

総説

心房性ナトリウム利尿ペプチド

齋藤 晴比古*1,2 西内 健*2 齋藤 史郎*2

1. はじめに

四半世紀以上も前から哺乳類の心房筋細胞中には心室筋細胞や他の筋組織には認められない特殊な内分泌顆粒の存在が超微形態学的に知られていた^{1,2,3)}がその生理的意義については長年の間不明であった。1976年、Marie ら⁴⁾および1979年に de Bold⁵⁾によってラットに水又は塩分の経口摂取を制限すると、この心房中の顆粒の占める面積が有意に増加し、塩分負荷では逆に減少する事実が見いだされ、水—電解質代謝に関与している可能性が指摘されるに至った。その後、心房の組織抽出物をラットなどに投与するとナトリウム利尿、血圧降下が認められることが相次いで報告され^{6,7,8)}、また本活性物質はプロテアーゼやトリプシン処理で容易に失活するが、熱には安定であること^{7,9,10)}などからその本態がペプチドであることが明らかにされてきた。このような経緯から心房由来の利尿作用を有するペプチド (atrial natriuretic polypeptide, ANP) はまさにホルモンとしての定義に合致する新しい活性ペプチドとして多くの研究者の関心を集め、短期間のうちにアミノ酸配列、遺伝子構造、生物学的作用などに関する多くの知見が集積されてきた。さらに最近では分泌動態に関する研究もさかに行なわれる一方、薬剤として治療面への応用も検討がすすめられている。そこで、本稿ではまず最初に ANP の化学構造および作用に関する最近までの知見を紹介し、次にラジオイムノアッセイ (RIA) を用いた測定法について著者らの成績を加えて解説する。

2. 化学構造と存在様式

ヒト心房組織抽出物中に含まれる ANP 活性には α , β , γ と呼ばれる3種類の異なった分子サイズ (それぞれ分子量約3000, 6000および13000) を有する分画が存在し、 α - および β -hANP は強塩基性、 γ -hANP は弱塩基性を呈する。図1 aに Kangawa および Matsuo ら^{11,12)}によって構造決定されたこれらの分画の化学構造を示すが、 α -hANP は28個のアミノ酸残基よりなり、7位と23位の Cys がジスルフィド (S-S) 結合した環状構造を有する。化学構造と生物活性の相関についてはまだ十分に解明されていないが、中央の S-S 結合部分とC端側部分がそれぞれ受容体との結合ならびに生物活性の特性 (後述) に重要な役割をはたしていると考えられている^{11,13,14)}。またN端側の6残基のアミノ酸については生物活性の発現に大きな影響を及ぼさないが、12位の Met の Met-sulphoxide への酸化は利尿活性を5%以下に低下させる¹²⁾。 β -hANP は α -hANP の環状構造がはずれて α -hANP の逆平行二量体 (anti-parallel dimer, アミノ酸数56個) となったもので、 γ -hANP はC端側に α -hANP 構造を有する中間前駆体ペプチド (アミノ酸数126個) である。

ラットではこれまで多くの研究グループによって報告がみられ、Cardionatrin^{15,16)}、 α -rANP¹⁷⁾、 β -rANP¹⁸⁾、Atriopeptin^{19,20)}、Auriculin²¹⁾、Atrial natriuretic factor (ANF)²²⁾ など異なった命名がなされ、報告者によって両端側のアミノ酸構造に若干の差異が認められているが (図1 b), これが抽出操作の過程によって生じた結果であるのか実際には種々の分子のペプチドが存在するのかについては明らかでない。de Bold らや Kangawa ら¹⁷⁾

*1 齋藤病院 内分泌・代謝科

*2 徳島大学 第一内科



図1 a) α -, β -, γ -, hANP のアミノ酸配列
 b) 各研究グループにより報告された, 中〜低分子型ラット ANP
 1) β -rANP, 2) ANF I, 3) ANF II, 4) ANF III, 5) Flynn, T. G. et al. Kangawa, T. et al (α -rANP), 6) Auriculin, 7) ANF IV, 8) Atriopeptin I, 9) Atriopeptin II, 10) Atriopeptin III

によればラットの低分子 ANP 様物質は α -hANP と同様に28個のアミノ酸残基よりなり12位のアミノ酸が Ile に置換 (ヒトでは Met) された違いのみであるという。

心房における存在様式については, ヒトでは, α , β , γ が種々の割合で存在しているが, ラットでは90%以上がヒトと同じく126残基のアミノ酸よりなる γ 型として存在しており, β -hANP に相当する二量体はみだされていない。ヒト血中では α 型, β 型以外に α 型より更に分子量の小さい分画が存在する可能性があり, 血漿中における ANP の存在様式についてはさらに検討が必要と考えられる。ラット血中では α 型が90%と大部分を占めるという報告がある。

このほか, 最近の特筆すべき知見としては Oikawa ら²³⁾, Greenberg ら²⁴⁾ および Seidman ら²⁵⁾ の研究によりヒトおよびラット ANP 前駆体 cDNA の塩基配列とアミノ酸構造が決定され

たことが挙げられる。このことから, ヒトではまず mRNA より151個のアミノ酸残基よりなる pre-hANP が合成され, ついでN端側シグナルペプチド (25残基) が切断されて γ -hANP となり, さらに特異酵素によるプロセシングが進行し α -hANP が生成されると理解されており, ラットにおいてもほぼ同様のプロセシング機構が存在するものと考えられている。

