

レニン・アンジオテンシン系、一酸化窒素と腎循環

慶應義塾大学医学部内科

林 松彦、市原淳弘

要旨：腎臓は、生体の水・電解質代謝調節に中心的役割を果たしており、種々の内分泌因子、神経因子により調節を受けている。糸球体血行動態については、尿細管糸球体フィードバック機構 (TGF) が急性の変化に対応し、レニン・アンジオテンシン系、一酸化窒素は慢性的にこのTGFの修飾因子として作用している。近年、この一酸化窒素産生酵素には、内皮型 (eNOS)、神経型 (nNOS)、誘導型 (iNOS) の3種類が存在することが示され、各々腎臓にも存在することが証明された。我々は、単離腎灌流系を用いてこれらの酵素の役割を検討してきたが、その結果、nNOSはTGFによる細動脈収縮に拮抗的に作用し、eNOSはアンジオテンシンIIの作用に拮抗的に作用していることが示された。さらに、lipopolysaccharide投与ラットではiNOSの亢進が示され、敗血症状態での血行動態に関与することが示唆された。これらの結果は、一酸化窒素の腎微小循環における役割の重要性を示すものと考えられた。

キーワード：腎微小循環、輸入細動脈、輸出細動脈、アンジオテンシンII、一酸化窒素産生酵素、一酸化窒素

はじめに

腎臓は、生体の水・電解質代謝の中心をなす臓器であり、その機能は様々な内分泌因子、あるいは交感神経系により調節を受けている。それらの調節因子による糸球体血行動態、尿細管イオン・水輸送の変化を通して、体液量の調節が行われるが、糸球体血行動態の変化は、糸球体濾過量の決定因子として極めて重要であり、ひいては、全身の体液量調節にも中心的役割を果たしている。この糸球体濾過量、糸球体血行動態に関しては、短期的には尿細管糸球体フィードバック機構 (TGF) が、時々刻々と変化する生体の状況にあわせて、個々の糸球体の調節を行っている¹⁾(図1)。このTGFにおいて最も重要な調節因子は遠位尿細管に存在する緻密斑におけるクロール濃度と尿流量である。緻密斑におけるクロール濃度の上昇は、TGFを介して、輸入細動脈の収縮を生じ、単一糸球体濾過量を減少させ、反対にクロール濃度の低下は輸入細動脈の拡張を生じて、単一糸球体濾過量の増加を生じる。この変化は非常に速いものであり、秒単位で、個々の糸球体濾過量を変化させている。一方、長期的な緻密斑におけるクロール濃度の変化は、傍糸球体装置からのレニン分泌量を調節している。クロール濃度

短期・長期のTGF調節機構



図1 傍糸球体装置による短期および長期の調節 (文献1より改変掲載)

の低下はレニン分泌量の増加を、クロール濃度の上昇はその減少を生じる。その結果生じるアンジオテンシンII (A II) の変化は、TGFの反応性を変化させることで糸球体濾過量の調節を行う。A IIの増加はTGFの反応性の増加を、A IIの減少はその減弱をそれぞれ生じている(図2)。さらに、近年、一酸化窒素がTGFの反応を調節し、レニン・アンジオテンシン系との相互作用も有することが示されている。以下に、腎灌流法による我々の検討を中心として記載する。

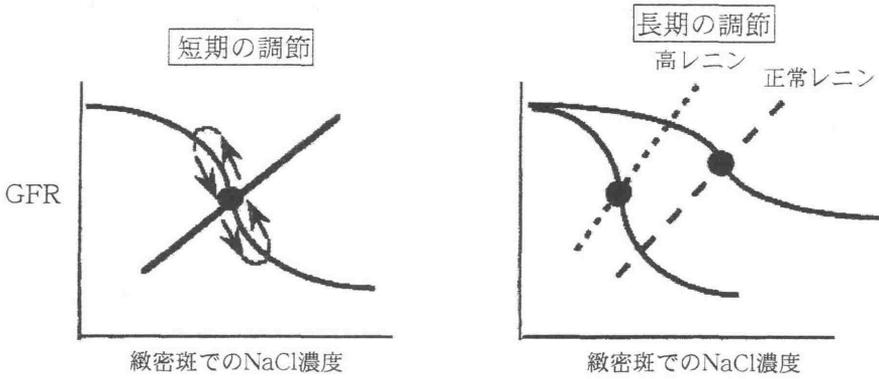


図2 傍糸球体装置におけるNaCl濃度と糸球体濾過率の関係。レニン系の活性化により、TGFは亢進する。(文献1より改変掲載)

