

## 本態性高血圧症患者における赤血球膜 Na 輸送に関する研究

木 戸 幸 司

広島大学医学部内科学第一講座 (指導: 梶山梧朗教授)

受付 平成1年9月7日

受理 平成1年10月17日

本態性高血圧症患者における赤血球膜 Na 輸送の特性およびそれと食塩摂取量との関連について検討した。

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赤血球内 Na 濃度および赤血球膜 Na 輸送活性の検討

本態性高血圧症患者37例および正常血圧対照者26例を対象とし, 食塩摂取量 8-10 g/日 の常塩食下で, 赤血球内 Na 濃度をヘマトクリット毛細管法で測定した。赤血球膜 Na 輸送は, Na-K ポンプ活性を Cumberbatch 変法で, Na-K 共輸送を Price の変法で, Na-Li 対向輸送を Canessa の変法で測定した。

- 1) 高血圧群の赤血球内 Na 濃度は対照群に比し高値の傾向を認めた。
- 2) 高血圧群は対照群に比し, Na-K ポンプ活性は低値の傾向を, Na-K 共輸送は低値を, Na-Li 対向輸送は高値を示した。
- 3) 高血圧群, 対照群の両群において, 赤血球内 Na 濃度は Na-K ポンプ活性と負の相関を, Na-K 共輸送と正の相関を示した。
- 4) 両群ともに血圧は赤血球内 Na 濃度との間に有意な相関を示さなかった。

研究2: 本態性高血圧症患者における血圧, 赤血球内 Na 濃度および赤血球膜 Na 輸送におよぼす食塩摂取量変化の影響の検討:

本態性高血圧症患者22例を対象に1週間の減塩食 (3 g/日), ひき続き1週間の増塩食 (20 g/日) を摂取せしめた。減塩期および増塩期の最終日に赤血球内 Na 濃度, Na-K ポンプ活性, Na-K 共輸送および Na-Li 対向輸送を測定し, 増塩によるこれらの変化を検討した。

- 1) 増塩による赤血球内 Na 濃度の変化率は Na-K ポンプ活性の変化率と負の相関を, Na-K 共輸送の変化率および平均血圧の変化率と正の相関を示した。
- 2) 増塩による平均血圧の増加率が5%以上を示した食塩感受性群においては, 増塩により Na-K ポンプ活性は抑制され, 赤血球内 Na 濃度は増加, Na-K 共輸送は亢進した。平均血圧の増加率が5%未満の食塩非感受性群では, 赤血球内 Na 濃度, Na-K ポンプ活性および Na-K 共輸送のいずれも変化を示さなかった。両群とも, Na-Li 対向輸送は増塩により変化を示さなかった。

以上より,

- 1) 本態性高血圧症患者においては Na-K ポンプ活性の抑制傾向, 赤血球内 Na 濃度の高値傾向, Na-K 共輸送の抑制および Na-Li 対向輸送の亢進が認められた。
- 2) 赤血球内 Na 濃度は, Na-K ポンプ活性のみならず Na-K 共輸送にも関連していることが明らかとなった。
- 3) 増塩に伴う赤血球内 Na 濃度の変化率は, 増塩に伴う平均血圧の変化率すなわち食塩感受性

に関連していると考えられた。

**Key words** : Essential hypertension, Intraerythrocytic sodium concentration, Na-K pump, Na-K cotransport, Na-Li countertransport

末梢血管抵抗の増加が高血圧の発症に重要な役割を果たしていることは広く認められている<sup>22)</sup>。Blaustein<sup>8)</sup>は血管平滑筋における細胞内 Na 濃度の増加が細胞内 Ca 濃度の増加をひきおこし、このことが末梢動脈の収縮、ひいては昇圧に関与するとの仮説を提唱している。しかし、ヒトの血管平滑筋細胞を機能的な損傷を加えず分離することは困難なため、赤血球<sup>12, 27, 32)</sup>、白血球<sup>9)</sup>、リンパ球<sup>5, 29)</sup>等の血球細胞を用い仮説の検討がなされてきた。赤血球内 Na 濃度は食塩摂取量により変化し<sup>25)</sup>、赤血球内 Na 濃度の上昇は本態性高血圧症の発症、維持と関連するとの報告<sup>27)</sup>がある。

赤血球内 Na 濃度の調節は赤血球における各種の Na 輸送系によりなされていると考えられる。赤血球膜における能動的な Na 輸送系としては Na-K ポンプ、Na-K 共転送および Na-Li 対向輸送が存在すると考えられている<sup>20)</sup>。Na-K ポンプは3分子の Na を赤血球外へ、2分子の K を赤血球内に転送する輸送系であり、Na-K 共転送はそれぞれ1分子の Na と K を赤血球膜を介し同方向に転送する輸送系である。Na-Li 対向輸送は、赤血球膜を介して Na と Na を互いに逆方向に転送し赤血球内 Na 濃度には関与しない Na-Na 対向輸送を反映した輸送系である。本態性高血圧症における赤血球内 Na 濃度とこれら三輸送系との関連を明らかにするためには、赤血球内 Na 濃度と三輸送系とを同一個体で同時に測定する必要があるが、かかる報告はいまだない。さらに食塩摂取量の変化が赤血球内 Na 濃度および三輸送系におよぼす影響についても、これらを同時に測定した報告はない。

そこで、本態性高血圧症患者における赤血球内 Na 濃度と赤血球膜 Na 輸送との関係を解明することを目的とし、赤血球内 Na 濃度および三輸送系を同一個体で同時に測定し、正常血圧対照者との差異を検討するとともに、本態性高血圧症患者の血圧および赤血球膜 Na 輸送におよぼす食塩摂取量変化の影響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赤血球内 Na 濃度および赤血球膜 Na 輸送に関する検討：

未治療あるいは降圧剤を4週間以上中止した外来通

院中の本態性高血圧症患者37例(男17例, 女20例, 平均年齢 $47.6 \pm 12.3$ 才, 高血圧群)と年齢, 性を一致させた正常血圧対照者26例(男12例, 女14例, 平均年齢 $49.7 \pm 15.1$ 才, 対照群)を対象とした。日を変えた3回以上の外来時における坐位血圧が常に収縮期 160 mmHg あるいは拡張期 95 mmHg 以上の症例を高血圧群とした。坐位血圧が常に収縮期 140 mmHg 未満かつ拡張期血圧 90 mmHg 未満の症例を対照群とした。全例, 検査前一週間の食塩摂取量を 8-10 g/日とし, これを24時間尿中 Na 排泄量により確認した。検査当日の朝絶食とし, 暗室にて血管確保, 臥位安静30分後, 水銀血圧計を用いた聴診法で血圧測定を行い, 赤血球内 Na 濃度, および赤血球膜 Na 輸送測定用の採血を行った。

