

綜 説

心房性ナトリウム利尿ペプチド

河 合 康 明

信州大学医学部第1生理学教室

Atrial Natriuretic Peptide

Yasuaki KAWAI

Department of Physiology, Shinshu University School of Medicine

Key words: atrial natriuretic peptide (ANP), vascular smooth muscle, ANP receptor, right atrial pressure, guanylate cyclase

心房性ナトリウム利尿ペプチド, 血管平滑筋, ANP 受容体, 右心房内圧, グアニル酸シクラーゼ

I はじめに

心房性ナトリウム利尿ペプチド atrial natriuretic peptide (ANP) は, その名が示す通り, 心房筋細胞中にある特殊顆粒中で合成, 貯蔵され, 心房内圧上昇などの刺激により分泌されるペプチドホルモンである。近年, ANP に関する生理・薬理学的な研究が活発に進められ, このホルモンが体液量や循環動態の調節に重要な役割を果たすことが明らかにされつつある。

心房筋細胞中に, 内分泌腺の分泌顆粒と類似した特殊顆粒が存在することは, 古くより知られていたが¹⁾, その生理的機能については何ら手掛りが得られていなかった。1979年, De Bold は, ラットに絶水や食塩負荷を行うと, 心房の特殊顆粒が増減することを見出した²⁾。さらに彼らは, ラットの心房抽出物を他のラットに静注すると, 著しい水ならびに Na 利尿が誘起されることを発見し, 心房筋細胞中に Na 利尿因子が含まれていることを指摘した³⁾。

腎からの排泄機能の調節因子としては, 従来よりアルドステロンや抗利尿ホルモン antidiuretic hormone (ADH) が知られている。しかしながら, これらのホルモンはいずれも利尿を抑制することから, 利尿を促進する第3の因子の発見が待ち望まれていた。こうした歴史的背景もあって, ANP の発見は大いに注目

を集め, その研究は飛躍的な発展を遂げることになる。まず, 生化学的な研究が精力的に展開され, 精製, 構造決定, 合成, ラジオイムノアッセイ radioimmunoassay (RIA) の確立がなされてきた。続いて, 生理・薬理学的な観点から ANP の生理活性の解析が行われ, 多岐にわたる ANP の生理作用が明らかにされつつある。同時に, 高血圧や心不全, 腎不全などの浮腫性疾患との関連が注目されてきた。本稿ではこの ANP について, 過去の業績を紹介するとともに, 現況, 将来の展望などを概説してみたい。

II ANPの化学構造

1982年~1983年の間に, ANP の精製が盛んに行われ, 続いてこのペプチドのアミノ酸配列が決定された。ヒトの心房中には分子量約3,000の α 型(α -hANP), 約6,000の β 型(β -hANP)ならびに約13,000の γ 型(γ -hANP)が存在することが示されている⁴⁾⁵⁾。 α -hANP は28個のアミノ酸からなるペプチドであり, 7位と23位のシステインがS-S結合している(図1)。 β -hANP は, α -hANP の逆平行2量体である。また γ -hANP は, 126個のアミノ酸からなるペプチドで, そのC末端[AA 99-126]は α -hANP のアミノ酸配列と全く同じである。 α , γ 型は, ヒトを含む多くの動物種から発見されているが, β 型は現在までのところ

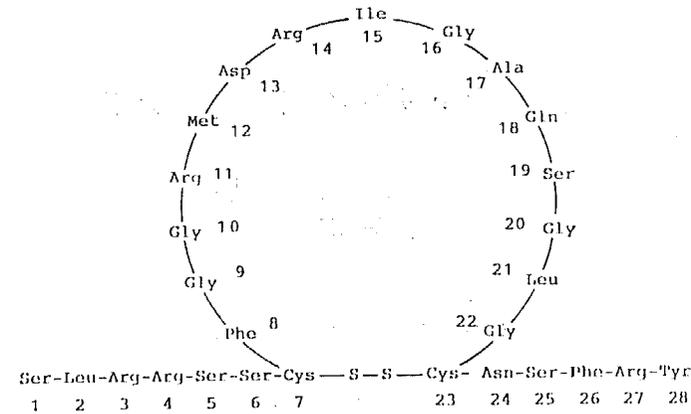


図1 α 型ヒト心房性ナトリウム利尿ペプチド (α -hANP) の化学構造

ヒトにしか見出しされていない。ANP の精製が行われた初期には、その精製過程の条件の相違により、多数のペプチドがラット心房より分離され、命名された。Auriculin, atriopeptin, cardionatrin, atrial natriuretic polypeptide, atrial natriuretic factor などである。しかしながら、その後の研究により、これらはいずれも γ -rANP (126個のアミノ酸からなり、ラット心房において ANP は、この γ 型として貯蔵される) の分解産物であることが判明した。さらに、ラットの血中成分として存在するのは、 α -rANP であることが判明した。この α -rANP は、 α -hANP ときわめて良く似た構造で、12位のメチオニンがイソロイシンに置き替わったアミノ酸配列を有している⁶⁾。他の動物の ANP は、イヌはヒト型であり、ウサギやマウスなどのげっ歯類はラット型のアミノ酸配列を示す。

ANP の構造—生理活性相関に関する研究も進められてきており、現在までのところ、1) ANP の活性は S-S 結合による環状構造に起因すると推測される。2) N末端の6アミノ酸残基は、活性発現に必須ではない。3) C末端のアミノ酸の動きは、必ずしも明確にされていないが、フェニルアラニン (26位)、アルギニン (27位) が脱落すると、ANP 作用の一部 (特に平滑筋弛緩作用) が失活する等のことが知られている^{7)~10)}。

