

—Reviews—

**虚血性急性腎不全の発症における腎交感神経系の役割に関する研究**藤井 俊秀<sup>\*,a</sup>, 高岡 昌徳<sup>b</sup>, 松村 靖夫<sup>c</sup>**Studies on the Role of Renal Sympathetic Nervous System  
in the Pathogenesis of Ischemic Acute Renal Failure**Toshihide FUJII<sup>a</sup>, Masanori TAKAOKA<sup>b</sup>, and Yasuo MATSUMURA<sup>c</sup>

<sup>a</sup>*Pharmacology & Toxicology Laboratory, Frontier Biochemical & Medical Research Laboratories,  
Corporate Research & Development Division, Kaneka Co., Ltd.,  
1-8, Miyamae-machi, Takasago-cho, Takasago, Hyogo 676-8688, Japan*

<sup>b,c</sup>*Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1, Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan*

(Received October 22, 2008; Accepted November 10, 2008)

Kidneys are an abundantly innervated internal organ and the renal sympathetic nerve plays an important role in regulating body fluid volume and blood pressure via the modulation of renal functions. Here we summarized the relationship between the renal sympathetic nervous system and ischemia/reperfusion-induced acute renal failure (ARF). To clarify changes in the renal sympathetic nervous system during ischemia and reperfusion, we determined renal sympathetic nerve activity, renal interstitial norepinephrine (NE) levels and renal venous plasma NE levels. Results indicated enhanced renal sympathetic nerve activity during ischemia, accompanied by increases in renal interstitial NE level during ischemia and after reperfusion, and NE overflow in the renal vein after reperfusion. Taken together, it seems likely that the renal sympathetic nervous system is enhanced during ischemia and after reperfusion. We next demonstrated that renal denervation or a ganglion blocker markedly overcame the deterioration in renal function and tissue injury induced by ischemia/reperfusion and markedly suppressed NE overflow from renal sympathetic nerves after reperfusion. In addition, the administration of selective  $\alpha_1$ -adrenoceptor antagonists significantly attenuated ischemia/reperfusion-induced ARF, but had no effect on the elevation of renal venous plasma NE levels after reperfusion. These results suggest that NE excessively released from the postischemic kidney is involved in the pathogenesis of ischemic ARF, probably acting on the postsynaptic  $\alpha_1$ -adrenoceptors. Thus, the enhancement of the renal sympathetic nervous system is closely related to the pathogenesis of ischemia/reperfusion-induced ARF, thereby suggesting the possibility that selective inhibition of the sympathetic nervous system is useful for postischemic ARF.

**Key words**—ischemia/reperfusion; acute renal failure; renal sympathetic nerve activity; norepinephrine

<sup>\*,a</sup> 株式会社カネカ 研究開発本部 フロンティアバイオ・メディカル研究所 生物研究グループ  
〒676-8688 兵庫県高砂市高砂町宮前町 1-8, e-mail: Toshihide.Fujii@kn.kaneka.co.jp

<sup>b</sup> 大阪薬科大学 生体機能解析学研究室

<sup>c</sup> 大阪薬科大学 病態分子薬理学研究室

本論考は、藤井 俊秀の博士論文をもとに再構成したものである。

腎臓は豊富な神経支配を受けている臓器であり、特に腎機能の調節には腎交感神経が深く関与することはよく知られている。高頻度 (2.5-5.0 Hz) の腎神経刺激は、腎臓から血中へ過剰なノルエピネフリン (NE) 放出を起し、腎血流量および糸球体濾過率を低下させる<sup>1)</sup>。また、腎動脈に NE を持続注入した場合、腎組織障害や継続的な腎血行動態の異常が起こることも知られている<sup>2)</sup>。さらに、腎交感神経活動 (RSNA) の過剰亢進はデオキシコルチコステロンアセテート (DOCA)-食塩負荷高血圧モデルや脳卒中易発性自然発症高血圧ラット (SHR-SP)<sup>4)</sup> の高血圧およびそれに伴う腎障害の病態発症と進展に重要な役割を果たしていることが知られており、これらの実験事実は、RSNA の活性化または慢性的な亢進が、腎臓自体に種々の障害や機能変化をもたらすことを示している。

