

ナトリウム利尿ペプチド

奈良県立医科大学第1内科学教室

齊藤能彦

NATRIURETIC PEPTIDES

YOSHIHIKO SAITO

First Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received March 5, 2003

抄録:心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)は1983年にヒト心房より発見された心臓ホルモンであり,利尿,ナトリウム利尿,血管拡張,アルドステロン分泌抑制等の多彩な生物作用を有している。ANPの発見は,心臓の役割はポンプ器官として血液を全身に送り出すこととの概念を一変させた。ANPに引き続いて第2,第3のファミリーである,脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP),C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)が発見され,これらのペプチドはファミリーとして多彩な生物現象に関与していることが明らかになってきた。ANPとBNPは心臓ホルモンであり,ANPは主として心房で,BNPは主として心室から分泌され,様々な心疾患の病態生理に関与している。心不全においてはBNPの分泌量は著増し,心不全のマーカールとして診断に有用であることが証明されつつあり,ANPは心不全の治療薬として広く使用されている。本稿では,ナトリウム利尿ペプチドの発見から臨床応用までを概説したい。

Key words : ANP, BNP, congestive heart failure

はじめに

イントロダクション

1980年代になり,心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)やエンドセリンに代表される心臓血管ホルモンが発見され,心臓をポンプ,血管を導管と捉えるだけでなく,液性因子を中心に心臓血管系のホメオスターシスとその破綻の分子機構を解明する新しい循環器学の潮流が生まれた。心臓血管内分泌学である。その後,心臓血管内分泌学は組織レニン・アンジオテンシン系の概念の確立や,分子生物学・発生工学の進歩と協調して目覚ましく進歩し,これらのホルモンは現在では血圧,体液調節にとどまらず,心筋細胞や血管平滑筋細胞の発生・分化,肥大・増殖,さらには細胞死の調節にも深く関わっていることが証明された。これらの心臓血管ホルモンのなかで,ナトリウム利尿ペプチドは我が国の松尾・寒川

両博士により,また,エンドセリンは真崎・柳沢両博士により発見されたこともあり,この分野の重要な発見が我が国の研究者によってなされたことは注目に値する。

現在ではANPやBNPは心機能を反映する生化学検査法として広く世界で認められ,最も簡便,鋭敏,特異的な心不全診断検査として認められつつある。また,ANPは心保護作用を有する心不全治療薬として,我が国では8年前より臨床現場で使用され,BNPも米国で臨床応用されている。

本稿では,ナトリウム利尿ペプチドの発見から臨床応用までの経緯とその臨床的意義について概説したい。

1. 心房性ナトリウム利尿ペプチド系の発見

1) ナトリウム利尿ペプチドの発見

心房性ナトリウム利尿ペプチドの発見は,電子顕微鏡の発明により,細胞内の超微構造研究が開始されたことに伴い,1958年にKirshらによる心房特異顆粒の発見

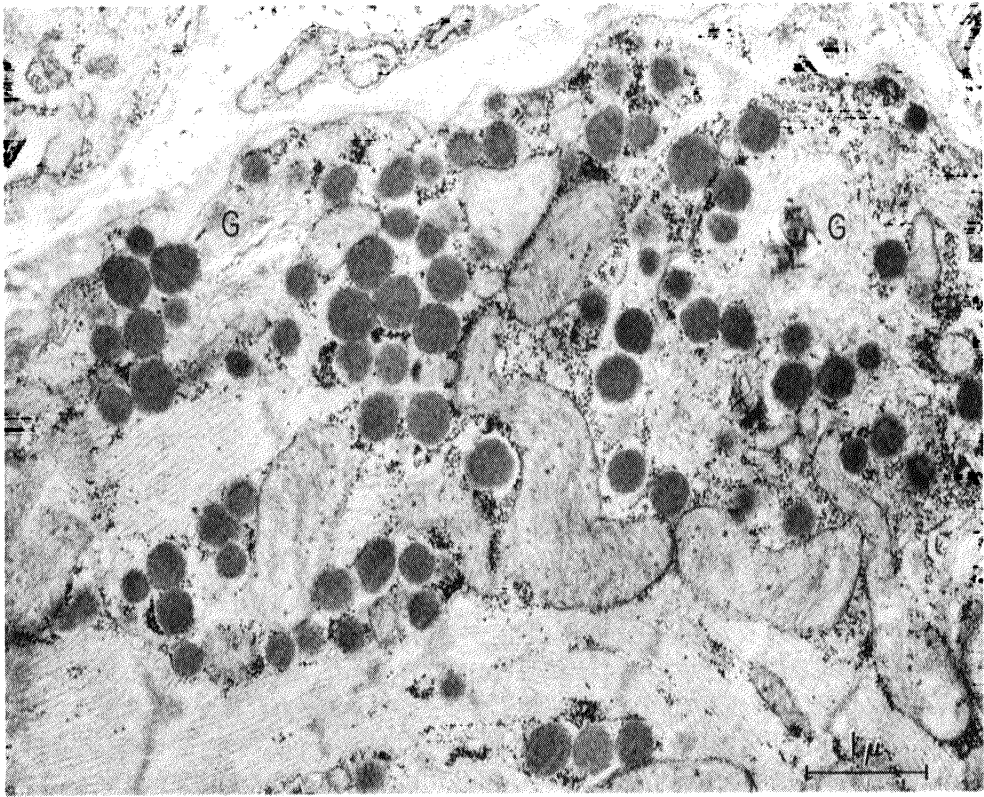


図1.

