

本態性高血圧症患者におけるリンパ球内 Na 濃度 および Ca 濃度の研究

大 島 哲 也

広島大学医学部内科学第一講座 (指導: 梶山梧朗教授)

受付 昭和 62 年 7 月 24 日

本態性高血圧症患者の細胞膜 Na 輸送障害は一般的に認められているが, 細胞レベルでの Ca の異常に関して一致した見解は得られていない。そこで, 本態性高血圧症における細胞内 Ca 濃度の異常の有無および細胞内 Na 濃度との関係, さらに食塩摂取量とのかかわりについてリンパ球を用いて検討を加えた。

研究 1: 本態性高血圧症患者および正常血圧対照者におけるリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度の検討:

本態性高血圧症患者 30 例, 正常血圧対照者 30 例のリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度および血漿レニン活性を 1 日食塩摂取量 8-10 g の常塩食下で測定した。

1) 高血圧群のリンパ球内 Na 濃度は 19.8 ± 1.8 mmol/kg wet weight, Ca 濃度は 134.6 ± 13.2 nmol/liter と, 対照群の 18.4 ± 1.8 mmol/kg wet weight, 120.2 ± 16.4 nmol/liter に比し有意の高値を示した (各々 $p < 0.01$)。

2) リンパ球内 Na 濃度と Ca 濃度との間には, 高血圧群では $r = 0.71$, $p < 0.001$, 対照群では $r = 0.59$, $p < 0.005$ と各々正の相関が認められた。

3) 高血圧群においてリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度は血漿レニン活性と負の相関を示した (各々 $r = -0.66$, $p < 0.001$; $r = -0.60$, $p < 0.001$)。

4) 高血圧群, 対照群のいずれにおいても, 常塩食下での血圧値とリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度との間には有意の相関を認めなかった。

研究 2: 本態性高血圧症患者におけるリンパ球内 Na, Ca 濃度および血圧に与える食塩摂取量変化の影響の検討:

本態性高血圧症患者 20 例に 1 週間の減塩食 (3 g/日) ひき続き 1 週間の増塩食 (20 g/日) を摂取せしめ, 各々血圧, リンパ球内 Na, Ca 濃度を測定した。

1) リンパ球内 Na 濃度と Ca 濃度との間には, 減塩期 ($r = 0.62$, $p < 0.01$), 増塩期 ($r = 0.70$, $p < 0.01$) とともに有意の正相関が認められた。

2) 減塩期から増塩期にかけてのリンパ球内 Na 濃度の変化率と Ca 濃度の変化率の間には密な正相関 ($r = 0.80$, $p < 0.001$) が認められた。

3) 増塩による平均血圧増加率 5%以上の食塩感受性群においてリンパ球内 Na 濃度は 20.8 ± 1.6 から 22.3 ± 1.4 mmol/kg wet weight, Ca 濃度は 134.9 ± 14.5 から 148.7 ± 18.5 nmol/liter へと有意に増加したが (各々 $p < 0.01$), 平均血圧増加率 5%未満の食塩非感受性群では Na 濃度は 19.9 ± 1.0 から 20.0 ± 1.0 mmol/kg wet weight, Ca 濃度は 124.3 ± 12.6 から 122.8 ± 11.2 nmol/liter と有意の変化を示さなかった。

4) 減塩期および増塩期における血圧値とリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度との間には有意の相関は認められなかった。

5) しかし, 減塩期から増塩期にかけての平均血圧の変化率はリンパ球内 Na 濃度の変化率と $r = 0.53$, $p < 0.05$, リンパ球内 Ca 濃度の変化率と $r = 0.52$, $p < 0.05$ と各々有意の正相関を示した。

以上より

- 1) 細胞内 Na 濃度と細胞内 Ca 濃度との間には強い相関があること,
- 2) 本態性高血圧症において, 細胞内 Na 濃度と細胞内 Ca 濃度はいずれも増加しており, 血漿レニン活性が低値であるほど, すなわち体液依存性が強いほど, これらの増加がより著明であること,
- 3) 食塩摂取量増加により細胞内 Na 濃度と Ca 濃度は同様の増加を示し, これらの変化が血圧の上昇と関係することが示された。

Key words : Essential hypertension, Lymphocytes, Intracellular sodium concentration, Intracellular calcium concentration, Volume expansion

本態性高血圧症患者の赤血球^{25, 26)}, リンパ球⁷⁾, 白血球¹³⁾における細胞膜 Na 輸送異常およびこれにひき続く細胞内 Na 濃度の増加については数多くの報告があり, 一般的に認められている。一方, 細胞内 Ca 濃度は多くの細胞機能に関与しており⁸⁾, 血管平滑筋の細胞内 Ca 濃度は末梢血管抵抗を規定する重要な因子であることが知られている。本態性高血圧症患者では末梢血管抵抗が増加しており, 細胞内 Ca 濃度の増加が本症の発症, 維持に関与することが想定されている⁴⁾。しかし, ヒトの血管平滑筋細胞を機能的に損じることなく分離するのは困難なため, 細胞レベルでの Na 動態の研究と同様に血球細胞が用いられ, 本態性高血圧症患者の赤血球^{30, 37)} および血小板^{9, 15)}では, 細胞 Ca 代謝異常および細胞内 Ca 濃度の増加が報告されている。しかし, 白血球やリンパ球では細胞内 Ca 濃度が増加していないとの報告もあり^{3, 5, 24)}, その成績は必ずしも一致していない。

細胞レベルでの Na および Ca 輸送は互いに関与し, 細胞内 Na 濃度と細胞内 Ca 濃度との間には関連があると考えられているが^{4, 16, 35)}, 本態性高血圧症患者のみならず健康人においても同一細胞を用い同時に細胞内 Na 濃度と細胞内 Ca 濃度を測定した報告は極めて少ない。

また, 細胞膜 Na 輸送は生体の Na バランスにより変化することが知られており^{22, 28)}, この変化が食塩摂取量変化時の血圧変化と関連するとの報告も多い^{2, 27)}。しかし, 細胞内 Ca 濃度は血管緊張を規定する重要な因子であるにもかかわらず, 生体の Na バランスとの関係は不明である。

