食塩負荷時の血圧上昇に対する 腎ドーパミン受容体の役割

福島医大 第三内科

重 富 秀 一, 上 野 修 一, 鴻 野 浩
戸 崎 英 夫, 末 永 和 人, 橋 本 重 厚
福 地 総 逸

Role of Renal Dopamine Receptor in the Pathogenesis of Hypertension after Sodium Loading

**Shuichi SHIGETOMI, Shuichi UENO, Hiroshi KOHNO, Hideo TOSAKI,
Kazuto SUENAGA, Shigeatsu HASHIMOTO and Soitsu FUKUCHI**

The Third Department of Internal Medicine,
Fukushima Medical College,
Fukushima, Japan

Correspondence: Shuichi Shigetomi
The Third Department of Internal Medicine,
Fukushima Medical College,
4-45 Sugitsuma-cho, Fukushima-shi,
Fukushima 960, Japan

The purpose of this study is to clarify the role of renal dopamine receptor in the pathogenesis of salt-dependent hypertension. Male Wistar rats were raised under three different conditions, control, 1% NaCl loading (NaCl) and 1% NaCl plus metoclopramide with a dose of 1.5mg/kg daily (MC), for 2 weeks. Then, renal plasma membranes were prepared by ultracentrifugation method, and maximal binding capacity (Bmax) and dissociation constant (Kd) were determined by Scatchard analysis using ³H-spiperone. And plasma aldosterone and prolactin concentration in these three groups were measured by radioimmunoassay.

Results: Systolic blood pressure measured tail-cuff method significantly elevated in MC group, but not control and NaCl group. Bmax of renal dopamine receptor was 535.9 ± 85.0 fmol/mg protein, 594.9 ± 159.3 fmol/mg protein, 529.1 ± 166.1 fmol/mg protein, in control, NaCl and MC group, respectively. Kd of renal dopamine receptor in NaCl group was significantly lower than control ($p < 0.05$). Renal dopamine contents of NaCl and MC group were lower than control. There was a negative correlation between renal dopamine content and Bmax of renal dopamine receptor in NaCl group ($r = -0.95$, $p < 0.02$). In MC group, plasma aldosterone concentration was slightly higher than control and NaCl group,

but there was no differences in plasma prolactin concentration among these three groups.

Conclusion: These data suggests that renal dopamine receptor may participate in sodium transport in kidney, and that the impairment of dopaminergic activity may cause sodium-dependent hypertension.

緒 言

Dopamineはnorepinephrineやepinephrineの前駆物質としてのみならず、中枢神経系や心・血管系あるいは腎に作用して固有の生物学的活性を示す。dopamineやその前駆体の1-DOPAを投与するとナトリウム利尿を来たすことより、dopamineはナトリウム代謝調節因子のひとつとして重要な役割を演じている可能性がある。すなわち、dopamineによるナトリウム利尿は腎血管や腎組織内(尿細管など)の受容体を介する直接作用と^{1) 8)}、副腎皮質におけるaldosterone生合成・分泌の抑制を介する間接作用により生ずると考えられており、dopamine活性あるいは受容体の異常によりナトリウム貯留型の高血圧が引き起こされると思われる。

そこで著者らは、食塩負荷時の血圧上昇に対するdopamine活性並びにその受容体の役割を明らかにするため、以下の検討を行った。

対 象 と 方 法

Wistar系成熟雄ラット(体重250~300g)26匹の血圧をtail-cuff法(米国ナルコ社製, Model PE-300を使用)にて測定後、固型飼料(日本クレア製=ナトリウム0.28g%, カリウム0.77g%含有)摂取下で、以下の3群, すなわち、水道水(ナトリウム2mEq/L以下, カリウム0.1mEq/L以下)投与群(control群), 1%食塩水投与群(NaCl群)および1%NaCl投与下でさらにmetoclopramideを1.5mg/日の量で併用投与した群(MC群)に分けて2週間飼育し、再度血圧を測定後、下大静脈より採血し、血漿aldosteroneおよびprolactin含量をradioimmunoassayにて測定するとともに、腎を0.85%NaClで灌流後摘出し、腎dopamine受容体の解析と組織内dopamine含量の測定を行なった。

受容体の作製

摘出した腎の被膜を剥離し、腎う・腎杯を除去後これを細片としてのち、5倍量の30mM d,l histidine, 200mM sucrose, 5mM EDTA-2Naを含む18mM tris緩衝液, PH7.4を加えてhomogenizeし、200×Gで15分間遠心後、10,000×Gで60分間遠心し、さらにその上清を48,000×Gで60分間遠心した。上清を除去し、沈渣に10mM MgCl₂を含む50mM tris緩衝液, PH7.4を加えて浮遊させ、これを受容体として用いた。

