

慢性腎不全患者における L-arginine 負荷後の尿中 Na 排泄と血圧変動

荒井純子 窪田研二 原陽子 土谷健
成瀬清子* 成瀬光栄* 二瓶宏 杉野信博**

Natriuresis and blood pressure in patients with chronic renal failure following L-arginine infusion

Junko ARAI, Kenji KUBOTA, Yoko HARA, Ken TSUCHIYA, Kiyoko NARUSE*,
Mitsuhide NARUSE*, Hiroshi NIHEI, and Nobuhiro SUGINO**

Fourth Department of Internal Medicine, *Second Department of Internal Medicine,
Tokyo Women's Medical College, Tokyo, and **Kidney Foundation, Japan

Nitric oxide(NO) is known to be generated from L-arginine and may regulate glomerular filtration, tubular sodium reabsorption, and renin secretion. Impairment of renal function might influence NO production secondary to endothelial dysfunction, decreased NO synthesis and increased activity of arginine analogues inhibiting NO synthase. In this study, we evaluated the effect of L-arginine on the blood pressure and urinary sodium excretion in patients with chronic renal failure. A 300-mL dose of 10% L-arginine solution was administered intravenously over 30 min and blood pressure was monitored every 10 min under basal conditions and for 120 min after infusion. The patients were divided into two groups based on the reduction in mean blood pressure (dMBP) following infusion, namely non-responders (dMBP < 10 mmHg) and responders (dMBP > 10 mmHg). Urine and blood samples were collected to determine electrolytes, urinary NO₂+NO₃ by the Griess method, urinary cGMP, plasma renin activity (PRA), and the plasma aldosterone concentration (PAC). L-arginine significantly decreased MBP in 8 patients and caused no significant change in 10 patients. Urinary sodium excretion and the NO₂+NO₃ level were significantly increased following L-arginine infusion and the increment of fractional excretion of sodium was higher in responders. However, there were no significant changes in PRA, PAC, and cGMP.

Our findings suggest that a vasodilator effect of NO induced by L-arginine loading may, at least in part, be associated with increased renal sodium excretion in patients with chronic renal failure.

Jpn J Nephrol 2000 ; 42 : 11-15.

Key words : L-arginine, nitric oxide, chronic renal failure, hypertension, natriuresis

緒 言

慢性腎不全に伴う高血圧には体液量や様々な血管作動因子が関与しているが、血管拡張因子である nitric oxide(以下, NO)の作用については十分解明されていない¹⁻³⁾。内皮由来弛緩因子(endothelial derived-relaxing factor :

EDRF)は, acetylcholine による動脈平滑筋の弛緩に際して内皮細胞が必要であることから, 1980年 Furchgottら⁴⁾によって発見された。その後, 本体が NO であることや L-arginine を基質として産生されることが明らかとなり⁵⁻⁸⁾, 臨床的にも本態性高血圧患者では EDRF の産生が減弱していること⁹⁾が報告されている。

腎において NO 合成酵素 (NO synthase : NOS) のうち cNOS は血管内皮, macula densa, 髄質集合管に局在しており, NO 合成促進は血管拡張や Na 利尿を促進する。一方, iNOS はほとんどすべての尿細管 segment に局在しており, interleukine-1 や tumor necrosis factor などにより産生され, 腎にはむしろ障害的に作用する¹⁰⁻¹²⁾。われわれは保存期慢性腎不全患者を対象として, L-arginine 負荷試験に対する血圧変動と尿中 Na 排泄状態を観察し, 腎不全高血圧における NO と Na 動態の関与について臨床的な検討を行った。

対象および方法

対象は 1993 年 7 月から 1997 年 2 月までに当科に入院または通院中の保存期慢性腎不全患者 18 例で creatinine clearance (以下, Ccr) は 5~50 ml/min, 尿蛋白排泄量は 17 例が 1 日 1~2 g, 1 例が 0.8 g であり, 浮腫や利尿薬の投与は受けていない症例とした。糖尿病, 膠原病, 腎硬化症や多発性嚢胞腎などによる二次性腎疾患は除外し, 臨床経過から慢性糸球体腎炎が原疾患と考えられる慢性腎不全を対象とした。検査に際しては全例ともに患者からの informed consent を得た。

