

原 著

SHR の腎移植モデルを用いた実験的高血圧に関する研究
第2報 ナトリウムの血圧上昇に及ぼす影響

東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター 第三外科教室 (主任: 太田和夫教授)

ミツ ノ カン イチ
光 野 貫 一

(受付 昭和59年12月26日)

Study of Experimental Hypertension with Renal Transplantation of SHR
II Influence of Sodium to Elevation of Blood Pressure

Kanichi MITSUNO

Department of Surgery, Kidney Center (Chief: Prof. OTA)
Tokyo Women's Medical College

The F_1 derived from spontaneously hypertensive rats (SHR) and Wistar rats, which were transplanted kidneys from SHR at the age of 13 weeks, showed significant, acute elevation of blood pressure by three weeks after transplantation. But BP decreased gradually to 160 mmHg in systolic after 23 weeks. Another way, as controls, SHR unilateral nephrectomy rats showed elevation of blood pressure (BP) slowly, which F_1 -unilateral nephrectomy rats were confined within limits of normal BP.

We measured urinary excretion of sodium (Na) and found out significantly lower Na excretion when F_1 with SHR kidney showed elevation of BP and increase of Na excretion together with BP falling. Our results with previous experiments suggest that renal excretory functional disturbance of Na was the most important factor of hypertension.

緒 言

第1報に述べたように SHR 腎を正常血圧ラットに移植し、長期生存させるという動物モデルの作製に成功したので、これを用いて高血圧発症のメカニズムを追求することが可能となった。

本態性高血圧症の成因は多くの研究、努力にもかかわらずなお完全には解明されていない。しかし、遺伝的素因とともに環境的要因が、その発症および維持に大きく関与していることは動かしたい事実となってきた。

遺伝的素因として腎の Na 排泄能が重要視され、それを裏書きする事実として腎機能低下による体液量および組成の維持が困難になると血圧の異常が生じるなどが、実験的、臨床的に認められている。

一方、環境的要因の中にも多くの因子が含まれ

ているが、特に食餌面が注目され、食塩の過剰摂取が原因として重要であることを示唆する所見が多い。

その中の主なものを整理してみると、①食塩制限にて血圧が低下することが多い。②体内のナトリウム (Na) の排泄を促し、細胞外液量を減少させる利尿剤は降圧剤として有用である。③食塩の過剰摂取により血圧上昇をきたす例が見られる。④食塩摂取の習慣のない未開部族では高血圧の発症がないが、摂取習慣の移入と共にこれが増加する。などに要約することができよう。

本稿においては、遺伝的に高血圧を示す個体よりえられた腎が、そもそもの宿主の neurohumoral の影響を絶たれた正常血圧ラットの体内でどのような機能を示し、それがまた個体の血圧にいかなる反応を起こすかという命題を解明するた

め、まず血圧と尿中 Na 排泄量の推移について検討を加え、その結果、興味ある知見がえられたので報告する。

対象ならびに方法

1. 対象

実験群としては、第 1 報で既述したように SHR と Wistar ラット間の交配により作成した 13週齢 F_1 雑種ラット (F_1) に、SHR 腎を移植したものをを用いた。

これらのラットは、腎移植の 3 日後に自己腎摘した 24 匹のうち 100 日以上生存し、血清クレアチニン値が 1.5mg/dl の腎機能を有していた 4 匹を用いた。

一方、対照群としては、13週齢の SHR および SHR と Wistar ラットの交配雑種 F_1 で右腎摘により片腎としたラットを、それぞれ 10 匹用いた。

これらを SHR-Unilateral Nephrectomy (SHR-UN) および F_1 -Unilateral Nephrectomy (F_1 -UN) とした。これらはいずれも血清クレアチニン値が 1.5mg/dl で長期生存した。

2. 血圧の測定

血圧は、ラット自動血圧記録装置 (日本工電製 BP recorder 8005) を用いて、尾動脈を利用した tail cuff 法により収縮期血圧のみを測定した。

3. 尿中 Na 排泄検査法

Na の尿中排泄量の測定は、1%食塩液ないしは水道飲用時に実施した。1%食塩液の飲用時には 1 日尿中 Na 排泄量を Corning 社製 flame photometer 430 にて計測したが、水道水飲用時には日本原子力研究所作製の $^{24}\text{NaCl}$ (半減期 14.96 時間、比放射能 1mCi) をラットの体重 100g につき $12.34 \pm 1.15 \mu\text{Ci}$ の割合で腹腔内に注入したのち、metabolic cage に入れ採尿後 well type scintillation counter (Aloka 社製) を用いて、尿中 ^{24}Na 排泄量を、注入後、6、12、24 時間にかけて測定した。

