

# 論文要旨

## Marked Synergism Between Vasopressin and Angiotensin II in a Human Isolated Artery

(人血管におけるバソプレシンとアンギオテンシンIIの相乗効果について)

日高 帯刀

【はじめに】生体は、出血や敗血症性ショックなどで循環虚脱に陥ると交感神経の緊張および血管収縮性ホルモンが大量に分泌され恒常性を維持しようとする。血管反応性に着目すると、交感神経系の反応としてノルエピネフリンの放出、またホルモン系に関してはレニン-アンギオテンシン系およびバソプレシンの分泌による血管収縮反応が血管トーンスの維持に重要な役割を果たしていると考えられている。これら血管収縮性ホルモンは、単独でまたは相互的に血管に作用し循環の維持に貢献していると考えられているが、ヒト血管における各種ホルモンの反応性に関しては、いまだ不明な点が多い。今回、胃切除術に際し摘出されたヒト血管（胃大網動脈）を用いてin vitroで各種ホルモンの反応性を検討した。

【方法】胃切除術時に摘出された胃大網から胃大網動脈(n=57)を摘出し、長さ2-2.5mm、直径500-700 $\mu$ mのリング標本を作製した。標本は虫ピンを用いて血管内皮を剥離した血管内皮剥離標本と内皮を残存した血管内皮温存標本の二群を作成した。実験は、各々の血管リングについて、

- (1) ノルエピネフリン・バソプレシン・アンギオテンシンIIのヒト血管（胃大網動脈）に対する直接作用
- (2) ノルエピネフリン・バソプレシン・アンギオテンシンIIの混合投与による相互作用の検討をおこなった。

具体的には、実験(1)において、バソプレシン、アンギオテンシンIIの直接的血管収縮作用を濃度依存性に測定した。実験(2)に関しては、ノルエピネフリン・バソプレシン・アンギオテンシンIIの3ホルモンをノルエピネフリン+バソプレシン、バソプレシン+アンギオテンシンII、ノルエピネフリン+アンギオテンシンIIの3パターンで混合した場合の収縮力の変化を観察した。

【結果】(1)ヒト胃大網動脈において、アンギオテンシンIIおよびバソプレシンは濃度依存性の血管収縮反応を示した。その収縮は、等量の濃度で比較した場合、バソプレシン>アンギオテンシンII>ノルエピネフリンであった。しかし、アンギオテンシンIIの収縮は、同一血管において、2回目以降の収縮実験において収縮力が著明に低下することが判明した。この収縮反応の減弱はtachyphylaxis反応と考えられるが、その詳細は他に報告もなく不明であった。そこで、ヒト血管におけるアンギオテンシンIIのtachyphylaxis反応を明らかにするため、同一濃度のアンギオテンシンIIを30分間隔で7分間、繰り返し投与し収縮力の変化を観察した。その結果、アンギオテンシンIIは2回目以降の収縮が著明に減弱し、またその作用は段階的に減弱し、ほぼ6回の繰り返し投与で初回投与の5分の一程度に収縮力が減弱した。一方、バソプレシン、ノルエピネフリン収縮は、繰り返し投与した場合にも安定した収縮力が得られ、6回以上の繰り返し投与においてもtachyphylaxis反応は生じなかった。

(2) 各種ホルモンの相互作用を検討するため、2種類ずつホルモンを混合して収縮力を観察した。結果として、バソプレシンとノルエピネフリンを混合投与した場合、各々の単独収縮を足したものより収縮力が増強し、収縮が相乗的に増強されることが判明した。一方、アンギオテンシンⅡは、単独ではtachyphylaxis反応を起こし収縮力が低下するが、tachyphylaxis反応を十分生じた6回目の単独収縮以降にバソプレシンおよびノルエピネフリンを混合投与すると、収縮力の増強が認められた。この収縮の増強効果は、アンギオテンシンⅡの6回目に得られたtachyphylaxis反応後の収縮力とバソプレシンおよびノルエピネフリンの単独収縮を足したものより大きかった。結果として、バソプレシンおよびノルエピネフリンはアンギオテンシンⅡと相乗的に収縮力を増強し、アンギオテンシンⅡのtachyphylaxis反応を阻害し収縮力を増強する可能性が示唆された。