L-arginine 負荷試験 (Fig. 1) は早朝空腹時に約 400 ml の飲水に続いて 30 分後に完全排尿を行い, 以後は安静臥床として 30 分間隔で 2 回の採尿を行った。その後, 10% L-arginine (Morishita Pharmaceutical) 300 ml を 30 分間で経静脈注入した後, 再び 30 分間隔で 2 回の採尿を行い尿中生化学, 尿中 NO₂+NO₃ (以下, NOx), cyclic GMP (cGMP) の測定を行った。血圧は L-arginine 注入開始後 10 分間隔で 120 分後まで測定を行い, 負荷前 3 回の測定値の平均を前値として平均血圧 (mean blood pressure :

Table 1. Baseline characteristics of patients with chronic renal failure

	non-responder	responder
Number	10	8
Age (years)	41 ± 3	51 ± 3*
Sex (M/F)	9/1	6/2
Ccr (ml/min)	25.0 ± 8.4	19.3 ± 7.2
Up (g/day)	2.0 ± 0.5	2.1 ± 0.4
SBP mmHg	139 ± 16	152 ± 13
DBP mmHg	90 ± 4	91 ± 3
MBP mmHg	107 ± 4	112 ± 4

Values are means ± SE.

Ccr : creatinine clearance, Up : urinary protein excretion

* p < 0.05 compared with non-responder

MBP) の変動値および変化率を比較した。L-arginine 負荷後の MBP が前値に比べ 10 mmHg 以上低下した症例を血圧降下群 (以下, 降下群), 10 mmHg 以内の変動を示した症例を血圧不変群 (以下, 不変群) として 2 群に分類した (Table 1)。なお, 腎機能の正常な 4 例に, 同様の負荷試験を施行して血圧変動の推移を検討した。また, L-arginine の負荷前後で採血を行い血清生化学, plasma renin activity (PRA), aldosterone (PAC) 濃度を測定した。尿検体は尿量, 尿生化学測定の後一部尿を 1,500 ppm 5 分間の遠心分離を行い, NOx と cGMP 測定用として -80°C で凍結保存した。NOx は sulfanilamide と N-naphtyl-ethylenediamine を使用した Griess 法, cGMP の測定は cGMP assay kit (Yamasa) を用いた RIA, DCC 法により行った。

