

氏名(本籍)	お尾 川 信 之
学位の種類	薬学博士
学位記番号	薬第 267 号
学位授与年月日	昭和62年 3月11日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当

学位論文題目 腎循環自動調節発現機序の薬理学的研究

(主査)  
論文審査委員 教授 佐藤 進 教授 鶴藤 丞  
教授 鈴木 康男

# 論 文 内 容 要 旨

一般に臓器の血流量はそれを灌流する圧の変化に伴って変わるが、いくつかの臓器では灌流圧がある程度変化しても比較的一定に保たれることが見いだされている。この灌流圧変化に対し血流量の変化を少なくしようとする現象は自動調節 (Autoregulation) と呼ばれており、この機能は腎で最もよく発達していることが知られている。

腎の自動調節は摘出し神経支配が除去された腎でも認められることより、腎自体に調節機序が存在するものと考えられている。しかし、その機序の詳細については不明である。

腎内では autacoid として renin-angiotensin 系, prostaglandin 系, kinin 系が存在し、これらは互いに密接な関連を保ちながら腎血行動態および腎機能に深く関与していると考えられる。自動調節が摘出腎でも観察されることから、発現機序にこれら autacoid が関与している可能性がある。また、自動調節がいくつかの薬物、すなわち papaverine や Ca 拮抗薬により抑制されることも報告されており、発現機序が腎血管それ自体に存在することも考えられる。

本研究は、腎循環自動調節の発現機序を明らかにすべく、次のように実験を展開した。腎循環自動調節における 1) 腎内 autacoid の関与の有無, 2) 各種血管拡張薬による影響, 3) Ca channel との関連などについて、麻酔下イヌ腎灌流標本を用いて検討した。

## 1. 腎循環自動調節における腎内 autacoid の役割

腎血流自動調節と腎内 autacoid との関連を angiotensin I 変換酵素かつ kininase II 阻害薬 captopril, prostaglandin 合成阻害薬である indomethacin, prostaglandin 合成前駆物質である arachidonic acid, 腎で産生量の多い prostaglandin  $E_2$ , さらに bradykinin を用いて検討した。

captopril (1 mg/kg) の静脈内投与で腎血流量は全灌流圧範囲で増加し、自動調節には影響なかった。prostaglandin  $E_2$  (30~100 ng/min), sodium arachidonate (200~500  $\mu$ g/min) の腎動脈内持続投与で腎血流量は用量依存的に増加し、自動調節は存在した。indomethacin (2.5 mg/kg) の静脈内投与では腎血流量は減少したが、この場合も自動調節には影響を与えなかった。bradykinin (100~300 ng/min) の腎動脈内持続投与によっても自動調節は影響を受けなかった。

腎内 autacoid である renin-angiotensin 系, prostaglandin 系, kinin 系のいずれも、腎血流自動調節の発現に関与していないことが明らかとなった。

## 2. 腎循環自動調節における各種血管拡張薬の影響

現在、いくつかの血管拡張薬が腎血流自動調節を抑制することが報告されている。また先の実験で明らかとなった様に、prostaglandin  $E_2$ , bradykinin などでは腎血管拡張反応は認めら

れたが自動調節は抑制されなかった。従って、血管拡張薬には自動調節に影響を与えるものと与えないものがあるように思われる。そこで、自動調節に影響を与える血管拡張薬と与えない血管拡張薬との間に、それぞれの機序の上で共通性があるか否かについて検討した。

各種血管拡張薬の自動調節への作用を以下の表に示した。

Classification of vasodilators according to the effect of renal blood flow autoregulation

Autoregulation	Mechanism of action	Substances
abolition	Ca channel blocker	nicardipine diltiazem
	Phosphodiesterase inhibitor	papaverine aminophylline
no effect	Adenylate cyclase activator	forskolin
	Guanylate cyclase activator	nitroglycerin nicorandil sodium nitroprusside sodium nitrite

実験結果は、血管拡張薬が必ずしも自動調節を抑制するのではないことを示している。少なくとも adenylate cyclase あるいは guanylate cyclase を活性化することにより血管拡張作用を生ずると考えられる薬物は、自動調節に影響を与えないものと思われる。

### 3. 腎循環自動調節の発現におけるCa channelの関与

Ca拮抗薬 nicardipine および diltiazem により自動調節が抑制されたことに着目し、自動調節の発現にCa channelが関与しているか否かについて調べるため、さらに実験を展開した。

