

No.8808 ウサギ遠位曲尿細管における高NaCl摂取のNa<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>輸送に及ぼす影響

今井 正 (自治医科大学)

## 要旨

遠位尿細管へ慢性的にNa<sup>+</sup>負荷をかけると遠位曲尿細管 distal convoluted tubule (DCT) が肥大することが形態学的研究により示されている。そこで、高NaCl摂取がDCTに機能的変化を引き起こすかどうかを調べるために、対照及び高NaCl摂取させたウサギを用いて、DCTでの管腔内電位 ( $V_T$ )、管腔-浴液側へのNa<sup>+</sup>フラックス ( $J_{Na(LB)}$ ) と正味のK<sup>+</sup>分泌 ( $J_{K(net)}$ ) を測定した。高NaCl摂取群での負の管腔内 $V_T$ は対照群に比較して有意に大きかった。正味のK<sup>+</sup>分泌 ( $\text{pmol mm}^{-1}\text{min}^{-1}$ ) は高NaCl摂取群 ( $54.1 \pm 13.0$ ) が対照群 ( $14.7 \pm 5.6$ ) より大きかった。DCTでのBa<sup>2+</sup>で抑制されるK<sup>+</sup>依存性の電位変化を指標としたK<sup>+</sup>透過性は管腔膜及び側底膜ともに高NaCl摂取群の方が大きかった。管腔-浴液側の<sup>22</sup>Naフラックス ( $\text{pmol mm}^{-1}\text{min}^{-1}$ ) も高NaCl摂取群 ( $726 \pm 119$ ) は対照群 ( $396 \pm 56$ ) より大きかった。Amilorideで抑制される電位も高NaCl摂取群で大きかった。さらにDCTのNa<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase活性も対照群より高NaCl摂取群が高かった。

以上より、高NaCl摂取群はDCTでNa<sup>+</sup>再吸収及びK<sup>+</sup>分泌をともに増加させる。これは、管腔膜のNa<sup>+</sup>透過性とK<sup>+</sup>透過性、側底膜のK<sup>+</sup>透過性の増加、そして、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase活性の増加による。しかし、これらの機能変化の細胞レベルでの詳細な機序はなお不明である。

Key words: Distal convoluted tubule; Na<sup>+</sup> transport; K<sup>+</sup> transport;  
Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase; Na<sup>+</sup> permeability; K<sup>+</sup> permeability.



No.8808 ウサギ遠位曲尿細管における高NaCl摂取のNa<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>輸送に及ぼす影響

今井 正 (自治医科大学)

## 要旨

遠位尿細管へ慢性的にNa<sup>+</sup> 負荷をかけると遠位尿曲細管 distal convoluted tubule (DCT) の肥厚が生じることが形態学的研究により示されている。そこで、高NaCl 摂取がDCT に機能的変化を引き起こすかどうかを調べるために、対照及び高NaCl 摂取させたウサギを用いてDCT での transmural voltage ( $V_T$ ), lumen-to-bath Na<sup>+</sup> flux ( $J_{Na(LB)}$ ) と net K<sup>+</sup> secretion ( $J_{K(net)}$ ) を測定した。高NaCl 摂取群での lumen negative  $V_T$  は対照群に比較して有意に大きかった。Net K<sup>+</sup> secretion ( $\text{pmol mm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ ) は高NaCl 摂取群 ( $54.1 \pm 13.0$ ) が対照群 ( $14.7 \pm 5.6$ ) より大きかった。DCT での Ba<sup>2+</sup> inhibitable K<sup>+</sup> induced  $V_T$  deflection としてとらえたK<sup>+</sup> permeability は管腔膜及び側底膜ともに高NaCl 摂取群が大きかった。Lumen-to-bath <sup>22</sup>Na flux ( $\text{pmol mm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ ) も高NaCl 摂取群 ( $726 \pm 119$ ) は対照群 ( $396 \pm 65$ ) より大きかった。Amiloride inhibitable  $V_T$  component も高NaCl 摂取群で大きかった。さらにDCT のNa<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活性も対照群より高NaCl 摂取群が高かった。

以上より、高NaCl 摂取群はDCT でNa<sup>+</sup> 再吸収及びK<sup>+</sup> 分泌をともに増加させる。これは、管腔膜のNa<sup>+</sup> permeability とK<sup>+</sup> permeability, 側底膜のK<sup>+</sup> permeability の増加、そして、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活性の増加による。しかし、これらの機能変化の細胞レベルでの機序はまだ確立していない。

Key words: Distal convoluted tubule; Na<sup>+</sup> transport; K<sup>+</sup> transport; Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase; Na<sup>+</sup> permeability; K<sup>+</sup> permeability.

## 緒言

Henle ループ太い上行脚より遠位にある皮質ネフロン分節は遠位尿管細管 distal convoluted tubule (以下 DCT と略す)、結合尿管 connecting tubule (以下 CNT と略す) と皮質集合管 cortical collecting duct (以下 CCD と略す) の 3 つの分節に明確に分けられる (Crayen and Thoenes 1987; Kaissling and Kriz 1979; Kriz and Kaissling 1985)。この 3 つのネフロン分節は尿中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  排泄に重要な働きをしているといわれている (Hierholzer 1985; Wright and Giebisch 1985)。しかし、これら 3 つのネフロン分節の中でも  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  輸送の機序が異なることが予想される。ウサギの腎臓はこれらの分節が明確に移行することから、各分節間の機能の違いを調べる上で有用である (Kaissling and Kriz 1979)。

CCD の機能についてはくわしく調べられているが、尿中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  排泄に関する DCT と CNT の役割についてはほとんど知られていない (Gross et al. 1975; Imai 1979; Imai and Nakamura 1982; Shareghi and Stoner 1978; Almedia and Burg 1982)。最近、我々は trichloromethiazide が CNT は  $\text{NaCl}$  輸送を阻害するが、DCT では阻害しないことを報告した。この論文で我々は、CNT では管腔側膜での  $\text{Na}^+$  輸送は amiloride-sensitive  $\text{Na}^+$  チャネル、thiazide sensitive  $\text{Na-Cl}$  共輸送、parallel  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 、 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  逆輸送などの複数の経路を介するのに対して、DCT での  $\text{Na}^+$  輸送は単純に  $\text{Na}^+$  チャネルのみを介することを示唆した。

Kaissling と LeHir (1982) はウサギに摂取させる  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  の量を変化させると遠位ネフロン分節の著明な形態学的変化を引き起こすと報告した。 $\text{Na}^+$  負荷のネフロンの形態学的影響に関して、彼らは高  $\text{Na}^+$ 、低  $\text{K}^+$  摂取は上皮細胞容積、特に DCT の側底膜部分で著明な増加を引き起こすと報告している。ごく最近 Kaissling ら (1985) はラットに furosemide を投与し、慢性的な遠位尿管細管への  $\text{Na}^+$  負荷をあたえると、DCT 細胞の形態学的変化を引き起こすと報告している。これらの結果からウサギでも慢性的に高  $\text{NaCl}$  摂取をさせると、DCT に重要な機能変化をきたすと考えられる。我々の研究によると、ウサギに慢性的に高  $\text{NaCl}$  摂取をさせると、DCT での  $\text{Na}^+$  吸収及び  $\text{K}^+$  分泌の両方が刺激されることがわかった。さらにこの状態では  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase 活性、amiloride-sensitive luminal  $\text{Na}^+$

コンダクタンス、 $Ba^{2+}$  sensitive  $K^+$  コンダクタンスが管腔側膜と側底膜の両方で増加した。

この論文の準備中に、類似した研究の結果がEllisonら(1987)、KaisslingとStanton(1988)から報告された。両グループともにラットにfurosemideを慢性的に投与し、in vitroでmicropunctureを行って、遠位尿細管で $Na^+$ 再吸収が増加することが観察された。しかし、我々の結果とは逆に、Ellisonら(1987)は慢性的に高NaCl摂取をさせると、遠位尿細管で $Na^+$ 吸収が抑制されたと報告している。

