

アデノシンA1受容体遮断の腎微小循環と尿細管糸球体フィードバック機構に及ぼす影響

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/2297/9201

アデノシンA1 受容体遮断の腎微小循環と尿細管糸球体 フィードバック機構に及ぼす影響

金沢大学医学部医学科内科学第一講座 (主任: 小林健一教授)

韓 文 華

麻酔下の Sprague-Dawley 系ラットを用いて腎クリアランスおよび微小穿孔実験を行い、選択的アデノシン A1 受容体拮抗薬、FK838 の糸球体微小循環および尿細管糸球体フィードバック (tubuloglomerular feedback, TGF) 機構に及ぼす影響を検討した。1あるいは10 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ 体重の FK838 を持続静注すると、尿量はそれぞれ2.2, 3.8倍、尿中 Na 排泄率はそれぞれ25, 59倍に増加した。高用量の FK838 投与初期に軽度の糸球体濾過値の増加を認めた以外、平均血圧ならびに腎血行動態に明らかな変化は認められなかった。TGF 機構の反応性は、ヘンレ係蹄をリンゲル液で順行性に微小灌流した際の、近位尿細管起始部での尿細管液流量 (early proximal flow rate, EPFR) の変化率で評価した。ヘンレ係蹄の灌流速度を0から40 nl/min に増加すると、EPFR は非灌流時の 31.5 ± 1.7 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) より 17.1 ± 1.8 $\text{nl}/\text{min}/\text{g}$ 腎重量と $46.8 \pm 3.2\%$ 減少し、TGF 現象が認められた。係蹄灌流による EPFR の変化率は、低用量あるいは高用量の FK838 持続静注時には、それぞれ 31.9 ± 3.7 , $9.8 \pm 5.2\%$ と明らかに小となり、TGF 反応は抑制された。プロベネシド (100 mg/kg 体重+30 $\text{mg}/\text{hr}/\text{kg}$ 体重、静注) 処置後に高用量の FK838 を持続静注しても、係蹄灌流による EPFR の変化率は $6.1 \pm 4.8\%$ と、FK838 単独静注時と同程度に TGF 反応は抑制された。この際、FK838 の血漿中濃度は2.8ないし3.4倍に上昇し、水・Na 利尿は増強されたが、FK838 の尿中排泄量に変化はなかった。FK838 をリンゲル液に 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} M となるように加えて、ヘンレ係蹄を40 nl/min で灌流した際の EPFR の変化率は、それぞれ 34.8 ± 3.5 , 21.8 ± 4.6 , $6.8 \pm 4.5\%$ であり、FK838 の濃度に依存した TGF 反応の抑制がみられた。以上より、FK838 は尿細管直接作用により強力な水・Na 利尿作用を発揮する。血管内ならびに尿細管腔内に投与された FK838 は、傍糸球体装置へ移行し、密集斑での NaCl シグナル感知の遮断および内因性アデノシンの輸入細動脈収縮作用の遮断により TGF 機構を抑制する。内因性アデノシンは、A1 受容体を介して糸球体微小循環ならびに尿細管での Na 再吸収の調節に関与している。

Key words adenosine, glomerular filtration rate, juxtaglomerular apparatus, natriuresis, rat

アデノシンは、ATP の代謝過程で生じるオータコイドである。アデノシンは、筋収縮や尿細管イオン輸送などの細胞活動に伴う ATP 消費時に産生されるのみならず、虚血や低酸素状態に陥った組織ではその産生は亢進し、血管拡張に作用することから、組織における酸素需要と供給との均衡の維持に働くと考えられている。腎血管性高血圧¹⁾や虚血性急性腎不全²⁾では、腎で産生されたアデノシンが腎血行動態や尿細管の水・電解質輸送に影響を及ぼし、病態を修飾するとされている。アデノシンは細胞膜に存在する特異的アデノシン受容体に結合し、作用を発揮する。アデノシン受容体はアデニル酸シクラーゼに対する抑制あるいは刺激作用により、A1 ならびに A2 受容体に分類される³⁾。外因性にアデノシンを投与すると、全身の血管は拡張するが、腎では逆に血管収縮が生じる。したがって、腎血管床においては、両アデノシン受容体の分布密度が他の血管床とは異なることが示唆されている⁴⁾。近年、特異的なアデノシン受容体拮抗薬あるいは拮抗薬が開発され、各臓器におけるア

デノシンの作用を受容体の種類別に明らかにすることが可能となってきた。

尿細管糸球体フィードバック (tubuloglomerular feedback, TGF) は、個々のネフロンレベルにおいて、ヘンレ係蹄の尿細管液流量の変化に応じて糸球体濾過を自己調節する腎固有の機構である⁵⁾。ヘンレ係蹄への尿細管液流量が増加すると、これが係蹄上行脚の終末部に位置する密集斑細胞により感知されて輸入細動脈が収縮し、ネフロンの糸球体濾過が減少する⁶⁾。この TGF 機構は、尿細管での再吸収に見合うように糸球体濾過を微妙に調節し、個体の体液量の恒常性の維持に寄与している。アデノシンは、この TGF 機構におけるメディエーターないしはモジュレーターとしても注目されている⁷⁾。

本研究の目的は、新しく開発された選択的 A1 受容体拮抗薬、FK838 を用いて、A1 受容体を遮断した際の、腎血行動態および腎の水・電解質排泄への影響、ならびに TGF 機構に対する影響について検討し、腎における A1 受容体の役割を解明

平成7年12月25日受付, 平成8年2月6日受理

Abbreviations: A_K , potassium concentration in arterial plasma; A_{Na} , sodium concentration in arterial plasma; A_{PF} , polyfructosan concentration in arterial plasma; AVP, arginine vasopressin; BW, body weight; EPFR, early proximal flow rate; FE_{Na} , fractional excretion of sodium; FE_K , fractional excretion of potassium; FF, filtration fraction; GFR, glomerular filtration rate; KW, kidney weight; JGA, juxtaglomerular

することである。

材料および方法

1. 実験動物およびその手術法

標準飼料 (Na, 0.1 mEq/g; K, 0.24 mEq/g を含む) で飼育した体重220から330gの雄性 Sprague-Dawley 系ラット(日本チャールズリバー, 厚木)を用いた。トラパナル(Trapanal[®], Byk Gulden, Konstanz, Germany) 110 mg/kg 体重の腹腔内投与にて麻酔し, 実験中は必要に応じて直腸より追加投与した。麻酔直後より自動温度調節器付き手術台にラットを固定し, 直腸温を37.5°Cに保った。気管切開部に挿管後, 右外頸静脈に挿入したポリエチレンカテーテル PE-50 (Clay Adams, Parsippany, USA) を通じて, ポリフラクトサン (Inutest[®], Laevosan, Linz, Austria) を10%に溶解した生理食塩水を 0.45 ml/hr/100 g 体重の一定速度で持続注入した。右大腿動脈には血圧測定と採血を行うためのカテーテル (PE-50) を挿入した。血圧は電気血圧計 MP-4 (日本光電, 東京) にて測定し, 平均血圧 (mean blood pressure, MBP) で示した。左側腹部切開にて露出した左腎を腎周囲の脂肪組織より遊離し, プラスチック製腎カップの中に小さな綿球を入れて固定し, 腎盂内へ採尿用カテーテル PE-10 (Clay Adams) を挿入した。腎の表面には37.5°Cに加温した流動パラフィンを滴下した。また, カテーテル (PE-50) に25G 針を連結し, その先端を腎静脈起始部に穿刺, 留置し, これより適宜腎静脈血を採取した。手術操作終了1時間後より腎微小穿刺実験ならびに腎クリアランス実験を開始した。