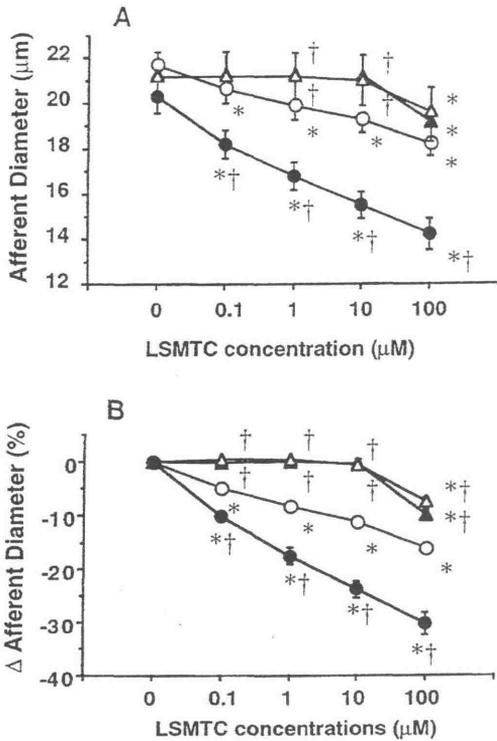


図3 L-SMTCの輸入細動脈径におよぼす影響。
○; 対照, ●; acetazolamide 添加, △; 乳頭切除, ▲; 乳頭切除+acetazolamide, †; p<0.05, 対照腎の反応と比較して, *; p<0.05, 基礎状態と比較して。(文献5より抜粋)

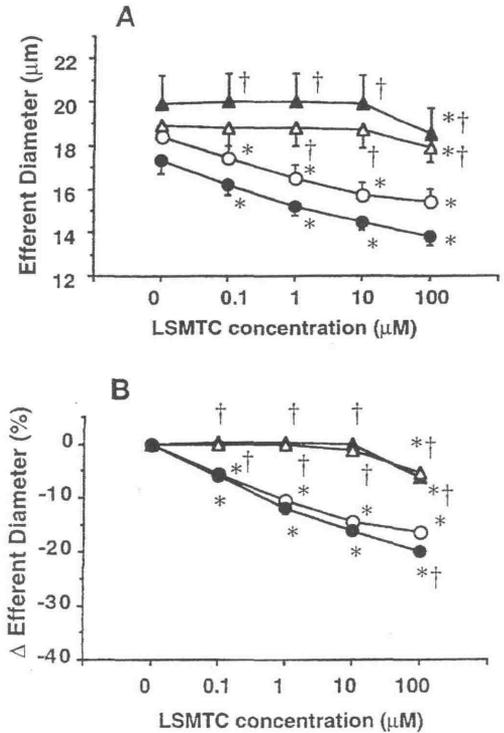


図4 L-SMTCの輸出細動脈径におよぼす影響。
○; 対照, ●; acetazolamide 添加, △; 乳頭切除, ▲; 乳頭切除+acetazolamide, †; p<0.05, 対照腎の反応と比較して, *; p<0.05, 基礎状態と比較して。(文献5より抜粋)

1, 神経性一酸化窒素産生酵素の役割
一酸化窒素産生酵素(NOS)には、以下の3種類が知られている²⁾。

①神経型一酸化窒素産生酵素(nNOS, NOS I型)

②誘導型一酸化窒素産生酵素(iNOS, NOS II型)

