

2 腎 1 クリップ高血圧ラットの初期昇圧における腎性降圧利尿系とウアバイン様因子の役割

鳥井孝明 浦 信行 滝沢英毅 島本和明

The role of renal vasodepressor and natriuretic systems and ouabain-like factor on the early phase of hypertension in two-kidney, one-clip hypertensive rats

Takaaki TORII, Nobuyuki URA, Hideki TAKIZAWA, and Kazuaki SHIMAMOTO

Second Department of Internal Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Hokkaido, Japan

Recent studies have shown that not only an enhanced renin-angiotensin system, but also relative volume retention might contribute to hypertension even in the early phase of a two-kidney, one-clip hypertensive model. To evaluate the role of renal depressor and natriuretic systems in the development of high blood pressure in the early phase of this model, we measured urinary excretion of kallikrein (uKAL), prostaglandin E₂ (uPGE₂), and dopamine (uDA) in male Sprague-Dawley rats instrumented with a 0.2 mm diameter clip on the left renal artery (2K1C) and compared the results with those of sham-operated rats (sham). We also measured ouabain-like factor (OLF) in the plasma (pOLF) and urine (uOLF) in both groups. In 2K1C, systolic blood pressure (SBP) progressively increased and plasma renin activity was higher than the sham in the 3rd week. UDA and uPGE₂ were not different between these groups, but uKAL attenuated in 2K1C in the 1st and 3rd week compared to the sham. There was a negative correlation between %ΔSBP and %ΔuKAL. On the other hand, uOLF increased in 2K1C in the 1st, 2nd and 3rd week compared to the sham. There was a positive correlation between SBP and uOLF. And pOLF was higher in 2K1C than in the sham. Furthermore there was a negative correlation between %ΔuKAL and %ΔuOLF.

These results indicated that even in the early phase, suppression of the renal kallikrein-kinin system would contribute to high blood pressure in part, and OLF might play a compensatory role against the impaired natriuretic system in the kidney. However, OLF might contribute to blood pressure elevation through vasoconstriction in 2K1C.

Jpn J Nephrol 2001 ; 43 : 631-638.

Key words : two kidney, one-clip hypertensive rat, kallikrein, dopamine, prostaglandin, ouabain-like factor

緒 言

本態性高血圧の成因については今日まで多くの研究がなされ、数多くの研究成果が得られているにもかかわらず、詳細な機序はいまだ明らかではない。当教室ではこれまで、本態性高血圧患者の交感神経系、renin-angiotensin (R-A)系や腎性降圧利尿系など多岐にわたり成因論的な視点からの検討を加えてきた。その結果、腎 dopamine (DA)系、腎 kallikrein-kinin (K-K)系、腎 prostaglandin

E₂ (PGE₂)系は抑制されており、これらが相互に関連しながら腎 Na 排泄の低下を引き起こし、それに基づく体液・体内 Na 貯留が血圧上昇をきたすこと、そして、この傾向は低レニン本態性高血圧患者でより顕著であることを明らかにしてきた^{1,2)}。また、低レニン本態性高血圧患者では体液貯留のみならず末梢血管抵抗の増大も著しい³⁾とされているが、交感神経系や R-A 系などの昇圧系はむしろ抑制されており、これらの昇圧系では末梢血管抵抗増大に基づく昇圧機転の説明は不可能である。この点に関しては低

レニン群や食塩感受性群などの体液貯留型高血圧の成因・病態形成に Na-K-ATPase 阻害因子である内因性ジギタリス様因子(EDLF)の関与が示唆され、当教室でもこの亢進が低レニン群で著しいことも明らかにした⁴⁾。このように、種々の要因が相互に関連しながら高血圧の成因をなしているものと考えられる。

一方、二次性高血圧である腎血管性高血圧は高血圧患者の血圧管理や合併症管理の改善により生命予後は改善しているが、高齢化が進むなかで動脈硬化に基づくものは増加していることから、腎血管性高血圧の病態の解明も重要な課題の一つである。その実験モデルとして知られている 2 腎 1 クリップ(twe-kidney, one-clip; 2K1C)高血圧ラットでは、高血圧の発症およびその維持に R-A 系が重要な役割を果たすことが明らかであるが、それ以外にも種々の要因が関与していると考えられている。すなわち、このモデルの昇圧は腎動脈狭窄に基づくレニン分泌亢進に依存したものであり、初期昇圧は主に生物活性物質である angiotensin II の増加によるものであるが、その昇圧初期でも相対的体液量増大が報告され^{5,6)}、このことも 2K1C 高血圧ラットの初期昇圧の一部に関与している可能性が考えられる。そこで今回は、2K1C 高血圧ラットでの腎性降圧利尿系である腎 DA 系、腎 K-K 系、腎 PGE₂系と昇圧系であるウアバイン様因子(OLF)を経時的に検討し、2K1C 高血圧ラットにおける初期昇圧の機序の一端を解明しようとした。

