

9024 食塩と血圧調節機構の相互関係と高血圧発症予防に関する研究

萩原 俊男(大阪大学)

ラット等の脳室内に高張食塩水を注入すると、その濃度と投与期間に依存した血圧の上昇が起こる。さらに、食塩とアンジオテンシンⅡ(AngⅡ)を同時投与すると互いに昇圧作用を増強する。我々は、いずれも単独では血圧上昇を来さない昇圧閾値以下の側脳室高張食塩水注入と、末梢へのAngⅡの併用投与で有意の昇圧が認められる事を報告した。この時、上昇した血圧が選択的 α_1 遮断薬や節遮断薬投与により有意に下降し、AngⅡの受容体拮抗薬やバゾプレッシン拮抗薬では降圧が見られなかった。それ故、本研究では、脳室内高張食塩水・末梢AngⅡ同時投与の開始と同時に、グアネチジンによる特異的な化学的交感神経遮断の状態下での血圧変化を観察し、この昇圧における交感神経系の役割の評価を目的に以下の実験を行った。

雄ウィスターラットを用い、ペントバルビタール麻酔下に側脳室内食塩水投与のためのカテーテルを右側脳室内に挿入し、カテーテルの一端はポリエチレンチューブを介し、背部の皮下に挿入した浸透圧ミニポンプ(毎時 $1\mu\text{l}$ 、7日間)に接続した。左大腿静脈にポリエチレンカテーテルを挿入し、別の浸透圧ミニポンプに接続した。ラットをプロトコールにより4群に分けた。第1群($n=11$): 0.15M NaCl 側脳室内(ICV)・AngⅡ(5.4pmol/kg/min)静脈内投与(IV); 第2群($N=9$): 0.8M NaCl ICV・AngⅡ IV; 第3群($n=5$): 0.8M NaCl 側脳室内(ICV)・AngⅡ IVに 40mg/kg/day のグアネチジンを腹腔内投与; 第4群($n=9$): 0.15M NaCl ICV・ 0.15M NaCl IV(対照群)。血圧は標準尾動脈法で測定した。ポンプ植え込み手術後、7日間の持続注入期を通じて、毎日血圧を測定した。実験終了時、断頭により採血し、血漿レニン活性と血漿アルドステロン濃度を測定した。

有意な血圧上昇は、第2群にのみ認められた(基礎値 $102\pm 3\text{mmHg}$ から第7日 $132\pm 5\text{mmHg}$ 、 $P<0.01$)。第1群では血圧の上昇を見ず(基礎値 $101\pm 2\text{mmHg}$ から第7日 $106\pm 4\text{mmHg}$ 、NS)、この量のAngⅡは昇圧閾値以下である事が再確認された。第2群の処置に加えて、腹腔内グアネチジン投与を受けた第3群では、血圧上昇が全く見られなかった(基礎値 $106\pm 2\text{mmHg}$ から第7日 $108\pm 4\text{mmHg}$ 、NS)。グアネチジン投与を受けた第3群は、PRA $0.5\pm 0.3\text{ ng/ml/hr}$ 、PAC $333\pm 49\text{ pg/ml}$ を示し、これは第2群とほぼ同等の値であった。このように、本研究では側脳室内への高張食塩水と末梢へのAngⅡの併用投与による昇圧の中心的機構としては、亢進した交感神経系が存在していることが示された。中枢神経系における食塩の状態が、交感神経の活性、さらに血圧調節に密接に関連していることが示された。

9024 食塩と血圧調節機構の相互関係と高血圧発症予防に関する研究

荻原 俊男 (大阪大学)

