

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861373

研究課題名(和文) 静脈麻酔薬がプロオピオメラノコルチン由来蛋白の産生に及ぼす影響とその意義の解明

研究課題名(英文) The effect of anesthetics on proopiomelanocortin gene expression

研究代表者

溝田 敏幸 (Mizota, Toshiyuki)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80596198

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、プロポフォール、ケタミン、デクスメドミジンなどの麻酔薬が下垂体細胞におけるプロオピオメラノコルチン産生に及ぼす影響を下垂体由来細胞株を用いて調査した。ケタミン、デクスメドミジンはプロオピオメラノコルチン遺伝子の転写活性に影響を及ぼさなかったが、プロポフォールはプロオピオメラノコルチン遺伝子の転写活性を用量依存性に増強した。

研究成果の概要(英文)：We examined the effect of intravenous anesthetics on proopiomelanocortin gene expression in pituitary cell lines.

Ketamine or dexmedetomidine did not affect the proopiomelanocortin gene expression. Propofol dose-dependently enhanced the proopiomelanocortin gene expression.

研究分野：麻酔科学

キーワード：プロオピオメラノコルチン 下垂体 麻酔薬

1. 研究開始当初の背景

本研究は、静脈麻酔薬が下垂体細胞や単核球細胞におけるプロピオメラノコルチン (POMC) 遺伝子発現および種々の生理活性物質の分泌に与える影響を解析することでそれらの薬剤がストレス反応や炎症時の疼痛制御機構に与える影響を明らかにするものである。

具体的な研究目的は、単核球細胞における POMC 遺伝子発現調節機構を解析するための実験系の確立、静脈麻酔薬が下垂体細胞や単核球細胞における POMC 遺伝子発現・生理活性物質分泌に及ぼす影響の解析、静脈麻酔薬による POMC 遺伝子発現制御のメカニズムの解明、の3つである。

手術侵襲に対する生体の過剰なストレス反応を制御して生体のホメオスタシスを保つことは麻酔の最重要目的である。視床下部-下垂体-副腎皮質系は、手術侵襲を含む様々なストレス刺激に対する生体反応において中心的な役割を果たしている。プロオピオメラノコルチン (POMC: pro-opiomelanocortin) は主に下垂体細胞において産生される、副腎皮質刺激ホルモン (ACTH: adrenocorticotrophic hormone) やエンドルフィンなど数多くの生理活性物質の前駆体で、視床下部-下垂体-副腎皮質系を介するストレス反応において中心的な役割を果たしている。申請者らはこれまでにベンゾジアゼピン、局所麻酔薬、カルシウム拮抗薬が POMC 転写活性を増強する事を明らかにしてき

た (Fukuda et al. Anesthesiology 2003, Ikeda et al. Reg Anesth Pain Med 2007, Ikeda et al. Eur J Pharmacol 2007)。これらの研究結果は周術期使用薬剤が POMC 転写活性の調節を介して生体のストレス反応に影響を及ぼしている可能性を示唆するが、それらの薬剤により ACTH や エンドルフィンなどの生理活性物質の分泌が影響を受けるかどうかは明らかになっていない。また、プロポフォールやチオペンタール、デクスメトミジン等の静脈麻酔薬が POMC 転写活性に与える影響はこれまでに検討されていない。

一方、活性化した単核球細胞においても POMC 遺伝子の発現および エンドルフィンの分泌が確認されており、炎症部位における疼痛制御への関与が示唆されている。しかし静脈麻酔薬が単核球細胞における POMC 遺伝子発現、エンドルフィン分泌に与える影響は不明である。

全身麻酔に欠かすことのできない静脈麻酔薬だが、現在では様々な作用機序や薬物動態を持った薬剤を選択することが可能になっている。それら薬剤がストレス反応や疼痛制御機構に及ぼす影響を解明する事が最適な麻酔薬選択に貢献すると考えている。

今後、静脈麻酔薬が下垂体細胞や単核球細胞における POMC 遺伝子発現と生理活性物質の分泌に与える影響の解析を通じて全身麻酔におけるストレス反応制御のメカニズム、静脈麻酔薬が炎症時の疼痛制御機構に与える影響を解明したい。

2. 研究の目的

上記背景およびこれまでの研究成果をもとに、本研究は静脈麻酔薬が POMC 遺伝子発現および種々の生理活性物質の産生に与える影響を明らかにし、これら薬剤がストレス反応制御や炎症部位における疼痛制御機構に与える影響を解明するための基礎となる研究を行う。研究期間内には以下の事を明らかにする。

