

動脈圧反射を介した尿量調節を正常腎と除神経腎とで比較し、ナトリウム利尿における腎交感神経の役割を明らかにする

川田 徹, 羽山 陽介, 西川 拓也

国立循環器病研究センター循環動態制御部

概要

薬物抵抗性の難治性高血圧に対する新たな治療法の一つとして、カテーテル腎除神経術が検討されているが、その降圧効果には大きな個体差がある。施術前に対象患者を選択できるようにするために、腎除神経の降圧メカニズムについて、基礎研究の立場から明らかにしていく必要がある。出血などで体血圧が下がると、動脈圧受容器反射を介して全身の交感神経活動が賦活化される。このとき、体血圧の低下は圧利尿による尿排泄を減少させ、交感神経活動の賦活化も腎臓に対する直接作用を介して尿量を減少させる。したがって、出血の際には、体血圧の低下と交感神経活動の賦活化は、尿量調節に関して協調的に作用する。このようなことから、一般に腎交感神経活動は尿量を減少させるとされている。しかしながら、体血圧と交感神経活動は必ずしも逆向きに変化するとは限らない。高血圧の成因の一つとして交感神経の過剰な活動がある。交感神経活動に伴って体血圧が上昇するような状態では、交感神経活動による尿量減少作用と、体血圧の上昇による圧利尿を介した尿量増加作用は拮抗的にはたらくと考えられる。もし、交感神経活動と体血圧がともに上昇する条件で尿量が減少するなら、尿量変化は体血圧上昇の一因であると解釈できる。逆に、尿量が増加するなら、尿量変化は体血圧上昇の結果であり原因ではないことになる。

本研究ではラット片側腎除神経モデルにおいて、動脈圧受容器反射によって交感神経活動と体血圧を大きく変化させることによって、交感神経活動による直接の尿量調節と圧利尿との関係を検討した。まず、麻酔下に後腹膜的に腎血管周囲に到達し、顕微鏡下に腎交感神経を切断するとともに、周囲に 10%フェノールのエタノール溶液を塗布して腎除神経を行った。次に、術後 3 ~ 9 日で、麻酔下に動脈圧受容器反射の実験を行った。頸動脈洞圧受容器領域を体循環系からアイソレーションして、サーボポンプを用いてその内圧を 60 ~ 180 mmHg の範囲で変化させた。内臓交感神経に電極を装着して、交感神経の電気活動を記録した。大腿動脈からカテーテルを挿入して、体血圧を記録した。また、左右の尿管にポリエチレンチューブを挿入して、各腎臓からの尿量を測定した。実験終了後に各腎臓から組織サンプルを採取し、腎組織ノルアドレナリン濃度を液体クロマトグラフィー法にて測定した。正常側に比べて腎組織ノルアドレナリン濃度が 10%未満に低下したものを片側腎除神経成功例として統計処理に用いた(14 匹施術した中の 10 匹がこの基準を満たした)。

動脈圧受容器反射の実験では、体血圧は交感神経活動の増加とともにほぼ直線的に上昇した。このとき、体血圧と分時尿量の関係(圧利尿関係)は、正常側の腎臓において正の相関を示した。したがって、急性に交感神経活動と体血圧が上昇する状態では、交感神経を介する直接の尿量減少作用よりも圧利尿のほうが強く、尿量が増加することが分かった。これは、慢性的に交感神経活動が高い状態が続くと体液貯留により体血圧が上昇するという一般的な認識とは逆の結果である。交感神経活動の上昇が続くと、体液性因子や局所アンジオテンシン II の産生などによって尿量増加が尿量減少に転じると予測されるが、どの程度の時間経過で尿量増加が尿量減少に転じるのかは、今後の研究で明らかにする必要がある。また、除神経側では圧利尿関係の傾きが正常側に比べて約 1.3 倍に有意に増加した。したがって、本実験条件においても腎交感神経活動は圧利尿に拮抗していたと言える。つまり、尿量変化は体血圧に大きく依存するが、腎除神

経によってある程度の尿量増加が期待される。なお、腎除神経には末梢効果だけでなく、求心路を介した全身の交感神経活動への影響が考えられるが、本研究では腎除神経の中枢に対する効果は検討できていない。

本研究では、腎除神経はクレアチニンクリアランスや Na 排泄率には大きな影響を与えなかったが、動作点血圧における尿量を有意に増加させた(正常側: 36.1 ± 5 , 除神経側: $41.0 \pm 4.1 \mu\text{L}/\text{分}/\text{kg}$, $P < 0.01$, $n = 10$)。言い換えると、腎除神経後は腎除神経前よりも低い体血圧で同じ尿量が保たれる可能性がある。この結果は、両側腎除神経は体血圧を下げたが水バランス及び Na バランスを変化させなかったという既存の研究報告をうまく説明する。今後、腎交感神経による直接の尿量調節と圧利尿の関係、高血圧などの病態モデルにおいて明らかにしていく必要がある。

1. 研究目的

薬物抵抗性の難治性高血圧に対する新たな治療法の一つとして、カテーテル腎除神経術が検討されており、その安全性と有効性に関する臨床研究の結果が報告されている⁽¹⁾。しかし、腎除神経術による降圧効果には大きな個体差があり、施術前に対象患者を選択できるようにすることが望まれる。そのためには、腎除神経の降圧メカニズムについて、基礎研究の立場から明らかにしていく必要がある。

腎神経の遠心路の役割については、腎交感神経の電気刺激が腎血管の収縮により腎血流を低下させること、糸球体傍細胞の β アドレナリン受容体に作用してレニンを分泌させること、尿細管に作用してナトリウムの再吸収を促進させることが知られている⁽²⁾。したがって、腎交感神経の遮断は利尿を促進し、循環血液量を減らして降圧に寄与すると考えられている。

