

助成番号 0731

Dahl 食塩感受性高血圧ラットにおける腎血管自動調節能異常の機序の解明

佐藤 稔, 藤本 壮八, 柏原 直樹

川崎医科大学 内科学 (腎)

概要 高血圧による血管病変では、早期より活性酸素種(ROS)の産生亢進と一酸化窒素(NO)減少を伴う内皮機能障害が生じる。糸球体前血管である輸入細動脈には糸球体内圧・血流量を全身血圧非依存性に一定に保持する自動調節能が賦与されている。末期腎不全に至る多くの慢性腎疾患では、この自動調節能の破綻による糸球体高血圧が腎障害の主因とみなされている。我々は「高血圧性腎障害の早期過程において、内皮機能障害が腎血管自動調節能の破綻に関与している」との仮説を立て、以下の解明を試みた。(1)高血圧性腎障害におけるROSとNOの産生変化を両者の均衡破綻という視点から解析する、(2)ROS/NOの不均衡と腎血管自動調節能異常との関連を検討する、(3)ROS/NO不均衡の是正による腎血管自動調節能の回復効果を検討する。

高血圧性腎障害モデルラットDahl-salt sensitive (DS)ラット(n=40)を用いた。8% NaCl食投与6週後にHydralazine (15.0 mg/kg/day)、あるいはAngiotensin受容体拮抗薬(ARB) Telmisartan (3.0 mg/kg/day)の投与を2週間行い以下の検討に供した。NO・ROSの腎組織での検出は、我々の開発した組織上で両者を同時に可視化する以下の方法を用いた。活性酸素種検出蛍光試薬Dichlorofluorescein diacetateと、NO検出蛍光試薬Diaminorhodamine-4M AMとを経心臓的に灌流した腎組織を共焦点レーザー顕微鏡を用いて、同時に可視化検出した。腎血管自動調節能の測定には単離腎を用い血管抵抗測定により評価した。単離糸球体抽出蛋白を用いてNAD(P)H oxidase、NOS等の活性変化を解析した。

高血圧発症早期より、腎血管の自動調節能異常が認められた。腎組織のROS産生は高血圧発症後に経時的に糸球体及び、輸入細動脈で亢進していた。対照的に、NOは同部位で著明に低下していた。ROS産生経路はNAD(P)H oxidase及びNOSのUncouplingによるものであることが判明した。Telmisartan投与によりROS/NO不均衡は是正され、同時に腎自動調節能の改善も認められた。

高血圧性腎障害では、糸球体前血管においてNAD(P)H Oxidase活性化によるROS産生が亢進し、補酵素BH4の酸化によりNOSのUncouplingが生じる。NOSのUncouplingによりROS産生はさらに亢進し同時にNO産生低下を惹起する。このROS/NO不均衡が腎血管の自動調節能破綻に関与する。ARBはROS産生制御を介してROS/NO不均衡を改善させ、自動調節能の維持・回復に寄与し、高血圧性腎障害進展を抑制しうると考えられる。

1. 研究目的

「高食塩摂取時の高血圧発症機序、高血圧性臓器障害のメカニズムを明らかにする」

末期腎不全の原因疾患として動脈硬化性腎硬化症が増加している。高血圧による血管病変では、早期より活性酸素種(ROS)の産生亢進と一酸化窒素(NO)減少を伴う内皮機能障害が生じている。糸球体前血管である輸入細

動脈には糸球体内圧・血流量を全身血圧非依存性に一定に保持する自動調節能が賦与されているが、末期腎不全に至る多くの慢性腎疾患では、この自動調節能の破綻による糸球体高血圧が腎障害の主因とみなされている。高塩分負荷は腎機能障害時の内皮機能低下を加速させ、組織障害を増強させると考えられる。しかし、食塩感受性高血圧の腎障害における腎内微小血管系の早期病変の

本態とその機序は依然不明である。我々は「食塩感受性の高血圧性腎障害の早期過程では、腎内微小血管系の酸化ストレス亢進と、NOの低下(ROS/NOの不均衡)が生じ、腎血管自動調節能の破綻に関与している」との仮説を立て、以下の三つの目的を設定し解明を試みる。(1)高血圧性腎障害におけるROS/NO不均衡の実態を検出・解析する、(2)ROS/NOの不均衡と腎血管自動調節能異常との関連を検討する、(3)ROS/NO不均衡の是正による腎血管自動調節能の改善、ならびに血管障害進展抑制効果を検証する。

2. 研究方法

2.1 実験プロトコール(Figure 1)

8週齢雄性 Dahl 食塩感受性(DS)ラット(n=60)を用いた。8% NaCl 食投与 6週後に Vehicle(DS-H; n=15)、Hydralazine(15.0 mg/kg/day, 飲水投与, DS-H-Hyd; n=15)、あるいはアンジオテンシン受容体拮抗剤(ARB) Telmisartan(3.0 mg/kg/day, 混餌投与, DS-H-Tel; n=15)の投与を2週間行った。DSラット 0.3% NaCl 食+Vehicle 投与(DS-L; n=15)を対照群として用いた。

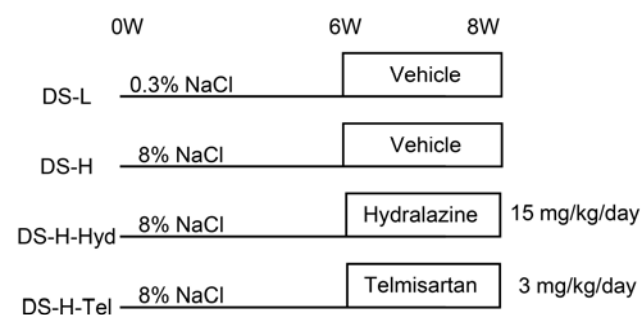


Figure 1. Experimental protocol. 8wk old Dahl salt sensitive rats were used. N=15 in each group.