研究目的

食塩は生命維持に必須の物質である。動物はその内的環境の内なる”海”を維持していく上に必要なナトリウムの保持機構を長い進化の過程で獲得してきた。腎臓でのナトリウム再吸収機構は、循環・神経・内分泌系が複雑に絡み合ってその目的を効率よく果たしている。このようにして保持されたナトリウムは循環の維持に大きな役割を有している。しかし、人類は食塩が容易に入手でき、とくに文明国では日常の食物摂取でナトリウムは十分なため、その保持機構がほとんど作動しないほどになっている。むしろ、文明国において見られる加齢に伴う血圧上昇は生理的なものではなく、この食塩の過剰摂取に帰し得るとも考えられている。事実、南米のヤノマモインディアンは自然の食物のみで生活するので、食塩の摂取量はほとんど無視できるほどであるが、彼らには加齢にともなう血圧上昇が見られない。最近報告された、Intersalt 研究¹⁾の結果も食塩の摂取量と血圧との関係の重要性を示している。この例を見ても食塩は生体の血圧維持機構に非常に重要な役割を演じていることは明らかであるが、その詳細については未だ不明な点が多い。我々は、血圧維持機構のみならず高血圧の発症維持における食塩の役割を明確にするため食塩に関連した内分泌的および生理学的研究を行ってきた。特に、本研究では、脳室という中枢神経系に直接投与された高張食塩水と、強力な昇圧ホルモンであるアンジオテンシンⅡ (以下 AngⅡ) の相乗作用によって認められる血圧上昇における交感神経系の役割を評価した。

ラットをはじめ、種々の動物の脳室内に高張食塩水を注入すると、その濃度と投与期間に依存した血圧の上昇がみられる^{2, 3, 4)}。この現象は食塩が中枢を介した機構により血圧調節に関係していることを示している点で興味深い。さらに、この血圧上昇は、末梢にAngⅡを同時投与すると互いにその昇圧作用を増強し⁵⁾、共に単独では血圧上昇を来さない昇圧閾値以下の側脳室高張食塩水注入と、末梢

への Ang II の併用投与で有意の昇圧が認められる³⁾。本研究では、この昇圧における交感神経系の役割を評価すべく以下の実験を行った。

研究方法

本研究には、体重300～350gの雄ウィスターラットを用いた。室温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の部屋で個別のケージに収容し、日周期は12時間/12時間の人工周期とした。飲料水には水道水を用い、100g当りナトリウム260mg、カリウム750mgを含有するラット標準食（オリエンタル酵母、大阪）で飼育した。

ペントバルビタール50mg/kg腹腔内投与により麻酔したラットに、側脳室への持続的な食塩水投与のためのカテーテルを挿入した。脳定位固定装置（成茂、SR-6、東京）にラットを固定、頭蓋骨を露出し、直角に曲げた27G（外径:0.4mm）の注射針で作成したカテーテルを右側脳室に刺入した。刺入口は以下の座標⁶⁾で頭蓋骨にドリルで開け（AP=1.3mm, L=2.1mm, H=3.6mm）、歯科セメントと時計ネジで頭蓋骨に固定した。カテーテルの一端はポリエチレンチューブに接続し、肩甲骨間の皮下を通し背部の皮下に埋めこんだ浸透圧ミニポンプ（Alza, Model 2001, Palo Alto, CA, U.S.A.）に接続した。左大腿静脈にポリエチレンカテーテル（PE-60）を挿入し、やはり背部に埋め込んだ別の浸透圧ミニポンプ（Model 2201）に接続した。このポンプは7日間にわたり、毎時 $1 \mu\text{l}$ の流量で溶液を注入し得る。術後2日間 Ampicillin（10mg, IM）を投与し、個別のケージに収容した。実験の終了時には側脳室にカテーテルを通してIndian inkを注入し、先端が正しい位置にあることを確認した。

実験プロトコール

ラットは以下のプロトコールに従い、無作意に4群に分けた。第1群(n=11)：0.15M NaCl側脳室内(ICV)・アンジオテンシンII (Ang II、5.4pmol/kg/min 0.15M NaClに溶解) 静脈内投与(IV)；第2群(N=9)：0.8M NaCl ICV・Ang II IV；第3群(n=5)：0.8M NaCl側脳室内(ICV)・Ang II IVに40mg/kg/dayのGuanethidineを腹腔内投与；第4群(n=9)：0.15M NaCl ICV・0.15M NaCl IV（対照群）。1日当りの側脳室への食塩注入量は0.15M NaCl 群で $4 \mu\text{Eq}$ 、高張食塩水投与群で $19 \mu\text{Eq}$ に相当する。

