

## Propofol binds and inhibits skeletal muscle ryanodine receptor 1

Thomas T. Joseph<sup>1,\*</sup> , Weiming Bu<sup>1</sup>, Omid Haji-Ghassemi<sup>2</sup>, Yu S. Chen<sup>2</sup> , Kellie Woll<sup>2</sup>, Paul D. Allen<sup>3</sup> , Grace Brannigan<sup>4</sup>, Filip van Petegem<sup>2</sup> and Roderic G. Eckenhoff<sup>1</sup>

*British Journal of Anaesthesia*, 133 (5): 1093–1100 (2024)

プロポフォールは骨格筋1型リアノジン受容体に  
結合し阻害する

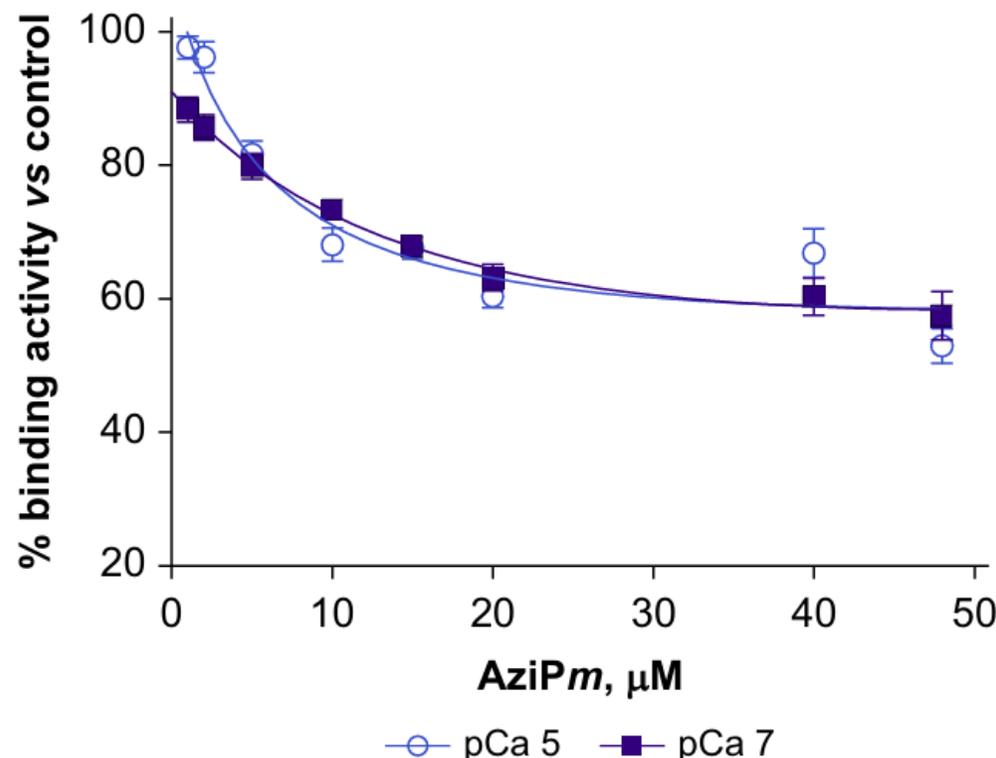
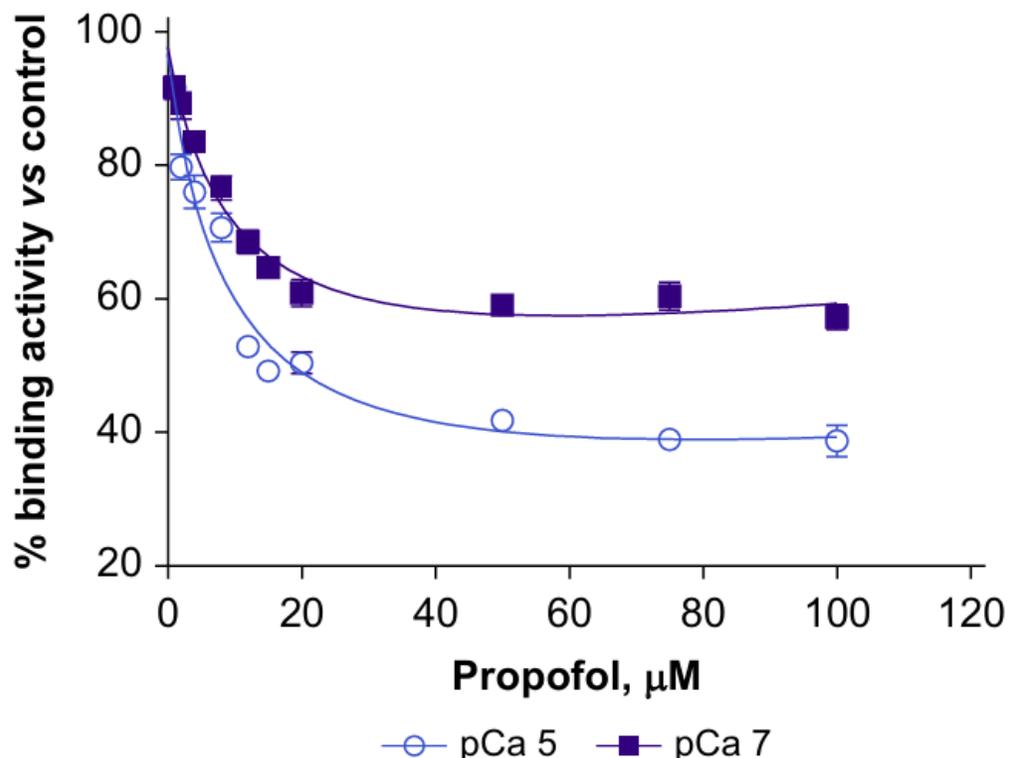
板谷 朋亮