さて、全身の血圧(体血圧)は動脈圧受容器反射系をはじめとするネガティブフィードバック系によって調節されている⁽³⁾。出血などで体血圧が下がると、頸動脈洞領域及び大動脈領域にある動脈圧受容器を介して、反射的に全身の交感神経活動が賦活化され、血圧を維持しようとする。この際、体血圧の低下はそれ自体が腎臓の灌流圧を低下させ、圧利尿による尿排泄を減少させる。また、交感神経活動の賦活化が、腎臓に対する直接作用を介して尿量を減少させることになる。このような状況では、圧利尿による尿量調節機構と交感神経による尿量調節機構が協調的に作用する。

一方、高血圧の成因の一つとして交感神経の過剰な活動が挙げられる⁽⁴⁾。この場合、交感神経活動の増加によって体血圧が上昇している。このような状態では、交感神経活動による尿量減少と、体血圧の上昇による圧利尿を介した尿量増加は拮抗的に作用する。もし、交感神経による

直接の尿量調節が、圧利尿による尿量調節に勝るならば、交感神経活動が増加したときに、尿量が減少して体血圧が上昇すると予測される。反対に、圧利尿による尿量調節が交感神経による尿量調節に勝るなら、交感神経活動が増加したときに、体血圧の上昇の結果として、尿量の増加が観察されるはずである。

そこで、本研究では腎交感神経による直接の尿量調節と、圧利尿による尿量調節の関係を明らかにするために、ラット片側腎除神経モデルを用いて、動脈圧受容器反射によって交感神経活動と体血圧を大きく変化させ、腎交感神経の有無が尿量と尿中ナトリウムの調節にどのように影響するかを検討した。

2. 研究方法

2.1 片側腎除神経

2.1.1 片側腎除神経術

本研究では、ラットを用いて片側腎除神経を行い、左右の尿管から個別に採尿することで、同一個体内で腎交感神経が尿量調節に果たす役割を検討できるようにした。12週の子ラットにおいて、イソフルラン吸入麻酔下に、清潔操作で右または左側腹部を切開し、後腹膜的に腎血管周囲を剖出した。顕微鏡下に腎血管周囲の組織を剥離した後、10%フェノールを含むエタノール溶液を腎血管周囲に塗布し、切開部を縫合した。鎮痛目的でブトルファノールを投与した。その後、個別ケージに入れて、自由摂食、自由摂水で飼育した。

2.1.2 片側腎除神経の確認

片側腎除神経については、すべての実験終了後に腎組織中のノルアドレナリン濃度を測定し、正常側と比べて10%未満に低下したものを成功例とした。実験終了時に各腎臓から組織を100~200 mg 採取し、 -80°C で凍結保存した。測定の際には、凍結保存した組織に2 ml の Tris

バッファ(pH 8.6)を加えてホモジェネートし、その 100 μ l をアルミナ処理した後、液体クロマトグラフィーにかけてノルアドレナリン濃度を測定した。

2. 2 動脈圧受容器反射系の開ループシステム解析

2. 2. 1 手術手技

片側腎除神経術後 3 ~ 9 日のラットを用いて急性実験を行った。 α クロラロースとウレタンの混合麻酔の腹腔内投与で麻酔をかけた後、右大腿静脈よりカテーテルを挿入して持続麻酔を行った。右大腿動脈よりカテーテルを挿入して体血圧を測定した。左大腿静脈にもカテーテルを挿入し、補液及び実験終了時の交感神経活動のノイズレベル確認のための神経節遮断薬(ヘキサメソニウム)の静脈投与に用いた。呼吸は気管切開を行い、小動物用人工呼吸器を使って維持した。体表表面心電図から心拍数を計測した。

側腹部切開を行い、後腹膜的に内臓交感神経の枝に到達し、神経電極(AS633, Cooner Wire)を装着した後、二液混合シリコン(Kwik-Sil, World Precision Instruments)を使って絶縁固定した。神経活動は 150 ~ 1000 Hz の帯域フィルターを通して増幅した後、アナログ回路を用いて全波整流し、遮断周波数 30 Hz のローパスフィルターを用いて記録した。

外頸動脈の起始部を 7-0 プロリン糸で結紮した後、総頸動脈から内頸動脈に向けて直径 0.8 mm のステンレス剛球を複数個投入して内頸動脈を閉塞した。これにより、動脈圧受容器領域を体循環系からアイソレーションして、その内圧をサーボポンプで制御した。同じ処理を両側に行い、大動脈減圧神経及び迷走神経は頸部で切断した。

正常側及び除神経側の腎臓から採尿するために、腹部横切開を行い、左右それぞれの尿管を切断してカテーテル(KN-392-SP 8, 内径 0.20 mm, 外径 0.50 mm, 夏目製作所)を挿入した。シリンジの上端が実験台の高さに来るように、実験台の横に 1 ml のシリンジを垂直に設置し、各カテーテルからの尿量をシリンジ下端の圧力センサーによって測定した。実験の最後に、1 ml の生理食塩水を注入することで、液圧を容積に変換できるようにした。尿と生理食塩水の比重の違いによる液圧の差は充分小さいと考えて無視した。

2. 2. 2 プロトコール

動脈圧受容器に加える入力圧を 80 ~ 180 mmHg の間で 20 mmHg 刻みで階段状に変化させて、交感神経活動、

心拍数、体血圧、各腎臓からの尿量の変化を調べた。各ステップの持続時間は 60 秒または 90 秒とした。実験の最後に採血し、血中クレアチニン濃度と Na 濃度を測定した。また、各腎臓から蓄積した尿についてもクレアチニン濃度と Na 濃度を測定した。

