

重症の高血圧性血管病変を有するラットの 腎皮質抽出液による血管障害について

太田善夫 鈴木庸之

近畿大学医学部第1病理学教室

Vascular lesions produced by renal cortical extracts of rats with
severe hypertensive vascular lesions

Yoshio Ohta and Tsuneyuki Suzuki

First Department of Pathology, Kinki University School of Medicine, Osaka, Japan

ABSTRACT

We have proposed the hypothesis that factors in malignant hypertension other than high blood pressure itself may play a role in the occurrence of such hypertensive vascular lesions as angionecrosis. In this study, we tried to clarify whether there were any substances in M-SHRSP and/or SHRSP renal cortex which induced vascular lesions without high blood pressure. The renal cortex of M-SHRSP, SHRSP and WKY were fractionated to F1-F5 according to a modification of the method of Nakamura et al. To examine the vascular injury effect, each fraction was injected intraperitoneally to nephrectomized WKY. Compared to various fractions, F4 (containing lysosomal contents) extracted from the old M-SHRSP and/or SHRSP renal cortex showed the greatest vascular injury effect (inducing angionecrosis) especially in the pancreas and mesenterium. The renal cortex of M-SHRSP and SHRSP with severe hypertensive vascular lesions contained a larger amount of vascular injury substance than WKY.

Key words : M-SHRSP, angionecrosis, renal cortical extract

緒 言

これまで我々は、重症高血圧症を示す M-SHRSP, SHRSP における血管病変の発生には、高い血圧以外の要因も関与している可能性を示してきた。一方、Winternitz ら¹ が、腎性高血圧犬を用い、その腎皮質には血管障害性物質が含まれていることを報告して以来、多くの研究者によって腎皮質由来の血管障害性物質が研究されてきた。しかしながら、これまでの

所、重症の本態性高血圧症の際にみられる血管病変との関係については明らかにされていない。そこで本実験では、M-SHRSP, SHRSP の血管病変の発生には、腎皮質内の血管障害性物質が関与しているのではないかとの仮説の元に、実験を行なった。

方 法

すでに、重症の高血圧性血管病変を有していると思われる、12週齢以上のオスのM-SHRSP

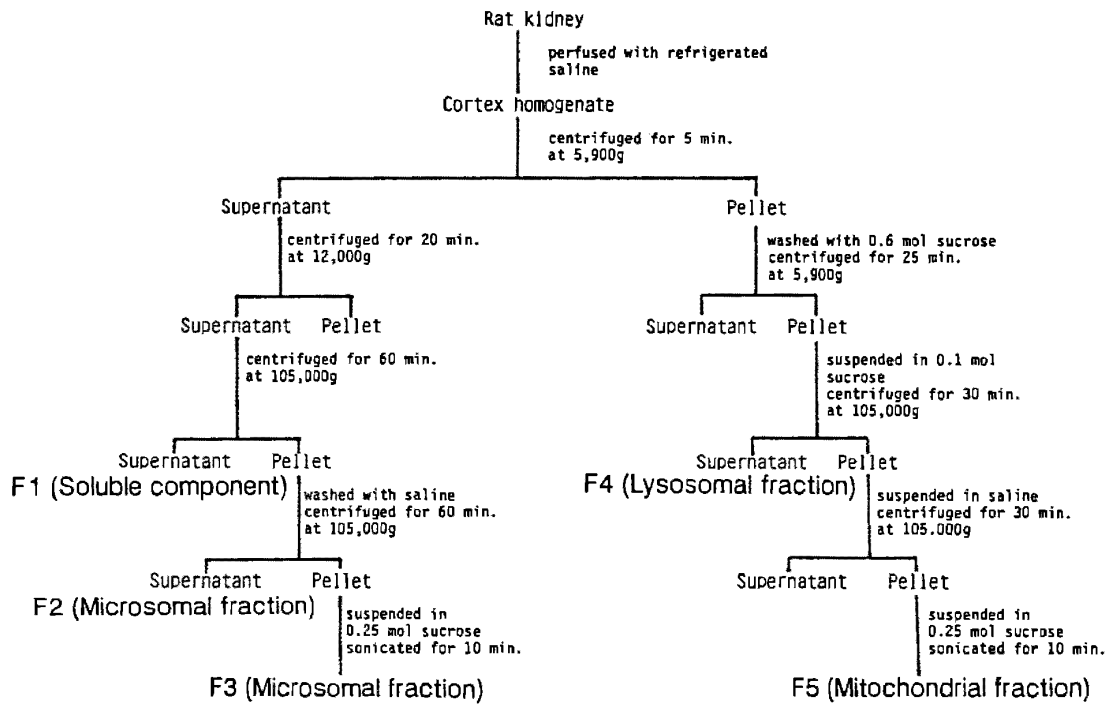


Fig. 1 Preparation of various subcellular fractions (modified method of Nakamura et al.)

