また種々の因子による常酸素下でのHIF-1の活性化が臓器の虚血耐性を誘導する可能性も指摘されている。一方周術期に用いられるオピオイドが臓器保護作用を有する可能性が指摘されているが、その分子生物学的機序は明らかではない。本研究はフェンタニルを初めとするオピオイド受容体作動薬がHIF-1の活性化に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。</p> <p>まず、ヒト神経芽細胞腫由来細胞株SH-SY5Yを使用し、20%酸素濃度下におけるフェンタニル投与によるHIF-1活性変化を検討した。HIF-1活性は、αサブユニット(HIF-1α)に対するウェスタンブロット法、HIF-1支配下遺伝子の発現に対する半定量的リアルタイムPCR法及びルシフェラーゼを用いたレポーターアッセイにより評価した。4時間のフェンタニル(10nM)暴露ではHIF-1活性の変化を認めなかったが、24時間暴露ではHIF-1が活性化し、オピオイド受容体の競合的拮抗薬であるナロキソンの投与によりその活性化が阻害されることが明らかになった。また、他のオピオイド受容体作動薬であるモルヒネ、レミフェンタニル、DAMGO及びDPDPEの暴露によってもHIF-1が活性化されることが示された。SH-SY5Yでは、μオピオイド受容体及びδオピオイド受容体が発現していたが、κオピオイド受容体は検出限界以下であった。ヒト肝癌細胞由来細胞株HEP3B及びヒト肺胞上皮細胞由来細胞株A549では、オピオイド受容体の発現が検出限界以下であり、フェンタニルの暴露によるHIF-1が活性化は認められなかった。蛋白質合成阻害薬を用いた実験から、20%酸素濃度下におけるフェンタニルによるHIF-1活性化の機序としてHIF-1蛋白質合成促進が関与することが示唆された。</p> <p>次に、BALB/c 6-8週齢マウスにフェンタニル(0.2mg/kg)を腹腔内投与して、脳及び腎臓組織におけるHIF-1活性の変化を検討した。投与8時間後、脳組織ではHIF-1支配遺伝子のmRNAの増加が認められたが、腎臓組織においては認められなかった。ナロキソンを投与すると、フェンタニル投与による脳組織でのHIF-1支配遺伝子のmRNAの増加は阻害された。</p>			

以上の培養細胞と実験動物を用いた検討により、フェンタニルはオピオイド受容体依存性にHIF-1 α 蛋白質合成を促進し、HIF-1を活性化することが示された。今後オピオイド受容体作動薬の臓器保護作用とHIF-1活性化作用との関連を更に詳細に解明する必要がある。

(論文審査の結果の要旨)

低酸素誘導性因子(hypoxia-inducible factor 1、以下HIF-1)は、低酸素に対する細胞の反応において中心的役割を果たす重要な転写因子である。本研究ではフェンタニルを初めとするオピオイド受容体(以下OR)作動薬がHIF-1活性化に及ぼす影響を検討した。

ヒト神経芽細胞腫由来細胞株 SH-SY5Y において、HIF-1 α サブユニット(HIF-1 α)に対するウェスタンブロット法、HIF-1 支配下遺伝子の発現に対する半定量的リアルタイムPCR法、ルシフェラーゼを用いたレポーターアッセイにより、20%酸素濃度下においてフェンタニルを初めとするOR作動薬投与でHIF-1及びその支配下遺伝子が活性化されることが示された。またオピオイド受容体拮抗薬ナロキソンを投与すると、フェンタニルによるHIF-1の活性化が阻害された。さらに、蛋白質合成阻害薬を用いた実験から、フェンタニルによるHIF-1活性化の機序としてHIF-1 α 蛋白質合成促進が関与する可能性が示された。BALB/cマウスを使用した実験では、フェンタニル腹腔内投与により脳においてHIF-1支配下遺伝子が活性化することが示され、ナロキソンによってその活性化は抑制された。

以上の結果はフェンタニルがORを通じてHIF-1の活性化を誘導することを示し、オピオイド鎮痛薬の薬理作用にHIF-1が関与する可能性を示唆している。

以上の研究はオピオイド鎮痛薬が低酸素誘導性因子に与える影響の解明に貢献し、麻酔科学の発展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24年3月7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