

不活性型レニンに関する研究：
臍帯静脈血中不活性型レニンの活性化について

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8940

不活性型レニンに関する研究

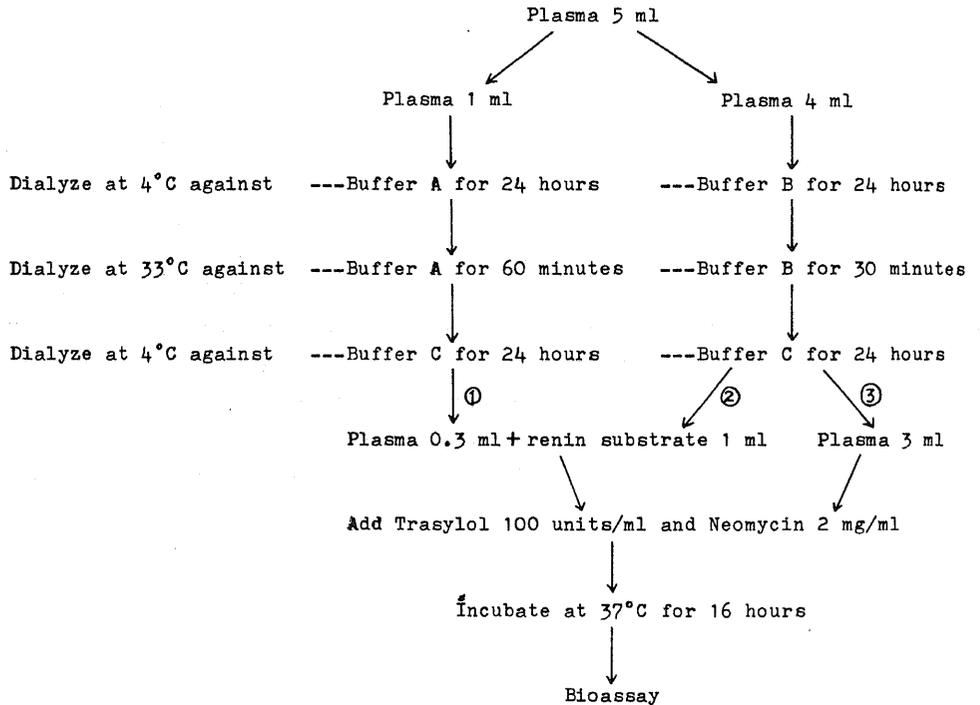
-臍帯静脈血中不活性型レニンの活性化について-

金沢大学大学院医学研究科内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

藤 村 昭 夫

(昭和56年11月9日受付)

〔原論文(p. 786) の Fig. 2 を下図の如くに修正〕



① Total renin (TR)

② Active renin (AR)

③ Plasma renin activity (PRA)

Buffer A (pH 3.3).....Glycine 0.05M, HCl 0.01M

EDTA 0.0051M, NaCl 0.0949M

Buffer B (pH 4.5).....Citric acid 0.278M, Na₂HPO₄ · 12H₂O 0.045M

EDTA 0.0051M, NaCl 0.0821M

Buffer C (pH 7.5).....NaH₂PO₄ · 2H₂O 0.0122M, Na₂HPO₄ · 12H₂O 0.0867M

EDTA 0.001M, NaCl 0.075M

Fig. 2. Measurement of human plasma renin (by Skinner)

不活性型レニンに関する研究

—臍帯静脈血中不活性型レニンの活性化について—

金沢大学大学院医学研究科内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

藤 村 昭 夫

(昭和56年11月9日受付)

Key words active renin, inactive renin, umbilical cord venous plasma.

胎児および新生児においては、血漿レニン活性が成人に比し著しい高値を示すにもかかわらず、血漿アンジオテンシンIIには両者間で差がみられない¹⁾。また、わずかな出血に対してレニン分泌が生じる²⁾など、特異なレニン・アンジオテンシン系 (renin - angiotensin system) 機能を示すことが知られているが、胎児の不活性型レニンの検討はまだなされていない。

1974年、Pipkinら³⁾は、ヒツジ胎児にカテーテルを留置する実験手法を用いて、胎児の血漿レニン活性が産道を通過する際に著しく上昇することを見出し、産道通過時になんらかの刺激が胎児に加わり、レニン分泌が増加したものと考えた。しかし、ヒト胎児に関する報告は少なく、わずかに Dillonら⁴⁾が、経膣分娩時の臍帯静脈血中血漿レニン活性が帝王切開時に比し高値を示すこと、Lumbersら⁵⁾が同様の傾向を認めるものの、統計学的有意差なしと報告しているにすぎない。

今回、著者は、胎児における renin - angiotensin system の特徴を検討するため、臍帯静脈血中レニンを測定し、経膣分娩時の臍帯静脈血中血漿レニン活性が

帝王切開時に比し有意に上昇していることを確認するとともに、この差に関連する因子、ならびにレニン分子量についても検討を加え、興味ある知見を得たので報告する。

対象と方法

1. 対 象

新生児 28 例 (経膣分娩時 21 例, 帝王切開時 7 例) を対象とし、その臍帯静脈血を採取した。新生児の Апガール・スコアはすべて 8 以上であり、仮死例はなかった。表 1 に示すように、経膣分娩と帝王切開とで出産週令、新生児の体重および身長、および胎盤重量には有意差はみられず、母親の出産年令のみに有意差がみられた ($P < 0.005$)。妊娠全経過を通じて、高血圧、タンパク尿、あるいは浮腫を認めた母親はおらず、また、低食塩食摂取や利尿剤投与を受けた既往歴もなかった。7 例の帝王切開のうち、5 例は児頭骨盤不均衡 (Cephalo - pelvic Disproportion: CPD) によるもので、残りの 2 例は帝王切開による出産の既往歴を有し

Table 1. Clinical characteristics on subjects (mean \pm SEM)

	Mother's age (yr)	Weeks of gestation	Infant wt (g)	Infant ht (cm)	Placental wt (g)
Vaginal Delivery	25.3* ± 0.7	39.5 ± 0.3	3256.9 ± 131.1	48.5 ± 0.5	633.6 ± 24.0
Cesarean Section	31.6 ± 2.9	39.0 ± 0.3	3180.3 ± 120.2	47.1 ± 0.8	662.9 ± 97.3

*: $P < 0.005$ vs. Cesarean Section

Study on Inactive Renin - Activation of Inactive Renin in Human Umbilical Cord Venous Plasma. Akio Fujimura, Department of Internal Medicine (II) (Director: Prof. R. Takeda), School of Medicine, Kanazawa University.

