

## 9536 発生工学的手法によるナトリウム利尿ペプチド過剰発現及び欠損マウスの開発と食塩代謝におけるナトリウム利尿ペプチドファミリーの意義の検討

助成研究者：中尾 一和 (京都大学 医学部)

共同研究者：小川 佳宏 (京都大学)

伊藤 裕 (京都大学)

齋藤 能彦 (京都大学)

ナトリウム利尿ペプチドファミリーはANP, BNP, CNPから構成され、血圧、水電解質代謝調節に関与すると考えられる。本研究では、食塩代謝におけるナトリウム利尿ペプチドファミリーの生理的意義の解明や臨床応用に向けて、ナトリウム利尿ペプチド遺伝子過剰発現及び欠損マウスを作製と解析を試みている。

1) BNP遺伝子あるいはCNP遺伝子欠損マウス(ノックアウトマウス)の開発: 129SvマウスのBNP遺伝子及びCNP遺伝子をクローニングし、BNP遺伝子の第2,3エクソンあるいはCNP遺伝子の第1エクソンをネオマイシン耐性遺伝子に置換し、ポジティブ・ネガティブ選択用のターゲティングベクターを作製した。ES細胞に導入後、相同組み換え体を選別した。これを8細胞期胚にマイクロインジェクションし、キメラマウス作製後、交配を繰り返すことにより、ヘテロ接合体マウス及びホモ接合体マウスの作製を試みた。BNPノックアウトマウスについては、合計8匹の雄性生殖キメラマウスを得たが、現在のところgermline transmissionが確認されていない。CNPノックアウトマウスについては合計4匹の雄性生殖キメラマウスが得られており、いずれの系統においてもgermline transmissionが確認されヘテロ接合体が複数得られている。現在、ヘテロ接合体を交配することによりホモ接合体(ノックアウトマウス)の作製を目指している。

2) ANP遺伝子及びBNP遺伝子の染色体上の位置関係: ANP遺伝子とBNP遺伝子はマウスの第4染色体に、ヒトでは第1染色体短腕遠位部に存在することが報告されていたが、両遺伝子の正確な位置関係は明らかでなかった。本研究では先に得られた129SvマウスBNP遺伝子を含むファージクローンが、ANP遺伝子断片をも含むことを明らかにした。制限酵素地図の作製と塩基配列の決定により、マウスBNP遺伝子とANP遺伝子は約12kbの距離に同一の方向に隣接して存在することが証明された。同様に、ヒトBNP遺伝子がANP遺伝子の約8kb上流に隣接して存在することが明らかとなった。

3) BNP遺伝子過剰発現トランスジェニックマウス(TGM)を用いたナトリウム利尿ペプチドファミリーの意義の検討: マウスBNPに対するモノクローナル抗体(MAb KY-mBNP-1)を作製した。このMAbは高親和性( $K_a=1.8 \times 10^{11} M^{-1}$ )かつマウスBNPに特異的であり、この抗体を用いて高感度マウスBNP特異的ラジオイムノアッセイ(RIA)を作製した。このRIAを用いて測定したBALB/cマウスの心房及び心室のBNP濃度はそれぞれ $400 \pm 30$ 、 $22 \pm 3$  pmol/gであり、また腎臓においてもBNPが検出された( $0.50 \pm 0.05$  pmol/g)。しかしながら、脳、肝臓においては感度以下であった。TGM(導入遺伝子約20コピー)の血中BNP濃度( $1.2 \pm 0.04$  pmol/ml)は対照マウスの100倍以上に著しく上昇していた。また腎臓では約10倍( $5.6 \pm 0.3$  vs.  $0.55 \pm 0.10$  pmol/g)に増加していた。心房では約7倍( $1600 \pm 410$  vs.  $220 \pm 72$  pmol/g)に増加していたが心室では有意な差は認められなかった。TGMの尿中cGMP排泄量は対照マウスに比較して著しく増加していたが( $65.6 \pm 10.0$  vs.  $2.5 \pm 0.4$  pmol/min)、MAb(500 $\mu$ g)投与後1時間ではほぼ完全に抑制された( $3.8 \pm 0.7$  pmol/min)。TGMの尿量の基礎値は対照マウスと有意の差はなかったが、MAb投与後低下傾向を認めた。以上より、このMAbは中和抗体として使用可能であることが明らかとなった。今回得られたMAbとRIAは、TGMを用いたBNPの循環調節における意義の検討に極めて有用と考えられた。