3. 生物学的作用

1) 利尿および尿中電解質排泄作用

ANP の水, Na 利尿作用は迅速かつ強力であり, 本ペプチドの生理作用と考えられる。すなわち Kangawa ら¹¹⁾ は, 0.1-0.4 nmole の合成 α -hANP をラットに静注すると, その後30分間の尿量, 尿中 Na および Cl 排泄量は有意に用量反応性に増加し, 0.4 nmole の投与ではすでに投与5分後にそれぞれの基礎値の20倍, 30倍および30倍

に達する効果が認められ、これはフロセマイド 0.1 μmole の薬理効果に相当することを示した。また、 α 、 β 、 γ の3種の hANP について、ラットに対する利尿および電解質排泄効果を指標として比較した成績によれば、 α -hANP が最も強力であり、等モルでは β および γ -hANP のそれぞれ4および5倍活性が強いこと、 β -hANP の効果発現時間は α および γ -hANP に比して遅いが効果持続時間が長いことも明らかにされている。一方、ヒトにおいても α -hANP が効果にす

に検討されつつあり、100 μg を単回静注すると尿量は投与前の2倍に、尿中ナトリウムは4倍に増加し、カルシウム、マグネシウム、リンの排泄量もそれぞれ有意に増加するといわれている²⁶⁾ (図2)。

このような ANP の利尿効果の発現機序に関しては多方面から研究が行なわれており、その1つには腎血流量の増加作用が挙げられる。Keelerら²⁷⁾ はラットに心房抽出物を投与するとパラアミノ馬尿酸 (PAH) のクリアランスが上昇するこ

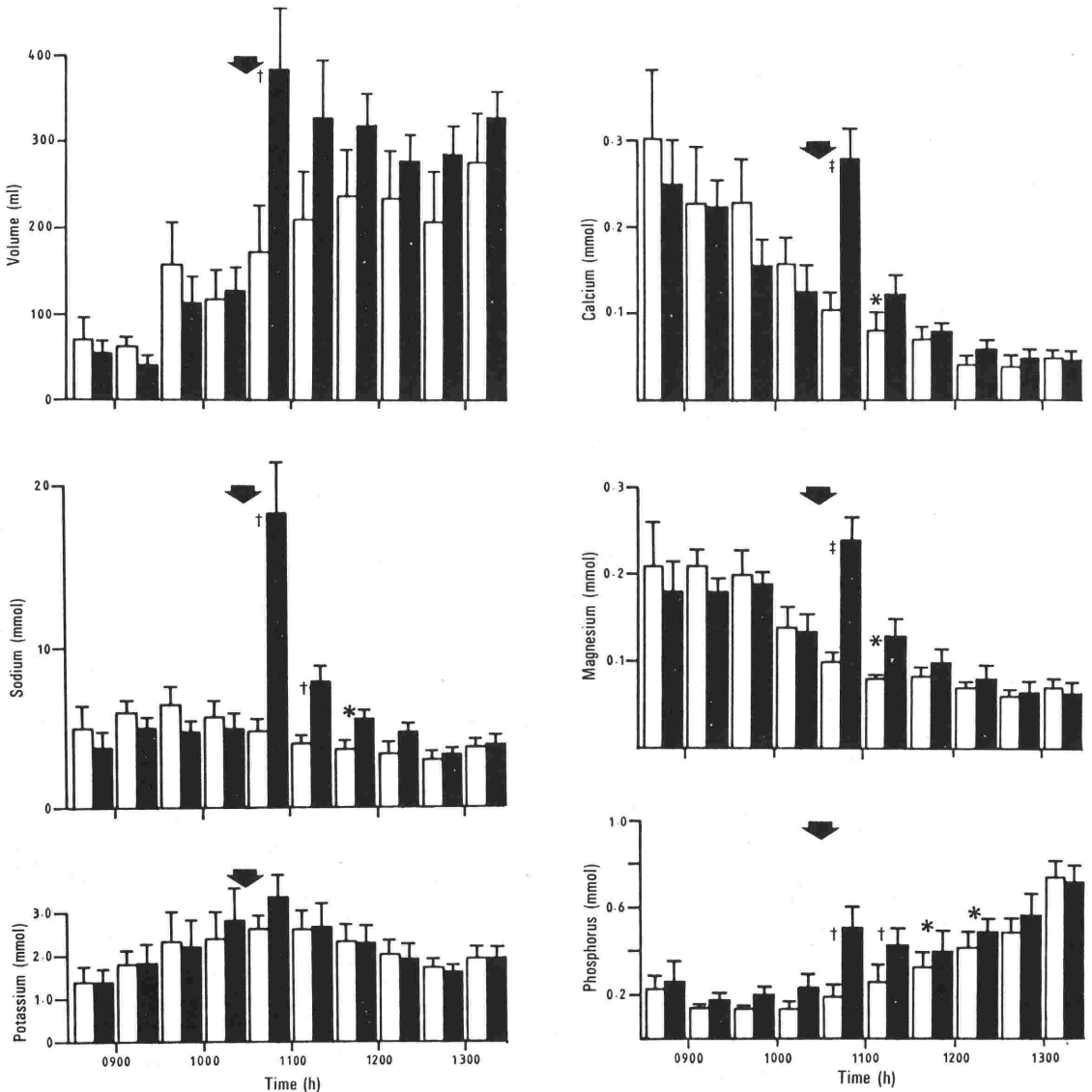


図2 ヒトにおける α -hANP 投与時 (100 μg 単回静注) の尿量, 尿中ナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウムおよびリンの変動 (Richards et al.²⁶⁾ より引用)
* $p < 0.05$, † $p < 0.01$, ‡ $p < 0.001$