## 研究方法

## A. DCT の in vitro 単離尿細管灌流法

雌の日本白ウサギ(体重 2.0-3.0kg) から DCT を単離した。対照群は通常飼料と水道水を与えた。実験群は通常飼料を与え、慢性的高 NaCl 摂取をさせるために、2週間 10mg/ml の NaCl 水を投与してから尿細管の単離を行った。ウサギを pentobarbital(35mg/kg, i.v.) を投与して麻酔し、腎臓を摘出した。腎臓は薄いスライスに切って、4°C の細胞内液様溶液(KCl 14,  $K_2HPO_4$  44,  $KH_2PO_4$  14,  $NaHCO_3$  9, sucrose 160mmol/l; pH7.4) に入れた。DCT 分節の単離と固定は過去に報告された criteria (Imai 1979) によった。簡単に述べると、DCT は糸球体を含む皮質迷路から単離した。DCT 分節は近位曲尿細管 proximal convoluted tubule (PCT) より径が小さく、より透明感があるので容易に区別できる。CNT は DCT より上皮細胞が厚く顆粒状に見えるので明らかに異なる。ウサギの DCT は 0.5 mm 以下で U 又は V 状の曲がりをしている。

単離した DCT は 37°C の恒温浴槽へ移し、灌流を行った。灌流液及び浴液は Bicarbonate Krebs-Ringer solution, BKR ( $NaCl$  110, KCl 5,  $NaHCO_3$  25,  $NaH_2PO_4/Na_2HPO_4$  1.0,  $CaCl_2$  1.8,  $MgCl_2$  1.0, glucose 8.3, alanine 5.0, citrate 1.5, glutamate 3.5 mmol/l) とした。実験によっては  $K^+$  濃度を 5 から 15 mmol/l へ、または 5.0 から 0.5 mmol/l へ変化させた。 $K^+$  0.5mmol/l の溶液では KCl を同当量の choline Cl で置換した。 $K^+$  15mmol/l 溶液では、 $Na^+$  を同様に  $K^+$  で置換した。各溶液は 95%  $O_2$ -5%  $CO_2$  ガスで飽和させた。

経管壁電位 transmural voltage (以下  $V_T$  と略す) の測定は過去の報告 (Imai 1979) によった。簡単に述べると灌流ピペットと寒天ブリッジで接続したカロメル電極と浴槽と寒天ブリッジで接続した他のカロメル電極との間の電位をエレクトロメーター (Keithley 602, Cleveland) を用いて測定した。測定した電位は 2 チャンネルレコーダー (Rikadenki R-20, Tokyo) で記録した。Lumen-to-bath  $Na^+$  flux (以下  $J_{Na(LB)}$  と略す) の測定は  $^{22}Na$  を用いて次の式より求めた。

$$J_{Na(LB)} = [Na]_1 (1 - [Na^+]_0 / [Na^+]_1) V_0 / L$$

ここで、 $[Na^+]_1$ : 灌流液の  $Na^+$  濃度、 $[Na^+]_0$ : 採取液の  $^{22}Na$  濃度、 $[Na^+]_1$ : 灌流液の  $^{22}Na$  濃度、 $V_0$ : 採取速度、 $L$ : 尿細管の長さである。 $^{22}Na$

は Gamma counter (LKB Wallac, 1282 Compu Gamma) を用いて測定した。

Bath-to-lumen  $\text{Na}^+$  flux (以下  $J_{\text{Na(BL)}}$  と略す) の測定についても、 $^{22}\text{Na}$  を用いて、次の式より求めた。

$$J_{\text{Na(BL)}} = [\text{Na}]_{\text{b}} V_{\text{o}} / L \ln \{ [\text{Na}^+]_{\text{b}} / ([\text{Na}^+]_{\text{b}} - [\text{Na}^+]_{\text{o}}) \}$$

ここで  $[\text{Na}]_{\text{b}}$ : 浴液の  $\text{Na}^+$  濃度、 $[\text{Na}^+]_{\text{b}}$ : 浴液の  $^{22}\text{Na}$  濃度、 $[\text{Na}^+]_{\text{o}}$ : 採取液の  $^{22}\text{Na}$  濃度である。

Net  $\text{K}^+$  secretion (以下  $J_{\text{K(Net)}}$  と略す) は次の式で求めた。

$$J_{\text{K(net)}} = ([\text{K}^+]_{\text{o}} - [\text{K}^+]_{\text{i}}) V_{\text{o}} / L$$

ここで、 $[\text{K}^+]_{\text{o}}$ : 採取液の  $\text{K}^+$  濃度、 $[\text{K}^+]_{\text{i}}$ : 灌流液の  $\text{K}^+$  濃度である。採取液及び灌流液を water equilibrated mineral oil をはった well に入れる。それぞれの検体の  $\text{K}^+$  濃度は  $\text{K}^+$  selective liquid ion exchanger (LIX IE190, WPI) の微量電極、High impedance electrometer (FD223, WPI) を用いて測定し 2 チャンネルレコーダー (Rikadenki R-20, Tokyo) で記録した。 $\text{K}^+$  濃度はイオン活性ではなく、イオン濃度で表示した。イオン電極の平均スロープは  $\text{K}^+$  濃度の 10 倍変化に対して  $49.2 \pm 3.7$  mV であった。

## B. $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 活性の測定

ウサギの腎臓を in situ で 1 mg/ml collagenase (Type VI, Sigma), 1 mg/ml bovine serum albumin を含む collagenase 溶液で灌流した。腎臓を薄いスライスにして、95%  $\text{O}_2$ -5%  $\text{CO}_2$  で通気しながら、37 °C で 30 分間同じ溶液でインキュベートし、それから 4 °C の同じ溶液の入ったシャーレに移した。立体顕微鏡下で細い針を用いて腎スライスから DCT と CCD を単離し、それぞれの長さを測定した。

$\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 活性は Katz ら (1979) と Doucet ら (1979) の方法により測定した。各尿細管を Hypotonic shock と Freeze-thawing の両方を行って、上皮細胞をこわしてから、37 °C で 15 分間培地 ( $\text{NaCl}$  50,  $\text{KCl}$  5,  $\text{MgCl}_2$  10, EGTA 1, Tris-HCl 100,  $\text{Na}_2\text{ATP}$  10 mmol/l,  $\gamma$  [ $^{32}\text{P}$ ]-ATP (New England Nuclear; 10-50 Ci/mmol) で ouabain-insensitive ( $\text{Mg}^{2+}$ -dependent) ATPase の活性の測定のために、各尿細管を培地 ( $\text{MgCl}_2$  10, EGTA 1, Tris-HCl 150,  $\text{Na}_2\text{ATP}$  10, ouabain 1 mmol/l,  $\gamma$  [ $^{32}\text{P}$ ]-ATP 10 nCi/l) でインキュベートした。水解しないヌクレオチドを dextran coated charcoal に吸着させた後、 $\gamma$  [ $^{32}\text{P}$ ]-ATP の水解によって遊離した無機リン酸を Millipore フィルターでろ過して分離した。尿細管を入

れない培地での  $\gamma$  [ $^{32}\text{P}$ ]-ATP から遊離する  $^{32}\text{P}$  を5回測定し、平均値を blank として各測定値より差し引いた。Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase は Total ATPase と Mg<sup>2+</sup>-dependent-ATPase との差として定義した。ATPase 活性は nmol Pi mm<sup>-2</sup> hr<sup>-1</sup> で表示した。

#### C. その他

血漿レニン活性は Renin RIA beads (Dainabott, Tokyo) を用いて、血漿アルドステロン濃度は Aldosterone Shionogi (Shionogi, Osaka) を用いて測定した。

#### D. データの統計処理

すべてのデータは平均値±S.E. で表示した。Flux の測定結果は同じ条件で3回測定し、その平均値とした。有意差の検定に paired, non-paired サンプルともに Student's t-test を行い、p<0.05 をもって有意差ありとした。