## 9536 発生工学的手法によるナトリウム利尿ペプチド過剰発現及び欠損マウスの開発と食塩代謝におけるナトリウム利尿ペプチドファミリーの意義の検討

助成研究者：中尾 一和 (京都大学 医学部)

共同研究者：小川 佳宏 (京都大学)

伊藤 裕 (京都大学)

斎藤 能彦 (京都大学)

### 1. 研究目的

1984年に心臓より心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)が単離同定されたのに引き続き、1988年と1990年に相次いでブタ脳より脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)とC型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)が発見され、体液量血圧調節系としてのナトリウム利尿ペプチドファミリーの生理的・病態生理的意義が注目されるようになり、その臨床応用が期待されている。我々は既にANPとBNPがそれぞれ主に心房と心室から分泌される心臓ホルモンとして作用するのに対し、CNPは血管内皮細胞やマクロファージで産生される局所因子として作用することを証明し、ナトリウム利尿ペプチドファミリーが強力な利尿、ナトリウム利尿、降圧作用、血管増殖抑制作用により、心不全、心筋梗塞、高血圧、動脈硬化等の循環器疾患の病態形成に重要な役割を果たしている可能性を示してきた。

本研究は、発生工学的手法により、ナトリウム利尿ペプチド遺伝子過剰発現及び欠損マウスを作製し、食塩摂取(食塩嗜好性)や食塩代謝におけるナトリウム利尿ペプチドファミリーの生理的意義や臨床応用を目指すものである。

### 2. 研究方法

#### 2. 1 BNP遺伝子あるいはCNP遺伝子欠損マウス(ノックアウトマウス)の開発

129/Svマウス染色体DNAライブラリーより、マウスBNP及びCNPのcDNAあるいは遺伝子断片を用いて、マウスBNP遺伝子及びCNP遺伝子をクローニングした。得られたBNP遺伝子の第2, 3エクソンあるいはCNP遺伝子の第1エクソンをネオマイシン耐性遺伝子に置換し、ポジティブ・ネガティブ選択用のターゲティングベクターを作製し(図1A, B)、ES細胞にエレクトロポレーション法にて導入後、G418とガンシクロビルにて相同組み換え体を選別した。これをマウス胚にマイクロインジェクションし、キメラマウス作製後、交配を繰り返すことにより、ヘテロ接合体マウス及びホモ接合体マウス(遺伝子欠損マウス、ノックアウトマウス)の作製を試みた。