2.2 検討項目

2.2.1 収縮期血圧

各群の収縮期血圧(SBP)は非観血式自動血圧測定装置(Softron BP-98A)を用いて Tail cuff 法にて測定を行った。実験開始8週(屠殺前)に測定した。

2.2.2 尿蛋白排泄量

実験開始前、開始後8週(屠殺前)に代謝ゲージで蓄尿を行い、BioRad社DC protein assay(Lowry法)にて蛋

白濃度を測定した。

2.2.3 血清学的検討

屠殺時に経心臓的に採取した血清を用い、BUN、Cre値を測定し腎機能評価をおこなった。

2.2.4 組織学的変化

4% パラホルムアルデヒドを用い灌流固定した腎臓を用い、4 μm 厚のパラフィン切片を作成し、PAS染色を行った。糸球体のPAS陽性染色部位の割合により、4段階評価を行った(Score 0; 0-25%, Score 1; 26-50%, Score 2; 51-75%, Score 3; 76-100%)。各ラット30個の糸球体を計測し平均値を算出した。各群5匹の腎組織を評価した。

2.2.5 ROS産生経路

リン酸緩衝液(PBS)灌流したラット腎臓から、シービング法にて糸球体を単離した。蛋白抽出液(PIERCE社; T-PER Tissue Protein Extraction Reagent)にて抽出した腎糸球体抽出蛋白を用い、Dihydroethidium(DHE)にてROS産生系を検討した⁽¹⁾。すなわち、抽出蛋白20 μgに0.5 mg/mL ssDNA、20 μM DHEを添加し、蛍光マイクロプレートリーダーにて蛍光(excitation 480 nm, emission 610 nm)を計測した。NADPH oxidase 活性化のため NADH(100 mM)を、NO合成酵素(NOS)活性化のため L-arginine(1 mM)を、NOS不活性化のため L-NAME(1 mM)を、Mitochondrial respiratory enzyme 系活性化のため(50 mM)を、Xanthine oxidase 系活性化のため Xanthine(100 mM)を添加した。また、NOS uncoupling 検討のため、NOS補酵素である Tetrahydrobiopterin(BH4; 10 mM)の添加も行った。

2.2.6 NOS uncoupling

2.2.6.1 In situ NO/ROS産生

ROS 蛍光指示薬 Dichlorofluorescein diacetate(DCFH DA)、NO 蛍光指示薬 Diaminorhodamine(DAR)-4M AMの灌流により in situ での NOS couplinbg 状況を可視化検出した⁽²⁾。具体的には、まず、エーテル麻酔後、PBSで10分間、経心臓的に全身灌流した。0.01 mM DAR-4M AM、0.05 mM DCFH DA、0.1 mM L-arginine、2 mM CaCl₂を含むPBSで10分間灌流し、4% パラホルムアルデヒドで腎臓を圧固定し1 mm厚に薄切した。その後、共焦点レーザー顕微鏡にて NO(excitation 560 nm, emission 575 nm)、ROS(excitation 510 nm, emission 560 nm)を観察した。

2. 2. 6. 2 内皮型 NOS(eNOS) western blot

腎糸球体抽出蛋白を用い、eNOS 蛋白発現、eNOS dimer/monomer 比を western blot 法にて検出した。SDS-PAGE にて蛋白を展開後、一次抗体にウサギ抗 eNOS 抗体(SantaCruz 社)を、二次抗体にペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体を用い、ECL 試薬(Amersham 社)で発光後、X線フィルムで検出した。eNOS dimer/monomer 検出には、dimer 構造を保つため、サンプルを95°Cでの加熱行程は行わず、さらに 4°Cの低温で SDS-PAGE を行った。

2. 2. 7 Real-time PCR

BH4 合成酵素である GTP cyclohydrolase 1(GTPCH1) の mRNA 発現量を検討した。

2. 2. 8 血清ビオプテリン濃度

血清 BH4、dihydrobiopterin(BH2)濃度を HPLC にて測定した⁽²⁾。

2. 2. 9 血管内皮機能

左腎動脈を用い、血管弛緩反応を測定した。内皮依存性弛緩反応は、アセチルコリンに対する血管弛緩反応を測定した。また、内皮非依存性弛緩反応は、ニトロプルシドに対する血管弛緩反応を測定した⁽³⁾。

