

Effects of Endothelin on Renal Hemodynamics and Tubuloglomerular Feedback

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/2297/8222

エンドセリンの腎循環、尿細管糸球体 フィードバック機構に及ぼす影響

金沢大学医学部内科学第一講座 (主任: 小林健一教授)

伊 勢 拓 之

(平成2年10月11日受付)

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刺実験を行い、エンドセリン-1 (endothelin-1, ET) の腎血行動態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。ET の 100pmol/100g 体重/hr 静脈内投与では、平均血圧 (mean blood pressure, MBP) は上昇しなかったが、腎血管抵抗 (renal vascular resistance, RVR) は40%増加し、腎血漿流量 (renal plasma flow, RPF) は27%減少傾向を示した。糸球体濾過値 (glomerular filtration rate, GFR), 濾過率 (filtration fraction, FF), 尿量 (urine volume, UV), 尿中ナトリウム排泄量 (urinary excretion of sodium, $U_{Na}V$) はいずれも変化しなかった。200pmol/100g 体重/hr の投与量では MBP は 114 ± 1 から 140 ± 5 mmHg (+23%), RVR は 19.9 ± 1.1 から 47.7 ± 3.9 mmHg \cdot min/ml/g 腎重量 (+140%), FF は0.31から0.41へそれぞれ増加した。GFR, RPF はそれぞれ前値の37, 52%減少し、UV および $U_{Na}V$ はそれぞれ1.9, 5.9倍に増加した。TGF 機構の反応度は、ヘンレ係蹄をリングル液で順行性に0および40nl/minで灌流した時の近位尿細管起始部流量 (early proximal flow rate, EPFR) の変化度から評価した。係蹄灌流速度が0および40nl/minの時のEPFRは、低用量のET投与前ではそれぞれ 28.0 ± 1.1 , 17.0 ± 1.2 nl/min, 投与中 23.4 ± 1.2 , 11.5 ± 1.1 nl/min, 投与終了後 28.1 ± 1.9 , 17.6 ± 1.6 nl/minであった。高用量のETでは両灌流速度においてEPFRはより低下し、投与前 27.4 ± 1.9 , 15.4 ± 1.1 nl/min, 投与中 19.0 ± 1.5 , 7.6 ± 1.1 nl/min, 投与終了後 20.3 ± 1.8 , 9.9 ± 1.1 nl/minであった。係蹄非灌流時のEPFRはETにより低下したが、係蹄灌流速度の増加によるEPFRの低下度はETにより変化しなかった。高用量のETについて、係蹄灌流速度を増加させたときのストップフロー圧 (stop flow pressure, SFP) の変化を測定し、TGF機構の反応性を検討した。SFPの最大反応、SFP反応曲線の指数関数定数、および変曲点はET投与前がそれぞれ9.0mmHg, -0.22, 17.5nl/min, 投与中10.8mmHg, -0.20, 16.2nl/min, 投与中止後10.5mmHg, -0.22, 17.1nl/minといずれのパラメータもETにより変化しなかった。以上より、ETは腎血管収縮に加えて、昇圧量ではナトリウム利尿をもたらす。ETは糸球体の前後に位置する血管をともに収縮させるが、輸出細動脈をより強く収縮させる。TGF機構の反応性は高用量のETによっても変化しない。

Key words endothelin, micropuncture, single nephron glomerular filtration rate, tubuloglomerular feedback, rat

Abbreviations: A_K , potassium concentration in arterial plasma; A_{Na} , sodium concentration in arterial plasma; ANP, atrial natriuretic polypeptide; A_{PF} , polyfructosan concentration in arterial plasma; EPFR, early proximal flow rate; ET, endothelin-1; FE_{Na} , fractional excretion of sodium; FF, filtration fraction; GFR, glomerular filtration

エンドセリンは、ブタ大動脈内皮細胞の培養上清から分離、精製された強力な血管収縮ペプチドであり、特に腎血管に対し強い血管収縮作用を有する²⁾。また、オートラジオグラフィ解析により、腎髄質および糸球体にエンドセリン結合部位が証明されており³⁾、同ペプチドが、腎血行動態の調節に関与する可能性が考えられる。血管収縮以外にも、単離傍糸球体装置におけるレニン分泌を細胞外カルシウムイオンの存在下で抑制すること⁴⁾、副腎皮質球状帯に結合し、アルドステロン分泌を促進すること⁵⁾が報告され、エンドセリンが体液量の調節に重要な役割を果たしている可能性がある。

尿細管糸球体フィードバック (tubuloglomerular feedback, TGF) 機構は、個々のネフロンにおいてヘンレ係蹄の流量に応じて糸球体濾過を調節する腎固有の機構である⁶⁻⁸⁾。係蹄への流量が増大すると、輸入細動脈の緊張が高まり、糸球体濾過値 (glomerular filtration rate, GFR) が減少するとされている。TGF 系のシグナルとしては、ヘンレ係蹄上行脚から遠位尿細管への移行部に位置する緻密斑部位における濃度依存性の NaCl 転送量とする考えが有力である⁹⁾。この TGF 機構は、体液量が減少するとその反応性は亢進し、逆に体液量が増加するとその反応性は低下し^{10,11)}、個体の容量調節に働くことが示唆されている。

エンドセリンの腎作用として、腎血流量 (renal blood flow, RBF), GFR の低下が明らかにされている¹²⁻¹⁷⁾。尿量、尿中ナトリウム排泄量については減少するとの報告もあるが¹²⁻¹⁴⁾、GFR を低下させない投与量ではナトリウム利尿を生ずる¹⁵⁾、あるいは GFR の低下にもかかわらず尿量は増加する¹⁶⁾との報告もあり、見解が一致していない。腎の微小循環動態に対する作用に関しても一定の結論は得られておらず¹²⁻¹⁷⁾、とくに糸球体濾過の調節に中心的な役割を演ずる TGF 機構への影響はまったく不明である。本研究では、エンドセリンの腎循環への作用、TGF 機構に対する作用を明らかにするため、腎微小穿刺法を用いて検討した。

材料および方法

I. 実験動物およびその手術法

標準飼料 (Na, 0.10mEq/g; K, 0.24mEq/g を含

む) (日本チャールズリバー、厚木) にて飼育した体重 230 から 300g の雄性 Sprague-Dawley 系ラット 15 匹を用いた。イナクチン (Byk-Gulden, Konstanz, FRG) 110mg/kg 体重の腹腔内投与にて麻酔し、実験中は必要に応じて経静脈的に適宜追加投与した。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、右外頸静脈にポリエチレンカテーテル PE-10 (Clay Adams, Parsippany, U.S.A.) を 2 本挿入した。一方はポリフラクトサン (Inutest, Laevosan, Linz, Austria) を 20% に溶解した 0.9% 食塩水、もう一方は合成エンドセリン-1 (ペプチド研究所、大阪) を溶解した 0.9% 食塩水の持続注入に使用した。エンドセリンは、後述のスケジュールにしたがい一定時間注入した。ポリフラクトサンあるいはエンドセリン注入用カテーテルからの注入速度はいずれも 0.225ml/hr/100g 体重の一定速度とした。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、尿管内へ採尿用カテーテル (PE-10) を挿入した¹⁸⁾。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。

II. 腎クリアランス法

手術操作完了 1 時間後より腎クリアランス法およびこれと並行して腎微小穿刺実験を行った。エンドセリンを 100 または 200pmol/hr/100g 体重の注入量となるように 0.9% 食塩水に溶解し、実験開始後 90 分から上記の注入速度で 90 分間持続注入した。エンドセリン投与の前 90 分間および後 60 分間は 0.9% 食塩水のみを投与し、対照期とした。30 分毎に動脈血、腎静脈血および尿を採取し、尿量 (urine volume, UV), 動脈血および尿のナトリウム濃度 (sodium concentration in arterial plasma and urine, A_{Na} and U_{Na}) およびカリウム濃度 (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

rate; Ht hematocrit; K_f , glomerular capillary ultrafiltration coefficient; KW, kidney weight; MBP, mean blood pressure; P_{GC} , glomerular capillary hydraulic pressure; RBF, renal blood flow; RPF, renal plasma flow; RVR, renal vascular resistance; SFP, stop flow pressure; SNGFR, single nephron glomerular filtration rate; TGF, tubuloglomerular