とから腎血漿流量の増大が利尿作用とともに観察されることを報告した。最近、Ishihara ら²⁸⁾もチオペンタールおよびウレタン麻酔犬を用いた実験で、0.03–0.3 nmole/kg の α -hANP を静注すると椎骨動脈、大腿動脈などの血流量は用量依存性に有意の増加が認められたとしている。Garcia ら²⁹⁾は、無麻酔のラットに合成 ANP を投与し、ミクロスフェア法にて各組織の血流量の変化を測定しているが、その成績によれば腎血流量は27%増加し、脾臓、肺、腸間膜、冠動脈血流量も増加を認めている。

このほか ANP の RBF 増加作用に関しては単離灌流腎を用いた *in vitro* の実験³⁰⁾や自然発症高血圧ラット (SHR) を用いた Koike ら³¹⁾の実験でも確認されているが、GFR の増加だけでは ANP の利尿作用を説明することは困難である。すなわち、Yukimura ら³²⁾は、ペントバルビタール麻酔犬への片側腎動脈内への投与で、注入側腎からの尿量のみ著明に増加することを示し、0.2 μ g/min の少量投与時には血圧、RBF、GFR に有意の変化をあたえずに利尿効果が観察されると報告している。また、Briggs ら³³⁾はマイクロパンクチャー法を用い、ANP の利尿作用は集合尿管での Na 再吸収の抑制によるものと推測し、Sonnenberg ら³⁴⁾も同様の手法を用いて乳頭部先端ではじめて Na 分泌が有意に増加することにより、乳頭部集合尿管への直接作用の可能性を示した。また、Fujioka ら³⁵⁾は麻酔下の WKY ラットで検討しているが、この報告では α -hANP 3 μ g/kg/min の投与で、脾臓、骨格筋以外での血管抵抗の低下を認め、腎内で皮質外層から内層への血流分布の変化を認めている。Borenstein ら³⁶⁾も天然 ANP をラットに投与すると腎皮質内層、腎乳頭部血流量が増加することを報告し、これには腎髄質の血流増加による、いわゆる“medullary washout”の関与を示唆している。

また最近、Hamet ら³⁷⁾により心房抽出物および合成 ANP をラットに投与すると、ナトリウム利尿に平行して尿中サイクリック GMP 排泄が増加すること、培養尿管細胞を用いた検討によりサイクリック GMP 合成が ANP の添加によって促進されることなどが明らかにされている。

このほか、ANP の利尿および尿中への電解質排泄作用には、プロスタグランジン^{38,39)}、レニン

–アンギオテンシン–アルドステロン系⁴⁰⁾およびバゾプレッシン⁴¹⁾などの関与も示唆されている。

また、この利尿作用の発現にはカルシウムイオンの関与が不可欠であることが明らかにされている⁴²⁾。

2) 血管拡張作用

ヒトに合成 α -hANP を静脈内投与すると2分後には有意の血圧低下が認められる(図3)。この降圧作用は利尿による二次的な効果ではなく、むしろ血管拡張作用に起因するものと考えられている^{31,35)}。

血管平滑筋弛緩作用はこれまでに報告のある各 ANP 類似ペプチドのC末端構造の差により強さが異なることが知られており、Geller ら²⁰⁾は atriopeptin I, II および III はほぼ同等の利尿作用を有するが、C末端に Phe-Arg のアミノ酸残基を含まない atriopeptin I は血管平滑筋弛緩作用を欠き、このC末端構造(図1 b 参照)が血管レセプターとの結合に重要であると考えられている。

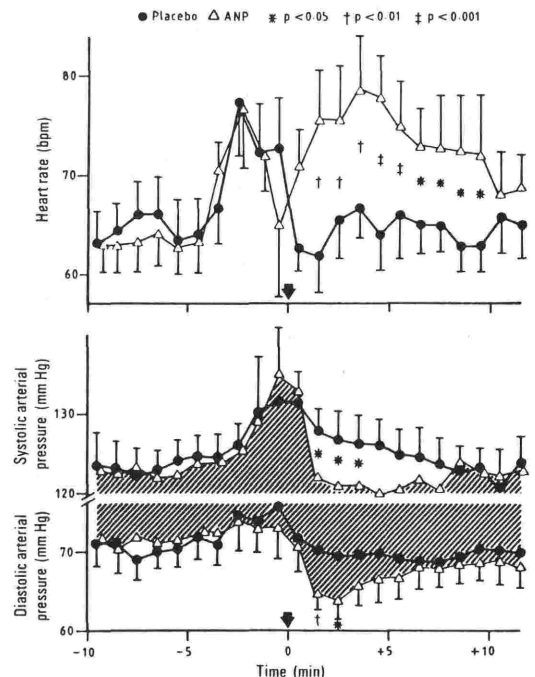


図3 ヒトにおける α -hANP 投与時 (100 μ g 単回静注) の心拍数と血圧の変動 (Richards et al.²⁶⁾より引用)

また、この Atriopeptin I の利尿作用と血管平滑筋弛緩作用の解離は、このペプチドの作用機序を考えるうえで興味深い。血管平滑筋に ANP に特異的なレセプターの存在することは、ラット⁴³⁾ およびウサギ⁴⁴⁾ の大動脈で報告されているが、その機序については一定の見解が得られていない。Garcia ら⁴⁵⁾ によれば、ANP はノルアドレナリン、アンジオテンシン II による血管収縮を同等に弛緩させること、 β ブロッカーやアトロピンの影響を受けないこと、細胞外液のカルシウム濃度に対して依存性を示さないことから、交感神経レセプター、 β レセプター、アンジオテンシン II レセプター、PG 系、カルシウム流入機構を介する可能性は少ないとしている。