対象と実験方法

すべての動物実験は札幌医科大学動物実験指針に従って行った。

1. 対象

体重 140~160 g の 5 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットを用い、2K1C 高血圧ラット(2K1C 群, n=9)を作成した。すなわち、pentobarbital 麻酔下にラットの腹部を正中切開し、左腎動脈を露出させて同部位に内径 0.2 mm のクリップを装着した。同様の条件で偽手術を施行したものを対照群(sham 群, n=9)として用いた。

2. 実験方法

A. 実験プロトコール

すべてのラットは実験用メタボリックケージ(ナルゲン・メタボリックケージ 650-0100, Nalge 社, New York, USA)に、一定室温(25°C)で 1 日の明暗を 12 時間ずつとして飼育した。この間の飼育には水道水自由飲水下、ラッ

ト飼育用 MF 粉末飼料(NaCl 含有 0.6%, オリエンタル酵母工業株式会社, 東京)を実験期間を通して用いた。この条件下で、4 日間の対照期の後に前記の手術を施行し、その後 3 週間の実験期を設けた。対照期、実験期の各週末 2 日間に体重(BW)、尿量(UV)、採尿第 1 日目の普通蓄尿から尿中 Na 排泄量(UNaV)、尿中 kallikrein 排泄量(uKAL)、尿中 PGE₂排泄量(uPGE₂)、および尿中 OLF 排泄量(uOLF)、採尿第 2 日目の塩酸蓄尿から尿中 DA 排泄量(uDA)を、さらに 3 週後の実験終了時に pentobarbital 麻酔下に腹部大動脈より採血して血漿レニン活性(PRA)および血漿 OLF 濃度(pOLF)を測定し、また、左右の腎を摘出して重量を計測した。さらに各週最終日に tail-cuff 法(ラット尾動脈圧・脈拍測定装置, KW-210 型, 夏目製作所, 東京)により収縮期血圧(SBP)を反復測定し、安定した時点の 5 回の計測の平均値を用いた。尿検体は午後 2 時からの 24 時間で採取し、尿中 Na 濃度はイオン電極法(島津クリニカルイオンメーター-CIM-104/104A 型, 島津製作所, 京都)により測定した。

B. 尿中 kallikrein 排泄量(uKAL)の測定

UKAL の測定は、Shimamoto ら⁷⁾の報告に従い、ラット尿 kallikrein に対するモノクローナル抗体を用い、radioimmunoassay(RIA)法にて immunoreactive な kallikrein を測定した。本抗体はヒト尿 kallikrein, ラット尿 esterase A, ラット顎下腺 tonin との交叉は示さない。RIA 法は 1%牛血清アルブミンを含む phosphate buffered saline(0.14 M NaCl, 0.01 M Na₂HPO₄-NaH₂PO₄, pH7.0)を assay buffer として用いた。そして、0.2~0.8 μ l/tube の尿試料, あるいは 0.08~10 ng/tube の kallikrein 標準物質に assay buffer を加えて 600 μ l とし、これに assay buffer で希釈した抗体 100 μ l, 標識物質(¹²⁵I-kallikrein, 10,000 cpm) 100 μ l を加えて 4°C で 24 時間 incubation した。この後 polyethylene glycol 法を用い、3,000 rpm 15 分間遠心分離後、上清を吸引して抗体と結合した kallikrein を遊離型のそれより分離し、沈殿物の放射活性を Well type auto-gammascpectrometer(LKB Wallac 1282 Compugamma, Finland)にて測定した。

C. 尿中 dopamine 排泄量(uDA)の測定

UDA は塩酸酸性下で蓄尿し、4°C にて冷却保存後、測定に供した。測定は電気化学検出器(ECD)を用いた高速液体クロマトグラフィ(HPLC-ECD)法⁸⁾により施行した。

D. 尿中 prostaglandin E₂排泄量(uPGE₂)の測定

UPGE₂は methoxyamine hydrochloride を用いて安定な methyl oximated PGE₂に変換し、次いで RIA 法(prostag-

landin E₂ [¹²⁵I] assay system, Amersham International plc, Buckinghamshire, UK)により測定した。標準物質には methyl oximated PGE₂を、また assay buffer には 0.9 % NaCl, 0.01 % Triton X-100 および 0.0057 % thimerosal を含む 0.05 M Tris/HCl buffer (pH7.4)を使用した。すなわち、尿試料もしくは標準物質 100 μ l に assay buffer で希釈した特異抗体 100 μ l と assay buffer で希釈した 25,000~30,000 cpm の標識抗原 100 μ l を加え、25°C で 2 時間 incubation した。incubation 後の遊離¹²⁵I-methyl oximated PGE₂と抗体結合¹²⁵I-methyl oximated PGE₂の分離には二抗体法を用いた。すなわち、試料を含有する試験管に 250 μ l の第二抗体 (抗家兎 γ -globulin 驢馬抗体)を加えて室温で 15 分間 incubation 後、3,000 rpm で 15 分間遠心分離し、上清を吸引して沈殿物の放射活性を Well type auto-gamma spectrometer (LKB Wallac 1282 Compugamma, Finland)にて測定した。

