

平成 23 年 6 月 22 日現在

機関番号：14202
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21791446
 研究課題名（和文） ヒト心房カリウムイオンチャンネルにおける麻酔薬の心房細動予防効果

研究課題名（英文） Molecular Mechanism of the Effect of volatile anesthetic on the Potassium Channel Kv1.5 of the Atrium.

研究代表者
 尾崎 将之（OZAKI MASAYUKI）
 滋賀医科大学・医学部・特任助教
 研究者番号：50389459

研究成果の概要(和文)：本研究では計算機シミュレーションによりヒト Kv1.5(hKv1.5)立体構造を予想し、この構造をもとにセボフルラン結合部位を探索し、セボフルランの抗不整脈効果の作用機序解明を試みた。ホモロジーモデリングにより得た hKv1.5 に対しセボフルランは Pre-filter water site, 脂質結合部位, ヘリクス間に結合した。Pre-filter water site は、K⁺の脱水過程に参与する構造化水の位置であることからセボフルランはイオンの脱水過程を修飾すると推定される。セボフルランは hKv1.5 のイオン伝導をブロックして不応期を延長させることにより、心房細動予防効果をもつことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recent evidence suggests that sevoflurane prolongs the refractory period of the heart by modifying the function of potassium channels. This effect is considered to be beneficial in patients with atrial fibrillation (Af) in which one of the causative factors is a malfunction of the potassium channel Kv1.5. Kv1.5 carries the ultra-rapid delayed rectifier potassium current (I_{Kur}) that is a major repolarizing current in the human atrium. We intended to study how sevoflurane affects the function of Kv1.5 whose precise structure was not fully elucidated. A three dimensional re-creation of Kv 1.5 was essential to gaining an understanding of the binding conformation of sevoflurane. The structure of Kv1.5 was re-created with homology modeling. We constructed a homology model of Kv1.5 using the structure of Kv1.2 as a template in Molecular Operating Environment (MOE, Chemical Computing Group, Canada) and searched binding sites of sevoflurane with ASEDock software (Ryoka System, Japan) in MOE. ASEDock is a docking program based on a shape similarity assessment between a concavity on a protein and the ligand. Homology modeling allowed us to extrapolate and estimate the structure of Kv 1.5 based on that of a similar channel Kv 1.2. The structure of Kv1.5 was successfully re-created. Sevoflurane bound to the sites adjacent to the filter where the structured water molecules are located and sites in the inter-helical spaces of Kv1.5. The results suggest that sevoflurane dislodges the structured water molecules of Kv1.5 which are usually stuck in the prefilter site of the channel and blocks the current of potassium. These effects of sevoflurane may contribute to the prolongation of the refractory period and to the prevention of Af.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
総計	1,200,000	360,000	1,560,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：麻酔薬、セボフルラン、心房細動、抗不整脈作用、カリウムチャンネル

1. 研究開始当初の背景

(1) 心収縮サイクルにおける心筋細胞の再分極相では内向き整流 K イオン電流が生じ、膜電位は静止膜電位に戻る。この内向き K イオン電流のうち非常に速い成分である I_{Kur} は心房筋の再分極に重要な役割を果たす。 I_{Kur} を担うイオンチャンネル Kv1.5 の異常は心房細動を引き起こすことが判明している。心房細動の作用機序はリエントリーであり、薬理的に不応期を延長させれば、その予防、停止が可能である。麻酔薬にこの作用があると推定されている。

(2) 臨床研究でもセボフルランの抗不整脈作用が報告されている (Hemmerling TM, et al: Sevoflurane causes less arrhythmias than desflurane after off-pump coronary artery bypass grafting: A pilot study. *Ann Card Anaesth.*, 13:116-122, 2010)。

(3) 計算機科学の進歩とともに、タンパクの構造を形状既知の蛋白の立体構造をもとに予測するホモロジーモデリングや、タンパクへの小分子結合の様子を予測するドッキングシミュレーションが発展してきた。

2. 研究の目的

セボフルランの心房細動予防機序を解明することを目的とした。とくにカリウムチャンネル hKv1.5 に与える影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 計算機シミュレーションにより心房細動発症に関与するヒト Kv1.5 (hKv1.5) 立体構造を予想した。開状態の Kv1.2 構造を鋳型としてホモロジーモデリングにより hKv1.5 構造を作成した。

(2) この構造をもとにセボフルラン結合部位をドッキングシミュレーションにより探索した。

(3) シミュレーションは、Molecular Operating Environment (Chemical Computing Group, カナダ) と ASEDock (菱化システム) を用いて計算を行った。