一方、Anand-Srivastava ら⁴⁶⁾ は、動脈壁 adenylate cyclase 活性に対する ANP の作用を検討しており、ラットの腎動脈、腸間膜動脈、および大動脈では adenylate cyclase 活性を抑制するが、脾臓、骨格筋など ANP の標的組織と考えられていない臓器では抑制効果を示さないことから ANP の血管拡張作用には adenylate cyclase 活性が関係していることを示した。

しかし、利尿作用の項で述べたように ANP の血管拡張作用は部位により特異性があり、腎動脈に特に強く作用するとの報告が多いが、腎血流は変化しないとの報告もあり³⁵⁾、これらの報告の差異は、投与時の条件、投与した ANP の種類、投与量の違いによる可能性も考えられる。

また、ANP による血圧低下時に心拍出量は低下するといわれているので、薬剤としての使用を考えた場合、全身的循環動態に対する影響についても更に詳細な検討が望まれる。

3) 他の内分泌臓器に対する作用

ANP が生理的に細胞外液量や血圧の調節に重要な役割を果たしているとするれば、他の体液・血圧調節因子であるレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系、およびバゾプレッシン分泌などとの関連性は重要な検討課題である。

Goodfriend ら⁴⁷⁾ は合成 α -rANP がウシの副腎球状層細胞でのアルドステロン産生をアンジオテンシンの存在下でも抑制し、これはアルドステロン生合成の早い過程に働く可能性を示唆した。Atarashi ら¹⁰⁾ および Kudo ら⁴⁸⁾ もほぼ同時期にそれぞれラット心房抽出物および合成 ANP がラ

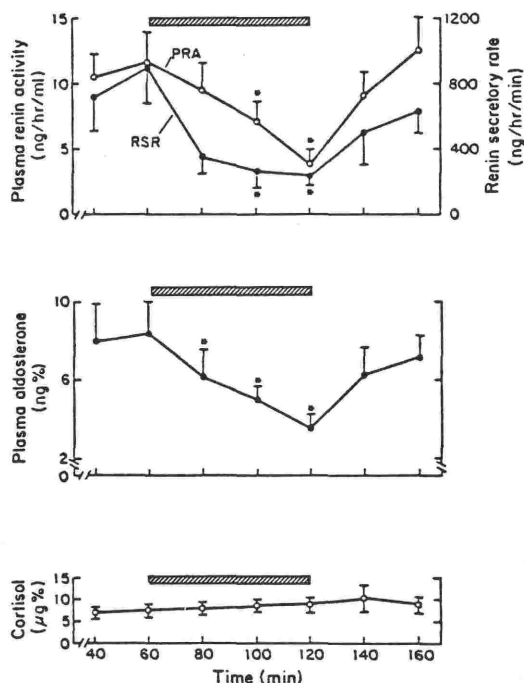


図4 イヌにおける Auriculin 投与時 ($1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重初回静注 + $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/分 持続点滴) の血漿レニン活性、アルドステロンおよびコルチゾルの変動 (Maack et al.⁴⁰⁾ より引用)

ット副腎球状層細胞におけるアルドステロン産生を抑制することを報告している。また、De Lean ら^{49,50)} はウシの副腎球状層細胞に ANP に特異的な receptor の存在することを報告している。

一方、Maack ら⁴⁰⁾ は auriculin をイヌに投与すると60分後には血中レニン活性は基礎値の69%に低下することを認め、ANP はレニン分泌に対しても抑制的に働くことを示した (図4)。

また、Samson ら⁴¹⁾ は、イヌに対する投与で、ANP は脱水、失血によるバゾプレッシンの分泌を抑制するとしている。しかし、in vitro では、Januszewicz ら⁵¹⁾ はラット単離下垂体後葉に ANP を作用させると medium 中へのバゾプレッシン放出が逆に増加することを観察しており、ANP とバゾプレッシンとの関係については今後の検討が待たれる。 α -hANP のヒトに対する投与成績では血圧の低下や著明な尿量の増加が認められるにもかかわらず、血漿アルドステロン、バゾプレッシンおよびレニン活性は明らかな変動が

みられず、アドレナリン濃度はむしろ低下傾向を示し、ヒトでもレニン-アルドステロン系に対しては抑制的に働くと考えられる²⁶⁾。

4. 測定法ならびに測定成績⁵²⁾

ANP 活性の測定法にはバイオアッセイとラジオイムノアッセイ (RIA) とがある。前者はラットなどの小動物に投与して直接利尿活性を *in vivo* の系で追跡する方法と、摘出平滑筋標本の筋弛緩作用を指標とする *in vitro* アッセイが知られており、生物活性を測定する点に意義があるが、いずれの場合にも操作が複雑で測定感度や検体処理能力に限界があるため現在 ANP 活性の測定法としてはもっぱら RIA が用いられている。