実験結果は Student's unpaired t-test を用いた統計解析により有意差検定を行った。

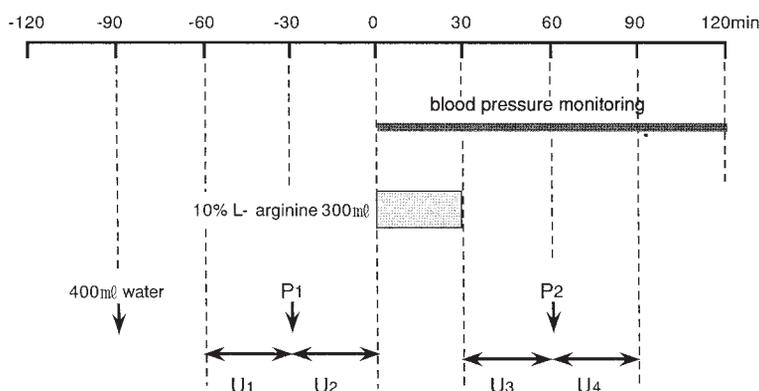


Fig. 1. L-Arginine loading test

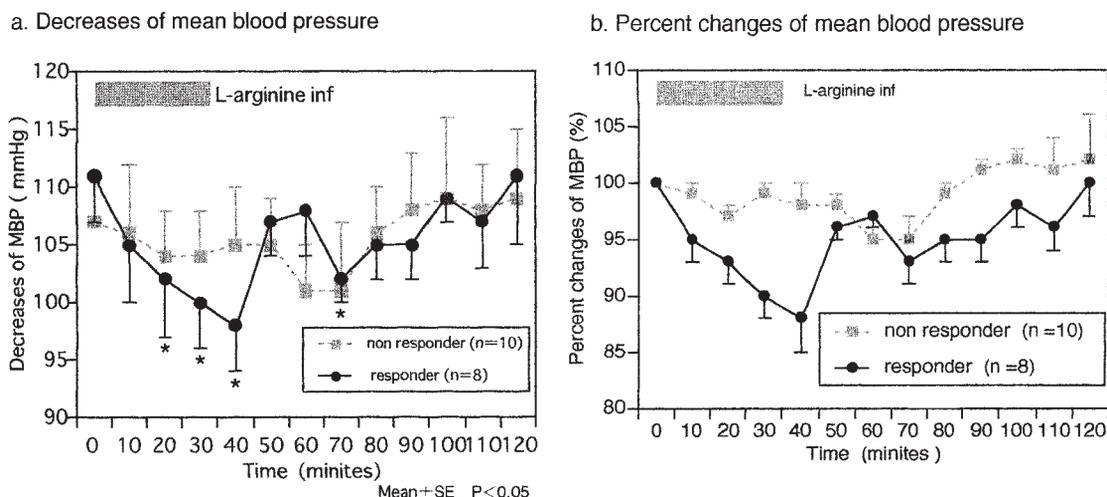


Fig. 2. Percent decreases(a) and percent changes of mean arterial pressure(b) following L-arginine infusion

Mean arterial pressure fell gradually after infusion and was maximal by 30–40 minutes. Asterisks indicate a significant difference ($p < 0.05$) from a base line in each group. All results are presented as Mean \pm SE. $p < 0.05$ compared with basal levels.

Table 2. Urinary parameters following L-arginine infusion in non-responder (n=10) and responder (n=8)

	non-responder		responder	
	pre	post	pre	post
Ccr (ml/min)	25.0 \pm 8.4	27.8 \pm 7.6	19.3 \pm 7.2	20.1 \pm 7.2
V (ml/30 min)	46 \pm 11	96 \pm 14*	76 \pm 13	89 \pm 16
UNa (mEq/l)	46 \pm 12	57 \pm 13	49 \pm 7	77 \pm 7*
UNaV (mEq/30 min)	2.2 \pm 0.7	5.9 \pm 1.9	3.5 \pm 0.6	6.9 \pm 1.3*
FENa (%)	2.1 \pm 0.3	5.6 \pm 1.5	6.1 \pm 2.1	11.2 \pm 2.8
UNO ₂ + NO ₃ (micromol/30 min)	4.7 \pm 2.1	6.7 \pm 2.9	7.3 \pm 0.9	13.2 \pm 1.0**
UGMP (picomol/30 min)	5.9 \pm 2.2	7.2 \pm 3.5	5.1 \pm 3.0	5.0 \pm 2.5

Values are means \pm SE. Ccr : creatinine clearance, UV : urine volume, UNa : urinary sodium concentration, UNaV : urinary sodium excretion, FENa : fractional excretion of sodium, UNa excretion were higher in the responder group.

