

Title	心臓由来のGly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Glyに関する生化学的研究
Author(s)	牧野, 俊猛
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34720">https://hdl.handle.net/11094/34720</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・（本籍）	まきのとし たけ 牧 野 俊 猛
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 6 8 5 1 号
学位授与の日付	昭 和 6 0 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	薬学研究科 応用薬学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	心臓由来のGly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Glyに関する生理化学的研究
論文審査委員	(主査) 教 授 青 沼 繁 (副査) 教 授 近 藤 雅 臣 教 授 岩 田 平 太 郎 教 授 三 浦 喜 温

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 緒 論

洞房結節に生じた心臓の電氣的興奮は心房の伝導線維，房室結節さらにヒス束などの刺激伝導系を通り心室筋全体に伝わるが，この興奮ならびに伝導過程の障害により生じる不整脈は種々の心肺疾患における重要な所見のひとつである。その治療法として大部分の症例では薬物療法が行なわれており，現在なお心収縮力抑制や血圧下降など副作用の少ない優れた抗不整脈剤の開発が急がれている。

近年，青沼らは心臓作用物質の開発研究の一環として，細胞培養系を用い心筋細胞の示す不規則運動を改善する心臓ペプチド成分antiarrhythmic peptide (AAP) を単離することに成功し，その構造をGly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Glyと推定した。培養心筋細胞への直接作用を指標に分離されてきたAAPが，生体心臓に対して作用を発現するのか，また心臓由来のこのペプチドが心臓機能維持に生理的役割を担っているのか否かは極めて興味ある課題である。そこでまず，この配列のペプチドを合成し，生体レベルにおける抗不整脈作用および代謝を検討した。さらに高感度測定法としてradioimmunoassayを開発し，内因性AAPレベルの変動を検討した。

### 本 論

#### 第一章 Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Glyの合成

固相法により合成したGly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Glyと牛心房より単離した天然AAPの物理化学的性質および生物活性を比較検討した結果，両者が等しい性質を示したのでAAPのアミノ酸配列がGly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Glyであることを確定した。

AAP関連ペプチドを合成し抗不整脈作用を検討した結果，いずれも活性を示さず，AAPの活性発

現には全構造が必須であることを認めた。

## 第二章 AAPの抗不整脈活性

生体心臓の示すaconitine, 高Caおよびouabain誘発不整脈に対してAAPが抑制作用を示すことを認めた。AAPはイヌにおいてQT間隔を有意に延長したが、心拍数, 呼吸数および血圧に対してはほとんど影響を示さず, また急性毒性は1 g/kg以上であった。

ADPによる虚血性不整脈モデルを検討した結果, AAPが有意な抑制作用を示すことを認めた。また実験的血栓症モデルに対するAAPの作用を検討したところ, 動静脈シャントモデル, lauric acidによる動脈血栓症モデル, lactic acidによる肺血栓症モデルに対して有意な抑制作用を示し, さらにin vivo血小板凝集抑制作用を示すことを認めた。一方比較的血小板の関与の少ない静脈血栓モデルおよび凝固・線容系に対しては作用を示さないことから, 血小板凝集を抑制することにより抗血栓作用を示すことを認めた。従って抗血栓作用をあわせもつ抗不整脈薬として, AAPは虚血性心疾患に対する治療薬としての可能性が示唆された。

## 第三章 AAPの生体内動態

[1-<sup>14</sup>C] Acetamidino-AAP (<sup>14</sup>C-AAP) を合成し, マウスにおける生体内分布, 蛋白結合および代謝について検討した。<sup>14</sup>C-AAPは静脈注射後数分で腎臓, 心臓, 肺臓, 顎下腺などに比較的多く分布し, 作用臓器の心臓においては投与後1-6分に貯留が起きることを認めた。血中半減期は約10分で, 投与後3時間に68%が尿中に排泄された。AAPは血液中で高分子物質(蛋白質)と結合せず, また未変化のまま尿中に排泄されることを認めた。

