

# Effect of Atrial Natriuretic Polypeptide on 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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8113">http://hdl.handle.net/2297/8113</a>

## 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

金沢大学医学部内科学第一講座 (主任: 服部 信教授)

川 端 雅 彦

(平成1年3月10日受付)

Sprague-Dawley 系ラットを用い、イナクチン麻酔下に腎微小穿刺実験を行い、心房性ナトリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic polypeptide, ANP) の尿細管糸球体フィードバック (tubuloglomerular feedback, TGF) 機構に及ぼす影響について検討した。実験1. 静脈内に投与した ANP の TGF に対する効果。ANP  $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  の静脈内投与により平均血圧は13%低下したが、腎血管抵抗は39%低下し、糸球体濾過値は40%、腎血漿流量は43%それぞれ増加し、濾過率は不変であった。尿量は2倍となり、尿中 Na 排泄量は15倍と著増した。TGF 機構の反応性は、ヘンレ係蹄をリング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流量 (early proximal flow rate, EPFR) の変化で評価した。ヘンレ係蹄の灌流速度を 10, 20, 40 nl/min とすると、EPFR は非灌流時の 24.5 nl/min より 22.1, 16.8, 12.9 nl/min と減少し、TGF 反応が認められた。ANP を投与すると、TGF 機構の作動しない非灌流時の EPFR は 32.2 nl/min と増加し、また灌流速度を 10, 20, 40 nl/min としても EPFR は 32.2, 29.6, 29.5 nl/min と減少せず、TGF 反応の抑制がみられた。実験2. ヘンレ係蹄内に直接注入した ANP の TGF に対する効果。生理食塩水単独では、EPFR は非灌流時の 31.5 nl/min より 20, 40 nl/min の灌流でそれぞれ25.7, 46.0%の減少がみられた。生理食塩水に  $10^{-10}\text{M}$ ,  $10^{-8}\text{M}$  の ANP を加えても、EPFR の減少は同程度であった。 $10^{-7}\text{M}$  ANP では 20, 40 nl/min 灌流時の EPFR の減少率は10.0, 14.9%と明らかに低くなり、 $10^{-6}\text{M}$  の ANP では EPFR の減少はみられず、TGF は抑制された。実験3. 尿細管腔内に注入した ANP のヘンレ係蹄の水、Cl の再吸収に対する効果。生理食塩水によりヘンレ係蹄を 20 nl/min で微小灌流した時、ヘンレ係蹄における水の再吸収率は43.7%、Cl の再吸収率は70.8%、遠位尿細管起始部での Cl イオン濃度は 75 mEq/l であった。生理食塩水に  $10^{-8}\text{M}$  ANP を加え 20 nl/min で灌流しても、ヘンレ係蹄での水の再吸収率は50.0%、Cl の再吸収率は77.4%、遠位尿細管起始部での Cl イオン濃度は 69 mEq/l と ANP の影響はなかった。40 nl/min の係蹄灌流時についても ANP の効果はみられなかった。以上より、静脈内に投与した ANP は、糸球体前血管拡張に作用するとともに輸入細動脈を拡張し、TGF 機構を抑制する。ヘンレ係蹄に直接投与した ANP は、高濃度では尿細管腔側から TGF を抑制する。その機序として、密集斑部位での Cl シグナルの量的変化や、同部位での Cl 輸送の変化は否定的であり、シグナルの伝達機構以降の段階での抑制が示唆される。

---

**Key words** rat, micropuncture, loop of Henle, chloride signal, single nephron glomerular filtration rate

---

Abbreviations: ANP, atrial natriuretic polypeptide;  $A_{PF}$ , polyfructosan concentration in arterial plasma; ED, early distal segment; EPFR, early proximal flow rate; FF, filtration fraction; GFR, glomerular filtration rate; Ht, hematocrit; KW, kidney weight; LP, late proximal segment; MBP, mean blood pressure; RBF, renal blood flow; RPF, renal

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。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密集斑部位における濃度依存性の Cl イオン転送量とする考えが有力である<sup>9)</sup>。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反応性は低下し<sup>10)</sup>、個体の容量調節に働くことが示唆されている。

心房由来の Na 利尿ペプチド (atrial natriuretic polypeptide, ANP) は、心房筋の上昇により主に心房筋から分泌され、血管平滑筋弛緩作用、Na 利尿作用を有し、ホルモンとして血圧調節や体液バランスに影響を及ぼす<sup>9)</sup>。ANP は腎には直接作用し、腎血管を拡張させ腎血流量を増加させること、糸球体濾過を増加させ、Na 利尿に働くことが明らかにされている。尿細管に対する作用については、集合管での Na 再吸収抑制作用が示されているが<sup>9-10)</sup>、集合管以外の部位についてはまだ意見が一定していない<sup>7-10)</sup>。

ANP と TGF 機構はともに腎において個体の体液調節に影響すると考えられるが、その相互関係は不明であり、本研究では、ANP の TGF 機構に及ぼす作用を解明することを目的とした。まず、ANP の血管拡張作用が TGF 機構の最終的な作用部位である輸入細動脈にどのような影響を及ぼすかについて明らかにするため、このペプチドを静脈内より投与し腎血行動態および TGF 機構の反応性への影響を検討した。次にヘンレ係蹄尿細管腔内に直接 ANP を投与し、TGF 機構の反応性への影響について検討した。その際、密集斑における TGF 系の Cl シグナルの量、あるいはその輸送に対する ANP の影響を明らかにするため、遠位尿細管起始部の尿細管液 Cl 濃度および、ヘンレ係蹄尿細管の水、Cl 再吸収についても検討を加えた。

#### 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, 0.10 mEq/g; K, 0.24 mEq/g を含む) (日本チャールズリバー, 厚木) にて飼育した体重 205 から 285 g の雄性 Sprague-Dawley 系ラット 30 匹

を用いた。麻酔はイナクチン (Byk Gulden, Konstanz, FRG) 110 mg/kg の腹腔内投与にて行ない、実験中必要に応じて適宜経静脈的に追加投与した。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固定し、尿管カテーテル PE-10 (Clay Adams) を挿入した。腎の表面には 37.5

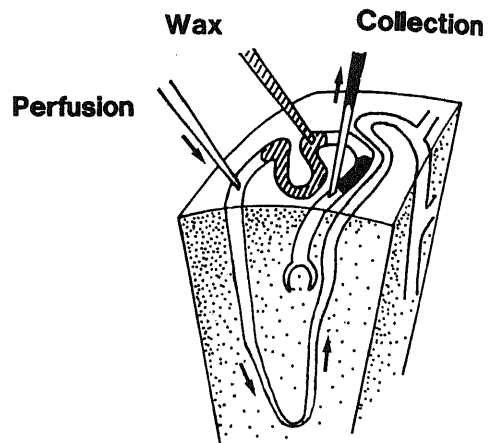


Fig. 1. Schematic presentation of tubular fluid collection during the orthograde loop perfusion. Collection pipette filled with stained mineral oil, positioned in an early proximal segment; loop perfusion pipette in a late proximal segment, connected to the microperfusion pump; paraffin wax pipette, used for the injection of the paraffin wax into the mid proximal segment to prevent retrograde flow of the perfusate. Small volume of the mineral oil is injected from the collection pipette for the quantitative collection of the proximal tubular fluid. Arrows indicate directions for the perfusate perfusion and the tubular fluid collection.