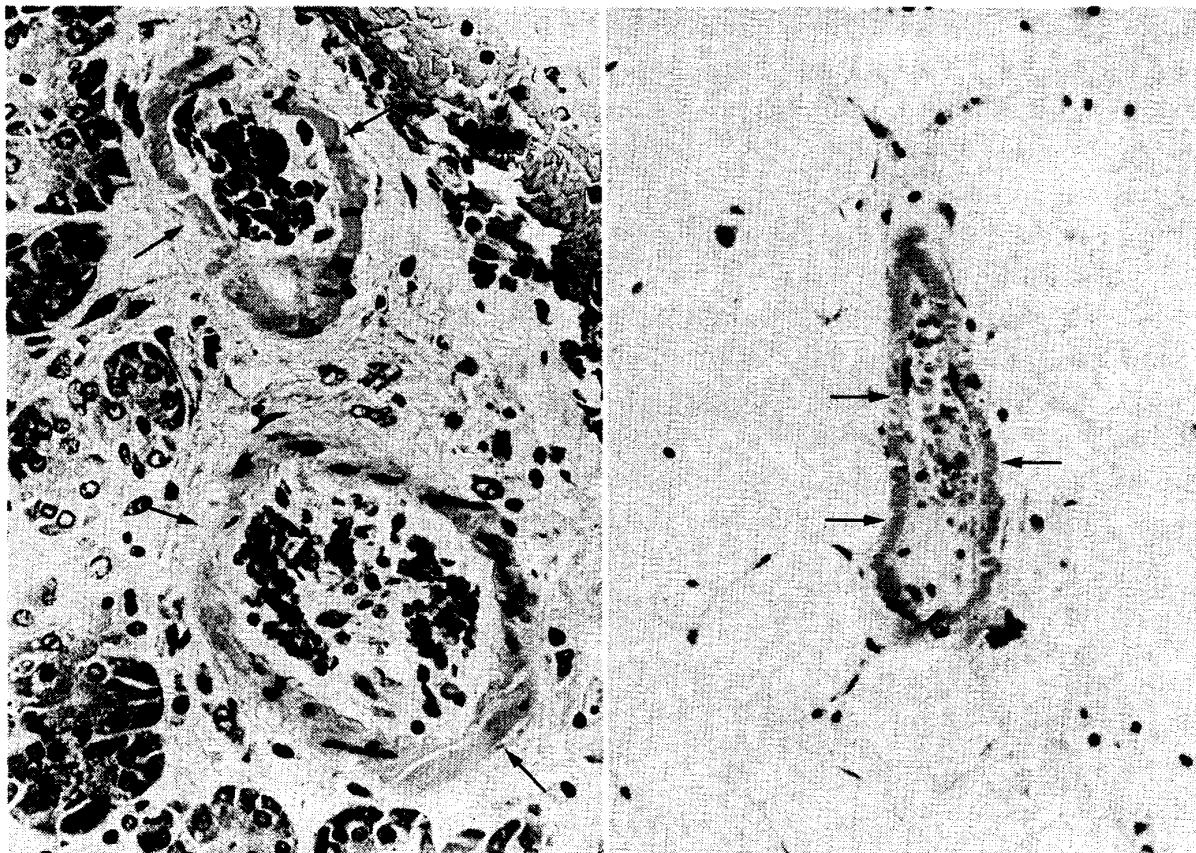


Fig. 2 Microscopic findings of the pancreas (left) and mesentery (right)
Arrow shows angioneclerosis. (H. E. $\times 400$)