③内皮型一酸化窒素産生酵素(eNOS, NOS III型)
これらは、各々分子構造も異なり、阻害薬に対する親和性も異にしているが、これまで、腎内

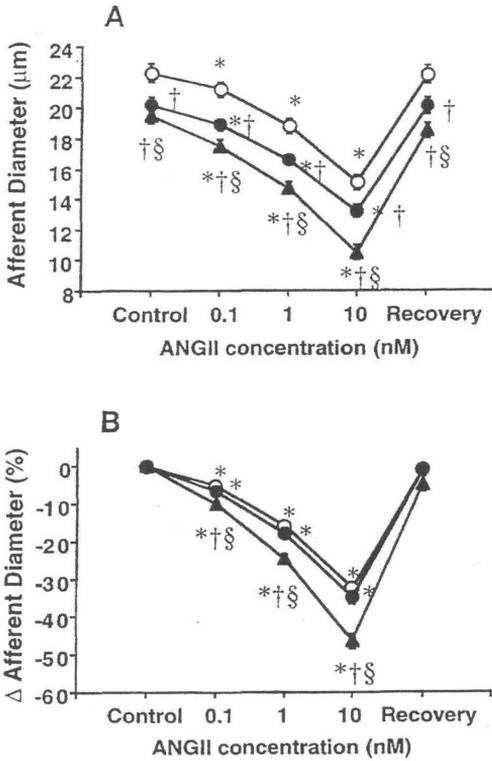


図5 アンジオテンシンIIによる輸入細動脈収縮におよぼすL-SMTCとL-NNAの影響

○; 対照, ●; L-SMTC添加, ▲; L-NNA添加
 †; p<0.05, 対照の反応と比較して。* ; p<0.05, 基礎状態と比較して, § ; p<0.05, L-NNAとL-SMTCの比較。(文献5より抜粋)

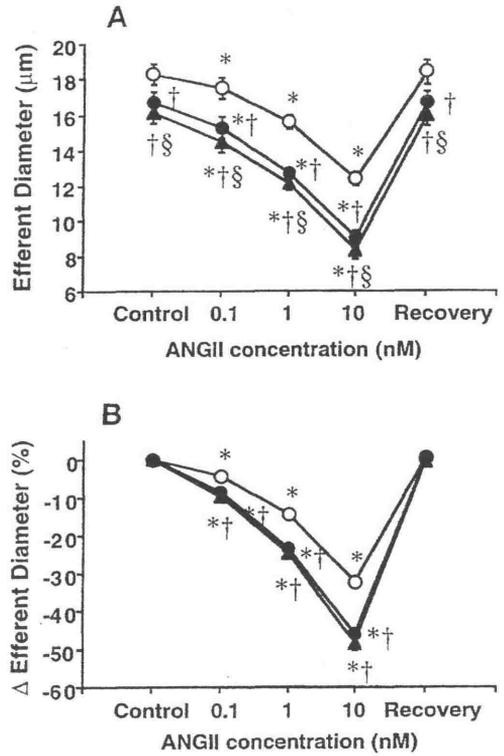


図6 アンジオテンシンIIによる輸出細動脈収縮におよぼすL-SMTCとL-NNAの影響

○; 対照, ●; L-SMTC添加, ▲; L-NNA添加
 †; p<0.05, 対照の反応と比較して。* ; p<0.05, 基礎状態と比較して, § ; p<0.05, L-NNAとL-SMTCの比較 (文献5より抜粋)

では、血管内皮を中心として、eNOSの存在が確認されていた。しかしながら、各一酸化産生酵素特異抗体による免疫組織学的検討結果が報告され、nNOSが緻密斑に存在することが示された³⁾。緻密斑は前述のようにTGFに中心的役割を果たす部位であることから、nNOSの腎循環における役割を摘出腎灌流系を用いて検討した。この摘出腎灌流法とは、ラットの腎動脈にカニューレを挿入し、血液で灌流を行い、さらに表層もTyrode溶液で灌流しつつ、顕微鏡下で腎輸出細動脈、輸入細動脈の収縮・弛緩を観察するものである⁴⁾。さらに、我々が用いている方法は、腎臓を半切し、傍髄質の糸球体を観察しうるようにしたものである。水腎症にした腎臓を用いる系と異なり、TGFが保たれている点が優れた点である。さらに、血液で灌流することにより、一層生体内での条件に近い、生

