

薬学博士松尾寿之君の「生体内情報伝達に係わる超微量ペプチドの研

究―特に心房性ナトリウム利尿ホルモンの構造と機能に関する研究―

に対する授賞審査要旨

松尾君は東大薬学部時代、アルカロイドの合成化学の研究従事中に、原料の光学活性アミノ酸誘導体のラセミ化反応を検討した結果、この反応を利用してペプチドのカルボキシ末端アミノ酸を特異的にトリチウムで標識し同定できる事を見出した。さらに実験条件を種々検討し、「松尾のトリチウム標識法」と呼ばれるペプチド・カルボキシ末端アミノ酸の超微量分析法を確立した（一九六五―一九六九年）。この方法は、当時生体内の微量ペプチドの一次構造の解明を指向していた人々の注目するところとなった。すなわち、約一六万頭のブタ視床下部から抽出、精製した黄体形成ホルモン放出因子（LHRH）約240 μ gを用いてその構造を決定しようとしていたシャリー博士（チューレン大学）は松尾君に協力を依頼し、同君はシャリー研に向向して五カ月後にはLHRH（一〇残基ペプチド）の構造決定と合成に成功した（一九七一年）。この成果はシャリー博士の一九七七年度ノーベル賞の受賞業績に大きく貢献すると同時に、その後の松尾君の研究にも決定的な影響を与えた。

松尾君は滞米一年の後、帰国、阪大医学部を経て、宮崎医大生化学教授としての現在に至る一七年間、終始、生体内の細胞間情報伝達に係わる未知の生理活性のペプチドの系統的検索研究を行っている。同君は超微量ペプチド研究

の問題点を徹底的に検討し、独自の研究法を開発した。その特徴は、次の三点に要約される。(一) LH-RHの研究に用いた構造解析法をピコモルのレベルまで微量化した。(二)組織内プロテアーゼによる目的ペプチドの分解を抑制し、抽出効率を著しく上昇せしめた。(三)生理活性ペプチドの検索に、平滑筋摘出標本の収縮、弛緩効果の検定法を採用した。その結果、従来数十万頭の大動物組織を集めなければ不可能であった微量活性ペプチドの検索研究を数百頭の小動物の組織でも可能にし、研究は飛躍的に進展した。さらに、構造を決定したペプチドは自ら化学合成し構造を確認する一方、その薬理作用の検討、ラジオイムアッセイ系の開発を行い、新しいペプチドの生理的、臨床的意義解明研究への展開に役立てた。この研究法を駆使して、松尾君が構造解明したペプチドは別表の通りで約四〇種にのぼり、生体における情報伝達機構研究の新しい展開に寄与する幾多の成果を挙げた。中でも、次に述べる心房性ナトリウム利尿ホルモン (ANP: Atrial Natriuretic Peptides) の研究は世界的に特に高い評価を受けている。

ヒト心房から分泌され強力な利尿、血圧降下活性を示すANPの単離と構造決定に関する一九八三年来の松尾君の業績は、心臓からホルモンが単離された最初の例として注目を集めた。既に *Kisch* により哺乳動物心房細胞に特異的な顆粒が存在し(一九五六年)、その生理的意義が *de Bold* により示唆されていた(一九七九年)が、松尾君のANP研究は生体の体液容量及び血圧調節が心臓によって行われるという画期的な制御機構の存在を分子レベルで証明し、今日の爆発的なANP研究の引金になった。すなわち、松尾君はヒト心房から、平滑筋弛緩活性を指標にして α 型(二八残基ペプチド)、 β 型(五六残基ペプチド)・ α 型の逆平行二量体)および γ 型(一二六残基ペプチド)の三種のヒト型ANP(hANP)を単離し、構造を決定した。さらに、hANP-前駆体(一五一残基ペプチド)の構造決

定にも成功、hANP が前駆体として合成された後、γ-hANP、ついで α-hANP に転換する生合成経路を解明した（一九八四—一九八五年）（図一）。

一方、α-hANP は血中を循環し、腎、血管、副腎に働いて著明な利尿・ナトリウム利尿活性及び血圧降下作用を示すとともに、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系と拮抗して体液のホメオスタシスを維持するホルモンであることを証明した（図2）。β-hANP の存在は、現在ヒトだけに認められているが、心不全など心臓疾患との病態生理的関連が注目されている。また、いち早く α-hANP の化学合成や、hANP のラジオイムノアッセイの確立にも成功して、基礎・臨床医学関連領域における ANP 研究のための生化学的基礎を築くとともに、その生理的ならびに病態生理的意義解明を目指して共同研究を積極的に推進している。