**[研究2]** 本態性高血圧症患者の赤血球内 Na 濃度, 赤血球膜 Na 輸送および血圧に与える食塩摂取量変化の影響の検討：

入院中の未治療あるいは降圧剤を4週間以上中止した本態性高血圧症患者22例(男13例, 女9例, 平均年齢 $54.9 \pm 9.8$ 才)を対象とした。高血圧の診断は研究1と同じ基準を用いて行った。入院後1週間は1日10gの常塩食とし, ひき続き1日3gの減塩食, 1日20gの増塩食を1週間ずつ摂取せしめた。増塩食は食塩1日13gの食事に Slow Sodium 錠(Ciba Geigie, Basel, Switzerland, 1錠中 NaCl 600mg を含有)を毎食後4錠ずつ添加した。減塩および増塩期の最終日の朝, 絶食下に暗室にて血管確保, 臥位安静30分後に血圧測定および赤血球内 Na 濃度, 赤血球膜 Na 輸送測定用の採血を行った。なお, 血圧は検査期間中同一の医師が水銀血圧計を用いた聴診法で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3分の1の和とした。平均血圧, 赤血球内 Na 濃度, 赤血球膜 Na 輸送に及ぼす増塩の影響は, 減塩期の値に対する増塩に伴う変化量の百分率として示した。

研究1, 2とも対象とした本態性高血圧症患者は WHO I 期または II 期の症例であった。さらに全対象者には本研究の目的, 方法を説明し研究への参加の承諾を得た。

### 測 定

#### 1) 赤血球内 Na 濃度の測定

赤血球内 Na 濃度はヘマトクリット毛細管法を用いて測定した<sup>24</sup>。すなわち、1 ml のヘパリン採血を行い、室温で 1600 g、5 分間の遠沈にて赤血球を分離し、これを 4°C 等張 MgCl<sub>2</sub> 溶液で二度洗浄後、ヘマトクリット毛細管（ヘマトロン、菅垣医理科工業、東京）に注入し、15,000 g、5 分間室温にて遠沈した。30  $\mu$ l の packed cell を蛍光光度計用リチウム溶液に低張溶血させ、その遠沈上清の Na 濃度を蛍光光度計（日立 775 A、日立製作所、東京）にて測定し mmol/liter cells として求めた。

## 2) 赤血球膜 Na-K ポンプ活性

赤血球膜 Na-K ポンプ活性は Cumberbatch らの方法<sup>14</sup> に準じて測定した。すなわち、4 ml のヘパリン採血を行い、これを 2 本の試験管に分け、1 本には 10 mM の ouabain を加え、その血漿濃度を 0.1 mM とした。残りの 1 本には同量の蒸留水を加えた。2 本の試験管を 37°C で 2 時間 incubate 後、前述の方法にて赤血球内 Na 濃度を測定し、Na-K ポンプ活性を次式より求めた。

Na-K ポンプ活性 (hr<sup>-1</sup>) =

$$\frac{\Delta[\text{Na}]_i}{\text{initial } [\text{Na}]_i \times \text{incubation time (hr)}}$$

$\Delta[\text{Na}]_i$  は ouabain を加えて incubate した後の赤血球内 Na 濃度と蒸留水を加えて incubate した後の赤血球内 Na 濃度の差である。initial  $[\text{Na}]_i$  は incubate 前の赤血球内 Na 濃度である。

## 3) Na-K 共輸送

Na-K 共輸送は Price らの方法<sup>30</sup> に準じて測定した。すなわち、4 ml のヘパリン採血を行い、1600 g、5 分間遠沈にて赤血球を分離、150 mM NaCl 溶液で 2 回洗浄した。この赤血球を Na<sup>+</sup> Ringer medium (150 NaCl, 2.5 Na<sup>+</sup> phosphate, 1 MgCl<sub>2</sub> (mM), pH 7.2, 4°C) 中にヘマトクリット 5% で再浮遊せしめ、27 時間放置により赤血球に Na を負荷した。この赤血球を 4°C で等張 MgCl<sub>2</sub> 溶液で 2 回洗浄、一部を用いて赤血球内 Na 濃度を測定した。残りの赤血球を Mg-sucrose 溶液 (75 MgCl<sub>2</sub>, 85 sucrose, 10 glucose, 0.1 ouabain, 10 Tris-Mops (mM), pH 7.4, 37°C) にヘマトクリット 10% で再浮遊せしめた。これを 2 本の試験管に分注し、1 本には 20 mM の furosemide を加え、その溶液中の濃度を 1 mM とした。この 2 本の試験管を 37°C で 2 時間 incubate 後、前述の方法で赤血球内 Na 濃度を測定し、その差より Na-K 共輸送を求め mmol/liter cells/hr で表した。

## 4) Na-Li 対向輸送

Na-Li 対向輸送は Canessa らの方法<sup>11</sup> に準じて測定した。すなわち、8 ml のヘパリン採血を行い、遠沈により赤血球を分離、洗浄液 (75 MgCl<sub>2</sub>, 85 sucrose, 10 glucose, 10 Tris-Mops (mM), pH 7.4, 4°C) で 4 回洗浄した。3 ml の赤血球を Li loading 溶液 (150 LiCl, 10 glucose, 10 Tris-Mops (mM), pH 7.4, 37°C) 中にヘマトクリット 20% で浮遊せしめ、3 時間、37°C で incubate した。引き続き、洗浄液に 0.1 mM ouabain を加えた溶液で 5 回洗浄し細胞外の Li を除去した。この赤血球各々 1 ml ずつを Na を含まない溶液 (75 MgCl<sub>2</sub>, 85 sucrose, 10 glucose, 0.1 ouabain, 10 Tris-Mops (mM), pH 7.4, 37°C) および Na を含む溶液 (150 NaCl, 10 glucose, 0.1 ouabain, 10 Tris-Mops (mM), pH 7.4, 37°C) 中にヘマトクリット 20% になるよう浮遊せしめ、37°C で 1 時間 incubate した。Incubate 後 1600 g, 4°C で 5 分間遠沈し赤血球を分離、洗浄液に 0.1 mM ouabain を加えた溶液で 3 回洗浄した。これをヘマトクリット毛細管に注入し、15,000 g、5 分間室温にて遠沈、30  $\mu$ l の赤血球を 3 ml の 0.5% セシウム溶液中に溶血せしめこの上清中の Li 濃度を蛍光光度計（日立 750、日立製作所、東京）で測定した。Na を含む溶液と含まない溶液で incubate した後の赤血球内 Li 濃度の差より Na-Li 対向輸送を測定し mmol/liter cells/hr として表示した。

## 統 計

測定値は平均±標準偏差 (mean±SD) で表した。対応する二群間の差の検討は Wilcoxon signed rank test を、また対応しない二群間の差の検討は Mann-Whitney U-test を用いて行い、p<0.05 を有意とした。また二変数間の相関係数は Spearman の方法を用いて算出した。

