副腎再生高血圧症

—血管結合組織蛋白質とコルチコステロンの高血圧に果す役割—

千葉大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 島崎 淳教授)

中田 英浩 角谷 秀典 始関 吉生 島崎 淳

ADRENAL REGENERATION HYPERTENSION

—Effects of Vascular Connective Tissue Protein and Plasma Corticosterone on Hypertension in Rats with Adrenal Regeneration Hypertension—

Teruhiro Nakada, Hidenori Sumiya, Yoshio Shizeki and Jun Shimazaki

Department of Urology, School of Medicine, Chiba University

(Director: Prof. Jun Shimazaki)

In young rats consuming 1% NaCl drinking solution, unilateral nephrectomy and bilateral adrenal enucleation caused a hypertension. Plasma caoricosterone concentration in hypertensive rats was not significantly higher than that of normotensive control rats in early hypertensive or chronic hypertensive stage. At the end of experiment, each rat received an intravenous injection of 0.4 μ Ci/g of 3 H-lysine and was sacrificed 2 hours after the injection. Incorporation of 3 H-lysine into collagen or elastin of the mesenteric artery and heart in hypertensive rats was greater than that of normotensive rats. Administration of phenoxybenzamine hydrochloride lower the blood pressure of hypertensive rats and reduced the incorporation of 3 H-lysine into collagen and elastin of the mesenteric artery and heart.

From these findings, increased protein synthesis of collagen and elastin in hypertensive rats appears to play an important role for the maintenance of adrenal regeneration hypertension.

Key words: adrenal regeneration hypertension, collage, elastin

要旨: 幼若雄性ウィスターラットに1%飲料生食水を摂取させ、片側腎剔除術兼両側副腎核出術を施行し、高血圧を発症させた。高血圧の発生期にも慢性期にも血漿コルチコステロン濃度は高値を示さなかった。20週齢ラットに 3 H-lysine 0.4 μ Ci/g 体重を投与し、血管蛋白質への取り込みを測定すると腸間膜動脈、心臓のコラジェンおよびエラスチンへの 3 H-lysine の取り込みが正常血圧ラットのそれより高値を示した。片側腎剔除術兼両側副腎核出術を受けたラットに phenoxybenzamine を投与すると高血圧の発生は阻止され、上記血管のコラジェンおよびエラスチンへの 3 H-lysine の取り込みは減少した。以上の成績より本実験高血圧症の昇圧には再生皮質副腎由来のコルチコステロンは関与しておらず、腸間膜動脈、心臓のコラジェンおよびエラスチン代謝の亢進が慢性期の高血圧維持に重要な役割りを果していることが判明した。

キーワード: 副腎再生高血圧症, コラジェン, エラスチン

緒 言

1%の飲料食塩水を摂取しているラットの副腎被膜を切開し、副腎を圧排すると副腎実質が核出してくる。被膜に附着した僅かの皮質球状層細胞から副腎皮質が再生する。上記の手法を片側ないし両側の副腎に加え、片側腎剔除を同時に行うと高血圧が生じてくる¹⁾。こ

の病態をそのままヒトの疾患に当てはめることに無理はあるが、再生皮質副腎から過剰の皮質ホルモンが分泌するか、未知のホルモンが分泌され、血圧を上昇させていることが推測されている。著者らはこの実験高血圧症の急性期に心臓のコラジェン代謝が昇圧に関与していることを見出した²⁾。このような病態が慢性

期にも存在するのか、また心臓以外の比較的小さな動脈の血管収縮蛋白質も高血圧に関与するかを検索するために、本実験を施行した。またラットの生命維持に必要なコルチコステロン濃度も測定した。