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. さらにこれより以下の式にしたがい, GFR, 腎血漿流量 (renal plasma flow, RPF), 濾過率 (filtration fraction, FF), 腎血管抵抗 (renal vascular resistance, RVR), 尿中ナトリウムおよびカリウム排泄量 (urinary excretion of sodium and potassium, U_{NaV} and U_{KV}), ナトリウムおよびカリウム排泄分画 (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.

$$\begin{aligned} GFR (\text{ml/min/gKW}) &= U_{PF} (\text{mg/dl}) \cdot A_{PF} (\text{mg/dl})^{-1} \cdot UV (\mu \text{l/min/gKW}) \cdot 10^{-3} \\ RPF (\text{ml/min/gKW}) &= A_{PF} \cdot \{A_{PF} - V_{PF} (\text{mg/dl})\}^{-1} \cdot GFR \\ FF &= GFR \cdot RPF^{-1} \\ RVR (\text{mmHg} \cdot \text{min/ml/gKW}) &= MBP (\text{mmHg}) \cdot RBF^{-1} \\ U_{NaV} (\text{nEq/min/g KW}) &= U_{Na} (\text{mEq/l}) \cdot UV \\ U_{KV} (\text{nEq/min/gKW}) &= U_K (\text{mEq/l}) \cdot UV \\ FE_{Na} (\%) &= U_{Na} \cdot A_{Na} (\text{mEq/l})^{-1} \cdot A_{PF} \cdot U_{PF}^{-1} \cdot 100 \\ FE_K (\%) &= U_K \cdot A_K (\text{mEq/l})^{-1} \cdot U_{PF} \cdot A_{PF}^{-1} \cdot 100 \end{aligned}$$

上記のクリアランス測定は, エンドセリン投与前および投与中はそれぞれ 3 回ずつ, 投与中止後は 2 回を連続して行った. 投与前値は 3 回の平均値で示し, エンドセリン投与前および中止後の全腎機能と比較した.

血漿および尿のポリフラクトサン濃度はアントロン法¹⁹⁾により, Na, K 濃度は蛍光光度計 Model-775 (日立, 東京) を用いて, Cl 濃度はクロライドメータ CL-6 (平沼, 東京) による電量滴定法により, いずれも各サンプルにつき 2 回ずつ測定した.

III. 静脈内に投与したエンドセリンの TGF に対する効果

1. 近位尿細管起始部流量 (early proximal flow rate, EPFR) の測定

近位尿細管に穿刺したピペットより, 微量の 0.1% FD & C Keystone Green (Keystone, Chicago, U.S.A.) 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および遠

位尿細管起始部を識別した. ついで, 近位尿細管終末部に先端の外径が 10~11 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, FRG) を用いて, ヘンレ係蹄をリンゲル液により, 0 または 40nl/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 3 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 2 分間尿細管液を採取した. この部位における流量 (EPFR; nl/min) は, 単一ネフロン糸球体濾過値 (single nephron glomerular filtration rate, SNGFR; nl/min) にほぼ等しい²⁰⁾. 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. 尿細管内液の容量は内径が一定のガラス毛細管 (Microcaps, Drummond Scientific Co., Broomall, U.S.A.) を利用して測定した. なお, 近位尿細管の近位部と終末部との間の尿管腔内には融点 44°C のパラフィンパラフィン微小注入装置 (田畑繁之, 金沢大学医学部工作部) により注入し, 灌流液の逆流を防止した. ヘンレ係蹄微小灌流時の EPFR の変化に対するエンドセリンの効果を, エンドセリン注入前, および注入中止後と比較した.

2. ストップフロー圧 (stop flow pressure, SFP) の測定

別に 6 匹のラットを用いて, 糸球体毛細血管静水圧 (glomerular capillary hydraulic pressure, P_{cc}) の指標である, 近位尿細管における SFP を測定し, TGF の反応度を検討した. EPFR 実験と同様にして, 近位および遠位尿細管を識別した. 近位尿細管起始部に, 内部に 1M NaCl 溶液を満たした先端径 5 μm の圧測定用ピペットを刺入し, micropressure system Model-900 (W-P Instruments Inc., New Haven, U.S.A.) を用い, この部位での SFP を連続的に記録した. 圧測定用ピペット刺入部につづく近位尿細管内腔をパラフィン (融点 44°C) 注入により閉塞し, 尿管液の流れを完全に遮断した. SFP の測定値が安定したのち, 近位尿細管終末部よりヘンレ係蹄をリンゲル液で, 0, 10, 15, 20, 30 および 40nl/min の各速度で 2 分間以上灌流し, SFP の変化を記録した. さらに, TGF 機構の反応特性を定量的に評価するため, Briggs ら²⁰⁾の方法により以下のパラメータを算出し

feedback; U_K , potassium concentration in urine; U_{KV} , urinary excretion of potassium; U_{Na} , sodium concentration in urine; U_{NaV} , urinary excretion of sodium; U_{PF} , polyfructosan concentration in urine; UV, urine volume; V_{PF} , polyfructosan concentration in renal vein plasma

た. すなわち, ヘンレ係蹄灌流速度 (\dot{V}_{LP}) を横軸にとり, SFP を縦軸にプロットすると, 逆S字状の曲線が描かれ, これは次の式で示される.

$$\Delta SFP = \Delta SFP_{\max} / (1 + e^{-k(\dot{V}_{1/2} - \dot{V}_{LP})})$$

ここで, ΔSFP は各灌流速度における SFP の減少度, ΔSFP_{\max} は SFP の最大反応, k は指数関数係数, $\dot{V}_{1/2}$ は最大反応の50%の反応が得られる係蹄灌流速度をそれぞれあらわしている. 各灌流速度における SFP の測定値から最小二乗法により k および $\dot{V}_{1/2}$ を計算した. ヘンレ係蹄微小灌流時の SFP の変化に対するエンドセリンの効果を, エンドセリン注入前, および注入中止後と比較した.

IV. 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群間の有意差判定には t 検定, 3群以上の場合には分散分析後に Scheffé の多重比較法を用い, P 値が 0.05 未満の場合に有意差ありと判定した.

成 績

I. 腎クリアランスの成績 (図 1)

エンドセリン100および200pmol/100g 体重/hr 投与時の全腎機能の成績を図1に示す. グラフの横軸は時間経過を示し, 左からCはエンドセリン投与前の3回の30分クリアランスの平均値, E₁, E₂, E₃はエンドセリン投与中の, PC₁, PC₂は投与中止後の各30分毎

