無塩ラットの血漿18-ヒドロオキシコルチコステロン
およびアルドステロンにおよぼす
アンジオテンシン I 変換酵素阻害剤の影響

金沢医科大学内分泌内科

山 本 郁 夫, 岩 崎 育 世, 宮 内 英 二
小豆沢 定 秀, 木 越 俊 和, 内 田 健 三
森 本 真 平

The Effect of Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitor (SQ 14225)
on Plasma 18-Hydroxycorticosterone and Aldosterone in
Sodium Depleted Conscious Rats

**Ikuko YAMAMOTO, Ikuyo IWASAKI, Eiji MIYAUCHI,
Sadahide AZUKIZAWA, Toshikazu KIGOSHI,
Kenzo UCHIDA and Shinpei MORIMOTO**

Division of Endocrinology, Department of Internal Medicine,
Kanazawa Medical University,
Uchinada, Ishikawa 920-02, Japan

Altered sodium intake is known to cause a greater change in plasma 18-hydroxycorticosterone (18-OHB) level than in plasma aldosterone level, resulting in an increase of plasma 18-OHB/aldosterone ratio in sodium-depleted man and rats. To evaluate the role of endogenous angiotensin II in the high plasma 18-OHB/aldosterone ratio in sodium-depleted rats, we examined the effect of the angiotensin I converting enzyme inhibitor SQ 14225 on plasma 18-OHB and aldosterone in sodium-depleted (SD) and sodium-repleted (SR) conscious rats.

Plasma renin activity (PRA) and plasma angiotensin II were higher in the SD rats than in the SR rats. The ingestion of SQ 14225 caused an increase in PRA and a decrease in plasma angiotensin II, whereas these changes were more prominent in the SD rats than in the SR rats.

Plasma 18-OHB and aldosterone levels were higher in the SD rats than in the SR rats. The plasma 18-OHB/aldosterone ratio was also higher in the SD rats than in the SR rats. The ingestion of SQ 14225 caused decreases in plasma 18-OHB and aldosterone levels in both the SR and SD rats, whereas the SQ 14225-induced decreases in plasma 18-OHB and aldosterone levels were more prominent in the SD rats than in the SR rats. Thus, the ingestion of SQ 14225 induced a decrease in the plasma 18-OHB/aldosterone ratio in both the

SR and SD rats. The decrease in plasma 18-OHB/aldosterone ratio was more prominent in the SD rats than in the SR rats. On the other hand, the ingestion of SQ 14225 did not affect plasma corticosterone in the SD and the SR rats.

These results suggest that sodium depletion modulates the step of the first 18-hydroxylation in aldosterone biosynthesis, through an increase in endogenous angiotensin II.

緒 言

18-ハイドロオキシコルチコステロン (18-OHB) は主に副腎皮質球状層において生成され、アルドステロンの直前の前駆物質と考えられている。²⁾¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁵⁾ヒトおよびラットにおいて、Na 摂取状態の異なる条件下でも18-OHB およびアルドステロンの日内リズムは保たれていることが報告されている。³⁾⁴⁾⁶⁾¹¹⁾¹²⁾¹⁶⁾また、減塩下での血漿18-OHB 濃度の増加は血漿アルドステロン濃度の増加より大きく、血漿18-OHB/アルドステロン比は増加することが示されている。これは、減塩によるアンジオテンシン II の増加が、副腎のアルドステロン生合成の後段階で、コルチコステロンから18-OHB への変換を、18-OHB からアルドステロンへの変換より強く刺激したことによると推測されている¹⁶⁾。

今回、減塩時の血漿18-OHB/アルドステロン比増加におよぼすアンジオテンシン II の役割を明らかにするため、正塩および減塩食下のラットにアンジオテンシン I 変換酵素阻害剤 SQ14225 (Captopril) を投与し、血漿コルチコステロン、18-OHB およびアルドステロンの変動を検討した。

材 料 と 方 法

実験には体重約200g の雄性 Wistar ラットを用いた。あらかじめ、これらのラットにペントバルビタール麻酔下で、大動脈カニューレを施行した。カニューレとして PE-60 ポリエチレンチューブを用い、腸骨動脈より挿入、大動脈に留置した。手術後3 日間は、ひきつづき水道水と通常飼育用飼料を自由摂取させた。その後、これらラットを次のように4 群に分けた。