理的条件下での実験方法といえる。また、腎乳頭を露出していることから、この部分を切除することによりTGFを完全に遮断することができるのも特徴である。傍髄質の糸球体の解剖学的特徴としては、その糸球体に始まる尿細管は、腎乳頭先端まで達した後へアピンを形成して、再び皮質へと上行してくる点にあり、乳頭切除により、この尿細管が切断され、糸球体で濾過された尿が緻密斑に達しなくなるによりTGFが完全に遮断される。この灌流腎で、輸入・輸出細動脈径の変化を観察することにより、間接的ではあるがTGFによる糸球体血行動態の検討を行った。

まず、この系を用いて、nNOSのTGFとの相互作用を検討した。nNOSの特異的阻害薬として知られるS-methyl-L-thiocitrulline (L-SMTC) を添加し、その輸入・輸出細動脈径に

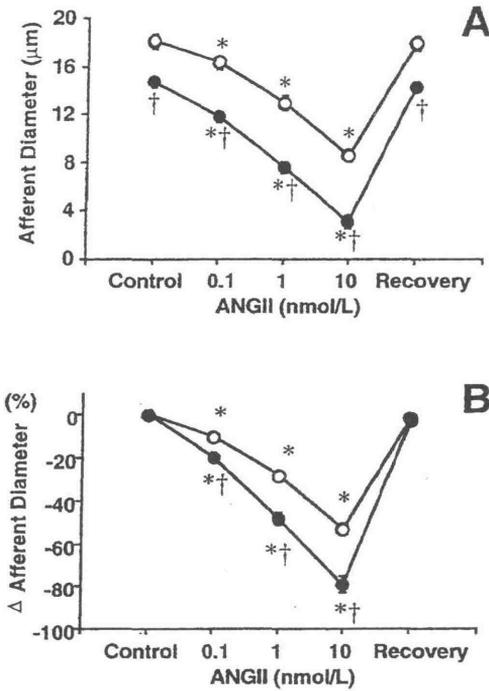


図7 アンジオテンシンⅡを慢性投与したラット腎における、輸入細動脈のアンジオテンシンⅡ反応性とその反応性におよぼすL-NNAの影響

○; アンジオテンシンⅡのみ, ●; アンジオテンシンⅡ + L-NNA, †; p<0.05, アンジオテンシンⅡのみの反応と比較して。*; p<0.05, 基礎状態と比較して。(文献6より抜粋)

およぼす影響を観察したが⁵⁾、図3に示すように、輸入細動脈径は、L-SMTCの濃度依存性に収縮反応を示し、nNOSが、恒常状態において輸入細動脈の拡張に作用していることが示された。さらに、この収縮反応はacetazolamideによりTGFを増強した場合、さらに顕著となり、反対に乳頭切除によりTGFを遮断した場合にはほぼ消失することが明らかとなった。一方、輸出細動脈では、acetazolamideによる増強反応はみられないものの、L-SMTCの作用は輸入細動脈と同様に見られ、この反応は乳頭切除により消失した(図4)。以上の結果から、基礎状態ではnNOS由来の一酸化窒素はTGFを介する輸入・輸出細動脈の収縮反応を抑制していることが示された。一方、非特異的なNOSの阻害剤であるN^ω-nitro-L-arginine (L-NNA)を添加した場合にも輸入・輸出細動脈