## 結果

## A. 血漿レニン活性とアルドステロン濃度

高 NaCl 摂取群での NaCl 摂取がレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系を抑制するのに充分であるかどうかを調べるために血漿レニン活性とアルドステロン濃度を両群で測定した。血漿レニン活性は対照群  $5.62 \pm 0.89$  (n=8), 高 NaCl 摂取群  $1.81 \pm 0.67$  (n=7) ng angiotensin I  $\text{ml}^{-1} \text{hr}^{-1}$  ( $p < 0.01$ ) であった。血漿アルドステロン濃度は対照群  $2431 \pm 255$  (n=7), 高 NaCl 摂取群  $1219 \pm 199$  (n=7) pg/ml ( $p < 0.01$ ) であった。以上の結果から、高 NaCl 摂取群では対照群と比較し血漿レニン活性及びアルドステロン濃度ともに有意に抑制されていた。しかし血漿  $\text{Na}^+$  濃度は高 NaCl 摂取群  $163 \pm 1$ , 対照群  $162 \pm 5$  mEq/l, 血漿  $\text{K}^+$  濃度も高 NaCl 摂取群  $4.8 \pm 0.2$ , 対照群  $4.7 \pm 0.2$  mEq/l と共に有意差は認められなかった。

B. 高 NaCl 摂取の  $V_T$  に対する影響

Gross ら (1975) はウサギの DCT では lumen negative  $V_T$  を示し、さらにそれは灌流圧と流速に依存していると報告した。そこで、我々は高 NaCl 摂取群と対照群での  $V_T$  を比較するために、両群ともに灌流圧をいろいろ変化させて、DCT の  $V_T$  を測定した (Fig. 1)。両群ともに灌流圧を高くすると  $V_T$  は減少し、この変化は可逆的であった。Negative  $V_T$  の大きさは、どの灌流圧においても高 NaCl 摂取群の方が大きかった (片側 t-test による)。

今のところ、 $V_T$  の灌流圧と流速による変化の機序は知られていない。細胞膜にかかる静水圧はイオンコンダクタンスに影響することが考えられるが、他に流速が小さくなると管腔内の NaCl 濃度が小さくなるために生じる経管壁拡散電位 transmural diffusion voltage が  $V_T$  の灌流圧や流速による変化に関わっているとも考えらる。そこで、これを調べるために対照群で管腔内 NaCl 濃度を下げたときに DCT の  $V_T$  が変化するかどうかをみた。灌流液の NaCl を 100 mmol/l、sucrose で置換すると、 $V_T$  は  $-0.5 \pm 0.4$  から  $-0.8 \pm 1.8$  mV と深くなった (Fig. 2)。 $V_T$  の変化量から  $\text{Cl}^-/\text{Na}^+$  の相対透過率は  $1.84 \pm 0.23$  と求められ DCT においては  $\text{Na}^+$  より  $\text{Cl}^-$  の方が透過性が高いことがわかった。さらに、この結果は同様にして NaCl を choline Cl や Na glutamate で置換した実験からも裏付け

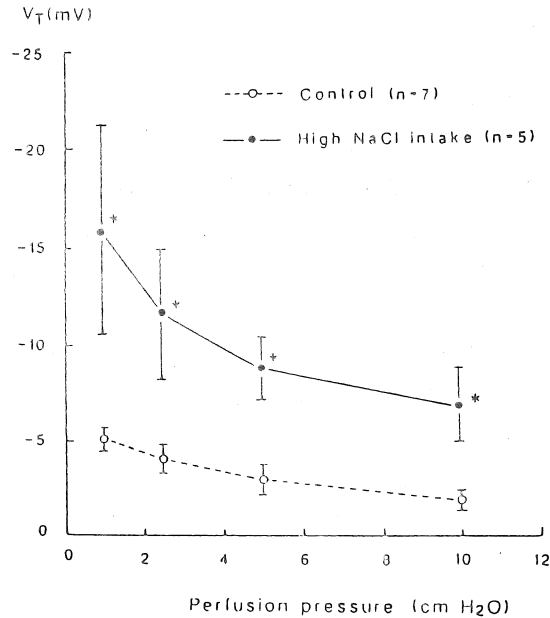


Fig. 1. Comparison of the transmembrane voltage ( $V_T$ ) between the control and the high NaCl intake group at various perfusion pressure. The perfusion pressure is expressed as the height of the reservoir connected to the perfusion pipette. \*  $P < 0.05$  by one-tailed t-test.

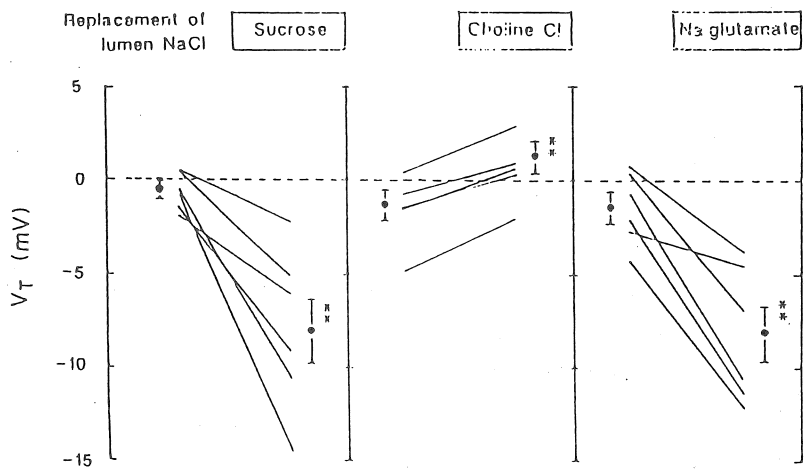


Fig. 2. Effects of replacement of luminal 100 mmol/l NaCl with equimolar sucrose, choline Cl, or Na gluconate on transmembrane voltage ( $V_T$ ). Bathing fluid was always DKR solution. \*\* $P < 0.01$

られた (Fig. 2)。灌流液の  $\text{Cl}^-$  濃度だけを 120.6 から 20.6 mmol/l に下げたら、 $V_T$  は  $-1.4 \pm 0.8$  から  $-8.2 \pm 1.5$  mV と深くなった。次に灌流液の  $\text{Na}^+$  濃度だけを 140.5 から 40.5 mmol/l へ下げたら  $V_T$  は  $-1.3 \pm 0.8$  から  $+1.2 \pm 0.9$  mV と正の方向へ変化した。が、 $V_T$  の変化量は  $\text{Cl}^-$  濃度を下げた場合よりかなり少なかった。それゆえに  $V_T$  は流速にも依存しているといえる。しかしながら、これらの実験では流速と  $V_T$  との相関性は認められなかった。そこで、我々は灌流圧と流速の影響をさけるために、10 cmH<sub>2</sub>O の一定圧で実験を行うことにした。

### C. 高 NaCl 摂取の $\text{K}^+$ 輸送に対する影響

#### (1) $\text{Ba}^{2+}$ sensitive $\text{K}^+$ コンダクタンス

DCT の管腔膜、側底膜に確かな  $\text{K}^+$  コンダクタンスがあるかどうかを調べるために、浴液、灌流液の  $\text{K}^+$  濃度をかえて  $V_T$  を測定した。 $\text{K}^+$  濃度は 5 から 0.5 mmol/l の減少と 5 から 15 mmol/l への増加とを行った。Fig. 3 に 2 つの測定例を示した。対照群の DCT で管腔内  $\text{K}^+$  濃度を 5 から 0.5 mmol/l へ減少させたときに  $V_T$  は  $-3.9$  から  $-1.2$  mV へ変化した (Fig. 3A)。この状態で灌流液に  $\text{Ba}^{2+}$  を加え 5 mmol/l になるようにしたときに  $V_T$  は  $-4.4$  mV へ過分極した。このように  $\text{Ba}^{2+}$  によって抑制される  $\text{K}^+$ -induced  $V_T$  の変化 ( $\Delta V_{\text{K}(\text{Ba})}$ ) は  $+3.2$  mV だった。高 NaCl 摂取群での  $\Delta V_{\text{K}(\text{Ba})}$  は  $+22.0$  mV であった (Fig. 3B)。対照群で管腔内の  $\text{K}^+$  0.5 mmol/l,  $\text{Ba}^{2+}$  5 mmol/l の状態に、さらに amiloride を管腔内に加え  $10^{-5}$  mol/l にしたとき  $V_T$  は  $-4.4$  から  $-1.3$  mV へ変化した。この amiloride による  $V_T$  の変化量を  $\Delta V_{\text{AmiRo}}$  とし、高 NaCl 摂取群ではやはり  $+11.3$  mV と高かった。

