# 第19回　日本高血圧学会総会

会　長：阿　部　圭　志

会　期：平成8年10月3日（木）～5日（土）

会　場：宮城県民会館

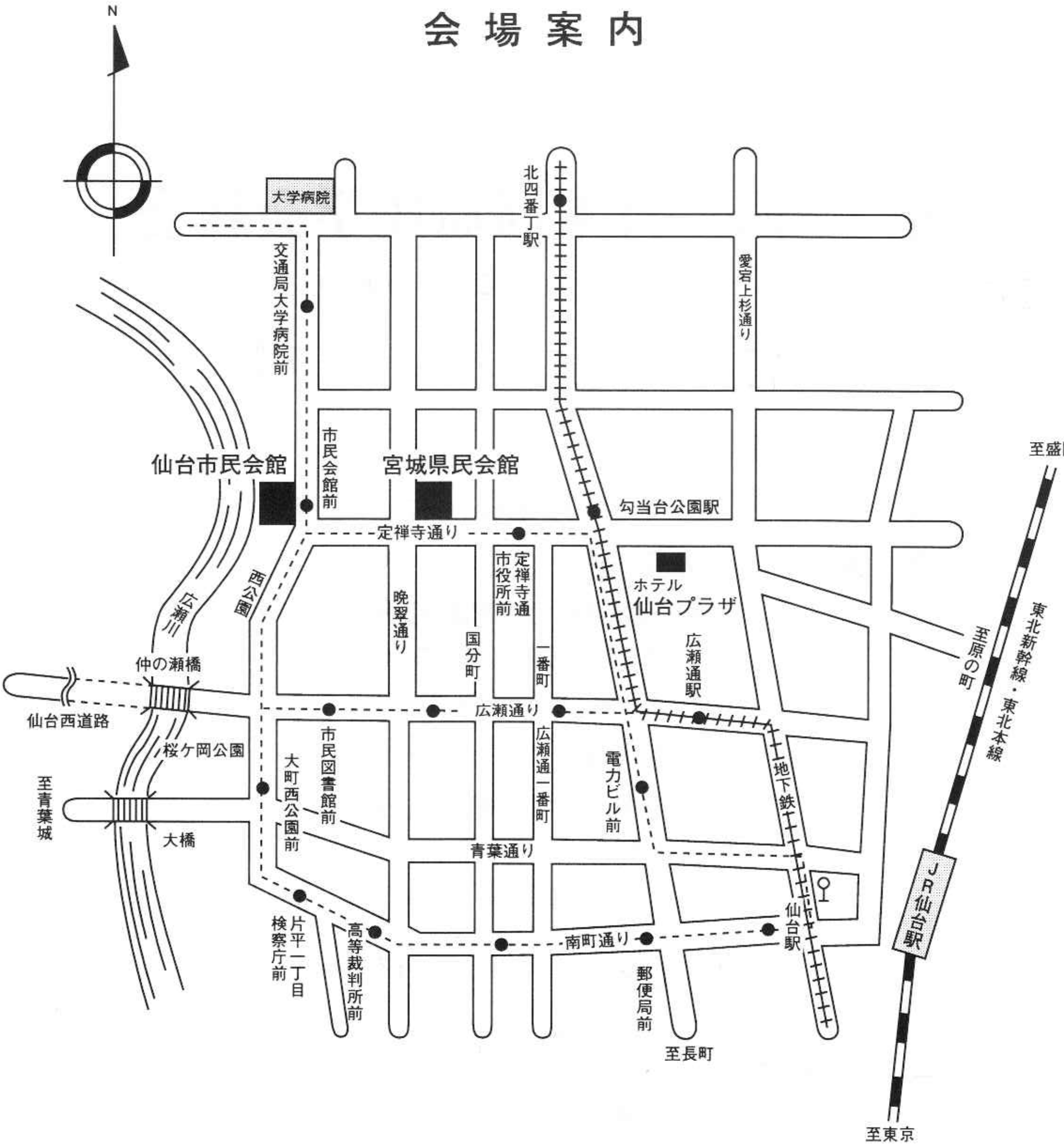
〒980 宮城県仙台市青葉区国分町3－3－7
TEL（022）225-8641
FAX（022）223-8728

仙台市民会館

〒980 宮城県仙台市青葉区桜ヶ岡公園4－1
TEL（022）262-4721
FAX（022）215-3950

連絡先：第19回 日本高血圧学会総会　事務局
東北大学医学部第二内科学教室
〒980-77　宮城県仙台市青葉区星陵町1－1
TEL（022）717-7163，（022）717-7167
FAX（022）717-7168

# 会 場 案 内




## 交通案内

《宮城県民会館まで》

仙台市地下鉄：勾当台公園駅下車 徒歩５分
タクシー　　：JR 仙台駅 → 宮城県民会館 約10分

《仙台市民会館まで》

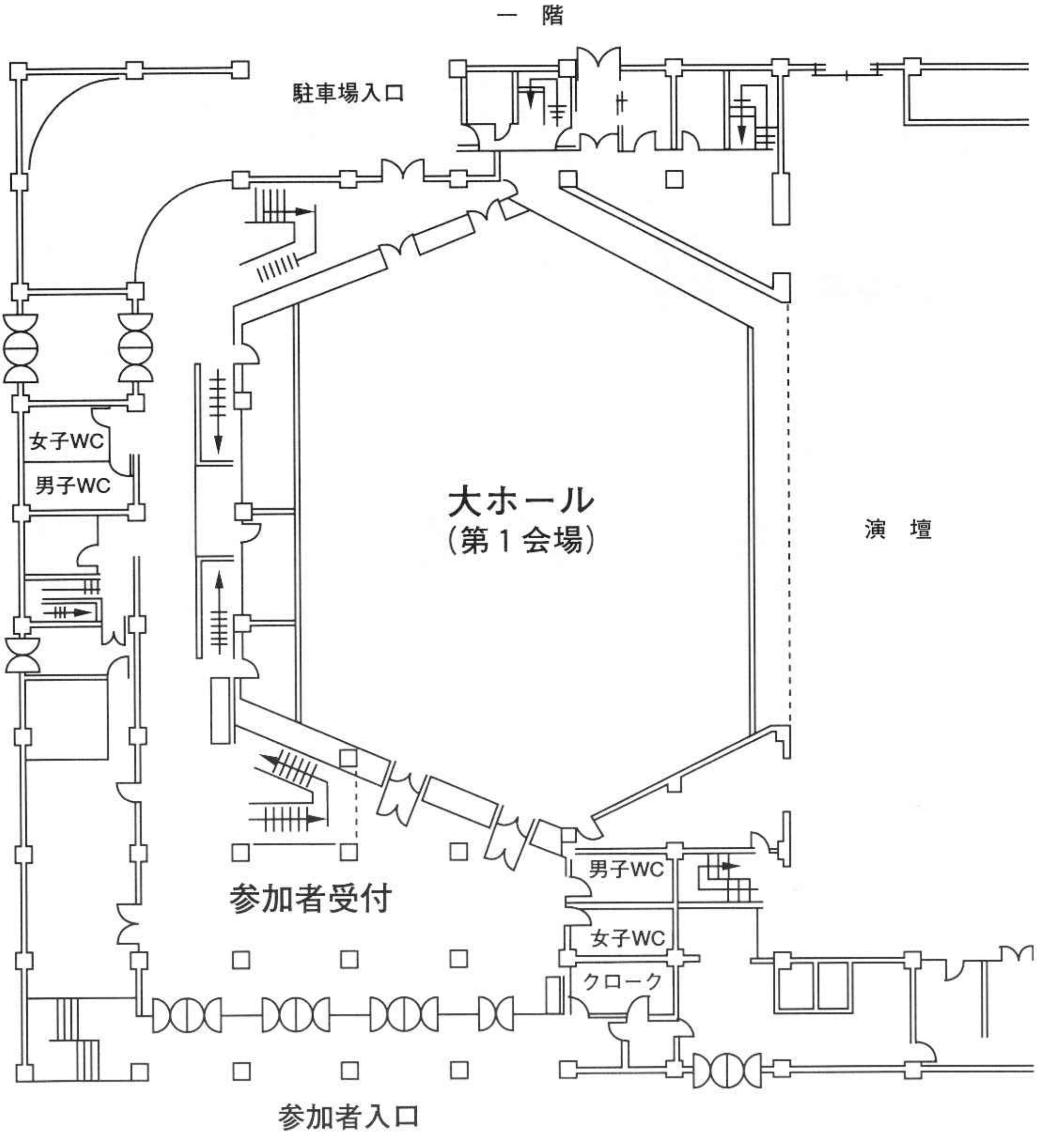
仙台市地下鉄：勾当台公園駅下車 徒歩10分
タクシー　　：JR 仙台駅 → 仙台市民会館 約15分

《ホテル仙台プラザ》

仙台市地下鉄：勾当台公園駅下車 徒歩５分
タクシー　　：JR 仙台駅 → ホテル仙台プラザ 約10分

# 会場案内図(1)

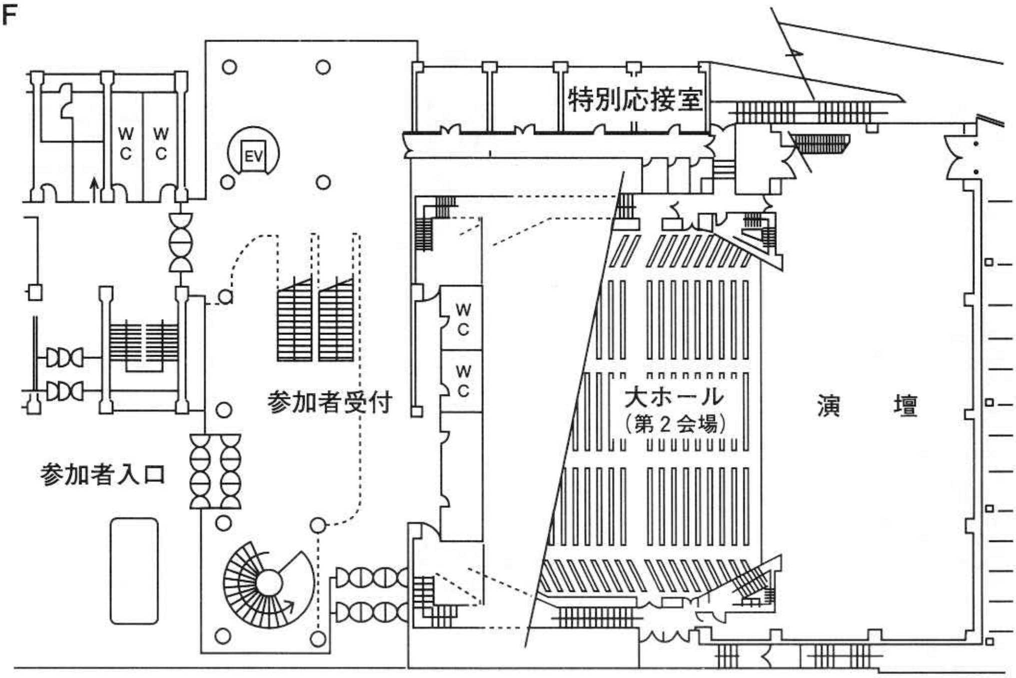
## 宮城県民会館



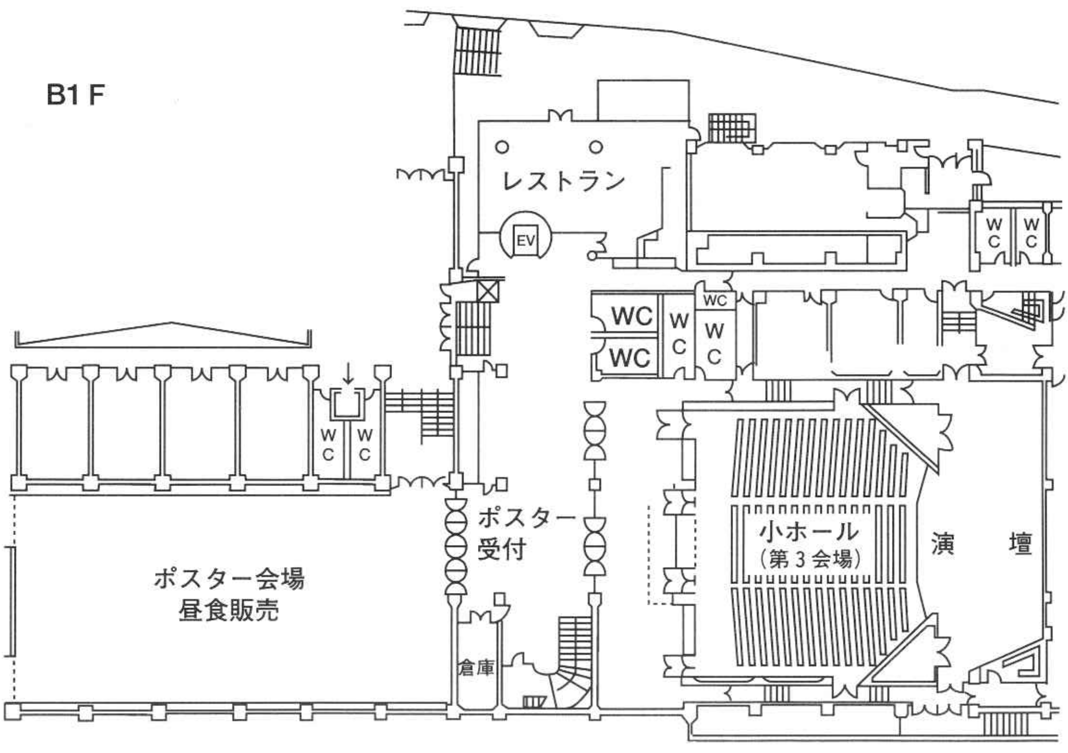
# 会場案内図(2)

## 仙台市民会館

1 F




B1 F



# 一般演題選考委員

（五十音順，敬称略）

| | | |
|---|---|---|
| 安部陽一 | 荒川規矩男 | 飯村攻 |
| 石井當男 | 今泉勉 | 岩尾洋 |
| 上島弘嗣 | 江藤胤尚 | 海老原昭夫 |
| 荻原俊男 | 小澤利男 | 片山茂裕 |
| 金子好宏 | 菊池健次郎 | 木村玄次郎 |
| 久代登志男 | 黒川清 | 斎藤郁夫 |
| 猿田享男 | 島田和幸 | 島本和明 |
| 高橋伯夫 | 高畠利一 | 竹下彰 |
| 築山久一郎 | 出村博 | 戸田昇 |
| 永井良三 | 中尾一和 | 中川雅夫 |
| 名和田新 | 西尾一郎 | 二宮石雄 |
| 平田結喜緒 | 日和田邦男 | 柊山幸志郎 |
| 藤島正敏 | 藤田敏郎 | 松岡博昭 |
| 丸茂文昭 | 三浦幸雄 | 三須良實 |
| 宮崎瑞夫 | 村上和雄 | 矢崎義雄 |
| 保嶋実 | 家森幸男 | 吉村学 |

（48名）

## 一般演題選考経過

一般演題は口演発表，Young Investigator Travel Awardはポスター発表として演題を公募した。一般演題の応募は210題（基礎研究148題，臨床研究62題），Young Investigator Travel Awardは34題の計244題であった。それぞれの応募演題を３名の選考委員に10点法による絶対評価を依頼した。一般演題は１講座から最高２題までの採用とした。午後に基礎研究と臨床研究発表を並列して行えるように２会場制とした結果，基礎研究49題，臨床49題の計98題の一般演題を，Young Investigator Travel Awardは30題を採択した。

# 参加者へのご案内

1．受　付　前日の10月２日（水）午後３時より８時まで，及び学会期間中の午前８時45分より宮城県民会館及び仙台市民会館の会場入口の参加者受付で行います。参加費5,000円を納めた上，参加章をお受け取り下さい。参加章は会期中，胸に付けて下さい。
期間中日本循環器学会専門医の認定単位の登録を行います。また，参加章のコピーで日本腎臓学会，日本老年医学会の専門医の認定単位が取れます。

2．評議員会　前日の10月２日（水），午後６時から７時まで ホテル仙台プラザ３階 松島で行います。

3．総　会　第１日，10月３日（木），午後12時15分から12時45分まで，宮城県民会館の講演会場にて行います。

4．食　事　10月３日・４日の昼食は仙台市民会館のポスター展示室前にて販売します。また会場周辺に食堂がありますのでご利用下さい。

# 発表者と討論者へのご案内

1．口　演　**スライド発表**とし，**１演題講演８分**，**討論７分**です。演者は指定の時間を厳守して下さい。なお**次演者**は必ず**次演者席**で待機願います。
35㎜スライドプロジェクター１台を用意します。スライド数は**10枚（うち１枚は結論）**までに制限します。スライドは講演開始の30分前（午前の第１演題は15分前）までにスライド受付にお渡し下さい。

2．ポスター発表　Young Investigator Travel Awardの応募演題は，ポスター発表です。前日，10月２日の午後３時から８時までに，仙台市民会館展示室（Ｂ１Ｆ）に貼付して下さい。ポスターの大きさは，縦200㎝×横170㎝です。ポスター討論は，第２日10月４日（金）午後12時30分から１時30分の間に行い，発表５分 討論５分です。

3．英文抄録　発表演題の英文抄録は，学会誌「HYPERTENSION RESEARCH －Clinical and Experimental－」誌に掲載されます。英文抄録は，既にお送りした抄録作成要領に従って作成し，会期中にスライド又はポスター受付へご提出下さい。

4．討　論　会場に討論者用スタンドマイクを設置しています。討論希望者はあらかじめ最寄りのマイクの前に移動して下さい。発言は座長の指示に従い，所属と名前を述べてからご発言下さい。なお，討論は記録致しません。

# 座長へのお願い

1．座長予定者は口演の場合は30分前，ポスターの場合は15分前までに座長受付までおいで下さい。
2．登壇前は，**次座長席**で待機願います。
3．活発な討論が行われるよう，積極的な司会をお願い致します。ただし，プログラムの指定時間を厳守して下さい。

# 一般演題座長氏名

## 第1日　10月3日（木）

### 〈宮城県民会館〉

| | | | |
|---|---|---|---|
| 午　前 | 1～2 | 村　上　和　雄 | 筑波大学応用生物化学系 |
| | 3～4 | 矢　崎　義　雄 | 東京大学医学部第三内科 |
| | 5～6 | 山　本　研二郎 | 大阪市立大学 |
| | 7～9 | 飯　村　　　攻 | 札幌鉄道病院 |

11:30 - 12:15

### 〈仙台市民会館　大ホール〉

| | | | |
|---|---|---|---|
| 午　後 | 10～11 | 安　部　陽　一 | 香川医科大学薬理学 |
| | 12～13 | 武　田　忠　直 | 大阪市立大学第一内科（前教授） |
| | 14～15 | 中　尾　一　和 | 京都大学医学部第二内科 |
| | 16～17 | 戸　田　　　昇 | 滋賀医科大学薬理学 |
| | 18～$\boxed{19}$ | 家　森　幸　男 | 京都大学大学院人間・環境学研究科 |
| | 20～21 | 高　畠　利　一 | 島根医科大学第四内科 |
| | 22～23 | 西　尾　一　郎 | 和歌山県立医科大学循環器内科 |
| | 24～25 | 江　藤　胤　尚 | 宮崎医科大学第一内科 |
| | 26～27 | 高　橋　伯　夫 | 関西医科大学病態検査学 |

### 〈仙台市民会館　小ホール〉

| | | | |
|---|---|---|---|
| 午　後 | 28～29 | 柊　山　幸志郎 | 琉球大学医学部第三内科 |
| | 30～31 山田 | 上　島　弘　嗣 | 滋賀医科大学福祉保健医学 |
| | 32～33 | 小　澤　利　男 | 東京都老人医療センター |
| | 34～35 | 島　田　和　幸 | 自治医科大学循環器内科 |
| | 36～37 | 築　山　久一郎 | 神奈川県立がんセンター循環器科 |
| | 38～39 | 吉　村　　　学 | 京都府立医科大学臨床検査医学 |
| | 40～41 | 三　浦　幸　雄 | 東北大学大学院病態生理情報学 |
| | 42～43 | 島　本　和　明 | 札幌医科大学第二内科 |
| | 44～45 | 小野山　　　薫 | 新日鐵八幡製鐵所病院 |

## 第２日　　10月４日（金）

〈宮城県民会館〉

| | | | |
|---|---|---|---|
| 午　前 | 46～48 | 猿　田　享　男 | 慶應義塾大学医学部内科 |
| | 49～50 | 石　井　當　男 | 横浜市立大学医学部第二内科 |

10:30－11:15, 会長 11:15－12:00

〈仙台市民会館 大ホール〉

| | | | |
|---|---|---|---|
| 午　後 | 51～52 | 荻　原　俊　男 | 大阪大学医学部第四内科 |
| gene | 53～54 | 丸　茂　文　昭 | 東京医科歯科大学医学部第二内科 |
| | 55～56 | 藤　田　敏　郎 | 東京大学医学部第四内科 |
| | 57～58 | 出　村　　　博 | 東京女子医科大学第二内科 |
| | 59～60 | 岩　尾　　　洋 | 大阪市立大学医学部薬理学 |
| | 61～62 | 松　岡　博　昭 | 獨協医科大学循環器内科 |
| | 63～64 | 片　山　茂　裕 | 埼玉医科大学第四内科 |
| | 65～66 I2抑制 | 保　嶋　　　実 | 弘前大学医学部臨床検査医学 |
| | 67～68 | 宮　崎　瑞　夫 | 大阪医科大学薬理学 |
| | 69～70 | 二　宮　石　雄 | 広島大学医学部保健学 |

〈仙台市民会館 小ホール〉

| | | | |
|---|---|---|---|
| 午　後 | 71～72 | 大　内　尉　義 | 東京大学医学部老年病学 |
| olo | 73～74 | 蔵　本　　　築 | 東京都老人医療センター |
| | 75～76 南 | 金　子　好　宏 | 横浜高血圧研究センター |
| | 77～78 | 菊　池　健次郎 | 旭川医科大学第一内科 |
| | 79～80 | 道　場　信　孝 | 帝京大学市原病院第三内科 |
| PS | 81～82 UAE | 海老原　昭　夫 | 小山市民病院 |
| | 83～84 | 藤　井　　　潤 | 朝日生命成人病研究所 |
| | 85～86 | 今　泉　　　勉 | 久留米大学医学部第三内科 |
| | 87～88 | 福　地　総　逸 | 脳神経疾患研究所南東北病院 |
| | 89～90 | 藤　島　正　敏 | 九州大学医学部第二内科 |

## 第3日　10月5日（土）

〈宮城県民会館〉

| | | | |
|---|---|---|---|
| 午　前 | 91〜94 | 日和田　邦　男 | 愛媛大学医学部第二内科 |
| | | 竹　下　　彰 | 九州大学医学部循環器内科 |
| | 95〜98 | 黒　川　　清 | 東海大学医学部 |
| | | 伊　藤　貞　嘉 | 東北大学医学部第二内科 |

## Young Investigator Travel Award（ポスター発表）

## 第2日　10月4日（金）　12：30〜13：30

| | | |
|---|---|---|
| P-1〜P-6 | 鈴　木　洋　通 | 埼玉医科大学腎臓病センター |
| P-7〜P-12 | 池　田　正　春 | 産業医科大学産業生態科学研究所 |
| P-13〜P-18 | 永　井　良　三 | 群馬大学医学部第二内科 |
| P-19〜P-24 | 冨　田　公　夫 | 熊本大学医学部第三内科 |
| P-25〜P-30 | 瀧　下　修　一 | 国立循環器病センター内科 |

# 第19回 日本高血圧学会総会　プログラム

## 第1日　10月3日（木）

〈宮城県民会館〉

| | |
|---|---|
| 8：50～9：00 | 開会の辞 |
| 9：00～10：30 | プレナリーセッション　1－6（6題） |
| 10：30～10：45 | 休　憩 |
| 10：45～11：30 | プレナリーセッション　7－9（3題） |
| 11：30～12：15 | 招待講演 I　　座長　福岡大学医学部第二内科　荒川規矩男<br>「Angiotensin II：Molecular Mechanisms in the Vascular Wall」<br>Professor R. Wayne Alexander (U.S.A.) |
| 12：15～12：45 | 総　会 |
| 12：45～13：45 | 昼　食 |

〈仙台市民会館〉

| | |
|---|---|
| 13：45～16：15 | 一般演題　10－19（10題）<br>28－37（10題） |
| 16：15～16：30 | 休　憩 |
| 16：30～18：30 | 一般演題　20－27（8題）<br>38－45（8題） |

（19：00～　生涯教育講座：ホテル仙台プラザ）

## 第2日　10月4日（金）

〈宮城県民会館〉

| | |
|---|---|
| 9：00～10：15 | プレナリーセッション　46－50（5題） |
| 10：15～10：30 | 休　憩 |
| 10：30～11：15 | 招待講演 II　座長　国立循環器病センター 名誉総長　尾前照雄<br>「Cardiovascular Significance of the Renin Angiotensin System」<br>Professor Colin I. Johnston (Australia) |
| 11：15～12：00 | 会長講演　　座長　東北労災病院 病院長　吉永　馨<br>「腎と高血圧」<br>阿部圭志　東北大学医学部第二内科 |
| 12：00～12：30 | 昼　食 |

〈仙台市民会館〉

| | |
|---|---|
| 12：30～13：30 | ポスターセッション |
| 13：45～16：15 | 一般演題　51－60（10題）<br>71－80（10題） |
| 16：15～16：30 | 休　憩 |
| 16：30～19：00 | 一般演題　61－70（10題）<br>81－90（10題） |

**第３日　10月５日（土）**

**〈宮城県民会館〉**

| | |
|---|---|
| 9：00～9：20 | オーバービュー |
| 9：20～10：20 | 主題：心　91－94（４題） |
| 10：20～10：45 | 総合討論 |
| 10：45～11：00 | 休　　憩 |
| 11：00～11：20 | オーバービュー |
| 11：20～12：20 | 主題：腎　95－98（４題） |
| 12：20～12：45 | 総合討論 |
| 12：45～12：55 | Young Investigator Travel Award授与 |
| 12：55～13：00 | 閉会の辞 |
| 14：00～17：00 | サテライトシンポジウム<br>「降圧薬の臨床評価の問題点を探る」 |

# 一 般 演 題

**第1日　10月3日（木）　宮城県民会館　大ホール（第1会場）**

8：50〜9：00　**開会の辞**

9：00〜9：30　**プレナリーセッションⅠ**　　**座長　村上和雄**

| | |
|---|---|
| 01 | ラットトロンボキサン受容体遺伝子の発現調節機構<br>東北大学医学部病態液性調節学　高橋信行<br>東北大学医学部第二内科　竹内和久、谷山佳弘、加藤太郎、阿部高明、阿部圭志 |
| 02 | 高血圧自然発症ラット由来血管平滑筋細胞は単一細胞系でアンジオテンシンⅡを産生している<br>日本大学医学部第二内科　福田　昇、相馬正義、佐藤　力、渡辺吉康、岸岡博文、中山智祥、泉　洋一、上松瀬勝男 |

9：30〜10：00　**プレナリーセッションⅡ**　　**座長　矢崎義雄**

| | |
|---|---|
| 03 | 新しい心筋肥大因子 Cardiotrophin - 1の高血圧性心肥大における意義<br>京都大学医学部臨床病態医科学・第二内科　斎藤能彦、石川匡洋、宮本恵宏、桑原宏一郎、小川恵美子、原田昌樹、中川　修、中山雅文、浜中一郎、梶山　登、伊藤　裕、桝田　出、中尾一和 |
| 04 | 本態性高血圧症の成因に占める頭側延髄腹外側野への動脈性圧迫の役割<br>京都府立医科大学第二内科　佐々木享、森本　聡、三木茂行、河　哲吉、伊東　宏、中田徹男、武田和夫、中川雅夫<br>同　放射線科　古谷誠一、成瀬昭二、前田知穂 |

10：00〜10：30　**プレナリーセッションⅢ**　　**座長　山本研二郎**

| | |
|---|---|
| 05 | アンジオテンシンⅡ拮抗薬の心筋症抑制作用とその機序の解析<br>大阪医科大学薬理学　塩田直孝、高井真司、左近上博司、小山　守、中村憲史、宮崎瑞夫 |
| 06 | ACE 遺伝子多型性は高血圧運動療法の降圧効果と関連する<br>福岡大学医学部第二内科　堺　孝明、朔啓二郎、張　波、白　懐、田代英一郎、古賀　学、木下昭生、出石宗仁、荒川規矩男<br>同　体育学部運動生理学*　清永　明* |

10：30〜10：45　**休　憩**

10：45～11：30　**プレナリーセッションⅣ**　**座長　飯村　攻**

| | |
|---|---|
| 07 | 血圧の脳卒中死亡に及ぼす影響評価とその改善効果の危険度評価システム<br>－国民の代表標本の14年間のフォローアップ調査結果（NIPPON DATA 1980）－<br>滋賀医科大学福祉保健医学　岡山　明、上島弘嗣<br>札幌鉄道病院　飯村　攻<br>札幌医科大学第二内科　田中繁道<br>NIPPON DATA研究グループを代表して |
| 08 | わが国における高齢高血圧者の治療の現況<br>琉球大学医学部第三内科　村谷博美、柊山幸志郎、神山朝政、木村頼雄<br>厚生省長寿科学総合研究事業「高齢者の高血圧等慢性病態に対する薬物療法の評価に関する研究」班（代表 尾前照雄） |
| 09 | 本態性高血圧のremission<br>朝日生命成人病研究所　杉山卓郎、喜楽順一、芦田映直、藤井　潤 |

11：30～12：15　**招待講演 Ⅰ**　**座長　荒川規矩男**

**Angiotensin Ⅱ： Molecular Mechanisms in the Vascular Wall**

Professor R. Wayne Alexander（U.S.A.）

12：15～12：45　**総　　会**

12：45～13：45　**昼　　食**

## 第１日目　10月３日（木）　仙台市民会館　大ホール（第２会場）　＝基　礎＝

13：45〜14：15　　**レニン・アンジオテンシン系（Ⅰ）**　　　座長　安部陽一

| | |
|---|---|
| 10 | Goldblatt高血圧ハムスターにおけるACE阻害薬とAT1受容体拮抗薬の効果の比較検討<br>福岡大学医学部第二内科　中山　秀、上原吉就、木下昭生、浦田秀則、笹栗　学、出石宗仁、荒川規矩男 |
| 11 | 慢性高血圧維持機構におけるアンジオテンシン変換酵素とキマーゼの２つのアンジオテンシンⅡ産生酵素の役割<br>大阪医科大学薬理学　高井真司、金　徳男、塩田直孝、宮崎瑞夫 |

14：15〜14：45　　**レニン・アンジオテンシン系（Ⅱ）**　　　座長　武田忠直

| | |
|---|---|
| 12 | つくば高血圧マウスの心肥大及び腎障害におけるレニン・アンジオテンシン系の作用についての検討<br>近畿大学医学部第一内科　甲斐達也、木野博文、浜　純吉[1]、竹中俊彦、<br>国立泉北病院循環器科[1]　杉村圭一、鴨井公司、島田誠二郎、黒岡京浩、<br>筑波大学応用生物化学系[2]　上原小百合[3]、土田　稔[3]、深水昭吉[2]、村上和雄[2]、<br>萬有製薬つくば研究所[3]　香取　瞭 |
| 13 | 高血圧による傷害血管壁リモデリング機構における血小板由来成長因子受容体の役割について<br>愛媛大学医学部第二内科　北見　裕、福岡富和、大蔵隆文、間口元文、伊賀瀬道也、Deng Li-Zhi、小原克彦、日和田邦男 |

14：45〜15：15　　**血　　管**　　　座長　中尾一和

| | |
|---|---|
| 14 | 高血圧性動脈壁肥大におけるアンジオテンシンⅡを介したJak/STAT細胞内情報伝達系の関与<br>大阪市立大学医学部第一内科　根来伸夫、金山良春、井上圭右、崔　吉永、原口正史、岡村幹夫、井上隆智、吉川純一 |
| 15 | 組織レニン－アンジオテンシン系と血管内皮特異的増殖因子HGF（肝細胞再生因子）との関連<br>大阪大学医学部第四内科　中野信明、守口　篤、森下竜一、長野正広、<br>同　腫瘍生化学*　姚　香景、神出　計、木田岩男、中村成史、三上　洋、山田和生、松本邦夫*、中村敏一*、桧垣實男、荻原俊男 |

15：15〜15：45　**腎とＮＯ**　　**座長　戸田　昇**

| | |
|---|---|
| 16 | 一酸化窒素（NO）は虚血性腎障害の防御因子である<br>埼玉医科大学腎臓病センター　中元秀友、岡田浩一、鈴木洋通 |
| 17 | DOCA - salt ラット高血圧の成因における Tetrahydrobiopterin の関与<br>大阪市立大学医学部第一内科　井上圭右、岡村幹夫、原口正史、崔　吉永、小西昌代、根来伸夫、井上隆智、金山良春、吉川純一<br>同　小児科　新宅治夫 |

15：45〜16：15　**腎と食塩**　　**座長　家森幸男**

| | |
|---|---|
| 18 | 食塩非感受性ラットに対する低用量N-nitro-L-arginine投与による食塩感受性の出現<br>日本大学医学部駿河台病院循環器科　麻上朋子、久代登志男、秋元秀郎、石井利明、高橋敦彦、阿部田ひろみ、日野　亨、岡部龍也、斎藤文雄、大塚雄司、車谷　仁、梶原長雄、上松瀬勝男 |
| 19 | 高血圧ラットの尿細管糸球体フィードバック機構に対するアドレノメジュリンの影響<br>島根医科大学第四内科　小川哲也、川端雅彦、韓　文華、高畠利一 |

16：15〜16：30　**休　憩**

16：30〜17：00　**腎血行動態**　　**座長　高畠利一**

| | |
|---|---|
| 20 | 腎輸入細動脈におけるnitric oxideを介したAngiotensineⅡ(3-8)の血管拡張作用<br>－家兎腎皮質単離微細灌流輸入細動脈を用いた検討－<br>和歌山県立医科大学循環器内科　塩谷雅彦、羽野卓三、川辺哲也、馬場　章、佐谷　修、水越正人、中久保博*、稲上　正*、西尾一郎<br>バンダービルト大学生化学* |
| 21 | 腎血管床におけるアデノシンとアンジオテンシンⅡの相互作用<br>香川医科大学薬理学　安岐康晴、西山　成、友廣敦文、清元加代、木村正司、玉置俊晃、安部陽一 |