plasma flow; RVR, renal vascular resistance; SNGFR, single nephron glomerular filtration rate;  $TF_{Cl}$ , chloride concentration in tubular fluid;  $TF_{PF}$ , polyfructosan concentration in tubular fluid; TGF, tubuloglomerular feedback;  $U_{ClV}$ , urinary excretion

℃に加熱した流動パラフィンを滴下した。またカテテル (PE-50) に 25G 針を連結し、その先端を腎静脈起始部に穿刺し、留置し、これより適宜腎静脈血を採取した。

## II. 実験 1. 静脈内に投与した ANP の TGF に対する効果

### 1. ヘンレ係蹄微小灌流実験 (図 1)

手術操作完了 1 時間後に次に述べる腎微小穿刺実験を開始し、麻酔開始より 6 時間以内に終了した。

まず、近位尿管に穿刺したピペットより微量の 0.1% FD & C Keystone 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管終末部 (late proximal segment, LP) および遠位尿管起始部 (early distal segment, ED) を識別した。ついで近位尿管終末部に先端の外径が 10~11  $\mu\text{m}$  の微小灌流用のピペットを穿刺し、微量注入ポンプ (W. Klotz, Physiology Institute, Munich, FRG) を用いてヘンレ係蹄をリンゲル液により、10, 20, 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 3 分間待機し、同一ネフロンの近位尿管の穿刺しうる最も近位部で 2 分間尿管内液を採取した。この部位における流量 (early proximal flow rate, 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<sup>13)</sup>。採取用ピペットには先端の外径が 10~12  $\mu\text{m}$  のものを用い、これに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。尿管内液の容量は内径が一定のガラス毛細管 (Microcaps, Drummond Scientific Co., Broomall, USA) を利用して測定した。なお、近位尿管の近位部と終末部との間の尿管腔内には融点 44℃ のパラフィンを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。

### 2. 係蹄灌流時の EPFR に対する ANP の効果

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合成の  $\alpha$  型ヒト ANP ( $\alpha$ -human atrial natriuretic polypeptide<sup>12)</sup>, ANP-1-28) (ペプチド研究所, 大阪) を溶解し、ANP の注入速度が 0.5  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$  体重となるようにした。リンゲル液によるヘンレ係蹄の微小灌流時の EPFR の変化に対する

ANP の効果を、ANP 注入前、および注入中止後と比較した。

## III. 実験 2. 尿管腔内に投与した ANP の TGF に対する効果

0.1% FD & C Keystone Green で着色した生理食塩水に ANP を溶解し、 $10^{-10}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}\text{M}$  の濃度の ANP 溶液を作成した。これを灌流液として用い、実験 1. で述べた方法により、10, 20, 40 nl/min の速度でヘンレ係蹄を微小灌流し、EPFR を測定した。

## IV. 実験 3. 尿管腔内に注入した ANP のヘンレ係蹄水、Cl 再吸収に対する効果

0.1% FD & C Keystone Green および 0.1% ポリフラクトサンを加えた生理食塩水と、これにさらに  $10^{-6}\text{M}$  の ANP を溶解した生理食塩水を作成した。これら 2 種類の溶液を灌流液として、近位尿管終末部より 20 ないし 40 nl/min の一定速度でヘンレ係蹄を微小灌流し、同時に同一ネフロンの遠位尿管起始部で 3 ないし 5 分間尿管内液を採取した。尿管内液は容量を測定したのち、ポリフラクトサン濃度を Vurek らの微量蛍光法<sup>13)</sup>で、Cl 濃度を微量電気滴定法<sup>14)</sup>にて、いずれも 5~10 nl のサンプルを用い、各サンプルにつき 2 回ずつ測定した。ヘンレ係蹄への Cl 負荷量は、灌流液の Cl 濃度 (chloride concentration in late proximal fluid,  $[\text{TF}_{\text{Cl}}]$  LP) と灌流速度 (late proximal flow rate,  $[\text{V}_l]$  LP) の積 ( $[\text{TF}_{\text{Cl}}]$  LP  $\cdot$   $[\text{V}_l]$  LP) であり、遠位尿管への Cl 負荷量は遠位尿管起始部における Cl 濃度 (chloride concentration in early distal fluid,  $[\text{TF}_{\text{Cl}}]$  ED) と同部位における尿管液流量 (early distal flow rate,  $[\text{V}_l]$  ED) の積 ( $[\text{TF}_{\text{Cl}}]$  ED  $\cdot$   $[\text{V}_l]$  ED) である。この両負荷量の差 ( $[\text{TF}_{\text{Cl}}]$  LP  $\cdot$   $[\text{V}_l]$  LP -  $[\text{TF}_{\text{Cl}}]$  ED  $\cdot$   $[\text{V}_l]$  ED) をヘンレ係蹄での Cl 再吸収量として算出し、これをさらにヘンレ係蹄への Cl 負荷量で除したものをヘンレ係蹄での Cl 再吸収率とした。ヘンレ係蹄での水再吸収量は  $[\text{V}_l]$  LP -  $[\text{V}_l]$  ED により算出し、さらにこれを灌流速度 ( $[\text{V}_l]$  LP) で除してヘンレ係蹄水再吸収率とした。

## V. 腎クリアランス法

実験 1. では、腎微小穿刺実験と並行して動脈血、腎静脈血および尿の採取を行い、尿量 (urine volume, UV), 尿中 Na, K, Cl 排泄量 (urinary excretion

of chloride;  $U_{\text{K}}V$ , urinary excretion of potassium;  $U_{\text{Na}}V$ , urinary excretion of sodium;  $U_{\text{PF}}$ , polyfructosan concentration in urine; UV, urine volume;  $V_s$ , tubular flow rate;  $V_{\text{PF}}$ , polyfructosan concentration in renal vein plasma

of sodium, potassium, and chloride,  $U_{Na}V$ ,  $U_KV$ , and  $U_{Cl}V$ , 動脈血漿, 腎静脈血漿および尿中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), 平均血圧 (mean blood pressure, MBP) を測定した. さらにこれらより以下の式にしたがい, 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) を算出し, 腎重量 (kidney weight, KW) あたりで示した. なお, 実験 2. および実験 3. においては,  $UV$ ,  $U_{Na}V$ , MBP, GFR を測定した.

$$GFR(\text{ml}/\text{min}/\text{g KW}) = \frac{U_{PF}(\text{mg}/\text{dl}) \cdot A_{PF}(\text{mg}/\text{dl})^{-1} \cdot UV(\mu\text{l}/\text{min}/\text{g KW}) \cdot 10^3}{}$$

$$RPF(\text{ml}/\text{min}/\text{g KW}) = \frac{A_{PF} \cdot \{A_{PF} - V_{PF}(\text{mg}/\text{dl})\}^{-1} \cdot GFR}{}$$

$$RBF(\text{ml}/\text{min}/\text{g KW}) = RPF \cdot (1 - Ht)^{-1}$$

$$FF = GFR \cdot RPF^{-1}$$

$$RVR(\text{mmHg}/\text{ml}/\text{min}/\text{g KW}) = \frac{MBP(\text{mmHg}) \cdot RBF^{-1}}{}$$

血漿および尿中ポリフラクトサン濃度はアントロン法<sup>19</sup>により, Na, K 濃度は炎光光度計 Model-775 (日立, 東京) を用いて, Cl 濃度はクロライドメーター 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.