III ANP の体内分布

生体内における ANP の局在は、RIA や免疫組織化学的研究により調べられている。ANP 免疫活性の分布は、特に心房において高く、これと比較して心室ではきわめて低い¹¹⁾。しかしながら、ごく最近、心筋炎

等のある種の心疾患患者では、心室における ANP 生成が増加する可能性が指摘されており、今後の研究課題と思われる。心房内の ANP 分布には部位差が認められ、1) 右房の方が左房より多い。2) 心外膜側は心内膜側より多い。3) 心房中隔には少ないことが知られている¹²⁾。他には、わずかながら、腺組織や脳にも局在することが確かめられている。脳の ANP は、AV3V 領域に多いことから、飲水行動との関連が指摘されている¹³⁾。

IV ANP の分泌と血漿濃度

ANP の分泌機構に関する研究は、RIA 法の確立により血漿 ANP 濃度の定量化が可能になったことにより、急速に進歩してきた。ここでは、ANP 分泌調節因子を、1) 物理的因子、2) 体液性因子、3) 神経性因子に大別し、その概略を紹介する。

1) 物理的因子

ラットに高ナトリウム食を負荷すると、血漿 ANP 濃度が上昇することが、数多くの研究者により報告されている¹⁴⁾¹⁵⁾。この際、分泌促進の有効刺激となるのは、ナトリウムの体内貯留による血漿ナトリウム濃度の上昇ではなく¹⁶⁾、むしろ体液量の増加による容量負荷であることが指摘されてきた¹⁷⁾。すなわち、ANP は循環血液量の増減に応じて、分泌量が調節されることが示唆された。さらに、この容量負荷による ANP 分泌促進のメカニズムを調べた結果、容量負荷が加えられることにより生ずる心房内圧の上昇が、ANP 分泌を促進する誘因となることが明らかにされた¹⁸⁾¹⁹⁾。Schiebinger らによれば、心房内圧が上昇すると心筋の張力が増加し、これが ANP 分泌の直

接刺激であると報告されている²⁰⁾。この他、心拍数が ANP 分泌に影響を与えるという報告が散見されるが²¹⁾、その因果関係については、現在のところ明確な結論は得られていない。

2) 体液性因子

Sonnenberg らは、エピネフリン、バゾプレッシンが ANP 分泌促進能を示すことから、体液性因子が関与する可能性を指摘した²²⁾。一方、Zamir らは、下垂体前葉ホルモンが、心房からの ANP 遊離を修飾することを示唆した²³⁾。また、ごく最近、甲状腺ホルモンを脱水状態のラットに投与すると、ANP mRNA が増加し、血漿 ANP レベルが上昇することが示された²⁴⁾。

3) 神経性因子

ANP の分泌調節に神経性因子が関与しているか否かは不明な点が多い。一方では、①容量負荷による ANP 分泌増加は、摘出心臓標本においても認められる¹⁷⁾。②左房内 ballooning による心房内圧上昇時の分泌亢進は、心臓神経切断犬においても認められる¹⁹⁾——などの理由により、心臓神経は ANP 分泌機構において、あまり重要な役割を果たしていないと推測されている。ところが、これとは反対に、除神経により、容量負荷による ANP 分泌亢進は消失するという報告もある²⁵⁾。この問題に関しては、今後のより詳細な検討が必要であろう。

血漿 ANP 濃度は、動物種によりかなり異なる。ラットやハムスターは高く 100~600pg/ml であり²⁶⁾⁻²⁸⁾、容量負荷などの刺激により最大 2,400pg/ml ときわめて高値を示すことが報告されている²⁸⁾。イヌやウサギは中等度で 50~120pg/ml²⁹⁾³⁰⁾、これに対し、ヒトは比較的 low 値で 7~63pg/ml 程度である³¹⁾³²⁾。ところが、水分摂取量などの測定時の条件や、RIA に用いる抗体の違いなどにより、200pg/ml 以上の高値が観察されることもあるので³³⁾、ヒト血漿 ANP 濃度の測定には注意を要する。

V ANP の生理作用

ANP の合成が可能となり、合成 ANP の生理活性が、精製された ANP の活性と等しい³⁴⁾ことが示されるに至り、ANP の生理作用に関する研究は長足の進歩を遂げた。これまで報告されている ANP 作用の主なものは、1) 腎からの水、電解質の排泄促進、2) レニン、アルドステロンの分泌抑制、3) 平滑筋弛緩ならびに 4) 血圧降下作用などである。

1) 水、電解質の排泄

ANP (約 10^{-9} M) をラットに静注すると、尿量の増加とともに尿中への Na, Cl, K, Ca, Mg, P の排泄が増す³⁾³⁵⁾。この作用は速効性であり、投与直後から効果が現れ、投与中止 10~40 分後には作用が消失する。繰り返し ANP を投与しても顕著な tachyphylaxis は認められず、また持続投与を行った場合、投与中の作用減衰はおこらない³⁶⁾。フロセマイドの利尿作用と比較すると、ANP は約 1,000 分の 1 の濃度でフロセマイドと同等の作用を有する³⁷⁾。

