

Title	高血圧自然発症ラットにおける腎交感神経活動と血圧および腎血流量の関係に関する研究
Sub Title	
Author	佐方, 克史(Sakata, Katsufumi) 猿田, 享男(Saruta, Takao)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.4 (2003. 12) ,p.T323- T335
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	学位論文
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20031201-0323">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20031201-0323</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

学位論文

高血圧自然発症ラットにおける腎交感神経活動と  
血圧および腎血流量の関係に関する研究

慶應義塾大学医学部内科学教室

(指導：猿田享男教授)

佐方克史

(平成 15 年 5 月 15 日受付)

Key Word : hypertension, sympathetic nervous system, spectral analysis, coherence, nonlinear analysis

腎臓は豊富な交感神経支配を有しており、この神経終末は輸入・輸出細動脈、尿細管、傍糸球体装置等に分布し、腎循環動態・腎機能を巧みに調節している<sup>1)</sup>。腎交感神経活動 (renal sympathetic nerve activity, 以下 RSNA と略す) が亢進すると、腎血流量の低下 (腎動脈の収縮)、水・Na 再吸収の亢進およびレニン分泌の亢進を介して体液量増大と総末梢血管抵抗の増加を招き血圧上昇をもたらす。ヒト本態性高血圧症やそのモデルである高血圧自然発症ラット (以下 SHR と略す) では交感神経活動の亢進が報告されている<sup>2,3)</sup>。このことは RSNA の周波数成分の変化で血管平滑筋細胞や傍糸球体細胞などの機能が変わり、血圧調節にも影響を与える可能性を示唆する。高血圧の発症・維持における交感神経系の重要性は、高血圧モデル動物の高血圧発症前に両側腎神経を完全に切除しておくことと高血圧の発生を防止できることから理解される。

また、交感神経系は圧受容器反射を介して瞬時にかつ精巧に血圧を調節している<sup>4)</sup>。交感神経系および血圧調節の中樞である延髄腹外側野の吻側領域 (rostral ventrolateral medulla, 以下 RVLM と略す) には、自発放電するニューロン (神経細胞) が含まれる。RVLM ニューロンの電気活動が亢進すると脊髄中間外側核を経て下行性に心、腎、細動脈などへの末梢交感神経活動を亢進させ、血圧上昇をもたらす。

血圧が上昇すると、頸動脈洞や大動脈弓などの圧受容器はこれを瞬時に機械的信号としてとらえ、求心性神経を通じて延髄背側にある孤束核の活動を亢進させ、延髄腹外側野の尾側領域に興奮が伝わる。そこから GABA を神経伝達物質とする抑制性ニューロンが RVLM まで上行し、RVLM の電気活動を低下させることにより、遠心性交感神経活動を減弱させて血圧を下げるというネガティブ・フィードバック・システムとなっている。これが圧受容器反射である。

近年スペクトル解析により、血圧や心拍数の調節における自律神経支配の状態に関するさまざまな情報が得られてきている。Janssen ら<sup>5)</sup>は低酸素血症における RSNA と腎血流量との関連を無麻酔のウサギで検討し、RSNA の変動のうち高周波成分は血管収縮に寄与し、低周波成分は腎血流量の変動 (オシレーション) に寄与すると報告している。また Brown ら<sup>6)</sup>は、正常血圧ラットにおいて RSNA と血圧は 0.4Hz において密接に関連していると報告している。しかし高血圧などの病態モデルにおいて、RSNA と血圧および腎血流量を同時記録し、スペクトル解析した研究は未だなされていない。そこで本研究では、無麻酔ラットの RSNA と血圧、腎血流量および心拍数を同時記録することにより、RSNA の微細な変化 (特に 1.0 Hz 以下の低周波成分) が血圧および腎血流量をどのように調節しているか、また高血

本論文は、Sakata K, Kumagai H, Osaka M, Onami T, Matsuura T, Imai M, Saruta T : Potentiated sympathetic nervous and renin-angiotensin systems reduce nonlinear correlation between sympathetic activity and blood pressure in conscious spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 106 : 620-625, 2002 の一部、および佐方克史、熊谷裕生、大坂元久、松浦友一、大島直紀、早川弘一、猿田享男 : スペクトル解析により分析した腎交感神経活動と血圧および腎血流量との相関は、正常血圧と高血圧ラットとで異なる。血圧, 7 : 663-669, 2000 の一部を含む。

圧動物の神経性循環調節に異常があるとすれば、正常血圧との違いは何かをスペクトル解析と伝達関数(線形解析)を用いて検討した。対象として、ヒト本態性高血圧症のモデルである高血圧自然発症ラット(SHR)を用いた。

また一酸化窒素(以下NOと略す)合成酵素は血管内皮・血管平滑筋・血管運動中枢・腎臓などに幅広く存在し、循環調節にきわめて重要な役割を果たすことが示されている<sup>8)</sup>。高血圧は循環調節の異常によりもたらされることから、NOが高血圧の発症・維持に大きな役割を果たす可能性がある。そこで、もし高血圧ラットの循環調節に異常があるならば、それはNO系の異常によるものではないかという仮説を立てた。これを検証するために、NOの基質であるL-アルギニンの投与によりRSNAと血圧および腎血流量の相関関係がどのように変化するかも検討した。

生体の循環調節は決して線形ではなく、閉ループ(closed-loop)でかつ様々な因子がからみ合った非線形系の複雑な制御システムをなしている。線形とはグラフの形が直線となるものことで、 $y = ax + b$ の式であらわされる。この式はaとbを実数としたとき、変数yが変数xの一次関数であることを意味している。これによりグラフを描くと、aとbの値によってさまざまな図形となるが、いずれも直線となる。これに対して、グラフ化しても線形とならない式を非線形という。生体の心血管系パラメータの関係は非線形で、カオス的なゆらぎの成分が含まれることがわかってきた<sup>10-12)</sup>。カオスとは、決定論的に制御されているにもかかわらず一見無秩序に見えるものであり、時間的変動(力学系)の位相軌道が周期的でない場合をいう。一見規則正しく見える心電図や血圧の波形の繰り返しも、詳細に調べると不規則な変動要素が内在している。心拍周期や一拍ごとの収縮期血圧値を時系列的に記録すると、それらは平均値のまわりにきわめて不規則な変動(ゆらぎ)を示す。これらの時系列信号は完全に周期的ではなく、逆にホワイトノイズのような完全にランダムな信号でもなく、内部にはある定まった周期をもつリズムが存在する。

このように生体にとっての正常状態とは、生体を制御するさまざまなシステムがカオス的で、非線形性が高く、「複雑である」状態といえる<sup>13)</sup>。この非線形性によって、生体はさまざまな刺激に対応する柔軟性を得ていると考えられる。逆に心拍変動、脳波などの非線形性が低下し「複雑さ」が失われると、重症不整脈やけいれんが生じることが知られている。心筋梗塞後に心拍変動の非線形性が低下している患者は予後が悪く<sup>14)</sup>、また心拍変動の

非線形性の低下は心室細動に先行すると報告されている<sup>15)</sup>。しかしながら、高血圧動物において、循環調節の線形性と非線形性が正常血圧動物と比較してどう変化しているかは明らかにされていない。

以上のことより生体の神経性循環調節をとらえるのに線形解析のみでは不十分であると考え、閉ループにおいて非線形の相互関係の定量化が可能な新しい解析法であるmutual information法(相互情報量)<sup>16,17)</sup>を用いて、非線形解析も行った。これらの方法により、高血圧動物の神経性循環調節について線形と非線形解析を組み合わせた分析と統合が可能となった。またこれまで循環調節の非線形性低下と不良な予後とを結びつける因子は明らかでないため、これらを結びつける因子のひとつは交感神経亢進であろうという仮説を立て、これを検証した。