17：00～17：30　**アドレノメデュリン**　　座長　西尾一郎

| | |
|---|---|
| 22 | 血中および尿中アドレノメデュリン（AM）の本態とSHR/Izmにおける動態<br>宮崎医科大学第一内科　北村和雄、加藤丈司、石山雄一郎、下窪　徹、<br>国立循環器病センター研究所*　桑迫健二、坂田純一郎、寒川賢治*、江藤胤尚 |
| 23 | アドレノメデュリンの血管内皮細胞における増殖抑制作用<br>－オートクリン／パラクリン調節因子としての役割－<br>京都大学医学部臨床病態医科学・第二内科[1]　道端英雄[1,2]、向山政志[1]、田中一成[1]、<br>京都薬科大学薬品化学[2]　菅　真一[1]、中川眞代[1]、石橋里江子[1]、<br>後藤昌久[1]、笠原正登[1]、赤路健一[2]、<br>藤原洋一[2]、木曽良明[2]、中尾一和[1] |

17：30～18：00　**ＰＡＭＰ**　　座長　江藤胤尚

| | |
|---|---|
| 24 | PC12細胞の膜電位に対するProadrenomedullin N-terminal 20 peptide（PAMP）の作用<br>東京大学医学部第四内科　高野幸路、藤田敏郎 |
| 25 | 新しい降圧ペプチドproadrenomedullin N-20 peptide（PAMP）受容体の分布と性状<br>東京医科歯科大学医学部第二内科　岩崎裕明、岩科将虎、七里眞義、平田結喜緒、<br>丸茂文昭<br>SRL八王子特殊生化学部　佐藤恭子 |

18：00～18：30　**中枢（Ⅰ）**　　座長　高橋伯夫

| | |
|---|---|
| 26 | 中枢性血圧調節因子としてのL-アルギニン<br>－脳内レニン・アンジオテンシン系及びNO産生との関連－<br>京都府立医科大学臨床検査医学　西村眞人、南部　昭、大塚　健、吉村　學<br>関西医科大学病態検査学　高橋伯夫 |
| 27 | 動脈圧受容器反射－特にcentral adaptation－に及ぼす中枢内一酸化窒素の役割<br>九州大学医学部循環器内科　弘永　潔、廣岡良隆、松尾　勇、紫原美和子、<br>原澤泰比古、竹下　彰 |

## 第１日目　10月３日（木）　仙台市民会館　小ホール（第２会場）　＝臨　床＝

### 13：45～14：15　疫学（Ⅰ）　座長　柊山幸志郎

| | |
|---|---|
| 28 | ソロモン諸島における高血圧症に関する疫学的検討<br>国立国際医療センター国際医療協力局、腎臓内科　大前比呂思<br>国立国際医療センター腎臓内科　斉間恵樹、中村雄二<br>東京大学医学部人類生態学　中沢　港、大塚柳太郎<br>Solomon Islands Medical Training & Research Institute<br>Judson Lefasia |
| 29 | 日系ブラジル人における日本食の栄養素（DHA・わかめ・大豆）による介入研究<br>－第一報・血圧への効果－<br>WHO循環器疾患予防国際共同研究センター　三浦綾子、奈良安雄、家森幸男<br>南リオグランデ大学老年医学研究所　森口秀幸、エリザベス・ミケロン、森口幸雄 |

### 14：15～14：45　白衣高血圧　座長　上島弘嗣

| | |
|---|---|
| 30 | 白衣高血圧の血圧の長期予後<br>慶應義塾大学保健管理センター　齊藤郁夫、河邊博史、辻岡三南子 |
| 31 | 若・中年の白衣高血圧患者と高血圧患者における臨床的特徴の比較<br>－危険因子および24時間血圧測定（ABPM）諸指標値などからの検討－<br>三楽病院健康管理科　山田　薫<br>東京大学医学部第二内科　後藤淳郎、新啓一郎、上原誉志夫、平田恭信、<br>木村健二郎、小俣政男 |

### 14：45～15：15　疫学（Ⅱ）　座長　小澤利男

| | |
|---|---|
| 32 | 老年者における血圧日内変動と脳心血管事故発生－５年間追跡研究<br>東京都老人医療センター循環器科　鈴木康子、桑島　巌、青野　正、和田幸子、<br>豊島孝道、小澤利男<br>東京都老人総合研究所地域保健部門　柴田　博 |
| 33 | 家庭血圧測定による親子の血圧の類似性の検討<br>長崎大学医学部第三内科　鈴木　伸、馬場是明、瀬戸信二、品川達夫、早野元信、<br>矢野捷介 |

15：15〜15：45　**日内変動**　　**座長　島田和幸**

| | |
|---|---|
| 34 | 夜間降圧と生命予後との関連<br>－地域コホートの観察から－<br>東北大学医学部公衆衛生学　大久保孝義、今井　潤[1]、辻　一郎、永井謙一[3]、<br>同　第二内科[1]　渡辺哲子[1]、南　尚義[1]、菊地典子[1]、加藤順子[1]、<br>同　衛生学[2]　西山昭光[1]、関野　慎[1]、相原彰子[1]、佐藤　洋[2]、<br>岩手県立大迫病院[3]　久道　茂、阿部圭志[1] |
| 35 | 本態性高血圧患者の循環動態日内変動と心虚血変化<br>横浜市立大学医学部附属浦舟病院第二内科　栃久保修、宮島栄治、重政朝彦、川野芳幸<br>同　第二内科　石井當男 |

15：45〜16：15　**日内変動／遺伝子**　　**座長　簗山久一郎**

| | |
|---|---|
| 36 | 白衣高血圧とdipper型本態性高血圧の比較<br>－運動および交感神経作動薬に対する反応性、赤血球膜Naイオン移送系の面よりの検討－<br>千葉大学医学部第三内科　斉藤俊弘、大沼徳吉、水口公彦、澤　國夫、岸　雅子、山田憲司郎、出口不二夫、増田善昭 |
| 37 | ヒトプロスタサイクリン合成酵素遺伝子構造の解析とマイクロサテライトを用いた本態性高血圧症との関連について<br>日本大学医学部第二内科　中山智祥、相馬正義、高橋雪絵、上保二郎、福田　昇、渡辺吉康、泉　洋一、上松瀬勝男 |

16：15〜16：30　**休　　憩**

16：30〜17：00　**臨床生化学**　　**座長　吉村　学**

| | |
|---|---|
| 38 | Advanced Glycation End productsのoxidative stressを介した血小板凝集促進について<br>東京大学医学部第一内科　半下石美佐子、田口淳一、東郷真子、橋本佳明、渡辺　毅、黒川　清、大野　実 |
| 39 | ヒト血液中に含まれる内因性ウアバイン様物質結合蛋白の分離とその性質<br>関西医科大学病態検査学　小宮山豊、西村典子、村上　卓、桝田　緑、高橋伯夫 |

17：00〜17：30　**神経調節（Ⅰ）**　**座長　三浦幸雄**

| | |
|---|---|
| 40 | 本態性高血圧患者における自律神経機能<br>－Dipper および Non - dipper 型高血圧間の相違－<br>済生会宇都宮病院循環器科　北條行弘、野間重孝、大木貴博、仲嶋秀文、佐藤吉弘 |
| 41 | ヒトにおける動脈圧受容体機能評価とその特性<br>金沢大学医学部第一内科　島倉淳泰、高田重男*、杉本尚樹、丸山美知郎、<br>同　保健学*　高村雅之、吉澤　尚、阪上　学、小林健一 |

17：30〜18：00　**神経調節（Ⅱ）**　**座長　島本和明**

| | |
|---|---|
| 42 | 高齢高血圧症患者における心拍変動の異常<br>－カオス解析を用いた検討－<br>大牟田労災病院内科　塚島　彰、川嶋　弘<br>九州大学医学部第二内科　阿部　功、土橋卓也、藤島正敏 |
| 43 | 交感神経活動性の亢進と高インスリン血症の血圧上昇機序への関与<br>羽原病院　舛尾和子<br>大阪大学医学部保健学科　三上　洋<br>同　第四内科　荻原俊男 |

18：00〜18：30　**インスリン抵抗性（臨床）**　**座長　小野山薫**

| | |
|---|---|
| 44 | 本態性高血圧のインスリン抵抗性におけるDehydroepiandrosterone sulfate（DHEA-S）の意義について<br>静岡県立総合病院内分泌代謝科　西野和義、井上達秀、越村　修、佐古伊康<br>同　核医学科　鈴木輝康 |
| 45 | 本態性高血圧症の血小板内遊離Ca増加反応におけるインスリン抵抗性<br>神戸大学医学部第一内科　前川浩一、斎藤公明、北崎和久、金　鐘一、池田嘉弘、横山光宏 |

**第２日目　10月４日（金）　宮城県民会館　大ホール（第１会場）**

9：00～9：45　**プレナリーセッションⅤ**　　**座長　猿田享男**

| | |
|---|---|
| 46 | 血管平滑筋細胞由来一酸化炭素の血管トーヌス調節因子としての可能性<br>埼玉医科大学第四内科　盛田俊介、片山茂裕<br>Dept. of Pediatrics, Harvard Medical School　Stella Kourembanas |
| 47 | 降圧治療は内皮依存性過分極反応を改善する<br>－高血圧自然発症ラットでの検討－<br>九州大学医学部第二内科　尾中宇蘭、藤井弘二、阿部　功、藤島正敏 |
| 48 | 一酸化窒素（NO）合成酵素阻害薬のサル大槽内投与による脳動脈血管径および全身血圧への影響<br>滋賀医科大学薬理学　岡村富夫、安屋敷和秀、戸田　昇 |

9：45～10：15　**プレナリーセッションⅥ**　　**座長　石井當男**

| | |
|---|---|
| 49 | 本態性高血圧症患者におけるインスリン抵抗性と内皮依存性腎血管弛緩障害の関連<br>広島大学医学部第一内科　東　幸仁、松浦秀夫、石橋克彦、吉村光功、佐々木伸夫、小野法久、石岡規正、佐々木正太、井上敏明、梶山梧朗<br>同　臨床検査医学　大島哲也、小園亮次、中野由紀子、松本敏幸 |
| 50 | 軽症高血圧患者におけるインスリン抵抗性とインスリンの血小板内$Ca^{2+}$動態および血小板凝集能に及ぼす影響<br>東京慈恵会医科大学第三内科　石橋健一、景山　茂、桜井達也、村川祐一、<br>第四内科*　相原一夫、三村　明、横田邦信、谷口郁夫*、酒井　紀 |

10：15～10：30　**休　　憩**

10：30～11：15　**招待講演　Ⅱ**　　**座長　尾前照雄**

**Cardiovascular Significance of the Renin Angiotensin System**

Professor Colin I. Johnston（Australia）

11：15～12：00　**会長講演**　　**座長　吉永　馨**

**腎と高血圧**

阿部圭志（東北大学医学部第二内科）

12：00～12：30　**昼　　食**

12：30～13：30　**ポスター演題討論**（仙台市民会館展示室）

13：45〜14：15　**遺伝子工学（Ⅰ）**　座長　荻原俊男

| | |
|---|---|
| 51 | Gene Targeting によるクラスⅢ POU 転写因子 Brn-1, Brn-2 の機能解析<br>癌研究会癌研究所細胞生物部　中井茂康、野城孝夫[1]、阿部圭志[1]、野田哲生、<br>東北大学医学部第二内科[1]　三浦幸雄[2]<br>東北大学大学院病態生理情報学[2] |
| 52 | ジーンターゲティングおよび新しい神経堤細胞培養系を用いた血管平滑筋細胞の発生分化機構解明の試み<br>東京大学医学部第三内科　栗原由紀子、栗原裕基、<br>U. Texas, Southwestern Med. Ctr.*　Deepak Srivastrava*、<br>Eric N.Olson*、矢崎義雄 |

14：15〜14：45　**イオンチャンネル**　座長　丸茂文昭

| | |
|---|---|
| 53 | サイアザイド感受性 Na-Cl トランスポーター遺伝子と血圧調節：家族性 Gitelman's 症候群における検討<br>東北大学医学部第二内科　竹内和久、加藤太郎、高橋信行、谷山佳弘、角田一男、<br>伊藤貞嘉、尾股　健、今井　潤、阿部圭志<br>同　病態代謝学　呉　繁夫、成澤邦明<br>岩手県立磐井病院第一内科　村松康成 |
| 54 | 上皮型 Na チャンネル β サブユニットの新しいミスセンス変異による Liddle 症候群の一家系<br>熊本大学医学部第三内科　井上準之助、山口康平*、岩岡大輔、直海晶二郎、<br>大分県立病院第一内科*　徳永　寛、Disashi Tumba、兼坂佳江、冨田公夫 |

14：45〜15：15　**遺伝子工学（Ⅱ）**　座長　藤田敏郎

| | |
|---|---|
| 55 | Obese spontaneously hypertensive rats（obese SHR, Koletsky rat）($fa^k/fa^k$)の脂肪組織における肥満遺伝子（*ob*遺伝子）発現の亢進<br>京都大学大学院人間・環境学研究科　国際栄養予防医学　平岡潤子、細田公則*、<br>同　大学院医学研究科臨床病態医科学・第二内科*　池田克巳、奈良安雄、澤村　誠、小川佳宏*、家森幸男、中尾一和* |
| 56 | 脳組織への遺伝子導入による中枢性血圧制御機構の解明<br>大阪大学医学部第四内科　山田和生、守口　篤、森下竜一、青木元邦、<br>同　細胞生体工学センター[1]　三上　洋、浦田秀則[2]、金田安史[1]、桧垣實男、<br>福岡大学医学部第二内科[2]　荻原俊男 |

15：15〜15：45　**ステロイド**　座長　出村　博

| | |
|---|---|
| 57 | 雌ダール食塩感受性ラットにおける、卵巣摘出およびエストロゲン補充の、血圧および血小板凝集能に及ぼす影響<br>慶應義塾大学医学部内科　佐々木隆幸、大野洋一、大塚恵一、須沢大知、<br>埼玉医科大学腎臓病センター*　加藤喜之、鈴木洋通*、猿田享男 |
| 58 | 食塩感受性高血圧における腎性11β - hydroxysteroid dehydrogenaseの関与<br>金沢大学医学部第二内科　武田仁勇、宮森　勇、稲葉　聡、古川健治、米田　隆、畠山治彦、森瀬敏夫、馬渕　宏 |

15：45〜16：15　**エンドセリン**　座長　岩尾　洋

| | |
|---|---|
| 59 | エンドセリン－1はc - Myc依存性アポトーシスを抑制する<br>東京医科歯科大学医学部第二内科　七里眞義、加藤博樹、岩崎裕明、横倉正明、岩科将虎、今井泰平、辻野元祥、平田結喜緒、丸茂文昭 |
| 60 | エンドセリン－1遺伝子過剰発現マウスの樹立と解析<br>東京大学医学部第三内科　前村浩二、栗原裕基、上田乙也[3]、小田秀明[2]、<br>同　第二生理[1]　桑木共之[1]、森田啓行、栗原由紀子、南野　徹、<br>同　第二病理[2]　新藤隆行、児玉龍彦、鈴木宏志[3]、熊田　衛[1]、<br>中外製薬研究所[3]　石川隆俊[2]、矢崎義雄 |

16：15〜16：30　**休　　憩**

16：30～17：00　**血管作動物質**　　座長　松岡博昭

| | |
|---|---|
| 61 | 動脈硬化血管におけるエンドセリン・サブタイプB（$ET_B$）受容体刺激による一酸化窒素（NO）遊離能の検討<br>東京大学医学部第二内科　鹿子木将夫、平田恭信、早川　宏、藤乗嗣泰、鈴木　越、長田太助、名越　洋、石山明寛、上原誉志夫、新啓一郎、木村健二郎、後藤淳郎、小俣政男 |
| 62 | アンジオテンシンⅡ食塩負荷ラットの高血圧発症におけるインスリン抵抗性の役割<br>東京大学医学部第四内科　田口　圓、藤田敏郎 |

17：00～17：30　**インスリン抵抗性（基礎）**　　座長　片山茂裕

| | |
|---|---|
| 63 | インスリン抵抗性を示す糖尿病・高血圧ラットにおけるインスリン感受性改善薬の降圧、腎・血管保護作用<br>東京女子医科大学第二内科　成瀬光栄、吉本貴宣、成瀬清子、田辺晶代、関　敏郎、田中正己、三品直子、安達千香子、新井桂子、今城俊浩、出村黎子、出村　博 |
| 64 | インスリン抵抗性ラットにおけるベザフィブラートの降圧効果<br>名古屋大学医学部第二内科　松井英夫、奥村健二、土岐幸生、伊藤隆之 |

17：30～18：00　**アラキドン酸代謝**　　座長　保嶋　実

| | |
|---|---|
| 65 | 自然発症高血圧ラット（SHR）血小板12リポキシゲネース活性<br>鳥取大学医学部第一内科　太田原顕、久留一郎、濱田紀宏、真鍋一郎、山本康孝、坪井麻理子、広江　晃、藤木幸弘、吉田明雄、重政千秋<br>同　　脳神経外科　渡部高志 |
| 66 | SHR心から抽出したプロスタサイクリン産生抑制物質の単離同定とその特性<br>弘前大学医学部第二内科　長内智宏、鎌田孝篤、奥口知行、小杉拓生、中野陽夫、今岡泰郎、藤田紀生、高橋広希、金沢武道、奥村　謙<br>黎明郷リハビリテーション病院　目時弘文 |

18：00〜18：30　**細胞生物学**　　　　**座長　宮崎瑞夫**

| | |
|---|---|
| 67 | 高血圧性脳病変の発症、進展とPI 3 - kinase<br>三楽病院内科　田上幹樹、久保田昌良<br>住友金属　山形一雄<br>東京医科歯科大学医学部第三内科　沼野藤夫<br>京都大学大学院人間・環境学研究科　池田克己、奈良安雄、家森幸男 |
| 68 | 高血圧症における$Na^+/H^+$Exchanger kinase活性の亢進<br>東京電力病院内科　楠原正俊<br>慶應義塾大学医学部呼吸循環器内科　小川　聡<br>University of Washington Cardiovascular Research　Bradford C.Berk |

18：30〜19：00　**中枢（Ⅱ）**　　　　**座長　二宮石雄**

| | |
|---|---|
| 69 | 延髄孤束核神経細胞活動およびシナプス伝達に及ぼすエンドセリン－１の役割<br>九州大学医学部循環器内科　紫原美和子、廣岡良隆、松尾　勇、田川辰也、鈴木　哲、竹下　彰<br>同　歯学部薬理学　堀　信顕 |
| 70 | 尾側腹外側延髄（CVLM）降圧部位のドーパ性シナプス前・後成分は圧受容器－大動脈降圧神経－孤束核－CVLM神経経路を介する同反射情報伝達に必須である<br>横浜市立大学医学部薬理学　宮前丈明、五嶋良郎、古川信也、三須良實 |

第２日目　10月４日（金）　仙台市民会館　小ホール（第３会場）　＝臨　床＝

13：45〜14：15　**肥　満**　座長　大内尉義

| | |
|---|---|
| 71 | 血圧ならびに血圧関連因子と肥満との関係<br>－特に腹部全脂肪の関与－<br>中村学園大学　伊藤和枝、今井克巳、増田　隆、阿部志磨子<br>同　大学院研究科　中村元臣 |
| 72 | 肥満、とくに腹部脂肪蓄積異常と高血圧の関連に関する疫学的検討<br>－北海道循環器疾患疫学調査成績より－<br>札幌医科大学第二内科　斉藤重幸、田中繁道、青山真也、高木　覚、高橋　弘、坂本賢一、仲野昌弘、林　義人、小原史生、濱上志保、島本和明 |

14：15〜14：45　**危険因子**　座長　蔵本　築

| | |
|---|---|
| 73 | 肥満を伴う本態性高血圧患者でのカロリー制限療法によるリスクファクターの改善度<br>－若年者と高齢者での比較検討－<br>岩手医科大学第二内科　安達季之、川村　実、中島　淳、藤原拓也、平盛勝彦 |
| 74 | 高血圧臓器合併症における高Lp(a)血症の意義<br>－冠動脈疾患との関連から－<br>北海道立北見病院内科　坂本孝志、宮本憲次郎、成田浩二、岩元利裕、野澤明彦<br>札幌医科大学第二内科　島本和明 |

14：45〜15：15　**疫学（Ⅲ）**　座長　金子好宏

| | |
|---|---|
| 75 | 早期の高血圧臓器障害としての無症候性脳梗塞<br>－脳ドックを用いた40－50才代での検討－<br>大阪大学医学部第一内科　寳學英隆、入野忠芳*、伊藤泰司、橋本弘行、坂口　学、<br>IR健康管理システム*　松本昌泰 |
| 76 | 高血圧患者における脳心事故発症前の降圧治療と危険因子<br>国立循環器病センター内科　南　順一、河野雄平、牧野百合子、野々木宏、山口武典、瀧下修一 |

15：15～15：45　**心肥大と血管病変**　**座長　菊池健次郎**

| | |
|---|---|
| 77 | 頚動脈壁厚と左室肥大：肥大型心筋症と高血圧性心肥大との鑑別<br>九州大学医学部第二内科　大屋祐輔、阿部　功、藤井弘二、尾中宇蘭、藤島正敏<br>福岡日赤病院循環器内科　小林和夫 |
| 78 | 本態性高血圧症の左室形態と頚動脈・細動脈構造異常、体液性因子との関係<br>富山医科薬科大学医学部第二内科　安本耕太郎、高田正信、富田　新、上野　均、供田文宏、泉野　潔、井上　博 |

15：45～16：15　**超音波診断**　**座長　道場信孝**

| | |
|---|---|
| 79 | 本態性高血圧患者における腎動脈硬化性変化の腎血流ドプラ法による計測意義<br>大阪大学医学部第一内科　伊藤泰司、半田伸夫、寶學英隆、飯地　理、橋本弘行、坂口　学、松本昌泰 |
| 80 | 高解像超音波検査により検出された頚動脈所見と高血圧との関連<br>国立循環器病センター集団検診部　万波俊文、西　信雄、馬場俊六<br>愛媛大学医学部公衆衛生学　小西正光 |

16：15～16：30　**休　　憩**

16：30～17：00　**治　　療**　**座長　海老原昭夫**

| | |
|---|---|
| 81 | 高血圧における心自律神経機能と頚動脈コンプライアンスおよび心肥大の関連：カルシウム拮抗薬およびACE阻害薬の効果<br>帝京大学市原病院第三内科　冨山博史、佐久間義広、塩島功一郎、渡辺剛毅、西川英輔、石川康朗、吉田秀夫、道場信孝 |
| 82 | 本態性高血圧症患者への運動療法処方における一考<br>－トレッドミル運動負荷試験時の尿中微量アルブミン動態より－<br>東京慈恵会医科大学第二内科　家口慶彦、小林英之、林　文宏、徳留悟朗、内田浩之、中村宏二、友成治夫、栗山　哲、橋本隆男、酒井　紀 |

17：00～17：30　**運動療法**　　**座長　藤井　潤**

| | |
|---|---|
| 83 | 運動療法による妊娠性高血圧症の予防<br>大阪市立大学医学部産科婦人科　友田昭二、荻田幸雄<br>和泉市立病院産婦人科　田村俊次 |
| 84 | 運動療法によるインシュリン抵抗性改善は神経性因子を介して血圧降下をもたらす<br>久留米大学医学部第三内科　河野啓助、松岡秀洋、竹中研治、三宅　陽、和田芳文、玉井　収、野村岳而、今泉　勉 |

17：30～18：00　**降圧薬**　　**座長　今泉　勉**

| | |
|---|---|
| 85 | 新規DHP系Ca拮抗薬シルニジピンのN型Caチャネルに対する阻害作用<br>富士レビオ㈱医薬研究所　藤井茂雄、細野昌宏、林　裕<br>福岡歯科大学歯科薬理学　北村憲司 |
| 86 | 脳幹部動脈拡張反応に及ぼす加齢の影響<br>－Kチャンネル開口薬および段階的降圧に対する反応－<br>九州歯科大学内科　豊田一則、藤井健一郎*、藤川　潤、高田　豊<br>福岡赤十字病院内科* |

18：00～18：30　**変換酵素阻害薬**　　**座長　福地総逸**

| | |
|---|---|
| 87 | 降圧を来さない低用量のACE阻害薬の心血管系への影響<br>埼玉医科大学第四内科　野口雄一、小瀬川至、泉田太郎、稲葉宗通、柏原秀行、丸野世志子、片山茂裕 |
| 88 | アンジオテンシン変換酵素阻害薬の降圧効果は遺伝型と関連するのか<br>滋賀医科大学第一内科　大道信之、岩井直温、木之下正彦 |

18：30～19：00　**疫学（Ⅳ）**　　**座長　藤島正敏**

| | |
|---|---|
| 89 | 未治療高血圧患者の標的臓器障害に及ぼす飲酒量の影響<br>獨協医科大学循環器内科　石光俊彦、吉田佳織、中村美貴、八木　繁、松岡博昭<br>同　健康管理科　大類方巳、久内　徹 |
| 90 | 若年者血圧の経年的変化に及ぼす身体計測値の影響<br>－栃木県下502名の若年者血圧12年間の追跡調査からの成績－<br>自治医科大学臨床薬理学　海老原昭夫、熊谷雄治、河口達二、大石正平、大橋京一、藤村昭夫、杉本孝一、原田和博、須永健一郎、大森正規 |

**第３日目　10月５日（土）　宮城県民会館　大ホール（第１会場）**

9：00〜10：45　　**主題：心**　　　　**座長　日和田邦男**
**竹下　　彰**

| | |
|---|---|
| | オーバービュー　竹下　彰 |
| 91 | 左室肥大は血圧とは独立した予後規定因子である<br>－透析患者に於ける検討から－<br>国立循環器病センター内科（腎・透析部門）　中村敏子、藤井　健、宇津　貴、稲永　隆、木村玄次郎 |
| 92 | 高血圧性心肥大シグナルにおける心アンジオテンシノーゲンの意義に関する*in vivo*および*in vitro*における分子生物学的検討<br>横浜市立大学医学部第二内科　田村功一、梅村　敏、乳井伸夫、日比　潔、山口　聡、石上友章、中丸真志、木原　実、矢花真知子、常田康夫、高木信嘉、石井當男 |
| 93 | 心疾患の進展におけるTGF－$\beta$とACEの役割<br>－NIDDMと高血圧での相違点－<br>大阪市立大学医学部薬理学　金　勝慶、濱口晃規、矢野昌彦、太田健介、泉　康雄、三浦克之、岩尾　洋 |
| 94 | 心筋細胞伸展負荷によるアンジオテンシンⅡ（AT1　AT2）受容体発現亢進<br>－AngⅡ非依存性tyrosine kinaseの関与－<br>関西医科大学第二内科　貴島和久、松原弘明、森　泰清、村澤　聡、丸山勝也<br>東京大学医学部第三内科*　小室一成*、矢崎義雄*、岩坂壽二、稲田満夫 |

**討　　論**（10：20〜10：45）

10：45〜11：00　　**休　　憩**

11：00～12：45　**主題：腎**　　**座長　黒川　清**

**伊藤貞嘉**

| | |
|---|---|
| | オーバービュー　黒川　清 |
| 95 | 出生時体重と成人時の血圧値との関連<br>－レコード・リンケージによる出生後20年の追跡研究－<br>金沢医科大学公衆衛生学　三浦克之、中川秀昭、田畑正司、森河裕子、西条旨子、河野俊一<br>石川県松任保健所　伊川あけみ |
| 96 | 食塩感受性：本態性高血圧症患者に於ける新しい予後規定因子<br>国立循環器病センター内科（腎・透析部門）　森本淳詞、宇津　貴、石川一彦、藤井　健、中村敏子、稲永　隆、木村玄次郎 |
| 97 | 本態性高血圧と糖尿病における糸球体高血圧：腎内血行動態の比較<br>大阪市立総合医療センター内科　今西政仁、吉岡克宣、小西啓夫、佐藤利彦、田中史朗、藤井　暁<br>国立循環器病センター内科　木村玄次郎 |
| 98 | 腎臓アンジオテンシンⅡ産生系におけるchymaseの役割<br>慶應義塾大学医学部内科　松田洋人、村上円人*、林　晃一、久保田英司、<br>日野市立総合病院内科*　猿田享男 |

**討　　論**（12：20～12：45）

12：45～12：55　**Young Investigator Travel Award授与**

12：55～13：00　**閉会の辞**

14：00～17：00　**サテライトシンポジウム　宮城県民会館 大ホール（第１会場）**

**座長　阿部圭志**

**猿田享男**

**「降圧薬の臨床評価の問題点を探る」**

（詳細は35頁を参照のこと）

# ポスター演題討論

**第2日　10月4日（金）　仙台市民会館展示室**

12：30～1：30　**Young Investigator Travel Awardセッション（I）**

**鈴木洋通**

| | |
|---|---|
| P-1 | 本態性高血圧患者、正常血圧者におけるインスリンの腎Na, Ca代謝と腎血流量に及ぼす加齢の影響<br>札幌医科大学第二内科　福岡将匡、増田　敦、宮崎義則、平田顕文、村上英之、島本和明 |
| P-2 | 2-kidney, 1-clip高血圧ラットの初期昇圧機転における腎性降圧系とouabain-like factorの役割<br>札幌医科大学第二内科　滝沢英毅、浦　信行、中川基哉、青山　徹、買手順一、林　学、鳥井孝明、縣　潤、島本和明 |
| P-3 | 5/6腎摘ラットの高血圧発症及び維持における内因性ウアバイン様物質とジゴキシン様物質の意義<br>札幌医科大学第二内科　買手順一、中川基哉、高田　珠、吉田英昭、浦　信行、島本和明 |
| P-4 | エンドセリン変換酵素の腎における発現：SHRにおける検討<br>熊本大学医学部第三内科　Disashi Tumba，岩岡大輔、直海晶二郎、井上準之助、徳永　寛、兼坂佳江、中山裕史、野々口博史、冨田公夫 |
| P-5 | アンジオテンシンIIによる糸球体硬化の分子メカニズム<br>大阪市立大学医学部薬理学　濱口晃規、金　勝慶、矢野昌彦、瀬戸真澄、泉　康雄、三浦克之、岩尾　洋 |
| P-6 | アンジオテンシンII受容体遺伝子多型は本態性高血圧症の発症、進展に関与するか？<br>大阪大学医学部第四内科　高見成洲、勝谷友宏、楽木宏実、中田幸子、佐藤憲幸、大石　充、神出　計、三木哲郎、桧垣實男、荻原俊男 |

| | |
|---|---|
| P-7 | 本態性高血圧症の若年発症および左室肥大におけるアンジオテンシン変換酵素遺伝子D alleleの意義<br>広島大学医学部臨床検査医学　中野由紀子、大島哲也、小園亮二、松本敏幸、神辺眞之<br>同　第一内科　東　幸仁、石橋克彦、吉村光功、石岡規生、佐々木伸夫、佐々木正太、井上敏明、吉水功憲、松浦秀夫、梶山梧朗 |
| P-8 | 遺伝子導入法を用いた心臓レニン－アンギオテンシン系の役割<br>大阪大学医学部第四内科　青木元邦、森下竜一、桧垣實男、松本邦夫*、<br>同　腫瘍生化学*　中村敏一*、荻原俊男 |
| P-9 | 高血圧自然発症ラット左心室におけるHeparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth FactorおよびEpidermal Growth Factor Receptorの発現増加について<br>旭川医科大学第一内科　藤野貴行、長谷部直幸、藤田雅章、竹内克呂、辻　史郎、中村秀樹、名取俊介、井門　明、松橋浩伸、飛世克之、菊池健次郎 |
| P-10 | 高血圧性心肥大の代償期より心不全に至る過程における筋小胞体カルシウム調節蛋白群の遺伝子発現変化<br>愛媛大学医学部第二内科　岡山英樹、川上秀生、池田俊太郎、橋田英俊、重松裕二、濱田希臣、日和田邦男 |
| P-11 | 圧負荷による心肥大形成に心レニン－アンジオテンシン系は関与しない<br>東京大学医学部第三内科　原田光一郎、小室一成、久藤純代、菅谷　健、矢崎義雄 |
| P-12 | 発生工学的手法により作製した妊娠高血圧マウスの病態解析<br>筑波大学応用生物化学系　瀧本英理子、石田純治、村上和雄、深水昭吉<br>同　動物実験センター　杉山文博 |

| | |
|---|---|
| P-13 | ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子のコアプロモーター領域の解析<br>－結合因子の同定と遺伝子多型による転写活性への影響<br>筑波大学応用生物化学系　柳内和幸、村上和雄、深水昭吉 |
| P-14 | 糖尿病と高血圧を伴う病態における血管壁Na利尿ペプチド系の病態生理学的意義<br>東京女子医科大学第二内科　吉本貴宣、成瀬光栄、成瀬清子、田辺晶代、関　敏郎、<br>新井桂子、三品直子、今城俊浩、出村　博 |
| P-15 | 細胞外マトリックスによる血管内皮細胞からのC型ナトリウム利尿ペプチド及びアドレノメデュリンの分泌調節とその臨床的意義<br>京都大学医学部臨床病態医科学・第二内科　土居健太郎、伊藤　裕、菅　真一、<br>小川佳宏、井垣俊郎、田村尚久、<br>高屋和彦、山下　潤、全　泰和、<br>井上真由美、政次　健、桝田　出、<br>斉藤能彦、吉政孝明、中尾一和 |
| P-16 | 血管リモデリングにおけるアポトーシスとその関連遺伝子<br>愛媛大学医学部第二内科　伊賀瀬道也、大蔵隆文、福岡富和、問口元文、<br>北見　裕、Deng Li-Zhi、小原克彦、日和田邦男 |
| P-17 | ラット血管内皮細胞におけるアドレノメデュリンのアポトーシス抑制作用<br>東京医科歯科大学医学部第二内科　加藤博樹、七里眞義、岩崎裕明、横倉正明、<br>辻野元祥、平田結喜緒、丸茂文昭 |
| P-18 | Senescent Cell-Derived Inhibitor 1（Sdi-1）遺伝子導入による血管平滑筋細胞の増殖制御と分化<br>大阪大学医学部第四内科　木田岩男、森下竜一、桧垣實男、青木元邦、<br>林　真一郎、守口　篤、荻原俊男<br>同　第一外科　白　鴻志、澤　芳樹、松田　暉<br>同　細胞生体工学センター　金田安史 |

