

The Possible Role of α -human Atrial Natriuretic Polypeptide(α -hANP) in Escape from the Effects of Mineralocorticoid

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/2297/7940

鉍質コルチコイドによるナトリウム利尿現象 (escape 現象) に果たすヒト心房性ナトリウム利尿ポリペプチド (α -hANP) の役割について

金沢大学医学部内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

池 田 正 寿

(昭和62年2月18日受付)

正常人に外因性にミネラルコルチコイド (mineralocorticoid, MC) を投与し, escape 現象が発現する際の血中ヒト心房性ナトリウム利尿ポリペプチド (α -hANP) の動態を観察し, 本現象の成因に果たす α -hANP の役割を考察した. 5例の健康男性に中等度のナトリウム食摂取下 (200~250 mEq/日) で 0.6mg/日の 9 α -フルオロハイドロコルチゾン (9 α -fluorohydrocortisone, 9 α -F) を連日投与し, この条件下で尿中ナトリウム排泄量, α -hANP その他 escape 現象発現に影響を及ぼす各種パラメータを測定した. 9 α -F 内服後に早期からヘマトクリットの低下, 体重の増加, renin-angiotensin-aldosterone 系の抑制など細胞外液量の増加を示す所見が得られた. 被験者のナトリウム平衡は初期のナトリウム貯留に引き続いて3~5日後に急激なナトリウム利尿を観察, 全例で escape 現象が確認された. escape 発現時の累積ナトリウム量は 478 ± 72 mEq (平均値 \pm 標準誤差) であった. escape 発現前後で有意の変化を認めたパラメータは, α -hANP, 24時間クレアチニン・クリアランス (24 hour creatinine clearance: 24 hCcr), 拡張期血圧であった. α -hANP はコントロール値 95.3 ± 27.0 pg/ml より escape 発現前日に 351.2 ± 68.9 pg/ml へと有意に ($p < 0.05$) 増加し, その後も高値を維持した. また α -hANP には累積ナトリウム量が平均 380 mEq を越える時期より急激な増加反応が観察された. 24 hCcr は escape 発現後に発現前より増加しており, その変化は尿中ナトリウム排泄量の推移と互いに呼応して変化する傾向にあった. 9 α -F 内服後の血圧はコントロール値 $125 \pm 6.3/62 \pm 3.9$ mmHg より escape 発現後に $136 \pm 3.5/86 \pm 2.8$ mmHg へと上昇し, 拡張期血圧に有意の ($p < 0.05$) の増加を認めた. escape 現象は血圧・細胞外液量・糸球体濾過量・組織浸透圧などの血行力学的因子や体液性因子の変化が複雑に関連した結果, MC 作用に打ち勝って発現するものと考えられているが, 今回の実験において従来既知の因子に加えて, α -hANP も escape 発現に関与している生理的な水・ナトリウム調節因子の一つである可能性がある.

Key words escape phenomenon, mineralocorticoid, 9 α -Fluorohydrocortisone, α -human atrial natriuretic polypeptide

デオキシコルチコステロン (deoxycorticosterone, DOCA) やアルドステロン (aldosterone) などの鉍質コルチコイド (mineralocorticoid, MC) を正常人に外因性に過剰投与することによりナトリウムおよびクロールの貯留とカリウムの排泄増加が認められ

るが¹⁾, 過剰投与を続けると新たなナトリウム平衡が確立され逆にナトリウムの排泄増加が認められるようになる²⁻⁴⁾. この現象は Relman ら²⁾により escape 現象と命名されているが, 発現に際しては MC の投与期間よりもナトリウム摂取量の多寡 (ひいては体内ナト

Abbreviations: Aldo, plasma aldosterone; α -hANP, α -human atrial natriuretic polypeptide; α -hANP-LI, α -human atrial natriuretic polypeptide like immunoreactivity; aa, amino acid; ADH, antidiuretic hormone; BW, body weight; ANP, atrial natriuretic polypeptide; CNa, cumulative sodium volume; DOCA, deoxycorticosterone; dBP, diastolic

リウム貯留量)が影響していることが判明している。この分野についての研究は近年 Knox ら⁹⁾により集約整理されたが、血圧、細胞外液量、糸球体濾過量、腎血漿流量、組織浸透圧などの血行力学的因子・体液性因子の変化が複雑に関連しあった結果、生体がホルモンの作用に打ち勝って新たなナトリウム平衡を獲得しようとする機序ではないかと理解されている。

このナトリウム利尿に働く体液性因子として De Wardener ら⁶⁾は新たな中枢神経系由来のナトリウム利尿ホルモンを推定し、また De Bold ら⁷⁾は心房の粗抽出物の中に水・ナトリウム利尿を起こす因子 (atrial natriuretic polypeptide; ANP) の存在を見出したと報告した。心房中の水・ナトリウム利尿物質は抽出操作過程の違いによってアウリクリン A (auricurin A²⁹⁾ (24 アミノ酸, amino acid, aa.), アトリオペプチン I, II, III (atriopeptin I, II, III²⁶⁾ (21, 23, 24 aa.), カルジオペプチン I~IV (cardiopeptin I~IV²⁷⁾ (28 aa.~) などとして各研究者より報告・命名されているが、寒川ら⁸⁾により構造が決定された α -hANP (α -human atrial natriuretic polypeptide (28 aa.)) が生物活性を有する至適な長さを持った、実際に生体内で作用している物質と認められている。生体に水・ナトリウム負荷をすることにより α -hANP の血中濃度が増加する²⁹⁾、 α -hANP の特異的なリセプターは心³⁰⁾、腎および血管³¹⁾をはじめとして種々の臓器に存在する。この α -hANP はフロセミドに比してモル比で 1000 倍の水・ナトリウム利尿作用を有することが確認されている⁸⁾。 α -hANP は腎でのナトリウムの再吸収を抑制することにより強力な水・ナトリウム利尿をおこすと考えられているが、MC は腎遠位尿細管や集合管に作用して水・ナトリウムの貯留を来す¹⁰⁾ため、ナトリウム平衡をめぐる両者の相互作用は興味深い問題を含んでいる。

この研究は正常人に外因性 MC を投与し、escape 現象が発現する際の血中 α -hANP の動態を観察し、本現象の成因に果たす α -hANP の役割を考察する目的で施行した。

対象および方法

I. 対 象

5名の健常男子医学部学生 (No.1~5) に実験の趣旨を説明し、了解を得た上で行った。年齢は 21~28 才

で平均年齢は 23.6 才である。いずれの被験者においても血圧は正常 (140/90 mmHg 以下) であり、理学所見、心電図、レ線学的検査および血液生化学的検査に異常を認めなかった。

II. 方 法

食事のナトリウム摂取量は全期間を通じて 200~250 mEq/日になるように調整し、水は自由飲水とした。活動は特に制限しなかったが、過度の発汗を伴う様な労作は禁止した。はじめの 2 日間はコントロール期間として薬剤は投与せずに各被験者の基礎データを得る期間にあてた。その後引き続いて 9 α -F (Florinef® 日本 Squibb 社, 東京) を 0.6 mg/分 3 連続 8 日間経口で内服させた。

この間、被験者の 2 名 (No.4,5) に軽い頭痛・下腿浮腫を認めたが、9 α -F 服用を中止するには至らなかった。各種検査はコントロール期間および 9 α -F 内服時とも以下の要領で同様の方法で行った。尿は毎日全量を蓄尿し、電解質・クレアチニン排泄量の測定に用いた。毎朝 8 時 30 分に絶食下で体重、血圧、脈拍を測定した後、採血を施行し、血漿レニン活性 (PRA)、血漿アルドステロン (Aldo)、抗利尿ホルモン (ADH)、電解質、クレアチニン、ヘマトクリット (Hct)、血漿浸透圧、血漿 α -hANP 様免疫活性 (α -hANP-like immunoreactivity, α -hANP-LI) を測定した。PRA, Aldo はヘパリン加試験管にて、 α -hANP は EDTA-2Na+アプロチニン加試験管で採血後直ちに 4°C にて遠心分離し測定まで -80°C 以下に冷凍保存した。PRA, Aldo は既報¹¹⁾の如くラジオイムノアッセイにて測定した。ADH は栗本ら²⁸⁾の方法に従って、ラジオイムノアッセイにて測定した。