ヒト以外にもラット、ウサギ、イヌ ANP の構造を決定し、α-hANP が齧歯類以外の哺乳類に共通なホルモンであることも明らかにした。またこれまで未開拓であった非哺乳類（ニワトリ、カエル）ANP の構造をも証明し、ANP の構造—活性相関や進化についての新しい知見を得ている。

同君は極く最近、ANP に類似するが、明らかに ANP とは異なる新しいナトリウム利尿ペプチドをブタの脳から発見して BNP (Brain Natriuretic Peptide) と命名した（一九八八年）。BNP の発見は体液の恒常性の制御が ANP および BNP の両者によって行われることをはじめて示したもので、ナトリウム利尿ホルモン研究の新しい方向を開拓した点で注目される。

松尾君の一連の研究は、生体内情報伝達機構に関する研究の新しい展開の原点となるものであり、その成果は関連

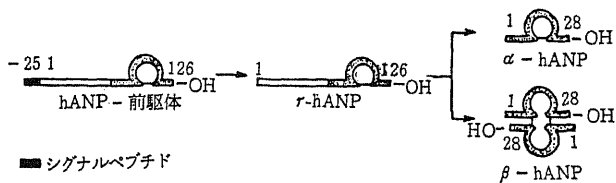


図1 ヒト ANP の生合成模式図

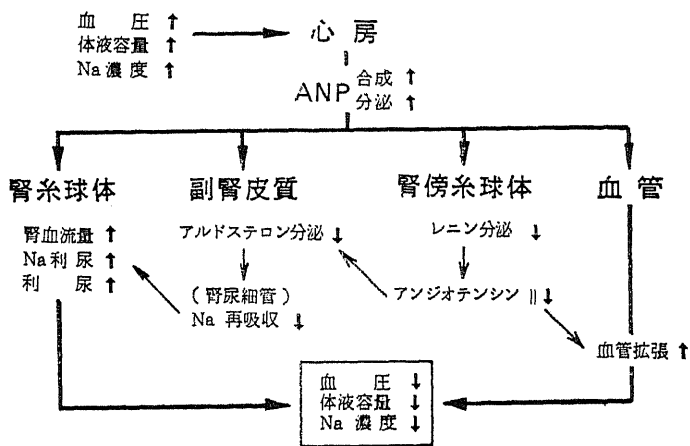


図2 ANP の作用機序

松尾君の同定した生理活性ペプチド

(その1)

(ペプチド名)	(構成アミノ酸数)	(動物種・組織)
心房性ナトリウム利尿ホルモン (ANP) (1984~1988)		
ヒト α -ANP	(28)	ヒト心房
ヒト β -ANP	(56)	ヒト心房
ヒト γ -ANP	(126)	ヒト心房
ヒトANP前駆蛋白質	(151)	ヒト心房
ラット γ -ANP	(126)	ラット心房
ラットANP前駆蛋白質	(152)	ラット心房
イヌANP前駆蛋白質	(149)	イヌ心房
ウサギANP前駆蛋白質	(153)	ウサギ心房
ニワトリ α -ANP	(29)	ニワトリ心臓
ニワトリ γ -ANP	(116)	ニワトリ心臓
ニワトリANP前駆蛋白質	(136)	ニワトリ心臓
カエル α -ANP	(24)	カエル心臓
脳性ナトリウム利尿ホルモン (BNP) (1988~)		
ブタBNP-26	(26)	ブタ脳
ブタBNP-32	(32)	ブタ脳
ブタ γ -BNP ¹	(106)	ブタ心房
ブタBNP前駆蛋白質	(131)	ブタ心房

(その2)

モルヒネ様活性ペプチド (1979~1985)		
α -ネオエンドルフィン	(1 0)	ブタ脳
β -ネオエンドルフィン	(9)	ブタ脳
ダイノルフィン [1-8]	(8)	ブタ脳
アドレノルフィン	(8)	ヒト褐色細胞腫
BAM-12P (ウシ副腎髄質ペプチド-12)	(1 2)	ウシ副腎
BAM-20P (ウシ副腎髄質ペプチド-20)	(2 0)	ウシ副腎
ニューロメジン (平滑筋収縮性脳脊髄ペプチド) (1983~1988)		
ニューロメジン K (サブスタンス-P様)	(1 0)	ブタ脊髄
ニューロメジン L (サブスタンス-P様)	(1 0)	ブタ脊髄
ニューロメジン B (ボンベシン様)	(1 0)	ブタ脊髄
ニューロメジン C (ボンベシン様)	(1 0)	ブタ脊髄
ニューロメジン N (ニューロテンシン様)	(6)	ブタ脊髄
ニューロメジン U	(2 5)	ブタ脊髄
ニワトリ視床下部ホルモン (1982~1986)		
LH-RH-I	(1 0)	ニワトリ視床下部
LH-RH-II	(1 0)	ニワトリ視床下部
ソマトスタチン-28	(2 8)	ニワトリ視床下部
その他 (1983~1988)		
ニワトリ・カルシトニン	(3 2)	ニワトリ總後体
変異ブレアルブミン- [Met-30]		家族性アミロイドーシス患者・腎臓
変異ブレアルブミン- [Ile-33]		家族性アミロイドーシス患者・腎臓