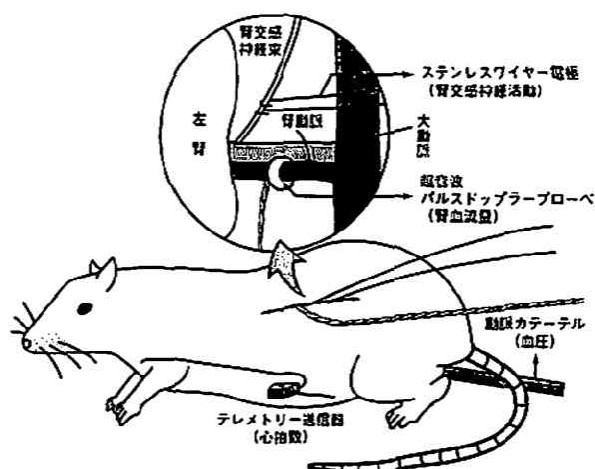
## 方 法

本研究は慶應義塾大学医学部動物実験ガイドラインに準拠し、これを遵守した。

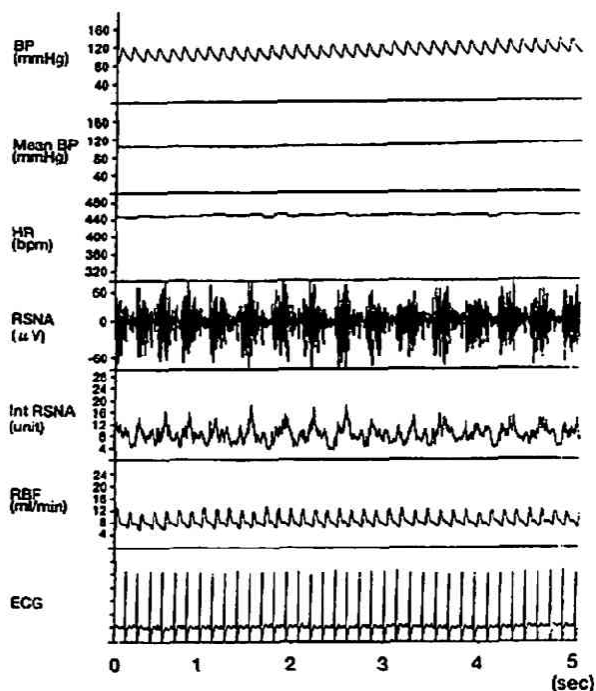
### 1. 血圧、心電図(心拍数)、RSNA、腎血流量の記録

動物は15週雄ウイスター・キョート・ラット(以下WKYと略す)とSHRを用いた(各n=7)。ペントバルビタール麻酔下(30mg/kg静脈内投与、5mg/kg静脈内投与を適宜追加)に、大腿動脈にカテーテル(PE-50, Clay Adams, USA)を挿入し、また心電図記録のために腹部皮下にテレメトリーの送信器(TA10EA-F20, Data Science, USA)を埋め込んだ。次に左後腹膜を切開し顕微鏡下に左腎交感神経束をはく離し、直径0.02mmのステンレスワイヤー双電極(A-M System Inc, USA)を装着した<sup>3,18)</sup>。さらにRSNAと同側の左腎動脈にも超音波パルスドップラープローブ(1.0mm 20MHz, CBI Co, USA)を装着し<sup>19)</sup>、シリコンゲル(Sil-Gel 604A and B, Wacker-Chemie, Germany)で固定した(第1図)。

手術終了後24時間以上経過し、無麻酔状態にあることを確認後ラットケージに入れて安静状態で実験開始とした。大腿動脈に挿入したカテーテルは血圧トランスデューサー(TP-200T, 日本光電, 東京)に接続して血圧を測定した(AP-611G, 日本光電)。またテレメトリーの受信器(RPC1, Data Science, USA)により得られた心電図波形のR-R間隔から瞬時心拍数を得た。交感神経の電極は高インピーダンス・プローブ(JB101J, 日本光電)を通じて差動アンプ(AVB-10, 日本光電, band pass filter; 50から1000Hz)に接続してRSNAを増



第1図 実験方法の模式図。15週雄ウイスター・キョート・ラット (WKY) と高血圧自然発症ラット (SHR) を用い、ベントバルビタール麻酔下到大腿動脈に血圧測定用のカテーテルを挿入し、また皮下にテレメトリー送信器を埋め込み瞬時心拍数を得る。次に左後腹膜アプローチにより左腎交感神経束にステンレスワイヤー電極を装着し、さらに同じ左側の腎動脈にもドップラー血流計を装着しシリコンゲルで固定する。



第2図 無麻酔状態で記録したWKYの各パラメータの実記録。上から血圧 (BP), 平均血圧 (Mean BP), 心拍数 (HR), 腎交感神経活動 (RSNA) の原波形, RSNA の積分値 (Int RSNA), 腎血流量 (RBF), 心電図 (ECG) を表す。(佐方克史, 他: 血圧, 7: 663-669, 2000 の第1図を許可を得て転載)

幅し、オシロスコープ (VC-10, 日本光電) で観察した。得られた神経信号は時定数 20 msec で積分化し、これを定量に用いた。また超音波パルスドップラープローブはドップラー血流計 (PDV-20, Crystal Biotech, USA) に接続し、腎血流量を測定した。このようにして得られた血圧、心電図、RSNA の積分値、腎血流量の4つのパラメータを、アナログ-デジタル変換装置 (PowerLab, ADI, Australia) を用いて、2000 Hz で6分30秒間以上同時記録した (第2図)。心拍数はBergerらの方法を用いて心電図のR波から64 Hzのサンプリングで再構成した<sup>20)</sup>。心拍数以外の時系列記録は、それに合わせてスプライン補間し最終的に64 Hzでサンプリングした。

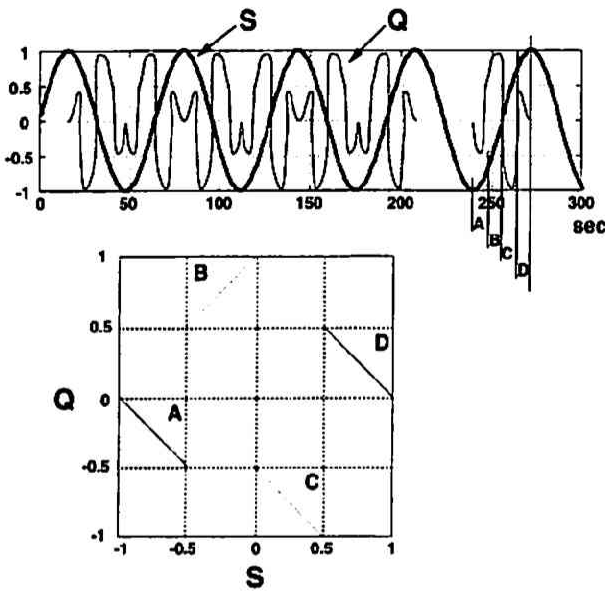
## 2. 伝達関数

得られた4つのパラメータ (血圧、瞬時心拍数、RSNA の積分値、腎血流量) について、スペクトル解析 (高速フーリエ変換) を行った。スペクトル解析は Welch's 法<sup>21)</sup> を用いることにより、4096 点 (64 秒) 毎のデータを9~13回50%オーバーラップさせて計算した。

伝達関数は、ある周波数における2つのパラメータ間の入出力の関係を算出する線形の解析法である<sup>22)</sup>。たとえばRSNAを入力とし、血圧を出力と仮定し、伝達関数からコヒーレンス、ゲイン、フェーズを算出した。コヒーレンスとは関連度関数のことで、入力と出力の間の線形の相関性をみるものであり、入力と出力のクロススペクトルの2乗を、入力のパワースペクトルと出力のパワースペクトルで除して算出した。0.5以上で有意に相関ありと判断され、線形性が高いほど1に近づく。一次回帰でいえば $r^2$ に相当する。ゲインはシステムの出力に対する入力の反映度、利得をあらわし、入力と出力のクロススペクトルを入力のパワースペクトルで除して算出した。一次回帰でいえば直線の傾きに相当する。フェーズは位相関数のことで、出力側と仮定したパラメータの入力側のパラメータに対する時間的遅れを意味し、角度 (radian) で表現される。