α -hANP は以下の手順で抽出した。Sep-pak C¹⁸ カラム (Waters associates 社, Milford Massachusetts) を 100%エタノール 5 ml, 0.1%トリフルオロ酢酸 (trifluoroacetic acid, TFA) 5 ml にて 2 回洗浄した後、被験血漿 2 ml を通した。再び 0.1% TFA 5 ml にて 2 回、蒸留水 5 ml をカラムに通し、続いて 0.1% TFA: アセトニトリル (acetonitril) = 1 : 4 溶液 3 ml にて抽出、凍結乾固した。凍結乾固した検体は 300 μ l の 0.025 M リン酸緩衝液 (pH 7.8) にて再溶解し、100 μ l をラジオイムノアッセイに用いた。 α -hANP のラジオイムノアッセイには Amersham International 社, (Buckinghamshire

blood pressure; GFR, glomerular filtration rate; Hct, hematocrit; MC, mineralocorticoid; 9 α -F, 9 α -fluorohydrocortisone; Posm, plasma osmolarity; PRA, plasma renin activity; sBP, systolic blood pressure; TFA, trifluoroacetic acid; 24 hCcr, 24 hour creatinine clearance; UNaV, urinary sodium excretion volume; 原ア症; 原発性アルドステロン症

England) の tracer ($(3\text{-}^{125}\text{I})\text{iodotyrosyl}^{28}\alpha\text{-hANP}$ (human)), 抗血清を用いた (第一抗体は, rabbit anti- $\alpha\text{-hANP}$ 血清, 第二抗体は, donky anti-rabbit 血清). この rabbit anti- $\alpha\text{-hANP}$ 血清の交叉活性は rat $\alpha\text{-hANP}$ に対しては 70% であるが, アトリオペプチン I II III に対しては 各々 0.002%, <0.1%, 0.31% であった. $\alpha\text{-hANP}$ の抽出, ラジオイムノアッセイ操作手順を 図 1 に示す. 尚, 抽出率は $72.6 \pm 2.6\%$ であり, 検出感度は 15 pg/ml であった.

III. 検 定 法

測定結果は平均値±標準誤差で示した. 各測定値に対する統計学的検討は表 1 および 図 3~7 では一元配置分散分析の後, Duncan の多重比較法を用いた. また 図 9~13 では回帰分析を行った. Fisher の直接確率計算法を用い, 危険率 $p < 0.05$ 以下を有意差ありと判定した.

成 績

I. 被験者のナトリウム平衡の推移について

図 2 に各被験者の尿中ナトリウム排泄量の推移を示す. コントロール期間の尿中ナトリウム排泄量は 1 日目 251 ± 26 , 2 日目 213 ± 33 mEq/日 でほぼ一定していた. $9\alpha\text{-F}$ 投与開始後, No.2 を除いて第 1 日目 (No.2 においても第 2 日目より) から尿中ナトリウム排泄量は減少し, 体内へのナトリウムの貯留が示唆された. 一旦減少した尿中ナトリウム排泄量が一転増加に転ずる日を escape 現象の発現日とすると, この現象は第 3~5 日目にかけて発現し, 各被験者間で発現日の差が観察された. この為, 各被験者間の escape 現象発現日を一致させて測定結果を整理し直してみると, 尿中ナトリウム排泄量は escape 現象前日で 130 ± 21 mEq/日 まで減少し, 当日 257 ± 19 mEq/日 と有意に ($p < 0.05$) 増加した. ナトリウム平衡は 図 3 に示すように $9\alpha\text{-F}$ 服用後継続的に体内貯留が増加する方向に変化し, 計算上の体内ナトリウム蓄積量 (ナトリウム摂取量と排泄量の差の累積, cumulative sodium volume, CNa) は escape 現象前日に 478 ± 72 mEq まで増加した. しかし, escape 発現後は症例によって多

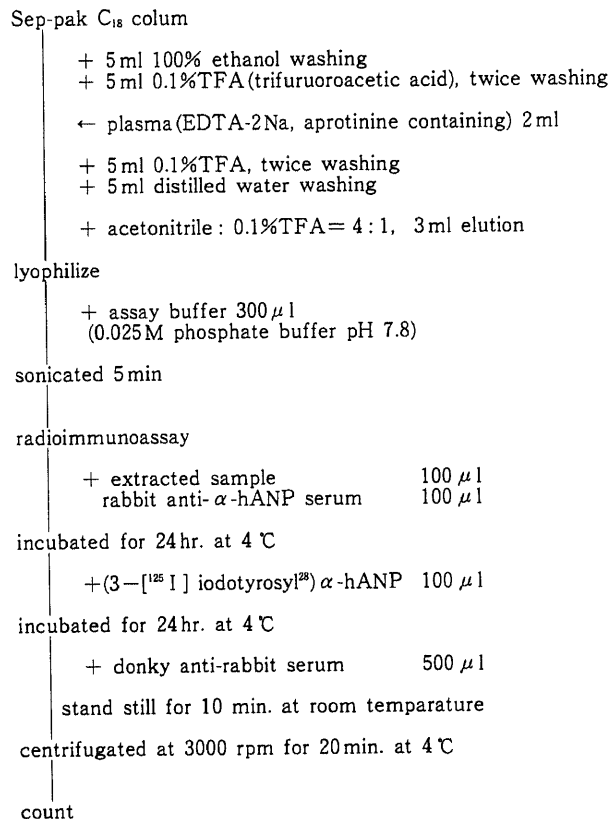


Fig.1. Flow sheet of extraction procedure and radioimmunoassay of α -human atrial natriuretic polypeptide ($\alpha\text{-hANP}$).

少のばらつきはあるものの、450 mEq 前後とほぼ一定の体内貯留に落ち着き新たなナトリウム平衡が獲得されることが判明した (図7)。体重は escape 時に前値より 2.5 ± 0.9 kg の増加を示し、以後も 9α -F 内服中は平均 2.3 kg の増加が続いた (図3)。

II. escape 現象前後における各種パラメータの変動について

以下の測定結果は、各被験者間の escape 現象発現日を一致させて整理し直した数値で示す (主な実測値は表1に示す)。

1. 24 時間クレアチニン・クリアランス (24 hCcr)

9α -F 投与下の 24 hCcr はコントロール値 94 ± 4.2 ml/分より escape 現象発現まで有意の変化を示さなかった。escape 2 日後の値 140 ± 15 ml/分はコント

