



Title	ラット脳のCa-及び Mg-ATPase 活性の局所麻酔薬による可逆的な抑制 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	岩本, 理恵
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12162号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62193
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Rie_Iwamoto_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 博士（歯学） 氏 名 岩本 理恵

審査担当者	主査	教授	藤澤	俊明
	副査	教授	鈴木	邦明
	副査	教授	田村	正人

学 位 論 文 題 名

ラット脳の Ca-及び Mg-ATPase 活性の局所麻酔薬による可逆的な抑制

審査は、主査および副査が一堂に会し、論文提出者が論文内容の要旨を説明しながら、その内容について審査担当者が口頭試問を行った。学位申請者からは以下の内容の論述がなされた。

局所麻酔薬は細胞内から Na チャネルに結合し、神経細胞の興奮による Na^+ の流入を阻止し活動電流の発生を抑制することにより麻酔作用を示すとされている。しかし、局所麻酔薬の作用は知覚神経のみならず、運動神経、自律神経はもちろん、心筋、骨格筋、平滑筋を含む全ての細胞膜を安定化してその機能を抑制するとされ、時に有害な作用につながる。これら全ての作用を Na チャネルの抑制で説明することは困難である。全ての局所麻酔薬は化学構造に窒素を含み、血液脳関門を容易に通過するため、過量投与等による血中濃度の上昇で中枢作用を示すが直接の作用機構には不明な点が多い。脳内にはイオン輸送、情報伝達等に関与する種々の Ca^{2+} 及び Mg^{2+} で活性化される ATP 加水分解酵素が存在するが、それらに対する局所麻酔薬の作用に関する報告は少ない。そこで、局所麻酔薬の中枢作用にこれら ATPase に対する作用が関与する可能性を考えて本研究を行った。

まず、ラット全脳から Pottorf の方法に従い、形質膜（P II）及びミクロソーム（P III）分画に存在する Ca-及び Mg-ATPase 活性を分離し、pH 7.4 あるいは 9.5 で最大活性を示す 6 種類の Ca-及び Mg-ATPase 活性を検出した。ATPase 活性の測定は ATP 加水分解の結果生じたリンを Chifflet 法で定量することにより行った。各 ATPase 活性に対する種々濃度の procaine, tetracaine, lidocaine, prilocaine, bupivacaine, dibucaine の作用を検討し、共通して活性が抑制される ATPase を局所麻酔薬が作用する ATPase とした。さらに、Ca-及び Mg-ATPase 活性に対する局所麻酔薬 (lidocaine, tetracaine, dibucaine) の作用が可逆的か否かを検討した。

6 種類の ATPase 活性のうち、pH 7.4 で最大活性を示す P II 及び P III の 4 種類の Ca-及び Mg-ATPase 活性は共通した阻害作用を示さなかったため、これらの ATPase は局所麻酔薬の作用点ではないと判断し、その後の検討から外した。pH 9.5 で最大活性を示す P II の Ca-及び Mg-ATPase 活性は各局所麻酔薬により濃度依存的に抑制され、麻酔作用あるいは副作用が強いとされる dibucaine や tetracaine では強い抑制を示した。Mg-ATPase については azide 存在下でも、各局所麻酔薬による阻害作用が認められたことから、Basal Mg-ATPase 活性を濃度依存的に抑制すると考えた。また、一部の局所麻酔薬では低濃度で軽度の活性化が認められた。Ca-及び Mg-ATPase 活性における活性回復実験では、いずれの局所麻酔薬も稀釈により濃度を下げると活性が回復したことから、活性阻害作用は可逆的であることが示唆された。

本研究により、ラット脳には局所麻酔薬により可逆的に活性が抑制される Ca-及び Mg-ATPase 活性が存在し、脳内に局所麻酔薬が到達すると機能は抑制されることが考えられた。

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。

各審査委員からの主な質疑項目は、以下の通りである。

1. 化学構造の窒素と血液脳関門の通過性について
2. 本研究で使用した 6 種類の局所麻酔薬の違いについて
3. P III 分画における測定条件(pH) について
4. Ca-ATPase における F 型 ATPase 及び Basal Mg-ATPase 等との相違について
5. 個々の局所麻酔薬に関して、個別に検討することの意義について
6. 低濃度領域で観察された活性化のメカニズムについて
7. 局所麻酔薬の活性回復におけるメカニズムについて

申請者からはいずれの質問に対しても適切かつ明快な回答が得られ、研究の立案と進行、結果の解析について十分な能力を有していると考えられた。

本研究は、ラット脳に存在する Ca-及び Mg-ATPase の性質を明らかにするとともに、ラット脳 Ca-及び Mg-ATPase に対する局所麻酔薬の作用を明らかにした。今後、局所麻酔薬の中樞神経系への作用機序や毒性のメカニズムの解明に繋がる可能性を有した意義ある研究であると考えられた。以上より、審査担当者全員が、学位申請者を、学位授与されるにふさわしい学識を有しているものと認めた。