2. 2. 10 腎血管自動調節能

腎流量負荷に対する血管抵抗の変化を測定し評価した⁽⁴⁾。腹部大動脈を露出し、下肢側より腎動脈起始部へ圧センサーを挿入した。腎動脈起始部頭側から 6.5% BSA 添加クレブスリンゲル液(6.5 g/100ml bovine serum albumin, 5

mM D-glucose, complement of amino acids)を、流量を変化させながら注入し、圧変化を測定した。各群 5 匹のラットを用いた。

2. 3 統計学的処理

分散検定を F 検定にて行い、等分散の場合はスチューデントの t 検定を、等分散でない場合はウェルチの t 検定を用いて解析した。P < 0.05 を統計学的に有意差ありとした。

3. 研究結果

3. 1 生理学的検査(Table 1)

収縮期血圧は DS-H 群で DS-L 群に比較し、有意に上昇していた。DS-H-Hyd 群、DS-H-Tel 群は DS-H 群に比較し、有意に血圧低下が認められたが、両群に差はなかった。血清クレアチニン値、尿素窒素値は DS-H 群で DS-L 群に比較し、有意に上昇していた。DS-H-Hyd 群、DS-H-Tel 群は DS-H 群と差はなかった。尿蛋白量は DS-H 群で DS-L 群に比較し、有意に増加していた。DS-H-Hyd 群、DS-H-Tel 群は DS-H 群に比較し、有意に低下しており、DS-H-Tel 群は DS-H-Hyd 群よりさらに低下していた。

3. 2 組織学的検査(Table 1)

糸球体硬化指数は DS-H 群で DS-L 群に比較し、有意に増加していた。DS-H-Hyd 群、DS-H-Tel 群は DS-H 群に比較し、有意に低下しており、DS-H-Tel 群は DS-H-Hyd 群よりさらに低下していた。

Table 1. Pathophysiological data

	DS-L	DS-H	DS-H-Hyd	DS-H-Tel
Physiological data (n = 15)				
BW (g)	433 ± 10	386 ± 7*	402 ± 9	402 ± 8
SBP (mmHg)	114 ± 2	190 ± 3*	136 ± 3 [†]	134 ± 3 [†]
Serum creatinin (mg/dl)	0.27 ± 0.01	0.37 ± 0.02*	0.35 ± 0.02	0.38 ± 0.02
Blood urea nitrogen (mg/dl)	18.9 ± 1.0	24.2 ± 1.3*	22.9 ± 1.8	22.3 ± 1.1
Urinary protein excretion (mg/day)	27.0 ± 2.9	106.4 ± 6.9*	70.7 ± 5.7 [†]	52.1 ± 3.3 ^{†S}
Histology (n = 5)				
Glomerular damage (score 0 - 4)	0.18 ± 0.02	1.35 ± 0.14*	1.10 ± 0.06 [†]	0.79 ± 0.08 ^{†S}

Data shows as mean ± SD. BW; body weight, SBP; systolic blood pressure.

*P < 0.05 vs. DS-L, [†]P < 0.05 vs. DS-H, ^SP < 0.05 vs. DS-H-Hyd.

3. 3 ROS 産生経路

DHE assay による ROS 産生は DS-H 群で DS-L 群に比較し、有意に増加していた (Figure 2A)。この産生増加は NADH、L-Arg の添加により増加した。逆に L-NAME の添加により低下した。Succinate、Xanthine の投与では ROS 産生増加はみられなかった。

DS-H-Hyd 群でも DS-H 群同様に L-Arg 添加で ROS 産生は増加した (Figure 2B)。この増加は BH4 の同時添加で低下した。DS-H-Tel 群では、L-Arg 添加で ROS 産生は増加しなかった。

3. 4 NOS coupling

NO 蛍光指示薬 DAR、ROS 蛍光指示薬 DCFH を in situ で L-Arg、Ca²⁺ 存在下で灌流し、NOS Coupling を可視化した。すなわち、NOS coupling している状態では NO 産生により DAR が反応し赤色を、NOS uncoupling 状態では ROS 産生により DCFH が反応し緑色を呈する。DS-L 群では NO 産生が糸球体、輸入細動脈、葉間動脈に認められた (Figure 3)。DS-H 群、DS-H-Hyd 群では逆に ROS 産生が糸球体、輸入細動脈、小葉間動脈に認められた。DS-H-Tel 群では ROS 産生は低下し、NO 産生が回復していた。

eNOS 蛋白質発現は 4 群間で差が無かったが、DS-H 群、DS-H-Hyd 群では monomer の比率が増加していた (Figure 4)。DS-H-Tel 群では monomer が減少し、dimmer が増加していた。

3. 5 BH4 産生

生体内の主要な BH4 産生酵素の一つである GTPCH1 の mRNA 発現は DS-L 群と比較し、DS-H 群で有意に増加していた (Figure 5A)。DS-H-Hyd 群、DS-H-Tel 群は DS-H 群と比較し変化なかった。血清 BH4 濃度は DS-H 群、DS-H-Hyd 群で低下し、DS-H-Tel 群では低下していなかった (Figure 5B)。逆に血清 BH2 濃度は DS-H 群、DS-H-Hyd 群で増加し、DS-H-Tel 群では増加していなかった。