## 成 績

[研究 1]：高血圧群および対照群の体重、平均血圧、心拍数、血清 Na, K, クレアチニン濃度、尿量および尿中 Na 排泄量を表 1 に示した。両群間で、平均血圧に差を認めた以外はいずれも差を認めなかった。

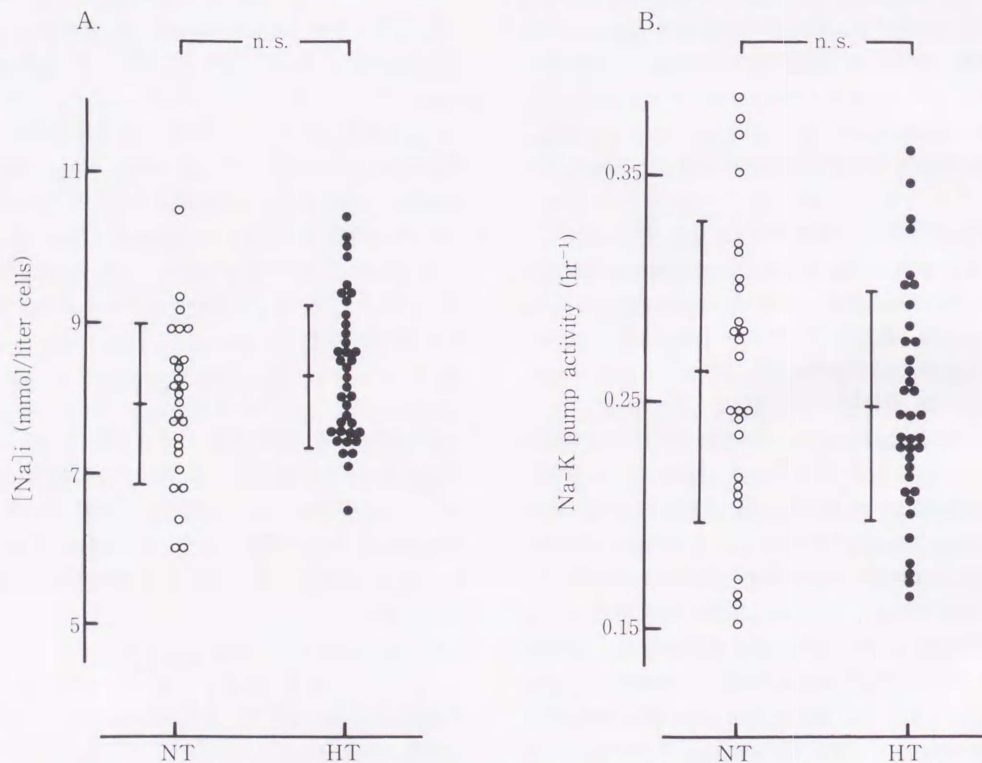
赤血球内 Na 濃度は図 1 A の如く、対照群 7.92±1.04 mmol/liter cells に比し高血圧群では 8.32±0.96 と高値の傾向を示した。赤血球膜 Na-K ポンプ活性は 図 1 B の如く対照群の 0.263±0.066 hr<sup>-1</sup> に比し高血圧群では 0.249±0.050 と低値の傾向を示した。Na-K 共輸送は 図 2 A の如く対照群の 0.413±0.106 mmol/liter cells/hr に比し高血圧群で

**Table 1.** Clinical characteristics of hypertensive patients and normotensive controls.

	Normotensives	Hypertensives
Number	26	37
Sex (Male/Female)	12/14	17/20
Age (years)	49.7±15.1	47.6±12.3
Body Weight (kg)	58.3± 6.6	59.8± 6.4
Mean Blood Pressure (mmHg)	90.4± 8.1	115.0±10.3**
Heart Rate (beats/min)	65.5± 4.7	63.9± 4.0
Serum Sodium Concentration (mmol/liter)	140.4± 1.8	140.8± 2.3
Serum Potassium Concentration (mmol/liter)	4.1±0.2	4.2±0.4
Serum Creatinine Concentration (mg/dl)	0.96±0.12	0.98±0.10
Urine Volume (ml/day)	1184±168	1222±112
Urinary Sodium Excretion (mmol/day)	165.0±15.5	162.3±15.7

Values are mean±SD.

\*\* p<0.01, when compared with values in normotensive controls.

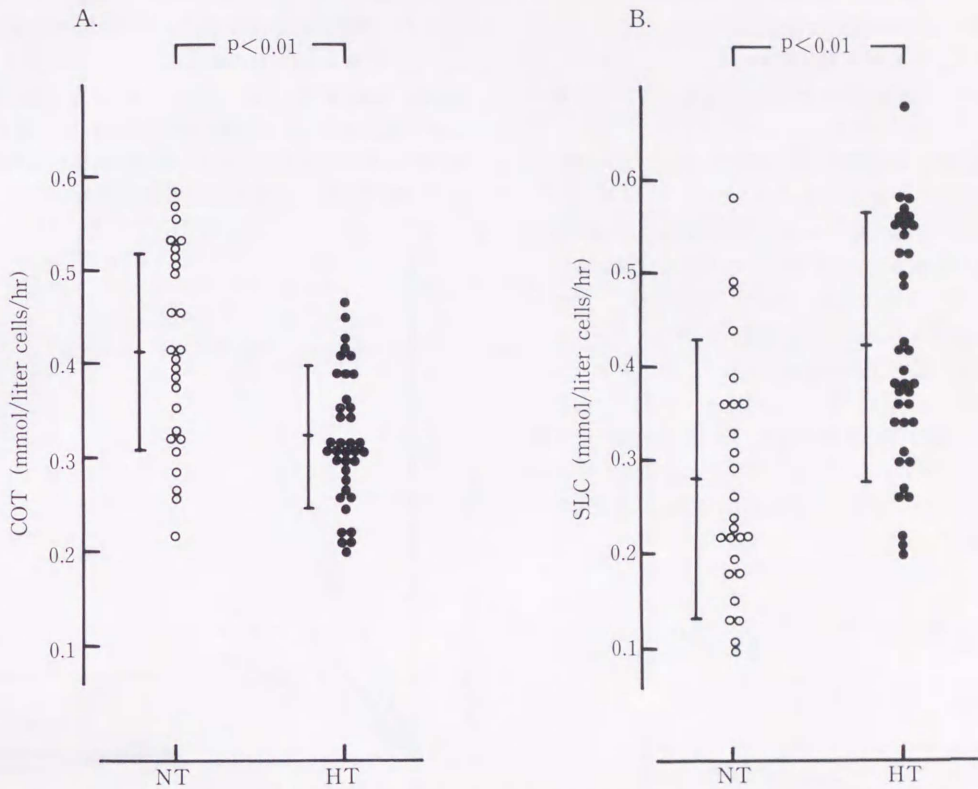


**Fig. 1.** (A) Intracellular sodium concentration ( $[Na^+]_i$ ) and (B) Na-K pump activity in erythrocytes of normotensive controls (NT) and patients with essential hypertension (HT).