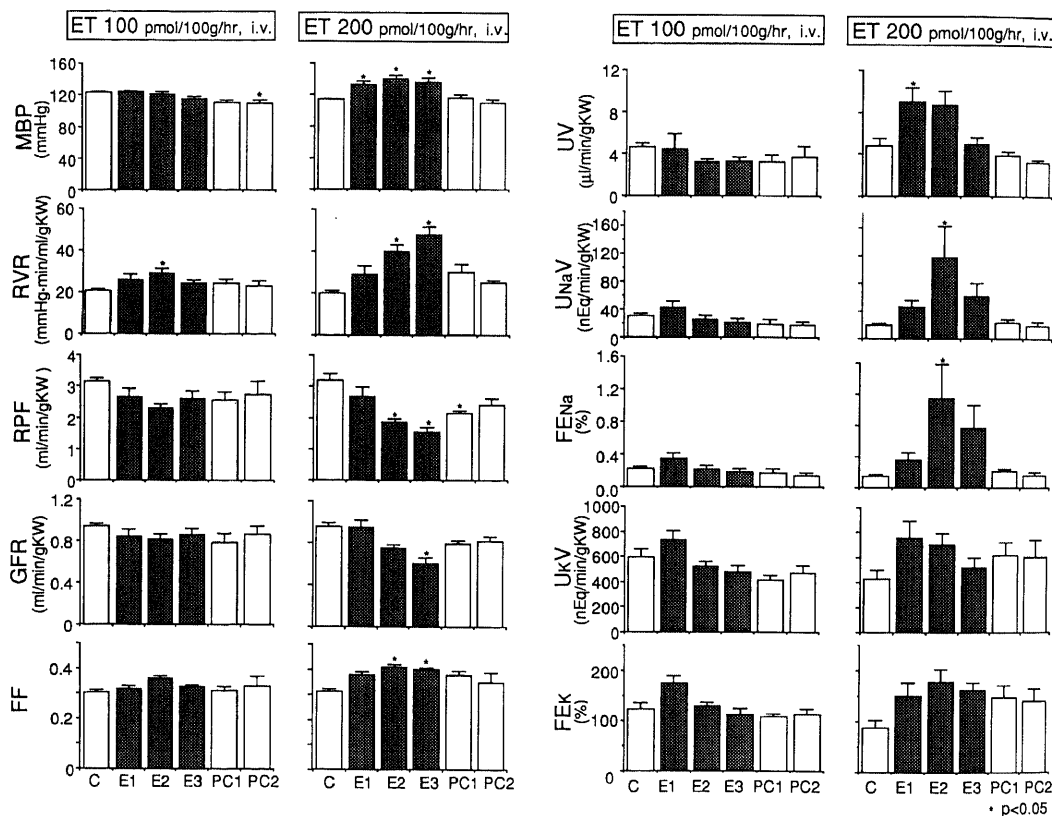


Fig. 1. Whole kidney clearance data before (C) and during administration of intravenous endothelin-1 (ET) at a rate of 100 or 200pmol/100g BW/hr for 90min (E₁, E₂, E₃), and after cessation of infusion (PC₁, PC₂). C, control period; E₁, E₂, and E₃, three successive periods of endothelin infusion each lasting 30 minutes; PC₁ and PC₂, two successive 30-minute periods after cessation of infusion. Data are expressed as means±SEM. *, p<0.05 compared with control values by one-way ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison. MBP, mean blood pressure; RVR, renal vascular resistance; RPF, renal plasma flow; GFR, glomerular filtration rate; FF, filtration fraction; 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.

の値を時間をおって示す。エンドセリン 100pmol/100g 体重/hr 投与時には, MBP は投与前 123 ± 2 から投与中 E₁期には 124 ± 2 , E₂期には 121 ± 3 , E₃期には 115 ± 4 mmHg と有意な変化を示さず, 注入中止後は PC₁期には 111 ± 4 mmHg と不変であったが, PC₂期には 110 ± 4 mmHg と投与前より低下した。RVR はエンドセリン投与により上昇し, E₂期には 28.8 ± 2.3 mmHg \cdot min/ml/gKW と投与前値の 20.6 ± 0.76 mmHg \cdot min/ml/gKW に比し40%上昇した。RPF はエンドセリンにより前値の 3.15 ± 0.11 から E₂期に最小の 2.29 ± 0.15 ml/min/gKW (-27%) へ, 減少傾向を示した。GFR は変化せず, 前値は 0.94 ± 0.02 , E₂期では 0.82 ± 0.05 ml/min/gKW であった。FF も変化なく, 前値は 0.30 ± 0.01 , E₂期では 0.36 ± 0.01 であった。

エンドセリン 200pmol/100g 体重/hr 投与時には, MBP は投与開始数分後から20ないし30分間上昇を続けた後ほぼ一定の値を維持した。各期の平均値は, 前値の 114 ± 1 から E₁期には 133 ± 4 , E₂期には 140 ± 5 , E₃期には 136 ± 5 mmHg といずれも有意に上昇し, その変化率は E₂期に最大で, 23%であった。注入中止後は, PC₁期には 116 ± 4 , PC₂期には 110 ± 4 mmHg と速やかに前値へ復した。腎血行動態は明らかに変化し, RVR は前値の 19.9 ± 1.1 から E₃期に最大値 47.7 ± 3.9 mmHg \cdot min/ml/gKW へと140%上昇した。RPF, GFR も持続注入中は漸次減少し, それぞれ前値の 3.18 ± 0.21 から E₃期に 1.54 ± 0.16 ml/min/gKW (-52%), 0.96 ± 0.04 から E₃期に 0.60 ± 0.05 ml/min/gKW (-37%) と明らかに減少した。FF は前値の 0.31 ± 0.01 から E₂期には 0.41 ± 0.01 , E₃期には 0.40 ± 0.02 (+29%) と上昇した。PC₁期に, RPF が 2.13 ± 0.10 ml/min/gKW と投与前より低いのに対して, GFR は 0.80 ± 0.03 ml/min/gKW と前値に復帰した。実体顕微鏡による腎表層のネフロンの観察では, 200pmol/100g 体重/hr のエンドセリン注入を開始すると, 数分のうちに尿細管内腔は狭小となり, 注入中止後は速やかに回復した。肉眼的にもこれに対応して腎の大きさに変化が認められ, 注入後明らかに縮小し, 中止後元の大きさに回復するのが確認された。

図1右には, エンドセリンによる UV, U_{Na}V, FE_{Na}, U_KV, FE_Kの変化を示した。100pmol/100g 体重/hr のエンドセリン投与では, いずれのパラメータにも有意な変化はみられなかった。ただし, UV は投与前値の 4.5 ± 0.4 から E₂期に 3.1 ± 0.3 μ l/min/gKW へと減少する傾向, U_{Na}V, U_KV, FE_{Na}, FE_Kはいずれも E₁期にのみ一過性に増加する傾向を示した。

200pmol/100g 体重/hr 投与では, UV は前値の 4.8 ± 0.7 から E₁期に 9.0 ± 1.4 μ l/min/gKW と1.9倍に増加した後徐々に減少し, E₃期には前値に復した。U_{Na}V は前値の 20 ± 3 nEq/min/gKW から, エンドセリン注入により E₁期には 46 ± 10 , E₂期には 117 ± 45 , E₃期には 62 ± 19 nEq/min/gKW と最大5.9倍へ増加した。中止後は, PC₁期には 24 ± 5 , PC₂期には 19 ± 6 nEq/min/gKW と前値へ回復した。FE_{Na}も U_{Na}V とほぼ平行して変化し, 投与前 0.15 ± 0.02 から E₁期には 0.36 ± 0.10 , E₂期には 1.15 ± 0.45 , E₃期には 0.77 ± 0.30 と E₂期に有意に増加した。U_KV は前値の $428 \pm$

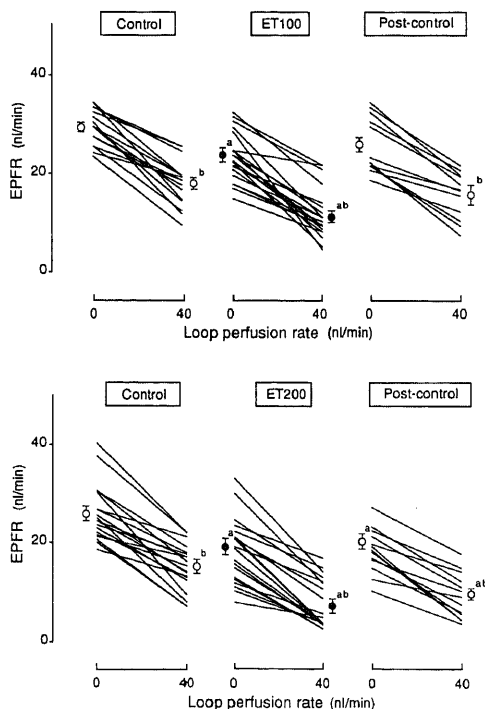


Fig. 2. Early proximal flow rate (EPFR) measured during orthograde perfusion of loop of Henle with Ringer's solution at rates of 0 and 40nl/min before (Control), during intravenous administration of endothelin-1 at a rate of 100 or 200pmol/100g BW/hr (ET 100 or 200), and after cessation of infusion (Post-control). Lines connect measurements made in the same nephron. Points and vertical bars represent means \pm SEM. a, $p < 0.05$ compared with corresponding values measured in the control period where one-way ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison was applied. b, $p < 0.05$ compared with values at zero loop perfusion where paired t-test was applied.