* $p < 0.01$ compared with pre-infusion, ** $p < 0.05$ compared with pre-infusion

結 果

保存期慢性腎不全患者に L-arginine 経静脈注入を行った結果降下群は 8 例、不変群は 10 例であった。Fig. 2a に MBP の変化, Fig. 2b に MBP の変化率を示した。降下群の MBP の平均は負荷前 112 \pm 4 mmHg から負荷後 40 分で 98 \pm 4 mmHg と最も低下し, 変化率も 40 分後に 14% の有意な低下を示したが, 負荷後 50 分以降はいずれも開始前の MBP に近似した。不変群では負荷前 107 \pm 4 mmHg から負荷後 40 分に 101 \pm 6 mmHg まで低下したが有意な変化ではなかった。また, 正常な腎機能症例での MBP は負

荷前 98.8 \pm 6.1 mmHg から負荷後 30 分で 94.8 \pm 5.8 mmHg まで低下したが, 前値との間に有意差は得られなかった。Table 2 は降下群と不変群の負荷前後の Ccr, 尿量 (V), 尿中 Na (UNa) 濃度, 尿中 Na 排泄量 (UNaV), Na 排泄率 (FENa) および尿中 UNO_x, cGMP を示したものである。Ccr の前値は降下群で 19.3 \pm 7.2 ml/min であり, 不変群の 25.0 \pm 8.4 ml/min に比較して低値の傾向ではあったが両群間に有意差はなく, 負荷前後でも不変であった。UNa, UNaV, UNO_x は負荷後の降下群において有意に増加した。また, FENa は両群ともに負荷後明らかに増加したが, 個々の症例による幅が大きく有意差は得られなかった。

cGMP, PRA, PAC にも前後で有意な変化は認められなかった。

考 案

L-arginine 負荷後の血圧の変動については、すでに健常者¹³⁾や本態性高血圧患者¹⁴⁻¹⁶⁾での検討が行われており、臨床的には血圧の降下が認められるとする報告が多い。しかし、Qui ら^{17,18)}の行ったラットの実験結果では L-arginine 負荷後に腎血管抵抗の低下やナトリウム排泄の増加はみられたものの、臨床例とは異なり血圧の低下は認められていない。われわれは、慢性腎不全患者に従来の方法に準じて L-arginine 負荷試験を実施した結果、同程度の腎不全であっても血圧降下反応をきたす症例と反応の認められない症例のあることが明らかであった。さらに降下群では MBP の低下に伴って尿中 Na および尿中 NOx の増加が認められたことから、NO による尿細管での Na 排泄増加が降圧作用の一部に関与していると考えられた。しかし、不変群でも負荷後の Na 排泄の増加は明らかであることから、体液性因子の変化のみでは説明困難であり、開始前の血圧の違いや血管反応性の差異が降圧機序の重要な因子と考えられる。

NO と Na 排泄については Dahl salt sensitive rat (以下、SS ラット)の高血圧の病態に NO 合成障害¹⁹⁾が指摘されていることや、NO 選択性の微少電極を用いた実験から、腎組織内の NO 濃度と Na 利尿が相関すること²⁰⁾、腎間質障害による NO の産生低下が TGF 機構を抑制²¹⁾し、Na 排泄を低下させることなどが報告されている。外因性の L-arginine 負荷により特に降圧反応が顕著にみられた降下群では、慢性腎不全に伴う高血圧の一部にこれらの病態に類似した L-arginine-NO 機構の異常や Na 排泄障害の存在が示唆される。しかし、われわれは慢性腎不全患者に対する NO 合成阻害薬の併用や D-arginine の負荷は施行していないため、今回の結果から降圧機序としての非 NO 作用の関与を除外することは難しい。なお、われわれは NO の測定を Griess 法により行ったが、必ずしも NO の生物学的活性を反映しないとする意見もある²²⁾。腎へのアミノ酸の影響については以前から、glycine²³⁾、insulin、glucagone や growth hormone を介した腎血管拡張作用や Na 利尿反応などが報告されていることから、L-arginine 負荷により誘導されるアミノ酸の間接的な降圧作用の可能性は否定できない。われわれは、健常者 1 例と慢性腎不全 4 例の少数例において負荷前後および 3 時間後の血漿遊離

