HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ラット及びウサギ脳Na,K-ATPase活性に対するbufadienolidesの作用［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	李, 加
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13060号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70760
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Li_Jia_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　李　加

審 査 担 当 者　主査　特任教授　鈴木　邦明
副査　教授　田村　正人
副査　特任教授　柴田健一郎

学 位 論 文 題 名

ラット及びウサギ脳 Na,K-ATPase 活性に対する bufadienolides の作用

審査は，審査担当者全員の出席のもとで行われた．申請者がスライドを使用しながら提出論文の概要の説明を行い，審査担当者が随時，その内容ならびに関連した学問分野について口頭にて試問を行った．学位申請者より説明された提出論文の概要は以下の通りである．

漢方薬のセンソは約 100 種類の bufadienolides を含む．Bufadienolides は心不全治療薬であるジギタリスなどと同様の強心ステロイドであり，Na,K-ATPase 活性の阻害作用を示すが，作用機構の詳細に関する報告は少ない．本研究は， bufadienolides の Na,K-ATPase に対する作用とその機構を明らかにすることを目的に行った．

Bufadienolides として bufalin, cinobufagin, cinobufotalin, ジギタリス類として ouabain を使用し，ウサギ及びラット脳から精製した Na,K-ATPase 活性に対する作用を検討した．

Bufadienolides と ouabain は，ウサギ及びラット脳 Na,K-ATPase 活性をほぼ完全に阻害した．両 Na,K-ATPase 活性に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）は，ouabain では 290 及び 260 nM, bufalin では 40 及び 20 nM, cinobufagin では 230 及び 90 nM, cinobufotalin では 300 及び 150 nM であった．ウサギ脳 Na,K-ATPase に対する cinobufotalin を除いて，bufadienolides は Na,K-ATPase の特異的阻害薬とされる ouabain よりも強い抑制作用を示し，特に，bufalin は強い作用を示した．また，ラット脳 Na,K-ATPase はウサギよりも強心ステロイドに対する感受性が高いことが示唆された．

次に，ウサギ及びラット脳 Na,K-ATPase 活性の Na^+, K^+, Mg^{2+}, ATP 濃度依存性に対する ouabain, bufalin, cinobufagin, cinobufotalin の作用を検討した．Ouabain と bufadienolides はラット及びウサギ脳 Na,K-ATPase 活性の，Na^+, Mg^{2+}, ATP に対する親和性を増大し， K^+に対する親和性を低下させた．これらの結果は，ouabain と本研究において使用した bufalin, cinobufagin, cinobufotalin は，同様の機構で， Na,K-ATPase を抑制することを示唆する．すなわち，センソの強心作用及び利尿作用は，ジギタリス類と同様に Na,K-ATPase の抑制作用に基づくことを示唆する．

審査担当者から上記内容および関連事項について，以下の項目を中心に質疑応答がなされた．

１）センソと bufadienolides 及び強心作用との関係，

２）心不全治療薬の作用機序と Na,K-ATPase 活性阻害との関係，

３）Na,K-ATPase 活性測定の反応液に sucrose を添加する理由と，SDS の添加によって反応を停止する理由，

４）遠心分離操作によって Na,K-ATPase を精製する過程で，マイクロソームを回収する 15,000 rpm の遠心分離操作のあとに，7,500 rpm の遠心分離操作を行う理由，

５）Na,K-ATPase の２種類の最終精製標品とマイクロソームの比活性を比較する目的，

６）細胞の外側から Na,K-ATPase に結合する ouabain が，どうして精製 Na,K-ATPase 活性を阻害することができるのか，

７）Na,K-ATPase 活性の Na^+, K^+, Mg^{2+}, ATP 濃度依存性に対する ouabain と bufadienolides の作用を測定する目的，

８）Ouabain 及び bufadienolides の Na,K-ATPase 活性阻害機構と，確立されている Na,K-ATPase の反応機構の関係，

９）心筋以外の臓器に対する bufadienolides の作用について，

学位申請者はいずれの質問に対しても明確かつ的確に回答し，さらに今後の研究についても発展的な将来展望を示した．

本研究の結果は，bufadienolides は ouabain と同様の作用機構で，ouabain よりも強い Na,K-ATPase 阻害作用を示すこと，センソによる強心作用及び利尿作用の機構はジギタリス類と同様であることを示した点が，今後の歯科医学の発展に大きく貢献するものと評価された．加えて，学位申請者は本研究の内容を中心とした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を審査員一同が認めた．

以上から，学位申請者は博士(歯学)の学位を授与されるに値するものと認めた．