# 背景

- ▶ リアノジン受容体1 (RyR1)は骨格筋の筋小胞における主要なCa<sup>2+</sup>放出チャネルである。
- ▶ 他の興奮収縮関連の因子として、Cav1.1、STAC3、Junctophilin-1、Junctophilin-2などが知られている。
- ▶ RyR1の調整不全はセントラルコア病、悪性高熱症(MH)などの筋疾患の原因である。
- ▶ MHの時、RyR1は開口し、筋小胞からCa<sup>2+</sup>が放出され熱生産と筋硬直が引き起こされる。
- ▶ Ca<sup>2+</sup>が筋小胞体に戻る時、ATPが消費され、アシドーシス、高カリウム血症、横紋筋融解症、高体温が引き起こされ、代謝亢進状態となる。
- ▶ RyR1、Cav1.1、STAC3のうち1つの変異と、誘発薬(揮発性麻酔薬・スキサメニウム)によって MHは引き起こされる。
- ▶ しかし、プロポフォールはMHに安全に使用できるとして知られている。
- ▶ 本研究では、プロポフォールがRyR1に直接結合し、開口を阻害するかを検証している。

# 開口したRyR1の割合を減少させた

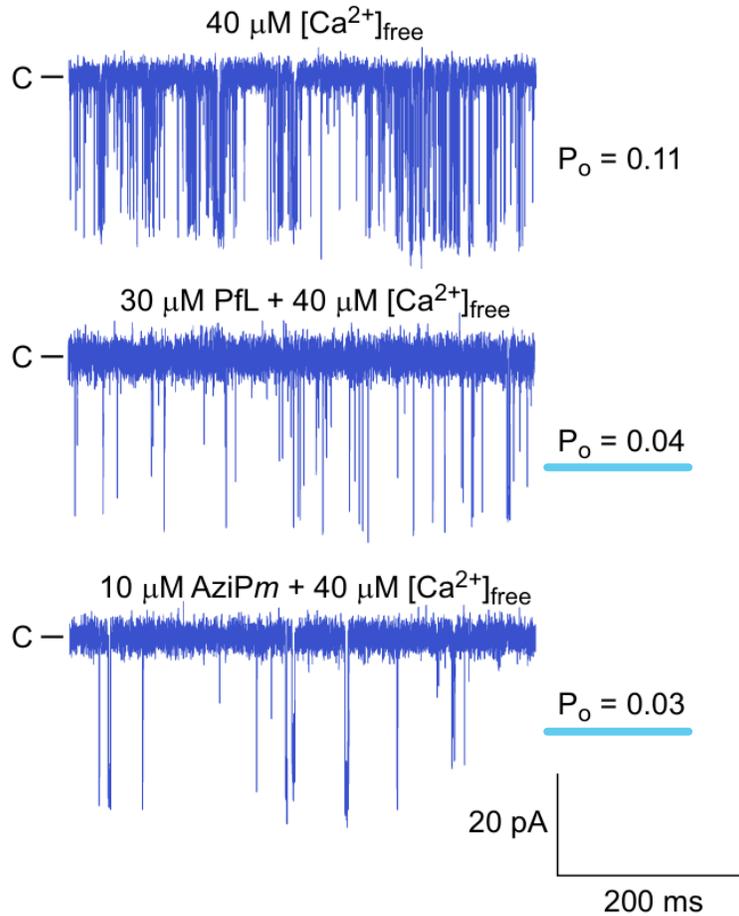
- ▶ 筋小胞内の開口したRyR1の割合を反映する $[^3\text{H}]$ リアノジン結合を測定した。
- ▶ m-Azipropofol (AziPm: プロポフォールの光活性化アナログ)
- ▶  $\text{Ca}^{2+}$ が低い時、プロポフォールとAziPmはRyR1の開口率を減少させた。(pCa: 7100 nM)



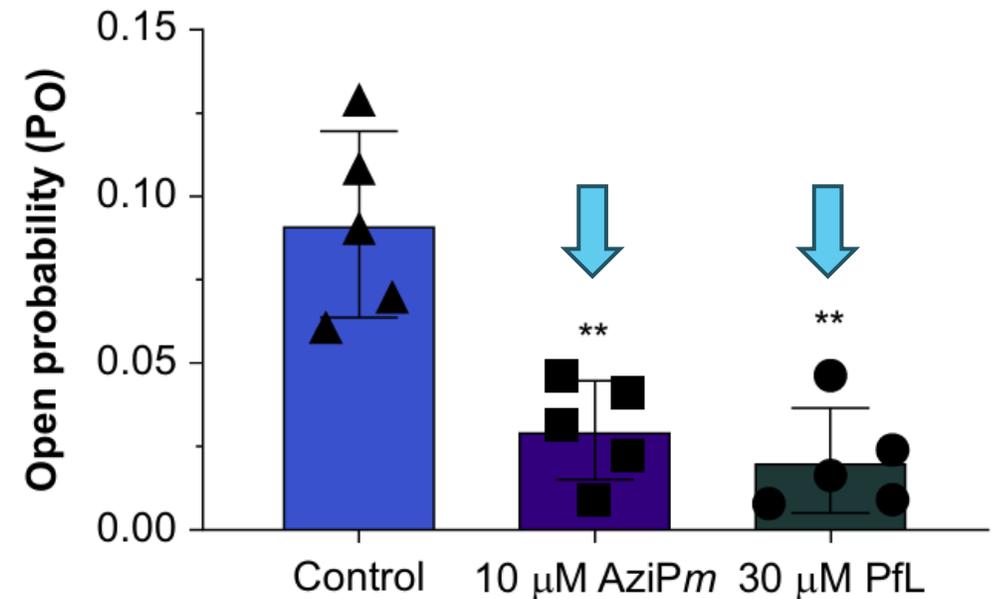
- ▶  $\text{Ca}^{2+}$ が高い時もプロポフォールとAziPmはRyR1の開口率を減少させた。(pCa: 5, 10  $\mu\text{M}$ )

