

氏 名（本籍）	あ べ 文 明
学 位 の 種 類	博 士（医 学）
学 位 記 番 号	医 博 第 1 5 8 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 1 年 9 月 8 日
学 位 授 与 の 条 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 専 攻	東 北 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科 （ 博 士 課 程 ） 内 科 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	ア ン ジ オ テ ン シ ン（AT）Ⅱ 直 接 測 定 法 の 確 立 と 高 血 圧 に お け る 動 態

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 伊 藤 貞 嘉 教 授 丸 山 芳 夫

教 授 柳 澤 輝 行

論 文 内 容 要 旨

今回、従来の抗体に比し、AT I および AT III との交差反応性の小さい抗体を作成し、血漿中の AT II 濃度の直接測定法を確立し、基礎的検討および臨床的有用性を検討した。今回作成した抗 AT II 抗体の AT I および AT III との交叉反応性は、50%インターセプトでそれぞれ 0.037%、21.0%といずれも従来の抗体と比較して低い。検出限界は 2.4pg/ml、最小測定レンジは 4.3pg/ml と感度は良好であった。標準液を用いた intraassay の変動係数は 0.7 から 4.1%、平均 1.7% と良好であった。検体を測定した intraassay の変動係数は 1.75 から 2.37%、平均 2.16%、intraassay の変動係数は 4.43 から 7.06%、平均 6.09% と良好な再現性も得られた。検体を用いた希釈試験では、5 検体ともに原点を通る良好な直線性が得られ、 $r=0.999$ の相関を示した。外因性の AT II 添加回収試験では平均回収率 99.1% とほぼ全量が回収された。

各種阻害因子による測定法への影響を検討したが、ビリルビン C およびビリルビン F、乳皮では AT II 濃度の測定に影響を及ぼさず、溶血ヘモグロビンでは AT II 濃度が高くなる傾向にあった。検体の測定にあたり、各種採血条件における全血放置後の AT II 濃度の時間的変動を検討した結果、ヘパリン添加採血では 4℃保存にて 1 時間後、2.5 時間後ともに AT II 濃度に変化を認めなかったが、37℃保存では 1 時間後から増加を認めた。EDTA 添加採血では 4℃保存、37℃保存ともに 2.5 時間以上経過しても AT II 濃度に明らかな変化を認めなかった。濃度の異なるサンプルを用いて凍結融解操作を 10 回繰り返し、AT II 濃度測定への影響を検討したが、いずれも凍結融解による変動は少なかった。同一サンプルを、一つは抽出操作を行わずそのまま直接に、もう一つは従来の抽出操作を加えた後に、いずれも今回の方法で AT II 濃度を測定し相関を検討した。両測定値の相関係数は $r=0.955$ と良好な相関が得られ、抽出操作の必要性のないことが確認された。

各種の高血圧疾患別の安静時の血漿 AT II は、本態性高血圧 195 例では 5.0 から 128.2pg/ml まで分布し、平均 23.4 ± 1.9 pg/ml であった。妊娠誘発性高血圧は 10 例のうち 1 例で 192.4pg/ml と著明な高値を示した。腎実質性高血圧 ($n=20$)、腎血管性高血圧 ($n=5$)、糖尿病合併例 ($n=14$) および、甲状腺機能亢進症合併例 ($n=4$) では本態性高血圧者の AT II 濃度に比し有意差は認めなかった。原発性アルドステロン症 ($n=7$) は平均 7.4 ± 2.7 pg/ml で本態性高血圧者に比して有意に低く ($P<0.005$)、クッシング症候群 ($n=10$) でも平均 12.7 ± 4.0 pg/ml で本態性高血圧者に比して有意に低値であった ($p<0.05$)。

カプトプリル負荷試験を施行した本態性高血圧 75 症例の平均値は投与前値が 20.4 ± 19.7 pg/ml、1 時間値が 15.9 ± 15.6 pg/ml、2 時間値が 15.6 ± 15.7 pg/ml と有意な抑制が認められた。原