E. 血漿 OLF 濃度 (pOLF) および尿中 OLF 排泄量 (uOLF) の測定

POLF および uOLF は 0.1 % trifluoroacetic acid で処理した 0.5 ml の試料を Sep-Pak C-18 cartridge (Waters, Millipore, Milford, MA) を用いて 2.5 % acetonitrile で抽出した後、抗ウアバイン抗体 (Du Pont, Daiichi Kagaku, Tokyo) を用い enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法にて測定した。

F. 血漿レニン活性 (PRA) の測定

Haber ら⁹⁾の変法により RIA 法 (Gammer Coat-¹²⁵I-PRA Kit, Baxter Japan, Tokyo) を用いて測定した。

G. 統計

計測値はすべて平均±標準誤差 (mean±SE) で表した。測定値の前値 (0 週) との比較検定には one-way factorial measures ANOVA および Dunnett の post-hoc test を用い、sham 群との経時比較の検定には two-way repeated measures ANOVA および Dunnett の post-hoc test を用いた。測定値間の相関は linear regression analysis により検定した。p<0.05 を有意水準とした。

結 果

1. 3 週後の PRA と左右腎重量

3 週後の PRA に関しては、2K1C 群では 37.96 ± 5.22 ngAngI/ml/h と sham 群の 15.81 ± 2.59 ngAngI/ml/h に比して、有意 (p<0.01) な高値を示した。また、腎重量は 2K1C 群のクリップした左腎は 1.44 ± 0.07 g と右腎の

2.21 ± 0.07 g に比し有意 (p<0.01) に小であった。一方、sham 群では両腎の間 (右 1.96 ± 0.06 g, 左 1.80 ± 0.06 g) に差は認めなかった。

2. SBP と BW の経時的変化

Tail-cuff 法にて測定した SBP と BW の経時的変化を Table に示す。SBP の経過については両群間に有意 (p<0.05) な差を認めた。前値は 2K1C 群で 119.3 ± 3.0 mmHg, sham 群で 121.2 ± 2.6 mmHg と両群間に有意差は認められず、また、1 週目でも 2K1C 群で 128.2 ± 5.2 mmHg, sham 群で 127.0 ± 2.8 mmHg と有意差は認めなかったが、2K1C 群では術後 2 週目から有意に上昇し、sham 群に比しても有意 (p<0.05) な高値で、3 週目には 203.6 ± 14.8 mmHg と sham 群の 133.0 ± 3.4 mmHg に比して著明な高値を示した。一方、sham 群では SBP に有意な変動は認められなかった。また BW の経時的変化については、前値は 2K1C 群で 183.8 ± 2.4 g と sham 群の 181.6 ± 3.0 g との間有意差は認められず、前値に比して各週とともに有意に増加したが、3 週後まで両群間に差を認めなかった。

3. UV と UNaV の経時的変化

UV の経時的変化については Table に示すように、両群で前値に比し 1 週目で増加傾向を示したが、経過を通じて有意な変化はなく、また、両群間の差も認めなかった。UNaV の経時的変化についても Table に示すごとく、両群で前値に比し 1 週目で有意な高値 (p<0.05) を示し、その後も前値に比して高値を持続したが、両群間での差は認めなかった。

4. uKAL 排泄量の推移

A. uKAL の経時的変化

UKAL の経過は Table に示す通り、両群間に有意 (p<0.05) な差を認めた。両群の前値には差がなく、sham 群では経時的変動も認めなかったが、2K1C 群で前値の 27.0 ± 2.8 ng/kg/day に比し 1 週目では 20.8 ± 1.3 ng/kg/day, 3 週目では 20.5 ± 2.9 ng/kg/day と有意 (p<0.05) に低値であった。また、sham 群との比較では 1 週目と 3 週目で有意 (p<0.05) な低値を示した。

B. uKAL と SBP の相関

両群の uKAL の変化率 (% Δ uKAL) と SBP の変化率 (% Δ SBP) の相関を検討したところ、Fig. 1 に示す通りにこの両者には有意な負の相関 (r = -0.285, p<0.05) を認めた。