# R615C RyR1チャンネルの開口を阻害した

- ▶ R615C変異のブタはMH様ストレス症候群を引き起こしやすい。
- ▶ ヒトのMH研究用のモデルとして使用されている。
- ▶ 平面脂質二重層でのR615C RyR1チャンネルの開口率( $\text{Ca}^{2+}$  40 $\mu\text{M}$ の存在下)を調べた。

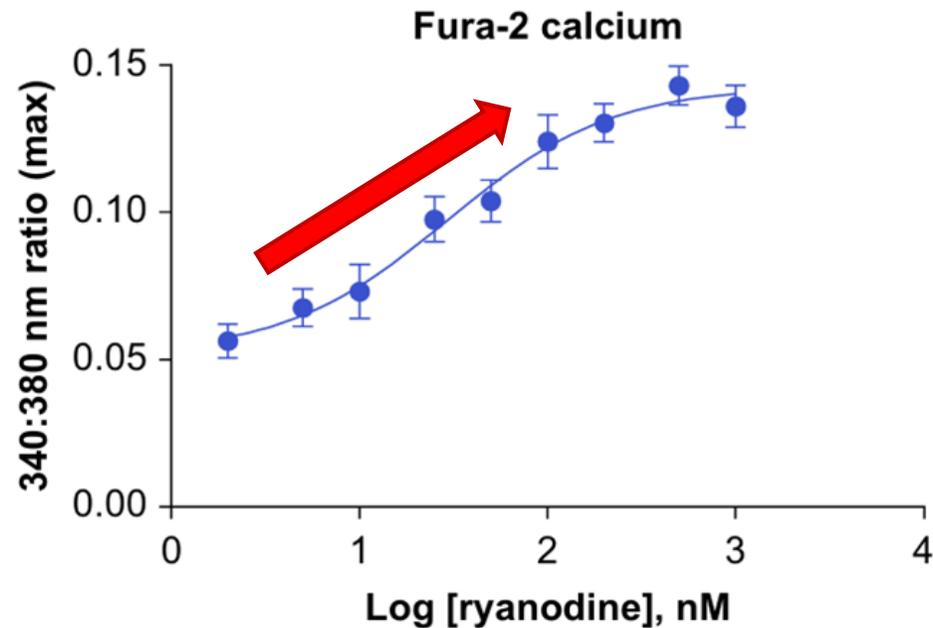


プロポフォール (30 $\mu\text{M}$ )  
AziPm (10 $\mu\text{M}$ )  
で開口率は減少