腎 dopamine 受容体の解析

すでに報告したradioligand binding^{14) 15) 16)}法により腎細膜受容体の最大結合能と解離定数を求めた。すなわち、受容体浮遊液100μl(蛋白量150~300μg)に対し、既知濃度の放射性リガンド(3-H-spiperone; Amersham, Japan)を100μl加えてのち10mM MgCl₂を含む50mM tris緩衝液, pH7.4で全量を300μlに調製し、37°Cで15分間incubate後、Whatman GF/C glass fiber filterを用いて結合分画を採取した。次いで、10mM MgCl₂を含む50mM tris緩衝液でfilterを洗浄後、受容体と結合した3-H-spiperoneの放射活性をシンチレーションカウンターにより測定した。

腎組織内 dopamine 含量の測定

腎組織を細片とし, その重量を測定後, 0.05M 過塩素酸カリウム 2.8ml, 0.1MEDTA-2Na 0.1ml, 1 M 重亜硫酸ナトリウム 0.1ml より成る溶液を加えて homogenize し, 10,000×G で 20 分間遠心後, 上清を別の試験管に移し, 活性アルミナ 200 mg と 2.5% EDTA-2Na を含む 1.5M tris 緩衝液, pH 8.6 を加えて直ちに 5 分間攪拌した。2 分間静置後, アルミナを蒸留水 (10ml) で 3 回洗浄し, 次に 0.1 N 過塩素酸 1 ml を加えてアルミナに吸着した catecholamine を溶出, その溶液中の dopamine 含量を電気化学検出器を備えた高速液体クロマトグラフィー⁷⁾ (bioanalytical system 社製) により測定した。

実験結果

収縮期血圧は control 群 ($n = 8$) では 114.7 ± 9.6 mmHg より 2 週間後 116.3 ± 4.7 mmHg と有意の変化を示さなかったが, NaCl 群 ($n = 6$) では 111.9 ± 4.0 mmHg より $121.8 \pm$ mmHg に軽度上昇し, MC 群 ($n = 6$) では 116.9 ± 8.1 mmHg より 133.0 ± 14.4 mmHg に明らかに上昇した (Fig. 1)。

腎 dopamine 受容体の最大結合能は control 群 535.9 ± 85.0 fmol/mg 蛋白, NaCl 群 594.9 ± 159.3 fmol/mg 蛋白, MC 群 592.1 ± 166.2 fmol/mg 蛋白であって, control 群に比べ NaCl 群および MC 群でやや高値を示すものが多かったが, 個体差が大きかったので, 全体としてみると有意差はなかった。(Fig. 2)。

Fig. 1. Systolic blood pressure before and after sodium loading. Closed circles (●), open circles (○) and closed triangles (▲) showed control, 1% NaCl for 2 weeks and 1% NaCl and metoclopramide (1.5mg daily) for 2 weeks, respectively.

** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$

Fig. 2. Maximal binding capacity (Bmax) of renal dopamine receptor.
 NaCl: 1% NaCl for 2 weeks
 MC: 1% NaCl and metoclopramide (1.5mg daily) for 2 weeks

Fig. 3. Dissociation constant (Kd) of renal dopamine receptor.
 NaCl: 1% NaCl for 2 weeks
 MC: 1% NaCl and metoclopramide (1.5mg daily) for 2 weeks

Fig. 4. Renal dopamine content.
 NaCl: 1% NaCl for 2 weeks
 MC: 1% NaCl and metoclopramide (1.5mg daily) for 2 weeks

Fig. 5. Correlation between maximal binding capacity (Bmax) of renal dopamine receptor and renal dopamine content. Open circles (○) and closed triangles (▲) shows 1% NaCl for 2 weeks and 1% NaCl and metoclopramide (1.5mg daily) for 2 weeks, respectively.

腎 dopamine 受容体の解離定数は, control 群 $6.6 \pm 1.5 \text{ nM}$, NaCl 群 $10.0 \pm 2.3 \text{ nM}$ および MC 群 $7.5 \pm 1.4 \text{ nM}$ と control 群に比べ NaCl 群で高値 ($p < 0.05$) であったが, control 群と MC 群との間には有意差はなかった (Fig. 3)。

腎組織内 dopamine 含量は, control 群 $1.53 \pm 0.07 \text{ ng/mg 蛋白}$, NaCl 群 $0.65 \pm 0.22 \text{ ng/mg 蛋白}$, MC 群 $0.38 \pm 0.14 \text{ ng/mg 蛋白}$ であって, control 群に比べ NaCl 群では軽度, MC 群では著明な低値を示した (Fig. 4)。また, 腎 dopamine 受容体の最大結合能と組織内 dopamine 含量との間には, NaCl 群では $r = -0.95$ ($p < 0.02$) と有意の負の相関を認めたが, MC 群では相関はなかった (Fig. 5)。

