綜　　説

麻酔薬の作用機序
—イオンチャネル分子への作用と麻酔作用の連関性—

山 倉 智 宏
新潟大学大学院医歯学総合研究科　麻酔科学分野

Anesthetic Mechanisms: Actions on Ion Channel Subunit Molecules and Anesthesia

Tomohiro YAMAKURA

Division of Anesthesiology, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences

要　旨

麻酔薬の作用標的として神経伝達物質依存性のイオンチャネルが重要であると考えられている．最近の研究により麻酔薬の作用部位がチャネルを構成するサブユニットあるいはサブユニット上のアミノ酸レベルで同定されてきた．さらに個体レベルで特定のサブユニット分子を欠失するノックアウトマウスや分子上のアミノ酸を置換変異したノックインマウスの作成・解析により，全身麻酔という個体反応と麻酔薬の分子レベルでの作用との間の直接の連関性を検索することが可能になりつつある．

キーワード：麻酔作用機序，イオンチャネル，分子，ノックアウト，ノックイン

はじめに

全身麻酔薬は臨床で広く使用されているにも関わらず，その作用機序が未だに明らかにされていない珍しい薬である．約100年前に脂質が麻酔薬の標的とする見解（脂質説）が発表され，この考えはその後の麻酔機序の研究に多大な影響を与えてきた．しかし，最近の研究により蛋白質を標的とする考え（蛋白質説）が提出され，なかでも近年の分子生物学的研究により蛋白質説を支持する結果が次々と発表されている．麻酔機序はこうした長年の研究論争という点から科学的に興味深いが，それにとどまらずその解明は麻酔の安全性や質，副作用などの改善につながり得ることからも重要な課題と考えられる．

全身麻酔薬の作用機序として蛋白質説が認められていく過程で，特に神経伝達物質依存性のイオンチャネルが麻酔薬に対する感受性が高く，しか

Reprint requests to: Tomohiro YAMAKURA
Division of Anesthesiology
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510　新潟市旭町通り1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科　麻酔科学分野
山倉智宏

も麻酔状態を合理的に説明できることから標的部位として重要と考えられるようになった．分子レベルでの解析により，イオンチャネルの麻酔薬に対する感受性がチャネルを構成するサブユニットレベルで検索され，またサブユニット間の感受性の違いを利用して，部位特異的な変異を導入することにより麻酔薬の作用部位をサブユニット上にアミノ酸レベルで同定することが可能となった．さらに，個体レベルで特定のサブユニット分子を欠失するノックアウトマウスや分子上のアミノ酸を置換変異したノックインマウスの作成が可能となり，その行動解析によって全身麻酔という個体反応と麻酔薬の分子レベルでの作用との間の直接の連関性を検索することが可能になりつつある．本稿では，「個体で麻酔をもたらす責任標的分子は何か？」という問いに対する最近の分子生物学的なアプローチ例を紹介する．

麻酔薬の神経伝達物質依存性イオンチャネルに対する作用

各種麻酔薬の臨床麻酔濃度での代表的な神経伝達物質依存性イオンチャネルに対する作用をまとめると以下のようになる[1]．1）揮発性麻酔薬による $GABA_A$（γ-aminobutyric acid type A）受容体やグリシン受容体の著明な機能増強と神経型ニコチン性アセチルコリン受容体の著明な機能抑制，2）バルビツール酸誘導体による $GABA_A$ 受容体の著明な増強とニコチン性アセチルコリン受容体，AMPA（α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid）受容体，カイニン酸受容体の抑制，3）プロポフォールとエトミデートによる選択的な $GABA_A$ 受容体の増強，4）ステロイド性麻酔薬による $GABA_A$ 受容体の増強と神経型ニコチン性アセチルコリン受容体の抑制，5）ケタミンによる NMDA（*N*-methyl-D-aspartate）受容体と神経型ニコチン性アセチルコリン受容体の抑制，6）ガス麻酔薬（亜酸化窒素やキセノン）による NMDA 受容体と神経型ニコチン性アセチルコリン受容体の抑制．これらは，主に臨床濃度で認められる作用であるが，高濃度になるとさらに種々の作用が現れてくる．例えば，高濃度の揮発性麻酔薬はグルタミン酸受容体のうち NMDA 受容体と AMPA 受容体を抑制するが，一方カイニン酸受容体に対しては増強作用が認められる[2]．しかし，特に揮発性麻酔薬は高濃度にて種々の標的に作用してくるため，その臨床的意義の解釈には注意が必要である．