対象および方法

4週齢の雄性ウイスターラット73匹に、1%飲料食塩水を投与し、以下のごとく4群に分け、それぞれ実験処置を加えた。すなわち第1群は外科的処置を加えず対照群とした(C)。第2群には両側副腎核出術を施行した(AE)。第3群には両側副腎核出術兼左腎切除術を施行した(AE+NX)。第4群は第3群と同じ外科的処置後に phenoxybenzamine hydrochloride 3mg/kg を1日2回、皮下注射した(AE+NX+POB)。副腎核出術および左腎切除術はペントバルビタール麻酔(40mg/kg 体重の腹腔内注射)下に、経腰的に施行した。収縮期血圧の測定は無麻酔下に、pulse pick-up 法にて1週間毎に行った。11週齢のラット27匹をギロチン法にて屠殺し、駆幹血を採取し、血漿コルチコステロン濃度を radioimmunoassay にて測定した。残り46匹のラットは20週齢にて同様の方法で採血、屠殺した。屠殺2時間前に ^3H -lysine [$4,5\text{-}^3\text{H}(\text{N})$] (Specific activity = 78.1 Ci/mmole, New England Nuclear Corp., Boston, Mass.)を $0.4\mu\text{Ci/g}$ 体重を尾静脈より静注し

た。コルチコステロン測定に用いなかった血漿の一部を用いて free ^3H -lysine 放射活性をカウントした。20週齢で屠殺したラットはただちに開腹し、心臓、腹部大動脈(大動脈弓より右腎動脈の高さに至る部位)、腸間膜動脈を切除した。これらの組織に付着した脂肪、結合織、凝血を除去してから、それぞれの組織を 90°C の5%トリクロル酢酸にてホモジェネートし、遠沈した。沈査に同様の操作を3回繰り返し、各操作で得られた supernatant を集めて透析し、真空凍結した物質よりコラジェンを Fitch 法にて抽出した³⁾。トリクロル酢酸で洗滌した precipitate は Wolinsky 法にて含有されているエラスチンを抽出した⁴⁾。これらの蛋白分画中の ^3H -lysine をシンチレーションカウンターにて測定した。なお、bovine serum albumine を標準として蛋白質を測定し、dpm/mg protein にて測定値を示した。詳細は既に報告したごとくである⁵⁾⁶⁾。結果は平均値±標準誤差で示し、平均値の有意差は student's-t test によった。

結 果

収縮期血圧の変動を図1に示す。外科的無処置ラット(C)の血圧は小さく変動しつつ加齢とともに上昇し、20週齢で $122\pm 10\text{mmHg}$ を示した。AE+NX 群の血圧の増加は著しく、20週齢で $184\pm 8\text{mmHg}$ を示し

図2 11週齢および20週齢ラットの血漿コルチコステロン濃度。

PLASMA CORTICOSTERONE

表1 20週齢ラットの血漿中の free ^3H -lysine 放射活性

実験処置	free ^3H -lysine (dpm/ μl 血漿)
C (11)	1024 $\pm$ 90
AE (14)	968 $\pm$ 87
AE+NX (10)	1011 $\pm$ 86
AE+NX+POB (11)	1100 $\pm$ 56

() : ラット数

た。AE+NX+POB 群の収縮期血圧はC群より僅かに高い傾向を示したものの有意差はなく、POBの降圧作用は明かであった。AE群の収縮期血圧はC群のそれとほぼ同レベルであった。

血漿コルチコステロン濃度を図2に示す。11週齢のラットにおいてC群のコルチコステロン濃度は $0.34 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ で、AE+NX群のそれ $0.27 \pm 0.4 \mu\text{mol/L}$ と有意差はなかった。AE群、AE+NX+POB群の血漿コルチコステロン濃度もAE+NX群のそれとほぼ同レベルがあった。20週齢ラットの血漿コルチコステロン濃度は11週齢ラットのそれより高値傾向を示した。C群の血漿コルチコステロン濃度は $0.44 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ で、高血圧を呈したAE+NX群のそれは $0.32 \pm 0.4 \mu\text{mol/L}$ であり、むしろ高血圧群のコルチコステロン濃度の方が正常血圧を呈した外科的無処置群のそれより低値 ($p < 0.05$) であった。