領域に及ぼす影響が極めて大きい。米国科学情報誌「カレント・コンテンツ」の文献引用頻度調査によると、松尾君のヒト α -ANP構造決定の論文（一九八四年）は一九八四—一九八五年の生命科学部門世界一〇〇傑中第二六位に、ヒト β -及び γ -ANP構造決定の論文（一九八五年）は同一一九八五—一九八六年の第七五位にランクされていることでも判る。以上の研究は、主として文部省科学研究特別推進研究費（昭和五十八—六十一年度、昭和六十二—六十三年度）によって行われた。これらの業績により同君はしばしば国際学会の招待講演者として招かれ、また、昭和五十九年武田医学賞（武田科学振興財団）、昭和六十三年朝日賞（朝日新聞社）などを受賞している。

主要な発表論文（原著）目録

I. ANP（心房性ナトリウム利尿ペプチド）

- 1) K. Kangawa and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **118**, 131-139 (1984). Purification and complete amino acid sequence of α -human atrial natriuretic polypeptide (α -hANP).
- 2) S. Oikawa, M. Imai, A. Ueno, S. Tanaka, T. Noguchi, H. Nakazato, K. Kangawa, A. Fukuda and H. Matsuo: *Nature (London)*, **309**, 724-726 (1984). Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human atrial natriuretic polypeptide.
- 3) K. Kangawa, A. Fukuda, N. Minamino and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **119**, 933-940 (1984). Purification and complete amino acid sequence of beta-rat atrial natriuretic polypeptide (β -rANP) of 5,000 daltons.
- 4) K. Kangawa, A. Fukuda, I. Kubota, Y. Hayashi and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*,

- 121, 585-591 (1984). Identification in rat atrial tissue of multiple forms of natriuretic polypeptides of about 3,000 daltons.
- 5) K. Kangawa, Y. Tawaragi, S. Oikawa, A. Mizuno, Y. Sakuragawa, H. Nakazato, A. Fukuda, N. Minamino and H. Matsuo: *Nature (London)*, **312**, 152-155 (1984). Identification of rat γ -atrial natriuretic polypeptide and characterization of the cDNA encoding its precursor.
 - 6) K. Kangawa, A. Fukuda and H. Matsuo: *Nature (London)*, **313**, 397-400 (1985). Structural identification of beta- and gamma-human atrial natriuretic polypeptide (β - and γ -hANP).
 - 7) A. Miyata, K. Kangawa, T. Toshimori, T. Hatoh and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **129**, 248-255 (1985). Molecular forms of atrial natriuretic polypeptides in mammalian tissues and plasma.
 - 8) S. Oikawa, M. Inai, C. Inuzuka, Y. Tawaragi, H. Nakazato and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **132**, 892-899 (1985). Structure of dog and rabbit precursors of atrial natriuretic polypeptides deduced from nucleotide sequence of cloned cDNA.
 - 9) T. Kuribayashi, M. Nakazato, M. Tanaka, M. Nagamine, T. Kurihara, K. Kangawa and H. Matsuo: *New Eng. J. Med.*, **312**, 1456-1457 (1985). Renal effects of human α -atrial natriuretic polypeptide (α -hANP) in man.
 - 10) H. Matsuoka, M. Ishii, T. Sugimoto, Y. Hirata, T. Sugimoto, K. Kangawa and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **127**, 1952-1956 (1985). Inhibition of aldosterone production by α -human atrial natriuretic polypeptide is associated with an increase in cGMP production.
 - 11) T. Sugimoto, M. Ishii, Y. Hirata, H. Matsuoka, T. Sugimoto, A. Miyata, T. Toshimori, H. Masuda,