74nEq/min/gKW から E₁期には1.8倍の759±139, E₂期には701±98, E₃期には519±81nEq/min/gKW, FE_Kは前値の89±15から E₁期には151±27, E₂期には178±24, E₃期には162±15%と, いずれもエンドセリンによって増加する傾向を示した. Ht は 100pmol/100g 体重/hr エンドセリンでは, 投与前48.2±0.5%から E₁, E₂, E₃期ではそれぞれ47.7±0.7, 47.1±0.5, 46.9±0.6%, PC₁, PC₂期ではそれぞれ46.8±0.6, 46.4±0.7%と, 次第に低下する傾向を示した. 200pmol/100g 体重/hr の投与では, Ht は投与前47.5±0.5%から E₁, E₂, E₃期ではそれぞれ47.5±0.7, 47.9±1.0, 48.8±1.3%と次第に上昇傾向を示し, 中止後は PC₁, PC₂期にそれぞれ48.1±1.2, 46.8±1.2%と前値へ回復する傾向を示した.

II. 静脈内に投与したエンドセリンの TGF に対する効果

1. 係蹄灌流時の EPFR の変化

図2にエンドセリン投与前, 投与中, 投与中止後において, ヘンレ係蹄の灌流速度を0から40nl/minに変化させたときのEPFRの変化をネフロン毎に示した. 上段に示した100pmol/100g 体重/hrのエンドセリン投与群では, エンドセリン投与前, 投与中および投与中止後のいずれにおいても, 係蹄灌流速度増加によりすべてのネフロンでEPFRは減少した. ヘンレ係蹄非灌流時のEPFRおよび40nl/min灌流時のEPFRは, エンドセリン投与によりそれぞれ28.0±

1.1より23.4±1.2nl/min, 17.0±1.2より11.5±1.1nl/minと有意に減少し, 中止後それぞれ28.1±1.9, 17.6±1.6nl/minと前値へ回復した.

下段に示した200pmol/100g 体重/hr投与時についても, いずれの時期にも係蹄灌流速度を0から40nl/minへ増加させるとEPFRは有意に減少した. 係蹄非灌流時のEPFRは, エンドセリン投与により27.4±1.9より19.0±1.5nl/minと減少し, 投与中止後も20.3±1.8nl/minと投与前に比して低値であった. 40nl/min灌流時のEPFRも, エンドセリン投与により15.4±1.1より7.6±1.1nl/minと減少し, 中止後は9.9±1.1nl/minとその回復は不十分であった.

図3はヘンレ係蹄の灌流速度を0から40nl/minへ増したときのEPFRの変化度を示す. エンドセリン投与前, 投与中, 投与中止後のEPFRの変化度は, 100pmol/100g 体重/hr投与時にはそれぞれ11.9±1.4, 11.3±1.0, 10.4±1.4nl/min, 200pmol/100g 体重/hr投与時にはそれぞれ10.9±0.8, 11.5±1.0, 10.4±0.9nl/minといずれの投与量でもエンドセリン投与により変化しなかった.

さらに, エンドセリンのTGFに対する効果の時間的推移を明確にするために, 30分毎のクリアランス期に対応させてEPFRの変化を検討した. エンドセリン100pmol/100g 体重/hr投与では(図4, 左上段), 係蹄非灌流時のEPFRは, 投与前の29.5±0.8から投与中はE₁期22.8±1.9, E₂期25.4±1.8nl/minと減少

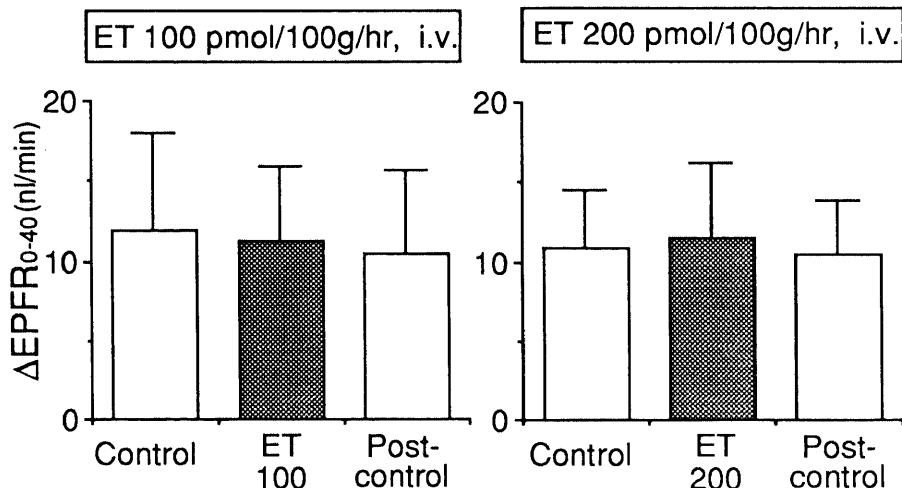


Fig. 3. The reduction of early proximal flow rate measured when increasing the rate of orthograde loop perfusion with Ringer's solution from 0 to 40nl/min (Δ EPFR₀₋₄₀) before (Control), during intravenous administration of endothelin-1 at a rate of 100 or 200pmol/100g BW/hr (ET 100 or 200), and after cessation of infusion (Post-control). Data are expressed as means±SEM.

傾向を示し, E₃期では21.5±1.5nl/min と有意に減少した. 投与中止後は PC₁期28.4±2.7, PC₂期24.9±2.1nl/min へ回復した. 40nl/min 灌流時の EPFR は, 投与前の17.8±1.2から, E₁期12.7±1.5, E₂期

10.0±3.8, E₃期11.1±1.5nl/min と減少傾向を示し, 中止後は PC₁期15.8±2.2, PC₂期16.3±1.8nl/min と回復した. いずれの時期にも, 灌流速度を0から40nl/min へ増加させると EPFR は有意に減少し

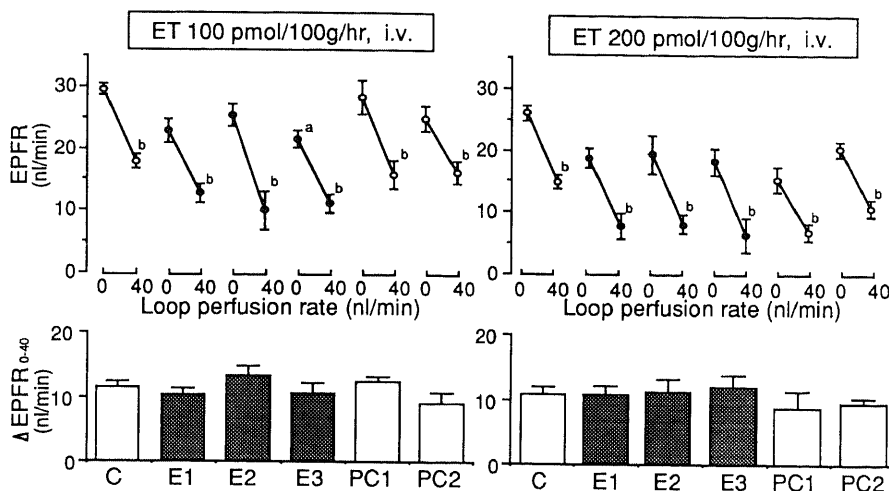


Fig. 4. Early proximal flow rate (EPFR) measured at a loop flow of 0 or 40nl/min (upper panel) and the reduction of EPFR (Δ EPFR₀₋₄₀) when increasing loop flow from 0 to 40nl/min (lower panel) before (C), during (E₁, E₂, E₃) intravenous administration of endothelin-1, at a rate of 100 or 200pmol/100g BW/hr for 90min, and after cessation of infusion (PC₁, PC₂). Abbreviations (C, E₁, E₂, E₃, PC₁, and PC₂) are the same as in Fig. 1. Data are expressed as means±SEM. a, p<0.05, compared with corresponding values measured in the control period where one-way ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison was applied. b, p<0.05, compared with values at zero loop perfusion where paired t-test was applied.

