

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10503

研究課題名(和文) GABA-A受容体トラフィックングによる新たな麻酔効果制御機構の解明

研究課題名(英文) Novel regulatory mechanism of anesthetic efficacy by GABA-A receptor trafficking

研究代表者

上野 伸哉 (UENO, Shinya)

弘前大学・医学研究科・教授

研究者番号：00312158

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：麻酔薬の効果を、その標的であるGABA-A受容体リン酸化を介した輸送機構(トラフィックング)を利用して調節可能であることを示した。
膜タンパク質であるGABA-A受容体はシナプス直下、シナプス外に存在し神経を抑制させる機能を持つ。シナプス外への受容体移動が障害されると麻酔効果が減弱し、その減弱効果が脱リン酸化阻害により回復することを実証した。この研究成果は麻酔薬の効果を、投与後に薬物効果発現を担う受容体側の調節により制御、リバースできる可能性を示すものである。

研究成果の概要(英文)：We showed that efficacy of anesthetics was regulated by GABA-A receptor trafficking via receptor phosphorylation. GABA-A receptor is the major target protein of anesthetics and distributed synaptic and extrasynaptic sites of plasma membrane. Disruption of trafficking of these receptors from synaptic to extrasynaptic sites caused to reduce the efficacy of anesthetics. Interestingly, this reduced effect was rescued in the presence of dephosphorylation inhibitor. These results indicated that the levels of phosphorylation in the receptor determined the efficacy of anesthetics, suggesting that efficacy of anesthetics is controllable even after administration of anesthetics.

研究分野：神経科学

キーワード：麻酔作用調節 GABA-A受容体トラフィックング 受容体リン酸化調節

1. 研究開始当初の背景

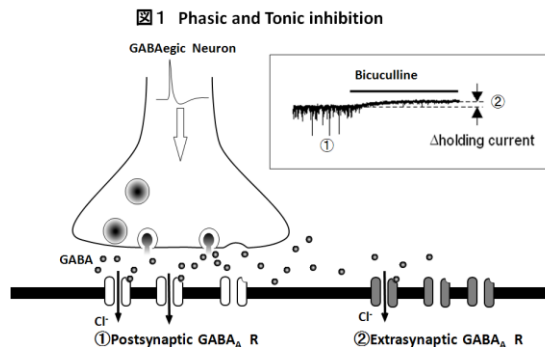
麻酔効果が、GABA-A 受容体輸送機構(トラフィッキング)によって影響をうける現象を本研究に先立ち実証した(H23 挑戦的萌芽研究: 課題番号25670663)。この受容体輸送機構制御を可逆的に調節できれば、麻酔効果の増強・減弱を、麻酔薬側の投与量・種類に依存しない新たな制御方法が可能ではないかと考え、本研究を計画した。

2. 研究の目的

GABA-A 受容体を修飾し、麻酔薬に依存しない麻酔効果の制御方法を開発することを目的とする。

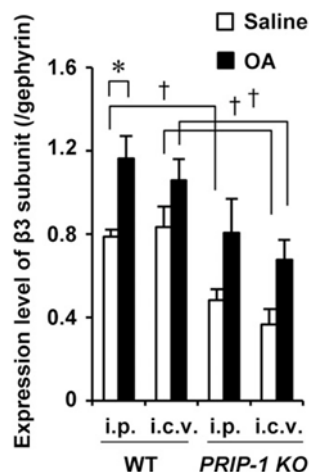
3. 研究の方法

①GABA-A 受容体トラフィッキングタンパク質のひとつである PRIP-1 を欠損するマウスを用い、受容体分布(シナプス直下およびシナプス外:図1参照)の異常と、GABA 応答の変容の関係性をウェスタンブロット、電気生化学的解析により明らかとする。



②GABA-A 受容体トラフィッキングの機能異常が麻酔効果に影響するかどうか、また PRIP-1 は受容体リン酸化を抑制する機能を持っているので、リン酸化調節による麻酔効果の調節が可能かを探索する。

図2 Okadaic acid recovered expression of GABA-A R subunit



4. 研究成果

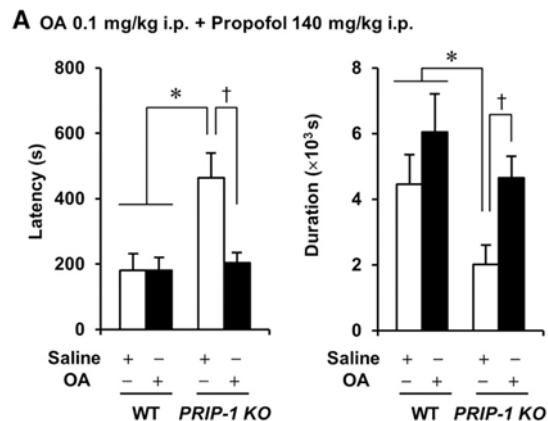
①PRIP-1 がシナプス直下からシナプス外への GABA-A 受容体の輸送にかかわり、さらにシナプス外 GABA-A 受容体が静脈麻酔薬である Propofol 効果を制御することを明らかにした。

②GABA-A 受容体の beta3 サブユニットが PRIP-1 を介した受容体トラフィッキングに直接関与していることを示した(図2)。

③PRIP-1 欠損動物において、Propofol による麻酔効果減弱が見られ、その減弱効果が脱リン酸化阻害により、麻酔減弱効果がほぼ正常レベルまでに回復した(図3)。

④ベンゾジアゼピン長期投与による脳内の網羅的発現解析を行い mRNA およびタンパク質レベルにて発現上昇する候補を探索した(雑誌論文⑦)。

図3 Okadaic acid rescued hypnotic effect of propofol



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

① FUJITA T, Kumagai G, LIU X, Wada K, Tanaka T, Kudo H, Ueno S, et al. Poor motor-function recovery after spinal-cord injury in anxiety-model mice with phospholipase C-related catalytically inactive protein type 1 knockout. J Neurotrauma [Internet]. 2018;8:neu.2017.5492. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/10.1089/9/2017.5492>

② Funamizu Y, Nishijima H, Ueno T, Ueno S, Mizukami H, Yagihashi S, et al. Morphological dendritic spine changes of medium spiny neurons in the nucleus accumbens in 6-hydroxydopamine-lesioned rats treated with levodopa. Neurosci Res. 2017;121.