II. 実験1. 静脈内に投与した FK838 の TGF に対する効果

1. ヘンレ係蹄微小灌流実験

近位尿細管に穿刺したピペットより, 微量の 0.1% FD & C グリーン (FD & C Green, Keystone, Chicago, USA) 溶液を注入し, その流れを観察することにより, 同一ネフロンに属する近位尿細管終末部を識別した。ついで, 近位尿細管終末部に先端の外径が11~12 μmの微小灌流用のピペットを穿刺し, 微量注入ポンプ (K. Effenberger, Physiology Institute, Munich, Germany) を用いて, ヘンレ係蹄をリンゲル液により0または40 nl/min の速度で微小灌流した。灌流開始後あるいは灌流速度変更後より少なくとも2分間待機し, 同一ネフロンの近位尿細管の穿刺しうる最も近位部で3分間尿細管液を採取した。この近位尿細管起始部における流量 (early proximal flow rate, EPFR) は, 単一ネフロン糸球体濾過値にはほぼ等しい⁹⁾。採取用ピペットには, ズダンブラックにて染色したミネラルオイルを満たした先端の外径が10~12 μm のものを用いた。尿細管液の容量は内径一定のガラス毛细管 (Microcaps[®], Drummond Scientific Co., Broomall, USA) を用いて測定した。なお, 近位尿細管の近位部と終末部との間の尿細管腔内には融点44°Cのパラフィンをパラフィン微小注入装置 (田畑繁之技官, 金沢大学医学部工作係) により注入し, 灌流液の逆流を防止した。

係蹄灌流による EPFR の変化率を係蹄非灌流時の EPFR (EPFR₀) と 40 nl/min 灌流時の EPFR (EPFR₄₀) とから $[\% \Delta EPFR = (EPFR_{40} - EPFR_0) / EPFR_0]$ として求め, これによ

り TGF の反応性を評価した。

2. 係蹄灌流時の EPFR に対する FK838 の効果

右外頸静脈より持続注入する10%ポリフラクトサン加生理食塩水に FK838 (藤沢薬品, 大阪) を溶解し, FK838 の注入速度が1あるいは10 μg/min/kg 体重となるようにして 0.45 ml/hr/100 g 体重で持続注入した。FK838 注入開始より30分間待機した後, EPFR の測定を開始した。係蹄灌流による EPFR の変化に対する FK838 静注の効果, 10%ポリフラクトサン加生理食塩水注入時を対照として比較した。

3. 係蹄灌流時の EPFR に対する, FK838 とプロベネシド併用の効果

FK838 の効果に対するプロベネシド (probenecid, Sigma, St. Louis, USA) の影響を検討した。プロベネシド投与には, 塩酸溶液で pH を7.6に調製した 4 g/dl の水溶液を用い, 100 mg/kg 体重で1回静注した後, 30 mg/hr/kg 体重で持続静注した。その後プロベネシドを重ねて, FK838 を 10 μg/min/kg 体重で持続静注し, 30分間待機した後, EPFR の測定を開始した。

III. 実験2. 尿細管腔内に投与した FK838 の TGF に対する効果

FK838 を 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-6} M の濃度に溶解したリンゲル溶液を作成した。これを灌流液として用い, II. 1. で述べた方法により, 近位尿細管の終末部より 40 nl/min の速度でヘンレ係蹄を順行性に微小灌流しつつ, EPFR を測定した。

IV. 実験3. 腎クリアランス実験

1. FK838 の腎血行動態および水・電解質排泄に及ぼす影響
FK838 を1あるいは10 μg/min/kg 体重でそれぞれ120分間, 右外頸静脈より持続静注した。FK838 投与前2回, 投与中に4回それぞれ30分毎の腎クリアランス測定を行い, 腎血行動態の変化および水, Na およびKの尿中排泄の変化をみた。

30分毎に動脈血, 腎静脈血および尿を採取し, 尿量 (urine volume, UV), 動脈血漿および尿の Na 濃度 (sodium concentration in arterial plasma and urine, A_{Na} and U_{Na}) および K 濃度 (potassium concentration in arterial plasma and urine, A_K and U_K), 動脈血漿, 腎静脈血漿および尿のポリフラクトサン濃度 (polyfructosan concentration in arterial plasma, renal vein plasma, and urine, A_{PF}, V_{PF}, and U_{PF}), 動脈血ヘマトクリット値 (hematocrit, Ht) を測定した。さらにこれらより以下の式に従い, 糸球体濾過値 (glomerular filtration rate, GFR), 腎血漿流量 (renal plasma flow, RPF), 腎血流量 (renal blood flow, RBF), 濾過率 (filtration fraction, FF), 腎血管抵抗 (renal vascular resistance, RVR), 尿中 Na および K 排泄量 (urinary excretion of sodium and potassium, U_{Na}V and U_KV), Na および K 排泄率 (fractional excretion of sodium and potassium, FE_{Na} and FE_K) を算出し, 腎重量 (kidney weight, KW) あたりで示した。GFR (ml/min/g KW) = $U_{PF} (mg/dl) \cdot A_{PF} (mg/dl)^{-1} \cdot UV (\mu l/min/g KW) \cdot 10^{-3}$, RPF (ml/min/g KW) = $A_{PF} \cdot \{A_{PF} - V_{PF} (mg/dl)\}^{-1} \cdot GFR$, RBF (ml/min/g KW) = $RPF \cdot (1 - Ht)^{-1}$, FF = $GFR \cdot RPF^{-1}$, RVR (mmHg·min/

apparatus; MBP, mean blood pressure; RBF, renal blood flow; RPF, renal plasma flow; RVR, renal vascular resistance; TGF, tubuloglomerular feedback; U_K, potassium concentration in urine; U_KV, urinary excretion of potassium; U_{Na}, sodium concentration in urine; U_{Na}V, urinary excretion of sodium; U_{PF}, polyfructosan concentration in urine; UV, urine volume; V_{PF}, polyfructosan concentration in renal vein

ml/g KW) = MBP (mmHg) · RBF⁻¹, U_{Na}V (nEq/min/g KW) = U_{Na} (mEq/l) · UV, U_KV (nEq/min/g KW) = U_K (mEq/l) · UV, FE_{Na} (%) = U_{Na} · A_{Na} (mEq/l)⁻¹ · A_{PP} · U_{PP}⁻¹ · 100, FE_K (%) = U_K · A_K (mEq/l)⁻¹ · U_{PP} · A_{PP}⁻¹ · 100

血漿および尿のポリフラクトサン濃度はアントロン法⁹⁾により, Na, K 濃度は炎光光度計 Model-775 (日立, 東京) を用いて, いずれも各サンプルにつき 2 回ずつ測定した。

2. FK838 の血漿および尿中濃度の測定

FK838 を外頸静脈より 10 μg/min/kg 体重で持続静注し, 静注開始直後より 60 分間の採尿を連続 3 回行った。大腿動脈よりの血液採取は, FK838 静注開始直前, ならびに静注開始後に 60 分毎 3 回, 計 4 回行った。これを対照群として, II. 3. の係蹄灌流実験と同量のプロベネシドを静注し, 30 分間待機した後に FK838 を 10 μg/min/kg 体重で持続静注しながら同一の時間経過のクリアランス実験を行なった (プロベネシド併用群)。両群の血漿ならびに尿の FK838 濃度を高速液体クロマトグラフィにて測定し, 比較検討した。

V. 実験データの推計処理

成績は平均値 ± 標準誤差で示した。得られたデータの 2 群間の検定は Student の t-検定法で検定した。3 群以上の検討には分散分析 (ANOVA) 後に Fisher の PLSD 法による多重比較を用い, いずれも p 値が 0.05 未満の場合に有意差ありと判定した。

成 績

1. 実験 1. 静脈内に投与した FK838 の TGF に対する効果

1. 係蹄灌流時の EPFR の変化 (図 1)

図 1 には, ヘンレ係蹄のリンゲル液灌流速度を 0 から 40 nl/min に変化させた際の EPFR の変化をネフロン毎に示した。FK838 を含まないポリフラクトサン加生理食塩水を注入した対照群では, EPFR は非灌流時の 31.5 ± 1.7 nl/min/g KW から係蹄灌流により 17.1 ± 1.8 nl/min/g KW へと有意に減少した。FK838 を 1 μg/min/kg 体重で静脈内に持続静注した FK838 低

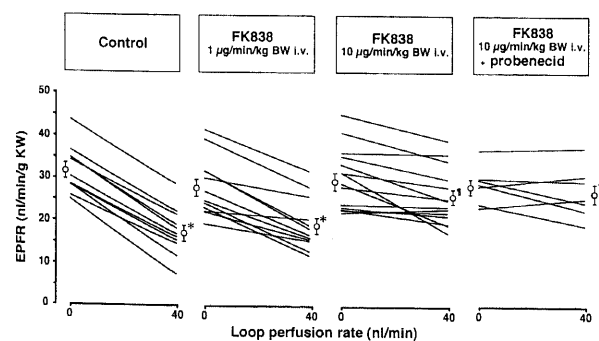


Fig. 1. Early proximal flow rate (EPFR) measured during orthograde loop perfusion with Ringer's solution at rates of 0 and 40 nl/min before (Control) and during intravenous (i.v.) infusion of FK838 (1 or 10 μg/min/kg BW) without or with probenecid pretreatment (100 mg/kg BW + 30 mg/hr/kg BW i.v.). Values are $\bar{x} \pm \text{SEM}$. * P < 0.05 compared with values at zero loop perfusion where paired t-test was applied. †, P < 0.05 compared with corresponding values measured during the control period where one-way ANOVA followed by Fisher's PLSD multiple comparison was applied. BW, body weight; KW, kidney weight.

