本態性高血圧症患者および正常血圧者における 血漿 ADH ならびに ANP の分泌動態

熊本大学医学部第三内科学教室

(指導: 佐藤辰男教授)

三 浦 史 博

Responses of Antidiuretic Hormone (ADH) and Atrial Natriuretic Polypeptide (ANP) to Hypertonic Saline Infusion in Essential Hypertensive Patients and Normotensive Subjects

Fumihiko MIURA

The Third Department of Internal Medicine Kumamoto University

Medical School, 1-1-1 Honjo, Kumamoto 860, Japan

(Director: Professor Tatsuo Sato)

The demonstration that exogenous atrial natriuretic polypeptide (ANP) has markedly lowered plasma antidiuretic hormone (ADH) suggests a possible negative control of endogenous ANP on the secretion of ADH from the posterior hypophysis. To test this possibility and to clarify the role of ADH and ANP in the pathophysiology of essential hypertension (EHT), the responses of ADH and ANP to a hypertonic saline infusion were investigated in EHT patients and normotensive subjects (NT).

Twenty inpatients with EHT (10 males and 10 females; 50.5 ± 6.5 y) and 10 NT subjects (5 males and 5 females; 50.6 ± 7.8 y) underwent a 20 min intravenous infusion of hypertonic saline (2.5% NaCl; 0.25ml/kg/min) in a fasting state. Blood samples were drawn before and 10, 20, 30, 45 and 60 min after the infusion and analyzed for ADH and ANP as well as plasma osmolarity (Posm), Na and albumin.

Basal levels of ADH and ANP were not significantly different between NT and EHT. ADH was rapidly increased by the infusion in both groups; however, its percent increase was much higher in EHT than in NT during and after the infusion. Surprisingly, a highly significant negative correlation between ADH and ANP was found before and after the infusion in both groups.

Although blood pressure was not changed significantly, the enhanced response of ADH to a sodium and volume load may play a role in part in the pathophysiology of EHT. In addition, it has been suggested that a possible suppression by ANP on the secretion of ADH may be one of the mechanisms of the diuretic action of ANP.

Key words : antidiuretic hormone, atrial natriuretic polypeptide, hypertonic saline infusion, essential hypertension

I 結 言

心房性 Na 利尿ペプチド (ANP)¹⁾は強力な水、Na 利尿作用を有するが、そのメカニズムは未だ十分には解明されていない。一方、合成された ANP をヒトに静脈内投与した場合、下垂体からの抗利尿ホルモン (ADH) の分泌を著明に抑制することが見出されており²⁾、このことが ANP の利尿作用発現のメカニズムの一つとも考えられる。他方 ADH は、強力な抗利尿作用により循環血漿量を増大させるが、またそれ自体、血管収縮作用を有しており、昇圧物質として、本態性高血圧症の病態にも密接に関与していることが予想される。

そこで著者は、心臓から分泌される内因性 ANP にも、同様に下垂体からの ADH 分泌を抑制するメカニズムが存在するのか、またさらに、本態性高血圧症患者ならびに正常血圧者における内因性 ANP と ADH の分泌動態に差異がみられるのか否か、差があるとすれば、その差が本態性高血圧症の病因に関与し得るのか否か、それらの点について検討するために、高張食塩水負荷を施行し、血漿中の ANP と ADH の反応を調べた。

II 対象および方法

正常血圧者 (NT) 10例 (男5例, 女5例) ならびに本態性高血圧症患者 (EHT) 20例 (男10例, 女10例) を対象とした。平均年齢は、NT 50.5 ± 0.7 (M $\pm$ SE) 才, EHT 51.5 ± 1.1 才で、EHT は全て未治療で、WHO I ~ II 期であった。これらに、早朝空腹時、30分間安静臥床後、高張食塩水 (HTS ; 2.5% NaCl) を 0.25ml/kg/min の速度で、20分間点滴静注した。静注開始直前、開始後10, 20, 30, 45, 60分目に、EDTA 加静脈血7ml、および血液生化学測定用血液7ml を、対側の肘静脈より採取し、血漿分離後、ADH ならびに α -hANP 濃度、浸透圧 (Posm), Na, アルブミン (Alb) 濃度を測定した。ADH 測定には市販の AVP-RIA キット (三菱油化) を用い、 α -hANP は、我々が開発した特異的モノクローナル抗体³⁾を用いた高感度 RIA 法で測定した。