3. 6 内皮機能

血管内皮機能はアセチルコリンによる血管弛緩反応で判定した (Figure 6A)。血管内皮依存性弛緩反応は DS-H 群で DS-L 群に比較し、有意に低下していた。DS-H-Hyd 群は DS-H 群に比較し有意に改善していた。DS-H-Tel 群は DS-H-Hyd 群よりさらに低下改善していた。血管内皮非依存性弛緩反応には 4 群間で差はなかった (Figure 6B)

3. 7 腎血流自動調節機能

腎灌流量負荷に対する血管内圧の変化を測定し評価した (Figure 7)。内圧上昇に伴い、灌流量は各群ともに増加するが、その変化率より算出する Autoregulatory Index (AI) は、DS-L 群で 0.18、DS-H 群で 0.62 と DS-H 群では自動調節脳の悪化が認められた。DS-H-Hyd 群では自動調節能は改善せず (AI=0.71)、DS-H-Tel 群では改善していた (AI=0.42)。

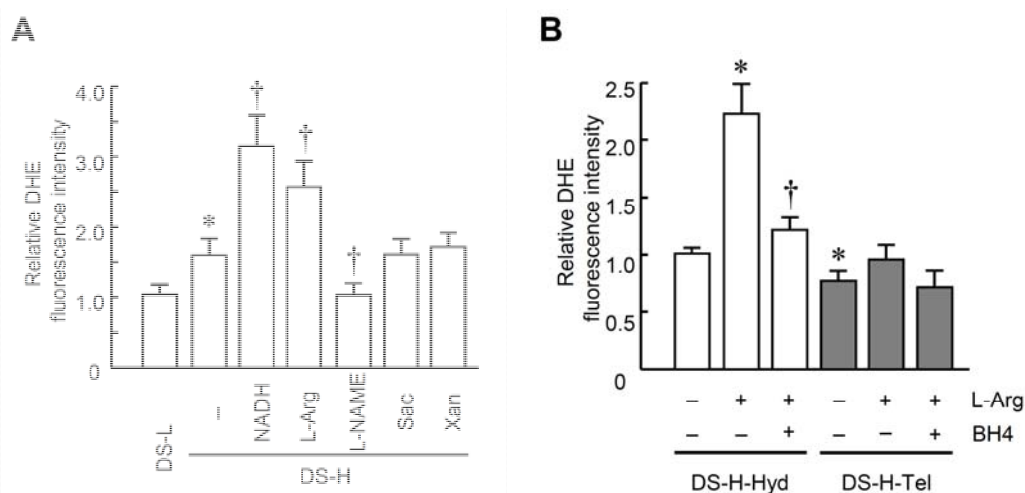


Figure 2. Source of ROS production. ROS production was measured by DHE assay. (A) L-Arg; L-arginine, Sac; Succinate+antimycin, Xan; Xanthine. N=5 in each group. *P<0.05 vs DS-L. †P<0.05 vs DS-H (-). (B) N=5 in each group. *P<0.05 vs DS-H-Hyd (-). †P<0.05 vs DS-H-Hyd L-Arg(+).