腎内における ANP の作用機序については、いまだに不明な点が多い。ANP の 1 つの働きとして、近位尿細管におけるイオン輸送を抑制することが報告されている³⁸⁾。しかしながら、近位尿細管には ANP 受容体がほとんどなく³⁹⁾、また、ANP を *in vitro* で投与した場合には、近位尿細管への直接作用は認められない⁴⁰⁾。こうした事実から、ANP による Na 利尿作用が、単に近位尿細管におけるイオン輸送の抑制に全て起因しているのではないと考えられている。ANP は腎動脈に対して著明な血管拡張作用を有することは良く知られた事実である。したがって、腎血流量 (RBF) の増加が ANP による利尿作用の要因の 1 つであると考えられる。RBF の増加は、糸球体濾過量 (GFR) の増加を惹起すると予想される。事実、ANP により GFR が増加したという報告は数多い³⁵⁾⁴¹⁾⁴²⁾。しかしながら、*in vivo* で ANP を投与した場合に、必ずしも RBF が増加するとは限らない⁴²⁾。したがって、GFR の増加は、RBF の増加によるのではなく、むしろ濾過率 filtration fraction の上昇によることも考えられる⁴³⁾。ANP をラットに投与すると、輸入細動脈は拡張するが、輸出細動脈は収縮し、その結果、糸球体の毛細管内圧は上昇する⁴³⁾⁴⁴⁾。こうした事実は、ANP による GFR の増加は、濾過率上昇の結果であるとする考え方と一致する。以上、ANP による利尿作用の発現機序として、尿細管におけるイオン輸送の抑制ならびに GFR の増加を挙げた。しかしながら、ANP による水分・Na 利尿の増加は、これら 2 つの因子では説明できない程著しい。したがって、ANP は腎臓内において、近位尿細管や糸球体以外の部位にも作用していると考えるのが妥当であろう。

2) レニン、アルドステロン分泌抑制

イヌに ANP を投与すると、腎からのレニン分泌、血漿レニン活性が低下する⁴²⁾⁴⁵⁾。この現象のメカニズムとして、以下の可能性が考えられている。①既述

のごとく ANP は、輸入細動脈を拡張、輸出細動脈を収縮させる為に、糸球体の毛細管内圧を上昇させる⁴³⁾。この圧上昇により糸球体細胞が伸展され、レニン分泌が抑制される。②ANP 投与の結果、ヘンレ係蹄上行脚の緻密斑に達する Na 量が増加し、これが引き金となってレニン分泌が減少する⁴⁶⁾。③ANP の糸球体細胞への直接作用によりレニン分泌が低下する。しかしながら、ANP によるレニン分泌抑制作用は、ANP 投与前のレニン活性レベルに依存して異なる。すなわち、2 腎 1 クリップ型 Goldblatt 高血圧ラットのように、予めレニン活性の高い動物に ANP を投与すると、血漿レニン活性は抑制されるが、正常ラットに ANP を投与しても、レニン活性は変化しない⁴⁷⁾。

ANP は、また、副腎皮質球状層からのアルドステロン分泌を抑制する。アルドステロンの遊離は、KCl, プロスタグランジン E₁, フォルスコリン, cAMP, ACTH, アンギオテンシン II など多くの因子により促進されるが、ANP はいずれの分泌促進因子をも抑制する⁴⁸⁾。副腎球状層には、ANP に対して高親和性を示す特異的受容体が存在することから⁴⁹⁾⁵⁰⁾、ANP はアルドステロン分泌細胞に対して、直接抑制する作用を有すると推測される。さらに、ANP はレニン活性を抑制する結果、血中アンギオテンシン II 濃度を低下させ、これがアルドステロン分泌抑制の原因となることも考えられる。

3) 平滑筋弛緩

ANP は血管平滑筋やその他の平滑筋に対し、弛緩作用を有することが知られている⁵¹⁾。ここでは、血管平滑筋に焦点を絞って、ANP の作用を述べる。予め血管収縮物質により拘縮状態においた摘出血管標本に ANP を投与すると、用量依存性の弛緩反応が認められる⁸⁾⁵¹⁾⁵²⁾。この弛緩作用には、顕著な tachyphylaxis は認められない。この反応の IC₅₀ 値 (50%弛緩を惹起する ANP 濃度) は、血管の種類により異なるが、ウサギやサルの腎動脈では lnM もしくはそれ以下である⁵³⁾⁵⁴⁾。また、前収縮を負荷するための収縮物質として、ノルエピネフリン、セロトニン、プロスタグランジン F_{2α}, アンギオテンシン II のいずれを用いた場合にも、ANP 作用に有意差が認められない⁷⁾⁵⁵⁾⁵⁷⁾。一方、自発性収縮に対する ANP 作用については、いくつかの報告があるが、その詳細は未だに不明である。ウサギやラットの門脈の自発性収縮は、ANP による抑制を受けないことが知られている⁵⁷⁾。ところが、サ

ル門脈やウン腸間膜リンパ管⁵⁸⁾においては、ANP は著明な負の変時・変力作用を示す。

血管作動物質に対する摘出血管平滑筋の反応性は、血管の種類によって異なる。したがって、循環調節における ANP の作用を総合的に理解するためには、血管平滑筋に対する ANP 作用の不均一性を体系的に知ることが重要である。最近、著者らは、摘出した内頸動脈の ANP に対する反応性には、著しい動物種差 (サル ≧ ウサギ) > イヌ) が認められることを報告した⁵⁹⁾。こうした傾向は内頸動脈に限らず、腎動脈を含む他の血管標本においても確認している。一方、同じ動物種の血管であっても、その部位により ANP 反応性が異なる。たとえば、サル動脈標本の ANP 反応性は高い方から：腎動脈 > 肺動脈 > 大腿動脈 = 腸間膜動脈 > 冠動脈 > 中大脳動脈 > 脳底動脈の順である⁵⁴⁾。こうした反応性の部位差は、腎動脈の反応性が高く、脳動脈の反応性が低いという点で、ウサギを用いた Faison らの報告⁵³⁾と定性的に一致する。

血管平滑筋に対する薬物の直接作用を観察するには摘出血管標本を用いた *in vitro* の実験方法が適しているが、これらの方法では、細小動脈の反応性を調べるのは困難である。そこで、外径 100 μm 以下の動脈に及ぼす ANP の作用は、*in vivo* 実験において径変化を測定することにより研究されてきた。そうした実験結果から、①ラットに ANP を静注すると、腎糸球体からの輸出細動脈の血管径は減少する⁶⁰⁾。②腸間膜や骨格筋の細動脈 (外径 25~60 μm) は、ANP の静注あるいは局所投与を行っても拡張しない⁶¹⁾——ことが報告されている。これらの結果は、より太い血管に認められる著明な弛緩反応と異なっており、*in vivo* における ANP 作用を理解する上で、重要な情報である。