表1に20週齢ラットの血漿 free ^3H -lysine 放射活性を示す。いずれの群の free ^3H -lysine 放射活性にも有意差は認められなかった。

図3に検索血管のコラジェン分画への ^3H -lysineの取り込みを示す。腸間膜動脈において、AE+NX群は

図3 20週齢ラットの腸間膜動脈(MA)大動脈、心臓コラジェン分画への ^3H -lysineの取り込み、N:ラット数。

図4 20週齢ラットの腸間膜動脈(MA)、大動脈、心臓のエラスチン分画への ^3H -lysineの取り込み、N:ラット数。

C群の1.7倍高値 ($p < 0.01$) であった。AE+NX+POB群ではAE+NX群より24.6%低値 ($p < 0.01$) であり、C群より13.2%高値 ($p < 0.05$) であった。大動脈においては4群とも同レベルであった。心臓のコラジェンへの ^3H -lysineの取り込みは外科的無処置群(C)に比し高血圧群(AE+NX)は1.68倍高値 ($p < 0.001$) であった。AE+NX+POB群はAE+NX群に比し31.6%低値 ($p < 0.05$) を示した。

図4に検索血管のエラスチン分画への ^3H -lysineの取り込みを示す。腸間膜動脈においては高血圧群(AE+NX)は正常血圧の外科的無処置群(C)に比し1.4倍高値 ($p < 0.01$) であった。AE+NX+POB群はAE+NX群より19.7%低値 ($p < 0.05$) であった。大動脈のエラスチンへの ^3H -lysineの取り込みは4群と

表 2 20週齢高血圧ラットの血管蛋白質への³H-lysineの取り込み(X)と収縮期血圧(Y)の関係

コラジェン蛋白質：		
腸間膜動脈	$r = 0.72$	$p < 0.01$
大動脈	$r = 0.30$	$p < 0.05$
心臓	$r = 0.68$	$p < 0.001$
エラスチン蛋白質：		
腸間膜動脈	$r = 0.64$	$p < 0.01$
大動脈	$r = 0.18$	$p < 0.01$
心臓	$r = 0.63$	$p < 0.01$

もほぼ同レベルであった。心臓のエラスチンへの³H-lysineの取り込みは高血圧群(AE+NX)は外科的無処置群(C)より1.3倍高く($p < 0.01$)、AE+NX+POB群はAE+NX群より19.7%($p < 0.05$)低値であった。表2に20週齢高血圧ラットの血管蛋白質への³H-lysineの取り込みと収縮期血圧の関係を示す。腸間膜動脈、心臓のコラジェン、エラスチンへの³H-lysineの取り込みと収縮期血圧の間には正の相関が見られたが、大動脈のコラジェン、エラスチンへの³H-lysineの取り込みと収縮期血圧の間には相関関係は認められなかった。

考 察

ラットの生命維持に直接関係のある血漿コルチコステロン濃度は11週齢の高血圧群では高値を示さず、20週齢では正常血圧の対照群より低レベルであった(図2)。この時期には形態学的に再生皮質副腎の三層構造は完成されており、再生皮質からある種のホルモンが過分泌され、それが昇圧に関与すると見做す向きもあるが、それに反論する者もあり、一致した見解はない。著者はDOCの過分泌が本実験高血圧症の昇圧に重要な役割りを果たすとの見解には疑問を持っていたが²⁾、今回の実験でコルチコステロンも昇圧に関与しないことが明白となった。片側副腎・腎切除、他側副腎核出ラットにおいて血圧は上昇しても血漿コルチコステロン、血漿18-OH-DOCは高値を示さなかったとの報告もある⁷⁾。副腎再生高血圧症の初期にはナトリウムの再吸収が亢進しており、片腎であることがNa貯留を増強させ、1%飲料食塩水の摂取もこれを増強させることから再生皮質副腎が昇圧の病因に関与するとの見解は根強い⁸⁾⁹⁾。副腎核出を行うと被膜は浮腫状で血液が充満するが、2~3日で早くも中央部の凝結が吸収され始め、皮質細胞の増殖が始まる。8日頃には皮質細胞の増殖が中央にまで及びはじめ、32日間が一見正常の球状層、束状層、網状層で再生副腎が占められる