## 3. 相互情報量

相互情報量法は1987年Fraserら<sup>16)</sup>により発案されたシステムの線形性を仮定しない解析法<sup>17)</sup>。物理・数学の領域では主要な解析法の一つである。相互情報量は確率論で定義される情報エントロピー (ある事象の結果の意外性を数値化したもの) の一種で、モデルの線形性を仮定せずに2変量間の相関を定量化するものである。



第3図 相互情報量の概念。ある変数SとQという変数が図のような関係にあるとき、従来の線形解析では有意な1本の回帰直線を引くことができず、相関がないということになる。しかし、相互情報量では順次小さな区画、たとえばA、B、C、Dと分けてゆき、そのおのおのの区画の中で相関があるかどうかを決定していく。小さな区画での相関は区画の大きさに応じて重みをもたせて最終的に合算して評価する。相互情報量は0~1の値をとり、0.047以上で有意な相関と判断される。(大坂元久、他：Ther Res19：1845-1851、1998の第2図を許可を得て改変、転載)

ここでは簡単に概念だけ示すが、SとQという変数が第3図のような関係にあるとき、従来の線形解析では有意な一本の回帰直線をひくことができず、線形の相関がないということになる。しかし、相互情報量では順次小さな区画にわけていき、そのおのおのの区画の中で相関があるかを決定していく。小さな区画での相関は区画の大きさに応じて重みを持たせて、最終的に合算して評価する。相互情報量は0から1の値をとり、0.047以上で有意に相関ありと判断される<sup>17)</sup>。第3図の例では完全相関で、相互情報量は1となる。

本研究では、RSNAと血圧の間、RSNAと腎血流量の間の線形および非線形の相関を算出するために、相互情報量を計算した。相互情報量は1組の時系列  $\{x(t)\}$  と  $\{y(t)\}$  につき、 $y(t+T)$  の値が  $x(t)$  にどの程度依存しているのかを計測するものである。Tは遅延時間で、これらのデータ長は2のべき数であった。一般的な一対の系(S, Q)を  $[s, q] = [x(t), y(t+T)]$  で表した。この系の相互情報量  $I(S, Q)$  は、「xがsという値をとる

時、yの値qを、平均してどれくらいの情報量で予測できるのか」ということを定量化している。

$$I(S, Q) = \int P_{sq}(s, q) \log [P_{sq}(s, q) / P_s(s) P_q(q)] ds dq$$

この式でSとQは2つの系を、 $P_s(s)$ と $P_q(q)$ はおのおののsとqの値における確率密度関数を、 $P_{sq}(s, q)$ はsとqの値をとる時の結合確率密度関数を表す。(S, Q)に対して相互情報量が大きければ大きいほど、SとQの相互依存は大である。

本実験では、RSNA、血圧(BP)、腎血流量(RBF)の時系列を  $RSNA(t)$ 、 $BP(t)$ 、 $RBF(t)$  で表す。データ長は2の14乗点とした。64 Hzでサンプリングしたため、これは256(=2<sup>8</sup>/64)秒に相当した。SとQが全く同一ならば、それらの相関は完全であるはずである。その時データ長が2<sup>n</sup>ならば、相互情報量  $I(S, Q) = n$  である。それはこのアルゴリズムが離散データに対して計算する制約による。すなわち2つの同一な時系列の相互情報量はnである。したがって相互情報量はnを正規化し、つまりnによって除し、データ長によらず完全相関が1になるようにした。

相互情報量を用いるもう一つの利点は、これまで閉ループの実験系では解決できなかった2変量間の相関の方向性を決定できること、つまりあるパラメータと別のパラメータのどちらが先に起こっているかがわかることである。血圧の時系列  $Q = BP(t)$  が、RSNAの時系列  $RSNA(t)$  より、 $t_0$ だけの遅延時間(time delay)で出現すると仮定する。最大相互情報量は、 $RSNA(t)$  と、時間  $t_0$ だけ進ませた血圧の時系列データ  $BP(t+t_0)$  との間の相互情報量が最大になると考えられる。そこでTを-5秒から5秒まで0.25秒ずつ移動させながら  $RSNA(t)$  と  $BP(t+T)$  の相互情報量を計算し、最大の相互情報量をとる時の  $T(=T_{max})$  を求めた。その時Tは  $t_0$ に等しい。それゆえ、もし  $t_0 = T_{max}(RSNA, BP)$  が正ならば、RSNAがBPよりも  $t_0$ だけ生理学的に先行していると定義した。

#### 4. 実験プロトコール

実験1：スペクトル解析・伝達関数(線形解析)から分析したWKYとSHRの神経性循環調節(RSNAと血圧、RSNAと腎血流量との相関関係)の相違。

ラットから得られた4つのパラメータ(血圧、瞬時心拍数、RSNAの積分値、腎血流量)について、それぞれスペクトル解析を行い、さらにRSNAと血圧、RSNAと腎血流量との相関関係を調べるため、RSNA(入力)から血圧(出力)、RSNA(入力)から腎血流量(出力)への伝達関数(特にコヒーレンス)を求め、

WKY と SHR とで比較した。

実験 2：SHR に対する L-アルギニン注入による神経性循環調節への影響。

当教室の Jimbo ら<sup>23)</sup>は、L-アルギニンは NO 産生を介して交感神経系を抑制すると報告した。SHR (n = 8) において、RSNA と血圧および腎血流量の相関の線形性が NO によりどのように影響されるか調べるために、NO の基質である L-arginine hydrochloride (50 μmol/kg/分)を 60 分間かけて持続静注し、その前後で RSNA と血圧および腎血流量の伝達関数を計算した。

実験 3：相互情報量（線形および非線形解析）から分析した WKY と SHR の神経性循環調節の相違（RSNA と血圧、RSNA と腎血流量との相関関係）と各パラメータ間の相関の方向性。

0~0.10 Hz において RSNA と血圧、RSNA と腎血流量の相互情報量を計算し、0.047 以上の有意な相関関係が認められるかを計算した。相互情報量は線形および非線形を合せた解析法であるため、実験 1 でのコヒーレンス（線形性）の結果と併せて WKY と SHR の線形性、非線形性を比較した。また RSNA と血圧、RSNA と腎血流量の 2 変量間の相関の方向性を相互情報量の遅延時間から求めた。

## 5. 統計学的解析

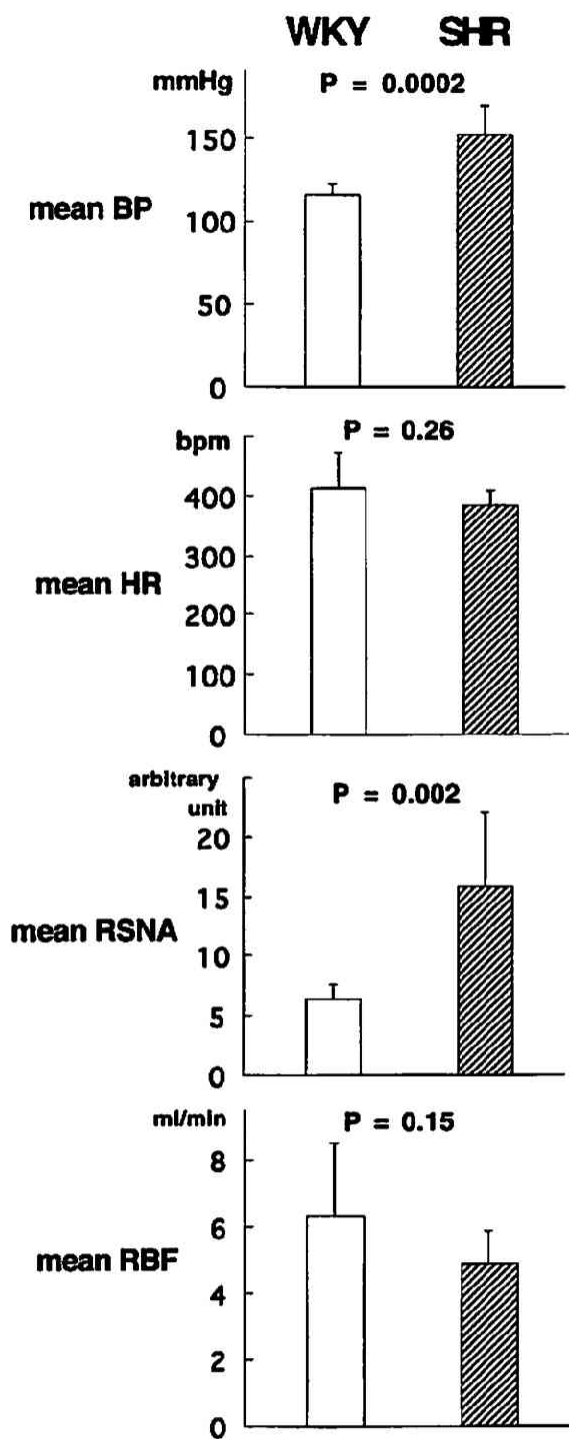
すべての測定値は平均±標準誤差で表した。各群間の有意差検定は Student's t-test を用いた。統計学的有意差は P<0.05 とした。

