

氏 名	やま ぐち まさ ゆき 山 口 正 之
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	薬 博 第 387 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 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	薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
学位論文題目	ナトリウム利尿ペプチドの体内動態・薬効制御機構に関する研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 乾 賢 一 教 授 橋 田 充 教 授 市 川 厚
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) は Matsuo らによって1984年にヒト心房より単離, 精製されたペプチドホルモンである。ANP の薬理作用は, ナトリウム利尿にとどまらず, 血管拡張作用, ホルモン分泌抑制など多様である。これらの ANP の性質が心不全の治療に有効であることから, これまで臨床応用が進められてきた。また, ANP が適用される病態時には ANP 血中濃度の上昇が認められることから, 代謝を阻害することによって ANP の活性を上昇させる方法による臨床応用も現在進められている。しかし, ANP の体内動態, 薬効の作用機構の詳細は不明であった。そこで著者はラットを用いて ANP, および ANP と構造が類似している脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) に関して, クリアランス機構, ならびに利尿効果に影響を与える因子の解明を図った。また, ナトリウム利尿ペプチド血中濃度の上昇が認められる病態モデルラットを作成し, ANP 代謝阻害時の利尿効果について ANP 投与時と比較検討した。さらに ANP 代謝阻害時の利尿作用制御機構について解析をおこなった。

I. ナトリウム利尿ペプチドのクリアランス機構と利尿効果

ナトリウム利尿ペプチドの代謝には生物学的活性を有さない C レセプターの関与が示唆されていたことから, C レセプター選択的なリガンド, C-ANF₍₄₋₂₃₎ ならびに分解酵素である中性エンドペプチダーゼ (NEP) の阻害剤, phosphoramidon を用いて正常ラットにおけるナトリウム利尿ペプチドの薬物速度論的解析を行った。内因性 ANP の血漿中濃度は phosphoramidon の投与では変化しないものの, C-ANF₍₄₋₂₃₎ の投与によって3倍程度上昇した。また ANP の体循環からの消失は, NEP による分解と C レセプターによる内在化の2種類の経路を介して生じること, ANP の代謝は生理的濃度では C レセプターによる内在化が主な経路であり, 薬理的用量では NEP の寄与が大きくなることが明らかとなった。さらに, BNP に関しては ANP と比較するとクリアランスが小さく, その原因はこれらの代謝経路に対する親和性の違いに起因することが示唆された。

クリアランス機構が明らかになったことから, 次にナトリウム利尿ペプチドの薬効, および薬効に対す

る代謝阻害の影響について解析した。ナトリウム利尿ペプチドの薬効には血圧、心拍数が影響すること、BNPの利尿効果に関しては phosphoramidon の影響は認められないことが明らかとなった。また、ANPの利尿効果は ANP 高用量投与時には phosphoramidon によってその効果が増強されること、phosphoramidon 投与時には ANP の用量には依存せず時間に依存した利尿効果が生じることから、NEP 阻害時の ANP の利尿効果は全身クリアランスの阻害のみでは説明できないことを見いだした。

II. ナトリウム利尿ペプチド代謝阻害時の利尿効果発現機構の解析

内因性 ANP の分泌が亢進している心不全時等の疾患時には、分解酵素である NEP を阻害することによって ANP の活性を上昇させる方法による臨床研究が進んでいる。一方、NEP 阻害時の ANP の作用に関しては、その挙動を含めて不明な点も多い。そこで病態モデルとして内因性の ANP 血中濃度の上昇が認められる 2 種類の異なった機序の心不全モデルラットを作製し、NEP 阻害剤の投与による利尿効果を ANP 投与時と比較検討した。NEP 阻害剤投与時には ANP 血中濃度の上昇を伴わない利尿効果が認められ、ANP 投与時と NEP 阻害剤投与時では ANP の血中濃度と利尿効果の關係に乖離が生じることが明らかにした。この時、ANP の尿中排泄は顕著に増加したことから、糸球体濾過を受けた ANP が近位尿細管に存在する NEP による分解を免れ、尿細管管腔側から作用している可能性が示された。

