

# 食塩負荷が高血圧ラットにおける圧利尿と腎交感神経性抗利尿のバランスに及ぼす影響の定量解析

川田 徹<sup>1</sup>, 山本 裕美<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 国立循環器病研究センター循環動態制御部, <sup>2</sup> 倉敷中央病院循環器内科

**概要** 腎臓における水とナトリウム排泄には交感神経活動が大きく関与している。一般に交感神経活動の亢進は尿量を減少させナトリウム貯留にはたらくとされているが、一次性に交感神経活動が上昇するような状況では、体血圧が上昇するので、圧利尿と神経性抗利尿作用が拮抗することが想定される。これまでの研究において、一次性に交感神経活動が上昇する場合は、血圧上昇による圧利尿が優位となり、尿量が増加することを明らかにした。さらに、高血圧自然発症ラット(SHR)では正常血圧の Wistar-Kyoto ラットに比べて、圧-尿量関係の傾きが低下していること、片側腎除神経を行っても圧-尿量関係の傾きが回復しないことを明らかにした。SHR において食塩負荷を行うと血圧が上昇することが報告されていることから、本研究では食塩負荷が SHR における神経性抗利尿と圧利尿のバランスに与える影響を検討した。8% 高食塩食を給餌した SHR (SHR-HS) の片側腎除神経モデルにおいて、動脈圧受容器反射の開ループシステム解析を行い、圧-尿量関係を定量化した。その結果、SHR-HS では通常食塩食を給餌した SHR (SHR-NS) に比べて、圧-尿量関係が上方にシフトしていることが判明した。このとき、SHR-HS の除神経側と正常側とで圧-尿量関係に有意差はなく、高食塩食を給餌したときの尿量増加において、腎交感神経の役割が大きいとは言えない結果であった。一方、本研究との関連実験から心筋梗塞後ラットにアンジオテンシン II 受容体拮抗薬の 1 つであるテルミサルタンを静脈投与すると、圧-尿量関係の傾きが大きくなることが分かってきた。そこで、片側腎除神経を行った SHR-HS の一部においてテルミサルタンを静脈投与したところ、圧-尿量関係は変化しなかった。したがって、SHR-HS では高食塩負荷でレニン分泌が低下し、アンジオテンシン II による抗利尿作用が抑制された結果、腎交感神経の有無に関係なく、尿量が増加している可能性が示唆された。腎除神経術は、薬物抵抗性難治性高血圧に対するデバイス治療として検討されている。これまでの研究は、主に腎交感神経の末梢作用に着目したが、腎交感神経の末梢作用が圧-尿量関係に及ぼす影響は圧利尿に比べて小さいという結果であった。今後、腎神経求心路の作用を検討する研究が必要である。

## 1. 研究目的

教科書的には、腎交感神経活動は腎血管の収縮による糸球体血流の低下、糸球体傍細胞からのレニンの分泌、尿細管でのナトリウムの再吸収の促進によって、抗利尿的に作用する(神経性抗利尿)<sup>1)</sup>。たとえば、大量出血などで体血圧が下がると、腎臓の灌流圧が下がると同時に、動脈圧反射を介して交感神経活動が賦活化され、神経性抗利尿によって尿量が減少し、体液量を保持する。

しかし、交感神経活動の亢進は、圧反射を介した二次性のものばかりではない。精神的なストレスなどで一次性

に交感神経活動が亢進すると、それによって体血圧が上昇する可能性がある。このような状態では、腎交感神経による抗利尿作用と、血圧上昇による圧利尿は拮抗的に作用することになる。私たちが貴財団の 2019 年度研究助成を受けて行った研究の結果、全身の交感神経活動が亢進して血圧が上昇する場合には、圧利尿が神経性抗利尿の作用を上回り、交感神経活動の上昇とともに尿排泄が増加することが明らかとなった<sup>2)</sup>。これは、水及びナトリウム排泄を考える上で、圧利尿と神経性抗利尿のバランスを評価することが重要であることを示唆する。