されたことに端を発している(図1)¹⁾。図のように心房組織の電子顕微鏡写真では、内分泌細胞に認められる分泌顆粒と大きさも電子透過性もよく似た顆粒が心房組織にも観察された。しかし、当時その顆粒に何が蓄えられているのか全く判らなかった。その後、長らく ANP 研究は進展しなかったが、1979 年になりカナダの deBold がこの顆粒の数が水バランスによって変動することを発見した。さらに deBold は大変エポックメイキングな実験を行った。すなわち、ラットの心房組織をすりつぶしてその抽出物を別のラットに静脈内投与すると速やかにナトリウム利尿、利尿が観察されしかも約 10 mmHg 体血圧が低下した。ここに、心房組織に、そしておそらくは顆粒の中に、これらの生物作用を惹起する未知の因子の存在が明らかとなり、世界中の生化学者がその因子の同定にしのぎを削った。多くの研究者は利尿活性を指標にこの因子の精製を試みたが、松尾・寒川らはこの因子が平滑筋弛緩作用も有することを利用して、ヒヨコ直腸の平滑筋を用いた高感度な *in vitro* の測定系を開発し、平滑筋弛緩作用を指標にヒト心房組織 40 g (1 人の剖検例) から ANP の単離を実質 1 週間で成功させた。単離された

ペプチドは、アミノ酸 28 残基から構成されており、 α -atrial natriuretic polypeptide と命名された²⁾。このような離れ業を彼らが成し遂げたのは彼らが微量のニューロペプチドの精製において世界の他の研究者の追従を許さない卓越した科学思考と技術を確立していたことと、何よりも自然科学に対して真摯な態度で常に研究されていたからだと筆者は考えている。松尾・寒川らより 1 週間早くラット心房から deBold が同じく 28 残基のペプチドを精製し、cardionatrin と命名した³⁾。しかし、この報告は、C 末端が完全ではなかったし、生物活性も確認されていなかった。1988 年になり、同じく松尾・寒川のグループより脳性ナトリウム利尿ペプチド brain natriuretic peptide (BNP) が⁴⁾、ブタ脳より、また 1990 年には同じくブタ脳より c-type natriuretic peptide (CNP) が相次いで単離精製された。この時、松尾・寒川らの話によると、ANP 発見から 5 年経ち彼らが元来主力を注いでいた脳よりニューロペプチドを再度探索している過程で BNP、CNP の発見ができたのだが、最初から脳の中の ANP のファミリーを探索していたのではなかったそうである。しかし、精製されてきたものは ANP のファミリーであっ

たことは事実小説よりも奇なりと言ったところであろうか？

2) ナトリウム利尿ペプチド受容体の発見

ナトリウム利尿ペプチド系のリガンドだけでなく、受容体の発見の経緯も極めてドラマティックであった。簡単に紹介すると、ANPが発見された後、多くの生化学者がANP受容体の精製にとりかかった。ANPの結合能を指標に肺や平滑筋から精製を試みたグループは、クリアランス受容体にたどり着いた。cGMP産生能を指標にラット肺から精製を試みたノーベル賞受賞者の一人であるF. Muradらのグループは、cGMP産生活性を指標におそらく膜型のグアニル酸シクラーゼを追いかけていたと思われるが部分精製に終わった。この様に、受容体それ自身の蛋白精製を真っ正面から試みた研究者は、誰一人生物活性を有したANP受容体の蛋白精製には成功しなかった。これらの結果は、全てが解明された後から考えると必然的なことであった。つまり、生物活性を有するGC-A, GC-B受容体の数は肺では比較的少量であるのに対してクリアランス受容体が豊富に存在していた結果と考えられる。

生物活性を持ったANP受容体のクローニングに成功したのは、いわゆるANP研究者ではなく、ウニのグアニル酸シクラーゼの研究者であったD. Garbersであった⁷⁻⁹⁾。つまり、ウニの精子はウニの卵子が分泌する精子に対する走化因子(resact)に対してcGMP依存性に遊走することが知られていたが、ウニの精子から膜型のグアニル酸シクラーゼを精製し、cDNAクローニングした⁷⁾。この膜型グアニル酸シクラーゼの細胞内ドメインを利用してラットおよびヒトのcDNAライブラリーをスクリーニングし哺乳類最初の膜型グアニル酸シクラーゼがクローニングされ、同時に発現実験によりANPに対する結合能と、ANPによるcGMP産生が確認され、この膜型グアニル酸シクラーゼがANP受容体その物であることが証明された⁸⁾。次に、このGC-Aによるcross-hybridizationで第二のGCつまりGC-Bが発見された。GC-Bが発見された当時ナトリウムファミリーにはANP, BNP2つのリガンドしか発見されておらず、GC-BがANP, BNPと結合しcGMP産生も認められたため、ナトリウム利尿ペプチドの受容体であるとは思われたが、ANP, BNPとGC-Bの親和性はANPとGC-Aほど高くはなく、GerbersらはGC-Bの発見当時から、真の第三の内因性のリガンドの存在を予測していた⁹⁾。事実第三のリガンドであるCNPが発見され、CNPがGC-Bの内因性のリガンドであることが証明された¹⁰⁾。

2. ナトリウム利尿ペプチドの基礎

1) ANP, BNPの生合成・分泌

ナトリウム利尿ペプチドファミリーはANP, BNP, CNPの3種類のペプチドファミリーから構成されているが、これら3つのペプチド間のアミノ酸一次構造はよく保存されており、特にS-S結合で構成される環状構造部分の相同性は高い。CNPはすべての哺乳類で構造は同一であり、ANPは哺乳類ではこれまでにヒト型とラット型の2種類が報告されているが、12番目のアミノ酸がヒトではMetであるのに対してラットではIleと1つのアミノ酸が異なるだけである。しかし、BNPは哺乳類の間で種属差が大きい¹¹⁾。ナトリウム利尿ペプチド系には2種類の細胞内情報伝達に与る受容体と一つのクリアランスに関わる受容体の計3つの受容体がクローニングされている。情報内情報伝達に関わる受容体のうちGC-AはANP, BNPの共通の受容体であり、GC-BはCNPの受容体である(図2)。

ANP, BNPのペプチドホルモンとしてのmaturationの過程は、mRNAから翻訳された後、ゴルジ装置にソーティングされ、シグナルペプチドが切断され、ANP, BNP前駆体であるANP[1-126] (α -ANPと命名されている)、あるいはヒトBNP[1-108])が生成される。これらの前駆体は細胞外に分泌される直前あるいは直後にANPは98番目と99番目の間で、BNPの場合は76番目と77番目の間でプロセッシングされ、成熟型ANP(α -ANP)、ヒトBNP(BNP-32)が生成される。

現在、ナトリウム利尿ペプチドファミリー関連ペプチドとして心不全診断に応用されている測定系は、1)ANP(α -ANP)に対するRIAとIRMA(2つの抗体でサンドイッチにする)、2)ANPのアミノ末端側(N端側)の合成ペプチドを認識する抗体を利用したRIA、3)BNPに対するRIA、IRMA、4)BNPのN末端側に対する抗体を利用したRIA等である。ANPやBNPに対する測定系はANP, BNPと、それらの前駆体もある程度認識するが、N末端に対するRIAは前駆体とプロセッシングされた後のN端側の部分ペプチド(ANP[1-98]、やBNP[1-76])を認識するが、成熟型のANP, BNPは認識しない。一般的に前駆体やN端側の部分ペプチドは代謝が遅いため血中濃度は成熟型ペプチドと比べモル比で10倍以上高い。また、BNPは種属差が大きいので、現在よく使用されているシオノギのヒトBNP測定キットもヒト以外のBNPは測定できない。