AMPA 受容体とバルビツール酸誘導体

ペントバルビタールによる AMPA 受容体の抑制作用にはサブユニット選択性が認められ，α2（GluR2）サブユニットを含むチャネルはそれを含まないチャネルよりペントバルビタールに対して高い感受性を示す[3]．α2サブユニットは他のαサブユニットと異なり，2番目の疎水性領域にカルシウム非透過性を決定する特徴的なアルギニンが存在し，このアルギニンが AMPA 受容体のペントバルビタールに対する感受性を決定すると考えられている[4]．α2サブユニットのペントバルビタール麻酔における意義について検討するためにα2サブユニット欠失マウスにおいてペントバルビタールの麻酔作用（立ち直り反射の消失など）を解析した報告では，欠失マウスは野生型マウスに比べてペントバルビタールに対して高い感受性を示した[5]．つまり，AMPA 受容体のペントバルビタール感受性を高めるα2サブユニットを欠失させたにも関わらず，個体としてのペントバルビタール麻酔感受性は逆に亢進する結果となった．このことからペントバルビタールによる AMPA 受容体の抑制と個体での麻酔作用とは直接連関しないことが示唆された．さらにこのα2サブユニット欠失マウスは，揮発性麻酔薬による立ち直り反射の消失作用などにおいても野生型マウスに比べて高い感受性を示した[6]．AMPA 受容体に対して揮発性麻酔薬は臨床濃度ではほとんど作用しないと考えられるため，α2サブユニット欠失マウスにおける揮発性麻酔薬に対する高感受性は，麻酔標的としてα2サブユニットが関与しているというより，α2サブユニットの欠損による中枢神経系全般の興奮性神経伝達の低下が関与

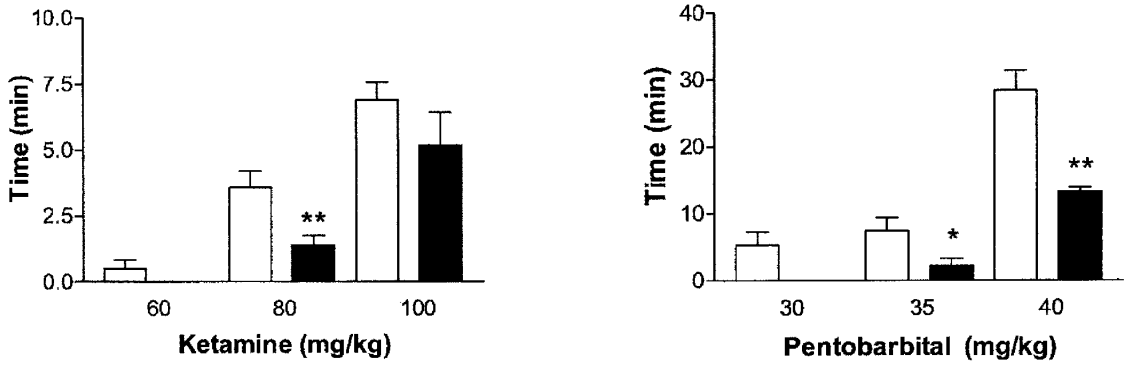

図1 Duration of loss of righting reflex after i.p. administration of ketamine and pentobarbital to wild-type（white bars）and ε1 null mutant（black bars）mice.
The data are presented as mean ± SEM.
* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ for wild-type vs. mutant mice.

しているのではないかと考えられる．

NMDA 受容体と解離性麻酔薬

NMDA 受容体を構成するε1－ε4およびζ1サブユニット[7]では，2番目の疎水性領域に共通してアスパラギンが存在する．このアスパラギンの位置は AMPA 受容体のカルシウム非透過性決定部位に相当しており，NMDA 受容体ではマグネシウム閉塞部位を構成すると考えられている[8]．さらに解離性麻酔薬の作用部位もこの部位に重複することが示唆されている[9]．NMDA 受容体εサブユニットの中で生後最も多く発現しているε1サブユニットを欠失させたマウス[10]においてケタミンの立ち直り反射の消失を解析した結果，欠失マウスは野生型マウスに比べてケタミンに対して抵抗性を示した（**図1**）．しかし，この欠失マウスは臨床濃度で NMDA 受容体にほとんど作用しないと考えられているペントバルビタールに対しても抵抗性を示したことから（**図1**），ε1サブユニット欠失マウスにおけるケタミン抵抗性は，必ずしも麻酔薬の標的が欠損していることによる直接的な結果であるとは限らない．ε1サブユニット欠失マウスでは，NMDA 受容体の機能低下に加えて，GABA（γ-aminobutyric acid），ドーパミン，セロトニンなどによるシナプス伝達の機能変化が認められ，その結果として運動性の亢進などを呈する[11]．したがって，こうした NMDA 受容体以外の機能変化が麻酔薬感受性の違いに関与している可能性が考えられる．本結果より，NMDA 受容体が解離性麻酔薬の麻酔作用標的である可能性は否定できないものの，ノックアウトマウスにおいて麻酔作用の解析結果を解釈することの難しさが示唆された．