ANP は、動脈のみならず静脈平滑筋に対しても弛緩作用を有する。Winqvist らは、ウサギ顔面静脈の ANP に対する弛緩反応は、動脈と同様にきわめて鋭敏であることを指摘した⁵⁷⁾。しかしながら、Faison らは、顔面静脈以外のウサギ静脈は、動脈標本と比べて反応性が劣ると述べている⁵³⁾。著者らは、サル静脈標本の ANP 反応性を体系的に調べ、①ウサギと同様に、静脈標本の ANP 反応性は、動脈標本より低い。②各種静脈標本の反応性には部位差がある——ことを見出した⁵⁴⁾。以上のごとく、摘出血管標本の ANP 反応性は、動物種差、部位差、血管径の違い、動脈静脈の違い等により異なるので、生体内における ANP の働

きは、複雑であることが推測される。

ANP による血管平滑筋弛緩作用のメカニズムについては、多くの研究がなされ、以下のことが知られている(56)62)63)。① α アドレナリン受容体に対する拮抗作用によるのではない。② β アドレナリン作動性神経、コリン作動性神経、ヒスタミン作動性神経、ドパミン作動性神経等の刺激を介する間接的な作用ではない。③内因性プロスタグランジンの遊離は関与しない。④平滑筋細胞の膜電位には影響を与えない。⑤Na-K ATPase の活性を阻害する作用はない。⑥内皮細胞の有無に依存しない。⑦後述のごとく、平滑筋細胞膜には ANP の特異的受容体が存在し、この受容体に対する直接作用の結果、細胞内 cGMP 濃度が上昇し、これが平滑筋弛緩を誘起すると考えられる。

4) 血圧降下作用

ANP の降圧作用については、異論がないわけではないが(9)64)65)、ヒトを含む多くの動物種において、ANP の静注により血圧低下が惹起されることが知られている。しかしながら、ANP による降圧作用のメカニズムについては、不明な点が多く、現時点で明確な結論は得られていない。Garcia らは、マイクロスフェア法を用いて無麻酔ラットの局所血流量を測定し、ANP 投与により全身の末梢血管抵抗が低下することを指摘した(66)。一方、ANP による血圧低下は、心拍出量の低下が原因であるとする報告も数多い(44)67)。そして、この心拍出量の低下にしても、静脈還流量の減少に起因するという報告もあれば(68)、冠血流量減少による心収縮力の低下によるとする説もある(69)。こうした結果の不一致を生ずる原因として、動物種差、ANP 投与方法(投与量、投与時間、投与経路等)、動物の年齢(月齢)、血流量の測定法、血漿レニン活性などの違いが考えられる。これらの点を考慮した上で今後の詳細な研究が待たれる。

VI ANP 受容体と細胞内情報伝達機構

1984年、Hirata らはラット大動脈由来の培養平滑筋細胞に ANP の特異的受容体が存在することを証明した(70)。ANP 受容体は平滑筋以外にも、副腎球状層(49)50)、腎糸球体や尿管上皮(71)、血管内皮細胞(72)などに存在することが報告されている。これらの受容体に対する ANP の親和性は高く、解離定数(Kd 値)はおよそ 0.05~2nM である(71)73)74)。また、ANP に対する特異性が高いため、他の非関連ペプチド(アンジオテンシンII、バゾプレッシン等)は、ANP に対し

拮抗作用を示さない(49)71)73)74)。さらに、ANP の受容体数(Bmax)は、平滑筋細胞では20-30万個とされているが、血中 ANP 濃度が増加しているような状態では、その数が減少(down-regulation)することが知られている(73)。これらの ANP 受容体の特性より、ANP がホルモンとしての生理作用を果たしていることが強く示唆される。最近、Murad らは、ANP 受容体にはグアニル酸シクラーゼと密接に関連(後述)する結合部位(ANP-1)と、関連していない結合部位(ANP-2)の2種類が存在することを示した(75)。一方 Maack らは、生理作用を発揮するB受容体(Murad らの ANP-1 に相当)と、末梢における ANP 代謝に関与するC受容体(ANP-2 に相当)に分類し、おのおのの特徴を報告している(学会発表)。こうした ANP 受容体の多様性が、いかなる生理学的意義を有しているのか、今後さらに検討が必要である。

ANP 受容体の同定に関する研究は盛んに行われており、多数の報告があるが、その詳細は他の成書にゆずる。最近、培養平滑筋や腎皮質の ANP 受容体の cDNA クローニングに成功したという報告がなされた(学会発表)。受容体の全構造が解明される日も、そう遠くないと思われる。

ANP 作用の細胞内情報伝達機構に関する研究も盛んにされており、ANP を投与すると、組織中の cGMP 濃度が上昇するという報告が数多くなされてきた。この cGMP 濃度の上昇は、膜結合型グアニル酸シクラーゼの活性を高めることに起因する(76)77)。血管平滑筋細胞では、cGMP は細胞膜 Ca-Mg ATPase (Caポンプ)を活性化し、細胞外へ Ca を汲み出す作用が知られている(78)。これらの事実より、ANP の血管平