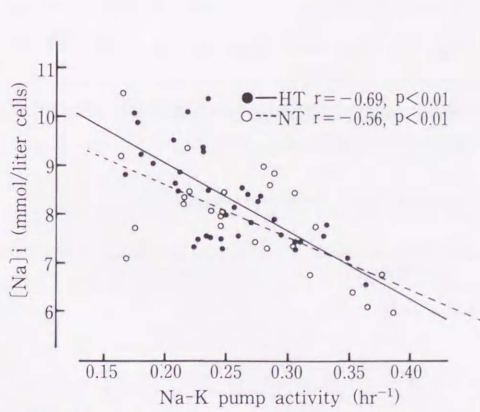
は $0.319 \pm 0.069$ と有意 ( $p < 0.01$ ) の低値を示した。Na-Li 対向輸送は図 2 B の如く、対照群の $0.289 \pm 0.154$  mmol/liter cells/hr に対し高血圧群では $0.428 \pm 0.142$ と有意に ( $p < 0.01$ ) 高値であった。

赤血球内 Na 濃度と Na-K ポンプ活性との間には、高血圧群、対照群ともに負の相関が認められた (各々

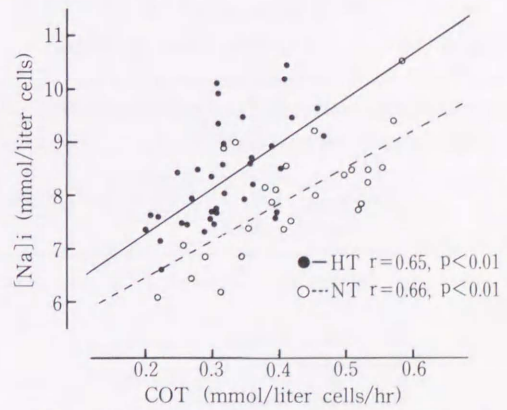
$r = -0.69, p < 0.01$ ;  $r = -0.56, p < 0.01$ : 図 3)。また図 4 の如く高血圧群、対照群ともに赤血球内 Na 濃度は Na-K 共輸送と正相関を示した (各々  $r = 0.65, p < 0.01$ ;  $r = 0.66, p < 0.01$ : 図 4)。Na-K ポンプ活性と Na-K 共輸送の間には高血圧群においても ( $r = -0.59, p < 0.01$ ), 対照群においても



**Fig. 2.** (A) Na-K cotransport (COT) and (B) Na-Li countertransport (SLC) in erythrocytes of normotensive controls (NT) and patients with essential hypertension (HT).



**Fig. 3.** Correlation between intracellular sodium concentration ( $[Na]_i$ ) and Na-K pump activity in erythrocytes of normotensive controls (NT:  $\circ$ ) and patients with essential hypertension (HT:  $\bullet$ ).



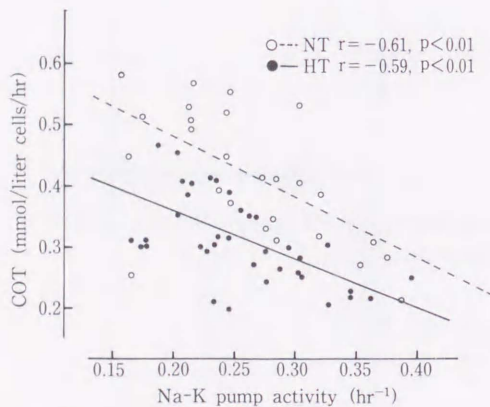
**Fig. 4.** Correlation between intracellular sodium concentration ( $[Na]_i$ ) and Na-K cotransport (COT) in erythrocytes of normotensive controls (NT:  $\circ$ ) and patients with essential hypertension (HT:  $\bullet$ ).

( $r = -0.61, p < 0.01$ ) 有意の負の相関が認められた(図5)。Na-Li 対向輸送は高血圧群においても、対照群においても赤血球内 Na 濃度, Na-K ポンプ活性, また Na-K 共輸送のいずれとも有意の相関を認めなかった。

高血圧群, 対照群ともに血圧と  $[Na]_i$  との間に有意の相関は存在しなかった。

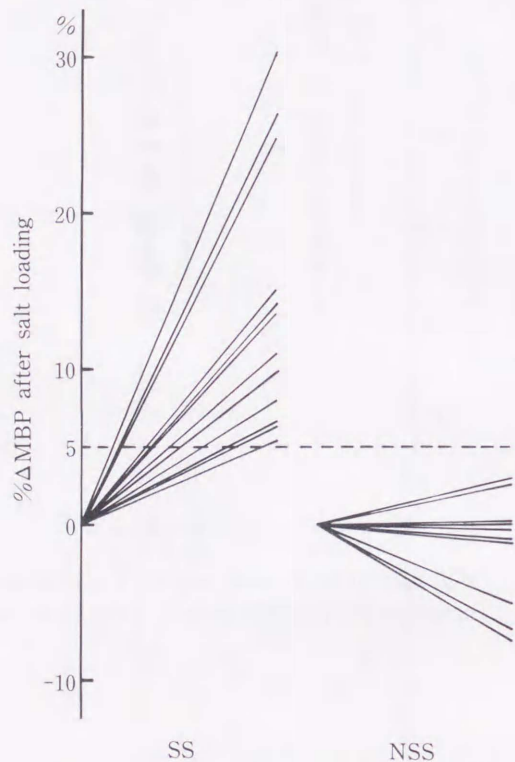
[研究2]: 増塩により平均血圧が5%以上増加した症例を食塩感受性(SS)群, 5%未満の症例を食塩非感受性(NSS)群とした(図6)。両群間に性, 年齢および常塩期の平均血圧, 心拍数, 血清 Na, K, クレアチニン濃度に有意差は認められなかった(表2)。

SS 群では増塩により Na-K ポンプ活性は抑制され, 赤血球内 Na 濃度は増加, Na-K 共輸送は亢進したが, NSS 群ではこれらの変化は認められなかった。両群とも Na-Li 対向輸送は増塩により変化を示さなかった(表3)。



**Fig. 5.** Correlation between Na-K cotransport (COT) and Na-K pump activity in erythrocytes of normotensive controls (NT: ○) and patients with essential hypertension (HT: ●).

本態性高血圧症全例で検討すると, 増塩による赤血球内 Na 濃度の変化率と Na-K ポンプ活性の変化率との間には負の相関( $r = -0.86, p < 0.01$ ; 図7)が, Na-K 共輸送の変化率との間には正の相関( $r = 0.61, p < 0.01$ ; 図8)が認められた。また, Na-K ポンプ活性の変化率と Na-K 共輸送の変化率との間には負の相関( $r = -0.73, p < 0.01$ ; 図9)



**Fig. 6.** Percent changes in mean blood pressure ( $\% \Delta MBP$ ) in salt-sensitive (SS) and nonsalt-sensitive (NSS) patients with essential hypertension after salt loading.