**【結語】** ヒト血管において生体濃度のバソプレシン、アンギオテンシンⅡは強い血管収縮反応を呈した。しかし、アンギオテンシンⅡはtachyphylaxis反応を生じ収縮力の減弱を生じた。一方、アンギオテンシンⅡのtachyphylaxis反応は他の血管収縮性ホルモンと混合した場合に消失し、収縮力の改善が認められた。以上の結果から、血管収縮性ホルモンは、生体内で相補関係を持ち、血管反応性を維持している可能性が示唆された。

( Crit Care Med 2005 Vol.33, No.11 2005年11月号掲載)

# 論文審査の要旨

報告番号	医研第	621	号	氏名	日高帯刀
審査委員	主査	宮田篤郎			
	副査	丸山征郎	山田勝士		

## Marked Synergism Between Vasopressin and Angiotensin II in a Human Isolated Artery

(人血管におけるバソプレシンとアンギオテンシンⅡの相乗効果について)

生体が血圧を維持する際には、交感神経の緊張に加え血管収縮性ホルモンによる直接的血管収縮作用が重要である。しかしヒトにおいては、各種ホルモンの分泌動態やその反応性に関しては未だ不明な点が多い。今回、ノルエピネフリン、アンギオテンシンⅡ、バソプレシンのヒト血管平滑筋に及ぼす影響を検討した。本実験は人血管を用いており、得られた実験結果は臨床で観察される生体反応を再現しており、ホルモンの血管平滑筋に及ぼす影響ならびに出血性ショック時にみられる病態生理の解明に有益な知見を与えてくれるものと思われる。

胃切除術時に摘出された胃大綱から胃大綱動脈(n=57)を切除し、クレブス溶液で満たされたチャンパー内で血管周囲の結合組織や脂肪組織を切離した長さ2-2.5mm、直径500-700 $\mu$ mのリング標本を製作した。標本は、虫ピンを用いて血管内皮を剥離した内皮剥離標本と内皮を温存した内皮温存標本の二群を作成した。次に、オルガンチャンパー内に血管リングを装着し、ゲージを用いて収縮張力を測定した。ストレインアンプで収縮力を補正した後、記録計を用いて張力を記録した。

実験のプロトコールとして、

- ①アンギオテンシンⅡ、バソプレシン、ノルエピネフリンにおける等尺性張力を測定した。収縮の測定は、1回が30分間隔で7分間収縮させ、以後12回、同一濃度で収縮を繰り返した。
- ②各ホルモンを混合して得られる収縮力の変化について検討した。
- ③手術中に生じた出血性ショックにおいて、患者から血液を採取しアンギオテンシンⅡおよびバソプレシンの血中濃度を測定した。

本研究で得られた新発見は次の点である。

- ①各種ホルモンの直接作用：ヒト胃大綱動脈において、アンギオテンシンⅡおよびバソプレシンは濃度依存性の血管収縮反応を示した。しかし、同一濃度を12回繰り返し投与した場合、バソプレシン、ノルエピネフリンでは安定した収縮力が得られるのに対し、アンギオテンシンⅡは2回目以降の収縮が段階的にかつ著明に減弱した。(tachyphylaxis反応)
- ②各種ホルモンの混合作用：アンギオテンシンⅡ収縮にtachyphylaxis反応を生じたヒト胃大綱動脈に、バソプレシン或いはノルエピネフリンを投与すると収縮力が著明に増強し、tachyphylaxis反応が消失した。また、バソプレシンとノルエピネフリンを混合投与した場合、収縮力の相乗的効果が認められた。以上のことから、血管収縮性ホルモンは相補関係を持ち、アンギオテンシンⅡにバソプレシンまたはノルエピネフリンを混合した場合にはアンギオテンシンⅡ収縮のtachyphylaxis反応を抑制することで収縮力を増強し、バソプレシンとノルエピネフリンを混合した際には相乗的な収縮力増強効果が発現する可能性が示唆された。
- ③出血性ショック患者から採取した血中のアンギオテンシンⅡおよびバソプレシンの最高濃度はそれぞれ2.2ng/mL、550 pg/mLであった。今回の実験で用いたアンギオテンシンⅡ、バソプレシンの濃度はショック患者から得られた最高血中濃度と近似していることから、本実験結果は臨床で得られる血管反応を反映している可能性が示唆された。
- ④以上の結果は内皮温存標本と剥離標本間で差異は認められなかった。

