

Title	Angiotensin- (1-7) : A member of circulating angiotensin peptides. (アンジオテンシン- (1-7) : 流血中に存在するアンジオテンシン・ペプチドの一員)
Author(s)	小原, 克彦
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38398">https://hdl.handle.net/11094/38398</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">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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</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	小 原 克 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 1 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 5 月 12 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Angiotensin- (1-7) : A member of circulating angiotensin peptides. (アンジオテンシン- (1-7) : 流血中に存在するアンジオテンシン・ ペプチドの一員)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 荻 原 俊 男 (副査) 教 授 井 上 通 敏 教 授 宮 井 潔

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

レニン・アンジオテンシン系は、生体における血圧及び水・電解質のホメオスターシス維持に重要な役割を果たしている。レニン基質である、アンジオテンシノーゲンにレニンが作用し、生成されたアンジオテンシン I がアンジオテンシン変換酵素により生理活性 octapeptide であるアンジオテンシン II (Ang II, Asp-Arg-Val-Tyr-His-Pro-Phe) へと分解されて、種々の生理作用を発揮する。また、N端の Asp が取れた Ang II の代謝産物である Ang III も、Ang II 類似の生理作用 (飲水惹起作用、アルドステロンの分泌促進等) を有する。しかし、従来からの Ang II アナログの研究において、Ang II が生理作用を発揮するためには、C端のアミノ酸である Phe の存在が不可欠であり、この8位のアミノ酸を取り除いたアンジオテンシン- (1-7) (Ang- (1-7)) は、Ang の持つ昇圧作用やアルドステロン分泌促進作用を欠く不活性代謝産物であると見なされてきた。ところが最近、Ang- (1-7) は Ang II の持つ種々の生理作用のうち、抗利尿ホルモン、プロスタノイド放出促進作用、あるいはラット脳内への微量投与により血圧・脈拍を変化させ得る等の生理作用を有する活性 heptapeptide であることが見いだされた。

本研究においてはこの生理活性を有する Ang- (1-7) の血中存在様式およびその動態を研究するため、血中レベルの測定法を確立し、Ang- (1-7) が種々の生理・薬理的負荷によりどのような変動を示すかを検討した。

### 【方 法】

血漿アンジオテンシンの測定は、HPLC によるアンジオテンシンの各種フラグメントの分離と、特異的抗体を使用した RIA による定量とを組み合わせで行った。pentobarbital にて麻酔した雄性雑種犬を用い、外因性に精製ブタ腎レニン (0.01 Goldblatt unit/kg) を投与し、前後において採血を行った。レニン投与は、変換酵素阻害剤であるエナプリラート i.v. 投与後にも繰り返した。同一犬を用いて6日後に両側腎摘出を施行し、その24時間後に同様の実験を繰り返した。血液は、EDTA-NH<sub>4</sub> (25 μM)、o-phenanthroline (0.4mM) 及び pepstatin A (0.22 μM) の protease 阻害剤存在下に採血を行い、Sep-pak C<sub>18</sub> カラムにて抽出を行った。HPLC の固定相には C<sub>18</sub> の充填剤、移動相には 0.03% HFBA・acetonitrile 溶液を用い、acetonitrile 24% - 40% で30分間の convex の勾配溶出を行った。

カラムからの溶出液は12秒毎に集め、vacuum centrifugeにて乾燥させた後、RIAへ供した。RIAは3種類用い、HPLC流出の4分から9分の分画をAng-(1-7)に対するRIA、9分から16分の分画をAng II、16分から23分までをAng Iに対するRIAにより測定した。各々の抗体はそれぞれのC-端のフラグメントとは、100%の交差活性を示すが、それ以外とは有意な交差活性を示さず、HPLCによる分離と組み合わせることにより、一つの検体において同時に10個のアンジオテンシン・ペプチド、すなわちAng I、Ang-(2-10)、Ang-(3-10)、Ang II、Ang III、Ang-(3-8)、Ang-(4-8)、Ang-(1-7)、Ang-(2-7)、Ang-(3-7)を同定・定量し得た。

#### 【成績】

- 1) 血中Ang-(1-7)は、5fmol/mlの濃度で犬動脈血中に存在した。
- 2) 外因性のレニン投与により全てのアンジオテンシン・フラグメントは増加した。
- 3) エナラプリラートは、Ang IIを測定感度以下に減少させたが、逆にAng IおよびAng(1-7)を増加させた。
- 4) エナラプリラート投与60分後に行ったレニン投与でもAngは測定感度以下であったが、Ang-(1-7)はAng Iと同様有意の増加を示した。
- 5) 両側腎摘は、24時間後において全てのアンジオテンシン・フラグメントを減少させた。Ang-(1-7)も著明に減少したが血中に存在した。
- 6) 両側腎摘後もレニン投与により全てのアンジオテンシン・フラグメントは増加した。
- 7) 両側腎摘後には、エナラプリラートを投与してもAng-(1-7)とAng Iは、変化を示さなかった。
- 8) Ang I、Ang II、Ang-(1-7)のC-端フラグメントは、各々の親ペプチドと平行して変化した。

【総括】 血中Ang(1-7)の測定法を確立し、その血中動態として以下のことが明らかになった。

- 1) レニン活性の変化と平行して増減するが、Angと異なり生成に変換酵素を必要としない。
- 2) 変換酵素阻害剤存在下でもAng Iと平行して変動することより、Ang Iから直接生成され得る。
- 3) 両側腎摘後で、血中のレニン活性が測定感度以下の状態でも、Ang-(1-7)の血中での存在が認められたことより、その存在に一部組織由来のレニン・アンジオテンシン系の関与が示唆された。
- 4) 両側腎摘後にもレニン投与により同程度の変化を見たことより、血中Ang-(1-7)の生成には、腎はレニン分泌以外には、直接的な影響を持たない。

### 論文審査の結果の要旨

近年、アンジオテンシン IIの不活化代謝産物であると見なされてきたアンジオテンシン-(1-7)が特異的な生理活性を有するアンジオテンシン・ペプチドであることが判明し、レニン・アンジオテンシン系の最終産物がアンジオテンシン IIである事に対して疑問が投げかけられている。本研究は、アンジオテンシン-(1-7)の血中存在様式を明らかにするために行われたものである。特異性の高い測定法を開発し、HPLCとPIAを組み合わせる事によって10種のアンジオテンシン・ペプチドを同時に分離・測定し、アンジオテンシン-(1-7)が単なるアンジオテンシンの代謝不活化産物ではなくアンジオテンシン Iからも直接生成され得る事を証明した。

本研究は今後アンジオテンシン-(1-7)の生理的意義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。