あるいは15週齢以上のオスの SHRSP および病変を有していない20週齢の WKY を選び、ネブタール麻酔下に、胸部大動脈よりカテーテルを挿入し、氷冷したヘパリン添加生理食塩水 (2,500 unit/1,000 ml) にて十分に灌流した。その後、両腎を摘出し皮質のみを分離し、4°C の 0.45 mol sucrose-0.68 mol EDTA を加えて homogenize した。さらに、中村らの方法² (Figure 1) によって F1 (soluble component), F2 (microsomal fraction), F3 (microsomal fraction), F4 (lysosomal fraction), F5 (mitochondrial fraction) を分離した。これらの抽出液の蛋白量を Lowly 法により測定した。15週齢のオスの WKY の両腎摘出、片腎摘出、あるいは sham operation を行い、術後6時間目に、蛋白量として 3 mg/100 g 体重の割合で、それぞれの分画液を腹腔内に投与した。なお、対照群には生理食塩水を投与した。術後24時間後に血圧を測定した後、屠殺剖検した。諸臓器のパラフィンブロックを2~3 μ に薄切し、H. E. 染色、PAS 染色、Azan-Mallory 染色を行い、血管病変について病理組織学的に検索した。

結 果

1. 血管病変

イ) 諸臓器の比較

両腎摘出を行ったラットに腎皮質抽出物を投与すると、Figure 2 に見られるような血管壊死の発生が心臓、副腎、脾、腸間膜の細小動脈及び静脈性血管に見られた。これらの臓器のうち特に、脾、腸間膜に高頻度に病変が認められた。障害された血管壁には、H. E. 染色では好酸性均一に、また、PAS 染色で陽性、Azan-Mallory 染色で赤色に染まるフィブリン様物質の沈着が認められた。

ロ) 各分画の比較

Table 1 に、両腎を摘出した WKY に、M-SHRSP, SHRSP の腎皮質より抽出した F1~F5 分画を投与した際の脾、腸間膜に認められ

Table 1 Incidence of angioneclerosis in the bilaterally nephrectomized rats with injection of various fractions extracted from old M-SHRSP and SHRSP

Fraction	Angioneclerosis					
	Pancreas			Mesenterium		
	-	+	++	-	+	++
F1	3/7	4/7	0/7	2/7	5/7	0/7
F2,F3	7/10	3/10	0/10	7/10	3/10	0/10
F4	0/15	10/15	5/15	2/15	11/15	2/15
F5	3/10	6/10	1/10	3/10	7/10	0/10
Saline	4/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

The intensity of vascular lesions was indicated by scale - to ++.

た血管壊死の発生数を示している。血管壊死の有無は血管壁へのフィブリン物質の沈着によって判断した。血管壊死の程度は-, +, ++ で示した。

-: 血管壁に、フィブリン物質の沈着は認められない

+: 血管壁の一部にフィブリン物質の沈着が見られるが、血管壁の構造の破壊は認められない

++: 2カ所以上に、全周にわたるフィブリン物質の沈着が認められ、血管壁の構造が破壊されているものを示している

生食のみを投与したのものには血管壊死の発生は認められなかったのに対して、F1~F5 のいずれの分画においても、血管壊死の発生がみられた。このうち F4 を投与した場合には、脾臓には15匹全例に、腸間膜には15匹中13例 (87%)

Table 2 Incidence of angioneclerosis in the bilaterally or unilaterally nephrectomized rats with injection of F4 fraction

Nephrectomy	Angioneclerosis					
	Pancreas			Mesenterium		
	-	+	++	-	+	++
Bilateral	0/15	10/15	5/15	2/15	11/15	2/15
Unilateral	5/6	1/6	0/6	5/6	1/6	0/6
Sham operation	4/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4

The intensity of vascular lesions was indicated by scale - to ++.