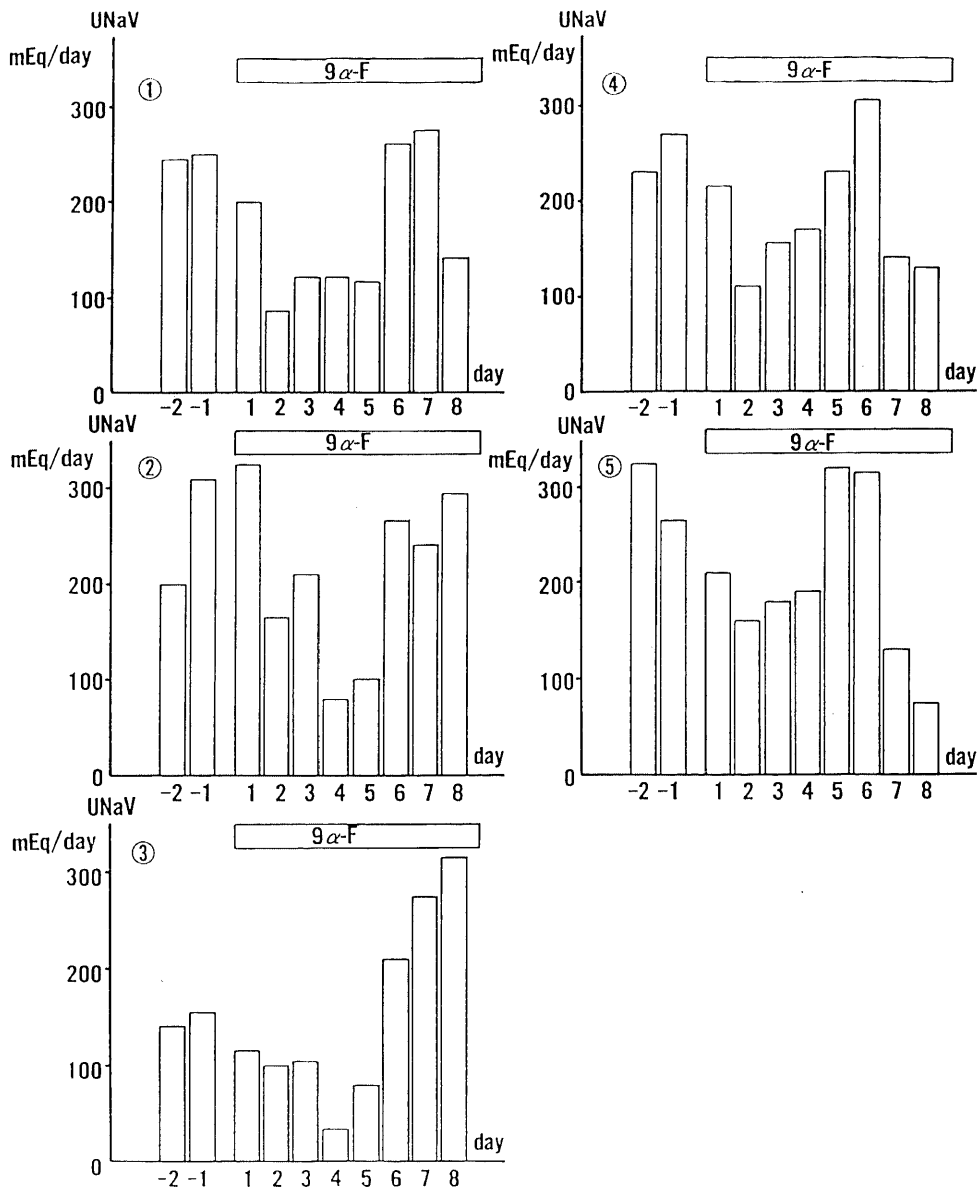


Fig. 2. Changes of urinary sodium excretion (UNaV) before and after the initiation of escape from mineralocorticoid excess.

9α -F; 9α -Fluorohydrocortisone (0.6 mg/day).

ロール値に対し有意の高値 ($p < 0.05$)を示した。また escape 当日 103 ± 3.1 ml/分, escape 2日後 140 ± 15 ml/分, escape 3日後 109 ± 7.2 ml/分は escape 2日前の値 80 ± 6.4 ml/分に対して有意の高値 ($p < 0.05$)を示した。このように 24 hCcr は escape 現象発現後に前値より増加する傾向を示した (図4)。

2. 血圧・脈拍

血圧はコントロール値 $125 \pm 6.3/62 \pm 3.9$ mmHg から 9α -F 投与下で徐々に上昇し, escape 1日後に $136 \pm 3.5/86 \pm 2.8$ mmHg と拡張期血圧が有意の増加 ($p < 0.01$)を示した。その後も拡張期血圧に有意の持続的な上昇が観察された ($p < 0.05$)。収縮期血圧も上昇する傾向を示したが有意ではなかった (図4)。血圧と尿中ナトリウム排泄量の間には有意の相関 (収縮期血圧; $r = 0.388$, $p < 0.05$, $N = 40$, 拡張期血圧; $r = 0.367$, $p < 0.05$, $N = 40$)を認めた (図11, 12)。また拡張期血圧は escape 発現前後に有意の変化を示したが、同時に拡張期血圧と CNa の間にも有意の相関 ($r = 0.364$, $p < 0.05$, $N = 35$)を認めた (図13)。脈拍には全経過を通じて有意の変化を認めなかった。

3. PRA, Aldo

PRA は 9α -F 内服後速やかに抑制されコントロー

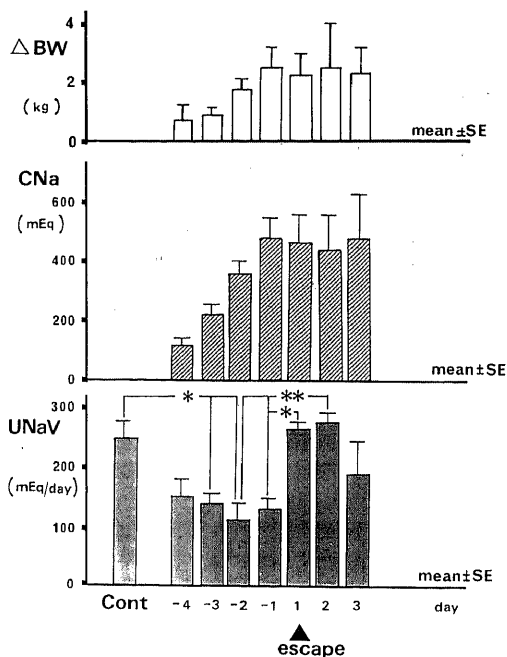


Fig. 3. The changes of increment of body weight (Δ BW), cumulative sodium volume (CNa) and UNaV before and after the initiation of escape from mineralocorticoid excess *; $p < 0.05$ **; $p < 0.01$.

ル値 1.4 ± 0.3 ng/ml/h より escape 4日前 0.5 ± 0.1 ng/ml/h ($p < 0.05$)に低下し, escape 前日からは測定感度以下 (0.1 ng/ml/h 以下)になった。Aldo も 9α -F 内服後には同様にコントロール値 9.5 ± 1.6 ng/dl より escape 3日前 4.5 ± 0.7 ng/dl ($p < 0.05$)と有意に低下し外因性の MC によって抑制をうけた。escape 発現後の PRA および Aldo はコントロール値より有意の抑制を受けたままで特別の変化を認めず, renin-angiotensin-aldosterone 系は MC により強く抑制された (図5)。

4. Hct・血漿浸透圧・血漿 ADH

Hct はコントロール値 $43.8 \pm 0.5\%$ より 9α -F 内服後低下し, escape 4日後に $40.6 \pm 0.9\%$ ($p < 0.05$)と有意の抑制を受けた。血漿浸透圧は 9α -F 内服後にはコントロール値 316 ± 23 mOsm/L より減少する傾向を示し, escape 当日 293 ± 4 mOsm/L となったが有意差は得られず, escape 前後での変化は観察されなかった。血漿 ADH も 9α -F 内服後にコントロール値 $6.0 \pm$

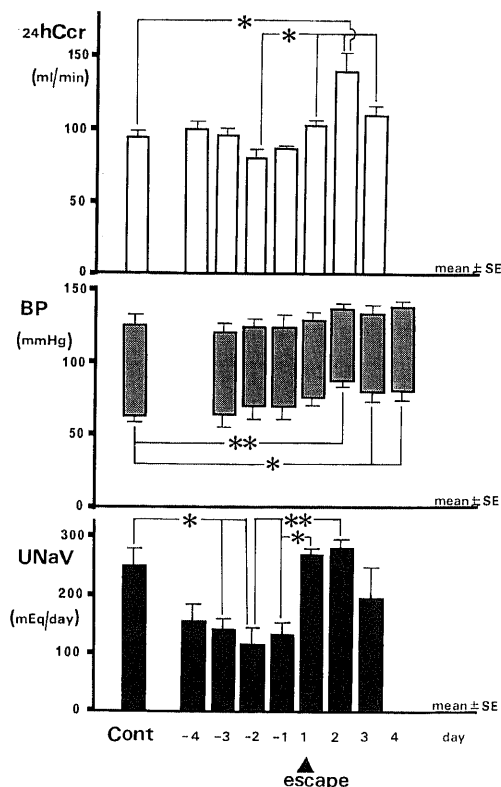


Fig. 4. The changes of 24 hour creatinine clearance (24hCcr), blood pressure (BP) and UNaV before and after the initiation of escape from mineralocorticoid excess *; $p < 0.05$ **; $p < 0.01$.

