The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Characterization of immunoreactive brain natriuretic peptide in human cardiac atrium
Author(s)	竪山, 仁根
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37532
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【106】

氏名・(本籍)	竪山仁根（たてやまひとね）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9405 号
学位授与の日付	平成2年11月6日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Characterization of immunoreactive brain natriuretic peptide in human cardiac atrium （ヒト心房中における脳性ナトリウム利尿ペプチド免疫活性物質の特徴）
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男 (副査) 教授 宮井 潔　教授 矢内原千鶴子

論文内容の要旨

〔目 的〕

Brain natriuretic peptide（BNP）は，最初ブタ脳より単離・同定された新しいナトリウム利尿ペプチドで，Atrial natriuretic peptide(ANP）と類似した構造と薬理活性を有している。ブタBNPに続きヒトBNP前駆体構造がcDNA解析により決定され，そのC末端部にブタBNP−32と相同性の高いヒトBNP−32構造の存在することが明らかになった。また，BNP前駆体構造には哺乳類ANP類では見られない大きな種差の存在することが示された。本研究においては，このヒトBNP前駆体構造をもとにヒトBNPに特異的なRadioimmunoassay（RIA)を開発し，ヒト心房内におけるBNPの存在を明らかにするとともに，その分子型を解析することを目的とした。

〔方 法〕

(1) ヒトBNP抗血清は，ヒトBNP前駆体構造のC末端に相当する26残基のペプチドを化学合成し，これをカルボジイミド法によりウシのサイログロブリンと結合させた後，Freund's complete adjuvant と乳化させたものを家兎に定期的に繰り返し免疫することにより調製した。

(2) BNPのRIA法には，抗血清189−6を最終希釈42万倍で使用した。

(3) ヒト心房は死後4時間以内の剖検時に採取し，抽出は組織を細断化後10倍量の水で95℃以上で10分間加熱，冷却後酢酸を1M，塩酸を20mMになるように加え，ポリトロンミキサーで4分間ホモジナイズ後遠心分離し，その上清を心房抽出物とした。

(4) 心房抽出物を純水で倍希釈後Sep-Pak C−18 cartridgeにより処理，ペプチド分画を

Sephadex G－５０ゲル濾過（fine 1.8×１３４ cm, Pharmacia）により分離した後，各分画のＢＮＰ免疫活性をＲＩＡ法で測定した。更に，ゲル濾過でのＢＮＰ免疫活性画分を逆相高速液体クロマトグラフィー（逆相ＨＰＬＣ）により分析し，ＢＮＰ免疫活性測定によりその分子型の同定を行なった。

〔結　果〕

(1) 抗血清１８９－６を最終希釈４２万倍で使用したＲＩＡ系において標準曲線の５０％結合阻止量は2.6 fmol/tube，測定範囲は0.2－３０ fmol/tubeと高感度であった。また，本ＲＩＡ系はヒトＢＮＰに特異性が高く，既知のナトリウム利尿ペプチドとの交叉活性は0.００３％以下であった。

(2) １３人の心房（主に心耳）中のＢＮＰ濃度は9.９８－５９3.２２ pmol/g と個体差が大であり，平均では９9.9 pmol/gであった。これらのＡＮＰ濃度は1.６３－３5.５６ nmol/g，平均では13.69 nmol/g で，ＢＮＰ濃度はＡＮＰ濃度の約１５０分の１であった。

(3) 心房抽出物をSephadex G－５０ゲル濾過により分離した結果，ＢＮＰ免疫活性は１５Ｋの高分子型と４Ｋの低分子型の２分子型に認めた。心房内の高分子型ＢＮＰと低分子型ＢＮＰの比は２：３－１：１０で低分子型が主であった。

(4) ゲル濾過による低分子型ＢＮＰ免疫活性画分をＣ－１８カラムを用いた逆相ＨＰＬＣによりＢＮＰ免疫活性は単一なピークとして溶出され，これは合成ヒトＢＮＰ－３２の溶出位置と一致し，低分子型ＢＮＰはＢＮＰ－３２と考えられた。高分子型ＢＮＰ免疫活性画分も同一の逆相ＨＰＬＣにより単一なピークとして溶出され，高分子型ＢＮＰはγＢＮＰと考えられた。

(5) 心房内の低分子型ＡＮＰ免疫活性はα－ｈＡＮＰであり，高分子型ＡＮＰ免疫活性はγ－ｈＡＮＰであった。また中間型ＡＮＰ免疫活性はβ－ｈＡＮＰであった。

〔総　括〕

ヒトＢＮＰは心房組織中に比較的高濃度で存在することが明らかとなった。そして，その組織濃度は，既報のブタのＢＮＰ濃度に相当し，ラットのＢＮＰ濃度の約６分の１であった。またヒトＢＮＰ濃度は個体差が大きく，疾患および病態との密接な関連が推察された。ヒトＢＮＰもＡＮＰと同様に循環ホルモンとして機能し，体液・血圧などの調節により生体内ホメオスタシスの維持に働くと考えられる。しかし，心房中のＢＮＰ濃度はＡＮＰ濃度の0.２－3.６％と低率で，両者間に明確な相関性が認められなかったことから，これら２種のナトリウム利尿ペプチドの産生および分泌は異なった機構により調節されると推察された。また，ヒト心房中ＢＮＰは低分子型ＢＮＰ－３２を主成分とし，高分子型γ－ＢＮＰとの２分子型の存在を確認した。これはγ－ＢＮＰを主成分とするブタＢＮＰおよびＢＮＰ－４５を主成分とするラットＢＮＰと異なり，３者のプロセシング機構に種差の存在することが推察された。

論文審査の結果の要旨

本研究はヒトＢＮＰ前駆体構造をもとにヒトＢＮＰに特徴的なRadioimmunoassay(ＲＩＡ)系を開発しヒト心房内におけるＢＮＰの存在を明らかにするとともにその分子型を解析することを目的としたものである。この結果ヒト心房組織中にＢＮＰ免疫活性物質が平均９９.９ pmol/g で存在することが明らかとなった。また，心房内ＢＮＰ免疫活性は１５Ｋの高分子型と４Ｋの低分子型の２型を認め，その存在比は２：３～１：１０で低分子型が主な存在型であることを明らかにした。

本研究は血圧体液調節ホルモンとしてｈＡＮＰに続きヒト心房より新しいナトリウム利尿ホルモンであるＢＮＰを発見し，その存在を証明した。

本研究は今後生体の体液・血圧調節機構を解明する上において大きな意義を有し，学位の授与に値すると認める。