2. 2. 3 データ解析

得られたデータを元に、各入力ステップの最後の 10 秒間の平均値を用いて、頸動脈洞内圧と体血圧、頸動脈洞内圧と心拍数、頸動脈洞内圧と交感神経活動、交感神経活動と体血圧、体血圧と分時尿量の関係をプロットした。分時尿量については、1 つ前のステップからの尿量の増分を計算し、ステップの時間が 90 秒の場合は 1.5 で除することで分時尿量を求め、これをラットの体重で正規化した(単位 μ l \cdot min⁻¹ \cdot kg⁻¹)。

頸動脈洞内圧と体血圧、頸動脈洞内圧と心拍数、頸動脈洞内圧と交感神経活動の関係については、非線形最小二乗法で逆シグモイド曲線を当てはめた³⁾。交感神経活動と体血圧の関係は直線近似して、y 切片と傾きを求めた。また、同一平面上に動脈圧受容器反射の中樞弓(頸動脈洞内圧と交感神経活動の関係)と末梢弓(交感神経活動と体血圧の関係)を描くことで、動作点血圧を推定した(平衡線図解析³⁾)。動作点血圧とは、動脈圧受容器反射系のフィードバックループを閉じたときに、動脈圧受容器への入力圧と体血圧が等しくなる値のことである。

体血圧と分時尿量の関係(圧-利尿関係)はほぼ直線的であったことから、直線近似を行い、その傾きを正常腎と除神経腎とで比較した。また、圧-利尿関係を示す直線を用いて、動作点血圧における分時尿量を推定した。正常側と除神経側との比較には、特に記述のない場合は、Wilcoxon 符号順位検定を用いた。

3. 研究結果

3. 1 片側腎除神経

3. 1. 1 液体クロマトグラフィー

終了後に測定した腎組織中のノルアドレナリンの液体クロマトグラフィー(HPLC)を Fig. 1 に示す。Fig. 1 中のジヒドロキシ安息香酸(DHBA)は内部標準として測定時に既知量を加えたものであり、DHBA との面積比からノルアドレナリン(NA)濃度を計算した。除神経が成功した例では、ノルアドレナリンのピークは著しく減高した。

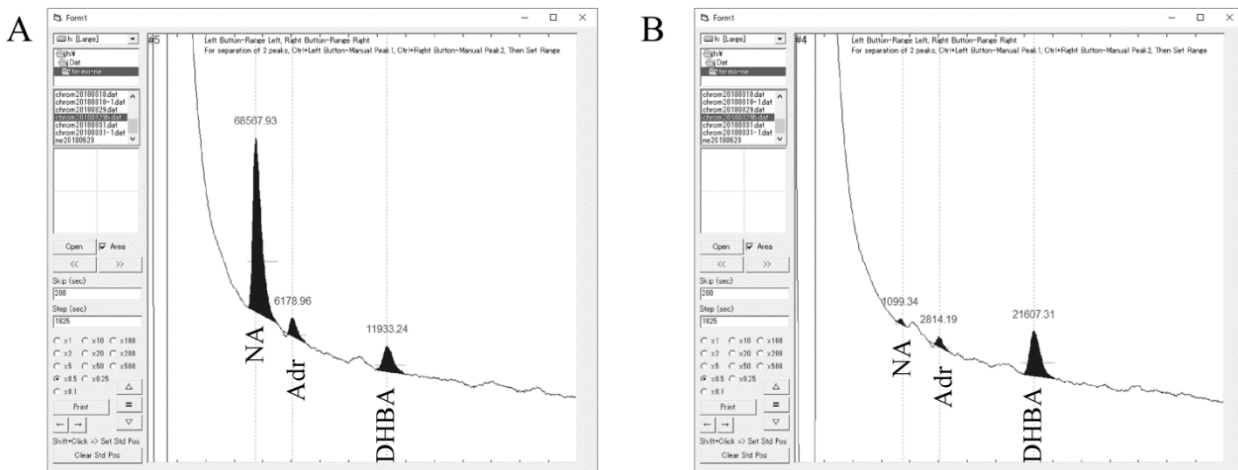


Fig. 1. Effects of renal denervation on renal tissue noradrenaline concentration (examples of liquid chromatography)
A. Intact side. **B.** Denervated side. NA, noradrenaline; Adr, adrenaline; DHBA, dihydroxybenzoic acid (internal standard).

3. 1. 2 腎除神経のまとめ

右腎 8 匹, 左腎 6 匹の計 14 匹のラットにおいて腎除神経を行った。その結果, 右腎 7 匹, 左腎 3 匹において, 除神経側のノルアドレナリン濃度が正常側に比べて 10% 未満に低下した (**Fig. 2A**)。除神経側のノルアドレナリン濃度が正常側の 10% 以上であったときは, 腎除神経不成功例とした (**Fig. 2B**)。左側除神経で成功率が低いようにみえるが, 右側に比べて左側のほうが後腹膜アプローチしたと

きの腎臓の位置が深いので, 左側での除神経操作が不十分であった可能性がある。なお, 左腎除神経を行い右腎が正常であった個体と, 右腎除神経を行い左腎が正常であった個体を用いて, 腎組織のノルアドレナリン濃度の左右差を検討したところ, 右腎で左腎に比べてノルアドレナリン濃度が高い例があったが, Mann-Whitney 検定で有意差はなかった (**Fig. 2C**)。