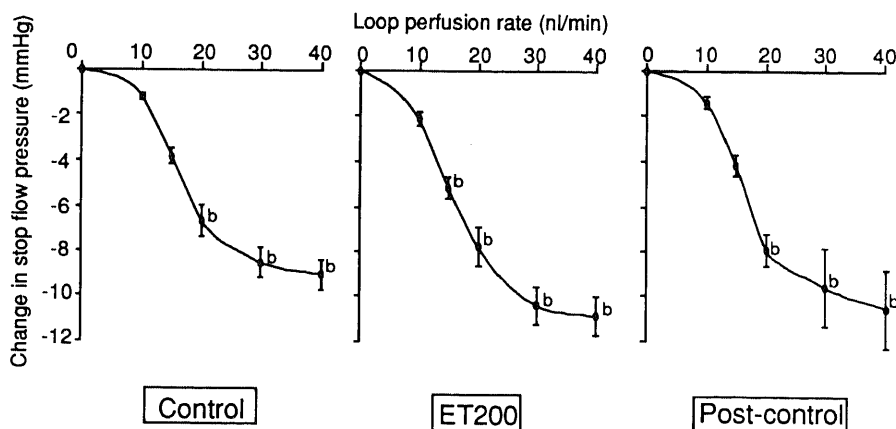


Fig. 5. Stop flow pressure responses to varying loop perfusion rate before (Control), during intravenous infusion of endothelin-1 at a rate of 200pmol/100g BW/hr (ET 200), and after cessation of infusion (Post-control). Data are expressed as means±SEM. b, p<0.05 compared with values at zero loop perfusion where one-way ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison was applied.

た。

エンドセリン 200pmol/100g 体重/hr 投与時には (図4, 右上段), 係蹄非灌流時の EPFR は, 投与前の 26.0 ± 1.3 から E₁期 18.8 ± 1.5 , E₂期 19.4 ± 3.1 , E₃期 18.2 ± 2.1 nl/min と減少傾向を示し, 中止後 PC₁期 15.3 ± 2.0 , PC₂期 20.3 ± 1.3 nl/min へ徐々に回復した。40nl/min 灌流時の EPFR は, 投与前 14.9 ± 1.1 から E₁期では 7.7 ± 2.1 nl/min と減少傾向を示し, E₂期と E₃期ではそれぞれ 8.1 ± 1.4 , 6.4 ± 2.7 nl/min と有意に減少し, 投与中止後 PC₁期 6.8 ± 1.4 , PC₂期 10.7 ± 1.4 nl/min と, 100pmol/100g 体重/hr 投与時に比べ遅れて回復した。全ての時期を通じて係蹄灌流速度の増加により有意な EPFR の減少がみられた。

図4下段には, 係蹄灌流速度を0より40nl/min に上げた際の EPFR の減少度, $\Delta EPFR_{0-40}$ の推移を示した。エンドセリン 100pmol/100g 体重/hr 投与時には, $\Delta EPFR_{0-40}$ は投与前 11.5 ± 0.9 から順に E₁期 10.3 ± 1.1 , E₂期 13.3 ± 1.5 , E₃期 10.4 ± 1.7 , PC₁期 12.4 ± 0.8 , PC₂期 9.1 ± 1.6 nl/min と変化しなかった。200pmol/100g 体重/hr 投与時にも, 投与前 10.9 ± 1.1 から順に, E₁期 10.8 ± 1.3 , E₂期 11.2 ± 2.0 , E₃期

12.0 ± 1.8 , PC₁期 8.8 ± 2.5 , PC₂期 9.5 ± 0.8 nl/min とやはり $\Delta EPFR_{0-40}$ の変化はなかった。

2. 係蹄灌流時の SFP の変化

ヘンレ係蹄灌流速度を0, 10, 15, 20, 30, 40nl/min と変化させ, 近位尿管起始部で測定した SFP を表1に, その変化度を図5に示す。エンドセリン投与前, 投与中, 投与中止後のいずれにおいても, 係蹄灌流速度の増加とともに SFP は逆S字状曲線にしたがい低下した。エンドセリン投与前および投与終了後では係蹄灌流速度が20nl/min 以上で, 投与中は15nl/min 以上で係蹄非灌流時に比べて有意な SFP の低下が観察された。係蹄非灌流時の SFP は, エンドセリン投与によって18%減少し, 中止後は前値に復した。また, エンドセリン投与中はいずれの灌流速度においても SFP は投与前より有意に小となった。

表2に, SFP の減少曲線の反応特性を示すパラメータを示した。係蹄非灌流時の SFP (SFP₀) が, エンドセリン投与により減少したが, SFP の最大変化度 SFP_{max}, 指数関数係数 k, 変曲点 $\dot{V}_{1/2}$, 変曲点におけるグラフの傾き $f'(\dot{V}_{1/2})$ のいずれについてもエンドセリン投与による変化はなかった。

Table 1. Stop flow pressure (SFP) measured during the orthograde loop perfusion with Ringer's solution at rates of 0, 10, 15, 20, 30, and 40 nl/min before (Control), during (ET), and after (Post-control) intravenous administration of endothelin-1 (200 pmol/100 g/hr).

	Loop perfusion rate (nl/min)					
	0	10	15	20	30	40
SFP (mmHg)						
Control	40.4±0.9	39.5±1.1	36.8±1.1	34.0±1.3 ^b	32.1±1.1 ^b	31.4±0.9 ^b
ET	33.3±0.3 ^a	31.0±0.5 ^a	28.0±0.2 ^{ab}	25.5±0.5 ^{ab}	23.1±0.6 ^{ab}	22.5±0.7 ^{ab}
Post-control	40.7±1.0	39.3±1.2	36.5±1.1	32.7±1.0 ^b	31.1±0.8 ^b	30.2±0.9 ^b

Values are means±SEM. a, p<0.05 compared with corresponding values measured in the control period. b, p<0.05 compared with values at zero loop perfusion. One-way ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison was applied.

Table 2. Effect of intravenous administration of endothelin-1(ET) on feedback curve parameters.

	SFP ₀ (mmHg)	SFP _{max} (mmHg)	k	f' ($\dot{V}_{1/2}$)	$\dot{V}_{1/2}$ (nl/min)
Control	40.4±0.9	9.0±0.7	-0.22±0.01	-0.52±0.06	17.5±0.6
ET	33.3±0.3 ^a	10.8±0.9	-0.20±0.01	-0.52±0.06	16.2±1.1
Post-control	40.7±1.0	10.5±1.0	-0.22±0.01	-0.58±0.07	17.1±1.1

Values are means ± SEM. a, p<0.05 compared with control values. One way ANOVA followed by Scheffé's multiple comparison was applied. SFP₀, the stop flow pressure (SFP) measured in the absence of loop flow; SFP_{max}, the maximal response of SFP; k, the exponential curve constant; f' ($\dot{V}_{1/2}$), the maximal slope; $\dot{V}_{1/2}$, the flow rate at which the feedback response is half-maximum.

考 察

エンドセリンの血圧に対する作用については、静脈内1回投与により、初期に1分以内の降圧相があり、続いて40ないし60分に及ぶ持続性の昇圧がみられる¹²⁾¹⁵⁾。1回投与での血中半減期は約7分と短いことより²⁰⁾、持続する昇圧は、受容体と結合したエンドセリンがきわめて解離しにくいいため持続性に作用を発現することによると推測されている²⁰⁾。エンドセリンを持続的に静脈内へ投与した今回の成績では、100pmol/100g 体重/hr の投与量では血圧に影響しないことが明らかにされた。また 200pmol/100g 体重/hr 投与により昇圧するが、一回静注とは異なり投与初期に降圧相のないことが判明した。エンドセリン投与開始15ないし20分間で血圧は徐々に上昇して一定値に達し、投与を中止するとただちに下降し始め、約30分で前値に復した。エンドセリンは、ブタおよびラットの肺よりプロスタサイクリンを、ラットの腸間膜より内皮由来血管弛緩因子を遊離させ²⁴⁾、ラットの心房筋からの心房性ナトリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic polypeptide, ANP) の分泌を刺激する¹²⁾¹³⁾²⁵⁾²⁶⁾。Stasch ら²⁶⁾は、ラットに 0.3 μg/kg 体重 (12pmol/100g 体重) の比較的少量のエンドセリンを一回静注し、血中 ANP 濃度は2.6倍に、ANP のセカンドメッセンジャーであるサイクリック GMP は4倍にそれぞれ増加することを示している。エンドセリン一回投与時の降圧は、用量依存的で²⁰⁾、総末梢血管抵抗の減少を伴い²¹⁾¹⁵⁾、これらの血管弛緩物質の関与が示唆されている。今回のように少量を持続的に投与した場合には、投与初期の血中エンドセリン濃度の上昇が小さく、したがって降圧因子の遊離が少ないため、降圧反応が検出されなかった可能性が考えられる。