実験結果は平均 $\pm$ SE で表現し、統計処理には Student's t test を用いた。また、P 値が0.05未満を有意とした。

III 結 果

図1に、Na, Posm, Alb の変化を示す。HTS 負荷により、血清 Na は、NT で 140.8 ± 0.8 から 144.5 ± 0.8 mEq/l に増加 ($P < 0.001$), EHT では 141.9 ± 0.9 から 145.3 ± 0.1 mEq/l へ増加 ($P < 0.01$) した。また Posm は、NT で 282.9 ± 1.0 から 289.0 ± 1.3 mOsm/kg に上昇 ($P < 0.001$) し、EHT では 283.1 ± 1.8 から 291.3 ± 2.1 mOsm/kg に上昇したが、Na と同様に両群間に有意差は認めなかった。HTS 負荷終了直後より Na, Posm の両者とも漸減したが、Posm は EHT において高値を持続する傾向にあった。一方 Alb は、NT で 4.3 ± 0.1 から 3.8 ± 0.1 g/dl に減少し、また EHT においても 4.2 ± 0.1 から 3.8 ± 0.1 g/dl に減少し、点滴終了後40分経ても、なお前値に復さなかった。

Fig. 1 Effect of the i. v. infusion of hypertonic saline on serum concentration of sodium (Na), plasma osmolarity (Posm) and albumin concentration (Alb) in 10 normotensive (NT) subjects (○—○) and 20 essential hypertensive (EHT) patients (●—●).
 $*p < 0.01$, $**p < 0.001$ when compared with the zerotime values.
 All values are expressed as the mean $\pm$ S.E.M.

Fig. 2 Effect of the i. v. infusion of hypertonic saline on plasma concentrations of antidiuretic hormone (ADH) and atrial natriuretic peptide (ANP) in 10 NT subjects and 20 EHT patients.
 $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ when compared with the zerotime values.

図2は、この間の血漿 ADH および α -hANP の反応を示す。NT の ADH 基礎値は 1.4 ± 0.3 pg/ml, α -hANP のそれは 4.1 ± 0.6 fmol/ml であった。HTS 負荷により ADH 分泌は著明に刺激され、負荷終了時には 2.3 ± 0.5 pg/ml と有意 ($P < 0.01$) に増加し、 α -hANP も 6.1 ± 0.8 fmol/ml ($P < 0.01$) に増加した。負荷終了後は、浸透圧が有意 ($P < 0.01$) に上昇しているにもかかわらず、ADH は漸減し、他方 α -hANP は60分目まで有意な増加を持続した。他方 EHT の基礎値は、ADH が 1.4 ± 0.3 pg/ml, α -hANP が 5.6 ± 0.6 fmol/ml であり、ADH 値は NT と同様な値を示したが、 α -hANP は高値を示した。負荷終了後、ADH は減少したが、60分目においてもなお、基礎値に比し有意 ($p < 0.01$) に上昇していた。 α -hANP は30分目を頂値にその後やや減少したが、60分目まで有意 ($P < 0.01$) の上昇が持続した。

ADH と α -hANP のそれぞれの基礎値に対する変化率を、図3に示す。ADH の反応は、EHT では NT に比し、負荷後20, 30, 45, 60分目に有意 ($P < 0.05$) に大であった。他方 α -hANP の反応は、逆に NT に比し EHT の方が小であったが、両群間に有意差は認められなかった。

図4に、NT における ADH と α -hANP の相関を示す。負荷前の両者の間に、(a) にみられる如く、 $r = -0.66$ の有意 ($P < 0.05$) な負の相関を認めた。また、HTS 負荷中 (b)、負荷後 (c) においても同様に、有意 ($P < 0.05$) な負の相関がみられた。一方 EHT においても同様に、(a)、(b)、(c) のいずれの時点においても、 $P < 0.005$ の有意な負の相関を示した (図5)。

Fig. 3 Responses of ADH and ANP (percentage changes from the zero-time values) to the i.v. infusion of hypertonic saline in 10 NT subjects and 20 EHT patients.

Fig. 4 Correlation between ANP and ADH in plasma before (a), during (b) and after (c) the i. v. infusion of hypertonic saline in 10 NT subjects.

Fig. 5 Correlation between ANP and ADH in plasma before (a), during (b) and after (c) the i. v. infusion of hypertonic saline in 20 EHT patients.