同じ DCT で引き続き浴液の  $\text{K}^+$  濃度を変化させた効果をみた。対照群で浴液の  $\text{K}^+$  濃度を 5 から 5 mmol/l へ増加させたとき  $V_T$  は  $-3.2$  から  $+2.5$  mV と  $\Delta V_T$  は  $+5.7$  mV であった (Fig. 3A)。この状態にさらに  $\text{Ba}^{2+}$  を浴液に加えて 5 mmol/l にすると  $V_T$  は  $-1.9$  mV へ変化した。すなわち、対照群では  $\Delta V_{\text{K}(\text{Ba})}$  は  $+4.4$  mV であり、同様にして高 NaCl 摂取群での  $\Delta V_{\text{K}(\text{Ba})}$  は  $+20.5$  mV であった (Fig. 3B)。次に、浴液の  $\text{K}^+$  濃度を 0.5 mmol/l に減少させると  $V_T$  は両群ともに負の方向に変化し、 $\Delta V_{\text{K}(\text{Ba})}$  は対照群  $-1.4$  mV、高 NaCl 摂取群  $-15.0$  mV であった。さらに管腔内液が高  $\text{K}^+$  のときの効果も他の実験で行った。Fig. 4, 5 に各群 11~16 の尿細管で行った結果をまとめた。DCT の lumen negative  $V_T$  の大きさは対照群

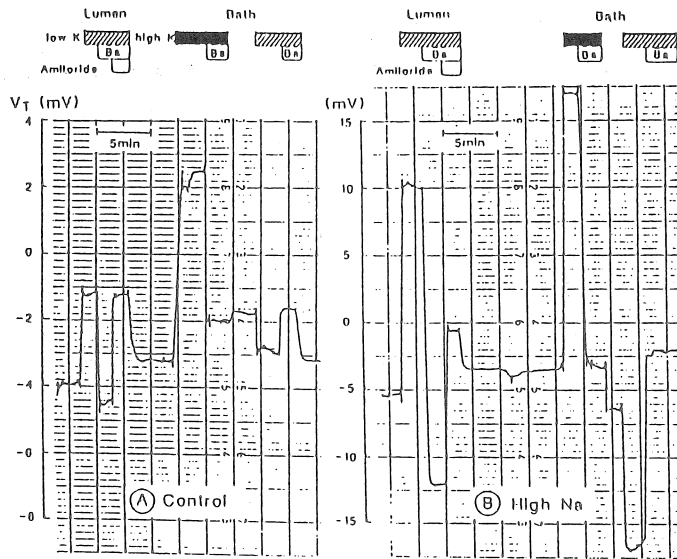


Fig. 3. Representative two recordings of the transmembrane voltage ( $V_T$ ) examining the  $Ba^{2+}$ -inhibitable  $K^+$ -dependent voltage deflection and amiloride effect in DCT segments from the control (A) and the high NaCl-intake group (B). Note that the scales of the ordinate are different between (A) and (B). Low  $K^+$  means 0.5 mmol/l  $K^+$  concentration and high  $K^+$  15 mmol/l. Concentration of  $Ba^{2+}$  was 5 mmol/l. Concentration of amiloride was  $10^{-5}$  mol/l.

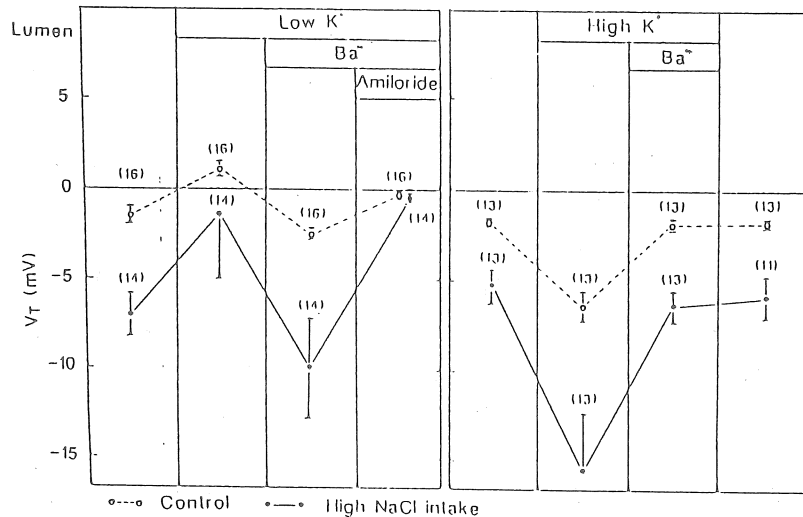


Fig. 4. Effects of changes in  $K^+$  concentration of the perfusate on the transmembrane voltage ( $V_T$ ) of the DCT. Low  $K^+$  means 0.5 mmol/l, and high  $K^+$  15 mmol/l. Concentration of  $Ba^{2+}$  was 5 mmol/l. Amiloride was added to the luminal fluid at  $10^{-5}$  mol/l. Numerals

より高NaCl 摂取群の方が大きかった。両群ともに管腔内 $K^+$ 濃度が減少すると $V_T$ は正の変化をし、管腔内 $K^+$ 濃度が増加すると $V_T$ は負の変化をした。また $V_T$ の変化の大きさは対照群より高NaCl 摂取群の方が大きかった(Fig. 4)。同じように浴液の $K^+$ 濃度を変化させたときの $V_T$ の変化は逆方向ではあった(Fig. 5)。

灌流液または浴液の $K^+$ 濃度変化による $V_T$ 変化の性質を調べるために、 $V_T$ に対する $Ba^{2+}$ ( $K^+$ チャネルブロッカー)の効果をみた。Fig. 4と5の $Ba^{2+}$ -inhibitable  $K^+$ -dependent voltage deflection ( $\Delta V_{K(Ba)}$ )のデータを比較しやすいように、棒グラフにしてFig. 6に図示した。これからウサギDCTの $\Delta V_{K(Ba)}$ は管腔膜、側底膜のどちらでも高NaCl 摂取群の方が大きいといえる。

## (2) Net $K^+$ 分泌

ウサギの単離DCTの $K^+$ 輸送についてはくわしく検討されていないので、対照群のDCTでnet  $K^+$ 輸送を調べた。結果をFig. 7にまとめた。灌流液と浴液がともに $K^+$  5 mmol/l のときには、net  $K^+$  分泌は $19.2 \text{ pmol mm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ であった。しかし、管腔内 $K^+$ 濃度を0.5 mmol/l に下げると、net  $K^+$  分泌は $32.7 \text{ pmol mm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ に増加した。さらに灌流液に $Ba^{2+}$ を5 mmol/l になるように加えると、net  $K^+$  分泌は $3.4 \text{ pmol mm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ に抑制され、 $K^+$  分泌は大部分管腔膜の $Ba^{2+}$  sensitive  $K^+$  コンダクタンスによることが示された。これらの結果にもとずいて、 $K^+$  分泌が高NaCl 摂取群で増加しているか調べて結果をTable 1にまとめた。これからDCTでの $K^+$  分泌は対照群よりも高NaCl 摂取群の方が高いことがわかった。

## D. 高NaCl 摂取の $Na^+$ 輸送に対する影響

### (1) Amiloride の効果

以前我々(Shimizu et al. 1988)はamiloride  $10^{-5} \text{ mol/l}$ を灌流液に加えるとlumen negative  $V_T$ とともに一方向の $^{22}\text{Na}$  flux が抑制されることを報告し、DCTの管腔膜に $Na^+$  コンダクタンスがあることを提示した。対照群と高NaCl 摂取群に頂側膜の $Na^+$  コンダクタンスに違いがあるかどうか調べるためにamiloride に対する $V_T$ の変化を比べた。DCTを $K^+$  0.5 mmol/l,  $Ba^{2+}$  5 mmol/l を含む溶液で灌流した。Fig. 4に示したデータからamiloride で抑制される $V_T$ の部分を評価すると、対照群より高NaCl 摂取群の方が大きいことがわかった。

Table 1. Effect of high NaCl intake on net potassium secretion in the rabbit DCT

Group	n	L (mm)	V <sub>T</sub> (mV)	V <sub>o</sub> (nl min <sup>-1</sup> )	J <sub>K(DCT)</sub> (pmol mm <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
Control	10	0.36 ± 0.03	-1.2 ± 0.3	5.43 ± 0.60	14.7 ± 5.6
High NaCl intake	8	0.31 ± 0.03	-5.2 ± 1.0	6.80 ± 0.73	54.1 ± 13.0
<u>P</u> value		ns	<u>P</u> < 0.01	ns	<u>P</u> < 0.01

Abbreviations: n, number of experiments; L, tubular length; V<sub>T</sub>, transmural voltage; V<sub>o</sub>, collection rate; J<sub>K(DCT)</sub>, net potassium secretion; ns, not significant.

