



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ラット脳各種ATPase活性に対する静脈麻酔薬の作用 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	宮本, 健志
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11272号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56314
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takeshi_Miyamoto_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 歯学(博士) 氏名 宮本 健志

主査 教授 藤澤 俊明
審査担当者 副査 教授 鈴木 邦明
副査 教授 船橋 誠

学 位 論 文 題 目

ラット脳各種ATPase活性に対する静脈麻酔薬の作用

審査は、主査、副査全員が一同に会して口頭で行った。はじめに申請者に対して本論文の概要の説明を求めたところ以下の内容について論述した。

生体には各種 ATP 加水分解酵素が存在する。F 型(F-ATPase)はミトコンドリア内膜に存在し、ATP 合成機能を司っているが、ATP 加水分解に伴うプロトン能動輸送機能を有している。V 型(V-ATPase)は細胞内小器官や破骨細胞に存在し、ATP 加水分解反応に伴い H^+ の能動輸送を行う事で、pH の調整や酸性環境を作り出す役割を担っている。V-ATPase は F-ATPase と全体的な構造や性質が類似している。P 型(P-ATPase)には、 Na^+, K^+ -ATPase, $Ca^{2+}-Mg^{2+}$ -ATPase や H^+, K^+ -ATPase が存在し、ATP 加水分解反応中に無機リン酸が酵素に結合したリン酸化反応中間体(EP)を形成する特徴を有している。上記の ATPase はいずれも活性発現に Mg^{2+} (Mg) を必要とするが、これらとは分別される Basal Mg-ATPase 活性は各種報告されてはいるものの、詳細は不明である。また、静脈麻酔薬の各種 ATPase 活性に対する作用の報告は多いが、作用機構の詳細については不明な点が多い。そこで本研究ではMg-ATPase活性の阻害剤に対する応答性を指標に、ラット脳に存在する Mg-ATPase を分別し、各種 Mg-ATPase に対する静脈麻酔薬の作用を検討した。

ラット全脳から、Pottorf の方法に従って、形質膜(PII)とミクロソーム(PIII)分画を得た。ATPase 活性は、ATP 加水分解の結果生成された無機リン量を Chifflet 法に従って定量することにより測定した。また、ウェスタンブロッティングにより F-ATPase 及び V-ATPase を検出した。

結果としては、まず Mg-ATPase 活性の至適 pH は PII が約 9.4、PIII は約 7.4 であっ

た。PII の Mg-ATPase 活性は F-ATPase の阻害剤である Azide によって約 80%が抑制され、PIII の Mg-ATPase 活性は P-ATPase 及び V-ATPase の阻害剤である Vanadate 及び bafilomycin A1 によってそれぞれ約 10%及び 30%抑制された。ウエスタンブロッティングの結果からも、F-ATPase は PII に、V-ATPase は PIII に最も多く検出された。上記阻害剤で抑制されない活性を Basal Mg-ATPase とし、各阻害剤の存在下で各 ATPase を分別して活性の測定を行った。静脈麻酔薬の各 ATPase 活性に対する作用は、Propofol は V-ATPase 活性、PII 及び PIII Basal Mg-ATPase 活性を濃度に依存して抑制したが、F-ATPase 活性は 0.6 mM 程度まで濃度依存的に 80%程度増強した。Pentobarbital はすべての ATPase 活性を濃度依存的に抑制した。Thiopental もすべての ATPase 活性を抑制したが、その程度は各 ATPase によって異なった。

本研究により、ラット脳にはP-ATPase, V-ATPase, F-ATPaseやBasal Mg-ATPase が存在し、静脈麻酔薬はこれらのATPase活性を基本的に抑制するが、Propofol はF-ATPase活性を特異的に促進することが明らかになり、このことからPropofol のミトコンドリアに対する特異的な薬理学的作用が示唆された。

引き続き審査担当者と申請者の間で、論文内容及び関連事項について質疑応答がなされた。

主な質問内容は、

- (1) ラットとヒトの静脈麻酔薬に対する感受性の差異について
- (2) 静脈麻酔薬の効果と血中及び脳内の麻酔薬濃度の評価について
- (3) 麻酔薬によるATPase抑制作用と麻酔作用との関連性について
- (4) PropofolによるF-ATPase活性の特異的活性化とPropofol infusion syndrome (Propofolの長時間投与により発生する致死的な多臓器不全で、原因としてミトコンドリアの脂質代謝障害や電子伝達系の阻害などが考えられている。)との関連性について
- (5) 本研究による新知見と今後の研究の展望や展開等について

これらの質問に対して、申請者は適切な説明によって回答し、本研究の内容を中心として専門分野はもとより、関連分野について十分な理解と学識を有していることが確認された。

本研究は、ラット脳に存在するMg-ATPaseの性質を分析するとともに、ラット脳各種 Mg-ATPaseに対する静脈麻酔薬の作用の差異を明らかにした。今後、静脈麻酔薬の作用機序や副作用のメカニズムの解明に繋がる可能性のある研究であると評価した。本研究の内容は、歯科医学の発展に十分に貢献するものであり、審査担当者全員は、学位申請者が博士(歯学)の学位を授与するに値するものと認めた。