IV 考 察

ADH と ANP は、抗利尿と利尿、昇圧と降圧の如く、互いに相反する生理作用を有するホルモンであるため、生体のホメオスタシス維持において、両者間に密接な関係が存在することが予想される。しかもこれらは、循環血漿量を増減させる重要な容量調整因子として、また血管平滑筋に直接作用して、それを収縮・弛緩させる血管作動因子として、血圧維持機構において重要な役割を担っているものと考えられる。従って、原因不明の疾患である EHT におけるこれら2つのホルモンの相互関係について調べることは、その病態解明上、極めて興味深い。

これまで、ADH と ANP の相互関係についていくつかの検討がなされているが、未だ一致した見解は得られていない。先ず Obana ら⁴⁾は、ラット下垂体後葉の表層灌流実験において、アンギオテンシン II やカリウムにより刺激された ADH の分泌が、ANP の添加によって抑制されることを見出した。また Samson⁵⁾は、ラットにおいて、脱水や出血による ADH 分泌亢進が、ANP 投与に

よって抑制されることを示した。さらに Fujio ら²⁾は、ヒトに合成 ANP を静脈内投与した場合、ADH 分泌が著明に抑制されることを見出した。これらの事実は、下垂体からの ADH 分泌が、ANP により直接抑制される可能性を示しており、後者の有する強力な水利尿作用が、一部 ADH 分泌抑制を介するものであることを示唆している。しかし一方 Januszewicz ら³⁾は、単離した下垂体後葉に ANP を添加した場合、ADH 分泌はむしろ亢進したと述べており、また Richard ら⁷⁾は、ヒトに合成 ANP を静脈内投与しても、ADH 分泌には有意な変化がみられなかったと報告している。以上の如く、ADH と ANP の相互関係については未だ結論が得られていないが、もし、ANP に下垂体からの ADH 分泌の直接抑制作用があるとすれば、容量調節ホルモンとしての ANP の生理的意義は極めて重要なものとなる。即ち、心臓に容量負荷がかかった場合、心房あるいは心室筋から ANP が分泌され、これが ADH 分泌を抑制して、腎集合管での水分再吸収を抑えて利尿を促し、容量を元に戻して心負荷を軽減しようとする機構が成立する。また、ANP の有する強力な利尿作用も、腎尿細管に対する ANP 自体の作用に加えて、ADH 分泌抑制を介した利尿機構が関与していることが考えられる。しかし、上記の従来報告は全て外因性に与えられた ANP の作用を調べたものであり、生理的濃度の、しかも内因性 ANP の ADH 分泌に対する作用を検討した報告はない。

そこで今回著者は、HTS 点滴静注により急速食塩負荷を行い、容量増大、あるいは Posm 上昇により分泌が刺激される内因性 ANP および ADH の反応動態から、生理的状態における両者の相互関係を調べた。また同時に、年齢、性をマッチさせた NT、EHT 両群で検討することにより、それらの EHT 病態への関与を探ることを目的とした。

まず注目すべきことは、図4(a)、図5(a)に示した如く、HTS 負荷前の ADH と ANP の基礎値において、両者間に負の相関がみられたことである。このことは、生理的恒常状態において、既に ADH と ANP の血中濃度が互いに鏡面像を呈しており、両者間に何らかの feed back 機構が存在する可能性を示唆している。しかも NT、EHT 両群において同様の負の相関が認められたことは、なおさら強くその存在を支持する所見であると思われる。また、HTS による急速食塩負荷によっても、この負の相関が影響をうけず、そのまま保たれたことから(図4b, c, 図5b, c)、おそらく内因性 ANP にも、上記報告の外因性 ANP で見られたのと同様に、下垂体からの ADH 分泌を抑制する作用があるものと推測される。

一方 ADH 分泌は、循環血漿量の増大によっても抑制されるため、HTS の 0.25ml/kg/min、20 分間の点滴静注、および Posm 上昇に引き続いて起る水分の血管内への移行により、循環血漿量が増大し、これによっても ADH 分泌が抑制されることが考えられる。このことは、図1にみられる如く、血清 Alb 値が有意に減少し、血液希釈が起こっていることから明らかである。また、この血清 Alb 値の変化から見た容量負荷の程度には、NT、EHT 両群間に全く差がみられていないが、図2の如く、それに伴う ANP の分泌亢進には若干の差が認められる。推計学的に有意ではないが、NT に比し EHT における ANP 分泌量は多く、これは基礎値における血中濃度の差を反映したものと考えられる。しかし図3の如く、ANP 分泌量の基礎値に対する変化率でみると、逆に EHT の方が NT に比し反応が悪い傾向が認められる。推計学的には両群間の反応に有意差はなかったが、これらの所見は、NT に比し EHT における ANP 血中濃度が上昇しているという報告⁸⁾、他方、EHT 家系には相対的に ANP 分泌低下が存在するという Ferrari らの報告⁹⁾と良く一致する成績と考えられる。