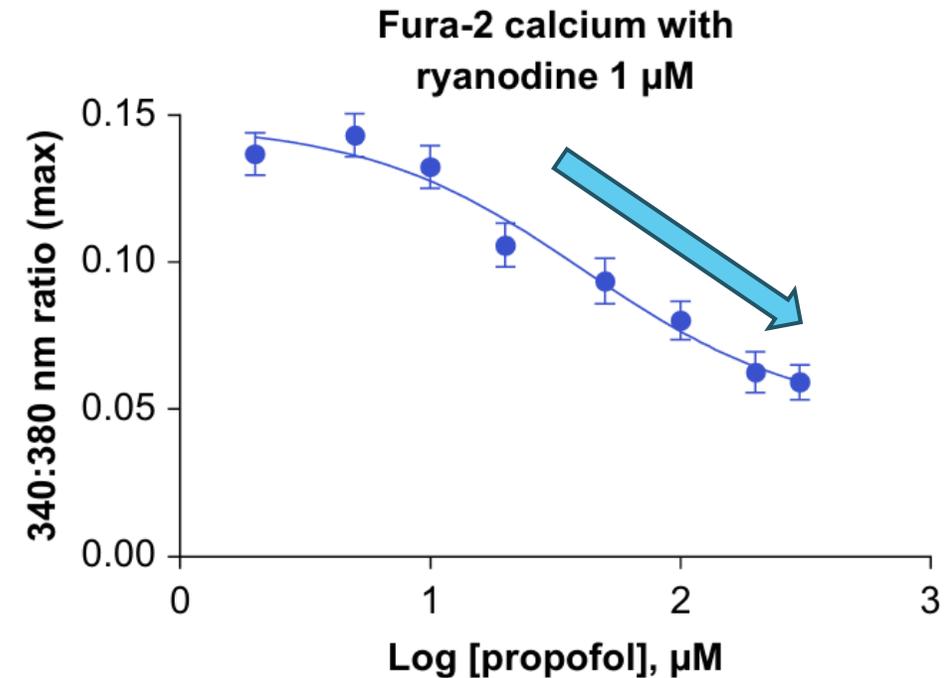


# ヒト骨格筋管細胞におけるRyR1チャンネル開口を阻害する

- ▶ リアノジンの存在下で、ヒト骨格筋管細胞における細胞内の $\text{Ca}^{2+}$ 濃度をFura 2  $\text{Ca}^{2+}$ イメージングを使用して調査した。
- ▶ 340:380 nm比が高い場合、RyR1開口に起因する $\text{Ca}^{2+}$ 放出の増加を示している。



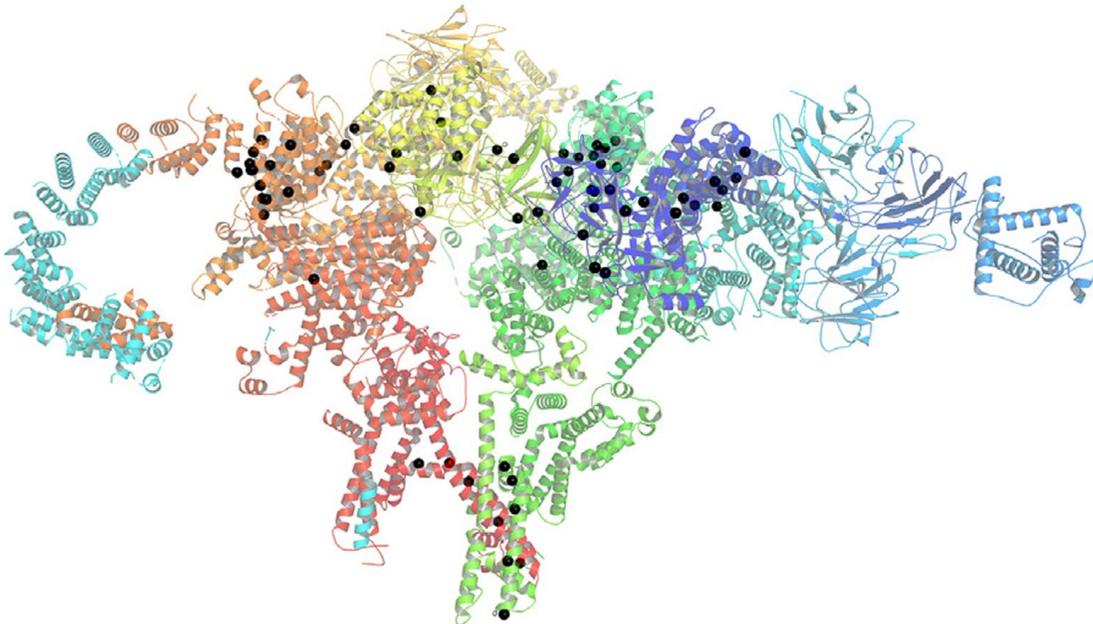
リアノジンの増加に伴い増大  
リアノジン 1 $\mu\text{M}$ で最大