ようになる⁷⁾。コルチコステロンは副腎の核出直後に著しく低下し¹⁰⁾、2~4週間で18-OH-DOCとともに正常レベルに戻ると見做されているが¹⁰⁾¹¹⁾、subnormalレベルを保つことも報告されている¹²⁾。本実験においてもこれらの先人とほぼ同じ結果であった。Peroneら⁹⁾は副腎核出術の直後にコルチコステロンが低下し、その結果、下垂体からACTHが過分泌され、ついでコルチコステロンが正常化するに従いACTHレベルも減少すると考えている。ACTHはproopiomelanocortin(POMC)に由来するとされており、最近POMC由来のペプチドが副腎の再生に関与するとの報告がなされはじめた。即ち、副腎核出の4日後にはimmunoreactive ACTHや11kの γ -melanocyte stimulating hormone(γ -MSH)が増加することが報告されている¹³⁾。アルドステロンは副腎核出後のantinatriuresisを生じる可能性が強いホルモンと見做すのは、その作用からきわめて当然と思われる。しかし実際には生食飲料水を摂取している再生副腎を有するラットの血漿アルドステロン濃度は、むしろ低レベルであるか¹⁴⁾、対照ラットとほぼ同レベルである⁹⁾。アルドステロンも副腎核出後のNa貯留や高血圧惹起に重要な役割りを果たすとは考え難い。19-nor-DOCは強力なコルチコイドであり、剖腎核出1週間後の腎のNa保持に関与することが推測されている⁹⁾。このコルチコイドはACTH投与により増加することも確認されている¹⁵⁾。残念ながらこのホルモンが本実験高血圧症の昇圧に関与するとの報告はない。本実験高血圧症は飲料食塩水を摂取しなければ、また片側腎別除術を施行しなければ高血圧が生じないことから、Na貯留は病態の発生と関連づけて考えられているが、慢性期には別の因子も高血圧維持に関与する可能性があるであろう。著者は中枢性のノルエピネフリン代謝低下が二腎性高血圧症の昇圧に関与していることを報告した¹⁶⁾。Peskindら¹⁷⁾は同様の可能性を本実験高血圧症に期待して実験を行ったが末梢の交感神経や脳のノルエピネフリンレベルには影響を与えず、昇圧とノルエピネフリンを介する神経系とは本実験高血圧症において直接の関係は見られていない。

前回の実験で、本実験高血圧症の高血圧の比較的早期に心臓のコラジェン代謝が亢進していることを示したが²⁾、今回の実験により慢性期においては、心臓は勿論、腸間膜のコラジェン、エラスチン代謝の亢進が高血圧の維持に強く関与することが明かになった。著者が本実験でnon-collagenous protein分画を抽出しな

かった理由は、本分画は神経系の関与を強く受けることが以前の実験により知られていたことによる¹⁸⁾。しかし、本実験高血圧症の昇圧に関与している可能性は否定できない。この検索は今後の課題であろう。

結 語

副腎再生高血圧症の高血圧維持に再生皮質の果す役割は重要でなく、腸間膜動脈、心臓のコラジェン、エラスチン代謝の亢進が高血圧の維持に強く関与していることが推測された。

(本論文の要旨は1989年6月2日、第62回日本内分泌学会学術総会において報告した。本研究は文部省科学研究、一般研究B、の助成を受けた。)