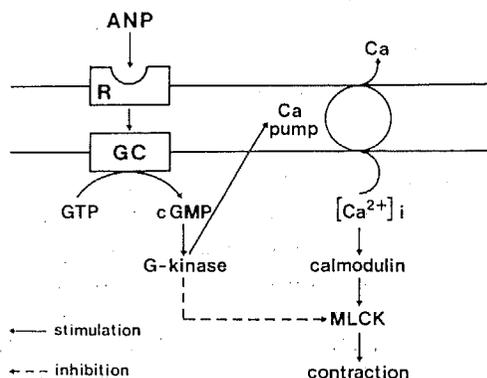


図2 ANP 作用の細胞内情報伝達機構を示した模式図

滑筋弛緩作用において、cGMP がセカンドメッセンジャーとしての役割を果たしている可能性が提唱されている。図2は、血管平滑筋における ANP 作用のメカニズムを示した模式図である。しかしながら、最近この考えに対し、矛盾が指摘されるようになってきた。すなわち、①グアニル酸シクラーゼを活性化することなしに、血管平滑筋を弛緩させる ANP アナログがある⁷⁹⁾。②ANP 受容体に対する ANP の解離恒数は、前述のごとく 0.05~2nM であり、また、平滑筋弛緩作用の IC₅₀ 値は、やはり 1nM 程度である。ところがグアニル酸シクラーゼを活性化し、cGMP 増加を誘起する ANP 濃度は、10nM 以上である⁸⁰⁾⁸¹⁾——ことが報告されてきた。ANP 作用の細胞内情報伝達機構として、cGMP が生理的役割を担うか否かは、さらに詳細な検討が必要である。

VII ま と め

哺乳類の心房筋細胞中に、強力な水分ならびに Na 利尿を誘起するペプチドホルモンが発見され、心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) と命名された。 α -hANP は、28個のアミノ酸からなるペプチドであり、その活性の発現には、S-S 結合による環状構造ならびにC末端の Phe-Arg が重要である。ANP の分泌

調節には、1) 物理的因子 (心房内圧等)、2) 体液性因子 (エピネフリン、バゾプレッシン等)、3) 神経性因子の関与が示唆されている。血漿 ANP 濃度は種差があり、ヒトでは比較的低値 (7~63pg/ml) を示す。ANP の生理作用は、利尿作用に加えて、レニン・アルドステロンの分泌抑制、平滑筋弛緩、血圧降下作用などが知られている。これらの多彩な作用を反映して腎糸球体、尿細管上皮、副腎球状層、血管平滑筋、血管内皮細胞、血小板など多くの組織 (細胞) に、ANP に対する特異的受容体の存在が認められる。ANP 投与により、これらの組織におけるグアニル酸シクラーゼ活性が高まることが明らかにされており、cGMP が ANP 作用のセカンドメッセンジャーとして働いている可能性が提唱されている。

ANP に関する研究は、長足の進歩を遂げたとはいえ、その歴史は浅い。したがって、現状では、相反する結果が報告されることもしばしばあり、定説をみるに至っていない研究テーマが多い。また、紙面の都合上、本稿では紹介できないが、臨床的観点からの ANP 研究も精力的に展開されている。今後、基礎的な研究がさらに進み、ANP の作用機序が一層明確にされるときともに、ANP の臨床応用が確立されることが望まれる。

文 献

- 1) Jamieson, J.D. and Palade, G.E. : Specific granules in atrial muscle cells. *J Cell Biol*, 23 : 151-172, 1964
- 2) De Bold, A. J. : Heart atria granularity effects of changes in water-electrolyte balance. *Proc Soc Exp Biol Med*, 161 : 508-511, 1979
- 3) De Bold, A. J., Borenstein, H. B., Veress, A. T. and Sonnenberg, H. : A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci*, 28 : 89-94, 1981
- 4) Kangawa, K. and Matsuo, H. : Purification and complete amino acid sequence of α -human atrial natriuretic polypeptides (α -hANP). *Biochem Biophys Res Commun*, 118 : 131-139, 1984
- 5) Kangawa, K., Fukuda, A. and Matsuo, H. : Structural identification of beta-and gamma-human atrial natriuretic polypeptide (β and γ -hANP). *Nature*, 313 : 397-400, 1985
- 6) Kangawa, K., Fukuda, A., Kubota, I., Hayashi, Y. and Matsuo, H. : Identification in rat atrial tissue of multiple forms of natriuretic polypeptides of about 3,000 daltons. *Biochem Biophys Res Commun*, 121 : 585-591, 1984
- 7) 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. and Maack, T. : Purification, sequencing and synthesis of natriuretic and vasoactive rat atrial peptid. *Nature*, 309 : 717-719, 1984
- 8) Currie, M. G., Geller, D. M., Cole, B. R., Siegel, N. R., Fok, K. F., Adams, S. P., Eubanks, S. R., Galluppi, G. R. and Needleman, P. : Purification and sequence analysis of bioactive atrial peptides (atriopeptins). *Science*, 223 : 67-69, 1984
- 9) Oshima, T., Currie, M. G., Geller, D. M. and Needleman, P. : An atrial peptide is a potent