## 結 果

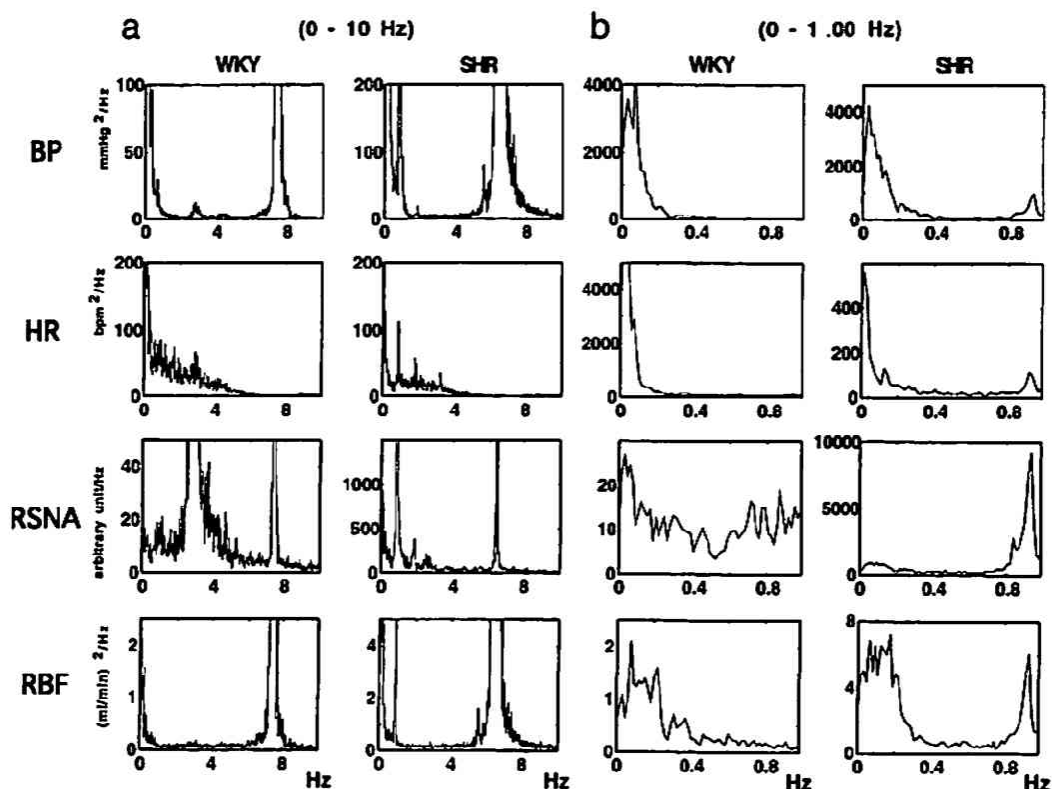
### 1. スペクトル解析・伝達関数による解析

第 4 図に各パラメータの平均値を示す。SHR では高い血圧にもかかわらず、RSNA は WKY より有意に大であった。心拍数と腎血流量は SHR と WKY とで差がなかった。

各パラメータのパワースペクトルを示す(第 5 図)。左側に 0~10 Hz の間の血圧、心拍数、RSNA、腎血流量を示す(第 5 図 a)。6-8Hz の成分は心拍数に一致したピーク、1~2 Hz の間は呼吸成分に一致したピークと考えられる。呼吸成分以下の周波数の RSNA に注目すると、0.05 と 0.80 Hz 付近の低周波成分に WKY、SHR とともに高いパワー値が認められた。そこで 0~1.00 Hz でのパワースペクトルを調べた(第 5 図 b)。RSNA では 0.05 と 0.80 Hz 付近にピークがみられた。たて軸のパワー値は SHR の方が 0.80 Hz 付近において



第 4 図 各パラメータの平均値 (各 n = 7)。SHR (斜線) では平均血圧 (mean BP) が高いにもかかわらず、腎交感神経活動 (mean RSNA) は亢進していた。(佐方克史, 他: 血圧, 7: 663-669, 2000 の第 2 図を許可を得て転載)



第5図 無麻酔で記録した血圧 (BP), 心拍数 (HR), 腎交感神経活動 (RSNA) の積分値, 腎血流量 (RBF) のパワースペクトル. a は 0~10 Hz の周波数帯域の情報. 6~8 Hz の成分は心拍数に一致したピーク, 1~2 Hz は呼吸成分に一致したピークである. b は 0~1.00 Hz の情報. いずれのパラメータにおいても 0.05 Hz と 0.80~0.90 Hz 付近に WKY, SHR ともに高いピークが認められる. (佐方克史, 他: 血圧, 7: 663-669, 2000 の第3図を許可を得て転載)

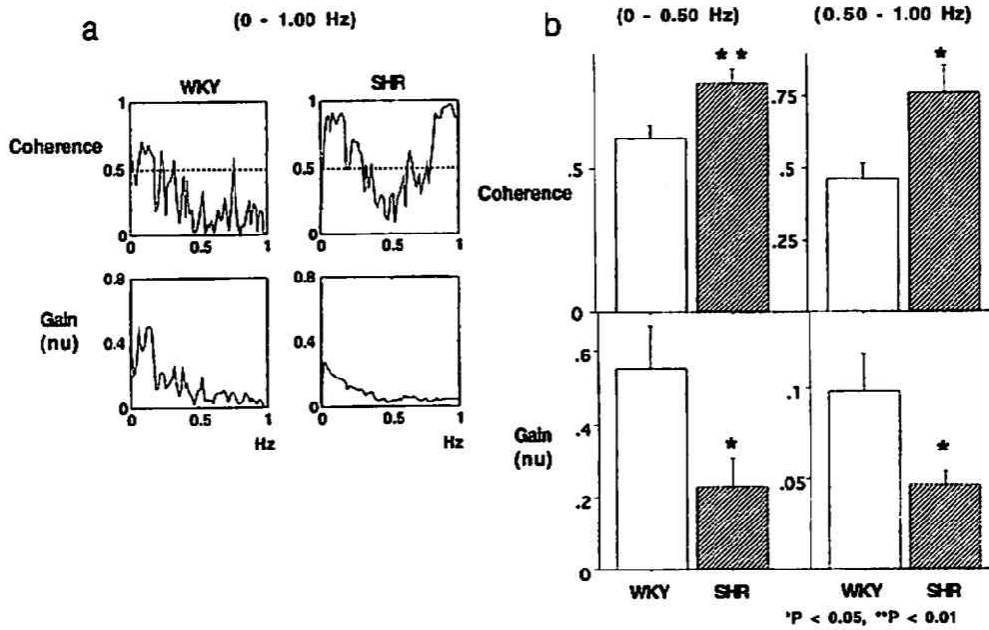
著明に高くなっていた. 血圧や心拍数においても 0.05 と 0.80 Hz 付近に高いパワー値を認めたので, 0~1.00 Hz の範囲で RSNA と血圧, 腎血流量との相互関係を伝達関数を用いて検討した.