そこで今回, 本態性高血圧症と細胞内 Na 濃度, Ca 濃度との関連を解明する目的で, 細胞集団が比較的均一な有核細胞で分離が容易なリンパ球を用いて本態性高血圧症患者の細胞内 Na 濃度および Ca 濃度を測定し, 両者の関係および正常血圧対照者との差異を検討するとともに, 生体の Na バランスとの関係についても検討を加えた。

対象および方法

研究 1 本態性高血圧症患者および正常血圧対照者におけるリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度の検討:

未治療もしくは降圧剤を4週間以上中止した本態性高血圧症患者30例(男14例, 女16例, 年齢 52.5 ± 10.8 才)と性, 年齢を一致させた正常血圧対照者30例(男16例, 女14例, 年齢 52.5 ± 15.3 才)を対象とした。本態性高血圧症患者は日を変えた3回以上の外来における坐位血圧が 160 mmHg もしくは拡張期 95 mmHg 以上の症例を用いた。正常血圧対照者は, 検査時坐位血圧が $140/90$ mmHg 未満の症例を用いた。全ての対象は, 検査前1週間の食塩摂取量を1日 $8-10$ g とし, 24時間尿中 Na 排泄量の測定により確認した。検査当日の朝絶食とし, 暗室にて血管を確保し30分間の臥位安静後, 血圧測定およびリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度および血漿レニン活性測定用の採血を行った。

研究 2 本態性高血圧症患者におけるリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度および血圧に与える食塩摂取量変化の影響の検討:

入院中の未治療もしくは降圧剤を4週間以上中止した本態性高血圧症患者20例(男13例, 女7例, 年齢 56.8 ± 8.9 才)を対象とした。高血圧の基準には研究1と同じ血圧値を用いた。入院後1週間は1日 10 g の常塩食とし, ひき続き1日 3 g の減塩食, 1日 20 g の増塩食を1週間ずつ摂取せしめた。増塩食は食塩1日 13 g の食事に Slow Sodium 錠(1錠中 NaCl 600 mg を含有)を毎食後4錠ずつ添加した。減塩期および増塩期の最終日の朝絶食とし, 暗室にて血管確保し臥位安静30分後にリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度測定用の採血を行った。血圧は検査期間中同一の医師が1分毎に10回測定し, その平均値を各期の値として用いた。平均血圧は拡張期血圧と脈圧の $\frac{1}{3}$ の和とした。増塩による平均血圧, リンパ球内 Na 濃度および Ca 濃度の変化率は, 減塩期の値に対する増塩期における変化量の百分率として示した。

なお、研究1, 2とも対象の高血圧症患者は、適切な臨牀的、生化学的検査により二次性高血圧症および中等症以上の高血圧性臓器障害を否定しえた症例であった。さらに、全対象者には本研究の目的、性質を十分に説明し、研究への参加の承諾を得た。

リンパ球内 Na 濃度および Ca 濃度の測定法：

ヘパリン採血した 40 ml の静脈血を RPMI-1640 (Gibco Laboratory, Ohio, USA) で 2 倍に希釈し、リンパ球分離液 Lymphoprep (Nyegaard Co., Oslo, Norway) に重層し、室温下に 35 分間、400 g にて遠沈した。分離したリンパ球は RPMI-1640 で 2 度洗浄し、細胞内 Na 濃度および Ca 濃度の測定に供した。

リンパ球内 Na 濃度は Ambrosioni らの方法³¹⁾ に準じて測定した。すなわち、リンパ球を 4°C で等張 MgCl₂ 溶液にて 2 度洗浄後、ヘマトクリット毛細管 (Hematolon, 荏ヶ崎医理工工業, 東京) に注入した。¹²⁵I-ヒト血清アルブミンを用いて測定したリンパ球 pellet 内の細胞外液量は 26% であった。重量測定後リンパ球を濃硝酸に溶解せしめ、蛍光光度計 (日立 775-A, 東京) にて Na 濃度を測定し、細胞内 Na 濃度は mmol/kg wet weight で表示した。同一検体に対する測定値の変動係数は 4.7%, day-to-day の変動係数は 6.7% であった。

リンパ球内 Ca 濃度は Tsien らの方法³⁴⁾ に準じて測定した。すなわち、リンパ球を quin 2 tetraacetoxymethylester (同仁堂, 熊本) 50 μM 下に 40 分間、37°C で incubate し、その後このエステルの細胞内での加水分解のため 60 分間室温放置した。今回用いた濃度の quin 2 の細胞毒性は、同薬剤負荷後のリンパ球

のトリパンブルー色素排出率 95% 以上であることより、無視できると考えた。その後、リンパ球を生理的溶液 (NaCl 145, KCl 5, NaHEPES 10, Na₂HPO₄ 1, MgSO₄ 0.5, glucose 5 (mM), pH 7.4, 37°C) に再浮遊せしめ、蛍光分光光度計 (日立 204 S, 東京) を用い励起波長 339 nm, 発光波長 492 nm で測定した。細胞内 Ca 濃度は以下の計算式より算出した。

$$[Ca^{2+}]_i = 115 \times (F - F_{min}) / (F_{max} - F) \text{ nmol/liter}$$

115 は Ca²⁺-quin 2 複合体の有効解離定数、F は細胞浮遊液の蛍光である。F_{max} は digitonin により細胞内から quin 2 を遊出せしめた後の蛍光、F_{min} は充分量の Tris で pH を 8.5 以上にし、2 mM の EGTA で細胞外 Ca 濃度を 1 nM 以下にした後の蛍光である。同一検体の測定変動係数は 6.8%, day-to-day の変動係数は 7.7% であった。

血漿レニン活性はラジオイムノアッセイ法 (CIS RIA キット: ミドリ十字, 東京) で、血清および尿中 Na, K, Ca 濃度は自動分析装置 (Greiner G-300, Langenthal, Switzerland) で測定した。

統 計

結果は平均±標準偏差 (mean±SD) で表示した。有意差検定は Student の paired t-test および unpaired t-test を用いて行い、p < 0.05 を有意とした。

結 果

研究1：高血圧群および対照群の血清 Na, K, Ca, クレアチニン濃度、血漿レニン活性および 24 時間尿中 Na, K, Ca, クレアチニン排泄量を表 1 に示した。両

