京都大学	博士（医学）	氏　名	池田　正浩
論文題目	Effect of the drugs used perioperatively on activity of proopiomelanocortin gene promotor in a pituitary cell line（下垂体細胞系におけるプロオピオメラノコルチン遺伝子プロモーター活性に対する周術期使用薬剤の影響）		

（論文内容の要旨）

手術侵襲等のストレスに対する視床下部—下垂体—副腎皮質系の生体反応において、副腎皮質刺激ホルモン（以後 ACTH）は重要な役割を果たしている。ACTH の前駆体蛋白であるプロオピオメラノコルチン（以後 POMC）は、208 アミノ酸からなる分子量 31000 の糖タンパクであり、ACTH の他にβエンドルフィンの配列が含まれている。

POMC の発現調節には副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン（以後 CRH）が中心的な役割を担っており、CRH により活性化された 1 型 CRH 受容体は Gs を介してアデニル酸シクラーゼを活性化して細胞内 cyclic AMP 濃度を上昇させる。その結果、活性化される protein kinase A は cyclic AMP response element 結合蛋白（以後 CREB）を燐酸化し、燐酸化された CREB が CREB 結合蛋白とともに POMC 遺伝子上流に存在する cyclic AMP response element に作用して POMC 転写を促進する。

POMC の発現には様々な薬剤が影響を与えることが知られているが、周術期に使用する薬剤による影響を調べた研究はほとんどない。申請者らは手術侵襲に対する生体のストレス反応に対する各種薬剤の作用を分子レベルで解明することを目的として、周術期に使用される局所麻酔薬とカルシウムチャネル拮抗薬の POMC 遺伝子発現に対する影響を検討した。

今回の研究では、POMC 遺伝子のプロモーター部分をルシフェラーゼ遺伝子と連結したプラスミドをマウス下垂体由来培養細胞 AtT20 に導入することにより作成した AtT20PL 細胞を用いた。AtT20PL 細胞を局所麻酔薬（リドカイン、メピバカイン、ブピバカイン、ロピバカイン）あるいはカルシウムチャネル拮抗薬（ニフェジピン、ベラパミル、ジルチアゼム）存在下、および非存在下で、それぞれ CRH、フォルスコリンなどによって刺激した後、細胞抽出液中のルシフェラーゼ活性測定により POMC 遺伝子の転写活性を評価するとともに、cyclic AMP 放出量を測定した。

CRH またはフォルスコリン刺激によるルシフェラーゼ活性の誘導は、４種類の局所麻酔薬とカルシウムチャネル拮抗薬ニフェジピン、ベラパミルにより増強された。CRH 刺激による cyclic AMP 放出量はニフェジピン、ベラパミル存在下で増加したが、局所麻酔薬では増加しなかった。ニフェジピン、ベラパミルはフォルスコリン刺激による cyclic AMP 放出量も増加させた。ニフェジピン、ベラパミルのルシフェラーゼ活性誘導増強作用および cyclic AMP 放出量増加作用は、phosphodiesterase 拮抗薬であるイソブチルメチルキサンチン存在下では認められなかった。

以上の結果から、局所麻酔薬リドカイン、メピバカイン、ブピバカイン、ロピバカインとカルシウムチャネル拮抗薬ニフェジピン、ベラパミルは、POMC プロモーター活性に対する CRH およびフォルスコリンの効果を増強させることが明らかになった。前者の作用は細胞内 cyclic AMP 増加を介さないが、後者の作用は phosphodiesterase 抑制による細胞内 cyclic AMP の増加を介すると考えられる。

（論文審査の結果の要旨）

手術侵襲により惹起されるストレス反応に対する周術期使用薬剤の影響を明らかにすることは、麻酔管理法を改良する上で必要である。しかし、これまでに揮発性麻酔薬が生体のストレス反応を増強する可能性が報告されているが、その他の周術期使用薬剤については不明の点が多い。そこで本研究では、視床下部-下垂体-副腎皮質系を介するストレス反応に重要な役割を果たすプロオピオメラノコルチン(POMC)の発現調節に対する局所麻酔薬とカルシウムチャネル拮抗薬の影響を明らかにすることを目的とし、下垂体前葉由来細胞株AtT20におけるPOMC遺伝子プロモーター活性をルシフェラーゼアッセイで評価するとともにサイクリックAMP放出量を酵素免疫測定法により検討した。その結果、局所麻酔薬リドカイン、メピバカイン、ブピバカイン、ロピバカインとカルシウムチャネル拮抗薬ニフェジピン、ベラパミルは、CRHあるいはフォルスコリン刺激によるサイクリックAMP増加を介して惹起されるPOMC遺伝子プロモーター活性を増強させることが明らかになった。さらに、局所麻酔薬の増強作用は細胞内サイクリックAMP増加を伴わないが、カルシウムチャネル拮抗薬の増強作用はphosphodiesterase抑制による細胞内サイクリックAMPの増加を介することが示唆された。

以上の研究は、周術期使用薬剤のストレス反応に対する影響の解明に貢献し、より安全な麻酔法の確立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のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成21年6月5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