

# DOCA食塩高血圧ラットの肺と腎臓におけるナトリウム利尿ペプチド受容体の変動

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 劉, 麗梅 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1039">http://hdl.handle.net/10271/1039</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 186号	学位授与年月日	平成 7年 3月27日
氏名	劉 麗 梅		
論文題目	DOCA 食塩高血圧ラットの肺と腎臓におけるナトリウム利尿ペプチド受容体の変動		

博士(医学) 劉 麗 梅

## 論文題目

DOCA 食塩高血圧ラットの肺と腎臓におけるナトリウム利尿ペプチド受容体の変動

## 論文の内容の要旨

### 1. はじめに

ナトリウム利尿ペプチド系は三種類のナトリウム利尿ペプチド (ANP、BNP、CNP) と三種類のナトリウム利尿ペプチド受容体 (GC-A、GC-B、C-receptor) から構成されている。現在まで、種々の動物実験において高血圧症、心不全における ANP 分泌とその受容体の変動に関して報告がなされている。しかしながら、これらの研究では NP-R のサブタイプに関しては不明であり、その意義は必ずしも明らかではなかった。NP-R の発現調節に関して、in vitro の報告はナトリウム利尿ペプチドの合成と分泌が増加している状態においては C-受容体が down-regulation を受け、ナトリウム利尿ペプチドの作用を強めている可能性を示唆しているが、in vivo における C-受容体の down-regulation についてはまだ明らかではない。この研究では DOCA 食塩高血圧ラットにおいて、ナトリウム利尿ペプチドの分泌と肺と腎臓における NP-R の調節およびその病態生理学的意義について検討した。

### 2. 方法

17週齢の雄性 Wistar 系ラット (DOCA 食塩高血圧ラット、対照ラット) を断頭し、採血後直ちに心房、心室、肺、腎皮質、腎髄質を取り出し、重量を測定した。肺と腎皮質、腎髄質の NP-R は、細胞膜を可溶化する方法で抽出し、最大結合能 (Bmax) と解離定数 (Kd) は、受容体結合実験を行ない、radioreceptor assay (RRA) で測定した。C-受容体については、C-受容体に高親和性で、特異的に結合する合成リガンド C-ANF<sub>4-23</sub> を用いて <sup>125</sup>I- $\alpha$ -ANP と C-受容体に対する競合結合実験を行い検討した。血中 ANP 濃度は EDTA・アプロチニンを含む遠心管に採血し、冷却遠心後血漿を Sep-pak C<sub>18</sub> カラムを用いて抽出し、凍結乾燥後、phosphate buffer に溶解し、RIA にて測定した。心房と心室組織中 ANP と BNP 濃度は組織を10倍量の 1 M 酢酸で10分間加熱し、冷却後、ホモジナイズして抽出した後、RIA にて測定した。

### 3. 結果

1) DOCA 食塩高血圧ラットにおいては、tail-cuff 法で測定した収縮期血圧 (SBP) が対照ラットに比し、有意に高かった。血漿 ANP 濃度の上昇、心房 ANP 濃度と含量が33.0%と25.0%の減少、心室 ANP 濃度と含量が5倍と5.5倍の上昇を観察した。BNP の心房濃度、含量には有意差がなかったが、心室では濃度が2.4倍、含量が2.7倍の上昇を認めた。

2) DOCA 食塩高血圧ラットにおいては、肺と腎皮質 NP-R の最大結合能 (Bmax) は対照ラットのそれに比べ、それぞれ45.9%、33.6%と有意に減少したが、腎髄質の Bmax は両群間に有意差がなかった。解離定数 (Kd) は肺、腎皮質および腎髄質には両群間に共に有意差がなかった。

3) 対照ラットにおいては肺の NP-R の Bmax が腎皮質と腎髄質のそれより大きく ( $p < 0.01$ )、この中で C-受容体の占める割合は腎皮質 > 肺 > 腎髄質の順に高かった。DOCA 食塩高血圧ラットにおいては肺と腎皮質の C-受容体はそれぞれ37.2%、30.6%の down-regulation を認めた。腎髄質の NP-R には有意の変化がなかった。

### 4. 考察

DOCA 食塩高血圧ラットでは体液量増加と高血圧による心臓からの ANP と BNP の合成の亢進、

血中 ANP 濃度の上昇は降圧、体液調節に働いていると考えられるが、この生体の防御機序を維持するには肺と腎皮質における C-受容体の down-regulation によって、血中からの ANP のクリアランスが減少され、生体に有利に働くと考えられる。一方、B 受容体の豊富な腎髄質では down-regulation は認められず、Na 利尿ペプチドの生物作用を維持するのに合目的に受容体の調節が行なわれていると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

審査は論文作成までの研究の背景、論文内容、現在の教室の研究動向などを申請者が説明し、その間、審査員から質問が適宜行われた。すべて日本語でなされたが、申請者は日本語が達者であり、審査に殆ど支障がなかった。

申請者は DOCA 食塩高血圧ラットを用い、心不全時における ANP、BNP、CNP の三種のナトリウム利尿ペプチドとグアニル酸シクラーゼ-A 受容体 (GC-A)、同 B 受容体 (GC-B)、ナトリウム利尿ペプチドクリアランス受容体 (C-受容体) の変化を *in vivo* で測定した。そして *in vitro* で報告されている C-受容体の down-regulation により、ナトリウム利尿ペプチドの分解が低下することでその作用が強められている可能性を *in vivo* で確認すべく実験を行った。

方法としてはコントロールラット 8 匹、DOCA 食塩高血圧ラット 8 匹を用い、血中、心房、心室での ANP、BNP 濃度、腎皮質、腎髄質、肺での受容体親和性、受容体数などを測定した。その結果、DOCA-食塩投与により、心臓の ANP、BNP 合成が亢進すること、C-受容体の多い肺と腎皮質で C-受容体が down-regulation により減少することが認められた。これが plasma 中の ANP の増加の一因で、心不全の補償に合目的に働いていると推論した。一方、B 受容体が豊富で、C-受容体が少ない腎髄質では C-受容体 down-regulation は顕著でなかった。

審査過程で出た質問は以下の通りである。

- 1) DOCA 食塩高血圧ラット以外の心不全モデルではどうか
- 2) 三種の受容体の構造と作用
- 3) 抽出法について、途中のステップで10分間 acetic acid で煮沸する理由、および可溶化剤として 0.5% Triton X-100 を用いた理由
- 4) 受容体結合アッセイにおいて、Charcoal、Dextran T-70 を加えた理由
- 5) DOCA 食塩高血圧ラット作成法
- 6) ANP と BNP の生物活性について
- 7) 心房と心室の ANP、BNP の分泌形態の違い
- 8) 健常時と心不全時における血中 ANP 半減期
- 9) Kd 値は膜に結合している場合と可溶化されている場合とで異なるか
- 10) 肺や腎の C-受容体は体全体の何% ぐらいか
- 11) ANP 受容体 guanylate cyclase と soluble guanylate cyclase と生理的役割
- 12) C-受容体のクリアランスメカニズム

これらの質問に対し、申請者の解答はほぼ適切であり、心不全では C-受容体が down-regulation を起こし、それが血中 ANP の増加、作用亢進に貢献していることを *in vivo* で示したすぐれた論文である。従って博士 (医学) の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 中 島 光 好  
副査 副学長 原 田 幸 雄 副査 教授 市 山 新  
副査 教授 菅 野 剛 史 副査 助教授 菱 田 明