心疾患でない剖検心を用いた検討では、ANP mRNA

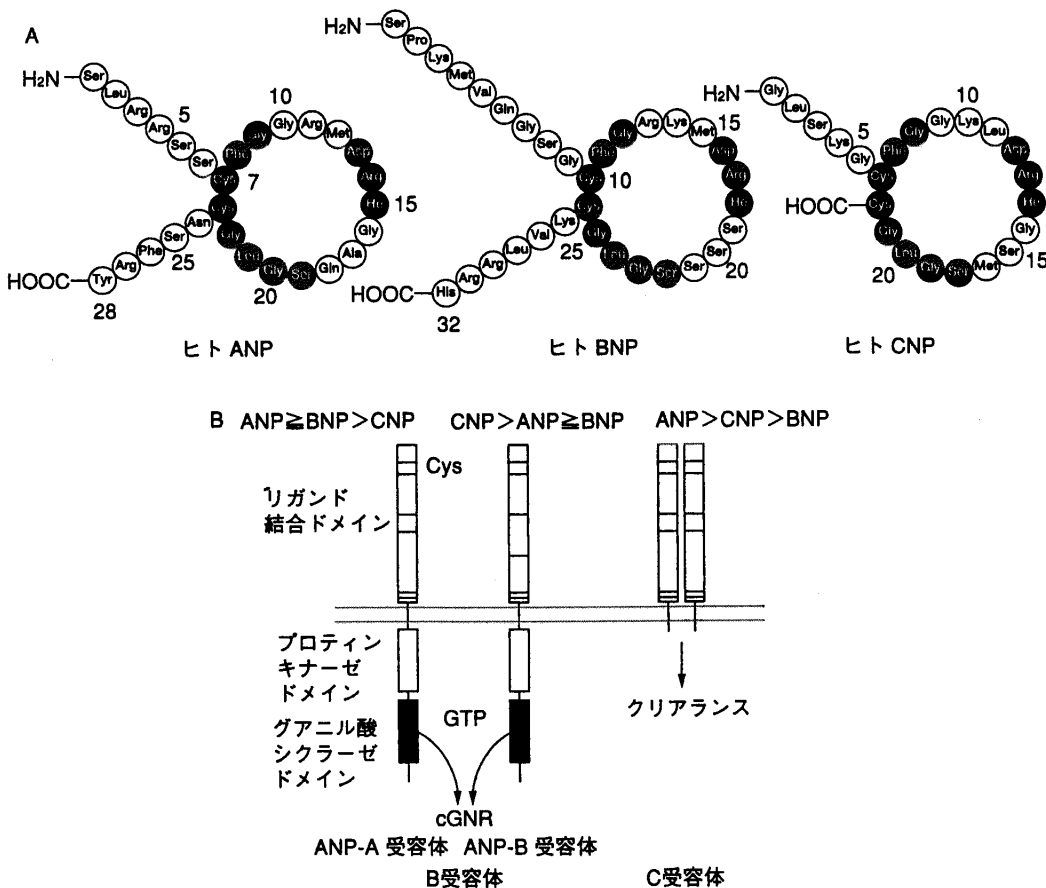


図2. ナトリウム利尿ペプチド系の生体情報伝達システム 循環気器科 46(Sept):77, 1999 より転写

は97%が心房に存在するのに対して、BNP mRNA は約80%が心室で残りの20%が心房で検出され、ANPは主として心房で、BNPは主として心室で合成されることが証明された。一方、14週令のヒト胎児ではANPは心房のみならず心室でも多量に存在しており、胎児の成長にもなって心房ではさらに発現量が増加し、心室での発現量は低下していく。出生時にはヒトでは心室のANP含量は成人と同程度になっている^{11,12)}。

これらの心臓での発現パターンを考慮すると、健康成人における血中を循環しているANPは主として心房由来、BNPは心室由来と考えられる。不全心では、ANPの遺伝子発現は心房だけでなく心室でも増加し、心室でのBNP遺伝子発現は著増し、心室でのANP、BNP遺伝子発現の亢進は、β-myosin heavy chain等と同じく胎児遺伝子の再発現現象と捉えることが出来る。ANPおよびBNPの分泌機序は、ANP、BNPが主として産生される細胞特有の分泌機序に則っている。心房細胞は分

泌顆粒にペプチドを貯留し刺激に応じて分泌するregulated pathwayに従うが、心室細胞はペプチドが合成されると貯蔵することなしに直に分泌するconstitutive pathwayに則って分泌する。従って、血中ANP濃度は、急性の刺激、例えばvolume expansion, pacing, noradrenalin や angiotensin IIの投与、運動負荷等の心房への負荷に反応して、速やかに上昇するが、血中BNP濃度は、上記の急性刺激ではほとんど変化せず、運動負荷で少し上昇する程度である。従って、血中ANP濃度は体位などでも鋭敏に変化するが血中BNP濃度は変化しない。血中BNP濃度の変化はその心室での産生量によって、言い換えればmRNA量によって規定されている。

2) ANP・BNPの作用

ANPやBNPを生体に投与すると、速やかに降圧作用、利尿、ナトリウム利尿作用が現れる。降圧作用が認めら

れる割に反射性の頻脈を認めにくく、交感神経抑制作用も有していると考えられる。また、他の液性因子への効果としてアルドステロン・レニン分泌抑制作用が認められる。この様に、ANP・BNPの作用はレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系に、あるいは交感神経系の作用とは反対の作用を有している。その他、*in vitro*では、血管平滑筋細胞、メサングウム細胞、線維芽細胞における細胞増殖抑制作用も認められている。

降圧作用は、内皮非依存性の血管平滑筋弛緩作用によるが、動静脈ともに拡張する。血管平滑筋にはGC-A受容体が多量に存在しており、ANPが受容体に結合することになりグアニル酸シクラーゼが活性化し、cGMPが産生される。さらに、その結果cGMP依存性キナーゼが活性化し、最終的には、ミオシン軽鎖の脱リン酸化により平滑筋が弛緩する。また、動脈硬化などの血管リモデリング時には合成型の血管平滑筋増生やマクロファージ浸潤などが観察されるが、合成型の血管平滑筋細胞ではGC-B受容体が多量に発現しており、血管内皮細胞やマクロファージに存在するCNPと伴に血管壁ナトリウム利尿ペプチド系を形成し、cGMP依存性に血管平滑筋細胞の増殖抑制に働くと思われ。