## Young Investigator Travel Awardセッション（Ⅳ）　　冨田公夫

| | |
|---|---|
| P-19 | アンジオテンシンⅡtype 2受容体刺激による腎糸球体輸入細動脈の拡張とその機序<br>－*In vitro* microperfusionでの検討－<br>東北大学医学部病態液性調節学　有馬秀二<br>同　　第二内科　伊藤貞嘉、尾股　健、小川　晋、角田一男、<br>矢尾板啓、佐藤龍行、福田元司、阿部圭志 |
| P-20 | $Na^+/H^+$逆輸送担体過剰発現トランスジェニックマウスにおける食塩負荷時のNO産生の亢進<br>朝日生命成人病研究所　　喜楽順一、中村哲也[1]、高橋直之[3]、<br>群馬大学医学部第二内科[1]　　芦田映直、杉山卓郎、黒尾　誠[2]、<br>国立精神神経センター神経研究所[2]　　酒巻哲夫[1]、永井良三[1]、矢崎義雄[3]、<br>東京大学医学部第三内科[3]　　藤井　潤 |
| P-21 | 流れ刺激に対する血管内皮細胞カルシウム反応<br>東京大学医学部第四内科　一色政志、下沢達雄、高橋克敏、島田　潔、小野　歩、<br>長瀬美樹、伊東　康、安東克之、藤田敏郎<br>同　　脈管病態生理学　安藤譲二<br>同　　医用電子研究施設　神谷　暸 |
| P-22 | 高血圧心の冠血管におけるEndothelin反応亢進に占めるNitric Oxide（NO）遊離低下の役割<br>京都府立医科大学第二内科　三木茂行、武田和夫、藤田　博、木山昌洋、八田　告、<br>河　哲吉、森本　聡、森口次郎、中村和恵、伊東　宏、<br>中田徹男、佐々木亨、中川雅夫 |
| P-23 | 慢性一酸化窒素合成酵素阻害高血圧ラットの血管平滑筋では内皮依存性過分極反応が障害されている<br>九州大学医学部第二内科　尾中宇蘭、藤井弘二、阿部　功、藤島正敏<br>同　　循環器内科　竹本真生、江頭健輔、竹下　彰 |
| P-24 | 高血圧で認められたアドレノメジュリンによる血管拡張反応の減弱とその機序<br>群馬大学医学部第二内科　斉藤勇一郎、中村哲也、持田　学、大山良雄、<br>星野　仁、加藤達也、佐藤邦雄、小野善平、酒巻哲夫、<br>永井良三 |

| | |
|---|---|
| P-25 | 脳内一酸化窒素（NO）合成阻害による食塩感受性高血圧の発症<br>琉球大学医学部第三内科　崎間　敦、照屋　寛、山里正演、又吉理似子、村谷博美、佟山幸志郎 |
| P-26 | 高血圧症のストレス負荷時過大昇圧反応に占める視床下部NO作動不全<br>京都府立医科大学第二内科　河　哲吉、中田徹男、八田　告、木山昌洋、森口次郎、三木茂行、森本　聡、中村和恵、伊東　宏、佐々木亨、武田和夫、中川雅夫 |
| P-27 | ウアバインおよび内因性ウアバイン様因子が血圧受容体反射機能に及ぼす影響<br>－ラット吻側延髄腹外側野における作用－<br>琉球大学医学部第三内科　山里正演、照屋　寛、崎間　敦、又吉理似子、<br>大阪市立大学医学部第二生理学*　村谷博美、寺野由剛*、佟山幸志郎 |
| P-28 | 頭側延髄腹外側野への拍動性圧迫による昇圧反応およびその機序<br>京都府立医科大学第二内科　森本　聡、佐々木亨、木山昌洋、八田　告、森口次郎、三木茂行、河　哲吉、中村和恵、市田竜也、伊東　宏、中田徹男、武田和夫、中川雅夫 |
| P-29 | 地域住民における血圧日内変動性：殊に高齢者におけるnon-dipperとextreme-dipperの出現頻度について<br>東北大学医学部第二内科　西山昭光、今井　潤、渡辺哲子、加藤順子、菊池典子、関野　慎、相原彰子、阿部圭志<br>同　公衆衛生学　辻　一郎、大久保孝義、久道　茂<br>同　衛生学　佐藤　洋<br>岩手県立大迫病院　永井謙一 |
| P-30 | 日本人高血圧症患者における$\beta_3$-Adrenergic Rceptor遺伝子の検討<br>埼玉医科大学第四内科　泉田太郎、栗田卓也、小瀬川至、柏原秀行、稲葉宗通、丸野世志子、片山茂裕 |

# 第19回 日本高血圧学会総会 日本医師会生涯教育講座
# 「高血圧と脳卒中」のご案内

来る平成８年10月３～５日，仙台において第19回日本高血圧学会総会が開催されますが，その一環として，学会初日の夕刻にホテル仙台プラザにて日本医師会生涯教育講座が開催されます。

本講座では，実地医家の先生方を対象に，高血圧と脳卒中との関係をご専門の先生方にそれぞれご講演いただき，聴衆の先生方の明日の診療のご参考にしていただくことを目的と致します。

日　　時：平成８年10月３日（木）　19：00～21：00

会　　場：ホテル仙台プラザ　３階「松島」

〒980 仙台市青葉区本町２－20－１　TEL（022）262-7111

座　　長：阿　部　圭　志 先生（東北大学医学部第二内科 教授）

藤　島　正　敏 先生（九州大学医学部第二内科 教授）

**演者と演題**

講演Ⅰ　脳卒中の発症率と予後

柊　山　幸志郎 先生（琉球大学医学部第三内科 教授）

講演Ⅱ　脳卒中の血圧管理，特に血圧を下げる立場から

島　田　和　幸 先生（自治医科大学循環器内科 教授）

講演Ⅲ　脳卒中の脳循環，特に血圧との関係

藤　島　正　敏 先生（九州大学医学部第二内科 教授）

**総合討論**

**共催：第19回 日本高血圧学会総会・宮城県医師会・バイエル薬品株式会社**

**後援：日本医師会・仙台市医師会**

● この講座では日本医師会生涯教育制度の５単位を取得できます。

# 第19回 日本高血圧学会総会サテライトシンポジウム
# 「降圧薬の臨床評価の問題点を探る」のご案内

趣　旨：本邦では1979年に「降圧薬の臨床評価方法に関するガイドライン（村上元孝ほか）」が発表され，初めて降圧薬の治験についての基本方針が示された。このガイドラインは1990年に金子好宏らにより若干の修正が加えられた。本シンポジウムでは，今日多くの作用機序の異なる降圧薬が開発されつつあること，国際的に評価されうる治験の体制ならびに方法を設定する必要があるなどの状況をふまえ，より適切に降圧薬治験を施行するための基準，体制，および被験者の人権の保護などにつき，関連分野の専門家の意見を伺うことを目的とする。

日　時：平成8年10月5日（土）午後2時から5時まで（日本高血圧学会総会第3日目）
会　場：宮城県民会館 大ホール
座　長：阿　部　圭　志（日本高血圧学会 会長，東北大学医学部第二内科 教授）
　　　　猿　田　享　男（慶應義塾大学医学部内科 教授，医学部長）

**演者と演題**〔講演一人12～15分，討論に約90分を予定〕

(1) 降圧薬の治験の意義（挨拶）
　　荒　川　規矩男（福岡大学医学部第二内科 教授，国際高血圧学会 会長）
(2) 我が国における降圧薬治験の現状と問題点
　　石　井　當　男（横浜市立大学医学部第二内科 教授）
(3) 米国の循環器薬の臨床試験の現状と特徴
　　Shunichi Honma
　　(Director, Division of Cardiology, Columbia University, U.S.A.)
(4) 臨床薬理学からみた治験の在り方
　　中　野　重　行（大分医科大学臨床薬理学 教授）
(5) 薬事法等の改正と今後の治験の在り方
　　富　永　俊　義（厚生省薬務局審査課，GCP 査察官）
(6) 治験についての薬業界の要望と提案
　　石　川　征四郎
　　（日本製薬工業協会医薬品評価委員会 臨床評価部会 副部会長）
(7) Informed Consentの意義と被験者の人権の保護
　　三　輪　亮　寿（弁護士）

# 講　演　抄　録

# SIGNAL TRANSDUCTION IN VASCULAR SMOOTH MUSCLE

Alexander RW and Griendling KK
Emory University, Atlanta, Georgia, USA

Angiotensin II (ang II) has complicated signaling profiles in vascular smooth muscle. Ang II signaling in vascular smooth muscle cells (VSMC) has been viewed traditionally in terms of activation of a phosphatidylinositol (PI) - specific phospholipase C- $\beta$ (PLC- $\beta$ ), which releases inositol trisphosphate and calcium. Ang II signaling has come to be viewed as being much more complex. There are two PLCs activated by the ang II $AT_{1A}$ receptor ($AT_{1A}R$). The most predominant PLC in arteries and VSMC is a PLC- $\delta$ which is coupled to G-proteins through undefined mechanisms. The second is a PLC- $\gamma$ which is usually associated with growth factor receptors containing intrinsic tyrosine kinase activity and is activated by tyrosine phosphorylation. The PLC utilized may reflect the growth state of the cell. Mechanisms by which the $AT_{1A}R$ couples to both tyrosine kinase- and G-protein coupled-phospholipase pathways will be reviewed. The most robust signaling event resulting from ang II stimulation of VSMC is activation of a phosphatidylcholine-specific PLD. This activation appears to result from receptor movement to a special signaling domain and is dependent upon protein kinase C. Mechanisms of regulation of these multiple pathways by a signal receptor in vascular smooth muscle will be reviewed.

References :

1. Alexander RW, Brock TA, Gimbrone MAJ and Rittenhouse SE. (1985) Angiotensin increases inositol trisphosphate and calcium in vascular smooth muscle. Hypert 7, 447-451
2. Brock TA, Alexander RW, Ekstein LS, Atkinson WJ and Gimbrone MAJ. (1985) Angiotensin increases cytosolic free calcium in cultured vascular smooth muscle cells. Hypertension 7, I-105-I-109.
3. Homma Y, Sakamoto H, Tsunoda M, Aoki M, Takenawa T. and Ooyama T. (1993) Evidence for involvement of phospholipase C-gamma 2 in signal transduction of platelet-derived growth factor in vascular smooth muscle cells. Biochem J 290, 649-653.
4. Marrero MB, Paxton WG, Duff JL, Berk BC and Bernstein KE. (1994) Angiotensin II stimulates tyrosine phosphorylation of phospholipase C-gamma 1 in vascular smooth muscle cells. J Biol Chem 269, 10935-10939.
5. Lassegue B, Alexander RW, Clark M and Griendling KK. (1993) Phosphatidylcholine is a major source of phosphatidic acid and diacylglycerol in angiotensin II-stimulated vascular smooth muscle cells. Biochem J 292, 509-517.
6. Griendling KK, Delafontaine P, Rittenhouse SE, Gimbrone MAJ and Alexander RW. (1987) Correlation of receptor sequestration with sustained diacylglycerol accumulation in angiotensin II-stimulated vascular smooth muscle cells. J Biol Chem 262, 14555-14562.

# Cardiovascular Significance of the Renin Angiotensin System

Professor Colin I. Johnston
The University of Melbourne, Austin & Repatriation Medical Centre,
Melbourne Australia

It is now accepted that the renin angiotensin system (RAS) is both a circulating endocrine as well as a local tissue autocrine, paracine and possibly a cellular intracine hormonal system. The major components of the RAS have been identified, their genes cloned and molecular techniques have been used to show renin, angiotensinogen and angiotensin converting enzyme(ACE), mRNA in brain, vasculature, heart, kidney and adrenals, whilst radioligand binding, autoradiography and radioimmunoassay techniques have been used to demonstrate the peptides and their receptors.

However, there remains a number of unresolved and controversial issues with the concept of a dual circulating-tissue RAS. It is still not clearly established whether the components are formed by *de novo* synthesis in the relevant cells or taken up from the circulation by endocytosis. Similarly, the inter-relationship and regulation between the circulating and tissue RAS system is not understood and its involvement in cardiovascular pathophysiology is only just being elucidated.

ACE, a zinc metallopeptidase, is a localized membrane-bound ectoenzyme and is therefore an integral part of the membrane of endothelial and other cells. It is the final enzymatic step in the RAS cascade and in this sense the production of angiotensin II is controlled locally in tissues. In the cardiovascular system, local tissue RAS has been implicated in (a) regulation of regional blood flow and resistance (b) modulation of local sympathetic activity (c) control of hyperplasia and hypertrophy and thus cardiovascular structure. Recent emphasis has been placed on its interaction with other endothelial factors and its role in the inflammatory process and repair. There is good experimental evidence for involvement of all the components of the RAS in the inflammatory response. In particular, macrophages and granulomatous tissue strongly express ACE. Atherosclerosis can be regarded as an inflammatory process resulting from endothelial damage and oxidized lipids. ACE has been demonstrated in human complex atheromatous lesions and ACE inhibitors has been consistently reported to be of benefit in experimental atherosclerosis. This has a clinical corollary in the reduction in recurrent myocardial infarction, observed in the SOLVD and SAVE trials. There are now several large clinical trials (QUIET, HOPE, PEACE) being conducted to determine whether ACE inhibitors will have favorable effects on human atherosclerosis.

This action, as an inflammatory mediator involved in tissue repair, may also be important in cardiovascular structural changes including ventricular remodeling, restenosis and in glomerulosclerosis.

会長講演

# 「腎と高血圧」

東北大学医学部第2内科　　阿部　圭志

腎機能障害があると高血圧になりやすく、高血圧は腎機能障害を進展させることは良く知られている。最近では、腎臓が本態性高血圧症の成因としても重要であることは、高血圧ラットと正常血圧ラットを用いた腎交叉移植実験や臨床における腎移植の成績からも明らかである。このような腎臓の働きには、循環血液量の調節と血管作動物質の産生調節が重要である。高血圧は圧利尿曲線から食塩感受性と非感受性に分けることができるが、両者間には、腎血管抵抗の調節機序や糸球体血行動態などの病態生理に大きな違いがあり、それが予後や治療にも影響してくると考えられる。そこで、腎の高血圧における役割と治療に関して、我々の教室の成績を中心に述べる。

**I. 糸球体血行動態と高血圧**

糸球体内圧は腎機能障害の進展に大きく影響する。本態性高血圧症(食塩非感受性型)では糸球体前血管抵抗が高くなっているため糸球体内圧は正常であり、腎機能障害の進展は血圧をコントロールすることで阻止できることが臨床的に観察されている。一方、慢性腎炎や糖尿病でみられる高血圧（食塩感受性型）では糸球体血圧の上昇を伴っていることが多く、従って、糸球体硬化による腎機能障害が進展しやすい。糸球体血行動態は傍糸球体装置(JGA)によりコントロールされている。なかでも、マクラデンサ(MD)細胞が全身の体液量を感知し、輸入細動脈の血管抵抗を調節する尿細管糸球体フィードバック機構(TGF)が重要である。我々は、JGAを単離・灌流する方法を開発し、MD細胞によるレニン分泌調節機序やTGFを直接証明するとともに、TGFがアンジオテンシンII(AII)により調節されることを実証した。このような機序は食塩摂取に対応した体液の恒常性の維持や血圧調節に重要であると考えられる。

**II. ﾚﾆﾝ・ｱﾝｼﾞｵﾃﾝｼﾝ(R-A)、ﾌﾟﾛｽﾀｸﾞﾗﾝｼﾞﾝ(PG)系と高血圧**

R-A及びPG系は水・電解質代謝及び血圧調節に重要である。正レニン及び低レニン性高血圧患者に減塩操作を行ない、さらにインドメサシンを投与したところ、正レニン群では血圧の変化はないが、低レニン群では減塩により血圧が低下し、その降圧効果はインドメサシンにより消失した。従って、低レニン性高血圧は食塩感受性であり、その病態にPGが関与することが示唆された。血漿レニン活性は低レニン群では大きな変化はなかったが、正レニン群では減塩により上昇し、インドメサシンにより抑制され、減塩によるレニン分泌亢進にPGが重要であることが示唆された。これらの臨床成績の機序をさらに詳細に検討するための基礎研究を行った。すなわち、単離JGAを用い、減塩食やフロセミドによるレニン分泌にMD細胞が関与し、その機序にPGが重要であること、尿細管で合成される$PGE_2$がMD細胞を介してレニン分泌を亢進させることを実証した。一方、食塩感受性高血圧の病態では、食塩負荷時に輸出細動脈が収縮することによる糸球体血圧の上昇、及び、尿細管での再吸収の亢進が中心となる。我々の臨床成績は食塩感受性高血圧の病態におけるPGの重要性を示唆する。単離灌流実験では、糸球体で合成されたPGが下流の輸出細動脈血管抵抗を調節することを解明した。また、PG受容体$EP_3$サブタイプのクローニングとその機能及び腎内局在を解明し、さらには、チトクロームP450によるアラキドン酸代謝が血圧調節に重要である基礎成績も得られている。

**III. 治療**

厚生省進行性腎障害研究班で軽・中等症の慢性腎炎患者を対象に、24時間モニターでの血圧レベル、降圧薬と腎機能障害の進展度を追跡調査したところ、血圧が低いほど腎機能障害の進展が少なかった。また、カルシウム拮抗薬の腎保護作用は血圧が充分コントロールされた群にのみ認められたが、変換酵素阻害薬では血圧値と関係なく腎保護作用が認められた。単離灌流実験において、カルシウム拮抗薬は輸入細動脈を拡張させること、AIIに対する感受性は輸出細動脈が高いことを確認している。従って、両薬剤の腎保護作用における違いは、前者の場合、全身血圧のコントロールにより糸球体血圧が正常化し、後者の場合には、輸出細動脈の拡張により、全身血圧とは関係なく糸球体血圧を低下させることが関与していると考えられる。従って、腎保護を目指した降圧療法では全身血圧のみならず糸球体血圧のレベル、及び、輸入・輸出細動脈に対する薬剤の効果を考慮する必要がある。

**IV. まとめ**

腎臓は高血圧の標的臓器としてのみではなく、成因臓器としても重要である。我々の教室では、高血圧の病態生理における腎の役割を臨床、基礎の両面から研究を行ない、TGFや輸入・輸出細動脈の血管抵抗調節機序、R-A系やPG系などの役割を明らかにし、また、適切な治療法の確立を目指してきた。近年は分子生物学や遺伝子工学の研究手法の進歩が著しく、従来の研究法を含めた総合的アプローチにより、高血圧における腎の役割のより詳細なメカニズムが解明され、それが臨床の場に生かされることを期待したい。

APRRE, NF-KB, IRF½, GRE

# 01 ラットトロンボキサン受容体遺伝子の発現調節機構


東北大学医学部病態液性調節学　高橋信行
東北大学医学部第二内科　竹内和久、谷山佳弘、加藤太郎、阿部高明、阿部圭志


【結論】ラットトロンボキサン(TX)受容体の機能的転写調節領域をクローニングし、いくつかの転写調節核酸配列を同定した。TX受容体発現が各種刺激によって調節される可能性が示唆され、高血圧や動脈硬化の血管-腎病変におけるTX受容体発現の関与が各種発現刺激との関係で検討可能となった。

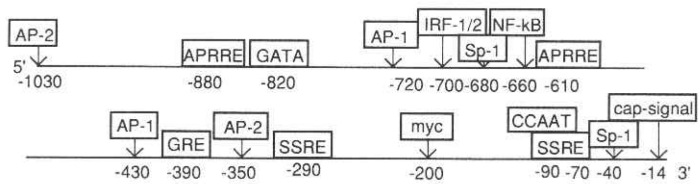
【目的】我々はラット腎よりTX受容体cDNAをクローニングしてその構造と機能を報告し、また、TX受容体遺伝子は単一コピーであることを明らかにしている。さらに、抗TX受容体抗体を作製しTX受容体が血管平滑筋、糸球体、輸入細動脈および腎尿細管ヘンレの太い上行脚の管腔側膜に発現していることを報告した。TXは高血圧性腎障害や動脈硬化の発症進展、および腎血行動態や水電解質代謝に関与しており、これらの作用はTX受容体発現部位でのTXの作用によると考えられる。本研究の目的は、ラットTX受容体遺伝子5'-flanking領域の構造と転写性機能を解明することにより、TX受容体遺伝子発現調節機構とその意義を明らかにすることである。

【方法】PCR用のgene walking libraryをテンプレートとし、ラットTX受容体cDNA 5'非翻訳部の核酸配列をreverse primerとして利用しTX受容体5'-flanking領域をPCRクローニングし、シークエンスした。また、ラット腎mRNAにてプライマー伸長法およびRNase プロテクション法によりラットTX受容体転写開始点を決定した。さらに、TX受容体5'-flanking領域のdeletion fragmentをルシフェラーゼ遺伝子の上流に連結したchimeric constructを作製し、このベクターを、培養ラット大動脈平滑筋細胞にリン酸カルシウム法を用いてトランスフェクションし、発現されたルシフェラーゼ活性を測定した。

【成績】3.5kbのTX受容体5'-flanking領域をクローニングした。そのTX受容体5'-flanking領域のうち転写開始点より1.0kb上流域の核酸構造を明らかにし、図に示すように転写因子AP-1, AP-2, myc, IRF-1/2およびNF-kBの結合配列やSSRE (shear stress responsive element), APRRE (acute phase reactant regulatory element), GATA box, GRE, GC box (Sp-1 binding site)およびCAAT boxなどの*cis*-acting elementを同定した。転写開始点は、cDNAのおよそ20 base上流であった。上流1.0kbのTX受容体5'-flanking領域はルシフェラーゼ発現を約15倍上昇させた。

【考察】我々のクローニングしたラットTX受容体遺伝子機能的転写調節領域の核酸配列から、TX受容体発現がインターフェロンなどのサイトカインやずり応力およびプロテインキナーゼC などによって調節される可能性が示唆される。また、TX受容体遺伝子転写活性は免疫反応亢進時や細胞増殖刺激時に上昇すると考えられた。高血圧や動脈硬化の血管-腎病変におけるTX受容体発現の関与についてこれらの発現刺激との関係で検討することが可能となった。


【文献】1) J. Clin. Invest, 96: 657-664, 1995, 2) Cytogenet.Cell.Genet., 73: 79-80, 1996, 3) Endocrinology, 136: 4143-4146, 1995, 4) Endocrinology, 1996 in press.

**02**

# 高血圧自然発症ラット由来血管平滑筋細胞は単一細胞系でアンジオテンシンIIを産生している。

日本大学医学部第二内科　福田　昇、相馬正義、佐藤　力、渡辺吉康、岸岡博文、中山智祥、泉　洋一、上松瀬勝男

【結論】高血圧自然発症ラット(SHR)由来血管平滑筋細胞(VSMC)は単一細胞系でアンジオテンシンII(Ang II)を産生している事が確認され、高血圧症における血管増殖の新たなメカニズムと考えられた。

【目的】SHR由来VSMCの増殖は過剰であり、内因性異常因子の存在が示唆される。組織レニン-アンジオテンシン系は内皮細胞、VSMC、細胞外基質で構成される血管壁全体に存在し血管の緊張、増殖を調節していると考えられているが、VSMC単一細胞系でのAng IIの産生の報告はない。今回、SHR由来VSMC単一細胞系でのAng IIの産生を検討した。

【方法】6週令の雄性SHR/IzmおよびWistar-Kyotoラット(WKY)/Izmの胸部大動脈よりエクスプラント法にてVSMCを分離し、継代培養した。VSMCを0.2%仔牛血清にて48-72時間で細胞周期を同調した後、無血清又は血清存在下でAng IIタイプI受容体拮抗剤であるCV11974 $10^{-9}$-$10^{-5}$ Mを作用させ、DNA生合成は$^{3}$H-チミジンのDNAへの取り込みで測定した。Ang IIの産生はSHR/Izm及びWKY/IzmのVSMCを$10^{6}$細胞/10 $cm^{2}$で10%仔牛血清を含んだDMEMで植え込んだ後、血清を完全に取り除き、無血清DMEMで24時間インキュベートし、その後無血清DMEMでアンジオテンシノーゲン(ATN)の発現を刺激するイソプロテレノール(ISO)非存在、存在下で2日間のconditioned media (CM)を採取し、さらに超音波粉砕にて細胞抽出液を得た。 Ang IIはCM及び細胞抽出液よりSep-Packカラムにて分離し、Amersham社製抗血清を用いラジオイムノアッセイ(RIA)にて測定した。ラットATN、レニン、アンジオテンシン変換酵素(ACE) mRNAの発現はSHR/IzmおよびWKY/IzmのVSMCよりRNAzolにてRNA抽出後、DNaseでgenomic DNAを分解した後、RT-PCR法にて評価した。

【成績】$10^{-9}$-$10^{-5}$ M CV11974は無血清で濃度依存性にSHRのVSMCのDNA生合成を抑制した。$10^{-5}$ M CV11974のSHRのVSMCのDNA生合成抑制率は約15%であった。血清存在下ではCV11974のSHRのVSMCのDNA生合成抑制作用は消失した。CV11974はWKYのVSMCのDNA生合成に影響しなかった。RIAにてSHRのVSMCの2日間のCM中に14.7 ± 3.2 fmol/$10^{6}$ cellのAng II様免疫活性を検出した。$10^{-5}$ M ISO存在下ではAng II様免疫活性は約2倍に増加した。細胞抽出液中には0.5 ± 0.2 fmol/$10^{6}$ cellのAng II様免疫活性を認め、$10^{-5}$ M ISOにて約5倍に増加した。CMの希釈にてAng II様免疫活性の希釈曲線はAng IIのRIAスタンダード曲線と一致した。WKYのVSMCよりのCM中にはAng II様免疫活性は検出し得なかった。RT-PCRにてSHRのVSMCに明らかなATN mRNAの発現を認め、ISOは濃度依存性にATN mRNAの発現を刺激した。WKYのVSMCには無刺激でATN mRNAの発現は認めず、$10^{-5}$ M ISO刺激で僅かな発現を認めた。SHRのVSMCに明らかなレニンmRNAの発現は認めなかった。ACE mRNAの発現はSHR及びWKYのVSMCとも認めたが、SHRのVSMCで著明に亢進していた。

【考察】SHR由来VSMCではTGF-β及びPDGF-A鎖mRNAの発現の亢進が認められているが、今回SHR由来VSMCでAng IIを産生している事が確認され、Ang IIがTGF-β及びPDGF-A鎖mRNAの発現刺激を通して単一細胞系でオートクリン、パラクリンとしてSHR由来VSMCの過剰増殖を起こしている可能性が考えられた。Ang II産生系として、SHR由来VSMCはATN、ACE mRNAを発現しているが明らかなレニンmRNAの発現は認められず他の蛋白分解酵素系によってAng IIを産生している可能性が考えられた。

**03** 新しい心筋肥大因子Cardiotrophin-1の高血圧性心肥大における意義

京都大学臨床病態科学・第二内科

斎藤能彦、石川匡洋、宮本恵宏、桑原宏一郎、小川恵美子、原田昌樹、中川修、中山雅文、浜中一郎、梶山登、伊藤裕、桝田出、中尾一和

【結語】新しい心筋肥大因子CT-1遺伝子は、SHRSP/IzmにおいてWKY/Izmと比べ心肥大発症前に既に遺伝子発現が亢進しておりその後も高い濃度を維持し、高血圧性心肥大の発症進展に関与している可能性が示唆された。

【目的】高血圧性心肥大の形成には、血圧上昇という機械的伸展刺激に加えて、レニン・アンジオテンシン系やエンドセリンなどが重要な働きを担っていることが報告されている。最近、インターロイキン6(IL-6)とその受容体のdouble transgenic mouseが心肥大を呈することや、gp130のknockout mouseの心筋が菲薄化するなど、gp130を介する情報伝達系が心肥大に重要あることが報告された。昨年mouse embryonic stem cellの心筋分化系であるembyoid bodyのｃＤＮＡライブラリーより発現クローニングにて、心筋細胞の肥大活性を指標に新しい心筋細胞肥大因子cardiotrophin-1(CT-1)がクローニングされた、このCT-1は IL-6のスーパーファミリーで、gp130を介する系を活性化して心筋細胞を肥大させることが報告されている。

本研究では、CT-1の高血圧性心肥大での意義を明らかにするために、高血圧性心肥大モデルの一つである脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（SHRSP/Izm）の心肥大におけるCT-1遺伝子発現を検討した。

【方法・結果】ラットCT-1 cDNAのクローニング
まず、マウスCT-1cDNAの塩基配列を基に、ラット心臓cDNAを鋳型にして、ラットCT-1 cDNAの断片のPCRクローニングをおこなった。ラット心臓cDNAライブラリーを作製し、先述のcDNA断片をプローブとして５０万クローンスクリーニングし、目的のクローンを得た。このクローンはマウスと同様に、２０３個のアミノ酸をコードしており、アミノ酸一次構造はマウスのものと94％の相同性が認められた。

高血圧モデルラットにおけるCT-1遺伝子発現
新生仔、4週,12週,20週令のSHRSP/Izmおよび対照のWKY/Izmより、心臓、肺、肝臓、腎臓を摘出し、tRNAをＡＧＰＣ法で抽出した。ラットCT-1cDNAの全長をプローブとしてノーザンブロット法で解析した。GAPDH mRNAをレファレンスとした。

新生仔心室におけるCT-1mRNA濃度はSHRSP/IzmとWKY/Izmの間で同等であった。対照のWKY/Izm心室では新生仔心室のCT-1 mRNA濃度と比べ、4週, 12週, 20週では、それぞれ2.6倍、4.0倍、5.6倍と加齢に伴ってCT-1 mRNA濃度が上昇した。SHRSP/Izm心室では、WKY/Izmと異なり、心肥大が顕著になる以前の４週より新生仔のそれと比べ、CT-1mRNA濃度は4.7倍に増加しており、その後12週、20週でも、4.7倍と5.4倍とわずかに増加した。SHRSP/IzmとWKY/Izmを比べると、新生仔では差はなかったが、4週、12週、20週ではSHRSP/Izmの方が有意に高く、その差は4週で一番大きくその後差は小さくなった（図）。心臓以外の腎臓、肺、肝臓では新生仔から20週までCT-1 mRNA濃度は両種とも加齢に伴う変化はなく、また、両種間の差は認められず、心臓での変化は心臓に特異的な変化と考えられた。

【考察】CT-1 mRNAが肥大の顕著になる以前から増加していることより、CT-1がSHRSP/Izmの心肥大発症に関与している可能性が示唆された。CT-1遺伝子発現の機序に関しては今後更なる研究が必要である。

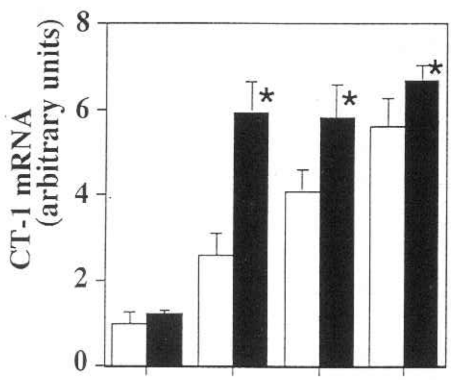



図 SHRSP/IzmとWKY/Izmのにおける CT-1 mRNAレベルの検討

□ WKY/Izm ■ SHRSP/Izm

*P<0.05 vs. age-matched WKY/Izm.