ていた。

2. 方 法

帝王切開1時間前には塩酸ペチジンが筋注され、局所麻酔には塩酸リドカインが使用された。また、経膈分娩では、出産約1時間前に塩酸ペチジン筋注、および、塩酸リドカインによる陰部神経ブロックがおこなわれた。オキシトシンやプロスタ・グランチン等の陣痛促進剤は使用されなかった。

臍帯静脈血は、出産後、胎盤剥離前(約10分以内)に臍帯の胎盤側を、ついで胎児側をクリップし、表面に付着した母体血を拭き取った後速やかにヘパリン採血し、血漿分離後、 -20°C に冷凍保存した。

レニン基質の作製：図1に示す様な Hass ら⁹⁾の方法により処理した血漿を用いた。すなわち、雄ヒツジの両側腎を摘出した後、3日目に大腿動脈からヘパリン採血し、直ちに 4°C にて血漿を分離した。血漿500mlにつき9.4gのEDTAを加えた後、5N-水酸化ナトリ

ウムにてpH 8.0に調整し、約1時間室温に放置。ついで、 0°C に冷却した後、2.5N-硫酸にてpH 5.3とし、硫酸アンモニウムで塩析した。遠心分離後、沈澱物に60mlの蒸留水を加え再び遠心分離し、その上清を透析膜に入れ24時間、冷却蒸留水中で透析した。ついでpH 7.5のリン酸バッファーで24時間透析した後、トラジロールとネオマイシンを加えて、 -20°C に保存した。

レニン測定法：図2に Skinner 改良法⁹⁾によるレニン測定法を示す。

①総レニン (total renin: TR)

血漿1.0mlを、まず 4°C でBuffer Aにて24時間、 33°C でBuffer Aにて1時間透析した後再び 4°C でBuffer Cにて24時間透析した。ついで、血漿0.3mlにレニン基質1ml、トラジロール100 units/ml、ネオマイシン2 mg/mlを加え、 37°C 、16時間インキュベーションした後、bioassay法にて測定した。

②活性型レニン (active renin: AR)

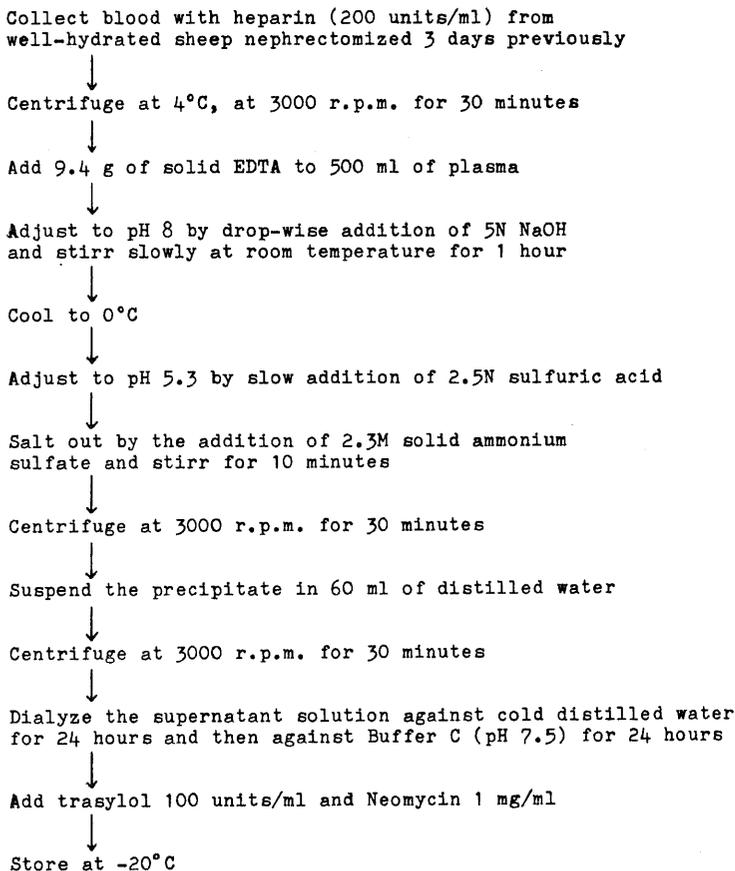


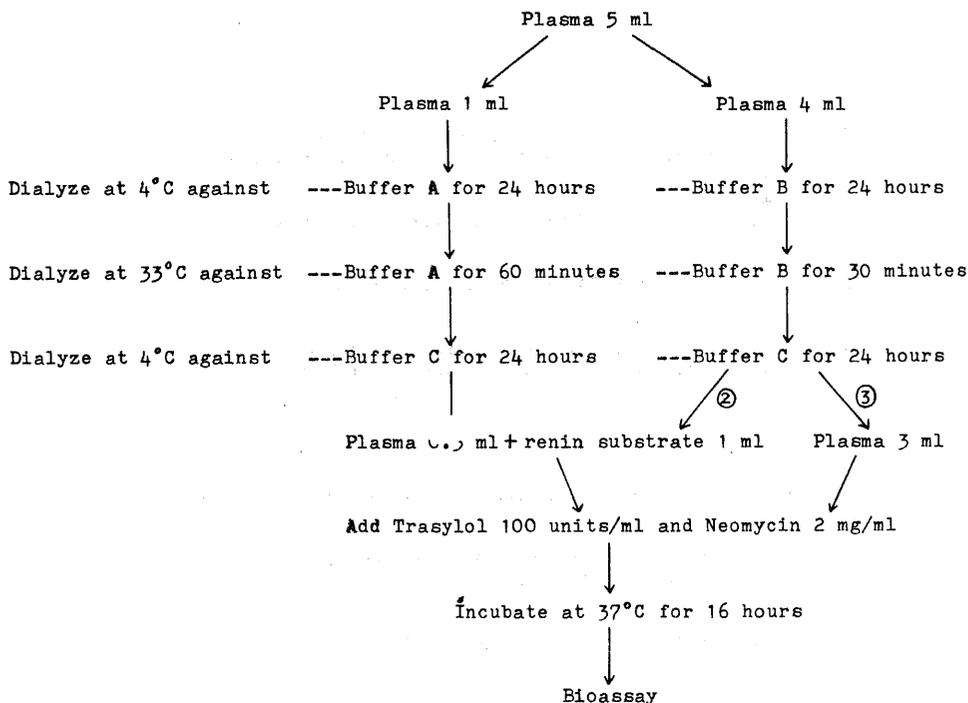
Fig. 1. Preparation of sheep renin substrate (by Hass)

③血漿レニン活性 (plasma renin activity: PRA) 4°C-Buffer B で 24 時間, 33°C-Buffer B で 30 分透析した後, 4°C-Buffer C で 24 時間透析. ついで, AR では, 血漿 0.3 ml にレニン基質 1 ml, トラジロール, ネオマイシンを加え, PRA では, トラジロール, ネオマイシンのみを加えた後, 37°C, 16 時間インキュベーションし, bioassay 法にて測定した.

不活性型レニン (inactive renin: IR) は TR - AR で表わした.

レニンの分子量測定: Sephadex G-100 (Pharmacia Fine Chemicals), カラム 1.6×90 cm (Vt 180 ml) を使用した. バッファーは 0.05 mol/l・リン酸ナトリウム・バッファー (0.01 mol KH₂PO₄, 0.04 mol Na₂

HPO₄, 0.1 mol NaCl, 0.02% NaN₂) を使用した. 血漿 1.0 ml を上記の如く調整したカラムに流しこみ, 流速 12 ml/h にて溶出し, 2.0 ml を 1 分画として採取した. Void volume (V₀) はブルー・デキストラン 2000 で求めた (V₀=73 ml). キャリブレーション・プロテインには albumin (MW 67,000), ovalbumin (MW 43,000), chymotrypsinogen A (MW 25,000), および ribonuclease A (MW 13,700) を使用した. 各プロテインの elution volume (V_e), および Kav ($=\frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}$) は, albumin (V_e 93 ml, Kav 0.187), ovalbumin (V_e 107 ml, Kav 0.318), chymotrypsinogen A (V_e 123 ml, Kav 0.467), ribonuclease A (V_e 138 ml, Kav 0.607) であった.



