透析患者における血中ヒト心房性 Na 利尿ペプチド

安藤 亮一 石田 雄二 前川 清 松田 治
三宅 祥三 吉山 直樹* 高橋 弘一** 川越 正孝**

武蔵野赤十字病院内科 東京医科歯科大学第2内科* 帝人バイオサイエンスラボラトリーズ**

(昭和61年10月27日受付)

key words : 血液透析, CAPD, 血中 hANP

〈要旨〉

慢性腎不全にて透析中の患者におけるヒト心房性 Na 利尿ペプチド (hANP) の動態について検討した。対象は血液透析患者 19 例, CAPD 患者 9 例である。血中 hANP の測定は血漿よりの抽出操作を加えた RIA にて施行した。血漿のゲル濾過にて、血液透析患者および CAPD 患者には α -hANP (1-28) に一致するピークのほかに、より小分子量領域に RIA で感知されるピークをみとめ、これは、 α -hANP のフラグメントであると考えられた。血中 hANP 濃度は血液透析患者 271.8 ± 173.4 pg/ml (mean $\pm$ SD), CAPD 患者 81.8 ± 80.5 pg/ml, 対照健常人 (10 例) 31.5 ± 19.8 pg/ml と血液透析患者でのみ有意に高値を示した。血液透析患者では、透析後 100.4 ± 50.1 pg/ml へと有意に低下し、その変化率はクレアチニンおよび体重の変化率と有意に相関した。血液透析によるクリアランスは 66.9 ± 14.0 ml/分と比較的高い透析性を示したが、ECUM においても血中 hANP が有意に低下することより、透析による hANP の低下は、体液量の減少による分泌低下、および透析による hANP の除去の 2 つの機序が考えられた。

CAPD 患者で血中 hANP が上昇しなかった原因としては、この治療法が血液透析よりも体液量の管理にすぐれており、分泌がより低く抑えられていること、および hANP の除去効率がすぐれている (D/P 比: 0.52 ± 0.20) ことが考えられた。

以上より、透析患者における血中 hANP は 1) RIA で感知されるフラグメントが認められること、2) 体液量に依存すること、3) 血液透析, CAPD いずれにおいても除去されることなど、種々の要因により影響されていることが示された。

Plasma levels of human atrial natriuretic peptide in uremic patients on dialysis treatment

Ryoichi Ando, M. D., Yuji Ishida, M. D., Kiyoshi Maekawa, M. D., Osamu Matsuda, M. D., Shyozo Miyake, M. D., Naoki Yoshiyama, M. D.,* Hirokazu Takahashi,** and Masataka Kawagoe**

Musashino Red Cross Hospital; Second Department of Internal Medicine Tokyo Medical and Dental University* ; Teijin Bioscience Laboratories**

Plasma levels of human atrial natriuretic peptide (hANP) were measured in 19 uremic patients on chronic hemodialysis and 9 patients on CAPD. Measurement of hANP was performed by radioimmunoassay with extraction procedure. A preliminary study by gel chromatography revealed some immunoreactive peaks other than hANP (1-28), which were thought to be smaller fragments of hANP (1-28). Plasma levels of hANP in hemodialysis patients were significantly higher than those of CAPD patients and those of normal controls (271.8 ± 173.4 pg/ml, 81.8 ± 80.5 pg/ml, and 31.5 ± 19.8 pg/ml, respectively). After 4 hours of hemodialysis treatment, plasma hANP levels decreased to 100.4 ± 50.1 pg/ml. The change in hANP during hemodialysis was positively correlated with those in serum creatinine and body weight. Clearance of hANP by hemodialysis was higher than expected from its molecular weight. Plasma hANP levels decreased during ECUM. The lower plasma hANP levels seen in

CAPD patients were possibly attributable to the better control of ECF volume and larger clearance of hANP by

安藤 亮一 武蔵野赤十字病院内科

〒180 武蔵野市境南町 1-26-1 (0422-32-3111)

CAPD.

These data suggest that plasma levels of hANP in chronic dialysis patients depend on such factors as accumulation of fragments of hANP, ECF volume status, and clearance of hANP by hemodialysis and CAPD.