本実験での昇圧相は持続投与後20分でプラトーに達し、中止後速やかに回復するパターンを示した。これには、今回の投与量ではエンドセリンの血中濃度の上昇が小さく、かつ投与20分前後ではほぼ一定となるため血圧も一定となる可能性が考えられる。また、尿量の増加による体液量の減少およびエンドセリンによる降圧物質の遊離が、昇圧に抑制的に作用した可能性もある。さらに、培養血管平滑筋細胞に、 10^{-9} M のエンドセリンを60分間作用させると、エンドセリン受容体の数が減少する²⁰⁾と報告されており、受容体の脱感作も関係してくる可能性も考えられる。

エンドセリンの全腎に対する効果としては、非昇圧量の 100pmol/100g 体重/hr でも RVR は40%増加し、RPF は27%の減少傾向を示した。この成績は、エ

ンドセリンによる血管収縮作用が、他の報告と同様¹⁴⁾¹⁶⁾、全身血管床に比し腎血管床により強く作用することを示している。200pmol/100g 体重/hr では、昇圧率を上回る140%の RVR の増加が見られ、GFR、RPF もそれぞれ37%、52%減少した。これらの変化は、血圧の変化とは異なりエンドセリン投与中を通じて徐々に増強した。このことも、エンドセリンに対する腎血管床と全身血管床の反応性の違いを示している。

FF は 200pmol/100g 体重/hr では29%上昇した。FF は、GFR を規定する因子である P_{cc} または糸球体毛細管限外濾過係数 (glomerular capillary ultrafiltration coefficient, K_f) の上昇により、あるいは糸球体細動脈が輸出側優位に緊張した場合に上昇する。このうち K_f は、エンドセリンにより不変ないしわずかに低下するので^{16)~17)}、FF の上昇には関与しないと考えられる。また、今回の成績で、200pmol/100g 体重/hr のエンドセリン投与により、 P_{cc} の指標である SFP は低下しており、 P_{cc} の関与も考えられない。本実験で、GFR、RPF の両者が低下することから輸入細動脈、輸出細動脈がともに収縮することは明らかであり、かつ FF の上昇することから、輸出細動脈の収縮がより強いと考えられる。この成績は、輸入細動脈優位の収縮を示す単離糸球体を用いた成績²⁰⁾と一致しない。このような差異を生ずる原因として、生体内における他の血管作動物質を介する影響が考えられる。イヌでエンドセリンの持続静注により血漿レニン活性の上昇すること¹²⁾¹³⁾、エンドセリンの腎血管収縮作用がアンジオテンシン II 拮抗薬により消失すること²⁰⁾が報告されている。循環血中のアンジオテンシン II は輸出細動脈を収縮させることが知られており³⁰⁾、本実験にみられる輸出細動脈の強い収縮も、エンドセリンにより賦活されたレニン-アンジオテンシン系を介する作用による可能性も考えられる。また、エンドセリンにより分泌を刺激される ANP は、輸入細動脈拡張作用を有する³¹⁾ので、輸入、輸出細動脈の緊張の差に関与している可能性もある。エンドセリン投与中止後、RVR、GFR の回復に遅れて RPF、FF が回復したことは、輸入細動脈の抵抗が輸出細動脈のそれに先行して減弱することを示し、これもエンドセリンによる輸出側優位の腎動脈収縮パターンを示唆するものと考えられる。腎表面の尿細管の実体顕微鏡下の観察でも、エンドセリン注入により狭小化した近位尿細管の内腔は、注入中止後数分のうちに拡張をはじめた。これはクリアランス実験における GFR の速やかな回復と一致する所見と考えられる。

UV および U_{NaV} は 100pmol/100g 体重/hr のエンドセリン投与では変化なく、倍量投与では増加した。このナトリウム利尿に際し、GFR が低下し、 U_{NaV} および FE_{Na} が増加していることより、尿細管での再吸収が低下していることが明白である。尿細管での再吸収低下の機序としては、血圧が上昇した 200pmol/100g 体重/hr のエンドセリン投与時のみナトリウム利尿がみられたことより、血圧上昇による近位尿細管周囲血管内の物理的因子の変化が考えられる。King ら¹⁸⁾は、大動脈を人工的に絞扼し、腎灌流圧の上昇を抑制すると、エンドセリン投与によるナトリウム利尿が完全に抑制されることから、尿細管周囲血管内の静水圧の上昇の関与を考えている。ただし、輸出細動脈の収縮は、尿細管周囲血管内静水圧の上昇を制限する方向に作用する。また、今回みられた FF の上昇は、尿細管周囲血管内の膠質浸透圧が上昇することを示唆し、これらはナトリウム利尿に抑制的に作用する。圧利尿以外の機序の関与については、まず、エンドセリンによる腎血管の強い収縮が腎虚血をもたらす、酸素需要の大きい近位尿細管での NaCl 能動輸送を障害し、水およびナトリウムの再吸収を低下させる可能性が考えられる。ただし、UV および U_{NaV} の増加は可逆的であるので、このような尿細管障害の程度は軽度と考えられる。また、エンドセリンは髄質内層集合管由来培養細胞のナトリウム・カリウム ATP アーゼを阻害するので²⁰⁾、尿細管への直接作用により、水、ナトリウムの再吸収が低下した可能性もある。さらにエンドセリンには前述の ANP 分泌刺激作用のほか、集合管におけるバゾプレッシン作用の抑制²⁰⁾が報告されており、これらもナトリウム利尿に関与しうる。

Ht は高用量のエンドセリンでのみ上昇傾向を認めしたが、投与中止後は体液量を補っていないにもかかわらず Ht は前値に回復した。したがって、利尿による体液喪失は Ht の上昇の一部に関与するにすぎないと考えられる。ラットに 300pmol の高用量のエンドセリンを一回静注すると、血漿タンパク濃度が上昇することから¹⁹⁾、循環血漿量の減少が示唆されている。また、イヌにおいて、72pmol/100g 体重/hr のエンドセリン静注による Ht の上昇は、脾臓の摘出により認められなくなることから、脾臓の収縮が循環赤血球量を増加させると考えられている¹⁹⁾。さらに、イヌおよびヒトの主幹動脈および静脈の摘出標本では、エンドセリンの血管収縮作用は静脈において動脈の 5 ないし 10 倍も強い²¹⁾。したがって、静脈系の血管収縮により、毛細血管における静水圧が上昇し、血管内から間質へ

水が移行する可能性も考えられる。このようにエンドセリン投与時の Ht の上昇にはいくつかの機序が関与するものと考えられる。循環血漿量が減少すれば、これにより活性化される交感神経系およびレニン-アンジオテンシン系により腎血管が収縮する可能性が考えられる。

TGF 反応については、エンドセリン投与前後も、ヘンレ係蹄灌流速度を上げると、EPFR および SFP はいずれも減少した。ヘンレ係蹄灌流速度の増加は、尿細管流量および尿細管液中の NaCl 濃度を上昇させ、TGF 機構のシグナルとされる、緻密斑における NaCl 転送量を増加させる。その結果 TGF 機構が作動して、輸入細動脈が収縮し、 P_{cc} は低下し、SNGFR は減少する。今回の実験で測定した EPFR は SNGFR に、SFP は糸球体濾過圧にほぼ等しい。したがって、係蹄灌流速度の増加による SFP および EPFR の減少は、本実験系において TGF 機構が正常に作動することを示している。TGF の反応度を示す、係蹄灌流速度の増加にともなう EPFR の減少度は、エンドセリンの投与前後を通じて変化しなかった。さらに SFP 実験でも、エンドセリン投与前後も各灌流速度において SFP は同程度に減少した。したがって、エンドセリンは、フィードバック反応の大きさには影響を及ぼさないと考えられる。また、TGF 機構が最も鋭敏に作用する灌流速度を表す、SFP の減少曲線の変曲点、および変曲点におけるグラフの傾きの指標である指数関数係数は変わらなかった。したがって、TGF 機構の反応特性もエンドセリンにより明らかに変化しないことが判明した。