Table 1. Clinical Characteristics of Hypertensive Patients and Normotensive Controls

	Normotensive	Hypertensive
Mean Blood Pressure (mmHg)	85.2±10.4	114.1±10.5*
Heart Rate (beats/min)	63.6±8.4	65.4±7.2
Serum Sodium Concentration (mmol/liter)	142.0±3.6	142.9±2.2
Serum Potassium Concentration (mmol/liter)	4.22±0.39	4.29±0.46
Serum Calcium Concentration (mmol/liter)	2.32±0.09	2.32±0.08
Serum Creatinine Concentration (mg/dl)	0.96±0.09	0.97±0.14
Plasma Renin Activity (ng/ml/hr)	2.26±1.28	2.10±1.67
Urine Volume (ml/day)	1238±189	1212±265
Urinary Sodium Excretion (mmol/day)	156.0±10.9	151.4±10.2
Urinary Potassium Excretion (mmol/day)	50.6±8.4	48.8±9.8
Urinary Calcium Excretion (mmol/day)	3.45±0.07	3.20±0.08
Urinary Creatinine Excretion (g/day)	1.12±0.11	1.22±0.13

Values are mean±SD.

* p < 0.05, when compared with values in normotensive controls.

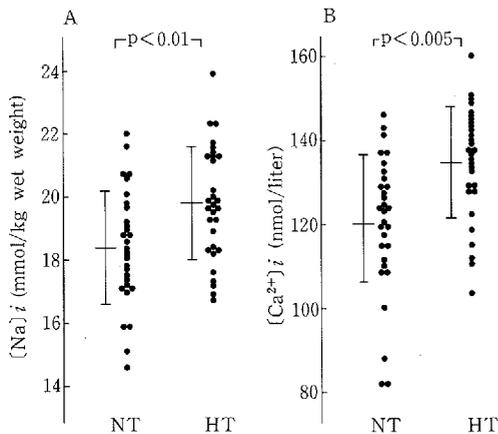


Fig. 1. (A) Intracellular sodium ($[Na^+]_i$) and (B) free calcium concentrations ($[Ca^{2+}]_i$) in lymphocytes of normotensive controls (NT) and patients with essential hypertension (HT).

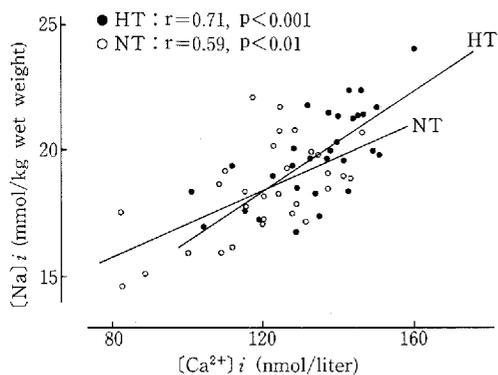


Fig. 2. Correlation between intracellular sodium ($[Na^+]_i$) and free calcium concentrations ($[Ca^{2+}]_i$) in lymphocytes of normotensive controls (NT:○) and patients with essential hypertension (HT:●).

群間で、これらの値に有意差を認めなかった。また、両群ともに尿中 Na, K, Ca 排泄量と血漿レニン活性、リンパ球内 Na, Ca 濃度との間には相関が認められなかった。

リンパ球内 Na 濃度は図 1 A の如く、対照群の 18.4 ± 1.8 mmol/kg wet weight に比し、高血圧群で 19.8 ± 1.8 mmol/kg wet weight と有意の高値を示した ($p < 0.01$)。リンパ球内 Ca 濃度も図 1 B の如く、対照群の 120.2 ± 16.4 nmol/liter に比し高血圧群で 134.6 ± 13.2 nmol/liter と有意の高値を示した ($p < 0.01$)。リンパ球内 Na 濃度と Ca 濃度との間に

は高血圧群においても ($r = 0.71, p < 0.001$)、対照群においても ($r = 0.59, p < 0.005$) 各々有意の正相関が認められた (図 2)。

高血圧群において血漿レニン活性はリンパ球内 Na 濃度および Ca 濃度と有意の負の相関を示した (各々 $r = -0.66, p < 0.001; r = -0.60, p < 0.001$; 図 3)。対照群では血漿レニン活性はリンパ球内 Na 濃度および Ca 濃度と有意の相関を示さなかった。年齢は、対照群ではリンパ球内 Na 濃度および Ca 濃度と正相関を示したが (各々 $r = 0.44, p < 0.05; r = 0.51, p < 0.01$)、高血圧群では有意の相関を示さなかった。また高血圧群、対照群のいずれにおいても、リンパ球内 Na 濃度と Ca 濃度は収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧との間に有意の相関を示さなかった。

研究 2: 減塩期から増塩期にかけて、平均血圧が 5% 以上増加した本態性高血圧症患者 10 例を食塩感受性 (SS) 群、5% 未満の 10 例を食塩非感受性 (NSS) 群とした (図 4)。両群間に性、年齢および常塩期の平均血圧、心拍数、血清 Na, K, Ca, クレアチニン濃度に有意差は認められなかったが、血漿レニン活性は SS 群で 0.83 ± 0.50 ng/ml/hr と NSS 群の 2.06 ± 1.10

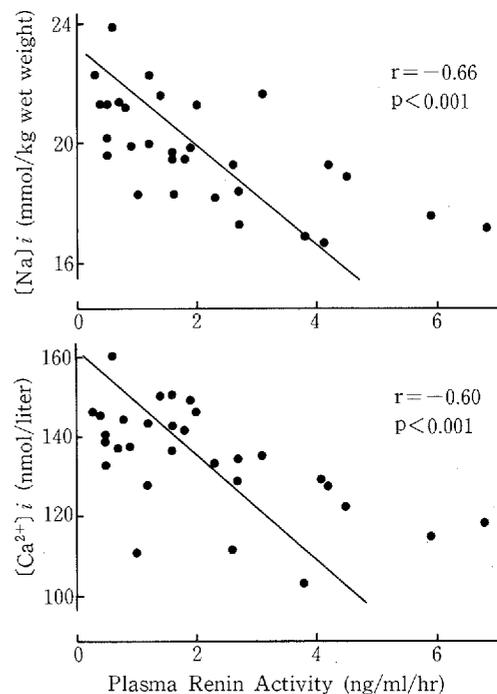


Fig. 3. Correlation of plasma renin activity with intracellular sodium ($[Na^+]_i$) and free calcium concentrations ($[Ca^{2+}]_i$) in lymphocytes of patients with essential hypertension.