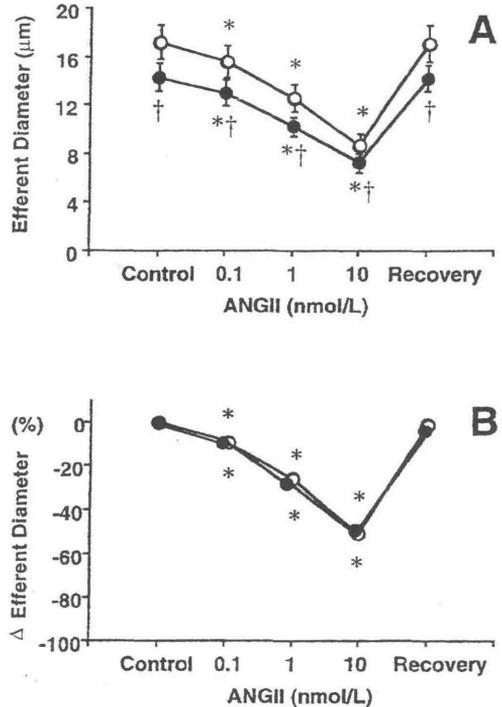


図8 アンジオテンシンⅡを慢性投与したラット腎における、輸出細動脈のアンジオテンシンⅡ反応性とその反応性におよぼすL-NNAの影響

○; アンジオテンシンⅡのみ, ●; アンジオテンシンⅡ + L-NNA, †; p<0.05, アンジオテンシンⅡのみの反応と比較して。*; p<0.05, 基礎状態と比較して。(文献6より抜粋)

は収縮するが、この作用は乳頭切除により減弱するものの消失はせず、eNOSによる一酸化窒素の産生はTGFとは直接関連せず、血管の拡張傾向に作用していることが示された。さらに、A IIによる輸入・輸出細動脈の収縮におけるnNOSとeNOSの役割を検討したが、輸入細動脈では、nNOSの阻害薬L-SMTCではその反応性に変化はなく、L-NNAにより増強した(図5)。すなわち、eNOS由来の一酸化窒素が、A IIによる輸出細動脈に拮抗的に作用することが示された。これに対し、輸出細動脈では、L-SMTCによりA IIの収縮反応は増強し、nNOS由来の一酸化窒素が重要な役割を果たすことが明らかとなった(図6)。

2, アンジオテンシンⅡ注入高血圧ラットにおける一酸化窒素産生とTGFの関係

正常ラットから摘出した腎臓では、上記のよ

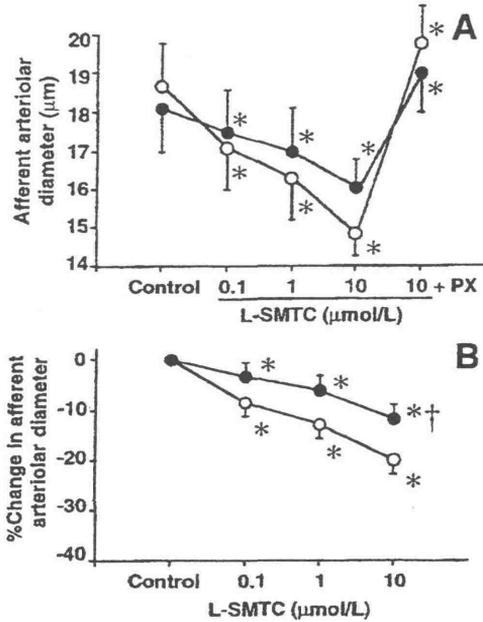


図9 L-SMTCの対照ラット腎およびアンジオテンシンⅡ慢性投与ラット腎輸入細動脈径におよぼす影響
○；対照ラット腎、●；アンジオテンシンⅡ慢性投与ラット腎、PX；乳頭切除、†；p<0.05、対照ラットの反応と比較して、*；p<0.05、基礎状態と比較して。(文献7より抜粋)