5. uDA, uPGE₂ の経時的変化

両群の uDA および uPGE₂ の推移は Table に示すように両群の前値に差はなく、また、それ以降の経過にも有意な

Table. Time course of each variable in sham and 2K1C

		Time course(week)			
		0	1	2	3
SBP(mmHg)	2K1C*	119.3± 3.0	128.2± 5.2	172.0***± 7.8	203.6***± 14.8
	sham	121.2± 2.6	127.0± 2.8	125.0± 3.6	133.0± 3.4
BW(g)	2K1C	183.8± 2.4	240.3**± 4.6	292.7**± 4.7	327.3**± 6.9
	sham	181.6± 3.0	248.1**± 3.9	298.4**± 5.2	330.9**± 7.7
UV(ml/kg/day)	2K1C	55.0± 10.4	91.3± 13.8	96.5± 19.8	103.5± 19.0
	sham	59.8± 6.9	94.3± 13.9	103.5± 13.1	101.4± 15.1
UNaV(mEq/kg/day)	2K1C	3.55± 0.38	6.88**± 0.88	8.24**± 0.50	8.01**± 0.50
	sham	3.98± 0.26	7.90**± 0.48	7.22**± 0.42	6.75**± 0.44
uKAL(ng/kg/day)	2K1C*	27.0± 2.8	20.8***± 1.3	22.8± 3.0	20.5***± 2.9
	sham	28.5± 2.4	32.7± 2.8	28.4± 2.5	33.9± 2.9
uDA(μg/kg/day)	2K1C	5.35± 0.47	6.54± 2.53	8.13± 2.58	4.45± 0.18
	sham	5.16± 0.27	4.08± 0.70	5.09± 1.09	5.00± 0.37
uPGE ₂ (ng/kg/day)	2K1C	13.9± 4.2	23.1± 8.2	12.4± 3.3	24.7± 8.5
	sham	15.8± 2.7	17.6± 3.4	25.2± 6.8	33.8± 8.2
uOLF(ng/kg/day)	2K1C*	4.23± 1.10	7.99***± 1.83	11.66***± 3.33	9.96***± 2.02
	sham	4.15± 0.31	4.93± 0.59	4.13± 0.47	4.97± 0.67

* p<0.05 vs sham, ** p<0.05 vs 0 week

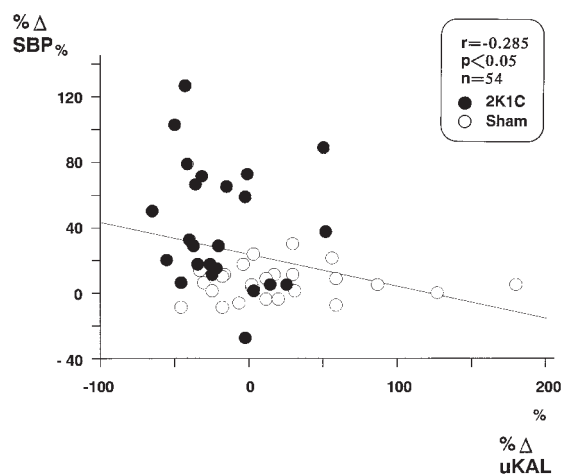


Fig. 1. Correlation between the change in urinary kallikrein excretion (% Δ uKAL) and the change in systolic blood pressure(% Δ SBP) in sham and 2K1C

変動はなく、両群間にも有意差を認めなかった。

6. pOLF および uOLF の比較

A. pOLF の比較

Fig. 2 に示す 3 週後の pOLF は 2K1C 群で 140.0 ± 10.9 pg/ml であり、sham 群の 107.4 ± 8.8 pg/ml に比して有意 ($p < 0.05$) な高値を示した。

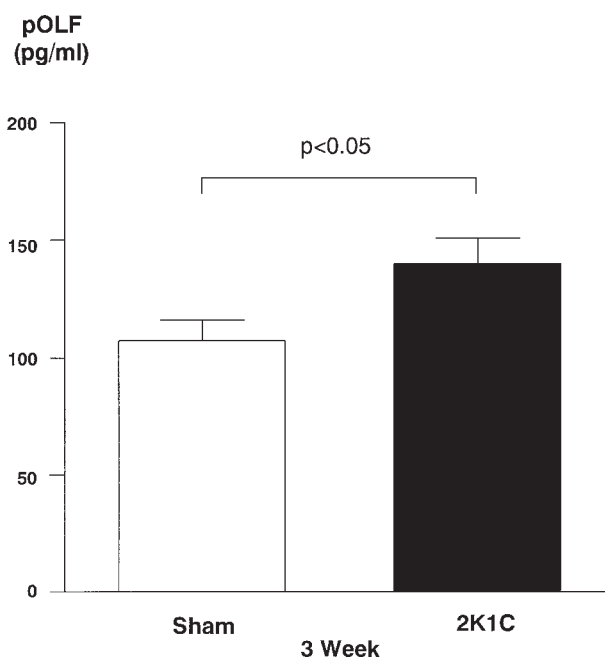


Fig. 2. Comparison of plasma concentration of ouabain-like factor (pOLF) between sham and 2K1C in the third week