係蹄非灌流時すなわち緻密斑へ TGF シグナルの到達しない状況での EPFR の減少は、TGF 機構の作動しない状態で SNGFR が低下することを示している。200pmol/100g 体重/hr のエンドセリン投与による係蹄非灌流時の EPFR の減少率は 27.0% であるのに対して、SFP の低下率は 17.6% であった。SNGFR は K_f と糸球体濾過圧の積で表され、糸球体濾過圧は P_{cc} から血漿膠質浸透圧を減じた値にほぼ等しい。今回の実験では、血漿タンパク濃度は測定していないが、Ht の増加率は 2.7% にすぎず、エンドセリン投与でタンパク濃度が増加したとする報告¹⁹⁾での Ht の増加率 18% に比し明らかに低く、本実験での血漿タンパク濃度の上昇は小さいと推測される。したがって本実験における SFP の低下は糸球体濾過圧の低下を反映していると考えられる。 K_f については低下するもの¹⁹⁾、不変とするもの¹⁹⁾があり一定していない。Badr ら¹⁹⁾は、ラットに 600pmol/hr のエンドセリンを

持続静注し、SNGFR は54%減少し、 K_f は68%低下すると報告している。 K_f が変化しないとする報告では、エンドセリンの投与量は 38pmol/hr 持続静注¹⁹、0.4 ng/min 腎動脈内持続注入(全身投与では約 100pmol/100g 体重/hr に相当)¹⁷といずれも少ない。今回の投与量 200pmol/100g 体重/hr では、SNGFR、SFP の低下率から計算すると、 K_f は11%低下したことになり、SNGFR の低下には P_{oc} および K_f の両者の低下が関与すると考えられる。

今回、200pmol/100g 体重/hr の投与量で、腎灌流圧の上昇にかかわらず SFP は低下することから、糸球体の前に位置する血管の収縮がエンドセリンによって生じたと考えられる。SFP が係蹄非灌流時、すなわち TGF のシグナルが緻密斑へ到達しない状態でも低下することから、この血管収縮が TGF に依存しないことが明らかである。さらに、エンドセリン投与中であっても、係蹄灌流により SFP が投与前と同様に低下することから、エンドセリンによる糸球体前血管の収縮に加えて TGF による輸入細動脈の収縮も生ずるものと考えられる。TGF の反応性がエンドセリンにより変化しなかったことから、エンドセリンは輸入細動脈より中枢側に位置する血管を収縮させるものと考えられる。

エンドセリンは非昇圧量でも腎血管収縮作用を有する^{10,19}。本実験でも 100pmol/100g 体重/hr のエンドセリン投与により、MBP には何ら変化はなかったが、RVR は40%も増加した。また、200pmol/100g 体重/hr 投与時には MBP は22.8%増加したにすぎなかったが、RVR は140%増加し、エンドセリンが腎血管を著明に収縮させることが明らかにされた。一回静注の成績では、1nmol/kg のエンドセリンにより、Wistar-Kyoto ラットで、総末梢血管抵抗の71%増加に対し、RVR の増加は156%にも達すること、また、血管抵抗の増加率は腎動脈で腸間膜動脈の4.4倍となることが示されている²。このように、エンドセリンが特に腎血管に対して強い収縮作用を示す機序はまだ明らかにされていない。今回、200pmol/100g 体重/hr のエンドセリン投与下ではナトリウム利尿がみられるので、緻密斑への NaCl の負荷量は増し、TGF 機構に対する NaCl シグナルも増加していると考えられる。エンドセリン投与時も TGF 機構は正常に反応するので、シグナルの増加があれば、TGF 機構を介する輸入細動脈の収縮が増強するものと考えられる。高張食塩水をラット動脈内へ注入すると、ナトリウム利尿とともに TGF 機構を介して SNGFR が低下する²⁰。エンドセリン投与時においても、尿細管の流れ

を妨げない状態、すなわち TGF のループの閉じた状態では、TGF 機構が作動し、輸入細動脈を収縮させ、より中枢側に生ずるエンドセリンによる血管収縮と相まって、腎血管抵抗の増加をもたらしている可能性が考えられる。

結 論

イナクチン麻酔下の雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、エンドセリンを経静脈的に持続投与し、以下の結論を得た。

1. 100pmol/100g 体重/hr の投与量では昇圧せず、GFR、FF は変化しなかったが、RVR は増加し、RPF は減少傾向を示した。UV、 $U_{Na}V$ 、 U_KV 、 FE_{Na} 、 FE_K に変化はなかった。

2. 200pmol/100g/hr では MBP は上昇し、中止後速やかに下降した。RVR は著明に増加し、RPF、GFR は減少し、FF は上昇した。UV、 $U_{Na}V$ 、 FE_{Na} は増加し、 U_KV 、 FE_K は増加傾向を示した。

3. TGF 機構の作動しない状態での SNGFR を反映する係蹄非灌流時の EPFR は、エンドセリンにより減少した。TGF の反応度を示す係蹄灌流速度増加による EPFR の減少度は、エンドセリンにより変化しなかった。

4. P_{oc} の指標である SFP は、係蹄灌流速度を 0 から 40nl/min へ増加させると逆 S 字状曲線にしたがい減少した。エンドセリン投与によっても SFP の低下および TGF の反応特性を示す SFP の減少曲線の形は変化しなかった。

以上より、エンドセリンは腎血管に対して強い収縮作用を有することが確認された。腎内では糸球体前血管、輸入、輸出細動脈のいずれも収縮させるが、とくに輸出細動脈により強く作用することが示唆される。昇圧量のエンドセリンでは、GFR の減少にもかかわらず尿細管再吸収の低下によるナトリウム利尿がみられる。エンドセリンは TGF 機構の反応性を変化させない。ナトリウム利尿にともない TGF シグナルが増大すれば、TGF 機構を介しての輸入細動脈の収縮が、腎血管収縮を増強する可能性がある。

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高島利一助教授に心から感謝致します。あわせて本研究遂行に多大の御協力を頂きました金沢大学医学部工作係田畑繁之技官、本教室の清水真紀研究補助員ならびに、有益な御助言を頂きました本教室腎・高血圧班の諸先生に深く感謝致します。なお、本論文の要旨の一部は、第32回日本腎

臓学会総会 (1989年浜松), 第15回日本微小循環学会総会 (1990年秋田), 第11回国際腎臓学会金沢サテライトシンポジウム (1990年七尾)において発表した。

文 献

- 1) Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, Y., Yazaki, Y., Goto, K. & Masaki, T.: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, **332**, 411-415 (1988).
- 2) Hoffman, A., Grossman, E., Öhman, K. P., Marks, E. & Keiser, H. R.: Endothelin induces an initial increase in cardiac output associated with selective vasodilation in rats. *Life Sci.*, **45**, 249-255 (1989).
- 3) Jones, C. R., Hiley, C. R., Pelton, J. T. & Miller, R. T.: Autoradiographic localization of endothelin binding sites in kidney. *Eur. J. Pharmacol.*, **163**, 379-382 (1989).
- 4) Takagi, M., Matsuoka, H., Atarashi, K. & Yagi, S.: Endothelin: a new inhibitor of renin release. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **157**, 1164-1168 (1988).
- 5) Cozza, E. N., Gomez-Sanchez, C. E., Foeking, M. F. & Chiou, S.: Endothelin binding to cultured calf adrenal zona glomerulosa cells and stimulation of aldosterone secretion. *J. Clin. Invest.*, **84**, 1032-1035 (1989).
- 6) 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).
- 7) Schnermann, J. & Briggs, J. P.: Function of the juxtaglomerular apparatus: Local control of glomerular hemodynamics. In D. W. Seldin & G. Giebisch (eds.), *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, 1st ed., p669-697, Raven Press, New York, 1985.
- 8) 高島利一: 尿細管糸球体フィードバック機構と傍糸球体装置. *代謝*, **21**, 13-20 (1984).
- 9) Briggs, J. P. & Schnermann, J.: Macula densa control of renin secretion and glomerular vascular tone: evidence for common cellular mechanisms. *Renal Physiol.*, **9**, 193-203 (1986).
- 10) 高島利一: 容量調節系における tubuloglomerular feedback の役割. *日本臨床*, **45**, (夏期増刊号), 368-375 (1987).
- 11) Davis, J. M., Häberle, D. A., Kawata, T., Schmitt, E., Takabatake, T. & Wohlfeil, S.: Increased tubuloglomerular feedback mediated suppression of glomerular filtration during acute volume expansion in rats. *J. Physiol.*, **395**, 553-576 (1988).
- 12) Goetz, K. L., Wang, B. C., Madwed, J. B., Zhu, J. L. & Leadley, R. J. Jr.: Cardiovascular, renal, and endocrine responses to intravenous endothelin in conscious dogs. *Am. J. Physiol.*, **255**, R1064-R1068 (1988).
- 13) Miller, W. M., Redfield, M. M. & Burnett, J. C. Jr.: Integrated cardiac, renal, and endocrine actions of endothelin. *J. Clin. Invest.*, **83**, 317-320 (1989).
- 14) López-Farré, A., Montañés, I., Millás, I. & López-Novoa, J. M.: Effect of endothelin on renal function in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **163**, 187-189 (1989).
- 15) King, A. J., Brenner, B. M. & Anderson, S.: Endothelin: a potent renal and systemic vasoconstrictor peptide. *Am. J. Physiol.*, **256**, F1051-F1058 (1989).
- 16) Badr, K. F., Murray, J. J., Breyer, M. D., Takahashi, K., Inagami, T. & Harris, R. C.: Mesangial cell, glomerular and renal vascular responses to endothelin in the rat kidney. *J. Clin. Invest.*, **83**, 336-342 (1989).
- 17) Kon, V., Yoshioka, T., Fogo, A. & Ichikawa, I.: Glomerular actions of endothelin in vivo. *J. Clin. Invest.*, **83**, 1762-1767 (1989).
- 18) Takabatake, T.: Feedback regulation of glomerular filtration rate in the denervated rat kidney. *Kidney Int.*, **22** (suppl. 12), S129-S135 (1982).
- 19) Führ, 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).
- 20) 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).