**Table 2.** Clinical characteristics of salt-sensitive and nonsalt-sensitive patients during regular salt diet.

	Salt-Sensitive	Nonsalt-Sensitive
Number	12	10
Sex (Male/Female)	3/9	4/6
Age (years)	52.2 ± 11.0	55.5 ± 8.9
Heart Rate (beats/min)	61.2 ± 3.5	61.7 ± 2.9
Mean Blood Pressure (mmHg)	115.8 ± 12.5	114.4 ± 6.3
Serum Sodium Concentration (mmol/liter)	140.9 ± 2.0	140.6 ± 2.5
Serum Potassium Concentration (mmol/liter)	4.2 ± 0.3	4.3 ± 0.3
Serum Creatinine Concentration (mg/dl)	0.96 ± 0.09	0.98 ± 0.09

Values are mean ± SD.

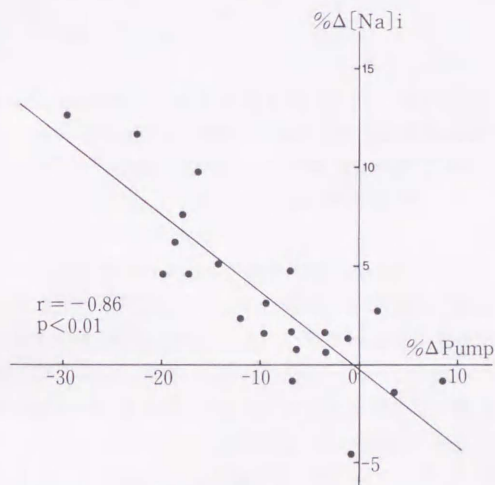
**Table 3.** Sodium transport systems in erythrocytes of salt-sensitive and nonsalt-sensitive patients during low and high salt diets.

	Salt-sensitive		Nonsalt-sensitive	
	Low salt	High salt	Low salt	High salt
[Na] <sub>i</sub> (mmol/liter cells)	7.97 ±1.10	8.46 ±1.32**	8.79 ±1.05	8.84 ±1.12
Na-K pump (hr <sup>-1</sup> )	0.276±0.054	0.244±0.045*	0.266±0.031	0.256±0.030
COT (mmol/liter cells/hr)	0.293±0.062	0.310±0.065**	0.321±0.069	0.328±0.066
SLC (mmol/liter cells/hr)	0.434±0.096	0.418±0.089	0.384±0.115	0.394±0.127

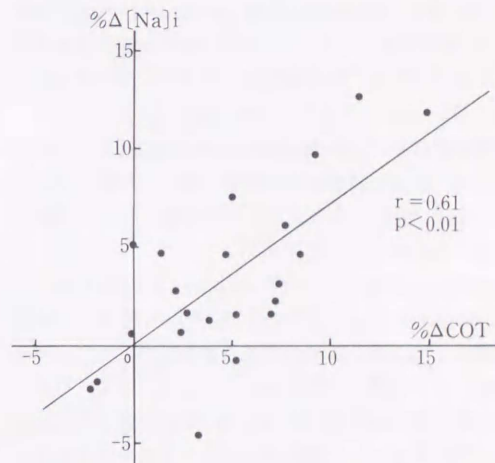
Values are mean±SD.

[Na]<sub>i</sub>=intraerythrocytic sodium concentration, COT=Na-K cotransport, SLC=Na-Li countertransport.

\*\*p<0.01, \*p<0.05, when compared with values in low salt period.



**Fig. 7.** Correlation between percent change in intraerythrocytic sodium concentration (%Δ[Na]<sub>i</sub>) and that in Na-K pump activity (%ΔPump) after salt loading.



**Fig. 8.** Correlation between percent change in intraerythrocytic sodium concentration (%Δ[Na]<sub>i</sub>) and that in Na-K cotransport (%ΔCOT) after salt loading.

が認められた。Na-Li 対向輸送の増塩に伴う変化率は Na-K ポンプ活性また Na-K 共輸送の変化率と有意の相関を示さなかった。

増塩に伴う平均血圧の変化率と赤血球内 Na 濃度の変化率との間には正の相関が存在した ( $r=0.64$ ,  $p<0.01$ : 図10)。

## 考 案

本態性高血圧症の発症、維持に食塩摂取が重要な役割を果していることはよく知られている。その機序として、Renin-Angiotensin-Aldosterone 系の不十分な抑制<sup>34</sup>、交感神経系の異常興奮<sup>10</sup>、体液および Na の貯留<sup>18</sup> あるいは血管反応性の亢進<sup>31</sup> 等の関与が想定されている。近年、細胞膜における Na 輸送異常も

食塩摂取に伴う昇圧に関与しているとの仮説が提唱され始めた。すなわち、本態性高血圧症患者の一部では、腎における Na 排泄能に遺伝的な低下があるため、一定量以上の食塩摂取により体液貯留がひきおこされる。体液貯留に反応し Na-K ATPase 抑制因子が分泌される<sup>16,17</sup>。この抑制因子は細胞膜における Na-K ポンプ活性を抑制することにより、動脈平滑筋細胞において細胞内 Na 濃度の上昇<sup>21</sup> をひきおこし、Na-Ca 交換系を介した細胞内遊離 Ca 濃度の上昇を生じせしめ<sup>8</sup>、この結果、末梢血管抵抗が増大するという Na 輸送仮説であり、血球細胞を用いた成績が報告されている<sup>4,25</sup>。大島<sup>29</sup> は、リンパ球を用いた検討で、本態性高血圧症患者は正常血圧対照群に比し、細胞内 Na, Ca 濃度が高値であることを認めている。

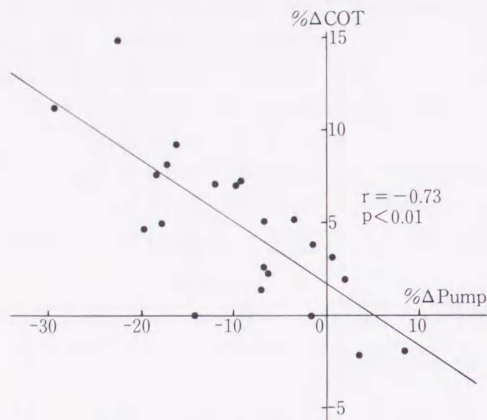


Fig. 9. Correlation between percent change in Na-K cotransport (% $\Delta$ COT) and that in Na-K pump activity (% $\Delta$ Pump) after salt loading.