2.3 pg/ml から減少する傾向を示し, escape 当日 3.6 ± 0.8 pg/ml となったが有意差は得られず, escape 前後での変化は若干の低下傾向を示すのみであった (図 6). 今回循環血漿量の測定は行わなかったが, これらの結果から MC による細胞外液量の増加が推定された.

III. escape 現象前後における α -hANP-LI の変動について

α -hANP-LI 値の 5 名の被験者におけるコントロール値 (早朝安静時) は 95.3 ± 27.0 pg/ml であった. 9 α -F 内服開始後 α -hANP-LI は, escape 3 日前 177.2 ± 25.6 pg/ml, escape 2 日前 167.8 ± 20.2 pg/ml とこれらの時点ではコントロール値の 2 倍程度に増加したが有意の変化は認めなかった. α -hANP-LI 値はその後 escape 前日に 351.2 ± 68.9 pg/ml とコントロール値に比して有意の増加 ($p < 0.05$) を示した. α -hANP-LI 値はその後も escape 当日 349.8 ± 49.6 pg/ml ($p < 0.05$), escape 2 日後 370.4 ± 72.8 pg/ml ($p < 0.05$), escape 3 日後 499.8 ± 83.4 pg/ml ($p < 0.01$), escape 4 日後 518.6 ± 96.0 pg/ml ($p < 0.01$) と持続的に増加した (図 7).

図 8 に CNa (対数で示す) と α -hANP-LI 値との間の関係を示す. α -hANP-LI 値がコントロール値に比

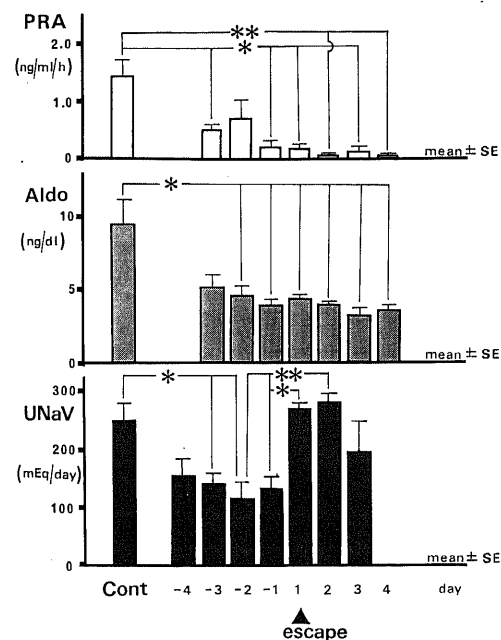


Fig. 5. The changes of plasma renin activity (PRA), plasma aldosterone (Aldo) and UNaV before and after the initiation of escape from mineralocorticoid excess *; $p < 0.05$ **; $p < 0.01$.

して有意の増加を示さなかった escape 前 4~2 日目の CNa と α -hANP-LI 値の間には有意の相関関係 ($p < 0.05$) が, また α -hANP-LI 値がコントロール値に比して有意の増加を示した escape 前 1 日以降の CNa と α -hANP-LI 値の間にも有意の相関関係 ($p < 0.01$) が認められた. しかし, 回帰直線の傾きは escape 前 1 日以降の CNa と α -hANP-LI 値の間の方がより急峻であり, 両回帰直線 ($Y = 111X - 352$, $Y = 239X - 1111$) の交点である 380 mEq を越える時期より α -hANP-LI 値が急激に増加することが判明した.

考 察

MC には生体内でナトリウムを保持し, カリウムを排泄する作用がある. しかし, MC 作用を有する薬物を長期にわたって使用しても①低カリウム血症②代謝性アルカローシス③多飲・多尿などの臨床症状は現われるものの, ナトリウムの貯留作用は一過性に過ぎず, 細胞外液量の増加には限度がある. 実際, 実験動物に

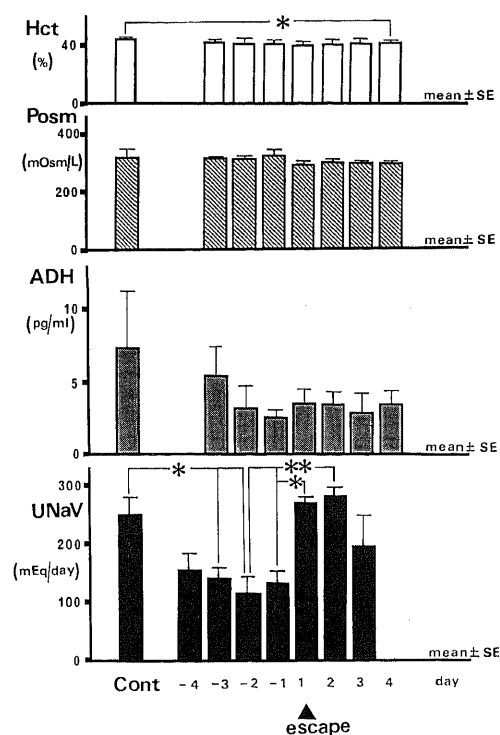


Fig. 6. The changes of hematocrit (Hct), plasma osmolarity (Posm), antidiuretic hormone (ADH) and UNaV before and after the initiation of escape from mineralocorticoid excess *; $p < 0.05$ **; $p < 0.01$.

MCを投与し続けると低カリウム血症の結果、動物は麻痺を引き起こして死亡するが、うっ血性心不全などの徴候は観察されない¹²⁾。Daughadayら¹²⁾はDOCA慢性投与下で腎からのナトリウム排泄が増加した時点においても①汗に排泄されるナトリウム量は抑制されたままであること②尿中カリウム排泄量は増加したままであることを明らかにし、escape現象はMC活性存在下で生ずることを証明した。

我々が用いた 9α -Fは糖質コルチコイド作用に乏しく、強いMC作用を持つ合成ステロイド剤であり、0.6 mg/日の投与量はヒトにおいては体液量増加などMC過剰の状態をおこすのに十分な量である¹⁴⁾。実際 9α -F投与により体重増加、血圧(特に拡張期)上昇、尿中ナトリウム排泄量低下、PRAおよびAldoの抑制、HctやADHの低下などMC過剰による細胞外液量の増加を示唆する所見が認められた(図3~6)。

9α -F内服後の各被験者のナトリウム平衡はAugustaら⁴⁾、Rovnerら¹²⁾、Durrら¹³⁾、Biollazら¹⁴⁾の報告と同様にMC服用開始後3~5日目に全例で体

内貯留から排泄に変化し(escape現象)(図2)、その時の体内に貯留したナトリウム量(累積ナトリウム量)は平均478 mEqであった(図3, 6)。前述のDurrらの報告¹³⁾では累積ナトリウム量がほぼ345 mEqの時点で新たなナトリウム平衡が確立されていた。今回の実験の結果はこれに比べて約40%累積ナトリウム量が多くなったが、この違いは個体差によるものと考えられる。

今回の実験でescape現象発現前後で有意の変化を認めたパラメータは α -hANP-LI値、24 hCcrおよび拡張期血圧であった。細胞外液量の増加はescapeに先立って出現し、このためrenin-angiotensin系やADHは早期から抑制されたままであった。

まずescape現象と α -hANPの関係を見る。表1のように α -hANP-LI値はescape発現1日前に 9α -F投与前のコントロール値の約4倍に増加した。内因性の α -hANP分泌は図8に示すようにCNaが380 mEqを越える時点より急峻になるが、escape現象発現後には図7に示すように一旦増加するものの、escape発現後3日目には平衡に達していた。以上よりCNaがあるレベルを越えると α -hANPは堰をきったかのごとく増加するが、新たなナトリウム平衡が確立されるに従い α -hANPも平衡に達するという現象が生体内で生じていると解釈した。

