

京都大学	博士 (医学)	氏名	松山智紀
論文題目	Midazolam inhibits the hypoxia-induced up-regulation of erythropoietin in the central nervous system (ミダゾラムは低酸素に誘導される脳内エリスロポイエチン発現上昇を抑制する)		
<p>(論文内容の要旨) エリスロポエチン(EPO)は赤血球産生を促進するホルモンとして知られているが、中枢神経系では主にアストロサイトにおいて低酸素によって産生が誘導され、神経保護作用を有する。これまでにイソフルランなどの吸入麻酔薬、プロポフォールなどの静脈麻酔薬が低酸素誘導性因子(HIF)を抑制し、マウス中枢神経系において低酸素に誘導されるEPO産生を減少させることが明らかにされてきた。集中治療領域では、しばしば小児に対してベンゾジアゼピン系鎮静薬であるミダゾラムが長期投与されるが、中枢神経系におけるEPO産生に与えるミダゾラムの影響は知られていない。そこで、本研究では初代培養アストロサイトやマウス脳においてミダゾラムが低酸素に誘導されるEPO産生に与える影響について検討した。EPO mRNA およびEPOタンパクの発現は、それぞれ半定量的リアルタイムPCR法とELISA法により検討した。</p> <p>まず、酸素濃度10%に3時間暴露した成熟マウスと妊娠17日目マウス胎仔をミダゾラム非投与群、投与群に分けて、脳内EPO mRNA発現を比較検討したところ、低酸素に暴露された成熟マウス、マウス胎仔ともに脳内EPO mRNAはミダゾラム投与群で有意な低下を認めた。</p> <p>次に、初代培養アストロサイトを酸素濃度1%に4時間暴露した際のEPO mRNAの発現上昇、酸素濃度1%に24時間暴露した際のEPOタンパクの発現上昇にミダゾラムが与える影響について検討した。低酸素に誘導されるEPO mRNA、EPOタンパクはミダゾラムで抑制されたが、この抑制効果は中枢性および末梢性ベンゾジアゼピン受容体拮抗薬であるフルマゼニル、PK11195に影響されず、ミダゾラムはこれらの受容体を介さない機序により低酸素に誘導されるEPO発現上昇を抑制することが示唆された。ベンゾジアゼピン系鎮静薬であるクロナゼパムもミダゾラムと同様に、初代培養アストロサイトで低酸素に誘導されるEPO発現上昇を抑制した。</p> <p>さらに、酸素濃度1%に4時間暴露した初代培養アストロサイトにおいて、EPOを支配する転写因子であるHIF-1にミダゾラムが与える影響とその機序について検討した。HIF-1転写活性を反映するαサブユニット(HIF-1α、HIF-2α)発現量をウェスタンブロット法により評価すると、ミダゾラムは低酸素に誘導されるHIF-1α、HIF-2αタンパクの細胞内蓄積を抑制しなかったが、核分画における蓄積は抑制され、ミダゾラムは低酸素に誘導されるHIF-1α、HIF-2αの核内移行を抑制することが示唆された。EPO以外のHIF-1標的遺伝子(GLUT1、LDHA、VEGF)の発現は、EPOと同様にミダゾラムによって抑制されることが半定量的リアルタイムPCR法により示された。HIFタンパクの核内への輸送は微小管上を動くダイニンに依存することが知られているので、ミダゾラムの作用における微小管の関与を検討したところ、微小管機能を阻害するコルヒチンと、ダイニンの機能を阻害するシリオブレビン、初代培養アストロサイトで低酸素に誘導されるEPO mRNAの発現上昇を抑制すること、精製ダイニンタンパクの活性をミダゾラムが抑制することが明らかになった。</p> <p>以上の結果は、ミダゾラムは初代培養アストロサイト、マウス脳において低酸素に誘導されるEPO発現上昇を抑制することを示し、その機序としてミダゾラムによるHIF-1核内移行抑制が関与することを示唆している。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

エリスロポイエチン(EPO)は神経保護作用を有し、脳では主にアストロサイトにおいて産生され、低酸素によってその産生が上昇する。本研究では、鎮静薬ミダゾラムが低酸素誘導性EPO発現に及ぼす影響について検討した。マウス胎仔および低酸素に暴露された成熟マウスにおいて、脳内EPO mRNA発現量はミダゾラム投与群で有意に低下した。初代培養アストロサイトでは、低酸素に誘導されるEPO mRNA、EPOタンパクの発現はミダゾラムで抑制されたが、この抑制作用は中枢性および末梢性ベンゾジアゼピン受容体拮抗薬に影響されなかった。さらに、EPOを支配する転写因子である低酸素誘導性因子(HIF)の核内移行をミダゾラムが抑制することが示唆され、複数のHIF標的遺伝子の発現はミダゾラムによって抑制された。微小管あるいはダイニンの機能を阻害するコルヒチンとシリオブレビンが低酸素に誘導されるEPO mRNAの発現を抑制し、ミダゾラムが精製ダイニンタンパクのATPase活性を抑制することから、ミダゾラムは微小管あるいはダイニンの機能を阻害することによりHIFの核内移行とEPO発現誘導を抑制する可能性があると考えられた。

以上の研究は鎮静薬が中枢神経系機能に及ぼす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27年11月10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： 平成 年 月 日以降