深刻な腎障害を生じる疾患の一つに急性腎不全があり、この病態は、虚血、種々の薬剤、エンドトキシン等が原因となって糸球体濾過量が急激に低下し、その結果、蛋白質の最終代謝産物である尿素窒素やクレアチニンなどの体内蓄積が起こり、体液・電解質の恒常性が維持できなくなった状態と定義される。その中でも、虚血性急性腎不全の病態発症には、活性酸素や一酸化窒素あるいはエンドセリン等の血管作動性物質を始めとした多くの因子が関与する一方で、腎交感神経系や循環カテコラミンが関与することも知られている。その状況証拠としては、腎除神経処置が虚血再灌流による糸球体濾過率の低下や腎血行動態不全を改善すること<sup>5)</sup>や腎臓への NE 注入が虚血再灌流処置後の腎機能低下や致死率を悪化させることが挙げられる<sup>6)</sup>。また、腎虚血自体が化学受容体を介して求心性神経を活性化させることが明らかにされており<sup>7)</sup>、交感神経および活性化した神経終末から放出される神経伝達物質により、虚血再灌流による腎障害の発症に影響を与える可能性が想定される。しかし、虚血性急性腎不全の病態発症における腎交感神経系の役割とその機序については明らか

かにされていない。

本研究は虚血性急性腎不全における腎交感神経系の役割を明確にするために実施されたものである。

## 1. 腎臓の虚血再灌流処置による腎交感神経活動 (RSNA) およびノルエピネフリン (NE) 動態への影響

腎交感神経系は腎臓の機能を調節する重要な因子であるが、一方でその過剰亢進は、腎疾患に深く関与することが知られている。高頻度の腎神経刺激は、腎臓から血中へ大量の NE 放出を起し、腎血流量および糸球体濾過率を低下させる<sup>1)</sup>。以前の研究において、虚血再灌流により腎交感神経系が亢進することが示唆されているが、その根拠となる明確な証拠は示されておらず、本病態モデルにおける腎交感神経系との関連は明らかではなかった。そこで、まず虚血時における RSNA を直接電氣的に測定する方法を試みた。

RSNA は、虚血直後に過剰な亢進 (安定放置時の約 2.5 倍) が観察され、その後直ちに低下 (安定放置時の約 1.5 倍) したが、虚血中は高値を持続した (Figure 1)。このように、虚血自体により腎交感神経が刺激され、その後も RSNA が亢進していることが明らかになった。

次に、虚血中に亢進した RSNA により実際に神経終末からの NE 遊離を促進するかを検証する目的で、腎組織中の NE 濃度を *in vivo* マイクロダイヤライシス法を用いて測定した。その結果、虚血後半 (30-45 分) にはすでに腎組織 NE 濃度が増加し始め、再灌流直後に最大値を示した (Figure 2A)。この結果から、虚血時に RSNA が亢進することにより神経終末から腎間質への NE 遊離が増大したものと考えられる。

