

Circadian rhythm of the intrarenal renin-angiotensin system is caused by glomerular filtration of liver-derived angiotensinogen depending on glomerular capillary pressure in adriamycin nephropathy rats

著者	松山 貴司
発行年	2021-03-16
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003835

博士 (医学) 松山 貴司

論文題目

Circadian rhythm of the intrarenal renin- angiotensin system is caused by glomerular filtration of liver- derived angiotensinogen depending on glomerular capillary pressure in adriamycin nephropathy rats

(アドリアマイシン腎症ラットにおいて腎臓内レニン-アンジオテンシン系の日内変動は糸球体毛細血管圧に依存して糸球体から濾過される肝臓由来のアンジオテンシノーゲンに起因する)

論文の内容の要旨

[はじめに]

腎臓内レニン-アンジオテンシン系(RAS)活性の日内変動に異常が生じた場合、血圧の日内変動異常や腎障害を惹起するが、その機序は不明である。腎臓内 RAS 活性を制御する腎臓内アンジオテンシノーゲン(AGT)の発生起源は、正常な腎臓では糸球体から尿細管管腔内に濾過されるアンジオテンシン II (AngII)によって正のフィードバックで産生される AGT が主体となる。一方で、濾過を担う糸球体糸脚が障害されると高分子物質も濾過されるようになるため、循環血漿中の肝臓由来の AGT が腎臓内 RAS 活性を調節ようになる。また、糸球体透過性は全身血圧よりも糸球体毛細血管圧に影響を受ける。本研究は糸球体糸脚障害モデルにおいて、腎臓内 RAS 活性の日内変動が糸球体毛細管圧に依存して濾過される AGT に起因して生じるかを検証することを目的とした。

[材料ならびに方法]

本研究は浜松医科大学動物実験委員会の承認を得て行った(承認番号 2017013)。6 週齢雄性 Wistar ラットを 12 時間周期の明暗環境下で飼育した。明環境の開始時刻を Zeitgeber time (ZT) 0 とし、ZT 12~24 を活動期、ZT 0~12 を休眠期とした。コントロール群(C 群, n = 32)として、0 日目にラットに 5%ブドウ糖を経静脈投与した。糸球体糸脚障害モデルとして、アドリアマイシンを投与してアドリアマイシン腎症ラット(A 群, n = 48)を作製した。さらに 29 日目より治療介入群として AngII 1 型受容体遮断薬であるオルメサルタン投与群(AO 群, n = 32)または RAS 非依存性降圧薬であるヒドララジン投与群(AH 群, n = 32)を作製し、4 群に分けた。56 日目に各群の 16 頭を活動期と休眠期に分けて蓄尿を行い、ZT 18 または ZT 6 に体重と血圧測定後に断頭屠殺を行って血液と腎臓検体を採取した。体重、血圧、腎機能、尿タンパク、腎臓内 RAS 成分(基質である腎臓内 AGT タンパク質発現: ウェスタンブロット法および免疫組織染色、生理活性物質である腎臓内 AngII: RIA、腎臓内 RAS 活性の指標である尿中 AGT: ELISA)、全身性 RAS 成分(血漿レニン活性: RIA、血漿 AngII: RIA)を評価した。また、各群の別の 16 頭を多光子レーザー顕微鏡(Nikon A1R MP+)を用いた *in vivo* イメージングにより、

フルオレセイン標識高分子デキストランを灌流して糸球体毛細血管圧の指標となる輸入細動脈径と輸出細動脈径の比(A/E 比)を、また、A 群の残りの 16 頭に対して Alexa 488 maleimide 標識ヒト AGT を灌流して糸球体透過性を反映する糸球体ふるい係数(GSC)を評価した。

[結果]

A 群では軽度の腎機能障害が惹起され、全身血圧が上昇した。AO 群と AH 群では血圧は C 群と同程度に下がり、腎機能は A 群と同程度であった。尿タンパクは A 群では C 群に比べて有意に増加し、AO 群では減少したが AH 群では減少しなかった。腎臓内 RAS 成分に関して、A 群では C 群と比較して AGT タンパク質発現、AngII、尿中 AGT が有意に増加し、AO 群では減少したが AH 群では減少しなかった。A 群の免疫組織染色では、肝臓由来の AGT であることを示唆する近位尿細管 S1-S2 領域にも AGT が高度に陽性であった。全身性 RAS 成分に関して、血漿レニン活性と血漿 Ang II は AO 群では他の群に比べて有意に上昇し、他の群間では有意差は認めず、腎臓内 RAS の挙動とは独立していた。

日内変動に関して、C 群と AO 群では ZT 6 に血圧が下がる正常な変動を示したが、A 群と AH 群では ZT 18 と ZT 6 との間の有意な変動は消失した。尿タンパクは C 群では日内変動を認めず、A 群では活動期に有意に増加する日内変動を示した。この変動は AO 群で消失し、AH 群では維持された。腎臓内 RAS 成分に関しては、尿タンパクと同様に A 群では活動期または ZT 18 に有意に増加する日内変動を示した。同様にこの変動は AO 群で消失し、AH 群では維持された。

多光子顕微鏡実験では、A 群では C 群と比較して A/E 比が上昇し、さらに、ZT 18 に有意な上昇する日内変動を認めた。AO 群では A/E 比が減少して変動も消失し、AH 群では両者が維持された(ZT 18 の A/E 比: C 群 1.16, A 群 1.48, AO 群 1.34, AH 群 1.44, ZT 6 の A/E 比: C 群 1.19, A 群 1.35, AO 群 1.29, AH 群 1.35)。AGT の GSC は ZT 18 で 0.020 ± 0.0048 , ZT 6 で 0.018 ± 0.0042 で日内変動を示した($p = 0.042$)。

[考察]

我々は以前に進行性腎炎モデルにおいて腎臓内 RAS 活性が上昇し、かつ、日内変動が生じること、そして、腎臓内 RAS 活性および日内変動が RAS 抑制薬では低下および消失し、RAS 非依存性降圧薬ではいずれも変化しないことを報告しており、本研究でも同様の挙動を示した。C 群の A/E 比は日内変動を認めなかったが、正常な腎臓の糸球体毛細血管圧は自己調節能によって一定範囲内に維持されるため、これと合致した。一方で、A 群では A/E 比および GSC は日内変動を認めた。腎障害が起こると自己調節能が障害され、血圧、腎血漿流量、交感神経系、ホルモン因子の影響を受ける。糸球体毛細血管圧が日内変動を生じる要因は明らかでないが、タンパク質摂取による腎血漿流量と糸球体濾過量

の増加の影響も一因と考えられた。AO 群と AH 群では全身血圧を同程度に低下させても A/E 比は前者のみで改善したことから、腎障害において糸球体毛細血管圧は全身血圧だけでなく、AngII 1 型受容体を介した内皮機能障害の改善等の影響を受けることが示唆された。

[結論]

アドリアマイシン腎症ラットでは糸球体毛細管圧の上昇と日内変動が生じ、これに依存して糸球体から濾過される肝臓由来 AGT が腎臓内 RAS の活性化およびその日内変動を引き起こすことが示唆された。