血漿 aldosterone 含量は control 群 $34.4 \pm 12.9 \text{ ng/dl}$, NaCl 群 $32.9 \pm 14.0 \text{ ng/dl}$, MC 群 $45.8 \pm 12.7 \text{ ng/dl}$ と MC 群でやや高値を示したが, 血漿 prolactin 含量は 3 群間に差はなかった。

考 按

腎は生体の血圧調節に重要な役割を演じている臓器のひとつであって, 糸球体ろ過量の低下や尿細管におけるナトリウムの再吸収増大は体液貯留による高血圧をひきおこす。循環血中の catecholamine や腎神経を介する交感神経刺激は細胞膜の受容体を活性化して糸球体や尿細管機能を調節するので, 腎における交感神経活性や受容体の異常により血圧が上昇する可能性がある。著者らは, 腎に α, β および dopamine 受容体が存在することを証明したが, これらの受容体が高血圧の成因にどのように関与するかは明らかでない。

最近, 本態性高血圧症のうち, 食塩感受性群では尿中 dopamine 排泄量が低下し, かつ食塩負荷時の尿中 dopamine の増加度が正常者に比して軽度であること¹³⁾, また, α および β 受容体を刺激しない程度の少量の dopamine を点滴静注したときの尿中ナトリウム排泄量は低レニン性本態性高血圧症で減少していること⁹⁾ が報告され, 本態性高血圧症の成因には一部 dopamine 活性低下が関与すると考えられる。

本実験により, 食塩摂取過剰のみでは血圧は上昇せず, 食塩とともに metoclopramide を投与すると著明な血圧上昇を来すことが明らかとなった。すなわち, 正常者では食塩負荷状態であっても dopamine によるナトリウム利尿作用により, 体液貯留による血圧上昇が阻止されるが, 何らかの機序によって dopamine の作用が障害されると, ナトリウム再吸収が増大し血圧が上昇すると思われる。

腎の dopamine 受容体は, 糸球体と尿細管に存在しており^{4) 5)}, 前者は D-2 receptor 後者は D-1 receptor⁴⁾ であって, いずれも腎におけるナトリウム再吸収と密接な関連を有すると考えられる。しかし, 食塩負荷時の腎 dopamine 受容体の変化については未だ不明である。

今回の実験から, 食塩負荷によって腎 dopamine 受容体の結合親和性は低下するが, 単位蛋白量当りの受容体数は有意の変動を示さないことが明らかとなった。一般に, ホルモンが細胞膜の受容体と結合すると膜の微細構造が変化するため受容体のホルモンに対する親和性が低下する¹⁰⁾ と言われており, 本実験の成績は, 食塩投与下では内因性 dopamine と腎の受容体との結合およびそれに伴う膜受容体の構造変化が生じることを示唆する。受容体数に変化がなかった理由として, 食塩負荷期間が 2 週間と短期のため受容体の減少を来すには至らなかったこと, あるいは, 受容体を増加させる他の未知の因子の関与によりみかけ上変化がなかったことが考えられる。食塩とともに metoclopramide を投与したときに受容体の結合親和性と受容体数に変化がなかったのは, 腎の受容体と内因性 dopamine との結合が dopamine antagonist の metoclopramide によって阻止されたことによ

と思われる。

最近, aldosterone 分泌に対する dopamine の役割が注目されており, 正常者^{6) 12)}や原発性アルドステロン¹¹⁾症に metoclopramide 投与すると血漿 aldosterone 含量が上昇し, その上昇度は食塩制限時に増加する。また, metoclopramide による aldosterone 分泌は ACTH や angiotensin II およびカリウムとは無関係で, ナトリウム平衡と密接に関連するので⁶⁾, dopamine は体液量の変化に伴う aldosterone の分泌を修飾すると考えられる。

本実験により, 食塩負荷時であっても metoclopramide を投与すると血漿 aldosterone 含量が増加することを明らかにした。したがって, 細胞膜 dopamine 受容体の働きが阻害されると dopamine によるナトリウム利尿(近位尿細管)が抑制されるとともに, aldosterone を介するナトリウム再吸収(遠位尿細管)が増加し, 体液貯留による高血圧が惹起されるとおもわれる。

結 語

食塩負荷時の血圧上昇に対する dopamine 受容体の役割を明らかにするため, Wistar 系雄ラットを control 群, 1%食塩水投与群(NaCl 群)および1%NaCl 投与下で metoclopramide を1.5mg/日の量で併用投与した群(MC 群)に分けて2週間飼育し, 血圧の変化, ならびに腎 dopamine 受容体の最大結合能と解離定数, 腎 dopamine 含量および血漿 aldosterone 含量の変動を検討し以下の結果を得た。