用量群でも, EPFR は非灌流時の 27.6 ± 2.0 nl/min/g KW から 18.9 ± 1.9 nl/min/g KW へと有意に減少した。FK838 を 10 μg/min/kg 体重で持続静注した FK838 高用量群では, EPFR は非灌流時の 29.3 ± 2.0 nl/min/g KW から 25.9 ± 1.7 nl/min/g KW と, ヘンレ係蹄灌流による EPFR の有意の減少はみられなくなり, 係蹄灌流時の EPFR は対照群の灌流時 EPFR に比し明らかに大となった。プロベネシドの持続静注に重ねて FK838 を 10 μg/min/kg 体重で持続静注したプロベネシド FK 併用群では, EPFR は非灌流時に 28.3 ± 1.5 nl/min/g KW, 係蹄灌流時に 26.6 ± 2.0 nl/min/g KW と変化はなく, 係蹄灌流時の EPFR は対照群に比し明らかに大であった。係蹄非灌流時の EPFR には, 対照群, FK838 低用量群, 高用量群, プロベネシド FK 併用群の間に有意の差はみられなかった。

2. 係蹄灌流時の EPFR の変化率 (%ΔEPFR) (図 2)

40 nl/min でヘンレ係蹄を灌流した際の EPFR の変化率は, 対照群の 46.8 ± 3.2% に対し, FK838 低用量群では 31.9 ± 3.7% と有意に小であった。FK838 高用量群ならびにプロベネシド FK 併用群では, EPFR の変化率はそれぞれ 9.8 ± 5.2%, 6.0 ± 4.8% とさらに小となった。なお, EPFR の変化率にはプロベネシド FK 併用群と FK838 高用量群とで差はなかった。

II. 実験 2. 尿細管腔内に灌流した FK838 の TGF に対する効果

1. 係蹄灌流時の EPFR の変化 (図 3)

10⁻⁷ M の FK838 を含むリンゲル液で係蹄を灌流すると, EPFR は非灌流時の 27.6 ± 1.1 nl/min/g KW から 17.8 ± 0.8 nl/min/g KW へ, 10⁻⁶ M の FK838 灌流時には 29.9 ± 1.1 nl/min/g KW から 23.4 ± 1.7 nl/min/g KW へと, それぞれ有意に減少した。10⁻⁵ M の FK838 の灌流では, EPFR は 27.2 ± 1.0 nl/min/g KW から 25.3 ± 1.4 nl/min/g KW と有意の減少がみられなくなった。係蹄非灌流時の EPFR には, 実験 1 で示した対照群と各濃度の FK838 灌流群の間に有意の差はみられなかった。係蹄灌流時の EPFR は, 10⁻⁶, 10⁻⁵ M の FK838 灌流

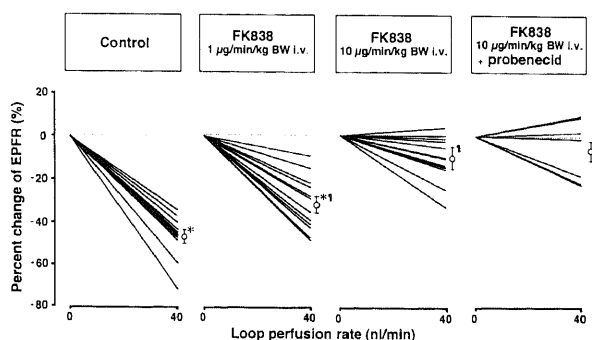


Fig. 2. Percent change of early proximal flow rate (EPFR) measured during orthograde loop perfusion with Ringer's solution at rates of 0 and 40 nl/min before (Control) and during infusion of FK838 (1 or 10 μg/min/kg BW i.v.) without or with probenecid pretreatment (100 mg/kg BW + 30 mg/hr/kg BW i.v.). Values are $\bar{x} \pm \text{SEM}$. *, P < 0.05 compared with values at zero loop perfusion paired t-test was applied. †, P < 0.05 compared with corresponding values measured during the control period where one-way ANOVA followed by Fisher's PLSD multiple comparison was applied. BW, body weight.

群において、いずれも対照群に比し有意に大であった。

2. 係蹄灌流時の EPFR の変化率 (% Δ EPFR) (図4)

10^{-7} M の FK838 で係蹄を灌流した際の EPFR の変化率は $34.8 \pm 3.5\%$, 10^{-6} M の FK838 では $21.8 \pm 4.6\%$ と、それぞれ有意の減少がみられた。ただし、 10^{-5} M の FK838 灌流時では、 $6.8 \pm 4.5\%$ と有意の変化はみられなくなった。EPFR の変化率は、実験1で示した対照群の $46.8 \pm 3.2\%$ に比し、各濃度の FK838 灌流時においてそれぞれ有意に小であった。

III. 実験3. 腎クリアランスの成績

1. FK838 の腎血行動態に及ぼす影響 (図5)

FK838 低用量群では、MBP が FK838 投与前の 113 ± 2 mmHg から E3 期に 105 ± 3 mmHg へ、RVR が投与前の 18.3 ± 1.3 mmHg \cdot min/ml/g KW から E4 期に 15.2 ± 0.7 mmHg \cdot min/ml/g KW へと、それぞれ有意に低下した。他の腎血行動態指標に有意の変化はみられなかった。

FK838 高用量群では、GFR が投与前の 1.10 ± 0.03 ml/min/g

g KW から E1 期にのみ 1.25 ± 0.04 ml/min/g KW へとわずかながら有意に増加した。他の腎血行動態指標に有意の変化はみられなかった。

2. FK838 の水・電解質排泄に及ぼす影響 (図6)

FK838 低用量群では、UV は投与前の 4.1 ± 0.4 μ l/min/g KW から E1 期に 9.3 ± 2.5 μ l/min/g KW へと2.2倍に有意に増加し、その後徐々に前値に回復した。UNaV は投与前の 31 ± 6 nEq/min/g KW から E1 期に 919 ± 367 nEq/min/g KW, E2 期に 631 ± 275 nEq/min/g KW へと、それぞれ29, 20倍に有意に増加した。FENa は投与前値 $0.22 \pm 0.05\%$ から E1 期に $5.54 \pm 2.17\%$, E2 期に $3.96 \pm 1.64\%$, それぞれ25, 18倍と有意に増加した。UKV は投与前の 938 ± 127 nEq/min/g KW から E1 期の 1443 ± 129 nEq/min/g KW へ、FEK は投与前の $203 \pm 25\%$ から E1 期の $313 \pm 27\%$ へとそれぞれ有意に増加した。

FK838 高用量群では、UV は投与前の 4.2 ± 0.4 μ l/min/g

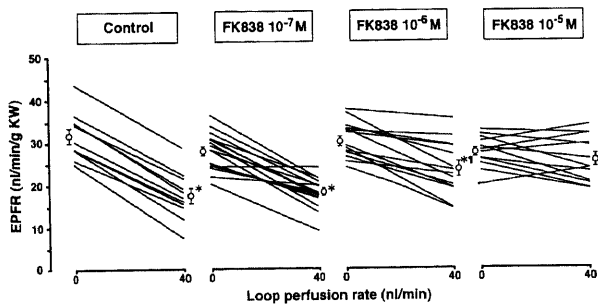


Fig. 3. Early proximal flow rate (EPFR) measured during orthograde loop perfusion with Ringer's solution containing FK838 (10^{-7} ~ 10^{-5} M). Values are $\bar{x} \pm$ SEM. *, $P < 0.05$ compared with values at zero loop perfusion where paired t-test was applied. \square , $P < 0.05$ compared with corresponding values measured during the control period where one-way ANOVA followed by Fisher's PLSD multiple comparison was applied. KW, kidney weight.