文 献

- 1) Oelsner, T. and Skelton, F.R.: Complementary role of adrenal cortex and salt in adrenal-regeneration hypertension. *Am. J. Physiol.*, 200, 749—763, 1961.
- 2) Nakada, T., Yamazaki, N., Akiya, T. and Katayama, T.: Enhanced protein synthesis of heart in adrenal-regeneration hypertension and its reduction following antihypertensive treatment. *Jpn. Heart J.*, 23, 931—939, 1982.
- 3) Fitch, S.M., Harkness, M.L.R. and Harkness, R. D.: Extraction of collagen from tissues. *Nature*, 176, 163, 1955.
- 4) Wolinsky, H.: Response of the rat aortic media to hypertension: Morphological and chemical studies. *Circ. Res.*, 26, 507—512, 1970.
- 5) Nakada, T. and Yamori, Y.: The role of vascular protein and renin in chronic two-kidney, one clip Goldblatt hypertension. *Clin. Exper. Hypertension*, A4, 477—497, 1982.
- 6) Nakada, T.: Enhanced protein synthesis on the renal arteries of genetically hypertensive rats: Its possible role in causing hypertension. *Internat. Urol. Nephrol.*, 17, 71—78, 1985.
- 7) Foulkes, R., Gardiner, S.M. and Bennett, T.: Rats with regenerating adrenals are more hypertensive in the morning than afternoon. *Am. J. Physiol.*, 252, R1025—R1031, 1987.
- 8) Gaunt, R., Renzi, A.A., Gisoldi, E. and Howie, N.C.: A sodium retaining influence of enucleate rat adrenal glands. *Endocrinol.*, 81, 1331—1337, 1967.
- 9) Perrone, R.D., Bengel, H.H. and Alexander, E. A.: Sodium retention after adrenal enucleation. *Am. J. Physiol.*, 13, E1—E12, 1986.
- 10) Buckingham, J.C. and Hodges, J.R.: Interrelationships of pituitary and corticotrophin and plasma corticosterone during adrenocortical regeneration in the rat. *Endocrinol.*, 67, 411—417, 1975.
- 11) Rapp, J.: Gas chromatographic measurement of peripheral plasma 18-hydroxycorticosterone in adrenal regeneration hypertension. *Endocrinol.*, 86, 668—677, 1970.
- 12) Birmingham, M.K., DeNicola, A.F., Oliver, J.F., Traikov, H., Birmingham, M.L., Holzbauer, M., Godden, U. and Sharman, D.F.: Production of steroids in vivo by regenerated adrenal glands of hypertensive rats. *Endocrinol.*, 93, 297—310, 1973.
- 13) Alfano, J.L., Dressler, L.G. and Brownie, A.C.: Immunoreactive ACTH and γ -MSH in rat plasma during early stages of adrenal regeneration. *Am. J. Physiol.*, 248, E471—E474, 1985.
- 14) Pratt, J.H., Dale, S.L., Caunt, R. and Melby, J.: Aldosterone secretion in the enucleated rat adrenal during salt retention. *Endocrinol.*, 95, 48—54, 1974.
- 15) Gomez-Sanchez, C.E.E., Gomez-Sanchez, E.P. and Upcanage, R.J.: Radioimmunoassay for urinary free 19-nor-deoxycorticosterone: Effects of adrenocorticotropin and sodium depletion. *Endocrinol.*, 112, 2046—2049, 1985.
- 16) Nakada, T., Koike, H. and Katayama, T.: Participation of central norepinephrine in the development of two-kidney, one clip Goldblatt hypertension. *J. Urol.*, 135, 1066—1070, 1986.
- 17) Peskind, E., Raskind, M.A., Wilkinson, C.W., Flatness, D.E. and Halter, J.B.: Peripheral sympathectomy and adrenal medullectomy do not alter cerebrospinal fluid norepinephrine. *Brain Res.*, 367, 258—264, 1986.
- 18) Nakada, T., Kimura, M., Watanabe, H., Yamori, Y. and Lovenberg, W.: Increased non-collagen protein synthesis in the posterior cerebral artery in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertension*, 4(Suppl. 3), S93—S95, 1986.

(1989年8月2日受理)