

氏 名 (本籍) さ とう ひろ ゆき
佐 藤 裕 幸

学 位 の 種 類 薬 学 博 士

学 位 記 番 号 薬 博 第 1 5 3 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 6 0 年 3 月 2 6 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 門 課 程 東 北 大 学 大 学 院 薬 学 研 究 科
(博 士 課 程) 薬 学 専 攻

学 位 論 文 題 目 Angiotensin II による prostaglandin 産
生 促 進 機 構 の 解 析

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 佐 藤 進 教 授 鶴 藤 丞

教 授 曳 野 宏

論 文 内 容 要 旨

血圧調節因子として知られる renin-angiotensin 系や prostaglandin (PG) 系は、互いに密接に関連し合っている。特に angiotensin II (Ang II) は著明な血管収縮作用を発現するが、この反応は拡張性PGにより修飾される。しかし、血管床での詳細な関連機構はまだ明確ではない。本研究では、血管床でのAng IIによるPG産生促進機構について検討し、次のような成果を得た。

1) イヌ腎動脈内にAng IIを持続投与すると、腎血流量の減少が認められ、この血流量の減少は、持続投与中に徐々に回復する傾向を示した。同様に大腿動脈内にAng IIを持続投与すると、大腿動脈血流量は減少したが、腎動脈での場合とは異なり、持続投与中に血流量の回復傾向は認められなかった。PG合成阻害薬である indomethacin で前処理すると、腎動脈でのAng IIの血流減少反応は増大し、また持続投与中に認められた血流量の回復傾向は消失した。一方、大腿動脈でのAng IIの反応は、indomethacin 処理により影響されなかった。

以上の結果より、腎動脈でのAng IIの血流減少反応は血管拡張性PGにより修飾されるが、大腿動脈でのAng IIの血流減少反応は、PGにより修飾されないことが示唆された。

2) イヌ腎動脈、大腿動脈血管を摘出して、インキュベーションを行い、切片から遊離されてくるPGについて検討した結果、いずれの血管でもPG遊離量の順は、 $PG I_2 > PG F_{2\alpha} > PG E_2$ であり、thromboxane A_2 の遊離は認められなかった。腎動脈ではAng IIによって濃度依存的にPG産生を促進した。一方、大腿動脈ではAng IIはPG産生を促進しなかった。Bradykinin は、腎、大腿動脈いずれの血管においてもPG産生を促進した。

以上の結果より、Ang IIによるPG産生促進機構は、腎動脈血管床には存在するが、大腿動脈血管床でのその機構の寄与は、比較的希薄であることが示唆された。

3) 腎動脈でのAng IIによるPG産生促進反応は、cyclooxygenase の阻害薬である indomethacin, phospholipase A_2 の阻害薬である mepacrine, Ang IIの受容体遮断薬である saralasin により抑制された。

この結果より、腎動脈ではAng IIは、その特異的な受容体を介して phospholipase A_2 を活性化し、PG産生を促進することが示唆された。

4) 腎動脈において、血管内皮細胞を除去すると、 $PG E_2$ 産生には変化は認められなかったが、 $PG I_2$ 産生は半減した。また、血管内皮細胞除去下では、Ang IIによる $PG E_2$ 産生の促進は認められたが、 $PG I_2$ 産生は促進されなかった。また、Ang IIによる $PG E_2$ 産生は、saralasin により阻害された。

以上の結果より、血管床において $PG I_2$ 産生は主に血管内皮細胞で行われているが、血管内皮細胞以外の組織、例えば、血管平滑筋細胞などでも産生される可能性が示された。また $PG E_2$

産生は、主に血管内皮細胞以外の組織で行われていることが示唆された。

5) Ang IIによるPG産生は、Ca⁺⁺チャンネル阻害薬である verapamil や nifedipine により濃度依存的に抑制された。また、細胞内Ca⁺⁺阻害薬であるTMB-8は、低濃度では若干PG産生を促進する傾向が認められたが、500 μMでは、基本的なPG産生を抑制し、さらにAng IIによるPG産生促進をも阻害した。細胞外液からCa⁺⁺を除去し、EGTAを添加すると、基本的なPG産生もAng II誘起性PG産生をも抑制した。

Calmodulin 阻害薬である trifluoperazine やW-7は、有意ではないが基本的なPG産生を抑制する傾向を示し、Ang IIによるPG産生促進を著明に抑制した。これに対し、W-7の不活性型構造類似体であるW-5は、いずれのPG産生にもまったく影響しなかった。