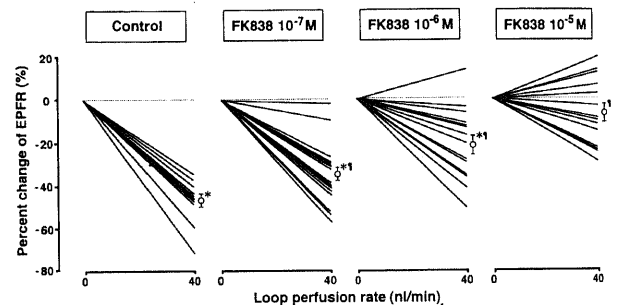


Fig. 4. Percent change of early proximal flow rate (EPFR) measured during orthograde loop perfusion with Ringer's solution containing FK838 (10^{-7} ~ 10^{-5} M). Values are $\bar{x} \pm$ SEM. *, $P < 0.05$ compared with values at zero loop perfusion where paired t-test was applied. \square , $P < 0.05$ compared with corresponding values measured during the control period where one-way ANOVA followed by Fisher's PLSD multiple comparison was applied.

Table 1. Effect of probenecid pretreatment on urinary excretions of FK838, water and sodium during intravenous infusion of FK838

Treatment	Time after FK838 infusion (min)	Urinary excretion ($\bar{x} \pm$ SEM)				
		UFK (μ g/ml)	UFKV (ng/min/g KW)	UV (μ l/min/g KW)	UNaV (nEq/min/g KW)	FENa (%)
FK838	Before	nd	nd	5.0 ± 0.7	120 ± 36	0.73 ± 0.30
	0-60	12.1 ± 3.4	140 ± 29	$15.9 \pm 4.2^\dagger$	$1770 \pm 487^\dagger$	$10.23 \pm 3.22^\dagger$
	60-120	20.1 ± 3.4	214 ± 42	12.1 ± 4.4	$1405 \pm 347^\dagger$	$9.01 \pm 2.61^\dagger$
	120-180	26.3 ± 4.4	224 ± 45	9.3 ± 2.4	963 ± 316	5.92 ± 2.13
FK838+probenecid	Before	nd	nd	5.8 ± 0.7	316 ± 88	1.78 ± 0.43
	0-60	$3.8 \pm 0.6^*$	120 ± 25	$32.4 \pm 4.9^{*\dagger}$	$5713 \pm 840^{*\dagger}$	$23.28 \pm 3.70^{*\dagger}$
	60-120	12.3 ± 2.7	157 ± 45	14.5 ± 5.5	$2229 \pm 440^\dagger$	$13.68 \pm 3.49^\dagger$
	120-180	23.6 ± 4.7	179 ± 41	7.6 ± 1.2	1417 ± 203	7.96 ± 1.13

FK838 (μ g/min/kg BW) was infused for 180 min without or with probenecid pretreatment (100 mg/kg BW+30 mg/hr/kg BW intravenously). Urine samples were collected for 30 min before FK838 infusion and during three successive 60-min periods after FK838 infusion. *, $P < 0.05$ compared with corresponding values without probenecid where unpaired t-test was applied. \dagger , $P < 0.05$ compared with values before FK838 infusion where one-way ANOVA followed by Fisher's PLSD multiple comparison was applied. BW, body weight; UFK, urinary concentration of FK838; UFKV, urinary excretion of FK838; UV, urine volume; UNaV, urinary excretion of sodium; FENa, fractional excretion of sodium; KW, kidney weight; nd, not detected.

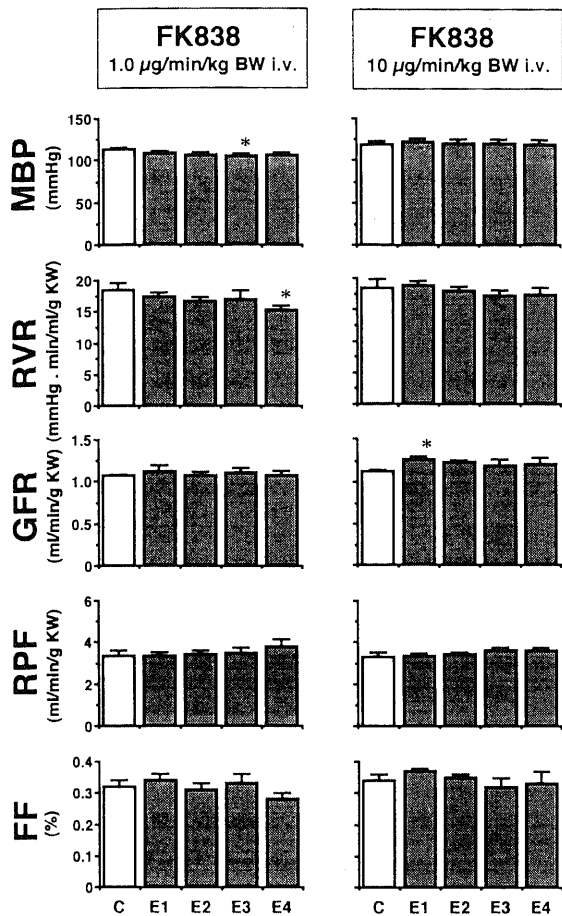


Fig. 5. Renal hemodynamic parameters before (C) and during intravenous infusion of FK838 at a rate of 1 or 10 µg/min/kg BW for 120 min (E1~E4). C, control period; E1, E2, E3, and E4, four successive periods after FK838 infusion each lasting 30 min. Data are expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$. *, $P < 0.05$ compared with control values where one-way ANOVA followed by Fisher's PLSD multiple comparison was applied. BW, body weight; MBP, mean blood pressure; RVR, renal vascular resistance; GFR, glomerular filtration rate; RPF, renal plasma flow; FF, filtration fraction; KW, kidney weight.

KW から E1 期に $15.8 \pm 3.2 \mu\text{l}/\text{min}/\text{g KW}$ へと 3.8 倍に有意に増加した後、徐々にほぼ前値に回復した。U_{Na}V は投与前の $42 \pm 16 \text{ nEq}/\text{min}/\text{g KW}$ から E1 期に $2801 \pm 293 \text{ nEq}/\text{min}/\text{g KW}$ と 67 倍に増加し、E4 期にも $1217 \pm 144 \text{ nEq}/\text{min}/\text{g KW}$ と増加していた。FE_{Na} も U_{Na}V とほぼ平行して変化し、投与前の $0.26 \pm 0.10\%$ から E1 期に $15.34 \pm 1.49\%$ へと 59 倍に増加し、E4 期にも $7.08 \pm 0.64\%$ と増加していた。U_KV は FK838 投与前の $1245 \pm 44 \text{ nEq}/\text{min}/\text{g KW}$ から E1 期に $2048 \pm 179 \text{ nEq}/\text{min}/\text{g KW}$ へ、FE_K は投与前の $247 \pm 8\%$ から E1 期に $397 \pm 37\%$ へと、それぞれ有意に増加した。

IV. FK838 の血漿および尿中濃度測定の結果 (表 1)

FK838 の血漿中濃度は、FK838 投与後 60 分より 180 分まで $0.30 \sim 0.38 \mu\text{g}/\text{ml}$ とほぼ一定であったが、プロベネシドの併用により $0.85 \sim 1.32 \mu\text{g}/\text{ml}$ と 2.8 ないし 3.4 倍高くなった。FK838 の尿中濃度は、投与後 0~60 分ではプロベネシド併用群