$GABA_A$ 受容体と麻酔薬

抑制性のシナプス伝達において中心的な役割を担う $GABA_A$ 受容体は，神経伝達物質依存性のイオンチャネルの中でも最も重要な麻酔標的と考えられている．その根拠として，異なる構造を持つ種々の全身麻酔薬が一様に，かつ臨床濃度で $GABA_A$ 受容体の機能を増強することや，麻酔薬の光学異性体や構造類似薬の生体での麻酔作用や力価の違いと $GABA_A$ 受容体に対する作用や感受性の違いとの間に相関が認められることなどが挙げられる．しかし，これらは $GABA_A$ 受容体を麻酔責任標的と判断するための間接的な証拠，または必要条件と考えられる．

抑制性の受容体である $GABA_A$ 受容体やグリシン受容体は揮発性麻酔薬によって機能増強されるが，同じ抑制性の $GABA_C$ 受容体は揮発性麻酔薬によって機能抑制される．この違いを担うサブユニット上の部位をグリシン受容体と $GABA_C$ 受容体のキメラサブユニットや部位特異的変異体を利用して検索した結果，αおよびβサブユニットの

2番目および3番目の膜貫通領域内で細胞外側近くに位置する2つのアミノ酸が揮発性麻酔薬の作用に重要であることが明らかになった[12]．静脈麻酔薬のプロポフォールの作用も$GABA_A$受容体βサブユニットの揮発性麻酔薬作用部位と同一部位の変異によって影響を受けることが示された[13)14]．また，静脈麻酔薬のエトミデートの$GABA_A$受容体に対する作用はβサブユニットによって異なり，β1サブユニットから構成される$GABA_A$受容体には臨床濃度でほとんど作用しないが，β2またはβ3サブユニットから構成される$GABA_A$受容体を機能増強する．この違いを利用してエトミデートのβサブユニット上における作用部位を検索した結果，2番目の膜貫通領域内で前述の揮発性麻酔薬の作用部位と同一の部位が同定された[15]．

$GABA_A$受容体β3サブユニットのエトミデート麻酔における役割を調べるために，β3サブユニットの2番目の膜貫通領域内のエトミデート作用部位として同定されたアミノ酸だけを置換変異したマウス，すなわちβ3サブユニットをエトミデートが作用しないようなβ3変異体に入れ換えたマウス（ノックインマウス）が作成・解析された[16]．その結果，このマウスでは驚くことに，エトミデートとプロポフォールの麻酔作用である不動化作用や立ち直り反射消失作用が完全に，あるいは大部分消失していた．一方，このマウスではステロイド性麻酔薬や揮発性麻酔薬の作用は保たれていた．この結果は，$GABA_A$受容体β3サブユニットがエトミデートとプロポフォール麻酔の責任標的であることを強く示す直接的な証拠であると同時に，揮発性麻酔薬の標的は別な分子であることを示唆し，標的分子が麻酔薬の種類によって異なることを示していると考えられる．

今後の展望

ノックインの手法は標的分子の生理的機能は保存し，麻酔薬による作用のみが消失する分子に置換するため，ノックアウトマウスで問題となる致死性，発生過程の異常，生理的機能の変化，代償機構の発現などの影響を最小にすることができ，麻酔の分子的作用機序を解明するのに極めて有効な方法と考えられる．しかし，ノックインの手法を麻酔機序の研究に適応するにはいくつかの条件が満たされていなければならない．例えば，麻酔薬のサブユニット上の作用部位がアミノ酸レベルで同定されていることが必要であり，静脈麻酔薬や揮発性麻酔薬の一部は作用部位が明らかにされているものの，ガス麻酔などはまだそうした情報が得られていない．また，麻酔薬作用部位のアミノ酸を他のアミノ酸に置換変異した場合にその分子の麻酔薬作用のみを消失させ，その他の生理的機能には影響しないような置換変異でなければならない．さらに，揮発性麻酔薬のように複数の標的が関与していると推測される場合は，1分子のみのノックインでは不十分であるかもしれない．ノックインにはこうした困難を伴い得るが，$GABA_A$受容体β3サブユニットノックインの結果は将来の研究発展に大きな影響を与えるものであろう．

また最近，エトミデートとプロポフォールの催眠作用が視床下部の結節乳頭核における$GABA_A$受容体への作用によってもたらされるという特記すべき結果が報告された[17]．麻酔作用に脳全体ではなく，脳の特定の部位が関与するというものである．今後は，催眠・鎮痛・不動化・健忘などの麻酔作用や呼吸・循環抑制などの麻酔副作用の個々の要素が脳のある特定部位での作用に基づくことが明らかになっていくかも知れない．そうであれば，特定のサブユニット分子への作用だけでは機序を十分に理解することはできず，脳の特定の部位における特定の分子の役割を検討することが必要になってくる．分子生物学的にそれに対応するには脳の特定部位での標的分子を置換変異するようなコンディショナル・ノックインなどのさらに新しい手法が必要となるであろう．

文　献

1）Yamakura T, Bertaccini E, Trudell JR and Harris RA: Anesthetics and ion channels: molecular

models and sites of action. Annu Rev Pharmacol Toxicol 41: 23-51 2001.