まず RSNA と血圧との関係を示す. 第6図 a は RSNA と血圧の伝達関数の一例である. RSNA から血圧への伝達関数のコヒーレンスは, WKY, SHR とも 0.05 と 0.80 Hz において 0.5 以上の有意なピークが認められたが, SHR の方がより広い周波数帯域でコヒーレンスが高かった. 一方, ゲインは両群 0.05 Hz 付近で大きい値を示したが, WKY の方が大きかった. 第6図 b に 7 例ずつの結果をまとめたグラフを示す. 0~1.00 Hz を 0.05 Hz と 0.80 Hz のピークをふくむ 0~0.50, 0.50~1.00 Hz に分けると, RSNA と血圧とのコヒーレンスは 0~0.50, 0.50~1.00 Hz いずれの帯域でも SHR の方が有意に高く, ゲインは WKY で有意に大きかった.

次に RSNA から腎血流量への伝達関数の一例を示す (第7図 a). こちらもコヒーレンスは 0.05 と 0.80 Hz において両群とも 0.5 以上の有意な相関が認められたが, SHR の方がより広い周波数帯域で高かった. ゲインも両群とも 0.05 Hz 付近で大きい値を示したが, WKY の方がより大きかった. 第7図 b に 7 例ずつの結果をまとめたグラフを示す. RSNA と腎血流量の伝達関数でも, コヒーレンスは 0~0.50, 0.50~1.00 Hz において SHR の方が有意に高く, ゲインは WKY で有意に大きかった.

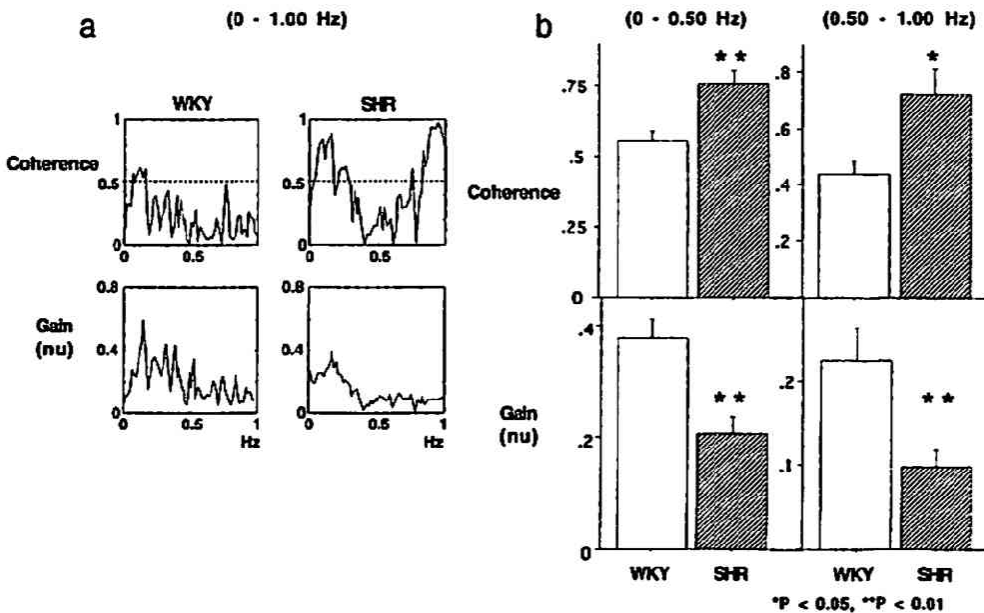
図には示さないが, SHR において血圧から腎血流量への伝達関数のコヒーレンスは高く (0.92 ± 0.06), WKY と差はなかった. RSNA と血圧, RSNA と腎血流量との関係は low-pass filter となっていたが, 血圧と腎血流量との関係は high-pass filter となっており, Wittmann らの報告と一致した<sup>24)</sup>. また血圧と腎血流量との比から計算した腎血管インピーダンス (周波数を考

### RSNA vs BP



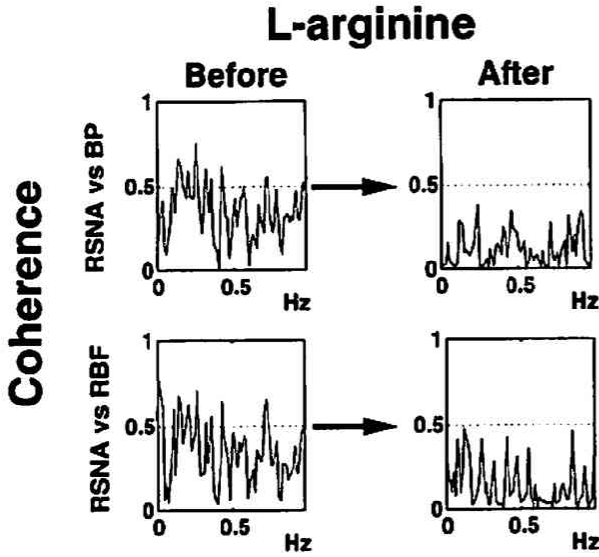
第6図 腎交感神経活動 (RSNA, 入力) から血圧 (BP, 出力) への伝達関数 (aは1例ずつの代表例, bは7例ずつのまとめ)。コヒーレンスはWKY, SHRとも0.05と0.80 Hzでピークがみられ, コヒーレンス値0.5以上の有意な相関が認められたが, SHRの方が有意にコヒーレンスが高く, RSNAと血圧の相関の線形性がより高いことを意味する。ゲインは0.05 Hz付近で大きい値を示し, WKYの方が有意に大きかった。(Sakata K et al : Circulation 106 : 620-625, 2002の第2図を許可を得て転載)

### RSNA vs RBF



第7図 RSNA (入力) から腎血流量 (RBF, 出力) への伝達関数 (aは1例ずつの代表例, bは7例ずつのまとめ)。コヒーレンスはWKY, SHRとも0.05と0.80 Hzでピークがみられたが, SHRの方が有意に高かった。ゲインは0.05 Hz付近で大きい値を示し, 有意にWKYの方が大きかった。(佐方克史, 他: 血圧, 7 : 663-669, 2000の第5図を許可を得て改変, 転載)





第8図 SHRにL-アルギニン (nitric oxideの基質)を60分間持続静注した前後での、伝達関数のコヒーレンスの変化。RSNAと血圧 (BP)、RSNAと腎血流量 (RBF)との相関のコヒーレンスはL-アルギニン静注により有意に低下した。(Sakata K et al: Circulation 106: 620-625, 2002の第3図を許可を得て改変、転載)

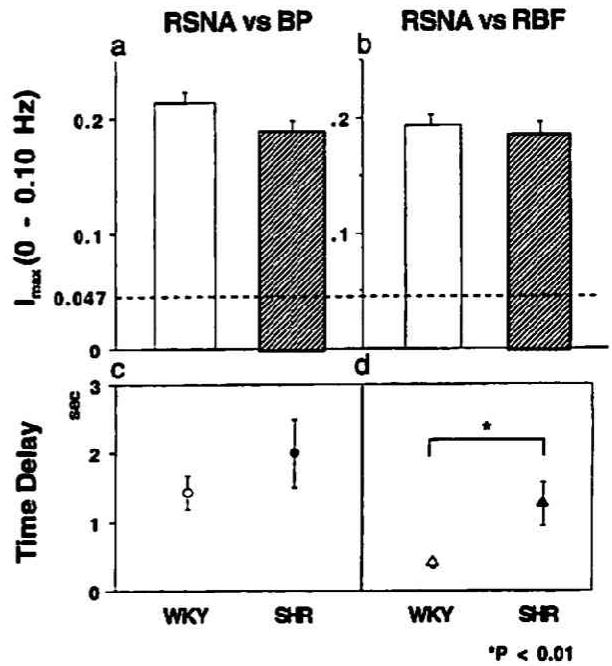
慮に入れた血管抵抗)は、0.50~1.00 HzにおいてSHRでWKYより有意に高かった ( $14.49 \pm 1.60$  vs  $8.76 \pm 1.11$ ;  $P < 0.05$ )。