次に、私たちは高血圧では過剰な交感神経活動によって、神経性抗利尿が圧利尿に比べて優位となり、体液貯留が進んで血圧が上昇しているという仮説を立てた。そして、貴財団の 2020 年度研究助成を受けて、高血圧自然発症ラット(SHR)における圧利尿と神経性抗利尿のバランスを調べた。その結果、SHR では正常血圧の Wistar-Kyoto ラット(WKY)に比べて、一次性に交感神経活動を変化させたときの圧-尿量関係の傾きが約 1/3 に低下しており、尿排泄の機能が低下していることが判明した。その一方で、神経性抗利尿が圧利尿を上回ることはなく、神経性抗利尿と圧利尿のバランスについては、SHR においても圧利尿が優位であった<sup>3)</sup>。さらに、片側腎除神経を行っても圧-尿量関係の傾きは正常化せず、過剰な交感神経活動というよりも、腎臓自体の変化が SHR における尿排泄機能の低下に寄与していると考えられた。

以上のように、通常食塩食の給餌では、圧利尿が神経性抗利尿よりも優位であるという点で WKY と SHR は共通の性質を示した。しかし、高食塩食を給餌すると WKY では血圧は変化しないが、SHR ではさらに血圧が上昇するという違いが知られている<sup>4)</sup>。そこで、本研究ではこれまでの研究を推進して、SHR に食塩負荷を行ったときに圧利尿と神経性抗利尿のバランスがどのように変化するかを明らかにすることを目的として実験を実施した。

## 2. 研究方法

### 2.1 高食塩食給餌

本研究では 11 週令の SHR を購入し、通常食塩食で 1 週間の馴化を行った後、8%高食塩食の給餌を開始し、実験終了まで高食塩食を継続した。

### 2.2 片側腎除神経

8%高食塩食給餌の開始から 1 週間後に、前年度の研究と同じ方法で片側腎除神経を実施した。インフルラン吸入麻酔下に、側腹部切開によって、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。術後に鎮痛目的でブトルファンを投与した。その後、個別ケージに入れて、自由摂食(8%高食塩食継続)、自由摂水で飼育した。

### 2.3 動脈圧受容器反射系の開ループシステム解析

#### 2.3.1 手術手技

片側腎除神経術後 6~17 日(中央値 10 日)に麻酔下の急性実験を実施した。 $\alpha$  クロラロースとウレタンの混合麻酔を腹腔内投与して麻酔をかけた後、大腿動静脈に血圧測定用のカテーテルと維持麻酔用のカテーテルを挿入した。気管切開を行い、小動物用人工呼吸器を使って呼吸を管理した。体表面心電図から心拍数を計測した。体温は保温パッド及び白熱電球を用いて 37~38°C に維持した。

左側腹部切開を行い、内臓交感神経の枝に電極(AS633, Cooner Wire)を装着し、二液混合シリコン(Kwik-Sil, World Precision Instruments)で絶縁固定した。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かけて記録した。

両側の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<sup>5)</sup>、その内圧をサーボポンプで自由に制御できるようにした。頸動脈洞圧反射以外の影響を除くために、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、下腹部横切開を行い、左右それぞれの尿管にカテーテル(KN-392-SP 8, 内径 0.20 mm, 外径 0.50 mm, 夏目製作所)を挿入した。実験台の横に 1 mL のシリンジを垂直に設置し、シリンジの上端を実験台に合わせた。各カテーテルからの尿量をシリンジ下端に接続した圧力センサーによって測定した。実験の最後に、1 mL の生理食塩水をシリンジに注入することで、液圧から容積へのキャリブレーションを行った。

#### 2.3.2 プロトコール

サーボポンプを用いて、圧受容器に加わる入力圧を 60~220 mmHg の範囲で 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<sup>+</sup>濃度を測定した。また、各腎臓から採取した尿についてもクレアチニン濃度と Na<sup>+</sup>濃度を測定した。

本研究の関連実験として、心筋梗塞後ラットの圧-尿量関係に及ぼす腎交感神経の役割を検討したところ、腎除神経よりもアンジオテンシン II 受容体拮抗薬の 1 つであるテルミサルタンを静脈投与したほうが、尿量増加が大きいことが分かってきた(未発表データ)。このため、3 匹のラットにおいて、ベースラインでの圧-尿量関係を検討した後、

テルミサルタン 2.5 mg/kg を静脈投与して、圧-尿量関係の変化を検討した。

### 2. 3. 3 データ解析

高食塩食を給餌した SHR (SHR-HS) 9 匹について急性実験を行ったが、頸動脈洞への圧入力に対して、体血圧の応答がみられなかった 3 匹 (体血圧の応答幅 < 25 mmHg) は圧反射のデータ解析から除外した。血圧応答の消失の原因として、手術時の圧受容器の障害や両側の頸動脈遮断による脳の虚血が考えられるが、通常食塩食を給餌した SHR (SHR-NS) に比べて血圧応答が消失する個体の頻度が高い印象があった。また、1 匹は交感神経活動の記録が不安定であり、データ解析から除外した。したがって、残り 5 匹の実験データを元に、各入カステップの最後の 10 秒間の平均値を用いて、頸動脈洞内圧と体血圧、頸動脈洞内圧と交感神経活動、交感神経活動と体血圧、体血圧と分時尿量、体血圧と分時尿量と分時尿量と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とし、これをラットの体重で補正した (単位  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。