本研究は細胞内 Na 濃度のみならず細胞膜 Na 輸送をも同一個体で同時に測定するため大量の細胞を要する。従い、細胞数が多く、しかも分離、採取が比較的容易な赤血球を用いた。

細胞内 Na 濃度の異常と高血圧との関連を論じる時、赤血球、リンパ球等の血球細胞が血管平滑筋細胞を反映しているか否かが問題となるが、これを支持するものとして以下の報告があげられる。即ち、ヒト抵抗血管と白血球における Na-K ポンプ活性の間には密な相関があるとの報告<sup>1)</sup>がある。著者らは本態性高血圧症患者の赤血球内 Na 濃度およびリンパ球内 Na 濃度は食塩負荷に対して、同様の变化を示すことを認めた<sup>25)</sup>。動物実験でも細胞内電解質代謝異常が各種の組織細胞内で類似した動態を示したと報告されている<sup>26)</sup>。これらのことより血球細胞における電解質代謝異常は血管平滑筋細胞におけるそれを反映しうると考えられる。

本態性高血圧症患者の赤血球内 Na 濃度は正常血圧対照のそれに比し増加<sup>12, 27, 32)</sup>、不変<sup>9, 11)</sup>、低下<sup>33)</sup>と一致した成績は得られていない。不一致の理由として、対象とした人種の相違、食塩摂取量の差が考えられる。多くの研究は人種を一致させることなく本態性高血圧症患者群と正常血圧対照群の赤血球内 Na 濃度を比較している。その一例として、Birks ら<sup>7)</sup>はカナダ人を対象とした検討で赤血球内 Na 濃度は本態性高血圧症患者が正常血圧対照群に比し有意に高値であると報告しているが、白人だけを対象として検討するとこの有意差は消失する。黒人は白人に比し、赤血球内 Na 濃度が高い<sup>37)</sup>ことが知られており、このこ

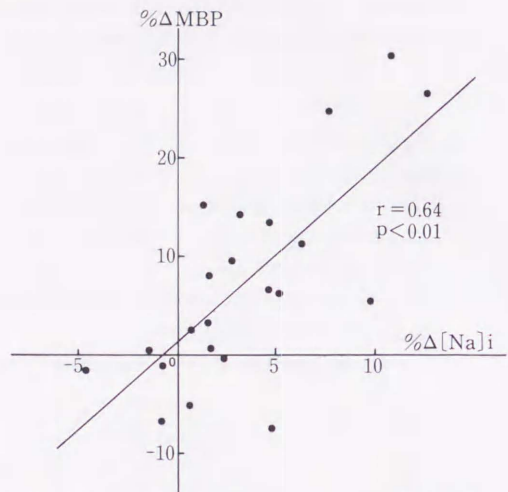


Fig. 10. Correlation between percent change in mean blood pressure (% $\Delta$ MBP) and that in intraerythrocytic sodium concentration (% $\Delta$ [Na]<sub>i</sub>) after salt loading.

とが上記の結果に関連を持つ可能性が伺える。これらの事実は両群間で人種を一致させて検討することの必要性を示すものである。次に、食塩摂取量を一定にしていなくても、一致した見解が得られないことの原因の一つと考えられる。食塩摂取量変化に伴い赤血球内 Na 濃度やリンパ球内 Na 濃度の変化することが報告されている<sup>4, 25, 29)</sup>。これらの研究結果は、赤血球内 Na 濃度、赤血球膜 Na 輸送を検討するにあたっては、人種、食塩摂取量を一致させた上で本態性高血圧症患者と正常血圧対照群を比較すべきであるということを示している。今回の研究では日本人のみを対象とし、食塩摂取量を 8-10 g/日として検討した結果、赤血球内 Na 濃度は本態性高血圧症群で高値の傾向を示し、赤血球膜 Na-K ポンプ活性は抑制傾向を認めた。

研究 1 において、本態性高血圧症群、正常血圧対照群とも、赤血球内 Na 濃度は Na-K ポンプ活性と負の相関を示した。研究 2 において、増塩に伴う赤血球内 Na 濃度の変化率は Na-K ポンプ活性の変化率と有意の負の相関を示した。さらに、食塩感受性群では増塩に伴って Na-K ポンプ活性は抑制され、赤血球内 Na 濃度は上昇した。著者らは以前本態性高血圧症患者に増塩負荷を行い、体液貯留がおりやすいと考えられる血漿レニン活性が低値である群ではそうでない群に比し、増塩に伴う昇圧が大であり、また Na-K ポンプ活性の抑制を介した赤血球内 Na 濃度の



増加がみられることをすでに報告<sup>25)</sup>した。大島<sup>29)</sup>は、本態性高血圧症を対象とし、血漿レニン活性が低値であるほど、細胞内 Na 濃度が高値であることを報告している。これらの結果は前述の Na 輸送仮説を支持するものと考えられる。

Na-K 共輸送は一般に赤血球内に Na を負荷後、furosemide により阻害される Na の転出率を測定することにより求められ、赤血球内 Na 濃度が 20-90 mmol/liter cells の範囲にある時 maximal rate を示すと報告されている<sup>19)</sup>。赤血球内に Na を負荷する方法として 2,5-p-chloromercuribenzenesulfonate (PCMBs) を用いる方法と、PCMBs を用いることなく 4°C の低温中で 150 mM 程度の Na を含んだ溶液と incubate する方法とがある。PCMBs を用いて赤血球内に Na を負荷すると赤血球膜の Sulfhydryl group を障害し、Na-K 共輸送に影響をおよぼす可能性が否定できないため、今回の研究では、PCMBs を用いることなく赤血球を 4°C の Na<sup>+</sup> Ringer medium に浮遊させ 27 時間放置することにより、Na-K 共輸送測定に充分と考えられる 20 mmol/liter cells 以上に Na を赤血球内に負荷した。また、Na-K 共輸送は細胞膨化に伴い抑制されると報告されている<sup>3)</sup>ため、11 人（本態性高血圧症患者 6 人、正常血圧対照者 5 人）を対象に Na 負荷前後で平均赤血球容積を測定したが、負荷前後で一定の変化は認められず、膨化による抑制は否定できる。このような条件下で測定した赤血球膜における Na-K 共輸送は、本態性高血圧症患者では正常血圧対照群に比し有意に抑制、また両群とも赤血球内 Na 濃度と正の相関を示した。本態性高血圧症患者の赤血球膜 Na-K 共輸送は正常血圧対象群に比較し、抑制<sup>15)</sup>、亢進<sup>2)</sup>あるいは不変<sup>36)</sup>と一定の見解は得られていない。一致した見解が得られない原因として、測定方法、人種、食塩摂取量が研究間で異なっていることが考えられる。増塩により食塩感受性群の Na-K 共輸送は有意に亢進し、増塩に伴う Na-K 共輸送の変化率と赤血球内 Na 濃度の変化率との間には正の相関が、Na-K ポンプ活性との間には負の相関が存在した。これらの結果は、Na-K ポンプ活性の抑制を介した赤血球内 Na 濃度の上昇が本輸送系を亢進せしめる可能性を示唆するものであるが、赤血球内 Na 濃度を介さない可能性もある。本研究の結果からはこのいずれかを明らかにすることはできないが、本輸送系が赤血球内 Na 濃度と関連していることが示された。