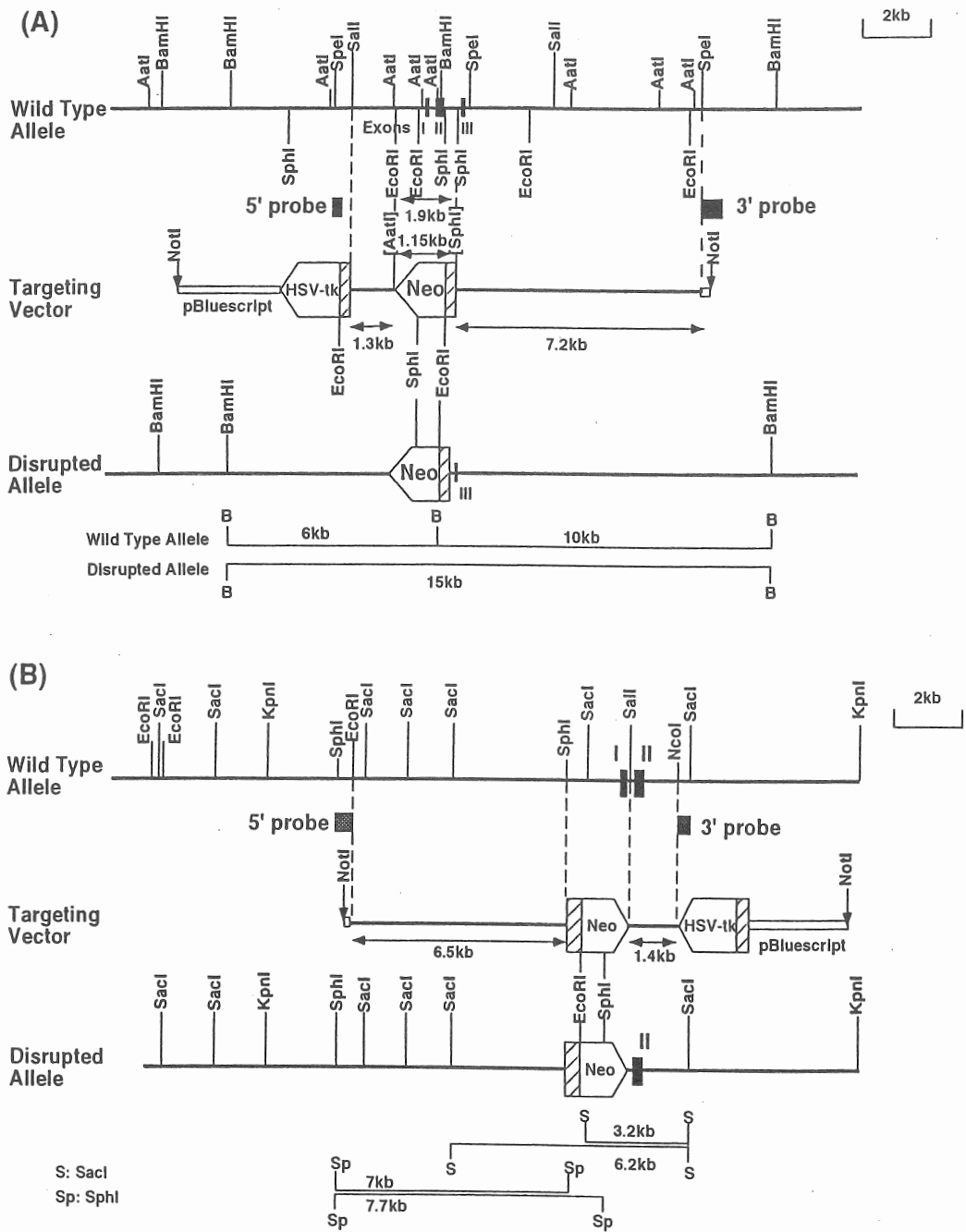


図1. (A) マウスBNP 遺伝子のターゲティングベクターの構造  
(B) マウスCNP 遺伝子のターゲティングベクターの構造

## 2. 2 ANP遺伝子及びBNP遺伝子の染色体上の位置関係

ANP遺伝子とBNP遺伝子はマウスの第4染色体に、ヒトでは第1染色体短腕遠位部に存在することが報告されていたが、両遺伝子の正確な位置関係は明らかでなかった。本研究ではラットANP cDNAプローブにより2.1で得られた129/SvマウスBNP遺伝子を含むファージクローンを用いてサザンブロット解析を行い、ANP遺伝子がBNP遺伝子の近傍に存在するか否かを検討した。次に制限酵素地図の作製と塩基配列の決定により、ANP遺伝子とBNP遺伝子の距離を明らかにした。更にヒトBNP遺伝子の第2イントロンとヒトANP遺伝子の第2イントロンにプライマーを作製し、ヒト染色体DNAを用いてPCRを行い、ヒトにおけるANP遺伝子とBNP遺伝子の距離を明らかにした。