測定は実験群において術後 3 週と 15 週目に、対照群ではそれぞれ術後 3 週目に実施した。

なお、データは student の t 検定で処置したが一部をスミルノフの棄却検定にて除外した。

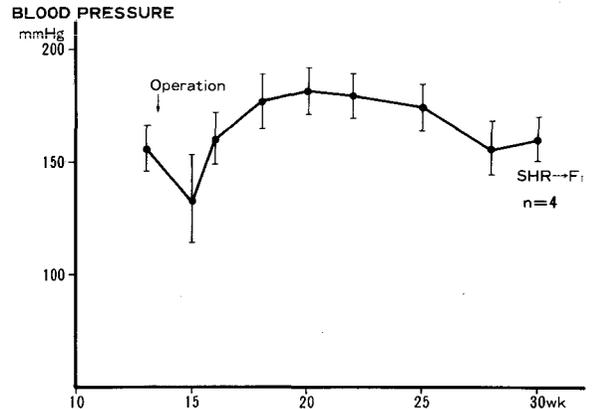


図 1 実験群の血圧の経時変化。術後急激に血圧は上昇し、23週目より低下傾向を示す。

成績

1. 血圧の経時変化

1) 実験群

腎機能が正常で長期生存した 4 匹の血圧の経時変化は、図 1 に示すように術後一過性に低下するがそののち急激に上昇し、術後 5 週目には $181 \pm 11\text{mmHg}$ に達した。

しかし、それ以後はやや低下傾向を示し、10 週目以降は 180mmHg 以上の血圧上昇は認められなかった。

2) 対照群

SHR-UN の血圧は、術後一過性の低下を示したのち徐々に上昇し、術後 13 週目で $182 \pm 9\text{mmHg}$ に達し、その後も徐々に上昇を続けた。

F_1 -UN は左腎摘後、一過性の血圧低下を認めたが、そののち軽度上昇を示し、術後 12 週目において $140 \pm 8\text{mmHg}$ となり、以後低下した (図 2)。

2. 尿中 Na 排泄

1) 水道水飲用時

a) 実験群: 6 時間までの尿中への ^{24}Na の排泄率は、3 週目で $0.47 \pm 0.2\%$ であり、15 週目には $0.7 \pm 0.31\%$ を示した。12 時間までの尿中への ^{24}Na の排泄率は、3 週目で $1.19 \pm 0.7\%$ であり、15 週目には $2.3 \pm 1.1\%$ を示した。

一方、24 時間での ^{24}Na 排泄率は 3 週目で $5.8 \pm 0.5\%$ 、15 週目で $6.7 \pm 0.9\%$ であった。

b) 対照群: SHR における 12 時間までの尿中 ^{24}Na

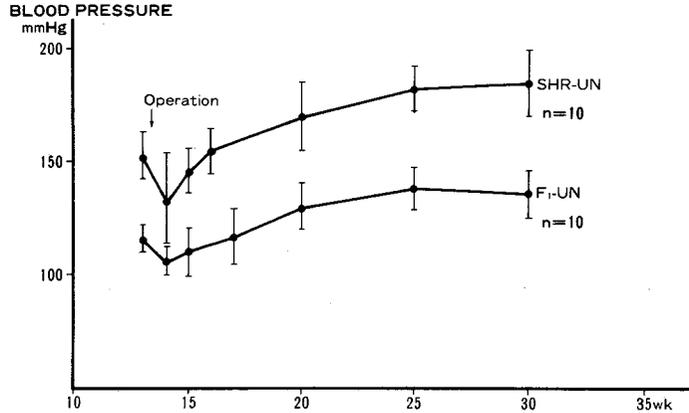


図2 対照群における血圧の経時の変化。SHR-UN は徐々に血圧の上昇を示すが F₁-UN の上昇はごく軽度である。

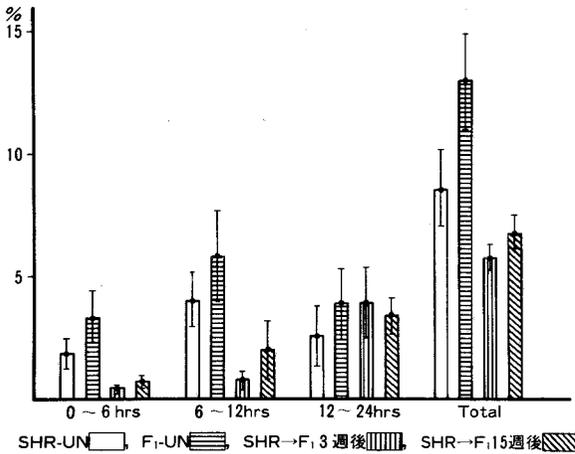


図3 ²⁴Na の尿中排泄率。対照群の F₁-UN の排泄率が有意差をもって高く ($p < 0.05$), SHR-UN と実験群の15週との間には有意差はなく, 実験群の3週は明らかに低下している ($p < 0.05$)。