今回の検討では、常塩食下における赤血球膜 Na-Li 対向輸送は本態性高血圧症群において正常血

圧対照群に比して有意に亢進していた。これは、Na-Li 対向輸送は本態性高血圧症群と正常血圧対照群との間に大きな overlap があるが、本態性高血圧症群が有意に亢進していたという Smith ら<sup>35)</sup>の報告と一致するものであった。Turner ら<sup>38)</sup>は赤血球膜における Na-Li 対向輸送に影響を与える因子として、年齢、身長、体重を挙げているが今回の研究ではこれらの因子に両群間で差はない。従って、本態性高血圧症群の赤血球膜 Na-Li 対向輸送が亢進していたという今回の結果は本態性高血圧症患者における赤血球膜 Na 輸送の特徴の一つと考えられる。Na-Li 対向輸送は生体内では Na-Na 交換系として作動しているものであり、赤血球内 Na 濃度には関与せず、この輸送系活性の変化はいかなる組織においても、細胞内 Na 濃度には影響を与えない。この Na-Li 対向輸送が本態性高血圧症の発症にいかに関与しているかは不明である。Aronson<sup>6)</sup>、Mahnensmith ら<sup>28)</sup>は赤血球膜における Na-Li 対向輸送の亢進は腎の近位尿細管細胞における renal brush border membrane における Na-H 交換系を反映している可能性を提唱した。Na-H 交換系の亢進は近位尿細管細胞における Na の再吸収の亢進をひきおこし、このことは体液貯留を介した昇圧を招来しうる。これに対して、Kahn ら<sup>23)</sup>はこの二つの輸送系は異なるものであるとの実験結果を報告している。このことから、本態性高血圧症の発症に果たす Na-Li 対向輸送の正確な意義に関しては未だ不明であるといわざるを得ない。本態性高血圧症群、正常血圧対照群ともに Na-Li 対向輸送は赤血球内 Na 濃度、Na-K ポンプ活性、あるいは Na-K 共輸送と有意の相関を示さなかった。また、本態性高血圧症患者に食塩負荷をおこなっても Na-Li 対向輸送は一定の変化を示さず、Na-K ポンプ、Na-K 共輸送とは独立した輸送系であると考えられた。この結果は、高校生を対象として食塩摂取量変化前後で Na-Li 対向輸送を測定し一定の変化を認めなかったという Cooper ら<sup>13)</sup>の結果と一致するものであった。

正常血圧対照群、本態性高血圧症群ともに血圧と赤血球内 Na 濃度との間に有意の相関が認められず、減塩期、増塩期ともに血圧と赤血球内 Na 濃度と間に有意の相関は認められなかった。しかしながら本態性高血圧症患者の増塩に伴う血圧の変化率と赤血球内 Na 濃度の変化率との間には有意の正の相関が存在した。今回の成績は、大島<sup>29)</sup>の食塩負荷に伴う血圧変化には細胞内 Na, Ca 濃度変化が関連しているという報告と一致した。これらの結果より血圧の調節には細胞内 Na 濃度以外にも多くの因子が関与しているが、

食塩負荷に伴う血圧の変化には Na-K ポンプ活性, Na-K 共輸送の変化を介した細胞内 Na 濃度変化の関与が強いと考えられた。

以上, 1) 赤血球内 Na 濃度の高値傾向, Na-K ポンプ活性の抑制傾向, Na-K 共輸送の抑制および Na-Li 対向輸送の亢進が本態性高血圧症患者における赤血球膜 Na 輸送の特徴であること, 2) Na-K ポンプのみならず Na-K 共輸送も赤血球内 Na 濃度と関連していること, 3) 本態性高血圧症患者の増塩に伴う平均血圧の変化率, すなわち食塩感受性は赤血球内 Na 濃度の変化率と関連していることが明らかとなった。

### 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・梶山梧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, 大島哲也博士, 藤井秀昭博士, 松本公治博士に謝意を表します。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50回, 第52回, 第53回日本循環器学会学術集会, 第59回米国心臓病学会において発表した。

### 参 考 文 献

1. Aalkjaer, C., Heagerty, A. M., Parvin, S. D., Bell, P. R. F., Bing, R. F. and Swales, J. D. 1986. Cell membrane sodium transport: a correlation between human resistance vessels and leucocytes. *Lancet* i: 649-651.
2. Adragna, N. C., Canessa, M. L., Solomon, H., Slater, E. and Tosteson, D. C. 1982. Red cell lithium-sodium countertransport and sodium-potassium cotransport in patients with essential hypertension. *Hypertension* 4:795-804.
3. Adragna, N. C., Canessa, M. L., Bize, I., Garay, R. and Tosteson, D. C. 1980. (Na+K) co-transport and cell volume in human red blood cells. *Fed. Proc.* 39:1842.
4. Ambrosioni, E., Costa, F. V., Borghi, C., Montebugnoli, L., Giordani, M. F. and Magnani, B. 1982. Effects of moderate salt restriction on intralymphocytic sodium and pressor response to stress in borderline hypertension. *Hypertension* 4:789-794.
5. Ambrosioni, E., Costa, F. V., Montebugnoli, L., Tartagni, F. and Magnani, B. 1981. Increased intralymphocytic sodium content in essential hypertension: an index of impaired Na<sup>+</sup> cellular metabolism. *Clin. Sci.* 61:181-186.
6. Aronson, P. S. 1982. Red-cell sodium-lithium countertransport and essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 307:317.
7. Birks, R. I. and Langlois, S. 1982. Ouabain-insensitive net sodium influx in erythrocytes of normotensive and essential hypertensive humans. *Proc. R. Soc. Lond. B*216:53-69.
8. Blaustein, M. P. 1977. Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation, and hypertension: a reassessment and a hypothesis. *Am. J. Physiol.* 232:C165-C173.
9. Boon, N. A., Harper, C., Aronson, J. K. and Smith, D. G. G. 1985. Cation transport functions in vitro in patients with untreated essential hypertension: a comparison of erythrocytes and leucocytes. *Clin. Sci.* 68: 511-515.
10. Campese, V. M., Romoff, M. S., Levitan, D., Saglikes, Y., Friedler, R. M. and Massry, S. G. 1982. Abnormal relationship between sodium intake and sympathetic nervous system activity in salt-sensitive patients with essential hypertension. *Kidney Int.* 21: 371-378.
11. Canessa, M., Adragna, N., Solomon, H. S., Connolly, T. M. and Tosteson, D. C. 1980. Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 302:772-776.
12. Cole, C. H. 1983. Erythrocyte membrane sodium transport in patients with treated and untreated essential hypertension. *Circulation* 68:17-22.
13. Cooper, R., Trevisan, M., Horn, L. V., Larbi, E., Liu, K., Nanas, S., Ueshima, H., Sempos, C., Ostrow, D. and Stamler, J. 1984. Effect of dietary sodium reduction on red blood cell sodium concentration and sodium-lithium countertransport. *Hypertension* 6:731-735.
14. Cumberbatch, M. and Morgan, B. 1978. A simple technique for the measurement of ouabain-sensitive sodium transport in red cells. *Clin. Chim. Acta* 89:221-230.
15. Dagher, G. and Garay, R. P. 1980. A Na, K co-transport assay for essential hypertension. *Can. J. Biochem.* 58:1069-1074.
16. Dahl, L. K., Knudsen, K. D. and Iwai,