ANPによる利尿、ナトリウム利尿作用は主として糸球体への作用と集合管への作用によって惹起されている。ANPを全身の投与すると輸入細動脈が拡張するのに対して輸出細動脈は変化しないかむしろ収縮することにより、糸球体での静水圧が上昇し濾過係数が増加する。また、ANPで観察されるナトリウム利尿ではカリウムの排泄が相対的に少ないことにより、髄質内層集合管(Inner medullary collecting duct:IMCD)が、ANPの作用部位の一つであることが想定されていた。IMCDの管腔側にはアミノライド感受性Naチャンネルが存在し、ナトリウムの再吸収に寄与しているが、このチャンネルはANPによりcGMP依存性にほぼ100%阻害される。その他、ANPは近位尿管にも働くが、この部位での作用は、アンジオテンシンIIやドーパミンによる水やナトリウムの再吸収を抑制することによるものと考えられている。糸球体とIMCDの血管側にはGC-A受容体が主として存在していることが確認されており、ANP、BNPがほぼ同等の利尿、ナトリウム利尿作用を惹起すること、さらには、GC-A受容体に親和性の弱いCNPはナトリウム利尿作用が弱いことに一致する結果であった。利尿作用やナトリウム利尿作用は、生理的範囲の血中ANP濃度の上昇でも観察され、ANP、BNPの分解酵素(Neutral endopeptidase Inhibitor: NEP)の阻害剤投与で、血中ANP濃度が数倍上昇させた場合でも利尿作用が

観察されることも、一致した結果である。

3) 遺伝子変異動物の結果

最近の発生工学的手法を用いた研究、特にANPおよびGC-Aノックアウト(KO)マウス研究により、ナトリウム利尿ペプチドファミリーは本態性高血圧症や心肥大の発症に関与している可能性が示された。¹³⁾ ANP及びBNPトランスジェニック(Tg)マウスは、それぞれ、*transthyretin* や *human serum amyloid P component* 遺伝子のプロモーターが使用され、肝臓でトランスジーンが発現するように、設計されている。ANPのTgでの血中のANP濃度は約400pg/ml、BNP-Tgでの血中BNP濃度は約数ng/mlのオーダーまで上昇している。血圧は双方とも約20mmHg低下しているが心拍数は変化しておらず、ANP-Tgマウスではマイクロフェアーを用いて心拍出量も測定されているが変化はしていなかった。心重量は双方で減少していた。ANP-TgとBNP-Tgの血行動態の変化はほぼ同様であるが、ANPとBNPの内因性の受容体が伴にGC-Aであることで説明できる。しかし、血行動態以外では、BNP-Tgマウスでは椎体や長管骨が長軸方向に伸長しており、成長板軟骨の肥大化層と非肥大化層の増大が認められ、内軟骨性骨化の亢進していること、また、この内軟骨性骨化はGC-B受容体を介することが証明されている¹⁴⁾が、ANP-Tgマウスではこのような変化は報告されておらず、その原因は明らかではないがBNP-Tgマウスでの血中BNP濃度がANP-Tgマウスの血中ANP濃度より高いことと関係しているかもしれない。

ANP-KOマウスでは、0.5%食塩食で飼育時には、遺伝子型で血圧に差は認められなかったが、2%食塩食ではホモで高血圧を、8%食塩食ではヘテロでも血圧が上昇し、食塩感受性高血圧症を呈した。2%食塩食で飼育するとホモ型で野生型と比べ40%心重量の増加が認められた。BNP-KOマウスは血圧の変化が高食塩食にしても血圧の変化は認められなかった¹⁵⁾。一方、GC-A-KOマウスでは、0.5%食塩食でもKOホモでは野生型と比べ約30mmHg既に血圧が上昇しており、この血圧上昇は高食塩食にしても増加せず、食塩非感受性高血圧を呈することが、Garbersら¹⁶⁾およびSmithiesら¹⁷⁾双方の研究室で伴に観察された。しかし、これらの2つの研究室のGC-A-KOマウスでは異なったところもあり、GarbersらのグループのKOマウスは性差が認められないが、SmithiesらのグループのKOマウスは、雄の方が高血圧も心肥大、心室の線維化も顕著であり、さらに予後も雄では6カ月以内に心不全や大動脈の破裂で全て死

亡する。しかし、雌は高血圧は軽症で、生命予後も良好と際だった差異を示している。また、Smithies らのグループは、GC—A 遺伝子を 1 コピー、2 コピー(野生型)、3 コピー、4 コピー有する遺伝子変異動物を作成し、1 コピー型マウスでは、野生型と比べて血圧が有意に低く 3 コピー型、4 コピー型マウスでは野生型と比べ有意に血圧が上昇していることを確認し、GC—A 遺伝子と血圧変動との間にいわゆる gene-dose effect を確認した¹⁸⁾。血圧の他、肺や腎臓での cGMP 産生と GC—A 遺伝子の間にも、gene-dose effect が観察された。これらの事実は、GC—A 遺伝子が高血圧発症・進展の機序に深く関与していることを示すと同時に、GC—A 遺伝子上に GC—A 遺伝子の転写活性を、あるいは、ANP や BNP との結合活性、cGMP 産生能に影響を与えるような遺伝子変異が高血圧症の成因と関連する可能性の高いことを示している。

最近我々は、GC—A—KO マウスと AT1—KO マウスを交配させ両遺伝子のダブル KO マウスを作製した。このダブル KO マウスでは、GC—A—KO マウスで観察された、心臓線維化と肥大はほぼ完全に消失しており、GC—A 系と AT1 系が機能的に拮抗していることを *in vivo* で確認した¹⁹⁾。この機序の詳細は未だ不明であるが、GC—A—KO マウスでの AT1 受容体の発現は野生型マウスと同レベルであるので、おそらくはポストレセプターでの細胞内の機序が想定される。