## 2. 3 BNP遺伝子過剰発現トランスジェニックマウスを用いたナトリウム利尿ペプチドファミリーの意義の検討

1992年度および1993年度の本研究助成金により、我々はマウスBNP遺伝子のクローニングを行い、血中BNP濃度の著増するBNP遺伝子過剰発現トランスジェニックマウスの作製に成功した。このトランスジェニックマウスの血圧は対照と比較して明らかに低下しており、BNPの血圧調節作用が証明された。本研究では、マウスBNP[108-121]をBALB/cマウスに免疫して得た脾細胞とマウス骨髄腫細胞X63-Ag8.653をPEG法を用いて細胞融合し、マウスBNPに対するモノクローナル抗体(MAb KY-mBNP-I)を作製し、<sup>125</sup>IマウスBNP[93-121]及びマウスBNPを用いてマウスBNP特異的ラジオイムノアッセイ(RIA)を開発した。10週齢BALB/cマウス(n=8)、導入遺伝子を約20コピー有する27週齢のトランスジェニックマウス(n=7)及び同週齢の対照マウス(n=5)において、各組織中及び血中BNP濃度を測定した。同時に既報のANP特異的RIAを用いてANP濃度を測定した。更にトランスジェニックマウスと対照マウスの心臓重量を測定した。又、32週齢のトランスジェニックマウス(n=7)及び同週齢の対照マウスに精製MAbまたはマウスIgGを腹腔内投与し、投与前後1時間における尿量と血中及び尿中cGMP排泄量を測定した。

## 3. 研究結果

### 3. 1 BNP遺伝子あるいはCNP遺伝子欠損マウス(ノックアウトマウス)の開発

#### 3. 1. 1 BNPノックアウトマウス作製

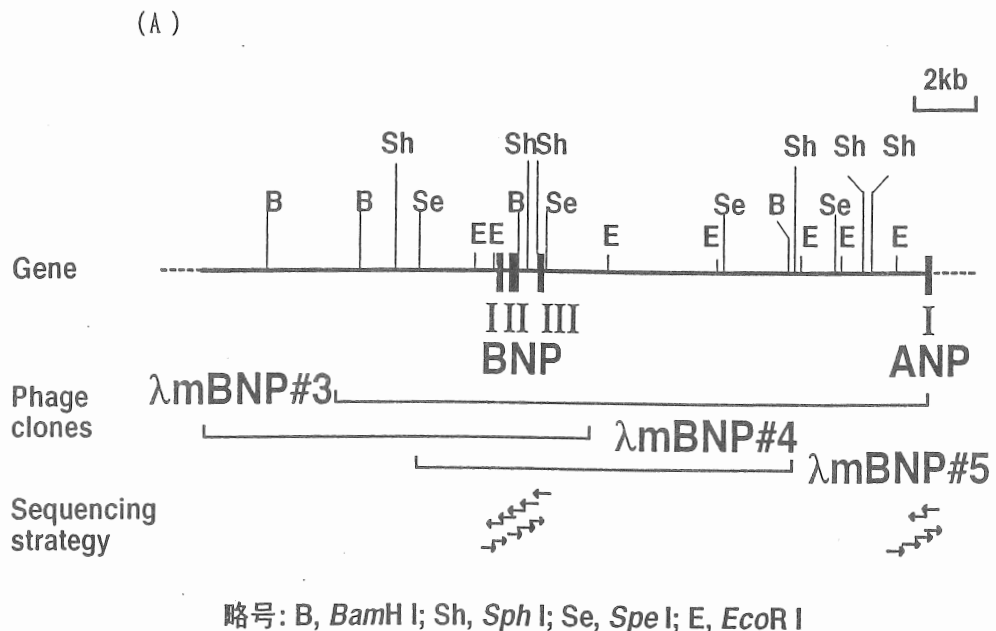
ターゲティングベクターをES細胞に導入後、得られた相同組み換え体を用いて合計8匹の雄性キメラマウスを得た。それぞれを雌性C57BL/6Jマウスと交配するも、現在のところgerm line transmissionが確認されていない。

### 3. 1. 2 CNPノックアウトマウス作製

BNPと同様に、CNPノックアウトマウス作製のために合計4匹の雄性キメラマウスを得ており、交配によりいずれの系統においてもgerm line transmissionが確認され、ヘテロ接合体が複数得られている。現在、ヘテロ接合体を交配することによりホモ接合体 (CNPノックアウトマウス) の作製を目指している。

### 3. 2 ANP遺伝子及びBNP遺伝子の染色体上の位置関係

得られた129/SvマウスBNP遺伝子を含むファージクローンのうち1つが、サザンブロット解析によりANP遺伝子を含むことが明らかとなり、塩基配列の決定によりこのクローンがマウスANP遺伝子5'-隣接領域とANP遺伝子の第1エクソン209塩基対を含むことが明らかとなった。以上よりマウスBNP遺伝子とANP遺伝子は約12kbの距離に同一の方向に隣接して存在することが証明された (図2A)。ヒト染色体DNAよりPCR法にて約11kbの遺伝子断片を増幅し、やはりBNP遺伝子がANP遺伝子の上流約8kbの位置に隣接して存在することが明らかとなった (図2B)。