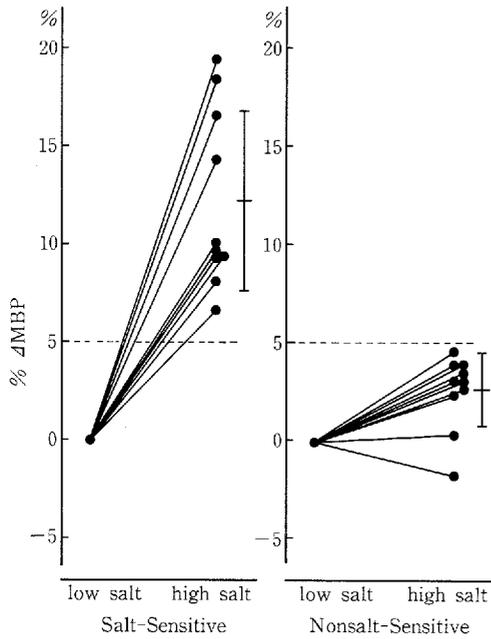


Fig. 4. Percent change in mean blood pressure ($\% \Delta MBP$) in salt-sensitive and nonsalt-sensitive patients with essential hypertension after salt loading.

ng/ml/hr に比し有意の低値を示した ($p < 0.05$; 表 2)。減塩期および増塩期における両群のリンパ球内 Na 濃度を図 5 に, Ca 濃度を図 6 に示す。リンパ球内 Na 濃度は SS 群において減塩期 20.8 ± 1.6 mmol/kg wet weight から増塩期 22.3 ± 1.4 mmol/kg wet weight へと有意に増加したが ($p < 0.01$), NSS 群では減塩期 19.9 ± 1.0 mmol/kg wet weight,

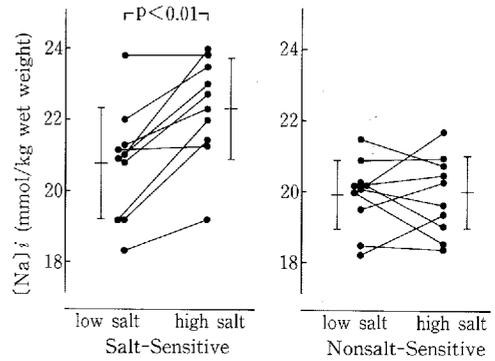


Fig. 5. Intracellular sodium concentration ($[Na]_i$) in lymphocytes of salt-sensitive and nonsalt-sensitive patients under low and high salt diets.

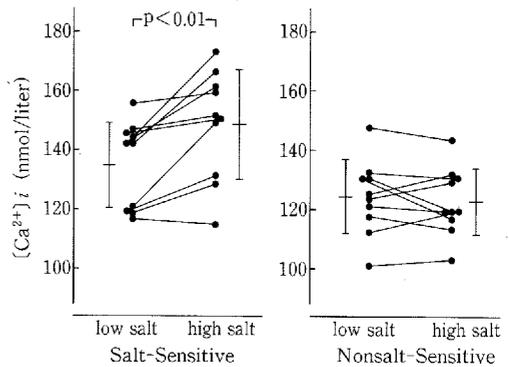


Fig. 6. Intracellular free calcium concentration ($[Ca^{2+}]_i$) in lymphocytes of salt-sensitive and nonsalt-sensitive patients under low and high salt diets.

Table 2. Clinical Characteristics of Salt-Sensitive and Nonsalt-Sensitive Patients during Regular Salt Diet

	Salt-Sensitive	Nonsalt-Sensitive
Number	10	10
Sex (Male/Female)	6/4	7/3
Age (years)	58.3 ± 8.9	55.3 ± 8.9
Mean Blood Pressure (mmHg)	114.1 ± 8.7	115.3 ± 10.6
Heart Rate (beats/min)	64.2 ± 2.7	65.2 ± 9.1
Serum Sodium Concentration (mmol/liter)	142.8 ± 2.9	143.7 ± 2.6
Serum Potassium Concentration (mmol/liter)	4.34 ± 0.69	4.29 ± 0.47
Serum Calcium Concentration (mmol/liter)	2.29 ± 0.09	2.34 ± 0.11
Serum Creatinine Concentration (mg/dl)	1.02 ± 0.16	1.05 ± 0.15
Plasma Renin Activity (ng/ml/hr)	0.83 ± 0.50	$2.06 \pm 1.10^*$

Values are mean \pm SD.

* $p < 0.05$, when compared with values in salt-sensitive patients.

増塩期 20.0 ± 1.0 mmol/kg wet weight と有意の変化を示さなかった。リンパ球内 Ca 濃度も増塩により SS 群では 134.9 ± 14.5 nmol/liter から 148.7 ± 18.5 nmol/liter へと有意に増加したが ($p < 0.01$), NSS 群では 124.3 ± 12.6 nmol/liter から 122.8 ± 11.2 nmol/liter へと有意の変化を示さなかった。SS 群におけるリンパ球内 Na 濃度および Ca 濃度は NSS 群のそれらに比し減塩期では高値の傾向を、増塩期では有意の高値 (各々 $p < 0.005$) を示した。

両群を加えた全体で検討すると、リンパ球内 Na 濃度と Ca 濃度との間には減塩期 ($r = 0.62$, $p < 0.01$), 増塩期 ($r = 0.70$, $p < 0.01$) ともに有意の正相関が認められた (図7)。さらに増塩によるリンパ球内 Na 濃度の変化率と Ca 濃度の変化率の間には, $r = 0.80$, $p < 0.001$ と密な正の相関が認められた (図8)。平均血圧は減塩期, 増塩期ともリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度と有意の相関を示さなかったが, 増塩による平均血圧の変化率は, リンパ球内 Na 濃度の変化率とは $r = 0.53$, $p < 0.05$, リンパ球内 Ca 濃度の変化率とは $r = 0.52$, $p < 0.05$ と各々有意の正相関を示した (図

