

氏 名 (本籍)	こ 後	とう 藤	とし 敏	かず 和
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	医	第	1 4 7 7	号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和	5 8	年	2 月 2 3 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当			
最 終 学 歴	昭 和 5 1 年 3 月 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業			
学 位 論 文 題 目	簡 便 な 血 漿 レ ニ ン 濃 度 測 定 法 の 開 発 と そ の 臨 床 応 用			

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 吉 永 馨 教 授 小 暮 久 也

教 授 石 森 章

# 論文内容要旨

## 目 的

臨床に、さらには不活性型レニンの測定に、広く応用されうる簡便で優れた血漿レニン濃度 (P R C) 測定法を開発することを目的とした。

## 方 法 と 結 果

(1) 基質の調製; 羊を腎摘した後, 3日後に脱血し, 血漿を分離した。50%硫酸分画を行ない, 沈澱を 0.2 M NaCl を含む, PH 5.5 の 0.01M 酢酸緩衝液に透析し, ペプスタチン・アミノヘキシル・アガロース・カラムにかけた。非吸着画分を PH 6.5 の 0.1 M リン酸緩衝液に透析して, 羊レニン基質画分とし, 希釈して用いた。基質濃度は, 腎摘2日後迄は漸増を見たに過ぎなかったが, 2~3日目にかけて著増し, 腎摘前の 2.3~3倍となった。レニン濃度は, 腎摘後急激に減少し, 8時間後には腎摘前の 5~10%となったが, 70時間後にもなお, 3.7~7%のレニンは残存していた。しかし, 50%硫酸分画とペプスタチン・カラムを通すことにより, 残存レニンはほぼ完全に (96%) 除かれた。(2) P R C 測定法について; ①反応の PH。ヒトレニンと羊基質との反応の至適 PH は, 6.5 であり, よって本法の反応の PH は 6.5 とした。② Assay 系。ヒト血漿 0.2 ml, 羊基質 0.8 ml (1,000 ng Angiotensin I; A T I), 250 mM E D T A 0.05 ml, 200 mM phenylmethyl sulfonyl fluoride (P M S F) 0.05 ml を混合し, 37°C にて 4 時間 incubate し, 煮沸による除蛋白の後, 生じた A T I を Radioimmunoassay にて測定した。本法では, 無処理血漿, トリプシン (1 mg / ml 血漿) ・酸処理 (PH 3.3 → PH 7.5 へ透析) 後の血漿の何れの場合でも, レニン濃度が 50 ng A T I / ml / hr 以下の時には, 少なくとも 5 時間迄は, 反応に直線性が見られ, 初速度は  $V_{max}$  に達していた。また, 羊基質のみを incubate した場合は, A T I は産生されず, 本系に於いては, 基質中のレニンの混入は問題とはならなかった。③ 臨床応用。本法による正常血圧者の P R C は,  $2.9 \pm 0.4$ , トリプシン処理によって求めた総レニン濃度 (T R C)  $36.8 \pm 6.1$ , 不活性型レニン濃度 (I R C)  $33.9 \pm 6.1$  ng A T I / ml / hr であった。活性型レニン比 (P R C / T R C) は,  $9.0 \pm 2.0$  % であり, 正常人血漿中には, 活性型レニンの約 9 倍の不活性型レニン型が含まれていた。膀胱癌からの異所性レニン産生腫瘍例の経過中の P R C は, 正常者の約 25~2,200 倍に上昇しており, I R C は 1.4~3,400 倍に増加していた。しかし, P R C と I R C の変化は必ずしも並行せず, 従って活性型レニン比は, 5.9~81.6% の間で大きく変化した。また, 従来の Haber 法変法による血漿レニン活性 (P R A) と, 本法の P R C とは相関せず, ずれが認められた。

## 考 案

現在広く行なわれている、内因性アンギオテンシノーゲンを基質としたPRA測定法に対して、過剰のレニン基質を加えて、内因性基質濃度に影響されずに、正しくレニン含量のみを反映するPRC測定法が従来より報告されてきた。しかし、従来の方法には、血漿の前処理の間に不活性型レニンが活性化されてしまう、基質の調製が繁雑である、基質中にレニンが混入する、反応時間が長い、等の問題があり、一般に広く測定されるには至っていない。今回の方法は、ヒトレニンとの反応が高い、羊レニン基質を用いたが、ペプスタチン・カラムを用いて、従来問題となったレニンの混入を簡単に除くことに成功した。また、至適PHで反応を行なうことにより、反応時間も4時間と短かくて済み、初速度もVmaxに達していた。また、従来の方法では考慮されなかった、不活性型レニンの測定にも応用されることが確かめられた。血中の不活性型レニンの本態については明らかにされていないが、本法によれば、正常人血漿中には通常の活性型レニンの約9倍の不活性型レニンが含まれていた。また、異所性レニン産生腫瘍例についての結果より、同一症例に於いても、活性型レニンと不活性型レニンの割合は、病態や薬物投与により、変わりうることを確かめられた。さらに本例では、PRAとPRCとは相関しなかったが、これは本例の内因性基質濃度が、正常の約4分の1に減少していることから、PRA測定法に於いては、血漿中の高いレニン含量に比し、基質濃度が十分でない為と考えられた。本法は今後、臨床に、また不活性型レニンの測定に、広く応用される測定法と考える。

## 結 論

(1)ペプスタチン・カラムを用いて、羊レニン基質中のレニンの混入を除き、簡便なる血漿レニン濃度測定法を開発した。本法はとくに、内因性基質濃度の減少している状態に於いて有用であり、また血漿中の不活性型レニンの測定にも応用可能であった。(2)正常人血漿中には、活性型レニンの約9倍の不活性型レニンが含まれていた。(3)活性型レニンと不活性型レニンの割合は、同一症例に於いても、病態や薬物投与により、変わりうると思われた。

## 審査結果の要旨

後藤敏和

レニン・アンジオテンシン系の研究は盛んに行われており、臨床診断にも応用されているが、従来、血漿レニン活性のみが測定され、レニン濃度そのものについては測定されていなかった。これは測定法そのものに不備な点が多かったためである。

そこで後藤敏和は、ヒト、ブタ、ヒツジ、その他の動物のレニン基質を精製し、ヒト末梢血中レニンと反応させ、便利で正確なレニン濃度測定法の開発を試み、ほぼその目的を達成した。

ペプスタチン・カラムを用いて、ヒツジ血漿中のレニンを除き、これをレニン基質として用いると最もよい結果が得られた。ヒツジレニン基質は、腎臓を両側とも摘出した後2～3倍に増加するので、その状態の血漿を用いた。

レニン反応の至適pHは6.5であった。インキュベーションは37℃で4時間行った。ヒト血漿をトリプシンで処理することにより不活性型レニンを活性型に変えれば、総レニン活性を求めることも容易であった。

以上、この研究は、その表題の如く、簡便な血漿レニン濃度測定法を開発し、その臨床応用を可能にしたものである。レニン濃度の測定は、レニン活性の測定と同じく、高血圧性疾患の診断・治療に欠くべからざるものであるから、本研究はこの分野に有力な一進歩を加えたものと言うことができる。よって本論文は充分学位に値するものとする。