血圧は標準尾動脈法（programmed electro-sphygmomanometer, PE-300, Narco Biosystem, Houston, TX, U.S.A.）で収縮期圧として測定した。基礎収縮期血圧値は手術前の3回の測定の平均値とした。ポンプ植え込み手術後、7日間の持続注入期を通じて、毎日血圧を測定した。実験の最後に断頭により採血し、血漿レニン活性と血漿アルドステロン濃度をRIA法で測定した。アンジオテンシンIIは蛋白質研究奨励会より購入し、グアネチジンはスイス、バーゼルのチバ・ガイギー社から供給を受けた。

統計処理

全ての値は平均±標準誤差で表記した。種々の注射の組合せによる血圧の時間的変化への影響は二元配置分散分析を用いて検討し、その他必要に応じて一元配置分散分析を使用した。この検討が有意の時、Dunnett法によって基礎値あるいは対照群との間の平均値の有意差検定を行った。P値は0.05以下をもって有意とみなした。

研究結果

第1群から第3群までの血圧変化を図1に示す。側脳室内0.15M NaClと末梢に5.4pmol/kg/minのAng IIの投与を受けた第1群では血圧の上昇を見ず(基礎値101±2mmHgから第7日106±4mmHg、NS)、この量のAng IIは昇圧閾値以下である事が再確認された。有意な血圧上昇は、側脳室内0.8M NaCl、末梢に第1群と同量のAng IIを投与された第2群にのみ認められた(基礎値102±3mmHgから第7日132±5mmHg、P<0.01)。この群では第4日目より有意の血圧上昇を示し、進行的な昇圧を示した。第2群の処置に加えて、腹腔内グアナチジン投与を受けた第3群では、血圧上昇が完全に消失した(基礎値106±2mmHgから第7日108±4mmHg、NS)。この群の血圧変化は側脳室内に0.15M NaClと静脈内Ang IIを受けた第1群と、対照群の第4群(基礎値102±2mmHgから第7日103±4mmHg、NS、図1にはデータを示さず)と本質的に同じレベルを示した。

末梢のAng II投与を受けた第1群は、対照群(第4群)に比較してPRAの低下と、PACの増加を示した(表1)。第2群において、脳室内高張食塩水・末梢Ang II同時投与は、PRAとPACの両方を低下させた。脳室内高張食塩水・末梢Ang II同時投与に腹腔内グアナチジン投与を受けた第3群は、PRA 0.5±0.3 ng/ml/hr、PAC 333±49 pg/mlを示し、これは第2群とほぼ同等の値であった。

考察

本研究において腹腔内へのグアナチジン投与は、脳室内への高張食塩水(0.8M NaCl)と末梢へのAng II(5.4 pmol/kg/min)の同時投与に際して観察される昇圧を完全に抑制した。このいずれも単独で投与した場合には昇圧を示さず、昇圧閾値以下の刺激であった。このようにグアナチジンによる化学的交感神経遮断により、単独では昇圧を惹起しない側脳室内高張食塩水・末梢Ang IIの同時投与に見られる相乗的昇圧を完全に抑制した。このことはこの昇圧モデルにおいて交感神経の過度の活動が存在していることを示している。

中枢神経系の一部である脳室内への高張食塩水が血圧上昇を引き起こすとい

う現象を初めて報告したのは、スウェーデンの Anderssonら²⁾であった。彼らはヤギの第3脳室内への高張食塩水の持続注入が血圧上昇、尿量減少、Na利尿、さらに飲水行動を起こすことを報告している。近くでは、宮島ら⁷⁾がラットの第3脳室に11日間にわたって高張食塩水(0.8M NaCl)を持続注入する事により、血圧上昇が見られた。この時、交感神経抑制的に働く前部視床下部の被刺激性が特異的に低下していることが観察され、彼らはその結果末梢交感神経に対する抑制の減弱が起こって昇圧したと考えている。しかも、その血圧上昇以前に既に圧受容器反射の減弱が見られることも報告している。彼らはこの操作を中枢への選択的食塩負荷として捉えている。さらに、SoltisとBohr⁸⁾はラット側脳室経の高張食塩水投与と末梢へのDOCA投与を併用すると、軽度ではあるが進行的な昇圧が見られることを報告した。これは、鉍質コルチコイド過剰型高血圧モデルの代表であるDOCA食塩高血圧が、通常経口食塩負荷（生理食塩水の飲用）と片腎摘出による腎実質の減少を必要とするのに対し、脳室内への高張食塩持続注入という選択的中枢食塩負荷がDOCAの昇圧作用の発現を助長したという点で意義がある。さらに、彼らはこの併用時に末梢の抵抗血管である腸間膜動脈標本の昇圧物質に対する反応性がin vitroで高まること、また、まるごとの動物においても外因性の昇圧物質に対する血圧上昇反応の増強を認めている。さらに、食塩感受性高血圧Dahl-Sラットでは経口的食塩負荷無しでも、脳室内高張食塩水投与のみで血圧上昇が認められた⁹⁾。