9)。

考 察

近年, 本態性高血圧症患者の発症, 維持における細胞レベルでの陽イオン輸送異常の関与が想定され注目を集めている。Dahl ら¹⁰⁾, Haddy ら²⁰⁾, deWardener と MacGregor ら¹²⁾ は細胞レベルでの Na 輸送異常と高血圧との関係を Na 輸送仮説により説明している。すなわち, 遺伝的に腎の Na 排泄障害を有する者は, 一定量以上の過剰な食塩摂取により体液貯留をひきおこす。この体液貯留に反応して, 血漿中に Na, K ATPase の抑制因子が増加し, 細胞膜 Na, K ポンプ活性の抑制により細胞内 Na 濃度を増加せしめる。細胞内 Na 濃度が増加すると, Blaustein⁹⁾ の説く Na-Ca 交換系を介し細胞内 Ca 濃度が増加する。動脈平滑筋の細胞内 Ca 濃度が増加すると, Ca-カルモデュリン複合体がミオシン軽鎖キナーゼを活性化し, この活性化酵素によりミオシンがリン酸化され, ミオシンはアクチンに作用し両者の滑り込みを生じ, 重なりが増加し筋は張力を発生, 収縮する²¹⁾。この結果, 末梢血管抵抗が増大する。

血圧の調節には多くの因子が複雑に関与している。血管の構造や血管作動物質に対する反応性, 血管作動物質の分泌, 体液量, 心拍出量などであり, これらは互いに影響しあい, 血圧そのものにも影響される。これらの因子の高血圧に対する関与は個々の本態性高血圧症患者個人により異なる。すなわち, 本態性高血圧症の病因は単一でないため, 多くの研究者は本症をい

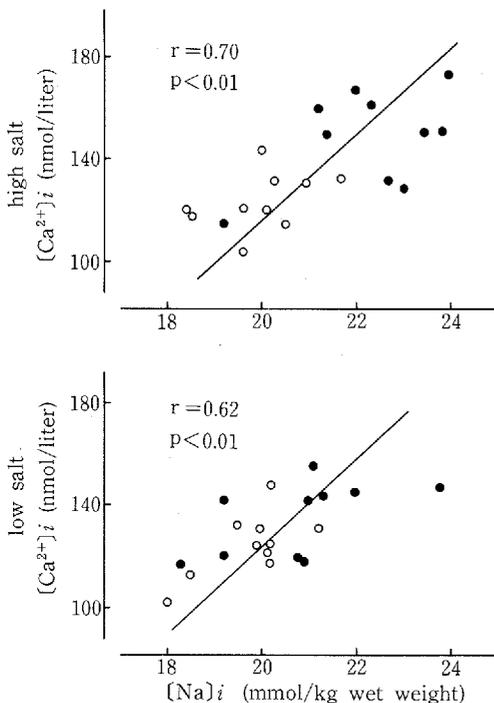


Fig. 7. Correlation between intracellular sodium ($[Na^+]_i$) and free calcium concentrations ($[Ca^{2+}]_i$) in salt-sensitive (●) and nonsalt-sensitive patients (○) under low and high salt diets.

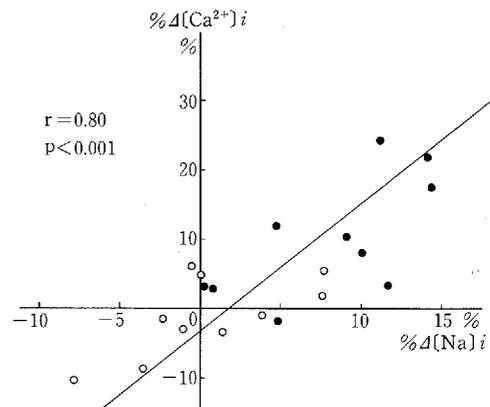


Fig. 8. Correlation between percent change in intracellular sodium concentration ($\% \Delta [Na^+]_i$) and that in intracellular free calcium concentration ($\% \Delta [Ca^{2+}]_i$) in salt-sensitive (●) and nonsalt-sensitive patients (○) after salt loading.

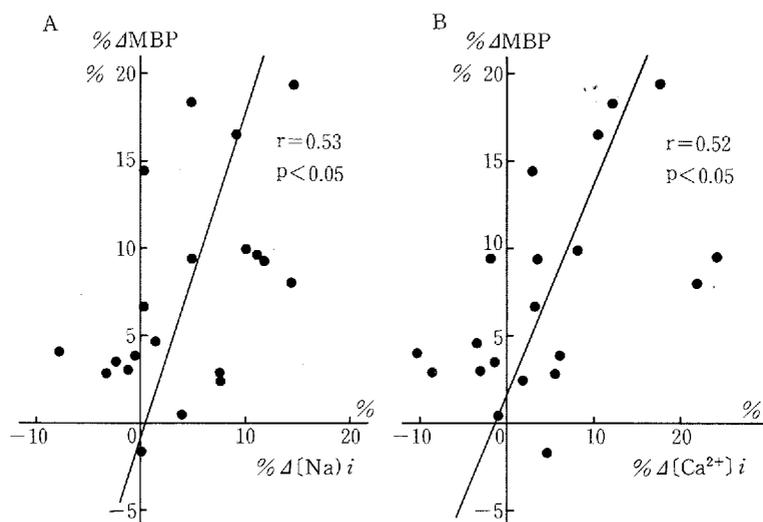


Fig. 9. Correlation of percent change in mean blood pressure (%ΔMBP) with (A) percent change in intracellular sodium (%Δ[Na]_i) and (B) free calcium concentrations (%Δ[Ca²⁺]_i) in patients with essential hypertension after salt loading.