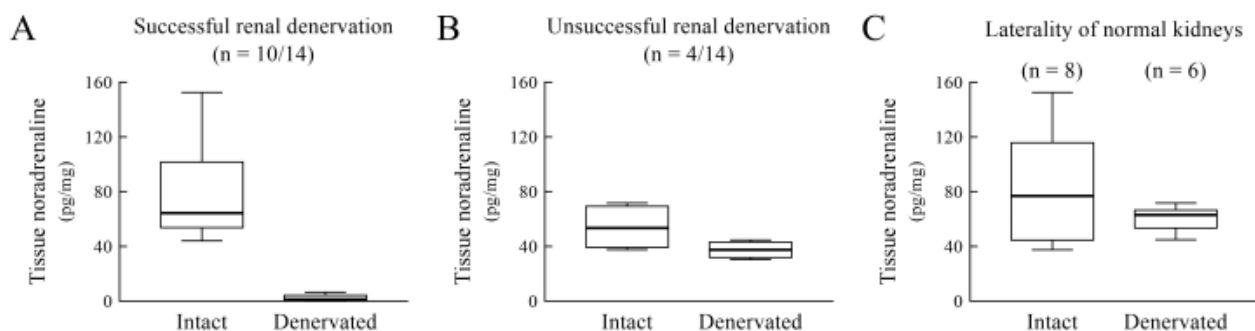


Fig. 2. Renal tissue noradrenaline concentration

A. Successful renal denervation. **B.** Unsuccessful renal denervation. The criterion for the successful renal denervation was a reduction of the tissue noradrenaline concentration in the denervated side below 10% that of the intact side. **C.** Comparison of renal tissue concentrations in the intact side between the right and left kidneys. In the box-whisker plots, the terminal points of the whiskers indicate the minimum and maximum values; the lower and upper sides of the box indicate the first and third interquartile ranges, respectively; and the middle line indicates the median.

3. 2 動脈圧受容器反射系の開ループシステム解析

3. 2. 1 実験記録

動脈圧受容器に階段状の圧入力を加えたときの血行動態、交感神経活動、尿量変化を調べた実験記録の一例を Fig. 3 に示す。頸動脈洞内圧を上昇させると、動脈圧受容器反射によって体血圧、心拍数、内臓交感神経活動が低下した。積算尿量は時間とともに増加したが、頸動脈洞内圧が高い範囲(140 ~ 180 mmHg)において、尿量変化はほぼ平坦になった。正常側と除神経側を比べると、除神経側において尿量変化が少し大きいようにみえる。

3. 2. 2 動脈圧受容器反射の開ループシステム特性

動脈圧反射の反射弓全体は、逆シグモイド曲線状の入出力関係を示した (Fig. 4A)。動脈圧反射による心拍数の調節 (Fig. 4B) 及び交感神経活動の調節 (Fig. 4C) も逆シグモイド曲線状の入出力関係を示した。これに対して、交感神経活動と体血圧の関係は、交感神経活動の増加に伴って体血圧が上昇するほぼ直線的な関係を示した (Fig.

4D)。Fig. 4C の縦軸と横軸を入れ替えて、Fig. 4D に重ね描きすると、動脈圧受容器反射の平衡線図⁽³⁾が得られる。平衡線図の交点から決定される動作点の血圧は 107.4 ± 3.6 mmHg であった。

3. 2. 3 正常側と除神経側での尿量調節の比較

動脈圧受容器反射を介して体血圧を変動させたとき、体血圧と分時尿量の関係はほぼ直線的であったので、最小二乗近似で圧-利尿関係を評価した (Fig. 5A)。圧-利尿関係の傾きは、正常側 $0.42 \pm 0.08 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{mmHg}^{-1}$ に比べて、除神経側 $0.55 \pm 0.11 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{mmHg}^{-1}$ のほうが有意に大きかった ($P = 0.010$)。最低分時尿量は正常側と除神経側で有意差はなく (Fig. 5B)、最大分時尿量は除神経側で正常側に比べて有意に多かった (Fig. 5C)。平衡線図から求めた動作点血圧に対応する分時尿量を計算して比較したところ、除神経側で正常側よりも有意に多かった (Fig. 5D)。