Table 2. Effect of high NaCl intake on lumen-to-bath <sup>22</sup>Na flux in the rabbit DCT

Group	n	L (mm)	V <sub>T</sub> (mV)	V <sub>o</sub> (nl min <sup>-1</sup> )	K <sub>Na(LB)</sub> (10 <sup>-7</sup> cm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	J <sub>Na(LB)</sub> (pmol mm <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
Control	11	0.36 ± 0.03	-1.7 ± 0.3	8.46 ± 0.61	5.09 ± 0.87	396 ± 65
High NaCl intake	10	0.30 ± 0.02	-5.0 ± 1.0	8.08 ± 0.62	9.81 ± 1.69	726 ± 119
<u>P</u> values		ns	<u>P</u> < 0.01	ns	<u>P</u> < 0.01	<u>P</u> < 0.05

Abbreviations: K<sub>Na(LB)</sub>, lumen-to-bath Na flux coefficient; J<sub>Na(LB)</sub>, lumen-to-bath Na flux; others are the same as in Table 1.

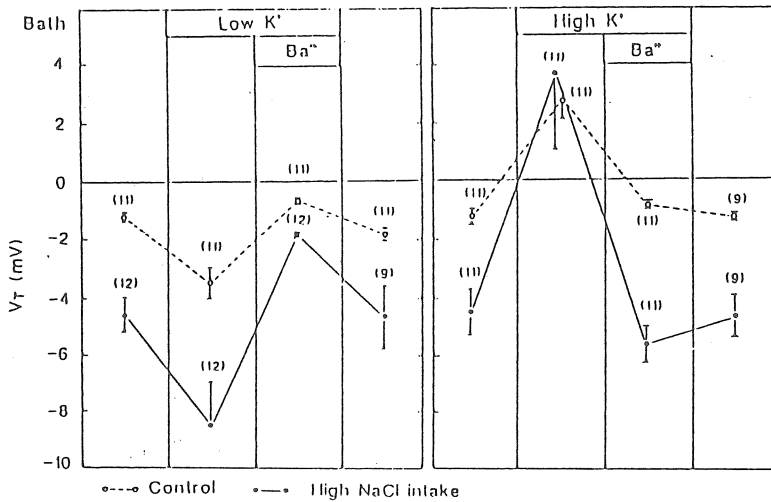


Fig. 5. Effects of changes in  $K^+$  concentration of the bathing fluid on the transmural voltage ( $V_t$ ) of the DCT. Low  $K^+$  means 0.5 mmol/l  $K^+$ , and high  $K^+$  15 mmol/l. Concentration of  $Ba^{2+}$  was 5 mmol/l. Numerals in parentheses are number of experiments.

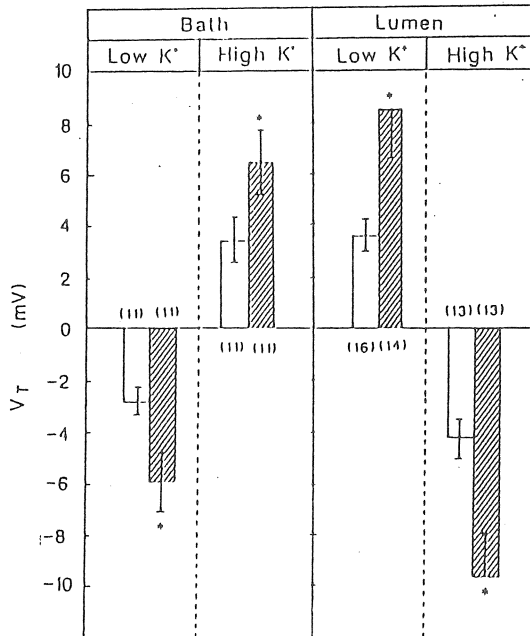


Fig. 6. Comparison of  $Ba^{2+}$ -inhibitable  $K^+$ -dependent voltage deflection in DCT from control and high NaCl-intake group. Low  $K^+$  means 0.5 mmol/l, and high  $K^+$  15 mmol/l. Open columns are the control group and hatched columns are the high NaCl group. \*  $P < 0.05$  as compared to the control group. Numerals in parentheses are number of experiments.

(2) 両方向の  $\text{Na}^+$  flux

高  $\text{NaCl}$  摂取群の DCT での  $\text{Na}^+$  輸送が増大していることを確かなものにするために、 $^{22}\text{Na}$  を用いて lumen-to-bath  $\text{Na}^+$  flux を両群について測定した (Table 2)。この実験で再度、高  $\text{NaCl}$  摂取群の方が lumen negative  $V_T$  が大きいことを確認し、さらに lumen-to-bath  $\text{Na}^+$  flux も高  $\text{NaCl}$  摂取群の方が大きいこともわかった。

他の実験では DCT の bath-to-lumen  $\text{Na}^+$  flux を測定し、対照群では  $312 \pm 35$  ( $n=5$ )、高  $\text{NaCl}$  摂取群では  $349 \pm 40$  ( $n=5$ )  $\text{pmol mm}^{-2} \text{min}^{-1}$  でこの2つの値に有意差がなかった。Net  $\text{Na}^+$  flux は正確には測定できなかったが、高  $\text{NaCl}$  摂取群で net  $\text{Na}^+$  再吸収が増大することが支持された。

E.  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$

LeHir ら (1982) は高  $\text{Na}^+$  低  $\text{K}^+$  飼料をウサギにあたえると、DCT の  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  活性が増加すると報告した。しかし高  $\text{Na}^+$  摂取のみで同様の状態になるかどうかはわからないので、対照群および高  $\text{NaCl}$  群でそれぞれ collagenase 処理して単離した DCT と CCD での  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  活性を測定した。結果を Fig. 9 にまとめた。DCT では  $\text{Mg}^{2+}-\text{ATPase}$  活性 ( $\text{mmol Pi mm}^{-2} \text{hr}^{-1}$ ) は対照群  $1.96 \pm 0.30$ 、高  $\text{NaCl}$  摂取群  $2.29 \pm 0.59$  であり、有意差は認められなかった。しかし、total ATPase 活性は高  $\text{NaCl}$  摂取群  $8.00 \pm 0.55$  と対照群  $5.03 \pm 0.63$  と比べ有意な上昇が認められ、すなわち、 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  の上昇が高  $\text{NaCl}$  摂取群でみられたことになる。逆に、CCD では  $\text{Mg}^{2+}-\text{ATPase}$  も total ATPase も両群間で有意差は認められなかった (Fig. 9)。



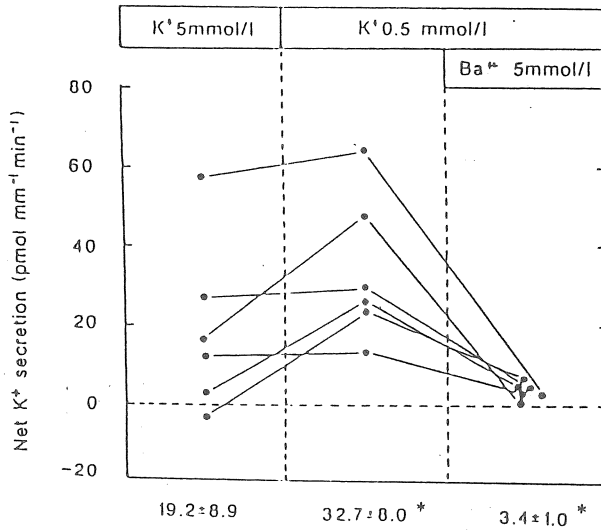


Fig. 7. Effects of reduction of K<sup>+</sup> and addition of Ba<sup>2+</sup> in the luminal fluid on net K<sup>+</sup> secretion in the DCT from the control group.  
\* P < 0.05 as compared to values in preceding periods.