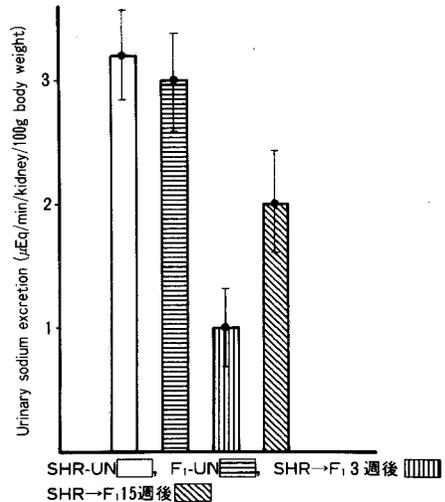


図4 1%NaCl 負荷時の尿中 Na 排泄。実験群の15週が3週より排泄量が多く ($p < 0.05$), 対照群間には有意差を認めない。

Na 排泄率は、 $4.9 \pm 1.4\%$ であり、24時間では $8.5 \pm 1.7\%$ となった。

一方、同じく3週目の F₁-UN においては12時間で $8.9 \pm 1.5\%$ であり、24時間では $13 \pm 2.9\%$ となった (図3)。

以上のデータから12時間までの尿中²⁴Na 排泄率は、実験群の3週目が、15週目および対照群に比較して有意差 ($p < 0.01$) をもって低下しており、24時間でも実験群の3週目が15週目と対照群に比較して有意 ($p < 0.05$) な低下を示した。

実験群の15週目と SHR-UN のの間には差を認めなかった。

2) 1%食塩液飲用時

1%食塩負荷時の尿中 Na 排泄量は、実験群の3週で体重100gm あたり $1.0 \pm 0.3 \mu\text{Eq}/\text{min}$, 15週で $2.0 \pm 0.4 \mu\text{Eq}$ となった。

一方、対照群の SHR-UN で $3.2 \pm 0.4 \mu\text{Eq}$ F₁-UN で $3.0 \pm 0.4 \mu\text{Eq}$ となった (図4)。

これらのデータから、実験群は対照群より尿中への Na 排泄低下があり ($p < 0.05$), その低下の

程度は3週目が15週目に比し有意に大きかった ($p < 0.05$).

考 察

食塩と高血圧との関係については、2300年前の漢方の医書の中でもすでに示唆されているとのことであるが¹⁾、1950年代以降、科学的な手技を用いさまざまな集団で食塩摂取量と高血圧との疫学的関係が調査され、この両者に因果関係のあることを支持する成績が多くえられるようになった。

しかし、これら多くの研究にもかかわらず現在に至るまで、一集団内で個人の食塩摂取量と高血圧との関係を立証することは困難であり、決定的な因果関係が証明されたとはいえない状態に留まっている。そのため、われわれは実験目的を、高血圧発症時における Na、および Na 代謝の中心である腎の役割を解明することにおいた。

従来行なわれてきた SHR の *in vivo* の実験では、その個体のもつ各種の因子が相互に関係しているため、腎のもつ調節因子を、解析することが困難であり、また、*in vitro* の実験では細胞レベルでの物質移動は証明されても臓器全体として持っている機能を評価できないという問題がある。

そのため、今回、SHR 腎を宿主より切りはなし腎の whole organ としての働きを見るために、正常血圧ラットに移植し、血圧と尿中 Na 排泄を調べることにより、直接血圧と Na との関連を証明しようと試みたのである。

まず、レシピエントとして F_1 を用いた理由であるが、移植腎に対する拒絶反応の影響を避けるため、Snell ら²⁾ のいう移植の法則の一つ一つである“相異なる近交系 2 系間の F_1 は、両親よりの移植片を受け入れる”という条件を満足させる必要があると考えたためである。

また、水道水飲用時と食塩液飲用時とで測定法を変更した理由は、前者において尿中排泄量が少ないために、通常の測定法では誤差が生じやすいと考えたためである。

^{24}Na を腹腔内に注入すると 4~7 時間で sodium space に均一に分布するため、この時間以後であれば単位時間の尿中 ^{24}Na 排泄量を比較することにより各時間帯の Na 総排泄量を比較しう