腎静脈への NE 遊離を測定することは RSNA の指標となり得るため、再灌流後の腎静脈血漿中 NE 濃度を測定したところ、NE 濃度は再灌流直後 (2

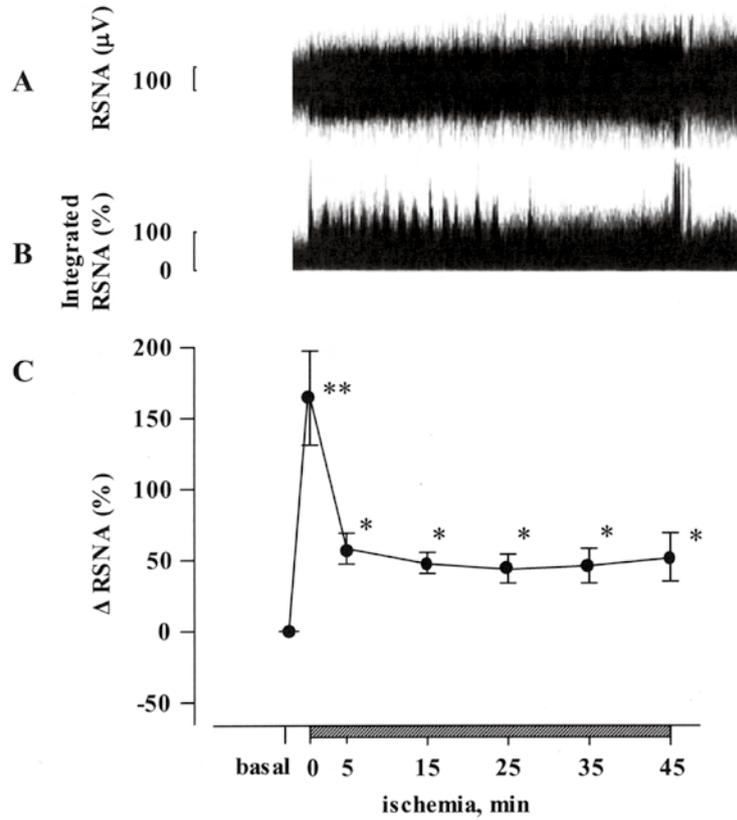


Figure 1. Typical responses of renal sympathetic nerve activity (RSNA, A) and integrated RSNA (B) to ischemia/reperfusion in an anesthetized rat.  
 (C) Changes in RSNA during 45-min ischemia period. Values are means  $\pm$  S.E.M.  
 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , compared with pre-ischemic value.

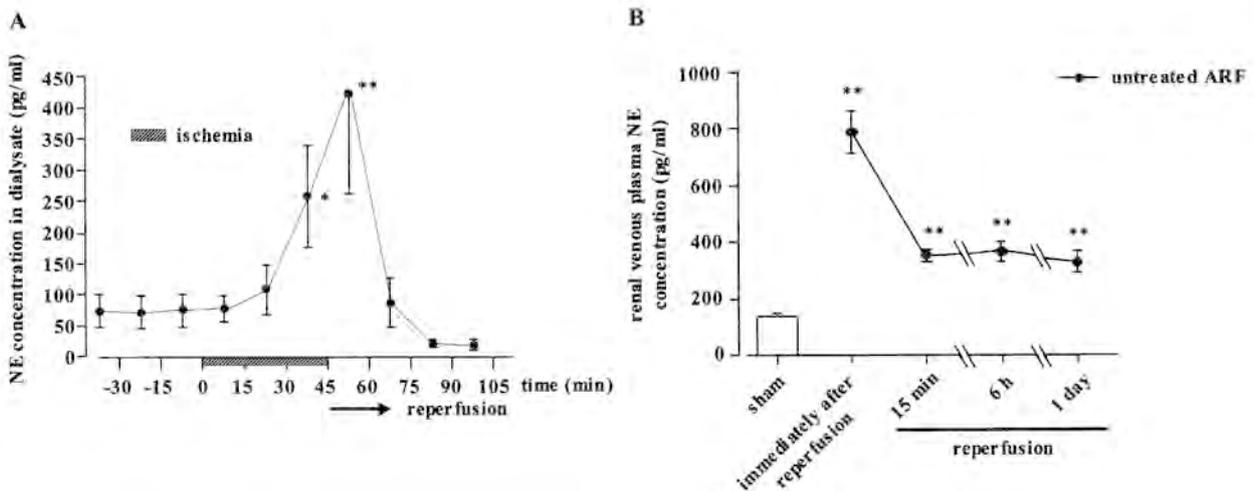


Figure 2. (A) Changes in norepinephrine (NE) concentrations in dialysate of kidneys with ischemia/reperfusion. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , compared with pre-ischemic value.  
 (B) NE concentrations in renal venous plasma of ischemia/reperfused and sham rats. Blood samples (one sample from each animal) of ischemia/reperfused rat were taken during 2 min at induced time points. \*\* $P < 0.01$ , compared with sham-operated rats.  
 Values are means  $\pm$  S.E.M. ARF, acute renal failure.