③ Nishijima H, Ueno T, Funamizu Y, Ueno S, Tomiyama M. Levodopa treatment and dendritic spine pathology. Mov Disord.

④ Nishijima H, Ueno T, Funamizu Y, Ueno S, Tomiyama M. Levodopa treatment and dendritic spine pathology. Mov Disord.

2017;

④ Nikaido Y, Furukawa T, Shimoyama S, Yamada J, Migita K, Koga K, et al. Propofol Anesthesia Is Reduced in Phospholipase C - Related Inactive Protein Type-1 Knockout Mice s. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2017;361:367-74. Available from: [http://jpet.aspetjournals.org/content/suppl/2017/04/11/jpet.116.239145.DC1%0A1521-0103/361/3/367-374\\$25.00](http://jpet.aspetjournals.org/content/suppl/2017/04/11/jpet.116.239145.DC1%0A1521-0103/361/3/367-374$25.00)

⑤ Ueno T, Nishijima H, Ueno S, Tomiyama M. Spine enlargement of pyramidal tract-type neurons in the motor cortex of a rat model of levodopa-induced dyskinesia. *Front Neurosci* [Internet]. 2017 [cited 2017 Mar 29];11:206. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2017.00206/abstract>

⑥ Koga K, Matsuzaki Y, Honda K, Eto F, Furukawa T, Migita K, et al. Activations of muscarinic M1 receptors in the anterior cingulate cortex contribute to the antinociceptive effect via GABAergic transmission. *Mol Pain* [Internet]. 2017;13:1744806917692330. Available from:

<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1744806917692330%0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28326934%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5315363>

⑦ Furukawa T, Shimoyama S, Miki Y, Nikaido Y, Koga K. Chronic diazepam administration increases the expression of Lcn2 in the CNS. *Pharmacol Res Perspect*. 2017;5:1-16.

⑧ Migita K, Ozaki T, Shimoyama S, Yamada J, Nikaido Y, Furukawa T, et al. HSP90 Regulation of P2X7 Receptor Function Requires an Intact Cytoplasmic C-Terminus s. *Mol Pharmacol* [Internet]. 2016 Jul 5 [cited 2017 Mar 29];90(2):116-26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27301716>

⑨ Nishijima H, Ueno T, Ueno S, Tomiyama M. Duloxetine increases the effects of levodopa in a rat model of Parkinson's disease. *Neurol Clin Neurosci*. 2016;4:129-33.

⑩ Nishijima H, Ueno T, Ueno S, Mori F, Miki Y, Tomiyama M. Levodopa-induced morphologic changes of prefrontal pyramidal tract-type neurons in a rat model of Parkinson's disease. *Neurosci Res* [Internet]. 2016 [cited 2017 Mar 28]; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168010216302127>

⑪ Nikaido Y, Yamada J, Migita K, Shiba Y,

Furukawa T, Nakashima T, et al. Cis-3-hexenol and trans-2-hexenal mixture prevents development of PTSD-like phenotype in rats. *Behav Brain Res* [Internet]. 2015; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26475511>

⑫ Shiba Y, Mori F, Yamada J, Migita K, Nikaido Y, Wakabayashi K, et al. Spontaneous epileptic seizures in transgenic rats harboring a human ADNFLE missense mutation in the beta2-subunit of the nicotinic acetylcholine receptor. *Neurosci Res* [Internet]. 2015; Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26091610>

[学会発表] (計 3 件)

① Furukawa T, Ueno S 他 8 名. The effect of chronic diazepam administration on Lcn2 expression and spine morphology 慢性的ジアゼパム投与による Lcn2 発現およびスパイン形態への影響 第 40 回神経科学学会 舞浜・2017 年 7 月 20～23 日

② Nikaido Y, Ueno S 他 7 名. ジアゼパム長期投与は老齢マウスの空間記憶学習を阻害する 第 94 回日本生理学会大会、浜松、2017 年 3 月 28 日-30 日

Chronic diazepam administration increases the expression of Lcn2 in the CNS

③ Furukawa T, Ueno S 他 8 名. 慢性的なジアゼパム投与による Lcn2 発現増加 第 94 回日本生理学会大会、浜松、2017 年 3 月 28 日-30 日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

[http://www.med.hirosaki-u.ac.jp/~neurop
hysiol/](http://www.med.hirosaki-u.ac.jp/~neurop
hysiol/)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上野 伸哉 (UENO, Shinya)
弘前大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：00312158

(2) 研究分担者 なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし ()

研究者番号：

(4) 研究協力者

古川 智範 (FURUKAWA, Tomonori)
弘前大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：60402369

二階堂 義和 (NIKAIIDOU, Yoshikazu)
弘前大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：50613478

下山 修司 (SHIMOYAMA, Shuji)
弘前大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：60736370