## 2. SHRに対するL-アルギニン注入

SHRにL-arginineを60分持続静注すると、RSNAは有意に減少し ( $13.6 \pm 2.3$  vs  $11.9 \pm 1.8$  AU;  $P < 0.05$ )、腎血流量は有意に増加した ( $6.2 \pm 0.9$  vs  $6.6 \pm 0.9$  ml/min;  $P < 0.05$ )。血圧と心拍数は変化しなかった。L-arginine投与によりRSNAと血圧および腎血流量との相関のコヒーレンスは有意に低下したが(第8図)、ゲインは変化しなかった。血圧と腎血流量との高いコヒーレンスは、L-arginine投与によっても変化しなかった ( $0.94 \pm 0.04$  vs  $0.88 \pm 0.05$ ;  $P = 0.20$ )。後者の結果は正常血圧の犬における報告と一致した<sup>26)</sup>。これは血圧を変化させないL-arginine量を投与したことで、血圧と腎血流量の波形が基本的に同一であり、コヒーレンスは変化しにくいことによるためと思われる。

## 3. 相互情報量による解析

相互情報量を用いた結果を第9図に示す。0~0.10 HzにおけるRSNAと血圧との間の相互情報量 (a)は、

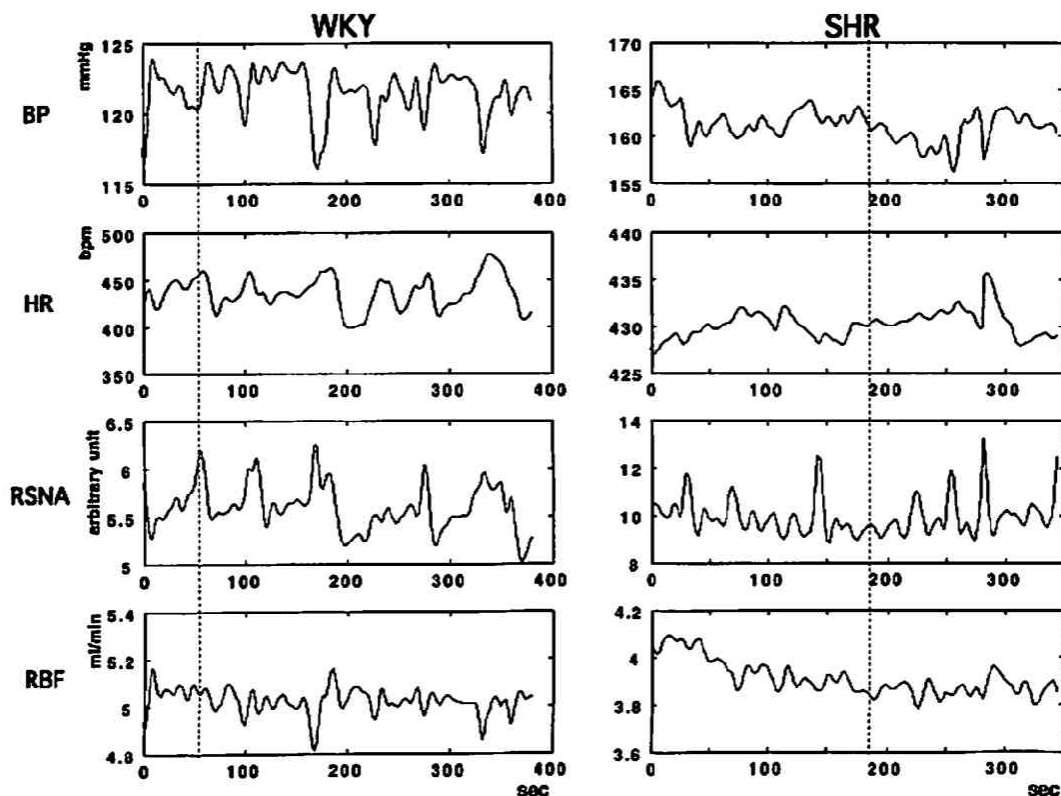


第9図 相互情報量により算出した、0~0.10 HzにおけるRSNAと血圧 (BP)の相関 (a)およびRSNAと腎血流量 (RBF)の相関 (b)。WKYもSHRも最大相互情報量 ( $I_{max}$ )は0.047より大であり、有意な線形および非線形相関が認められた。WKYとSHRでは差がなかった。cとdは、0~0.10 HzにおけるRSNAと血圧との間、腎血流量との間の遅延時間 (Time Delay)。遅延時間の定義からこれらの値が正なので、RSNAは血圧に先行していることがわかり、遅延時間はWKYとSHRでは差がなかった (c)、またRSNAは腎血流量に先行しており、遅延時間はSHRの方がWKYより長かった (d)。(Sakata K et al: Circulation 106: 620-625, 2002の第4図を許可を得て転載)

WKYでもSHRでも0.047より大であり、有意な線形および非線形相関があることが認められた。WKYとSHRで差がなかった。SHRにおいてRSNAと血圧の間の線形性がWKYより高いことから(第6図)、非線形性は低下していることが推察された。同様に、RSNAと腎血流量の相互情報量(第9図b)も0.047より大で有意な相関性が認められ、こちらもWKYとSHRでは差がなかった。

遅延時間 (time delay) のデータから、0~0.10 Hzにおいては、RSNAが血圧よりも2秒ほど先行していた(第9図c)。遅延時間はWKYとSHRで差がなかった。RSNAは腎血流量にも先行しており(第9図d)、その遅延時間はSHRの方が長かった。

第10図のように、同時記録した実波形をhigh cutして0~0.10 Hzでの波形を描くと、RSNAが血圧や腎



第10図 無麻酔で記録した実波形を高カットして0~0.10 Hzの情報を取り出した波形。腎交感神経活動(RSNA)が血圧(BP)や腎血流量(RBF)より先行していることが示され、相互情報量から得られた遅延時間の結果を支持する。(Sakata K et al: Circulation 106: 620-625, 2002の第5図を許可を得て改変、転載)

血流量より先行していることがわかり、相互情報量から得られた遅延時間の結果を支持した。

### 考 察

これまでラットのRSNAをスペクトル解析した研究はいくつかみられるが<sup>(8,26,27)</sup>、その成分が何を意味しているかについてまだ統一した見解はない。本研究で筆者は、スペクトル解析によりラットのRSNAに4つのピークを検出した。末梢交感神経活動には心拍に同期した活動(無麻酔ラットでは6~8 Hzに相当)と、呼吸運動に同期した活動(無麻酔ラットでは1~2 Hzに相当)の2つの周期的活動が存在することが知られている。これまでDiBonaら<sup>1)</sup>が腎神経への直接電気刺激によるレニン分泌、尿細管Na再吸収、腎血流量低下の周波数ごとの感受性の違いを報告しているが、これらの実験は麻酔下で行われいずれも0.50~1.00 Hz以上の高い周波数を外から与えた結果であった。本研究ではそれよりも

遅い周波数のRSNAの機能についての検討をするために、無麻酔でしかも神経に何も刺激を与えない状態で、6分30秒以上記録し解析をおこなった。その結果、1.00 Hz以下の周波数帯域において2つのピークが認められ(0.05 Hz, 0.80 Hz)、かつそれが血圧、腎血流量と強い相関性を有することを伝達関数から示すことができた。それぞれの成分の起源と役割については現在まだ不明であるが、0.05 Hz成分は尿細管-糸球体フィードバックに関わっているという報告があり<sup>20)</sup>、またそのゆっくりとした周波数からレニン分泌に関わっていることも推測される<sup>1)</sup>。0.80 Hz成分は本研究で腎血流量との相関性が高く、かつ腎血管インピーダンスも上昇していることから、心拍変動とは異なるゆっくりとした血管のオシレーションをあらわしているのではないかと推測している。いずれにしてもそれぞれの周波数成分でのゲインも異なることから、別々の機能を司っている可能性があり、それぞれの周波数における機能を明らかにするために、今後さらなる検討を要する。