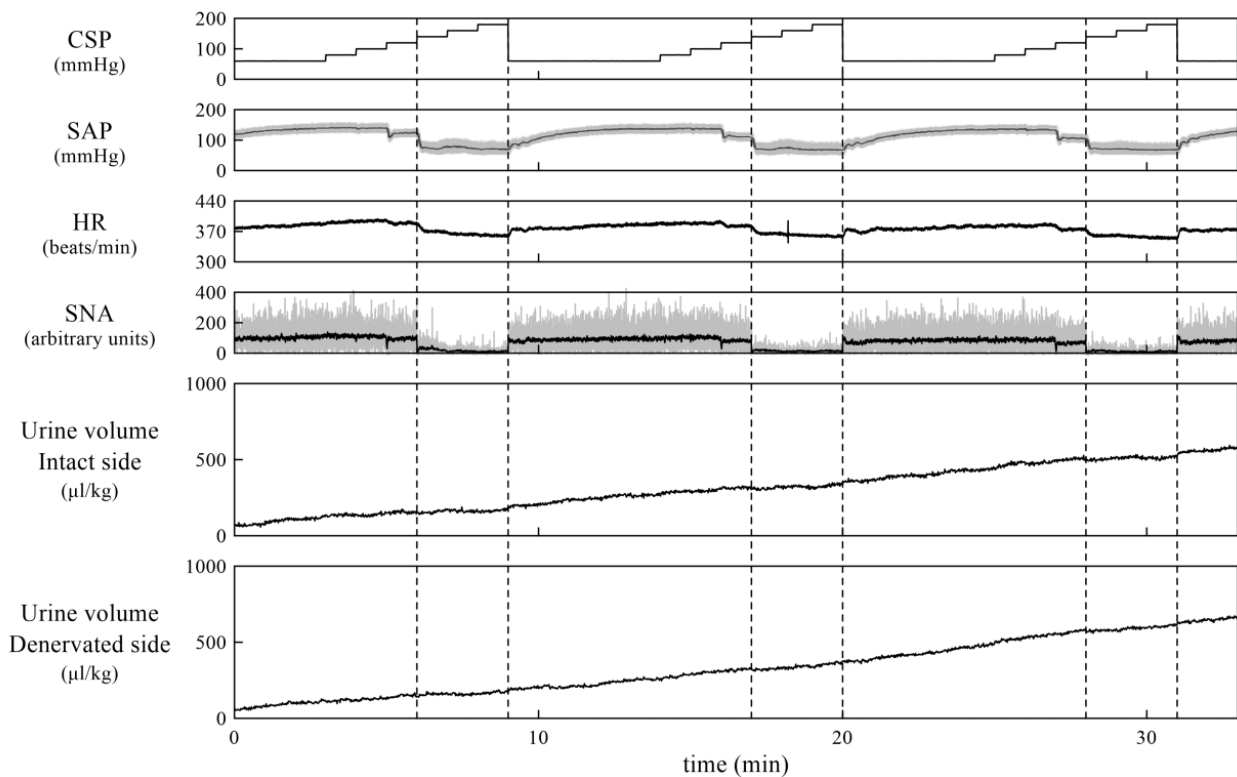


Fig. 3. Typical time series showing baroreflex-mediated hemodynamic responses, changes in sympathetic nerve activity (SNA), and urine volumes from the intact and denervated sides.

CSP, carotid sinus pressure; SAP, systemic arterial pressure; HR, heart rate.

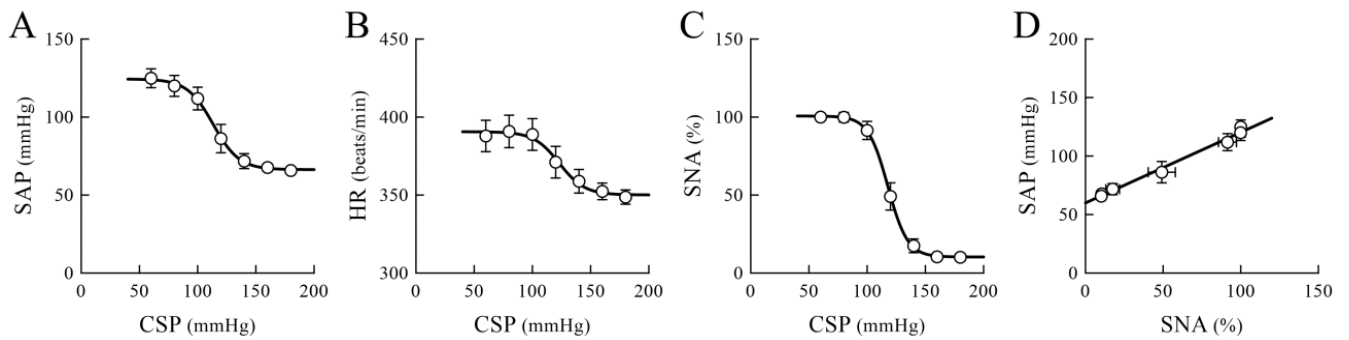


Fig. 4. Open-loop static characteristics of the carotid sinus baroreflex

A. Total reflex arc representing the relationship between carotid sinus pressure (CSP) and systemic arterial pressure (SAP). **B.** Baroreflex-mediated heart rate (HR) control. **C.** Neural arc representing the relationship between CSP and sympathetic nerve activity (SNA). **D.** Peripheral arc representing the relationship between SNA and SAP. Data points are means \pm SE ($n = 10$).

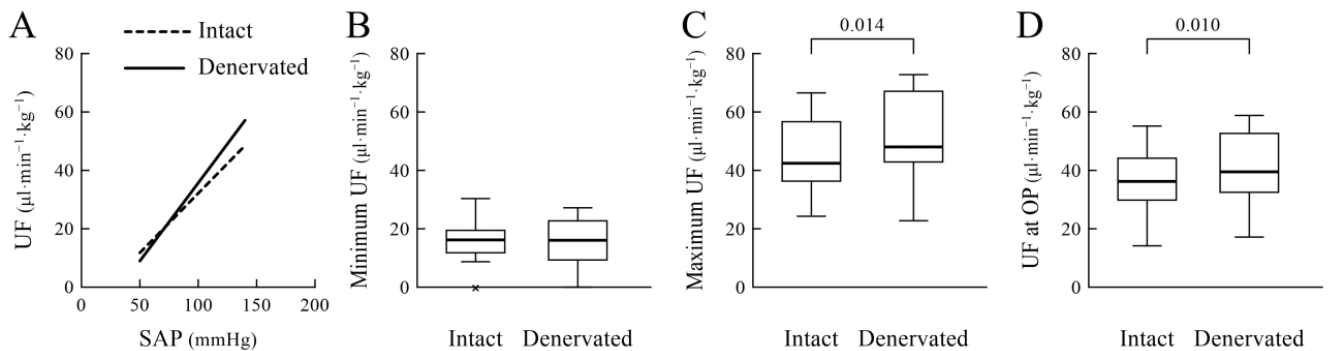


Fig. 5. Comparisons of urine flow between the intact and denervated sides.

A. Mean regression lines indicating the relation of urine flow (UF) versus systemic arterial pressure (SAP). **B.** Minimum UF. **C.** Maximum UF. **D.** UF at the operating-point pressure (OP) determined from the baroreflex equilibrium diagram. In panels B–D, data were compared by using Wilcoxon signed-rank tests ($n = 10$). The symbol \times in the box-whisker plot indicates an outlier.