VI. 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 Duncan の多重比較法<sup>10</sup>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. 実験 1. 静脈内に投与した ANP の TGF に對する効果
  - 1. 係蹄灌流時の EPFR の変化 (図 2, 左)

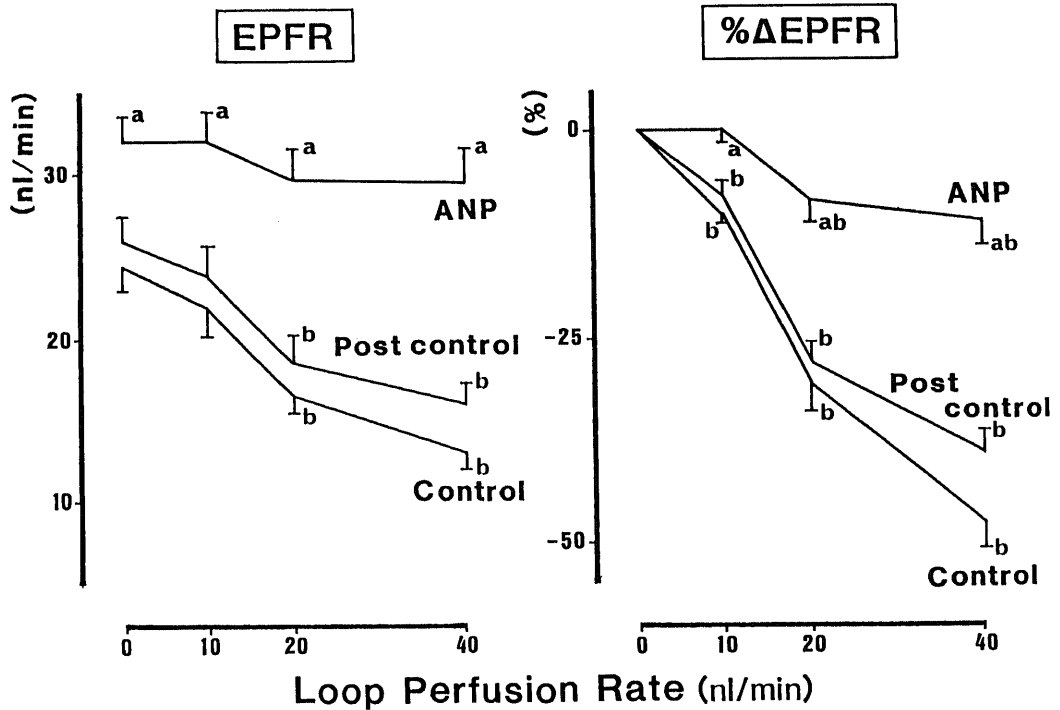


Fig. 2. Early proximal flow rate (EPFR) (left) and percentage changes of EPFR (%ΔEPFR) (right) measured during the orthograde loop perfusion with Ringer's solution at rates of 0, 10, 20, 40 nl/min before (Control), during (ANP), and after (Postcontrol) intravenous ANP administration (0.5 μg/kg body wt/min). Values are means±SEM. a, P<0.05 compared with corresponding control values; b, P<0.05 compared with values at zero loop perfusion. One-way ANOVA followed by Duncan's multiple comparison is applied.

ANP 投与前には、EPFR は、非灌流時の  $24.5 \pm 1.6$  nl/min から、リンゲル液によるヘンレ係蹄灌流速度を 10, 20, 40 nl/min と増すにしたがい  $22.1 \pm 1.7$ ,  $16.8 \pm 0.9$ ,  $12.9 \pm 1.1$  nl/min と減少し、20, 40 nl/min 灌流時の変化は有意であった。ANP を静脈内に投与すると、非灌流時の EPFR は  $32.2 \pm 1.7$  nl/min に増加し、10, 20, 40 nl/min 灌流時の EPFR はそれぞれ  $32.2 \pm 1.7$ ,  $29.6 \pm 1.8$ ,  $29.5 \pm 2.1$  nl/min と、ヘンレ係蹄灌流による EPFR の減少はみられなくなった。また各灌流速度での EPFR はいずれも ANP 投与前のそれぞれに比し明らかに大であった。ANP の投与中止後には、非灌流時の EPFR は  $25.9 \pm 1.6$  nl/min とほぼ ANP 投与前の値に復し、EPFR は灌流速度を増すにしたがい  $24.1 \pm 1.7$ ,  $18.7 \pm 1.6$ ,  $15.9 \pm 1.3$  nl/min と減少し、ANP 投与前と同様の変化がみられた。

## 2. 係蹄灌流時の EPFR の減少率 ( $-\% \Delta$ EPFR) (図 2. 右)

非灌流状態から灌流速度を 10, 20, 40 nl/min へと増した際の EPFR の減少率は、ANP 投与前にはそれぞれ  $10.1 \pm 1.1$ ,  $30.4 \pm 3.6$ ,  $47.4 \pm 3.0$ % と、灌流速度を増すにしたがい減少率は大となった。ANP の投与中には、EPFR の減少率はそれぞれ  $0.2 \pm 1.5$ ,  $8.3 \pm 2.3$ ,  $9.2 \pm 3.1$ % と、いずれの灌流速度においても、投与前に比し明らかに小であった。また、ANP 投与中では 20, 40 nl/min 灌流時のみ、非灌流時に比し減少率の有意の変化がみられた。ANP の投与中止後には、EPFR の減少率はそれぞれ  $7.7 \pm 1.9$ ,  $27.9 \pm 2.3$ ,  $39.3 \pm 2.2$ % とほぼ ANP 投与前値に回復した。

## 3. 腎クリアランスの成績 (表 1)

ANP の静脈内投与により MBP は 120 から 105 mmHg と 15 mmHg (13%) 低下したが、RVR は 39% 低下、RBF は 44% 増加した。この際、GFR は 40%, RPF は 43% それぞれ増加し、FF は不変であった。UV は 2 倍、 $U_{Na}V$  は 15 倍に増加した。 $U_KV$ ,  $U_{Cl}V$  もそれぞれ 3 倍に増加した。ANP の投与停止により、MBP は 111 mmHg へ上昇したが、ANP 投与前に対しては有意に低値であった。MBP 以外のパラメータはすべてほぼ前値に回復した。Ht には ANP 投与前後を通じて変化はみられなかった。

## II. 実験 2. 尿細管腔内に投与した ANP の TGF に対する効果

### 1. 係蹄灌流時の EPFR の変化 (図 3. 左)

生理食塩水の係蹄灌流時には、非灌流状態から灌流速度を 10, 20, 40 nl/min と増すにしたがい EPFR は、 $31.5 \pm 1.0$  nl/min から  $29.8 \pm 1.3$ ,  $23.4 \pm 1.2$ ,  $17.1 \pm 1.2$  nl/min と明らかに減少した。 $10^{-10}$ M ANP の灌流時には、非灌流状態から灌流速度を 10, 20, 40 nl/min と増すにしたがい、EPFR は  $30.6 \pm 1.5$  nl/min から  $27.6 \pm 1.4$ ,  $21.6 \pm 0.9$ ,  $16.0 \pm 0.6$  nl/min,  $10^{-8}$ M ANP の灌流時には  $29.1 \pm 1.4$  nl/min から  $26.7 \pm 1.6$ ,  $23.0 \pm 1.5$ ,  $19.2 \pm 1.2$  nl/min となり、それぞれ生理食塩水と同程度の EPFR の減少が認められた。 $10^{-7}$ M ANP の灌流時には、灌流速度の順に EPFR は  $28.6 \pm 0.8$ ,  $27.7 \pm 1.1$ ,  $25.7 \pm 0.9$ ,  $24.3 \pm 0.7$  nl/min と EPFR の変化が明らかに小となり、40 nl/min 灌流時の EPFR にのみ有意の減少がみられるにすぎなかった。さらに  $10^{-5}$ M ANP の灌流時

Table 1. Whole kidney clearance data before (control), during (ANP), and after (postcontrol) intravenous ANP administration.