次に、伝達関数のコヒーレンスから、SHR ではWKYと比べ、RSNAと血圧、RSNAと腎血流量との線形性が有意に高いことが示された。この結果から、SHRでは血圧および腎血流量の調節が交感神経系により大きく、線形に依存していることが示唆された。さらに0~0.10 HzにおけるRSNAと血圧および腎血流量との相互情報量は、WKY、SHRともに0.047より大であり、有意な相関関係が認められた。WKYとSHRの相互情報量は差がなく、SHRでは線形性が高いことから、SHRはWKYと比べ非線形性が低下していることが示唆された。一方、WKYでは線形性が低く非線形性が高い、すなわちさまざまなシステムを用いて循環調節がより柔軟に行われていると考えられた。非線形性が高い方が不整脈や心血管事故が少ないことが臨床データから示されており<sup>13-15,29)</sup>、本研究の結果を支持する。本研究では交感神経系やレニン-アンジオテンシン系の亢進したSHRをモデルとし、RSNAを直接、記録・定量しえたことから、高い線形性、低い非線形性と不良な予後を結びつけている要因のひとつとして交感神経系の亢進が考えられた。

またL-アルギニン投与により、RSNAと血圧および腎血流量のコヒーレンスが低下した結果から、NO系の異常もSHRの循環調節の線形性を高めている一因であると推測された。すなわち、NOは内皮依存性血管拡張作用の他にRSNAを中枢性あるいは末梢性に低下させる作用もあると報告され<sup>29)</sup>、線形性を低下させていると推測される。さらに圧受容器からの求心性迷走神経を除神経した正常血圧のイヌでは非線形性が低下し、交感神経活動が亢進していることから<sup>12)</sup>、圧受容器反射が正常の非線形性、「複雑さ」を構成している一要素であると考えられる。事実SHRでは圧受容器反射は障害されている<sup>30)</sup>。

以上のことより、SHRにおける高い線形性および低い非線形性は、制御システムが一つまたは二つの調節系(交感神経系やレニン-アンジオテンシン系)のみに強く依存している、または正常な調節系(NOや圧受容器反射)が障害されていることによると推察された。

伝達関数のゲインに関しては、SHRではWKYに比べ有意に小さかった。この機序としては、SHRでは高血圧にもかかわらずRSNAが亢進しているが、それによる腎血管の過剰収縮が起らないよう、腎交感神経から腎血管への伝達が鈍くなっているためであると推測される<sup>30)</sup>。SHRの腎血流量がWKYと同等という結果は、この推測を支持する。ゲインがSHRで小さくなっているその他の理由としては、SHRでの①血管内皮の障害

(NO系の低下)、②血管平滑筋細胞のカルシウム・チャンネルの開口確率の低下、③受容体の異常や脱感作、細胞内情報伝達機構の障害などが挙げられる。

相互情報量を用いるもう一つの利点として、これまで閉ループでは解決できなかった2変量間の相関の方向性を決定できることが挙げられる。心血管系のコントロールは血圧、心拍数、交感神経活動などのパラメータからなる閉ループを形成しており、かつ各パラメータが他に与える影響が複雑なため、これまで各パラメータ間の相互関係・方向性を正確に評価することはきわめて困難であった。本研究では相互情報量の遅延時間のデータから、0~0.10 Hzにおいては、RSNAは腎血流量に先行しており、その遅延時間はSHRの方が長かった。RSNAから腎血流量までの遅延時間が長いという結果と、SHRのRSNAと腎血流量の伝達関数のゲインが小さいという結果は、RSNAから腎血流量への情報伝達に障害がみられる現象として一致した結果であると考えている。WKYにおいてRSNAは腎血流量に480 ms先行していたという結果は、腎交感神経を外因性に刺激してから670 ms後に腎血流量が低下したというGuildらの報告ともほぼ一致する<sup>31)</sup>。Somlyoらの神経伝達物質の伝達時間の成績とも矛盾しない<sup>32)</sup>。

また0~0.10 Hzにおいては、RSNAが血圧よりも先行していることが示された。遅延時間はWKYとSHRで差がなかった。もし血圧が先行しているならば圧受容器反射を介してRSNAが減少するはずなので、今回の結果のようにRSNA上昇が血圧上昇より先行しているという結果は、0~0.10 Hzの周波数帯域に圧受容器反射に従わないシステムが存在していることを示唆する。これまで交感神経活動は、圧受容器反射を介して血圧の変動に瞬時に対応していると考えられてきた。しかし遅延時間の結果から、圧受容器反射には支配されない0.10 Hz未満のゆっくりしたRSNAのオシレーションがあり、血圧、腎血流量の変動との相関性も高く、しかもそれらに先行していることがわかった。第10図の0.10 Hz未満の原波形も、RSNAが血圧、腎血流量より先行していることを示しており、遅延時間のデータと一致する。Taylorら<sup>33)</sup>も正常血圧のヒトにおいて、血圧と心拍数の低周波帯域には、圧受容器反射とは独立した系があることを最近報告した。以上のことより、0.10 Hz未満の血圧、腎血流量の変動は交感神経由来で、しかもその交感神経活動は末梢で発生するのではなく<sup>34)</sup>、中枢神経系(例えばRVLM)で発生している可能性が考えられた。

本研究のこれまでの報告と異なる点は、(1)技術的

に困難であるため行われたことがなかった、ラットでの同側の RSNA と腎血流量を血圧、心拍数とともに無麻酔・安静状態で同時記録した点、(2) 循環調節の解明においてシステムを開ループにする必要がなく、閉ループのまま解析できた点、(3) RSNA の広範囲の周波数帯域を観察するために 2000 Hz でサンプリングし、かつ 6 分 30 秒以上安定した記録をおこなうことで 64 秒毎のフーリエ変換を 11 回行うことが可能となり (Welch's 法)、信頼性の高い周波数解析ができた点、(4) 相互情報量により非線形系を含めた解析が可能となり、閉ループのままでもパラメータ間の方向性を明らかにできた点などがあげられる。

臨床的に交感神経活動が亢進するとレニン-アンジオテンシン系の亢進、動脈硬化の進展、血管肥厚、冠血管のスパズムなどを介して心血管系イベントのリスクをふやすことがよく知られている<sup>33)</sup>。本研究においても交感神経活動の亢進が、高い線形性/低い非線形性と不良な予後を結びつける因子であることが示唆された。それゆえ交感神経活動を亢進させず、かつ神経性循環調節の線形性を低下させ非線形性を亢進させる降圧薬は、今後高血圧患者の予後を改善できる可能性があることを示唆する。さらに心不全モデルや糖尿病性腎症モデルなどにおける循環調節の異常、またそれらに対する薬剤の効果を検討することで、各病態の患者の予後をより改善する薬剤を探索することにつながると期待される。

## 総括

正常血圧ラット (WKY) および高血圧自然発症ラット (SHR) において、無麻酔状態で記録した腎交感神経活動 (RSNA) と血圧、および RSNA と腎血流量の相関関係を伝達関数、および相互情報量を用いて検討し、以下の結果を得た。

1. SHR では高い血圧にもかかわらず、RSNA は WKY より有意に大きく、腎血流量は差がなかった。
2. スペクトル解析により RSNA のピークは、WKY、SHR とともに 0.05、0.80、1~2、6~8 Hz でみられ、パワー値は、0.80 Hz において WKY に比べ SHR で著明に大きかった。
3. RSNA の 1.00 Hz 以下の低周波成分 (特に 0.05 Hz と 0.80 Hz) が血圧および腎血流量の変動と高い相関性 (コヒーレンス、線形性) を示した。
4. SHR では WKY と比べ、RSNA と血圧および腎血流量との相関のコヒーレンス (線形性) が高く、逆にゲインは小さかった。

5. SHR では、L-arginine 投与により RSNA は有意に抑制され、RSNA と血圧および腎血流量とのコヒーレンスも有意に低くなった。

6. 線形解析の伝達関数と非線形解析の相互情報量を組み合わせることにより、SHR の RSNA と血圧および腎血流量の相関の線形性は WKY と比較して亢進し、非線形性は低下していることを示した。