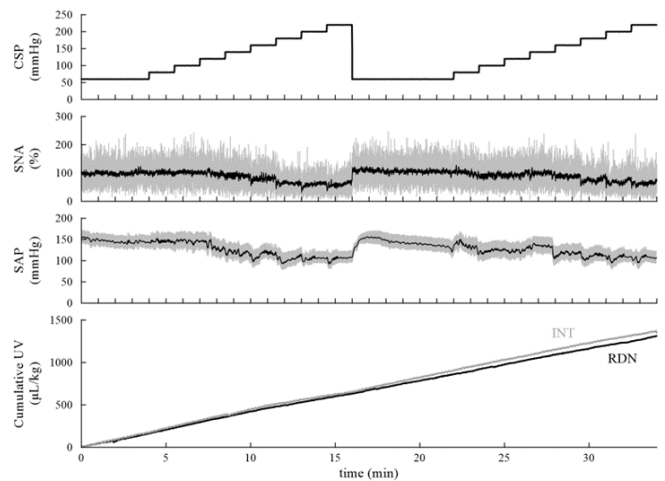
頸動脈洞内圧と体血圧、頸動脈洞内圧と交感神経活動の関係については、非線形最小二乗法で逆シグモイド曲線を当てはめた<sup>6)</sup>。交感神経活動と体血圧の関係は直線近似して、y 切片と傾きを求めた。また、同一平面上に動脈圧受容器反射の中樞弓 (頸動脈洞内圧と交感神経活動の関係) と末梢弓 (交感神経活動と体血圧の関係) を描くことで、動作点血圧を推定した (平衡線図解析<sup>7)</sup>)。

体血圧と分時尿量 (圧-尿量関係) 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-尿量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、対応ありの t 検定を用いたが、必要に応じて、SHR-HS と SHR-NS のデータを対応のない t 検定で比較した。

## 3. 研究結果

### 3. 1 実験記録

SHR-HS の頸動脈洞動脈圧受容器に階段状の圧入力を加えたときの交感神経活動、体血圧、尿量変化を調べた実験記録の一例を Fig. 1 に示す。



**Fig. 1** Typical time series showing baroreflex-mediated changes in sympathetic nerve activity (SNA), systemic arterial pressure (SAP), and urine volume (UV) in SHR fed a high salt diet.

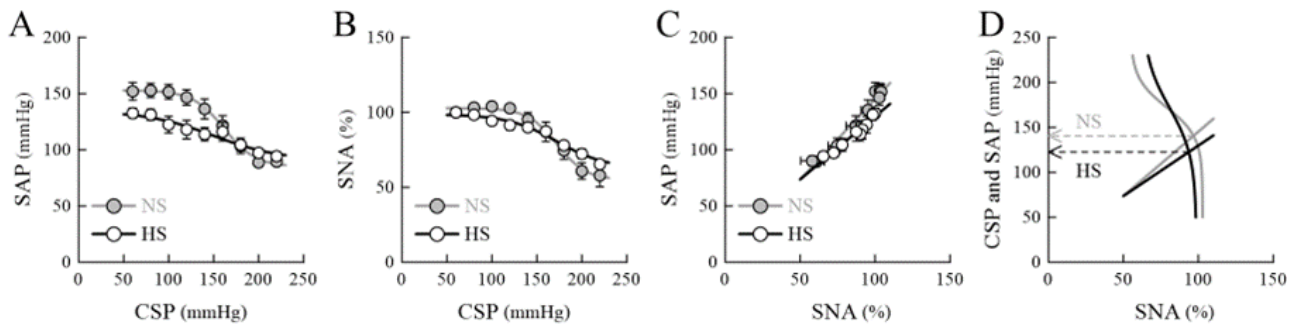
CSP, carotid sinus pressure; RDN, renal denervation; INT, intact. In the SNA plot, the gray and black lines indicate 10-Hz resampled and 2-s moving averaged signals, respectively. In the SAP plot, the gray and black lines indicate 100-Hz resampled and 2-s moving averaged signals, respectively. The cumulative UV signals are shown as 1-s resampled data.