4) ANP 系の役割

ANP 系の作用と KO マウスの結果から ANP 系の役割を考察すると、正常な状態においても ANP 系は血圧を常に 20 mmHg ほど低下させるように働いており、心肥大や心臓の線維化に対しては内因性のアンジオテンシン II の作用に機能的に拮抗することによりこの様な心保護作用が惹起されていると考えられる。また、体液量の増加にたいしては、利尿作用を介して体液量の制御に関与していると考えられる。次に心不全の病態を ANP 系等の液性因子の動きから捉えようと、正常心臓では、交感神経系やレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系と、ANP 系のバランスがとれているが、心不全になると交感神経系、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系が活性化し心拍出量を増加させ各臓器への還流圧を維持させるが、心保護作用を有する ANP 系も活性化し、まだ両者のバランスを保とうとしている。しかし、心不全が進行すると、ANP 系の活性化が追いつかなくなり、これらの心液体液性因子のバランスが崩れ、心不全の代償機序は悪循環に陥り、非代償期に移行し重篤な症状を呈するようになると考えられる(図 3)。

心不全・心肥大における液性因子の変化

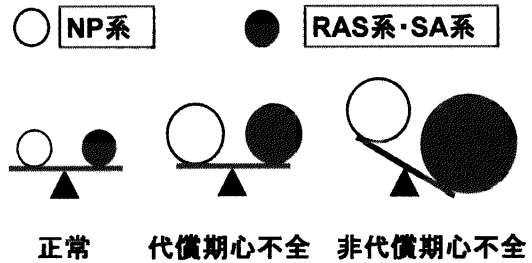


図 3.

3. ANP・BNP 臨床応用

1) 診断薬としての有用性

血中 ANP 濃度、血中 BNP 濃度の正常範囲は、それぞれ 8 ~ 32 pg/ml と ~ 13 pg/ml である。血中 ANP・BNP 濃度は、本態性高血圧症、二次性高血圧症、様々な心疾患で上昇しているが、その変化は心不全が一番顕著である。上記したように ANP・BNP の産生臓器が心臓に局限されているので、血中濃度の変化は何らかの心臓への負荷の状態に呼応したものである。血中 ANP 濃度と心房圧や肺動脈楔入圧との間には良好な正相関関係が得られている。血中 BNP 濃度も肺動脈楔入圧とも正相関を示すが、左室の駆出率とより強い負の相関を示し、左心機能とより密接に関係している。心疾患以外で血中 ANP・BNP 濃度の上昇する病態で重要なものは腎不全である。ANP、BNP は腎臓の尿細管に存在する中性エンドペプチダーゼで分解されるが、この機能の低下のためと溢水や腎性高血圧による心負荷のために上昇していると理解されている。

血中 ANP 濃度と血中 BNP 濃度測定は、実際に薬価収載され、臨床の現場で使用の機会が増えている。最近日本循環器学会学術委員会から発表された慢性心不全治療ガイドラインにおける「慢性心不全の診断法の項」で、血中 BNP 濃度の測定は、Class I の診断法に取り上げられている他、慢性心不全の大規模臨床試験においても、心不全の治療効果判定に応用されている。

血中 ANP、BNP 濃度は心不全の重症度に比例して上昇するが、健常成人では血中 BNP 濃度の方が低いが、心不全症例では血中 BNP 濃度が血中 ANP 濃度より高くなる症例が多く診られる。過去に...ANP、BNP と用いた慢性心不全診断に関していくつかのすぐれた結果が報

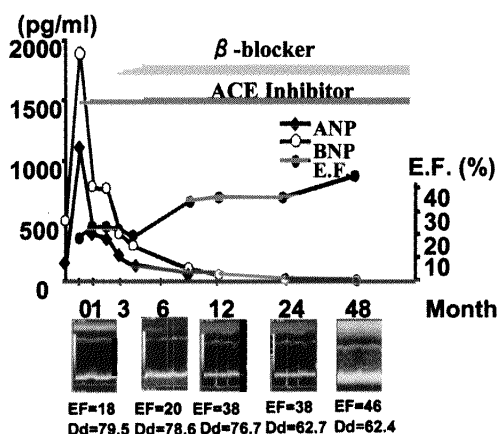


図4. 拡張型心筋症例における血中BNP濃度と駆出率の変化 Heart View 5(1):22, 2001より転写
EF:左室駆出率, Dd:左室拡張末期径

告されている。McDonagh TA 等²⁰⁾は、Glasgow 北部在住の臨床医家のリストから無作為に選んだ25歳から74歳の2000例にアンケートを配布しそのアンケートに解答された1653例を対象に、血中BNP濃度と血中N端側ANP濃度を測定し、それぞれの検査法による、左心機能低下の診断の正確性を検討した。その結果では血中BNP濃度の方が診断法として優れており、血中BNP濃度の17.9pg/mlをcut off値とすると心エコーで測定した左室駆出率30%以下の左室収縮機能障害症例の検出感度と特異性は、それぞれ76%と87%であった。また、年齢を55歳以上の症例に限定すると検出感度は89%と増加するが特異性は71%と低下した。また、Yamamoto K 等²¹⁾は、連続した待機的心臓カテーテル検査症例を対象に、左室収縮機能(駆出率)ならびに拡張機能障害(Tau, 左室拡張末期圧)さらには左室mass量増加に対する、ANP, N端側ANP, BNPそれぞれの血中濃度の検出感度と特異性を検討すると、いずれに対してもこれらのペプチドのなかで血中BNP濃度が最も優れていた。左室駆出率45%以下の症例に対する感度と特異性はcut off値を61.2pg/mlとすると83%と81%であり、拡張機能障害の指標であるTau<55msに対してはcut off値を54.3pg/mlとすると、感度85%、特異性90%と極めて高い値を示した。Ormland T 等²²⁾もNorway人の軽症あるいは無症候性心不全症例254例(急性心筋梗塞やNYHA機能分類Ⅲ,Ⅳ度の症例,心房細動,2週間以内発症の急性心筋梗塞は除外)を対象に、左室収縮機能・拡張機能低下を検出する、ANP, N端側ANP, BNPの信頼性をROCカーブを用いて検討すると、やはりBNPが一番優れてい

ると報告している。この様に、血中BNP濃度の測定は左室の収縮機能、拡張機能低下を正確に診断する生化学検査とする成績が蓄積されつつある。無症候性左室機能障害や軽症心不全は、症状が全くないか、合っても極めて非特異的であることが多く、呼吸器疾患や消耗性の疾患等との鑑別が必ずしも容易でないことをよく経験するが、血中BNP濃度の測定はこの様な症例の診断に極めて有効であると考えられる。また、Niinuma 等²³⁾のドック症例を用いた検討によると心不全だけでなく心疾患そのものの存在診断にも血中BNP濃度の測定が有効である。この様に考えると、初診時の採血検査にBNPを追加していただき心不全を正確に診断することが医療経済上もメリットの大きいことと思われる。