B. uOLF の経時的変化

Table に示す uOLF の経過については、両群間で有意 ($p < 0.05$) な差を認めた。2K1C 群では前値の 4.23 ± 1.10

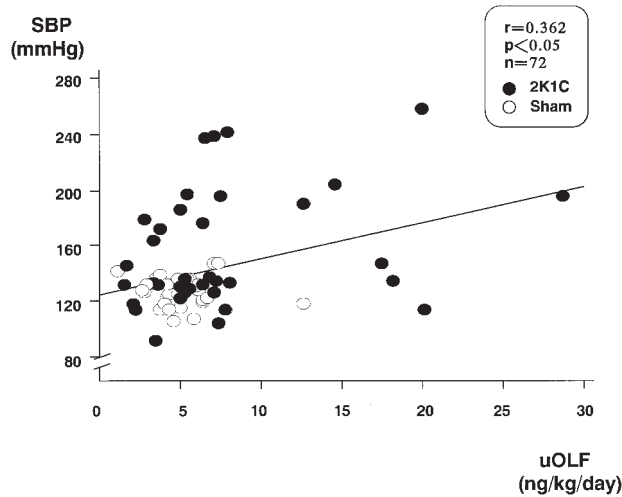


Fig. 3. Correlation between urinary ouabain-like factor excretion (uOLF) and systolic blood pressure (SBP) in sham and 2K1C

ng/kg/day に比して 1 週後は 7.99 ± 1.83 ng/kg/day と有意 ($p < 0.05$) に増加し、その後も高値を維持し、かつ sham 群と比して 2 週目、3 週目で有意 ($p < 0.05$) な高値であった。一方、sham 群では有意な変化は認めなかった。

C. uOLF と SBP の相関

両群での uOLF と SBP の相関を検討したところ、Fig. 3 に示すように、この両者には有意な正の相関 ($r = 0.362$, $p < 0.05$) を認めた。

7. uOLF と uKAL の相関

両群の $\% \Delta uKAL$ と uOLF の変化率 ($\% \Delta uOLF$) の相関を検討したところ、Fig. 4 に示す通り、この両者には有意な負の相関 ($r = -0.324$, $p < 0.05$) を認めた。

考 案

1934 年、Goldblatt ら¹⁰⁾がイヌの腎を摘出し、残った正常腎の腎動脈を部分的に狭窄した動物モデルを作成し、実験的腎血管性高血圧の研究に用いた。その後、一側の腎動脈を狭窄し、対側腎は無処置で残した 2K1C のモデルでも高血圧を発症することが認められ¹¹⁾、この 2K1C 高血圧ラットはヒト腎血管性高血圧の実験モデルとして、高血圧の発症およびその維持機構の研究に用いられている。2K1C 高血圧ラットの昇圧の機序の一つとして、腎動脈の狭窄により腎血流量減少が少なくとも 50% を上廻り¹²⁾、輸入細動脈血管内圧が低下すると、圧受容体を介して傍糸球体細胞から分泌されるレニンにより一連の R-A 系が賦活化され昇圧が生じる。初期には主に R-A 系の亢進に基

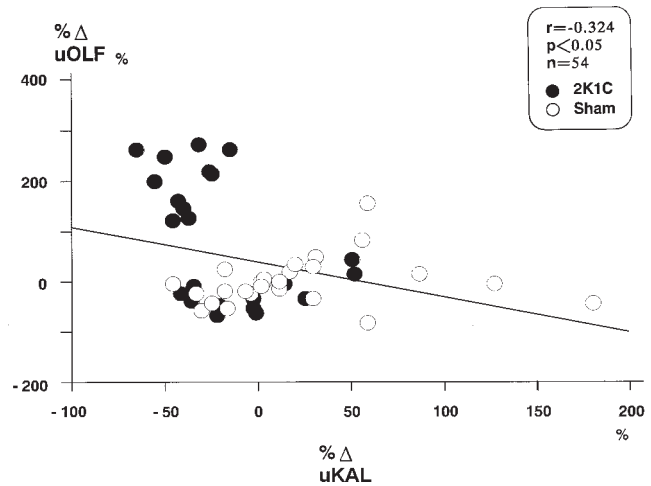


Fig. 4. Correlation between the change in urinary kallikrein excretion ($\% \Delta uKAL$) and the change in urinary ouabain-like factor excretion ($\% \Delta uOLF$) in sham and 2K1C