- ① Total renin (TR)
 ② Active renin (AR)
 ③ Plasma renin activity (PRA)
- Buffer A (pH 3.3)Glycine 0.05M, HCl 0.01M
 EDTA 0.0051M, NaCl 0.0949M
- Buffer B (pH 4.5)Citric acid 0.278M, Na₂HPO₄ · 12H₂O 0.045M
 EDTA 0.0051M, NaCl 0.0821M
- Buffer C (pH 7.5)NaH₂PO₄ · 2H₂O 0.0122M, Na₂HPO₄ · 12H₂O 0.0867M
 EDTA 0.001M, NaCl 0.075M

Fig. 2. Measurement of human plasma renin (by Skinner)

各分画のレニン活性は Skinner 法に準じて測定した。すなわち、各分画の溶出液を pH 4.5 で透析した後、pH 7.5 で再透析し、各 0.5 ml にレニン基質 0.5 ml を加え、37°C、24 時間インキュベーションした後、bioassay 法にて測定した。

有意差検定は Student's-t test により行なった。

成 績

1) レニン基質濃度の検定

Hass の方法⁹⁾により処理した血漿 0.1 ml に純化したヒト・レニン (Dr.Hass より提供される) 0.01 Goldblatt units/ml を 1.0 ml 加え、37°C、1 時間インキュベーションした後、bioassay 法にて測定した結果、レニン基

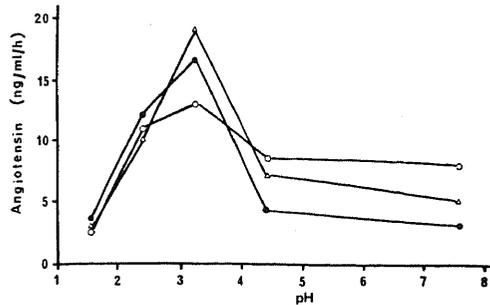


Fig. 3. Effect of pH on the Activation of Renin

Table 2. Active, total, and inactive renin levels in umbilical cord venous plasma of the babies delivered vaginally

	PRA(ng/ml/h)	AR(ng/ml/h)	TR(ng/ml/h)	IR(ng/ml/h)	IR/TR (%)
1	14.2	14.2	14.2	0	0
2	10.4	16.3	16.3	0	0
3	10.4	16.9	17.3	0.4	2
4	6.3	22.6	23.0	0.4	2
5	10.9	10.9	11.2	0.3	3
6	14.6	22.0	27.0	5.0	19
7	3.8	13.9	16.2	2.3	14
8	3.0	13.5	19.0	5.5	29
9	5.2	13.5	13.5	0	0
10	8.3	25.3	25.3	0	0
11	21.0	27.1	27.1	0	0
12	9.6	27.1	27.1	0	0
13	20.8	24.1	27.1	3.0	11
14	6.2	15.5	16.3	0.8	5
15	8.3	18.4	18.4	0	0
16	6.0	16.2	16.3	0.1	0
17	13.9	31.6	31.6	0	0
18	5.3	13.0	13.0	0	0
19	5.2	13.5	16.0	2.5	16
20	3.3	12.2	12.2	0	0
21	10.4	24.4	24.4	0	0
Mean	9.4	18.7	19.6	1.0	4.8
SD	5.2	6.0	6.1	1.7	8.2
SEM	1.1	1.3	1.3	0.4	1.8

Abbreviations: PRA=plasma renin activity; AR=active renin; TR=total renin;
IR=TR-AR

Table 3. Active, total, and inactive renin levels in umbilical cord venous plasma of the babies delivered by cesarean section

	PRA(ng/ml/h)	AR(ng/ml/h)	TR(ng/ml/h)	IR(ng/ml/h)	IR/TR (%)
1	2.5	8.1	18.1	10.0	55
2	3.1	9.5	18.1	8.6	48
3	2.5	9.0	11.5	2.5	23
4	3.8	11.4	12.6	1.2	19
5	6.7	15.0	24.4	9.4	39
6	3.5	6.8	16.3	9.5	58
7	3.7	10.8	22.6	11.8	52
Mean	3.7	10.1	17.7	7.6	40.6
SD	1.4	2.7	4.8	4.1	18.3
SEM	0.5	1.0	1.8	1.5	6.9

質は 1100 ng/ml 含まれており、以下の実験に使用した。

2) レニン活性化に及ぼす pH の影響に関する検討

図 3 は、3 人の正常人血漿を種々の pH のバッファーで透析した時のレニン活性を示す。至適 pH は 3.3 であり、pH 4.5 から pH 7.5 までのバッファーで透析してもレニン活性の増加はみられなかった。したがって、レニン活性化法としてグリシン・塩酸バッファー、pH 3.3 で透析し、のちに、リン酸ナトリウム・バッファー、pH 7.5 で再透析する酸活性化法を使用した。

3) 臍帯静脈血中レニン活性

表 2~3 は、経膣分娩 21 例、および帝王切開 7 例における臍帯静脈血中レニン活性、およびその平均値を示し、図 4 はそれらを図示した結果である。

血漿レニン活性(PRA)は、経膣分娩時 9.4 ± 1.1 ng/ml/h に比し、帝王切開時 3.7 ± 0.5 ng/ml/h と経膣分娩時の方が有意に上昇していた ($P < 0.01$)。活性型レニン(AR)は、経膣分娩時 18.7 ± 1.3 ng/ml/h に比し、帝王切開時 10.1 ± 1.0 ng/ml/h と経膣分娩時の方が有意に上昇していた ($P < 0.005$)。総レニン(TR)は、経膣分娩時 19.6 ± 1.3 ng/ml/h、帝王切開時 17.7 ± 1.8 ng/ml/h と両者間で有意差は認められなかった。不活性型レニン(IR)は、経膣分娩時 1.0 ± 0.4 ng/ml/h に比し、帝王切開時 7.6 ± 1.5 ng/ml/h と帝王切開時の方が有意に上昇していた ($P < 0.001$)。不活性型レニンと総レニンとの比(IR/TR)は、経膣分娩時 0.05 ± 0.02 に比し、帝王切開時 0.41 ± 0.07 と帝王切開時の方が有意に上昇していた ($P < 0.001$)。

4) ゲル・クロマトグラフィーによる活性型および不活性型レニンの分子量の検討

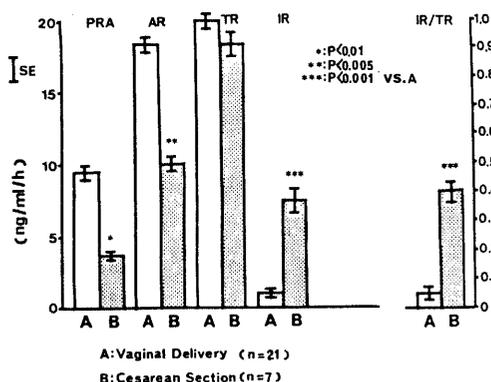


Fig. 4. Umbilical Cord Plasma Renin in Vaginal Delivery and Cesarean Section

図 5 は、上段に経膣分娩および帝王切開時に採取した血漿を用いたゲル濾過を行なった際の溶出パターンを示す。

ともに、血漿のレニン活性は一峰性を呈し、 V_e 108 ml, K_{av} 0.327 で最大の活性値を呈した。従って、経膣分娩時および帝王切開時の活性型レニンの分子量は 42,000 と推定された。