- 1) 通常飼料 (Na2.3mg/g, K4.8mg/g) 投与 (SR 群)
- 2) 通常飼料投与+SQ14225投与 (SR+SQ 群)
- 3) 無塩飼料 (Na0.095mg/g, K4.8mg/g) 投与 (SD 群)
- 4) 無塩飼料投与+SQ14225投与 (SD+SQ 群)

SQ14225投与は、水道水に SQ14225を0.5mg/mlの割合で溶解し、摂取させることにより行なった。すなわち、ラットは一匹あてメタボリックケージに入れ、SQ14225溶液または水道水を7 日間自由に摂取させた。飼料、水の摂取量および尿量は毎日記録した。コルチコイド測定用採血は、8 日目の20 00h に動脈カニューレより無麻酔・無拘束下で0.3mlあて行なった。また、それぞれ同様の処置を行なった別のラットにつき、断頭屠殺後、採血し、血漿レニン活性 (PRA)、血漿アンジオテンシン II、ヘマトクリットおよび血漿電解質測定に供した。断頭屠殺前日の尿は電解質測定に供した。血圧は tail-cuff 法により間接的にまたはミニポリグラフを用い直接的測定した。PRA および血漿アンジオテンシン II は radioimmunoassay (RIA) で測定し⁷⁾、コルチコイドは既報⁵⁾⁹⁾の如く、高速液体クロマトグラフィーで血漿コルチコイドを分離後、血漿18-OHB およびアルドステロンは RIAs により、血漿コルチコステロンは peak height 法により測定した。血、尿中電解質は炎光光度法に

Table 1. Physical and biochemical characteristics in rats with various manipulations.

	Normal diet [SR] (n = 8)	Normal diet + SQ14225 [SR + SQ] (n = 8)	Sodium-depleted [SD] (n = 8)	Sodium-depleted + SQ14225 [SD + SQ] (n = 8)
Sodium intake (mEq/day)	1.9 ± 0.1	2.1 ± 0.1	0.06 ± 0.01 ^{***}	0.06 ± 0.01 ^{***}
Body weight (g)	254 ± 14	251 ± 9	215 ± 8 ^{**}	208 ± 9 ^{**}
Systolic blood pressure (mmHg)	110 ± 5	102 ± 3 [*]	115 ± 4	82 ± 3 ^{**oo}
Hematocrit (%)	43 ± 1	41 ± 1	42 ± 1	44 ± 2
Plasma sodium (mEq/l)	138 ± 2	143 ± 2	139 ± 2	138 ± 1
Plasma potassium (mEq/l)	3.9 ± 0.3	3.7 ± 0.1	4.0 ± 0.5	3.9 ± 0.1
Urinary sodium excretion (mEq/24h)	1.2 ± 0.3	1.4 ± 0.2	0.06 ± 0.02 ^{***}	0.05 ± 0.03 ^{***}

Values are means ± SEM. Numbers of rats in parentheses.

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 vs. corresponding value for SR.

oo p<0.01 vs. corresponding value for SD.

Fig. 1. Plasma renin activity (PRA) and angiotensin II (AII) in rats with various manipulations (mean ± SEM).

SR: Normal diet, SR+SQ: Normal diet + SQ 14225, SD: Sodium-depleted, SD+SQ: Sodium-depleted + SQ 14225.

Numbers of rats in parentheses.

* p<0.05, *** p<0.001 vs. corresponding value for SR.

ooo p<0.001 vs. corresponding value for SD.

より測定した。

結果は平均値±標準誤差で表わし、推計学的検定は Student's t-test によった。

結 果

SQ14225の摂取量はSR+SQ群 12.5 ± 1.0 mg/日で、SD+SQ群は 12.0 ± 1.9 mg/日と両群に差はなかった。

各種処置ラットの身体的および生化学的特徴を表1に示す。体重はSD群ではSR群に比し低下しており ($P < 0.01$) , また, SD+SQ群はSR+SQ群に比し減少していた ($P < 0.01$)。収縮期血圧はSR群とSD群との間では有意差はなかったが, SR+SQ群ではSR群に比し軽度低下 ($P < 0.05$) , SD+SQ群ではSD群に比べ低下していた ($P < 0.01$)。