くつかの疾患概念により分類している。特に、レニン-アンジオテンシン系への依存性により本態性高血圧症を低レニン群、正レニン群、高レニン群に分類することが Laragh ら²³⁾ により提唱され、その臨床的、研究的有用性は広く認められている⁶⁾。血漿レニン活性は、体液量の指標の一つと考えられており、低レニン性高血圧症は体液依存性高血圧とみなされている²⁰⁾。すなわち、低レニン群では、正、高レニン群に比し細胞外液量や体内総 Na 量が増加していることが示されており²³⁾、臨床的にも低レニン群では利尿剤の降圧効果が他群に比しより大きいことが認められている³⁶⁾。前述の Na 輸送仮説によると、体液貯留が想定されるこの群においては血漿 Na, K ATPase 抑制因子の増加により細胞レベルでの Na 輸送障害が大きいと考えられる。事実、Edmondson ら¹⁴⁾ は血漿レニン活性が低値であるほど、白血球膜 Na, K ポンプが抑制されていると報告している。今回の研究でも血漿レニン活性とリンパ球内 Na 濃度との間に負の相関を認め、血漿レニン活性が低いほど、すなわち体液依存性が強いほど細胞内 Na 濃度が増加していることを示し、Na 輸送仮説と矛盾しない。

また、各種の降圧剤に対する血圧反応性の各群間の差異は、その病因の差を反映していると考えられる。低レニン群では Ca 拮抗剤の降圧効果が大きいことが認められており⁶⁾、この群における細胞内への Ca 流入増大の高血圧に対する関与の大きさが予想される。

Resnick ら³²⁾ は、Ca イオンの細胞外から細胞内への移動が低レニン群の高血圧の機序に関与すると述べている。このように細胞レベルでの Ca イオン動態は個々の本態性高血圧症患者により異なり、血漿レニン活性と強く関係すると考えられる。今回の血漿レニン活性が低いほどリンパ球内 Ca 濃度が高いという両者の関係もこれらの Ca 輸送異常を介している可能性がある。

研究 1 においてリンパ球内 Na 濃度および Ca 濃度は血圧値とは相関を示さなかった。しかし、血漿レニン活性とリンパ球内 Na 濃度、Ca 濃度とが負の相関を示したことから、本態性高血圧症においては体液貯留により細胞内 Na 濃度および細胞内 Ca 濃度が増加している可能性が示唆された。そこで、研究 2 においては本態性高血圧症患者個人内での生体の Na パラメータ変化と細胞内 Na 濃度、Ca 濃度との関係を明確にするため、食塩摂取量を 1 日 3 g から 1 日 20 g に増加させ体液貯留をひきおこし、リンパ球内 Na 濃度、Ca 濃度がいかに変化し、その際の血圧変化と関連するか検討した。

食塩摂取量と血圧との関連は多くの疫学的研究により支持され^{11, 29)}、一般に認められている。しかし、食塩摂取量変化による血圧変化は一様でなく症例により異なる。本態性高血圧症患者は食塩摂取量増加時の血圧反応より、SS 群と NSS 群に分類されうる¹⁸⁾。SS 群における増塩後の血圧上昇には、Na および体液の

貯留¹⁸⁾, レニン-アンジオテンシン系の不十分な抑制²³⁾, 交感神経系の異常反応²⁾, 血管反応性の亢進²¹⁾などが関与すると報告があるが, いまだに一致した見解は得られていない。もう一つの可能性として, 食塩摂取量増加が細胞内 Na 濃度および Ca 濃度の増加を介して血圧を上昇させるとの, 前述の Na 輸送仮説がある。Morgan ら²⁷⁾ は, 増塩後の血圧変化と赤血球膜 Na ポンプ活性との間に負の相関があることを報告しており, Ambrosioni ら²⁾ は食塩制限はリンパ球内 Na 濃度の減少と血圧降下をもたらすと報告している。今回の研究でも, 増塩後 SS 群では細胞内 Na 濃度が増加したが, NSS 群では不変であった。これらの所見は, 増塩後の血圧上昇に細胞内 Na 濃度増加が関与していることを示唆する。

今回の研究結果で, SS 群と NSS 群とのもう一つの重要な差は細胞内 Ca 濃度の変化である。増塩後のリンパ球内 Ca 濃度は, Na 濃度と同様, SS 群で増加したが, NSS 群では不変であった。さらに, 増塩後のリンパ球内 Ca 濃度変化率も血圧変化率と有意の正相関を示した。すなわち, 食塩負荷後の血圧変化には細胞内 Na 濃度のみならず細胞内 Ca 濃度変化も関与すると考えられる。

しかし, 減塩期および増塩期における平均血圧とリンパ球内 Na 濃度, Ca 濃度との間には, 常塩食下と同様に有意の相関が認められなかった。前述の如く, 血圧の調節には多因子が関与しており, この結果は本態性高血圧症における血圧上昇の機序の多様性を示しており, 本症の病因が細胞内 Na 濃度や Ca 濃度の増加だけでは説明できないことを示唆する。

本態性高血圧症における細胞内 Ca 濃度の増加を, Zidek ら³⁷⁾ はイオン電極を用い赤血球で, Erne ら¹⁵⁾ は quin 2, Cooper ら⁹⁾ は fura 2 を用い血小板で報告しており, リンパ球内 Ca 濃度が本態性高血圧症で増加していることを示した今回の結果と一致する。しかし, Bing ら³⁾, Bruschi ら³⁾, Lew ら²⁴⁾ は, 白血球やリンパ球の quin 2 を用いた研究で本態性高血圧症患者の細胞内 Ca 濃度は増加してないと報告している。この本態性高血圧症患者の細胞内 Ca 濃度に関する結果の差異には以下の因子が関与すると考えられる。まず, 対象者の差異である。すなわち, 細胞膜 Na 輸送には人種による差があることが認められており¹⁷⁾, 細胞の Ca 輸送にも人種差の存在する可能性がある⁹⁾。また, 対象にした高血圧患者の血漿レニン活性によりその結果に差がある可能性も否定出来ない。今回の成績から, 血漿レニン活性の高い高血圧患者の細胞内 Ca 濃度は正常血圧者と差が無い可能性があ

る。さらに重要なのは以前の細胞内 Ca 濃度に関する報告はいずれも, 食塩摂取量を制限していないことである。研究 2 から明らかなように, 食塩摂取量の変化は本態性高血圧症患者の細胞内 Ca 濃度を変化させるため, 細胞内 Ca 濃度の研究においては, 食塩摂取量の影響を考慮しなければならない。以前の報告における結果の差異は食塩摂取量のばらつきを反映している可能性もある。