7. 0.10 Hz 未満においては、RSNA が血圧および腎血流量に先行するという圧受容器反射にとらわれない制御系を見出した。

以上の結果から、RSNA の低周波成分 (特に 0.05 Hz と 0.80 Hz) が血圧および腎血流量の変動の調節に重要で、SHR では血圧および腎血流量が交感神経系により大きく線形に依存しており、一方 WKY は非線形性が高い、つまりより多くのシステムが作動して柔軟な調節を行っていることが示唆された。また 0.10 Hz 未満においては、RSNA が血圧および腎血流量に先行しており、低周波領域における循環制御のリズムには中枢神経系由来の交感神経活動が関与していることが推測された。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部内科学教室 山田享男教授に深甚なる謝意を表します。また、直接御指導、御校閲いただきました慶應義塾大学医学部内科学教室 熊谷裕生講師ならびに日本医科大学老人病研究所生命情報解析科 大坂元久講師に深謝いたします。さらに、本研究に御協力いただきました内科学教室 腎臓研究室の諸先生方に感謝いたします。

本研究の要旨の一部は、第 22 回日本高血圧学会総会 (高松、1999 年)、第 43 回日本腎臓学会総会 (名古屋、2000 年)、18th Annual Meeting of International Society of Hypertension (Chicago、2000)、54th Annual Fall Conference and Scientific Sessions of Council for High Blood Pressure Research of American Heart Association (Washington D.C.、2000) において発表した。

## 文 献

- 1) DiBona GF, Kopp UC : Neural control of renal function. *Physiol Rev* 77 : 75-197, 1997
- 2) Esler M, Jennings G, Korner P, Willett I, Dudley F, Hasking G, Anderson W, Lambert G : Assessment of human sympathetic nervous system activity from measurements of norepinephrine turnover. *Hypertension* 11 : 3-20, 1988
- 3) Kumagai H, Averill DB, Ferrario CM : Renal nerve activity in rats with spontaneous hypertension : effect of converting enzyme inhibitor. *Am J Physiol*

- 263 : R109-115, 1992
- 4) Chalmers J, Pilowsky P : Brainstem and bulbospinal neurotransmitter systems in the control of blood pressure. *J Hypertens* 9 : 675-694, 1991
  - 5) Ferrario CM, Averill DB : Do primary dysfunctions in neural control of arterial pressure contribute to hypertension? *Hypertension* 18(Suppl.1) : I-38-I-51, 1991
  - 6) 熊田 衛, 照井直人, 桑木共之, 曹 偉華 : Ventrolateral Medulla と循環系の神経性調節. *Ther Res* 14 : 963-997, 1993
  - 7) Janssen BJA, Malpas SC, Burke SL, Head GA : Frequency-dependent modulation of renal blood flow by renal nerve activity in conscious rabbits. *Am J Physiol* 273 : R597-608, 1997
  - 8) Brown DR, Brown LV, Patwardhan A, Randall DC : Sympathetic activity and blood pressure are tightly coupled with at 0.4 Hz in conscious rats. *Am J Physiol* 267 : R1378-1384, 1994
  - 9) Cooke JP, Dzau VJ : Nitric oxide synthase : Role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med* 48 : 489-509, 1997
  - 10) Babloyantz A, Destexhe A : Is the normal heart a periodic oscillator? *Biol Cybern* 58 : 203-211, 1988
  - 11) Kobayashi M, Musha T : 1/f Fluctuation of heart-beat period. *IEEE Trans Biomed Eng* 29 : 456-457, 1982
  - 12) Wagner CD, Mrowka R, Nafz B, Persson PB : Complexity and "chaos" in blood pressure after baroreceptor denervation of conscious dogs. *Am J Physiol* 269 : H1760-1766, 1995
  - 13) Goldberger AL : Non-linear dynamics for clinicians : chaos theory, fractals, and complexity at the bedside. *Lancet* 347 : 1312-1314, 1996
  - 14) Huikuri HV, Makikallio TH, Peng CK, Goldberger AL, Hintze U, Moller M : Fractal correlation properties of R-R interval dynamics and mortality in patients with depressed left ventricular function after an acute myocardial infarction. *Circulation* 101 : 47-53, 2000
  - 15) Skinner JE, Pratt CM, Vybiral T : A reduction in the correlation dimension of heartbeat intervals precedes imminent ventricular fibrillation in human subjects. *Am Heart J* 125 : 731-743, 1993
  - 16) Fraser AM, Swinney HL : Independent coordinates for strange attractors from mutual information. *Physiol Rev* A33 : 1134-1140, 1986
  - 17) Osaka M, Yambe T, Saito H, Yoshizawa M, Ito T, Nitta S, Kishida H, Hayakawa H : Mutual information discloses relationship between hemodynamic variables in artificial heart-implanted dogs. *Am J Physiol* 275 : H1419-1433, 1999
  - 18) Sakata K, Kumagai H, Osaka M, Onami T, Matsuura T, Imai M, Saruta T : Potentiated sympathetic nervous and renin-angiotensin systems reduce nonlinear correlation between sympathetic activity and blood pressure in conscious spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 106 : 620-625, 2002
  - 19) Haywood JR, Shaffer RA, Fastenow C, Fink GD, Brody MJ : Regional blood flow measurement with pulsed Doppler flowmeter in conscious rat. *Am J Physiol* 241 : H273-278, 1981
  - 20) Berger RD, Akselrod S, Gordon D, Cohen RJ : An efficient algorithm for spectral analysis of heart rate variability. *IEEE Trans Biomed Eng* 33 : 900-904, 1986
  - 21) Bendat JS, Piersol AG : *Random Data : Analysis and Measurement Procedures*, 2nd ED, Wiley, New York, 1986
  - 22) 砂川賢二, 杉町 勝 : 制御理論に基づく血圧制御系の解析. *循環制御*, 15 : 75-82, 1994
  - 23) Jimbo M, Suzuki H, Ichikawa M, Kumagai K, Nishizawa M, Saruta T : Role of nitric oxide in regulation of baroreceptor reflex. *J Auton Nerv Syst* 50, 209-219, 1994
  - 24) Wittmann U, Nafz B, Ehmke H, Kirchheim HR, Persson PB : Frequency domain of renal autoregulation in the conscious dog. *Am J Physiol* 269 : F317-322, 1995
  - 25) Just A, Ehmke H, Wittmann U, Kirchheim HR : Tonic and phasic influences of nitric oxide on renal blood flow autoregulation in conscious dogs. *Am J Physiol* 276 : F442-449, 1999
  - 26) Persson PB, Stauss H, Chung O, Wittmann U, Unger T : Spectrum analysis of sympathetic nerve activity and blood pressure in conscious rats. *Am J Physiol* 263 : R1348-1355, 1992
  - 27) Kenney MJ : Frequency characteristics of sympathetic nerve discharge in anesthetized rats. *Am J Physiol* 267 : R830-840, 1994
  - 28) Holstein-Rathlou NH, Wagner AJ, Marsh DJ : Tubuloglomerular feedback dynamics and renal blood flow autoregulation in rats. *Am J Physiol* 260 : F53-68, 1991
  - 29) 大坂元久 : 循環器系のゆらぎ解析の意義. *Ther Res* 21 : 1736-1738, 2000
  - 30) 佐方克史, 熊谷裕生, 大坂元久, 松浦友一, 大島直紀, 早川弘一, 猿田享男 : スペクトル解析により分析した腎交感神経活動と血圧および腎血流量との相関は, 正常血圧と高血圧ラットとで異なる. *血圧*, 7 : 663-669, 2000
  - 31) Guild SJ, Austin PC, Navakatikyan M, Ringwood JV, Malpas SC : Dynamic relationship between sympathetic nerve activity and renal blood flow : a frequency domain approach. *Am J Physiol* 281 : R206-212, 2001
  - 32) Somlyo AP, Somlyo AV : Flash photolysis studies of excitation contraction coupling, regulation, and contraction in smooth muscle. *Annu Rev Physiol* 52 : 857-874, 1990
  - 33) Taylor JA, Eckberg DL : Fundamental relations between short-term RR interval and arterial pressure oscillations in humans. *Circulation* 93 : 1527-1532,

1996

- 34) Koh J, Brown TE, Beightol LA, Ha CY, Eckberg DL :  
Human autonomic rhythm : vagal cardiac mechanism in tetraplegic subjects. *J Physiol* 474 : 483-495,

1994

- 35) Julius S : Sympathetic hyperactivity and coronary risk in hypertension. *Hypertension* 21 : 886-893, 1993
-