2) Dildy-Mayfield JE, Eger II EI and Harris RA: Anesthetics produce subunit-selective actions on glutamate receptors. J Pharmacol Exp Ther 276: 1058-1065 1996.

3) Taverna FA, Cameron BR, Hampson DL, Wang LY and MacDonald JF: Sensitivity of AMPA receptors to pentobarbital. Eur J Pharmacol 267: R3-5 1994.

4) Yamakura T, Sakimura K, Mishina M and Shimoji K: The sensitivity of AMPA-selective glutamate receptor channels to pentobarbital is determined by a single amino acid residue of the $\alpha 2$ subunit. FEBS Lett 374: 412-414 1995.

5) Joo DT, Xiong Z, MacDonald JF, Jia Z, Roder J, Sonner J and Orser BA: Blockade of glutamate receptors and barbiturate anesthesia. Increased sensitivity to pentobarbital-induced anesthesia despite reduced inhibition of AMPA receptors in GluR2 null mutant mice. Anesthesiology 91: 1329-1341 1999.

6) Joo DT, Gong D, Sonner JM, Jia Z, MacDonald JF, Eger II EI and Orser BA: Blockade of AMPA receptors and volatile anesthetics: reduced anesthetic requirements in GluR2 null mutant mice for loss of the righting reflex and antinociception but not minimum alveolar concentration. Anesthesiology 94: 478-488 2001.

7) Yamakura T and Shimoji K: Subunit- and site-specific pharmacology of the NMDA receptor channel. Prog Neurobiol 59: 279-298 1999.

8) Mori H, Masaki H, Yamakura T and Mishina M: Identification by mutagenesis of a Mg^{2+}-block site of the NMDA receptor channel. Nature 358: 673-675 1992.

9) Yamakura T, Mori H, Masaki H, Shimoji K and Mishina M: Different sensitivities of NMDA receptor channel subtypes to non-competitive antagonists. Neuroreport 4: 687-690 1993.

10) Sakimura K, Kutsuwada T, Ito I, Manabe T, Takayama C, Kushiya E, Yagi T, Aizawa S, Inoue Y, Sugiyama H and Mishina M: Reduced hippocampal LTP and spatial learning in mice lacking NMDA receptor $\varepsilon 1$ subunit. Nature 373: 151-155 1995.

11) Miyamoto Y, Yamada K, Noda Y, Mori H, Mishina M and Nabeshima T: Hyperfunction of dopaminergic and serotonergic neuronal systems in mice lacking the NMDA receptor $\varepsilon 1$ subunit. J Neurosci 21: 750-757 2001.

12) Mihic SJ, Ye Q, Wick MJ, Koltchine VV, Krasowski MD, Finn SE, Mascia MP, Valenzuela CF, Hanson KK, Greenblatt EP, Harris RA and Harrison NL: Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on $GABA_A$ and glycine receptors. Nature 389: 385-389 1997.

13) Krasowski MD, Koltchine VV, Rick CE, Ye Q, Finn SE and Harrison NL: Propofol and other intravenous anesthetics have sites of action on the γ-aminobutyric acid type A receptor distinct from that for isoflurane. Mol Pharmacol 53: 530-538 1998.

14) Pistis M, Belelli D, McGurk K, Peters JA and Lambert JJ: Complementary regulation of anaesthetic activation of human ($\alpha_6 \beta_3 \gamma_{2L}$) and *Drosophila* (RDL) GABA receptors by a single amino acid residue. J Physiol (Lond) 515: 3-18 1999.

15) Belelli D, Lambert JJ, Peters JA, Wafford K and Whiting PJ: The interaction of the general anesthetic etomidate with the γ-aminobutyric acid type A receptor is influenced by a single amino acid. Proc Natl Acad Sci USA 94: 11031-11036 1997.

16) Jurd R, Arras M, Lambert S, Drexler B, Siegwart R, Crestani F, Zaugg M, Vogt KE, Ledermann B, Antkowiak B and Rudolph U: General anesthetic actions in vivo strongly attenuated by a point mutation in the $GABA_A$ receptor $\beta 3$ subunit. FASEB J 17: 250-252 2003.

17) Nelson LE, Guo TZ, Lu J, Saper CB, Franks NP and Maze M: The sedative component of anesthesia is mediated by $GABA_A$ receptors in an endogenous sleep pathway. Nature Neurosci 5: 979-984 2002.