細胞レベルでの Na 輸送と Ca 輸送との関連に関しては, *in vitro* の研究がいくつか報告されている。細胞内 Na 濃度の増加が細胞内 Ca 濃度を上昇させるといふ細胞膜 Na-Ca 交換系の存在は, Blaustein⁴⁾ により血管平滑筋で, Ueda³⁵⁾ により家兎リンパ球で報告されている。一方, Escobales ら¹⁶⁾ は細胞内 Ca 濃度が直接に細胞膜 Na 輸送を調節していることを, Postnov ら³⁰⁾ は細胞膜 Ca 結合の減少が Na 透過性を亢進させると報告している。すなわち, 細胞レベルでの Na 輸送と Ca 輸送は互いに, 複雑に影響しあっていると考えられる。しかし, *in vivo* において細胞膜 Na 輸送と Ca 輸送は, これ以外の互いに独立した因子にも影響されるため^{8, 19)}, 生理的条件下で両輸送系がどの程度関連しているかは不明であり, *in vivo* で細胞内 Na 濃度と Ca 濃度がどの程度相関するかを示した報告はない。今回の研究で正常血圧対照者のみならず本態性高血圧症患者においても, リンパ球内 Na 濃度と Ca 濃度との間に密な正相関を認め, さらに, 増塩による両イオン濃度の変化率も正相関を示したことは, *in vitro* のみでなく *in vivo* においても細胞レベルでの Na と Ca との調節に密接な関係が存在することを支持すると考えられた。

ま と め

リンパ球内 Na 濃度と Ca 濃度の間には正相関が認められ, 本態性高血圧症患者のそれらは, 正常血圧対照群に比し有意の高値を認めた。さらに, 本態性高血圧症患者においては, リンパ球内 Na 濃度および Ca 濃度はいずれも血漿レニン活性と負の相関を示した。以上より, 細胞内 Na 濃度と Ca 濃度には強い関連があること, 本態性高血圧症患者の細胞内 Na 濃度と Ca 濃度は増加しており, 血漿レニン活性が低いほど, すなわち体液依存性が強いほど, これらの増加がより著明であることが示唆された。さらに, 食塩負荷時に血圧上昇を示した SS 群では, リンパ球内 Na および Ca 濃度は増加したが, 血圧変化の少ない NSS 群ではこれらは不変であったこと, およびリンパ球内 Na 濃度増加率と Ca 濃度増加率は正相関を示

したことから、食塩負荷により細胞内 Na 濃度と Ca 濃度は同様の変化を示し、これらの変化が血圧変化に関与することが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました広島大学医学部内科学第一講座・梶山悟朗教授に深謝の意を捧げるとともに、本研究の御指導を頂きました松浦秀夫講師をはじめ、土岡由紀子博士、岡本光師博士、藤井秀昭博士、正岡智子医師、木戸幸司医師、松本公治医師に謝意を表します。また、本研究に御協力を賜りました循環器グループ一同に感謝致します。

なお、本稿要旨の一部は第9回日本高血圧学会、第16回高血圧成因カンファレンス、第6回アジア循環器学会、第9回アジア太平洋循環器学会、第59回米国心臓病学会、第11回国際高血圧学会において発表した。

参 考 文 献

1. **Ambrosioni, E., Costa, F. V., et al.** 1981. Increased intralymphocytic sodium content in essential hypertension: An index of impaired Na cellular metabolism. *Clin. Sci.* 61:181-186.
2. **Ambrosioni, E., Costa, F. V., et al.** 1982. Effects of moderate salt restriction and high potassium intake on intralymphocytic sodium content and pressor response to stress in borderline hypertension. *Clin. Sci.* 63:231S-234S.
3. **Bing, R. F., Heagerty, A. M., et al.** 1986. Leukocyte ionized calcium and sodium content and blood pressure in humans. *Hypertension* 8:483-488.
4. **Blaustein, M. P.** 1977. Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation, and hypertension: A reassessment and hypothesis. *Am. J. Physiol.* 232:C165-C173.
5. **Bruschi, G., Bruschi, M. E., et al.** 1985. Cytoplasmic free $[Ca^{2+}]_i$ is increased in the platelets of spontaneously hypertensive rats and essential hypertensive patients. *Clin. Sci.* 68:179-184.
6. **Buhler, F. R.** 1983. Age and cardiovascular response adaptation. Determinants of an anti-hypertensive treatment concept primarily based betablockers and calcium entry blockers. *Hypertension* 5:III 94-III 100.
7. **Campese, V. M., Romoff, M. S., et al.** 1982. Abnormal relationship between sodium intake and sympathetic nervous system activity in salt-sensitive patients with essential hypertension. *Kidney Int.* 21:371-378.
8. **Campbell, A. K.** 1987. Intracellular calcium: Friend of foe? *Clin. Sci.* 72:1-10.
9. **Cooper, R. S., Shamsi, N., et al.** 1987. Intracellular calcium and sodium in hypertensive patients. *Hypertension* 9:224-229.
10. **Dahl, L. K., Knudsen, K. D., et al.** 1969. Humoral transmission of hypertension: Evidence from parabiosis. *Circ. Res.* 24:21-23.
11. **Dahl, L. K.** 1972. Salt and hypertension. *Am. J. Clin. Nutr.* 25:231-244.
12. **deWardener, H. E. and MacGregor, G. A.** 1980. Dahl's hypothesis that a saluretic substance may be responsible for a sustained rise in arterial pressure: Its possible role in essential hypertension. *Kidney Int.* 18:1-9.
13. **Edmondson, R. P. S., Thomas, R. D., et al.** 1975. Abnormal leucocyte composition and sodium transport in essential hypertension. *Lancet* i:1003-1005.
14. **Edmondson, R. P. S. and MacGregor, G. A.** 1981. Leucocyte cation transport in essential hypertension: Its relation to the renin-angiotensin system. *Bri. Med. J.* 282:1267-1269.
15. **Erne, P., Bolli, P., et al.** 1984. Correlation of platelet calcium with blood pressure effect of antihypertensive therapy. *N. Engl. J. Med.* 310:1084-1088.
16. **Escobales, N. and Canessa, M.** 1985. Ca^{2+} -activated Na^+ fluxes in human red cells. *J. Biol. Chem.* 260:11914-11923.
17. **Etkin, N. L., Mahoney, J. R., et al.** 1982. Racial differences in hypertension-associated red cell sodium permeability. *Nature* 297:588-589.
18. **Fujita, T., Henry, W. L., et al.** 1980. Factors influencing blood pressure in salt-sensitive patients with hypertension. *Am. J. Med.* 69:334-344.
19. **Garay, P. R. and Nazaret, C.** 1985. Na^+ leak in erythrocytes from essential hypertensive patients. *Clin. Sci.* 69:613-624.
20. **Haddy, F., Pamnani, M., et al.** 1978. The sodium-potassium pump in volume expanded hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.* 1:295-336.
21. 日高弘義, 石川智彦, 伊藤宏雄 1986. カルシウムアンタゴニスト, p. 371-383. 日本生化学会(編), 続生化学実験講座7 情報伝達と細胞応答上. 東京化学同人, 東京.