- J. 1969. Humoral transmission of hypertension: Evidence from parabiosis. *Circ. Res.* 24: 21-33.
17. **de Wardner, 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.
18. **Fujita, T., Henry, W. L., Bartter, F. C., Lake, C. R. and Delea, C. S.** 1980. Factors influencing blood pressure in salt-sensitive patients with hypertension. *Am. J. Med.* 69: 334-344.
19. **Garay, R., Adragna, N., Canessa, M. and Tosteson, D.** 1981. Outward sodium and potassium cotransport in human red cells. *J. Membrane. Biol.* 62:169-174.
20. **Garay, R. P. and Nazaret, C.** 1985. Na<sup>+</sup> leak in erythrocytes from essential hypertensive patients. *Clin. Sci.* 69:613-624.
21. **Haddy, F., Pannani, M. and Clough, D.** 1978. The sodium-potassium pump in volume expanded hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.* 1:295-336.
22. **Johansen, L.** 1967. Hemodynamics in early essential hypertension. *Acta. Medica. Scandinavica.* 183(Suppl. 482):8-101.
23. **Kahn, A. M.** 1987. Difference between human red blood cell Na<sup>+</sup>-Li<sup>+</sup> counter transport and renal Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchange. *Hypertension* 9:7-12.
24. **Kido, K., Matsuura, H., Matsumoto, K., Fujii, H., Oshima, T., Otsuki, T., Watanabe, M., Kajiyama, G. and Motonaga, K.** 1988. Regulation mechanisms of intracellular sodium concentration in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis. *Jpn. J. Nephrol.* 30:1147-1152.
25. **Kido, K., Matsuura, H., Otsuki, T., Matsumoto, K., Shingu, T., Oshima, T., Inoue, I. and Kajiyama, G.** 1989. Sodium chloride sensitivity, intracellular sodium concentration in erythrocytes and lymphocytes, and renin profile in essential hypertension. *Jpn. Circ. J.* 53:101-107.
26. **Kwan, C. Y.** 1985. Dysfunction of calcium handling by smooth muscle in hypertension. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 63:366-374.
27. **松本公治** 1989. 本態性高血圧症における赤血球内 Na 濃度について—一男性1445例の統計的解析—。 *内科宝函* 36: 69-76.
28. **Mahnensmith, R. L. and Aronson, P. S.** 1985. The plasma membrane sodium-hydrogen exchanger and its role in physiological and pathophysiological processes. *Circ. Res.* 57:773-788.
29. **大島哲也** 1987. 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. *広島大学医学雑誌* 35: 1329-1339.
30. **Price, M., Hannaert, P., Dagher, G. and Garay, R. P.** 1984. Interaction of internal Na<sup>+</sup> and external K<sup>+</sup> with the erythrocyte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> cotransport system in essential hypertension. *Hypertension* 6:352-359.
31. **Rankin, L. I., Luft, F. C., Henry, D. P., Gibbs, P. S. and Weinberger, M. H.** 1981. Sodium intake alters the effects of norepinephrine on blood pressure. *Hypertension* 3:650-656.
32. **Saito, K., Furuta, Y. and Fukuzaki, H.** 1984. Abnormal red cell sodium content and efflux in Japanese patients with essential hypertension. *Jpn. Circ. J.* 48:980-987.
33. **Simon, G. and Conklin, D. J.** 1986. In vivo erythrocytes sodium concentration in human hypertension is reduced, not increased. *J. Hypertens.* 4:71-75.
34. **Skrabal, F., Herholz, H., Neumayr, M., Hamberger, L., Ledochowski, M., Sporer, H., Hörtnagl, H., Schwarz, S. and Schönitzer, D.** 1984. Salt sensitivity in humans is linked to enhanced sympathetic responsiveness and to enhanced proximal tubular reabsorption. *Hypertension* 6:152-158.
35. **Smith, J. B., Ash, K. O., Hunt, S. C., Hentschel, W. M., Sprowell, W., Dadone, M. M. and Williams, R. R.** 1984. Three red cell sodium transport systems in hypertensive and normotensive Utah adults. *Hypertension* 6:159-166.
36. **Swarts, H. G. P., Bonting, S. L., Pont, H. H. M., Stekhoven, F. M. A. H. S., Thien, T. A. and Laar, A. V.** 1981. Cation fluxes and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> activated ATPase activity in erythrocytes of patients with essential hypertension. *Hypertension* 3:641-649.
37. **Tuck, M. L., Gross, C., Maxwell, M. H., Brickman, A. S., Krasnoshtein, G. and Mayes, D.** 1984. Erythrocyte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> cotransport and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> pump in black and caucasian hypertensive patients. *Hypertension* 6:536-544.
38. **Turner, S. T., Boerwinkle, E., Johnson, M., Richelson, E. and Sing, C. F.** 1987. Sodium-lithium countertransport in ambulatory hypertensive and normotensive patients. *Hypertension* 9:24-34.

## A Study of Sodium Transport Systems of Erythrocytes from Patients with Essential Hypertension

Koji KIDO

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

The aim of this study is to investigate the characteristics of sodium transport systems in erythrocytes and the relationship between changes in blood pressure after salt loading and those in patients with essential hypertension (HT).

Study 1: Simultaneous measurements of intraerythrocytic sodium concentration ( $[Na]_i$ ), activities of Na-K pump (Pump), activities of Na-K cotransport (COT) and activities of Na-Li countertransport (SLC) were made in both HT and normotensive controls (NT) under regular salt diet (8-10 g/day). In HT,  $[Na]_i$  and SLC were higher and Pump and COT were lower than those in NT.  $[Na]_i$  was negatively correlated with Pump but positively with COT.

Study 2: Blood pressure,  $[Na]_i$ , Pump, COT and SLC were measured in HT during low salt diet (3 g/day) of one week and during high salt diet (20 g/day) of one week.  $[Na]_i$  and COT were increased and Pump was inhibited in salt-sensitive patients whose mean blood pressure changing from low to high salt diet increased by more than 5%, but were unchanged in nonsalt-sensitive patients. Percent changes in  $[Na]_i$  from low to high salt diet were negatively correlated with those in Pump but positively with those in COT.

The results of these studies indicate that:

- 1) sodium transport systems in HT were characterized by reduced Pump and COT and elevated  $[Na]_i$  and SLC,
- 2)  $[Na]_i$  is related not only to Pump but also to COT, and
- 3) changes in  $[Na]_i$  after salt loading participate in changes in blood pressure after salt loading.