- K. Kangawa and H. Matsuo: *Life Sci.*, **38**, 1351-1358 (1986). Increased release of atrial natriuretic polypeptides in rats with DOCA-salt hypertension.
- 12) N. Fujio, M. Ohashi, H. Nawata, K. Kato, H. Ibayashi, K. Kangawa and H. Matsuo: *Clin. Endocrinol.*, **25**, 181-187 (1986). alpha-Human atrial natriuretic polypeptide reduces the plasma arginine vasopressin concentration in human subjects.
- 13) Y. Kondo, M. Imai, K. Kangawa and H. Matsuo: *Phlogers Arch.*, **406**, 273-278 (1986). Lack of direct action of α -human atrial natriuretic polypeptide on the *in vitro* perfused segments of Henle's loop isolated from rabbit kidney.
- 14) A. Miyata, T. Toshimori, T. Hashiguchi, K. Kangawa and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **142**, 461-467 (1987). Molecular forms of atrial natriuretic polypeptides circulating in human plasma.
- 15) H. Toshimori, K. Toshimori, C. Oura and H. Matsuo: *Cell Tissue Res.*, **248**, 627-633 (1987). Immunohistochemical study of atrial natriuretic polypeptides in the embryonic, fetal and neonatal rat heart.
- 16) S. Ueda, T. Sudoh, K. Fukuda, K. Kangawa, N. Minamino and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **149**, 1055-1062 (1987). Identification of α -atrial natriuretic peptide [4-28] and [5-28] in porcine brain.
- 17) Y. Nishida, A. Miyata, H. Morita, N. Uemura, K. Kangawa, H. Matsuo and H. Hosomi: *Ann. J. Physiol. F.*, **254**, 540-546 (1988). Effect of rapid sodium load on circulating atrial natriuretic polypeptide.
- 18) K. Akimoto, A. Miyata, K. Kangawa, Y. Koga, K. Hayakawa and H. Matsuo: *J. Clin. Endocrinol.*

- Metab., **67**, 93-97 (1988). Molecular forms of atrial natriuretic peptide in the atrium of patients with cardiovascular disease.
- 19) K. Ito, T. Yukimura, T. Takenaga, K. Yamamoto, K. Kangawa and H. Matsuo: *Am. J. Physiol. G*, **254**, 814-818 (1988). Small intestine as possible source of increased plasma cGMP after administration of α -hANP to dogs.
- 20) H. Toshimori, K. Toshimori, C. Oura, H. Matsuo and S. Matsukura: *Cell Tissue Res*, **253**, 47-53 (1988). Immunohistochemical identification of Purkinje fibers and transitional cells in a terminal portion of the impulse-conducting system of porcine heart.

参考文献

Ⅱ' ANP (鹽基トペプチド利尿ペプチド)

- 1) T. Sudoh, K. Kangawa, N. Minamino and H. Matsuo: *Nature (London)*, **332**, 78-81 (1988). A new natriuretic peptide in porcine brain.
- 2) T. Sudoh, N. Minamino, K. Kangawa and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **155**, 726-732 (1988). Brain natriuretic peptide-32: N-Terminal six amino acid extended form of brain natriuretic peptide identified in porcine brain.
- 3) S. Ueda, N. Minamino, T. Sudoh, K. Kangawa and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **155**, 733-739 (1988). Regional distribution of immunoreactive brain natriuretic peptide in porcine brain and spinal cord.

- 4) N. Minamino, M. Aburaya, S. Ueda, K. Kangawa and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **155**, 740-746 (1988). The presence of brain natriuretic peptide of 12,000 daltons in porcine heart.
- 5) A. Miyata, N. Minamino, K. Kangawa and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **155**, 1330-1337 (1988). Identification of a 29-amino acid natriuretic peptide in chicken heart.
- 6) J. Sakata, K. Kangawa and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **155**, 1338-1345 (1988). Identification of new atrial natriuretic peptides in frog heart.
- 7) K. Maekawa, T. Sudoh, M. Furusawa, N. Minamino, K. Kangawa, S. Nakanishi and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press. Molecular cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for porcine brain natriuretic peptide.
- 8) N. Minamino, K. Kangawa and H. Matsuo: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press. Isolation and identification of a high molecular weight brain natriuretic peptide in porcine cardiac atrium.
- 9) H. Itoh, K. Nakao, T. Yamada, G. Shirakami, K. Kangawa, N. Minamino, H. Matsuo and H. Imura: *Eur. J. Pharmacol.*, **150**, 193-196 (1988). Antidiuretic action of a novel peptide, 'brain natriuretic peptide', in rats.
- 10) G. Shirakami, K. Nakao, T. Yamada, H. Itoh, K. Mori, K. Kangawa, N. Minamino, H. Matsuo and H. Imura: *Neurosci. Lett.*, **91**, 77-83 (1988). Inhibitory effect of brain natriuretic peptide on central angiotensin II-stimulated pressor response in conscious rats.