分以内) に最大値を示し、その後すみやかに減少したものの、sham 群と比較して高値を維持した (Figure 2B)。これは、虚血により亢進した RSNA が再灌流後の NE 遊離に直接的に関わることを示唆している。

以上より、虚血時に RSNA が上昇し、腎組織中の NE 濃度が上昇、さらに再灌流後には腎静脈血中への NE 遊離が増大することが確認されたことから、虚血再灌流後には腎交感神経系が亢進していることが実証された。

## 2. 虚血再灌流による腎障害並びに NE 放出に対する腎除神経および自律神経節遮断薬の効果

急性腎不全発症モデルにおける腎障害<sup>5)</sup>や DOCA-食塩負荷高血圧モデル<sup>3)</sup>、SHR-SP<sup>4)</sup> の高血圧およびそれに伴う腎障害が腎除神経により改善されるこ

とが報告されており、これらの知見は病態由来による過剰な神経活動を抑制した結果、腎臓に効果的に作用した可能性がある。第 1 編において、腎臓の虚血中あるいは再灌流初期には、RSNA やその亢進に続く腎臓からの NE 遊離の増大が確認されたため、虚血再灌流後の腎交感神経系活性化を抑制することにより、虚血再灌流による腎障害を軽減し得る可能性が考えられる。本編では、虚血再灌流後の腎交感神経系の亢進が腎障害の発症と密接に結びついているかを検証するため、虚血再灌流による腎障害に対する腎除神経処置および自律神経節遮断薬ペントリニウムの効果について検討した。

虚血再灌流処置 1 日後の対照群では、顕著な腎機能低下および腎組織障害を生じたが、これらは腎除神経の処置あるいは自律神経節遮断薬ペントリニウムの投与により改善された (Figure 3)。また、再灌流直後および 1 日後の腎静脈血漿中 NE