単核球細胞における POMC 遺伝子発現調節機構を解析するための実験系の確立

静脈麻酔薬が下垂体細胞や単核球細胞における POMC 遺伝子発現・生理活性物質分泌に及ぼす影響の解析

静脈麻酔薬による POMC 遺伝子発現制御のメカニズムの解明

手術侵襲に対するストレス反応の制御は全身麻酔の最重要目的である。したがって静脈麻酔薬がストレス反応に与える影響とそのメカニズムを解明することでより良い周術期管理法につなげていくことが可能であると考えている。また、疼痛制御は周術期医療において極めて重要なトピックであり、静脈麻酔薬が疼痛制御機構に与える影響とそのメカニズムを解明することが必要である。

3. 研究の方法

申請者らは、プロポフォール、チオペン

タール、ケタミン、デクスメトミジンの4種類の薬剤が AtT20PL 細胞における POMC 遺伝子活性に与える影響を調べた。POMC 遺伝子活性を調べる方法としてはルシフェラーゼアッセイを使用した。

マウスの下垂体細胞株である AtT20 にルシフェラーゼ遺伝子を融合させたプロオピオメラノコルチン遺伝子のプロモーターを安定発現させた AtT20PL 細胞を使用した。AtT20PL 細胞を 1%の低血清培地で 4 日間培養した後、コルチコトロピン刺激ホルモンまたはフォルスコリンで 5 時間刺激し、回収した細胞のルシフェラーゼ活性を調べた。麻酔薬の存在しない状態では、コルチコトロピン刺激ホルモンによりルシフェラーゼ活性は 2.5~3.5 倍に、フォルスコリンによりルシフェラーゼ活性は 1.5~2 倍に上昇する。これが麻酔薬の存在下で変化するかどうかを調べた。

4. 研究成果

まずプロポフォールについて調べた。プロポフォール 1 ~ 100 μ M の存在下で AtT20PL 細胞にコルチコトロピン刺激ホルモンによる刺激を加えたところ、ルシフェラーゼ活性によって測定された POMC 転写活性は用量依存性に増大し、100 μ M 刺激ではおよそ 2 倍に増強された。フォルスコリンによる刺激でも同様の傾向が見られ、100 μ M 刺激で 1.5 ~ 2 倍の増強が見られた。

チオペンタールに関して、1 ~ 100 μM の存在下で AtT20PL 細胞にコルチコトロピン刺激ホルモンおよびフォルスコリンによる刺激を加え、ルシフェラーゼ活性により測定される POMC 転写活性への影響を調べた。ところがチオペンタールに関しては、最大量の 100 μM でも有意なルシフェラーゼ活性への影響は観察されなかった。

デクスメトミジンに関しては、0.1 ~ 10 μM の存在下で AtT20PL 細胞にコルチコトロピン刺激ホルモンおよびフォルスコリンによる刺激を加え、ルシフェラーゼ活性により測定される POMC 転写活性への影響を調べた。デクスメトミジンも、最大量の 10 μM でも有意なルシフェラーゼ活性への影響は観察されなかった。

ケタミンに関しては、1 ~ 100 μM の存在下で AtT20PL 細胞にコルチコトロピン刺激ホルモンおよびフォルスコリンによる刺激を加え、ルシフェラーゼ活性により測定される POMC 転写活性への影響を調べた。高濃度(100 μM)ケタミンの存在下ではフォルスコリンによる POMC 転写活性が増強される傾向が観察されており、現在この現象を確認中である。

ここまでをまとめると、プロポフォールは用量依存性にコルチコトロピン刺激ホルモン・フォルスコリン刺激による POMC 転写活性を増強するが、チオペンタール、デクスメトミジンは POMC 転写活性に

有意な影響を及ぼさないようである。ケタミンに関しては高濃度で POMC 転写活性増強効果がある可能性がある。

次にプロポフォールによる POMC 転写活性の増強が cAMP の増加を介するものかどうかを調べるため、プロポフォールがコルチコトロピン刺激ホルモン・フォルスコリン刺激による cAMP 産生に及ぼす影響を調べた。ところがプロポフォール 1 ~ 100 μM ではコルチコトロピン刺激ホルモン・フォルスコリン刺激による cAMP 産生への有意な影響は見られなかった。これは、プロポフォールの POMC 転写活性への影響が、古典的な cAMP を介する経路とは異なる経路を介していることを示唆している。

今後は、POMC 遺伝子発現に影響を及ぼすことがわかったプロポフォールについてその臨床的意義を明らかにするため、実際に麻酔薬によって ACTH や エンドルフィン等の生理活性物質の分泌が変化するかどうかをマウス下垂体前葉由来細胞株 AtT20 細胞を用いて ELIZA 法で解析を行う予定である。

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 件)

[学会発表] (計 件)

〔図書〕(計 件)

研究者番号：

〔産業財産権〕

(3)連携研究者

出願状況(計 件)

福田 和彦 (FUKUDA KAZUHIKO)

名称：

研究者番号：90199224

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 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

6. 研究組織

(1)研究代表者

溝田 敏幸 (MIZOTA TOSHIYUKI)

研究者番号：80596198

(2)研究分担者

()