る³⁾⁴⁾。

そのほか対照群とした片腎ラットに、実験群と同程度の阻血を加えなかった理由は、SHR が手術操作に弱く、予備実験において移植時と同様に温、冷阻血を加えたところ、これにより死亡率が著しく高くなることが判明したためである。

一方、尿中 Na 排泄の検査を行なう時期を 3 週目以降とした理由は、移植手術が移植腎の機能に直接的な影響を及ぼすのが 3 週目までとされているためである⁵⁾。

以上をふまえたうえで、実験条件を設定し移植実験が成功した個体のみを実験群としてえらび、えられた成績から、SHR 腎を移植されたラットの 3 週目の血圧上昇は、急激であることが判明した。しかし、この血圧上昇が 15 週目には低下傾向を示している。

その際の尿中 Na 排泄量の測定より、水道水ならびに 1% 食塩液負荷時とも、実験群の 3 週目では Na の排泄が有意に低下を示していることが判明した。すなわち、血圧が急激に上昇した時期に一致して、尿中 Na の排泄は低下したことになる。

尿中 Na の排泄量低下と血圧の上昇に関しては、すでに Guyton の仮説があるが、彼は種々の成績より食塩摂取量を増加させること、これを排泄するために、血圧を上昇させて対応する必要性が生じるという基本的な考えに立ち、これが高血圧の素因をもっている個体には強く発現すると推測した⁶⁾。

この Guyton の仮説を支持する臨床上の所見として、① Kemper 減塩食として知られている“rice-and-fruit diet”の投与により血圧が低下するとき、約 15% の細胞外液量の減少が認められる⁷⁾、② 長期利尿剤の投与を受けている患者では、細胞外液量の減少が認められるが⁸⁾、利尿剤の中止により、ただちに細胞外液量はもとにもどり、その後血圧上昇が起こる⁹⁾¹⁰⁾、③ 利尿剤以外の降圧剤（血管拡張剤など）の投与時、血圧低下に伴ない細胞外液量が増加する¹¹⁾、④ 透析患者において、限外濾過率を低下させることにより、Na、水の貯留を起こすと血圧上昇が生じる、などをあげることができる¹²⁾¹³⁾。

今回の実験では、実験群の15週目において3週目より尿中 Na 排泄が増加を示したが、これに伴って血圧が低下傾向となった。すなわち、血圧と尿中 Na 排泄は、逆相関を示しているという結果がえられた。

ただしこの実験群の15週目における食塩負荷時の尿中 Na 排泄は、SHR-UN と比較して低い値に留まっている。しかし、それにもかかわらず実験群において、血圧の低下が見られたという事実は、F₁個体に高血圧を発生させる素因のある SHR 腎に打ち勝って降圧を促進する何らかの因子が存在する可能性があることを示唆する。

これに対応する臨床的な事実としてヒトの腎移植において、donor をその家族歴に高血圧症のある群とない群に分け、それぞれからの腎を移植された家族歴に高血圧症を有する recipient について比較検討した報告をあげることができよう。

それによると高血圧の家族歴を有する donor からの移植群は、術後4ヵ月までに降圧剤を投与する頻度が高く、それ以後の降圧剤投与量には高血圧の家族歴を有しない群と有意差を認めなかった¹⁴⁾という成績がえられており、われわれの動物実験と対応するものと思われ興味もたれる。

このような現象のみられる理由として、正常血圧の個体における降圧因子の存在が考えられ、最近、その因子の一つとして心房性 Na 利尿因子^{15)~17)}が注目をあびている。この物質は、血圧を下降する作用¹⁹⁾²⁰⁾があり、さらに、SHR において減少²¹⁾²²⁾しているとの報告もなされているが、今後、このような作用物質の生理的役割、作用機序および分泌動態の解明が興味を中心となってこよう。

結 論

高血圧の発症に関する因子として、腎および Na の相互関係を直接的に証明するために、SHR と Wistar の交配によって作製した F₁ に SHR 腎を移植した実験モデルを用い、SHR と F₁ の片腎ラットを対照群として、血圧の変動と尿中 Na 排泄を検討し以下の結論を得た。

1) 実験群において血圧は、急激に上昇したのち低下傾向を示した。一方、対照群の SHR-UN は、

それに比較し血圧上昇は緩徐であるが上昇を続ける傾向にあり、F₁-UN は、軽度上昇しそのまま安定した。

2) 尿中 Na 排泄は、水道水または1%食塩液飲水時において、実験群で低下しており、急激な血圧上昇期に一致して著しい Na 貯留が認められた。しかし、15週以降、Na 排泄量の増加とともに血圧下降がみられた。