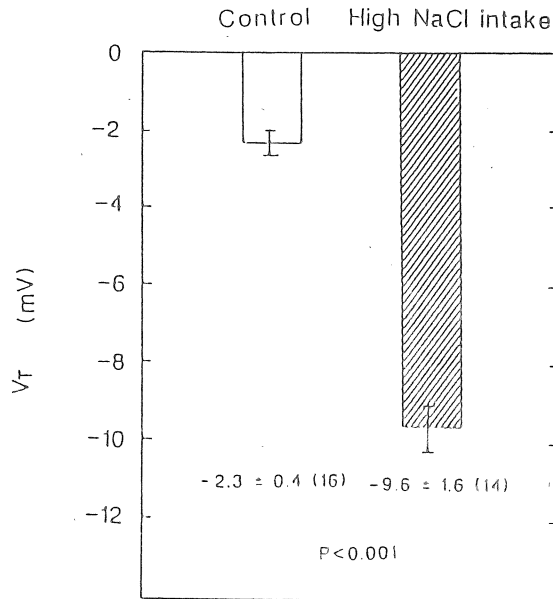


Fig. 8. Comparison of amiloride inhibitable voltage between the control and high NaCl intake group. Numerals in parentheses are number of experiments.

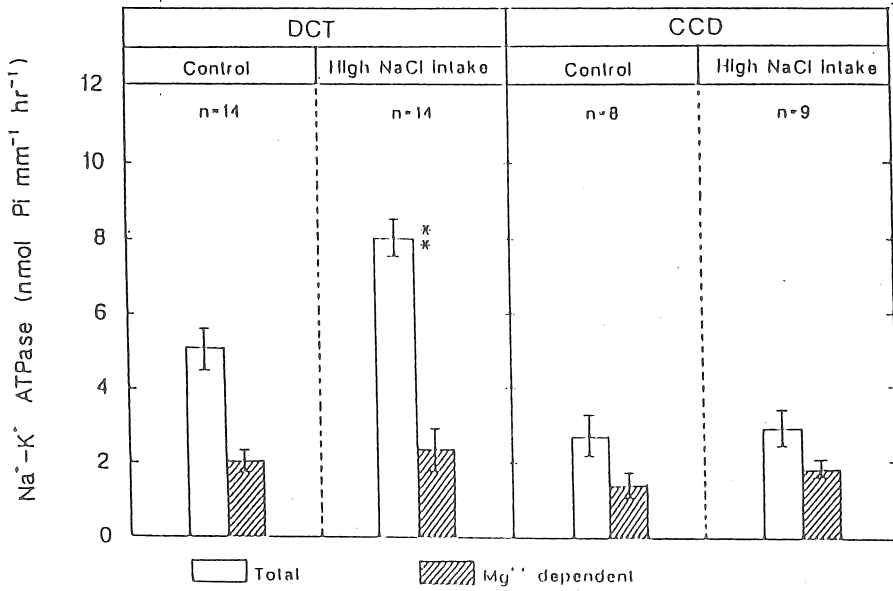


Fig. 9. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity in distal convoluted tubule (DCT) and cortical collecting duct (CCD). \*\*P<0.05 as compared to the corresponding value of the control group. n means number of experiments.

## 考察

A. DCT における  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  輸送

この研究の目的は高  $\text{NaCl}$  摂取がウサギの DCT で機能変化を引き起こすかどうかであるが、まず初めに対照群での DCT の輸送特性について考える。ラットの micropuncture 法による研究で、遠位尿細管では  $-9 \sim -60$  mV の lumen negative  $V_T$  を示すことが報告された (Wright 1971; Malnic and Giebisch 1971; De Bermudez and Windhager 1975; Costanzo and Windhager 1978)。逆に Barratt ら (1975) は Munich Wistar ラットの遠位尿細管の近位側では  $V_T$  が positive であったと報告している。Lumen negative  $V_T$  を示す報告 (Gross et al. 1975; Imai 1979; Imai and Nakamura 1982; Shimizu et al. 1988) がある一方で、Shareghi と Stoner (1978) は限られた数ではあるがウサギの DCT で lumen positive  $V_T$  を示したと報告している。この  $V_T$  の極性の違いがなぜなのかわからないが、後者の lumen positive  $V_T$  は furosemide で抑制されることから Henle ループ太い上行脚が含まれていた可能性がある。この研究では DCT の lumen negative  $V_T$  を再度確認した。そして、Gross ら (1975) に一致して  $V_T$  が灌流圧と流量の両方に依存していることを示した。

Gross ら (1975) は DCT の lumen negative  $V_T$  は管腔内に  $10^{-5}$  mol/l の amiloride を投与すると抑制されると報告している。Shimizu ら (1988) は最近ウサギ DCT の管腔内に amiloride を投与すると  $V_T$  と同時に  $^{22}\text{Na}$  flux も抑制することを確認した。この研究で amiloride-sensitive lumen negative  $V_T$  が存在することを再確認した。以上より amiloride-sensitive  $\text{Na}^+$  コンダクタンスがウサギ DCT の管腔膜に存在する可能性がある。この考えは Velazquez と Greger (1986) による予備実験の結果、すなわち、ウサギ DCT の管腔膜にはコンダクタンスが認められないとの観察と矛盾する。しかし、Yoshitomi ら (1989) の DCT での intracellular electrode impalement による最近の観察では管腔膜に  $\text{Na}^+$  コンダクタンスが存在することを示唆している。この研究では、これらの矛盾を十分に解明はできない。Nonpaired の両方向の flux から正確に net  $\text{Na}^+$  flux を評価することは難しいが、net  $\text{Na}^+$  flux は非常に小さな一方向の flux のみと思われる。このことから、DCT は leaky な上皮細胞からなっていることが考えられ、しかもこの仮説は Yoshitomi ら

(1988) の経上皮抵抗が  $21.8 \pm 1.7 \Omega \text{ cm}^2$  という観察からも支持される。

遠位尿細管は  $\text{K}^+$  調節にも重要な働きをしている (Wright and Giebisch 1985; Giebisch et al. 1986)。遠位尿細管の中でも集合管は  $\text{K}^+$  調節にとって最も重要な分節である (Grantham et al. 1970; Stokes 1981)。ラットの遠位尿細管の初めの部分では  $\text{K}^+$  分泌は非常に少なく検出できないほどであると報告されている (Stanton et al. 1981; Schnermann et al. 1987)。この研究ではウサギ DCT の  $\text{K}^+$  分泌はかなりの量であった。対照群の  $\text{K}^+$  分泌は約  $15 \text{ pmol mm}^{-2} \text{ min}^{-1}$  であり、Shareghi と Stoner (1978) の報告より大きいが、ラットの遠位尿細管の初めの部分で報告された値と同等 (Schnermann et al. 1987) もしくは少し小さい (Stanton and Kaissling 1989) 値である。DCT での  $\text{K}^+$  輸送のくわしい機序はわかっていないが、 $\text{K}^+$  分泌が管腔膜の  $\text{Ba}^{2+}$  sensitive  $\text{K}^+$  コンダクタンスによる可能性がある。しかし、Ellison ら (1985; 1986) が報告している  $\text{K}-\text{Cl}$  共輸送が関与する可能性は除外できない。

この研究で DCT の側底膜に  $\text{Ba}^{2+}$  inhibitable  $\text{K}^+$  コンダクタンスがあることもわかった。我々の結論を支持する直接の証拠は最近になって intracellular electrode impalement 法 (Velazquez and Greger 1986; Velazquez et al. 1988; Taniguchi et al. 1989; Yoshitomi et al. 1989) や、patch clamp 法 (Taniguchi et al. 1989) によって出された。側底膜の  $\text{K}^+$  コンダクタンスは pump and leak system の一つの経路からなり、管腔膜を通しての  $\text{K}^+$  分泌の rate limiting factor となると思われる。