- renal vasodilator substance. *Circ Res*, 54 : 612-616, 1984
- 10) Sugiyama, M., Fukumi, H., Grammer, R.T., Misono, K.S., Yabe, Y., Morisawa, Y. and Inagami, T. : Synthesis of atrial natriuretic peptides and studies on structural factors in tissue specificity. *Biochem Biophys Res Commun*, 123 : 338-344, 1984
 - 11) Miyata, A., Kangawa, K., Toshimori, T., Hatoh, T. and Matsuo, H. : Molecular forms of atrial natriuretic polypeptides in mammalian tissues and plasma. *Biochem Biophys Res Commun*, 129 : 248-255, 1985
 - 12) Cantin, M., Gutkowska, J., Thibault, G., Milne, R.W., Ledoux, S., Minli, S., Chapeau, C., Garcia, R., Hamet, P. and Genest, J. : Immunocytochemical localization of atrial natriuretic factor in the heart and salivary glands. *Histochemistry*, 80 : 113-127, 1984
 - 13) Jacobowitz, D.M., Skofitsch, G., Keiser, H.R., Eskay, R.L. and Zamir, N. : Evidence for the existence of atrial natriuretic factor-containing neurons in rat brain. *Neuroendocrinology*, 40 : 92-94, 1985
 - 14) Tanaka, I., Misono, K.S. and Inagami, T. : Atrial natriuretic factor in rat hypothalamus, atria and plasma : Determination by specific radioimmunoassay. *Biochem Biophys Res Commun*, 124 : 663-668, 1984
 - 15) Shenker, Y., Sider, R.S., Ostafin, E.A. and Grekin, R.J. : Plasma levels of immunoreactive atrial natriuretic factor in healthy subjects and in patients with edema. *J Clin Invest*, 76 : 1684-1687, 1985
 - 16) Dietz, J.R. : Control of ANF release by atrial volume and sodium. *Fed Proc*, 45 : 527, 1986
 - 17) Lang, R.E., Thoenken, H., Ganten, D., Luft, F.C., Ruskoaho, H. and Unger, T. : Atrial natriuretic factor—a circulating hormone stimulated by volume loading. *Nature*, 314 : 264-266, 1985
 - 18) Ledsome, J.R., Wilson, N., Courneya, C.A. and Rankin, A.J. : Release of atrial natriuretic peptide by atrial distension. *Can J Physiol Pharmacol*, 63 : 739-742, 1985
 - 19) Goetz, K.L., Wang, B.C., Geer, P.G., Leadley, R.J. and Reinhardt, H.W. : Atrial stretch increases sodium excretion independently of release of atrial peptides. *Am J Physiol*, 250 : R946-R950, 1986
 - 20) Schiebinger, R.J. and Linden, J. : The influence of resting tension on immunoreactive atrial natriuretic peptide secretion by rat atria superfused *in vitro*. *Circ Res*, 59 : 105-109, 1986
 - 21) Schiebinger, R.J. and Linden, J. : Effect of atrial contraction frequency on atrial natriuretic peptide secretion. *Am J Physiol*, 251 : H1095-H1099, 1986
 - 22) Sonnenberg, H. and Veress, A.T. : Cellular mechanism of release of atrial natriuretic factor. *Biochem Biophys Res Commun*, 124 : 443-449, 1984
 - 23) Zamir, N., Haass, M., Dave, J.R. and Zukowska-Grojec, Z. : Anterior pituitary gland modulates the release of atrial natriuretic peptides from cardiac atria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84 : 541-545, 1987
 - 24) Gardner, D.G., Gertz, B.J. and Hane, S. : Thyroid hormone increases rat atrial natriuretic peptide messenger ribonucleic acid accumulation *in vivo* and *in vitro*. *Mol Endo*, 1 : 260-265, 1987
 - 25) Petterson, A., Ricksten, S-E., Towle, A.C., Hedner, J. and Hedner, T. : Effect of blood volume expansion and sympathetic denervation on plasma levels of atrial natriuretic factor (ANF) in the rat. *Acta Physiol Scand*, 124 : 309-311, 1985
 - 26) Tsunoda, K., Hodsman, G.P., Sumithran, E. and Johnston, C.I. : Atrial natriuretic peptide in chronic heart failure in the rat : a correlation with ventricular dysfunction. *Circ Res*, 59 : 256-261, 1986
 - 27) Franch, H.A., Callahan, L.T. and Blaine, E.H. : Plasma and atrial content of atrial natri-