血中BNP濃度測定は心不全の診断の他、心不全の治療効果の判定に極めて有効である。慢性心不全の急性増悪時には血中BNP濃度は数100pg/ml以上に上昇することが多いが、有効な治療をなされると血中BNP濃度は速やかに低下する。その低下の速度は、心エコーなどで確認される駆出率の変化より鋭敏であり、BNPを低値(少なくとも2桁)で保っていると駆出率や心室リモデリングも改善してくる。図3には4年間経過観察している拡張型心筋症の症例の血中BNP濃度と駆出率の変化をまとめているので参考にしていただきたい。最近、ニュージーランドのTroughton RW²⁴⁾らがヒトBNPのN端側に対する測定系を用いて左室駆出率が40%以下の症例を対象に、血中N—BNP濃度値を200pg/ml以下に低下させることを目標としたグループ(BNPグループ)と臨床的に非代償期から代償期に改善させることを目標としたグループ(Clinicalグループ)の2群を約10ヶ月経過観察した結果、イベントフリーの症例はBNPグループの方が有意に高かったことを報告した。血中のN—BNP濃度の200pg/mlは彼らの以前の研究で血中BNP濃度70pg/ml程度に相当すると考えられる(彼らの測定系は現在日本で汎用されている塩野義のIRMAと異なっている)。この様に血中BNPあるいは関連ペプチド濃度の値は慢性心不全の治療効果の判定有用であるだけでなく、治療の指針としても有効である可能性が示唆されている。将来的には心移植の適応を決める上にも有効であると思われる。

これらの他、血中BNP濃度の測定は、心不全の予後判定にも優れている。液性因子の中で心不全の予後判定には血中ノルアドレナリン濃度が有名であるが、Tsutamoto T. 等²⁵⁾はノルアドレナリンも含めてANP, BNPなどの液性因子と心不全の夜毎の関係を検討すると、単回帰解析ではノルアドレナリン, ANP, BNPの

全てが相関しているが、多変量解析を行うとBNPの値だけが独立変数として心不全の予後と有意に相関することを報告している。この解析には液性因子の他血行動態指標も含まれていたがそれらを加えて解析してもBNPが最も強い予後の規定因子であった。我々もスウェーデンのゲーテブルグ大学のWallen T.ら²⁶⁾との共同研究で、心疾患を有する症例でBNPの高い症例ほど予後が悪いことを観察している。

この様に、血中BNP濃度の測定は、心不全の診断、治療効果判定、心不全の予後判定に現在臨床応用されている液性因子の中で最も有効な生化学検査法と思われる。特に臨床の第一線で簡便で、再現性高く軽症あるいは無症候性心不全の診断に威力を発揮するものと思われるが、現在のところ、まだエヴィデンスではなく私の私信ですが、BNPを測定した場合の値の意味づけに関して、図5の様なものの方が妥当ではないかと考えている。つまり、13 pg/ml以下の場合にはほとんど心不全の心配はない。40 pg/ml以下なら再検、100 pg/ml以下なら心エコーを含めた検査の必要あり、100 pg/ml以上なら専門家への紹介あるいは要治療というのが目安ではないかと考えている。心不全や心肥大等の心室のgeometricな変化を伴う心疾患の診断にはBNPは威力を発揮するが、不整脈や狭心症などgeometricな変化を伴わない心疾患に対しては診断能力は弱いことは留意しないといけないし、また、geometricな変化を伴う病期でもBNPからその原因疾患を推定することは極めて困難で、病因を診断するためにはエコー等の診断手技が必要になる。

2)治療薬としての臨床応用

我々は、いち早くANPを25μgから100μgを実際我々に静脈内一回投与し、速やかに降圧作用、利尿、ナトリ

ウム利尿作用が現れ、アルドステロン濃度も低下することを確かめた。この様に利尿作用と血管拡張作用を伴って有することから、浮腫性疾患、高血圧症、心不全などへの治療薬としての臨床応用の可能性が示唆された。ANPの発見された1984年当時、心不全の治療は、ジギタリス、利尿剤、強心剤に加え、血管拡張剤の有用性が報告され始めていた。未だβ遮断剤はもちろんアンジオテンシン変換酵素阻害剤の有効性を証明したメカトリアルが報告される以前のことであり、心保護作用の重要性は注目されていなかった。また、ANPの治療対象になりそうな疾患では血中ANP濃度の増加している疾患ばかりであり、血中濃度の増加している病態に更にANPを投与しても効果が得られないのではないかとという疑問が存在した。

我々は、しかしながら心不全のANPの効果を確認するために、合成ANPを製剤化し臨床応用を試みた²⁷⁾。ANPをNYHA・or・の重症心不全患者に0.1 μg/kg/minの速さで30分間静脈内持続投与し、その効果を検討した。1回拍出係数は26.3 ± 4.2ml/m²から31.6 ± 4.1ml/m²に増加し、肺動脈楔入圧は23.8 ± 1.1 mmHgから15.1 ± 3.1mmHgに速やかに低下した(図6)。また、全末梢血管抵抗もANP投与中、有意に減少した。このようにANP投与により前負荷と後負荷の両方が減少したことにより心機能が改善したと考えられた。一方、極軽度の心不全症例に、同様にANPを投与すると、肺動脈楔入圧の低下は認められたが1回抽出量は増加せず、明らかな心機能の改善は観察されなかった。ANP投与中に血中CGMP濃度を測定すると、血中CGMP濃度は心不全の顕著な症例でも、極軽度の症例でも同程度上昇した。従って、血中のCGMPで、細胞内での情報伝達系の活性化を論ずることは問題はあるが、血中のCGMPが主として血管由来であることを考えあわせると、心不全の顕著な症例でも、心不全の極軽度な症例でもANPが血管の受容体に同程度結合したと推測できる。言い換えれば、心不全症例では、ANPレセプターはdown-regulationしているといっても飽和しておらず、外因性に投与されたANPの効果が発現したものと考えられる。

利尿、ナトリウム利尿もANP投与により認められた。他の利尿剤を使用する以前に投与すると利尿作用が観察されやすい。また、血中アルドステロン濃度はANP投与中に有意に減少した。

慢性心不全の急性増悪をANP単剤で良好な臨床経過が得られた症例を紹介したい(図7)。症例は、陳旧性心筋梗塞、腎硬化症による慢性心不全と慢性腎不全の合併例で、感染を契機に心不全の急性増悪を来していた。ANPを0.025 mg/kg/minの速さで、静脈内持続投与開始

BNP: 心機能を評価できる生化学検査法

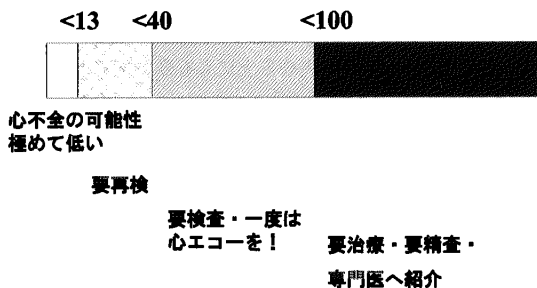


図5.