まとめると、DCT での  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  輸送は、管腔膜の  $\text{Na}^+$  と  $\text{K}^+$  のコンダクタンス及び側底膜の  $\text{Na}^+-\text{K}^+$  ポンプと  $\text{K}^+$  コンダクタンスによっている。経管壁  $\text{Cl}^-$  の濃度勾配によって拡散電位が生じること (Fig. 2) から、細胞間経路は  $\text{Cl}^-$  に選択透過性があると思われる。

## B. 高 $\text{NaCl}$ 摂取の影響

この研究で慢性的に高  $\text{NaCl}$  摂取させたウサギの DCT で lumen-to-bath  $\text{Na}^+$  flux と  $\text{K}^+$  分泌が増大していた。形態学的研究に基づいて Kaissling ら (Kaissling 1982; Kaissling and LeHir 1982; Kaissling et al. 1985) は、DCT の管腔内流量が増加したり、 $\text{NaCl}$  負荷が増すことに反応して機能的適応が起こると提唱した。Stanton と Kaissling の最近の研究 (1988) ではラットの皮下にミニポンプを埋め込み、慢性的に

furosemide を投与すると、 $\text{Na}^+$  再吸収と $\text{K}^+$  分泌の両方がCNT と CCD を含む表層の遠位尿細管で増大した。Ellison ら(1987) は、慢性的高 $\text{NaCl}$  摂取に furosemide 投与を組み合わせたラットの遠位尿細管で $\text{Na}^+$  再吸収の増大がみられると報告した。彼らの観察ではDCT への $\text{NaCl}$  負荷をふやせば $\text{Na}^+$  再吸収および $\text{K}^+$  分泌の両方が刺激されるが、慢性的高 $\text{NaCl}$  摂取のみでは $\text{Na}^+$  再吸収は遠位尿細管で抑制された。この結果は我々の観察とは矛盾するが、理由はまだはっきりわかっていない。しかし、この矛盾は種差による可能性はある。

この研究でDCT の lumen negative  $V_T$  は対照群よりも高 $\text{NaCl}$  摂取群でより大きいこともわかった。前述のDCT での $\text{Na}^+$  と $\text{K}^+$  輸送のモデルは $V_T$  の大きさが、(1) 側底膜での $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  能動輸送のレベル、(2) 管腔膜の $\text{Na}^+$  コンダクタンス、(3) 管腔膜および側底膜での $\text{K}^+$  コンダクタンスの3つに依存していることを示している。LeHir ら(1982) は高 $\text{Na}^+$  低 $\text{K}^+$  摂取ウサギではDCT の $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 活性が上昇していると報告した。さらに最近 Scherzer ら(1987) は慢性的に furosemide を投与したラットでは CCD と DCT で $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 活性が増大したと報告している。我々の結果は前者の結果と一致する。高 $\text{NaCl}$  摂取させたラット(Kaissling et al. 1985; Kaissling and Stanton 1988; Ellison et al. 1987) とウサギ(Kaissling and LeHir 1982) のDCT で側底膜の表面積が増大したという形態学的観察によると、高 $\text{NaCl}$  摂取させたウサギのDCT で lumen-to-bath  $\text{Na}^+$  flux と $\text{K}^+$  分泌が増大していたのは、おもに $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  ポンプの活性増大による可能性が高いといえる。

高 $\text{NaCl}$  摂取群で amiloride inhibitable  $V_T$  の増大も認められた。このことから高 $\text{NaCl}$  摂取群では頂側膜での $\text{Na}^+$  透過性ないし経管壁性 $\text{Na}^+$  勾配が増大しているといえる。この研究で高 $\text{NaCl}$  摂取群での $\text{Na}^+$  吸収の増大がどの因子によるのかをきめることは出来なかった。Beck ら(1988) はラットDCT の $\text{Na}^+$  濃度を electron microprobe analysis によって測定したところ、急性に $\text{NaCl}$  負荷した後に増大したと報告した。この観察に基づく、頂側膜からの $\text{Na}^+$  流入の増大が側底膜での $\text{Na}^+$  の能動輸送を刺激し、net  $\text{Na}^+$  再吸収を増強させる第一段階であるといえる。この説は慢性の高 $\text{NaCl}$  摂取によって $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  ATPase 活性が増大することを一番よく説明するが、慢性の安定した状態で細胞内 $\text{Na}^+$  濃度が高値で維持されるかどうか明らかにする必要がある。DCT 頂側膜での $\text{Na}^+$  勾配を増大させる細胞内 $\text{Na}^+$  濃度の上昇はこのような状態では維持されない可能性

がある。一方、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ポンプ活性の増大が細胞質の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の変化や他の未知の機序によって頂側膜の  $\text{Na}^+$  コンダクタンスを増強させる可能性は除外できなかった。

この研究では、管腔液ないし浴液の  $\text{K}^+$  濃度を増減させることで生じる  $V_T$  の変化量が高  $\text{NaCl}$  摂取群のウサギの DCT では増大していた。この現象はおもに、経細胞間と経管壁性コンダクタンスの両方で説明できる。それゆえに、 $\text{Ba}^{2+}$  は経細胞間コンダクタンスに影響しないことから細胞膜での  $\text{K}^+$  コンダクタンスの指標として  $\text{Ba}^{2+}$  で抑制される  $V_T$  の変化を用いた。そうすると、高  $\text{NaCl}$  摂取群では側底膜と管腔膜での  $\text{K}^+$  コンダクタンスは増加するといえる。 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  活性が増大しているので細胞内  $\text{K}^+$  濃度も上昇していると思われる。しかし、細胞外  $\text{K}^+$  濃度が3倍増加するか1/10に減少するという変化に比べて、細胞内  $\text{K}^+$  濃度の変化は小さいと思われる。それゆえに、 $\text{Ba}^{2+}\text{-inhibitable K}^+\text{-dependent voltage deflection}$  は主に細胞膜の  $\text{K}^+$  コンダクタンスを反映するといえる。我々の根拠は間接的ではあるが、 $\text{Ba}^{2+}\text{-inhibitable K}^+\text{-dependent voltage deflection}$  が高  $\text{NaCl}$  摂取群で大きいことから、高  $\text{NaCl}$  摂取群で DCT の側底膜および管腔膜の  $\text{K}^+$  コンダクタンスは増大しているといっただろう。

高  $\text{NaCl}$  摂取群での net  $\text{K}^+$  分泌の増大は  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  活性の増大に伴う細胞内  $\text{K}^+$  濃度の上昇と管腔膜の  $\text{K}^+$  コンダクタンスの増大の両方によるものだろう。ラットの遠位尿細管では  $\text{K}^+$  分泌は  $V_T$  に依存している (Wright and Giebisch 1985)。ウサギの DCT で  $\text{K}^+$  分泌が  $V_T$  に依存しているかどうかはまだ調べられていないが、高  $\text{NaCl}$  摂取群で DCT の lumen negative  $V_T$  が増大しているのは少なくとも一部分は  $\text{K}^+$  分泌の増大に寄与しているであろう。

現在のところ、高  $\text{NaCl}$  摂取群で  $\text{K}^+$  コンダクタンスが増大する正確な機序はわからない。最近、尿細管上皮細胞膜の patch clamp の研究からいろいろなタイプの  $\text{K}^+$  チャネルの存在と電位差によっていくつかのチャネルが活性化されることがわかってきた (Kawahara et al. 1987; Parent et al. 1988)。もし DCT に voltage dependent  $\text{K}^+$  チャネルが存在するならば、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  活性の増大によって細胞膜の過分極は  $\text{K}^+$  チャネルを刺激することになる。しかしウサギ DCT の側底膜での最近の patch clamp 研究 (Taniguchi et al 1989) では、明かな電位依存性の  $\text{K}^+$  チャネルは認められていない。このように、高  $\text{NaCl}$  摂取させたウサギの DCT