- uretic factor in cardiomyopathic hamsters. *Life Sci*, 39 : 1151-1159, 1986
- 28) Pettersson, A., Hedner, J., Ricksten, S-E., Towle, A.C. and Hender, T. : Acute volume expansion as a physiological stimulus for the release of atrial natriuretic peptides in the rat. *Life Sci*, 38 : 1127-1133, 1986
 - 29) Akabane, S., Kojima, S., Igarashi, Y., Kawamura, M., Matsushima, Y. and Ito, K. : Release of atrial natriuretic polypeptide by graded right atrial distension in anesthetized dogs. *Life Sci*, 40 : 119-125, 1987
 - 30) Rankin, A. J., Wilson, N. and Ledsome, J.R. : Influence of isoproterenol on plasma immunoreactive atrial natriuretic peptide and plasma vasopressin in the anesthetized rabbit. *Pflügers Arch*, 408 : 124-128, 1987
 - 31) Sagnella, G.A., Markandu, N.D., Shore, A.C. and MacGregor, G.A. : Plasma immunoreactive atrial natriuretic peptide and changes in dietary sodium intake in man. *Life Sci*, 40 : 139-143, 1987
 - 32) Gutkowska, J., Bourassa, M., Roy, D., Thibault, G., Garcia, R., Cantin, M. and Genest, J. : Immunoreactive atrial natriuretic factor (IR-ANF) in human plasma. *Biochem Biophys Res Commun*, 128 : 1350-1357, 1985
 - 33) Ogihara, T., Shima, J., Hara, H., Tabuchi, Y., Hashizume, K., Nagano, M., Katahira, K., Kangawa, K., Matsuo, H. and Kumahara, Y. : Significant increase in plasma immunoreactive atrial natriuretic polypeptide concentration during head-out water immersion. *Life Sci*, 38 : 2413-2418, 1986
 - 34) Garcia, R., Thibault, G., Nutt, R.F., Cantin, M. and Genest, J. : Comparative vasoactive effects of native and synthetic atrial natriuretic factor (ANF). *Biochem Biophys Res Commun* 119 : 685-688, 1984
 - 35) Briggs, J.P., Steipe, B., Schubert, G. and Schnermann, J. : Micropuncture studies of the renal effects of atrial natriuretic substances. *Pflügers Arch*, 395 : 271-276, 1982
 - 36) Trippodo, N.C., Macphee, A.A. and Cole, F.E. : Partially purified human and rat atrial natriuretic factor. *Hypertension*, 5 : I-81-I-88, 1983
 - 37) Kangawa, K., Fukuda, A., Minamino, N. and Matsuo, H. : Purification and complete amino acid sequence of beta-rat atrial natriuretic polypeptide (beta-rANP) of 5,000 daltons. *Biochem Biophys Res Commun*, 119 : 933-940, 1984
 - 38) Hammond, T.G., Haramati, A. and Knox, F.G. : Synthetic atrial natriuretic factor decreases renal tubular phosphate reabsorption in rats. *Am J Physiol*, 249 : F315-F318, 1985
 - 39) Cantin, M. and Genest, J. : The heart and the atrial natriuretic factor. *Endocrine Rev*, 6 : 107-127, 1985
 - 40) Baum, M. : Lack of direct effect of atrial natriuretic factor in the rabbit proximal tubule. *Am J Physiol*, 250 : F66-F69, 1986
 - 41) Beasley, D. and Malvin, R.L. : Atrial extracts increase glomerular filtration rate *in vivo*. *Am J Physiol*, 248 : F24-F30, 1985
 - 42) Burnett, J.C. Jr., Granger, J.P. and Opgenorth, T.J. : Effects of synthetic atrial natriuretic factor on renal function and renin release. *Am J Physiol*, 247 : F863-F866, 1984
 - 43) Ichikawa, I., Dunn, B.R., Troy, J.L., Maack, T. and Brenner, B.M. : Influence of atrial natriuretic peptide on glomerular microcirculation *in vivo*. *Clin Res*, 33 : 487A, 1985
 - 44) Dunn, B.R., Ichikawa, I., Pfeffer, J.M., Troy, J.L. and Brenner, B.M. : Renal and systemic hemodynamic effects of synthetic atrial natriuretic peptide in the anesthetized rat. *Circ Res*, 59 : 237-246, 1986
 - 45) Maack, T., Marion, D.N., Camargo, M.J., Kleinert, H.D., Laragh, J.H., Vaughn, E.D. Jr. and Atlas, S.A. : Effect of auriclin (atrial natriuretic factor) on blood pressure, renal function, and the renin-aldosterone system in dogs. *Am J Med*, 77 : 1069-1075, 1984

- 46) Huang, C.-L., Lewicki, J., Johnson, L.K. and Cogan, M.G. : Renal mechanism of action of rat atrial natriuretic factor. *J Clin Invest*, 75 : 769-773, 1985
- 47) Volpe, M., Odell, G., Kleinert, H.D., Muller, F., Camargo, M.J., Laragh, J.H., Maack, T., Vaughn, E.D. Jr. and Atlas, S.A. : Effect of atrial natriuretic factor on blood pressure, renin, and aldosterone in Goldblatt hypertension. *Hypertension*, 7(Suppl I) : 43-48, 1985
- 48) Goodfriend, T.L., Elliott, M.E. and Atlas, S.A. : Actions of synthetic atrial natriuretic factor on bovine adrenal glomerulosa. *Life Sci*, 35 : 1675-1682, 1984
- 49) DeLean, A., Gutkowska, J., McNicoll, N., Schiller, P.W., Cantin, M. and Genest, J. : Characterization of specific receptors for atrial natriuretic factor in bovine adrenal zona glomerulosa. *Life Sci*, 35 : 2311-2318, 1984
- 50) Schiffrin, E.L., Chartier, L., Thibault, G., St-Louis, J., Cantin, M. and Genest, J. : Vascular and adrenal receptors for atrial natriuretic factor in the rat. *Circ Res*, 56 : 801-807, 1985
- 51) Currie, M.G., Geller, D.M., Cole, B.R., Boylan, J.G., YuSheng, W., Holmberg, S.W. and Needleman, P. : Bioactive cardiac substances : Potent vasorelaxant activity in mammalian atria. *Science*, 221 : 71-73, 1983
- 52) Grammer, R.T., Fukumi, H., Inagami, T. and Misono, K.S. : Rat atrial natriuretic factor. Purification and vasorelaxant activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 116:696-703, 1983
- 53) Faison, E.P., Siegl, P.K.S., Morgan, G. and Winquist, R.J. : Regional vasorelaxant selectivity of atrial natriuretic factor in isolated rabbit vessels. *Life Sci*, 37 : 1073-1079, 1985
- 54) Kawai, Y. and Ohhashi, T. : Heterogeneity in responses of isolated monkey arteries and veins to atrial natriuretic peptide. (submitted for publication)
- 55) Kleinert, H.D., Maack, T., Atlas, S.A., Januszewicz, A., Sealey, J.E. and Laragh, J.H. : Atrial natriuretic factor inhibits angiotensin-, norepinephrine-, and potassium-induced vascular contractility. *Hypertension [Suppl I]*, 6 : 143-147, 1984
- 56) Garcia, R., Thibault, G., Cantin, M. and Genest, J. : Effect of a purified atrial natriuretic factor on rat and rabbit vascular strips and vascular beds. *Am J Physiol*, 247 : R34-R39, 1984
- 57) Winquist, R.J., Faison, E.P. and Nutt, R.F. : Vasodilator profile of synthetic atrial natriuretic factor. *Eur J Pharmacol*, 102 : 169-173, 1984
- 58) Ohhashi, T., Watanabe, N. and Kawai, Y. : Effects of atrial natriuretic peptide on isolated bovine mesenteric lymph vessels. *Am J Physiol*, in press
- 59) Kawai, Y. and Ohhashi, T. : Responses of monkey, rabbit and dog internal carotid arteries to atrial natriuretic factor. *Experientia*, 43 : 568-570, 1987
- 60) Marin-Grez, M., Fleming, J.T. and Steinhausen, M. : Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature*, 324 : 473-476, 1986
- 61) Proctor, K.G. and Bealer, S.L. : Selective antagonism of hormone-induced vasoconstriction by synthetic atrial natriuretic factor in the rat. *Circ Res*, 61 : 42-49, 1987
- 62) Aalkjaer, C., Mulvany, M.J. and Nyborg, N.C.B. : Atrial natriuretic factor causes specific relaxation of rat arcuate arteries. *Br J Pharmacol*, 86 : 447-453, 1985
- 63) Winquist, R.J. : The relaxant effects of atrial natriuretic factor on vascular smooth muscle. *Life Sci*, 37 : 1081-1087, 1985
- 64) Nemeš, M.N. and Gilmore, J.P. : Natriuretic activity of human and monkey atria. *Circ Res*, 53:420-423, 1983
- 65) Yukimura, T., Ito, K., Takenaga, T., Yamamoto, K., Kangawa, K. and Matsuo, H. : Renal effects of a synthetic α -human atrial natriuretic polypeptide (α -hANP) in anesthetized dogs. *Eur J Pharmacol*, 103 : 363-366, 1984