下段に帝王切開時の血漿を酸性化処理した場合の溶出パターンを示す。レニン活性は一峰性を呈し、 V_e 108 ml, K_{av} 0.327 で最大の活性値を呈した。従って、不活性型レニンの分子量も 42,000 と推定された。また、酸性化処理による分子量の変化も認められなかった。

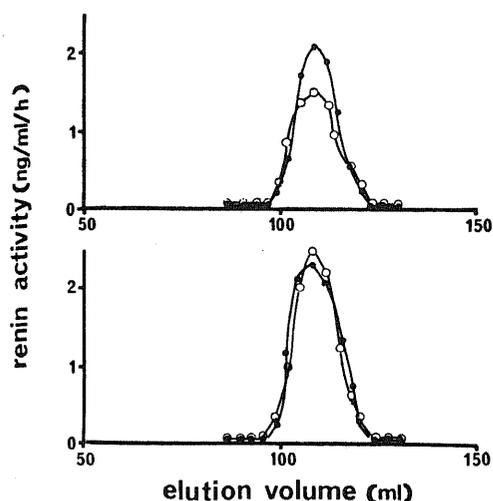


Fig. 5. Gel filtration of the umbilical cord plasma renin on a Sephadex G-100 column: Top panel, elution profile of the umbilical cord plasma renin in a baby delivered vaginally (●—●) and in a baby delivered by cesarean section (○—○). Bottom panel, elution profile of that in a baby delivered by cesarean section; before application to the column, the plasma was acidified (●—●) and after application to the column, each fraction was acidified (○—○).

考 察

レニン (EC.3.4.99.19) は腎から分泌される酸性プロテアーゼであり、レニン基質 (angiotensinogen) の leu^{10} - leu^{11} 結合を切断して、アンジオテンシン I を生成する。

1970年、de Vitoら⁷⁾により、ラットの腎組織内に酵素学的に不活性なレニンが存在することが示唆され、1971年、Lumbers⁸⁾により、ヒト羊水中に初めて不活性型レニンの存在が確認された。すなわち、ヒト羊水中には大量の不活性型レニンが含まれ、pH 3.3~3.6で酸性化することによりレニン活性が3~9倍に増強することを報告した。以来、ラット⁹⁾、マウス¹⁰⁾、家兎¹¹⁾、イヌ¹²⁾、ブタ¹³⁾等の動物において不活性型レニンが見出され、ヒトにおいても、血漿中^{14)~16)}、腎組織中¹⁶⁾¹⁷⁾、あるいは羊水中^{14)~16)}で不活性型レニンの存在が認められている。

不活性型レニンの活性化法としては、酸活性化法 (acid activation)¹⁴⁾¹⁸⁾¹⁹⁾の他に、低温活性化法 (cryo-activation)^{20)~22)}およびトリプシンなど酵素による活

性化法²³⁾²⁴⁾などがあるが、いずれも、in vitroでの活性化法であり、これらの機序が in vivoで実際に生じているとは考え難い。最近、より生理的な活性化因子として、セリン・プロテアーゼの一種である胰性および血漿カリクレインの役割が注目されてきており^{25)~27)}、in vivoでの不活性型レニンから活性型レニンへの転換に関与している可能性も示唆されている²⁸⁾²⁹⁾。

出生時、胎児は未成熟ながらも腎形成をすでに完了しており³⁰⁾、傍糸球体装置にもボービー染色陽性の顆粒細胞が光顕的に、あるいは電顕的に証明されている³¹⁾。また、腎無形成の胎児の臍帯血中にはレニン活性が見出されていない³²⁾。羊水中に存在するレニン様物質は絨毛膜由来であり³³⁾³⁴⁾、分子量は約60,000¹⁶⁾、不活性型レニンの総レニンに占める割合は約80%¹⁵⁾といわれている。今回得られた臍帯静脈血中のレニンは、分子量は42,000であり、不活性型レニンの総レニンに占める割合も帝王切開時で約40%と、羊水中に存在するレニン様物質とは異なっている。従って、臍帯静脈血中のレニンには絨毛膜由来の物質は含まれておらず、すべて胎児腎に由来するものと思われる。

本研究において、経膈分娩時の臍帯静脈血中 PRA は帝王切開時に比し有意に上昇しており、Dillonら⁴⁾と同じ結果が得られた。また、同時に測定した TR、IR の成績をみると、TRには有意差はなく、IRは逆に、経膈分娩時の方が帝王切開時に比し有意に減少していることが明らかとなった。すなわち、胎児が産道を通ずる際、なんらかのストレスが刺激となって、腎内あるいは腎外で不活性型レニンから活性型レニンへの転換が生じたために、血漿レニン活性が上昇したものと思われる。しかし、TRであらわされるレニンの総放出量には変化がみられなかった。急性放出刺激に対するこのようなレニンの反応はこれまでも知られており、Derkx³⁵⁾は、イソプレナリンやジアゾキサイドの負荷、あるいはティルティングにより活性型レニンは増加し、不活性型レニンは減少したが、総レニンには変化がみられなかったとしている。また、Graceら¹¹⁾は、家兎をナトリウム欠乏状態におくと、24時間後には活性型レニンは2倍に増加したが、不活性型レニンは消失した。従って、血漿レニン活性上昇の一部は不活性型レニンの転換によるものとしている。

レニン分泌刺激や抑制刺激に対し、腎内で不活性型レニンと活性型レニンとの間の転換が生じている¹³⁾³⁶⁾³⁷⁾ことが報告されているが、腎外での転換³⁸⁾³⁹⁾も否定することはできない。

さて、次に不活性型レニンの活性化に与える機序について考察を加える。

まず、分娩に際しての胎児血中 P_{CO_2} の変化の可能性

があげられる。臍帯を圧迫することにより徐脈が生じ⁴⁰⁾、また、正常経産分娩のうち約38%に、分娩経過中、少なくとも一度は徐脈が観察される⁴¹⁾ことより、正常経産分娩において、臍帯圧迫が軽度ながらも生じている可能性がある。Towellら⁴²⁾は、ヒツジ胎児にカテーテルを挿入し、臍帯を圧迫することによって生じる胎児の変化を観察している。それによると、ごく軽度に臍帯を圧迫した場合でも、時間の経過とともに胎児血中pH、 P_{O_2} は低下し、 P_{CO_2} は上昇した。また、子宮の収縮によっても胎盤内の血流が一時的に障害され、胎児への酸素供給が低下し P_{CO_2} が上昇する⁴³⁾ことは、経産分娩時の臍帯動脈血中乳酸値が帝王切開時に比し上昇している⁴⁴⁾ことからもうかがわれる。