他方 ADH 基礎値には, NT, EHT 両群間で全く差を認めなかったが, HTS 負荷による Posm 上昇に伴う ADH 分泌反応には, 両群間で明らかな差がみられている。即ち, 図2の如く, ADH 分泌量は, 推計学的に有意差はなかったが, NT に比し EHT で大であった。しかし図3の如く, 基礎値に対する ADH 分泌量の変化率でみると, EHT では明らかな ADH 分泌反応の亢進がみられ, これは HTS 負荷終了後にも持続して観察された。このことは, 前述した EHT における ANP 分泌反応の低下傾向⁹⁾と相俟って, ADH による容量増大が NT に比し大となることを意味しており, 一定の食塩負荷に対する循環動態の変化に明らかな差が生じることを意味している。しかし今回の実験では, HTS 負荷時間が短かったためか, 観察した60分間の範囲では, 両群とも血圧, 脈拍に有意な変動がみられなかった。また, この60分間の血清 Alb 値の変化からみる限り, NT, EHT 間に容量増大の程度に差がなかった。また, EHT 負荷に伴う Posm の変化は, NT に比し EHT でやや大であり, その傾向は60分目まで持続したが, 両群間に有意差はなかった。その理由としては, おそらく中枢における Posm 感知機構, あるいはそれに連動する ADH 分泌機構に EHT 特有の異常が存在するのか, あるいは EHT における心房からの ANP 分泌反応の低下⁹⁾に起因する ADH 分泌抑制の減弱などが関与しているものと思われる。

ADH の基礎値には NT, EHT 間で差がなく, また HTS 負荷後の ADH 増加量も, EHT で約 2.8pg/ml, NT で約 2.3pg/ml と小さく, しかも両群間に有意差はみられず, また前述の如く, 両群とも HTS 負荷による有意な血圧上昇はみられなかった。従って今回の成績だけから, EHT の発症および高血圧維持機構へ ADH が直接関与しているという確証は得られなかった。しかし, 食塩負荷に対する ADH の反応性が, EHT で明らかに亢進していたことから, ADH が, EHT の病態, 特に食塩摂取過剰による高血圧の成因に密接に関与している可能性が考えられる。

また ADH は, 腎での V_2 受容体を介する抗利尿作用と共に, 血管平滑筋の V_1 受容体を介する強力な血管収縮作用を有し, また中枢の ADH 作動性神経線維を介する血圧調節作用を有することなどが知られており, 血圧維持機構にとって重要な因子である。 V_1V_2 拮抗薬を用いた Sladek らのラットの実験¹⁰⁾では, SHR の高血圧発症に ADH が重要な役割を演じていることが示されている。また Cowley ら¹¹⁾は, EHT 患者では, NT 対照者に対し血漿 ADH 濃度が上昇しており, 特にそれは食塩摂取量の多い群で著明であり, しかも男性に限ってみれば, ADH 濃度と血圧値の間には正の相関がみられたと報告している。今回の著者の検討では, ADH の基礎値と血圧の間に有意な相関はみられなかったものの, 男性に限ってみれば, やはり同様の傾向がみられている。今後症例数を増やし, 性差, 食塩摂取量, あるいは食塩感受性との関係を検討する必要がある。また Hatzinikolaou ら¹²⁾は, ラットに急速食塩水負荷を行った際にみられる血圧上昇が, V_1 拮抗薬によって一部阻害され, 交感神経遮断後にはほぼ完全に阻害されたことから, 急性の食塩負荷による昇圧には, ADH の末梢血管作用が重要であると述べている。

最後に, HTS 急速負荷に対する ADH 反応性に, NT, EHT 間で有意な差を認めた理由について考察する。今回の実験結果から, 内因性 ANP に, 外因性 ANP と同様の ADH 分泌抑制作用が存在することがほぼ明らかとなったが, 推計学的に有意差はなかったにせよ, HTS 負荷に対する ANP の反応性が, NT に比し EHT で小であったことを考慮すれば, EHT における ADH 分泌の亢進は, 十分説明できる。ここで, 図4に示した NT および図5に示した EHT の, ANP, ADH 間の相互関係を見てみると, 基礎値および HTS 負荷後のいずれの時点においても, その相関直線の傾きが, EHT において明らかに小である。このことは, EHT における ANP による ADH 分泌抑