## 第四章 心臓および血清中AAPレベルの変動

AAP抗体および<sup>125</sup>I-AAPを用いることにより心臓および血清中AAPを測定できる鋭敏で, しかも特異性の高いradioimmunoassayを確立した。本法による正常ラット心臓のAAP値は $16.6 \times 10^{-8}$  g/g, 血清では $5.4 \times 10^{-8}$  g/mlであったが, Ca誘発不整脈時に心臓では2.4倍の $40.3 \times 10^{-8}$  g/gに, 血清では16倍の $85.5 \times 10^{-8}$  g/mlにまでAAPが増加することを認めた。心臓中のAAP含量はラットと牛の間ではほとんど差がみられず, さらに心室のAAP含量が心房より多いことを認めた。また平滑筋の血管, 小腸および骨格筋の排腸筋にはAAPは存在しなかった。

## 結 論

- 1) 牛心臓から分離された培養心筋細胞拍動不整改善因子(Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Gly, AAP)のアミノ酸配列を合成確認すると共に, 活性発現にはAAP全配列が必須であることを認めた。
- 2) AAPは生体心臓の示す薬物誘発不整脈に対して抑制作用を示し, その機作として電気的心室筋収縮時間(QT間隔)延長作用を有することを認めた。また心拍数, 呼吸数および血圧に対しては作用を示さず, 急性毒性は1 g/kg以上と極めて毒性の低いものであった。
- 3) AAPは実験的血栓症モデルにおいて抗血栓作用を示し, その機作として血小板凝集抑制作用を有することを認めると共に, 虚血性不整脈に対する有効性を示唆した。
- 4) AAPの生体内動態について[1-<sup>14</sup>C] acetamidino-AAPを用いて検討し, 血中半減期は約10分, 尿中には3時間で投与量の68%が排泄されること, 組織では投与後1-6分において心臓に貯留し,

生体内では未変化体のまま存在することを明らかにした。

5) AAPの定量法として内因性AAPを測定できる鋭敏で、しかも特異性の高いradioimmunoassayを確立した。本法を用い心臓および血清中にAAPの存在を証明すると共に、平滑筋および骨格筋中にはAAPが存在しないことを認めた。さらに心臓および血清中AAPレベルがCa誘発不整脈時に著明に上昇することを認め、AAPが心臓機能調節に関与する生理活性ペプチドであることを強く示唆した。

### 論文の審査結果の要旨

牛心臓から分離された培養心筋細胞拍動不整改善因子 (Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Gly, AAP) のアミノ酸配列を合成確認すると共に、活性発現にはAAP全配列が必須であることを認めた。次にAAPは生体心臓の示すaconitine, 高Ca, ouabainおよびADP誘発不整脈に対して抑制作用を示し、その機作として電気的心室筋収縮時間 (QT間隔) 延長作用を有することを認めた。さらにAAPは実験的血栓症モデル (動脈性血栓: 頸動静脈シャントモデル, lauric acid誘発末梢動脈閉塞症, 肺血栓: lactic acid誘発肺血栓, 冠動脈血栓: ADP誘発冠動脈血栓) において抗血栓作用を示し、その機作として血小板凝集抑制作用を有することを認めると共に、虚血性不整脈に対する有効性を示唆した。一方AAPの生体内動態について〔1-<sup>14</sup>C〕acetamidino-AAPを用いて検討し、生体内では未変化体のまま存在することを明らかにし、その定量法として内因性AAPを測定できる鋭敏で、しかも特異性の高いradioimmunoassayを確立した。そしてAAPの存在を血中に証明するとともに、心臓および血清中AAPレベルがCa誘発不整脈時に著明に上昇することを認め、AAPが心臓機能調節に関与する生理活性ペプチドであることを強く示唆した。

よって薬学博士としての価値ある論文と認める。