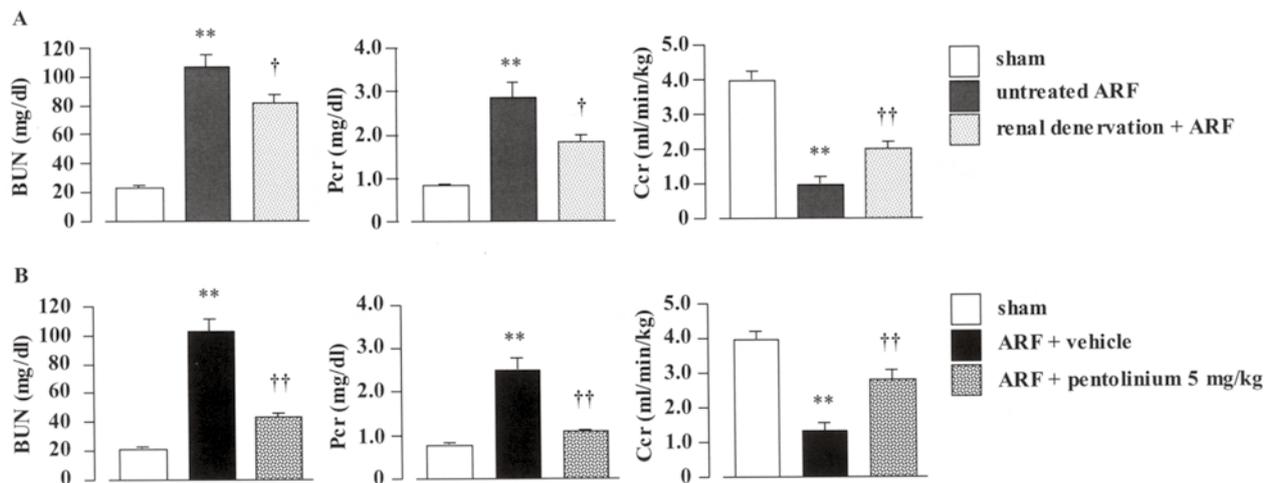


Figure 3. Effect of renal denervation (A) or pentolinium treatment (B) on blood urea nitrogen (BUN), plasma creatinine concentration (Pcr) and creatinine clearance (Ccr) at 1 day after reperfusion. Renal denervation was accompanied 5 min before ischemia. Pentolinium treatment (5 mg/kg) or vehicle (0.9% saline) treatment was given intravenously 5 min before ischemia. Each column and bar represents the mean  $\pm$  S.E.M. \*\* $P < 0.01$ , compared with sham-operated rats. † $P < 0.05$ , †† $P < 0.01$ , compared with untreated (A) or vehicle-treated (B) rats. ARF, acute renal failure.

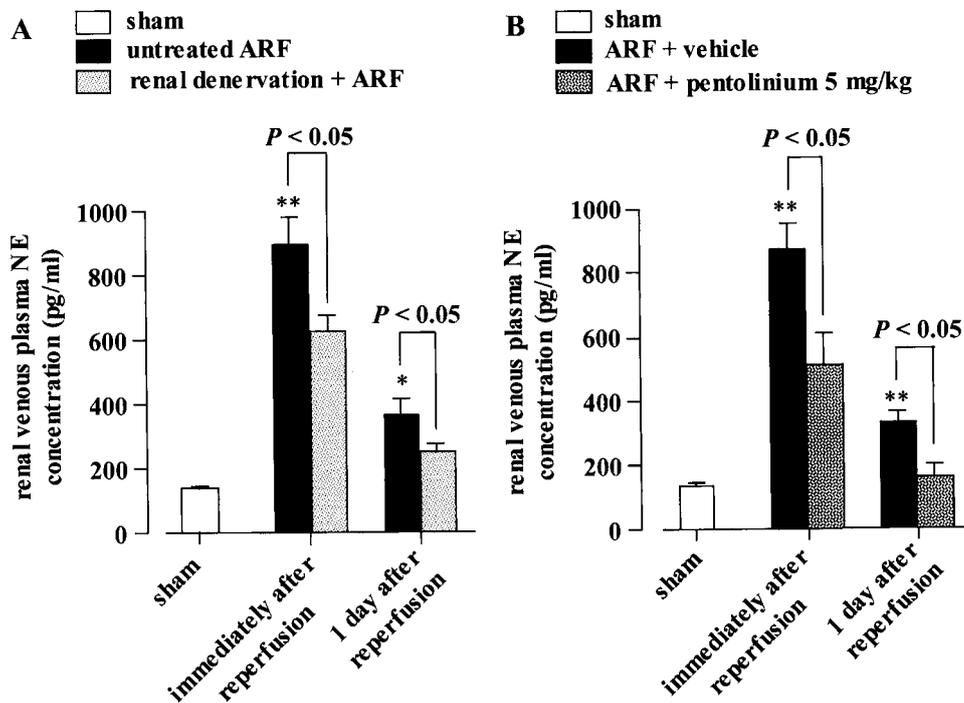


Figure 4. Effect of renal denervation (A) or pentolinium treatment (B) on norepinephrine (NE) concentrations in renal venous plasma of ischemia/reperfused rats. Blood samples (one sample from each animal) of ischemia/reperfused rats were taken during 2 min at induced time points. Renal denervation was accompanied 5 min before ischemia. Pentolinium treatment (5 mg/kg) or vehicle (0.9% saline) treatment was given intravenously 5 min before ischemia. Each column and bar represents means  $\pm$  S.E.M. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , compared with sham-operated rats. ARF, acute renal failure.