はじめに

心房性 Na 利尿ペプチド（以下 ANP）は、最近、哺乳類の心房より発見されたペプチドで著明な利尿作用、血管拡張作用を有する¹⁻³⁾。このペプチドは体液の過剰による心房の伸展を介して分泌され、水電解質代謝、血圧の調節などに重要な役割をはたしていると考えられている^{4,5)}。ヒト心房性 Na 利尿ペプチド (hANP) は 28 のアミノ酸よりなり、合成 hANP がヒトでも利尿作用を発揮することが知られている⁶⁾。最近、hANP のラジオイムノアッセイ (RIA) の方法が確立し、各種病態における臨床的意義が明らかにされつつある⁷⁻⁹⁾。慢性腎不全では、血中 hANP が増加しているとの報告があり、その機序として体液量の過剰があげられているが、腎不全による代謝への影響の問題など不明の点が少ない¹⁰⁾。そこで、今回われわれは、慢性腎不全における血中 hANP の意義について検討する目的で、血液透析患者、CAPD 患者について hANP の動態を調べた。

対象と方法

対象：明らかな心肺疾患を有していない、末期腎不全患者 28 名を対象とした。このうち、血液透析患者 (HD 群) は 19 名、男 11 名、女 8 名で平均年齢は 54.6 歳、透析歴は 1 カ月より、165 カ月、平均 41 カ月である。CAPD 患者 (CAPD 群) は 9 名、男 5 名、女 4 名で平均年齢は 40 歳、透析歴は 1 カ月より 66 カ月、平均 35.2 カ月である。なお、対照健常人は 10 名、男 7 名、女 3 名で平均年齢は 34.2 歳である。

プロトコール：早朝空腹時 30 分間臥床安静後に、血中 hANP, PRA, PAC, エピネフリン、ノルエピネフリン、ADH, クレアチニン、Na を測定した。HD 群では 4 時間の血液透析直後に同様の因子を測定した。また、限外濾過の影響をみるために、HD 群の 6 名について、体重の 2% にあたる限外濾過を 1 時間の ECUM にておこない、前後で血中 hANP を測定した。さらに hANP の透析性を検討するため、HD 群の 4 名について、血液透析開始 1 時間後に、動脈側、静脈側の血中 hANP を測定しクリアランスをもとめた。また、CAPD による hANP の透析性を検討するため、7 名について、1.5% グリセロール 11 時間貯留後に排液中 (D)、血中 hANP (P) を測定し両者の比 (D/P 比) をもとめた。

血中 hANP の測定

採血はアプロチニン、EDTA 入りの試験管におこない、採血後直ちに冷凍遠心分離し、測定まで -70°C にて

保存した。hANP の測定は、Nakao らの方法に準じて施行した^{6,7)}。すなわち、5 ml の血漿に 2 規定塩酸 1.25 ml を加えて C18 Sep-paK にかけて 6% アセトニトリル含有トリフルオロ酢酸にて抽出した。乾固した抽出物を 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液に溶解し、RIA に供した。100 μl の検体およびスタンダード (ペプチド研究所より購入) に、50 μl の抗 hANP 抗体、¹²⁵I-hANP (いずれもアマシャム社より購入) を加え 4°C で 24 時間インキュベーションした後、結合した抗体を dextran coated charcoal にて分離し、 4°C 、3000 回転、20 分間遠心分離し上清をシンチレーションカウンターにて測定した。抽出された hANP の回収率は 90%、intraassay variance は 14.5%、interassay variance は 19.2% であった。

血中 hANP のゲル濾過

健常人、CAPD 群、HD 群の各 1 名について、血漿を前述のように抽出し、これを sephadex G 50 にてゲル濾過を施行した。得られた各溶出分画を濃縮して RIA にて測定した。分子量のマーカーとして、trypsin inhibitor (分子量 6500)、insulin B (3495)、bacitracin (1450) を用いた。

統計学的有意差の検定は t 検定におこない、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。結果は mean $\pm$ SD にて示した。

結果

1. 臨床パラメーター (表 1)

クレアチニン、PRA、ノルエピネフリンは HD 群、CAPD 群いずれも健常人より高値を示し、Na は HD 群で健常人より低値を示した。透析期間、尿量、平均血圧、心胸郭比、ヘマトクリット、クレアチニン、Na、PRA、PAC、エピネフリン、ノルエピネフリン、ADH のいずれについても HD 群と CAPD 群との間で有意差がなかった。

2. ゲル濾過の溶出パターン (図 1)

健常人、CAPD 群、HD 群のいずれにも分画 27 にピークをみとめた。これは α -hANP (1-28) のピークと一致していた。このほかに、CAPD 患者では分画 36、41 に、HD 患者では分画 16、36、46 にピークが認められた。このうち、分画 16 は void volume と考えられた。CAPD 患者、HD 患者両者に共通にみられた分画 36 のピークは分子量約 700 と推定された。

