

氏 名 福島 豊

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士甲第 883 号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項

学 位 授 与 年 月 日 令和 2 年 9 月 9 日

学 位 論 文 題 目 Open - channel blocking action of volatile anesthetics
desflurane and sevoflurane on human voltage - gated Kv1.5
channel

(揮発性麻酔薬であるデスフルランとセボフルランはヒト膜
電位依存性 Kv1.5 チャンネルの開状態に作用して抑制作用を発
揮する)

審 査 委 員 主査 教授 縣 保年

副査 教授 目良 裕

副査 教授 前川 聡

論文内容要旨

| | | | |
|---|---|---------------|------------------|
| ※整理番号 | 894 | (ふりがな) 氏 名 | ふくしま ゆたか 福島 豊 |
| 学位論文題目 | Open - channel blocking action of volatile anesthetics desflurane and sevoflurane on human voltage - gated Kv1.5 channel (揮発性麻酔薬であるデスフルランとセボフルランはヒト膜電位依存性 Kv1.5 チャンネルの開状態に作用して抑制作用を発揮する) | | |
| <p>【目的】揮発性麻酔薬は、イオンチャンネルをはじめとする特定のタンパク質の機能を修飾し、麻酔作用や全身作用を及ぼすことが報告されている。Shaker 型膜電位依存性カリウムチャンネル(Shaker 型 Kv チャンネル)は、神経伝達物質の放出や血管の緊張、心房筋の不応性などの制御に寄与し、揮発性麻酔薬の標的として注目されている。揮発性麻酔薬セボフルランは、Shaker 型 Kv チャンネルの一種である Kv1.2 チャンネルの S4-S5 linker に存在するアミノ酸に直接作用して、電流の増加作用や活性化の膜電位依存性の過分極側偏位作用を呈すると報告されている。一方、セボフルランはヒト Kv1.5 (hKv1.5) チャンネルに対し、膜電位に応じて電流増加作用と抑制作用の両方を持つと報告されているが、この抑制作用に関する分子機構は明らかでない。今回我々は、揮発性麻酔薬デスフルランとセボフルランの hKv1.5 チャンネルに対する抑制作用に関わる分子機構について検討した。</p> <p>【方法】部位特異的変異導入法を用いて、hKv1.5 チャンネルのポア領域を形成するアミノ酸のうち 13 箇所の変異体 (T462C、H463C、T479A、T480A、R487V、A501V、I502A、V505A、I508A、A509G、L510A、V512A、V516A) を作成した。野生型及び変異体 hKv1.5 チャンネルを Chinese Hamster Ovary 細胞に発現させ、ホールセルパッチクランプ法を用いて、デスフルランとセボフルランの野生型及び変異体 hKv1.5 チャンネルに対する作用を評価した。次に、コンピュータドッキングシミュレーション法を用いて、デスフルランとセボフルランの hKv1.5 チャンネルにおける結合状態を予測した。</p> <p>【結果】デスフルランとセボフルランはともに、弱い脱分極刺激下で hKv1.5 電流の増加作用を、強い脱分極刺激下で抑制作用を示した。デスフルラン、セボフルラン存在下での hKv1.5 電流を非存在下の hKv1.5 電流で割って得られた電流比(抑制されていない hKv1.5 電流の割合)は、脱分極刺激の開始時には約 1 であったが、脱分極刺激中に減少した。この電流比の減少の時定数は、-10mV の脱分極刺激時と比べて、+20mV 以上のより強い脱分極刺激時に小さくなった。これは、より強い脱分極刺激時</p> | | | |

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

にデスフルランとセボフルランによる抑制がより速く進むことを示す。また、チャンネルの脱活性化(開状態から閉状態への移行)を反映する tail current の減衰の時定数は、デスフルラン、セボフルランの存在下でより大きくなった。このことは、これらの薬剤の存在下では、チャンネルの脱活性化過程が遅延することを示す。

変異体チャンネルを用いた検討では、hKv1.5 チャンネルのポア内腔に面するアミノ酸の変異体である T480A、V505A、I508A において、デスフルランとセボフルランの抑制作用が減弱した。ドッキングシミュレーションでは、デスフルラン、セボフルランは hKv1.5 チャンネルのポア内腔に安定して位置し、Thr479、Thr480、Val505 および Ile508 と隣接する(4.5 Å以内)と予測された。

【考察】デスフルランとセボフルランによる hKv1.5 チャンネルの抑制作用は、以下の特徴を有した。①抑制作用は脱分極直後には小さいが、脱分極中に徐々に進行する。②より強い脱分極刺激において薬剤による抑制が加速する。③脱活性化過程がこれらの薬剤の存在下で遅延する。これらの特徴は、デスフルラン、セボフルランが hKv1.5 チャンネルに対して、チャンネルの開口中に抑制作用を及ぼす open-channel blocker として作用することを示唆する。

イオンチャンネルの open-channel blocker は、チャンネルのポアに作用して抑制作用を発揮すると報告されている。変異体チャンネルを用いた検討において、チャンネルのポアに存在するアミノ酸である Thr480、Val505、Ile508 を変異させるとデスフルラン、セボフルランの抑制作用が減弱したことから、これらのアミノ酸がデスフルラン、セボフルランの抑制作用に関わることが示唆された。またチャンネルと薬剤の構造から、これらの結合状態を推測する手法であるドッキングシミュレーション法においても、デスフルラン、セボフルランは Thr479、Thr480、Val505、Ile508 に隣接して位置した。以上の結果より、Thr480、Val505、Ile508 が、デスフルラン、セボフルランの hKv1.5 チャンネルに対する open-channel block 作用における標的アミノ酸であることが明らかとなった。

【結論】デスフルランとセボフルランは hKv1.5 チャンネルのポアに存在する特定のアミノ酸に直接作用することで、チャンネルの開口中に抑制作用を及ぼす open-channel blocker として作用する。本研究により、デスフルランとセボフルランの hKv1.5 チャンネルにおける抑制作用の分子機構が明らかとなった。

学位論文審査の結果の要旨

| | | | |
|--|-----|-----|------|
| 整理番号 | 894 | 氏 名 | 福島 豊 |
| 論文審査委員 | | | |
| <p>（学位論文審査の結果の要旨）※明朝体 11 ポイント、600 字以内で作成のこと</p> <p>揮発性麻酔薬は、イオンチャネルをはじめとする特定のタンパク質の機能を修飾し、麻酔作用や全身作用を及ぼすと考えられている。Shaker 型膜電位依存性カリウムチャネル（Shaker 型 Kv チャネル）は揮発性麻酔薬の標的として注目されているが、その作用機構は十分には明らかにされていない。本論文では、揮発性麻酔薬デスフルランとセボフルランの Shaker 型 Kv チャネルに属するヒト Kv1.5（hKv1.5）チャネルに対する抑制作用に関わる分子機構について検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none">1）デスフルラン、セボフルランは共に hKv1.5 チャネルに対し、活性化の膜電位依存性を過分極側にシフトさせる作用と、強い脱分極電位における抑制作用の両方を示した。2）これらの薬剤の hKv1.5 チャネルに対する抑制作用は、主にチャネルの開状態で発揮された（open-channel blocker）。3）この open-channel blocker としての作用は、デスフルラン、セボフルランが hKv1.5 チャネルのポア領域を構成するアミノ酸に直接作用することで発揮された。 <p>本論文は、揮発性麻酔薬の膜電位依存性イオンチャネルに対する作用に関わる分子機構について新たな知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">（総字数 583 字）</p> <p style="text-align: right;">（令和 2 年 8 月 25 日）</p> | | | |