4. 研究成果

(1) hKv1.5 に対しセボフルランはフィルター内側の通常は構造水が位置する場所に結合した (図1)。この他に、脂質結合部位、ヘリクス間に結合した。構造化水が位置する部位はカリウムイオンの脱水和過程に関与する場所であることからセボフルランはイオンの脱水和過程を修飾すると推定される (図2)。

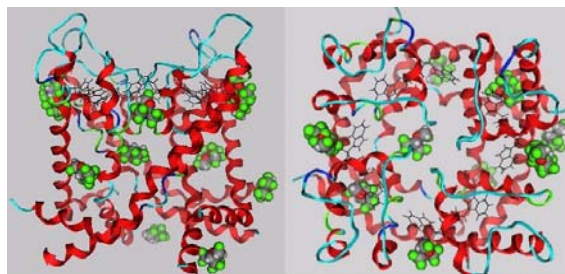


Fig. 1. Binding sites of Sevoflurane to Kv1.5 searched with ASEDock (side view and end view)

図1

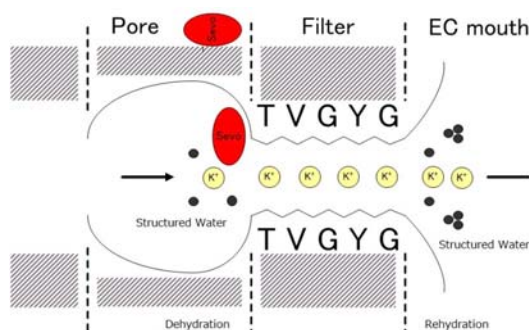


Fig. 2. Schematic of the binding of sevoflurane (side view)

図2

(2)セボフルランは脂質結合部位の相互作用を介してチャンネル開閉を修飾する可能性がある。心収縮サイクルにおける心筋細胞の再分極相では内向き整流カリウムイオン電流が生じ、膜電位は静止膜電位に戻る。この内向きカリウムイオン電流のうち非常に速い成分であるIK_{Kur}は心房筋の再分極に重要な役割を果たす。IK_{Kur}を担うイオンチャンネル hKv1.5 の異常は心房細動を引き起こすことが判明している。心房細動の作用機序はリエントリーであり、薬理的に不応期を延長させれば、その予防、停止が可能である。セボフルランはhKv1.5のイオン伝導をブロックして不応期を延長させることにより心房細動予防効果をもつ可能性が示唆された。

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3件)

① Ozaki M, Seto T and Nosaka S,
Mechanisms of preventive effects of sevoflurane on atrial fibrillation
Anesthesiology 査読中

② Ozaki M, Seto T and Nosaka S,
Molecular Mechanism of the Effect of Sevoflurane on the Potassium Channel Kv1.5 of the Atrium.
8th International Conference on Mechanisms of Anesthesia Abs issue 2010
査読あり

③ Ozaki M and Seto T,
Noble gas anesthetics and nonimmobilizers show different binding distributions to KcsA channel.
Biophysical Journal Abs issue 2009 40
査読あり

[学会発表](計4件)

① Ozaki M, Seto T and Nosaka S,
Mechanisms of preventive effects of sevoflurane on atrial fibrillation.
American Society of Anesthesiologists 2011 Annual Meeting 演題登録中
2011年11月 米国 シカゴ

② Ozaki M, Seto T and Nosaka S,
Molecular Mechanism of the Effect of Sevoflurane on the Potassium Channel Kv1.5 of the Atrium.
8th International Conference on Mechanisms of Anesthesia
2010年6月 カナダ トロント

③ 尾崎将之 瀬戸倫義 野坂修一
ヒト心房カリウムイオンチャンネル Kv1.5 におけるセボフルランの結合部位
日本麻酔科学会
2010年6月4日 福岡市

④ 尾崎将之 瀬戸倫義 野坂修一
ヒト心房カリウムイオンチャンネル Kv1.5 におけるセボフルランの結合部位
麻酔メカニズム研究会
2009年7月18日 豊中市

[その他]

ホームページ等
麻酔メカニズム研究会
<http://www.shiga-med.ac.jp/~anesmech/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者
尾崎 将之 (OZAKI MASAYUKI)
滋賀医科大学・医学部・特任助教
研究者番号：50389459

(2) 研究分担者
なし

(3) 研究協力者
瀬戸 倫義 (SETO TOMOYOSHI)
滋賀医科大学・医学部・講師
研究者番号：10335177