この α -hANP増加の機序についてはMCによる水・ナトリウム貯留(細胞外液量増加)により心房壁の伸展を介して分泌が亢進された¹⁵⁾ものと考えられる。 α -hANPは腎近位尿細管¹⁶⁾、腎遠位尿細管⁸⁾、髄質集合管⁹⁾でナトリウム再吸収抑制をおこすことにより結果として強力な水・ナトリウム利尿がおこると考えられ

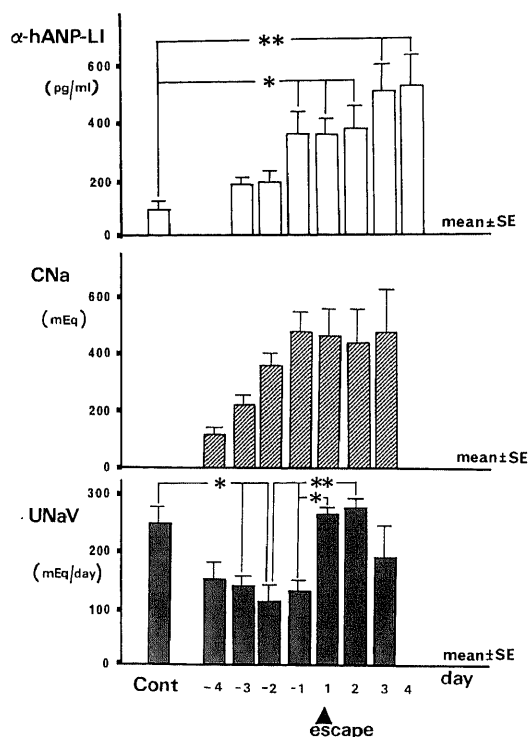


Fig. 7. The changes of α -human atrial natriuretic polypeptide like immunoreactivity (α -hANP-LI), CNa and UNaV before and after the initiation of escape from mineralocorticoid excess *; $p < 0.05$ **; $p < 0.01$.

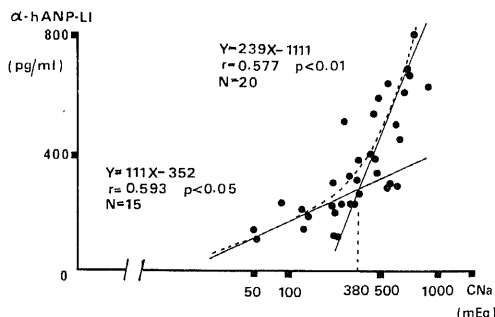


Fig. 8. Correlation between CNa and α -hANP-LI. The first fifteen points (data from 4 th, 3 rd and 2 nd day before the escape) were linearized and the line of best fit was calculated by least square analysis. The same analysis was performed for the second slope (data from 1st day before the escape and after the initiation of the escape).

ている。 α -hANP が体内の水・ナトリウム代謝に関与していることは、Wilkins らの透析患者における報告³³⁾や鬱血性心不全患者における Burnett らの報告³⁴⁾からも明らかである。またこの様な病的な状態ではなく下肢の挙上、頭部の挙上などの局所的な体液量の変化に即応して中心静脈圧が変化し内因性の α -hANP 分泌が変化することを Oghihara ら³⁵⁾は報告している。今回の実験では MC による体液量増加の結果、右心房壁の進展を介して α -hANP の分泌が促進され、この増加した内因性の α -hANP が escape 現象発現時の水・ナトリウム代謝の変化に一部関与したものと考える。

先に我々は外因性に合成 α -hANP を持続的に静注した実験を行い、生理的食塩水負荷時に比べて有意の水・ナトリウム利尿の増加が観察された時の血中 α -hANP-LI 値を報告した¹⁸⁾。この時の α -hANP-LI の血中濃度は 9012 ± 2144 pg/ml であり、今回の実験における escape 現象発現時 α -hANP-LI 値 (表 1) の実に約 30 倍もの高値であった。この差を来した原因としては α -hANP assay 時の希釈効果なども考えられるが、その他①イヌに合成 α -hANP を持続静注した Yukimura らの実験²⁴⁾では投与中止後の利尿効果の速やかな消失が報告されており、 α -hANP の体内での代謝はかなり早く、外因性の α -hANP 投与実験下では

その生理作用を發揮する為にはかなりの高濃度の投与が要求される (結果として血中濃度も高値となる) 可能性を、さらに②両実験の間には体内の累積ナトリウム量 (ひいては細胞外液量) が異なり水・ナトリウム代謝をめぐる生体内環境が全く異なっている為、利尿を起こすに十分な α -hANP の必要量も異なっている可能性を考えており、今回の実験との間で単純な比較はできないと思われる。

尚、コントロール α -hANP-LI 値は Yamaji らの報告⁴²⁾に比べて高値であったが、これは用いた抗体の違いに加えて今回の実験ではコントロール期間より食塩負荷がされていたことに起因するものと考えられる。

次に escape 現象と 24 hCcr について考察する。腎で最大のナトリウム再吸収を示す部位は近位尿細管であり、基底膜側細胞膜に存在する $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase がその原動力になる。MC の腎でのナトリウム再吸収能に関する作用部位は近位尿細管ではなく遠位尿細管 (よりむしろ皮質集合管) であるとされている⁴³⁾。Schwartz ら³⁶⁾は MC の作用で増大した皮質集合管レベルでのナトリウム再吸収能は escape 後も抑制されなかったことを報告した。すなわち近位尿細管でナトリウム再吸収抑制が生じた結果、皮質集合管に MC で増大した再吸収機能を上回るナトリウム輸送が波及し

Table 1. Blood pressure, body weight gain (BW gain), plasma osmolarity (Posm), plasma renin activity (PRA), plasma antidiuretic hormone (ADH), urinary sodium excretion (UNaV), α -human atrial natriuretic polypeptide like immunoreactivity (α -hANP-LI) and 24 hour creatinine clearance (24hCcr) during escape from mineralocorticoid excess. Day 1 indicate the 1st day of escape.

	control	- 3	- 2	- 1	1	2	3
sBP (mmHg)	125±6.5	120±5.5	123±5.5	129±4.1	136±3.5	134±4.2	134±4.2
dBP (mmHg)	62±3.9	69±8.4	69±8.1	75±4.5	86±2.8**	79±5.7*	79±4.3*
BW gain (kg)		0.7±0.4	0.9±0.2	1.8±0.3	2.5±0.6	2.2±0.8	2.5±0.9
Posm (mOsm/L)	316±23	309±3.7	307±9.2	321±18	293±3.8	297±3.9	295±4.2
PRA (ng/ml/h)	1.4±0.3	0.7±0.3	0.2±0.1*	0.2±0.1*	u. d. **	0.1±0.1*	u. d. **
ADH (pg/dl)	6.0±2.3	5.5±1.7	3.2±1.3	2.6±0.5	3.6±0.8	3.5±0.8	2.9±1.2
UNaV (mEq/day)	251±26	141±21*	114±27*	130±21	257±19 ⁺	280±14 ⁺⁺	205±41
24 hCcr (ml/min)	94±4.2	96±4.3	80±6.4	87±1.1	103±3.1	140±15*	109±7.2
α -hANP-LI (pg/ml)	95±27	167±20	351±69*	350±50*	370±73*	500±83**	519±96**

sBP, systolic blood pressure; dBP, diastolic blood pressure Values are mean \pm SE (n = 5)

*, ** Significantly different from the control values (p<0.05, p<0.01)

+, ++ Significantly different from 1st and 2nd day prior to escape (p<0.05, p<0.01)

たことで escape が発現すると解釈され、教科書的にもこの解釈が記載されている³⁹⁾。しかし、Sonnenberg ら³⁷⁾は MC 作用下でも近位尿細管やヘレン係蹄でのナトリウム再吸収能には変化が認められないと反論し、Knox ら³⁸⁾も微量穿刺法を用いた実験で近位尿細管の関与を疑問視する報告をしている。escape 時の各ネフロン部位の相互関係は実験条件の設定や方法論の難しさもあり尚解明されていない。