3. 血中 hANP 濃度 (図 2)

健常人 31.5 ± 19.8 pg/ml、CAPD 群 81.8 ± 80.5 pg/ml、HD 群 271.8 ± 173.4 pg/ml と HD 群では、健常人 ($P <$

表 2 血液透析前後の臨床パラメーター

	pre	post	P
体 重 (kg)	53.5±7.1	51.3±7.1	<0.01
平均血圧 (mmHg)	108.2±17.2	95.6±11.6	<0.01
クレアチニン (mg/dl)	13.5±3.0	6.8±5.1	<0.01
Na (mEq/l)	137.5±2.4	135.8±2.8	<0.01
PRA (ng/ml/hr)	6.1±6.6	12.4±16.0	<0.05
PAC (ng/dl)	50.7±64.4	51.3±88.8	NS
エピネフリン (ng/ml)	0.04±0.03	0.05±0.06	NS
ノルエピネフリン (ng/ml)	0.52±0.29	0.44±0.28	NS
ADH (pg/ml)	8.93±2.85	16.4±16.4	NS

図 3 HD 群における、血液透析前後の血中 hANP 濃度

図 4 血液透析における血中 hANP の変化率 (ΔhANP) とクレアチニンの変化率 (ΔCr) との相関

図 5 血液透析における、血中 hANP の変化率 (ΔhANP) と体重の変化率 (ΔBW) との相関

0.001), CAPD 群 ($P<0.05$) に比して有意に高値を示した。CAPD 群と健常人との間には有意差をみとめなかった。

4. 透析による臨床パラメーターの変化 (表 2)

体重、平均血圧、クレアチニン、Na はいずれも表 2 のごとく低下し、PRA は上昇した。PAC、エピネフリン、ノルエピネフリン、ADH には有意な変化をみとめられなかった。

5. 血液透析による血中 hANP の変化 (図 3, 4, 5)

血中 hANP は透析前 271.8 ± 173.4 pg/ml より透析後 100.4 ± 50.1 pg/ml へと有意に低下した ($P<0.001$)。透析における血中 hANP の変化率と各臨床パラメーターの変化率との相関について検討したところ、クレアチニ

ンの変化率と $r=0.660$ 、体重の変化率と $r=0.629$ で相関した。

6. ECUM による血中 hANP の変化 (図 6)

ECUM により体重の 2%にあたる限外濾過を 1 時間で施行したところ、血中 hANP は前値 363.3 ± 131.7 pg/ml より後値 124.4 ± 58.7 pg/ml へと有意に減少した ($P<0.001$)。

7. hANP の透析性 (表 3)

血液透析ではクリアランス 66.9 ± 14.0 ml/分で透析液出口の hANP 濃度は 5.5 ± 1.7 pg/ml であった。一方、CAPD においては、1.5%ダイアニール液 11 時間貯留後の D/P 比は 0.52 ± 0.20 であった。

表 1 HD 群, CAPD 群, 健常人の各種臨床パラメーター

	HD 群 (n=19)	CAPD 群 (n=9)	健常人 (n=10)
透析期間(月)	41.0±44.1 └ NS ┘	35.2±23.1	
尿量 (ml/日)	304.4±414.6 └ NS ┘	180.0±219.0	
平均血圧 (mmHg)	108.2±17.2 └ NS ┘	106.2±12.9	
心胸郭比 (%)	51.6±6.0 └ NS ┘	51.1±5.5	
ヘマトクリット (%)	22.3±4.5 └ NS ┘	22.9±5.7	
クレアチニン (mg/dl)	13.5±3.0** └ NS ┘	11.6±2.8**	1.1±0.3
Na (mEq/l)	137.5±2.4** └ NS ┘	138.4±2.4	140.3±2.8
PRA (ng/ml/hr)	6.1±6.6** └ NS ┘	6.0±4.5**	1.0±0.9
PAC (ng/dl)	50.7±64.4 └ NS ┘	60.1±98.2	9.1±4.6
エピネフリン (ng/ml)	0.04±0.03 └ NS ┘	0.02±0.01	0.02±0.01
ノルエピネフリン (ng/ml)	0.52±0.29** └ NS ┘	0.44±0.20*	0.26±0.16
ADH (pg/ml)	8.93±2.85 └ NS ┘	8.73±9.83	6.53±8.29

