

氏 名	はし ぐち みつ こ 橋 口 光 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2787 号
学位授与の日付	平 成 16 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Halothane inhibits an intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel by acting at the extracellular side of the ionic pore (ハロタンはイオン孔の細胞外から作用することによってカルシウム依存性カリウムチャネルを抑制する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 間 昭 典 教 授 橋 本 信 夫 教 授 成 宮 周

論 文 内 容 の 要 旨

揮発性麻酔薬は様々なイオンチャネルの機能に影響を及ぼすことが知られている。ニコチン性アセチルコリン受容体やガンマアミノ酪酸 A 受容体に代表されるリガンド依存性イオンチャネルでは、ハロタンなどの揮発性麻酔薬はチャネルのイオン孔もしくはその近傍に結合することによって、チャネル機能に影響を及ぼすと考えられている。これに対して、リガンド依存性イオンチャネル以外のイオンチャネルに対する揮発性麻酔薬の作用機序についてはほとんど解明されていない。

カルシウム依存性カリウムチャネル (K_{Ca}) は細胞内カルシウム濃度に依存して膜電位を変化させるチャネルであり、種々の細胞の機能調節に大きな役割を果たしている。 K_{Ca} は 6 カ所の膜貫通領域と 1 つのイオン孔領域を有するサブユニットからなる 4 量体であり、サブユニットとして Slo, IK, SK1, SK2, SK3 の cDNA が単離されている。 K_{Ca} の種類によって揮発性麻酔薬に対する感受性が異なり、BK はカルシウム濃度依存性に、IK はカルシウム濃度非依存性に揮発性麻酔薬により機能が抑制されるが、SK は影響を受けない。本研究では、揮発性麻酔薬の IK 抑制作用の分子機構を解明するため、IK とアミノ酸配列の相同性が高い SK1 に揮発性麻酔薬に対する感受性がないことに着目し、IK と SK1 のキメラチャネルを作成して揮発性麻酔薬の作用を検討した。

まず、野生型チャネル IK および SK1、各キメラチャネルをアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、そのチャネル電流をパッチクランプ法を用いて $10\mu\text{M}\text{Ca}^{2+}$ 存在下で測定した。その結果、イオン孔領域が IK 由来であるキメラチャネルの電流はハロタンにより抑制されたが、同部位が SK 由来のチャネルでは抑制されないことが明らかになった。

次に、IK ならびにイオン孔領域が IK 由来のキメラチャネルに関して、ハロタンによるチャネル電流抑制の時定数をインサイドアウトパッチとアウトサイドアウトパッチで比較した。その結果、ハロタンが細胞外から作用する場合は細胞内から作用する場合に比べて有意に速くチャネル電流を抑制することが明らかになった。

以上の結果は、揮発性麻酔薬ハロタンは細胞外から IK チャネルのイオン孔近傍に作用してチャネル機能を抑制することを示唆している。

IK はリンパ球の増殖、好中球における貪食作用や殺菌作用、血小板のカルシウムシグナル伝達、血管内皮細胞由来過分極因子を介する血管平滑筋弛緩作用などに関与している。本研究の成果は、IK に対する揮発性麻酔薬の作用機序の解明と、揮発性麻酔薬の及ぼす様々な副作用の発生機序の解明に寄与することが期待される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞内カルシウム濃度に依存して膜電位を変化させるカルシウム依存性カリウムチャネル (K_{Ca}) は、その種類によって揮発性麻酔薬に対する感受性が異なり、IK は揮発性麻酔薬により機能が抑制されるが、SK は影響を受けない。

本研究では、揮発性麻酔薬の IK 抑制作用の分子機構を解明するため、IK とアミノ酸配列の相同性が高い SK1 に揮発性麻酔薬に対する感受性がないことに着目し、IK と SK1 のキメラチャネルを作成して揮発性麻酔薬の作用を検討した。その

結果、イオン孔領域近傍が IK 由来であるキメラチャネルの電流は揮発性麻酔薬ハロタンにより抑制されたが、同部位が SK 由来のチャネルでは抑制されなかった。また、細胞膜内外からハロタンを投与したところ、細胞外から作用する場合は細胞内から作用する場合に比べて有意に速くチャネル電流を抑制した。以上の結果は、ハロタンは細胞外から IK チャネルのイオン孔近傍に作用してチャネル機能を抑制することを示唆する。

ニコチン性アセチルコリン受容体やガンマアミノ酪酸 A 受容体では、揮発性麻酔薬がイオン孔近傍に作用することが報告されており、 K_{Ca} はこれらのチャネルと同様の機序で揮発性麻酔薬により機能が抑制される可能性がある。

以上の研究は、イオンチャネルにおける揮発性麻酔薬の作用機序の解明に貢献し、揮発性麻酔薬がもつ副作用の発生機序の解明に寄与することが大きい。

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16年6月28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。