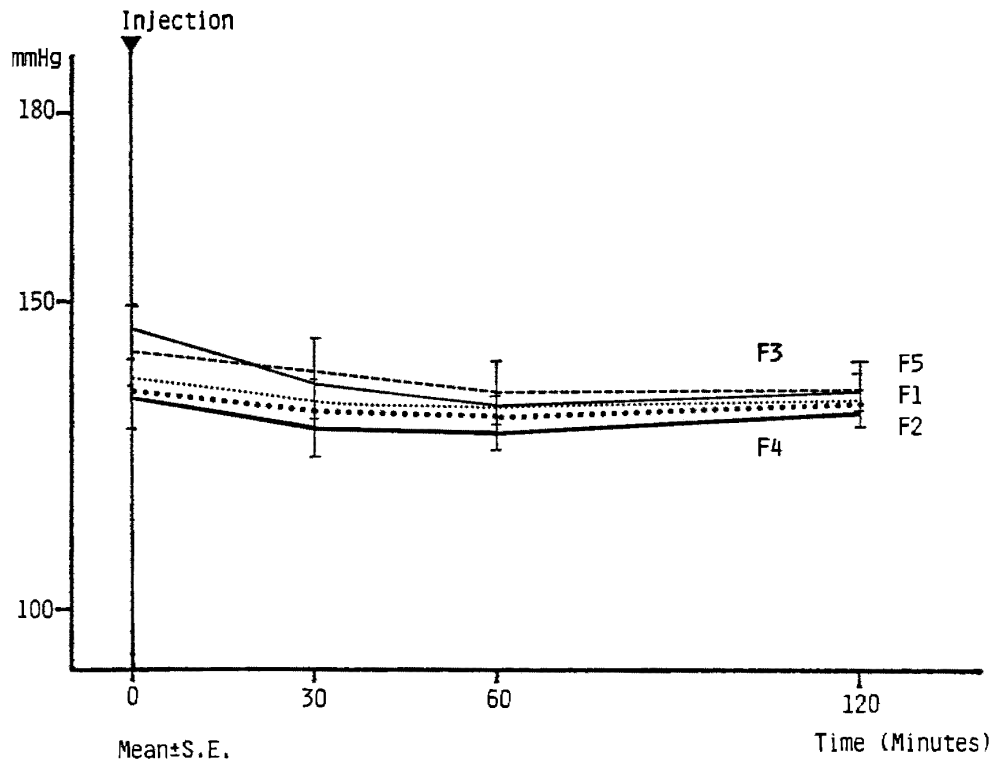


Fig. 3 Changes of blood pressure in rats with injection of various fractions

の高頻度に見られ、さらに、病変の見られたラットのうち5匹の膵、2匹の腸間膜には顕著な病変が見られた。

ハ) 腎摘出の影響

Table 2 は、M-SHRSP, SHRSP より得られた F4 を両腎摘出、片腎摘出、sham operation を行ったラットに投与した際に、膵、腸間膜に認められた血管壊死の発生数を示している。sham operation を行ったラットには、血管壊死の発生は認められず、片腎摘出ラットでは、6匹中1例(17%)の膵と腸間膜に軽い病変が認められた。これに対して、両腎を摘出した15匹のラットでは、膵臓に全例(100%)に、腸間膜には13例(87%)に病変が認められた。

2. 血圧

Figure 3 は、両腎を摘出した WKY に M-SHRSP, SHRSP の腎皮質より抽出した F1~F5 を腹腔内に投与した際の血圧の変化を経時的に示したもので、いずれの抽出液を投与しても、血圧には有意の変化は認められなかった。

考 察

これまでに我々は、M-SHRSP, SHRSP を用いた実験を行い、血管病変(特に血管壊死)の発生には高い血圧以外の要因も関与している可能性を示唆してきた^{3,4}。一方、1940年に Winternitz ら¹ が、腎性抽出物による血管障害作用を報告して以来、多くの報告が成されている⁵⁻¹¹。今回の実験では、M-SHRSP, SHRSP の血管病変の発生にも腎性因子が関与しているのではないかとの仮説の元に実験を行った。腎性血管障害物質について Asscher ら⁵、Cuthbert ら⁶ は、renin であると報告し、小野山ら⁷ は、renin 活性の高い lysosome 分画に強い血管障害作用があるとする等、renin と関連した物質であると報告している。一方、村上⁸、Shimomura⁹ は、renin とは異なった物質であるとしており、Nakamura ら² は、concanavalin A affinity chromatography を用いて分析し、主に renin 活性を認めない lysosome 分画に、また micrososome 分画にもわず

かに、血管障害作用があると報告した。血管障害性物質の存在する分画については、小野山ら⁷は、lysosome 分画にあるとしているのに対し、西森ら¹¹は、microsome に多くの血管障害性物質が含まれるとしており、これまでの所、意見の一致をみていない。Nakamura ら²は、標的酵素を用いて上記の分画では純度の検定を行っているが、他の報告では、この様な検定が成されておらず、分画の純度に疑問がある。

腎性抽出物を得る材料としては、Winternitz が、腎動脈を結紮した犬の腎臓を用いたのをはじめとして、ラット、犬、豚等の正常腎や、腎性高血圧ラットの腎臓、nephrotoxin によって障害された腎臓など様々な材料が用いられている。しかしながら、これまでの所、重症の高血圧を自然発症し、既に重症の高血圧性血管病変を有するラットを用いた実験は、ほとんど行われていない。Miyagawa¹¹は、SHR の腎臓を用いた実験を行い WKY に比べて、SHR の腎臓に、より強い血管障害物質が含まれていると報告したが、この際に用いられた SHR の血圧及び血管病変の有無に関しては詳しい記載がなされておらず、用いられた SHR に関する詳細は明らかにされていない。