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内臓交感神経活動と体血圧が低下した。積算尿量は時間とともに増加した。

前年度に検討した SHR-NS と比べて、SHR-HS では食塩負荷の影響で体血圧が大きく上昇することを予測したが、少なくとも今回の実験では、大幅な血圧上昇は観察されなかった。また、除神経側で正常側よりも尿排泄速度が大きくなることを予測したが、必ずしもそうではなく、Fig. 1 の例ではむしろ除神経側で尿排泄速度は僅かではあるが小さかった。

### 3. 2 SHR-HS における動脈圧受容器反射の開ループシステム特性

Fig. 2 に SHR-HS における動脈圧受容器反射の開ループ特性を、前年度に検討した SHR-NS の結果と比較して示す。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. 2A)。高食塩食の給餌で体血圧が大きく上昇することを予測したが、少なくとも今回の実験では、体血圧の上昇は観察されなかった。



**Fig. 2** Open-loop static characteristics of the carotid sinus baroreflex in SHR fed a normal salt (NS) diet and a high salt (HS) diet

- A. Total reflex arc representing the relationship between carotid sinus pressure (CSP) and systemic arterial pressure (SAP).  
 B. Neural arc representing the relationship between CSP and sympathetic nerve activity (SNA).  
 C. Peripheral arc representing the relationship between SNA and SAP.  
 D. Baroreflex equilibrium diagram.

The horizontal arrows indicate the operating-point arterial pressures. The intersection of the curve and the line represents the operating point of the baroreflex. In panels A–C, data points are means  $\pm$  SE ( $n = 9$  for NS and  $n = 5$  for HS).

一方、圧入力に対する体血圧の応答幅や逆シグモイド曲線の最大の傾き(圧反射のゲイン)は、SHR-HSのほうがSHR-NSよりも小さくなっており、高食塩食の給餌が圧反射を障害する可能性が示唆された。

動脈圧反射の中樞弓の性質を示す入力圧と交感神経活動との関係も、逆シグモイド曲線状の入出力関係を示した(**Fig. 2B**)。入力圧が 60 mmHg のときの交感神経活動を 100%、神経節遮断後の交感神経活動を 0%として評価したとき、SHR-HS のほうが SHR-NS よりも交感神経活動の最大抑制が小さく、圧反射機能の障害が中枢性に起きている可能性が示唆された。一方、動脈圧反射の末梢弓の性質を示す交感神経活動と体血圧との関係については、SHR-HS のほうが SHR-NS よりも近似直線の傾きは小さかったが、データ点はかなり重なっていた(**Fig. 2C**)。したがって、SNA をパーセント表示したときの末梢弓の差は小さいと考えられた。

動脈圧受容器反射の中樞弓と末梢弓はいずれも交感神経活動と血圧を軸に持つので、両者の特性を圧-交感神経活動平面にプロットできる(**Fig. 2D**)。このとき、中樞弓と末梢弓の交点が、動脈圧反射のネガティブフィードバックループが閉じているときの動作点となる(平衡線図解析)。今回の実験では、動作点血圧の平均値は SHR-HS のほうが SHR-NS よりも低かった。

### 3.3 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、直線回帰を行って圧-尿量関係を評価した(**Fig. 3A**)。SHR-HS における圧-尿量関係の傾きは、正常側で  $0.30 \pm 0.09 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ 、除神経側で  $0.29 \pm 0.07 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$  であり、正常側と除神経側とで有意差はなかった( $P = 0.752$ )。最小分時尿量は除神経側で高い傾向を示したが(**Fig. 3B**)、最大分時尿量(**Fig. 4C**)及び平衡線図から求めた動作点血圧での分時尿量(**Fig. 4D**)は、正常側と除神経側とで有意差はなかった。

前年度に得た SHR-NS では、圧-尿量関係の傾きは、正常側で  $0.12 \pm 0.03 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ 、除神経側で  $0.18 \pm 0.02 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$  であった。これを **Fig. 3A** に重ね描きすると、正常側の傾きは SHR-HS で有意に大きく( $P = 0.035$ , 対応なしの t 検定)、除神経側の傾きは SHR-NS と SHR-HS とで有意差はなかった( $P = 0.098$ )。また、圧-尿量関係のグラフは、正常側、除神経側ともに SHR-NS よりも SHR-HS のほうが上方に位置した。血圧 70 mmHg における尿量を計算すると、正常側 (SHR-NS:  $17.7 \pm 2.1$  vs. SHR-HS:  $26.2 \pm 3.6 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ ,  $P = 0.047$ )、除神経側 (SHR-NS:  $16.9 \pm 1.8$  vs. SHR-HS:  $31.8 \pm 3.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1}$ ,  $P = 0.001$ ) であり、いずれも SHR-HS の尿量が大きかった。つまり、高食塩食の給