3. 2. 4 正常側と除神経側での腎機能の比較

除神経が成功した 10 匹中 9 匹において、血中及び尿中のクレアチニン濃度、Na 濃度を測定した。血中クレアチニン濃度は 0.39 ± 0.02 mg/dl, Na 濃度は 142.4 ± 0.7 mEq/l であった。尿中クレアチニン濃度 (**Fig. 6A**) と尿中 Na 濃度 (**Fig. 6B**) について、正常側と除神経側とで有意差はなかった。また、動作点血圧に対応する分時尿量を用いて計算したクレアチニンクリアランスについても、正常側と除神経側とで有意差はなかった (**Fig. 6C**)。Na 排泄率にも有意差はなかった (**Fig. 6D**)。

3. 2. 5 実験条件の違いが圧-利尿関係に及ぼす影響

本研究では階段状圧入力ステップ時間を 60 秒または 90 秒で行った。圧-利尿関係の傾きを 60 秒ステップの実験と 90 秒ステップの実験で比較したところ、除神経側の 60 秒ステップにおいて値の大きい例があったが、両者に明らかな差はなかった (**Fig. 7A, 7B**)。また、正常側及び除神経側のそれぞれについて、片側腎除神経の術後日数と圧-利尿関係の傾きの関係をプロットしたところ、両者に有意な相関はなかった (**Fig. 7C, 7D**)。

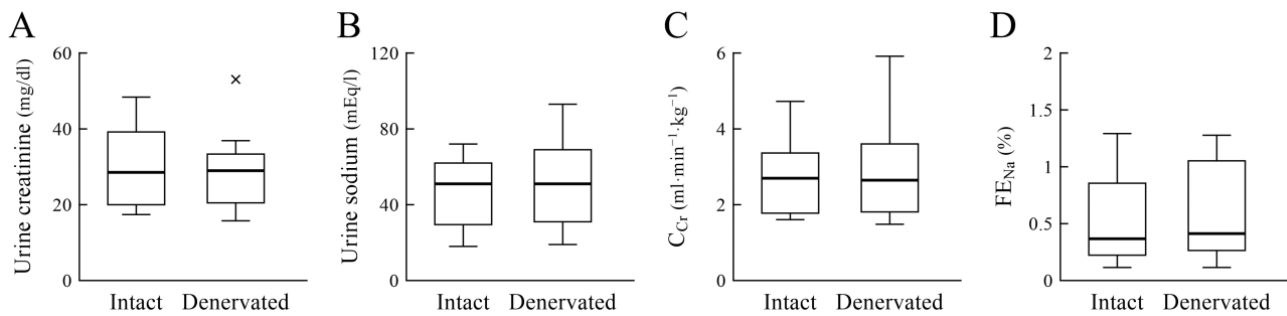


Fig. 6. Comparisons of renal function between the intact and denervated sides.

A. Urine creatinine concentration. **B.** Urine sodium concentration. **C.** Creatinine clearance (C_{Cr}). **D.** Fractional excretion of sodium (FE_{Na}). Data are summarized from 9 rats

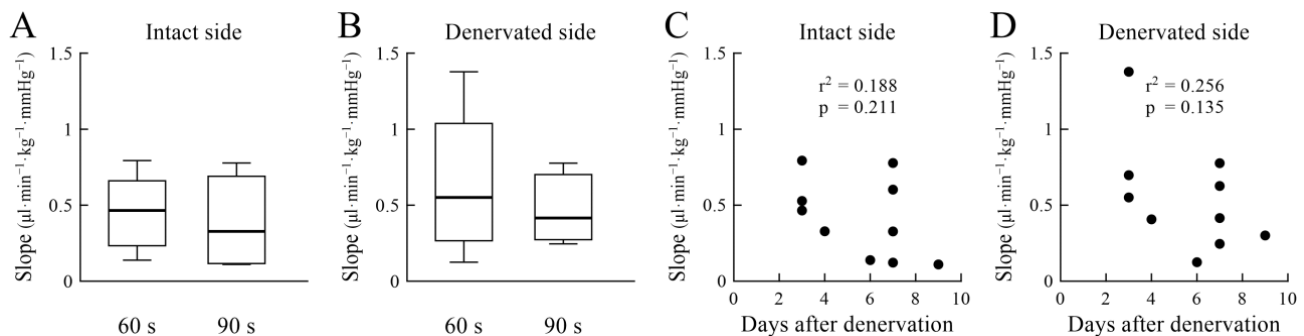


Fig. 7. Effects of experimental conditions on the pressure-diuresis relationship.

A, B. Effects of the step duration on the slope of the pressure-diuresis relationship ($n = 5$ each). **C, D.** Scatterplots of the slope of the pressure-diuresis relationship versus the days after renal denervation procedure. The slope of the regression line (dotted line) was not statistically different from zero in either intact or denervated side

3. 2. 6 片側腎除神経不成功例での動脈圧受容器反射の開ループシステム特性

片側腎除神経がうまくいかなかった例 ($n = 4$) についての動脈圧受容器反射の開ループ特性は、片側腎除神経成功例とほとんど差がなかった (**Fig. 8**)。

3. 2. 7 片側腎除神経不成功例での正常側と処置側の尿量調節の比較

片側腎除神経がうまくいかなかった例 ($n = 4$) では、圧利尿関係を示す直線に明らかな差はなく (**Fig. 9A**)、最低分時尿量 (**Fig. 9B**)、最大分時尿量 (**Fig. 9C**)、動作点血圧における分時尿量 (**Fig. 9D**) にも大きな違いはなかった。ただし、 $n = 4$ と匹数が限られているので、統計的には検討できなかった。

4. 考 察

4. 1 腎交感神経による尿量調節と圧利尿による尿量調節

本実験条件では、体血圧は交感神経活動と正の関係を示した (**Fig. 4D**)。つまり、体血圧が高くなる状態では、交感神経活動も増加した。もし、交感神経活動の腎臓への直接作用のほうが、体血圧の上昇による圧利尿よりも強力であるなら、交感神経活動の増加に伴って分時尿量は減少するはずである。しかしながら、正常側においても交感神経活動の増加とともに分時尿量が増加したことから (**Fig. 5A**)、交感神経活動の腎臓への直接作用による尿量調節は、圧利尿による尿量調節に比べて弱いと言える。ただし、腎除神経によって圧-利尿関係の傾きは大きくな