本研究は、ヒト血管において生体濃度のアンギオテンシンⅡ、バソプレシンが強い血管収縮反応することを明らかにした。しかしアンギオテンシンⅡはtachyphylaxis反応を生じ収縮力の減弱を生じるが、他のホルモンとの相互作用により収縮力が改善した。血管収縮性ホルモンは、生体内で相補関係を持ち、血管反応性を維持している可能性が示唆された。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	医研第 <b>621</b> 号	氏名	日高帯刀
審査委員	主査	宮田篤郎	
	副査	丸山征郎	山田勝士
<p>主査および副査の3名は、平成18年1月26日、学位申請者 日高帯刀 に対して、論文の内容について質疑応答を行うと共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> <p>【質問1】 今回の実験では、胃大網動脈を使用しているが、皮膚などの末梢血管と内臓血管ではバソプレシンの反応が異なることが知られている。今回の実験結果は他の血管でも同様の反応を惹起すると考えられるか。</p> <p>【回答】 動物を用いた実験において、バソプレシンの反応性は血管部位により異なることが報告されている。今回用いた胃大網動脈は、血圧を反映する腹部抵抗血管であると考えている。ヒト血管反応性の部位差に関しては、報告も少なく詳細は不明である。今後の検討課題である。</p> <p>【質問2】 細胞培養系では培養液にアルギニンを大量にいれているが、仮にアルギニンを入れたクレブス溶液の中でアンギオテンシンⅡの血管収縮反応をみたらどうなるか。アンギオテンシンⅡはAT1レセプターを介してNOを産生しているので、NOを介した血管拡張を惹起している可能性はないか。</p> <p>【回答】 今回の実験で、アンギオテンシンⅡの血管収縮反応は内皮剥離標本と温存標本で有意差が認められないため、内皮由来のNOの影響は少ないと考えられる。</p> <p>【質問3】 アンギオテンシンⅡのtachyphylaxis反応のメカニズムはどのようなものか。</p> <p>【回答】 アンギオテンシンⅡ収縮のtachyphylaxis反応のメカニズムはよく判っていない。インドメタシンによる改善効果が認められており、当研究室でもtachyphylaxis反応がインドメタシンで改善することを確認している。アラキドン代謝系が関与していると思われる。</p> <p>【質問4】 バソプレシンによるアンギオテンシンⅡ収縮改善効果で、バソプレシンがアンギオテンシンⅡレセプターを誘導した可能性はないか。</p> <p>【回答】 動物実験でバソプレシンは、アンギオテンシンⅡレセプターを誘導することが報告されている。本実験系では摘出されたリング標本を使用しており、実験時間が短時間であることなどからアンギオテンシンⅡレセプターが誘導されtachyphylaxis反応が抑制されたとは考えにくい。</p> <p>【質問5】 細胞膜にあるカベオラでは早急なレセプターの発現・消失がおこなわれていることが知られている。アンギオテンシンⅡレセプターに関して検討してはどうか。</p> <p>【回答】 動物実験において、アンギオテンシンⅡ収縮のtachyphylaxis反応のメカニズムの1つにカベオラによるレセプターの封入が考えられている。今後の研究課題としたい。</p> <p>【質問6】 出血時のアンギオテンシンⅡ、バソプレシンの濃度を測定していることが臨床との関連性を考える上で意義がある。アンギオテンシンⅡとバソプレシンを併用していくとtachyphylaxis反応が抑制される機序は何か。</p> <p>【回答】 バソプレシンとアンギオテンシンⅡの相乗効果は、各々のホルモンレセプターに対するブロッカーを投与すると消失することから、レセプター下流の反応であると思われる。今後の検討課題である。</p> <p>【質問7】 ノルエピネフリンを反復投与した後アンギオテンシンⅡを単剤投与してもtachyphylaxis反応は生じるのか。</p> <p>【回答】 予備実験において、ノルエピネフリン収縮が終了した後でアンギオテンシンⅡを単独投与した場合tachyphylaxis反応を生じた。tachyphylaxis反応の抑制には両者を同時に投与する必要がある。</p> <p>【質問8】 アンギオテンシンⅡによる飲水行動等にもtachyphylaxis反応を起こす可能性はあるのか。</p> <p>【回答】 可能性はあるが、証明されていない。脳内にはBBBが存在するため血中のアンギオテンシンⅡは移行しにくい。脳組織でのRASによるアンギオテンシンⅡの産生は証明されている。</p>			