リアノジン 1 $\mu\text{M}$  + プロポフォール  
プロポフォールの増加に伴い減少

# RyR1上のAziPm結合部位を同定した

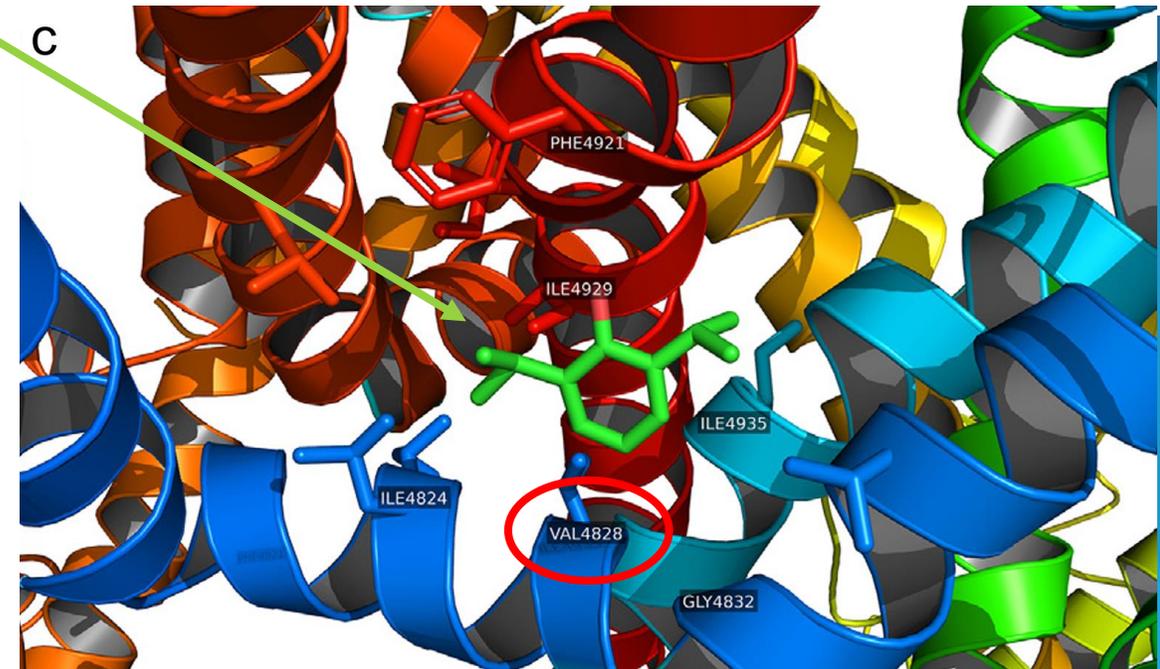
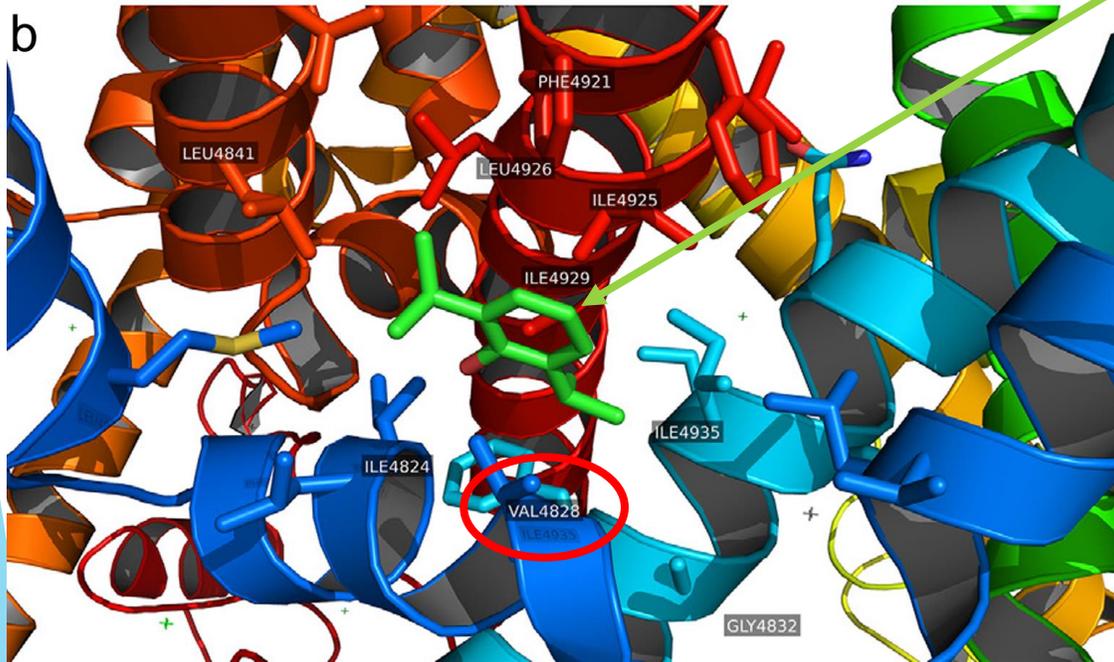
- ▶ AziPmはプロポフォルに類似しているため、光付加残基がプロポフォルの結合部位を示している可能性がある。
- ▶ ウサギ、ブタ、R615C変異のブタの骨格筋からRyR1を精製し、光親和性標識を実施した。
- ▶ ウサギとブタのRyR1は、ヒトのRyR1と97%の配列が同一であった。
- ▶ 200  $\mu$ Mのプロポフォルで前処理したとき、AziPmはRyR1残基に付加されなかった。
- ▶ プロポフォルとAziPmは、RyR1の同一部位に結合して作用することが示唆された。



