HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Na,K-ATPase活性の基質阻害に対するバルビツール酸系薬物の作用［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	古賀, 瑞之
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13056号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70756
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mizushi_Koga_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　古賀　瑞之

審 査 担 当 者	主査	教授　藤澤　俊明
	副査	特任教授　鈴木　邦明
	副査	教授　田村　正人

学　位　論　文　題　名

Na,K-ATPase 活性の基質阻害に対するバルビツール酸系薬物の作用

審査は，審査担当者全員の出席の下，はじめに学位申請者より提出論文の概要の説明が行われ，審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた．まず，学位申請者から以下のような論述がなされた．

通常，基質の濃度を変化させながら酵素活性を測定すると，基質の濃度に依存して活性は増大したのちに最大活性を示す飽和曲線となる．しかし，酵素の種類によって，ある基質濃度で最大活性を示したのち，それ以上基質の濃度を上昇させると活性が低下する現象が観察され，基質阻害と呼ばれている．

バルビツール酸系薬物は中枢神経系に鎮静，催眠，抗痙攣作用などの臨床効果を示す薬物で，主な作用機序は，$GABA_A$ 受容体を介した抑制性神経伝達の増強である．また，Na,K-ATPase は，神経系において細胞の興奮性の維持に関与する酵素であるため， Na,K- ATPase がバルビツール酸系薬物の神経系に対する作用に関連する可能性があると推測される． Na,K-ATPase 活性に対するバルビツール酸系薬物の作用の研究に関しては，川田らの，活性阻害の報告があるが，いまだ十分明らかにされておらず，基質阻害下での検討は行われていない．本研究の目的は，Na,K-ATPase 活性の ATP による基質阻害に対するバルビツール酸系薬物の作用とその機序を明らかにすることである．

主な検討項目は，1) Na,K-ATPase 活性の ATP 濃度依存性に対するバルビツール酸系薬物の作用，2) Na,K-ATPase 活性に対するバルビツール酸系薬物の作用の濃度依存性，3) Na,K-ATPase 活性の Na^+，K^+，Mg^{2+} 濃度依存性に対するバルビツール酸系薬物の作用とした．

その結果，Na,K-ATPase 活性の ATP 濃度依存性を測定すると，バルビツール酸系薬物非存在下のラット脳 Na,K-ATPase 活性は，ATP 濃度に依存して 2．5 mM までは増加したが，5 mM で活性は減少して基質阻害を示した．2．5 mM

の pentobarbital 存在下あるいは 3 mM phenobarbital 存在下でも，2．5 mM ATP まで活性は増加したが，5 mM ATP での基質阻害による活性の低下は，バルビツール酸系薬物非存在下より有意に小さかった．5 mM ATP 存在下では，pentobarbital と phenobarbital は Na,K-ATPase 活性を濃度依存的に促進したが， 2．5 mM ATP 存在下ではその作用は認められず，むしろ活性が抑制された.すなわち，pentobarbital と phenobarbital の濃度に依存した Na,K-ATPase の活性化は，基質阻害がかかった状況での活性化と解釈される．しかし，thiamylal では，基質阻害の軽減は観察されなかった． Pentobarbital と phenobarbital の基質阻害抑制の機序解明を試みたところ，5 mM ATP 存在下では，pentobarbital と phenobarbital は Na,K-ATPase の Na^+に対する親和性を増加させ，K^+に対する親和性を減少させた．このことは．基質阻害下では，pentobarbital と phenobarbital は Na,K-ATPase の構造を E1 型に変化させ，ATP に対する親和性を増加させることにより活性を促進することを示唆した．

引き続き審査担当者と申請者の間で論文内容と関連事項について質疑応答が行われた．審査担当者から以下の質疑がなされた．

1）ATP 濃度依存性の実験での pentobarbital と phenobarbital 濃度設定の根拠について

2）Mg^{2+}濃度依存性に対するバルビツール酸系薬物の作用と Na^+および K^+濃度依存性に対する作用の結果の差異について

3）基質阻害に対するバルビツール酸系薬物の作用の生理的，臨床的な意味合いについて

4）Thiamylal が基質阻害を抑制しない理由について

5）基質阻害は他の酵素でも見られる一般的な現象なのか

学位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，研究の立案と遂行，結果の解析について，十分な能力を有すると考えられた．本研究は Na,K-ATPase 活性を阻害するとされるバルビツール酸系薬物が基質阻害下では活性を促進させること, そして, その機序が Na,K-ATPase が E1 型に変化し，ATP に対する親和性を増加させることを初めて明らかにした，薬理学的に非常に意義のあるものと考えられた．以上のことから審査担当者全員が学位申請者を学位授与にふさわしい十分な学識があると認め，合格と判定した．