づく angiotensin II の強力な血管収縮作用により昇圧をきたすが、慢性期では狭窄腎の血流障害による組織・機能障害が固定し、高血圧による健側腎の障害(腎硬化)が生じて腎水・Na 利尿の代償が不完全となり、angiotensin II や aldosterone の腎作用とも相まって体液・Na 貯留が始まる。これにより R-A 系の血中レベルは正常に復し、この時期には主に腎の水・Na 排泄障害による細胞外液量の増加によって高血圧が維持されると考えられている。ところで高血圧発症初期にも、亢進した R-A 系だけでなく相対的体液量増加が存在する可能性が報告されている^{5,6)}。すなわち、腎での R-A 系亢進のみならず、他の体液・Na 調節系の異常も存在し、これが 2K1C 高血圧ラットの初期昇圧に一部関与している可能性が考えられる。そこでわれわれは、2K1C 高血圧ラットの初期昇圧における腎性降圧利尿物質である uDA, uKAL, uPGE₂ と、昇圧系である pOLF, uOLF を検討した。まず、血圧については諸家の報告と同様に術後 2 週目から SBP の明らかな上昇が確認され、かつ、3 週後には PRA は有意に高値を示し、左腎重量は右腎重量に比して有意に減少していた。すなわち、本研究に用いたラットはクリップ装着後、R-A 系が明らかに亢進した高血圧を呈していることが確認された。一方、BW, UV, UNaV は 2K1C 群と sham 群で明らかな差はなかった。Leenen ら⁵⁾は Na balance を経時的により詳細に評価しており、その成績では初期の 4 日目までは大きく positive balance となるが、1 週間でほぼ対照と同等に復すると報告している。したがって、本研究の週ごとの UV, UNaV には差を認めなかったと考えられる。また、

体内の Na 貯留は体内総 Na の 4~5%増加することも報告しているが、BW 当たりで計算すると、1.5%前後の増加にとどまる結果、推計学的な BW の差とはならなかったと考えられる。

1. 腎 K-K 系の役割

本研究ではまだ明らかな昇圧を示さないクリップ装着後 1 週目ですでに腎性降圧利尿系である uKAL は sham 群に比して有意に減少しており、3 週目まで持続した。また、 $\% \Delta uKAL$ は $\% \Delta SBP$ と有意な負の相関を示した。今日に至るまで、2K1C の腎 K-K 系に関しては亢進を報告^{13,14)}するものと、抑制を報告¹⁵⁻¹⁷⁾するものが相半ばしており、成績の一致をみていない。亢進を報告するものは R-A 系の亢進を介して増大した aldosterone が腎 K-K 系を亢進¹⁸⁾させ、R-A 系活性亢進に基づく昇圧に代償的に作動していると想定している。一方、抑制を報告するものは腎動脈狭窄に基づく腎灌流圧の低下¹⁹⁾や腎血流の低下²⁰⁾による機能的腎実質の減少が uKAL の減少に寄与し、病態の一部をなすと推測している。このような結果の乖離の原因は不明であり、動物モデル、あるいは実験条件の違いが関連している可能性は否定できない。また、従来の報告の KAL 測定法に関しては、特異性の劣る合成基質を用いた方法²¹⁾であったり、キニンの特異的抗体を使用した RIA を用いて KAL のキニン生成能を評価していても、基質が非精製の加熱イヌ血漿であることが成績乖離の原因に一部関与している可能性が考えられる。本研究では昇圧に先行して早期から腎 K-K 系が減弱しており、このことが昇圧の機序の一部になりうると考えられた。

2. 腎 DA の役割

本態性高血圧患者に関しては、腎 DA 活性の低下が腎 Na 排泄の低下を引き起こし、それに基づく体液・体内 Na 貯留が血圧上昇をきたす可能性が報告され、教室ではこの腎 DA 系の減弱が高血圧発症以前より認められることも報告した²²⁾。本研究の 2K1C 群において uDA は sham 群に比して差は認められなかった。したがって、腎 DA 系の絶対的減弱は認めないが、水・Na 排泄作用を示す体液性因子である腎 K-K 系の低下による体液量増大に対して腎 DA 系は代償的に作動しておらず、このことも高血圧の進展の一因になりうると考えられる。腎 DA と angiotensin II の相互関係について Edington ら²³⁾はヒトにおいて昇圧しない程度の angiotensin II を投与したところ、uDA が減少したとしている。その機序は不明であり、また 2K1C モデルでの報告はないが、このことが腎 DA 系作動不全に一部寄与する可能性がありうると考えられた。

3. 腎 PGE₂系の役割

腎性降圧利尿系である uPGE₂ は uDA と同様に両群間で差を認めなかった。したがって、腎 PGE₂ も腎 K-K 系の抑制に対して代償的に作動しなかったと言える。R-A 系亢進の状態について McGiff ら²⁴⁾が腎動脈に angiotensin II を投与した際、腎静脈に PGE₂ が放出されるとし、本研究の結果と相反する報告をしている。一方、Diz ら²⁵⁾は angiotensin II 投与では PGE₂ は数分間増加するのみで持続せず、慢性期の PGE₂ には変化はないと報告しており、このことは今回の結果を支持するものであった。腎尿細管でのキニンが直接 phospholipase A₂ を活性化し、これが arachidonic acid を遊離させ、PGE₂ の生成を促進²⁶⁾させるが、この腎 K-K 系の減弱も腎 PGE₂ 系の作動を欠いた一因と考えられた。