アミノ酸濃度の測定を行っており、その結果、負荷後 30 分では arginine、ornitine は 10~30 倍へと著明に増加、lysine、citrulline も 1~2 倍の増加を示したが、血圧低下をきたす可能性のある glycine や histidine は不変であった。また、負荷後の arginine 濃度は 30 分から 3 時間まで高濃度が持続しているにもかかわらず、降圧反応は 40 分を最高値として前値に戻る時間的な推移をみる限りではアミノ酸の直接的な血管拡張作用は少ないと考えられた。しかし、測定した症例数が少ないこと、glucagon や growth hormone などを測定していないことや、NO 合成の基質とはならない D-arginine²⁴⁾についての検討を行っていないことから、負荷の結果誘導される NO 以外の血管拡張作用の関与については今後の課題である。

NO と腎血行動態については^{17,25)}NO 合成酵素の拮抗作用を持つ N-monomethyle-L-arginine(L-NMMA)を用いた研究が広く行われており、NOS 阻害薬により、血圧の上昇、腎血流量や糸球体濾過値の低下、CH₂O の低下、遠位尿細管での Na 再吸収の増加が報告されている。一方、NO 自体による糸球体濾過値への影響については不変とする報告が多いが、十分には確立されていない。われわれの結果では、L-arginine 負荷前後で Ccr に有意な変動は認められなかったが Na 排泄については降圧群で増加、一方、水排泄は不変群で増加を示し、Na と水排泄の間には解離を認めた。尿量の差については Ccr や尿中尿素窒素の排泄量に両群で有意差を認めなかったことから、少なくとも L-arginine 負荷による urea diuresis の関与は否定的であった。したがって、降下群に比して不変群のほうが負荷前の尿量が少ないこと (UV: 76±13 ml/30 min vs 46±11 ml/30min) など、背景にある負荷前の体液量、特に Na、水 balance の差異が影響している可能性がある。

腎不全病態において NO 合成が亢進しているか否かについてはいまだ議論が多い。透析低血圧や尿毒症ラットの出血傾向の改善に NMA の投与が有効であること²⁶⁾などは NO 合成の増加を示唆する所見であり、逆に、L-arginine の経口負荷に伴い腎機能障害の進展阻止や尿蛋白の減少、さらに組織傷害の軽減が見られた腎不全ラットでの結果は NO 合成能の低下を示唆する報告である²⁷⁾。近年、末期腎不全では NO の産生量が低下するとの臨床面からの指摘もある²⁸⁾が、今回の結果から、同程度の腎機能障害であっても L-arginine に対する降圧反応は一樣ではなかった。また、腎不全では NO 合成に拮抗的に働く内因性の ADMA (N^G, N^G-dimethylarginine) や methyleguanidine が血漿中に蓄積することや、ADMA が L-NMMA と同様に

濃度依存性に血圧を上昇させることが報告されている^{29,30}。腎不全高血圧の発症、進展にNOの関与を考える場合、腎不全病態での agmatine の産生量や拮抗物質としての ADMA の動態についても興味をもたれる。

保存期慢性腎不全患者に L-arginine の負荷試験を行い、降下群において有意な Na の排泄増加が認められ尿細管での Na 排泄増加が降圧作用の一部に関与していることが示唆された。しかし、不変群においても Na 排泄増加が明らかであることから、L-arginine 負荷後の降圧反応には NO に対する血管反応性の差異が重要な因子と考えられた。