Biglieri ら¹⁹⁾は原発性アルドステロン症 (原ア症) では糸球体濾過量 (GFR) が安静時には増加しているが手術によりアルドステロン産生腺腫 (aldosteronoma) を摘出すると正常に戻ったこと、また、生理的食塩水の負荷を行ったところ術前では GFR の急激な増加反応が観察されたが、術後ではこのような現象は観察されなかったことを報告している。escape 現象は原ア症で浮腫を見ないメカニズムの説明にされているが、彼ら¹⁹⁾の実験結果から GFR の増加が escape 現象発現を引き起こす理由の一つと考えられるようになった。Shnerman²⁰⁾は DOCA を用いて escape を起こさせたラットで GFR が如何なる影響をおよぼしているか検討した。これによれば DOCA-escape ラットでは、MC による体液量過剰状態で正常な尿細管・糸球体フィードバック機構が欠如している結果を得、このことが GFR の増加とこれに引き続く尿中ナトリウム排泄量の増加の原因になると推論している。一方、Davis ら²¹⁾は GFR を減少させた実験系でも escape 現象は観察されたことを報告しており見解の統一は見られていない。

今回の実験で 24 hCcr は尿中ナトリウム排泄量の推移に呼応して変化する傾向が観察され (図 4), escape 発現後の 24 hCcr は Biglieri ら¹⁹⁾が術前の原

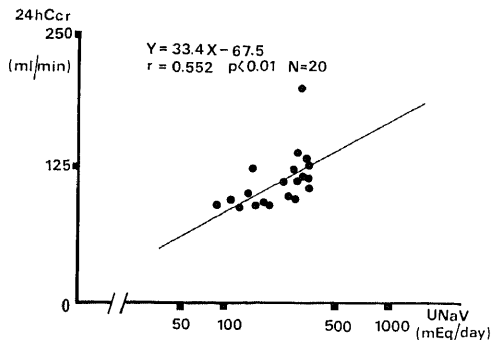


Fig. 9. Correlation between UNaV and 24 hCcr after the initiation of the escape from mineralocorticoid excess.

The line of best fit was calculated by least square analysis.

ア症で観察した結果と同じく増加していた。また escape 現象発現後の 24 hCcr は MC 活性の存在下でも尿中ナトリウム排泄量と有意の相関を示しており (図 9), 先の Schnerman の仮説²⁰⁾が今回の実験にあてはまる可能性がある。以上の結果は GFR の増加が escape 現象の発現に何等かの役割を果たしている可能性を推察させるものであった。

尚、escape 後の 24 hCcr の増加が α -hANP の増加によるものではないかとの検討を行ってみたが、図 10 に示す如く両者の間には相関を認めなかった。一連の ANP に GFR の増加作用があるとの説は Borenstein ら²²⁾, Atlas ら²³⁾, Yukimura ら²⁴⁾により提唱されているが、前述の我々の実験結果¹⁸⁾では比較的大量の α -hANP 投与にもかかわらず Ccr は変化せず、 α -hANP による GFR の増加作用は見出せなかった。この所見は De Bold²⁾, Currie²⁵⁾らの報告と一致するものであった。

最後に escape 現象と血圧の関係について考察する。健常腎においては圧・ナトリウム利尿機構が働き、血圧の上昇に伴いナトリウム利尿が惹起される。この機序は動脈圧の上昇が灌流圧の増加 (初期には主に輸出細動脈の収縮による) をおこし、これに引き続いて腎間質圧の増加 (尿細管周囲の静水圧の増加) の結果ナトリウム再吸収が抑制されるものと解釈されている³⁹⁾。過剰の MC 存在下では血圧は上昇するので、escape の成因をこの圧・ナトリウム利尿機構に求める向きがある。例えば Watkins ら⁴⁰⁾は実験的にイヌの肺動脈・胸郭内下大静脈を結紮すると一過性にナトリウム貯留と血圧低下が観察されるが、その後血圧が元の状態に復するに従って尿中ナトリウム排泄量も増加してくることを報告している。この反応は変換酵素阻害剤で血圧の回復を阻止すると認められなくなる⁴⁰⁾。また Nicholls ら¹⁷⁾は累積ナトリウム量よりもむしろ初期の血圧 (特に収縮期) の上昇が escape 現象の発現

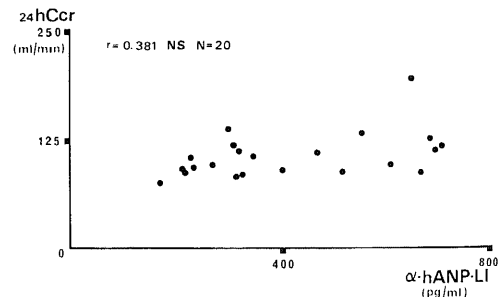


Fig. 10. α -hANP-LI plotted against 24 hCcr after the initiation of escape from mineralocorticoid excess.

に関係すると報告している。

一方, Higgins ら⁴¹⁾は①ヒドララジンやグアネチジンなどの降圧剤を用いても escape の発現が観察されること, ②エフェドリンなどの昇圧剤を用いても escape の発現が観察されないことがあると反論し, escape 現象の発現に与える圧・ナトリウム利尿機構の介在に疑問符を与えている。しかし現在では, 彼らの実験⁴¹⁾では各薬剤の薬理作用により腎内の血管抵抗に変化が起こり (①では減少, ②では増加) 全身的な血圧の変化が直接, 尿管周囲の静水圧に反映されていないためこのような結果が得られたものと解釈され, 血圧の上昇に加えて腎内血管抵抗が減少することが escape の発現に一部関与しているとする意見が有力である⁹⁾。

今回の実験では図 11, 12 に示すように MC 投与下でも腎での圧・ナトリウム利尿機構は失われていないことが確認されている。また, 拡張期血圧は escape 発

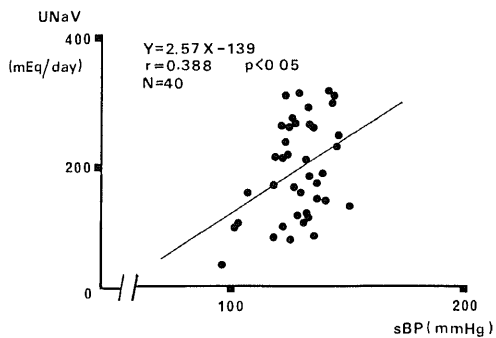


Fig. 11. Correlation between systolic blood pressure (sBP) and UNaV.

The line of best fit was calculated by least square analysis.

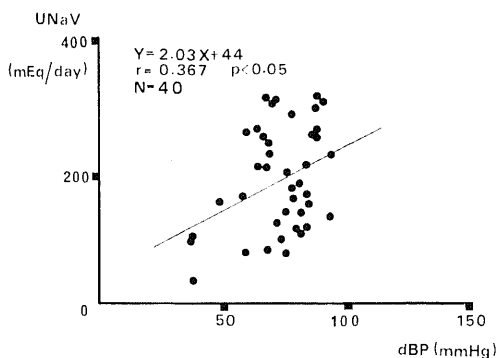


Fig. 12. Correlation between diastolic blood pressure (dBP) and UNaV.

The line of best fit was calculated by least square analysis.