一方、前述のAnderssonらは第3脳室へのAng II投与によっても高張食塩水を持続投与したのと同様の反応を観察した。しかも、この現象はAng IIが等張あるいは高張食塩水の時に著しく増強され、逆に低調食塩水や蒸留水にAng IIを溶解して投与した時には減弱されることを示した¹⁰⁾。彼らは、この増強の機構として、口渴やバゾプレッシン分泌を刺激する脳細胞へのNaイオンの流入をAng IIが増強するためであろうと考えた。さらに、注入開始から効果発現までの間に時間差があることから、何らかの液性因子の関与の存在を示唆している。その後、Finkら¹¹⁾はラット側脳室へのAng IIの持続注入による昇圧は高食塩食摂取により著明に増強される事、さらに、静脈内に持続投与されたAng IIの昇圧が増塩により増強される事¹²⁾を報告した。彼らは、この昇圧増強の機序として、中枢のAng II感受性部位におけるAng IIの受容体の結合をNaイオンが高めた可能性を挙げている。このようなNa-Ang IIの相互作用の起こる部位として、視床下部や延髄の腹外側部などが挙げられる。

我々は、本研究と同量の脳室内高張食塩水・末梢Ang II同時投与により昇圧が見られ、これが交感神経系の緊張によるものであることを間接的にしめした³⁾。即ち、本研究に使用したのと同量の脳室内高張食塩水・末梢Ang II同時・7日間投与

により上昇した血圧が、選択的 α_1 遮断薬であるプラゾシン(1 μ g, IV)や、節遮断薬であるヘキサメトニウム(20mg/kg, IV)により有意に下降し、逆に Ang II の受容体レベルの選択的な拮抗薬である[Sar¹, Ile⁸]Ang II や、バゾプレッシンの血管受容体(V₁)での選択的拮抗薬ではいずれも有意な降圧が見られなかった(図2)。それ故、本研究の目的は、脳室内高張食塩水・末梢Ang II 同時投与の開始と同時に、より特異的にグアネチジンによる化学的交感神経遮断の状態下での血圧変化を観察した。本研究で使用されたグアネチジンの量は従来¹³⁾の報告によれば、交感神経活動を完全に抑制するに十分な量である¹³⁾。

本研究では、末梢 Ang II 投与により血漿レニン活性の抑制とアルドステロン分泌上昇が見られるが、側脳室内高張食塩水投与によってレニン活性の抑制が起こり、アルドステロン分泌に関しては抑制方向に作用することを示した。河野ら¹⁴⁾によれば脳室内への急性の高張食塩水投与が腎交感神経を抑制することにより血漿レニン活性を低下させることが示されている。この場合も、同様の機序で血漿レニン活性の低下が起こったものと考えられる。また、血圧上昇の見られた第2群においては、その血圧上昇が血漿レニン活性抑制に働いたとも考えられる。さらに、バゾプレッシンの分泌刺激を介する血漿レニン活性低下も可能性としては存在するが、我々の以前の成績³⁾ではバゾプレッシンの血管の受容体拮抗薬によりこの昇圧刺激の組合せで上昇した血圧が変化を受けなかったので、バゾプレッシン系は少なくとも主要な昇圧機構ではないと結論しうる。しかし、高張食塩水の投与経路によってはバゾプレッシンが主要な昇圧機構となることが報告されている。Cisterna magna への高張食塩水投与による血圧変化の機構を検討した佐々木ら¹⁵⁾は、バゾプレッシンの反応性分泌がこの昇圧の主要な要素であることを証明している。