a) RIA

抗体は合成 ANP と蛋白担体 (ヒト α -グロブ

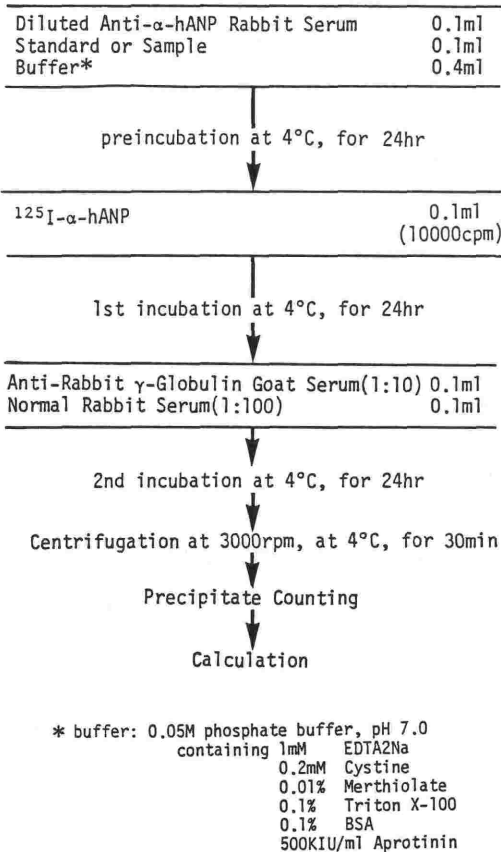


図5 ANP の RIA 操作法

リン, ウシサイログロブリンなど) との結合物を免疫原とし Freund's complete adjuvant を加えて乳化したものを家兎に皮下注射して作成する。2週間間隔の免疫で通常2-6カ月後には RIA に使用できる抗体が得られる。 α -hANP の場合、前述のように生物活性発現部位は S-S 結合を含むC端側にあると推測されているので、蛋白担体をグルタルアルデヒド法などを用いてN端側に結合させたほうが効果的であるが、ラットおよびヒト α -ANP のC端側共通構造を認識する抗体を得る目的で α -ANP (17-28) を免疫原に用いる方法も報告されている⁵²⁾。

抗原の標識法はクロラミンT法でも酵素法でもよいが、前者が一般によく用いられている。標識抗原の純化には Sep-Pak C₁₈ カートリッジ^{53,54)} や高速液体クロマトグラフィー^{55,56)} などを用いる方法があるが、筆者らはカルボキシメチルセルロース (CM23) を用いて良好な成績を得ている。

図5および6に筆者らの操作手順と標準曲線の一例を示したが、本法の精度は良好 (intra-assay および inter-assay の変動係数はそれぞれ7.2%, 9.5%) であり、4 pg/tube から 500 pg/tube までの間で良好な用量反応相関性が得られている。

b) 組織中 ANP 濃度

ヒト心臓組織を用いた我々の測定成績では右心房に高濃度 (8.0-65.6 μ g/g 湿重量) に存在し、

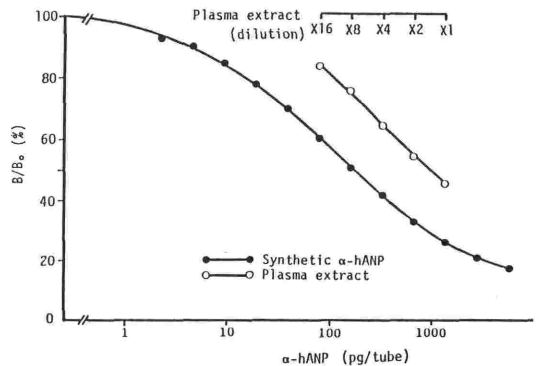


図6 α -hANP の RIA の標準曲線と血漿抽出物の抑制曲線

左心房においてもそれに近い濃度 (0.2-47.6 $\mu\text{g/g}$ 湿重量) で検出されるが、心房組織中でも心耳における含有量がそれ以外の組織に比して約3倍程度高値である。ラット心臓における ANP 様免疫活性の局在についてもこれとほぼ同様の結果が報告されている⁵⁵⁾。Miyata ら⁵⁷⁾ による高速液体クロマトグラフィーを用いた分析結果では、ヒト右心耳抽出物は α -, β -, γ -hANP に相当する3つの分画がみい出されるが、ラット心房組織では α -rANP に相当する分画は明らかではなかったといわれる。

このほか、ANP 様免疫活性は視床下部をはじめ、脳内各部位⁵⁸⁾、顎下腺、腎、副腎などにも存在するという報告があるが、組織含量は湿重量比にして心房の1000分の1以下である。

c) ANP の血中代謝動態ならびに安定性

合成 α -hANP をヒトに単回あるいは点滴静注したさいの血中半減期は0.9-1.7分 (rapid phase) および10-11分 (slow phase) といわれている。これに関連して、我々が血中 hANP の安定性を *in vitro* の系で検討したところ、37°C の条件下では30分で40%程度にまで活性が低下することから、血漿中に含まれる蛋白分解酵素の作用を受け易いことが示唆されるが、これらの成績は前述のヒトにおける α -hANP の作用時間が短いこととよく一致する。

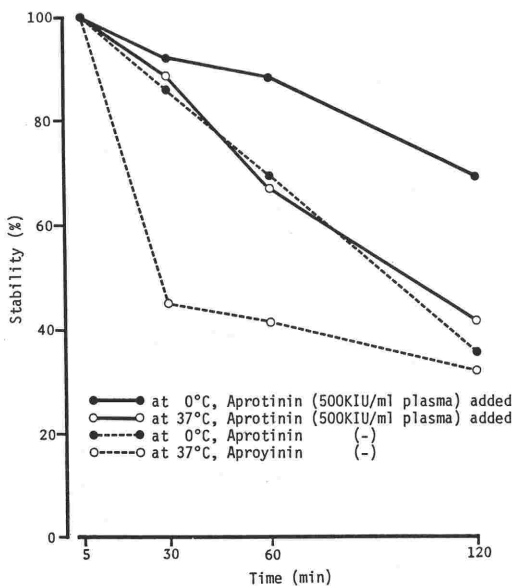


図7 血漿 α -hANP の *in vitro* における安定性

ちなみに血漿 hANP 濃度の測定には氷冷したトラジロール (500 KIU/ml) 加試験管への採血が必須であり、このような条件下では60分後に約90%が安定である (図7)。

d) 正常者における血漿 ANP 濃度

ヒト末梢血における血漿 hANP 濃度は報告者によってかなりの差異がみられる (数十~数百 pg/ml) が、これは各研究施設により測定条件 (用いる抗体の認識部位、血漿サンプルの抽出の有無および方法など) が異なるためと推測される。