血漿Na, Kおよびヘマトクリット値は, 各群間で差を認めなかった。尿中Na排泄は各群ともNa摂取量と平衡関係にあった。

各種処置ラットのPRAおよび血漿アンジオテンシンIIの変化を図1に示す。PRAおよび血漿アンジオテンシンIIは, SR群に比べSD群では著明高値を示した (それぞれ $P < 0.001$)。

Fig. 2. Plasma corticosterone (PB), 18-hydroxycorticosterone (18-OHB) and aldosterone (PA) in rats with various manipulations (means $\pm$ SEM).

SR: Normal diet, SR+SQ: Normal diet + SQ 14225, SD: Sodium-depleted, SD+SQ: Sodium-depleted + SQ 14225.

Numbers of rats in parentheses.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. corresponding value for SR.

°°° $p < 0.001$ vs. corresponding value for SD.

SR+SQ 群は SR 群に比し, PRA の高値 ($P<0.01$), 血漿アンジオテンシン II の低値を示した ($P<0.01$)。また, SD+SQ 群も SD 群に比し, PRA の高値 ($P<0.01$), 血漿アンジオテンシン II の低値を示したが ($P<0.01$), この SQ14225 投与による PRA および血漿アンジオテンシン II の変化は, いずれも, SR 群と SR+SQ 群との間よりも SD 群と SD+SQ 群との間でより著明であった (それぞれ $P<0.01$)。

各種処置ラットの血漿コルチコステロン, 18-OHB およびアルドステロンの変化を図 2 に示す。

血漿18-OHB およびアルドステロンは, それぞれ, SR 群では $37.9 \pm 2.5 \text{ ng/dl}$ および $18.8 \pm 5.3 \text{ ng/dl}$, SD 群ではそれぞれ $192.8 \pm 12.7 \text{ ng/dl}$ および $60.5 \pm 4.5 \text{ ng/dl}$ で, いずれの値も SR 群に比し SD 群で高値を示した (それぞれ $P<0.001$)。SR+SQ 群では血漿18-OHB は $31.7 \pm 2.5 \text{ ng/dl}$, 血漿アルドステロンは $15.3 \pm 0.6 \text{ ng/dl}$ で, いずれの値も SR 群に比べ, 有意の低値を示した (それぞれ $P<0.01$)。また, SD+SQ 群では血漿18-OHB は $61.0 \pm 8.0 \text{ ng/dl}$, 血漿アルドステロンは $23.9 \pm 2.4 \text{ ng/dl}$ で, いずれの値も SD 群に比べ有意の低値を示した (それぞれ $P<0.01$)。これらの変化は, SR 群と SR+SQ 群との間よりも SD 群と SD+SQ 群との間でより著明であった (それぞれ $P<0.01$)。

血漿コルチコステロン値は, SR 群と SD 群との間で有意差を認めず, また, SQ14225 投与によっても影響を受けなかった。

各種処置ラットにおける血漿18-OHB/アルドステロン比を図 3 に示した。血漿18-OHB/アルドステロン比は, SR 間では 2.2 ± 0.1 , SD 群では 3.2 ± 0.2 で, SR 群に比し SD 群で有意の高値を示した ($P<0.05$), また, 血漿18-OHB/アルドステロン比は SR+SQ 群では 1.9 ± 0.1 で, SD+SQ 群では 2.7 ± 0.2 で, SD 群のそれに比し低値を示した ($P<0.05$)。この SD 群に対する SD+SQ 群の血漿18-OHB/アルドステロン比の低下の程度は SR 群に対する SR+SQ 群のその比の低下よりも, 大きかった。