本研究では、側脳室内への高張食塩水と末梢への Ang II の併用投与による昇圧機序の解明を試みた。その結果、なおその詳細は不明であるにしても、この二つの刺激による昇圧の中心的機構としては、亢進した交感神経系が存在していることが示された。結論的には本研究に用いた側脳室内への高張食塩水と末梢への Ang II の併用による昇圧は、交感神経の活動が重要な関わりを持っている事が示された。

今後の課題

本研究では、側脳室内への高張食塩水と末梢への Ang II の併用による昇圧は、交感神経の活動が重要な関わりを持っている事が示された。高血圧、特にその発症機構中に占める交感神経系の重要性が示された。今後は、さらに、この昇圧における延髄腹外側部のアミン性及びアミノ酸性神経伝達物質の動態を脳定位固定下に微小透析法により研究していく予定である。

REFERENCES

1. Stamler J, Rose G, Elliot P and et al.: Findings of the international cooperative INTERSALT study. **Hypertension** 1991; 17[suppl. I]:I-9-I-15
2. Andersson B, Jobin M, Olsson K: A study of thirst and other effects of an increased sodium concentration in the 3rd brain ventricle. **Acta Physiol Scand** 1967;69:29-36
3. Katahira K, Mikami H, Ogiwara T et al: Synergism of intraventricular NaCl infusion and subpressor angiotensins in rats. **Amer J Physiol** 1989; 256:H1-H8
4. Kawano Y, Sudo TR, Ferrario CM: Effects of chronic intraventricular sodium on blood pressure and fluid balance. **Hypertension** 1991; 17:28-35
5. Andersson B, Eriksson L, Fernandez O, Kolmodin C-G, Oltner R: Centrally mediated effects of sodium and angiotensin II on arterial blood pressure and fluid balance. **Acta Physiol Scand** 1972; 85:398-407
6. Paxinos G, Watson G: The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, Australia, Sydney, P75, 1986
7. Miyajima E, Bunag RD: Chronic cerebroventricular infusion of hypertonic sodium chloride in rats reduces hypothalamic sympathoinhibition and elevates blood pressure. **Circulation Research** 1984;54:566-575
8. Soltis EE, Bohr DF: Central action of sodium chloride on blood pressure and vascular responsiveness in the rat. **Hypertension** 1986; 8(suppl. I): I-52-I-55
9. Katahira K, Mikami H, Otsuka A et al: Differential blood pressure responses to oral and central salt administration in two substrains of Dahl rats. **Amer J Hypertens** 1990;3:274-280
10. Andersson B, Eriksson L, Fernandez O: Reinforcement by sodium ion of centrally mediated hypertensive response to angiotensin II. **Life Sci** 1971; 10(part 1):633-638
11. Fink GD, Haywood JR, Owens JM, Bruner CA: Sodium and the central nervous system in chronic angiotensin-induced hypertension in the rat (abstract). **Fed Proc** 1982;41:1585
12. Bruner CA, Weaver JM, Fink GD: Sodium-dependent hypertension produced by chronic central angiotensin II infusion. **Amer J Physiol** 1985;249:H321-H327
13. Nielsen GD: Guanethidine induced sympathectomy in the adult rat. II. Functional effect following chronic administration. **Acta Pharmacol et Toxicol** 1977; 41:209-217
14. Kawano Y, Ferrario CM: Neurohormonal characteristics of cardiovascular response due to intraventricular hypertonic NaCl. **Amer J Physiol** 1984; 247: H422-H428
15. Sasaki S, Takeda H, Okajima H et al: Pressor responses to intracisternal injection of hypertonic NaCl in rats. **J Cardiovasc Pharmacol** 1984;6:349-354.

TABLE 1. Effects of guanethidine in concomitant infusions of ICV NaCl with IV angiotensin II on PRA and PAC in rats.