	Control	ANP	Postcontrol
MBP(mmHg)	$120 \pm 2.7$	$105 \pm 3.7^*$	$111 \pm 4.0^*$
RBF(ml/min/g KW)	$4.95 \pm 0.50$	$7.16 \pm 0.89^*$	$5.44 \pm 0.65$
RVR(mmHg/ml/min/g KW)	$24.8 \pm 2.25$	$15.0 \pm 1.6^*$	$20.7 \pm 1.9$
GFR(ml/min/g KW)	$0.86 \pm 0.06$	$1.20 \pm 0.15^*$	$0.93 \pm 0.06$
RPF(ml/min/g KW)	$2.59 \pm 0.18$	$3.71 \pm 0.41^*$	$2.90 \pm 0.31$
FF	$0.34 \pm 0.02$	$0.33 \pm 0.02$	$0.32 \pm 0.02$
UV( $\mu$ l/min/g KW)	$2.67 \pm 0.49$	$5.29 \pm 1.07^*$	$3.27 \pm 0.84$
$U_{Na}V$ (nEq/min/g KW)	$21 \pm 5$	$306 \pm 156^*$	$34 \pm 16$
$U_KV$ (nEq/min/g KW)	$408 \pm 126$	$1,177 \pm 192^*$	$497 \pm 88$
$U_{Cl}V$ (nEq/min/g KW)	$241 \pm 77$	$805 \pm 222^*$	$36 \pm 14$
Ht(%)	$46.8 \pm 0.9$	$47.3 \pm 1.0$	$46.0 \pm 1.1$

Values are means  $\pm$  SEM; \*,  $p < 0.05$  compared with control by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple comparison.

には、灌流速度の順に EPFR は  $29.0 \pm 1.1$ ,  $28.7 \pm 1.2$ ,  $27.3 \pm 1.0$ ,  $25.2 \pm 1.1$  nl/min と、EPFR の有意の減少はみられなくなった。ヘンレ係蹄非灌流時および 10 nl/min, 20 nl/min 灌流時の EPFR は、生理食塩水灌流と各濃度の ANP 灌流との間では推計学的に差はなかったが、40 nl/min 灌流時の EPFR は、 $10^{-7}$ M ANP,  $10^{-8}$ M ANP の灌流時に生理食塩水の灌流時に比し明らかに高値であった。

2. 係蹄灌流時の EPFR の減少率 ( $-\% \Delta$ EPFR) (図 3. 右)

生理食塩水の係蹄灌流時には、灌流速度を 10, 20, 40 nl/min と増すと、非灌流時に対し EPFR は  $5.6 \pm 2.6$ ,  $25.7 \pm 3.2$ ,  $46.0 \pm 2.4$  減少し、10 nl/min 灌流時を除き有意の変化がみられた。 $10^{-10}$ M ANP の灌流では、EPFR は 10, 20, 40 nl/min 灌流時にそれぞれ  $9.6 \pm 1.7$ ,  $28.7 \pm 3.0$ ,  $47.2 \pm 1.8$  と有意に減少し、その変化は生理食塩水灌流時と同程度であった。 $10^{-8}$ M ANP の灌流でも、EPFR はそれぞれ  $9.0 \pm$

2.1,  $21.8 \pm 2.1$ ,  $34.4 \pm 2.5$  と有意に減少したが、40 nl/min 灌流時の減少率は生理食塩水灌流時に比し明らかに小であった。 $10^{-7}$ M ANP の灌流では、EPFR の減少率は灌流速度を上げてても  $3.4 \pm 1.9$  より、 $10.0 \pm 2.1$ ,  $14.9 \pm 2.4$ %,  $10^{-8}$ M ANP の灌流では  $1.3 \pm 1.0$  より、 $6.1 \pm 1.2$ ,  $13.1 \pm 2.2$  と、生理食塩水灌流時の EPFR の減少率に比し明らかに小で、非灌流時と比較すると 20, 40 nl/min 灌流時のみ有意の変化がみられた。なお、10 nl/min 灌流時には、生理食塩水と各濃度の ANP の灌流との間で、EPFR の減少率に差はみられなかった。

3. 腎クリアランスの成績

実験中の UV は、 $5.2 \pm 0.5 \mu$  l/min/g KW, GFR は  $1.11 \pm 0.05$  ml/min/g KW,  $U_{NaV}$  は  $38.2 \pm 7.5$  pEq/min/g KW であり、MBP は  $112 \pm 2$  mmHg であった。

III. 実験 3. 尿管腔内に注入した ANP のヘンレ係蹄水、Cl 再吸収に対する効果 (表 2)

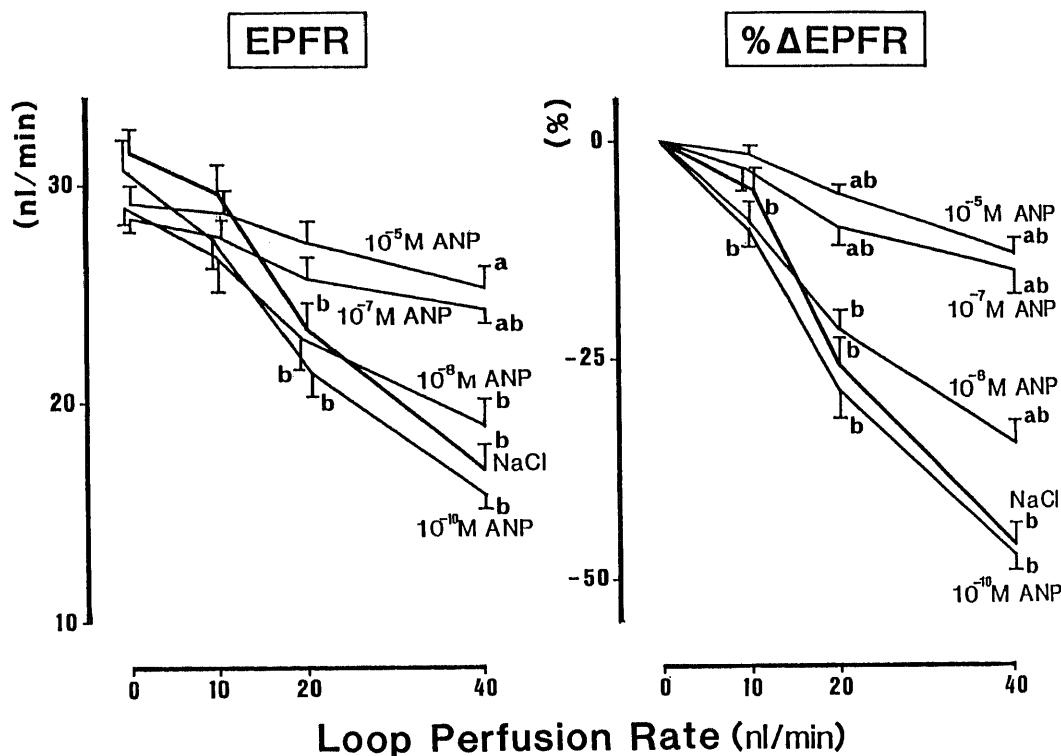


Fig. 3. EPFR (left) and percentage changes of EPFR ( $\% \Delta$ EPFR) (right) measured during the orthograde loop perfusion using 0.9% saline containing ANP ( $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ , or  $10^{-10}$ M). Values are means  $\pm$  SEM. a,  $P < 0.05$  compared with corresponding values measured during 0.9% saline perfusion (NaCl); b,  $P < 0.05$  compared with values at zero loop perfusion. One-way ANOVA followed by Duncan's multiple comparison is applied.