以上の結果から、Ang IIのPG産生促進機構は、次のように考えられる。

①Ang IIはその特異的受容体を介して、細胞外Ca⁺⁺を細胞内に導入する。②次いで、細胞内に取り込まれたCa⁺⁺は、細胞内に存在するCa⁺⁺貯留部位、例えば、ミトコンドリア、筋小胞体や細胞膜結合性Ca⁺⁺貯留部位に作用して、貯留部位内からのCa⁺⁺の遊離を促進する、③引き続いて、このCa⁺⁺が、細胞内に存在する calmodulin と結合して活性型 calmodulin を形成する。④次いで、活性型 calmodulin は phospholipase A₂と結合して複合体を形成し、phospholipase A₂を活性化する。⑤活性化された phospholipase A₂により、細胞膜リン脂質に取り込まれていた arachidonic acid が遊離され、PGが生成される。

6) 細胞膜に存在する adenylylase を直接活性化して、細胞内cAMP産生を促進する forskolin は、adenylylase を活性化するのに必要とされる濃度では、PG産生に対してまったく作用しなかった。しかし、これより低い濃度では、PGE₂産生を特異的に促進した。一方、アドレナリン作働性β受容体を介して adenylylase を活性化する isoproterenol は、PG産生に対して影響をおよぼさなかった。また、cyclicAMPの誘導体である dibutyryl-cyclicAMP (db-cAMP) は、PGE₂産生には影響せず、PGI₂産生のみを促進した。これに対し、8-bromo-cyclicAMP(8-br-cAMP)は、PG産生には影響しなかった。

Ang IIによるPG産生促進に対して forskolin, 8-br-cAMPは、まったく影響しなかった。db-cAMPは、Ang IIによるPGI₂産生のみを抑制した。

以上の結果より、基本的にはPG産生やAng IIによるPG産生促進には、cyclicAMPは関与しないことが示唆された。Forskolin によるPGE₂産生促進は、どのような機構を介して作働するのかは不明であるが、PGE₂ isomerase の活性を高めたことによると推測された。一方、db-cAMPによるPGI₂産生に対する影響は、Ang IIの受容体部位で、Ang IIに対して競合的拮抗効果を発揮したことに起因するのではないかと考えられた。

以上の結果より、イヌ腎動脈血管床にはAng IIによるPG産生促進機構が存在し、この機構に

は Ca^{2+} -calmodulin 系が関与している。生体内での second messenger として知られる cyclic AMP は、この機構には関与しないことが示唆された。また、PG 産生は、 PGE_2 と PGI_2 とで産生部位が異なっているが、Ang II は、それぞれの部位で PG 産生を刺激することが示唆された。

審査結果の要旨

血圧の恒常性は昇圧系因子と降圧系因子との連関の上に成り立っている。これらを神経性因子と体液性因子とに分類した場合、体液性因子としてレニン-アンジオテンシン系とプロスタグランジン (PG) 系が挙げられよう。腎の傍糸球体細胞から分泌されるレニンによって最終的に産生されるアンジオテンシン II (A II) は強い血管収縮作用を有し、一方、腎に高い産生能が知られている PG, 特に $PG E_2$ や $PG I_2$ は血管拡張作用を有していることが知られている。このような背景にもとづいて、本研究はイヌ腎血管床における A II による PG 産生機構について詳細な検討を行なったものである。

生体位血管床灌流実験によって A II の血流減少反応に対する血管拡張性 PG による修飾機構は、腎血管床に存在するが大腿血管床には認められず、腎血管床における A II による PG 産生機構の特異性が示唆された。腎血管床における本機構の特異性は、摘出腎動脈および大腿動脈切片の *in vitro* 実験系による PG ($PG E_2$ および $PG I_2$) 定量実験によって裏付けられた。さらに腎動脈切片での $PG I_2$ 産生における血管内皮細胞の重要性を指摘し、A II による PG 産生促進機構について詳細な検討を加え、① A II はその受容体を介して細胞外 Ca^{2+} を細胞内に導入する、②次いで細胞内に取り込まれた Ca^{2+} は、 Ca^{2+} 貯蔵部位からの Ca^{2+} の遊離を促進する、③引き続きこの遊離 Ca^{2+} が細胞内に存在するカルモジュリンと結合し、活性型カルモジュリンを形成する、④次いでカルモジュリンはホスホリパーゼ A_2 と結合して複合体を形成し、ホスホリパーゼ A_2 を活性化する、⑤活性化されたホスホリパーゼ A_2 により、細胞膜リン脂質に取り込まれているアラキドン酸が遊離され PG が生成される。なお、本機構にサイクリック AMP は関与しないことも明らかにした。

以上の知見は本研究分野に有用な情報を提供したものと評価される。学位論文として価値あるものとする。