

## 審査の結果の要旨

氏名 藤本 幸弘

本研究は canine mastocytoma derived cell (CMMC) をマスト細胞系として使用し、マスト細胞の遊走およびヒスタミン遊離の実験系を確立した後、現在臨床使用される 4 種の静脈麻酔薬、チオペンタール、ケタミン、ミダゾラム、プロポフォールが、マスト細胞の遊走能とヒスタミン遊離能に与える影響を検討したものであり、以下の結果を得ている。

1. CMMC に対する遊走刺激因子を検討するため、ボイデンチャンバ法にて遊走実験を行った。サブスタンス P に対して遊走した CMMC の数は濃度依存性に上昇し、最大遊走濃度は 300  $\mu\text{M}$  であり、この遊走は細胞外カルシウム依存であることを示した。CMMC の最適な遊走時間は約 2 時間であることを示した。またチェッカーボード解析により、サブスタンス P に対する CMMC の運動は、一方向性および多方向性の遊走であることを示した。
2. 百日咳毒素 (PTx) 処理をした細胞を使用し、サブスタンス P による CMMC の遊走には G 蛋白がかかわることを示した。
3. サブスタンス P の刺激によって誘導される CMMC 細胞内カルシウム動態を、Fura-2-AM を使用して蛍光法で測定し、サブスタンス P の細胞内カルシウム上昇の強さは濃度依存性であり、細胞外カルシウム依存であることを示した。
4. 静脈麻酔薬によるマスト細胞のヒスタミン遊離能に与える影響を検討し、ケタミン、ミダゾラム、プロポフォールが臨床使用濃度

の 0.1 倍、1 倍、10 倍の濃度で濃度依存性に CMMC のヒスタミン遊離を抑制し、臨床使用濃度（1 倍）によるヒスタミン遊離率はそれぞれ対照実験の 82 %、80%、50%であることを示した。

5. 静脈麻酔薬によるマスト細胞の遊走能に与える影響を検討し、チオペンタール、ミダゾラム、プロポフォールが臨床使用濃度の 0.1 倍、1 倍、10 倍の濃度で濃度依存性に CMMC の遊走を抑制し、臨床使用濃度（1 倍）による遊走はそれぞれ対照実験の 60 %、55%、82%であることを示した。

以上、本論文はニューロペプチドのサブスタンス P がマスト細胞の遊走因子になることを新たに明らかにした。さらに静脈麻酔薬のうち、マスト細胞のヒスタミン遊離能に関してはミダゾラム、ケタミンおよびプロポフォールに、遊走能に関してはチオペンタール、ミダゾラムおよびプロポフォールに濃度依存性の機能抑制効果があることを新たに明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった、静脈麻酔薬によるマスト細胞機能の影響について重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。