腎抽出物の血管障害性の判定には、腎性因子の体外への遊出を防ぐために両腎を摘出した動物を用いるのが一般的とされているが、Churg ら¹²、江藤ら¹³は、両腎摘出のみでも血管壊死が生じると報告している。今回の結果では、生食のみを与えた両腎摘出ラットには、血管壊死の発生は認められなかった。このことから、腎性血管障害物質の判定に両腎摘出ラットを用いても支障がないと考えた。

今回の実験では、全例重症の高血圧性血管病変を有している M-SHRSP, SHRSP を材料とし、中村らの方法にしたがって F1 (soluble component), F2 (microsomal fraction), F3 (microsomal fraction), F4 (lysosomal fraction), F5 (mitochondrial fraction) の各分画液を得た。これらを比較すると、中村らの報告²

と同様に lysosome 分画には、強い血管障害作用があり、血圧には影響を及ぼさないことが明らかとなった。lysosome 分画以外の分画にもある程度の血管障害作用がみられたので、いずれの分画にも血管障害物質が含まれていると考えられるが、各分画が十分には分離されていなかった可能性も考えられる。これらをより明らかにするためには、今後、腎皮質液の抽出法、そして抽出液の血管障害性の判定法について、さらに検討する必要があると思われる。

血圧に関しては、今回得られたいずれの分画液を両腎を摘出したラットに投与しても、血圧には著明な変化がみられなかった事から、M-SHRSP, SHRSP より得られた腎性血管障害物質は血圧とは関係なく作用することが示された。

今回の結果より、重症の高血圧性血管病変を有するラットの腎皮質抽出液の中には、高い血圧の関与しない血管障害性物質が含まれており、その作用は WKY に比べて強いことが明らかとなった。これらの結果から、重症高血圧ラットにおける血管病変の発生には、腎皮質内物質が関与している可能性が示唆された。

文 献

1. Winternitz MC, Mylon E, Waters LC, Katzenstein R. Studies on the relation of the kidney to cardiovascular disease. *Yale J. Med.* 1940; 12: 623-687.
2. Nakamura M, Ezaki I, Sumiyoshi A, Kai M, Kanaide H, Naito S, Kato K. Renal subcellular fractions producing angioneurosis and increased vascular permeability. *Br. J. Exp. Pathol.* 1975; 56: 62-71.
3. Okamoto K, Ohta Y, Morita N, Shiokawa H, Chikugo T, Hamada Y. Therapy and prevention of hypertension of M-SHRSP. *CLIN. AND EXPER. HYPERT.—THEORY AND PRACTICE—* 1991; AB(5): 1033-1042.
4. Okamoto K, Ohta Y, Chikugo T, Shiokawa H, Morita N. Chronic treatment with captopril, SQ, 29,852, hydralazine and a 33% fish meal diet in malignant stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens.* 1991; 9:

- 1105-1117.
5. Asscher AW and Anson SG. A vascular permeability factor of renal origin. *Nature*. 1963; 198: 1097-1099.
 6. Cuthbert MF, Peart WS. Studies on the identity of a vascular permeability factor of renal origin. *Clin. Sci.* 1970; 38: 309-325.
 7. 小野山薫, 服部憲明, 尾前照雄, 勝木司馬之助. 腎抽出液成分投与による腎摘ラット血管病変について. *脈管学*. 1971; 11: 163-169.
 8. 村上元孝. 血管透過性亢進因子. *脈管学*. 1968; 8: 336-340.
 9. Shimomura A. Experimental studies on pathogenesis of angionecrosis produced by administration of renal extracts. *Acta Med. Nagasaki*. 1971; 15: 58-75.
 10. 西森一正. 腎抽出物による血管病変とその経時的変化. *動脈硬化*. 1977; 5: 153-158.
 11. Miyagawa N. Vascular lesions produced by renal cortical extracts of spontaneously hypertensive rats (SHR). *Acta Med. Nagasaki*. 1977; 22: 63-77.
 12. Churg J and Paterson NG. Renal and renoprival vascular disease in the rat. *Arch. Pathol.* 1963; 75: 547-557.
 13. 江藤胤尚, 小野山薫, 田仲謙次郎, 尾前照雄, 山元寅男. 両側腎摘ラットにおける血管障害の研究. 第1報 腎摘24時間後における血圧と血管障害の関係について. *脈管学*. 1973; 13: 427-428.