22. **Kido, K., Matsumoto, K., et al.** 1986. Study of salt sensitivity through the inhibition of Na pump in essential hypertension: Relation to renin status. *Circulation* 74-II:330.
23. **Laragh, J. H., Letcher, R. L., et al.** 1979. Renin profiling for diagnosis and treatment of hypertension. *JAMA* 241:151-156.
24. **Lew, P. D., Favre, L., et al.** 1985. Cytosolic free calcium and intracellular calcium stores in neutrophils from hypertensive subjects. *Clin. Sci.* 69:227-230.
25. **Losse, H., Wehmeyer, H., et al.** 1960. Der Wasser und Elektrolytgehalt von Erythrocyten bei Arterieller Hypertonie. *Klin. Wochenschr* 38:393-395.
26. **Matsumoto, K., Matsuura, H., et al.** 1986. The significance of erythrocyte sodium contents on blood pressure: Evaluation by multivariate analysis. *Circulation* 74-II:488.
27. **Morgan, T., Myers, J., et al.** 1981. Sodium intake, blood pressure and red cell sodium efflux. *Clin. Exp. Hypertens.* 3:641-653.
28. **Myers, J. B., Fitzgibbon, W. R., et al.** 1981. Effect of acute and chronic salt loading on erythrocyte ^{22}Na efflux in males with essential hypertension. *Clin. Sci.* 61:37S-39S.
29. **Page, L. B., Danion, A., et al.** 1974. Antecedents of cardiovascular disease in six Solomon Islands society. *Circulation* 49:1132-1146.
30. **Postnov, Y. V., Orlov, S. N., et al.** 1977. Altered sodium permeability, calcium binding and Na-K-ATPase activity in the red blood cell membrane in essential hypertension. *Pflugers Arch.* 371:263-269.
31. **Rankin, L. I., Luft, F. C., et al.** 1981. Sodium intake alters the effect of norepinephrine on blood pressure. *Hypertension* 3:650-656.
32. **Resnick, L. M., Nicholson, J. P., et al.** 1986. Calcium metabolism in essential hypertension: Relationship to altered renin system activity. *Federation Proc.* 45:2739-2745.
33. **Skrabal, F., Cand, H. H., et al.** 1984. Salt sensitivity in humans is linked to enhanced sympathetic responsiveness and to enhanced proximal tubular reabsorption. *Hypertension* 6:152-158.
34. **Tsien, R. Y., Pozzan, T., et al.** 1982. Calcium homeostasis in intact lymphocytes: Cytoplasmic free calcium monitored with a new intracellularly trapped fluorescent indicator. *J. Cell Biol.* 94:325-334.
35. **Ueda, T.** 1983. Na^+ - Ca^{2+} exchange activity in rabbit lymphocyte plasma membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 734:342-346.
36. **Vaughan, E. D. J., Laragh, J. H., et al.** 1973. Volume factor in low and normal renin essential hypertension: Treatment with either spironolactone or chlorthalidone. *Am. J. Cardiol.* 32:523-532.
37. **Zidek, W., Vetter, H., et al.** 1982. Intracellular Na^+ and Ca^{2+} activities in essential hypertension. *Clin. Sci.* 63:41S-43S.

Intracellular Sodium and Free Calcium Concentrations in Lymphocytes of Patients with Essential Hypertension

Tetsuya OSHIMA

The First Department of Internal Medicine, Hiroshima University School of Medicine
(Director: Prof. Goro KAJIYAMA)

Alteration in intracellular free calcium concentration ($[Ca^{2+}]_i$) has been implicated in the pathogenesis of patients with essential hypertension (HT) and suggested to be a consequence of increased intracellular sodium concentration ($[Na]_i$) through Na^+-Ca^{2+} exchange process. In order to determine whether $[Ca^{2+}]_i$ is increased in HT and to clarify the relation of $[Ca^{2+}]_i$ with $[Na]_i$ and the effects of salt intake on $[Na]_i$ and $[Ca^{2+}]_i$, both $[Na]_i$ and $[Ca^{2+}]_i$ were determined in lymphocytes.

Study 1. $[Na]_i$ and $[Ca^{2+}]_i$ in HT and normotensive subjects (NT):

There was a positive correlation between $[Na]_i$ and $[Ca^{2+}]_i$ in HT and NT, respectively. In HT, $[Na]_i$ and $[Ca^{2+}]_i$ were higher than in NT and they were negatively correlated with plasma renin activity.

Study 2. The effects of changes in salt intake on blood pressure, $[Na]_i$ and $[Ca^{2+}]_i$ in HT:

$[Na]_i$ and $[Ca^{2+}]_i$ were increased in salt-sensitive patients whose percent change in mean blood pressure ($\% \Delta MBP$) was more than 5%, but unchanged in nonsalt-sensitive patients whose $\% \Delta MBP$ was less than 5% with salt loading.

In conclusion,

- 1) the finding that $[Na]_i$ was positively correlated with $[Ca^{2+}]_i$ in lymphocytes of NT and HT suggests that there may be the linkage between their regulatory systems,
- 2) it has been found that $[Na]_i$ and $[Ca^{2+}]_i$ in lymphocytes increase more in low renin HT than in normal and high renin HT, and
- 3) the ability of salt loading to raise blood pressure due to retention of body fluid appears to be closely related to its ability to increase $[Na]_i$ and $[Ca^{2+}]_i$ in lymphocytes.