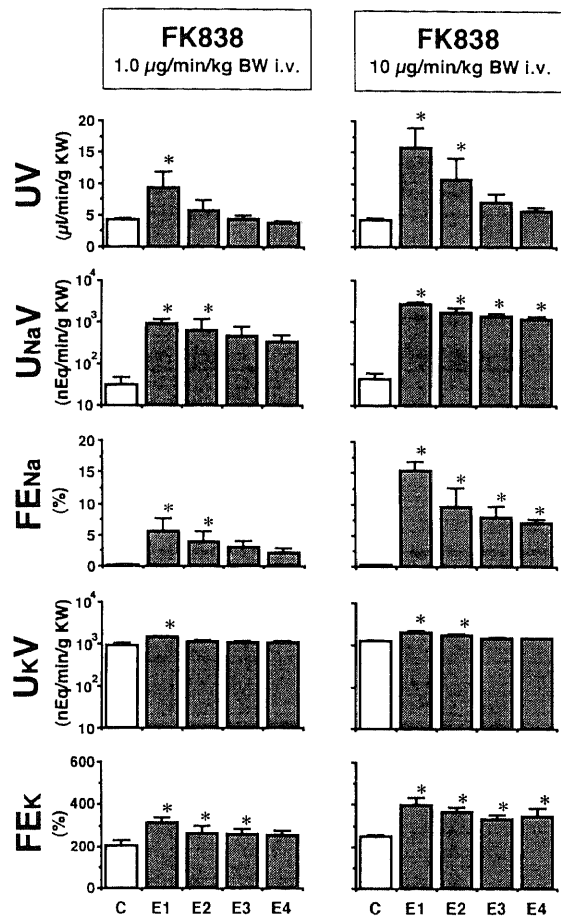


Fig. 6. Urinary excretions of water and electrolytes before (C) and during intravenous infusion of FK838 at a rate of 1 or 10 µg/min/kg BW for 120 min (E1~E4). C, control period; E1, E2, E3, and E4, four successive periods after FK838 infusion each lasting 30 min. Data are expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$. *, $P < 0.05$ compared with control values where one-way ANOVA followed by Fisher's PLSD multiple comparison was applied. BW, body weight; UV, urine volume; U_{Na}V, urinary excretion of sodium; FE_{Na}, fractional excretion of sodium; U_KV, urinary excretion of potassium; FE_K, fractional excretion of potassium; KW, kidney weight.

で有意に低くなったが、60~120 分、120~180 分の時相では FK838 単独投与群との差は認められなかった。FK838 の尿中排泄量はいずれの時相でも両群間で差はなかった。

FK838 にプロベネシドを併用すると、FK838 投与後 0~60 分では UV, U_{Na}V, FE_{Na} は単独投与群に比しそれぞれ 2 ないし 3 倍有意に大であった。プロベネシドのみを静注したクリアランス実験では、3 時間 30 分間の全経過において、UV は $4.8 \sim 4.2 \mu\text{l}/\text{min}/\text{g KW}$, U_{Na}V は $288 \sim 198 \text{ nEq}/\text{min}/\text{g KW}$, FE_{Na} は $1.53 \sim 1.13\%$ と安定し、水・Na 排泄に変化は認められなかった。

考 察

アデノシン A1 受容体拮抗薬、FK838 の、A1, A2 受容体における受容体拮抗作用を示す IC₅₀ 値は、ラット脳膜においてそれぞれ 120, 5910 nM であり、A1 受容体に対して約 50 倍の選択

性を有している¹⁰。非選択的アデノシン受容体拮抗薬として従来用いられてきたテオフィリンとの比較では、FK838のA1受容体拮抗作用は約500倍強力とされる¹⁰。今回の実験でFK838を10 µg/kg/minで持続静注した際のFK838の血漿中濃度、0.30~0.38 µg/mlはほぼ1000 nMに相当する。この血漿中濃度と受容体におけるIC₅₀値との比較から、今回用いた投与量のFK838は内因性のアデノシンのA1受容体における作用のみを遮断し、A2受容体における作用にはほとんど影響を及ぼさなかったものと考えられる。

今回、A1受容体をFK838により選択的に遮断しても、血圧ならびに腎血行動態に変化は認められなかった。したがって、内因性のアデノシンがA1受容体を介して全身血圧ならびに腎血行動態の調節に果たす役割は、生理的条件下においては小さいものと考えられる。しかし、虚血や低酸素状態ではアデノシンの産生が高まり³¹⁾、急性腎不全モデルの一部では血中アデノシン濃度の上昇すること¹²⁾が示されている。また、腎循環にアデノシンを投与すると、糸球体濾過、尿量、尿中Na排泄はいずれも減少し、外因性のアデノシンは腎循環においては血管収縮に働くこととされる^{31,32)}。さらに、虚血性あるいは薬剤性の急性腎不全モデルにおいてA1受容体を遮断すると、腎機能あるいは腎組織障害が改善される¹⁶⁻¹⁷⁾。したがって、アデノシンの産生が賦活され、血中あるいは腎組織内のアデノシン濃度が高まった病態においては、アデノシンが腎血行動態の異常を修飾している可能性が考えられる。

FK838の持続静注は、著しい水・Na利尿をもたらした。非選択的アデノシン受容体拮抗薬のテオフィリンをヒトに投与すると、水・電解質利尿が生ずることが知られている。しかし、その利尿機序については、現在も定説がない¹⁸⁾。FK838投与により認められた水・Na利尿の機序としては、高用量のFK838を投与したE1期にGFRの有意の増加が認められているので、GFRの増加が一部関与する可能性がある。しかし、他の時相ではGFRの増加あるいは血圧上昇はみられず、水・Na利尿の全体像をGFRの増加あるいは腎灌流圧の上昇による圧利尿では説明できない。一方、FE_{Na}の著明な上昇はFK838投与中持続的に認められた。このことは、FK838の尿細管直接作用により水・Na利尿が生じたことを示す。すなわち、内因性のアデノシンは尿細管のA1受容体を介して水・Na保持に働いており、これがFK838のA1受容体拮抗作用により抑制され、水・Na利尿がもたらされたものと考えられる。

尿細管におけるA1受容体については、近位尿細管^{19,20)}、太いヘンレ係蹄上行脚²⁰⁻²²⁾、皮質部の集合管²³⁾や、乳頭部、髓質部の集合管ならびに傍糸球体装置²⁴⁾に存在するとの報告がある。A1受容体の尿細管機能に関しては、近位尿細管におけるNa⁺HCO₃⁻の共輸送を、近位尿細管で産生、放出されたアデノシンが促進させること、およびこの作用が血管側のA1受容体を介していることが、尿細管の単離灌流法により示されている²⁵⁾。また、近位尿細管の尿細管腔側膜(刷子縁膜)にはAMPからアデノシンを生成する酵素、5'-ヌクレオチダーゼが豊富に存在している²⁶⁾。これは、この部位がアデノシンの腎内産生に重要な役割を果たしていることを示唆している。したがって、A1受容体を遮断すると、アデノシンを介する近位尿細管のNa⁺HCO₃⁻共輸送が抑制され、水・Na利尿が生じる可能性がある。その他、近位尿細管由来培養細胞のNa⁺Pの共輸送がA1受容体を介している²⁷⁾ことから、A1受容体拮抗薬はこ

の輸送を抑制してNa利尿を生じさせる機序も考えられる。さらに、A1受容体の遮断により近位尿細管におけるP、重炭酸、尿酸の再吸収抑制に加えて、太いヘンレ係蹄上行脚でのMg、Ca、Clの再吸収が抑制されることがヒトで示されている^{28,29)}。したがって、近位尿細管での水・Naの再吸収抑制に加え、ヘンレ係蹄においてNaClの再吸収が抑制されるため、高度の水・Na利尿が生ずるものと考えられる。一方、集合管におけるアルギニン・バソプレッシン(arginine vasopressin, AVP)の抗利尿作用は、生理的濃度に近い10⁻⁶ MのアデノシンによりA1受容体を介して抑制される³⁰⁾。この部位におけるA1受容体遮断は、AVPの抗利尿作用を増強させ、水利尿をむしろ減弱させる方向に作用するものと考えられる。

