



## The effect of atrial natriuretic factor on canine glomerular afferent arterioles in vitro

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大石, 和久 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/909">http://hdl.handle.net/10271/909</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 56号	学位授与年月日	昭和63年 3月25日
氏名	大石和久		
論文題目	The effect of atrial natriuretic factor on canine glomerular afferent arterioles in vitro (犬糸球体輸入細動脈に対する心房性ナトリウム利尿ペプチドの作用)		

医学博士 大石和久

論文題目

The effect of atrial natriuretic factor on canine glomerular afferent arterioles in vitro

(犬糸球体輸入細動脈に対する心房性ナトリウム利尿ペプチドの作用)

論文の内容の要旨

心房性ナトリウム利尿ペプチド(atrial natriuretic peptide; ANP)は、心房から抽出されたペプチドであるが、腎に作用し糸球体濾過圧、糸球体濾過値を増加させるといわれている。しかし、その作用部位、作用機序については不明な点が多い。その理由のひとつは、輸出・入細動脈及び糸球体毛細血管に対するANPの直接作用をin vitroで検討する方法に乏しいことがあげられる。本研究は輸入細動脈へのANPの直接作用をみる目的で、輸入細動脈の単離灌流法を開発し、これを用いてANPの作用を検討した。

〔方法〕

犬腎を摘出し、氷冷下Krebs-Ringer液中にて皮質表層より輸入細動脈とそれに接した糸球体の一部分からなる標本を作成した。倒立顕微鏡上の37℃恒温槽中で輸入細動脈を灌流装置に固定し、5%アルブミンを含むKrebs-Ringer液で灌流した。この時、輸入細動脈の灌流圧は40-80 mmHg以下とした。5-10分間の間隔で恒温槽液を採取し、Lowryの変法で蛋白濃度を測定し、輸入細動脈灌流量を求め、灌流圧と灌流量より血管抵抗を求めた。

コントロール値(C)測定後、灌流液にノルエピネフリン(norepinephrine; NE)  $10^{-6}$  MまたはアンギオテンシンII(angiotensin II; AI)  $10^{-6}$  Mを加えて灌流を行った。次にNE  $10^{-6}$  Mとともにsynthetic human ANP(hANP)(Suntory Institute for Biomedical Research, Osaka)  $10^{-10}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-6}$  Mを加えて灌流した。また、hANPの血管拡張作用がcGMPを介するか否かを検討する目的で、輸入細動脈をNE  $10^{-6}$  Mにより収縮させた後、8-BrcGMP, dibutyryl cGMP(DBcGMP)またはdibutyryl cAMP(DBcAMP)をそれぞれ $10^{-4}$  M加えて灌流を行った。さらに、cGMP phosphodiesteraseの阻害剤である2-o-propoxyphenyl-8-azapurin-6-one(M&B 22, 948, May & Baker, England)  $4 \times 10^{-12}$  Mを灌流液に加え、NE  $10^{-6}$  Mに対するhANPの作用が増強されるか否かを検討した。

〔結果〕

皮質表層の輸入細動脈血管抵抗はNE  $10^{-6}$  MにてC値の9-20倍増加し、各標本のNE反応性は灌流2時間後までほぼ一定に維持された。しかし、AIは血管抵抗を有意に増加させなかった。

hANP  $10^{-10}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-6}$  MはNE  $10^{-6}$  Mによる血管抵抗の増加を、それぞれ、 $44.5 \pm 4.7$ 、 $57.2 \pm 3.4$ 、 $62.1 \pm 4.2$  %低下させた。8-BrcGMP, DBcGMPはNEによる血管抵抗の増加を、各々、 $82.0 \pm 4.4$ 、 $51.3 \pm 1.8$  %低下させたが、DBcAMPは血管抵抗を有意に低下させなかった。M&B 22, 948単独投与による血管抵抗の増加は $10.2 \pm 2.4$  %減少した。M&B 22, 948投与下で、hANP  $10^{-10}$ 、 $10^{-8}$ 、 $10^{-6}$  MはNEによる血管抵抗の増加を、各々、 $78.0 \pm 5.5$ 、 $85.5 \pm 4.8$ 、 $86.2 \pm 3.6$  %低下させた。

〔考察〕

上記の単離細動脈灌流法では、輸入細動脈はNEに強く反応して収縮し、その後に加えたhANP、cGMPで拡張した。各標本で、NEに対する反応性は灌流2時間後までほぼ一定に維持された。このことは、本法が輸入細動脈に対する血管作動物質の直接作用を検討する上で有用な方法であることを示している。

輸入細動脈はAIに反応せず、AIのこの部への直接作用はないと考えられる。NEにより収縮した輸入細動脈の血管抵抗はhANP、2種類のcGMPによって減少した。さらに、M&B 22, 948はhANPの作用を相乗的に増強した。以上の結果は、hANPがcGMPを介して輸入細動脈を拡張させることを強く示唆している。このことは、ANPによる糸球体濾過値増加機序の一部に、輸入細動脈の拡張による糸球体毛細血管内圧増加が関与していることを示唆している。

## 〔結論〕

犬皮質表層輸入細動脈はNEに反応して収縮するが、AIIに対しては収縮反応を示さない。hANPはNEにより収縮した輸入細動脈を拡張させる。このhANPの作用は、cGMP生成増加を介している可能性がある。

## 論文審査の結果の要旨

種々の薬物、ホルモンが腎の糸球体毛細血管、輸出入細動脈に作用し、糸球体濾過圧、糸球体濾過値を変えられているが、その研究方法はin vitro, in vivoともそれほど多くなく、また、問題点もある。申請者は、Osgoodらの方法を改良してin vitroでの輸入細動脈の単離灌流法を開発し、この方法を用いて心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)の輸入細動脈に対する直接作用について検討した。

in vivo実験の結果ではANPにより輸入細動脈は拡張、輸出細動脈は収縮するため、糸球体濾過圧、糸球体濾過値が増加し、そのためANPが利尿作用を示すことが報告されている。しかし、in vitro実験ではANPの輸出入細動脈に対する直接作用は証明されていない。

申請者はin vitro実験で、犬皮質表層輸入細動脈はノルエピネフリンに反応して収縮するが、アンギオテンシンIIに対しては収縮反応を示さないことを示した。また、ANPはノルエピネフリンにより収縮した輸入細動脈を拡張させ、その作用はcGMPを介する可能性があることを、8-BrcGMP、dibutyryl cGMP、dibutyryl cAMP、cGMP phosphodiesterase阻害剤M&B 22,948を用いて確認した。

すなわち、1. 輸入細動脈単離灌流法は腎血管作動物質を研究する有用な方法であること 2. ANPは輸入細動脈を直接拡張すること 3. このANPの作用はcGMPを介する可能性があることを明らかにした論文である。

以上の論文について下記の質問や問題点が指摘された。

1. 糸球体静水圧と浸透圧の関係
2. 腎の輸出入細動脈に対する血管作動薬の作用を研究する実験法の種類と問題点
3. アンギオテンシンIIは何故作用が認められないと考えるか
4. 糸球体濾過係数について
5. ANP receptorの腎臓における分布は
6. レニン、アルドステロンとの関連
7. ANPの利尿の特色
8. ANPの血管作用の部位による選択性
9. 輸出細動脈についての反応はどうか

上記に対し、申請者はおおむね適切な解答を行い、問題点についても今後検討する予定であるとの解答を得た。その結果、本研究論文は学位授与に値するものと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	中島	光好			
	副査	教授	高田	明和	副査	教授	吉見輝也
	副査	助教授	太田	英彦	副査	講師	小林明