文 献

- MacAlliter R, Vallance P. Nitric oxide in essential and renal hypertension. *J Am Soc Nephrol* 1994 ; 5 : 1057-165.
- Rees DD, Palmer RMJ, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 85 : 3375-8.
- Huang PL, Huang Z, Mashimo H et al. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature* 1995 ; 377 : 239-42.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial muscle by acetylcholine. *Nature* 1980 ; 288 : 373-6.
- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelial-derived relaxing factor. *Nature* 1987 ; 327 : 524-6.
- Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from arginine. *Nature* 1988 ; 333 : 664-6.
- Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS et al. Endothelial-derived relaxing factor produced and release from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 9265-9.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Physiology, Pathophysiology, Pharmacology. *Pharm Rev* 1991 ; 43 : 109-42.
- Linder L, Kiowski W, Buhler FR et al. In direct evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation *in vivo*. Blunted response in essential hypertension. *Circulation* 1990 ; 81 : 1762-7.
- Kone BC, Baylis C. Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. *Am J Physiol* 1997 ; 272 : F561-78.
- Bachmann S, Mundel P. Nitric oxide in the kidney : synthesis, localization, and function. *Am J Kidney Dis* 1994 ; 24 : 112-29.
- Kone BC. Nitric oxide in renal health and disease. *Am J Kidney Dis* 1997 ; 30 : 311-33.
- Kanno K, Hirata Y, Emori T et al. L-arginine infusion induces hypotension and diuresis/natriuresis with concomitant increased urinary excretion of nitrite/nitrate and cyclic GMP in humans. *Clin Exp Physiol* 1992 ; 19 : 619-25.
- Higashi Y, Oshima T, Ozono R et al. Effect of L-arginine infusion on renal hemodynamics in patients with mild essential hypertension. *Hypertension* 1995 ; 25 : 898-902.
- Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE et al. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990 ; 323 : 22-7.
- Hishikawa K, Nakaki T, Suzuki H et al. : Role of L-arginine-nitric oxide pathway in hypertension. *J Hypertension* 1993 ; 11 : 639-45.
- Qiu C, Muchant D, Beierwaltes WH et al. Evolution of chronic nitric oxide inhibition hypertension—Relationship to renal function. *Hypertension* 1998 ; 31 : 21-6.
- Baylis C, Harton P, Engels K. Endothelial derived relaxing factor controls renal hemodynamics in the normal rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 1990 ; 1 : 875-81.
- Chen PY, Sanders PW. L-arginine abrogates salt-sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *J Clin Invest* 1991 ; 88 : 1559-67.
- Majid DSA, Omoro SA, Chin SY et al. Intrarenal nitric oxide activity and pressure natriuresis in anesthetized dog. *Hypertension* 1998 ; 32 : 266-72.
- Johnson RJ, Schreiner GF. Hypothesis : The role of acquired tubulointerstitial disease in the pathogenesis of salt-dependent hypertension. *Kidney Int* 1997 ; 52 : 1169-79.
- Suzuki H, Ikenaga H, Hishikawa K et al. Increases in NO₂⁻/NO₃⁻ excretion in the urine as an indicator of the release of endothelium-derived relaxing factor during elevation of blood pressure. *Clin Sci* 1992 ; 82 : 631-4.
- Baylis C, Fredericks M, Wilson C et al. Renal vasodilatory response to intravenous glycine in the aging rat kidney. *Am J Kidney Dis* 1990 ; 15 : 244-51.
- Cakver A, Collier J, Vallance P. Dilator actions of arginine in human peripheral vasculature. *Clin Sci* 1991 ; 81 : 695-700.
- Romero JC, Lahera V, Salom MG et al. Role of the endothelium-dependent relaxing factor nitric oxide on renal function. *J Am Soc Nephrol* 1992 ; 2 : 1371-87.
- Noris M, Benigni A, Boccardo P et al. Enhanced nitric oxide synthesis in uremia : Implications for platelet dysfunction and dialysis hypotension. *Kidney Int* 1993 ; 44 : 445-50.
- Reyes AA, Karl I, Klahr S : Role of arginine in health and in renal disease. *Am J Physiol* 1994 ; 267 : F331-46.
- Schmidt RJ, Yokota S, Tracy TS et al. Nitric oxide production is low in end-stage renal disease patients on peritoneal dialysis. *Am J Physiol* 1999 ; 276 : F795-7.
- Blantz RC, Lortie M, Vallon V et al. Activities of nitric oxide in normal physiology and uremia. *Seminars Nephrol* 1996 ; 16 : 144-50.
- Vallance P, Leone A, Calver A et al. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992 ; 339 : 572-5.