生理食塩水を近位尿細管終末部より 20 nl/min の速度でヘンレ係蹄に微小灌流し、同一ネフロン内の遠位尿細管起始部で回収したところ、この部位における尿細管液流量は  $11.3 \pm 0.5$  nl/min、ヘンレ係蹄水再吸収量は  $8.7 \pm 0.5$  nl/min、水再吸収率は  $43.7 \pm 2.8\%$  と算出された。遠位尿細管起始部での尿細管液 Cl 濃度は  $75 \pm 4$  mEq/l で、ヘンレ係蹄 Cl 再吸収量は  $2216 \pm 81$  pEq/min、Cl 再吸収率は  $70.8 \pm 2.8\%$  であった。生理食塩水に  $10^{-5}$ M の ANP を加え、同じく 20 nl/min でヘンレ係蹄を灌流すると、遠位尿細管起始部における流量は  $10.0 \pm 0.4$  nl/min で、ヘンレ係蹄水再吸収量は  $10.0 \pm 0.4$  nl/min、水再吸収率は  $50.0 \pm 1.8\%$ 、遠位尿細管起始部での尿細管液 Cl 濃度は  $69 \pm 5$  mEq/l、ヘンレ係蹄 Cl 再吸収量は  $2390 \pm 56$  pEq/min、Cl 再吸収率は  $77.4 \pm 1.8\%$  で、これらの指標には生理食塩水単独灌流時との間で差はみられなかった。40 nl/min の灌流速度においても、各指標について生理食塩水と  $10^{-5}$ M ANP の灌流の間に差はみられなかった。なお実験中の UV は  $3.6 \pm 0.4 \mu$  l/min/g KW、GFR は  $1.00 \pm 0.04$  ml/min/g KW、 $U_{NaV}$  は  $22.6 \pm 7.9$  pEq/min/g KW であり、MBP は  $117 \pm 3$  mmHg であった。

### 考 察

ANP  $0.5 \mu$ g/min/kg 体重の静脈内投与により、MBP は 13% 下降し、RVR は 31% 低下、RBF は 44% 増加した。この成績は ANP の腎血管拡張作用を示す。その際、RPF と GFR がそれぞれ約 40% 増加し、

FF は不変であったことから、ANP は主に糸球体前血管を拡張させることが示唆される。糸球体前血管の拡張は、ネフロンへの血流量を増加させると同時に、糸球体毛細血管内圧を上昇させ、GFR 増加に作用する。ANP による GFR の増加の機序としては、糸球体への直接作用<sup>1)</sup>も考えられ、ANP が糸球体メサンギウム細胞に作用し、限外濾過係数を増加させること<sup>2)</sup>が示唆されている。

これらの腎血行動態の変化に比し、水、電解質排泄の変化は著しく、ANP の静脈内投与により UV は約 2 倍、 $U_{NaV}$  は約 15 倍、 $U_{KV}$  は約 3 倍に増加した。単なる GFR の増加のみでは、糸球体尿細管バランス現象により尿細管再吸収が代償的に増加することに加えて、ヘンレ係蹄の流量の増加が TGF 機構を介して GFR を減少させる結果、著明な Na 利尿は生じないと考えられ、ANP による Na 利尿に関しては、GFR の増加に加え ANP の尿細管に対する作用<sup>3)</sup>を考える必要がある。まず、ANP の尿細管に対する直接作用については、単離尿細管を用いた実験では、家兎のヘンレ係蹄で  $10^{-6}$ M の ANP を管腔側と血管側のいずれに灌流しても水、Cl 輸送に変化はみられないことが報告されている<sup>4)</sup>。今回の微小穿刺実験では、 $10^{-5}$ M という極めて高濃度の ANP をヘンレ係蹄に直接灌流しても、係蹄の水、Cl 再吸収に影響を与えないことが明らかにされた。したがって、生体内においても ANP が尿細管腔内よりヘンレ係蹄尿細管の水、Cl 輸送に直接作用することはないと考えられる。近位尿細管に対する ANP の作用については、単離近位尿細管

Table 2. Effects of intraluminal ANP on the reabsorption of water and chloride in the loop of Henle.

Perfusion rate	[V <sub>i</sub> ]ED (nl/min)	[TF <sub>PF</sub> ]ED (mg/100ml)	[TF <sub>Cl</sub> ]ED (mEq/l)	[H <sub>2</sub> O]reab. (nl/min)	[H <sub>2</sub> O]reab. (%)	[Cl]reab. (pEq/min)	[Cl]reab. (%)
I. 20 nl/min							
ANP(-), n=15	$11.3 \pm 0.5$	$224 \pm 10$	$75 \pm 4$	$8.7 \pm 0.5$	$43.7 \pm 2.8$	$2,216 \pm 81$	$70.8 \pm 2.8$
ANP(+), n=15	$10.0 \pm 0.4$	$248 \pm 8$	$69 \pm 5$	$10.0 \pm 0.4$	$50.0 \pm 1.8$	$2,390 \pm 56$	$77.4 \pm 1.8$
II. 40 nl/min							
ANP(-), n=19	$26.9 \pm 1.1$	$160 \pm 9$	$113 \pm 3$	$13.1 \pm 1.1$	$32.7 \pm 2.8$	$3,038 \pm 157$	$49.8 \pm 2.7$
ANP(+), n=19	$27.8 \pm 0.7$	$168 \pm 4$	$114 \pm 3$	$12.2 \pm 0.7$	$30.6 \pm 1.7$	$2,867 \pm 98$	$47.7 \pm 1.7$

The normal saline containing 0.1% polyfructosan with or without  $10^{-5}$ M ANP [ANP(+)] or ANP(-)] was perfused into the loop of Henle from the late proximal segment at 20 or 40 nl/min. The perfusates were collected at the early distal segment and the reabsorption of water and chloride in the loop of Henle was calculated. Values are means  $\pm$  SEM; [V<sub>i</sub>]ED, tubular flow rate at the early distal segment; [TF<sub>PF</sub>]ED, polyfructosan concentration in the early distal tubular fluid; [TF<sub>Cl</sub>]ED, chloride concentration in the early distal tubular fluid; [H<sub>2</sub>O]reab., water reabsorption in the loop of Henle; [Cl]reab., chloride reabsorption in the loop of Henle; n, number of nephrons.