# 04　本態性高血圧症の成因に占める頭側延髄腹外側野への動脈性圧迫の役割

京都府立医科大学第２内科　佐々木享、森本　聡、三木茂行、河　哲吉、伊東　宏、中田徹男、武田和夫、中川雅夫
同放射線科　古谷誠一、成瀬昭二、前田知穂

【結論】頭側延髄腹外側野（RVLM）への動脈性圧迫は、本態性高血圧症の成因の一つである可能性が示唆された。

【目的】RVLMは交感神経の緊張性放電の発生源として知られ、中枢性血圧調節機構における重要な部位である。本態性高血圧症とRVLMへの後下小脳動脈や椎骨動脈などによる圧迫との関係についての報告が散見される。さらに、私どもは麻酔下のラットを用いた実験において、RVLMへの拍動性圧迫による交感神経活動の亢進を介した血圧の上昇および心拍数の増加を確認している。そこで、今回は本態性高血圧症患者、二次性高血圧症患者および正常血圧者において高分解能のMRIとMRAを施行し、RVLMへの動脈性圧迫の有無およびRVLMと近接動脈の距離を定量的に評価し、RVLMへの動脈性圧迫が、本態性高血圧症の成因となり得るかどうかについて検討した。

【方法】75歳未満の本態性高血圧症患者18例（女性7例）、二次性高血圧症患者10例（女性3例）および正常血圧者16例（女性6例）を対象とした。3群間の性別と平均年齢（58±12歳 vs 52±17歳 vs 49±14歳）に有意差はなかった。本態性高血圧症患者および二次性高血圧症患者は降圧治療を受けており、血圧値は両群間に有意差はなく（血圧136±11/77±11 mmHg vs 141±12/79±9 mmHg）、両群とも正常血圧者群に比し、有意に高値を示した（P<0.01）。また、高血圧歴（147±114カ月 vs 140±130カ月）、心エコー図より算出した左室心筋重量（230±70 g vs 297±120 g）およびWHO/ISHの高血圧重症度（I期5例、II期11例、III期2例 vs I期2例、II期7例、III期1例）は高血圧の2群間に有意差はなかった。なお、二次性高血圧症患者の内訳は腎実質性高血圧症7例、原発性アルドステロン症2例、褐色細胞腫1例であった。

上記患者において、高分解能512×512マトリクスを用いた延髄とその周囲のMRI（水平断面と前額断面）および椎骨動脈分岐部周囲の椎骨脳底動脈系のMRAを行ない、RVLMへの椎骨脳底動脈系の動脈による圧迫の有無につき検討した。また、MRIの水平断面において延髄表面と近接動脈の距離およびRVLMと近接動脈の距離を測定した。

【成績】本態性高血圧症群では18例中13例（72%、左側6例、右側6例、両側1例）において圧迫を認めた。一方、二次性高血圧症群および正常血圧者群では圧迫はそれぞれ10例中1例（10%、右側）および17例中2例（12%、右側2例）しか認めず、圧迫を認める率は本態性高血圧症群において、有意に大であった（それぞれP<0.01、P<0.01）。圧迫をきたす動脈は本態性高血圧症群では後下小脳動脈が13例中8例（62%）、前下小脳動脈が2例（15%）、椎骨動脈が3例（23%）であり、二次性高血圧症群の1例および正常血圧者群の2例はいずれも後下小脳動脈であった。

近接動脈との距離の定量的評価では、延髄表面と近接動脈の距離は3群間に有意差を認めなかったが（0.6±0.9 mm vs 1.5±1.6 mm vs 1.7±2.1 mm）、RVLMと近接動脈の距離は本態性高血圧症群では二次性高血圧症群および正常血圧者群に比し、有意に小であり（1.2±3.0 mm vs 4.9±4.0 mm、3.8±2.2 mm、P<0.05、P<0.05）、本態性高血圧症群ではRVLMと近接動脈の距離は特異的に短縮していた。

【考察】本態性高血圧症群において、RVLMへの動脈性圧迫が高率に見られることを確認した。それに対し、正常血圧者群および、高血圧歴や高血圧の重症度が同程度である二次性高血圧症群では同様の圧迫は低率にしか認めなかった。このことよりRVLMへの動脈性圧迫は高血圧による二次的変化ではなく、本態性高血圧症の成因に関与している可能性が示唆された。

# 05 アンジオテンシンII拮抗薬の心筋症抑制作用とその機序の解析

大阪医科大学薬理学教室 塩田直孝、高井真司、左近上博司、小山 守、中村憲史、宮崎瑞夫

【結 論】アンジオテンシンII(ANGII)受容体拮抗薬の投与により、心筋症ハムスターの心臓病変が著明に改善されることを初めて明らかにした。ANGIIは、心筋症の組織病変形成に重要な役割を担っている可能性が示された。

【目 的】ヒトの心血管系では、アンジオテンシン変換酵素(ACE)依存性経路に加えてキマーゼ依存性経路によりANGIIが産生される。しかし、キマーゼの酵素学的特性には種差が存在し、ラットやウサギのキマーゼは、ANGII産生活性を持たない。我々は、これまでに齧歯類の中では、ハムスターにヒトと同じANGII産生活性を持つキマーゼが存在することを発見し、ハムスター心臓においてもヒトと同様に、キマーゼがACEとならび心臓内の主要なANGII産生酵素として機能していることを報告してきた。次いで、心筋症ハムスターBiO14.6を用いた解析により、心筋症の病態形成に一致して心臓キマーゼの活性と遺伝子発現が特異的に亢進するが、心臓ACEは活性化されないことを明らかにした。今回は、心筋症の病態形成に果たすキマーゼ依存性ANGII産生経路の役割を更に明らかにするために、ANGII拮抗薬の効果を検討した。

【方 法】5週齢の雄性心筋症ハムスター(BiO14.6)を二群に分け、一群に新規に合成されたAT1受容体拮抗薬GA0113(3mg/kg)を、他群にはプラセボ薬を9週間経口投与した。コントロールハムスターとしてBiOF1Bを同一条件で9週間飼育した。9週間後に、心臓の病理組織学的解析、心臓キマーゼとACEの二つのANGII産生酵素の動態の解析、血清生化学的解析、血圧測定を行った。

【成 績】心筋症ハムスターBiO14.6の心臓では、著明な心筋細胞壊死、線維化及び石灰化が認められるが、9週間のANGII拮抗薬の連続投与により心筋の壊死及び線維化を示す病変部位の面積は、プラセボ投与群に比べて著明に抑制された ($1.22\pm0.2mm^2$ vs $0.58\pm0.1mm^2$, n=20, $p<0.01$)。心臓内の石灰化病変部位の面積もANGII拮抗薬投与により著明に抑制された ($0.45\pm0.09mm^2$ vs $0.19\pm0.01mm^2$, n=20, $p<0.01$)。また、血清LDL、GOT、GPT及びCPK値は、心筋症ハムスターで著しく上昇するが、ANGII拮抗薬投与によりこれらの酵素の増加も有意に抑制された。心臓キマーゼ活性は、コントロールハムスターに比べて、心筋症ハムスターで著明に増加していた ($0.40\pm0.09$mU/mg prot. vs $0.20\pm0.03$mU/mg prot., n=6, $p<0.01$)。しかし、ANGII拮抗薬投与により心臓キマーゼ活性に対する直接的な抑制効果は認められなかった。心臓ACE活性に対しても薬物投与の影響は認められなかった。また、体重、心重量及び血圧にもANGII拮抗薬投与による有意な変化は見られなかった。

【考 察】ANGII拮抗薬の投与により心筋症ハムスターの心臓の病理学的組織病変が著明に改善されることを初めて明らかにした。ハムスターの心臓では、ヒト同様に、キマーゼ依存性とACE依存性経路によりANGIIが産生されるが、心臓内でのANGII産生には、ACEよりもキマーゼが大きな役割を担っている。また、心筋症発症によりキマーゼ依存性ANGII産生経路が特異的に活性化されるため、心筋症病態でのキマーゼの関与は更に大きくなり、その結果として心臓内でのANGII産生が亢進すると考えられる。ANGII拮抗薬は、キマーゼの発現には直接影響しなかったが、心臓内ANGIIの作用を直接遮断することで心筋症の組織病変を改善することが解明された。ANGIIは、心筋症の心臓組織病変形成に重要な役割を担っていることが明らかになった。今後、ACE阻害薬、キマーゼ特異的阻害薬の比較検討により、本疾患の病態が一層明らかになるものと期待される。

Hardy-Weinberg

# 06 ACE遺伝子多型性は高血圧運動療法の降圧効果と関連する

福岡大学医学部第二内科、
福岡大学体育学部運動生理学教室*

堺 孝明、朔啓二郎、張 波、白 懐、田代英一郎、
古賀 学、木下昭生、出石宗仁、清永 明*、荒川規矩男

【結論】高血圧症患者に対して軽強度の運動療法を行なった。その初期降圧効果はアンジオテンシン変換酵素（ACE）遺伝子多型性と関連した。また、高血圧症の重症度も降圧効果に影響した。

【目的】乳酸閾値を強度とする運動降圧療法において、その降圧効果とACE遺伝子のinsertion/deletion（挿入／欠失：I/D）多型性との関連を検討した。

【方法】本態性高血圧症患者65名について、乳酸閾値（≒最大酸素摂取量の50％相当）の運動強度で、１回60分、週３回、４週間の自転車エルゴメーターによる運動を施行した。安静時血圧は自動血圧計にて測定し、０週と４週後に血漿レニン活性（PRA）、血漿アルドステロン濃度（PAC）を測定した。４週後の血圧降下度によって降圧良好群［収縮期血圧（SBP）／拡張期血圧（DBP）＜140/90mmHg又は平均血圧の降下（△MBP）≧10mmHg］（n＝24、平均年齢53.8±7.8歳）と降圧不良群［SBP/DBP≧140/90mmHg又は△MBP＜10mmHg］(n＝41、平均年齢52.1±8.4歳）とに分類した。ACE遺伝子多型は、PCR法により同定した。

【成績】1.二元多重反復測定分析法によると、運動４週後の降圧度（△BP）は、降圧不良群は降圧良好群に比し、△SBP（－5対－15mmHg）においても△DBP（－２対－８mmHg）においても共に有意（p＜0.01）に少なかった。

2．運動前の各種パラメーターは、ACE遺伝子のDD、DI、IIの各群間で差がなかった。

3.ACE遺伝子型の分布は降圧不良群のDD型：９（22.0％）、DI型：15（36.5％）、II型：17（41.5％）に対して降圧良好群では各々１（4.2％）、７（29.2％）、16（66.6％）であり、（Mantel－Haensel Chi－Square,5.12，p＜0.05）及びDalleleの頻度（40.2％／18.8％，p＜0.01）を有していた。

4.多変量ロジスティク分析による年齢、body mass index（BMI）、PRA、PAC及び運動前MBPで補正後の降圧不良に対するDalleleの相対危険率［Odds Ratio：相加効果（additive effect）：4.40，p＝0.007；劣性効果（recessive effect):11.01，p＝0.041;優性効果（dominant effect)：5.71，p＝0.013］から遺伝子多型性が運動初期降圧効果と関連することが示唆された。

表. 多変量ロジスティック分析の結果

| | 降圧不良 Odds Ratio(95%CI) | p value |
|---|---|---|
| DD vs. DI vs. II † | 4.40 (2.55 - 7.59) | 0.007 |
| DD vs. DI and II ‡ | 11.01 (3.40 - 35.63) | 0.041 |
| DD and DI vs. II § | 5.71 (2.83 - 11.50) | 0.013 |
| Age (year) | 1.58 (0.71 - 3.50) | 0.56 |
| BMI (Kg/m$^2$) | 2.20 (0.75 - 6.44) | 0.56 |
| PRA (ng/ml/hr) | 0.68 (0.36 - 1.26) | 0.53 |
| PAC (pg/ml) | 2.04 (1.10 - 3.77) | 0.25 |
| MBP (mmHg) | 2.24 (1.63 - 3.09) | 0.011 |

† Additive effect of the D allele.
‡ Recessive effect of the D allele
§ Dominant effect of the D allele

5.降圧不良群は、降圧良好群と比較し、運動前のMBPが有意（p＜0.01）に高かった（116±8 vs.111±9mmHg）。運動前のMBP値も降圧効果と有意に関連した（Odds Ratio：2.24，p＝0.011）。

【考察】高血圧関連遺伝子として、ACE遺伝子のinsertion/deletion（挿入／欠失：I/D）多型が注目され、そのACE遺伝子のDD型が心筋梗塞や心肥大などの遺伝的リスクとなるとの報告がある。今回、マイルド（乳酸閾値）の強度の運動降圧療法において、その初期（４週）降圧度とACE遺伝子の多型性およびその他の体液因子との関連を検討した。その結果、ACE遺伝子多型とMBP（運動前のMBPが降圧不良群で有意に高値）が独立して運動療法初期降圧に関与し、ACE遺伝子多型同定は、運動療法降圧の予測因子になりうることが示唆された。我々は運動降圧効果感受性に関して、従来低レニン値の関与を認めてきたが、本研究では、運動前PRAは多変量ロジスティク分析では降圧感受性に有意な関連はなかった。しかし、ACE遺伝子多型のDD型ではPRAが有意に高値（DD型：1.40±0.33、II型：0.74±0.09ng/ml/hr,p＜0.05）を示した。ACE活性がDalleleで高値を示すという報告と併せて運動降圧機序が示唆された。

# 07

## 血圧の脳卒中死亡に及ぼす影響評価とその改善効果の危険度評価システム
## --国民の代表標本の１４年間のフォローアップ調査結果（NIPPON DATA 1980）--


滋賀医科大学福祉保健医学　岡山　明　上島弘嗣
札幌鉄道病院　飯村　攻
札幌医科大学第２内科　田中繁道
NIPPON DATA 研究グループを代表して



【結論】国民の代表標本の１４年間の追跡調査結果に基づいて血圧の脳卒中死亡率への影響を検討したところ、他の危険因子を考慮しても血圧の高いことが、全年齢にわたって脳卒中死亡への有意な危険因子であることが明らかになった。疫学データに基づいた血圧の健康危険度評価システムを作成することで国民の正常血圧維持への意識を高めると考えられた。

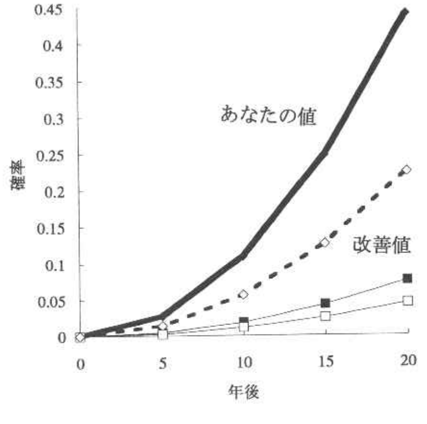
【目的】血圧が脳卒中死亡の最大の危険因子であることはよく知られているが、わが国の疫学調査成績を用いて、脳卒中のその他の危険因子や治療状況をを考慮した場合の血圧の影響を明らかにした研究は少ない。我々は平成６年度に厚生省の 1980 年の循環器疾患基礎調査の対象者約１万人の 14 年間の追跡研究を行い高い追跡率を得た。本報告では最終データセットを用いた血圧の脳卒中死亡への影響の評価を行うと共にこれを用い個人の生活習慣や健康診断結果と改善目標を入力すると脳卒中の死亡の現在の確率と改善した場合の確率が示される健康危険度評価システムを作成することを目的とした。

【方法】1980 年調査の非験者 10,553 名の生命予後を平成６年 11 月時点で調査した。追跡可能であったものは 92.9%であった。死亡者は 1357 名であった。死因の確定率は 97.4%で、脳卒中による死亡者は 256 名であった。調査時点で脳卒中の既往を持つもの 62 名は解析から除外した。脳卒中死亡に及ぼす最大血圧の影響を人年法を用いて解析し Mantel -Haenszel 法により年齢調整相対危険度を求めた。更に最大血圧と血圧治療状況、喫煙、年齢、飲酒その他の因子を考慮した解析を行うため比例ﾊｻﾞｰﾄﾞﾓﾃﾞﾙを用いて検討した。

【結果】最大血圧と脳卒中死亡は男女とも若い世代から 85 歳まで血圧の上昇と共に増加した。年齢調整相対危険度は 110-119 mmHg を基準にすると最大血圧値が 160-179 mmHg で 6.51 、180mmHg 以上の群で 7.33 で有意であった。30-74 歳に限ると血圧の低い群からの脳卒中死亡は観察されなかった。女性でも男性と同様に最大血圧値が高いほど死亡率が増加する顕著な傾向が認められた。相対危険度は 140-159mmHg で 3.25、160-179mmHg で 4.08、180 mmHg 以上の群で 6.00 であった($p<0.05$)。年齢を 30-74 歳に限定すると相対危険度は大きくなり 160-179 mmHg で 4.69、180 mmHg 以上の群で 13.32 で有意な差を得た。男女とも高血圧未治療者の最大血圧と脳卒中死亡率との関係はより明瞭であった。降圧剤服用者の死亡率は血圧との有意な関係は観察されなかったが、140-159 mmHg で比較すると服用者の相対危険度は非服用者の 1.3、2.3 倍であった。

比例ハザードモデルを用いた解析によって、高血圧、降圧剤治療状況は年齢、喫煙等を考慮しても脳卒中死亡に有意に関連した。図はこの解析結果をまとめて６５歳男性を例に１５年間の脳卒中による累積死亡確率の、血圧レベルによる違いを図示したものである。最大血圧が 180mmHg のものと 120mmHg では相対危険度に 2.2 倍の差が認められた。


図　脳卒中死亡の健康危険度評価システム出力例



# 08　わが国における高齢高血圧者の治療の現況

琉球大学医学部第三内科　村谷博美、柊山幸志郎、神山朝政、木村頼雄
長寿科学総合研究事業「高齢者の高血圧等慢性病態に対する薬物療法の評価に関する研究」班（代表 尾前照雄）

【結 論】 70歳以上の高齢高血圧者でも、より若い患者とほぼ同等の血圧レベルまで、降圧されている。さらに、標的臓器障害を有していても、合併症のない患者と同等か、それ以下に降圧されている。患者の年齢によらず、Ca拮抗薬が頻用されている。高齢者では単剤治療の比率が高く、より少量の薬物で降圧が達成されると考えられた。

【目 的】 欧米の成績によれば、高齢高血圧者でも積極的な降圧治療により、脳・心事故が減少する。しかし、具体的な降圧目標についての統一された基準はない。また、欧米の成績は、主に利尿薬や$\beta$遮断薬による治療に基づくが、高齢高血圧者にどのクラスの薬物が適するかについても、意見は一致してない。わが国の高齢高血圧者に対する治療指針を作成するための基礎資料として、高齢高血圧者が、高血圧臨床を専門とする医師により、どのように治療されているかを調査した。

【方 法】 1995年6月から10月にかけて厚生省長寿科学総合研究事業「高齢者の高血圧等慢性病態に対する薬物療法の評価に関する研究」(尾前照雄班長）の班員ならびに研究協力者が所属する11の施設で、50歳以上の外来患者を対象に、性、年齢、既往歴、生活歴、随時血圧、脈拍数、肥満度、検査成績、投薬内容についての断面調査を行った。1,163名の成績が得られた。主治医の記載に従い、未治療高血圧者36名、降圧治療中の高血圧者827名、心血管作動薬を投与されてない正常高血圧者194名、計1,057名を解析対象とした。P値0.05未満を統計学的に有意とした。

【成 績】 未治療高血圧者、降圧治療中の高血圧者、正常血圧者の血圧（平均値±標準偏差）は、それぞれ148±15 / 82±8, 143±16 / 81±10, 131±13 / 75±8 mmHgで、高血圧者は降圧治療中でも正常血圧者より有意に高い血圧値を示した。降圧治療中の血圧を年齢階級毎に見ると、70歳以上(302名）では146±17 / 78±10 mmHgで、50-59歳（182名）の140±16 / 85±10 mmHg、60-69歳（343名）の141±15 / 81±9 mmHgに比べて収縮期血圧は有意に高く、拡張期血圧は有意に低かったが、3群間の平均血圧の差は、有意ではなかった。単剤により治療されている者の割合は70歳以上の患者では59%で、50-59歳、60-69歳の35%、50%に比べ有意に高かった。降圧治療中の患者の78%にCa拮抗薬が投与されていた。Ca拮抗薬の使用頻度は、各年齢階級間に差はなく、糖尿病、高脂血症、肥満、脳卒中、虚血性心臓病を合併していても殆ど変らなかった。Ca拮抗薬が投与されていた患者のうち、このクラスの薬物のみで治療されていた者の割合を50-59歳、60-69歳、70歳以上の各年齢階級毎に見ると、それぞれ29%, 41%, 55%と、高齢者で単独治療の比率が高かった。Ca拮抗薬以外の降圧薬の使用頻度は、$\beta$遮断薬 : 35%、ACE阻害薬 : 27%、利尿薬 :  19%、$\alpha$遮断薬 :8%であった。対象を70歳以上の患者に限ると、それぞれの使用頻度は$\beta$遮断薬 : 21%、ACE阻害薬 :25%、利尿薬 :23%、$\alpha$遮断薬 :7%で、50-59歳、60-69歳の者に比べて、$\beta$遮断薬の使用頻度が低かった。脳卒中の既往のある患者、虚血性心疾患を合併している患者の降圧治療中の血圧は、それぞれ144±15 / 80±9, 139±16 / 77±11 mmHgで、合併症も危険因子も全くない者の146±16 / 84±8 mmHgに比べて、脳卒中既往者では拡張期血圧が、虚血性心疾患合併者では収縮期、拡張期血圧が有意に低かった。しかし、70歳以上の者に限ると、虚血性心疾患合併者の拡張期血圧のみが、合併症や危険因子を全く伴わない者より低値であった。

【考 察】 高齢者では、降圧による臓器機能の低下を恐れて、降圧目標は高めに設定されることが多いが、今回の調査では、70歳以上でも、より若い患者とほぼ同等のレベルまで降圧されていた。これは、標的臓器障害を有する患者でも、同様であった。身体・精神機能に注意を払いつつ緩徐に降圧すれば、高齢でも、より若い患者と同等のレベルまで降圧可能な患者が少なくないと思われた。Ca拮抗薬の使用頻度が諸外国より高いことは、他の調査でも示されており、本邦の特徴と思われる。このような、降圧薬の使用頻度の偏りが患者の予後に如何なる影響を及ぼすかは、今後明らかにすべき問題である。

**09**

# 本態性高血圧のremission

朝日生命成人病研究所　杉山卓郎、喜楽順一
芦田映直、藤井　潤

**［結論］**　治療開始時に心電図上高電位差が無くかつ経過中単剤投与にてコントロール可能な本態性高血圧症例は、休薬の可能性が少なからずある。また多くの休薬可能症例で休薬開始時には降圧薬開始時に比べ体重が減少していた。

**［目的］**　長期降圧薬療法中に降圧薬を中断すると血圧が再上昇することが多いが、ときには降圧薬を中止しても降圧状態が持続することがある。この現象は高血圧の remission といわれる。remissionは降圧療法中の患者の10％～20％にみられるというが、remission の持続（血圧が上昇して降圧薬療法を再開するまでの期間）、誘因、remission を来す患者の背景因子などについては必ずしも明らかではない。そこで、長期降圧薬療法中の患者を対象にremission の実態について検討した。

**［方法］**　当院外来で、1968～75年に投薬治療を開始した本態性高血圧956例中、20年以上にわたり経過観察し得た111例（平均観察期間23.08年）を対象とした。血圧の低下により降圧薬を中止し、1年以上降圧状況が維持された場合をremission とし、その頻度、期間、誘因およびremission を来した患者の背景因子を調査した。

**［成績］**　① remission の頻度：111例中24例（21.6％）に remission がみられた。② remission の期間：1.5～22年（平均6.5年）であり、最長22年の例は現在に至るも血圧は再上昇せず、complete remission に近い。③ remission の誘因としては、脳卒中後および胃切除後 remission を来したものがそれぞれ2例、感電後 remission を来したと思われる例が1例あった。残りの19例では remission の誘因は明らかでなかった。明らかな誘因がなく remission を来した19例（男10、女9例、平均47.7才；投薬開始時血圧平均値162.4/103.7 mmHg：R群；休薬前平均治療年数7.99年）と remission がみられない87例（男49、女38例、平均49.7才；投薬開始時血圧平均値164.8/104.5 mmHg：N群）について、背景因子について検討したところ、④年齢、性別、および降圧薬開始時の血圧値、血中BUN, Cr値、尿蛋白、体重には両群間で有意差はなく、治療開始時の心電図にて3.5 mV超の高電位差を認める症例がN群で有意に多かった（55/87 vs 7/19；$p<0.05$；$\chi^2$検定）。⑤さらにR群の19例では降圧薬開始時に比べ休薬開始時（血圧平均値123.5/78.9 mmHg）には体重が有意に減少しており（$p<0.01$；paired $t$ 検定）、⑥全経過中の最大使用薬剤数が1剤のものが多かった（$p<0.001$；$\chi^2$検定）。⑦全症例の観察期間の総和に対するremission 期間の総和の割合は4.85％であったが、高電位差の無い症例では6.84％（12/44症例）、さらに高電位差が無くかつ経過中1剤のみでコントロールできた症例では15.44％（9/14症例）であった（$p<0.001$；$\chi^2$検定）。⑧休薬開始のシーズンは春、夏（4-9月）に19例中13例と多くみられたが有意ではなかった（$p=0.13$；$\chi^2$検定）。

**［考察］**　本態性高血圧症に対する薬物療法は、適正体重の維持や運動療法などの非薬物療法とともに、本症治療の重要な柱である。しかし一般に治療は長期におよび、患者の服薬コンプライアンスや副作用発現の面などから、降圧剤はできる限り少数少量であることが望まれる。従来の報告ではremission は約10-20％に起こることが示されていたが、どのような患者が休薬できるかは必ずしも明確ではなかった。本研究では20年以上にわたり継続的に経過観察し得た外来患者を対象に調査し、その21.6％にremission がみられたことは従来の報告に一致する。さらに今回の研究で、治療開始前に心電図上高電位差が無く、かつ経過中単剤投与にてコントロール可能な本態性高血圧症例は、休薬の可能性が少なからずあることが示された。

# 10

# Goldblatt高血圧ハムスターにおけるACE阻害薬とAT1受容体拮抗薬の効果の比較検討

福岡大学第2内科教室

中山秀、上原吉就、木下昭生、浦田秀則、笹栗学、出石宗仁、荒川規矩男

【結論】1)ハムスターの2腎1クリップ(2K1C) Goldblatt 高血圧作成後4週までの血圧に対してACE阻害薬(ACE I)とAII1型受容体拮抗薬(AT1A)は同等の降圧効果を示した。よってキマーゼは殆ど関与していないことが示唆された。2) 2K1CハムスターのアンジオテンシンII(AII)産生酵素の発現は心臓と肺で独立して調節されており、その発現変化はレニン－アンジオテンシン(RA)系阻害薬により抑制される。

【目的】近年各種病態下での局所RA系の重要性が示唆され、さらにヒトではAII産生酵素キマーゼの活性が、ACEより強いことが示されている。キマーゼの組織発現量は動物種差が甚しいが、ハムスターはヒト型キマーゼを有し、高血圧モデルとして有用と考えられる。今回我々はハムスターに2K1C高血圧を作り、ACE IとAT1Aを用いて、血圧と局所RA系への関与を検討した。

【方法】8週令シリアンハムスター(体重100～120 g)の左腎動脈にsilver clipをかけ2K1C高血圧を作成し、0，7，14，19，24日目イナクチン麻酔下(115 mg/kg)で非観血的に右後肢収縮期血圧を測定した。14日目血圧上昇確認後次の3群に分け、各種薬剤を計10日間経口投与し、Sham群と比較した。1群,Vehicle群(n＝14)、2群，ACE I (Temocapril(T)、30 mg/kg/day)投与開始し、5日目よりAT1A(CS866(C)、10 mg/kg/day)を併用する群(n＝11)、3群,AT1A(C、10 mg/kg/day)投与開始し、5日目よりACEI(T、30 mg/kg/day)を併用する群(n＝13)またclipも投薬もしない群をSham群(S群，n＝13)とした。薬剤投与10日目に心臓、肺を摘出し、合成AI($10^{-4}$M)と各種組織ホモジネートをインキュベーションし、HPLCにてAII産生量を測定し、総AI変換能とした(1 unit, U＝nmol Ang II/min/mg protein)。Captopril ($10^{-4}$M)またはChymostatin($10^{-5}$M)で抑制されるAI変換活性をそれぞれACE活性、キマーゼ様活性とした。

【成績】2K1C高血圧作成後、S群に比較し14日目には収縮期血圧が、143±4 mmHgから172±4 mmHgまで有意($p<0.01$)に上昇した。降圧薬投与5日目で1群(169.5±5 mmHg)に比較し、2，3群それぞれ19 mmHg($p<0.01$)、15 mmHg($p<0.01$)のの降圧を認めたが、他剤追加投与では2，3群ともそれ以上の有意な降圧は認めなかった。また摘出した心重量は、1～3群でS群に比し有意な($p<0.05$)増加を認めた。ただし1～3群間に有意差はなかった。また心臓における総AI変換能は1群(0.42U)でS群(0.6U)に比較し、有意な($p<0.05$)減少を認め、キマーゼ様活性はS群(0.2U)に比較し、1群(0.12U)で低下していた。また2，3群でこの総AI変換能の減少は抑制されていた。一方肺ではACE活性の上昇によるAII産生量が、S群(2.8U)に比較し、1群(3.6U)で増加を認めた。

【考察】2K1Cハムスターにおいて24日目までの実験ではACE I群，AT1A群とも同程度降圧し、他剤の追加投与でも更なる有意な降圧は認めず、ACE以外のalternativeなAII産生系の関与は否定的であった。また心臓では主にキマーゼ様活性の減少によると考えられる総AI変換能の減少を認めた。ラット心肥大モデルで心臓AII産生量が増加しているという報告があり、今回の心臓のキマーゼ様活性の減少は、組織で産生されたAIIによるキマーゼ発現へのnegative feedbackの可能性が考えらた。一方、肺では血圧上昇に伴いACE活性の増加を認め、これが血圧上昇の一因となっている可能性が考えられた。以上、2K1Cハムターの心臓，肺ではAII産生酵素活性の変化に差があり、AII産生酵素の発現が組織別に独立して調節されたことが示唆された。

## 11 慢性高血圧維持機構におけるアンジオテンシン変換酵素とキマーゼの2つのアンジオテンシンII産生酵素の役割

大阪医科大学・薬理学教室　　高井真司、金徳男、塩田直孝、宮崎瑞夫

【結　論】2腎性1クリップ型（２Ｋ１Ｃ）高血圧ハムスターの慢性期において、心血管組織における2種のアンジオテンシンII（ＡＮＧII）産生酵素-アンジオテンシン変換酵素（ＡＣＥ）とキマーゼ-は異なる動態を示した。①血管組織においてはＡＣＥ活性が上昇し、血圧の維持に大きく関与していることが示された。②心臓ではキマーゼ活性が上昇し、長期圧負荷の心臓肥大に伴う心臓組織変化に関与する可能性が示唆された。

【目　的】高血圧の発症原因の一つとして、我々は慢性期の高血圧維持機序には血管壁ＡＣＥの発現増加を介した血管局所ＡＮＧII産生の亢進が重要な役割を果たしていることを報告してきた。一方、我々はヒト、サル、イヌの血管組織にはＡＣＥ以外にキマーゼが存在し、摘出血管においてＡＮＧII産生酵素として機能することを証明してきた。また、イヌの血管組織ではキマーゼ依存性ＡＮＧII産生が血管壁再構築に深く関与する可能性を示唆した。しかし、高血圧においてキマーゼ由来のＡＮＧIIの関与は不明である。前回の本学会で、ハムスターにヒト同様のＡＮＧII産生能を有するキマーゼの存在を示した。今回はそのハムスターを用いて高血圧モデルを作成し、主に慢性期における血管および心臓組織のＡＣＥとキマーゼの２つのＡＮＧII産生酵素の動態を解析した。

【方　法】シリアンハムスター（雄性、６週齢）の左腎動脈を０.２mm幅の間隙のクリップで狭窄することにより2腎性1クリップ型（２Ｋ１Ｃ）高血圧モデルを作成し、狭窄後３２週まで追跡した。血圧は覚醒下で平均血圧を観血測定した。血漿レニン活性（ＰＲＡ）はラジオイムノアッセイにて定量した。大動脈および心臓のＡＣＥとキマーゼ活性はそれぞれBzGly-His-LeuおよびＡＩを基質として定量した。

【成　績】２Ｋ１Ｃ群（n＝６）の血圧はクリップ狭窄後１週より対照群（n＝６）に比べ有意に上昇し、４週で最高値に達し（平均血圧：対照群、１１３±５mmHg、２Ｋ１Ｃ群１８１±６mmHg）、３２週においても有意な血圧上昇が維持されていた。２Ｋ１Ｃ群のＰＲＡは４週で最高値に達したが（対照群の約１２倍）それ以降急激に減少し、３２週では対照群とほぼ同値であった（対照群：３.７９±０.８７ng/ml/h、２Ｋ１Ｃ群：３.０４±１.３０ng/ml/h）。２Ｋ１Ｃ群の血管組織ＡＣＥ活性は４週より有意に上昇し、３２週においても有意に高値を示したが、キマーゼ活性はいづれの時期においても対照群と差が認められなかった。心臓重量は４週より２Ｋ１Ｃ群が対照群に比して有意に増加した。２Ｋ１Ｃ群の心臓組織ＡＣＥ活性は心臓肥大に伴い４週より穏やかな上昇傾向を示すが、３２週まで有意ではなかった。一方、キマーゼ活性は心臓肥大が長期化した３２週において有意な上昇を示した。

【考　察】ヒト同様にＡＣＥとキマーゼの２つのＡＮＧII産生酵素を持つハムスターの高血圧モデルにおいても、高血圧の発症にはＰＲＡおよび血管組織ＡＣＥ活性の上昇が主因であり、慢性期の高血圧維持には循環のＰＲＡが正常化することから血管組織ＡＣＥの活性化が重要な役割を果たしていることが示された。血管組織キマーゼ活性に大きな変化がないことはキマーゼがＡＣＥと異なり、高血圧の病態への関与は少ないものといえる。これらの結果はＡＣＥ阻害薬とＡＮＧII受容体拮抗薬の降圧効果に差を認めない理由であろう。しかし、心臓におけるキマーゼ活性の上昇は心臓に対する長期の高血圧負荷を反映したものであり、この時期に生じる心臓肥大に伴う心臓組織変化にキマーゼが関連する可能性が考えられる。

本研究はＡＣＥとキマーゼの２つのＡＮＧII産生酵素が高血圧およびそれに伴う心臓肥大の進行に応じて独立して機能することをはじめて明らかにしたものである。

# 12 つくば高血圧マウスの心肥大及び腎障害におけるレニン・アンジオテンシン系の作用についての検討

近畿大学医学部　第一内科[1)]
国立泉北病院　循環器科[2)]
筑波大学応用生物化学系[3)]
萬有製薬つくば研究所[4)]

甲斐達也[1)], 木野博文[1)], 浜　純吉[2)], 竹中俊彦[1)]
杉村圭一[1)], 鴨井公司[1)], 島田誠二郎[1)], 黒岡京浩[1)]
上原小百合[4)], 土田　稔[4)], 深水昭吉[3)], 村上和雄[3)]
香取　瞭[1)]

【結論】つくば高血圧マウス(THM)の心肥大には昇圧よりもレニン・アンジオテンシン(RA)系の亢進が重要な役割を演じており，一方腎障害の進行には昇圧がRA系の亢進と共に重要な役割を演じている可能性が示唆された。

【目的】THMは，ヒトレニン遺伝子導入マウスとヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子導入マウスを交配することにより作製された高血圧モデル動物でヒトレニン及びヒトアンジオテンシノーゲンの両遺伝子を発現している。またTHMは野生型のマウスに比べ約30mmHg程度の収縮期血圧の上昇を認め，加齢とともに著明な心肥大や腎糸球体硬化を呈することが知られている。本研究ではTHMにRA系を阻害する降圧薬であるACE阻害薬のlisinoprilとRA系に影響を与えないかむしろ亢進させる降圧薬である血管拡張薬のhydralazineをそれぞれ投与して比較することにより，心肥大及び腎障害におけるRA系の役割について検討した。

【方法】10週令のTHMを無投薬群(C群　n=12), lisinopril(20mg/kg/day)投与群(L群　n=12)及び，hydralazine(30mg/kg/day)投与群(H群 n=12)の3群に分け，同週令のC57BL/6Jマウス(W群 n=12)を正常対照として用いた。11週令及び12週令で薬剤投与前のデータを取った後に各薬剤を投与し，1週毎に血圧，尿量，飲水量，体重及び尿中アルブミン排泄量を測定した。20週令で屠殺して心体重比を算出し，Kohara (Hypertension, 1993)らの方法に準じて糸球体硬化率を算出した。更に各群で硬化していない糸球体をランダムに200個選び，それぞれの糸球体の面積を求めてW群に対する面積比を算出した。また心臓及び腎臓についてfibronectinの免疫染色を行い，併せて腎臓についてはICAM-1及びTGF-$\beta_1$のmRNA発現量を$\beta$-actinを内部コントロールとしてRT-PCR 法にて測定した。

【成績】実験開始時の10週令で既にTHMの心体重比はW群の約1.25倍に増加しており，腎臓においても光顕上は差を認めないものの尿量，飲水量及びアルブミン排泄量共W群に比べ増加していた。20週令でのC群の収縮期血圧は131±6mmHg(Mean±SD)とW群(91±3mmHg)に比べ有意($p<0.01$)に高く，飲水量(11.2±3.5ml/day), 尿量(7.1±1.7ml/day)ともにW群(5.6±1.4ml/day, 1.7±0.3ml/day)と比べ有意($p<0.01$)に増加していた。L群及びH群では収縮期血圧はそれぞれ128±6mmHg, 130±3mmHgから112±4mmHg, 113±5mmHgへと同程度まで有意($p<0.01$)に低下した。体重は各群間で有意な差はなかった。飲水量及び尿量はL群(5.3±2.8ml/day, 2.2±0.5ml/day)でW群と同程度まで有意($p<0.01$)に低下したが，H群(7.0±1.5ml/day, 4.1±1.5ml/day)ではC群とW群の中間程度の低下に留まった($p<0.05$)。尿中アルブミン排泄量もC群でW群の約10倍に増加していたが，L群及びH群ではW群と同程度まで有意($p<0.01$)に抑制された。心体重比もC群はW群の約1.5倍に増加しており，L群では34%($p<0.01$)抑制されたがH群では抑制されなかった。腎糸球体硬化率及び糸球体面積もC群で有意に増加しており，L群ではW群と同程度のレベルまで有意($p<0.01$)に抑制されたが，H群ではC群とW群の中間程度のレベルに留まった($p<0.05$)。Fibronectinは心臓ではC群及びH群の間質で著明な発現を認めたがL群及びW群では殆ど発現しておらず，腎臓においてもC群及びH群では糸球体に著明な発現を認めたがL群及びW群では殆ど発現していなかった。ICAM-1及びTGF-$\beta_1$mRNAの発現量は，C群でW群に比べそれぞれ33%と17%増加していた。L群では共に発現量はW群と同程度まで抑制され，H群ではICAM-1はW群と同程度まで抑制されたが，TGF-$\beta_1$は13%増加していた。

【考察】RA系の最終生理活性物質であるアンジオテンシンIIは、それ自体が心筋細胞の肥大や腎糸球体硬化に対して促進的に作用する事が知られているが、一方血圧上昇によるmechanicalなstressも同様の作用を持つ事が報告されており，心肥大や腎糸球体硬化に対するRA系の作用は依然として不明な点が多い。本研究の結果からはTHMの心肥大には昇圧よりもRA系の亢進が重要な役割を演じており，一方腎障害の進行には昇圧がRA系の亢進と共に重要な役割を演じている可能性が示唆された。今後更に長期間の観察や他の降圧薬での検証の必要性があると考えられた。

# 13 高血圧による傷害血管壁リモデリング機構における血小板由来成長因子受容体の役割について

愛媛大学医学部第2内科　北見　裕, 福岡富和, 大蔵隆文, 間口元文, 伊賀瀬道也, Deng Li-Zhi, 小原克彦, 日和田邦男.