【質問9】 AT1レセプターならびにV1レセプターの阻害薬はどのように入手したのか。

【回答】 シグマ社製の薬剤を使用した。

【質問10】 出血性ショック時のアンギオテンシンⅡ及びバソプレシンの血漿濃度に大きな偏差があるのは何故か。出血量の違いか、個体差の問題か。

【回答】 手術中に出血性ショックになった患者の血中濃度を測定した。術中の出血量・ショックの経過時間等が影響した可能性がある。

【質問11】 視床下部からの指令で下垂体後葉からバソプレシンの分泌が増加するが、それ以外の脳内の部位でも分泌が増加しているといえるのか。

【回答】 出血性ショック患者の脳内バソプレシン濃度を測定した報告はない。詳細は不明である。

【質問12】 ラットの脳内にバソプレシンを投与するとパーレルローテーションをおこすが、ロサルタンの投与でも起こすことが知られているが、本研究結果との関連性はあるか。

【回答】 バソプレシンが脳内でどのような作用を持つか不明であり、今後の検討課題である。

【質問13】 AT1レセプターならびにV1レセプターの阻害薬を使用した研究報告はあるか。

【回答】 V1レセプターに関する報告は散見されるが、AT1レセプターに関するものはない。

【質問14】 ノルエピネフリンのtachyphylaxis反応抑制に関してはすでに報告されているのか。

【回答】 ノルエピネフリンはアンギオテンシンⅡ収縮を増強することが報告されているが、tachyphylaxis反応を改善するとの報告はない。

【質問15】 バソプレシン投与にアンギオテンシンⅡを加えた実験が必要ではないか。

【回答】 実験結果の対照性を考慮すると指摘された実験は必要であったと思われる。

【質問16】 tachyphylaxis反応に関してインドメタシンの効果はどの程度いわれているのか。

【回答】 インドメタシンによるtachyphylaxis反応の阻害効果はよく判っていない。当教室の未発表データではほぼ100%収縮力を改善させたことからアラキドン代謝系が関与している可能性がある。

【質問17】 アンギオテンシンⅡ・バソプレシンの血漿濃度が上昇する臨床的意義はなにか。

【回答】 複数のホルモンは相関的に働くことで少量でより効率的な昇圧をもたらすと考えられる。

【質問18】 アンギオテンシンⅡやバソプレシンの臨床応用はなされているのか。

【回答】 敗血症性ショック患者などの昇圧薬や心停止患者の蘇生薬としてバソプレシン投与がおこなわれている。現在、アンギオテンシンⅡの昇圧薬としての臨床応用はされていない。

【質問19】 胃の出血等にアンギオテンシンⅡとバソプレシンの併用投与の可能性はどうか。

【回答】 今回の実験結果では、血管を収縮させ止血効果に有益であると推察される。

【質問20】 昇圧目的でのアンギオテンシンⅡとバソプレシンの併用の可能性はどうか。

【回答】 アンギオテンシンⅡは様々な作用を持つので慎重な検討が必要と考える。

【質問21】 AT1レセプターとAT2レセプターが拮抗的に作用する可能性はどうか。

【回答】 AT2レセプターの作用はよくわかっていない。今後の検討課題である。

【質問22】 ロサルタンの効果発現は遅いがtachyphylaxis反応との関係はどうか。

【回答】 tachyphylaxis反応を生じ収縮力が減弱したアンギオテンシンⅡ収縮にAT1レセプター拮抗薬であるロサルタンを投与しても収縮は消失する。ロサルタンの効果発現は濃度依存性であり、tachyphylaxis反応とは無関係と思われる。

以上の結果から、3名の審査委員は本人が大学院博士課程修了者としての学力と識見を十分に具備しているものと判断し、博士（医学）の学位を与えるに足る資格をもつものと認めた。