の管腔側と血管側への ANP 灌流実験<sup>9)</sup>、微小穿刺実験による近位尿管再吸収の検討<sup>9)</sup>により否定されている。髄質内層部の集合管については、単離摘出した尿管細胞で、ANP がサイクリック GMP を増加させ<sup>9)</sup>、酸素消費量を低下させる<sup>9)</sup>こと、さらに生体内でも ANP がこの部位での Na 再吸収率を低下させる<sup>9)</sup>ことから、この部位に対する ANP の作用が考えられ、これが Na 利尿に関与する可能性がある。ついで、血行動態を介し間接的に尿管 Na 再吸収が抑制される機序としては、近位尿管周囲血管網での物理的因子の変化と、髄質血流の増加による髄質尿管での浸透圧勾配の低下 (medullary washout の機序)<sup>10)</sup>の関与する可能性が考えられる。近位尿管での受動的な水、Na 輸送は、尿管周囲毛細血管と尿管間質それぞれの膠質浸透圧および静水圧、いわゆる物理的因子により規定される。今回の実験では FF が不変であったことから、尿管周囲毛細血管内の膠質浸透圧に変化はないものと考えられる。しかし、ANP の投与により糸球体前血管の拡張がみられたことから、糸球体毛細血管内圧が上昇し<sup>20)</sup>、ついで糸球体より遠位に位置する尿管周囲血管の静水圧が高まり、近位尿管での水、Na の再吸収が抑制されることが考えられる。一方、髄質の直血管には ANP の受容体が存在する<sup>21)</sup>とされ、ANP の静脈内投与により髄質血流は増加する<sup>22-24)</sup>。さらに、総腎 GFR を変化させない少量の ANP の投与によっても、皮質髄質間の血流再分布により傍髄質ネフロンでの SNGFR の増加と髄質血流の増加がみられる<sup>25)</sup>ことが示されており、ANP は比較的低濃度より髄質血管への作用を現し始め、この部位の血流を増加させ、浸透圧勾配の低下<sup>10)</sup>により同部位の尿管の Na 再吸収の抑制に働く可能性がある。著者ら<sup>26)</sup>は、今回用いた ANP の投与量では、表在ネフロンの遠位尿管起始部で測定した SNGFR の増加率は、総腎の GFR の増加率より大きいことを認め、この量の ANP が傍髄質や髄質の血管よりも皮質表層部の血管により強く作用することを示唆した。したがって、このような比較的高濃度の ANP の投与では、medullary washout の機序に加え、この皮質表層部の GFR と血流の増加が相加的に働き、著しい Na 利尿を生じさせている可能性がある。ANP はレニン・アルドステロン系に抑制的に作用する<sup>27)</sup>ため、この系を介しての Na 利尿も考える。しかし今回の実験では、ANP 投与数分後、急速に著明な Na 利尿が発現しており、少なくとも投与直後の Na 利尿に関しては、レニン・アンジオテンシン系の変化が関与する可能性は少ないものと考えられる。

ヘンレ係蹄微小灌流実験において、リングル液の灌流速度を増すにしたがい同一ネフロンの EPFR が段階的に減少した今回の成績は、TGF 機構の存在を示す。すなわち、係蹄灌流量が増加すると、密集斑部位の NaCl 濃度が上昇するため、TGF 機構が刺激され、輸入細動脈の収縮により EPFR が減少するものと考えられる<sup>28)</sup>。一方、ヘンレ係蹄の非灌流時には密集斑への尿管液の流れが遮断されるため、TGF 系は作動しない。ANP を静脈内に投与すると係蹄非灌流時の EPFR は明らかに増加したが、このことは、ANP が、TGF 系の作動しない状態において糸球体前血管を拡張していることを示唆する。さらにヘンレ係蹄灌流時の EPFR 減少は、ANP の静脈内投与により明らかに小となり、TGF 機構の抑制がみられた。この TGF 抑制機序としては、TGF 系の作動による輸入細動脈の収縮反応が、ANP により抑制されたことが考えられる。すなわち血流により運ばれた ANP が、糸球体前血管の最も糸球体に近い部分である輸入細動脈にも直接働いて拡張する結果、TGF 機構の作動過程の最終段階で本機構を抑制するものと考えられる。ANP により単離輸入細動脈が拡張すること<sup>29)</sup>、また微小穿刺実験では輸入細動脈の血管抵抗が低下し、SNGFR が増加すること<sup>20)</sup>が示されており、これらは今回の成績において示唆された輸入細動脈に対する ANP の作用を支持する。

今回、 $10^{-7}$ M 以上の濃度の ANP を直接ヘンレ係蹄に灌流すると、TGF 機構が抑制されることが明らかとなった。ANP が尿管管腔側から TGF を抑制する機序としては、(1)密集斑への TGF シグナルを減少させる、(2)同部位でのシグナルの感知を抑制する、あるいは(3)シグナル感知後の伝達機構あるいはそれ以降に影響を及ぼすことが考えられる。管腔側から最も強く TGF 機構を抑制した  $10^{-5}$ M の ANP をヘンレ係蹄に直接投与しても、遠位尿管起始部での Cl 濃度は生理食塩水の灌流との間に差を認めなかった。この部位での Cl 濃度は密集斑部位での Cl 濃度を反映するので、密集斑での TGF のシグナルは、ANP 灌流時も生理食塩水灌流時と同程度であると考えられる。したがって、ANP による管腔内からの TGF 機構抑制作用は、シグナルの量的な変化を介するものではないと考えられる。また、密集斑細胞は係蹄上行脚尿管細胞に取り囲まれて位置し、フロセマイドなどを用いた検討から、電解質輸送特性は上行脚細胞と類似すると推測されている<sup>30)</sup>。今回、ANP の管腔内投与によりヘンレ係蹄尿管の水、Cl の再吸収には変化はみられなかった。このように係蹄尿管の Cl 輸送に対して

作用を有しない ANP が、密集斑細胞での Cl シグナルの感知に影響を及ぼし、TGF 機構を抑制するとは考えにくい。密集斑細胞の細胞間隙は、管腔液の成分の変化により可逆的に開閉する<sup>30)</sup>。また、輸入細動脈の内皮細胞は液性因子が容易に通過しうると考えられる有孔構造を有し、輸入細動脈、糸球体毛細血管、尿管腔と、この三者に囲まれた傍糸球体細胞間質との間には液性因子の交通が想定されている<sup>30)</sup>。したがって、尿管腔から傍糸球体細胞間質へ移行した ANP が TGF のシグナル伝達過程に影響を及ぼしたり、糸球体外メサンギウムに影響を及ぼす、あるいは輸入細動脈に作用し、TGF 反応を抑制する可能性が考えられる。