【結論】血小板由来成長因子(PDGF) は高血圧による血管壁リモデリングの分子機構において重要な働きをしている因子の1つであるが, その特異的な受容体であるα-およびβ-受容体は特に傷害血管壁において過剰に発現され, 新生内膜の増生や動脈硬化巣の進展に深く関与しているものと考えられた。また, それらの発現は主に遺伝子転写レベルで調節されており, α-およびβ-受容体遺伝子とも特徴的なシス・エレメントであるCAAT結合領域を介して転写制御されているものと考えられた。

【目的】PDGFは高血圧による傷害血管壁の修復機転において重要な役割を演じている因子である。PDGFの生理活性はその特異的な受容体α-およびβ-受容体を介して発現するが, 本研究は血管平滑筋細胞(VSMC)におけるPDGF受容体(PDGFR)遺伝子の転写レベルでの発現調節機構を明らかにし, 血管壁リモデリング機構におけるPDGFRの役割を明らかにすることである。

【方法】研究に用いたラットはすべて雄Sprague-Dawleyラット(12-15週令)である。ラット培養VSMCを用いた検討では, 胸部大動脈より酵素分散法を用いて単離した細胞を継代培養(3-7継代)した後使用した。また, 高血圧による傷害血管壁のモデルとして, 総頚動脈にバルーン傷害を施行し, 経時的に観察した。VSMCにおけるPDGFRの細胞内発現に関しては, 無刺激下およびIL-1β(20 ng/ml) 刺激下のそれぞれについて, mRNAレベルはノーザンブロット法で, タンパクレベルはそれぞれの受容体に特異的な抗体を用いた免疫染色で比較検討した。また, PDGFR遺伝子の転写レベルにおける細胞内発現調節に関する検討は, α-およびβ-受容体遺伝子の5'-上流プロモーター領域をクローニングし, VSMCを用いてルシフェラーゼアッセイ, ゲルシフトアッセイならびにスーパーシフトアッセイなどで検討した。バルーン傷害血管壁での検討は, ヒストレジン切片を作製し免疫染色を用い解析した。

【成績】VSMCにおけるPDGFRの細胞内発現では, β-受容体は無刺激下でmRNAおよびタンパクレベルとも比較的豊富に発現しており, IL-1β刺激によってそれらの発現は軽度増加した。これに対して, α-受容体は無刺激下においてその発現はmRNAおよびタンパクレベルともほとんど認められなかったが, IL-1β刺激によって著明に増加し, その増加は主に遺伝子転写レベルで調節されていた。α-およびβ-受容体遺伝子5'-上流プロモーター領域の構造決定ならびに機能解析の結果, 両遺伝子ともにその遺伝子転写制御を担う重要なシス・エレメントとしてのCAAT結合領域を2つずつ同定した。また, その領域に結合するCAAT結合タンパクは, α-受容体遺伝子では主により下流に位置するC/EBP結合領域が重要であり, IL-1β刺激により特異的に誘導されるCAAT結合タンパクとしてのC/EBPファミリーを同定した。さらに, その主要なメンバーであるC/EBPα, β, δのうちC/EBPδは促進的に, C/EBPβは抑制的に作用した。これに対して, β-受容体遺伝子ではその発現に大きな役割を果たしていると思われる2つのCAAT結合領域のうち, より上流のCAATエレメントが重要であり, C/EBPとは異なった他のCAAT結合タンパクのメンバーがその遺伝子転写制御において重要な働きをしているものと考えられた。バルーン傷害血管壁の検討では, 新生内膜肥厚は傷害後2-3週が最も著しく, その時期に一致してα-受容体は新生内膜肥厚部に比較的均一に, β-受容体は内膜直下に一致してそれぞれ発現が誘導された。これに対して, α-受容体遺伝子の発現を制御するC/EBPβおよびδは, 傷害後の極く早期に発現が誘導された。

【考察】これらの成績から, PDGFRは高血圧に基ずく血管壁傷害とその治癒機転において重要な働きをしていることが示唆された。また, 傷害血管壁ではPDGFのみならずその受容体も過剰に発現され新生内膜の増生に深く関与し, その発現は主にCAAT結合領域を介した遺伝子転写制御機構が重要な役割を果たしているものと考えられた。

**14**

# 高血圧性動脈壁肥大におけるアンジオテンシンIIを介したJak/STAT細胞内情報伝達系の関与

大阪市立大学第一内科　　根来伸夫、金山良春、井上圭右、崔　吉永、
原口正史、岡村幹夫、井上隆智、吉川純一

【結論】高血圧自然発症ラット（ＳＨＲ）の肥大した大動脈中膜ではJak/STAT系が活性化している。降圧に有効な量以下のＩ型アンジオテンシンII（ＡII）受容体（ＡＴ１）拮抗剤の投与でも、動脈壁肥大の減少およびJak/STAT系の活性化の減少を認めたことから、ＳＨＲの高血圧性動脈壁肥大の進展に、ＡIIを介して活性化したJak/STAT系が関与している可能性が示唆される。

【目的】高血圧による動脈壁肥大進展の分子機構のひとつとして、血管壁内のＡIIを介する系の存在が予想されている。最近、ＡＴ１の細胞内情報伝達系として新たにJak/STAT系が発見された(Marrero MB, et al., 1995)。この系では、ＡＴ１に共役したJak2 チロシンキナーゼにより、STAT1およびSTAT2がチロシンリン酸化されて活性化し、GAS配列やISE配列をもつ遺伝子の転写を調節している。さらに、細胞増殖に関連するc-fos遺伝子がSTAT系蛋白によりISE配列を介して活性化されるので、この系は血管平滑筋細胞の増殖に関わる新しい情報伝達系である可能性がある。今回、高血圧性動脈壁肥大におけるＡIIを介するSTAT系の関与を調べる目的で、ＳＨＲにＡＴ１拮抗剤を投与し、肥大した動脈壁におけるJak/STAT系の変化を検討した。

【方法】15週齢のＳＨＲ（n=3-6）に６週間、ＡＴ１拮抗剤TCV-116 (1 mg/kg/day) を投与した。チロシンリン酸化（P-Tyr）されたSTAT1およびSTAT2は、各々の特異的抗体で免疫沈降した後、SDS-PAGEで電気泳動し、抗ホスホチロシン抗体で免疫ブロットして検出した。GAS配列およびSIE配列に結合するSTAT系蛋白複合体はgel shift assayを用いて測定した。

【成績】１）TCV-116の投与により、ＳＨＲの血圧は低下し、体重あたりの胸部大動脈湿重量比の減少（100 ± 2% vs. 81 ± 3%, p<0.05）ならびに大動脈中膜の断面積の有意な減少（100 ± 3% vs. 84 ± 4%, p<0.05）を認めた。２）ＳＨＲの大動脈中膜において、P-Tyr-STAT1 α，βおよびP-Tyr-STAT2を検出し、Jak/STAT系の活性化を認めた。３）TCV-116の投与により、大動脈中膜において、P-Tyr-STAT1 αの減少（100 ± 3% vs. 14 ± 1%, p<0.05）ならびにP-Tyr-STAT2の減少（100 ± 2% vs. 9 ± 2%, p<0.05）を認め、STAT系の活性化の減少を認めた。４）TCV-116の投与により、ＳＨＲの大動脈中膜において、GAS配列結合蛋白の減少（100 ± 1% vs. 60 ± 1%, p<0.05）ならびにSIE配列結合蛋白の減少（100 ± 1% vs. 55 ± 3%, p<0.05）を認めた。５）降圧を認めない少量のTCV-116の投与（0.2 mg/kg/day）にても、ほぼ同程度の動脈壁肥大の減少、活性化したSTAT系蛋白の減少、ならびにGAS配列、SIE配列結合蛋白の減少を認めた。

【考察】ＡＴ１受容体の情報伝達系の主作用は、phospholipase C β系を活性化して、Ca2+系とprotein kinase C系を活性化することが中心であると考えられている。最近、これとは別に、Marrero MBらにより培養血管平滑筋細胞においてＡIIによるチロシンリン酸化によるJak･STAT系の活性化が証明された。この系では、細胞増殖に関与する転写因子AP1を構成するc-fosの遺伝子の活性化が生じるため、ＡIIによる細胞肥大の情報伝達シグナルとしてこの系が関与する可能性が考えられて注目されており、in vivoにおける結果が待たれていた。今回、SHRの大動脈中膜において、チロシンリン酸化したSTAT系蛋白を検出し、STAT系関連の転写因子を検出したことから、生体内でもJak/STAT系が活性化することが示された。また、ＡＴ１受容体阻害薬の投与により、これらのチロシンリン酸化およびSTAT系関連の転写因子の減少を認めたことから、この系にＡＴ１受容体が関与することが示唆された。さらに、降圧を示さない量のＡＴ１受容体拮抗薬の投与でも、同様の現象および動脈壁肥大の減少を認めたことから、今回の結果は、血圧の変化により生じた現象ではなく、ＡＴ１受容体を介した現象であると考えられた。高血圧性動脈壁肥大の進展に、従来から知られているphospholipase C系以外にJak/STAT系も関与する可能性が示唆され、今後、いずれの系が血管壁肥大の分子機構において、より重要であるか、興味がもたれるところである。

# 15 組織レニン－アンジオテンシン系と血管内皮特異的増殖因子HGF（肝細胞再生因子）との関連

大阪大学医学部第四内科
同腫瘍生化学1)

中野信明、守口篤、森下竜一、長野正広、姚 香景、神出計、
木田岩男、中村成史、三上洋、山田和生、松本邦夫1)、
中村敏一1)、檜垣実男、荻原俊男、

【結論】１）アンジオテンシンⅡ及びTGF-βは、ヒト平滑筋細胞において組織ＨＧＦ産生を低下させた。２）SHRの高血圧性心肥大において心筋組織内のアンジオテンシンⅡの増加とHGF濃度の低下と、血清ＨＧＦ濃度の上昇を認めた。３）レニン－アンジオテンシン系の阻害は低下していた心HGF濃度を増加させた。以上より、アンジオテンシンⅡは内皮特異的増殖因子であるHGFを培養細胞及び生体心において抑制している。RA系の抑制による組織HGF上昇は内皮機能の保護に働き、これら薬剤の内皮機能改善に寄与している可能性がある。

【目的】高血圧患者における内皮傷害は合併症としての動脈硬化進展の一因と考えられているが、アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害薬やアンジオテンシンIIタイプ１受容体拮抗薬は心血管肥大を退縮させ、障害された内皮拡張能を改善することが報告されている。一方、強力な肝細胞再生因子として発見された肝細胞増殖因子（ＨＧＦ）は、内皮保護作用を有する内皮特異的増殖因子であり、血管壁に内因性ＨＧＦ系が存在することが我々により明らかになった。そこで、レニン－アンジオテンシン（ＲＡ）系の阻害による内皮機能改善は組織ＨＧＦ系と関係があると仮定し、アンジオテンシンⅡとＨＧＦに関して培養細胞及び高血圧モデルにおいて検討した。

【方法】１）ヒト大動脈由来血管平滑筋細胞を用いて、アンジオテンシンII及びTGF-β刺激時のHGF産生をEIA法にて検討した。２）自然発症高血圧ラット（ＳＨＲ）及びウイスターキョウトラット（ＷＫＹ）を用いて、組織ＨＧＦとアンジオテンシンIIの測定を行った。３）雄性脳卒中易発症自然高血圧ラット（SHR-SP）（１０週齢）に、1) vehicle, 2) エナラプリル 10mg/kg/day, 3) ロサルタン 10mg/kg/day, 4) HR720（アンジオテンシンIIタイプ１受容体拮抗薬）1mg/kg/day, 5) HR720 10mg/kg/day、をgavage にて６週間投与し、血圧・脈拍を測定した。また、左室重量を測定し、EIA法にて心組織・血清ＨＧＦ量を、RT-PCR法にて心ＨＧＦmRNA量を測定した。

【結果】１）培養血管平滑筋細胞において、アンジオテンシンII及びTGF-β添加により、組織ＨＧＦ産生の有意な減少が認められた。２）ＳＨＲは、２５週令においてＷＫＹに比較して心ＨＧＦ量の減少を認め、代償的に血中ＨＧＦ量の増加を認めた。一方、心アンジオテンシンII濃度はＳＨＲにおいてＷＫＹに比較し増加していた。３）ロサルタン及びHR720群は、血圧及び左室重量/体重を有意に低下させた。一方、心組織中のHGFは対照群に比しHR720 10mg/Kg 群及びエナラプリル 群で有意に上昇していた。血清HGF濃度は対照群に比しロサルタン群・エナラプリル群・HR720 10mg/kg 群で減少し、基礎値に回復していた。心HGFmRNA量は、HR720 10mg/kg 群,エナラプリル 群及びロサルタン群 で対照群より増加していた。

【考察】強力な肝細胞増殖因子として発見されたHGFは、その後肝細胞のみならずさまざまな細胞を標的とし、細胞増殖に加え、細胞運動性の促進、上皮組織の形態形成の誘導などを含め、多彩な生物活性を有することが報告されている。今回、我々は高血圧モデル動物を用い、高血圧性心肥大の進展とともに心筋内HGF濃度が低下し、代償的に血清中のHGF 濃度が上昇することを明らかにした。またアンジオテンシンⅡがHGFの強力な抑制因子であり、ACE阻害薬やAT1受容対拮抗薬を投与することにより、心肥大を抑制するとともに心筋内HGF濃度を上昇させることが明らかになった。

# 16 一酸化窒素（NO）は虚血性腎障害の防御因子である

埼玉医科大学腎臓病センター　　中元秀友、岡田浩一、鈴木洋通

【結論】レニン－アンジオテンシン系（R-A系）の亢進した状態下で、一酸化窒素（NO）は虚血に伴う腎機能障害の進行を抑制し、逆にNOの産生低下は急激な腎機能の低下をもたらす。アンジオテンシン変換酵素阻害薬（ACEI）の慢性投与は有意な血圧の低下を認めたにも関わらず、虚血腎において腎機能の改善を認めなかった。

虚血腎は血圧、R-A系以外の何らかの因子により増悪しており、それに対してNOは防御因子として作用している事が明らかとなった。

【目的】虚血を伴う腎臓に見られる高血圧において、R-A系とNOが腎機能障害の進行にどの様な影響をもたらすかについては、今日なお明らかではない。今回我々は、2腎1クリップ型腎血管性高血圧（2K1C-RVH）犬を用いて、慢性的にNO産生ならびにR-A系を調節する事により虚血性腎障害へ如何なる影響があるかを、腎機能ならびに病理組織学的な面から検討した。

【対象と方法】24頭の雄の雑種成犬に対して、内腸骨動静脈にカテーテルを挿入し、2週間連日血圧・心拍数を測定、その後腎動脈クリップを用いて50％左腎動脈狭窄を作成、さらにその2週間後にX線透視下で左腎動脈を100％完全閉塞し2K1C-RVH犬を作成した。24頭の犬を以下の4群に分類し(1)偽薬投与群（C群、n=6）、(2)L-Arginine投与群（Arg群、0.3　g/kg/day、n=6）、(3)Nω-nitro-L-Arginine（L-NA群、3 mg/kg/day、n=6）、および(4)Lisinopril投与群（Lis群、0.2 mg/kg/day、n=6）とし、50％腎動脈狭窄後上記各薬剤の経口投与を開始し、4週間継続投与下連日血圧・心拍数を測定した。4週間後にハロセン麻酔下に、狭窄腎および対側腎の糸球体濾過率(GFR)、腎血漿流量(RPF)を測定した。その後両側腎臓を摘出し、組織学的な検討を行った。

【成績】C群では50％腎動脈狭窄後血圧は上昇、100％閉塞後さらに上昇した。L-NA群では全経過を通じC群と比較し有意に血圧は上昇、心拍数は抑制された。L-Arg群では有意な血圧の変化は認めなかった。一方Lis群ではC群と比較して有意な降圧を認めた。腎機能検査では、狭窄腎でL-NA群でC群と比較して有意にRPF、GFRは減少、Arg群において有意なRPF、GFRの増加を認めた。一方Lis群の狭窄腎では、GFRの低下傾向を認めたが有意な変化ではなかった。組織学的には、全群において狭窄腎で、対側腎と比較して有意な糸球体・尿細管径の萎縮、間質への細胞浸潤を認めた。L-NA群では、C群と比較していずれも有意に増悪していた。一方Arg群においては、組織上も有意な改善を認めた。一方Lis群においては、組織上C群と比較して有意な変化は認めなかった。一方非狭窄腎においては、L-NA群において糸球体径の萎縮を認めたが、その他に有意な変化は認めなかった。

【考案】社会の高齢化に伴い心血管病変と腎機能低下、特に動脈硬化性病変によって引き起こされる腎虚血に伴う腎機能障害の増加が、臨床上大きな問題となっている。しかし、それらの病態生理については未だ不明であり、今後早急にこれらを検討してゆく必要があると思われる。今回の我々の検討では虚血に伴う腎機能障害の進行が、NOの前駆体であるL-Arginineの慢性経口投与に伴い、心血行動態の変化を介さずに有意な改善を認めた。さらにNOの合成阻害に伴い急激な腎機能の悪化を認めた。一方慢性のACEI投与に伴うR-A系の抑制により血圧は有意に低下、対側正常腎でGFR、RPFの増加傾向を認め、狭窄腎ではGFRの低下傾向を認めたがいずれも有意な変化ではなかった。以上の結果からR-A系は、狭窄腎において血圧を維持し、腎機能の低下を抑制する方向に作用しており、狭窄腎における腎機能の悪化にはR-A系以外の何らかの因子が影響していると思われた。一方NOは虚血に伴う腎機能の低下に対して、腎機能障害進行抑制因子として作用している事が明かとなった。

図1

| | L-Arg | | Control | | L-NA | | Lisinopril | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 非狭窄 | 狭窄 | 非狭窄 | 狭窄 | 非狭窄 | 狭窄 | 非狭窄 | 狭窄 |
| RPF (ml/min/kg) | 5.5±1.1 | 2.8±0.5 ++ ** | 5.2±0.7 | 0.9±0.2 ++ | 3.4±0.4 | 0.1±0.0 ++ ** | 5.8±1.3 | 0.7±0.4 ++ |
| GFR (ml/min/kg) | 1.5±0.1 | 0.6±0.1 ++ ** | 1.4±0.1 | 0.2±0.1 ++ | 1.0±0.2 | 0.0±0.0 ++ ** | 1.7±0.2 | 0.2±0.1 ++ |
| 糸球体径 (μm) | 208±7 | 165±3 ++ * | 200±3 | 153±4 ++ | 170±4 ** | 122±6 ++ ** | 210±8 | 156±4 ++ |
| 間質浸潤細胞数 | 123±15 | 285±36 ++ ** | 124±14 | 621±43 ++ | 157±21 | 1053±154 ++ * | 110±28 | 662±36 ++ |

*P<0.05、**P<0.01 vs. Control　　+P<0.05、++P<0.01 vs. 同群 非狭窄側。

## 17 DOCA-salt ラット高血圧の成因におけるTetrahydrobiopterin の関与

大阪市立大学第一内科学　井上圭右、岡村幹夫、原田正史、崔 吉永、小西昌代、根来伸夫、井上隆智、金山良春、吉川純一
大阪市立大学小児科学　新宅治夫

【結論】tetrahydrobiopterin (BH4)はNOS量とNOS活性の低下を抑制することによりDOCA-salt高血圧の治療に有用であることが示唆された。

【目的】内皮由来血管弛緩因子の本体である一酸化窒素 (nitric oxide: NO) は血管トーヌスの調整をつかさどる重要な活性因子である。NOは、L-arginineが酸化され、$N^G$-hydroxyl-L-arginineからL-citrulline になる際に産生されるが、このL-arginine/nitric oxide 系を触媒する nitric oxide synthetase (NOS) はこの反応に補酵素として NADPH, furavin、tetrahydrobiopterin (BH4) 、calmodulinを必要とする。近年、この補酵素であるBH4がNOSの機能制御に関与することが培養血管内皮細胞や摘出冠状動脈において示され、BH4が血管トーヌスの調節に果たす役割が注目されている。高血圧モデル動物における内因性NO産生はDOCA-salt高血圧ラット、SHR-SP, Dahl-Sラット、Goldblatt 高血圧ラットで低下していることが報告されている。このように高血圧においてはその成因の一部にNO産生低下が関与すると考えられる。今回、私たちはDOCA-salt高血圧ラットにBH4を投与し、NOS活性を回復させうるか、またその際降圧をきたしうるかについて検討を行なった。

【方法】DOCA-salt高血圧ラットの作成方法 8週齢Spargue-Dawleyラットに片腎摘出を行いその1週後よりdeoxycorticosterone acetate (DOCA) 30mg/kg BWを週1回皮下投与し、実験終了5週目まで観察した。また同時に飲料水として1%食塩水を与えた。実験開始時、2週、4週、5週に24時間尿を採取した。観察終了時、フェノバルビタール麻酔下で腹部大動脈より採血、その後腎臓を生理食塩水で灌流後摘出し、組織学的および免疫組織学的検討を行なった。

実験群の設定　以下の3群に分けて比較検討した。
1)　片腎摘出後、1%食塩水のみを与えた群 (対照群、 n =3)
2)　DOCA (30mg/kg BW) を週1回皮下投与し、1%食塩水を与えDOCA-salt ラットを作成した群 (DOCA群、 n =6)
3)　DOCA-salt ラット作成時よりBH4 (10mg/kg BW)を経口投与した群 (BH4群、n =5)

血圧測定　血圧は tail-cuff法により、実験開始時、2週、4週、5週において測定した。

尿中$NO_2$+$NO_3$測定　Greiss法に基づき尿中の$NO_2$+$NO_3$を測定した。

尿中BH4測定　Fukushima and Nixonら(Anal Biochem 1980)の方法に基づきHPLC分析により測定した。

腎組織NOS免疫染色　摘出した腎組織を凍結、その薄切切片上で腎組織における内皮型(E-)NOSおよび脳型 (B-)NOSの発現を特異抗体を用いた免疫染色で検討した。

【結果】1) DOCA群は観察4週目において高血圧(153.5±7.7mmHg)を呈し、尿中$NO_2$+$NO_3$は実験開始時 3.11±1.09mmol/day、観察4週 0.34±0.34mmol/day、観察終了時 測定感度以下へと経時的に減少した。尿中BH4は同じく実験開始時 23.77±0.77nmol/day、 観察4週 15.93±3.46 nmol/day、観察終了時19.25±1.96nmol/dayへと経時的に減少した。2) BH4群では観察終了時まで対照群と同様に正常血圧にとどまった。尿中$NO_2$+$NO_3$は実験開始時 2.22±0.70mmol/day 、観察4週 2.00±0.55mmol/day、観察終了時 5.95±1.90mmol/dayと増加し、尿中BH4は実験開始時 21.87±0.60nmol/day、観察4週 52.60±13.13nmol/day、観察終了時 34.26±4.08 nmol/dayと増加した。3) 免疫染色の結果、DOCA群では小血管でのE-NOS、macula densaでのB-NOS発現がともに減少し、BH4群ではこれらの発現は対照群と同等かやや増強してみられた。

【考察】DOCA-salt ラットにおいて血圧上昇と尿中$NO_2$+$NO_3$の減少、腎組織NOS発現の減少が尿中BH4の減少とともにみられた。一方経口投与したBH4により血圧上昇が防止され、尿中$NO_2$+$NO_3$の増加と腎組織NOS発現の増加がみられたことから、DOCA-salt高血圧においてBH4がNOS量/NOS活性制御に関係していることが示唆された。

# 18 食塩非感受性ラットに対する低用量N-nitro-L-arginine投与による食塩感受性の出現。

駿河台日本大学病院循環器科

麻上朋子、久代登志男、秋元秀郎、石井利明、高橋敦彦、阿部田ひろみ、日野　亨、岡部龍也、斎藤文雄、大塚雄司、車谷　仁、梶原長雄、上松瀬勝男

**【結論】**食塩非感受性モデルではNOの産生が障害されることにより食塩感受性が出現し、食塩感受性モデルではL-arginine大量投与により食塩感受性が消失した。

**【目的】**Nitric Oxide (NO)が血行動態、Na代謝に関与することから、食塩感受性高血圧とNOとの関連が指摘されている。今回、Dahl/Iwai食塩非感受性ラット(DR)とDahl/Iwai食塩感受性ラット(DS)を用い、低用量N-nitro-L-arginine(LNA)、およびL-arginineを投与した際の血圧とNa代謝の変化からNOと食塩感受性との関連を検討した。

**【方法】**6週齢のDRとDSを用いた。DRは、(1) 0.3%NaCl含有食飼育下にLNA 1mg/kg/日を飲水により投与した群(DR-LNA-0.3%群)、(2) 8%NaCl含有食飼育下に同量のLNAを投与した群(DR-LNA-8%群)、(3)対照群として0.3%NaCl含有食飼育下に蒸留水を飲水として与えた群(DR-DW-0.3%群)の3群に分けた。DSは、(1) 8%NaCl含有食飼育下にL-arginine 100mg/kg/日を飲水により投与した群(DS-LA-8%群)、(2)対照群として0.3%NaCl含有食飼育下に蒸留水を飲水として投与した群(DS-DW-0.3%群)に分けた。すべての群は10日間代謝ケージで飼育し、一日Na摂取量、尿中Na排泄量(UNa)、Naバランス(Na bal: 一日Na摂取量と尿中Na排泄量との差)を連日、尿中Nitrite排泄量(UNOx), 尿中c-GMP排泄量(UcGMP)を8日目と9日目に測定した。各群とも11日目に頸動脈カテーテルより意識下で平均動脈圧(MAP)を測定した。

**【成績】**DRのMAPはDR-DW-0.3%群に比しLNAを投与した二群で有意に高く、DR-LNA-8%群が最も高値であった($p<0.05$)。UNOxはDR-DW-0.3%群(4.87 ± 0.4)よりDR-LNA-0.3%群(4.61±0.3 μmol/日)が低値傾向、cGMPは有意に低値であった(DR-DW-0.3%群31.5±2.6、DR-LNA-0.3%群26.5 ±0.6pmol/日、$p<0.01$)。Naバランスは4、5、6日目にDR-DW-0.3%群がDR-LNA-0.3%群より有意に低値であった(4日目DR-DW-0.3%群0.12±0.03、DR-LNA-0.3%群0.26±0.03mEq/日、$p<0.05$)。DSの二群のMAP、体重(BW)に有意差はなかった。(表)

| | n | MAP(mmHg) | BW(g) | Na bal (mEq/日) |
|---|---|---|---|---|
| DR-DW-0.3% | 8 | 103±3.1 | 311±3.5 | 0.16±0.03 |
| DR-LNA-0.3% | 8 | 115±2.8** | 306±5.4 | 0.26±0.03* |
| DR-LNA-8% | 8 | 127±2.3*** | 289±1.7* | 9.42±0.90*** |
| DS-DW-0.3% | 10 | 110±3.2 | 289±1.7 | |
| DS-LA-8% | 10 | 115±1.6 | 287±3.4 | |

*$p<0.05$, **$p<0.01$, ***$p<0.001$ vs DR-DW-0.3%群

**【考察】**Dahlラットに関しては、NO産生の異常が指摘されており、腎血行動態、Na代謝、腎神経系を介して、食塩感受性高血圧に関連すると考えられている。今回の結果は遺伝的に食塩感受性が規定されているモデルにおいてNO産生を障害、あるいは亢進させることにより食塩感受性が変化することを示しており、NOが食塩感受性の重要な規定因子であることを裏づけている。

# 19 高血圧ラットの尿細管糸球体フィードバック機構に対するアドレノメジュリンの影響

島根医科大学第四内科　　小川哲也、川端雅彦、韓　文華、高畠利一

【結論】降圧ペプチド、アドレノメジュリン(AM)は、輸入細動脈拡張作用により、高血圧自然発症ラット(SHR)の尿細管糸球体フィードバック(TGF)機構の亢進を抑制し、腎血漿流量(RPF)、GFRを増加させる。加えて、AMは輸出細動脈をも拡張させるため、糸球体内圧は上昇することなく一定に維持される。さらにAMは、水・Na利尿作用を有する。その機序には、近位尿細管における直接的な再吸収抑制に加えて、輸入細動脈拡張によるTGF抑制とGFRの増加が関与する。

【目的】AMは、全身抵抗血管のみならず腎血管をも拡張させると報告されているが、腎微小循環に及ぼす影響は明らかではない。SHRではTGFの機能亢進がみられる。これは、SHRの腎血管抵抗が高いこと、および水・Naの貯留による高血圧の進展と関連すると考えられる。本研究の目的は、SHRの腎微小循環および亢進したTGF機構に対して、AMが及ぼす影響を検討することである。

【方法】チオペンタール麻酔下の、10～12週齢、雄性SHRを用い腎微小穿刺実験を施行した。1) クリアランス実験：AMを3 nmol/kg/hで静脈内に持続注入しながら、平均血圧(MBP)、GFR、RPF、尿量(UV)、尿中Na排泄率(FENa)を測定した。GFRはpolyfructosanのクリアランス、RPFはGFRとpolyfructosanの腎除去率から算出した。2) ヘンレ係蹄微小灌流実験：人工尿細管液を用いて、0、10、20、30ならびに40 nl/minの各速度でヘンレ係蹄を順行性に微小灌流しつつ、同一ネフロンの近位尿細管において、糸球体内圧を反映するstop flow圧(Psf)を測定した。係蹄非灌流時に対する、灌流時のPsfの最大減少率により、TGFの反応性を評価した。

【成績】1) クリアランス実験：AMを持続静注するとMBPは161±3 (SEM)から130±10 mmHgへと下降し、腎血管抵抗は33%低下、GFRは13%、RPFは54%それぞれ増加した。濾過率(FF)は12%低下した。また、UVは23%増加し、FENaは2倍に増加した。2) ヘンレ係蹄微小灌流実験：係蹄非灌流時のPsfは、対照群およびAM投与群でそれぞれ44±3、41±4 mmHgであった。係蹄灌流によるPsfの最大減少率は、対照群の41%に比しAM群では25%と有意に小であった。TGFの反応曲線において、Psfがその最大変化の1/2まで減少した際の係蹄灌流速度(V1/2)は、ネフロンの定常状態における近位尿細管終末部流速に一致する。V1/2値は、対照群の25±2に比し、AM群では35±3 nl/minと40%大であった。ただし、曲線上これに対応するPsf値はそれぞれ34±1、36±1 mmHgと、両群で差を認めなかった。

【考察】AMをSHRに持続静注すると、降圧とともに腎血管は拡張して、RPF、GFRは増加した。FFが低下したことは、AMが、糸球体の前・後に位置する抵抗血管をともに拡張させることを示す。腎微小穿刺実験では、AM静注下にヘンレ係蹄を微小灌流すると、TGFの刺激によりPsfは減少したが、その最大減少率は対照に比し小であった。この成績から TGF機構が抑制されたことは明らかであり、AMが、TGFの効果器である輸入細動脈を拡張させることが示唆される。

係蹄非灌流時のPsf値は、TGFが機能しない状態での糸球体内圧を、V1/2の灌流速度に対応するPsf値は、TGFが生理的に機能してネフロンが定常状態にある時の糸球体内圧を、それぞれ反映する。AMは、いずれのPsf値に対しても影響を与えなかった。この成績は、AMが、糸球体の輸入・輸出両細動脈に均衡よく拡張作用を及ぼすことにより、糸球体内圧の上昇をもたらすことなく、これを一定に保ちながらGFRを増加させることを示唆する。

AM投与の際、定常状態における近位尿細管終末部流速(V1/2)の増加率(+40%)は、総腎GFRの増加率(+13%)に比し大であった。この成績は、glomerular tubular imbalanceを示し、AMが、近位尿細管における水・Na再吸収を抑制することを示唆する。このAMの尿細管作用は、輸出細動脈拡張の結果、近位尿細管周囲毛細血管内の静水圧の上昇によりもたらされた可能性も考えられる。ヘンレ係蹄への液流量の増加は、密集斑部位のNaCl濃度を上昇させTGFを刺激するため、輸入細動脈の収縮によりGFRは減少する。しかし、AMは輸入細動脈拡張によりTGF機構を抑制するので、液流量の増加があっても、GFRはむしろ増加してNa利尿が達成されるものと考えられる。

# 20

## 腎輸入細動脈におけるnitric oxide を介したAngiotensine II (3-8)の血管拡張作用
## --家兎腎皮質単離微細灌流輸入細動脈を用いた検討--

和歌山県立医科大学循環器内科　　塩谷雅彦、羽野卓三、川辺哲也、馬場章、
バンダ--ビルド大学生化学教室*　　佐谷修、水越正人、中久保博*、稲上正*、
西尾一郎

【結論】Angiotensine II (3-8) (Ang II (3-8)) は腎輸入細動脈 (Af-Art) を低濃度で拡張、高濃度で収縮させた。AngII(3-8)によるAf-Art拡張作用はnitric oxideを介するものと考えられる。

【目的】Angiotensine II (Ang II) は生体内に存在する強力な血管収縮物質であるが，それ以外のAngiotensinogen由来の各種分解産物の中には生理活性を有するものが存在することが知られている。AngII(3-8) (Ang II (3-8)) は6個のアミノ酸よりなるペプチドで，腎皮質血流増加作用が報告されている。腎以外にも，各種臓器に特異的結合部位が存在することが報告されている。また腎糸球体内でもAngiotensinogenより生成されることが報告されている。Ang II (3-8)の腎における生理活性についてはなお不明な点が多い。そこで、今回、我々は家兎腎皮質単離微小灌流輸入細動脈を用いてAng II (3-8)の直接作用を検討した。