FK838による著しい水・Na利尿とは対照的に、K利尿の程度は軽度であった。FK838が遠位尿細管より近位側の尿細管、すなわち近位尿細管およびヘンレ係蹄において水・Naの再吸収を抑制すれば、遠位尿細管への尿細管液流量とNa負荷量は増大し、この部位におけるK排泄は促進される。また、A1受容体の遮断は傍糸球体装置におけるレニン放出を刺激する³¹⁾ため、副腎からアルドステロンが分泌され、遠位尿細管でのNa再吸収とK排泄が増加すると推測される。このような状況が推測されるにもかかわらず、FK838投与時のK利尿が軽度にとどまったことから、A1受容体の遮断は、遠位尿細管の水・電解質輸送に対しK分泌を増加させない方向に作用している可能性が考えられる。

ループ利尿薬のプロセミドをはじめ、ほとんどの利尿薬は、近位尿細管の担体輸送系により血管側から尿細管腔側へ移行し、尿細管の管腔側から作用を發揮する。FK838が同じ移行経路をたどるか否か、尿細管の血管側と管腔側のいずれより作用するかを明らかにするため、近位尿細管の弱有機酸の担体輸送系を競合的に阻害する³²⁾プロベネドを前処置後にFK838の静注実験を行った。今回用いたプロベネドの投与量は、パラアミノ馬尿酸のこの輸送系を介する尿中排泄をほぼ完全に抑制することが示されている³³⁾。プロベネド投与によりFK838の血漿中濃度は約3倍に上昇したものの尿中排泄量に変化はなく、プロベネドがFK838の腎クリアランスを低下させたことは明らかである。したがって、FK838の一部は近位尿細管の担体輸送系により尿中に移行すると考えられる。FK838の蛋白結合率は95%と高いため、糸球体を濾過して尿細管腔へ移行するFK838の量はわずかであると考えられる。ただし、FK838は水溶性、脂溶性両方の性質を適度に備えており、細胞外液における拡散ならびに生体膜の通過性が良好とされる。したがって、FK838の尿中排泄経路としては、一部が糸球体から濾過されることに加えて、濃度勾配による自由拡散機序により尿中に排泄される経路も考えられる。一方、静注したFK838の胆汁中への排泄率は55%で、尿中排泄率の10%に比較してかなり高い。また、プロベネドは、インドシアニン・グリーンや、リファンピシンの肝からの排泄を抑制する³⁴⁾ことが知られている。今回の実験でもプロベネドがFK838の肝からの排泄を抑制して、FK838の血漿中濃度を上昇させたものと考えられる。プロベネドは、単独投与では水・Na利尿効果を示さなかったが、FK838投与後60分間の水・Na利尿効果をそれぞれ2ないし3倍に増強した。この際、FK838の尿中排泄には変化がなく、血漿中濃度は3倍に上昇している成績を考慮すると、尿細管の管腔側より作用する他の多くの利尿薬とは異なり、

FK838 は血管側より作用する可能性が高いものと考えられる。尿細管腔側から作用するフロセミドの場合は、プロベネドにより尿中排泄は低下して尿細管腔側からの作用が弱まる結果、血中濃度の上昇にもかかわらず利尿作用は減弱する⁴¹。

ヘンレ係蹄灌流実験において、リンゲル液の灌流速度を 40 ml/min に増すと、ネフロン EPPFR は非灌流時に比し 47% 減少した。これは、単一ネフロンにおける TGF 機構の存在を示している。すなわち、ヘンレ係蹄の灌流速度が増加すると、密集斑部位における尿細管液 NaCl 濃度が上昇し、これが密集斑細胞に感知され、その情報が糸球体装置 (juxtaglomerular apparatus, JGA) 内を伝達される結果、輸入細動脈が収縮し、EPPFR が減少するものとされている⁹。低用量の FK838 持続静注時には、係蹄灌流による EPPFR の変化率は 32% と小となり、高用量の FK838 静注時には 10% とさらに小となった。したがって、FK838 の血管内投与により TGF 機構が抑制されたことは明らかである。また、FK838 を溶解したリンゲル液を係蹄に直接灌流すると、FK838 は 10^{-7} ~ 10^{-5} M の濃度で、尿細管腔内より濃度依存性に TGF 反応を抑制した。これらの成績は、FK838 が血管内、尿細管腔内のいずれの投与経路からも TGF を抑制することを示している。血管内に投与された FK838 は、腎間質および尿細管腔内へ容易に移行しうるものと考えられる。今回の成績でも、高用量の静注時には、 $12\sim 26$ $\mu\text{g/ml}$ ($4\sim 8\times 10^{-5}$ M) と高濃度の FK838 が尿中に検出された。一方、尿細管腔内に直接、微小灌流した FK838 は、尿細管腔内から濃度勾配にしたがって拡散して、やはり容易に尿細管周囲の腎間質へ移行しうるものと考えられる。FK838 が血管内、尿細管腔内の両投与経路から移行しえ、かつ TGF に影響を及ぼしうる共通の作用部位は、同一ネフロンに属する糸球体血管と尿細管が接する唯一の部位、JGA と考えられる。

JGA は糸球体微小循環ならびにレニン放出の調節に中心的役割を果たすが、これらにアデノシンが関与する可能性が示唆されている³⁹。ヘンレ係蹄上行脚の尿細管細胞あるいは密集斑細胞では、NaCl の能動輸送に応じてアデノシンが産生され、これが糸球体輸入細動脈の収縮ならびに JGA におけるレニン分泌抑制のメディエーターとして働くとする考えである。これについては、高張食塩水を腎動脈内に投与すると、腎間質のアデノシン濃度が上昇すること³⁹、また、マウスのヘンレ係蹄上行脚を高張食塩水で灌流すると灌流液中に 10^{-7} M 前後の濃度のアデノシンが放出されること²¹が示されている。さらに、アデノシンが、A1 受容体を介して 10^{-8} M より濃度依存性に単離輸入細動脈を収縮させること³⁷、単離 JGA からのレニン放出がアデノシンの A1 受容体作用により抑制されること³⁹、JGA に A1 受容体の mRNA が存在すること²⁰が報告されている。

TGF 機構は、Ca 拮抗薬³⁸や心房性 Na 利尿ホルモン³⁹などによる輸入細動脈の拡張作用、およびフロセミド⁴⁰などによる密集斑細胞の $\text{Na}^+\text{K}^+\text{2Cl}^-$ 共輸送抑制作用により抑制される。今回の研究では、密集斑およびその近傍のヘンレ係蹄上行脚における NaCl の能動輸送に応じて産生されたアデノシンの、A1 受容体を介する輸入細動脈の収縮を、JGA 間質に移行した FK838 がこの血管の外膜側より直接作用して抑制したものと考えられる。FK838 が係蹄非灌流時の EPPFR に影響を与えなかった成績も、この考えに一致する。係蹄非灌流時には密集斑部位の尿細管液 NaCl 濃度は低いため、JGA 局所のアデノシン産生も少なく、FK838 の A1 受容体拮抗による輸入細動脈拡張

作用が明らかにはならないものと考えられる。Munger ら⁴¹の検討では、A1 受容体の遮断により輸入細動脈の拡張と糸球体限外濾過係数の低下がみられ、この両者の効果が相殺される結果、単一ネフロン GFR は不変であったと報告されている。この輸入細動脈拡張は、今回の TGF の抑制に一致する成績である。なお、血管内に投与した薬剤が JGA 間質へ移行して TGF の反応性に影響を及ぼしうることについては、Ca 拮抗薬 (ベラパミル)⁴²、あるいはアンジオテンシン I、II およびアンジオテンシン II アナログ (サララン)⁴³を尿細管周囲毛細血管内に灌流した腎微小穿刺実験で明らかにされている。

一方、FK838 の尿細管作用部位の一部として、ヘンレ係蹄上行脚が考えられることから、ヘンレ係蹄上行脚の終末部に位置する密集斑細胞の NaCl 輸送が阻害され、TGF 機構が抑制される可能性も考えられる。FK838 が、フロセミドと同様に密集斑においても $\text{Na}^+\text{K}^+\text{2Cl}^-$ 輸送系を阻害すれば、より近位の尿細管での NaCl 再吸収抑制により密集斑部位へ到達する NaCl シグナルが増加しても、シグナル感知の過程で TGF 機構は抑制されることになる。ただし、フロセミドで密集斑における NaCl シグナル感知を遮断した状態においても尿細管腔内からの A1 受容体刺激により TGF 機構は活性化される⁴⁴ことが報告されている。したがって、FK838 の輸入細動脈の A1 受容体への直接作用による TGF の抑制は、密集斑での NaCl シグナル感知の有無にかかわらずみられるものと考えられる。