3) SHR の高血圧は、neurohumoral 因子よりも、腎それ自体の Na 排泄能の低下に由来する因子が大きい。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜わった恩師太田和夫教授に深甚なる感謝の意を表します。また、適切な御助言、御協力をいただいた腎臓内科杉野信博教授ならびに泌尿器科学東岡紘助教授および教室の諸兄に謝意を表します。

なお、本論文は日本心臓血圧研究振興会公募研究として、昭和58年腎循環不全時の治療体系に関する研究報告会にて発表した。

文 献

- 1) **Battarbee, H.H. and Meneely, G.R.:** CRC Crit Rev Toxicol 5 355 (1978)
- 2) **Snell, G.D. and Bunker, H.P.:** Histocompatibility genes of mice. V. Five new histocompatibility loci identified by congenic resistant lines on a C57BL/10 back ground. Transplantation 3 235 (1965)
- 3) **中西 祥子:** 高血圧自然発症ラットの妊娠経過と血圧変動に関する実験的研究. 日腎誌 114 89 (1982)
- 4) **村井正武:** ²⁴Na による Sodium space と全体ナトリウム量の測定ならびにその検討. 日大医 14 864 (1953)
- 5) **Abrabam, P.P., Marinus, H.K., Wil, J.K., et al.:** The glomerular filtration rate of isogeneically transplanted rat kidneys. Kidney Int 21 459~465 (1982)
- 6) **Guyton, A.C., et al.:** Arterial pressure regulation. Am J Med 52 584 (1972)
- 7) **Kemper, W.:** Treatment of hypertensive vascular disease with rice diet. Am J Med 4 545 (1948)
- 8) **Wilson, I.M. and Freis, E.:** Relationship between plasma and extracellular fluid volume depletion and the antihypertensive effect of chlorothiazide. Circulation 20 1028 (1959)

- 9) Leth, A.: Changes in plasma and extracellular fluid volumes in patients with essential hypertension during longterm treatment with hydrochlorothiazide. *Circulation* 41 709 (1970)
- 10) **Tarazi, R.C., Duston, H.P. and Fröhlich, E. P.:** Long-term thiazide therapy in essential hypertension. Evidence for persistent alteration in plasma volume and renin activity. *Circulation* 41 729 (1970)
- 11) **Koch-Weser, J.:** Vasodilator drugs in the treatment of hypertension. *Arch Intern Med* 133 1017 (1974)
- 12) **Lazarus, J.M., Hampers, L.C. and Merrill, J. P.:** Hypertension in chronic renal failure. *Arch Intern Med* 133 1059 (1974)
- 13) **Wilkinson, R., Scott, D.F., Uldall, P.R. and Kerr, D.N.:** Plasma renin and exchangeable sodium in hypertension of chronic renal failure. The effect of bilateral nephrectomy. *Q J Med* 39 377 (1970)
- 14) **Kaplan, N.M.:** Clinical hypertension. 3rd ed. Williams and Wilkins, Baltimore (1982)
- 15) **de Bold, A.J.:** Heart atria granulality effects of changes in water/electrolyte balance. *Proc Soc Exp Biol Med* 161 508 (1979)
- 16) **Thibault, G., et al.:** Atrial natriuretic factor. Characterization and partial purification. *Hypertension* 5(Suppl. I) 75 (1983)
- 17) **de Bold, A.J.:** Tissue fractionation studies on the relationship between an atrial natriuretic factor and specific atrial granules. *Can J Physiol Pharmacol* 60 324 (1981)
- 18) **de Bold, A.J., et al.:** A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 28 89 (1981)
- 19) **Hirata, Y., et al.:** Dahl S rats have increased natriuretic factor in atria but are markedly hyporesponsive to it. *Hypertension* 6(Suppl. 1) 148 (1984)
- 20) **Kleinert, H.D., et al.:** Atrial natriuretic factor and specific atrial granules. *Can J Physiol Pharmacol* 60 324 (1981)
- 21) **Sonnenberg, H., et al.:** Atrial natriuretic factor: Reduced cardiac content in spontaneous hypertensive rats. *Hypertension* 5 672 (1983)
- 22) **Winquist, R.J.:** Characterization of sunthetic atrial natriuretic factor: Vasodilator profile and decreased vascular sensitivity in hypertensive rats. Abstract, 10th International Meeting of Hypertension, 160, Interlaken (1984)