Kurzら⁴⁵⁾は、イヌに各種濃度の二酸化炭素を吸収させ、用量依存的に血漿レニン活性が上昇することを見出し、Andersonら⁴⁶⁾は、 β 遮断剤を投与することにより、そのような血漿レニン活性の上昇が阻止できると報告している。また、二酸化炭素は血中カテコールアミン値を上昇させ⁴⁷⁾⁴⁸⁾、腎交感神経系を賦活化させる⁴⁹⁾。従って、産道通過時に生じる胎児血中 P_{CO_2} の上昇が胎児腎交感神経系を賦活化し、胎児腎内で不活性型レニンから活性型レニンへの転換を亢進させている可能性が考えられる。また、軽度の酸素欠乏により尿中へのナトリウム排泄が増加し⁵⁰⁾、胎児血中よりナトリウムが失われるため腎傍系球体装置が刺激され、より一層レニン放出が増大することも考えられる。

第二に、分娩の際に生じる胎児の脱血状態による影響があげられる。経産分娩の経過中に生じる軽度の臍帯圧迫により臍帯静脈が部分的に狭窄を起し、胎盤側から胎児側への血流は障害を受ける。従って、血液は胎盤側に停滞し、胎児は軽度の脱血状態となる⁴²⁾。一般に、脱血により腎の交感神経、圧覚受容体および密集斑が刺激され、レニンが放出される⁵¹⁾。また、胎児腎は血液量減少に対して非常に敏感に反応し、3%以下の血液量減少に対してもレニンを放出する²⁾。従って、経産分娩の経過中に臍帯が軽度圧迫され、それによって生じる脱血が胎児腎の交感神経、圧覚受容体および密集斑を刺激する結果、不活性型レニンから活性型レニンへの転換を亢進させている可能性がある。

第三に、分娩に際しての胎児血pHの低下による可能性があげられる。不活性型レニンの活性化法の一手段とされている酸活性化法については、現在次の様に考えられている。顆粒内に貯蔵されているレニンは分子量40,000の活性型レニンであり、血中に放出されると、 α_2 -マクログロブリン分画中に存在するタンパク分解酵素阻害物質と結合して⁵²⁾⁵³⁾、あるいは、腎皮質サイトゾール内の物質と結合して¹²⁾⁵⁴⁾不活性型レニンとなる。

この阻害物質と結合した不活性型レニンは生理的なpHでは活性を持たないが、一度、酸性の溶液中で透析を行なった後、再度、pHをもとに戻すと活性化される。従って、血漿を酸処理することにより、なんらかの機序が働き、レニンに結合したタンパク分解酵素阻害物質がレニンより遊離することを示唆している⁵⁵⁾。また、トラジロールを加えると、酸活性化法による不活性型レニンの活性化が生じない⁵⁶⁾ことや、あるいは、ハーゲマン因子やフレッチャー因子の欠如している血漿でも、不活性型レニンの酸活性化がみられない²⁷⁾⁵⁷⁾ことより、不活性型レニンの酸活性化には、カリクレインが関与しているものと思われる。しかし、このような機序による不活性型レニンの活性化が、産道通過時に生じている可能性は少ないと思われる。なぜならば、分娩経過中、児頭が下降すると共に胎児血pHは低下し⁵⁸⁾、娩出時、臍帯動脈血pHは7.20~7.30⁵⁹⁾に低下するが、図3に示した如く不活性型レニンを活性化させるpHとかなり異なっている。

第四に、出生後にみられる臍帯血の温度低下の影響があげられる。-5°C、pH7.4で血漿を4日間放置しておくとき血漿レニン活性が有意に上昇する²¹⁾ことより、低温放置は酸活性化法と共に、不活性型レニンの活性化法として用いられている(低温活性化法)。

低温活性化法においても、酸活性化法の場合と同様、トラジロールにより不活性型レニンの活性化は阻害され⁶⁰⁾、あるいは、ハーゲマン因子欠如の血漿において、不活性型レニンの活性化がみられない⁶¹⁾ことより、低温活性化の機序にはカリクレインの関与が想定されている。

カリクレインに結合した阻害物質が、酸処理、あるいは、低温処理によりカリクレインより遊離し、カリクレインは活性化される⁶²⁾。従って、酸活性化法、および低温活性化法は共に活性化されたカリクレインを介して、不活性型レニンの活性化をきたしているものと思われる。事実、ブタの高分子型不活性型レニンに活性型カリクレインを混合し、37°C、30分、インキュベーションすることによりレニン活性が上昇することが報告されている⁶³⁾、in vivoにおける不活性型レニンの活性化因子として血漿カリクレインが注目されている²⁹⁾が、腺性カリクレインを活性化因子とする報告もあり⁶⁴⁾、現在、見解の一致をみていない。

臍帯血中のプロ・カリクレイン濃度は成人に比し低い⁶⁵⁾が、臍帯血中にはカリクレイン阻害物質は存在しない⁶⁶⁾。出産後、臍帯血の温度は急速に低下し、10分以内に37°Cより27°Cになる。この温度低下に伴い臍帯血中のカリクレインは活性化される⁶⁶⁾。従って、この活性化されたカリクレインが不活性型レニンを活性化させ、

臍帯静脈血中血漿レニン活性を上昇させる可能性が考えられるが、経陰分娩時と帝王切開時との臍帯静脈血中血漿レニン活性の差異を説明することができない。

以上の考察より、経陰分娩時にみられる臍帯静脈血中血漿レニン活性の上昇は、胎児血中 P_{CO_2} の上昇、あるいは胎児の脱血状態による可能性が最も高いと思われるが、詳細な機序については不明といわざるを得ない。

次に臍帯血中レニンの分子形について触れてみたい。通常の活性型レニンの分子量は 40,000~43,000 とされている¹⁶⁾¹⁹⁾⁶⁷⁾。不活性型レニンの分子量は各種病態において異なり、正常人血漿では 43,000¹⁸⁾、ウィルムス腫瘍では 63,000¹⁶⁾⁶⁸⁾、あるいは 60,000⁶⁹⁾、腎ガンでは 63,000⁶⁹⁾、腎症を伴う糖尿病では 63,000⁶⁹⁾、あるいは 60,000²⁰⁾、羊水中では 63,000⁶⁹⁾⁶⁹⁾と報告されている。また、妊娠血漿中には、43,000 の不活性型レニンが少量存在するほか、60,000 の不活性型レニンが多量に存在する⁶⁸⁾。しかし、未だ臍帯血中の活性型および不活性型レニンの分子量については報告されていない。

今回得られた成績によれば、臍帯静脈血中の活性型レニンの分子量は 42,000 であり、正常成人の血中に存在する通常の活性型レニンとほぼ同じ分子量を示した¹⁶⁾¹⁹⁾⁶⁷⁾。また、不活性型レニンの分子量も 42,000 であり、正常成人の血中に存在する不活性型レニン¹⁸⁾とほぼ同じ分子量を示した。不活性型レニンが酸性化処理前後で同一の分子量を呈することより、不活性型レニンが腎内あるいは腎外で活性型レニンに転換する場合には、明らかな分子量の変化を伴わないように考えられる。