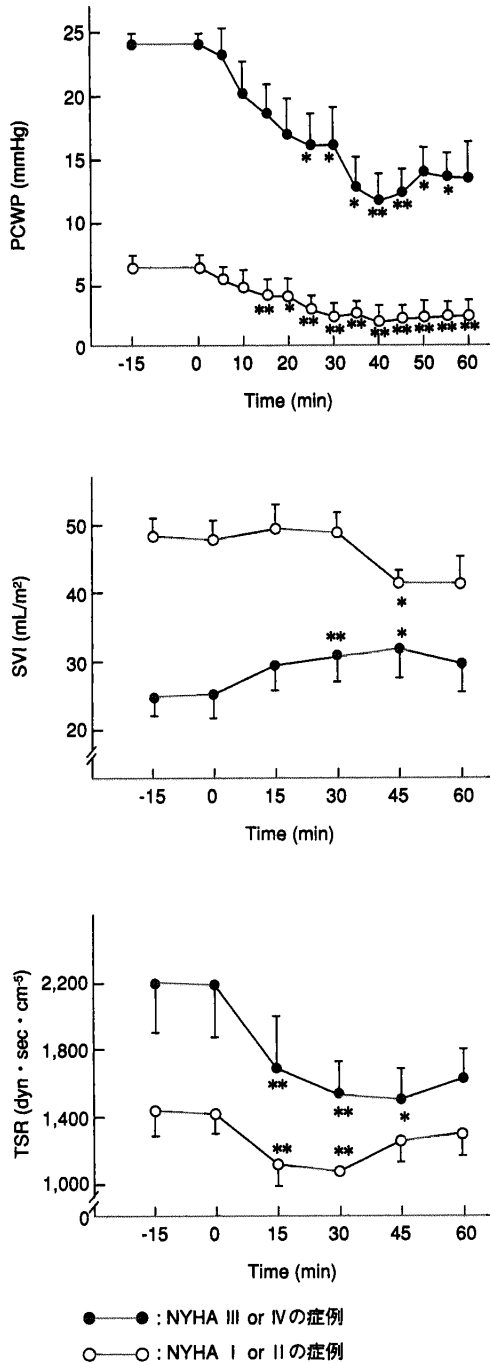


図6. 心不全症例における ANP の心機能に対する効果
わが国における循環ペプチド因子研究のサクセス
ストーリー-日本臨床社 P91 より

し、0.05 mg/kg/min の速さで一週間維持投与した。この症例はフロセマイドで有意の利尿は得られなかったが、ANP により有意の利尿と、中心静脈圧の低下をきたし、心不全が改善した。この症例は腎不全を合併しており、利尿剤の投与で腎機能の悪化が危惧されたが、血清クレアチニン、BUN 濃度の上昇は見られず、電解質異常も来さなかった。

この数年間の結果では心不全の改善効果は単剤投与、他の強心剤や利尿剤との併用投与とも良好な結果が報告されている。特に体液が貯留している心不全では極めて有効で、腎機能低下症例、フロセマイド不応症例でも利尿効果が認められることもある。ANP 投与時の尿量は、利尿剤の使用状況に影響され、利尿剤を投与されていない急性心不全症例では顕著な利尿、ナトリウム利尿効果が認められるが、利尿剤を多量に使用した後では利尿効果が認められにくい傾向にある。血圧などの変化が起きるような比較的高用量の ANP を投与した時には、レニン活性は低下しないとの報告が多いが、低用量の ANP を用いた場合に観察されることが多い。また、多量の利尿が得られた症例でも、電解質や腎機能の悪化を来さないことも指摘されている。心不全の他最近では ANP を急性心筋梗塞急性期に投与し、その後の心室リモデリングに良

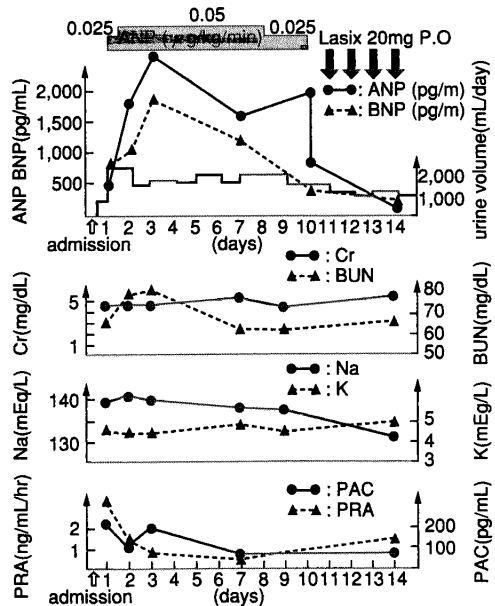


図7. ANP による慢性心不全急性増悪症例に対する治療
効果 わが国における循環ペプチド因子研究のサク
セスストーリー-日本臨床社 P92 より

好な結果が得られたと学会等で報告されているがまだ結論は出ていない。

BNPは、我が国では臨床治験が開始されていないが、熊本大学の吉村らはBNPを心不全症例にANPと同様の $0.1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の速さで30分間静脈内持続投与し、ANP投与時とほぼ同様の結果を報告している²⁰⁾。米国ではBNPの臨床知見がスタートしており、その中間的な結果が報告された。それによると症状のある心不全症例で肺動脈楔入圧が27 mmHg以上の症例を対象に、ヒトBNPを 0.015 もしくは $0.03\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ で6時間投与されているが、心不全の改善効果が認められている²⁰⁾。現在3000人規模の臨床試験が現在進行中である。

