

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)	氏名	林内 優樹
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目 PRIP 遺伝子欠損マウスにおける全身麻酔薬作用の解析研究			
論文審査担当者			
主 査	教授	入船 正浩	印
審査委員	教授	杉田 誠	
審査委員	准教授	武知 正晃	
〔論文審査の要旨〕			
<p>臨床上使用頻度の高い吸入麻酔薬や静脈麻酔薬の大部分は、GABA_A 受容体の機能を増強することで麻酔効果を発揮する。GABA_A 受容体はヘテロ 5 量体構造をとるイオンチャンネル内蔵型の受容体である。GABA_A 受容体は 19 種類のサブユニット (α1-6, β1-3, γ1-3, δ, ε, θ, π, ρ1-3) から構成されており、そのサブユニット構成の違いが GABA_A 受容体の多様性を生じさせると考えられている。麻酔薬は、それぞれの作用部位に作用することで、麻酔効果を引き起こすことが知られている。例えば、吸入麻酔薬では、α と β サブユニットに作用部位を持つものに対し、静脈麻酔薬は β サブユニットに作用部位を持つ薬剤が多い。Ins(1,4,5)P₃ 結合性タンパク質として見出された PLC-related catalytically inactive protein (PRIP) は、GABA_A receptor-associated protein (GABARAP) や GABA_A 受容体 γ サブユニットに結合することにより、GABA_A 受容体の細胞内輸送系を調節していることが報告されている。また、活性化した Akt (protein kinase B) は、PRIP を介して、GABA_A 受容体 β サブユニットのリン酸化を促進することで、β サブユニット含有 GABA_A 受容体の形質膜への細胞内輸送を促進する。しかしながら、β サブユニットを作用部位に持つ麻酔薬の作用は明らかとなっていない。本研究では、<i>Prip</i> 遺伝子欠損 (<i>Prip</i>-KO) マウスを用いて、GABA_A 受容体に作用部位を持つ全身麻酔薬と GABA_A 受容体の形質膜発現との関係を検討した。作用部位の異なる全身麻酔薬を使用し、麻酔薬投与後に起こる正相反射を指標に解析を行ったところ、<i>Prip</i>-KO マウスにおいて、プロポフォルとエトミ</p>			

デートの麻酔作用減弱が認められた。そこで、肝臓における薬物代謝酵素 (cytochrome P450 ; CYP) の発現量を調べた。薬物代謝に関与が大きい薬物代謝酵素 (CYP 2 B 6 , CYP 2 C 9 , CYP 3 A 4) の発現量をウェスタンブロット法にて解析した結果、両遺伝子マウス間で有意な差は認められなかった。したがって、*Prip-KO* マウスで見られた麻酔作用の減弱は、薬物代謝酵素発現量の差によるものでないことが明らかとなった。正向反射消失が全身麻酔薬の意識消失作用により生じたことを確認するため、全身麻酔薬投与時の脳波と筋電位を測定した。脳波および筋電位解析の結果、正向反射解析と同程度の睡眠時間短縮が認められた。この結果は、正向反射消失は概ね全身麻酔薬の意識消失作用を反映していることを示している。次に、*Prip-KO* マウスの脳における GABA_A 受容体のサブユニット構成の違いを検討した。大脳皮質と視床領域を含む全脳から細胞抽出液分画と形質膜分画を遠心分画法にて調整した。全細胞抽出液分画での GABA_A 受容体各サブユニットのタンパク質発現量は、両遺伝子マウス間で有意な差は認めなかった。しかし、*Prip-KO* マウスの形質膜分画における GABA_A 受容体 $\beta 3$ サブユニットの発現量は、野生型マウスに比べ有意に減少していた。また、全身麻酔薬の構成要素である鎮痛作用・不動化に PRIP が与える影響についても検討を行った。実験結果より、プロポフォール投与時に掉尾反射潜時の延長が認められたが、野生型と *Prip-KO* マウスで有意な差は認められなかった。

以上の結果から、本論文は、*Prip-KO* マウスでは、脳において $\beta 3$ サブユニット含有 GABA_A 受容体の形質膜発現量が減少していたため、 $\beta 3$ サブユニットに作用部位を持つプロポフォールとエトミデートで麻酔作用減弱が生じたこと、また、PRIP は $\beta 3$ サブユニットに依存した GABA_A 受容体の細胞内輸調節機構に関与し、抑制性神経伝達機構を制御する分子であることを明らかにした。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (歯学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。