発性アルドステロン症4例では低値であり、有意な変化は認めなかった。フロセミド立位負荷試験を施行した7症例では、腎実質性高血圧では30分後からATⅡの増加を認め、クッシング症候群では120分後に増加を認めた。原発性アルドステロン症では低値のままで刺激されなかった。本態性高血圧164例におけるATⅡとPRAおよび血漿アルドステロン濃度(PAC)との間には、それぞれ $r=0.330$ ($P<0.005$), $r=0.153$ ($P<0.005$)と有意な相関が認められた。しかし、本態性高血圧におけるアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬の長期内服者($n=62$)と非内服者($n=195$)の比較では、両者の間に有意差を認めなかった。今回確立したATⅡ直接測定法は抽出操作を必要せず、検体必要量が $100\mu\text{l}$ と少なく、再現性が高く、希釈試験、添加回収試験、凍結融解試験など良好であり、簡便で有用な測定法であると考えられた。本法は二次性高血圧の診断のみならず高血圧とその合併症におけるレニン・アンジオテンシン系の寄与を明らかにするために有用であることが示唆された。

審査結果の要旨

AT IIは生体内の強力な昇圧系であるレニン・アンジオテンシン系の中心をなす生理活性物質である。これまでの測定法は、感度が低い、抽出操作を必要とし操作が複雑である、必要検体量が多い、などの問題のため広くは利用されておらず、血漿レニン活性（PRA）の測定が行われている。今回、従来の報告に比してAT I、AT IIIとの交叉反応が少ない特異的な抗AT II抗体を作成し、AT IIの直接測定法を確立し、臨床応用を図った。採血条件の検討により、EDTA添加採血4℃保存で最も安定なことが確認された。ビリルビンC、ビリルビンF、乳ビによる阻害作用を認めず、溶血ヘモグロビンではAT II濃度が高くなる。また、本測定法は抽出操作を必要とせず、検体必要量が少なく、再現性が高く、希釈試験、添加回収試験、凍結融解試験でも良好な成績が得られた。原発性アルドステロン症では、本態性高血圧に比較し、著明にAT II濃度は低値であり、フロセミド負荷試験でも上昇を認めず、その診断にPRAや血漿アルドステロン濃度（PAC）測定と同様に有用と考えられる。

アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害薬（カプトプリル）負荷試験では、本態性高血圧の大部分の症例でカプトプリルに対するAT IIの抑制を認め、本測定法が内因性AT IIを正確に反映することが示唆された。従って、本測定法はACE阻害薬服用中の症例におけるACE阻害効果の判定にも用いられる。しかし、ACE阻害薬の長期内服者では、非内服者のAT IIとの間には有意差は認められなかった。内因性AT IIは、ACE阻害薬の長期間内服時にはその降圧効果が持続するにも関わらず、エスケープを来して再上昇する可能性がある。

PRAとAT II及びAT IIとPACの間には有意の正の相関が認められたが、相関は必ずしも良好ではない。従って、内因性レニン・アンジオテンシン系の病的動態の把握にはPRAやPACの測定のみならずAT IIの測定も必要と考えられる。近年、ヒトではレニンを介さない（キマーゼ依存性など）AT II産生経路が存在することが明らかにされた。本研究でもレニン活性が低値でもAT IIが高値の症例があり、レニン以外のアンジオテンシン産生系の存在を示唆する症例が認められた。現状ではAT II測定が内因性レニン・アンジオテンシン系の動態の把握のために最も良い指標であると考えられる。

本研究では測定精度が高く、操作も簡便で、少量の検体で測定できるAT II直接測定法を確立した。また、従来検討されていない測定条件も詳細に検討し、測定に対する影響も明らかにした。さらに、ACE阻害薬の内因性AT IIに対する急性効果と慢性効果に差異のあることも明らかにした。本研究で確立したAT II測定法は、レニン・アンジオテンシン系の動態の把握と高血圧の診断と病態の解明に応用可能であり、有用な研究と考えられる。よって、学位に値するものと思われる。