(B)

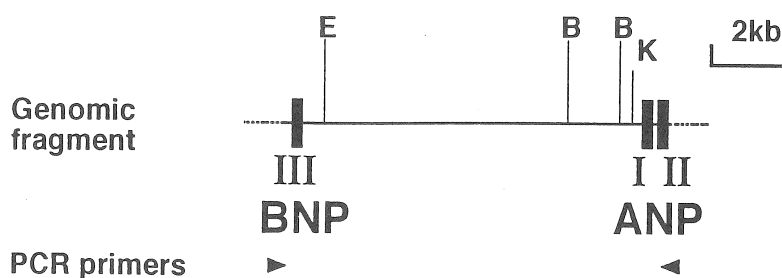
略号: E, *EcoR* I; B, *Bam*H I; K, *Kpn* I

図2. (A) マウスANP 遺伝子とBNP 遺伝子の制限酵素地図  
(B) ヒトANP 遺伝子とBNP 遺伝子の制限酵素地図

### 3. 3 BNP遺伝子過剰発現トランスジェニックマウスを用いたナトリウム利尿ペプチドファミリーの意義の検討

マウスBNPモノクローナル抗体KY-mBNP-Iは高親和性 ( $K_a = 1.8 \times 10^{11} M^{-1}$ ) かつマウスBNPに特異的で、この抗体を用いて得られたRIAは $IC_{50} = 3 \text{ fmol/tube}$ と高感度であった。このRIAを用いて測定したBALB/cマウスの心房及び心室のBNP濃度はそれぞれ $400 \pm 30$ 、 $22 \pm 3 \text{ pmol/g}$ であり、また腎臓においてもBNPが検出された ( $0.50 \pm 0.05 \text{ pmol/g}$ )。しかしながら、脳、肝臓においては感度以下であった。トランスジェニックマウスの体重は対照マウスと有意の差は認めなかったが、心重量は対照の約65%に低下していた。トランスジェニックマウスの血中BNP濃度 ( $1.2 \pm 0.04 \text{ pmol/ml}$ ) は対照マウスの100倍以上に著しく上昇していた。また腎臓では約10倍 ( $5.6 \pm 0.3 \text{ vs. } 0.55 \pm 0.10 \text{ pmol/g}$ ) に増加していたが、ANP濃度は対照マウスと比較して著しく低下していた。心房ではBNP濃度は約7倍 ( $1600 \pm 410 \text{ vs. } 220 \pm 72 \text{ pmol/g}$ ) に増加していたが心室では有意な差は認めなかった。心房と心室のANP濃度には変化を認めなかった。トランスジェニックマウスの尿中cGMP排泄量は対照マウスにくらべ著しく増加していたが ( $65.6 \pm 10.0 \text{ vs. } 2.5 \pm 0.4 \text{ pmol/min}$ )、MAb (500 $\mu\text{g}$ ) 投与後1時間でほぼ完全に抑制 ( $3.8 \pm 0.7 \text{ pmol/min}$ ) された (図3)。トランスジェニックマウスの尿量の基礎値は対照マウスと有意の差はなかったが、MAb投与後低下傾向を認めた。