濃度の上昇についても、腎除神経処置あるいはペントリニウム投与によって有意に抑制された (Figure 4)。これらの結果から、虚血再灌流による腎交感神経終末からの過剰な NE 遊離が、虚血性急性腎不全における腎障害の発症に関与することが明らかとなった。

### 3. 虚血再灌流による腎障害並びに NE 放出に対するアドレナリン性 $\alpha_1$ 受容体遮断薬の効果

これまでの研究において、 $\alpha_2$  受容体作動薬クロニジンをを用いて、降圧作用を有する薬物濃度において、虚血再灌流による腎臓髄質外層にお

ける微小循環障害やクレアチンクリアランスの低下を抑制することが証明されている<sup>8)</sup>。また、 $\beta_1/\beta_2$  受容体遮断薬プロプラノロールを用いた知見では、虚血再灌流によるレニン放出増大を抑制することにより虚血性急性腎不全に有効であることが示されていた<sup>9)</sup>。しかし、遊離された NE が腎臓のシナプス後アドレナリン性受容体を介して腎障害を引き起こしているかについて検討した報告はなされていない。なお、 $\alpha_1$  受容体遮断薬プラゾシンとアンギオテンシン  $AT_1$  受容体遮断薬ロサルタンとの併用により、虚血性急性腎不全モデルにおける腎血行動態の低下を抑制したことを示されているが、具体的な腎障害について言及していない<sup>10)</sup>。そこで本編では、虚血再灌流により増大した

腎臓からの NE が、シナプス後膜におけるアドレナリン性  $\alpha_1$  受容体を介して腎障害に関与しているかを調べる目的で、虚血再灌流による腎障害に対する  $\alpha_1$  受容体遮断薬プラゾシンの効果を検証した。

虚血再灌流処置 1 日後の対照群では、顕著な腎機能低下および腎組織障害を生じたが、これらはアドレナリン性  $\alpha_1$  受容体遮断薬プラゾシンの

虚血前投与により改善された (Figure 5)。しかしながら、プラゾシンの再灌流後投与では、虚血前投与でみられた腎障害の抑制効果はみられなかった。これらの結果から、虚血性急性腎不全の発症には  $\alpha_1$  受容体を介したノルアドレナリン性神経伝達が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。また、再灌流後の腎静脈血漿中 NE 濃度を測定したところ、プラゾシンの虚血前投与は再