Sep-Pak C₁₈ カートリッジによる血漿抽出物を用いた筆者らの測定成績では、正常成人における空腹時の血漿 hANP 濃度は 19.3 \pm 1.0 pg/ml (平均値土標準誤差, n=54) で、性差はなく、12時間の水制限試験では有意に低値 (11.2 \pm 2.1 pg/ml) となり、逆に飲水後に実施した高張食塩水負荷試験 (0.25 ml/kg 体重/分, 45分間定速静注) では有意に分泌が亢進することを観察している (基礎値 11.5 \pm 3.4 pg/ml, 頂値 15.0 \pm 6.7 pg/ml)⁵⁹⁾。

このほか、心臓カテーテル検査時に得られた冠状静脈血中 hANP 濃度は末梢血に比して3-10倍高値であり、その主成分は α -hANP の分画に一致すること、高 Na 食の摂取や温水浴負荷 (35°C, 1時間) 試験、心房ペーシング⁵⁶⁾ では分泌が亢進することなどが知られている。

e) 病態時における ANP の分泌動態

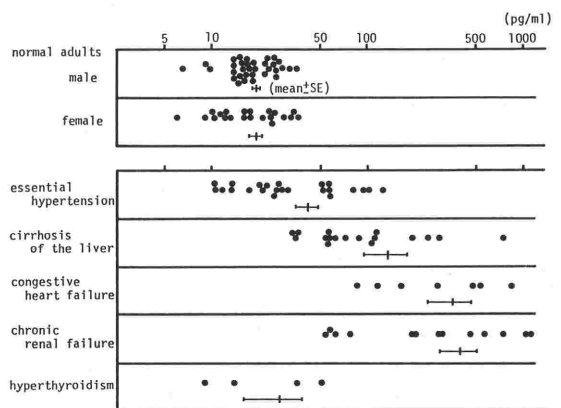


図8 正常者および各種疾患患者の血漿 hANP 濃度

図8に筆者らが測定した各種疾患の血漿 hANP 濃度を正常者のそれと対比して示した。本態性高血圧症患者 (41.9 ± 7.0 pg/ml) の半数以上の症例では正常者とほぼ同様の値を示したが、残りの約40%の例では高値 (正常者の平均値 + 3SD 以上) を示す傾向がみられた。非代償性肝硬変症 (138.7 ± 43.2 pg/ml), 心不全 (357.9 ± 275.4 pg/ml), および慢性腎不全 (399.3 ± 106.8 pg/ml) 患者ではいずれも有意に高値であったが、甲状腺機能亢進症患者では正常者に比して明らかな差は認められなかった (図8)。腎不全では血液透析により血漿 hANP 濃度は低下するとされている⁶⁰⁾。

このほか病態時に血漿 hANP が高値を示す疾患としては発作性頻拍症⁶¹⁾ 発作性心房細動 (発作時)⁶²⁾ などが知られている。

5. おわりに

以上 ANP に関する最近の知見について述べた。今後、ANP の測定が普及するにつれて ANP の生理的役割や病態修飾因子としての意義が次第に明らかにされるとともに、それらに関連した基礎的ならびに臨床的研究がさらに進展することが期待される。

文 献

- 1) Bompiani, G. D., Rouiller, C., Hatt, P. Y.: Le tissu de conduction du coeur chez le rat.: Etude au microscope électronique. *52*:1257, 1959.
- 2) Palade, G. E., Sonnenenn: Secretory granules in the atrial myocardium, *Anat. Rec.*, **139**:262, 1961.
- 3) Jamieson, J. D., Palade, G. E.: Specific granules in atrial muscle cells. *J. Cell. Biol.* **23**:151-172, 1964.
- 4) Marie, J. P., Guillemot, H., Hatt, P. Y.: Le degré de granulation des cardiocytes auriculaires. *Path. Biol.* **24**:549-554, 1976.
- 5) DeBold, A. J.: Heart atria granularity effects of changes in water-electrolyte balance. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **161**:508-511, 1979.
- 6) DeBold, A. J., Borenstein, H. B., Veress, A. T., Sonnenberg, H.: A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sciences* **28**:89-94, 1981.
- 7) DeBold, A. J.: Atrial natriuretic factor of the rat heart. Studies on isolation and properties. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **170**:133-138, 1982.
- 8) Pollock, D. M., Banks, R. O.: Effect of atrial extract on renal function in the rat. *Clin. Sci.* **65**:47-55, 1983.
- 9) Trippodo, N. C., Macphee, A. A., Cole, F. E., Blakesley, H. L.: Partial chemical characterization of a natriuretic substance in rat atrial heart tissue. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **170**:502-508, 1982.
- 10) Atarashi, K., Mulrow, P. J., Francos-Saenz, R., Snajdar, R., Rapp, J.: Inhibitor of aldosterone production by an atrial extract. *Science* **224**:992-994, 1984.
- 11) Kangawa, K., Matsuo, H.: Purification and complete amino acid sequence of α -human atrial natriuretic polypeptid (α -hANP). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **118**:131-139, 1984.
- 12) Kangawa, K., Fukuda, A., Matsuo, H.: Structural identification of β - and γ -human atrial natriuretic polypeptides. *Nature* **313**, 397-400, 1985.
- 13) Misono, K. S., Fukumi, H., Grammer, R. T., Inagami, T.: Rat atrial natriuretic factor: complete amino acid sequence and disulfide linkage essential for biological activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **119**:524-529, 1984.
- 14) Tihbault, G., Garcia, R., Carrier, F., Seidah, N. G., Lazure, C., Chretien, M., Cantin, M., Genest, J.: Structure-Activity relationships of atrial natriuretic factor (ANF). I Natriuretic activity and relaxation of intestinal smooth muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **125**:938-946, 1984.
- 15) Flynn, T. G., DeBold, M. L., DeBold, A. J.: The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **117**:859-865, 1983.
- 16) DeBold, A. J., Flynn, T. G.: Cardionatrin I-A novel heart peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Life Sciences* **33**:297-302, 1983.
- 17) Kangawa, K., Fukuda, A., Kubota, I., Hayashi, Y., 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.
- 18) 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. Commun.* **119**:933-940, 1984.
- 19) 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 peptides (Atriopeptins). *Science* **223**:67-69, 1984.
- 20) Geller, D. M., Currie, M. G., Wakitani, K., Cole, B. R., Adams, S. P., Fok, K. F., Siegel, N. R., Eubanks, S. R., Galluppi, G. R., Needleman, P.: Atriopeptins: A family of potent biologically active peptides derived from mammalian atria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **120**:333-338, 1984.
- 21) 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 peptide