【方法】New Zealand White Rabbitの左腎を麻酔下に摘出。4℃のminimum essential medium (MEM)液中で実体顕微鏡下に腎皮質より単一の輸入細動脈 (Af-Art) を糸球体が付着した状態で単離した。輸入細動脈をガラスピペットを用いて5％bobine albumin含有MEM液にて60mmHgで定圧灌流した。30分間灌流後、以下の実験を行った。①Af-Artにおける$10^{-9}$～$10^{-5}$M Ang II (3-8)の用量反応曲線をみた。②Af-ArtにおいてAng II (3-8)による血管拡張反応をみるため、5x$10^{-7}$M norepinephrine (NE)による前収縮後、①と同様の実験を行った。③Ang II (3-8)の血管拡張作用に nitric oxideが関与するか否かをみるため、前収縮を行った Af-Art の血管内腔側に $10^{-4}$M $N^{w}$-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)を前処置し，$10^{-9}$M～$10^{-5}$M Ang II (3-8) による拡張反応を観察した。

記録計測にはビデオ解析装置を使用した。

【結果】①Af-Art はAng II (3-8)により高濃度で有意な収縮反応を示した［16.5±0.99μm (control), 13.5±0.63μm($10^{-6}$M), 10.2±1.23μm($10^{-5}$M)平均±SEM, (n=5)］。②NEによる前収縮後，AngII(3-8)はAf-Artを拡張した［12.9±0.47μm (control), 14.5±0.81μm($10^{-7}$M), 15.2±0.59μm ($10^{-6}$M); n=9］。③ ②で認められた拡張反応は$10^{-4}$M L-NAMEの前処置で消失した［12.4±1.10μm (control), 12.3±0.93μm($10^{-7}$M), 11.1±0.98μm ($10^{-6}$M); n=9］。

【考察】高濃度のAngII (3-8) は輸入細動脈を有意に収縮させた。同様の結果は肺動脈を用いた報告でも得られている。その収縮反応に関してはATIIレセプターを介した非特異的な反応が示唆されている。一方NEで前収縮させた輸入細動脈においてはAngII (3-8) は低濃度で拡張反応を示し、この拡張反応はL-NAMEを前投与し、nitric oxide (NO)の産生を抑制した場合には消失したことより、NOを介して拡張反応を呈していると考えられた。AngII (3-8) の特異的レセプターが輸入細動脈に存在するか、あるいはAngII (3-8) がいかなる細胞内情報伝達系を介して拡張反応を示しているのかについては明らかではないが、腎輸入細動脈においてAngII (3-8) は輸入細動脈を拡張させることによって、腎血行動態を調節している可能性が示唆された。

# 21 腎血管床におけるアデノシンとアンジオテンシンIIの相互作用

香川医科大学薬理学　安岐康晴、西山成、友廣敦文、清元加代
木村正司、玉置俊晃、安部陽一

【結　論】アデノシン（ADO）の腎血管収縮作用発揮にレニン-アンジオテンシン（RA）系は関与しない。しかし、ADOはアンジオテンシンII（ANGII）の腎血管収縮をADO$A_1$受容体を介して増強する。腎不全時に産生が増加したADOがANGIIの腎血管収縮作用を増強して腎不全をさらに悪化させる可能性が示唆された。

【目　的】ADO$A_1$受容体拮抗薬投与により腎不全が軽減されることが示唆されているが、その機序は明らかではない。腎不全時にはおそらくADOの産生が増加しており、尿細管への直接作用と共に腎血行動態にも影響をおよぼしている。従って、腎不全時のADOの役割を検討するためにはADO自身の糸球体細動脈に対する作用と共に他の血管収縮物質に対する作用への影響も考慮しなければならない。ADO自身の作用については多くの報告があるが、他の血管収縮物質に対する作用については明らかにされていない。さらにADOは腎血管床においてのみ特異的に収縮作用を発揮するが、その作用におけるRA系の役割については見解が一致していない。そこで今回我々は、ADOの腎血管収縮作用におけるANGIIの役割及びANGIIの腎血管収縮作用に対するADOの影響についてin vivoの系で検討する事を目的とした。

【方　法】雑種成犬を正常食で1週間飼育した後、ペントバルビタール（30 mg/kg, i.v.）で麻酔し、腎臓を露出し外科的除神経をおこなった。腎血流量は電磁流量計で測定した。各薬剤は直接腎動脈内に投与し、以下の検討をおこなった。1）ADO（1,10,100 μg）の腎血管収縮作用に対するカプトプリル（5 μg/kg/min）および$AT_1$受容体拮抗薬CV-11974（1 μg/kg/min）投与の効果の検討。2）ANGII（3,10,30 ng）の腎血管収縮作用に対するADO（5 μg/kg/min）、ADO+ADO$A_1$受容体拮抗薬KW-3902（10 μg/kg/min）およびKW-3902の効果の検討。3）ANGIIの腎血管収縮作用に対するジピリダモール（10 μg/kg/min）およびジピリダモールとKW-3902の同時投与の効果の検討。

【結　果】1）ADO（1,10,100 μg）投与により腎血流量はそれぞれ約17,43,58％低下し、腎血管の収縮が認められた。この腎血管収縮はKW-3902で完全に抑制されることより$A_1$受容体経由が考えられる。カプトプリルあるいはCV-11974投与でRA系を阻害してもADOの腎血管収縮作用は有意な影響をうけなかった。2）ANGII（3,10,30 ng）投与によりRBFはそれぞれ約8,22,40％低下した。ADO持続投与時にはANGIIの腎血管収縮作用は有意に増強された。しかし、この増強はさらにKW-3902を同時に投与してADO$A_1$受容体を遮断することにより消失した。また、KW-3902を投与し内因性のADO$A_1$受容体に対する作用を遮断するとANGIIによる腎血管収縮作用は有意に減弱された。3）ジピリダモールを持続投与して腎内のADOを増加させると、ANGIIによる腎血管収縮作用は有意に増強された。この増強もKW-3902を同時に投与することにより消失した。

【考　察】RA系を阻害してもADOの腎血管収縮作用には有意な影響がなかった。HallらはADOの腎血管収縮にRA系が関与すると結論しているが、本実験結果はADOの腎血管収縮作用はRA系とは無関係に生じることを示している。一方、外因性のADO投与下でもジピリダモールにより内因性のADOを増加させた条件下でもANGIIの腎血管収縮作用は有意に増強され、ADO$A_1$受容体拮抗薬同時投与によって抑制された。また$A_1$受容体拮抗薬存在下でもANGIIの腎血管収縮作用が抑制されたことから、ANGIIの腎血管収縮作用にADOが関与することが明らかとなった。腎不全時に産生が増加したADOがANGIIの腎血管収縮作用を増強して腎不全をさらに悪化させる可能性が示唆された。

# 22 血中および尿中アドレノメデュリン（AM）の本態とSHR/Izmにおける動態

宮崎医科大学第一内科、
国立循環器病センター研究所#

北村和雄、加藤丈司、石山雄一郎、下窪徹、
桑迫健二、坂田純一郎、寒川賢治#、江藤胤尚

【結論】ヒト血中アドレノメデュリン（AM）免疫活性の本態は大部分がAMが生合成される前のAM-Glyであり、高血圧患者では血中AM-Glyが増加している。一方、尿中AMは成熟型AMが大部分であった。ラット血中ではAM-Glyと成熟型AMがほぼ等量存在し、ヒトと異なり、SHR/IzmではWKY/Izmに比較して血中および尿中とも低値を示した。

【目的】AMはヒト褐色細胞腫より発見した強力な血管拡張性の降圧ペプチドで、C末端のTyrはアミド化されている。ヒトAM前駆体は185個のアミノ酸よりなり、中間体のAM-Glyを経て、C末がアミド構造を有した成熟型AMが生合成されると考えられる。AMは血中にもかなりの濃度で循環しており、心不全，腎不全，高血圧などの循環器疾患患者では、その重症度に従って血中AM免疫活性が増加している。昨年の日本高血圧学会で、ヒト血中のAM免疫活性はかなりの部分が不活性型AMであることを発表した。本研究では、ヒト血中の不活性型AMがAM-Glyであることを証明した後、SHR/Izmの血中および尿中の成熟型AMとAM-Glyについて検討した。

【方法】AM免疫活性の定性のため、AM全体を認識するＲＩＡ(FEBS Lett. 341, 288, 1994)およびAMのＣ末アミド構造を認識するＲＩＡ（FEBS Lett. 338, 6, 1994）の他に、中間体のAM-GlyのＣ末を認識するＲＩＡを新たに確立した。本ＲＩＡは中間体のＡＭ-Glyとは100％の交叉活性を示すが、成熟型ＡＭとは交叉活性を示さなかった。アフリカツメガエル由来のアミド化酵素を用い、中間体のAM-Glyを成熟型AMに100％変換するin vitroの系を確立し、本研究に用いた。AM-Glyはペプチド研究所で、固相法により合成したものを用いた。１６週令のSHR/Izm(n=6)とWKY/Izm(n=6)を用いて、血中および尿中AMを検討した。

【成績】ヒト血中不活性型AMはアミド化酵素で処理することで成熟型AMに変換されることが判明した。このことからヒト血中ＡＭの主要なものは、アミド化酵素の基質であるAM-Glyであると考えられた。さらに、AM-GlyのＣ末を認識するRIAを確立し、本RIAと逆相HPLCを用いて、ヒト血中を循環しているAM免疫活性のかなりのものは、アミド化される前の中間体であるAM-Glyであることを証明した。健常人の血中AMは18％が成熟型AMであり、82％がAM-Glyであった。高血圧患者では、AM-Glyが健常人に比較して増加していた。一方、ヒト尿中のAMは８５％が成熟型AMであり、15％がAM-Glyであることが判明した。ラット血中AMは、成熟型AMが1.3±0.12(fmol/ｍｌ,mean±SE)，AM-Glyが1.2±0.10fmol/ｍｌであり、ほぼ同濃度で存在した。また、成熟型AMとAM-Glyを合わせた免疫活性は、ヒトの高血圧患者で増加しているが、SHR/Izm(1.9±0.15fmol/ｍｌ)ではWKY/Izm（2.5±0.2fmol/ｍｌ）に比較して低値を示した。一方ラット尿中の大部分のAMは、ヒトと同様に、成熟型AMであったが、SHR/Izm(16±1.8fmol/ｍｌ)ではWKY/Izm（25±2.9fmol/ｍｌ）に比較して低値を示した。

【考察】ヒト血中AM免疫活性中の不活性型AMの本態はAMが生合成される前のAM-Glyであり、高血圧患者では血中AM-Glyが増加している。組織のＡＭ免疫活性の大部分が成熟型ＡＭであり、また、各種培養細胞から分泌されるＡＭ免疫活性も成熟型ＡＭであることを考えると、成熟型ＡＭは分泌された後に、速やかに受容体に結合することが考えられる。一方、中間体のＡＭ-Glyは受容体への結合が遅いため、血中の半減期が長く、その結果血中では、中間体のＡＭ-Glyが成熟型ＡＭより高濃度存在することになると考えられる。また、ヒトと異なり、SHR/IzmではWKY/Izmに比較して血中および尿中とも低値を示すことに関しては、ＡＭがSHR/Izmの高血圧発症や維持に関与している可能性も考え、今後検討していく予定である。

**23**

# アドレノメデュリンの血管内皮細胞における増殖抑制作用 ―オートクリン／パラクリン調節因子としての役割―

[1]京都大学臨床病態医科学・第二内科
[2]京都薬科大学薬品化学

道端英雄[1,2]、向山政志[1]、田中一成[1]、菅　真一[1]、中川眞代[1]
石橋里江子[1]、後藤昌久[1]、笠原正登[1]、赤路健一[2]、藤原洋一[2]
木曽良明[2]、中尾一和[1]

**【結 論】** 高親和性のアドレノメデュリン(AM)特異的モノクローナル抗体(MAb)を開発し、これを用いて内皮細胞(EC)、血管平滑筋細胞(VSMC)に加え、メサンギウム細胞(MC)からのAM分泌を示した。さらに、ECから分泌されるAMがオートクリン因子として内皮自身に、またパラクリン因子としてVSMCやMCに作用し、細胞増殖抑制作用を有するとともに、ECにおける基礎cAMP産生と細胞増殖調節を司る主要な因子であることが示され、内皮を中心とする細胞相互連関の重要な調節因子である可能性が示唆された。

**【目的】** 強力な降圧ペプチドであるAMは、副腎、肺、心臓、腎臓などに広く分布し、ECおよびVSMCより生合成、分泌されることが知られているが、その生理的意義はいまだ不明である。今回、血管機能調節におけるAMの意義を明らかにする目的で、AM特異的MAbを作製して、RIAおよび中和実験への応用を検討した。また、特に培養細胞から分泌される内因性AMの、cAMP産生および細胞増殖調節における役割について検討した。

**【方 法】** AMの環状構造を含む合成hAM[15-31]のthyroglobulin conjugateをBALB/cマウスに免疫し、感作脾細胞をマウス骨髄腫細胞X63-Ag8.653とPEG法を用いて細胞融合することによりハイブリドーマを確立して、高親和性MAbを得た。さらに$^{125}$I-hAM[15-31]を用いてAMのRIAを確立し、培養ウシEC、ラットVSMCおよびMCからのAM分泌について検討した。また、これらの培養細胞にAMを添加してcAMP産生量をRIAにて測定し、また$^{3}$H-thymidineの取込みを用いて細胞増殖に対する効果を検討した。さらに、これらの培養細胞にアフィニティ精製MAbを添加して内因性に分泌されるAMを中和した際の、cAMP産生および細胞増殖に対する効果についても検討した。

**【成績および考察】** MAbはヒトおよびラットAMに高親和性(Ka=2.5 x $10^{10}$ $M^{-1}$)で、RIAを用いてウシEC、ラットVSMCに加えラットMC培養上清から6kDを主要成分とするAM様免疫活性を検出した(各々21.8±4.7、12.1±2.5、6.2±1.2 fmol/$10^5$ cells/24h)。AMは腎においてナトリウム利尿、血管拡張作用を有するが、MCから分泌されるAMがこれらの作用を一部修飾する可能性が考えられた。またこれらの培養細胞へのAM添加は用量依存的にcAMP産生を亢進させ(EC, VSMC, MC各々$ED_{50}$=~0.1nM, 1nM, 1nM)、同時にPDGF(10ng/ml)刺激による$^{3}$H-thymidineの取込みを抑制した(0.1nMのAMにて各々84, 32, 20%の抑制)。さらに中和実験として、MAb(0.1mg/ml)の同時添加は外因性AM(10nM)刺激によるcAMP上昇を完全に抑制し、このMAbが中和抗体であることが確認された。しかも、AM非添加の条件において、ECにおける内因性AMの中和により、基礎cAMP濃度は前値の約30%にまで抑制された(1.1±0.1 vs. 0.35±0.04 pmol/$10^5$ cells/30min)(図1)。対照のマウスIgG添加では全く不変であった。またこの効果はVSMCやMCでは認めず、EC特異的と考えられた。さらに、ECにおいてMAbによる内因性AMの中和により、基礎の$^{3}$H-thymidineの取込みは有意に亢進した(169±10%)。AMはVSMCやMCにおいて、cAMP上昇を介して細胞の遊走や増殖に対し抑制的に働くことが報告されているが、今回、ECにおいても増殖抑制作用を有することが示された。さらに、内因性に分泌されるAMがECの基礎cAMP産生維持のための重要な因子であることが明らかとなり、オートクリン因子として内皮自身の、またパラクリン因子としてVSMCやMCの増殖や機能調節に密接に関与する可能性が強く示唆された。

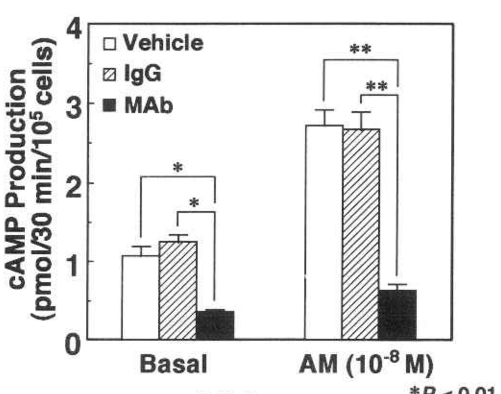



図１

# 24　PC12細胞の膜電位に対するProadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP)の作用

東京大学医学部第四内科　高野幸路
藤田敏郎

【結論】 Proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP)はNGFで分化させたPC12細胞を過分極させた。これは内向き整流$K^+$電流を活性化させることで生じ、濃度依存的反応であった。この活性化は百日咳毒素感受性G蛋白質を介して生じた。G蛋白質の$\alpha$サブユニットのC末端に対する抗体をmicroinjectionする実験により、この百日咳毒素感受性G蛋白質は$G_{i3}$と判明した。

【目的】近年発見された Proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP) は強力な降圧作用を有する。Adrenomedullin による降圧作用が血管平滑筋に対する弛緩作用によるものであるのに対し、PAMP による降圧作用は交感神経終末からの catecholamine 分泌の抑制によるものであった。我々はこの catecholamine 分泌抑制機序を NGF で交感神経様細胞に分化させたPC12細胞で調べた。神経細胞などの興奮性細胞においては膜電位が興奮性に密接に関与しているのでこれに対するPAMPの作用を検討した。

【方法】褐色細胞腫由来の cell line である PC12細胞を NGF 存在下に培養し交感神経様細胞に分化させた。この細胞から perforated whole-cell clamp 法を用いた電気生理実験により膜電位を記録し、PAMPの作用を調べた。

【成績】電流固定法による膜電位記録において PAMPは膜を過分極させた。過分極反応のイオン機構を調べるため、電位固定法実験で膜電流に対するPAMPの作用を調べたところ、PAMPは-48 mVの固定電位では外向き電流を活性化させ、膜の透過性を亢進させた。PAMPによって活性化された電流の電位電流関係を調べたところ、PAMPは内向き整流$K^+$電流を活性化させることで過分極反応を生じる事が明らかとなった。この活性化は濃度依存性であり、$10^{-8}$Mから明らかに認められた。次に、PAMPによる内向き整流$K^+$電流の活性化の刺激伝達系を調べた。非水解性GDPアナログの GDP$\beta$S を microinjection した細胞ではPAMPによる$K^+$電流の活性化は生じなかった。また非水解性GTPアナログのGTP$\gamma$Sを注入した細胞ではPAMPによる活性化は不可逆性になった。従ってPAMPの作用はG蛋白質を介する反応であると判明した。百日咳毒素前処置細胞ではPAMPによる$K^+$電流の活性化は生じなかった。以上から、PAMPによる内向き整流$K^+$電流の活性化は百日咳毒素感受性のG蛋白質を介していることが明らかとなった。G蛋白質と受容体の共役はG蛋白質$\alpha$サブユニットのC末端によって起こっており、この部分に対する抗体によって共役が解除できることが知られている。$G\alpha_{i1}$と$G\alpha_{i2}$の共通のC末端アミノ酸配列に対する抗体を microinjection した細胞では PAMP による$K^+$電流の活性化を認めたが、$G\alpha_{i3}$に対する抗体をmicroinjectionした細胞ではPAMPによる活性化を認めなかった。このことから PAMP による内向き整流$K^+$電流の活性化は$G_{i3}$を介している事が明らかとなった。

【考察】PAMPは膜を過分極させることで交感神経において活動電位の発火頻度を低下させると考えられる。活動電位の発火の減少により、活動電位の際に電位依存性$Ca^{2+}$チャネルを介して流入する$Ca^{2+}$流入が減少する。これにより細胞内への$Ca^{2+}$流入が減少し$Ca^{2+}$濃度が低下することで catecholamine 分泌を抑制していると考えられた。我々はPAMPが同じ細胞で電位依存性$Ca^{2+}$電流を抑制する事を報告したが、これと過分極反応の二つの機序で細胞内への電位依存性$Ca^{2+}$電流の流入が抑制されると考えられる。この内向き整流$K^+$電流の活性化と電位依存性$Ca^{2+}$電流の抑制はソマトスタチンなどの抑制性の神経伝達因子でも認められる現象であることから、PAMPは神経伝達因子もしくは neuromodulator の一つとして分類されうるとかんがえられた。またこの研究によりPAMPと共役するG蛋白質の一つを同定することができた。

**25**

# 新しい降圧ペプチドproadrenomedullin N-20 peptide (PAMP)受容体の分布と性状

東京医科歯科大学第二内科　岩崎裕明、岩科将虎、七里真義、平田結喜緒、
SRL八王子特殊生化学部*　丸茂文昭、佐藤恭子*

【結論】1) ﾗｯﾄのPAMP受容体は広範な組織に分布し、特に副腎と大動脈に高濃度存在した。2) PAMP受容体はG蛋白結合型受容体であることが示唆された。3) PAMPはアデニル酸シクラーゼ/cAMP系やホスホリパーゼC/ジアシルグリセロール系以外の情報伝達を介していると推定される。

【目的】北村らによって新しく発見された血管拡張性ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞであるadrenome- dullin(AM)の前駆体にはproadrenomedullin N-20 peptide(PAMP)と呼ばれる特異な配列を持つﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞが存在する。PAMPは副腎髄質をはじめ、心、肺、腎など広範な組織に分布する。PAMPを投与すると一過性の降圧作用を示すが、その作用機序の一部には副腎髄質や交感神経末端からのカテコラミン分泌の抑制が関与しているとの報告がある。そこでﾗｯﾄにおいてPAMP受容体が存在するか否かを結合実験にて検討し、更にその組織分布ならびに血管平滑筋のPAMP受容体の性状を解析した。

【方法】1) 膜分画の調整：８週令雄性ｳｲｽﾀｰﾗｯﾄより摘出した各臓器から膜分画を調整した。2) 標識リガンドの作成：合成[$Tyr^0$]ﾗｯﾄPAMPをlactoperoxidase法にて[$^{125}I$]で標識し、逆相HPLCにて精製した。3) PAMP結合実験：[$^{125}I$-$Tyr^0$]PAMPと、膜分画(10$\mu$g)またはﾗｯﾄ培養血管平滑筋細胞(VSMC)とを4℃で2時間反応させて行った。特異的結合は過剰非標PAMP ($5x10^{-6}$ M)存在下での非特異的結合を全結合から差し引いて求めた。4) アフィニティー・ラベリングは、膜分画(20$\mu$g)を[$^{125}I$-$Tyr^0$]PAMPと4℃で3時間反応させた後、disuccunimidyl substrateで架橋し、SDS-poly-acrylamide電気泳動を行った。5) cyclic AMP：VSMCを37℃,10分間反応させ、RIAにより測定した。6) イノシトールリン酸(IP3)：VSMCを37℃,30秒間反応させ、CPB法で 測定した。

【結果】(1) [$^{125}I$]PAMPの特異的結合は副腎(10.6±2.5 fmol/mg), 大動脈(19.1±4.1 fmol/mg)に最も多く、また肺,腎,脳,脾,心にも中等度(0.84-1.73 fmol/mg)存在した。(2) 培養ﾗｯﾄVSMCへの[$^{125}I$]PAMPの結合は非標識PAMPによって濃度依存性に阻害されたが、AMは無効だった。Scatchard解析にて単一で高親和性(Kd:3.5 x 10-8M, Bmax:$4.5x10^6$ sites/cells)のPAMP受容体が存在した。(3) アフィニティー・ラベリング法で、分子量約90kDaの標識ﾊﾞﾝﾄﾞを認めた。このﾊﾞﾝﾄﾞは過剰($5x10^{-6}$ M)非標識PAMPにより減弱したがAMは無効であった。(4) GTP-$\gamma$Sは[$^{125}I$]PAMPのVSMC膜分画結合を低下させたが、ATP-$\gamma$Sは無効であった。(5) PAMP($10^{-9}$-$10^{-6}$ M)はVSMCでのcAMPおよびIP3産生に影響を与えなかった。

【考察】AMと共通の前駆体より生成されるPAMPの受容体は分子量約90kDaで、AM受容体のそれとは明らかに異なり、さらに広範な組織に分布することが明らかとなった。血管平滑筋細胞のPAMP受容体はG蛋白と共役していると推定される。しかし、cAMPやIP3産生に影響を与えないことから、GsやGq以外のG蛋白と共役して、未知の情報伝達を介しているものと想像される。今回のPAMP受容体の広範な組織分布から、PAMPには降圧作用以外の未知の生理活性作用を持つ可能性がある。

文献

Eguchi S. et al. : Endocrinology 135 :2454-2458,1994
Iwasaki H. et al. : Endocrinology 137 :3045-3050,1996

# 26

# 中枢性血圧調節因子としてのL-アルギニン
## －脳内レニン・アンジオテンシン系及びNO産生との関連－

京都府立医科大学・臨床検査医学[1]
関西医科大学・病態検査学[2]

西村眞人[1]、南部　昭[1]、大塚　健[1]、吉村　學[1]、
高橋伯夫[2]

【結論】脳内L-アルギニンは、一酸化窒素（NO）産生による降圧作用のみではなく、脳内レニン・アンジオテンシン系、末梢交感神経系の亢進を介して中枢性昇圧作用を有する。

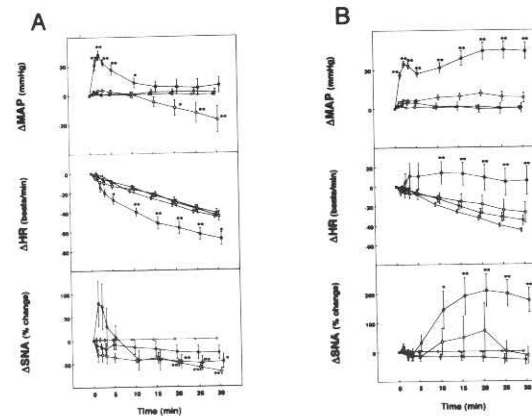
【目的】第17回高血圧学会において視床下部NO合成酵素の遺伝子発現が食塩負荷ならびにDOCA食塩高血圧ラットにて減弱していることを報告し、脳内NO産生低下が食塩過剰摂取時の血圧上昇機序のひとつである可能性を示した。L-アルギニンはNOの前駆体としてNO産生に重要であるが、脳内L-アルギニンそのものが中枢性血圧調節に関与している可能性を考え、脳内L-アルギニンの血圧、交感神経活動調節に占める役割、機序について基礎的に検討した。

【方法】ウレタン麻酔下に雄性Wistarラットの側脳室内にL-アルギニン（0.1－10μmol）、D-アルギニン（0.1－10μmol）、コントロール（0.9%生食水）を投与し、血圧・心拍数・腹部交感神経活動を記録した。またアルギニン脳室内投与時の血圧反応機序を解明するため、NO合成酵素阻害薬（$N^G$-monomethyl-L-arginine；L-NMMA，3μmol／kg）、アンジオテンシンⅡタイプ1受容体拮抗薬（CV-11974，50μg／kg）、バソプレシン$V_1$受容体拮抗薬（OPC-21268，5mg／kg）、$\alpha_1$-受容体拮抗薬（塩酸ブナゾシン，0.2mg／kg）を前処置し、検討した。

【成績】L-アルギニン、1μmol脳室内投与時、交感神経活動の抑制（－65±5%，p＜0.01）を伴う降圧反応（－18±8mmHg，p＜0.01）を示し（図1）、これらはL-NMMA脳室内前投与により消失した。L-アルギニン、10μmol脳室内投与後10分間の一過性昇圧反応（＋23±4mmHg，P＜0.01）を呈し、その後心拍数の減少及び腹部交感神経活動の低下（－44±6%，p＜0.05）を伴い血圧は正常に復した。D-アルギニン、10μmol脳室内投与時、L-アルギニン、10μmol脳室内投与時と同様の昇圧反応の後、著明な交感神経活動の亢進（＋180±75%，p＜0.01）を伴うもう一つの持続性の昇圧反応（＋31±8mmHg，p＜0.01）を示した（図1）。L-NMMA脳室内前投与により、L-アルギニン、10μmol脳室内投与時の昇圧反応後の交感神経活動抑制は消失し、投与後30分の血圧は有意に上昇した。10μmolのL-アルギニン投与時の昇圧、D-アルギニン投与時の早期昇圧反応はCV-11974脳室内前投与により消失し、また、10μmolのL-アルギニン昇圧反応、D-アルギニンの早期、後期昇圧反応ともに塩酸ブナゾシンの静脈内前投与により消失した。OPC-21268静脈内前投与は影響を示さなかった。

【考察】脳内L-アルギニンは、脳内レニン・アンジオテンシン系等を介して末梢神経活動亢進を惹起し昇圧性に作用するが、同時に一酸化窒素（NO）の供給源として降圧・交感神経活動抑制に働き降圧作用を発揮する。脳内L-アルギニンの血圧調節作用は、アルギニンとしての交感神経亢進作用と脳内NO合成酵素によるNO産生とのバランスに依存しており、食塩過剰摂取等の脳内NO産生低下時、脳内L-アルギニンの中枢性昇圧作用は増強すると考えられる。

**図1．L-アルギニン（A）、D-アルギニン（B）、脳室内投与時の平均血圧（MAP）、心拍数（HR）、腹部交感神経活動（SNA）の変化**



27

# 動脈圧受容器反射ー特にcentral adaptationーに及ぼす中枢内一酸化窒素の役割

九州大学医学部循環器内科　弘永潔　廣岡良隆　松尾勇　紫原美和子　原澤泰比古　竹下彰

【結論】中枢内内因性NOは動脈圧受容器反射におけるcentral adaptationを減弱させることにより動脈圧受容器からの入力に対する反射性交感神経活動抑制を保とうとする働きがあることが示唆された。

【目的】中枢神経系に一酸化窒素(NO)合成酵素阻害剤を投与すると、血圧および交感神経活動が上昇することが報告されている。また、中枢内NOは主要な神経伝達物質であるグルタミン酸の遊離を促進することによりシナプス伝達を修飾する機序が示唆されている。一方、動脈圧受容器反射による交感神経活動の調節において、ある一定の昇圧入力を持続して加えると最初強い反射性交感神経活動の抑制が生じるが、この抑制は徐々に回復し元のレベルに戻ってくることが知られている。これはescape現象と呼ばれ、特にcentral adaptationによると考えられており、加齢において認められる交感神経活動の亢進、高血圧、起立性低血圧に関与していることが示唆されている。本研究の目的は中枢内内因性NOがこのcentral adaptationに関与しているか否かを検討することであった。

【方法】麻酔下家兎を用い、両側の外頚動脈にカニューレを挿入、両側内頚動脈を結紮、両側大動脈減圧神経を切断し、両側頚動脈洞をアイソレイトした。動脈圧、頚動脈圧、および腎交感神経活動(RSNA)を記録した。(1)NO合成酵素阻害剤であるN$^{\omega}$-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME: 8 μmol, n=8)、(2) L-NAMEの異性体であるD-NAME (8 μmol,n=4)、(3)NOの前駆物質であるL-arginine (40 μmol, n=5)を大槽内に注入した。コントロールとして人工脳脊髄液(CSF)を同じ容量注入した。両側頚動脈に、25および50 mmHgのstep入力を加え、動脈圧およびRSNAの変化を調べた。さらに、大槽内に投与した量と同じ量のL-NAMEを静注し全身への影響があるか否かを確認した。

【結果】L-NAMEを大槽内に注入すると、軽度の動脈圧の上昇(95±5 vs 103±5 mmHg, $p<0.01$)およびRSNAの上昇(107±9 vs 162±14 spikes/sec, $p<0.001$)が認められた。両側頚動脈洞にstep入力（約50秒間）を行うとRSNAの抑制が生じたが、その抑制の程度をL-NAME注入後とCSF注入後と比べると、最初の抑制の程度は変わらなかったが(93±3% vs 87±5%)、L-NAME後の方が時間経過とともに弱くなった(54±10% vs 83±9%, 50 mmHgのstep入力で50秒後の抑制率, $p<0.05$)。D-NAME注入後の反応はCSF注入後と変わらなかった。L-arginineのみの注入では変化せず、L-NAME後にL-arginineを注入することにより、L-NAMEの効果を元に戻す傾向にあった。さらに、同じ量のL-NAMEを静注しても動脈圧、RSNAの基礎値は変化しなかった。

【考察】L-NAMEの大槽内投与により一定の頚動脈洞に対する入力にもかかわらず反射性交感神経活動抑制の回復が大きくなった。このことは、中枢内内因性NOがcentral adaptationを減弱させることを示唆し、本研究の成績は動脈圧受容器反射における中枢内NOの役割のひとつを明らかにしたものである。D-NAMEではこのような効果は見られず、L-arginine投与により回復したことから、L-NAMEの作用はL-arginine-NO pathwayを特異的に抑制した結果であると考えられる。さらに、同じ量のL-NAMEを静脈投与した際には血圧、RSNAは変化しなかったことから、上記の成績は中枢性作用と考えてよい。加齢に伴いcentral adaptationが増強すること、このことが高齢者における圧受容器反射異常、ひいては高血圧、起立性低血圧の機序のひとつである可能性が示唆されている。その機序は明らかではないが、N-methyl-D-asparate受容体の減少の関与などが考えられている。脳幹部NO合成酵素が加齢に伴い低下するという報告もあり、我々の成績は中枢内NOの変化がこの機序に関与している可能性を示唆する。

# 28 ソロモン諸島における高血圧症に関する疫学的検討

国立国際医療センター国際医療協力局、腎臓内科 大前比呂思
国立国際医療センター腎臓内科 斉間 恵樹、 中村 雄二
東京大学医学部人類生態学教室 中沢 港、 大塚 柳太郎
Solomon Islands Medical Training & Research Institute, Judson Lefasia

［結論］ 従来他の地域に比して食塩摂取の少なかったソロモン諸島でも、近年食習慣の変化により食塩摂取量は確実に増加している。３カ所の村落でNa摂取量を年齢毎に比較したところ、伝統的食生活を守る村落では、Ｎａ摂取量も８ｇ／日以下の住民が殆どであったのに対し、都市部では殆どの年齢層で１０ｇ／日を越え、加齢による血圧上昇もみられた。現在臨床的に問題となるような本態性高血圧の例はまだ少ないが、都市部を中心に今後無視出来ない問題となる可能性がある。

［目的］ ニューギニアやソロモン諸島では、従来高血圧症の患者が、他の地域に比して少ないと言われてきた。この地域の伝統的食事のナトリウム（Ｎａ）含有量は少ないが、経済活動の発展により近年食生活が変化しているとの報告も多い。本研究では、疫学的に食生活の変化と高血圧の関係を検討して、ソロモン諸島の高血圧症の現状について解析した。