ANP の管腔側からの作用を示唆する結果は得られたものの、腎局所（腎血管側）における ANP の代謝、利尿効果に対する NEP 阻害の関与は不明であることから、ラット灌流腎実験系を用いて ANP の腎一回通過時の抽出率と利尿作用におよぼす NEP 阻害の効果について検討を行った。灌流液中に添加した ANP によって、尿中ナトリウム排泄速度の上昇が認められた。また、ANP と NEP 阻害剤の併用時にはナトリウム利尿効果が ANP 単独時と比較して有意に増加することが明らかとなった。一方、灌流腎における ANP の腎一回通過時の抽出率は低く、NEP 阻害剤併用時においても変動は僅かであった。糸球体濾過速度にも変化が観察されなかったことから、NEP 阻害による ANP 利尿効果の増強には腎血管側における ANP 代謝阻害の寄与は小さいことが明らかとなった。

以上、著者はラットを用いてナトリウム利尿ペプチドの体内動態、および利尿作用の制御機構に関する検討を行い、ナトリウム利尿ペプチドの 2 種類のクリアランス機構の寄与を明らかにし、NEP 阻害剤投与時にはナトリウム利尿ペプチドの血中濃度に依存しない利尿効果が認められることを示した。また、血管側からのみ作用すると考えられていたナトリウム利尿ペプチドが尿細管管腔側からも作用すること、NEP 阻害剤投与によるナトリウム利尿ペプチドの利尿作用の増強は、糸球体濾過後の ANP が近似尿細管に局在する NEP による不活化を免れた結果生じることが明らかにした。これらの研究成果はナトリウム利尿ペプチド、ならびに現在臨床開発が進行中である NEP 阻害剤の臨床応用に際して有用な基礎的知見であると考ええる。

論文審査の結果の要旨

心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) および脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) は、強力な利尿降圧作用を有するペプチドホルモンであり、心不全の治療薬として臨床応用が期待されている。一方、循環器官の機能低下時には、心臓からの内因性 ANP および BNP の分泌が亢進することから、これらナト

リウム利尿ペプチドの代謝を特異的に阻害することによって作用を増強させる新たな試みが検討されている。しかし、ナトリウム利尿ペプチドのクリアランス機構についての詳細は不明であり、代謝阻害時の利尿作用機構についても未だ十分に解明されているとは言い難い。本論文は薬物体内動態・薬効の速度論的解析手法、あるいは心不全モデルや腎灌流などの実験系を用いて、ナトリウム利尿ペプチドの体内動態・薬効制御機構について検討したものであり、得られた成果は以下の通りである。

ナトリウム利尿ペプチドのクリアランス機構の解明を目的に、ANP と BNP の体内動態におよぼす中性エンドペプチダーゼ阻害剤、および C レセプターの特異的リガンドの影響について検討した。その結果、正常ラットにおいて低濃度（低用量）の ANP は主に C レセプターによって制御を受けるのに対し、高濃度（薬理用量）の ANP の代謝には中性エンドペプチダーゼが関与することを明らかにした。また、BNP についてはこれら代謝経路に対する親和性が低く、クリアランス値が ANP に比べ有意に小さいことを明らかにした。さらに、ANP と BNP の利尿効果におよぼす中性エンドペプチダーゼ阻害剤の影響について検討を加えたところ、BNP については利尿効果の増強が認められないのに対し、ANP については ANP の用量（濃度）に関わらず有意な利尿効果の増強が得られることを見出した。

中性エンドペプチダーゼ阻害による ANP の作用増強効果の解明を目的に、2 種類の心不全モデルラットを作成し解析を行った。その結果、中性エンドペプチダーゼ阻害剤の投与によって、ANP に対する感受性が低下した心不全ラットにおいても有意な利尿効果が得られること、および利尿効果の増大に対応した尿中 ANP 排泄量の増加が認められるものの、内因性 ANP 血中濃度の上昇が認められないことを見出した。さらに、灌流腎を用いた検討によって、腎血管側における低濃度 ANP の代謝には中性エンドペプチダーゼが関与しないこと、および中性エンドペプチダーゼ阻害による利尿効果は、血中 ANP 濃度の上昇を伴わないことが確認された。これらの結果、および腎尿細管上皮細胞の管腔側膜に ANP に対する生物活性受容体が存在するとの知見から、中性エンドペプチダーゼ阻害による ANP の利尿効果の増強には、糸球体濾過を受けた ANP が尿細管腔側での不活化を免れた結果生じることが判明した。

以上の研究は、ペプチド性医薬品の体内動態の解明、ならびにナトリウム利尿ペプチドや代謝阻害剤の臨床応用に貢献するところ大であり、医療薬剤学の発展に寄与するものと考ええる。よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成 9 年 3 月 3 日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。