Group	n	ICV NaCl	IV	IP	PRA (ng/ml/hr)	PAC (pg/ml)
1	11	0.15 M	AII	none	1.1 \pm 0.3**	744 \pm 65***
2	9	0.8 M	AII	none	0.4 \pm 0.1***	361 \pm 31*
3	5	0.8 M	AII	Guanethidine	0.5 \pm 0.3**	333 \pm 49
4	9	0.15 M	Vehicle	none	2.7 \pm 0.2	273 \pm 32

Values are means \pm SE. PRA, plasma renin activity; PAC, plasma aldosterone concentration. Vehicle, 0.15 M NaCl; AII, angiotensin II; AII was given at a subpressor dose of 5.4 pmol/kg/min. Solutions were infused with an osmotic minipump at a rate of 1 μ l/hr for 7 days. Guanethidine given ip 40 mg/kg/day. *P<0.05, **P<0.005, ***P<0.001, vs. Group 4.

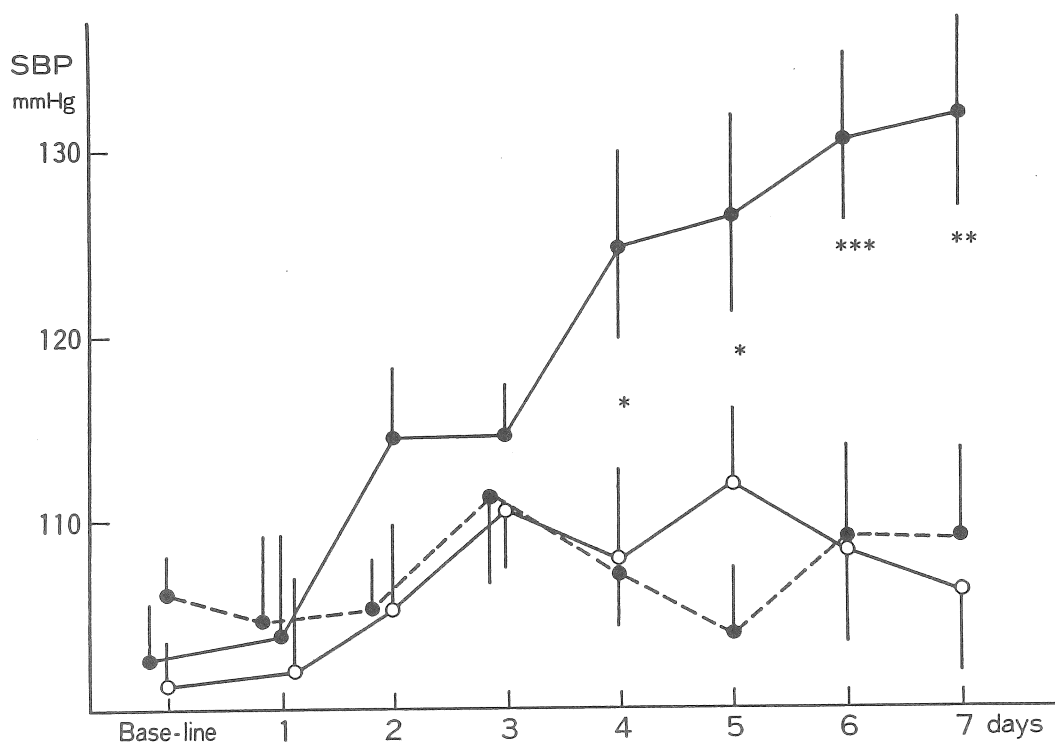


Figure 1.

Prevention by intraperitoneal administration of guanethidine (40mg/kg/day) of increase in blood pressure in response to concomitant infusions of ICV 0.8M NaCl and IV AII (5.4 pmol/kg/nin).

○—○ : Group 1, ICV 0.15M NaCl and IV AII (n=11);

●—● : Group 2, ICV 0.8M NaCl and IV AII (n=9);

●- - -● : Group 3, ICV 0.8M NaCl and IV AII + guanethidine (n=5)

* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.005 vs guanethidine group.