- Nature 309:717-719, 1984.
- 22) Misono, K. S., Grammer, R. T., Fukumi, H., Inagami, T.: Rat atrial natriuretic factor: isolation structure and biological activities of four major peptides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 123:444-451, 1984.
 - 23) Oikawa, S., Imal, M., Ueno, A., Tanaka, S., Noguchi, T., Nakazato, H., Kangawa, K., Fukuda, A., Matsuo, H.: Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human atrial natriuretic polypeptide. *Nature* 309:724-726, 1984.
 - 24) Greenberg, B. D., Bencen, G. H., Seilhamer, J. J., Lewicki, J. A., Fiddes, J.: Nucleotide sequences of the gene encoding human atrial natriuretic factor precursor. *Nature* 312:656-658, 1984.
 - 25) Sjidman, C. E., Bloch, K. D., Klein, K. A., Smith, J. A., Seidman, J. G.: Nucleotide sequence of the human and mouse atrial natriuretic factor genes. *Science* 226:1206-1209, 1984.
 - 26) Richards, A. M., Nicholls, M. G., Ikram, H., Webster, M. W., Yandle, T. G., Espiner, E. A.: Renal, haemodynamic, and hormonal effects of human alpha atrial natriuretic peptide in healthy volunteers. *Lancet* 545-548, 1985.
 - 27) Keeler, R., Azzarolo, A. M.: Effects of atrial natriuretic factor on renal handling of water and electrolytes in rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 61:996-1002, 1983.
 - 28) Ishihara, T., Aisaka, K., Hattori, K., Hamasaki, S., Morita, M., Noguchi, T., Kangawa, K., Matsuo, H.: Vasodilatory and diuretic actions of α -human atrial natriuretic polypeptide (α -hANP). *Life Sci.* 36:1205-1215, 1985.
 - 29) Garcia, Thibault, G., Gutkowska, J., Cantin, M., Genest, L.: Changes of regional blood flow induced by atrial natriuretic factor (ANF) in conscious rats. *Life Sciences* 36:1687-1693, 1985.
 - 30) Baines, A. D., DeBold, A. J., Sonnenberg, H.: Natriuretic effect of atrial extract on isorated perfused rat kidney. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 61:1462-1466, 1983.
 - 31) Koike, H., Sada, T., Miyamoto, M., Oizumi, K., Sugiyama, M., Inagami, T.: Atrial natriuretic factor selectively increases renal blood flow in conscious spontaneously hypertensive rats.: *Europ. J. Pharmacol.* 104:391-392, 1984.
 - 32) Yukimura, T., Ito, K., Takenaga, T., Yamamoto, K., Kangawa, 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.
 - 33) Briggs, J. P., Steipe, B., Schubert, G., Schnermann, J.: Micropuncture studies of the renal effects of atrial natriuretic substance. *Pflügers Archiv.* 395:271-276, 1982.
 - 34) Sonnenberg, H., Cupples, W. A., DeBold, A. J., Veress, A. T.: Intrarenal localization of the natriuretic effect of cardiac atrial extract. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 60:1149-1152, 1982.
 - 35) Fujioka, S., Tamaki, T., Fukui, K., Okahara, T., Abe, Y.: Effects of synthetic human atrial natriuretic polypeptide on regional blood flow in rats. *Europ. J. Pharmacol.* 109:301-304, 1985.
 - 36) 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.
 - 37) Hamet, P., Tremblay, J., Pang, S. C., Garcia, R., Thibault, G., Gutkowska, J., Cantin, M., Genest, J.: Effect of native and synthetic atrial natriuretic factor on cyclic GMP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 123:515-527, 1984.
 - 38) Keeler, R.: Atrial natriuretic factor has a direct, prostaglandin-independent action on kidneys. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 60:1078-1082, 1982.
 - 39) Ishii, M., Sugimoto, T., Kobayashi, T., Uehara, Y., Hirata, Y., Matsuoka, H., Ikeda, T., Sugimoto, T.: Effects of atrial extract on blood pressure and urinary excretion of electrolytes and prostaglandin E₂ in rats. *Prostaglandins Leukotriens. Med.* 16:325-332, 1984.
 - 40) Maak, T., Marion, D. N., Camargo, M. J. F., Kleinert, H. D., Laragh, J. H., Vaughan, E. D., Atlas, S. A.: Effects of auriculin (atrial natriuretic factor) on blood pressure, renal function, and the renin-aldosterone system in dogs. *Am. J. Med.* 77:1069-1075, 1984.
 - 41) Samson, W. K.: Atrial natriuretic factor inhibits dehydration and hemorrhage-induced vasopressin release. *Neuroendocrinology* 40:277-279, 1985.
 - 42) Camargo, M. J. F., Kleinert, H. D., Atlas, S. A., Sealey, J. E., Laragh, J. H., Maack, T.: Ca-dependent hemodynamic and natriuretic effects of atrial extract in isolated rat kidney. *Am. J. Physiol.* 246:F447-F456, 1984.
 - 43) Hirata, Y., Tomita, M., Yoshimi, H., 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.
 - 44) Napier, M. A., Vandlen, R. L., Albers-Schönberg, G., Nutt, R. F., Brady, S., Lyle, T., Winquist, R., Faison, E. P., Heinel, L. A., Blaine, S. H.: Specific membrane receptors for atrial natriuretic factor in renal and vascular tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 81:5946-5950, 1984.
 - 45) Garcia, R., Thibault, G., Cantin, M., Genest, J.: Effect of a purified atrial natriuretic factor on rat and rabbit vascular strips and vascular beds. *Am. J. Physiol.* R34-39, 1984.
 - 46) Anand-Srivastava, M. B., Franks, D. J., Cantin, M., Genest, J.: Atrial natriuretic factor inhibits adenylate cyclase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 121:855-862, 1984.
 - 47) Goodfriend, T. L., Elliot, M. E., Atlas, S. A.: Actions of synthetic atrial natriuretic factor on bovine adrenal glomerulosa. *Life Sci.* 35:1675-1682, 1984.
 - 48) Kudo, T., Baird, A.: Inhibition of aldosterone production in the adrenal glomerulosa by atrial