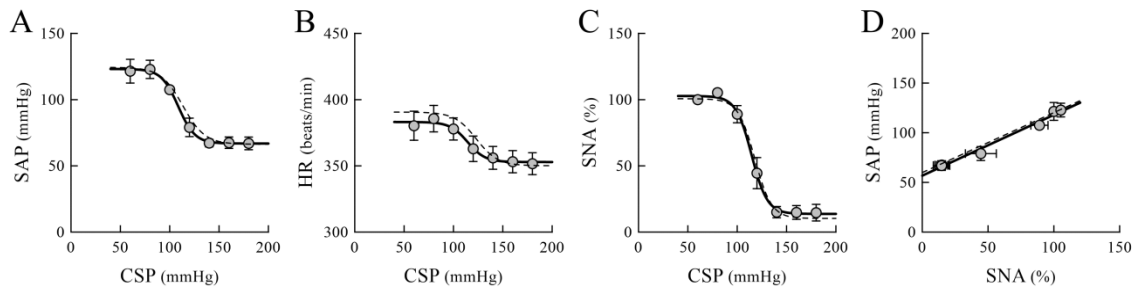


Fig. 8. Open-loop static characteristics of the carotid sinus baroreflex in rats with unsuccessful renal denervation.

A. Total reflex arc representing the relationship between carotid sinus pressure (CSP) and systemic arterial pressure (SAP). **B.** Baroreflex-mediated heart rate (HR) control. **C.** Neural arc representing the relationship between CSP and sympathetic nerve activity (SNA). **D.** Peripheral arc representing the relationship between SNA and SAP. Data points are means \pm SE ($n = 4$). In each panel, the dotted line duplicates the data from rats with successful renal denervation shown in Fig. 4.

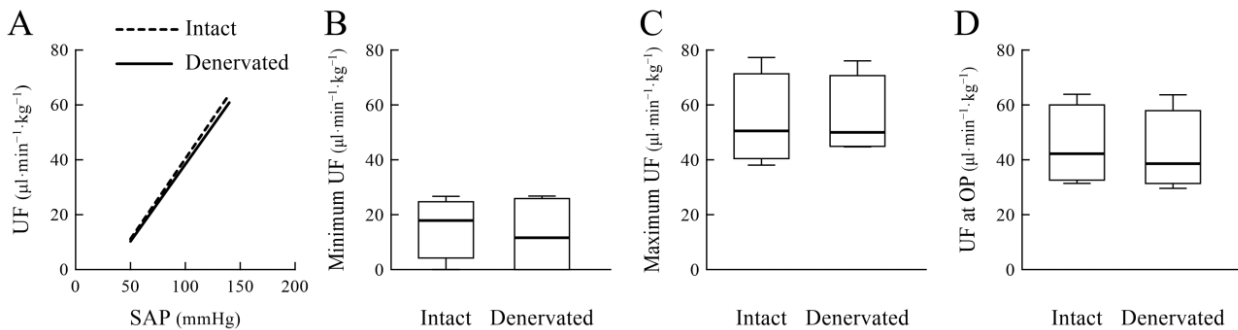


Fig. 9. Comparisons of urine flow between the intact and denervated sides in rats with unsuccessful renal denervation.

A. Mean regression lines indicating the relation of urine flow (UF) versus systemic arterial pressure (SAP). **B.** Minimum UF. **C.** Maximum UF. **D.** UF at the operating-point pressure (OP) determined from the baroreflex equilibrium diagram. Statistical analyses were not performed due to the small number of samples ($n = 4$).

ることから、交感神経の存在によって、圧利尿がある程度抑えられていることも分かる。また、正常側と除神経側の分時尿量の差は有意であるものの、分時尿量の個体間のばらつきは大きかった (**Fig. 5B ~ 5D**)。麻酔下に同じ補液条件で実験したが、実験開始時の水分バランスの状態が個体ごとに異なったのかもしれない。

本研究の結果から、動作点血圧における分時尿量は腎除神経によって増加するところが推察される。つまり、より低い体血圧で同じ尿量を維持できると言い換えられる。Jacob ら⁽⁵⁾はラットを用いた慢性実験で、両側腎除神経を

行っても水バランスや Na バランスが変化しなかったことを報告しているが、同時に約 10 mmHg 程度の体血圧の低下を観察している。体血圧の低下によって、水バランスや Na バランスが腎除神経前と同じレベルに維持されたものと解釈できる。

ガイトンの生理学の教科書では、腎臓による体液量調節は長期血圧調節を担うとされている。このため、急速血圧調節系に分類される動脈圧受容器反射の開ループ特性を推定するのに従来用いてきた 1 ステップ 60 秒の入力が、尿量変化を観察するのに十分に長いかどうか不明で

あった。そのため、実験の半数ではステップ時間を 90 秒に延長して尿量変化を検討した。その結果、60 秒ステップと 90 秒ステップで分時尿量に明らかな差がなかったことから (Fig. 7A, 7B), 60 秒でもステップ入力に対する尿量の応答はほぼ定常に達していたものと推察される。Steele ら⁶⁾の研究によると、ラットにおいて体血圧に短時間の圧変化を加えたときの尿量変化の全時間経過は約 20 秒であった。つまり、腎臓による体液量調節は、小さい早い尿量調節が積み重なって起こっていると言える。

