

氏名	やそだ あきひろ 八十田 明 宏
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第 2112 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Natriuretic peptide regulation of endochondral ossification-Evidence for possible roles of the C-type natriuretic peptide/guanylyl cyclase-B pathway. (ナトリウム利尿ペプチドファミリーの内軟骨性骨化調節作用—C 型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)/B 型グアニル酸シクラーゼ(GC-B)系の意義—)
	(主査)
論文調査委員	教授 中西重忠 教授 中村孝志 教授 中尾一和

論 文 内 容 の 要 旨

ナトリウム利尿ペプチドファミリーは心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP), 脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP), C型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) の少なくとも3種類の内因性リガンドから構成され, 血圧水電解質代謝調節に関与すると考えられている。ナトリウム利尿ペプチドファミリーの生物作用は膜型グアニル酸シクラーゼそのものである2種類のナトリウム利尿ペプチド受容体サブタイプ (GC-A, GC-B) を介すると考えられており, それぞれのリガンド選択性は, GC-AではANP \geq BNP \gg CNP, GC-BではCNP $>$ BNP \geq ANPである。更に, リガンドのクリアランスに関与するとされるクリアランス受容体の存在が知られている。持続的に血中BNP濃度が上昇するBNP過剰発現トランスジェニックマウスでは体幹と四肢の著明な伸長が認められ, 椎骨や長管骨の形成に関与する内軟骨性骨化におけるナトリウム利尿ペプチドファミリーの意義が注目されてきた。本研究では, ナトリウム利尿ペプチドファミリーの内軟骨性骨化調節作用の分子機構を明らかにする目的で, 内軟骨性骨化を*in vitro*で再現できるマウス胎仔脛骨器官培養系を用いて, ナトリウム利尿ペプチドファミリーが培養脛骨の伸長に及ぼす効果を検討し, 更に, 培養脛骨におけるナトリウム利尿ペプチドファミリー及びその受容体遺伝子発現を検討した。

ANPあるいはCNP 10^{-9} ~ 10^{-7} M添加により, 用量依存的に培養脛骨の伸長促進が認められ, 特に骨端軟骨部において著明であった。組織学的検索により増殖細胞層と肥大化細胞層の間質増大が認められ, ナトリウム利尿ペプチドファミリーが骨端軟骨細胞の分化形質の発現を促進することが示唆された。ANPあるいはCNP添加により細胞内セカンドメッセンジャーであるcGMP産生の亢進が認められ, cGMP添加にても, ナトリウム利尿ペプチドファミリーと同様の培養脛骨伸長促進作用が認められた。ナトリウム利尿ペプチドファミリーの培養脛骨伸長促進作用あるいはcGMP産生亢進作用は, CNPがANPの10倍以上強力であり, これらの作用はナトリウム利尿ペプチド受容体阻害剤であるHS-142-1によりほぼ完全に抑制された。更に, HS-142-1により, ナトリウム利尿ペプチドファミリー非添加時の培養脛骨におけるcGMP産生と伸長の抑制が認められた。一方, ノーザンプロット法にて培養脛骨においてナトリウム利尿ペプチドファミリー遺伝子発現を検討したところ, CNP遺伝子発現が高濃度検出されたが, ANP及びBNP遺伝子発現は検出されなかった。又, 培養脛骨に大量のGC-B遺伝子発現が検出され, 僅かながらGC-A遺伝子発現も認められた。

以上より, ナトリウム利尿ペプチドファミリーの中で, CNPが内因性的内軟骨性骨化調節因子としてGC-Bを介して長管骨の伸長を促進している可能性が示唆された。本研究は, ナトリウム利尿ペプチドファミリーの内軟骨性骨化調節作用を解明し, 内軟骨性骨化におけるCNP/GC-B系の意義を初めて明らかにしたものである。

論文審査の結果の要旨

本研究では、内軟骨性骨化を*in vitro*で再現できるマウス胎仔脛骨器官培養系を用いてナトリウム利尿ペプチドファミリーの内軟骨性骨化調節作用を検討した。ナトリウム利尿ペプチドファミリー添加にて培養脛骨の伸長促進作用が認められ、CNPはANPよりも強力であった。その効果はナトリウム利尿ペプチド受容体阻害剤であるHS-142-1にてほぼ完全に抑制された。更に、ナトリウム利尿ペプチドファミリー非添加時の培養脛骨の伸長も、HS-142-1添加にて抑制された。ノーザンブロット法にて、培養脛骨におけるCNP遺伝子発現が高濃度検出されたが、ANP及びBNP遺伝子発現は検出されなかった。又、培養脛骨では、CNP特異的受容体であるGC-B遺伝子発現が高濃度検出され、僅かながらANP及びBNP高親和性受容体GC-A遺伝子発現も認められた。

以上より、ナトリウム利尿ペプチドファミリーの中で、CNPのGC-Bを介する内因性内軟骨性骨化調節因子としての長管骨伸長促進作用が示唆された。本研究は、ナトリウム利尿ペプチドファミリーの内軟骨性骨化調節作用を解明し、内軟骨性骨化におけるCNP/GC-B系の意義を初めて明らかにしたものである。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年2月10日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。