*p<0.05, **p<0.01 (vs. 健常人)

図 1 健常人, CAPD 患者, HD 患者血漿のゼル濾過の溶出パターン

図 2 健常人, CAPD 群, HD 群の血中 hANP 濃度

図 6 HD 群における, ECVM 前後の血中 hANP 濃度

考察

ヒトにおける血中 hANP 濃度の検討では高塩食で血中 hANP が上昇することや, うっ血性心不全において重症度につれて血中 hANP が上昇するなど, 体液量の増大や心房圧の上昇が hANP 分泌の刺激となることが示されている¹¹⁻¹⁵⁾。また, 高血圧患者で血中 hANP が上昇していることも示され, 両者の因果関係も示唆されている¹⁶⁾。慢性腎不全患者の血中 hANP は体液量の増大により上昇するとされているが¹⁰⁾, 血圧との関連を示唆する報告もみられる¹⁷⁾。一方, 腎臓が ANP の代謝に重要な役割りを果たすことを示す成績もみられ¹⁸⁾, 腎不全における hANP の動態については不明の点が少なくない。

今回のわれわれのゲル濾過の成績では, CAPD 患者, 血液透析患者で α -hANP (1-28) のピーク以外により小さい分子量の領域にピークがみとめられ, 腎不全では hANP の代謝が変化していて, そのフラグメントが蓄積していることが示唆された。これらのピークは健常人には認められず, 抽出課程で生じた人工産物とは考えにくい。これらのうちの 1 つは分子量約 700 と推定されたが詳細は不明であり, 今後の検討を要する。

以上のことを考慮に入れて, 血中 hANP 濃度をみると, われわれの成績では従来の報告と同様, 血液透析患者では有意に高い血中 hANP 濃度を示したが, この機序として, 1) 体液量の増大による分泌の亢進, 2) 腎に

表 3 hANP の透析性

血液透析	hANP (pg/ml)			クレアチニン (ml/min)
	動脈側	静脈側	透析液出口	
1	258.6	163.7	3.8	55.1
2	106.9	53.9	4.4	74.4
3	262.0	116.6	7.6	83.2
4	239.5	108.1	6.0	54.9
mean	216.8	110.6	5.5	66.9
±SD	±73.9	±45.6	±1.7	±14.2
CAPD				
	血中 hANP (pg/ml)	排液中 hANP (pg/ml)	D/P 比	
1	16.9	13.3	0.79	
2	54.1	36.0	0.67	
3	19.3	14.0	0.73	
4	138.5	57.5	0.42	
5	79.3	26.2	0.33	
6	46.5	15.6	0.34	
7	50.3	17.4	0.35	
mean±SD	57.8±41.5	25.7±16.2	0.52±0.20	

よる代謝の低下のほかに 3) hANP のフラグメントの蓄積も無視できないと思われた。

血液透析により, 血中 hANP は著明に低下したが, この機序としては, 透析にともなう限外濾過による体液量の減少と, 透析による除去の関与が考えられる。血液透析による hANP の変化率が体重の変化率と相関したことや, ECUM のみにおいても, 血中 hANP が低下したことは, 末期腎不全においても血中 hANP 濃度が体液量に依存することを示唆する成績である。一方, hANP の変化率がクレアチニンの変化率と相関し, クリアランスが比較的高値をとった点は α -hANP (1-28) のフラグメントが透析により除去された可能性を示す。

CAPD 患者における血中 hANP 濃度については今までのところ報告がみあたらない。今回われわれの成績では, CAPD 患者における血中 hANP は健常人と有意差はなく, 血液透析患者に比して有意に低値を示した。この原因としては, 1) CAPD の方が血液透析に比して体液量を恒常的に正常に近く維持できる, 2) CAPD の方が血液透析より hANP の透析性によりすぐれている, が考えられる。

結語

1. CAPD 患者, 血液透析患者では, ゲル濾過にて α -hANP (1-28) のピーク以外により小分子量領域に RIA で感知されるピークがみられ, α -hANP のフラグメントと考えられた。

2. 血液透析において血中 hANP が高値を示す要因として、体液量の増大による分泌の亢進のほかに、hANP (1-28) のフラグメントの蓄積が一因をなしていると考えられた。