［方法］ ソロモン諸島国の首都ホニアラに隣接した村（Ａ村）、約 50 ㎞にある近郊農村（Ｂ村）、ソロモン群島西部の小島にあり宗教的理由からキャッサバやタロイモを中心とした食生活の伝統を色濃く残している農村（Ｃ村）の３カ所において、住民の同意を得た上で血圧測定・Ｎａ排泄量調査・栄養調査を行った。３村の人口は各々220～300 人と推定され、対象となった住民の間で、男女比や年齢構成の有意な違いはなかった。血圧は座意で３回測定し、その平均値を採用した。起床後２回目の尿と川崎らによる回帰式 （第 11 回本大会）を用いる方法もしくは早朝尿とウロペーパー[R]'栄研' ソルトを用いる試験紙法のいずれかで、24 時間Ｎａ排泄量を推定した。 またソロモン諸島国の中央病院であるトップレファレル病院において、1995 年１月から 12 月まで内科入院患者の血圧検査を WHO／ISH 1993、ガイドラインに基づいて行った。

［結果］ Ａ，Ｂ，Ｃ村における平均血圧と２４時間尿中Ｎａ排泄量を表に示す。

| | 総数 | 男性 | 女性 | 平均年齢（才） | 平均血圧（mmHg） | 平均24時間 Na排泄量(g) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 205 | 96 | 109 | 35±12 | 119±24/64±18 | 10.9±2.2 |
| B | 137 | 61 | 76 | 36±14 | 113±18/64±14 | 9.2±2.6 |
| C | 187 | 85 | 102 | 35±16 | 108±15/58±16 | 7.9±1.6 |

表 ３地域における男女数、年齢、血圧およびＮａ排泄量（平均値±ＳＤ）

Ａ村では、 Ｎａ排泄量は殆どの年齢層で 10 ｇ／日を越え、加齢による血圧上昇も認められた。Ｂ村では、 Ｎａ排泄量は 16 才から 40 才の男女で 10 ｇ／日を越え、 特に 16 才から 30 才の女性では 12 ｇ／日を越えていたまた各年齢層で平均収縮期血圧は 105～125 ㎜ Hg となり、 性別による違いや加齢による血圧上昇は認められなかったが、男女とも 41 才から 50 才で一番高くなった。C村では、 Na 排泄量は 31－40 才以外の年齢層で８ｇ／日以下で、加齢による血圧上昇も認められなかった。Ａ村とＢ村の若年層では、インスタントラーメンで味を付けた米飯が好んで食されており、特に女性は多人数用に炊いた米飯をラーメンの汁と共に残さず食べる傾向があった。一方中央病院における調査では、内科入院患者のうち約２％の患者が収縮期高血圧 >160、約３～４％の患者が境界域高血圧を示した。収縮期高血圧症のうち本態性高血圧症と診断されたのは >160 約 50％で、 約 40％は腎性高血圧（マラリア・溶連菌感染・結核等の腎障害）と診断された。

［考察］ ソロモン諸島では、現在臨床的に問題となる本態性高血圧の例は少なかったが、都市部の若年層を中心にＮａ摂取量が着実に増加しており、加齢による血圧上昇もみられたので、高血圧症は今後大きな健康的問題となる可能性があると思われた。また高血圧症のうち、２次性高血圧症特に腎性高血圧症の割合が高かったが、その成因としては、感染症による腎障害の関与も考えられた。

## 29

# 日系ブラジル人における日本食の栄養素（DHA・わかめ・大豆）による介入研究 第一報 血圧への効果

WHO循環器疾患予防国際共同研究センター
南リオグランデ大学老年医学研究所*

三浦綾子 奈良安雄 家森幸男
森口秀幸* エリザベス.ミケロン* 森口幸雄*

【結論】日本食に含まれる栄養素DHA、わかめ、大豆の摂取は、これらを殆と摂取しない日系ブラジル人でより早い時期に降圧効果が確認され、これらの栄養の有効性が示された。また、自動血圧計使用のプラセボ群でも男女共に１０週目のSBPに低下傾向がみられたが、健康教育のみの対照群では有意の低下がなく、家庭における自動血圧計の自己管理の有効性を示唆している。

【目的】これまでの国際比較栄養疫学研究により遺伝的背景が日本人と同じ日系ブラジル人は、食生活の欧米化による肥満と塩分の過剰摂取から高血圧者の増加していることを証明した。日本人も食生活が益々欧米化することにより高血圧関連の循環器疾患が増加すると予想される。今回高血圧ならびに高血圧疾患の予防に効果のあることがSHRSPで実証されているDHA、わかめ、大豆の栄養素を用いて、これら栄養素の摂取が明らかに少ない日系ブラジル人において介入研究を実施した。

【方法】対象にはカンポグランデ在住、日系ブラジル人（４７～５７歳）４００人を、WHO CARDIAC STUDY の方式で検診し、その中から、高血圧、高脂血症、糖尿病、肥満などのリスクを有する100人を抽出し、各20名（男10、女10）に、①プラセボ群(C) ②DHA群(D) ③わかめ群(W) ④ 健康教育のみの対照群(N)に分類、さらに女性２０名を⑤大豆群(F)とし、D群はDHA３g、W群はわかめ粉末5g、F群にはイソフラボン５０mg含有大豆胚軸６gを毎日、１０週間続けて投与し、３週と１０週後に検診して、血圧、体重、身長計測、24時間尿・血液を採取し、尿中ナトリウム・カリウム・マグネシウム・カルシウム、血清中コレステロール、アルブミン、総蛋白、血小板凝集能を測定した。なお、全群には、減塩や高脂肪食を避けるなど同一の栄養指導をし、N群を除く各群には、自動血圧計、体脂肪計（各オムロン社製 HEM-711 ファジイ、HBF-300）を貸与し血圧や体脂肪を毎日測定しセルフチェックに努めさせた。

【成績】１００人中日本への移住者などの３人をのぞき９７人が１０週間の検診を受けComplianceはきわめて良好であった。スクリーニング後の初回検診時における血圧（P1）に比べ女性では3週間後の収縮期血圧（SBP）は各群とも低下傾向を示した。［F：13±0.11（M±SE）mmHg、W：16±1.86、D：21±5.90、C：19±5.5］。 １０週後のSBPは女性のF群のみで低下傾向がみられC、W、D群では３週よりもわずかに上昇するリバウンド傾向が観察された。 拡張期血圧（DBP）は3週後のD群のみで、P１より有意に低下した［D：26±1.18］(P＜0.05)。男性では、SBPは３週後C、W、D群でP1に比べ低下傾向がみられ［C：6±6.11、D：18±1.67、W：21±1.49］、DBPではW群で３週後に顕著な低下がみられた［W：7±0.26］。また、自動血圧計の家庭管理を行った群と行わなかった群では、女性において有意な低下がみられた。(P＜0.05)

【考察】各栄養素摂取状況は全期間を通して（全部食べたあるいは1～2回忘れた）群は対象者の75.7%にあたり栄養摂取のコンプライアンスもほぼ良好であった。10週後の血圧値はN群を除くすべての群で低下した。また、自動血圧計の家庭管理においても、女性で有意な低下がみられ、同時に、自動体脂肪計の家庭管理においても女性においてBMIに有意な低下がみられた(P＜0.05)。これは、健康への意識変化がもたらしたものであり、検診の意義は非常に大きいものであったと考えられる。

30

# 白衣高血圧の血圧の長期予後

慶應義塾大学保健管理センター　齊藤郁夫、河邊博史、辻岡三南子

【結論】平均年齢１６歳の高血圧男性１８８名の５年間の観察で、持続性および白衣高血圧ともに外来血圧が正常化したものではBody Mass Index（ＢＭＩ）の増加はなく、脈拍は減少した。このことは高血圧の病態の背景にインスリン抵抗性、交感神経活性亢進があることを示唆し、また、臨床的には、体重のコントロールを中心にしたライフスタイル指導が重要であることを示唆した。

【目的】若年者の高血圧、特に若年者で頻度の高い白衣高血圧の病態、血圧の長期予後とそれに関連する因子を検討する。

【方法】健康診断時の外来血圧が１４０／９０ｍｍＨｇ以上の１５歳から１７歳の高血圧男性１８８名および同年代の正常外来血圧男性６４名において、家庭血圧測定を行った。また、身長、体重、総コレステロール（ＴＣ）、ＨＤＬＣ、尿酸、血漿レニン活性、アルドステロンを測定した。高血圧者には減塩、体重コントロール、運動を中心としたライフスタイル指導を行い、５年後に外来血圧、身長、体重を測定した。

【成績】初年度、外来血圧正常者〔１２１±１３（Ｍ±ＳＤ）／６５±７ｍｍＨｇ〕の家庭血圧は１１６±７／７５±８であった。家庭の収縮期血圧が正常者のＭ＋２ＳＤである１３０／９０以下を正常上限とすると、家庭血圧正常の外来高血圧者である白衣高血圧は１３９名であり、家庭血圧高値の持続性高血圧は４９名であった。持続性高血圧と白衣高血圧の間で外来血圧（１５１±８／８０±６ｖｓ１４９±６／７８±５）、外来脈拍（９３±２１ｖｓ９７±１７ｂ／ｍ）、家庭脈拍（７３±１４ｖｓ７１±１０）、ＢＭＩ（２３．３±４．１ｖｓ２２．４±３．４）に差はなかった。ＴＣ（１８２±３３ｖｓ１７１±３４ｍｇ／ｄｌ）は持続性高血圧で高値であった。正常者の外来脈拍（７８±１３）、家庭脈拍（６６±８）、ＢＭＩ（２０．６±１．９）、ＴＣ（１６３±２３）、ＴＣ／ＨＤＬＣ（２．８）は持続性高血圧、白衣高血圧に比較し、低値であったが、尿酸、血漿レニン活性、アルドステロンに差はなかった。５年後には持続性高血圧（１３９±１２／７７±９）、白衣高血圧（１３４±１１／７３±８）と外来血圧は低下したが正常者では変化しなかった（１２１±１３／６８±７）。５年後に外来血圧が１４０／９０ｍｍＨｇ未満と正常であったものは持続性高血圧のうち２６名、白衣高血圧のうち１０１名で、白衣高血圧に外来血圧が正常化する頻度が有意に高かった（ｐ＜０．０１）。血圧が正常化したものでは５年間でＢＭＩの増加はなく（持続性高血圧：２２．９⇨２２．８、白衣高血圧：２２．２⇨２２．３）、脈拍は減少した（持続性高血圧：８９⇨８２、白衣高血圧：９７⇨８５）。一方、高血圧を維持したものではＢＭＩが増加し（持続性高血圧：２３．１⇨２５．７、白衣高血圧：２２．５⇨２３．４）、脈拍の減少はなかった（持続性高血圧：９８⇨９５、白衣高血圧：９５⇨９０）。正常者ではＢＭＩは増加した（２０．６⇨２１．１）。

持続性高血圧、白衣高血圧において５年後の収縮期血圧と５年間のＢＭＩの変化（ｒ＝０．３３，ｐ＜０．０００１）、５年後のＢＭＩ（ｒ＝０．２８，ｐ＜０．０００１）、脈拍（ｒ＝０．２６，ｐ＜０．００３）の間に相関があった。５年後の収縮期血圧を従属変数としたステップワイズ回帰分析においても上記項目は独立変数として採用された。正常者においては５年後の収縮期血圧と上記の３項目間には有意な相関はなかった（ｒ＝０．００４，ｒ＝０．１９，ｒ＝０．１３）。

【考察】白衣高血圧の長期の予後についてはほとんど知られていない。今回の検討でも５年後は外来血圧のみで家庭血圧は測定しておらず、さらに今後の検討が必要である。私達はこれまで日本の若年者の高血圧においてもインスリン抵抗性が関係することを報告してきた。今回はインスリンは測定していないが、ＢＭＩの増加とインスリン抵抗性には関係が深いことから、高血圧の背景にインスリン抵抗性があることが示唆された。また高血圧者にみられた脈拍の高値も交感神経活性亢進、インスリン抵抗性との関連性を示唆した。

**31**

# 若・中年の白衣高血圧患者と高血圧患者における臨床的特徴の比較-危険因子および24時間血圧測定(ABPM)諸指標値などからの検討

三楽病院健康管理科　　山田　薫
東京大学第二内科　　後藤淳郎、新啓一郎、上原誉志夫、平田恭信、木村健二郎、小俣政男

【結論】若・中年の白衣高血圧患者は高血圧患者に比べ、危険因子の合併は少ない、レニン活性が高い、高血圧家族歴が希薄である、肥満指数が小さい、心胸郭比が小さいなどの臨床的特徴を有していた。このような症例では白衣高血圧の可能性を念頭におき精査すべきと考えられる。

【目的】日常診療においてどのような高血圧症例で白衣高血圧患者を疑い、どのように扱うかはまだ未解決の問題である。十分な数の白衣高血圧患者を十分な期間にわたって追跡研究した成績も乏しく、その予後についてもまだ意見の一致が得られていない。白衣高血圧患者にどの程度、臓器障害が存在し、危険因子を合併しているかが臨床上、重要と考えられる。今回、未治療高血圧患者にABPMを施行し、白衣高血圧患者と(真性)高血圧患者に分類し、日常臨床で容易に評価できる各群の臨床的特徴を比較検討した。

【方法】企業検診にて高血圧が疑われ、外来血圧測定にて血圧140/90mmHg以上を示した、降圧薬服用の既往がなく合併症もない118例（男112名、女6名、年令25-59才)を対象とした。外来血圧測定ののち日本コーリン社製ABPM630を用い24時間血圧を測定し、Pickeringらの定義により24時間血圧134/90mmHg未満の白衣高血圧患者(WC)21例と134/90mmHg以上の高血圧患者(H)97例とに分類した。この両群において血圧諸指標、臨床的特徴、代謝因子などを解析した。正常血圧者(N)88例においても同様の検討を行った。H群においては睡眠時収縮期血圧が覚醒時収縮期血圧に比べ10%以上下降するdipper(HD)78例と10%未満のnondipper(HN)19例とに分けても検討した。

【成績】本研究でのWCの頻度は18%であった。平均年齢はN,WC,H3群で差を認めず(44-47才)、外来血圧はWCとHでNより高く(P<.001, N:114.8/71.1, WC:150.6/99.1, H: 149.7/100.4 mmHg), WCとHでは同等であった。肥満指数(N:22.7±0.2(SE), H:24.7±0.3)、中性脂肪(N:131.1±12.0, H:174.0±14.4 mg /dl)、尿酸(N:6.1±0.1, H:6.9±0.2mg/dl)、$HbA_{1C}$ (N:5.2±0.1, H:5.7±0.1%)はHでNに比べ有意に高値を示したが、$HbA_{1C}$のみWC(5.6±0.1%)でNよりも増加していた(P<.001)。コレステロール、HDLコレステロール、FBS、BUN、Cr、尿所見、ECG($SV_1+RV_5$)は3群で差がなかった。HでWCに比し24時間血圧(P<.0001,WC:130.0/79.7, H:150.4/93.1mmHg)、昼間覚醒時血圧(P<.0001, WC:135.1/83.8, H:156.1/97.2mmHg)のみならず夜間睡眠時血圧(P<.0001, WC:114.9/68.5, H:131.0/79.5 mmHg)も高値であった。24時間心拍数ならびに血圧および心拍数の変動性には差は認めなかった。肥満指数がHでWCに比べ有意に高値を示し(P<.001, WC:23.4±0.7, H: 24.7±0.3)、心胸郭比も同様であった(P<.05, WC:44.5±1.0, H:46.5±0.4%)。またレニン活性はWCでHよりも高値であった(P<.001, WC:4.4±1.6, H:1.6±0.1 ng/ml/hr)。飲酒、喫煙は両群で差はなかったが、高血圧家族歴はWCよりHで明らかであった(P<.01, WC:6/21, H: 69/97)。HDとHNとの比較では年齢(P<.05, HD:46±1, HN:50±1)と血圧変動性(P<.0001, 収縮期;HD:17.9±0.5, HN:13.8±0.8, 拡張期: HD:12.5±0.3, HN:9.4±0.5)にのみ差がみられた。

【考察】白衣高血圧患者への積極的な降圧療法は、家庭血圧の過度の低下から虚血性の臓器障害などを引き起こす可能性があり十分な注意を要する。しかし、白衣高血圧症の正確な診断には24時間血圧測定が必要で日常診療において広く行われるにはいたっていない。最近では家庭用血圧計が普及してきており、非医療環境下での血圧の情報が得られることが多いが、どのような患者で家庭血圧の測定を積極的に勧めるかについては情報に乏しい。若・中年の外来高血圧患者で今回示されたような、危険因子の合併が少ない、レニン活性が高い、高血圧家族歴が希薄である、肥満指数が小さい、心胸郭比が小さいなどの臨床的特徴を有している症例では白衣高血圧の可能性を念頭におき、24時間血圧測定または家庭血圧の測定を行うなど慎重に扱う必要があると考えられる。

# 32 老年者における血圧日内変動と脳心血管事故発生ー5年間追跡研究

東京都老人医療センターー循環器科 東京都老人総合研究所地域保健部門
鈴木康子、桑島巌、青野正、和田幸子、豊島孝道、小澤利男
柴田博

【結論】健康老人ホーム在住者において，健康診断時の血圧値は降圧薬内服例，非内服例のいずれでも脳心血管事故との有意な関連は認められなかった。一方24時間収縮期血圧平均値は降圧薬内服例，非内服例の両者で脳心血管事故発生と有意に関連していた。さらに降圧薬内服例では夜間収縮期血圧と脳心血管事故発生との間にも関連が示唆され，老年者高血圧においても夜間血圧のコントロールが脳心血管事故予防に重要であることが示唆された。

【目的】高血圧性臓器合併症の重症度が外来血圧より自由行動下で測定した24時間血圧値とより強く相関することは知られている。一方脳心血管事故発生と血圧日内変動との関連については一定の結論は得られておらず，特に高齢者については過度な降圧が脳心血管事故発生に関与している懸念も投げかけられている。そこで脳心血管事故予測因子としての血圧日内変動の意義について検討するため，老人ホーム在住の健康老年者を対象に24時間血圧値と脳心血管事故の関連を調べた。

【方法】対象は老人ホーム在住者で，1990年から1993年の間に定期健康診断時に自由行動下24時間血圧を測定した310例である。24時間血圧はABPM630またはTM2421を用いて，自由行動下にて30分毎に測定し，6:00～21:00までを日中血圧，21:30～5:30を夜間血圧と定義した。追跡期間中に新たに発症した狭心症，心筋梗塞，脳血管障害などの脳心血管事故の発生をend pointとした。追跡開始時の平均年齢は77.2±7.0歳，平均追跡期間は53.2±20.8カ月であった。結果の解析はカプラン・マイヤー法を用いて生存曲線を求め，多変量解析にはCox比例ハザードモデルを用いて相対危険比を算出した。$p<0.05$を統計学的有意とした。

【結果】追跡期間中に高血圧合併症に関連した脳脳心血管事故は44例に発症した（脳血管障害 23例，虚血性心疾患 12例，うっ血性心不全 8例，その他 1例）。検診時血圧，24時間血圧，日中血圧，夜間血圧を収縮期血圧値によりそれぞれ4分割し，脳心血管事故発生との関連を検討した。降圧薬を服用していなかった163例では，24時間血圧値のみが脳心血管事故発生と有意な関連が認められ，24時間血圧値が120-140mmHgの群で最も脳心血管事故発生が少なかった(p=0.03)。すでに高血圧の診断を受け降圧薬を内服していた123例では，検診時血圧，日中血圧値では血圧レベルと脳心血管事故との間に有意な関連は認められなかったが，24時間血圧ではその値が高値の群ほど脳心血管事故が多かった(p=0.05)。また夜間血圧も高値の群ほど脳心血管事故が多かった(p=0.007)。これらはCox比例ハザードモデルを用いて，性，年齢を補正しても有意であり，独立した危険因子と考えられた。

【考察】健康老人ホーム在住者において，24時間血圧値と脳心血管事故発生の関連について検討した。降圧薬をすでに内服している高血圧症例では24時間血圧が最も低い群で脳心血管事故発生が最も低く，24時間血圧が高くなるにつれて事故発生は増加した。これは夜間血圧値においても認められたが，日中血圧値においてはこのような関係は認められなかった。高血圧例において，血圧値が最も低い群ではかえって予後は不良であり，いわゆるＪカーブを示すという報告と，血圧値が低いほど予後は良いとする報告があるが，今回の結果では，老年者高血圧においては24時間血圧値が低くコントロールされているほど予後は良好であるということが示された。さらに夜間血圧値においてもこの傾向は認められ，老年者では夜間血圧のコントロールが非常に重要であることが示唆された。また，これらは性，年齢などを補正しても独立した危険因子であり，血圧日内変動値が予後を予測する上で有用な検査法であることが示された。

一方降圧薬非内服例においては24時間血圧値が120-140mmHgで脳心血管事故発生が最も少なく、正常血圧者においていわゆるJカーブを示唆するものであるのか、追跡期間が平均4.4年と比較的短かったためであるかさらに追跡調査が必要と思われた。

# 33　家庭血圧測定による親子の血圧の類似性の検討

長崎大学医学部第三内科　鈴木　伸、馬場是明、瀬戸信二、
品川達夫、早野元信、矢野捷介

［結論］家庭血圧値を用いた親子間の血圧の相関性は、母・息子間、母．娘間では高く、父・息子間にも弱い相関がみられたが、父・娘間には相関を認めなかった。また、息子・娘間は高い相関を認めたが、両親の間には相関を認めなかった。両親とも正常血圧の子供に比べ、両親とも高血圧、あるいは母のみ高血圧の息子および娘は血圧が高く、父のみ高血圧の場合には息子にのみ血圧の高値を認めた。これらの結果は、子供の血圧は父の血圧より母の血圧との類似性が強いことを示す成績と考えられた。

［目的］従来の親子の血圧の相関性および類似性に関する報告は、外来あるいは検診血圧値を用いたものが多く、一定の結論が得られていない。その理由として年齢の影響、血圧の白衣現象の影響、血圧値の再現性の問題などが考えられる。今回、これらの影響を少なくするために一ヵ月間の家庭血圧の平均値の年齢補正値を用いて親子間の血圧の類似性を検討した。

［方法］長崎県多良見町のみかん農家の地域集団のうち降圧薬の投与を受けていない８３５名（男３７９名、女４５６名、年齢６－７９才）を対象に、家庭血圧計HEM-403Cの使用方法を習得させた後、一ヵ月間の朝食前の血圧を記録させ、その平均値を求め、これより年齢別・性別の基準値を算出した。この基準値を用いて各個人の家庭血圧値を％表示した。これら８３５名のうち両親と血のつながった１名以上の子供が同居している１４７家族（父１４７名、５３才、母１４７名、５０才、息子１３１名、２３才、娘６７名、１７才）を対象として、それらの家庭血圧を年齢・性対応の平均値（基準値）より求めた％値により親子の血圧の相関性を検討した。また、母のみ高血圧の息子１４名、娘９名、父のみ高血圧の息子４３名、娘２７名、両親とも高血圧の息子１４名、娘１０名の％値を両親とも正常血圧の息子７４名、娘５４名と比較した。

［成績］収縮期は息子と娘0.46、母と娘0.31、母と息子0.26、父と息子0.22は有意な相関を示したが、父と娘0.19、父と母0.11は有意ではなかった。拡張期は息子と娘0.43、母と娘0.26、母と息子0.44、父と息子0.26は有意な相関を示したが、父と娘0.10、父と母0.19は有意ではなかった。両親とも正常血圧の息子の％値の平均の収縮期101.3、拡張期98.1、娘の収縮期95.9、拡張期96.5と比較して、両親とも高血圧の息子は収縮期109.7、拡張期114.7といずれも有意に高く、娘の収縮期103.4は高く拡張期101.5は差がなく、母のみ高血圧の息子は収縮期107.2、拡張期120.2とも有意に高く、娘は収縮期101.6は差がなく拡張期106.5は有意に高く、父のみ高血圧の息子は収縮期105.6、拡張期106.1とも有意に高く、娘は収縮期96.8、拡張期98.5と差がなかった。

［考察］検診血圧を用いた血圧の親子の相関性についての現在までの報告では英国のサウスウエールスの成績では母と子が収縮期0.31、拡張期0.30の相関で、父と子は収縮期0.25、拡張期0.14の相関係数であり、また、ポーランドの成績では母と子が収縮期0.28、拡張期0.15の相関で、父と子は収縮期0.02、拡張期0.13の相関係数であり母と子の収縮期でのみ比較的高い相関が得られている。しかし、米国テカムセーやフラミンガムの成績は相関係数が極めて低かった。家庭血圧値を用いたJuliusらの報告では、収縮期、拡張期とも母と娘、父と娘が比較的良い相関を示し母と息子、父と息子が相関係数が低かったことより、親の血圧は娘に受け継がれるとしている。今回の家庭血圧値を用いたわれわれの成績では、血圧の相関性は、母と息子あるいは娘が高く、父と息子も弱いながら相関がみられたが、父と娘は相関を認めなかった。また、息子と娘は高い相関性を認めたが、父と母は相関を認めなかった。両親とも正常血圧の子供に比べ、両親ともあるいは母のみ高血圧の息子および娘は血圧が高く、父のみ高血圧の息子は血圧が高いが娘は高くなかった。これら結果は、子供の血圧は母親の血圧と類似性が強く、娘と父親は極めて類似性が弱いことを示しており、Juliusらの報告とは異なる成績であり、その機序については遺伝因子、環境因子など詳細な検討が必要であると考えられた。

Kario Watanabe AJH 96 Stroke 96 ) extreme dipper X

# 34

## 夜間降圧と生命予後との関連－地域コホートの観察から－

東北大学医学部公衆衛生学
*第二内科学　**衛生学
***岩手県立大迫病院

大久保孝義、今井　潤*、辻　一郎、永井謙一***
渡辺哲子*、南　尚義*、菊地典子*、加藤順子*
西山昭光*、関野　慎*、相原彰子*、佐藤　洋**
久道　茂、阿部圭志*

【結論】夜間降圧の減弱・消失は、特に高血圧群において、総死亡・心血管死亡を良好に予測した。また死亡のリスクは夜間降圧減弱群に比べ、夜間降圧消失群（血圧の日内リズムが逆転している群）において大であった。

【目的】夜間降圧が減弱ないし消失している者は、通常の夜間降圧を有する者に比べ高血圧性臓器障害の進展が高度であると報告されている。しかし、夜間降圧の程度と生命予後との関連は不明である。そこで地域住民を対象に自由行動下血圧（ABP）を測定し、夜間降圧の程度と生命予後との関連について検討した。

【方法】岩手県O町の3地区（人口約4500人）で、20歳以上の住民を対象に1987年よりABP測定を継続している。ABPは日本コーリンABPM630を用いて、24時間（30分間隔）測定し、24時間・昼間・夜間のそれぞれの平均値を分析対象とした。夜間降圧の程度に応じ対象者を次の3群に分けた。①“dipper”：夜間降圧（昼間平均血圧 － 夜間平均血圧）が昼間平均血圧の10％以上、②“nondipper”：0％以上10％未満、③“inverted-nondipper”：0％未満（夜間降圧消失群）。観察開始時40歳以上の対象者1542人について1995年10月31日までの死亡転出状況を検索した。総死亡・心血管死亡を指標に、性・年齢階級・血圧レベル・降圧剤服用の有無を補正したCox proportional hazard modelにより、夜間降圧と生命予後との関連を分析した。

【成績】dipperをreference categoryとしnondipper・inverted-nondipperのrelative hazard（RH）と比較した。【表】に結果を示す（CI；confidence interval）。全対象群について見ると総死亡・心血管死亡とも、inverted-nondipperのRHはdipperに比べ有意に高く、nondipperのRHはdipperに比べ高い傾向を示した。この傾向は相対的高血圧群（24時間の平均血圧が対象集団の上位3分の1；97mmHg以上の群）において顕著であった。全対象群・高血圧群ともinverted-nondipperがnondipperに比べ高いRHを示し、心血管死亡において総死亡に比べ高いRHが示された。

【考察】夜間降圧の減弱・消失は、特に高血圧群において、総死亡・心血管死亡を良好に予測した。また、死亡のリスクは殊に血圧の日内リズムが逆転している群において大であった。本研究は一般住民を対象としたprospective cohort studyにより夜間降圧の程度と生命予後との関連を初めて明らかにしたものであり、今後追跡を続けさらに検討を深めるべきものと考えられる。

【表】

| | | 総死亡 | | 心血管死亡 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | RH | 95%CI | RH | 95%CI |
| 全対象群 | nondipper | 1.33 | 0.79 - 2.21 | 1.55 | 0.72 - 3.34 |
| | inverted-nondipper | 3.45 | 1.77 - 6.74 | 3.97 | 1.44 - 10.89 |
| 高血圧群 | nondipper | 2.05 | 1.06 - 3.99 | 2.67 | 1.02 - 6.91 |
| | inverted-nondipper | 4.45 | 1.84 - 10.74 | 7.04 | 2.09 - 23.68 |
| 正常血圧群 | nondipper | 0.75 | 0.30 - 1.82 | 0.63 | 0.14 - 2.91 |
| | inverted-nondipper | 2.81 | 0.98 - 8.08 | 1.97 | 0.25 - 15.52 |

35

# 本態性高血圧患者の循環動態日内変動と心虚血変化

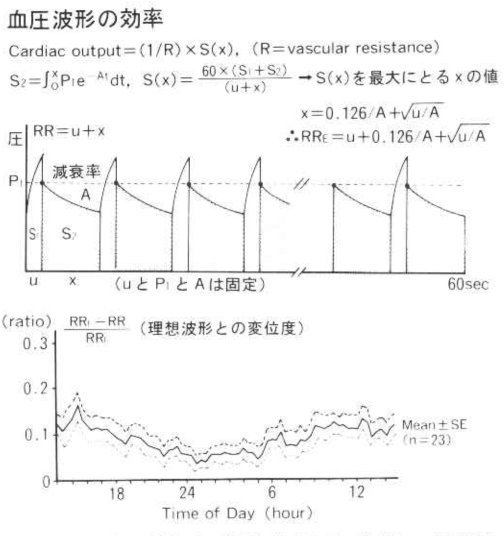
横浜市立大学医学部附属
浦舟病院第二内科
*横浜市立大学医学部第二内科

栃久保　修、宮島栄治、重政朝彦、
川野芳幸、石井當男*

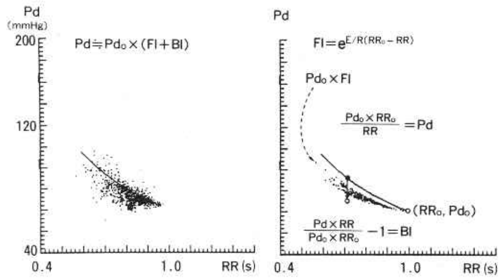
【結論】本態性高血圧(EH)患者では、睡眠(基底)血圧波形は最も効率が高く、これを基準として循環動態日内変動を分析すると、午前には循環調節機能低下とそれに伴う心血管反応亢進がみられた。このことが午前に心虚血発作が多発する要因のひとつになっている可能性が考えられる。

【目的】心筋梗塞や脳卒中の発作は午前に多く、その引き金に循環動態の日内変動が密接に関連している可能性がある。EH患者において、まず直接法による循環動態の日内変動を分析し、次にその知見を基に間接法による循環動態日内変動と心電図ST低下との関連を検討した。

【方法】直接法では既法の方法に従いtelemeter法にて、動脈圧、心電図、脳波(夜間のみ)を測定し、色素希釈法で校正したpulse contour法にて心拍出量(CO)、末梢血管抵抗(TPR)の日内変動を連続測定した。また3時間毎にHematocrit(Ht)値を測定した。圧受容体感受性(BRS)はBertinieriの方法にて、収縮期血圧の自然降圧に対するRR間隔短縮の比の日内変動を観察した。間接法ではportable multi-biomedical recorder(TM2425)装置にて間接血圧、心電図、体動(加速度)や体位などの日内変動を記録した。対象は、直接法は23例(男14、女9、年齢48±14歳)の入院




(図1) 心拍出量は1分間の血圧波形面積[S(x)]に比例し、心拍間隔RRIのときその最大値を示す。




(図2) 拡張期血圧(Pd)と心拍間隔(PR)の相互関係

未投薬EH患者で、間接法は冠動脈造影や運動負荷試験で確認できた虚血性心疾患を合併するEH患者102例(男54、女48、59±16歳)である。

【結果】①直接法測定値を最小2乗法適合曲線でみると午前にTPR、Htの頂点がみられ、BRSの底点がみられた。Windkessel modelで分析すると、睡眠基底状態では一定の血圧値($P_1$)、拡張期減衰率A(=E/R)とupstroke time(u)に対して波形面積最大をとる最も効率の良いRR間隔を示す(図1)。血圧変動率$\phi$は、この基底状態を起点として変動し、FI[心血管反応成分$e^{E/R(RR_0-RR)}$]とBI [調節成分$Pd\times RR/(Pd_0\times RR_0)-1$](Pd=拡張期血圧、$Pd_0$=基底Pd、RR=RR間隔、$RR_0$=基底RR、R=TPR、E=動脈弾性率)]に分けられ($Pd=\phi\times Pd_0$、$\phi\fallingdotseq FI+BI$、図2)、午前にFIは頂点を、BIは底点を示した。またFIは、心拍数や血圧、COと高い相関がみられ、BIはBRSと高い相関がみられた($r>0.71$、$p<0.01$)。②間接法測定値の観察では、ST低下(0.1mV以上)の発作は102例中24例みられ、その発作は午前(平均10±2時)に立位で加速度が高い時に多く、発作時には非発作的に比較し、有意にFIは高く(1.4±0.2:1.0±0.2)、BIは低下 (-0.11±0.16:0.09±0.18)していた($p<0.001$)。

【考案】拡張期血圧と心拍間隔の積よりなるBIは、圧受容体感受性と密接に関連していた。冠血流は拡張期に増加するためにBIが極端に低下することは冠循環に不利となると考えられる。一方FIは合目的心血管反応を表わし、BIはそれからの変位度を表すと推測される。午前にはplasma volume低下(Ht 上昇)、心血管反応亢進と循環調節機能低下がみられ、これらのことが午前に心虚血性発作が多いことと一部関連していると考えられる。

# 36

## 白衣高血圧とdipper型本態性高血圧の比較
### −運動および交感神経作動薬に対する反応性、赤血球膜Naイオン移送系の面よりの検討−

斉藤俊弘、大沼徳吉、水口公彦、澤　國夫、岸　雅子
山田憲司郎、出口不二夫、増田善昭
千葉大学医学部第三内科学教室

【結論】“白衣”高血圧（WHT）は臨床上極めて重要な現象であるにもかかわらずその病態・予後については未だ不明な点が多い。一方本態性高血圧は血圧日内変動の面からdipper型（D型）とnon-dipper型（ND型）に分類されている。そこでわれわれは本態性高血圧をD型とND型に分類し、WHT、正常血圧（NT）との差異につき、検討した。その結果、男性の“白衣”高血圧とD型高血圧とは運動・交感神経作動薬に対する反応性、赤血球膜Naイオン移送系および臓器障害とくに心肥大の程度において極めて近い関係にあることが示唆された。