餌によって圧-尿量関係が全体的に上方にシフトしたと言える。

### 3.4 正常側と除神経側での腎機能の比較

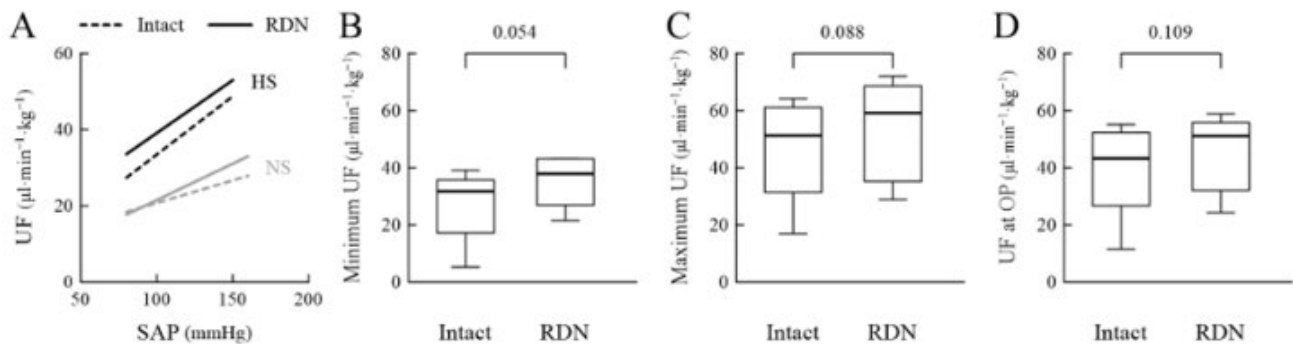
SHR-HSの血中 $\text{Na}^+$ 濃度は $141.2 \pm 0.6$  mEq/L ( $n = 9$ )であり、前年度に検討したSHR-NSの血中 $\text{Na}^+$ 濃度( $140.9 \pm 1.0$  mEq/L,  $n = 8$ )と比較して有意差はなかった( $P = 0.767$ , 対応なしのt検定)。なお、動脈圧反射の解析に用いた5匹のSHR-HSの血中 $\text{Na}^+$ 濃度は $141.2 \pm 1.0$  mEq/Lであり、全平均からの偏りはなかった。尿中クレアチニン濃度(**Fig. 4A**)と尿中 $\text{Na}^+$ 濃度(**Fig. 4B**)について、正常側と除神経側とで有意差はなかった。また、ステップ入力時の平均尿量を用いて計算したクレアチニンクリアランス(**Fig. 4C**)、ナトリウム排泄率(**Fig. 4D**)についても、正常側と除神経側とで有意差はなかった。

### 3.5 血中ノルアドレナリン濃度

急性実験終了時に採血したサンプルの血中ノルアドレナリン濃度は、SHR-HSで $381.6 \pm 78.1$  pg/mL ( $n = 5$ )であり、前年度に検討したSHR-NSの血中ノルアドレナリン濃度( $264.6 \pm 70.6$ ,  $n = 6$ )と比較して有意差はなかった( $P = 0.295$ , 対応なしのt検定)。