で $K^+$ コンダクタンスが増大する機序はいまだ確立していない。

### C. 結語

ウサギのDCTでの $Na^+$ 再吸収および $K^+$ 分泌の一時的な駆動力は側底膜の $Na^+-K^+$ ポンプである。Lumen-to-bath  $Na^+$  flux は管腔膜のamiloride sensitive  $Na^+$ コンダクタンスを経て細胞内に $Na^+$ が入ることにより達成される。 $Na^+-K^+$ ポンプで細胞内に入った $K^+$ の一部は側底膜の $K^+$ チャンネルを通過して洩れる。管腔膜の $K^+$ コンダクタンスはDCTでのnet  $K^+$ 分泌に関与すると思われる。

慢性的高 $NaCl$ 摂取は、DCTでの $Na^+$ 再吸収および $K^+$ 分泌を増大させる。この現象は $Na^+-K^+-ATPase$ 活性、頂側膜の $Na^+$ および $K^+$ コンダクタンス、側底膜の $K^+$ コンダクタンスそれぞれの増大によるものである。DCTへの $Na^+$ 負荷の増大に対してこれらの適応がおこる可能性はあるが、 $Na^+-K^+-ATPase$ 活性の増大をひきおこす細胞ないしは分子レベルでの機序は明かにし得なかった。

REFERENCE

- Beck FX, Dörge A, Rick R, Schramm M, Thurau K. (1988) The distribution of potassium, sodium and chloride across the apical membrane of renal tubular cells: effect of acute metabolic alkalosis. *Pflügers Arch* 411:259-267
- Almedia AJ, Burg MB (1982) Sodium transport in the rabbit connecting tubule. *Am J Physiol* 243:F330-F334
- Barratt LJ, Rector FC, Jr, Kokko JP, Fisher CC, Seldin DW (1975) Transepithelial potential difference profile of the distal tubule of the rat kidney. *Kidney Int* 8:368-375
- Costanzo LS, Windhager EE (1978) Calcium and sodium transport by the distal convoluted tubule. *Am J Physiol* 235:F492-F506
- Crayen ML, Thoenes W (1978) Architecture and cell structures of distal nephron of the rat kidney. *Cytologie* 17:197-211
- De Bermudez L, Windhager EE (1975) Osmotically induced changes in electrical resistance of distal tubules of rat kidney. *Am J Physiol* 229:1536-1546
- Doucet A, Katz AI, Morel F (1979) Determination of Na-K-ATPase activity in single segments of the mammalian nephron. *Am J Physiol* 237:F105-F113
- Ellison DH, Velázquez H, Wright FS (1985) Stimulation of distal potassium secretion by low lumen chloride in the presence of barium. *Am J Physiol* 248:F638-F649
- Ellison DH, Velázquez H, Wright FS (1986) Unidirectional potassium fluxes in renal distal tubule: effects of chloride and barium. *Am J Physiol* 250:F885-F894
- Ellison DH, Velázquez H, Harvey K, Wright FS (1987) Adaptation of distal convoluted tubule of the rat: Structural and functional effects of



- dietary salt intake and chronic diuretic infusion (in press).
- Giebisch G, Malnic G, Berliner RW (1986) Renal transport and control of potassium excretion. In: The Kidney, Brenner BM, Rector FC, Jr.(ed) Saunders, Philadelphia, p177- 205
- Grantham JJ, Burg MB, Orloff J (1970) The nature of transtubular Na and K transport in isolated rabbit renal collecting tubules. J Clin Invest 49:1815-1826
- Gross JB, Imai M, Kokko JP (1975) A functional comparison of the cortical collecting tubule and the distal convoluted tubule. J Clin Invest 55:1284-1294
- Hierholzer K (1985) Sodium reabsorption in the distal tubular system. In: The Kidney: Physiology and Pathophysiology, edited by Seldin DW, Giebisch G Raven, New York: p1063-1096
- Imai M (1979) The connecting tubule: A functional subdivision of the rabbit distal nephron segments. Kidney Int 15:346-356
- Imai M, Nakamura R (1982) Function of distal convoluted and connecting tubules studied by isolated nephron fragments. Kidney Int 22:465-472
- Kaissling B (1982) Structural aspects of adaptive changes in renal electrolyte excretion. Am J Physiol 243:F211-F226
- Kaissling B, Kriz W (1979) Structural analysis of the rabbit kidney. Adv Anatomy Embriol Cell Biol 56:1-123
- Kaissling B, LeHir M (1982) Distal tubular segments of the rabbit kidney after adaptation to altered Na- and K-intake. I. Structural changes. Cell Tissue Res 224:469-492
- Kaissling B, Stanton B (1988) Adaptation of distal tubule to increased fluid delivery. Am J Physiol 255:F1256-F1268
- Kaissling B, Bachmann S, Kriz W (1985) Structural adaptation of the distal convoluted tubule to prolonged furosemide treatment. Am J Physiol

248:F374-F381

- Katz AI, Doucet A, Morel F (1979) Na-K-ATPase activity along the rabbit, rat and mouse nephron. *Am J Physiol* 237:F114-F120
- Kawahara K, Hunter M, Giebisch G (1987) Potassium channels in Necturus proximal tubule. *Am J Physiol* 253:F488-F494
- Kriz W, Kaissling B (1985) Structural organization of the mammalian kidney. In *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. Seldin DW, Giebisch G (eds) Raven, New York, p265-306
- LeHir M, Kaissling B, Dubach UC (1982) Distal tubular segments of the rabbit kidney after adaptation to altered Na- and K-intake. II. Changes in Na-K-ATPase activity. *Cell Tissue Res* 224:493-504
- Malnic G, Giebisch G (1972) Some electrical properties of distal tubule epithelium in the rat. *Am J Physiol* 223:797-808
- Parent L, Cardinal J, Sauve R (1988) Single-channel analysis of a K channel the at basolateral membrane of rabbit proximal convoluted tubule. *Am J Physiol* 254:F105-F113
- Scherzer P, Wald H, Popovtzer MM (1987) Enhanced glomerular filtration and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase with furosemide administration. *Am J Physiol* 252:F910-F915
- Shareghi GR, Stoner LC (1978) Calcium transport across segments of the rabbit distal nephron in vitro. *Am J Physiol* 235:F367-F375
- Shimizu T, Yoshitomi K, Imai M (1988) Site and mechanism of action of trichlormethiazide in rabbit distal nephron segments perfused in vitro. *J Clin Invest* 82:721-730
- Schnermann J, Steipe B, Briggs JP (1987) In situ studies of distal convoluted tubule in rat. II. K secretion. *Am J Physiol* 252:F970-F976
- Stanton BA, Kaissling B (1988) Adaptation of distal and collecting duct to increased Na delivery. II. Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> transport. *Am J Physiol*

255:F1269-F1275

- Stanton BA, Biemesderfer D, Wade JB, Giebisch G (1981) Structural and functional study of the rat distal nephron: Effects of potassium adaptation and depletion. *Kidney Int* 19:36-48
- Stokes JB (1981) Potassium secretion by the cortical collecting tubule: relation to sodium absorption, luminal sodium concentration and transepithelial voltage. *Am J Physiol* 241:F395-F402
- Taniguchi J, Yoshitomi K, Imai M (1989) K<sup>+</sup> channel currents in basolateral membrane of distal convoluted tubule of rabbit kidney. *Am J Physiol* 256:F246-F254
- Velázquez H, Greger R (1986) Influences on basolateral K conductance of cells of early distal convoluted tubule. *Kidney Int* 31:409 (Abstr.)
- Velázquez H, Ellison DH, Wright FS (1988) Multiple pathways for potassium transport across basolateral membrane of rabbit distal convoluted tubule cell. *Kidney Int* 33:429 (Abstr.)
- Wright FS (1971) Increasing magnitude of electrical potential along the renal distal tubule. *Am J Physiol* 220: 624-638
- Wright FS, Giebisch G (1985) Regulation of potassium excretion. In: *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, Seldin DW, Giebisch G (ed), Raven, New York, p1223-1250
- Yoshitomi K, Shimizu T, Taniguchi J, Imai M (1989) Electrophysiological characterization of rabbit distal convoluted tubule cell. *Pflügers Arch* (in press)