ANP は、体液量の増大により上昇した心房圧が心房を伸展し、これが刺激となり心房より分泌される<sup>30)</sup>。今回の成績で明らかとなったように、ANP が腎における体液保持機構である TGF を抑制することは、水、Na を排泄して過剰の体液を是正する点で、GFR の増加や尿管 Na 再吸収の抑制と同様、ANP の重要な作用と考えられる。ラットで、体重の 4% に相当する中等量の急性容量負荷を行うと、UV、 $U_{Na}V$ 、総腎 GFR の増加、SNGFR の増加がみられるが、あらかじめ ANP のモノクローナル抗体で前処置すると、これらの変化が著しく減弱する<sup>2)</sup>。これは、内因性の ANP が、容量負荷状態での腎血行動態の変化に重要な役割を果たしていることを示している。今回静脈内に投与した ANP の血中濃度は、正常ラットでの血中濃度 ( $10 \sim 10^2$  pg/ml 前後) と比較して  $10^{2-3}$  倍程度は高値であり、尿管腔内投与で TGF 機構に抑制効果を認めた  $10^{-5}$  M の ANP 濃度は、正常血中濃度に対して  $10^{5-6}$  倍の薬理学的濃度である。一方、糸球体を濾過した ANP は主に近位尿管の管腔側膜で分解、異化され<sup>30)</sup>、ANP の尿中排泄率は 0.5~1% とされる<sup>30)</sup> ことから、ヘンレ係蹄管腔液中の ANP 濃度は、血中濃度に比し低値となると推測される。したがって、今回の成績からは、生理的濃度の ANP が TGF にどのように作用するかは明らかではない。しかし、うっ血性心不全患者の血中 ANP 濃度は、正常人の数百倍程度にまで上昇することが報告されており<sup>30)</sup>、病的に血中濃度が上昇した状況では、血管側から ANP が作用し TGF 系を抑制する可能性が考えられる。

## 結 論

イナクチン麻酔下の Sprague-Dawley 系ラットに ANP を投与して以下の結論を得た。

1. 静脈内に ANP  $0.5 \mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$  体重を投与したところ、MBP の低下、RVR の低下、GFR の増加、水、Na 利尿を認め、FF は不変であった。

2. ANP の静脈内投与により、SNGFR を反映する EPFR は増加し、その変化により評価した TGF 機構の反応性は可逆的に抑制された。

3. ヘンレ係蹄を  $10^{-5} \sim 10^{-10}$  M の ANP で微小灌流したところ TGF 機構は、 $10^{-7}$  以上の濃度の ANP により抑制された。

4. ヘンレ係蹄を  $10^{-5}$  M ANP で微小灌流した際、ヘンレ係蹄の水、Cl 再吸収能、および遠位尿管起始部での Cl 濃度は ANP の影響を受けなかった。

以上より、ANP は主として糸球体前血管を拡張するとともに、輸入細動脈の拡張により TGF 機構を抑制する。薬理学的高濃度と考えられる  $10^{-7}$  M 以上では尿管腔内からも抑制作用を及ぼすが、 $10^{-5}$  M の濃度においてもヘンレ係蹄に対する尿管水、Cl 再吸収抑制作用は認められない。管腔側からの抑制の機序として、密集斑への Cl シグナルの量的変化や、シグナルに対する同部位の感受性の変化は否定的であり、シグナルの伝達ないしはそれ以降の機構への作用が示唆される。

## 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服部信教授に深甚なる謝意を表します。また終始直接ご指導頂きました高島利一講師に心から感謝致します。併せて本研究遂行に多大のご協力を頂きました当教室腎・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28回日本腎臓学会総会(1985年東京)、第17回日本腎臓学会西部部会ワークショップ(1987年宇部)、第30回日本腎臓学会総会シンポジウム(1987年東京)、第10回国際腎臓学会(1987年 London)において発表した。

## 文 献

- 1) 高島利一: 容量調節系における tubuloglomerular feedback の役割. 日本臨床, 41 (秋季臨時増刊号), 316-326 (1983).
- 2) Davis, J. M., Häberle, D. A., Kawata, T., Schmitt, E., Takabatake, T. & Wohlfeil, S.: Increased tubuloglomerular feed-back mediated suppression of glomerular filtration during acute volume expansion in rats. *J. Physiol.*, **395**, 553-576 (1988).
- 3) Ballermann, B. J. & Brenner, B. M.: Role of atrial peptides in body fluid homeostasis. *Circ. Res.*, **58**, 619-630 (1986).

- 4) **Sonnenberg, H., Honrath, U., Chong, C. K. & Wilson, D. R.**: Atrial natriuretic factor inhibits sodium transport in medullary collecting duct. *Am. J. Physiol.*, **250** (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 19), F963-F966 (1986).
- 5) **Zeidel, M. L., Seifter, J. L., Lear, S., Brenner, B. M. & Silva, P.**: Atrial peptides inhibit oxygen consumption in kidney medullary collecting duct cells. *Am. J. Physiol.*, **251** (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 20), F379-F383 (1986).
- 6) **Nonoguchi, H., Knepper, M. A. & Manganiello, V. C.**: Effects of atrial natriuretic factor on cyclic guanosine monophosphate and cyclic adenosine monophosphate accumulation in microdissected nephron segments from rats. *J. Clin. Invest.*, **79**, 500-507 (1987).
- 7) **Kondo, Y., Imai, M., Kangawa, K. & Matsuo, H.**: Lack of direct action of  $\alpha$ -human atrial natriuretic polypeptide on the in vitro perfused segments of Henle's loop isolated from rabbit kidney. *Pflügers Arch.*, **406**, 273-278 (1986).
- 8) **Baum, M. & Toto, R. D.**: Lack of a direct effect of atrial natriuretic factor in the rabbit proximal tubule. *Am. J. Physiol.*, **250** (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 19), F66-F69 (1986).
- 9) **Cogan, M. G.**: Atrial natriuretic factor can increase renal solute excretion primarily by rising glomerular filtration. *Am. J. Physiol.*, **250** (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 19), F710-F714 (1986).
- 10) **Roy, D. R.**: Effect of synthetic ANP on renal and loop of Henle functions in the young rat. *Am. J. Physiol.*, **251** (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 20), F220-F225 (1986).
- 11) **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).
- 12) **Kangawa, K. & Matsuo, H.**: Purification and complete amino acid sequence of  $\alpha$ -human atrial natriuretic polypeptide ( $\alpha$ -hANP). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **118**, 131-139 (1984).
- 13) **Vurek, G. G. & Pegram, S. E.**: Fluorometric method for the determination of nanogram quantities of inulin. *Anal. Biochem.*, **16**, 409-419 (1966).
- 14) **Ramsey, J. A., Brown, R. H. J. & Croghan, P. C.**: Electrometric titration of chloride in small volumes. *J. Exp. Biol.*, **32**, 822-829 (1955).
- 15) **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).
- 16) **Duncan, R. C., Knapp, R. G. & Miller III, M. C.**: *Introductory Biostatistics for the Health Science*, 2nd ed., p137-159, John Wiley & Sons, New York, 1983.
- 17) **Fried, T. A., McCoy, R. N., Osgood, R. W. & Stein, J. H.**: Effect of atriopeptin II on determinants of glomerular filtration rate in the in vitro perfused dog glomerulus. *Am. J. Physiol.*, **250** (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 19), F1119-F1122 (1986).
- 18) **Appel, R. G., Wang, J., Simonson, M. S. & Dunn, M. J.**: A mechanism by which atrial natriuretic factor mediates its glomerular actions. *Am. J. Physiol.*, **251** (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 20), F1036-F1042 (1986).
- 19) **Davis, C. L. & Briggs, J. P.**: Effect of atrial natriuretic peptides on renal medullary solute gradients. *Am. J. Physiol.*, **253** (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 22), F679-F684 (1987).
- 20) **Dunn, B. R., Ichikawa, I., Pfeffer, J. M., Troy, J. L. & Brenner, B. M.**: Renal and systemic hemodynamic effects of synthetic atrial natriuretic peptide in the anesthetized rat. *Circ. Res.*, **59**, 237-246 (1986).
- 21) **Koseki, C., Kanai, Y., Hayashi, Y., Ohnuma, N. & Imai, M.**: Intrarenal localization of receptors for  $\alpha$ -rat atrial natriuretic polypeptide; An autoradiographic study with [<sup>125</sup>I]-labeled ligand injected in vitro into the rat aorta. *Jpn. J. Pharmacol.*, **42**, 27-33 (1986).
- 22) **Borenstein, H. B., Cupples, W. A., Sonnenberg, H. & Veress, A. T.**: The effect of natriuretic atrial extract on renal haemodynamics and urinary excretion in anaesthetized rats. *J. Physiol.*, **334**, 133-140 (1983).
- 23) **Hirata, Y., Ganguli, M., Tobian, L. & Iwai, J.**: Dahl S rats have increased natriuretic factor in atria but are markedly hypotensive to it.