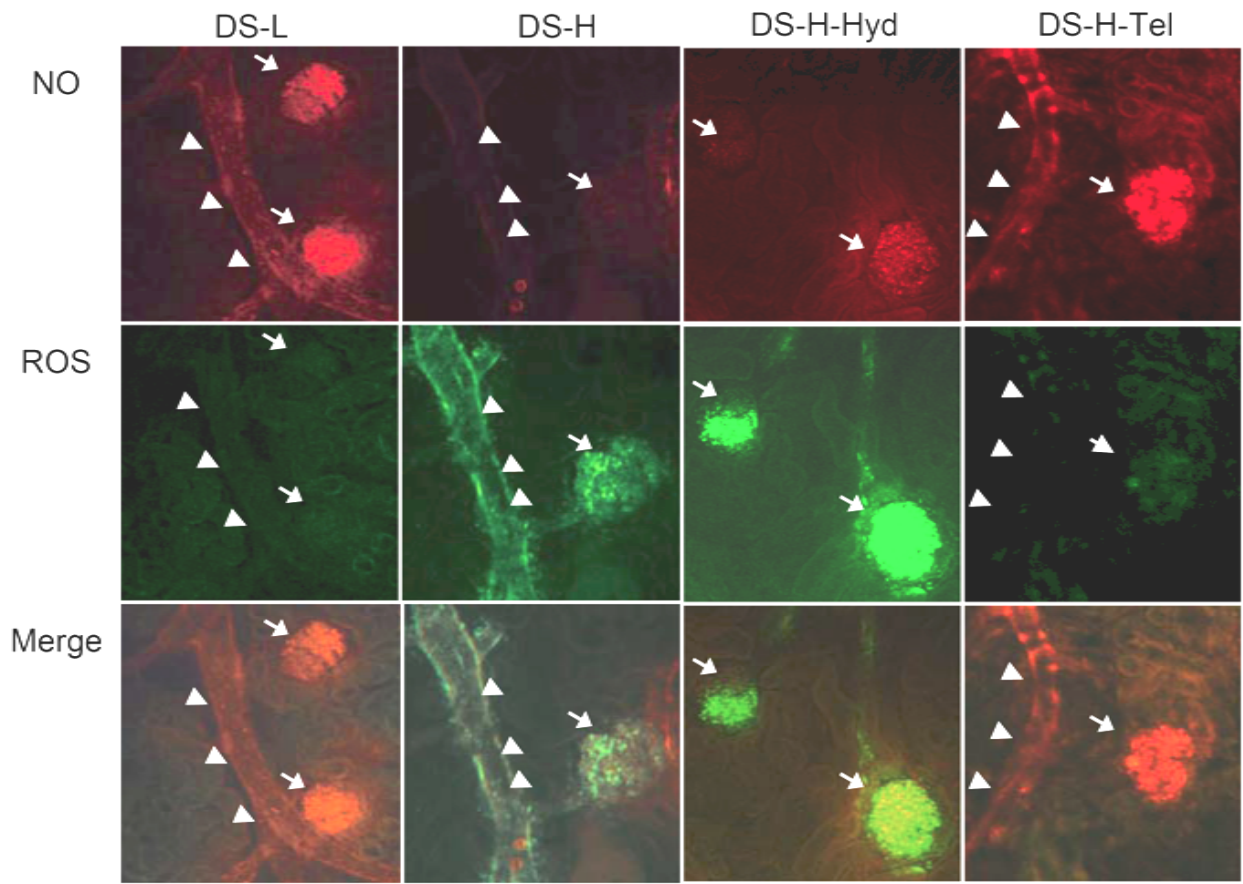


Figure 3. In situ detection of NO/ROS balance. Arrow indicate glomeruli. Arrow head indicate small lobular artery.

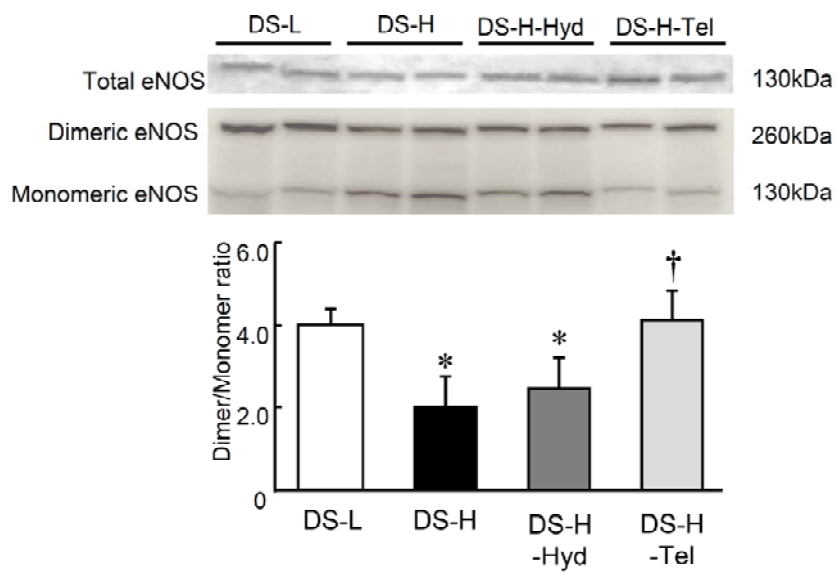


Figure 4. eNOS western blot analysis. Dimer/Monomer eNOS were expanded by low temperature SDS-PAGE. *P < 0.05 vs DS-L, †P < 0.05 vs DS-H-Hyd.

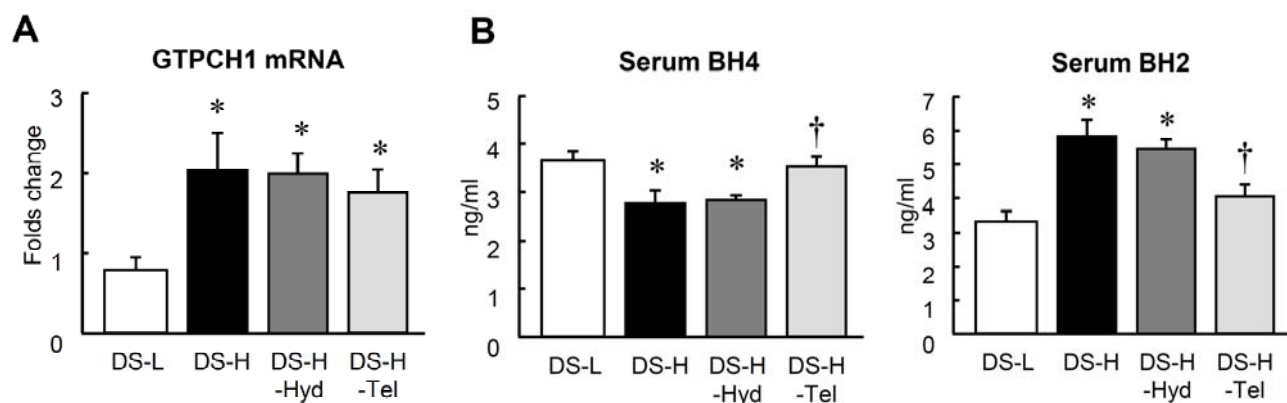


Figure 5. Biopterin production. (A) Real-time PCR for GTPCH1 mRNA expression. *P < 0.05 vs DS-L. (B) Serum BH4 and BH2 concentration. *P < 0.05 vs DS-L, †P < 0.05 vs DS-H-Hyd.