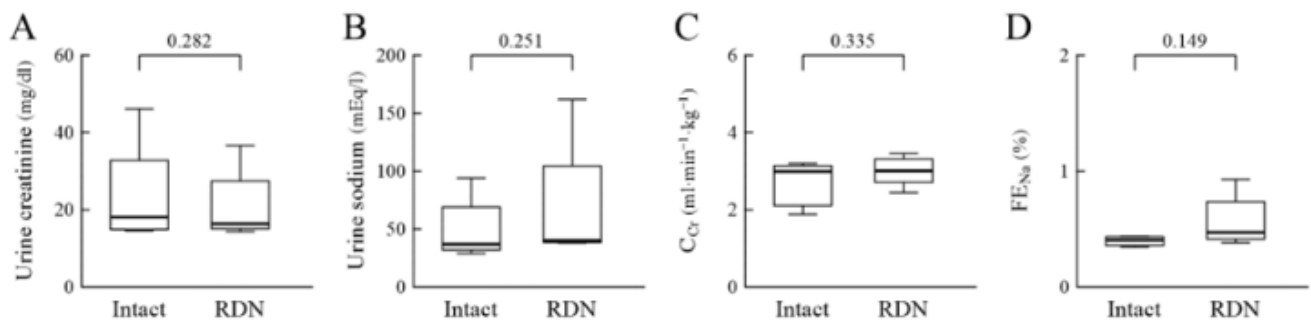
### 3.6 テルミサルタン静脈投与が圧-尿量関係に及ぼす影響

暫定的な結果ではあるが、3匹のSHR-HSにおいて、アンジオテンシン受容体拮抗薬の1つであるテルミサルタンの静脈投与が、圧-尿量関係に及ぼす影響を検討した。**Fig. 5A**は正常側、**Fig. 5B**は除神経側の結果である。いずれの側においても、テルミサルタン投与によって最高血圧が低下したが、同じ血圧値に対する尿量は、テルミサルタン投与前後であまり変化しなかった。



**Fig. 3** Comparisons of urine flow between the intact and denervated sides.

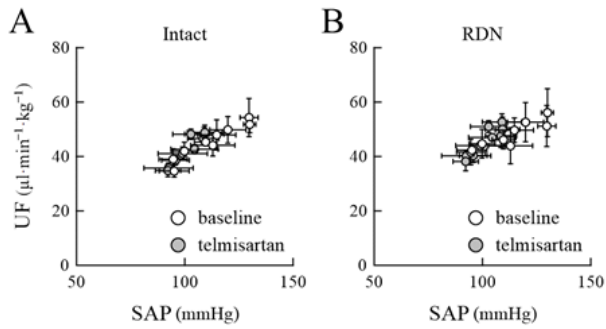
A. Mean regression lines indicating the relation of normalized urine flow (UF) versus systemic arterial pressure (SAP) in SHR fed a normal salt (NS) diet and a high salt (HS) diet. The dashed and solid lines represent the lines derived from the intact kidney and the kidney with renal denervation (RDN), respectively. The black and gray lines indicate the data derived from SHR-HS and SHR-NS, respectively. B. Minimum UF in SHR-HS. C. Maximum UF in SHR-HS. D. UF at the operating-point (OP) pressure in SHR-HS. In panels B-D, data were compared by using paired t-test (SHR-HSs,  $n = 5$ ).



**Fig. 4** Comparisons of renal function between the intact and denervated sides.

A. Urine creatinine concentration in the intact and the renal denervation (RDN) side. B. Urine sodium concentration. C. Creatinine clearance (CCr). D. Fractional excretion of sodium (FENa). Data were compared by using paired t-test (SHR-HSs,  $n = 5$ ).





**Fig. 5** Effect of telmisartan on SAP-UF relationship (tentative).

A. SAP-UF relationship on the intact side before and after the intravenous administration of telmisartan.

B. SAP-UF relationship on the denervated side before and after the intravenous administration of telmisartan. SAP, systemic arterial pressure; UF, normalized urine flow; RDN, renal denervation. The data points indicate mean  $\pm$  SE values (SHR-HSs,  $n = 3$ ).

#### 4. 考察

昨年度は SHR における圧-尿量関係を調べたところ、正常血圧の WKY に比べて、圧-尿量関係の傾きが 1/3 程度に低下していた<sup>2,3)</sup>。この尿排泄能低下の原因の1つとして、SHR における過剰な交感神経活動を考えたが、腎除神経を行っても圧-尿量関係の傾きの低下が正常化することはなかった<sup>3)</sup>。本年度は、SHR に高食塩食を給餌することで (SHR-HS)、交感神経性抗利尿と圧利尿のバランスがどのように変化するかを検討した。しかしながら、麻酔下の急性実験時の最高血圧は、正常食塩食を給餌した SHR (SHR-NS) よりもむしろ低く (Fig. 3A)、期待したような血圧の上昇はみられなかった。血中ノルアドレナリン濃度は、平均値としては SHR-HS のほうが SHR-NS よりも高かったが、統計的な差はなかった。本研究では、高食塩食の給餌開始から 1 週間後に腎除神経を行い、高食塩食を継続したまま腎除神経 6~17 日後に急性実験を行ったが、交感神経活動のさらなる上昇を伴う高血圧を惹起するには期間が短かった可能性がある。また、急性実験は麻酔下で行うので、覚醒下で観察される体血圧の差が見えにくくなることも一因と考えられる。