うにnNOS、eNOS由来の一酸化窒素がそれぞれ輸入・輸出細動脈において異なる作用を示したが、病的な状態で一酸化窒素がTGFとどのような関係にあるかを、AⅡの慢性投与ラットにおいて検討した⁶⁾。実際に臨床的にどのような病態に類似しているかは問題があるが、レニン系の亢進している高血圧患者などでは近い状態にあることも考慮される実験系である。この状態のラットから得た腎臓でAⅡに対する血管収縮における一酸化窒素の役割を観察すると、まず、L-NNAの存在下では、輸入細動脈の収縮反応のみが増強し(図7)、輸出細動脈では変化がみられなかった(図8)。一酸化窒素の基質を提供するA-nitroso-N-acetylpenicillamineを添加すると、基礎状態での輸入・輸出細動脈径は拡張を示したが、AⅡに対する反応性は変化を受けなかった。これらの結果から、AⅡ持続投与下では、一酸化窒素がAⅡによる血管収縮に、特に輸入細動脈において拮抗的に作用していることが示された。

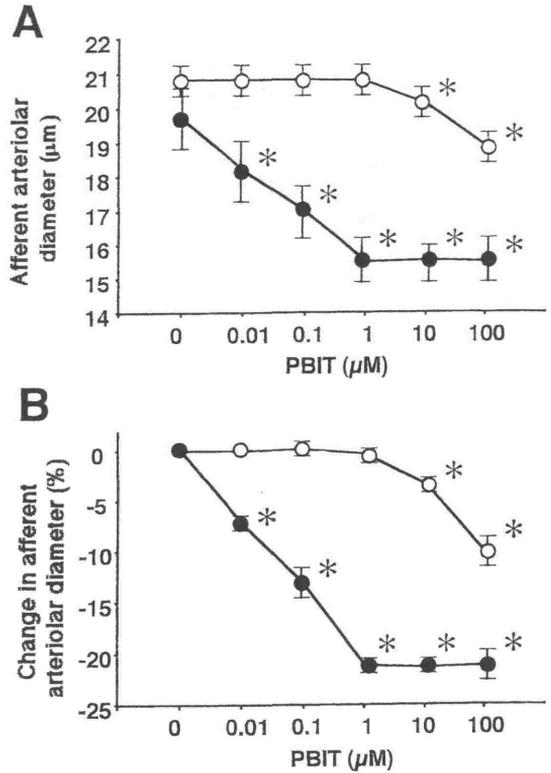


図10 PBITの輸出細動脈径におよぼす影響

○；対照ラット腎、●；LPS投与ラット腎、*；p<0.05、基礎状態と比較して。(文献8より抜粋)

さらに、このAⅡ持続投与ラットでのnNOSの役割を検討するため、L-SMTC添加の影響を検討した⁷⁾。図9に示したように輸入細動脈では、このL-SMTCによる血管収縮反応は正常ラットに比べ、AⅡ持続投与ラットで減弱を示し、nNOSの抑制が生じていることが明らかとなった。

3. 誘導型一酸化窒素産生酵素の役割

これまでに記したように、nNOS、eNOSは各々、恒常状態、あるいは病的状態で、基礎状態での糸球体血行動態、あるいはAⅡへの反応性に重要な役割を果たしていることが示された。では、もう一つの一酸化窒素産生酵素であるiNOSは腎血行動態にどのような役割をはたしているのだろうか。iNOSは主にmacrophageなどに存在し、正常状態では腎尿細管に発現しているとの報告がある²⁾。一方、

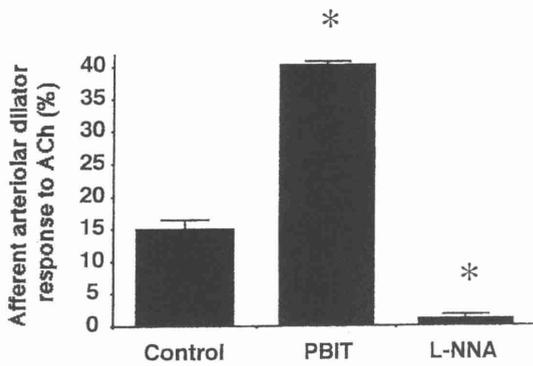


図 11 PBIT のアセチルコリンによる輸入細動脈拡張におよぼす影響

* ;p<0.05, アセチルコリンのみと比較して。(文献 8 より抜粋)