3. CAPD 患者では、血中 hANP 濃度は血液透析患者と比較してより低値を示した。この原因としては、CAPD が体液量の管理にすぐれていること、hANP の除去効率が高いことが考えられた。

本論文の要旨は第 31 回日本透析療法学会総会において発表した。

文献

- 1) Kangawa, K., 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) Currie, M. G., Geller, D. M., Cole, B. R., Siegel, N. R., Fok, K. F., Adams, S. P., Eubanks, S. R., Galluppi, G. R., Needleman, P. : Purification and sequence analysis of bioactive atrial peptide (Atriopeptins). *Science*, 223 : 67-69, 1984.
- 3) Atlas, S. A., Kleinert, H. D., Camargo, M. J., Januszewicz, A., Sealey, J. E., Laragh, J. H., Shilling, J. W., Lewicki, J. A., Johnson, L. K., Maack, T. : Purification, sequencing and synthesis of natriuretic and vasoactive rat atrial peptide. *Nature*, 309 : 717-719, 1984.
- 4) Dietz, J. R. : Release of natriuretic factor from rat heart-lung preparation by atrial distension. *Am. J. Physiol.*, 247 : R1093-1096, 1984.
- 5) Lang, R. E., Tholken, H., Ganten, D., Luft, F. C., Ruskoho Unger, T. : Atrial natriuretic factor—a circulating hormone stimulated by volume loading. *Nature*, 314 : 264-266, 1985.
- 6) Richards, A. M., Nicholls, M. G., Ikram, H., Webster, M. W., Yandle, T. G., Espiner, E. A. : Renal, hemodynamic, and hormonal effects of human alpha atrial natriuretic peptide in healthy volunteers. *Lancet*, 1 : 545-549, 1985.
- 7) Nakao, K., Sugawara, A., Morii, N., Sakamoto, N., Suda, M., Soneda, M., Ban, T., Kihara, M., Yamori, M., Shimokura, M., Kiso, Y., Imura, H. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 124 : 815-821, 1984.
- 8) Sugawara, A., Nakao, K., Morii, N., Sakamoto, M., Suda, M., Shimokura, M., Kiso, Y., Yamori, Y., Nishimura, K., Soneda, J., Ban, T., Imura, H. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 129 : 439-446, 1985.
- 9) Gutkowska, J., Bourassa, M., Roy, D., Thibault, G., Cantin, M., Genest, J. : Immunoreactive atrial natriuretic factor (IR-ANF) in human plasma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 128 : 1350-1357, 1985.
- 10) Rascher, W., Tulassay, T., Lang, R. E. : Atrial natriuretic peptide in plasma of volume overloaded children with chronic renal failure. *Lancet*, 2 : 303-305, 1985.
- 11) Tikkanen, I., Fyhrquist, F., Metsarinne, K., Leidenius, R. : Plasma atrial natriuretic peptide in cardiac disease and during infusion in healthy volunteers. *Lancet*, 2 : 66-69, 1985.
- 12) Yamaji, T., Ishibashi, M., Takaku, F. : Atrial natriuretic factor in human blood. *J. Clin. Invest.*, 76 : 1705-1709, 1985.
- 13) Sagnella, G. A., Markandu, N. D., Shore, A. C., McGregor, G. A. : Effects of changes in dietary sodium intake and saline infusion on immunoreactive natriuretic peptide in human Plasma. *Lancet*, 2 : 1208-1211, 1985.
- 14) Shenker, Y., Sider, R. S., Ostafin, E. A., 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.
- 15) Nakaoka, H., Imataka, K., Fujii, J., Ishibashi, M., Yamaji, T. : Plasma levels of atrial natriuretic factor in patients with congestive heart failure. *N. Eng. J. Med.*, 313 : 892-893, 1985.
- 16) Sagnella, G. A., Markandu, N. D., Shore, A. C., McGregor, G. A. : Raised circulating levels of atrial natriuretic peptides in essential hypertension. *Lancet*, 1 : 179-181, 1986.
- 17) Yamamoto, Y., Higa, T., Kitamura, K., Tanaka, K., Kangawa, K., Matsuo, H. : Plasma concentration of atrial natriuretic polypeptide in chronic hemodialysis patients. *Regul. Pept.*, Suppl 4 : 110-112, 1985.
- 18) Luft, F. C., Lang, R. E., Aronoff, G. R., Ruskoaho, H., Rohde, A., Ganten, D., Sterzel, R. B., Unger, T. H. : Atriopeptin III kinetics in normal and anephric rats. *Clin. Res.*, 33 : 894A, 1985.