- 66) Garcia, R., Thibault, G., Gutkowska, J., Cantin, M. and Genest, J. : Changes of regional blood flow induced by atrial natriuretic factor (ANF) in conscious rats. *Life Sci*, 36 : 1687-1692, 1985
- 67) Edwards, B.S., Schwab, T.R., Zimmerman, R.S., Heublein, D.M., Jiang, N-S. and Burnett, J.C. Jr. : Cardiovascular, renal, and endocrine response to atrial natriuretic peptide in angiotensin II mediated hypertension. *Circ Res*, 59 : 663-667, 1986
- 68) Chien, Y.W., Frohlich, E.D. and Trippod, N.C. : Atrial natriuretic peptide increases resistance to venous return in rats. *Am J Physiol*, 252 : H894-H899, 1987
- 69) Wangler, R.D., Breuhaus, B.A., Otero, H.O., Hastings, D.A., Holzman, M.D., Saneii, H.H., Sparks, H.V. Jr. and Chimoskey, J.E. : Coronary vasoconstrictor effects of atriopeptin II. *Science*, 230 : 558-561, 1985
- 70) Hirata, Y., Tomita, M., Yoshimi, H. and Ikeda, M. : Specific receptors for atrial natriuretic factor (ANF) in cultured vascular smooth muscle cells of rat aorta. *Biochem Biophys Res Commun*, 125 : 562-568, 1984
- 71) Napier, M.A., Vandlen, R.L., Albers-Schonberg, G., Nutt, R.F., Brady, S., Lyle, T., Winkquist, R. J., Faison, E.P., Heinel, L.A. and Blaine, E.H. : Specific membrane receptors for atrial natriuretic factor in renal and vascular tissue. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81 : 5946-5950, 1984
- 72) Leitman, D.C., Waldman, S.A., Kuno, T. and Murad, F. : Specific atrial natriuretic factor receptors mediate increased cyclic GMP accumulation in cultured bovine aortic endothelial and smooth muscle cells. *Clin Res*, 33 : 559A, 1985
- 73) Hirata, Y., Tomita, M., Takada, S. and Yoshimi, H. : Vascular receptor binding activities and cyclic GMP responses by synthetic human and rat atrial natriuretic peptide (ANP) and receptor down-regulation by ANP. *Biochem Biophys Res Commun*, 128 : 538-546, 1985
- 74) Ballerman, B.J., Hoover, R.L., Karnovsky, M.J. and Brenner, B.M. : Physiologic regulation of atrial natriuretic peptide receptors in rat renal glomeruli. *J Clin Invest*, 76 : 2049-2056, 1985
- 75) Murad, F. : Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *J Clin Invest*, 78 : 1-5, 1986
- 76) Tremblay, J., Gerzer, R., Vinay, P., Pang, S.C., Béliveau, R. and Hamet, P. : The increase of cGMP by atrial natriuretic factor correlates with the distribution of particulate guanylate cyclase. *FEBS Letters*, 181 : 17-22, 1985
- 77) Winkquist, R.J., Faison, E.P., Waldman, S.A., Schwartz, K., Murad, F. and Rapoport, R.M. : Atrial natriuretic factor elicits an endothelium-independent relaxation and activates particulate guanylate cyclase in vascular smooth muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81 : 7661-7664, 1984
- 78) Suematsu, E., Hirata, M. and Kuriyama, H. : Effects of cAMP- and cGMP-dependent protein kinases, and calmodulin on Ca^{2+} uptake by highly purified sarcolemmal vesicles of vascular smooth muscle. *Biochim Biophys Acta*, 773 : 83-90, 1984
- 79) Budzik, G.P., Firestone, S.L., Bush, E.N., Connolly, P.J., Rockway, T.W., Sarin, V.K. and Holleman, W.H. : Divergence of ANF analogs in smooth muscle cell cGMP response and aorta vasorelaxation. *Biochem Biophys Res Commun*, 144 : 422-431, 1987
- 80) Waldman, S.A., Rapoport, R.M. and Murad, F. : Atrial natriuretic factor selectively activates particulate guanylate cyclase and elevates cyclic GMP in rat tissues. *J Biol Chem*, 259 : 14332-14334, 1984
- 81) Harris, D.W., Baker, C.A., Saneii, H.H. and Johnson, G.A. : Stimulation of cyclic GMP formation in smooth muscle cells by atriopeptin II. *Life Sci*, 37 : 591-597, 1985

(63. 2. 9 受稿)