敗血症などではこの iNOS が全身の血行動態、免疫反応等に重要な役割を示すことが明らかとなっていることから、このような病態での iNOS の腎血行動態における役割を検討した。ラットに lipopolysaccharide (LPS) を投与した後、腎灌流を行い、上記と同様に輸出・輸入細動脈を観察した⁸⁾。灌流液に iNOS の阻害剤である S,S'-(1,3-phenylenbis(1,2-ethanediy)) bisisothiourea (PBIT) を添加すると、正常ラットでは極めて高濃度でのみ輸入・輸出細動脈の収縮反応を呈したが、LPS 処置ラットでは用量依存性の収縮を示した (図 10)。さらに、アセチルコリンによる血管拡張作用との相互作用を検討すると、アセチルコリンによる輸入・輸出細動脈の血管拡張を PBIT は有意に増強した (図 11)。これらの結果から、LPS 処置ラットでは、iNOS の作用が増強している一方、内皮由来の一酸化窒素産生には拮抗的に作用している事が示され、敗血症における内皮障害に関与していることが示唆された。

以上のように、一酸化窒素と、レニン・アンジオテンシン系は、各々単独で、あるいは相互作用を持ちながら、腎微小循環を調節していることが明らかとなりつつある。病的状態での検討、特に臨床例での検討は未だ不明な点も多く、実際に阻害薬、あるいは一酸化窒素の基質をどのように応用していくかは、今後の課題といえよう。

参考文献

- Schnermann, J. Juxtaglomerular cell complex in the regulation of renal salt excretion. *Am J Physiol* 274 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 43): R263-R279, 1998.
- Kone, B.C., Baylis, C. Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. *Am J Physiol* 272 (Renal Physiol 41): F561-F578, 1997
- Tojo, A., Gross, S.S., Li-Zhang, C., et al. Immunocytochemical localization of distinct isoforms of nitric oxide synthase in the juxtaglomerular apparatus of normal rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 4: 1438-1447, 1994.
- Casellas, D., Navar, L.G. In vitro perfusion of juxtamedullary nephrons in rats. *Am J Physiol* 246 (Renal Fluid Electrolyte Physiol 15): F349-F358, 1984.
- Ichihara, A., Inscho, E.W., Imig, J.D., et al. Neuronal nitric oxide synthase modulates rat renal microvascular function. *Am J Physiol* 274 (Renal Physiol 43): F516-F524, 1998.
- Ichihara, A., Imig, J.D., Edward, W. et al. Interactive nitric oxide-angiotensin II influences on renal microcirculation in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension* 31: 1255-1260, 1998.
- Ichihara, A., Imig, J.D., Navar, L.G. Neuronal nitric oxide synthase-dependent afferent arteriolar function in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension* 33 [part II]: 462-466, 1999.
- Ichihara, A., Hayashi, M., Navar, L.G. et al. Inducible nitric oxide synthase attenuates endothelium-dependent renal microvascular vasodilation. *J Am Soc Nephrol* (in press)

The interaction between renin-angiotensin system, nitric oxide, and renal circulation

Matushiko Hayashi, Atsuhiko Ichihara

**Department of Internal Medicine
School of Medicine, Keio University**

Abstract

The kidney plays central roles in the regulations of water and electrolyte balances, and these regulations are controlled by hormonal factors and autonomic nervous system. In the regulation of glomerular hemodynamic, tubulo-glomerular feedback system (TGF) works mainly in acute phase regulation and renin-angiotensin system and nitric oxide modify this action of TGF, chronically. Recently, it has been reported that there are three major nitric oxide synthase; endothelial type (eNOS), neuronal type (nNOS), and inducible type (iNOS). It has been also reported that these three types of NOS are present in the kidney. We have investigated roles of these NOS in the regulation of glomerular hemodynamics and we have shown that nNOS counteracts the action of TGF and that eNOS counteracts the action of angiotensin II. Furthermore, in the rats with lipopolysaccharide treatment, it was shown that the iNOS activity is enhanced, indicating that iNOS plays a important role in the altered hemodynamics by septic state. From these results, it was suggested that nitric oxide is an important factor in the regulation of renal microcirculation.