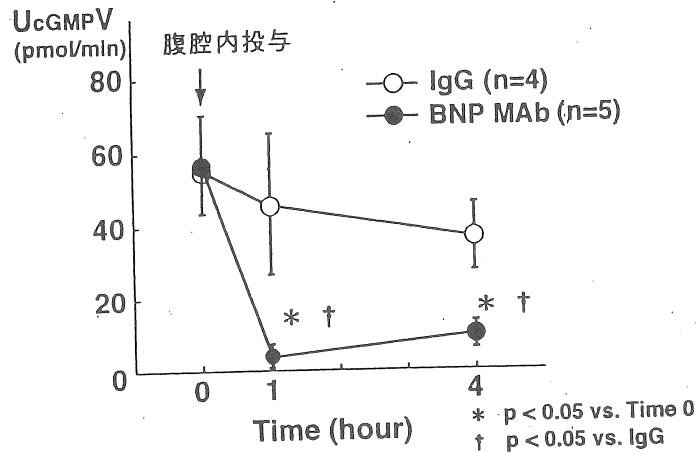


図3. BNP 過剰発現トランスジェニックマウスの尿中 cGMP 排泄量に対するMAb 投与の効果

#### 4. 考察

4.1 BNP遺伝子あるいはCNP遺伝子欠損マウス（ノックアウトマウス）の開発  
BNPノックアウトマウスの作製に関しては合計8匹の雄性キメラマウスを用いて300匹余りのF1世代を得たが、germ line transmissionは確認されず、新しいターゲティングベクターの作製あるいは更なる相同組み換えES細胞を用いたキメラマウスの作製が必要と考えられる。CNPノックアウトマウスの作製は、複数のヘテロ接合体が得られており、これらの交配によりホモ接合体（ノックアウトマウス）の作製が可能と考えられる。

#### 4.2 ANP遺伝子及びBNP遺伝子の染色体上の位置関係

ANPとBNPはそれぞれ主に、心房と心室から分泌される心臓ホルモンであるが、本研究により、マウスとヒトにおいてANP遺伝子とBNP遺伝子が同一方向に隣接して存在することが証明された。心臓におけるANPとBNPの遺伝子発現亢進は種々の心疾患で著しく亢進するが、本研究により2つの心臓ホルモンの遺伝子発現が共通のシス配列（エンハンサー）により調節を受けている可能性が示唆された。又、遺伝子進化の上で、ANP遺伝子とBNP遺伝子が共通の祖先遺伝子より遺伝子重複にて生じた可能性が示唆された。



#### 4. 3 BNP遺伝子過剰発現トランスジェニックマウスを用いたナトリウム利尿ペプチドファミリーの意義の検討

本研究によりマウスBNP特異的MAbの作製に成功した。このMAbを用いたマウスBNP特異的RIAによりBNP過剰発現トランスジェニックマウスにおけるBNPの体内分布を検討した。腎臓におけるBNP濃度の上昇と尿中cGMP排泄量の著しい増加が明らかとなり、血中に過剰分泌されたBNPの腎作用が示唆された。更に、BNP過剰発現トランスジェニックマウスの心臓重量が対照マウスと比較して明らかに減少していること、トランスジェニックマウスの心房中のBNP濃度が著明な脱水傾向にもかかわらず上昇していることより、過剰分泌されているBNPの心臓に対する直接作用が示唆された。又、得られたMAb投与により尿中cGMP排泄量がほぼ完全に抑制され、本抗体が中和抗体として使用できることが明らかとなった。BNP過剰発現トランスジェニックマウスは、BNP長期投与のモデル動物と考えられるが、今回得られたMAbとRIAは、このトランスジェニックマウスを用いたBNPの循環調節における意義の検討に極めて有用と考えられた。

#### 5. 今後の課題

##### 5. 1

BNPノックアウトマウス作製に関しては、現在の雄性キメラマウスの交配を継続し、germ line transmissionしうる系統があるか否かについて検討する。もしgerm line transmissionが確認されなければ新しいターゲティングベクターの作製や相同組み換え体の選別を再度行う。CNPノックアウトマウス作製に関してはgerm line transmission可能な系統が得られ、複数のヘテロ接合体が得られているので更に交配を続け、ヘテロ接合体とホモ接合体を多数得ることを目指す。更にヘテロ接合体あるいはホモ接合体と野生型の形態学的・生理学的解析の準備（免疫組織学的検索、血中及び尿中パラメーター、血圧、尿量測定等）を進める。

##### 5. 2

ANP遺伝子とBNP遺伝子が隣接して存在することが証明された。今後、実際に両遺伝子発現が共通のシス配列によって調節されているか否かを検討する必要があると考えられる。特に両遺伝子の間に存在するDNA断片のプロモーター活性を検討する。

##### 5. 3

マウスBNP特異的RIAの作製に成功したが、このRIAと既報のANPのRIAを用い、BNP過剰発現トランスジェニックマウスの心臓や腎臓、血液中のANPとBNPの濃度を測定することによりBNP長期投与時におけるナトリウム利尿ペプチドファミリーの生合成・分泌を