我が国ではANPが先行して臨床応用されているが、BNPがANPと比べて優位性があるのか、どの様な差別化が出来るのかは今後の問題である。

文 献

- 1) Kisch R. : Exp. Med. Surg. **114** : 99-112, 1956.
- 2) Kangawa, K. and Matsuo, H. : Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide(alpha-hANP). Biochem. Biophys. Res. Commun. **118** : 131-139, 1984.
- 3) 松尾壽之 : ナトリウム利尿ペプチド研究の流れをたどる, 我が国における循環ペプチド・因子研究のサクセスストーリー : pp21-27, 1999年.
- 4) de Bold AJ, Flynn TG. Cardionatriin I - a novel heart peptide with potent diuretic and natriuretic properties. Life Sci. **18** : 33(3) : 297-302, 1983.
- 5) Sudoh T, Kangawa, K, Minamino, N, and Matsuo H. : A new natriuretic peptide in porcine brain. Nature **3** ; 332(6159) : 78-81, 1988.
- 6) Sudoh, T, Minamino, N, Kangawa, K, and Matsuo H. : C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. Biochem. Biophys. Res. Commun. **30** ; 168(2) : 863-70, 1990. PMID : 2139780 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- 7) Singh, S, Lowe, D. G, Thorpe, D. S, et al. : Membrane guanylate cyclase is a cell-surface receptor with homology to protein kinases. Nature **334** : 708-712, 1988.
- 8) Chinkers, M, Garbers, DL, Chang, M. S, et al. : A membrane form of guanylate cyclase is an atrial natriuretic peptide receptor. Nature **338** : 78-83, 1989.
- 9) Schulz, S, Singh, S, Bellet, R. A, et al. : The Primary Structure of a Plasma Membrane Guanylate Cyclase Demonstrates Diversity within This New Receptor Family. Cell **58** : 1155-1162, 1989.
- 10) Koller, K. J, Lowe, D. G, Bennett, G. L., et al. : Selective activation of the B natriuretic peptide receptor by C-type natriuretic peptide (CNP). Science **252** : 120-123, 1991.
- 11) Nakao, K., et al. : Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system I : Natriuretic peptides., J. Hypertens. **10** : 907-912, 1992.
- 12) Mukoyama, M., Nakao, K. and Hosoda K. : Brain natriuretic peptide (BNP) as a novel cardiac hormone in humans-Evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide -J.Clin. Invest. **87** : 1402-1412, 1991.
- 13) 齋藤能彦, 岸本一郎, 中尾一和 : 心房性ナトリウムペプチドファミリーの役割, 循環器科 第46巻特別増刊号 : p76-82, 1999年
- 14) Suda, M., Ogawa, Y., Tanaka, K. et al., : Skeletal overgrowth in transgenic mice that overexpress brain natriuretic peptide., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **95(5)** : 2337-2342, 1998.
- 15) Tamura, N., Ogawa, Y., Chusho, H. et al. : Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **97** : 4239-4244, 2000.
- 16) Lopez, M. J., Wong, S. K., Kishimoto, I., et al. : Salt-resistant hypertension in mice lacking the guanylyl cyclase-A receptor for atrial natriuretic peptide. Nature **378** : 65-68, 1995.
- 17) Oliver, P. M., Fox, J. E., Kim, R., et al. : Hypertension, cardiac hypertrophy, and sudden death in mice lacking natriuretic peptide receptor A., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **94** : 14730-14735, 1997.
- 18) Oliver, P. M., John, S. W. M., Purdy, KE., et al. : Natriuretic peptide receptor-1 expression influences blood pressures of mice in a dose-dependent manner. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **95** : 2547-2551, 1998.
- 19) Y. Li, I. Kishimoto, Y. Saito, M. Harada, K.

- Kuwahara, T. Izumi, N. Takahashi R. Kawakami, K. Tanimoto, Y. Nakagawa, M. Nakanishi, Y. Adachi, DL. Garbers, A. Fukamizu and K. Nakao** : Guanylyl cyclase-A inhibits angiotensin II type 1A receptor-mediated cardiac remodeling, an endogenous protective mechanism in the heart. *Circulation* **106 (13)** : 1722-1728, 2002.
- 20) **McDonagh, T. A., et al.** : Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction., *Lancet* **351** : 9-13, 1998.
- 21) **Yamamoto, K., Burnett, J. C. Jr., Jougasaki, M., et al.** : Superiority of Brain Natriuretic Peptide as a Hormonal Marker of Ventricular Systolic and Diastolic Dysfunction and Ventricular Hypertrophy, *Hypertension* **28** : 988-994, 1996.
- 22) **Omland, T, Aakage, A, Vik-Mo, H.** : Plasma cardiac natriuretic peptide determination as A Screening test for the detection of patients with mild left ventricular impairment, *Heart* **76** : 232-237, 1996
- 23) **Niinuma, H., Nakamura, M., Hiramori, K., et al.** : Plasma B-type natriuretic peptide measurement in a multiphasic health screening program., *Cardiology* **90** : 89-94, 1998.
- 24) **Troughton, RW., Frampton, CM., Yandle, TG., et al.** : Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide(N-BNP) concentrations, *Lancet* **355** : 1126-1130, 2000.
- 25) **Tutamoto, T, WadaA, Maeda, K, et al.** : Attenuation of compensation of endogenous cardiac natriuretic peptide system in chronic heart failure :proprgonic role of plasma brain natriuretic peptide concentration inpatients with chronic symptomatic left ventricular dysfunction. *Circulation* **96** : 509-516, 1997.
- 26) **Wallen, T, Landahl, S, Hedner, T, et al.** : Brain natriuretic peptide predicts mortality in the elderly. *Heart* **77** : 264-267,1997.
- 27) **Saito, Y., Nakao, K., Nishimura, K., et al.** : Clinical application of atrial natriuretic polypeptide to patients with congestive heart failure: Beneficial effect on left ventricular function. *Circulation* **76** : 115-124,1987.
- 28) **Yoshimura, M, Yasue, H, Morita, E, et al.** : Hemodynamic, renal, and hormonal responses to brain natriuretic peptide infusion in patients with congestive heart failure. *Circulation* **84** : 1581-1588, 1991.
- 29) **Colucci, W., Elkayam, U., Horton, D., et al.** : Intravenous nesiritide, a natriuretic peptide, in the treatment of decompensated congestive heart failure., *The New England Journal of Medicine* **343(4)** : 246-253, 2000.