生理的状態における不活性型レニンの意義については、未だ見解の一致をみていないが、不活性型レニンは前酵素 (prorenin) ではなく、活性型レニンがプロテアーゼ阻害物質と結合したものであるという説が有力視されている。Poulsen ら⁵²⁾⁵³⁾⁷⁰⁾はマウスを使った実験より、腎皮質内におけるレニン合成過程を明らかにした。すなわち、合成されたレニン (prorenin) の分子量は 50,000 であり、分子量 40,000 の活性型レニンに転換したのち細胞内に貯蔵される。ついで、血中に放出されると、血漿中の α_2 -マクログロブリン分画中のプロテアーゼ阻害物質と結合して不活性型レニンとなる。しかし、ブタ腎を使った実験により、腎皮質内に分子量 40,000 と 60,000 のレニンが存在する⁷¹⁾ことが明らかとなり、また、イヌ腎皮質内では、貯蔵されている分子量 40,000 の活性型レニンが、皮質のサイトゾール分画に存在する物質と結合して分子量 60,000 の不活性型レニンとなる¹²⁾⁵⁴⁾ことより、活性型レニンの不活性化は腎内で生じている可能性もある。

胎児のレニン・アンジオテンシン系の特徴は、正常成人に比して PRA が高値を示すにもかかわらず、アンジオテンシン II (A II) の値には両者による差がない¹⁾ことにあるとされている。妊娠後期の胎児腎は 3% 以下の出血²⁾やフロセミド負荷⁷²⁾に対してレニンを分泌し、その反応性も成長するに伴い増大する⁷³⁾。しかし、近位尿管の機能はまだ十分に発達しておらず、ナトリウム再吸収は不十分であり⁷⁴⁾、血清ナトリウム値は常に低い²⁾。しかも、A II 値が高値を示さないためネガティブ・フィードバックによるレニン分泌抑制が十分ではなく²⁾、PRA は常に高値を示す。今回得られた成績でも、子宮内の胎児の状態により類似している帝王切開時の臍帯静脈血において、PRA は正常成人 (1.2 ± 0.6 ng/ml/h) に比し高値を示し、これまでの報告を支持する結果が得られた。また、今回 A II は未測定であるが、A II が高値をとらない原因として、胎児の肺循環血液量が少ない⁷⁵⁾ことや、あるいは、肺のアンジオテンシン I 変換酵素活性が低い⁷⁶⁾ことなどが考えられる。

結 論

胎児における renin - angiotensin 系の特徴を明らかにするため、臍帯静脈血中活性型および不活性型レニンにつき検討し、次の成績を得た。

1) 経陰分娩時にみられる臍帯静脈血中血漿レニン活性の上昇は、産道通過時になんらかの刺激が胎児に加わり、それによって、腎内あるいは腎外で不活性型レニンから活性型レニンへの転換が促進されたために生じたものと思われる。

2) 胎児の活性型レニンおよび不活性型レニンの分子量は共に 42,000 であり、不活性型レニンは分子量の変化を受けずに、活性型レニンへ転換する。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師竹田亮祐教授に深甚の謝意を表すると共に御協力いただきました金沢医科大学内分内分泌内科森本真平教授並びに内田健三助教授に心から感謝いたします。

また、貴重な臨床例を提供していただきました金沢聖霊総合病院産婦人科、大下陸郎先生に感謝いたします。

なお、本論文の要旨は、第 23 回日本腎臓学会総会 (昭和 55 年、東京) に発表した。

文 献

1) Lumbers, E. R. & Reid, G. C.: Effects of vaginal delivery and caesarian section on plasma renin activity and angiotensin II levels in human umbilical cord blood. *Biol. Neonate*, **31**, 127 - 134

- (1977).
- 2) **Pipkin, F. B., Lumbers, E. R. & Mott, J. C. :** Factors influencing plasma renin and angiotensin II in the conscious pregnant ewe and its foetus. *J. Physiol.*, **243**, 619 - 636 (1974).
 - 3) **Pipkin, F. B., Kirkpatrick, S. M. L., Lumbers, E. R. & Mott, J. C. :** Renin and angiotensin-like levels in foetal, new-born and adult sheep. *J. Physiol.*, **241**, 575 - 588 (1974).
 - 4) **Dillon, M. J., Gillin, M. E. A., Ryness, J. M. & de Swiet, M. :** Plasma renin activity and aldosterone concentration in the human newborn. *Arch. Dis. Child.*, **51**, 537 - 540 (1976).
 - 5) **Hass, E., Goldblatt, H., Gipson, E. C. & Lewis, L. :** Extraction, purification, and assay of human renin free of angiotensinase. *Circ. Res.*, **XIX**, 739 - 794 (1966).
 - 6) **Skinner, S. L. :** Improved assay methods of renin "concentration" and "activity" in human plasma. *Circ. Res.*, **XX**, 391 - 402 (1967).
 - 7) **de Vito, E., Cabrera, R. R. & Fasciolo, J. C. :** Renin production and release by rat kidney slices. *Am. J. Physiol.*, **219**, 1042 - 1045 (1970).
 - 8) **Lumbers, E. R. :** Activation of renin in human amniotic fluid by low pH. *Enzymologia*, **40**, 329 - 336 (1971).
 - 9) **Barrett, J. D., Eggena, P. & Sambhi, M. P. :** Activation of rat plasma renin. *Endocrinology*, **108**, 778 - 785 (1981).
 - 10) **Nielsen, A. H., Malling, C. & Poulsen, K. :** Characteristics and conversion of high molecular weight forms of renin in plasma and their incomplete activation by the current acid treatment. *Biochem. Biophys. Acta*, **534**, 246 - 257 (1978).
 - 11) **Grace, S. A., Munday, K. A., Noble, A. R. & Richards, H. K. :** Plasma active and inactive renin in the rabbit: Effect of dietary sodium depletion and repletion. *J. Physiol.*, **292**, 421 - 428 (1979).
 - 12) **Funakawa, S., Funae, Y. & Yamamoto, K. :** Conversion between renin and high-molecular-weight renin in the dog. *Biochem. J.*, **176**, 977 - 981 (1978).
 - 13) **Bailie, M. D., Derkx, F. M. H. & Schalekamp, M. A. D. H. :** Release of active and inactive renin by the porcine kidney. *Circ. Res.*, **44**, 32 - 37 (1979).
 - 14) **Shulkes, A. A., Gibson, R. R. & Skinner, S. L. :** The nature of inactive renin in human plasma and amniotic fluid. *Clin. Sci. Mol. Med.*, **55**, 41 - 50 (1978).
 - 15) **Skinner, S. L., Cran, E. J., Gibson, R., Taylor, R., Walters, W. A. W. & Catt, K. J. :** Angiotensins I and II, active and inactive renin, renin substrate, renin activity, and angiotensinase in human liquor amnii and plasma. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **121**, 626 - 630 (1975).
 - 16) **Day, R. P., Luetscher, J. A. & Gonzales, C. M. :** Occurrence of big renin in human plasma, amniotic fluid and kidney extracts. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **40**, 1078 - 1084 (1975).
 - 17) **Slater, E. E. & Haber, E. :** A large form of renin from normal human kidney. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **47**, 105 - 109 (1979).
 - 18) **Boyd, G. W. :** An inactive higher-molecular-weight renin in normal subjects and hypertensive patients. *Lancet*, **i**, 215 - 218 (1977).
 - 19) **Leckie, B. J., McConnell, A., Grant, J., Morton, J. J., Tree, M. & Brown, J. J. :** An inactive renin in human plasma. *Circ. Res.*, **40** (Suppl. I), I - 46 - I - 51 (1977).
 - 20) **Atlas, S. A., Sealey, J. E. & Laragh, J. H. :** "Acid"- and "Cryo"-activated inactive plasma renin: similarity of their changes during β -blockade. Evidence that neutral protease(s) participate in both activation procedures. *Circ. Res.*, **43** (Suppl. I), I - 128 - I - 133 (1978).
 - 21) **Sealey, J. E., Moon, C., Laragh, J. H. & Alderman, M. :** Plasma prorenin: cryoactivation and relationship to renin substrate in normal subjects. *Am. J. Med.*, **61**, 731 - 738 (1976).
 - 22) **Hsueh, W. A., Luetscher, J. A., Carlson, E., Grisliis, G., Elbaum, D. & Chavarri, M. :** A comparison of cold and acid activation of big renin and of inactive renin in normal plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **47**, 792 - 799 (1978).
 - 23) **Cooper, R. M., Osmond, D. H., Scaiff, K. D. & Ross, L. J. :** Increase in "Angiotensin I" (AT) production upon incubation of human plasma with trypsin. *Fed. Proc.*, **33**, 584 (1974).
 - 24) **Morris, B. J. :** Activation of human inactive ("Pro-") renin by cathepsin D and pepsin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **46**, 153 - 157 (1978).
 - 25) **Leckie, B. J. :** Endogenous activator of plasma-inactive-renin. *Lancet*, **ii**, 217 - 218 (1978).