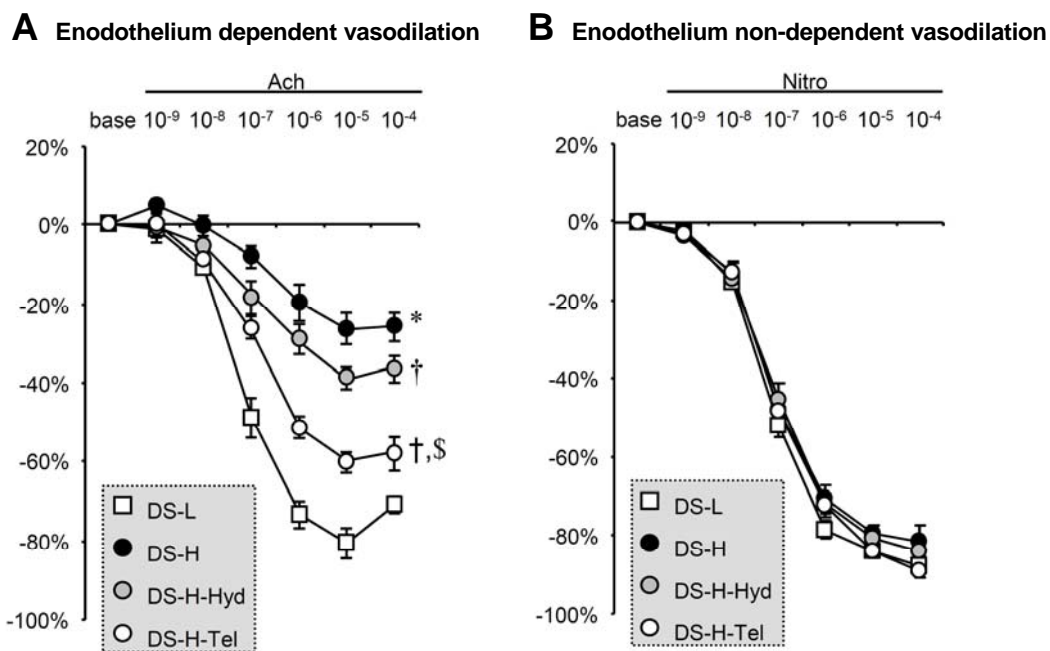


Figure 6. Endothelial function. (A) Endothelium dependent vasodilation. (B) Endothelium non-dependent vasodilation. *P < 0.05 vs DS-L, †P < 0.05 vs DS-H, ‡P < 0.05 vs DS-H.

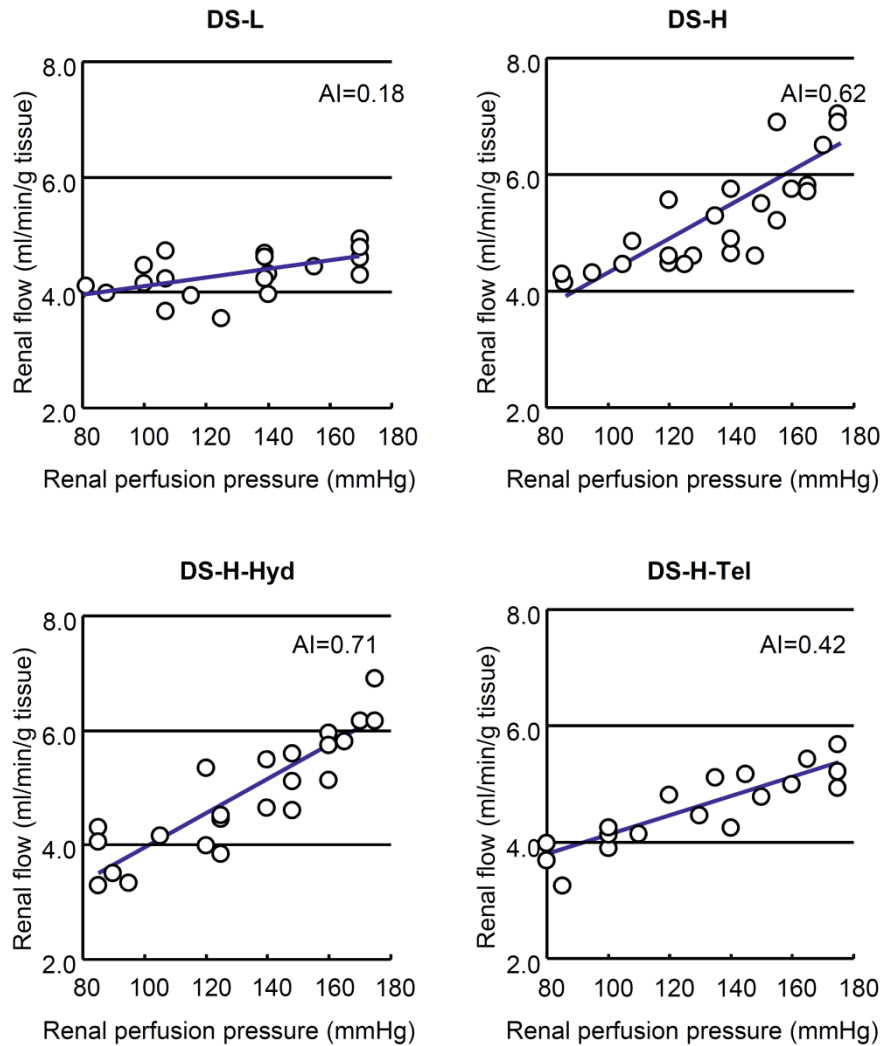


Figure 7. Renal flow autoregulation. Each group containing N = 5. Autoregulatory Index = [(RF2-RF1)/RF1]/[(RPP2-RPP1)/RPP1].

