

氏 名 (本籍) と 戸 村 裕 一

学位の種類 博 士 (薬 学)

学位記番号 薬 第 404 号

学位授与年月日 平成 11 年 6 月 16 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学位論文題目 腎機能調節に対する心房性ナトリウム利尿ペプチド
の影響

論文審査委員 (主 査)
教授 佐 藤 進 教授 大 内 和 雄
教授 大 泉 康

論文内容要旨

腎は体液の浄化機能のみならず、電解質の排泄およびレニン遊離によるレニン-アンジオテンシン系の賦活化などを通して細胞外液量と末梢血管抵抗を調節し、血液循環の恒常性維持に重要な役割を持つ器官である。腎機能調節の破綻が高血圧や不整脈等の循環器疾患を惹起し、また心不全を増悪することは良く知られている。

腎交感神経活性の上昇は腎血管床を収縮させ、腎血流量および糸球体ろ過量の減少を引き起こす。同時に、尿細管におけるナトリウム再吸収を促進し、尿量および尿中ナトリウム排泄量の減少をもたらす。また、交感神経系の亢進や腎灌流圧の低下は傍糸球体細胞からのレニン遊離を促進し、その結果アンジオテンシン II (Ang II) が産生される。Ang II は血管収縮作用により腎血流量を減少させ、また、尿細管への直接作用およびアルドステロン分泌の促進を介して尿細管でのナトリウムの再吸収を増加させる。このようにレニン-アンジオテンシン系の変動も腎機能に大きな影響を与える。よって、腎機能調節を論じる上で交感神経系およびレニン-アンジオテンシン系の関与を考察することは非常に重要である。

心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) は28個のアミノ酸からなるリング状のペプチドであり、血管拡張作用と強力なナトリウム利尿作用を有する。ANP は B-type ナトリウム利尿ペプチド (BNP)、C-type ナトリウム利尿ペプチド (CNP) とともにナトリウム利尿ペプチドファミリーを形成している。これらのペプチドの受容体は ANP-A, ANP-B, C の三種が知られている。ANP-A および ANP-B 受容体は膜結合型グアニル酸シクラーゼと共役し、その活性化により細胞内サイクリック GMP (cGMP) レベルが上昇する。一方、C 受容体は情報伝達系を持たないことからクリアランス受容体である可能性が示唆されている。ANP と BNP はともに ANP-A および C 受容体に、CNP は ANP-B および C 受容体に強い親和性を持つ。ANP は心臓の前負荷増大に応じて心房筋から分泌され、腎に作用して腎血行動態、糸球体ろ過能および尿細管再吸収能を変化させ、体液量の減少により心負荷を軽減する。すなわち、ANP を介した Cardiorenal mechanism が心血行動態の制御に寄与していると考えられている。心不全患者において、病態の重症度に相関した血中 ANP 濃度の上昇が見られることは、上記 mechanism の代償機構としての関与を示唆している。前述の如く、交感神経系およびレニン-アンジオテンシン系は体液量の保持に働き、前負荷を上昇させる。よって、循環調節における ANP の生理的な役割を明らかにするには、これらの神経性・体液性腎機能調節因子との関係について解析することが不可欠である。

上記の観点から、本研究では、麻酔下イヌ生体位腎において腎機能調節に対する ANP の影響について検討した。第一章では血管作動物質による腎血管収縮反応に対する ANP の影響を、第二章では神経性腎機能調節に対する ANP の作用を、第三章では体液性腎機能調節に対する ANP の作用を検討した。

本研究において得られた知見を以下に示す。

第一章：腎血管収縮に対する ANP の影響

腎血行動態制御に対する ANP の修飾を調べる目的で、Ang II とノルエピネフリン (NE) の腎血管収

縮作用に及ぼす ANP の影響について検討した。ANP 10および50 ng/kg/min の腎動脈内投与は腎血流量の増加を引き起こさなかったが、Ang II および NE の腎血流量減少反応を用量依存的に抑制した。すなわち、ANP は交感神経系およびレニン-アンジオテンシン系の亢進による腎血管の収縮を抑制することが示唆された。一方、cGMP 産生を刺激するニトロプルシドナトリウムの投与は Ang II の腎血流量減少反応をわずかにしか抑制せず、NE の腎血流量減少反応には影響しなかった。さらに cGMP 誘導体の投与は血管収縮物質の反応に影響しなかった。また、NE の腎血流量減少反応に対する抑制効果はカルシウムチャネル阻害薬ニフェジピンによって影響されず、カルシウムチャネル開口薬 Bay K8644による腎血流量減少反応に対する ANP の抑制作用が弱いことから、腎血管床における ANP の作用には、cGMP 濃度の上昇や電位依存性カルシウムチャネルの阻害に依存しない機序が関与すると考えられた。