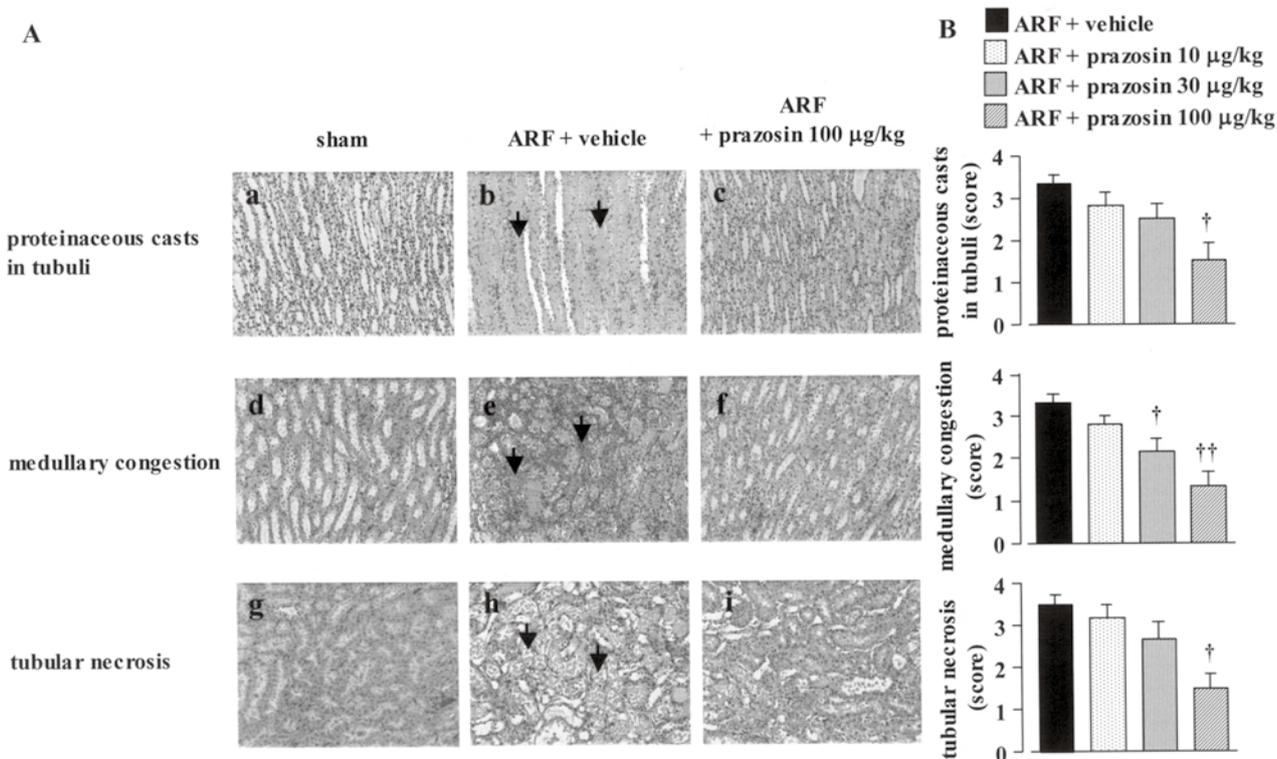


Figure 5. (A) Light microscopy of inner zone (a-c), outer zone inner stripe (d-f) and outer zone outer stripe (g-i) of medulla of the kidney of ARF rats treated with vehicle and prazosin (100 µg/kg) at 1 day after reperfusion, and sham-operated rats. Arrows indicate severe proteinaceous casts in tubuli (b), congestion and hemorrhage (e) and tubular necrosis (h) are observed in vehicle-treated ARF rats.

(B) Effect of prazosin (10-100 µg/kg) treatment on histopathological changes in the kidneys of ARF rats. Each column and bar represents the mean  $\pm$  S.E.M.  $^{\dagger}P < 0.05$ ,  $^{\dagger\dagger}P < 0.01$ , compared with vehicle-treated rats.

Prazosin or vehicle [a mixture of 10% ethanol, 15% polyethylene glycol 400, 70% saline (0.9%)] was given intravenously 5 min before ischemia. ARF, acute renal failure.