現前後に有意の変化を示し (図 4), 同時に CNa との間にも有意の相関 (図 13) を示し血圧の増加が細胞外液量の増加による (MC 作用の結果) ことが推定された。以上の結果より escape 現象の発現には MC による血圧の増加も関与している可能性があると考えられる。

結 論

健常男性に中等度のナトリウム負荷下で, MC 作用を有する $9\alpha\text{-F}$ 0.6 mg/日を外因性に連続 8 日間投与し, escape 現象の発現を観察した。これに伴い escape 現象の成因に及ぼす各種パラメータの役割を検討し次の結果を得た。

1. 全例で $9\alpha\text{-F}$ 投与開始後 3~5 日目に escape 現象が観察された。escape 発現時の累積ナトリウム量は 478 ± 72 mEq であり, MC の作用に打ち勝って新たなナトリウム平衡が獲得される時点はこの時期にあると推定された。

2. escape 現象と $\alpha\text{-hANP}$ の関係

1) 血中 $\alpha\text{-hANP-LI}$ 値は escape 現象発現日の 1 日前にコントロール値より有意に高値を呈した。

2) 体内累積ナトリウム量が 380 mEq を越える時点より内因性の $\alpha\text{-hANP}$ は著明な増加反応を呈した。

3) escape 現象発現後の血中 $\alpha\text{-hANP-LI}$ 値はコントロール値に比べて高値ではあったが, 急激な増加反応は認められなくなった。

以上まとめると, $\alpha\text{-hANP}$ は escape 現象の発現前後に最も大きな動きを示し, 新たなナトリウム平衡獲得後も高値を維持した。以上より $\alpha\text{-hANP}$ は escape 現象の発現に何等かの役割を果たす可能性がある。

3. 24hCcr は escape 現象発現後に発現前より増加する傾向を認め, またその推移は尿中ナトリウム排

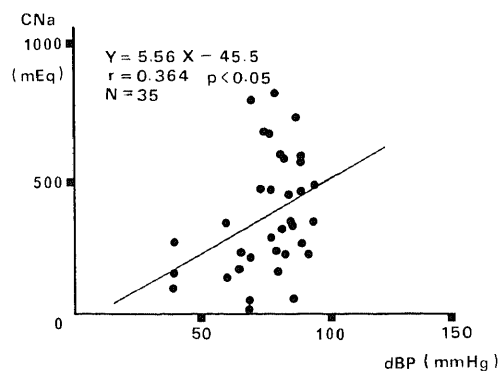


Fig. 13. Correlation between dBP and CNa.

The line of best fit was calculated by least square analysis.

泄量の推移と呼応していた。今回の実験から GFR の増加が escape 現象の発現に何等かの役割を果たす可能性がある。尚この GFR 増加に及ぼす内因性の α -hANP の関与の可能性は乏しい。

4. 腎の圧・ナトリウム利尿機構は MC 投与下でも失われておらず、MC による細胞外液量の増加とこれに引き続く血圧（今回の実験では主に拡張期血圧）の増加が escape 現象の発現に何等かの役割を果たす可能性がある。

以上より、escape 現象の発現には従来より報告されていた血行力学的因子に加えて、最近新たにその存在が報告された α -hANP の増加も関与している可能性が推定される。

謝 辞

稿を終るに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師竹田亮祐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宮森勇講師、森瀬敏夫助手に深く感謝し、併せて本研究の遂行に際して多大なる御協力を頂きました岡本清也先生、松原隆夫先生及び金沢大学医学部第二内科第二研究室 A グループの各先生方に深く感謝致します。

尚、本論文の要旨は第 8 回日本高血圧学会総会にて報告した。

文 献

- 1) Thorn, G. W., Sheppard, R. H., Morse, W. I., Reddy, W. J., Beigelman, P. M. & Renold, A. E.: Comparative action of aldosterone and 9-alpha-fluorohydrocortisone in man. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **61**, 609-619 (1955).
- 2) Relman, A. S. & Schwartz, W. B.: The effect of DOCA on electrolyte balance in normal man and its relation to sodium chloride intake. *Yale J. Biol. Med.*, **24**, 540-558 (1952).
- 3) Davis, J. O. & Howell, D. S.: Comparative effect of ACTH, cortisone and DCA on renal function, electrolyte excretion and water exchange in normal dogs. *Endocrinology*, **52**, 245-255 (1953).
- 4) August, J. L., Nelson, D. H. & Thorn, G. W.: Response of normal subjects to large amounts of aldosterone. *J. Clin. Invest.*, **37**, 1549-1555 (1958).
- 5) Knox, F. G., Burnett, J. C. Jr., Kohan, D. E., Spielman, W. S. & Strand, J. C.: Escape from the sodium-retaining effects of mineralocorticoids. *Kidney International*, **17**, 263-276 (1980).
- 6) De Wardener, H. E.: Natriuretic hormone. *Clin. Sci. Mol. Med.*, **53**, 1-8 (1977).
- 7) De Bold, A. J., Borenstein, H. B., Veress, A.

T. & Sonnenberg, V. H.: A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci.*, **28**, 89-94 (1981).

8) Kangawa, K., Fukuda, A., Minamino, N. & Matsuo H.: Purification and complete amino acid sequence of beta-rat atrial natriuretic polypeptide (β -rANP) of 5,000 daltons. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **119**, 933-940 (1984).

9) Sonnenberg, H., Cupples, W. A., De Bold, A. J. & Veress, A. T.: Intrarenal localization of the natriuretic effect of cardiac atrial extract. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **60**, 1149-1152 (1982).

10) Ludens, J. H. & Fanestil, D. D.: The mechanism of aldosterone function. *Pharmacol. Ther.*, **2**, 371-412 (1976).

11) Takeda, R., Morimoto, S., Uchida, K. & Miyamori, I.: Changes in plasma renin activity and plasma aldosterone in the induced paralytic attack of thyrotoxic periodic paralysis. *Acta Endocrinol.*, **82**, 715-727 (1978).

12) Rovner, D. R., Conn, J. W., Knopf, R. F., Cohen, E. L. & Hsueh M. T.: Nature of renal escape from the sodium-retaining effect of aldosterone in primary aldosteronism and in normal subjects. *J. Clin. Endocrinol.*, **25**, 53-64 (1965).

13) Durr, J., Favre, L., Gaillard, R., Riondel, A. M. & Vallotton M. B.: Mineralocorticoid escape in man: role of renal prostaglandins. *Acta Endocrinol.*, **99**, 474-480 (1982).

14) Biollaz, J., Durr, J., Burnner, H. R. Porchet, M. & Gavras, H.: Escape from mineralocorticoid excess: The role of angiotensin II. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **54**, 1187-1193 (1982).

15) Palluk, R., Gaida, W. & Hoefke, W.: Atrial natriuretic factor. *Life Sci.*, **36**, 1415-1425 (1985).

16) Hammond, T. G., Yusufi, A. N., Knox, F. G. & Dousa, P.: Administration of atrial natriuretic factor inhibits sodium-coupled transport in proximal tubules. *J. Clin. Invest.*, **75**, 1983-1989 (1985).

17) Nicholls, M. G., Ramsay, L. E., Boddy, K., Fraser, R., Morton, J. J. & Robertson, J. I. S.: Mineralocorticoid-induced blood pressure, electrolyte, and hormone changes, and reversal with spironolactone, in healthy men. *Metabolism* **28**, 584-593 (1979).