第二章：腎交感神経系による腎機能制御に対する ANP の影響

腎神経活性上昇時の伝達物質放出と腎血管収縮に対する ANP の修飾を検討した。ANP 10および50 ng/kg/min の腎動脈内投与は、腎神経電気刺激による腎血流量減少反応を用量依存的に抑制した。しかし、この時腎神経電気刺激により腎静脈血中へ遊離される NE 量には影響が見られなかった。また、ANP はアドレナリン α_1 受容体刺激薬メトキサミンによる腎血流量減少反応も抑制した。よって、前章の外因性 NE による反応への影響と併せ、ANP は交感神経伝達に影響を与えずに、シナプス後膜側に作用して交感神経性腎血行動態制御を抑制すると考えられた（第一節）。

腎交感神経活性の上昇は、腎血行動態や糸球体ろ過能を変化させない範囲でも尿細管ナトリウム再吸収とレニン遊離を亢進する。そこで低頻度の腎神経電気刺激によるレニン遊離および尿生成変化に対する ANP の影響を検討した。1 Hz の腎神経電気刺激は糸球体ろ過能を変化させずに尿量、尿中ナトリウム排泄量および尿中ナトリウム排泄率を減少させ、腎からのレニン遊離量を増大させた。ANP 10 ng/kg/min の腎動脈内持続投与は尿中ナトリウム排泄量を著しく増加させたが、腎血流量および糸球体ろ過能には変化を与えなかった。ANP 投与前、腎神経電気刺激によるレニン遊離量の増加は ANP 投与前に比して減弱した。しかし、腎神経電気刺激による NE 遊離量の増加と尿中ナトリウム排泄量の減少は、ANP 投与前と等しかった。すなわち、ANP は腎交感神経活性化によるナトリウム再吸収亢進には影響を与えずにレニン遊離を抑制することが示された（第二節）。

腎神経電気刺激によるレニン遊離促進にはアドレナリン β 受容体が介在するが、アドレナリン α 受容体の刺激もレニン遊離を亢進するといわれている。そこで、ANP のレニン遊離抑制作用がアドレナリン β 受容体を介した機構に限定されるか否かを確認するため、アドレナリン α 受容体刺激薬フェニレフリンによるレニン遊離に対する ANP の影響を検討した。フェニレフリン 50 ng/kg/min の腎動脈内投与は、腎血行動態を変化させることなくレニン遊離量を増加させた。ANP 10 ng/kg/min の腎動脈内持続投与は、フェニレフリンによるレニン遊離反応を抑制した。よって ANP はアドレナリン α 受容体を介したレニン遊離機構をも抑制することが示された（第三節）。

第三章：体液性因子による腎機能調節に対する ANP の影響

これまでの検討より ANP はレニン遊離機構を抑制し、間接的にレニン-アンジオテンシン系を抑制すること、また Ang II による腎血管収縮反応を抑制することが明らかとなった。そこで抗利尿性因子としての Ang II の作用に対する ANP の影響についても検討を加えた。Ang II 持続投与時の尿生成の変化を ANP 投与腎と対側コントロール腎において比較した。Ang II 5 ng/kg/min の静脈内持続投与は対側コントロール腎において尿量、尿中ナトリウム排泄量、糸球体ろ過量、尿中ナトリウム排泄率の減少を引き起こした。ANP 10 ng/kg/min 投与腎では糸球体ろ過量の減少が見られず、コントロール腎に比べ尿中ナトリウム排泄量の減少は軽度であった。この時、尿中ナトリウム排泄率の減少がコントロール腎と同程度であり、ろ過率が増加していたことから、Ang II に対する ANP の尿中ナトリウム排泄量減少抑制作用は尿細管再吸収での拮抗ではなく、糸球体ろ過における拮抗に起因すると考えられた（第一節）。

内皮由来の血管収縮性ペプチドであるエンドセリン (ET) も腎機能制御に大きく関与するといわれている。そこで腎における ET の作用ならびにそれに対する ANP の影響を検討した。ET の処置前後で ANP を投与し、腎機能の変化を比較した。ET の腎動脈内持続投与 (2 ng/kg/min) は腎血流量、糸球体ろ過量、尿量および尿中ナトリウム排泄量を減少させた。ナトリウム排泄率も減少したことから、ET は糸球体ろ過の低下と尿細管再吸収の亢進を介して抗ナトリウム利尿を引き起こすことが示唆された。ET 存在下に ANP (10 ng/kg/min) は水・ナトリウム排泄を増加させたが、その程度は ET 非存在下に比べ小さく、また腎血流量と糸球体ろ過量のいずれにも影響を与えなかった。一方、ニフェジピンは ET の存在・非存在下で同程度に利尿反応を惹起した。すなわち、ANP は ET による血行動態および尿生成の低下に拮抗せず、逆に ANP の作用が ET により抑制されることが示された（第二節）。