- natriuretic factor. *Nature* 312:756-757, 1984.
- 49) De Léan, A., Racz, K., Gutkowska, J., Nguyen, T.-T., Cantin, M., Genest, J.: Specific receptor-mediated inhibition by synthetic atrial natriuretic factor of hormone-stimulated steroid genesis in cultured bovine adrenal cells. *Endocrinology* 115:1636-1639, 1984.
- 50) De Léan, A., Gutkowska, J., McNicoll, N., Schiller, P. W., Cantin, M., Genest, J.: Characterization of specific receptors for atrial natriuretic factor in bovine adrenal zona glomerulosa. *Life Sci* 35:2311-2318, 1984.
- 51) Januszewicz, P., Gutkowska, J., De Léan, A., Thibault, G., Garcia, R., Genest, J., Cantin, M.: Synthetic atrial natriuretic factor induces release (possibly receptor-mediated) of vasopressin from rat posterior pituitary. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 178:321-325, 1985.
- 52) 日本内分泌学会雑誌 61 Supplement: 1025-1030, 1089-1091, 1985.
- 53) Nakao, K., Sugawara, A., Morii, N., Sakamoto, M., Suda, M., Soneda, J., Ban, T., Kihara, M., Yamori, Y., Shimokura, M., Kiso, Y., Imura, H.: Radioimmunoassay for α -human and rat atrial natriuretic polypeptide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 124:815-821, 1984.
- 54) Tanaka, I., Misono, K. S., Inagami, T.: Atrial natriuretic factor in rat hypothalamus, atria and plasma: determination by specific radioimmunoassay. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 124:663-668, 1984.
- 55) Gutkowska, J., Thibault, G., Januszewicz, P., Cantin, M., Genest, J.: Direct radioimmunoassay of atrial natriuretic factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 122:593-601, 1984.
- 56) Gutkowska, J., Bourassa, M., Roy, D., Thibault, G., Garcia, R., Cantin, M., Genest, J.: Immunoreactive atrial natriuretic factor (IR-ANF) in human plasma *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 128:1350-1357, 1985.
- 57) Miyata, A., Kangaha, 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.
- 58) Morii, N., Nakao, K., Sugawara, A., Sakamoto, M., Suda, M., Shimokura, M., Kiso, Y., Kihara, M., Yamori, Y., Imura, H.: Occurrence of atrial natriuretic polypeptide in brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 127:413-419, 1985.
- 59) 西内 健, 斎藤晴比古, 山崎保寛, 乾 俊夫, 斎藤史郎: 正常ならびに病態時における心房性ナトリウム利尿ペプチドの分泌動態. *医学のあゆみ* 136: 623-624, 1986.
- 60) Rascher, W., Turassay, T., Lang, R. E.: Atrial natriuretic peptide in plasma of volume-overloaded children with chronic renal failure *Lancet* 2:303-305, 1985.
- 61) Schiffrin, E. L., Gutkowska, J., Kuchel, O., Cantin, M., Genest, J.: Plasma concentration of atrial natriuretic factor in a patient with paroxysmal atrial tachycardia. *N. Engl. J. Med.* 312:1196-1197, 1985.
- 62) Yamaji, T., Ishibashi, M., Nakaoka, H., Imataka, K., Amano, M., Fujii, J.: Possible role for atrial natriuretic peptide in polyuria associated with paroxysmal atrial arrhythmias *Lancet* i:1211, 1985.