- 26) Derkx, F. H. M., Tan - Tjong, H. L. & Schalekamp, M. A. D. H. : Endogenous activator of plasma - inactive - renin. *Lancet*, ii, 218 - 219 (1978).
- 27) Derkx, F. H. M., Tan - Tjong, H. L., Man in 't veld, A. J., Schalekamp, M. P. A. & Schalekamp, M. A. D. H. : Activation of inactive plasma renin by plasma and tissue kallikreins. *Clin. Sci.*, 57, 351 - 357 (1979).
- 28) Derkx, F. H. M., Bouma, B. N., Schalekamp, M. P. A. & Schalekamp, M. A. D. H. : An intrinsic factor XII - prekallikrein - dependent pathway activates the human plasma renin - angiotensin system. *Nature*, 280, 315 - 316 (1979).
- 29) Rumpf, K. W., Becker, K., Kreusch, U., Schmidt, S., Vetter, R. & Scheler, F. : Evidence for a role of plasma kallikrein in the activation of prorenin. *Nature*, 283, 482 - 483 (1980).
- 30) Macdonald, M. S. & Emery, J. L. : The late intrauterine and postnatal development of human renal glomeruli. *J. Anatomy*, 93, 331 - 340 (1959).
- 31) Smith, F. G. Jr., Lupu, A. N., Barajas, L., Bauer, R. & Bashore, R. A. : The renin - angiotensin system in the fetal lamb. *Pediat. Res.*, 8, 611 - 620 (1974).
- 32) Symonds, E. M. & Furler, I. : Plasma renin levels in the normal and anephric fetus at birth. *Biol. Neonate*, 23, 133 - 138 (1973).
- 33) Symonds, E. M., Stanley, M. A. & Skinner, S. L. : Production of renin by in vitro cultures of human chorion and uterine muscle. *Nature*, 1152 - 1153 (1968).
- 34) Skinner, S. L., Lumbers, E. R. & Symonds, E. M. : Renin concentration in human fetal and maternal tissues. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 101, 529 - 533 (1968).
- 35) Derkx, F. H. M., Gool, J. M. G. v., Wenting, G. J., Verhoeven, R. P., Man in 't veld, A. J. & Schalekamp, M. A. D. H. : Inactive renin in human plasma. *Lancet*, ii, 496 - 498 (1976).
- 36) Atlas, S. A., Sealey, J. E., Laragh, J. H. & Moon, C. : Plasma renin and "Prorenin" in essential hypertension during sodium depletion, beta - blockade, and reduced arterial pressure. *Lancet*, ii, 785 - 789 (1977).
- 37) Konrads, A., Hummerich, W., Vlaho, M. & Meurer, K. A. : Effects of furosemide and orthostasis on active and inactive renin in normal and anephric man. *Europ. J. Clin. Invest.*, 11, 105 - 109 (1981).
- 38) Weinberger, M., Aoi, W. & Grim, C. : Dynamic responses of active and inactive renin in normal and hypertensive humans. *Circ. Res.*, 41 (Suppl. II), II - 21 - II - 25.
- 39) Aoi, W., Seto, S., Doi, Y., Murayama, M., Tasaki, S., Suzuki, S., Kuramochi, M. & Hashiba, K. : Release of active and inactive renin by the human kidney. *Clin. Sci.*, 57, 101_s - 103_s (1979).
- 40) Lee, S. T. & Hon, E. H. : Fetal hemodynamic response to umbilical cord compression. *Obstet. Gynecol.*, 22, 553 - 562 (1963).
- 41) Roemer, V. M. & Bärtschi, R. : Response of fetal acid - base - balance to cord compression during parturition : A clinical investigation. *Arch. Gynäk.*, 215, 133 - 156 (1973).
- 42) Towell, M. E. & Salvador, H. S. : Fetal Evaluation During Pregnancy and Labor, p143 - 156. In P. Crosignari & G. Paradi (ed.), *Compression of the umbilical cord : An experimental model in the fetal goat*, Academic Press, Inc., New York, 1971.
- 43) Hon, E. H. : Observations on "pathologic" fetal bradycardia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 77, 1084 - 1099 (1959).
- 44) Lin, C., Moawad, A. H., Rosenow, P. J. & River, P. : Acid - base characteristics of fetuses with intrauterine growth retardation during labor and delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 137, 553 - 559 (1980).
- 45) Kurz, K. D. & Zehr, J. E. : Mechanisms of enhanced renin secretion during CO₂ retention in dogs. *Am. J. Physiol.*, 234, H - 573 - H - 581 (1978).
- 46) Anderson, R. J., Rose, C. E. Jr., Berns, A. S., Erickson, A. L. & Arnold, P. E. : Mechanism of effect of hypercapnic acidosis on renin secretion in the dog. *Am. J. Physiol.*, 238, F - 119 - F - 125 (1980).
- 47) Tenney, S. M. : Sympatho - adrenal stimulation by carbon dioxide and the inhibitory effect of carbonic acid on epinephrine response. *Am. J. Physiol.*, 187, 341 - 346 (1956).
- 48) Nahas, G. G., Ligou, J. C. & Mehlman, B. : Effects of pH changes on O₂ uptake and plasma catecholamine levels in the dog. *Am. J. Physiol.*, 198, 60 - 66 (1960).