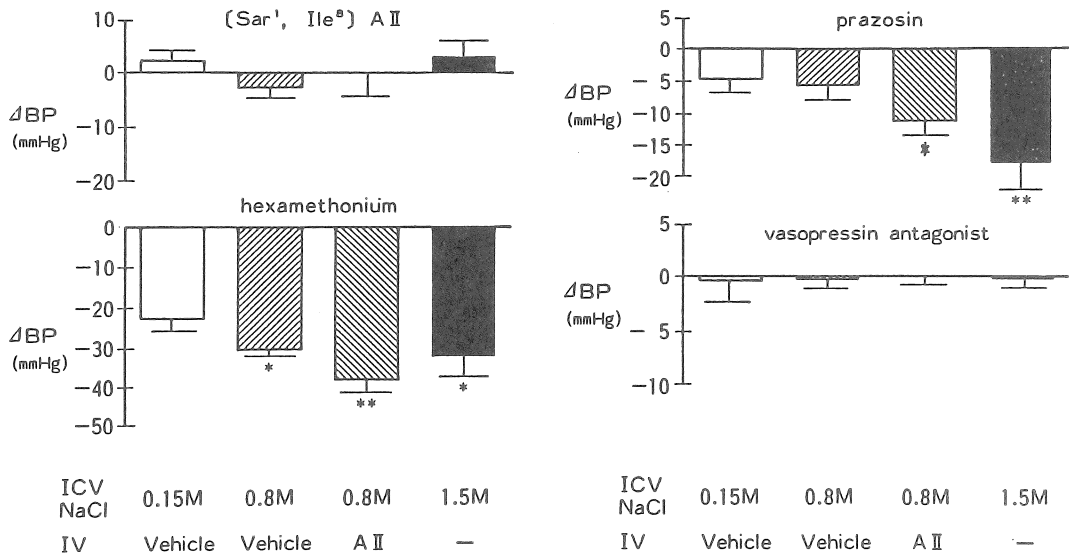


Figure 2

Blood pressure changes to blockade of pressor systems in conscious rats on chronic infusions of ICV hypertonic NaCl with or without IV Ang II.

Values are means \pm SE; Vehicle, 0.15M NaCl; [Sar¹, Ile⁸]Ang II (300ng/min IV for 10 min); prazosin (1 μ g IV); Hexamethonium (20 mg/kg, IV); vasopressin antagonist for vascular (V1) receptor (10 μ g/kg, IV); Ang II was given in a subpressor dose of 5.4 pmol/kg/min. Infusions of 0.15M and 0.8M NaCl ICV were done at a rate of 1 μ l/h for 7 days and that of 1.5M NaCl was done at 5 μ l/h for 14 days. * P<0.05, ** P<0.01 vs. vehicle control.

STUDIES ON THE RELATIONSHIP BETWEEN SALT AND
BLOOD PRESSURE CONTROL MECHANISMS AND
THE PREVENTION OF HYPERTENSION

Importance of the Sympathetic Nervous System in Blood Pressure
Elevation by Subpressor Intraventricular NaCl and
Angiotensin II in the Rat

Toshio Ogihara

Hiroshi Mikami, Katsutoshi Katahira, Atsuhiro Otsuka

Department of Geriatric Medicine
Osaka University Medical School
Osaka 553, Japan

Summary

This study was performed to examine the effect of chemical sympathectomy with guanethidine on the BP change and humoral factors in rats which received continuous infusion of ICV hypertonic NaCl concomitantly with IV Ang II both at subpressor doses for 7 days. Male rats were divided into 3 groups which received the following infusions using an osmotic minipump at a rate of 1 μ l/hr: Group 1 (n=11), 0.15M NaCl ICV and Ang II (5.4 pmol/kg/min) IV; Group 2 (n=9), 0.8M NaCl ICV and Ang II IV; Group 3 (n=5), 0.8M NaCl ICV and Ang II IV with daily ip injection of guanethidine (40 mg/kg). Significant increase in BP was observed only in Group 2 (from 103 \pm 3 mmHg to 132 \pm 5 mmHg on day 7, $p < 0.001$). Addition of ip guanethidine to ICV infusion of 0.8M NaCl and the subpressor dose of Ang II completely prevented increase in the BP. These results suggest that the presence of the intact sympathetic nervous system is necessary for the development of BP elevation in response to ICV hypertonic NaCl plus IV Ang II. Thus, the sodium status in the central nervous system is important in the regulation of BP and is closely related with the activity of the sympathetic nervous system.