論　文　内　容　要　旨

Identification of protein kinase C domains involved in its translocation induced by propofol

（プロポフォール誘発性プロテインキナーゼ C トランスロケーションに関与するドメインの同定）

European Journal of Pharmacology, 2023, in press.

主指導教員：堤　保夫　教授
（医系科学研究科　麻酔蘇生学）
副指導教員：酒井　規雄　教授
（医系科学研究科　神経薬理学）
副指導教員：佐伯　昇　准教授
（医系科学研究科　麻酔蘇生学）

楢﨑　壮志

（医系科学研究科　医歯薬学専攻）

概要
プロポフォールは全身麻酔や鎮静のために広く使用されているが、その麻酔作用や副作用のメカニズムについて完全には解明されていない。我々はこれまでに、プロポフォールがプロテインキナーゼ C（PKC）を活性化し、サブタイプ特異的にそのトランスロケーションを誘導することを明らかにしてきた。プロポフォールによる PKC のトランスロケーションおよび活性化は、その作用に関係している可能性がある。そこで本研究では、プロポフォール誘発性 PKC トランスロケーションに関与する PKC ドメインの同定を目的とした。

PKC の制御ドメインは C1 ドメインと C2 ドメインからなり、C1 ドメインは C1A と C1B のサブドメインに細分化される。C1 ドメインは主に脂質と、C2 ドメインは Ca^{2+}と結合することで PKC のトランスロケーション、活性化を引き起こす。PKC のもつ制御ドメインはサブタイプによって異なるが、本実験では C1A, C1B, C2 ドメインをもつ conventional PKC の一つである PKCαと C1A, C1B ドメインをもつ novel PKC の一つである PKCδを用いた。

我々は各ドメインを欠失させた変異型 PKCα と PKCδ を緑色蛍光タンパク質（GFP）と融合させて HeLa 細胞に発現させ、プロポフォール誘発性 PKC トランスロケーションを蛍光顕微鏡によるタイムラプスイメージングで観察した。その結果、PKCα では C1 および C2 ドメインの両方を欠失させることでトランスロケーションが消失し、PKCδ では C1B ドメインを欠失させることで消失した。したがって、プロポフォール誘発性 PKC トランスロケーションには PKCα の C1、C2 ドメインと PKCδ の C1B ドメインが関与していることが明らかになった。さらに PKCαでは C1A、C1B、C2 ドメインのいずれかを欠損させることで、トランスロケーションの持続時間が変化することも明らかになった。

次に、これらのドメインを阻害することによって PKC トランスロケーションおよびプロポフォールの作用にどのような影響があるかを調べるために、C1 ドメイン阻害剤であるカルホスチン C を用いた。我々はまず、カルホスチン C で前処置することによってプロポフォールによる PKCδ のトランスロケーションが消失することを見出した。また、プロポフォールは PKC のトランスロケーションおよび活性化を介して内皮型一酸化窒素合成酵素（eNOS）をリン酸化し、一酸化窒素産生を誘導することが知られている。そこでヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）を用いてプロポフォールおよびカルホスチン C が eNOS リン酸化に及ぼす影響を調べたところ、プロポフォールは eNOS のリン酸化率を有意に上昇させたが、プロポフォールとカルホスチン C を共投与したところリン酸化率は有意に上昇しなかった。

まとめると、本研究によって、PKCαと PKCδにおいて、プロポフォール誘発性 PKC トランスロケーションに関与する PKC ドメインが明らかになり、またそのドメインを調節することでプロポフォールの作用を変化させることができる可能性が示唆された。