



Changes in Plasma Level of Alpha-Atrial Natriuretic Polypeptide (Alpha-ANP) and Responsiveness of the Aorta to Exogenous Alpha-ANP Subsequent to Myocardial Infarction in Rats

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: 王, 依婷 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1406

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	医博論第 129号	学位授与年月日	平成 4年10月 2日
氏 名	王 依 婷		
論文題目	Changes in Plasma Level of Alpha-Atrial Natriuretic Polypeptide (Alpha-ANP) and Responsiveness of the Aorta to Exogenous Alpha-ANP Subsequent to Myocardial Infarction in Rats (心筋梗塞ラットにおける血中 Alpha-ANP 濃度と外因性 Alpha-ANP に対する大動脈平滑筋の反応性の経時的変化)		

医学博士 王 依 婷

論文題目

Changes in Plasma Level of Alpha-Atrial Natriuretic Polypeptide (Alpha-ANP) and Responsiveness of the Aorta to Exogenous Alpha-ANP Subsequent to Myocardial Infarction in Rats

(心筋梗塞ラットにおける血中 Alpha-ANP 濃度と外因性 Alpha-ANP に対する大動脈平滑筋の反応性の経時的変化)

論文の内容の要旨

心不全患者や実験的心不全モデル動物では、血中の α -atrial natriuretic polypeptide (α -ANP) 濃度が上昇していることが知られている。又、心筋梗塞ラット(以下 MI と略す)では、外から与えた ANP に対する血圧降下作用が減弱していること、更に、腎髄質の ANP 結合部位が減少していることなどが報告されている。本研究は MI ラットでの血中 ANP の経時的変化を知り、それに伴って外因性 ANP に対する血管平滑筋の反応性が変化するか否か、変化するとすればその時間経過を検討する目的で大動脈を用いて行った。

MI 作成は 8 週齢の Wistar 系雄ラット(体重約 180 g)を用い、pentobarbital (50mg/kg) で麻酔し、気管内挿管後人工呼吸下に第 4 助間にて開胸し、左冠動脈を結紮した。冠動脈結紮以外同様の手術を行ったものを sham-operated rat (Sham) とした。冠動脈結紮後、血中の ANP 濃度は 1 週、4 週及び 12 週に測定した。1、4、8、及び 12 週に胸部大動脈を摘出し、2 × 10mm のラセン標本を作成した。それを 10ml の Krebs-Henseleit 液を満たした organ bath 中に 1 g の静止張力で懸垂し、 α -ANP、isoprenaline、nitroprusside 及び methoxamine に対する等尺性反応を検討した。 α -ANP、nitroprusside では methoxamine (10^{-5} M) で、isoprenaline、nitroprusside では 40mM のカリウムで予め収縮させた標本での弛緩反応を観察した。

採血は ether 麻酔下にラットを背位に固定し頸静脈を穿刺して行った。血液を 1 ml 採取し、速やかに氷冷した 5000U/ml の aprotinin を含む 0.5% EDTA 溶液 100 μ l を加え、良く攪拌した。遠心後 plasma を -80 °C に保存し、測定に供した。

MI の ANP 濃度は全ての時点で sham に比べて有意 ($p < 0.05$) に約 6 倍に上昇した。大動脈の ANP と isoprenaline に対する反応性は全ての時点で sham に比べて MI で減弱傾向にあり、ANP に対しては MI 作製後 1 及び 4 W で isoprenaline に対しては 8 W で有意に減弱していた。nitroprusside に対する弛緩反応と methoxamine に対する収縮反応は変化していなかった。

培養血管平滑筋細胞では ANP に長時間暴露した後に、ANP receptor 数の down-regulation が起きることが報告されている。今回の冠動脈結紮後認められた MI ラットの血中 ANP 濃度の上昇と大動脈の ANP に対する反応性の減弱は血中 ANP 濃度の増大による down-regulation によるものと考えられる。一方、

心不全患者では血中 catecholamine の濃度が上昇していることがよく知られている。又、catecholamine の濃度の上昇はその後の β -receptor の sensitivity の減弱を引き起こすことが報告されている。我々の結果でも MI 群の大動脈の isoprenaline に対する反応性は、測定したいずれの時点でも減弱傾向にあり、これらの報告を支持する結果であった。

結 論

peptide hormone は受容体の数を直接調節し、peptide hormone 濃度の変化が受容体の密度と逆相関するという節は一般的に認められている。ANP 濃度の増大による down-regulation で ANP receptor の internalization が生じ、その大部分は細胞内で分解、代謝されるという報告がある。本研究で観察された血中 ANP 濃度の増大に伴う大動脈の ANP に対する反応性の減弱現象は、この報告されたメカニズムにより良く説明される。一方、比較的短期間の間に大動脈の ANP、isoprenaline に対する反応性が一部回復していたことは別の代償機構の存在も示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

心房性 Na 利尿ペプチド (ANP) は、腎に作用して Na 利尿をもたらす、血管を拡張させて降圧作用を示すことが知られている。心不全患者や心不全モデル動物では、血中 ANP 濃度が上昇し、逆に外因性の ANP に対する降圧反応が減弱するが、これは血管平滑筋培養細胞を用いた実験から ANP receptor の down regulation によるものではないかと考えられている。

本申請者は心筋梗塞モデルラットの大動脈摘出標本を用いて、ANP の血管弛緩反応と血中 ANP 濃度の関係を経時的に観察し、ANP の作用調節機能を検討した。すなわち、Wistar 系雄ラットの左冠動脈を結紮して、心筋梗塞モデルラットを作成し、結紮後 1～12週にわたって経時的に血中 ANP 濃度を測定した。また、術後 1, 4, 8 および 12週の時点でそれぞれ大動脈を摘出してラセン標本を作製し、これを用いて α -ANP、isoprenaline、nitroprusside および methoxamine に対する等尺反応を比較検討した。

その結果次のことが明らかになった。

- ①血中 ANP 濃度は心筋梗塞発症後すべての時点で上昇した。
- ②大動脈の ANP、isoprenaline に対する弛緩反応はすべての時点が減弱していた。
- ③これに対して nitroprusside に対する弛緩反応と methoxamine に対する収縮反応はコントロールに比較してすべての時点で差が認められなかった。

この結果から、同じく cGMP を介する ANP と nitroprusside の反応に差がみられたこと、ANP と β -レセプターを介する isoprenaline の反応が類似していたことから ANP の作用調節に ANP レセプターの down regulation が関与している可能性が示唆された。

本研究の特徴として心筋梗塞のモデルラットの大動脈の ANP に対する反応を他の作用機序の異なる薬剤と比較して、経時的に観察することにより、血管壁の ANP レセプターの down regulation による調節機

序の存在を示唆する成績を得た点で、本論文の意義が評価された。

なお、この研究に対して審査委員から次の質疑がなされた。

1. 心筋梗塞の発症を組織学的に確認したか
2. 発症した心不全の程度と実験成績への影響の有無
3. 実験動物の死亡率
4. 血管内皮の存在の有無による反応性への影響
5. 大動脈を使用した理由
6. 他の血管での成績との比較
7. ANP assay の信頼度
8. nitroprusside の作用機序
9. methoxamine と KCl による収縮反応の比較
10. カテコールアミンの血中動態
11. receptor 実験との比較検討
12. C receptor (clearance receptor) と A receptor の関連の可能性

以上の試問に対する申請者の解答は適切であり、本審査委員会は本論文が博士（医学）の学位授与に値する十分な内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 吉 見 輝 也

副査 教授 原 田 幸 雄 副査 教授 森 田 之 大

副査 助教授 小 林 明 副査 助教授 菱 田 明