- 21) **Briggs, J. P., Schubert, G. G. & Schnermann, J.**: Quantitative characterization of the tubuloglomerular feedback response: effect of growth. *Am. J. Physiol.*, **247**, F808-F815 (1984).
- 22) **Shiba, R., Yanagisawa, M., Miyauchi, T., Ishii, Y., Kimura, S., Uchiyama, Y., Masaki, T. & Goto, K.**: Elimination of intravenously injected endothelin-1 from the circulation of the rat. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **13** (Suppl. 5), S98-S101 (1989).
- 23) **Hirata, Y., Yoshimi, H., Takaichi, S., Yanagisawa, M. & Masaki, T.**: Binding and receptor down-regulation of a novel vasoconstrictor endothelin in cultured rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett.*, **239**, 13-17 (1988).
- 24) **de Nucci, G., Thomas, R., D'Orleans-Juste, P., Antunes, E., Walder, C., Warner, T. D. & Vane, J. R.**: Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **85**, 9797-9800 (1988).
- 25) **Fukuda, Y., Hirata, Y., Yoshimi, H., Kojima, T., Kobayashi, Y., Yanagisawa, M. & Masaki, T.**: Endothelin is a potent secretagogue for atrial natriuretic peptide in cultured rat atrial myocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **155**, 167-172 (1988).
- 26) **Stasch, J. P., Hirth-Dietrich, C., Kazda, S. & Neuser, D.**: Endothelin stimulates release of atrial natriuretic peptides in vitro and in vivo. *Life Sci.*, **45**, 869-875 (1989).
- 27) **Lippton, H., Goff, J. & Hyman, A.**: Effects of endothelin in the systemic and renal vascular beds in vivo. *Eur. J. Pharmacol.*, **155**, 197-199 (1988).
- 28) **Loutzenhiser, R., Epstein, M., Hayashi, K. & Horton, C.**: Direct visualization of effects of endothelin on the renal microvasculature. *Am. J. Physiol.*, **258**, F61-F68 (1990).
- 29) **Banks, R. O.**: Cardiovascular and renal effects of endothelin in the dog and in the rat. *Kidney Int.*, **35** (Abstract), 309 (1989).
- 30) **Edwards, R. M.**: Segmental effects of norepinephrine and angiotensin II on isolated renal microvessels. *Am. J. Physiol.*, **244**, F526-F534 (1983).
- 31) 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).
- 32) **Zeidel, M. L., Brady, H. R., Kone, B. C., Gullans, S. R. & Brenner, B. M.**: Endothelin, a peptide inhibitor of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ in intact renal tubular epithelial cells. *Am. J. Physiol.*, **257**, C1101-C1107 (1990).
- 33) **Goetz, K., Wang, B. C., Leadley, R. Jr. Zhu, J. L., Madwed, J. & Bie, P.**: Endothelin and sarafotoxin produce dissimilar effects on renal blood flow, but both block the antidiuretic effects of vasopressin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **191**, 425-427 (1989).
- 34) **Cocks, T. M., Broughton, A., Dib, M., Sudhir, K. & Angus, J. A.**: Endothelin is blood vessel selective on a variety of human and dog vessels in vitro and on regional blood flow in the conscious rabbit. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **16**, 243-246 (1989).
- 35) **Schnermann, J., Briggs, J. & Wright, F. S.**: Feedback-mediated reduction of glomerular filtration rate during infusion of hypertonic saline. *Kidney Int.*, **20**, 462-468 (1981).

Effects of Endothelin on Renal Hemodynamics and Tubuloglomerular Feedback
Takuyuki Ise, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University,
Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., **99**. 841—854 (1990)

Key words endothelin, micropuncture, single nephron glomerular filtration rate, tubuloglomerular feedback, rat

Abstract

Renal clearance and micropuncture studies were carried out in anesthetized Sprague-Dawley rats to examine the effects of endothelin-1 (ET) on renal hemodynamics and the tubuloglomerular feedback (TGF) mechanism. ET infusion at 100 pmol/100 gBW/hr (i.v.) did not raise the mean blood pressure (MBP) but increased the renal vascular resistance (RVR) by 40%. Renal plasma flow (RPF) tended to decrease by 27%. Glomerular filtration rate (GFR), filtration fraction (FF), urine volume (UV), and the urinary excretion of sodium (UNaV) did not change. ET infusion at 200 pmol/100 gBW/hr increased MBP from 114 ± 1 to 140 ± 5 mmHg, RVR from 19.9 ± 1.1 to 47.7 ± 3.9 mmHg · min/ml/gKW (+140%) and FF from 0.31 ± 0.01 to 0.41 ± 0.01 . GFR and RPF decreased by 37% and 52% while UV and UNaV increased by 1.9 and 5.9 times, respectively. The feedback responsiveness was estimated by changes in the early proximal flow rate (EPFR) when increasing the loop of Henle perfusion with Ringer's solution from 0 to 40 nl/min. Loop perfusion decreased EPFR from 28.0 ± 1.1 to 17.0 ± 1.2 nl/min before ET infusion; from 23.4 ± 1.2 to 11.5 ± 1.1 nl/min during infusion of ET at the lower dose; and from 28.1 ± 1.9 to 17.6 ± 1.6 nl/min after cessation of infusion. With the higher dose of ET, EPFR decreased from 27.4 ± 1.9 to 15.4 ± 1.1 before; from 19.0 ± 1.5 to 7.6 ± 1.1 during; and from 20.3 ± 1.8 to 9.9 ± 1.1 nl/min after cessation of ET infusion. ET reduced EPFR measured in the absence of distal flow but did not affect the loop flow-dependent reduction of EPFR. The effects of the higher dose of ET on the quantitative characteristics of the TGF mechanism, were estimated by the responses in stop flow pressure (SFP) to loop perfusion. Before the infusion of ET, the maximal change in SFP, the exponential curve constant, and the inflection point of the curve were 9.0 ± 0.7 mmHg, -0.22 ± 0.01 , 17.5 ± 0.6 nl/min, respectively. These were not affected by ET infusion; 10.8 ± 0.9 mmHg, -0.20 ± 0.01 , and 16.2 ± 1.1 nl/min. In conclusion, ET induces renal vasoconstriction and at a pressor dose, natriuresis. ET increases both pre- and postglomerular resistances, exerting preferential action on the efferent arteriole. ET does not alter TGF responsiveness even at a pressor dose.