考 案

筆者らは以前, Na 摂取状態の異なるラット (夜間活動性) において, 血漿18-OHB は血漿コルチコステロンおよび血漿アルドステロンと平行して夜間高値, 朝低値の日内リズムがみられることを報告した¹⁶⁾。ヒト (昼間活動性) では血漿18-OHB は血漿コルチゾールおよび血漿アルドステロンと平行して夜間低値, 朝高値の日内リズムを示すことが, 報告されている¹¹⁾。しかし, 減塩下での血漿18-OHB の増加は血漿アルドステロンの増加よりも大きく, 血漿18-OHB/アルドステロン比は正常食塩食摂取下のそれに比し, 高値を示した。この所見もヒトについての成績⁹⁾¹¹⁾と同様であった。この減塩下の血漿18-OHB/アルドステロン比の増加は, 減塩によるアンジオテンシン II の増加が, アルドステロン生合成の後段階で, コルチコステロンから18-OHB の過程を, 18-OHB からアルドステロンへの変換よりも強く刺激した可能性が推測される。

本研究では, この可能性を明確にするため, 正塩および減塩食下のラットにアンジオテンシン I 変換酵素阻害剤である SQ14225 を投与し, 血漿コルチコステロン, 18-OHB およびアルドステロンの変動について調べた。正常食塩食投与ラットに SQ14225 を投与すると, PRA は増加したが血漿アンジオテンシン II は低下した。また, 減塩食投与ラットに SQ14225 を投与するとやはり PRA は増加したが血漿アンジオテンシン II は低下した。これらの変化は正常食塩食投与ラットよりも減塩食投与ラットでより著明であった。血漿18-OHB およびアルドステロンも, この血漿アンジオテンシン II の変化とともに減少がみられ, やはり, この際の血漿18-OHB およびアルドステロンの変化は正

常食塩食ラットよりも減塩食ラットでより著明であった。また、血漿18-OHB/アルドステロン比も低下傾向を示し、この比の低下は正常食塩食ラットよりも減塩食投与ラットでより著明であった。これらは、主に、SQ14225投与による内因性アンジオテンシンIIの抑制を示唆する所見と考えられた。したがって、アンジオテンシンIIはアルドステロン生合成の後段階を刺激するが、その際18-OHBからアルドステロンへの転換よりもコルチコステロンから18-OHBへの転換をより強く刺激しているものと思われる。

一方、減塩それ自体によるアルドステロン生合成の後段階への直接作用が知られている。Naイオンはアルドステロン生合成においてコルチコステロンからアルドステロンへの転換に直接作用するとされているが¹⁾⁸⁾、その作用は弱く、Naイオンの変化の主な作用はレニン・アンジオテンシン系を介しての作用と考えられている。今回の成績では、血漿Naには変化が認められず、減塩自体によるアルドステロン生合成の後段階の修飾は軽微なものと考えられる。

Fig. 3. The ratio of plasma 18-hydroxycorticosterone (18-OHB) to plasma aldosterone (PA) in rats with various manipulations (means $\pm$ SEM).

SR: Normal diet, SR+SQ: Normal diet + SQ 14225, SD: Sodium-depleted, SD + SQ: Sodium-depleted + SQ 14225.

Numbers of rats in parentheses.

*p<0.05, **p<0.01, vs. corresponding value for SR.

◦p<0.05 vs. corresponding value for SD.

結 語

減塩時の血漿18-OHB/アルドステロン比の増加の機序を明らかにする目的で, 減塩ラットに SQ14225 を投与し, 血漿18-OHB およびアルドステロンの変動を検討した。

無塩飼料投与ラットでは, 血漿18-OHB およびアルドステロンは通常飼料投与ラットに比べ, いずれも高値を示し, 血漿18-OHB/アルドステロン比は増加した。しかし, さらに SQ14225 を投与すると, 血漿18-OHB およびアルドステロンは無塩飼料投与ラットに比し, いずれも低値を示し, 血漿18-OHB/アルドステロン比も低下した。血漿コルチコステロンには著明な変化はみられなかった。

これらの成績より, 減塩時の血漿18-OHB/アルドステロン比の増加は, おそらく, 減塩によるアンジオテンシン II 増加が, アルドステロン生合成の後段階で, コルチコステロンから18-OHB の過程を18-OHB からアルドステロンへの転換よりも強く刺激したことによると考えられた。