検討し、その生理的・病態生理的意義を明らかにする。更に、得られたM A bを中和抗体として使用することによりBNPの腎臓作用、心臓作用、血管作用を明らかにし、特に食塩負荷等を施行することによりナトリウム利尿ペプチドの食塩代謝における意義の解明を目指す。

## 文 献

1. Y. Ogawa, H. Itoh, O. Nakagawa, G. Shirakami, N. Tamura, T. Yoshimasa, K. Nagata, N. Yoshida and K. Nakao.  
Characterization of the 5'-flanking region and chromosomal assignment of the human brain natriuretic peptide gene.  
*J. Mol. Med.* 73: 457-463, 1995.
2. H. Sumida, H. Yasue, M. Yoshimura, K. Okumura, H. Ogawa, K. Kugiyama, K. Matsuyama, K. Kikuta, E. Morita and K. Nakao.  
Comparison of secretion pattern between A-type natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide in patients with old myocardial infarction.  
*J. Am. Coll. Cardiol.* 25: 1105-1110, 1995.
3. Y. Ogawa, H. Itoh and K. Nakao.  
Molecular biology and biochemistry of natriuretic peptide family.  
*Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 22: 49-53, 1995.
4. Y. Ogawa and K. Nakao.  
Brain natriuretic peptide as a cardiac hormone in cardiovascular disorders.  
*Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*, 2nd Edition, edited by J. H. Laragh and B. M. Brenner, Raven Press Ltd., New York, 833-840, 1995.
5. K. Okumura, H. Yasue, H. Fujii, K. Kugiyama, K. Matsuyama, M. Yoshimura, M. Jougasaki, K. Kikuta, H. Kato, H. Tanaka, H. Sumida and K. Nakao.  
Effects of brain (B-type) natriuretic peptide on coronary artery diameter and coronary hemodynamic variables in humans: Comparison with effects on systemic hemodynamic variables.  
*J. Am. Coll. Cardiol.* 25: 342-348, 1995.
6. O. Nakagawa, Y. Ogawa, H. Itoh, S. Suga, Y. Komatsu, I. Kishimoto, K. Nishino, T. Yoshimasa and K. Nakao.  
Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy—Evidence for brain natriuretic peptide as an "emergency" cardiac hormone against ventricular overload—.  
*J. Clin. Invest.* 96: 1280-1287, 1995.
7. N. Hama, H. Itoh, G. Shirakami, O. Nakagawa, S. Suga, Y. Ogawa, I. Masuda, K. Nakanishi, T. Yoshimasa, Y. Hashimoto, M. Yamaguchi, Y. Yasue and K. Nakao.  
Rapid ventricular induction of brain natriuretic gene expression in experimental acute myocardial infarction.  
*Circulation* 92: 1558-1564, 1995.
8. H. Masuzaki, H. Jingami, N. Matsuoka, O. Nakagawa, Y. Ogawa, M. Mizuno, Y. Yoshimasa, T. Yamamoto and K. Nakao.  
Regulation of very-low-density lipoprotein receptor in hypertrophic rat heart.  
*Circ. Res.* 78: 8-14, 1996.
9. Y. Komatsu, H. Itoh, S. Suga, Y. Ogawa, N. Hama, I. Kishimoto, O. Nakagawa, T. Igaki, K. Doi, T. Yoshimasa and K. Nakao.  
Regulation of endothelial production of C-type natriuretic peptide in coculture with vascular smooth muscle cells—The role of vascular natriuretic peptide system in vascular growth inhibition—.  
*Circ. Res.* 78: 606-614, 1996.
10. T. Ikeda, H. Itoh, Y. Komatsu, M. Hanyu, T. Yoshimasa, K. Nakao and T. Ban.  
Natriuretic peptide receptors in human artery and vein and rabbit vein graft.  
*Hypertension* 27: 833-837, 1996.
11. K. Doi, H. Itoh, Y. Komatsu, T. Igaki, T-H. Chun, K. Takaya, J. Yamashita, M. Inoue, T. Yoshimasa and K. Nakao.  
Vascular endothelial growth factor suppresses C-type natriuretic peptide secretion.  
*Hypertension* 27: 811-815, 1996.

