

Atrial Natriuretic Peptide Messenger RNA and Peptide in Rats with Aortic Valve Insufficiency

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 森田, 浩 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/962

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 109号	学位授与年月日	平成 3年 3月26日
氏名	森田 浩		
論文題目	Atrial Natriuretic Peptide Messenger RNA and Peptide in Rats with Aortic Valve Insufficiency (大動脈弁閉鎖不全モデルラットにおける心房性ナトリウム利尿ペプチドおよびそのメッセンジャーRNA量に関する検討)		

医学博士 森田 浩

論文題目

Atrial Natriuretic Peptide Messenger RNA and Peptide in Rats with Aortic Valve Insufficiency

(大動脈弁閉鎖不全モデルラットにおける心房性ナトリウム利尿ペプチドおよびそのメッセンジャーRNA量に関する検討)

論文の内容の要旨

心房性ナトリウム利尿ペプチド (Atrial Natriuretic Peptide : ANP) は1984年単離同定された心房にのみ限局するNa、水利尿活性を有するペプチドと報告され、心房壁の伸展により刺激され心房のみから分泌されると考えられてきた。しかし、最近の免疫組織化学を用いた研究では、心房だけではなく心室や脳でも免疫活性を認めており、また、ANP cDNAを用いた研究では心室にもANP mRNAが存在し、心室におけるANP合成が確認されている。今回、心房、心室のANP合成に対する容量負荷の影響を検討するために、大動脈弁閉鎖不全 (AI) モデルラットを作製し、血中ANP濃度、心房、心室のANP含量、およびANP mRNA量を測定した。

(方法)

大動脈弁閉鎖不全モデルは、13週令のWistar系雄ラットを用いてMoalicらの方法に準じて、pentobarbital麻酔下で右頸動脈より径0.85mmのpolyethylene rodを挿入し、大動脈弁尖を損傷し作製した。2週後、体重および心房、心室の重量を測定後に断頭し、Na₂-EDTA、トラジロール採血後、Sep-Pak C18を用いて抽出し血中のANP濃度をRIA法により測定した。心房、心室のANP含量は、組織をIM酢酸中で煮沸してホモゲナイズ後、遠心して得た上清を凍結乾燥して同様にRIA法で測定した。また、心房、心室のANP mRNAはBynummらの方法に準じてSDS-phenol法によりRNAを抽出後、Northern blotおよびDot blot法により検出しSham群と比較した。この際、ANP cDNAをprobeとし (random primer法により作製、specific activity は約 1×10^6 cpm/ μ g) ハイブリダイゼーション後、オートラジオグラフィーを行ないdensitometerで測定した。その後、一度probeを除去し、再度 β -actin cDNAによりハイブリダイゼーションを行ない、同様にオートラジオグラフィーの後densitometerで測定し、両者の比を取りANP mRNA濃度とした。AIラットの値は、心房、心室ともにSham群を1としたときの比で表した。またANP mRNA濃度に抽出したtotal RNA量に乗じたものをANP mRNA含量とした。

(結果)

AIラットは、Sham群に比較して心房、心室重量は各々 1.4、1.2倍と増加しており、有意に心肥大を示した。Northern blot法ではAIラットから抽出したRNAは単一のANP mRNAのバンドを示しSham群のものと同サイズで約1.0 k base pairであった。心房のANP mRNA量は濃度、含量ともにAIラットとSham群の間で有意な変化はなかったが、心室のANP mRNA量は、濃度、含量ともに各々 2.4、3.1倍と有意な増加を示した。

血中のANP濃度はAIラットは 648 ± 87 pg/ml でSham群の 288 ± 27 pg/mlに比較して有意に増加していた。心房のANPは含量は両者で有意な変化は認めなかったが、その濃度はAIラットは 86 ± 26 ng/mg wtでSham群の 164 ± 32 pg/mg wtに比較して有意に減少していた。心室のANPは、濃度、含量は各々、AIラットは 158 ± 27 pg/mg wt、 166 ± 32 ngでSham群の 29 ± 2 pg/mg wt、 21 ± 1 ngに比較して 5.2、7.9倍まで増加していた。

(考案)

今回の実験モデルでは、大動脈弁閉鎖不全状態における容量負荷によりANPの主要な分泌組織である心房ではANP mRNAは有意な増加を示さなかったが、心室においてはANPペプチド含量、ANP mRNA量ともに有意な増加を示すことが確認された。心房と心室でのANPの合成の調節機序の違いの原因は不明だが、心房では通常状態で既に最大限に合成されているのに対して心室は刺激に反応して合成の亢進が起こるものと考えられた。心室におけるANP合成の増加の生理学的意義は現在のところ不明だが、血流動態の変化に対応して血中のANP増加に関与している可能性が示唆された。一方、心房のANP濃度は大動脈弁閉鎖不全状態では減少していたが、ANP mRNAは有意な変化は認めず、心房でのANP合成が低下しているためと言うよりも分泌機序の亢進によるものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) は心房壁の伸展により心房での合成が促進し、血中ANPが増加すると考えられていた。しかし、最近の研究により心室でも合成されていることが確認されている。圧負荷による心不全における心房ならびに心室におけるANPについては既に報告があるが、容量負荷による心不全について検討した研究はない。本論文は大動脈弁閉鎖不全 (AI) モデルラットを用いて心房ならびに心室の免疫活性 (IR) -ANP, ANP mRNAを測定し、これらに対する容量負荷の影響について検討したものである。

AIラットにおいて、ANPの主要な合成組織である心房でのIR-ANPは減少し、ANP mRNAは有意な変化を認めなかった。一方、心室においてはIR-ANP, ANP mRNAともに有意な増加を示した。

以上の結果から、容量負荷時には心房でのANPの合成は有意な変化を示さないが、その放出は亢進し、心室においてはANPの合成が有意に増加すると考えられ、両者の因子が血中のANPの増加に関与していると推論している。

本研究は容量負荷による心不全における心房ならびに心室のANPの動態を明らかにしたもので、心不全におけるANPの病態生理学的役割を明らかにし、更には治療の上、重要な示唆を与える研究として高く評価されるところであった。

なおこの研究に対して審査委員から次のような質疑がなされた。

1. 実験動物の食餌、特にNa, 水分の管理
2. 大動脈閉鎖不全モデルラットとヒトの大動脈閉鎖不全の相同性
3. 大動脈閉鎖不全の確認法
4. ANPの心房からの分泌機構
5. ANP顆粒を証明するための染色法
6. ANPとCNPのアミノ酸配列のホモロジー
7. ANPのクリアランス機序
8. ANPの心房での合成部位等について

以上の試問に対する回答は概ね適切であった。

以上審査の結果、本審査委員会は、本論文が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	山崎	昇			
	副査	教授	五十嵐	良雄	副査	教授	藤田道也
	副査	助教授	田島	惇	副査	講師	田港朝彦