4. OLF の役割

体液過剰動物モデルの血中に抗ジゴキシン抗体と交叉し、Na-K-ATPase を阻害して Na 利尿を發揮する物質が存在することが報告²⁷⁾され、これは内因性 Na-K-ATPase inhibitor あるいは EDLF と言われている。Saitoh ら⁴⁾は、本態性高血圧患者で血中 EDLF が高値を示し、その増大は体液・Na 貯留の顕著な低レニン本態性高血圧患者で著明で、これが体液・Na 貯留に対して腎では代償的に水・Na 利尿を起こすものの、血管壁での Na-K-ATPase 抑制によって血管平滑筋細胞内の Na 貯留を介して血管壁 Ca⁺を増大させ、末梢血管抵抗が増大することにより昇圧に至ると推測した。また、5/6 腎摘ラットの昇圧機序にも持続的な EDLF の増加が関与し、高血圧症の成因や病態形成にかかわる EDLF の役割の重要性が指摘²⁸⁾されている。さらに Takada ら²⁹⁾は、抗ジゴキシン抗体によって認識される物質をジゴキシン様物質(DLF)、抗ウアバイン抗体に認識される物質を OLF とし、5/6 腎摘ラットの初期昇圧には DLF と OLF が、慢性期(4 週目)の昇圧維持には OLF が重要な役割を果たしていると報告した。Vargas ら³⁰⁾は 2K1C モデルにおいて 4 週目までの経過で尿中 DLF 排泄量には変化がなかったとしているが、OLF は測定されていない。本研究で uOLF は 1 週後より有意に増加し、sham 群に比して有意に高値であり、以後高値を維持した。また、両群での uOLF と SBP の相関を検討したところ有意な正の相関を示し、尿中のみならず pOLF も 2K1C 群で sham 群に比し高値を示した。腎性降圧利尿系は腎 K-K 系を中心として作動不全があり、 $\% \Delta uKAL$ と $\% \Delta uOLF$ とが有意な負の相関を示すことから、腎 K-K 系の作動不全に代償する方向で OLF が作動し、腎において

は水・Na 貯留を解除する方向に作動するが、同時にこの OLF 作動が血管収縮を介し、結果的に高血圧の発症、進展に寄与すると考えられた。

結 語

2K1C 高血圧ラットにおける初期昇圧の機転の一端を解明するため、腎性降圧利尿系である腎 DA、腎 K-K 系、腎 PGE₂系と昇圧系である OLF を検討し、以下の成績を得た。

1) PRA は増加しており、少なくとも腎動脈狭窄の 3 週目までは R-A 系は亢進していた。

2) 腎 K-K 系は昇圧に先行して抑制され、血圧との間に負の相関を認めた。

3) 腎 DA 系および腎 PGE₂系の変動は認めなかった。

4) OLF は昇圧に先行して作動し、血圧との間に正の相関を認めた。

5) 腎 K-K 系と OLF との間に負の相関を認めた。

以上のことから、2K1C の高血圧発症早期においては R-A 系亢進が昇圧の主因と考えられるが、K-K 系の抑制が主体をなす腎性降圧利尿系の減弱が昇圧に先行して存在し、これが 2K1C の昇圧の一因をなすと推測した。一方、OLF は腎性降圧利尿系における作動不全の代償機転として亢進するが、これも結果的には末梢血管抵抗増大を介して高血圧発症、進展の一因をなすものと考えた。