12. N. Tamura, H. Itoh, Y. Ogawa, O. Nakagawa, M. Harada, T. Chun, S. Suga, T. Yoshimasa and K. Nakao.  
cDNA cloning and gene expression of human type I alpha cGMP-dependent protein kinase.  
*Hypertension* 27: 552-557, 1996.
13. N. Tamura, Y. Ogawa, A. Yasoda, H. Itoh, Y. Saito and K. Nakao.  
Two cardiac natriuretic peptide genes (atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide) are organized in tandem in the mouse and human genomes.  
*J. Mol. Cell. Cardiol.* in press, 1996.
14. T. Igaki, H. Itoh, S. Suga, N. Hama, Y. Ogawa, Y. Komatsu, M. Mukoyama, A. Sugawara, T. Yoshimasa, I. Tanaka and K. Nakao.  
C-type natriuretic peptide in chronic renal failure and its action in humans.  
*Kidney Int.* in press, 1996.

Generation of Mice that Overexpress or Lack Natriuretic Peptide Family  
and Its Significance in the Regulation of Salt Metabolism

Kazuwa Nakao, Yoshihiro Ogawa, Hiroshi Itoh, and Yoshihiko Saito

Department of Medicine and Clinical Science  
Kyoto University Graduate School of Medicine

Summary

Natriuretic peptide family consists at least three endogenous ligands, atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), and C-type natriuretic peptide (CNP). These peptides influence body fluid homeostasis and blood pressure control by their potent natriuretic, diuretic, vasorelaxant, and vascular growth inhibitory activities. To examine the significance of natriuretic peptide family in the regulation of salt metabolism, in the present study, we have tried to generate mice that overexpress or lack natriuretic peptide family.

The mouse BNP genomic clone was isolated from a 129Sv mouse genomic library. A targeting vector for the disruption of BNP was constructed, in which the 2nd and 3rd exons of the mouse BNP gene were replaced by the neomycin resistance gene. Several chimeric mice were obtained from one of the targeted ES cell lines, which are now tested for its capability to transmit the disrupted allele to their offsprings. The mouse CNP genomic clone was also isolated, and a targeting vector was constructed, so that the 1st exon of the mouse CNP gene was disrupted. One chimera generated from a targeted ES cell line transmitted the disrupted allele to its offsprings. We are currently mating heterozygotes to obtain mice that are homozygous for the disrupted allele.

It has been demonstrated that the ANP and BNP genes are tightly linked on mouse chromosome 4 and on human chromosome 1. In the present study, we have characterized the genomic DNA fragment containing the ANP and BNP genes in mice and humans. In mice, the BNP gene was located about 12 kb upstream of the ANP gene. By a long-range PCR analysis, a 11-kb human genomic DNA fragment was isolated, which contained the 3rd exon of the BNP gene and the 1st and 2nd exons of the ANP gene, approximately 8 kb apart. These results provide evidence that two cardiac natriuretic peptide genes (ANP and BNP) are organized in tandem in mice and humans.

A monoclonal antibody (MAb) against mouse BNP was prepared by the fusion of mouse myeloma cells X63-Ag8.653 with spleen cells of the immunized mouse. RIA was performed with MAb and <sup>125</sup>I-mouseBNP. Effects of intraperitoneal (i.p.) administration of 500 µg MAb to transgenic mice that overexpress BNP on urine volume and cGMP excretion were examined. The MAb showed high affinity for mouseBNP and the RIA was highly sensitive and specific for mouseBNP. Significant amount of BNP was present in the atrium, ventricle and kidney from control non-transgenic controls. The liver and plasma BNP levels in the transgenic mice were markedly elevated as compared with non-transgenic controls. The BNP levels in the kidney were also elevated in the transgenic mice. In the transgenic mice, urinary cGMP excretion was markedly increased than that in non-transgenic controls. The enhanced cGMP production was almost completely abolished by i.p. administration of MAb. Basal urine volume in the transgenic mice was not different from that in non-transgenic controls, while tended to be decreased after MAb administration. These observations suggest the potential usefulness of the MAb to examine the significance of BNP in transgenic mice that overexpress it.