4. 考 察

本研究にて我々は、食塩感受性高血圧性腎障害では、糸球体前血管において NAD(P)H Oxidase 活性化による ROS 産生が亢進し、補酵素 BH4 の酸化により NOS の Uncoupling が生じること、ROS/NO 不均衡が腎血管の自動調節能破綻と関連していること、ARB は ROS 産生制御を介して ROS/NO 不均衡を改善させ、自動調節能の維持・回復に寄与し、高血圧性腎障害進展を抑制しうることが明らかになった。

我々はストレプトゾトシンによる 1 型糖尿病ラットモデルの腎臓において NAD(P)H Oxidase 活性化と eNOS uncoupling が活性酸素の産生源であることを以前報告した⁽²⁾。Dahl 食塩感受性高血圧モデルにおいても腎髄質

で NOS uncoupling が生じていることが報告されている⁽⁵⁾。今回の我々は腎臓糸球体においても NOS uncoupling が生じていることを明らかにした。eNOS uncoupling は腎臓病だけでなく、動脈硬化⁽⁶⁾、糖尿病の大血管⁽⁶⁾の内皮機能障害にも関与しており、血管内皮の NO 産生低下の共通機序ではないかと考えられる。

Dahl 食塩感受性高血圧ラット糸球体では、NADPH oxidase 活性化も生じていることを明らかにした。NADPH oxidase 活性化は ROS 産生を増加させ、内皮機能低下につながる重要な役割を果たしている⁽⁷⁾。NADPH oxidase 由来の活性酸素は、BH4 を BH2 へ酸化し、eNOS uncoupling の原因となっている可能性がある。また、NADPH oxidase により産生された活性酸素は NO と速や

かに反応し、パーオキシナイトライト(ONOO-)を生じる。この ONOO- は蛋白と反応すると、蛋白のニトロチロシン化を促進する。eNOS のニトロチロシン化が eNOS dimer 化を阻害している可能性もある。また、BH4 の産生酵素である GTPCH1 は ONOO- 存在下では、分解が促進される⁽⁸⁾。このため BH4 産生が低下し、eNOS uncoupling を生じているのかもしれない。

eNOS uncoupling は ARB 投与により大きく改善していた。ARB が eNOS uncoupling を改善した機序は NADPH oxidase 活性化抑制による ROS 産生低下が大きな要因をしめると考える。NADPH oxidase 活性化と NOS uncoupling には密接な関連があり⁽⁹⁾、NADPH oxidase の抑制が NOS uncoupling を改善することが報告されている⁽¹⁰⁾。

eNOS が正常に NO を産生できない状況では、ROS と NO の均衡が破綻し、機能異常を生じることとなる。我々は、腎動脈での血管内皮弛緩反応を測定したが、NO/ROS 不均衡の生じている Dahl 食塩感受性ラットでは有意に低下していた。また、腎血管自動調節能も測定したが、Dahl 食塩感受性ラットではやはり有意に低下していた。進行性腎障害モデルである 5/6 腎摘ラットにおいても腎血管自動調節能は有意に低下指していた⁽¹¹⁾。腎血管自動調節能は筋原反応と尿細管糸球体フィードバック(TGF)の二つの機構により調整されている⁽¹²⁾。通常、正常ラットでは、アンジオテンシンは TGF を増強させ、腎自動調節能を促進する働きがある^(13, 14)。今回の我々の結果では、Dahl 食塩感受性高血圧ラットにおいては、ARB により腎自動調節能は改善していた。ARB により血管内皮機能が維持・改善され、血管構築の変化を抑制できたために、正常に近い腎自動調節能を保持できたのかもしれない。

5. 今後の課題

本研究にて、高血圧性腎障害における ROS/NO 不均衡を検出・解析し、ROS/NO 不均衡と腎血管自動調節能異常との関連を明らかにした。また、ARB による ROS/NO 不均衡の是正が腎血管自動調節能の改善、ならびに血管障害進展抑制効果を発揮することも明らかにした。しかしながら、同じ Dahl 食塩感受性ラット腎障害に対する ARB の効果を検討した実験⁽¹⁵⁾では、ARB により臓器障害は増悪していた。ARB の種類、投与期間の違いにより生じたものかは定かではない。今後、他の 5/6 腎摘モデル、加齢腎

モデルなどの食塩感受性腎障害モデルでの検討により、我々の「食塩感受性の高血圧性腎障害の早期過程では、腎内微小血管系の酸化ストレス亢進と、NO の低下が生じ、腎血管自動調節能の破綻に関与している」との仮説を証明していきたい。