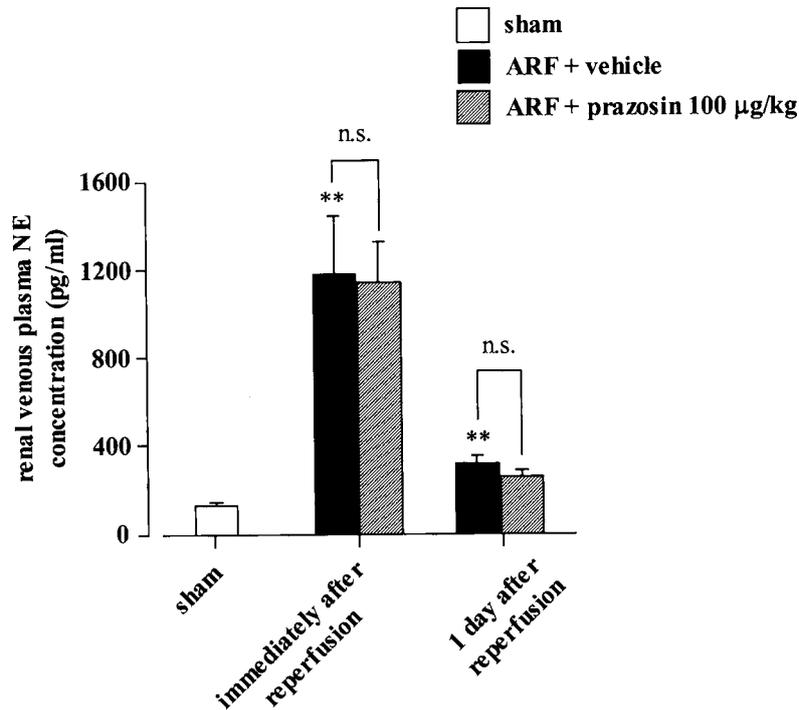


Figure 6. Effect of prazosin (10-100 µg/kg) treatment on norepinephrine (NE) concentrations in renal venous plasma of ischemia/reperfused rats. Blood samples (one sample from each animal) of ischemia/reperfused rats were taken during 2 min at induced time points. Prazosin or vehicle [a mixture of 10% ethanol, 15% polyethylene glycol 400, 70% saline (0.9%)] was given intravenously 5 min before ischemia. Each column and bar represents means  $\pm$  S.E.M. \*\* $P < 0.01$ , compared with sham-operated rats. ARF, acute renal failure.

灌流直後および1日後のNEレベルの上昇には影響を与えなかった (Figure 6)。この結果は、第2編で確認された腎除神経および自律神経節遮断薬投与においてみられた再灌流後のNE濃度の上昇を抑制した結果と対照的であった。よって、虚血再灌流による腎障害の発症には、腎臓におけるシナプス後膜の $\alpha_1$ 受容体を介したNEの神経伝達が関与していることが示唆された。

## 結語

腎臓の虚血処置によりRSNAが亢進することが明らかになった。また、亢進したRSNAおよび腎神経終末からのNE遊離の増大が、虚血再灌流に

よる腎障害の発症に密接に関与していること、さらに腎臓におけるシナプス後膜の $\alpha_1$ 受容体を介したノルアドレナリン性神経伝達が関与していることが明らかになった。

以上、虚血再灌流による腎障害の発症には腎交感神経系の過剰な亢進が密接に関係していることを証明した。また、腎交感神経系に対する選択的な阻害が、虚血性急性腎不全に対して有効である可能性が示唆された。

## REFERENCES

- 1) Egi Y., Matsumura Y., Murata S., Umekawa T., Hisaki K., Takaoka M., Morimoto S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **269**, 529–535 (1994).

- 2) Conger J.D., Robinette J.B., Hammond W.S., *Kidney Int.*, **39**, 1087–1097 (1991).
- 3) Ciccone C.D., Zambraski E.J., *Hypertension*, **8**, 925–931 (1986).
- 4) Nagaoka A., Kakihana M., *Jpn. J. Pharmacol.*, **32**, 591–597 (1982).
- 5) Ogawa T., Mimura Y., Kaminishi M., *Acta Physiol. Scand.*, **174**, 291–297 (2002).
- 6) Gottmann U., Brinkkoetter P.T., Bechtler M., Hoeger S., Karle C., Schaub M., Schnuelle P., Yard B., van der Woude F.J., Braun C., *Kidney Int.*, **70**, 321–328 (2006).
- 7) Recordani G.M., Moss N.G., Waselkov L., *Circ. Res.*, **43**, 534–543 (1978).
- 8) Solez K., Ideura T., Silvia C.B., Hamilton B., Saito H., *Kidney Int.*, **18**, 309–322 (1980).
- 9) Solez K., D'Agostini R.J., Stawowy L., Freedman M.T., Scott W.W. Jr. Siegelman S.S., Heptinstall R.H., *Am. J. Pathol.*, **88**, 163–192 (1977).
- 10) Ajayi A.A.L., Hercule H.C., Pamugo J., Dixon D., Oyekan A.O., *Blood Press.*, **10**, 238–246 (2001).