

氏名(本籍)	わた 渡	なべ 辺	つよし 剛	(秋田県)
学位の種類	医学博士			
学位記番号	博甲第672号			
学位授与年月日	平成元年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当			
審査研究科	医学研究科			
学位論文題目	MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL ASPECTS OF JUXTA- GLOMERULAR AND ATRIAL MYOENDOCRINE CELLS. (腎傍系球体細胞と心房筋内分泌細胞の形態および機能について) (dissertation形式)			
主査	筑波大学教授	医学博士	中村	恭一
副査	筑波大学教授	医学博士	土屋	滋
副査	筑波大学教授	医学博士	山下	亀次郎
副査	筑波大学助教授	医学博士	村井	哲夫
副査	筑波大学助教授	医学博士	森	尚義

論 文 の 要 旨

＜目的＞

腎傍系球体細胞と心房筋内分泌細胞は筋細胞由来であり、それぞれレニンおよび心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) を生産、レニンは血圧上昇、ANPは血圧下降に関与する。

本研究の目的の第一は、生理的条件下におけるこれら細胞分泌顆粒の日内変動、およびその変動と血漿レニン活性 (PRA)、血漿 ANP 濃度との関連性の有無についての検討である。一方、血中に存在する腎傍系球体細胞由来であると考えられている活性型および不活性型レニンについて、その変換酵素としてカテプシン B が注目されつつある。カテプシン B はシステイン系の蛋白分解酵素に分類されるライソゾーム酵素として知られている。本研究の第二の目的は、電顕的ならびに免疫組織化学的にカテプシン B の心房筋内分泌細胞における局在性について検討することにある。

＜対象および方法＞

腎傍系球体細胞と心房筋内分泌細胞の日内変動に関する検討では、恒温恒湿、明暗12時間づつ (明期：6～18時) の環境下で3週間飼育したラットを用いた。8時から4時間間隔の6時点で、それぞれ4匹づつのラットを電顕用固定液で灌流固定し、腎皮質組織および右心房筋組織の電顕試料を作成し、コンピューター画像解析装置を用いて分泌顆粒の細胞当たりの体積と個数の計測を行った。

また、各時点で16匹づつのラットから動脈血を採取し、レニン活性（PRA）アンジオテンシノーゲン濃度（PAC）、心房性ナトリウム利尿ペプチド濃度（PANPC）を測定した。

ラット心房筋内分泌細胞におけるカテプシン B の局在についての検討は、電顕的に金コロイド法を用い、さらに抗 ANP 抗体と抗カテプシン B 抗体の二重染色法をも用いた。

《結果および結論》

(1) 腎臓系球体細胞と心房筋内分泌細胞の分泌日内変動について

腎臓系球体細胞のレニン分泌と関係する分泌顆粒、粗面小胞体およびゴルジ複合体の細胞内小器官の量的変動では、粗面小胞体体積率が明期と暗期の始まりの2時点で高値となる二相性の日内変動を示した。分泌顆粒の体積率は明期の終わりに最大となる一相性の日内変動を示した。個々の分泌顆粒の平均体積は、明期の終わりから暗期の始めにかけて急激に減少した。一方、血中のレニン活性（PRA）、アンジオテンシノーゲン濃度（PAC）に関しては、暗期の始めに PRA が高値となるのにたいして、PAC の変動は PRA とは逆に明期の始めに高く暗期の始めに最低となる変動様式を呈した。PRA の変動は、腎臓系球体細胞の細胞内小器官の形態学的にみた量的変動と整合していた。このことは、ラットの活動開始時に、腎臓系球体細胞が血中レニンの供給源として積極的に関与していることを示唆していると思われた。

心房筋内分泌細胞の心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）を含む分泌顆粒の平均体積は暗期の始めに最大となり、明期に入ると小さくなるという日周リズムが認められた。血漿 ANP 濃度は明期の始めから中ごろにかけて高値となる日周リズムを呈し、PRA のそれとはほぼ逆転していることがわかった。これらの変化は、暗期に分泌顆粒内に蓄えられていた ANP が、ラットの休息期である明期に入って同細胞から活発に分泌されるためと考えられた。

以上の結果より、レニン・アンジオテンシン系の諸因子や ANP の血中濃度はラットの活動と呼応して日周性に変動することが示された。さらには、この変動は、それら因子の産生細胞自身が日周リズムをもってレニンや ANP を生合成・分泌していることに起因することが示唆された。

(2) 心房内分泌細胞におけるカテプシン B の局在について

カテプシン B は、光顕的に心房筋内分泌細胞の核周囲部に顆粒状に認められ、金コロイド法による電顕レベルではライソゾーム様構造物に金粒子が密にそして分泌顆粒にも標識されていた。免疫組織科学的に、抗 ANP 抗体と抗カテプシン B 抗体の二重染色法では、大部分の顆粒で両者が陽性であった。さらに、右心房、左心室、肝臓の組織抽出液を電気泳動し、イムノブロット法によって抗カテプシン B 抗体を用いて染色した。その結果、右心房組織のカテプシン B は肝臓の活性型のそれと同じ分子量で、単位蛋白量当たりの心房カテプシン B 量は心室のそれより多く、右心房の組織抽出液の酵素活性は左心室それよりも3倍高かった。以上の結果は、心房筋内分泌細胞の分泌顆粒内にカテプシン B が存在することを示しているものであり、そのことは ANP のプロセッシングに同酵素が関与している可能性を示唆するものであろうと考えられた。

審 査 の 要 旨

本研究は、血圧調節に関与しているホルモンを分泌している筋細胞由来の腎臓糸球体細胞と心房筋内分泌細胞の分泌顆粒の日内変動を形態計測的に、一方、血漿レニン活性（PRA）と血漿 ANP 濃度の日内変動を検討した。その結果、分泌顆粒の増減と血漿のレニン活性・ANP 濃度の変動には日周リズムがあり、それらの間に逆相関のあることが明らかにされた。また、心房筋内分泌細胞の分泌顆粒に、カテプシン B が ANP と共存していることを明らかにした。それら 2 つの結論は既論文には見当たらない新知見である。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格があるものと認められた。