制作用が、NT に比し弱いことを示唆していると考えられる。

以上の如く、食塩負荷あるいは容量負荷に対する ANP 分泌が、EHT では NT に比して低下しており、その為、ADH 分泌に対する ANP の抑制が小さくなり、その結果、EHT における ADH の過剰反応が生じるのではないかと考えられた。

V 結 語

視床下部・下垂体からの ADH 分泌には、内因性 ANP による抑制機構が働いており、それが ANP の利尿メカニズムの1つである可能性が示唆された。また EHT では、血中 ANP の基礎値は上昇しているが、急速食塩負荷に対する ANP の分泌反応性が低下しているため、浸透圧上昇に対して ADH が過剰に反応することが推測された。かかる ANP と ADH の相互関係の異常が、食塩過剰摂取による高血圧、あるいは EHT の成因に密接に関与している可能性が強く示唆された。

本論文の要旨の一部は、第63回日本内分泌学会学術総会、および第9回国際内分泌学会において発表した。

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました佐藤辰男教授、梅田照久助教授に深謝いたします。さらに、御協力、御助言を頂きました熊本大学第三内科第五研究室の諸先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) Kangawa, K. and Matsuo, H.: Purification and complete amino acid sequence of α -human atrial natriuretic polypeptide (α -hANP). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 118: 131-139, 1984.
- 2) Fujio, N., Ohashi, M., Nawata, H., Kato, K., Ibayashi, H., Kangawa, K. and Matsuo, H.: α -Human atrial natriuretic polypeptide reduces the plasma arginine vasopressin concentration in human subjects. *Clin. Endocrinol.*, 25: 181-187, 1986.
- 3) Naomi, S., Umeda, T., Miura, F., Ohno, M., Sasaki, M., Oishi, S., Sato, T. and Takatsu, K.: A sensitive radioimmunoassay of α -human atrial natriuretic polypeptide using monoclonal antibody recognizing human form ring structure. *Life Sci.*, 43: 761-768, 1988.
- 4) Obana, K., Naruse, M., Inagami, T., Brown, A.B., Naruse, K., Kurimoto, F., Sakurai, H., Demura, H. and Shizume, K.: Atrial natriuretic factor inhibits vasopressin secretion from rat posterior pituitary. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 132: 1088-1094, 1985.
- 5) Samson, K.W.: Atrial natriuretic factor inhibits dehydration and hemorrhage-induced vasopressin release. *Neuroendocrinol.*, 40: 277-279, 1985.
- 6) Januszewicz, P., Thibault, G., Garcia, R., Gutkouska, J., Genest, J. and Cantin, M.: Effects of synthetic atrial natriuretic factor on arginine vasopressin release by the rat hypothalamo-neurohypophyseal complex in organ culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 134: 652-655, 1986.

- 7) Richard, A.M., Nicholls, M.G., Ikram, H., Webster, M.W., Yandle, T.G. and Espiner, E.A.: Renal haemodynamic and hormonal effects of human alpha atrial natriuretic peptide in healthy volunteers. *Lancet*, i: 545—548, 1985.
- 8) Sagnella, G.A., Markandu, N.D., Shore, A.C. and MacGregor, G.A.: Raised circulating levels of atrial natriuretic peptides in essential hypertension. *Lancet*, i: 179—184, 1986.
- 9) Ferrari, P., Weidmann, P., Ferrier, C., Dietler, R., Hollmann, R., Piso, R.J., Wey, J. and Shaw, S.: Dysregulation of atrial natriuretic factor in hypertension-prone man. *J.Clin. Endocrinol. Metabl.*, 71: 944—951, 1990.
- 10) Sladek, C.D., Blair, M.L., Sterling, C. and Manglapane, M.L.: Attenuation of spontaneous hypertension in rats by a vasopressin antagonists. *Hypertension*, 12: 506—512, 1988.
- 11) Cowley, A.W.Jr., Cushman, W.C., Qvillen, E.W.Jr., Skelton, N.M. and Langford, H.G.: Vasopressin elevation in essential hypertension and increased responsiveness to sodium intake. *Hypertension*, 3(suppl. 1): I—93—I—100, 1981.
- 12) Hatzinikolaou, P., Gavras, H., Brunner, H.R. and Gavras, I.: Role of vasopressin, catecholamines and plasma volume in hypertonic saline-induced hypertension. *Am. J. Physiol.*, 240: H827—H831, 1981.

(受付日 : '91. 7. 17)

(採択日 : '91. 9. 26)