本研究の一部は厚生省副腎ホルモン産生異常症調査研究班研究費によった。

文 献

- 1) Blair-West, J.R., Coghran, J.P., Denton, D.A., Goding, J.A., Wintour, M. and Wright, R.O.: Effect of variation of plasma sodium concentration on the adrenal response to angiotensin II. *Circ. Res.*, 17: 386-393, 1965.
- 2) Fraser, R. and Lantos, C.P.: 18-Hydroxycorticosterone: a review. *J. Steroid Biochem.*, 9: 273-286, 1978.
- 3) Guthrie, G.P.Jr.: Multiple plasma steroid responses to graded ACTH infusions in patients with primary aldosteronism. *J. Lab. Clin. Med.*, 98: 364-372, 1981.
- 4) Hilfenhause, M.: Circadian rhythm of the renin-angiotensin-aldosterone system in the rat. *Arch. Toxicol.*, 36: 305-316, 1976.
- 5) Imaizumi, N., Morimoto, S., Kigoshi, T., Uchida, K., Hosojima, H. and Yamamoto, I.: Application of reversed phase high-performance liquid chromatography for radioimmunoassay of plasma 18-hydroxycorticosterone. *J. Chromatogr.*, 308: 295-300, 1984.
- 6) Imaizumi, N., Yamamoto, I., Kamei, M., Yoshida, I., Miyauchi, E., Kigoshi, T., Uchida, K. and Morimoto, S.: High-performance liquid chromatographic separation of corticosteroids in plasma of rats. *Hormone Res.*, 27: 53-60, 1987.
- 7) Kigoshi, T., Imaizumi, N., Azukizawa, S., Yamamoto, I., Uchida, K., Konishi, F. and Morimoto, S.: Effect of angiotensin II, adrenocorticotropin and potassium on aldosterone production in adrenal zona glomerulosa cells from streptozotocin-induced diabetic rats. *Endocrinology*, 118: 183-188, 1986.
- 8) Lovo, M.V., Marusic, E.T. and Aguilera, G.: Further studies on the relationship between potassium and sodium levels and adrenocortical activity. *Endocrinology*, 102: 1061-1068, 1978.
- 9) Mason, P.A., Fraser, R., Morton, J.J., Semple, P.E. and Wilson, A.: The effect of sodium deprivation and of angiotensin II infusion on the peripheral plasma concentration of 18-hydroxycorticosterone, aldosterone and other corticosteroids in man. *J. Steroid Biochem.*, 8: 799-804, 1977.
- 10) Müller, J.: The conversion of 18-hydroxycorticosterone and 18-hydroxy-11-deoxycorticosterone by rat adrenal tissue;

- Evidence for an alternate biosynthetic pathway. *J. Steroid Biochem.*, 13: 245–251, 1980.
- 11) Sowers, J.R., Martin, V.I. and Beck, W.J.: Effect of dietary sodium on circadian rhythm and physiological responses of 18-hydroxycorticosterone. *Clin. Sci.*, 64: 295–301, 1983.
- 12) Tait, S.A.S., Shulster, M., Okamoto, M., Flood, C. and Tait, J.F.: Production of steroids by in vitro superfusion of endocrine tissue II. Steroid output from bisected whole, capsular and decapsulated adrenals of normal intact, hypophysectomized and hypophysectomized-nephrectomized rats as a function of time of superfusion. *Endocrinology*, 86: 360–382, 1970.
- 13) Tuck, M.L., Sowers, J.R., Asp, N., Viosca, S.P., Berg, G. and Myes, D.M.: Mineralocorticoid response to low dose adrenocorticotropin infusion. *J. Clin. Endocrinol. and Metab.*, 52: 440–446, 1981.
- 14) Ulic, S. and Vetter, K.K.: Simultaneous measurement of secretory rates of aldosterone and 18-hydroxycorticosterone. *J. Clin. Endocrinol. and Metab.*, 25: 1015–1026, 1965.
- 15) Wilson, A., Mason, P.A. and Fraser, R.: Estimation of 18-hydroxycorticosterone concentration in human peripheral plasma by gas-liquid chromatography with electron capture detection. *J. Steroid Biochem.*, 7: 611–613, 1976.
- 16) Yamamoto, I., Miyauchi, E., Yoshida, I., Kamei, M., Kigoshi, T., Hosojima, H., Uchida, K. and Morimoto, S.: Effect of altered sodium intake on the circadian rhythm of plasma 18-hydroxycorticosterone in conscious rats. *Horm. Metab. Res.*, 20: 378–379, 1988. (受付日: '88. 10. 7)