TGF の抑制は、FK838 の尿細管直接作用による水・Na 利尿に対して有利に働く。近位尿細管あるいはヘンレ係蹄で水・Na 再吸収が抑制されると、TGF に対する NaCl シグナルが増加することになる。この際、TGF 機構が正常に機能すると、TGF 反応により輸入細動脈が収縮する結果、単一ネフロン GFR が減少し、利尿効果は減弱する。しかし、FK838 による TGF の抑制があれば、NaCl シグナルが増加しても、輸入細動脈の収縮は減弱するため、単一ネフロン GFR は維持される。このように、尿細管直接作用に加えて TGF を抑制することは、FK838 が強力な Na 利尿作用を発揮する上で重要と考えられる。

結 論

麻酔下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットにアデノシン A1 受容体拮抗薬、FK838 を投与し、以下の結論を得た。

1. FK838 を持続静注すると、投与初期に軽度の GFR の増加を認めた以外、MBP ならびに腎血行動態は不変であった。UV、 $U_{\text{Na}}V$ 、 FE_{Na} は著しく増加し、水・Na 利尿がみられた。
2. FK838 の持続静注により、係蹄灌流による EPPFR の変化率は小となり、これにより評価した TGF 機構の反応性は抑制された。
3. 10^{-7} ~ 10^{-5} M の FK838 でヘンレ係蹄を微小灌流したところ、TGF 機構は濃度依存性に抑制された。
4. プロベネドを持続静注すると、FK838 の水・Na 利尿作用は増強したが、TGF 機構は FK838 単独静注時と同程度に抑制された。プロベネドの併用により、FK838 の血漿中濃度は上昇したが、尿中排泄量は影響を受けなかった。

以上より、FK838 は、血管内および尿細管腔内投与のいずれによっても TGF 機構を抑制する。TGF 抑制は、密集斑での NaCl シグナルの感知の遮断および内因性アデノシンの A1 受容体を介する輸入細動脈収縮作用の遮断によるものと考えられ

る。Na 利尿の機序として、直接的な尿細管作用に加え、TGF 抑制により GFR, RPF が保持されるため、FK838 は強力な Na 利尿作用を発揮するものと考えられる。内因性のアデノシンは、A₁ 受容体を介して糸球体微小循環と尿細管における Na 再吸収を調節している。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師小林健一教授に深甚なる謝意を表します。また、終始直接御指導頂きました鳥根医科大学第四内科高島利一教授ならびに、川端雅彦博士に心から感謝致します。あわせて本研究施行に多大の御協力を頂きました本教室の腎・高血圧班の諸先生ならびに岩田知子研究補助員、FK838 の提供とその濃度測定に御協力いただいた藤沢薬品工業株式会社に深く感謝致します。なお、本論文の要旨の一部は、第17回日本高血圧学会総会(1994年京都)、第13回国際腎臓学会(1995年 Madrid)において発表した。

文 献

- 1) Ohnishi, A., Li, P., Branch, R. A., Biaggioni, I. O. & Jackson, E. K.: Adenosine in renin-dependent renovascular hypertension. *Hypertension*, **12**, 152-161 (1988).
- 2) Osswald, H., Schmitz, J. H. & Kemper, R.: Tissue content of adenosine, inosine, and hypoxanthine in the rat kidney after ischemia and postischemic recirculation. *Pflügers Arch.*, **371**, 45-49 (1977).
- 3) van Calker, D., Müller, M. & Hamprecht, B.: Adenosine regulates via two different receptors, the accumulation of cyclic AMP in cultured brain cells. *J. Neurochem.*, **33**, 999-1005 (1979).
- 4) Olsson, R. A. & Pearson, J. D.: Cardiovascular purinoceptors. *Physiol. Rev.*, **70**, 761-845 (1990).
- 5) Thurau, K. & Schnermann, J.: Die Natrium-Konzentration an den Macula densa Zellen als regulierender Factor für das Glomerulumfiltrat (Mikropunktionsversuche). *Klin. Wochenschr.*, **43**, 410-413 (1965).
- 6) Schnermann, J. & Briggs, J. P.: Function of the juxtaglomerular apparatus; control of glomerular hemodynamics and renin secretion. *In* D. W. Seldin & G. Giebisch (eds.), *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, 2nd ed., p1249-1289, Raven Press, New York, 1992.
- 7) Schnermann, J. & Briggs, J. P.: The role of adenosine in cell-to-cell signaling in the juxtaglomerular apparatus. *Semin. Nephrol.*, **13**, 236-245 (1993).
- 8) Schnermann, J. & Hermle, M.: Maintenance of feedback regulation of filtration dynamics in the absence of divalent cations in the lumen of the distal tubule. *Pflügers Arch.*, **358**, 311-323 (1973).
- 9) Fuhr, J., Kaczmarczyk, J. & Krüttgen, C-D.: Eine einfache colorimetrische Methode zur Inulinbestimmung für Nieren-Clearance-Untersuchungen bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern. *Klin. Wochenschr.*, **33**, 729-730 (1955).
- 10) Kusunoki, T., Kita, Y., Terai, T., Akahane, A., Shiokawa, Y., Kohno, Y., Horiai, H., Senoh, H., Yoshida, K. & Tanaka, H.: FK838; a novel, water-soluble, A₁-selective, adenosine antagonist. (Abstract) *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **72** (Suppl. 1), 505 (1994).
- 11) Miller, W. L., Thomas, R. A., Berne, R. M. & Rubio, R.: Adenosine production in the ischemic kidney. *Circ. Res.*, **43**, 390-397 (1978).
- 12) Ishikawa, I., Shikura, N., Takada, K. & Sato, Y.: Changes of adenosine levels in the carotid artery, renal vein and inferior vena cava after glycerol or mercury injection in the rat. *Nephron*, **64**, 605-608 (1993).
- 13) Hall, J. E., Granger, J. P. & Hester, R. L.: Interactions between adenosine and angiotensin II in controlling glomerular filtration. *Am. J. Physiol.*, **248**, F340-F346 (1985).
- 14) Osswald, H., Spielman, W. S. & Knox, F. G.: Mechanism of adenosine-mediated decreases in glomerular filtration rate in dogs. *Circ. Res.*, **43**, 465-469 (1978).
- 15) Lin, J-J., Churchill, P. C. & Bidani, A. K.: Theophylline in rats during the maintenance phase of postischemic acute renal failure in rats. *Kidney Int.*, **33**, 24-28 (1988).
- 16) Kellett, R., Bowmer, C. J., Collis, M. G. & Yates, M. S.: Amelioration of glycerol-induced acute renal failure in the rat with 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine. *Br. J. Pharmacol.*, **98**, 1066-1074 (1989).
- 17) Knight, R. J., Collis, M. G., Yates, M. S. & Bowmer, C. J.: Amelioration of cisplatin-induced acute renal failure with 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine. *Br. J. Pharmacol.*, **104**, 1062-1068 (1991).
- 18) Rall, T. W.: Drugs used in the treatment of asthma; the methylxanthines. *In* L. S. Goodman & A. Gilman (eds.), *Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th ed., p619-629, Macmillan, New York, 1990.
- 19) Coulson, R. & Scheinman, S. J.: Proximal tubular adenosine receptors coupled to phosphate transport. (Abstract) *Kidney Int.*, **37**, 367 (1990).
- 20) Yamaguchi, S., Umemura, S., Tamura, K., Iwamoto, T., Nyui, N., Ishigami, T. & Ishii, M.: Adenosine A₁ receptor mRNA in microdissected rat nephron segment. *Hypertension*, **26** (part 2), 1181-1185 (1995).
- 21) Baudouin-Legros, M., Badou, A., Paulais, M., Hammet, M. & Teulon, J.: Hypertonic NaCl enhances adenosine release and hormonal cAMP production in mouse thick ascending limb. *Am. J. Physiol.*, **268**, F103-F109 (1995).
- 22) Weber, R. G., Brines, M. L., Hebert, S. C. & Forrest Jr, J. N.: Demonstration of A₁ adenosine receptors on rat medullary thick ascending limb tubules by radioligand binding. (Abstract) *Kidney Int.*, **37**, 380 (1990).
- 23) Arend, L. J., Sonnenburg, W. K., Smith, W. L. & Spielman W. S.: A₁ and A₂ adenosine receptors in rabbit cortical collecting tubule cells; modulation of hormone-stimulated cAMP. *J. Clin. Invest.*, **79**, 710-714 (1987).
- 24) Weaver, D. R. & Reppert, S. M.: Adenosine receptor gene expression in rat kidney. *Am. J. Physiol.*, **263**, F991-F995 (1992).
- 25) Takeda, M., Yoshitomi, K. & Imai, M.: Regulation of Na⁺-3HCO₃⁻ cotransport in rabbit proximal convoluted