Hypertension, 6 (Suppl. I), I-148-I-155 (1984).

24) **Miyamoto, M., Larson, T. S. & Jamison, R. L.:** Effect of atrial natriuretic peptide on vasa recta blood flow ( $Q_{vr}$ ). (Abstract) *Kidney Int.*, 31, 280, 1987.

25) **Salazar, F. J., Fiksen-Olsen, M. J., Opgenorth, T. J., Granger, J. P., Burnett, J. C. & Romero, J. C.:** Renal effects of ANP without changes in glomerular filtration rate and blood pressure. *Am. J. Physiol.*, 251 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 20), F532-F536 (1986).

26) 川端雅彦, 高島利一, 太田博真, 潮木保幸, 太田克郎, 伊勢拓之, 服部 信: 心房性 Na 利尿ペプチドの単一ネフロン GFR と Henle 係蹄 Cl 転送に対する効果. 第31回日本腎臓学会総会口演 (1988).

27) **Hirata, Y., Ishii, M., Sugimoto, T., Matsuoka, H., Ishimitsu, T., Atarashi, K., Sugimoto, T., Miyata, A., Kangawa, K. & Matsuo, H.:** Relationship between the renin-aldosterone system and atrial natriuretic polypeptide in rats. *Clin. Sci.*, 72, 165-170 (1987).

28) 高島利一: 尿管系球体フィードバック機構と傍糸球体装置. *代謝*, 21, 13-20 (1984).

29) **Ohishi, K., Hishida, A. & Honda, N.:** Direct vasodilatory action of atrial natriuretic factor on canine glomerular afferent arterioles. *Am. J. Physiol.*, 255 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 24), F415-F420 (1988).

30) **Gonzalez, E., Salomonsson, M., Müller-Suur, C. & Persson, A. E. G.:** NaCl transport and osmotic water permeability of macula densa cells contained in isolated and perfused rabbit kidney tubules. In A. E. G. Persson & U. Boberg (eds.),

*The Juxtaglomerular Apparatus*, 1st ed., p97-119, Elsevier, Amsterdam, 1988.

31) **Kirk, K. L., Bell, P. D., Barfuss, D. W. & Ribadeneira, M.:** Direct visualization of the isolated and perfused macula densa. *Am. J. Physiol.*, 248 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 17), F890-F894 (1985).

32) **Rosivall, L. & Taugner, R.:** The morphological basis of fluid balance in the interstitium of the juxtaglomerular apparatus. *Cell Tissue Res.*, 243, 525-533 (1986).

33) **Lang, R. E., Ruskoaho, H., Toth, M., Ganten, D., Unger, T. & Dietz, R.:** Mechanisms controlling release of atrial natriuretic peptide. In P. J. Mulrow & R. Schrier (eds.), *Atrial Hormones and Other Natriuretic Factors*, 1st ed., p19-32, American Physiological Society, Bethesda, 1987.

34) **Marumo, F., Sakamoto, H., Ando, K., Ishigami, T. & Kawakami, M.:** A highly sensitive radioimmunoassay of atrial natriuretic peptide (ANP) in human plasma and urine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 137, 231-236 (1986).

35) **Berg, J. A., Hayashi, M., Fujii, Y. & Katz, A. I.:** Renal metabolism of atrial natriuretic peptide in the rat. *Am. J. Physiol.*, 255 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 24), F466-F473 (1988).

36) **Saito, Y., Nakao, K., Nishimura, K., Sugawara, A., Okumura, K., Obata, K., Sonoda, R., Ban, T., Yasue, H. & Imura, H.:** Clinical application of atrial natriuretic polypeptide in patients with congestive heart failure; Beneficial effects on left ventricular function. *Circulation*, 76, 115-124 (1987).

**Effect of Atrial Natriuretic Polypeptide on Tubuloglomerular Feedback**

Masahiko Kawabata, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., 98, 477—488(1989)

**Key words** rat, micropuncture, loop of Henle, chloride signal, single nephron glomerular filtration rate

**Abstract**

A micropuncture study was carried out in anesthetized Sprague-Dawley rats to examine the effect of atrial natriuretic polypeptide (ANP) on the tubuloglomerular feedback (TGF) mechanism. Exp. 1. Intravenous ANP infusion. Intravenous ANP ( $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$  body wt/min) reduced both mean blood pressure and renal vascular resistance by 13% and 39%, respectively. The whole kidney glomerular filtration rate and blood flow increased in parallel by 40% and 44%, respectively, and the filtration fraction remained unchanged. A two-fold increase in urine flow was accompanied with a 15-fold increase in urinary sodium excretion. The feedback responsiveness was estimated by measuring changes of the early proximal flow rate (EPFR) during orthograde perfusion of the loop of Henle with Ringer's solution at 0, 10, 20, 40 nl/min. Before ANP infusion, EPFR at each speed was 24.5, 22.1, 16.8, and 12.9 nl/min, respectively. The progressive decline in EPFR with increasing the loop flow indicates a TGF phenomenon. ANP increased EPFR at each speed to 32.2, 32.2, 29.6, and 29.5 nl/min, respectively, showing a disappearance of the flow-dependent reduction in EPFR and demonstrating suppression of TGF. Exp. 2. Loop of Henle perfusion with ANP. Normal saline with or without ANP ( $10^{-5}\text{M}$ – $10^{-10}\text{M}$ ) was perfused into the loop of Henle from the late proximal segment. Percentage reductions of EPFR were 25.7% and 46.0% at 20 and 40 nl/min when perfused with normal saline.  $10^{-8}\text{M}$  or  $10^{-10}\text{M}$  ANP did not affect the percentage reductions in EPFR. However, these were significantly less with  $10^{-7}\text{M}$  ANP (10.0% and 14.9% at 20 and 40 nl/min) and unaltered with  $10^{-5}\text{M}$  ANP. Exp. 3. The effect of ANP on the loop of Henle function. Normal saline with or without  $10^{-5}\text{M}$  ANP was perfused into the loop of Henle orthogradely at 20 nl/min. With normal saline, the fractional reabsorption of water and chloride in the loop was 43.7% and 70.8% and the chloride concentration in the early distal fluid was 75 mEq/l. With  $10^{-5}\text{M}$  ANP in normal saline, these parameters were 50.0%, 77.4% and 69 mEq/l, respectively and not different from those with normal saline. These results indicate that circulating ANP suppresses TGF mainly through its effect on the preglomerular arteriole. The TGF suppression by the loop perfusion with ANP was seen only at the pharmacological concentrations. This appears to be related to the inhibition of the transmission of the TGF signal in the juxtaglomerular apparatus but not to the changes in concentration or transport of chloride ion at the macula densa.