- 49) Ott, N. T., Lorenz, R. R. & Shepherd, J. T.: Modification of lung - inflation reflex in rabbits by hypercapnia. *Am. J. Physiol.*, **223**, 812 - 819 (1972).
- 50) Daniel, S. S., Yeh, M., Bowe, E. T., Fukunaga, A. & James, L. S.: Renal response of the lamb fetus to partial occlusion of the umbilical cord. *J. Pediatr.*, **87**, 788 - 794 (1975).
- 51) Henrich, W. L., Schrier, R. W. & Berl, T.: Mechanisms of renin secretion during hemorrhage in the dog. *J. Clin. Invest.*, **64**, 1 - 7 (1979).
- 52) Poulsen, K., Nielsen, A. H., Lykkegaard, S., Malling, C., Krøll, D. & Jensenius, J.: Is high - molecular - weight - renin binding of renin to the protease inhibitors and lipoproteins? *Clin. Sci. Mol. Med.*, **55**, 125_s - 128_s (1978).
- 53) Poulsen, K., Krøll, J., Nielsen, A. H., Jensenius, J. & Malling, C.: Renin binding proteins in plasma. Binding of renin to some of the plasma protease inhibitors, to lipoproteins, and to a non - trypsin - binding unidentified plasma protein. *Biochem. Biophys. Acta*, **577**, 1 - 10 (1979).
- 54) Kawamura, M., Ikemoto, F., Funakawa, S. & Yamamoto, K.: Characteristics of a renin - binding substance for the conversion of renin into a high - molecular - weight form in the dog. *Clin. Sci.*, **57**, 345 - 350 (1979).
- 55) Leckie, B. J. & McGhee, N. K.: Reversible activation - inactivation of renin in human plasma. *Nature*, **288**, 702 - 705 (1980).
- 56) Eggera, P., Barrett, J. D., Wiedman, C. E. & Sambhi, M. P.: Studies on renin activation in normal human plasma. *Hypertension*, **1**, 523 - 528 (1979).
- 57) Sealey, J. E., Atlas, S. A., Laragh, J. H., Verberg, M. S. & Kaplan, A. P.: Initiation of plasma prorenin activation by Hageman factor - dependent conversion of plasma prekallikrein to kallikrein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 5914 - 5918 (1979).
- 58) 堀口貞夫: 胎児酸塩基平衡. 産科データ・ブック. 産・婦人科の世界, **23** (増刊号), 371 (1971).
- 59) 竹村 晃: 心搏数図. 産科データ・ブック. 産・婦人科の世界, **23** (増刊号), 368 (1971).
- 60) Osmond, D. H. & Loh, A. Y.: Protease as endogenous activator of inactive renin. *Lancet*, **i**, 102 (1978).
- 61) Tatemichi, S. R. & Osmond, D. H.: Factor XII in endogenous activation of inactive renin. *Lancet*, **i**, 1313 (1978).
- 62) Hummerich, W., Feltkamp, H., Konrads, A., Ahlmann, P. & Bornhofen, H.: Renin - activation by kallikrein: evidence for alkaline - activation of plasma renin. *Europ. J. Clin. Invest.*, **9**, 447 - 449 (1979).
- 63) Overturf, M. L., Druilhet, R. E. & Fitz, A.: The effects of kallikrein, plasmin, and thrombin on hog kidney renin. *J. Biological Chemistry*, **254**, 12078 - 12083 (1979).
- 64) Sealey, J. E., Atlas, S. A., Laragh, J. H., Oza, N. B. & Ryan, J. W.: Human urinary kallikrein converts inactive to active renin and is a possible physiological activator of renin. *Nature*, **275**, 144 - 145 (1978).
- 65) Branconi, F., Faldi, P., Seravalli, G., Curradi, C., Delbianco, P. L. & Sicuteri, F.: Plasmatic prekallikrein and kallikrein inhibitor in pregnancy, labor and in newborn. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **70**, 261 - 263 (1976).
- 66) Melmon, K. L., Cline, M. J., Hughes, T. & Nies, A. S.: Kinins: possible mediators of neonatal circulatory changes in man. *J. Clin. Invest.*, **47**, 1295 - 1302 (1968).
- 67) Takii, Y., Takahashi, N., Inagami, T. & Yokosawa, N.: A new form of renin in normal human plasma: "Big renin" is a mixture of inactive prorenin and the new active high molecular weight renin. *Life Sci.*, **26**, 347 - 353 (1980).
- 68) Day, R. P. & Morris, B. J.: Properties of inactive renin in human plasma. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **6**, 611 - 624 (1979).
- 69) Day, R. P. & Luetscher, J. A.: Big renin: A possible prohormone in kidney and plasma of a patient with Wilms' tumor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **38**, 923 - 926 (1974).
- 70) Poulsen, K., Vuust, J., Lykkegaard, S., Nielsen, A. H. & Lund, T.: Renin is synthesized as a 50,000 dalton single - chain polypeptide in cell - free translation systems. *FEBS. LETTERS*, **98**, 135 - 138 (1979).
- 71) Boyd, G. W.: A protein - bound form of porcine renal renin. *Circ. Res.*, **35**, 426 - 438 (1974).
- 72) Siegel, S. R., Leake, R. D., Weitzman, R. E. & Fisher, D. A.: Effects of furosemide and acute salt loading on vasopressin and renin secre-

tion in the fetal lamb. *Pediatr. Res.*, **14**, 869 - 871 (1980).

73) **Siegel, S. R. & Fisher, D. A.** : Ontogeny of the renin - angiotensin - aldosterone system in the fetal and newborn lamb. *Pediatr. Res.*, **14**, 99 - 102 (1980).

74) **Edelmann, C. M. Jr. & Spitzer, A.** : The maturing kidney : A modern view of well - balanced infants with imbalanced nephrons. *J. Pediatr.*, **75**,

509 - 519 (1969).

75) **Rudolph, A. M. & Heymann, M. A.** : Circulatory changes during growth in the fetal lamb. *Circ. Res.*, **XXVI**, 289 - 299 (1970).

76) **Hébert, F., Fouron, J. C., Boileau, J. C. & Biron, P.** : Pulmonary fate of vasoactive peptides in fetal, newborn, and adult sheep. *Am. J. Physiol.*, **223**, 20 - 23 (1972).

Study on Inactive Renin – Activation of Inactive Renin in Human Umbilical Cord Venous Plasma Akio Fujimura, Department of Internal Medicine (II) (Director: Prof. R. Takeda), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 – J. Juzen Med. Soc., **90**, 784–796 (1981)

Key words: active renin, inactive renin, umbilical cord venous plasma.

Abstract

The fetal and neonatal kidneys are known to be able to produce renin in response to stimuli such as hemorrhage and furosemide administration. High levels of the plasma renin activity are found also in babies delivered vaginally in contrast to those delivered by Cesarean section. However, there has been no information concerning how inactive renin in the neonatal plasma changes following vaginal or Cesarean delivery. The present study was undertaken to investigate the influence of vaginal delivery and Cesarean section on inactive renin in the human umbilical venous plasma. The active, inactive and total renin levels were measured, by means of enzymatic techniques, with the umbilical cord venous plasma of babies delivered vaginally (n=21) or by Cesarean section (n=7). The active renin level was found to be higher in the former than in the latter group, while the inactive renin level was the opposite. However, the total renin level was not significantly different between both groups. The molecular weight of active and inactive renin in the umbilical cord venous plasma was 42,000, which was comparable to that in the venous plasma of adults. In fact, inactive renin in the umbilical venous plasma was found to be converted into active renin without a significant change in molecular weight during vaginal delivery. The present findings suggest that an elevation of renin activity in the umbilical cord venous plasma of vaginally delivered babies is due to acceleration of renal or/and extrarenal conversion from inactive to active renin with the same molecular weight.