- tubule via adenosine A₁ receptor. *Am. J. Physiol.*, **265**, F511-F519 (1993).
- 26) Le Hir, M. & Kaissling, B.: Distribution and regulation of renal ecto-5'-nucleotidase; implications for physiological functions of adenosine. *Am. J. Physiol.*, **264**, F377-F387 (1993).
- 27) Coulson, R., Johnson, R. A., Olsson R. A., Cooper, D. R. & Scheinman, S. J.: Adenosine stimulates phosphate and glucose transport in opossum kidney epithelial cells. *Am. J. Physiol.*, **260**, F921-F928 (1991).
- 28) Barlakrishnan, V. S., Coles, G. A. & Williams, J. D.: A potential role for endogenous adenosine in control of human glomerular and tubular function. *Am. J. Physiol.*, **265**, F504-F510 (1994).
- 29) van Buren, M., Bijlsma, J. A., Boer, P., van Rijn, H. J. M. & Koomans, H. A.: Natriuretic and hypotensive effect of adenosine-1 blockade in essential hypertension. *Hypertension*, **22**, 728-734 (1993).
- 30) Edwards, R. M. & Spielman, W. S.: Adenosine A₁ receptor-mediated inhibition of vasopressin action in inner medullary collecting duct. *Am. J. Physiol.*, **266**, F791-F796 (1994).
- 31) Lorenz, J. N., Weihprecht, H., He, X-R., Skøtt, O., Briggs, J. P. & Schnermann, J.: Effects of adenosine and angiotensin on macula densa-stimulated renin secretion. *Am. J. Physiol.*, **265**, F187-F194 (1993).
- 32) Weiner, I. M.: Inhibitors of tubular transport of organic compounds; probenecid. *In* L. S. Goodman & A. Gilman (eds.), *Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th ed., p745-746, Macmillan, New York, 1990.
- 33) Haylor, J., Lote, C. J. & Towers, J. D.: Tubular mechanisms determining the urinary excretion of tritiated prostaglandin E₂ in the anaesthetized rat. *J. Physiol.*, **403**, 1-14 (1988).
- 34) Odlind, B. & Beermann, B.: Renal tubular secretion and effects of furosemide. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **27**, 784-789 (1980).
- 35) Osswald, H., Nabakowski, G. & Hermes, H.: Adenosine as a possible mediator of metabolic control of glomerular filtration rate. *Int. J. Biochem.*, **12**, 263-267 (1980).
- 36) 安部陽一: 腎循環とその障害に関する研究; 腎虚血時および再灌流時の腎内アデノシン動態. 平成六年度厚生科学研究費補助金腎不全医療研究事業研究報告書, p304-308, 厚生省, 1995.
- 37) Weihprecht, H., Lorenz, J. N., Briggs, J. P. & Schnermann, J.: Vasomotor effects of purinergic agonists in isolated rabbit afferent arterioles. *Am. J. Physiol.*, **263**, F1026-F1033 (1992).
- 38) Takabatake, T., Ushigi, Y., Ise, T. & Kobayashi, K.: Effect of calcium antagonist, mandipine, on renal hemodynamics and tubuloglomerular feedback in spontaneously hypertensive rats. *Am. Heart J.*, **125**, 578-581 (1993).
- 39) 川端雅彦: 心房性ナトリウム利尿ペプチドの尿細管糸球体フィードバックに及ぼす効果. 十全医会誌, **98**, 477-488 (1989).
- 40) 太田博真: Tubuloglomerular feedback に対する NaCl シグナル. 十全医会誌, **93**, 703-712 (1984).
- 41) Munger, K. A. & Jackson, E. K.: Effects of selective A₁ receptor blockade on glomerular hemodynamics: involvement of renin-angiotensin system. *Am. J. Physiol.*, **267**, F783-F790 (1994).
- 42) Navar, L. G., Carmines, P. K., Thomas, C. E. & Mitchell, K. D.: Critical issues bearing on the mediation of renal autoregulation by the tubuloglomerular feedback mechanism. *In* A. E. G. Persson & U. Boberg (eds.), *The Juxtaglomerular Apparatus*, p373-386, Elsevier, Amsterdam, 1988.
- 43) Mitchell, K. D. & Navar, L. G.: Enhanced tubuloglomerular feedback responses during peritubular infusions of angiotensins I and II. *Am. J. Physiol.*, **255**, F383-F390 (1988).
- 44) Franco, M., Bell, P. D. & Navar, L. G.: Effect of adenosine A₁ analogue on tubuloglomerular feedback mechanism. *Am. J. Physiol.*, **257**, F231-F236 (1989).

Effects of Selective Adenosine A1 Receptor Antagonism on Glomerular Microcirculation and Tubuloglomerular Feedback Wen-Hua Han, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., 105, 239—248 (1996)

Key words adenosine, glomerular filtration rate, juxtaglomerular apparatus, natriuresis, rat

Abstract

Renal clearance and micropuncture studies were carried out in anesthetized Sprague-Dawley rats to examine the effects of a selective adenosine A1 receptor antagonist, FK838 on the glomerular microcirculation and tubuloglomerular feedback (TGF) mechanism. A low dose (1 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ body weight) and a high dose (10 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ body weight) infusion of FK838 increased urine volume by 2.2 and 3.8 times and fractional excretion of sodium by 25 and 59 times, respectively while the mean blood pressure and renal plasma flow remained unaltered. The glomerular filtration rate showed a transient minimal increase during the high dose infusion. TGF responsiveness was estimated by measuring changes in the early proximal flow rate (EPFR) when the loop of Henle was perfused orthogradely with Ringer's solution at 40 nl/min. Loop perfusion decreased EPFR by 46.8 ± 3.2 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) % from 31.5 ± 1.7 to 17.1 ± 1.8 nl/min/g kidney weight. The reduction of EPFR in response to loop perfusion was $31.9 \pm 3.7\%$ at the low and $9.8 \pm 5.2\%$ at the high dose of FK838 infusion, showing a suppression of TGF response. To determine the proximal tubule transport of FK838, probenecid (100 mg/kg body weight + 30 mg/hr/kg body weight) was administered intravenously before infusing the high dose of FK838. The plasma concentration of FK838 was increased by 2.8~3.4-fold and natriuresis was enhanced by probenecid, although its urinary excretion was unaltered. EPFR reduction was $6.1 \pm 4.8\%$ after probenecid and comparable with the high dose of FK838 alone. The effect of FK838 from the tubular lumen was also studied by perfusing FK838 (10^{-7} , 10^{-6} , and 10^{-5} M) in Ringer's solution into the loop at 40 nl/min. TGF-mediated reduction of EPFR was decreased to 34.8 ± 3.5 , 21.8 ± 4.6 and $6.8 \pm 4.5\%$, respectively in a dose dependent manner. In conclusion, FK838 induces marked natriuresis and diuresis through the direct tubular effect. Intravascular and intratubular FK838, after gaining access to the juxtaglomerular apparatus, blocks the sensing mechanism of macula densa cells and antagonizes afferent arteriolar vasoconstriction induced by endogenous adenosine, and thus inhibits TGF. This study demonstrates a crucial role of A1 receptor activation by endogenous adenosine in the control of glomerular microcirculation and tubular sodium handling.