なお、腎除神経が不十分であった例においては、正常側と処置側とで分時尿量の差は明らかでなかったことから (Fig. 9), Fig. 5 にみられる分時尿量の差は腎除神経の結果と考えて問題ない。

4. 2 腎除神経が腎機能に及ぼす影響

正常ラットにおいて 5 時間蓄尿した尿量から計算したクレアチニンクリアランスは $4 \sim 5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ との報告がある⁷⁾が、本研究では尿量を片側ずつ求めているので、それよりも値は低かった (Fig. 6C)。麻酔下に動作点血圧における分時尿量を推定したことも、違いの一因と思われる。Na 排泄率の正常値は 1%未満とされているので、これを越えている例があった。腎除神経で尿細管での Na の再吸収が減少し、Na 排泄率が高くなることを予測したが、少なくとも本実験条件ではそのような変化は観察されなかった。先に述べた Jacob ら⁵⁾の研究においても、腎除神経による Na バランスの変化は観察されておらず、腎除神経による Na 排泄の増加は大きくなく、10 mmHg 程度の体血圧の低下によって相殺されたと推察される。

5. 今後の課題

本研究では正常血圧のラットを用いて、動脈圧受容器反射を介して交感神経活動と体血圧を大きく変化させたときの尿量変化を、正常側と除神経側で比較した。しかし、交感神経活動が過剰となる高血圧の状態では、腎除神経の効果がさらに増強される可能性がある。逆に、病態モデルによっては腎除神経の効果が小さく、臨床における腎除神経術の non responder に対応する変化を示す可能性がある。これらを明らかにするには、今後の課題として、高血圧の病態モデルを用いて、交感神経の腎臓に対する直接作用と、交感神経活動に伴う体血圧の変化を介した圧利尿との関係を調べる必要がある。

6. 文献

- 1) Kandzari DE, Böhm M, Mahfoud F, Townsend RR, Weber MA, Pocock S, Tsioufis K, Tousoulis D, Choi JW, East C, Brar S, Cohen SA, Fahy M, Pilcher G, Kario K; SPYRAL HTN-ON MED Trial Investigators. Effect of renal denervation on blood pressure in the presence of antihypertensive drugs: 6-month efficacy and safety results from the SPYRAL HTN-ON MED proof-of-concept randomised trial. *Lancet*. 391: 2346–2355, 2018. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30951-6.
- 2) Jackson EK. Autonomic control of the kidney. In: Robertson D (ed). *Primer on the autonomic nervous system*, 2nd edn, Elsevier Academic Press, San Diego, pp 157–161, 2004.
- 3) Kawada T, Sugimachi M. Open-loop static and dynamic characteristics of the arterial baroreflex system in rabbits and rats. *J Physiol Sci*. 66: 15–41, 2016. doi: 10.1007/s12576-015-0412-5. Review.
- 4) Sata Y, Kawada T, Shimizu S, Kamiya A, Akiyama T, Sugimachi M. Predominant role of neural arc in sympathetic baroreflex resetting of spontaneously hypertensive rats. *Circ J*. 79: 592–599, 2015. doi: 10.1253/circj.CJ-14-1013.
- 5) Jacob F, Ariza P, Osborn JW. Renal denervation chronically lowers arterial pressure independent of dietary sodium intake in normal rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H2302–H2310, 2003. doi: 10.1152/ajpheart.01029.2002.
- 6) Steele JE, Brand PH, Metting PJ, Britton SL. Dynamic, short-term coupling between changes in arterial pressure and urine flow. *Am J Physiol* 265: F717–F722, 1993. doi: 10.1152/ajprenal.1993.265.5.F717.
- 7) 高山 淳二, 高岡 昌徳, 松村 靖夫. ラットおよびマウスにおける腎機能低下モデルの簡便な作成方法—急性および慢性腎不全モデル— *日薬理誌(Folia Pharmacol Jpn)* 131: 37 - 42, 2008. doi: 10.1254/fpj.131.37

To Identify the Role of Renal Sympathetic Nerves in Sodium Diuresis by Comparing the Baroreflex-Mediated Urine Volume Control between Intact and Denervated Kidneys

Toru Kawada, Yohsuke Hayama, Takuya Nishikawa

Department of Cardiovascular Dynamics, National Cerebral and Cardiovascular Center

Summary

Although renal denervation (RDN) is explored as a new therapy for drug-resistant hypertension, its effects show large inter-individual variability. To identify possible responders beforehand, we need to understand mechanisms behind the hypotensive effect of RDN. During hypotensive stress such as acute bleeding, a reduction of systemic arterial pressure (SAP) causes a reflex increase in sympathetic nerve activity (SNA). The reduction of SAP reduces urine output via a pressure diuresis mechanism. The increase in SNA also reduces urine output via direct renal control. However, an increase in SNA is a cause of some type of hypertension, in which case the effects of SNA and SAP on urine output could be antagonistic. We examined if an increase in SNA reduces urine output when SAP increases following changes in SNA, by using a baroreceptor isolation procedure in anesthetized rats with unilateral RDN. In our experimental setting, SAP increased with SNA. The relationship between SAP and urine output showed a positive slope in the intact side, which suggests that the pressure diuresis mechanism was stronger than the urine output reduction via the direct renal control by SNA. Nevertheless, the slope was significantly greater in the denervated than the intact side, which suggests that the renal SNA counteracted the pressure diuresis mechanism to a certain extent. Renal function estimated by creatinine clearance and fractional sodium excretion did not differ significantly between the intact and denervated sides. The RDN increased urine flow at the operating-point, which suggests that urine output could be maintained at a lower SAP pressure after RDN. The results may explain a previous finding that bilateral RDN caused hypotension but did not affect the water balance or the sodium balance in conscious rats. Further studies are required to elucidate the relative effect of the renal neural control versus the pressure diuresis in hypertension.