第四章：腎血行動態および尿生成に対する ANP-B 受容体を介した作用

ANP の作用発現には ANP-A 受容体が介在するが、ANP-B 受容体の関与と役割は不明である。ナトリウム利尿ペプチドファミリーのなかでも CNP は ANP-B 受容体により選択的に結合すると報告されている。そこで CNP の尿生成に対する作用および Ang II と NE による腎血流量減少反応に対する影響を検討した。CNP 50 ng/kg/min の腎動脈内持続投与は尿量を上昇させたが、尿中ナトリウム排泄量の増加はわずかであり、いずれも ANP 10 ng/kg/min 投与時の反応よりも軽度であった。また Ang II による腎血流量減少反応は CNP によってわずかに抑制されたが、NE の腎血流量減少反応はまったく影響を受けなかった。CNP は ANP とは異なりナトリウム利尿作用は弱いこと、薬理学的な用量域においても血管収縮物質による腎血行動態制御に対して影響しないことが示された。したがって、ANP による腎機能調節には ANP-A 受容体が優位であると考えられた。

以上の成績から、腎機能調節における ANP の役割を次のように要約できる。すなわち、ANP はそれ自体で腎血行動態に影響を与えず、腎交感神経系およびレニン-アンジオテンシン系による腎血管収縮作用を抑制することにより、腎血流量、糸球体ろ過量の維持に寄与する。また、ANP はレニン遊離を減弱さ

せて、間接的にレニン-アンジオテンシン系の活性を低下させる。一方、尿細管機構において、ANPはこれらの調節系と相互作用せずに再吸収を抑制し、水・ナトリウム排泄を促進する。しかし、ANPによる尿生成の調節はエンドセリンにより大きく影響される。ANPは、直接的な利尿作用による体液量の調節に加え、交感神経系およびレニン-アンジオテンシン系による血行動態の変化を抑制して腎機能を維持することにより、循環恒常性の維持を司ると考えられる。

審査結果の要旨

心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) は、その血管拡張作用ならびに利尿作用により急性心不全に臨床適応されている生体内生理活性ポリペプチドである。本研究は、ANP が直接的な利尿作用による体液量の調節に加え、交感神経系およびレニン-アンジオテンシン系による血行動態の変化の抑制を通じて腎機能を維持し、生体の恒常性の維持を図ることを示唆したものである。提示された新知見は以下のとおりである。

1) 体液性血圧調節因子であるアンジオテンシン II (A II) あるいはノルエピネフリン (NE) の腎血管収縮作用に対する ANP の影響を検討した結果、ANP は交感神経系およびレニン-アンジオテンシン系の亢進による腎血管の収縮を抑制することが示唆された。

2) cGMP 産生を刺激する薬物によって A II や NE の腎血流量減少反応が影響されなかったこと、また、NE の腎血流量減少反応に対する抑制効果はカルシウム (Ca) 拮抗薬によって影響されず、Ca チャネル開口薬 Bay K8644による腎血流量減少反応に対する ANP の抑制作用が弱いことから、腎血管床における ANP の作用について、cGMP 濃度の上昇や電位依存性 Ca チャネルの阻害に依存しない機序の存在を示唆した。

3) 腎神経活性上昇時の伝達物質放出と腎血管収縮に対する ANP の修飾の検討を通じ、前章で示した外因性 NE による反応への影響と併せ、ANP は交感神経伝達に影響を与えずにシナプス後膜側に作用して交感神経性腎血行動態制御を抑制することを明らかにした。また、ANP は腎交感神経活性化による Na 再吸収亢進には影響を与えずにレニン遊離を抑制することを示した。

4) 抗利尿因子としての A II の作用に対する ANP の影響についても検討し、A II の尿中 Na 排泄量減少反応に対する ANP の抑制は、尿細管再吸収での拮抗ではなく糸球体濾過における拮抗に起因することを見出した。加えて、ANP は内皮由来の血管収縮性ペプチドエンドセリン (ET) による血行動態及び尿生成の低下に拮抗せず、逆に ANP の作用が ET により抑制されることを明らかにした。

5) ANP-B 受容体刺激作用を有するナトリウム利尿ペプチド CNP の尿生成に対する作用ならびに A II および NE による腎血流量減少反応に対する影響を検討した。CNP のナトリウム利尿作用は非常に弱いこと、また血管収縮物質による腎血行動態制御に対して影響しないこと、ANP による腎機能調節には ANP-A 受容体の作用が優位であることを示した。

以上、本研究で得られた内容は、血圧や体液量等の循環調節に大きく関わっている腎の交感神経系やレニン-アンジオテンシン系に対する生体内ポリペプチド ANP の生理的な役割を明らかにした点で貴重であり、循環薬理学研究分野において有用な情報を提供するものである。

よって、本論文は博士 (薬学) の学位論文として合格と認める。