Ca拮抗薬である nifedipine (5  $\mu$ g/min), nitrendipine (5  $\mu$ g/min), verapamil (50  $\mu$ g/min), diltiazem (50  $\mu$ g/min) のいずれも自動調節を抑制した。そして、この抑制効果はCa channelを直接刺激し活性化するBAY K 8644の併用により拮抗された。また、EDTA (30mg/min) の持続投与で血中Ca<sup>2+</sup>量を減少させた場合にも自動調節は抑制された。この抑制はCaCl<sub>2</sub> (30mg/min) の併用で回復したが、BAY K 8644 (5  $\mu$ g/min) の併用では回復されなかった。

腎血流自動調節の発現にCa channelを通じての細胞内へのCa<sup>2+</sup>流入が関与していることが示唆された。BAY K 8644は膜電位依存性のCa channelを活性化することが報告されており、腎血流自動調節の発現機序としては、灌流圧変化による血管の伸展が膜電位を変化させ、

Ca channelの活性化ひいては細胞内Ca<sup>2+</sup>レベルを変えて血管の緊張度を変えるという連鎖反応が想定される。

#### 4. 腎循環自動調節発現における受容体作動性Ca channelの影響

腎血流自動調節の発現に膜電位依存性のCa channelが関与していることが明らかとなった。しかし、心筋、平滑筋などのCa channelにはこれ以外に生体内の活性物質により受容体作動性に活性化されるものがある。そこで、自動調節の発現に受容体作動性Ca channelの関与も存在するか否か検討した。

最初にnorepinephrineおよびangiotensin IIによる腎血管収縮反応に対するverapamilの影響について調べ、続いてverapamilによる自動調節の抑制が、norepinephrineあるいはangiotensin IIにより拮抗されるか否かについて調べた。

norepinephrine (0.1~1.0  $\mu$ g, i.a) およびangiotensin II (0.01~0.1  $\mu$ g, i.a) の投与で腎血流量は用量依存的に減少し、この反応はverapamil (30~100  $\mu$ g/min) の持続投与下では抑制された。この抑制効果はangiotensin IIに強く現われた。また、verapamil (50  $\mu$ g/min) による自動調節の抑制は、norepinephrine (1~3  $\mu$ g/min) およびangiotensin II (0.1~0.3  $\mu$ g/min) の併用を行っても回復されなかった。

norepinephrineおよびangiotensin IIによる腎血管収縮反応は、一部Ca channelを介することが示唆された。また受容体作動性Ca channelの活性化は腎血管緊張を増すが、自動調節の発現には関与していないものと考えられる。

#### 5. 腎循環自動調節発現におけるCaの細胞外排出機序の介在

腎血流自動調節は、灌流圧の上昇時および減少時のいずれの場合にも観察される現象である。すなわち、灌流圧の減少に対しては血管拡張反応が、灌流圧の上昇に対しては血管収縮反応がそれぞれ誘起され、腎血流量が一定に保たれる。しかし、血管平滑筋における作用機序として、Ca<sup>2+</sup> 流入促進あるいは平滑筋外へのCa<sup>2+</sup> 排出機能の抑制が考えられているouabainについては、自動調節への効果の点で意見の一致が得られていない。抑制したとする報告は灌流圧を正常圧から漸次下降させる手順で実験した結果であり、抑制しないとする報告は灌流圧を正常圧から上昇させる実験で得られた成績である。そこで、灌流圧上昇および下降時に起こる自動調節と平滑筋細胞内Ca<sup>2+</sup> 動態との関連をouabainおよびBAY K 8644を用いて検討した。さらに、Ca拮抗薬nitrendipineによる自動調節の抑制がouabainの併用により拮抗されるかについて調べた。BAY K 8644の持続投与下では、腎血流量は減少するものの灌流圧の上昇・下降のいずれの場合にも自動調節は観察された。しかし、ouabainの持続投与下では灌流圧の上昇時で自動調節が認められたものの、下降時で自動調節の抑制がみられた。また、nitrendipine (5  $\mu$ g/min)の持続投与下、灌流圧上昇に対して自動調節は抑制され、その抑制はouabain

(20  $\mu\text{g}/\text{min}$ ) を併用しても回復されなかった。

nitrendipineによる自動調節の抑制がouabainの併用によって拮抗されないことから、ouabainは腎血管床で脱分極による $\text{Ca}^{2+}$  流入促進効果を持たないと考えられる。また、ouabainは $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$  交換輸送系を抑制することによって $\text{Ca}^{2+}$  の細胞外排出を妨げ、自動調節性血管拡張を妨げることが推察される。従って、灌流圧下降によって誘起される自動調節の発現に $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$  交換輸送系の関与が示唆された。