収縮期血圧は, NaCl 群では不変, MC 群では明らかに上昇した。腎 dopamine 受容体の最大結合能は, control 群と NaCl 群および MC 群の間に有意差はなかった。一方, 解離定数は control に比べ NaCl 群で明らかに高値であったが, MC 群では差がなかった。腎 dopamine 含量は control 群に比べ NaCl 群および MC 群では低値であった。また, 血漿 aldosterone 含量は control 群に比べ NaCl 群では軽度低値, MC 群では軽度高値であった。

以上の成績より, 食塩負荷時には dopamine のナトリウム利尿作用によって体液貯留による血圧上昇が阻止されるが, 何らかの機序により dopamine の作用が障害されると腎でのナトリウム再吸収が増加し, 血圧が上昇すると結論できる。

文 献

- 1) Burns, C.D. and McGiff, J.C.: Mechanism of the natriuretic action of dopamine. *Circulation*, (Suppl. 35): II-79, 1967.
- 2) Carey, R.M., Thorner, M.O. and Ortt, E.M.: Dopaminergic inhibition of metoclopramide-induced aldosterone secretion in man. *J. Clin. Invest.*, 66: 10-18, 1980.
- 3) Charles, R., Ragsdale, N.V. Jr., Kaiser, D.L. and Carey, R.M.: Dopaminergic suppression in man: Differential responses during sodium loading and depletion. *Metabolism*, 33: 696-702, 1984.
- 4) Felder, R.A., Blecher, M., Eisner, G.M. and Jose, P.A.: Cortical tubular and glomerular dopamine receptors in the rat kidney. *Am. J. Physiol.*, 246: F557-F568, 1984.
- 5) Felder, R.A., Blecher, M., Calcagno, P.L. and Jose, P.A.: Dopamine receptors in the proximal tubule of the rabbit. *Am. J. Physiol.*, 247: F449-F505, 1984.
- 6) Garcia-Robles, R., Ruilope, L., Mancheno, E., Hurtado, A., Varela, C., de la Calle, H., Rodicio, J.L. and Sancho, J.: Dopamine modulation of aldosterone secretion: Effect of sodium balance and postural change. *Rev. Espanola. Fisiol.*, 40: 63-68, 1984.
- 7) 春山和見, 重富秀一, 山崎正明,

- 橋本重厚, 柳沼健之, 福地総逸: 本態性高血圧症の食塩感受性とドーパミン分泌との関連. 日内泌会誌, 59: 1658–1666, 1983.
- 8) 飯野靖彦: カテコールアミンと電解質輸送系. 日本臨床 41 (Suppl.): 146–155, 1983.
- 9) 飯村 攻, 菊地健次郎, 島本和明, 田中繁道, 仲尾 隆: 本態性高血圧症と catecholamine. 日腎誌, 26: 876–884, 1984.
- 10) Lefkowitz, R.J., Caron, M.G. and Stiles, G.L.: Mechanisms of membrane-receptor regulation. New Engl. J. Med., 310: 1570–1579, 1984.
- 11) 水野兼之, 柳沼健之, 山崎正明, 福地総逸: Metoclopramide のアルドステロン分泌刺激機序. 日内泌会誌 58: 976–983, 1982.
- 12) Norbiato, G., Bevilacqua, M., Raggi, U., Micossi, P. and Moroni, C.: Metoclopramide increases plasma aldosterone concentration in man. J. Clin. Endocrinol. Metabol., 45: 1313–1316, 1977.
- 13) 志熊利枝子, 寒原誠一, 吉村 学, 高階良作, 山崎英彰, 武田和夫, 高橋伯夫, 伊地知浜夫: 食塩感受性高血圧における dopamine の役割. 日腎誌, 26: 417–423, 1984.
- 14) 重富秀一, 橋本重厚, 佐藤啓二, 佐藤 衛, 上野修一, 国井伸泰, 戸崎英夫, 福地総逸: Radioreceptor assay による腎交感神経 α および β 受容体の解析. 日腎誌, 26: 1355–1360, 1984.
- 15) 重富秀一, 橋本重厚, 上野修一, 鴻野 浩, 戸崎英夫, 福地総逸: Radioligand binding 法による腎 dopamine 受容体の検討. 医学のあゆみ, 133: 533–534, 1984.
- 16) 重富秀一, 橋本重厚, 上野修一, 佐藤 衛, 佐藤啓二, 鴻野 浩, 福地総逸: 腎糸球体 β 受容体の radioreceptor assay—長期食塩負荷時の変化. 医学のあゆみ 131: 449–450, 1985. (受付日: '85. 8. 29)