- 18) 池田正寿, 宮森 勇, 岡本清也, 松原隆夫, 越田英夫, 永井国夫, 武田仁勇, 安原修一郎, 森瀬敏夫, 竹田亮祐: α -hANP 持続投与の水・ナトリウム利尿夫応に及ぼすインドメサシンの影響. 日本臨床代謝学会記録 (XXII), 136-137 (1986).
- 19) Biglieri, E. G. & Forsham, P. H.: Studies on the expanded extracellular fluid and the responses to various stimuli in primary aldosteronism. *Am. J. Med.*, **30**, 564-576 (1961).
- 20) Shnermann, J., Hermle, M., Schmidmeier, E. & Dahlheim, H.: Impaired potency for feedback regulation of glomerular filtration rate in DOCA escaped rats. *Pflügers Arch.*, **358**, 325-338 (1975).
- 21) Davis, J. O., Holman, J. E., Carpenter C. C. J., Vrquhart, J. & Higgins, J. T.: An extra-adrenal factor essential for chronic renal sodium retention in presence of increased sodium-retaining hormone. *Circ. Res.*, **14**, 17-31 (1964).
- 22) Borenstein, H. B., Cupples, W. A., Sonnenberg, H. & Veress, A. T.: The effect of a natriuretic atrial extract on renal haemodynamics and urinary excretion in anaesthetized rats. *J. Physiol.*, **334**, 133-140(1983).
- 23) Atlas, S. A., Kleinert, H. D., Camargo, M. J., Januszewicz, A., Sealey, J. E., Laragh, J. H., Schilling, J. W., Lewicki, J. A., Johnson, L. K. & Maack, T.: Purification, sequencing and synthesis of natriuretic and vasoactive rat atrial polypeptide. *Nature*, **309**, 717-719 (1984).
- 24) Yukimura, T., Ito, K., Takenagd, T., Yamamoto, K., Kengawa, K. & Matsuo, H.: Renal effects of a synthetic α -human atrial natriuretic polypeptide (α -hANP) in anesthetized dogs. *Europ. J. Pharmacol.*, **103**, 363-366 (1984).
- 25) Currie, M. G., Geller, D. M., Cole, B. R., Boylan, J. G., YuSheng, W., Holmberg, S. W. & Needleman, P.: Bioactive cardiac substances: 1) Potent vasorelaxant activity in mammalian atria. *Science*, **221**, 71-73 (1983).
- 26) Currie, M. G., Geller, D. M., Cole, B. R., Siegel, N. R., Fok, K. F., Adams, S. P., Eubanks, S. R., Gallupi, G. R. & Needleman, P.: Purification and sequence analysis of bioactive atrial peptides (Atriopeptins). *Science*, **223**, 67-69 (1984).
- 27) De Bold, A. J. & Flynn, T. G.: Cardionatriin I-A novel heart peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Life Sci.*, **33**, 297-302 (1983).
- 28) 栗本文彦, 桜井兵一郎, 大野英人, 野村 馨, 出村 博, 鎮目和夫: Sep-pak C₁₈ (ODS) カラム法を用いた高感度 Radioimmunoassay による血中 ADG 測定法の確立とその臨床的応用. 日内分泌会誌, **59**, suppl. 571 (1983).
- 29) Arjamaa, O. & Vuolteenaho, O.: Sodium ion stimulates the release of atrial natriuretic polypeptides (ANP) from rat atria. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **132**, 375-381 (1985).
- 30) Hirata, Y., Tomita, M., Takata, S. & Inoue, I.: Specific binding sites for atrial natriuretic peptide (ANP) in cultured mesenchymal non-myocardial cells from rat heart. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **131**, 222-229 (1985).
- 31) Napier, M. A., Vandlen, R. L., Albers-Schonberg, G., Nutt, R. F., Brandy, S., Lyle, T., Winquist, R., Faison, E. P., Heinel, L. A. & Blaine, E. H.: Specific membrane receptors for atrial natriuretic factor in renal and vascular tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **81**, 5946-5950 (1984).
- 32) Daughaday, W. H., Macbryde, C. M. & MacBryde, C. M.: Renal and adrenal mechanisms of salt conservation: The excretion of urinary formaldehydogenic steroids and 17-ketosteroids during salt deprivation and desoxycorticosterone administration. *J. Clin. Invest.*, **29**, 591-601 (1950).
- 33) Wilkins, M. R., Wood, J. A., Adu, D., Lote, C. J., Kendall, M. J., & Michael, J.: Changes in plasma immunoreactive atrial natriuretic peptide during sequential ultrafiltration and haemodialysis. *Clin. Sci.*, **71**, 157-160 (1986).
- 34) Burnett, J. C. Jr., Kao, P. C., Hu, D. C., Hesser, D. W., Heublein, D., Granger, J. P., Opgenorth, T. J. & Reeder, G. S.: Atrial natriuretic peptide in congestive heart failure in the human. *Science*, **231**, 1145-1147 (1986).
- 35) Ogiwara, T., Shima, J., Hara, H., Kumahara, Y., Kangawa, K. & Matsuo, H.: Changes in human plasma atrial natriuretic polypeptide concentration in normal subjects during passive leg raising and whole-body tilting. *Clin. Sci.*, **71**, 147-150 (1986).
- 36) Schwartz, G. J. & Burg, M. B.: Mineralocorticoid effects on cation transport by cortical collecting tubules in vitro. *Am. J. Physiol.*, **235**, F576-F585 (1978).

- 37) **Sonnenberg, H.** : Proximal and distal tubular function in salt-deprived and salt-loaded deoxycorticosterone acetate-escaped rats. *J. Clin. Invest.*, **52**, 263-272 (1973).
- 38) **Knox, F. G., Schneider, E. G., Dresser, T. P. & Lynch, R. E.** : Natriuretic effect of increased proximal delivery in dogs with salt retention. *Am. J. Physiol.*, **219**, 904-910 (1970).
- 39) **Kaplan, N. M.** : Primary (Essential) Hypertension: Pathogenesis in Clinical Hypertension, 4th ed. p.56-122, Williams & Wilkins, Baltimore/London, 1986.
- 40) **Watkins, L., Jr., Burton, J. A., Harber, B., Cant, J. R., Smith, F. W. & Barger A. C.** : The renin-angiotensin-aldosterone system in congestive heart failure in conscious dogs. *J. Clin. Invest.*, **57**, 1606-1617 (1976).
- 41) **Higgins, J. T.** : Escape from sodium-retaining effects of deoxycorticosterone in hypotensive and hypertensive dogs¹ (34879). *Proc. Soc. Exp. Biol. med.*, **134**, 768-772 (1970).
- 42) **Yamaji, T., Ishibashi, M. & Takaku, F.** : Atrial natriuretic factor in human blood. *J. Clin. Invest.*, **76**, 1705-1709 (1986).
- 42) **Ragan, C., Ferrebee, JW., Phye, P., Atchley, DW. & Loeb, RF.** : A syndrome of polydipsia and polyuria induced in normal animals by desoxycorticosterone acetate. *Am. J. Physiol.*, **131**, 73-78 (1940).
- 43) **O'Neil, RG. & Helman, SI.** : Transport characteristics of renal collecting tubules: Influences of DOCA and diet. *Am. J. Physiol.*, **232**, F544-F558 (1977).
- 44) **Kaplan, NM.** : Primary aldosteronism, p.292-316, Clinical hypertension, 3rd ed. Williams & Wilkins, Baltimore/London, 1982.

The Possible Role of α -human Atrial Natriuretic Polypeptide (α -hANP) in Escape from the Effects of Mineralocorticoid Excess Masatoshi Ikeda, Department of Internal Medicine (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—*J. Juzen Med. Soc.*, **96**, 378—390 (1987)

Key words: escape phenomenon, mineralocorticoid, 9α -fluorohydrocortisone, α -human atrial natriuretic polypeptide

Abstract

The role of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (α -hANP) for escape phenomenon from the sodium retaining effects of mineralocorticoid was studied in man. Escape was induced by 9α -fluorohydrocortisone (9α -F, 0.6 mg/day t.i.d.) administration for 8 consecutive days in five healthy male volunteers who were fed an isocaloric diet containing 200-250 mEq of sodium and 60-80 mEq of potassium per day during the study period. Twenty-four hour urine was collected daily for the determinations of sodium, potassium and creatinine. Blood was withdrawn at 8-8:30 AM at supine, and plasma osmolarity (Posm), antidiuretic hormone (ADH), renin activity (PRA), aldosterone (Aldo) and α -hANP were measured. Escape from 9α -F, as indicated by an increase in urinary sodium excretion following transient sodium retention, occurred within 3-5 days when 478 ± 72 mEq sodium had accumulated from the pretreatment period. Posm and ADH tended to be lowered from baseline levels, and PRA and Aldo were suppressed significantly, as compared with those prior to escape, suggesting the expansion of plasma volume. The plasma α -hANP was 95.3 ± 27 pg/ml on the control day and significantly increased to 351 ± 69 pg/ml on the day prior to escape and remained elevated during escape. Plasma α -hANP increased markedly when the cumulative sodium volume exceeded 380 mEq. Twenty-four hour creatinine clearance changed in parallel to urinary sodium excretion. Diastolic blood pressure also rose significantly after the initiation of escape. To summarize, these results suggest that α -hANP may contribute to the initiation and duration of escape phenomenon in addition to other known factors such as increased glomerular filtration and blood pressure.