文献

1. Zou AP, Li N, Cowley AW, Jr. Production and actions of superoxide in the renal medulla. *Hypertension* 2001; 37: 547-553.
2. Satoh M, Fujimoto S, Haruna Y, Arakawa S, *et al.* NAD(P)H oxidase and uncoupled nitric oxide synthase are major sources of glomerular superoxide in rats with experimental diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288: F1144-1152.
3. Haruna Y, Morita Y, Yada T, Satoh M, *et al.* Fluvastatin reverses endothelial dysfunction and increased vascular oxidative stress in rat adjuvant-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 1827-1835.
4. Griffin KA, Abu-Naser M, Abu-Amarah I, Picken M, *et al.* Dynamic blood pressure load and nephropathy in the ZSF1 (fa/fa cp) model of type 2 diabetes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F1605-1613.
5. Taylor NE, Maier KG, Roman RJ, Cowley AW, Jr. NO synthase uncoupling in the kidney of Dahl S rats: role of dihydrobiopterin. *Hypertension* 2006; 48: 1066-1071.
6. Oelze M, Mollnau H, Hoffmann N, Warnholtz A, *et al.* Vasodilator-stimulated phosphoprotein serine 239 phosphorylation as a sensitive monitor of defective nitric oxide/cGMP signaling and endothelial dysfunction. *Circ Res* 2000; 87: 999-1005.
7. Ray R, Shah AM. NADPH oxidase and endothelial cell function. *Clin Sci (Lond)* 2005; 109: 217-226.
8. Xu J, Wu Y, Song P, Zhang M, *et al.* Proteasome-dependent degradation of guanosine 5'-triphosphate cyclohydrolase I causes tetrahydrobiopterin deficiency in diabetes mellitus. *Circulation* 2007; 116: 944-953.
9. Xu J, Xie Z, Reece R, Pimental D, *et al.* Uncoupling of endothelial nitric oxidase synthase by hypochlorous acid: role of NAD(P)H oxidase-derived superoxide and

- peroxynitrite. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 2688-2695.
10. Oelze M, Daiber A, Brandes RP, Hortmann M, *et al.* Nebivolol inhibits superoxide formation by NADPH oxidase and endothelial dysfunction in angiotensin II-treated rats. *Hypertension* 2006; 48: 677-684.
11. Bidani AK, Hacıoglu R, Abu-Amarah I, Williamson GA, *et al.* "Step" vs. "dynamic" autoregulation: implications for susceptibility to hypertensive injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F113-120.
12. Cupples WA, Braam B. Assessment of renal autoregulation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: F1105-1123.
13. Rahgozar M, Guan Z, Matthias A, Gobe GC, *et al.* Angiotensin II facilitates autoregulation in the perfused mouse kidney: An optimized in vitro model for assessment of renal vascular and tubular function. *Nephrology (Carlton)* 2004; 9: 288-296.
14. Guan Z, Willgoss DA, Matthias A, Manley SW, *et al.* Facilitation of renal autoregulation by angiotensin II is mediated through modulation of nitric oxide. *Acta Physiol Scand* 2003; 179: 189-201.
15. Maitland K, Bridges L, Davis WP, Loscalzo J, *et al.* Different effects of angiotensin receptor blockade on end-organ damage in salt-dependent and salt-independent hypertension. *Circulation* 2006; 114: 905-911.

No. 0731

The Mechanisms of Renal Autoregulation Dysfunction in Dahl Salt Sensitive Rats

Minoru Satoh, Sohachi Fujimoto, Naoki Kashihara

Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Kawasaki Medical School

Summary

In hypertensive vascular disorders, it is well-known that a pathological change in endothelial cells occurs in the early stage of hypertension. Dysfunction of the endothelial cells is caused by an imbalance between reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO). In hypertensive renal disease, the pathological change arises in small renal arteries at an early stage, and subsequently glomerular injury occurs. The mechanism of this early pathological change in small renal arteries in hypertensive renal disease has not been clarified. We hypothesized that decreasing NO and increasing ROS may contribute to endothelial dysfunction of the renal arteriole, and can cause a loss of renal autoregulation in hypertensive renal disease and improvement of the NO/ROS imbalance may ameliorate renal autoregulation. The aim of this study is to clarify the cause of NO/ROS imbalance, to clarify the resistance of renal autoregulation in hypertensive renal disease and to investigate the effects of ARB on improvement of the NO/ROS imbalance in the renal arterioles of hypertensive renal disease.

Increased ROS production and decreased NO production were seen in the glomeruli and arterioles of hypertensive kidney disease. ROS production in the glomeruli and arterioles in the hypertensive kidney was diminished by incubation with DPI, L-NAME or BH4. Telmisartan administration improved the imbalance between NO and ROS in glomeruli and arterioles. eNOS production was decreased in the DS-H group. These changes were improved by Telmisartan treatment. Nitrotyrosine formation was increased in the hypertensive kidney disease with Hydralazine treatment. The renal vascular resistance with perfusion pressure was decreased in hypertensive kidney disease. Renal vascular resistance was improved by Telmisartan treatment.

In conclusion, the NO/ROS imbalance contributes to dysfunction of autoregulation in the preglomerular arteries and the ARB improves NO/ROS imbalance and reduces dysfunction of the autoregulation in the hypertensive renal disease.