文 献

- Iimura O. Pathophysiological significance of sympathetic function in essential hypertension. *Clin Exp Hypertens* 1989 ; A11(Suppl) : 103-15.
- Iimura O, Shimamoto K, Ura N, Nakagawa M, Nishimiya T, Ando T, Yamaguchi Y, Masuda A, Ogata H, Saitoh S, Yamaji I, Fukuyama S. The pathophysiological role of renal dopamine, kallikrein-kinin and prostaglandin systems in essential hypertension. *Agents Actions* 1987 ; 22 : 247-56.
- Haddy FJ, Overbeck HW. The role of humoral agents in volume expanded hypertension. *Life Sci* 1976 ; 19 : 935-47.
- Saitoh S, Shimamoto K, Nakagawa M, Yamaguchi Y, Masuda A, Kuroda S, Ura N, Iimura O. The pathophysiological role of digitalis-like substance in essential hypertension. *J Hypertens* 1988 ; 6(Suppl 4) : S360-2.
- Leenen FHH, De Jong W. Plasma renin and sodium balance during development of moderate and severe renal hypertension in rats. *Circ Res* 1975 ; 36, 37(Suppl 1) : 179-86.
- Doyle AE, Duffy S, MacDonald GJ. Exchangeable sodium in experimental hypertension in rat. *Clin Sci Mol Med* 1976 ; 51 : 133s.
- Shimamoto K, Margolius HS, Chao J, Crowell AR. A direct radioimmunoassay of rat urinary kallikrein and comparison with other measures of urinary kallikrein activity. *J Lab Clin Med* 1979 ; 94 : 172-9.
- Kissinger PT, Riggins RM, Alcorn RL, Rau LD. Estimation of catecholamines in urine by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Biochem Med* 1975 ; 13 : 299-306.
- Haber E, Koerner T, Page LB, Kliman B, Purnode A. Application of a radioimmunoassay for angiotensin I to the physiologic measurements of plasma renin activity in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1969 ; 29 : 1349-55.
- Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF. Studies on experimental hypertension. I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med* 1934 ; 59 : 347-54.
- Wilson C, Byron FB. Renal changes in malignant hypertension. *Lancet* 1939 ; I : 136-9.
- Lupu AN, Maxwell MH. Experimental unilateral renal artery constriction in the dog. *Cir Res* 1972 ; 30 : 567-74.
- Johnston CI, Matthews PG, Dax E. Renin-angiotensin and kallikrein-kinin systems in sodium homeostasis and hypertension in rats. *Clin Sci Mol Med* 1976 ; 51 : 282s-6.
- Mizoguchi H, Nomura Y, Ogata S, Kawashima Y, Ogata J. Role of the kallikrein-kinin system in two-kidney and one-clipped hypertensive rats. *Urol Int* 1987 ; 42 : 14-8.
- Margolis HS, Geller R, De Jong W, Pisano JJ, Sjoerdsma A. Altered urinary kallikrein excretion in rats with hypertension. *Circ Res* 1972 ; 30 : 358-62.
- Emond C, Bascands JL, Rakotoarivony J, Pradaud F, Bompard G, Pecher C, Ader J, Girolami JP. Glomerular B₂-kinin-binding sites in two-kidney, one-clip hypertensive rats. *Am J Physiol* 1991 ; 260 : F626-34.
- Thun AMV, El-Darl SS, Vari RC, Navar G. Modulation of renin-angiotensin and kallikrein gene expression in experimental hypertension. *Hypertension* 1994 ; 23(Suppl 1) : I-131-6.
- Geller RG, Margolius HS, Pisano JJ, Keiser HR. Effects of mineralocorticoids, altered sodium intake, and adrenalectomy on urinary kallikrein in rats. *Circ Res* 1972 ; 31 : 857-61.
- Bevan DR, MacFarlane NAA, Mills IH. The dependence of urinary kallikrein excretion on renal artery pressure. *J Physiol* 1974 ; 241 : 34-5.
- Keiser HR, Andrews MJ, Guyton RA, Margolius HS, Pisano JJ. Urinary kallikrein in dogs with constriction of one renal artery. *Proc Soc Exp Biol Med* 1976 ; 151 : 53-6.
- 浦 信行, 島本和明. A comparative study of the measurement of urinary kallikrein by various methods in patients

- with essential hypertension and those with proteinuria. 札幌医誌 1984 ; 53:519-34.
22. Iimura O, Shimamoto K, Ura N. Dopaminergic activity and water-sodium handling in the kidneys of essential hypertensive subjects : Is renal dopaminergic activity suppressed at the prehypertensive stage? J Cardiovasc Pharmacol 1990 ; 16(Suppl 7) : S56-8.
 23. Edington DW, Swainson CP, Lee MR. Oral carbidopa has no effect on the renal response to angiotensin II in normal man. Clin Sci 1991 ; 80 : 149-54.
 24. McGiff JC, Crowshaw K, Terragno NA, Lonigro AJ. Release of a prostaglandin-like substance into renal venous blood in response to angiotensin II. Circ Res 1970 ; 26, 27 (Suppl 1) : I-121-30.
 25. Diz DI, Baer PG, Nasjletti A. Angiotensin II-induced hypertension in the rat. Effects on the plasma concentration, renal excretion, and tissue release of prostaglandins. J Clin Invest 1983 ; 72 : 466-77.
 26. McGiff JC, Itskovits HD, Terragno NA. The actions of bradykinin and eledoisin in the canine isolated kidney : relationships to prostaglandins. Clin Sci Mol Med 1975 ; 49 : 125-31.
 27. Cruber KA, Whitaker JM, Buckalew VM. Endogenous digitalis-like substance in plasma of volume-expanded dogs. Nature 1980 ; 287 : 743-5.
 28. 大本泰裕, 島本和明, 増田 敦. Role of endogenous digitalis like factor and renal prostaglandins on hypertensive mechanism in reduced renal mass hypertensive rats. 札幌医誌 1992 ; 61 : 267-77.
 29. Takada T, Nakagawa M, Ura N, Kaide J, Yoshida H, Shimamoto K. Endogenous immunoreactive ouabain-like and digoxin-like factors in reduced renal mass hypertensive rats. Hypertens Res 1998 ; 21 : 193-9.
 30. Vargas F, Casanova L. Urinary excretion of digoxin-like factor and ADH during DOCA-salt and Goldblatt 2 kidney-1 clip hypertension development. Horm Metab Res 1990 ; 22 : 352-5.