以上のように、交感神経活動や血圧に関する違いは明らかではなかったが、圧-尿量関係については、SHR-HS において SHR-NS よりも上方にシフトしており (Fig. 3A)、正常側での圧-尿量関係の傾きは SHR-HS のほうが SHR-NS よりも大きかった。本研究では、高食塩食を給餌

したときに飲水量は制限しておらず、高食塩食の摂取とともに飲水量が増え、尿排泄も増えたことが想定される。この尿排泄の増加は、血圧上昇による二次性的のものである可能性があるが、先に述べたように血圧自体に有意な上昇はなく、また、同じ血圧値で比較しても SHR-HS のほうが SHR-NS よりも尿量が多かったため、腎臓における尿排泄が亢進した状態にあると考えられる。腎除神経によって SHR-HS の圧-尿量関係のグラフは少し上に移動したが、傾きは同じかむしろ低下しており (Fig. 3A)、高食塩食を給餌したときの尿量増加において、腎交感神経の役割が大きいとは言えない。

血中ナトリウム濃度が低下すると、糸球体傍細胞からのレニン分泌が増加する<sup>8)</sup>。このため、血中ナトリウム濃度が高くなる状況では、レニン分泌が減少することが想定される。本研究では、SHR-NS と SHR-HS とで血中ナトリウム濃度に有意差はなかったが、高食塩負荷で血中レニン活性が下がることが報告されている<sup>9)</sup>。血中レニン活性の低下で、アンジオテンシン II による抗利尿作用が抑制された結果、血圧値に関係なく、SHR-HS において SHR-NS よりも尿量が増加した可能性がある。本研究の関連実験において、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬の1つであるテルミサルタンを静脈投与すると、心筋梗塞後ラットの圧-尿量関係の傾きが大きくなることが分かっている (未発表データ)。これに対して、SHR-HS ではテルミサルタンを投与しても、同じ血圧値に対する尿量が大きく増加することはなさそうである (Fig. 5)。つまり、SHR-HS ではアンジオテンシン II による抗利尿作用はそれほど強くなかったことを示唆する。一方で、高食塩負荷で血中レニン濃度は下がるが、アンジオテンシン II の組織濃度は逆に上昇するという報告もあり<sup>10)</sup>、今回観察された SHR-HS における圧-尿量関係の上方移動のメカニズムについては、さらに検討を行う必要がある。

#### 5. まとめと今後の課題

薬物抵抗性難治性高血圧に対するデバイス治療として、腎除神経術が検討されている<sup>11)</sup>。腎除神経によって交感神経性抗利尿がなくなり、尿量が増えて体液量が減少することが治療メカニズムの1つと考えられているが、血圧の低下自体は圧利尿を抑制するので、圧利尿と神経性抗利尿のバランスを定量評価することが重要と考えた。そこで、2019 年度から 3 年間に渡り貴財団からの研究助成を受け、

正常血圧ラット, SHR, 高食塩給餌を行った SHR (SHR-HS)を用いて, 尿量と交感神経活動の役割を検討してきた。当初, 腎臓交感神経活動の増加によって尿量が減少すると考えていたが, 全身の交感神経活動の増加によって血圧が上昇するような条件では, 圧利尿が優位となり, 結果としては尿量が増加することを明らかにした。また, 腎交感神経の有無によって, 尿量関係が大きく変わるものと予測したが, 除神経による尿量変化がもっとも顕著であったのは正常ラットであり, 交感神経活動が亢進していると想定される SHR 及び SHR-HS では, 正常側と除神経側とで尿量関係の大きな違いはみられなかった。今回の一連の研究では, 末梢作用に注目して, 腎交感神経の尿量関係に対する役割を検討してきた。一方で, 腎除神経は求心路の遮断によって, 中枢を介して全身の交感神経活動を抑制するという報告がある。このような求心路遮断の影響を評価するために, 現在, SHR に対して両側腎除神経を行い, 尿量関係を調べる研究を進めている。