## 6. 腎循環自動調節発現における $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulin系の関与

これまでの実験で、腎血流自動調節の発現に $\text{Ca}^{2+}$  が重要な働きをしていることが明らかとなった。一方、血管平滑筋の収縮にも $\text{Ca}^{2+}$  は重要な働きを持ち、近年さらにその収縮機構の細胞内過程で $\text{Ca}^{2+}$  -Calmodulin系が関与していることが明らかとなった。そこで、腎血流自動調節の発現の細胞内機構にもこの $\text{Ca}^{2+}$  -calmodulin系が介在しているか否かを調べるため、calmodulin阻害薬であるchlorpromazineおよびtrifluoperazineを用いて実験を行った。

trifluoperazine (3  $\text{mg}/\text{min}$ ) およびchlorpromazine (5  $\text{mg}/\text{min}$ ) のいずれも自動調節を抑制した。この抑制は $\text{CaCl}_2$  (30 $\text{mg}/\text{min}$ )、BAY K 8644 (5  $\mu\text{g}/\text{min}$ ) のいずれの併用を行っても回復されなかった。

腎血流自動調節の発現過程に $\text{Ca}^{2+}$  -calmodulin系が介在することが示唆された。すなわち、Ca channelを介して細胞内に流入した $\text{Ca}^{2+}$  は、 $\text{Ca}^{2+}$  -calmodulin系を介して自動調節を誘起するものと思われる。

## 7. 腎循環自動調節の自然喪失におけるCa channelの不活性の関与

腎血流自動調節に関する実験を進める中で、実験開始時すでにこの機能が消失している動物があることを経験した。この自然発生的な自動調節の消失に関し報告はほとんどなく、その詳細については不明である。一方、自動調節の発現に膜電位依存性Ca channelが関与していることを先に明らかにした。そこでこの自動調節の自然喪失がCa channelの不活性化によるものか検討した。

自動調節の自然喪失している動物に、BAY K 8644、 $\text{CaCl}_2$ の持続投与で自動調節の回復が観察された。しかし、norepinephrineの持続投与では強い腎血流減少反応がみられるにもかかわらず自動調節は消失したままであった。

以上の結果より、自発的な自動調節の障害の原因の一つにCa channelの不活性化があることが示唆された。

## 審査結果の要旨

臓器の灌流圧－血流量の関係は、灌流圧をある範囲内変えても血流量変化がきわめて緩やかな領域が出現する。このような現象を自動調節という。臓器血流量は神経性、体液性因子の影響を受けると共に、上記の自動調節機構により調節されている。臓器循環における自己調節は、体液量増大に伴う高血圧発症に関与することも提唱されている。自己調節は循環系の恒常性を担う腎臓において最も明瞭に認められる現象であり、腎血流量のみならず糸球体濾過量についても観察される。

腎における自動調節の機序として筋原説と緻密斑説とに大きく意見が分かれているが、その詳細については依然として不明な点が多い。

本研究は麻酔イヌ生体位灌流標本を用いて灌流圧変化に伴う腎血流量曲線を指標とし、腎における自己調節機序の解明を目的としたものであり、下記の知見が得られた。

- ①腎の自動能における腎オータコイドであるレニン－アンジオテンシン系、プロスタグランジン系、キニン系の関与は認められない。
- ②血管拡張薬のうち、カルシウムチャンネル拮抗薬で自動能は消失する。
- ③カルシウムチャンネル拮抗薬による自動能消失効果は、電位作動性カルシウムチャンネルの抑制効果に起因するものであり、受容体作動性カルシウムチャンネルの抑制は関与しない。
- ④特に灌流圧下降に伴う自動能発現には血管平滑筋膜のNa-Ca交換輸送系の関与が認められる。
- ⑤電位作動性カルシウムチャンネルを介し細胞内に流入したCa<sup>2+</sup>はCa-calmodulin系を介して自動調節を誘起する。

即ち腎の自動能発現は、灌流圧変化－血管伸展－膜電位変化－Ca channel活性化－細胞内Ca<sup>2+</sup>レベルの変化－Ca-calmodulin系の変化－血管緊張度の変化という連鎖反応に起因することを示した。

本研究で得られた成果は、古くから生理学的にその機序について関心が持たれてきた腎の自己調節機序の本態にせまる知見として本研究分野において高く評価されているものであり、多くの高血圧発症の解明やCa拮抗薬の降圧機序の解明に有用な情報を提供したものと評価できよう。

以上、本研究内容は学位論文として価値あるものと判断する。