

Title	吸入麻酔エンフルレンによる燐脂質膜の頭部親水基の構造変化
Author(s)	眞下, 節
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/33046">http://hdl.handle.net/11094/33046</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

[39]

氏名・(本籍)	真 下 節
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5473 号
学位授与の日付	昭和56年12月1日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	吸入麻酔薬エンフルレンによる磷脂質膜の頭部親水基の構造変化
論文審査委員	(主査) 教授 吉矢 生人
	(副査) 教授 山野 俊雄 教授 田川 邦夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

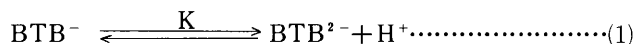
#### 〔目 的〕

吸入麻酔薬が膜脂質の疎水部分アシル基に強い親和性を持ち、その構造を変化させ、膜の流動性を増大させることが、全身麻酔の作用機序の有力な説であった。しかし、最近、プロトンNMRを用いた報告では、臨床濃度の吸入麻酔薬によって、アシル基のシグナルは変化せず、頭部親水部分のシグナルに大きな変化が生じることが明らかになった。このように、吸入麻酔薬が膜脂質の疎水部分か親水部分のどちらに作用するかということは、麻酔分子論にとって興味ある問題である。

本研究は、pH感受性色素Bromothymol blue (BTB)を用い、磷脂質分子の局所電位を測定して、吸入麻酔薬による局所電位の変化から脂質の頭部親水基の構造変化を調べることを目的とする。

〔理論, 方法ならびに成績〕

BTBは溶液中で次のように解離する。



BTBが磷脂質小胞膜に結合すると、見かけの解離定数が変化する。これは、BTBの結合している局所の水素イオン濃度が、磷脂質の頭部荷電基の影響を受けて、溶液中と異なることによる。式に表わすと次のようになる。

$$pK_s = pK_s^\circ - Z_1 e \psi / 2 \cdot 3kT \dots \dots \dots (2)$$

$pK_s$ と $pK_s^\circ$ は各々、BTBの見かけの解離指数と内因性解離指数である。 $Z_1$ はBTBの塩基型と酸型

の荷電差,  $\psi$ はBTBが結合している局所部位の電位である。pKsは溶液のpHと吸光度の値より求めることができる。さらに, pKs<sup>o</sup>は, 資料溶液のイオン強度を上げて界面電位を遮蔽した条件で求めることができ, 最終的に $\psi$ の値を決定できる。

頭部親水基が同一で, 尾部アシル基の長さが異なる三種類の磷脂質, dimyristoyl-, dipalmitoyl-, distearoyl- sn-glycero-3-phosphorylcholine (それぞれ, DMPC, DPPC, DSPCと略される。)を実験に用いた。各磷脂質を25mMの磷酸バッファー中に, 超音波で小胞に分散させた。この小胞分散液に0.04mMのBTBを加えた。BTBがほぼ100%磷脂小胞に結合していることを, 限外濾過法により確認した。実験は全て25℃で行った。DMPC, DPPCおよびDSPCの相転移温度は, おおの22℃, 42℃, 58℃であるので, 実験温度では, DMPCは液晶状態にあり, DPPC, DSPCは結晶状態である。

まず, 溶液pHとBTBの見かけのpKの関係を求めた。pHが高くなるとpKsは直線的に増大し, pHによる磷脂質分子の構造変化を示唆した。また, 液晶のDMPCのpKsは結晶状態のDPPC, DSPCに較べて掛け離れて大きく, 相転移によって磷脂分子の構造が大きく変化することを示している。

次に, エンフルレンを気化させ, 窒素ガスで稀釈して溶液に添加した。BTBのpKsは, 液晶のDMPCでは, エンフルレン濃度の対数に依存して低下した。一方, DPPC, DSPCでは, pKsはエンフルレンによって増大した。しかし, 増大はDPPCで小さく, DSPCでは極めて大きかった。これらのpKsの値から算出した界面電位 $\psi$ は, エンフルレンによって, DMPCで増大し, DPPCでやや低下, DSPCで大きく低下した。

Poisson-Boltzmannの式を用いて, 界面電位 $\psi$ の値から, 磷脂質のコリン基正電荷とBTB分子の負電荷の距離を求めた。液晶状態のDMPCでは, 両電荷間距離は10.5Åであるが, エンフルレンによって最大8.5Åまで減少した。一方, 結晶状態のDPPCでは, 7.9Åの距離がエンフルレンによって極軽度増大した。また, DSPCでは, 7.8Åがエンフルレンによって最大10.8Åまで著明に増大した。

#### [総括]

BTB分子は, 磷脂質の頭部親水基と尾部アシル基の接合部付近に疎水的および静電的に結合する。結晶状態の磷脂質分子のコリン基は隣接する分子の磷酸基に静電的に引かれて屈曲し, 小胞膜面に平行になっていると考えられている。このため, コリン基BTB間距離は小さいと推測される。実際求めた両電荷距離は約7.8Åと比較的小さく, この推測を支持する。温度上昇により分子内エネルギーが増大すると, コリン基と磷酸基の静電相互作用に打ち勝ち, コリン基が伸展して小胞膜面に垂直となる。このため, DMPCの場合のようにコリン基BTB間距離が増大する。相転移温度以上で, さらに分子内エネルギーが増大すると, コリン基の左右の振動が大きくなり, コリン基の正電荷は磷酸基に接近すると言われている。エンフルレンによってコリン基BTB間距離が増大するのは, 頭部親水基の構造変化, すなわち, コリン基の伸展を示唆している。一方, 液晶状態では, エンフルレンによってコリン基BTB間距離が減少した。これは, すでに垂直位置のコリン基の左右の振動が増大したことによると推定される。

吸入麻酔薬は, 臨床濃度で膜成分の磷脂質の頭部親水基の構造を著明に変化させた。この事実は,

麻酔の現象が、脂質の疎水部分—アシル基の構造変化に基づくという旧来の説に対して、界面に近い親水部分の構造変化と関係している可能性を強く示唆している。

### 論文の審査結果の要旨

全身麻酔現象が中枢神経細胞膜に生じる膜現象であることは現在定説となっている。しかし、吸入麻酔薬が生体膜の疎水部分か親水部分のどちらに作用し麻酔現象をもたらすかということはまだ明らかではない。

本研究はpH感受性色素bromothymol blueを用いて磷脂質膜の頭部親水部分の局所電位を測定する方法を示し、吸入麻酔薬エンフルレンが、その臨床使用濃度で磷脂質膜の親水部分の局所電位を変化させることを明らかにした。この結果は、全身麻酔現象が生体膜の界面に近い親水部分の構造変化と関係している可能性をも強く示唆するもので、全身麻酔機序の解明にとって価値ある論文として認める。