## 6. 文献

1. 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.
2. Kawada T, Hayama Y, Nishikawa T, Suehara S, Sawada S, Tanaka T, Uenohara M, Sugimachi M. Open-loop analysis on sympathetically mediated arterial pressure and urine output responses in rats: effect of renal denervation. *J Physiol Sci*. 70: 32, 2020. doi: 10.1186/s12576-020-00759-x.
3. Kawada T, Nishikawa T, Suehara S, Sawada S, Tanaka T, Uenohara M, Yamamoto H, Sugimachi M. Open-loop analysis on sympathetically mediated arterial pressure and urine output responses in spontaneously hypertensive rats: effect of renal denervation. *J Physiol Sci*. 71: 13, 2021. doi: 10.1186/s12576-021-00798-x.
4. Huang BS, Van Vliet BN, Leenen FHH. Increases in CSF  $[Na^+]$  precede the increases in blood pressure in Dahl S rats and SHR on a high-salt diet. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 287: H1160–H1166, 2004. doi: 10.1152/ajpheart.00126.2004.
5. Sato T, Kawada T, Miyano H, Shishido T, Inagaki M, Yoshimura R, Tatewaki T, Sugimachi M, Alexander J Jr, Sunagawa K. New simple methods for isolating baroreceptor regions of carotid sinus and aortic depressor nerves in rats. *Am J Physiol*. 276: H326–H332, 1999. doi: 10.1152/ajpheart.1999.276.1.H326.
6. Kent BB, Drane JW, Blumenstein B, Manning JW. A mathematical model to assess changes in baroreceptor reflex. *Cardiology* 57: 295–310, 1972. doi: 10.1159/000169528.
7. 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.
8. Davis JO, Freeman RH. Mechanisms regulating renin release. *Physiol Rev*. 56: 1–56, 1976. doi: 10.1152/physrev.1976.56.1.1.
9. Takeda Y, Yoneda T, Demura M, Furukawa K, Miyamori I, Mabuchi H. Effects of high sodium intake on cardiovascular aldosterone synthesis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*. 19: 635–639, 2001. doi: 10.1097/00004872-200103001-00017.
10. Bayorh MA, Ganafa AA, Emmett N, Socci RR, Eatman D, Fridie IL. Alterations in aldosterone and angiotensin II levels in salt-induced hypertension. *Clin Exp Hypertens* 27: 355–367, 2005. doi: 10.1081/CEH-57423.
11. Yamamoto E, Sueta D, Tsujita K. Renal denervation in resistant hypertension: a review of clinical trials and future perspectives. *Cardiovasc Interv Ther* (online ahead of print) doi: 10.1007/s12928-022-00854-2.

## Quantitative Analysis of the Effect of Salt Loading on the Balance Between Pressure Diuresis and Renal Sympathetic Antidiuretic Function in Hypertensive Rats

Toru Kawada<sup>1</sup>, Hiromi Yamamoto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Cardiovascular Dynamics, National Cerebral and Cardiovascular Center,

<sup>2</sup>Department of Cardiology, Kurashiki Central Hospital, Ohara HealthCare Foundation

### Summary

Sympathetic nerve activity (SNA) is involved in renal sodium and water excretion. An increase in renal SNA is generally considered to decrease urine output. However, when SNA increases primarily and the elevation of systemic arterial pressure (SAP) ensues, a pressure diuresis effect can antagonize the neurally-mediated anti-diuretic effect. Our previous studies indicate that urine volume increases under the conditions of primary acute sympathetic activation due to the pressure diuresis effect. Further, the slope of urine flow (UF) versus SAP was lower in spontaneously hypertensive rats (SHR) compared with normotensive Wistar-Kyoto rats. Unilateral renal denervation (RDN) was ineffective to increase the slope of UF versus SAP in SHR. The aim of the present study was to elucidate the effect of salt loading on the balance between the neurally-mediated anti-diuretic effect and the pressure diuresis effect. In a unilateral renal denervation model of SHR fed an 8% high-salt diet (SHR-HS), the SAP-UF relationship shifted upward compared with SHR fed with a normal salt diet. There was no significant difference in the SAP-UF relationship between the denervated and intact sides, suggesting a minor role of the renal SNA in increasing the urine output in the SHR-HS. The intravenous administration of telmisartan, an angiotensin II receptor blocker, did not significantly affect the SAP-UF relationship in the SHR-HS. Renin secretion might have been decreased under the high salt diet, and the anti-diuretic effect of angiotensin II was suppressed, resulting in an increase in urine volume. Renal denervation is being investigated as a device therapy for drug-resistant hypertension. Our results indicate that the peripheral effect of the renal sympathetic nerve on the urine output might be smaller than that of pressure diuresis. Further studies are warranted to elucidate the central effect of RDN through the renal afferent pathway.