▪ : AziPmによって光付加RyR1残基

# プロポフォールはV4828の近くに結合する

- ▶ S4-S5リンカーのV4828残基は、疎水性  $\alpha$  ヘリックスに囲まれた結合の一部を形成する。
- ▶ この領域の変異は、高濃度  $\text{Ca}^{2+}$  と低濃度  $\text{Ca}^{2+}$  でのチャネル開口率が増加するが、中間の濃度  $\text{Ca}^{2+}$  では増加しない。
- ▶ V4828ポケットにプロポフォール分子を1つ配置して、MDシミュレーションを使用した。
- ▶ プロポフォールは安定した配向を維持した。
- ▶ 左: RyR1 開口率時    右: RyR1 閉口時    緑: プロポフォール分子



# 考察

- ▶ プロポフォールはRyR1の特定の部位に結合し、開口を阻害する。
- ▶ ヒトの就眠時のプロポフォールの血漿濃度は10  $\mu\text{M}$ 程度であると知られている。
- ▶ 本研究では、10  $\mu\text{M}$ にて阻害効果を示し、効果は濃度依存性であった。
- ▶ しかし、生体内ではプロポフォールは血清タンパクと結合するため、RyR1開口を阻害する血漿濃度はより高い可能性がある。
- ▶ プロポフォールの結合部位は、タンパク全体に分布しているため、アロステリック効果による作用も関係している可能性がある。

# リミテーション

- ▶ 正常な筋肉を使用したMHモデルを評価していない。
- ▶ そのため、臨床効果については仮説的である。
  
- ▶ 臨床的なプロポフォールの投与量にて、生体内RyR1での効果部位濃度は不明である。

# 結語

- ▶ プロポフォールがRyR1の開口を抑制するという結果は、MHだけではなく、他の疾患にも有益である可能性がある。
- ▶ 神経変性疾患の根底には、Ca<sup>2+</sup>調節異常があることが知られている。
- ▶ RyR1のサブタイプであるRyR1、RyR2、RyR3はすべて神経小胞体内に存在する。
- ▶ RyR1の機能不全が病態の予後と相関している。
  
- ▶ 揮発性麻酔薬よりもプロポフォールを用いた全身麻酔は、神経変性疾患の患者にとって有益である可能性がある。