【目的】本態性高血圧は血圧日内変動の面からO'BrienらによりD型とND型に分類されている。一方、WHTは臨床上極めて重要な現象であるにもかかわらずその病態・予後については不明な点が多い。そこでわれわれは、本態性高血圧を血圧日内変動によりD型とND型に分類し、WHT、NTとの差異につき、運動および交感神経作動薬に対する反応性、および細胞膜Naイオン移送系の面より検討し、さらに左室の壁厚の差異についても検討した。

【方法】外来時の坐位血圧が160/95mmHg以上の30〜65才の男性76名を30分ごとに測定した24時間血圧の平均値が130/85mmHg以下のものをWHT、140/90mmHg以上で睡眠時と覚醒時の血圧差が10％以上のものをD型、10％未満のものをND型とした。さらに、外来時血圧が常に140/90mmHg以下の男性36名をNT群とした。これらの対象について、運動および交感神経作動薬に対する心血行動態反応性と血漿ノルアドレナリン濃度の変化、赤血球内Na（[Na]RBC）とK濃度（[K]RBC）、赤血球膜Naイオン移送系および左室壁厚を測定した。運動負荷は定量負荷型臥位自転車エルゴメーターを用い、1.25W/kg、6分間の単一負荷法で行った。交感神経作動薬として、ノルアドレナリン（NA）とイソプロテレノール（Isp）を用い点滴静注を行った。NAは0.1μg/kg/minより開始し3分ごとに0.1μg/kg/minずつ増量したが今回は6分時の血圧値で評価した。Ispは0.02μg/kg/min、5分間の点滴静注を行い、心拍数増加反応を評価した。圧受容体反射機能はNAの点滴静注によりえられた1分ごとの平均血圧と心電図RRから圧受容体勾配を求め、評価した。左室壁厚は心エコー図法にて測定した。さらに、安静30分後に採血し、原子吸光度法による[Na]RBCと[K]RBC、Canessaらの方法によるLi-Na逆移送系活性（Li-Na CT）、Adragnaらの方法によるNa-K共軛移送系活性（Na-K COT）とNa-Kポンプ活性の最大能（Na-K pump）を測定した。

【成績】本態性高血圧を血圧日内変動によりD型とND型に分類し、WHT、NTとの差異につき、検討した。その結果1）運動に対する収縮期血圧の上昇度はND＞D＞WHT＞NTであった。2）NAに対する昇圧反応性はND＞D＞WHT＞NTであったが、前3者では有意差はなかった。とくにDとWHTの間にはほとんど差がなかった。3）Ispに対する心拍数の増加反応には4群間で明らかな差がなかった。4）圧受容体勾配はNT＞WHT＞D＞NDであったがWHTとDの間には有意な差はなかった。5）[Na]RBCはND＞D＞WHT＞NTであったが、DとWHTではほとんど差がなかった。6）Li-Na CTはND＞D＞WHT＞NTであり、Na-K COTもND＞D＞WHT＞NTであった。一方、Na-K pumpはND＜D＜WHT＜NTであった。しかしWHTとDではほとんど差がなかった。7）左室壁厚はND＞D＞WHT＞NTであった。

【考察】“白衣”高血圧は臨床上極めて重要な現象であるにもかかわらずその病態・予後については未だ不明な点が多い。そこでわれわれは“白衣”高血圧の病態・予後を明らかにするため、本態性高血圧を血圧日内変動よりD型とND型に分けWHTと比較検討した。この“白衣”高血圧は若い女性に多く、男性と女性でその病態が異なる可能性もある。そのため今回は対象をすべて男性に限った。その結果、男性“白衣”高血圧とD型高血圧とは運動・交感神経作動薬に対する反応性、赤血球膜Naイオン移送系および臓器障害とくに心肥大の面よりみると極めて近い関係にあることが示唆された。従って、少なくとも男性の“白衣”高血圧は本態性高血圧と同様に慎重な管理およびfollow upが必要であると思われる。

# 37 ヒトプロスタサイクリン合成酵素遺伝子構造の解析とマイクロサテライトを用いた本態性高血圧症との関連について

日本大学医学部第二内科　中山智祥、相馬正義、高橋雪絵、上保二郎、福田　昇、渡辺吉康、泉　洋一、上松瀬勝男

【結論】我々はヒトプロスタサイクリン合成酵素(PGIS)の遺伝子構造を初めて決定した。そしてintron6内に発見した新たなマイクロサテライトを用いた本態性高血圧症(EH)群と健康成人(control)群との関連調査によりEHに特異的と考えられるゲノタイプを見い出した。

【目的】プロスタサイクリン($PGI_2$)は血管拡張作用および血小板凝集抑制作用を持つプロスタグランジンで、その合成に関わる$PGI_2$合成酵素(PGIS)は$PGH_2$から$PGI_2$への変換を触媒しEHの発症に重要な役割を担っている可能性がある。今回我々はヒトPGISの遺伝子構造を解析し、さらにEHとPGIS遺伝子との関連を調べるために新たな遺伝子マーカーとしてマイクロサテライトの検出を行った。

【方法】(1)cDNA配列をもとにPCRプライマーを設定しlong and accurate (LA) PCRを施行。intronを含めたゲノムDNAを増幅したPCR産物を精製後ダイレクトシークエンシングしPGISの遺伝子構造を決定した。(2)新たな遺伝子マーカーの検出としては$(CA)_{15}$オリゴヌクレオチドプローブと増幅したPCR産物とのハイブリダイゼーションによりマイクロサテライト(CA単純繰り返し配列)を検出した。マイクロサテライトの両側をシークエンシングしマイクロサテライト領域を増幅しうるPCRプライマーを設定、sequence tagged site (STS)化した。(3)対象としてEH群は二次性高血圧症が否定され未治療時収縮期血圧160mmHg以上または拡張期血圧95mmHg以上の者で、年齢を一致させたcontrol群はEHの家族歴がなく収縮期血圧140mmHg未満かつ拡張期血圧85mmHg未満の者とした。各群の末梢血より抽出したゲノムDNA 100ngを鋳型として片側プライマーのみ[$\gamma$-$^{32}$P] ATPラベルしPCRを行った。PCR産物を6%ポリアクリルアミドシークエンスゲルで電気泳動後オートラジオグラフィーにてマイクロサテライト多型を解析した。またCAのリピート数の確認としては、まず増幅したPCR産物をプラスミドベクターに組み込みクローニングした後、ジデオキシ法によりシークエンスを決定、このようなプラスミドを複数作製し他のPCR産物と同時に電気泳動することによりすべてのPCR産物のCAのリピート数を決定した。統計学的方法は$\chi^2$検定を用いた。

【成績】(1)PGIS遺伝子を約7kbpから20kbpの5個のPCRフラグメントに分割することにより開始コドンから終止コドンまでのゲノムDNAをカバーし得た。全長は約70kbp以上に及び、合計10個のexonにより構成されていた。exonの長さはexon1の74bpを除きexon2の124bpからexon6および8の182bpと平均化しており、9個のintronは約1kbpから19kbpとばらつきがあった。exon-intron・スプライシングサイトはすべてGT/AGであった。(2)さらにマイクロサテライトをintron6内でexon7とのスプライシングサイトから上流約1kbpに見い出し、STS化に成功した。(3)EH患者125名(52.8±10.0歳、Mean±SD)、control群123名(50.8±6.5歳)を対象とし関連調査を行った。今回検討した248名で5種類のアレルと7種類のゲノタイプを同定した。最長のリピート数は14、最短は10であった。Heterozygosityは0.16であった。最も頻度の多いゲノタイプは両群とも12/12であり、EH群で81.6%、control群で86.2%を占めた。EH群とcontrol 群とではアレルの頻度分布に差はなかったがEH患者のみで14/12、13/10および10/10のゲノタイプを1名ずつ認めた。

【考察】今回用いたマイクロサテライトにおいて5種類のアレルが検出されたがアレルの頻度分布はEH群とcontrol 群とで有意差がなかった。しかし、EH患者のみで認められるゲノタイプを検出したことより、これらの症例についてより詳細なPGIS遺伝子の解析が必要と考えられる。

# 38 Advanced Glycation End productsのoxidative stressを介した血小板凝集促進について

東京大学医学部第一内科　　半下石　美佐子、田口　淳一、東郷　真子、橋本　佳明、渡辺　毅、黒川　清、大野　実

（結論） advanced glycation endproducts (AGEs)の血小板に対する影響を検討した。若年健常人より採取した血小板をAGEsまたはウシ血清アルブミン(BSA)で前処理する2群に分け、ADPおよびトロンボキサンA2 analogueであるU46619による凝集率を比較した。両者においてAGE群ではBSA群に比し有意に凝集が促進した。これらの促進効果はSODおよびインドメサシンの前投与により消失した。一方、血小板由来のsuperoxide radicalをlucigeninによるchemiluminescence法により測定したところAGE群ではBSA群に比し有意に増加しておりSOD前処理により完全に抑制された。以上より、我々はAGEの血小板凝集促進効果を確認し、それはoxidative stressを介するアラキドン酸pathwayの活性化によるものであると考えられた。

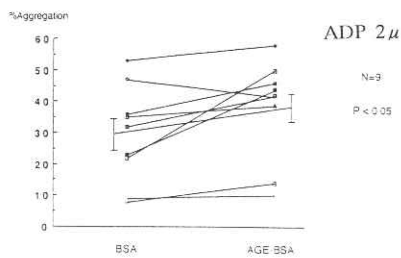
（目的） 近年糖尿病の合併症の原因物質として advanced glycation endproducts (AGEs)が注目を浴びている。しかしこの物質はむしろ糖尿病とは関係なくたとえば慢性腎不全患者の血清で増加しており、また糖尿病に関係なく動脈硬化血管で沈着が確認されている。AGEsは動脈硬化の促進物質であることで近年注目を浴びているが血小板に対する効果はまだ検討されていない。そこで今回我々はその点を検討した。

（方法） bovine serum albumin (BSA)もしくはpoly-lysineを500mM glucose下37度で6週間反応させ透析を行いadvanced glycation end products (AGE)を作成。若年健常者から採血し、遠心分離により多血小板血漿を採取、血小板数を30万/$\mu$lに調製し、BSAまたはAGE-BSAとともに1分インキュベーションした後ADP 2 $\mu$molを加え、投与後1分にlumiaggregometerでの凝集率を比較した。またインドメサシンによる効果も観察した。同様にトロンボキサンA2 analogueのU46619 0.5 $\mu$mol投与でも比較を行った。血小板由来のsuperoxide radicalをlucigeninによるchemiluminescence法により測定。AGE-BSAの与える影響を測定した。さらにSuperoxide dismutase(SOD) 250U/mlの前処理での凝集能およびsuperoxide radical産生を検討した。またAGE-poly-lysineでも同様の検討を行った。

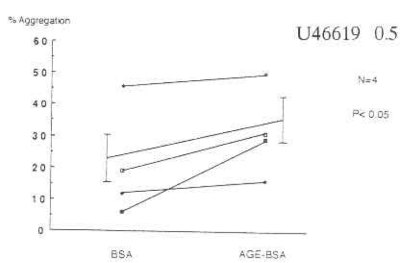
（成績） AGE-BSA (125$\mu$ g/ml)投与群ではBSA群と比較してADPおよびU46619投与において有意な凝集促進を認めた。（ADP by 31% $P<0.05$ $n=9$, U46619 by 35% $P<0.05$ $n=4$）この凝集増強効果のED50はAGE-BSA 0.5$\mu$ g/mlと透析患者のAGE血中濃度と近似値であった。インドメサシンの投与はこの増強効果を減弱した。AGE-BSAはBSAと比し有意に血小板からのsuperoxide radicalの産生を増加させた。（by 33% $P<0.05$ $n=4$） SOD前処理によりsuperoxide radical産生は有意に抑制され血小板凝集増強効果も消失した。AGE-poly-lysineでも全く同様の結果を得た。

（考案） 今回我々はAGEsが血小板の凝集をoxidative stressにより増強させることを報告した。またこれがアラキドン酸系を介することを示唆するデータを得た。近年高血圧による血管障害にsuperoxideの産生の増加を介したoxidative stressが深く関わっていることが次第に明らかになっている。我々はラット頚動脈バルーン障害血管において極く短期間に新生内膜にAGEsが沈着すること、それがさらに血糖値に関係なくfree radicalによるoxidative stressにより生成されることを確認している。糖尿病をふくむ各種の病態におけるoxidative stressの亢進はAGEsの産生を亢進させ、これがさらに血小板の凝集を増強し血管のremodelingを促進している可能性がある。

ADP 2$\mu$molによる凝集




U46619 0.5$\mu$molによる凝集



# 39　ヒト血液中に含まれる内因性ウアバイン様物質結合蛋白の分離とその性質

関西医科大学
病態検査学講座

小宮山豊、西村典子、村上　卓、桝田　緑、高橋伯夫

【結論】ヒト血中よりウアバイン結合蛋白を分離しそのN末端アミノ酸配列はIgG2のC領域N218-238とN219を除き一致すること、またヒトIgG1のplasmin分解fragmentに類似した性質を有する蛋白がその1成分であることを明らかにした。

【目的】内因性ウアバイン様物質(OLF)は、de Wardener らによりその存在が推定され、1990年代初頭にその構造はウアバインの異性体であるとHamlynらにより報告され、現在までOLFの様々な病態生理学的研究がなされている。しかしながら、他のステロイドホルモンで同定されているようなOLFに関する血中の結合蛋白質については、アフィニティーラベルで分子量的に検索したShonerらの報告があるのみで、その本体はほとんど明らかにされていない。我々は以前からOLFの病態生理学的意義について基礎的及び臨床的に研究を進め、本物質の産生には中枢神経系が重要な役割を演じていることなどを明らかにしてきた。今回、OLFの血液中の存在形態の一端を明らかにする目的で、ヒト血液中に含まれるOLF結合蛋白質の分離を試み、以下の知見を得た。

【方法】ウアバイン結合蛋白はヒト血漿3Lを原料として用いて以下の方法で精製した。血漿を硫安分画した後、結合蛋白分画をウアバイン固定化Sepharoseのアフィニティークロマトグラフィーで分画した。カラムに結合した分画をウアバインで溶出した後、ウアバイン陽性分画をSephadex G-150、Resorse QのHPLCなどのカラムにより分離精製した。なお、ウアバイン結合蛋白の溶出位置は各分画をTFA処理後Sep Pakで分離し、20%CH3CN分画に含まれるウアバイン量を我々が開発したOLFに対する高感度ELISA系で同定した。一方、ヒトIgGのplasmin分解fragmentは、63℃・20分処理したIgGをplasminで分解しSuperdex 200で分離した。本fragmentのウアバインと結合はウアバインとのincubation後のゲル濾過分画中に含まれるウアバイン溶出位置により判定した。また、N末端アミノ酸配列分析は精製蛋白をProspinで濃縮洗浄した後、常法に従い行った。

【成績】Resorse Qで精製したウアバイン陽性分画の分子量は、SDS-PAGEにより14.2kDaであり、N末端アミノ酸配列はTLGQPREPQV-YTLPPXREEMでヒトIgG2のC領域N218-238とN219を除き一致した。分子量的にヒトIgGのplasmin分解fragmentと類似していたため、ヒトIgGのplasmin分解fragmentを作り、アミノ酸配列を分析したところ、AKGQPREPQV-YTLPPXRDELTKNQVとなりIgG1のN218からの配列と一致した。また、本分画のウアバイン結合能を判定したところ、原料のヒトIgGには検出されず、plasmin分解fragment直後にウアバイン結合活性を見出した。

【考察】ヒト血中より分離したウアバイン結合蛋白はIgG2のN218以降とほぼ一致し本物質がIgGに類似した構造を有することが考えらた。また、N末端部分がplasminによるIgG分解箇所と考えられることから行ったヒトIgGのplasmin分解による結果は、ウアバイン結合蛋白はヒトIgG1のplasmin fragmentと親和性があるか、あるいは類似した性質を有していることを示唆するものと考えられた。

# 40 本態性高血圧患者における自律神経機能 ー DipperおよびNon-dipper型高血圧間の相違 ー

済生会宇都宮病院循環器科　北條行弘、野間重孝、大木貴博
仲嶋秀文、佐藤吉弘

【結論】Non-dipper型高血圧患者では昼間の交感神経活動が相対的に低下しており、その原因に圧受容体反射、心肺受容体反射の異常の関与が示唆された。

【目的】本態性高血圧の病因の一つに自律神経機能異常が指摘されているが、その詳細は明らかではない。高血圧症は血圧日内変動の形から、夜間は血圧の低下がみられるDipper (D)と夜間も血圧上昇が持続するNon-Dipper (ND)に分類される。いままでに高血圧患者をDおよびNDに区別し、自律神経機能の変化を検討した報告はない。 我々は、携帯型自動測定装置による血圧(ABP)測定および24時間心電図記録を同時に施行し、DおよびND型高血圧患者の自律神経活動の関連を比較検討した。

【方法】未治療の本態性高血圧患者27名（男/女=10/17、年齢33~70、平均52.3±8.7歳）を対象とした。ABPはFB-240(Fukuda Denshi)携帯型自動血圧血圧測定装置を用いて1時間毎に測定し、昼間を6:00~23:00、夜間を23:00~6:00と定義した。高血圧の定義は24時間平均収縮期ABP値140mmHgあるいは拡張期ABP値88mmHg以上とした(Staessen, Am J Cardiol, 1991)。夜間収縮期ABPが昼間収縮期ABPに比べ、10%以上低下する対象をD、低下のみられない対象をNDとした(Verdecchia, Circulation, 1990)。Holter心電図記録からRR間隔変動のパワースペクトル解析を行った。Fast Fourier transformation法により、0.04-0.15 Hzの低周波成分(low frequency; LF)および0.15-0.40 Hzの高周波成分(high frequency; HF)を求めた。さらにtilting90度前後5分間の血圧測定、心電図連続記録を行ない、パワースペクトル解析を行った。

【成績】（1）対象全体で24時間ABPと24時間LF/HF比の間に有意の相関はなかった。夜間ABPと24時間LF/HF比の間には有意の負相関が認められた(r=-0.39, p<0.05)。ABPとHF成分の間に有意の相関はなかった。収縮期ABPの夜間降圧度と24時間LF/HF比の間には有意の正相関が認められた(r=+0.43, p<0.05)。（2）対象をD、NDに分けて検討した。D(n=17, 51.8±6.1歳)、ND(n=10, 53.2±12.4歳)間の年齢、性別分布に差はなかった。D, ND間の24時間ABPに差はなかった。NDの夜間ABPはDに比して、有意に高値を示した(146±16 vs 122±15 mmHg, p<0.01)。Table 1に示すように、NDの24時間LF/HF比はDに比して、有意に低下しており(2.08±1.03 vs 3.20±0.94, p<0.01)、さらに時間別に検討すると、昼間LF/HF比が有意に低下していた(2.46±1.38 vs 4.13± 1.30, p<0.01)。夜間LF/HF比は差がなかった。2群間のHF成分に差はなかった。（3）TiltingによりD、NDの血圧値に有意な変化はなかった(D;137±12 →134±11 mmHg, ND;140±9 →145±4 mmHg)。TiltingによりDではLF/HF比は有意に増加したが(1.45±2.1 →4.62±1.48, p<0.01)、NDでは有意な変化はなかった (ND;1.16±0.29 →1.47±0.82, NS)。

【考察】本態性高血圧患者において、夜間の降圧度が減少するに従い、24時間LF/HF比が低下していた。夜間降圧のパターンから本態性高血圧患者をDおよびNDに分類すると、NDではLF/HF比がDに比べ低値であり、特にNDの昼間LF/HF比が低下していた。TiltingによるLF/HF比はDのみで有意に増加し、NDでは変化しなかった。これら結果からnon-dipper型高血圧患者では昼間の交感神経活動が相対的に低下しており、その原因に圧受容体反射、心肺受容体反射の異常が関与していることが示唆された。

Table 1

| | Dipper | Non-dipper |
|---|---|---|
| 24-h | | |
| LF/HF比 | 3.20±0.94 | 2.08±1.03* |
| LF(%) | 21.5±6.7 | 13.8±6.0* |
| HF(%) | 12.5±6.3 | 13.7±4.6 |
| Day-time | | |
| LF/HF比 | 4.13±1.30 | 2.46±1.38* |
| LF(%) | 23.8±7.0 | 13.9±6.4** |
| HF(%) | 7.9±3.7 | 10.1±4.4 |
| Night-time | | |
| LF/HF比 | 1.87±1.10 | 1.36±0.73 |
| LF(%) | 18.4±8.6 | 13.4±6.6 |
| HF(%) | 19.3±13.7 | 20.9±9.0 |

*: p<0.01, **: p<0.001

# 41 ヒトにおける動脈圧受容体機能評価とその特性

金沢大学第一内科[1)]
同保健学科[2)]

烏倉淳泰[1)]、高田重男[2)]、杉本尚樹[1)]、丸山美知郎[1)]
高村雅之[1)]、吉沢　尚[1)]、阪上　学[1)]、小林健一[1)]

【結論】心室期外刺激による血圧の変化と筋交感神経活動により、ヒトにおける瞬時的な動脈圧受容体自体の機能評価が可能であった。ヒト動脈圧受容体は刺激入力により瞬時的かつ一時的に感受性を変化させ血圧の調節を行っているものと思われた。【目的】ヒト動脈圧受容体反射機能の評価は、降圧・昇圧物質やneck chamberに対する効果器や筋交感神経活動の反応性により行われている。これらの評価法では動脈圧受容体を介する反射弓全体の反応をみているものであり、ヒトにおいては動脈圧受容体自体の特性の評価は困難であった。今回、われわれはヒトにおける動脈圧受容体の特性を評価する方法を考案し、健常者における動脈圧受容体の特性を検討したので報告する。【方法】健常男性8例（平均26±3歳）を対象とした。安静仰臥位後、上腕動脈よりカテーテルを挿入し、動脈圧を心電図、筋交感神経活動と共に連続記録した。筋交感神経活動は微小神経電図法を用い腓骨神経で記録し、筋交感神経活動の評価は、筋交感神経活動バースト（MB）の高さに持続時間を乗じた値をburst area（BA）とし行った。動脈圧は右室単発期外刺激法（心室期外刺激）により変化させた。右室心尖部より、先行洞調律数10拍後、単発期外刺激を連結期を10-20msec毎短縮させ施行した。期外刺激時の動脈圧の変化とMBの関係より圧受容体の感受性を評価した。さらに期外刺激時のMB出現後に次のMBの出現までの交感神経抑制（neural silence、NS）を観察した。次に先行洞調律数を5拍より2拍まで減少させ、心室期外刺激を施行し圧受容体の感受性、NSを評価した。最後に再び先行洞調律数10拍にて圧受容体の感受性、NSを評価した。【成績】期外刺激時、動脈圧は低下し、1.87±0.11秒のほぼ一定の潜伏期の後、筋交感神経活動バーストの出現を認めた。先行洞調律数10拍では動脈圧が低下するほどBAは大きく、BAの大きいほど交感神経活動の抑制（NS）も延長した。洞周期時の拡張期血圧から心室期外刺激時の拡張期血圧の低下の程度とBAは、r=0.64の有意（$P<0.01$）な正の相関を認め、BAとNSの時間は、r=0.52の有意（$P<0.01$）な正の相関を認めた。また、先行洞調律数5拍以下では、BAは一定の潜伏期の後、ほぼ期外刺激時のみに出現し、同程度の血圧の低下にもかかわらずBAは減少した。すなわち、BAは、圧受容体を介しその大きさが規定され、動脈圧とBAの関係より圧受容体の感受性を、NSは圧受容体機能の回復過程を表すと思われた。圧受容体の感受性は先行洞調律数10拍では151（U）で先行洞調律数5拍では114（U）と低下し、先行洞調律数2拍では30（U）以下に低下した。すなわち、圧受容体の感受性は先行する圧受容体への刺激に影響され、圧受容体への大きな入力（血圧の低下）後にはその反応性は変化するものと思われた。また、圧受容体機能回復過程をNSとBAにて表すとBA（U）$= -54789 + 20578 \log_{10}$ NS（msec），（$r = 0.59$, $P<0.01$）の有意な相関を認めた。再度行った先行洞調律数10拍での圧受容体の感受性およびNSは、コントロール時と有意な差は認められなかった。【考察】動物実験において、動脈圧受容体は大きな入力により瞬時的に感受性や刺激閾値が変化することが示されており、圧受容体のpostexcitatory depressionやadaptationと言われている。この圧受容体自体の調節機構はウアバインにより消失することから$Na^+$、$K^+$-ATPaseが関与する。今回、心室ペーシング（単発期外刺激）により動脈圧を低下させ、さらに刺激間隔を変化させることにより、この圧受容体特性をヒトにおいて評価した。健常者における評価では、期外刺激による血圧の低下（=大きな圧受容体への入力）に引き続き交感神経バーストとともにその後の交感神経活動の抑制（neural silence）がみられた。また、刺激間隔の短縮により同じ血圧の低下にもかかわらず交感神経反応が低下した。これらの成績は、ヒトにおいても圧受容体は入力の変化により瞬時的に感受性を変化させ血圧の調節を行っていることを示唆している。今後、高血圧、心不全などの圧受容体機能障害疾患における本調節系の意義を明らかにする必要がある。

# 42　高齢高血圧症患者における心拍変動の異常－カオス解析を用いた検討

大牟田労災病院内科　塚島　彰、川嶋　弘
九州大学医学部第二内科　阿部　功、土橋卓也、藤島正敏

【結論】高齢高血圧症患者では正常血圧者に比し心拍変動のカオス性指標であるリアプノフ指数が低下していたことから、心拍変動調節機能に異常があることが示唆された。一方、相関次元、変動係数、スペクトル解析より求めたHF、LF、LF／HFは高血圧の有無により変化が見られなかったことからリアプノフ指数はこれらの指標よりも血圧、年齢をより鋭敏に反映する心拍変動の指標となる可能性が示唆された。

【目的】スペクトル解析などの線形解析に加え、近年リアプノフ指数、フラクタル次元（相関次元）などのカオス解析の指標を用いた心拍変動の非線形解析が応用されつつある。自律神経や心血管機能の非線形性とフィードバック制御系の存在などから、心拍変動はカオス的変動をする可能性が考えられ、実際にその存在が認められている。近接した状態が時間とともに指数関数的に離れる度合を示すリアプノフ指数が大であると、系の不安定性、柔軟性、多様性が高いとされ、よりカオス的となる。すなわち自律神経機能異常によりリアプノフ指数が鋭敏に低下するとされている。一方、カオスの幾何学的指標であるフラクタル次元が高いほど複雑で多様な制御が行われており、加齢、心疾患で低下するとされているが、高血圧症患者での報告はない。そこで今回高血圧症患者の心拍変動を、カオス解析とスペクトル解析（高速フーリエ変換、FFT）を用いて検討した。

【方法】対象は本態性高血圧症患者１１名（３０～６０歳の成壮年群５名、血圧１６６±８（SEM）／９７±３ mmHg、６０歳以上の高齢群６名、血圧１５０±４／９３±２ mmHg）、対照群１２名（成壮年群６名、血圧１１７±３／７２±２ mmHg、高齢群６名、血圧１２２±５／７５±４ mmHg）である。脳卒中、心筋梗塞、心房細動、糖尿病を有する者は対象から除外した。ホルター心電図により得られた深夜就寝中の心拍の R－R 間隔をスプライン補間後、０.１２５秒毎にサンプリングした時系列データ５０００点を解析に用いた。ターケンスの埋め込み定理に基づき、時系列データの時間遅れ座標を用いてその相空間を再構成し、リアプノフ指数、グラスバーガー・プロカチアの方法による相関次元を計算した。また FFT を行い高周波数成分（HF）、低周波数成分（LF）、%HF（HF／TF、TFは全周波数成分）、%LF（LF／TF）、LF／HFを計算し比較した。

【成績】各年齢群で血圧は高血圧群で有意に高かった。R－R 間隔の平均、変動係数は各群で有意差は無かった。リアプノフ指数は成壮年正常血圧群 0.59±0.09、成壮年高血圧群 0.57±0.05、高齢正常血圧群 0.45±0.06、高齢高血圧群 0.23±0.05 で高齢群では高血圧により有意に（$p<0.05$）低下し、高血圧者の中では高齢群で有意に（$p<0.05$）低下していた。相関次元は成壮年正常血圧群 2.91±0.10、成壮年高血圧群 2.89±0.14、高齢正常血圧群 3.02±0.11、高齢高血圧群 3.45±0.14 で成壮年高血圧群と高齢高血圧群でのみ有意差を認めた（$p<0.05$）。HF、LF、%HF、%LF、LF／HF は成壮年群と高齢群共に血圧による差はなかった。

【考察】高齢高血圧症患者の心拍変動のリアプノフ指数が低下していたことから、高齢高血圧症患者では非線形な心拍変動が減少していることが示された。一部の自律神経疾患、循環器疾患では線型解析による心拍変動が減少すると報告されている。生体現象の一つである心拍変動は本来非線形な変動であるとされ、非線形解析であるカオス解析は線形解析であるスペクトル解析に比し、心拍変動をより正確に解析できる可能性がある。今回、高齢高血圧症患者でリアプノフ指数の低下を認めたことより、これらの患者では自律神経機能に異常があることが示唆された。またリアプノフ指数は相関次元、分散よりも鋭敏な心拍変動の指標となる可能性が示唆された。カオスの生理学的意味付け、疾病、予後との関係は未だ明らかではなく、今後さらに検討が必要と思われる。

# 43 交感神経活動性の亢進と高インスリン血症の血圧上昇機序への関与

羽原病院[1)]
大阪大学医学部保健学科[2)]
大阪大学医学部第4内科[3)]

舛尾和子[1)]、三上　洋[2)]、荻原俊男[3)]

【結論】同一企業内、若年男性の10年間の血圧値、血漿ノルエピネフリン値、血漿インスリン値の縦断調査より、若年非肥満正常血圧者の血圧上昇または高血圧の発症には、交感神経活動性の亢進とそれに伴う高インスリン血症が関与している。

【目的】高インスリン(INS)血症またはINS抵抗性および交感神経活動性の亢進が高血圧の発症・維持に関与することは報告されている。しかし、それらの相互関係については未だ結論がでていない。今回、10年間の縦断調査により交感神経活動性(血漿ノルエピネフリン値：NE)、INS感受性(空腹時血漿INS値)、血圧上昇の相互関係について検討した。

【方法】母集団は同一企業内若年(18－50才)男性1568名で、Entry時に肥満(86名, BMI≧26.0kg／m²)、糖尿病(43名, $HbA_{1c}$＞6.0％)、糖尿病家族歴を有する対象(101名, 少くとも片親が糖尿病), 不整脈もしくは心疾患を有する症例(58名)、高血圧症以外の疾患に対し加療中の対象(379名)は除外、さらに10年間にBMIの大きな変化(≧1.0kg／m²)を認めた対象(2名)も除外した。それら除外後の平均年齢、BMIを一致した正常血圧者(NT)662例, 境界型高血圧者(BHT)188例、固定型高血圧者(EHT)136例を対象とした。10年間、毎年1回、早朝空腹時20分間の安静臥位後に血圧、空腹時血糖(BG)、血漿INS、臥位時血漿NEを測定。血圧上昇群は10年間にEntry時平均血圧の10％以上の上昇(≧10％)、血圧不変または下降群は10％未満の上昇(＜10％)と定義した。BHTは全例未治療、EHTは各測定前少くとも2週間の休薬を行った。

【結果】10年間に血圧上昇群(≧10％)、血圧下降群(≦－10％)の両者に属する対象は認めなかった。NT, BHT, EHT間でEntry時および10年目の年齢、BMIは一致していた(Entry時, 39.0±2.1(SD), 39.4±1.9, 39.4±2.0才, 22.4±1.2, 22.6±1.1, 22.8±1.3kg／m²)。10％以上の昇圧は全対象中25％, NT 28％, BHT 28％, EHT 3％に認めた。NT, BHTの血圧上昇群と不変・下降群間にEntry時, 10年目とも年齢, BMIに有意差はなく、Entry時にBHTでは血圧値に差がないのに対しNTでは上昇群で不変・下降群に比し血圧値は有意に高値であった(P＜0.01)。また、NT, BHTとも10年目血圧値は上昇群においてのみEntry時に比し高値であった(NT：P＜0.01, BHT：P＜0.01)。空腹時BGはEntry時にNT, BHTとも上昇群で不変・下降群に比し有意に高値(P＜0.01, P＜0.05)、BHTでEntry時、10年目ともNTに比し高値(P＜0.01, P＜0.01)であった。しかし、NT, BHTとも、上昇群, 不変・下降群とも10年目BGはEntry時BGと差異は認めなかった。NE値は、NT, BHTとも、またEntry時、10年目とも上昇群で不変・下降群に比し有意に高値(NT：P＜0.05, P＜0.01, BHT：P＜0.05, P＜0.05)、BHTでNTに比し有意に高値(P＜0.05－0.01)であるのに対し、INS値はNTではEntry時には上昇群, 不変・下降群間に差異は認めず血圧上昇後の10年目に上昇群で不変・下降群に比し有意に高値(P＜0.05)、BHTではEntry時、10年目とも上昇群で不変・下降群に比しINS値は有意に高値(P＜0.01, P＜0.01)であった。10年間のNE, INSの変化(Δ)および％Δ変化率はΔNE, ％ΔNEともNT上昇群はBHT上昇群, BHT 不変・下降群と同様の値で、NT不変・下降群に比し有意に高値(ΔNE：P＜0.01, ％ΔNE：P＜0.05)であるのに対し、ΔINSはNT, BHTとも上昇群で不変・下降群に比し有意に高値(P＜0.01, P＜0.05), ％ΔINSはNTで、上昇群で不変・下降群に比し有意に高値(P＜0.01)、BHTでは有意差は認めなかった。

【考察】以上の結果よりNTの経時的血圧上昇には交感神経活動性の亢進が先行しており高INS血症は高NE血症に伴う2次的もしくは代償機構と考えられた。それに対し、高血圧発症初期と考えられるBHTではさらなる血圧上昇前より高NE血症、高INS血症を認めたことから、NTとBHTでは血圧上昇機序が異なり、BHTでは交感神経活動性の亢進とともに高INS血症が一部関与していると考えられた。

**44**

# 本態性高血圧のインスリン抵抗性におけるDehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S)の意義について

静岡県立総合病院内分泌代謝科　西野和義、井上達秀、越村　修、佐古伊康
同　　核医学科[1)]　鈴木輝康[1)]

【背景】インスリン（イ）抵抗性はイ非依存性糖尿病（NIDDM)と同様に本態性高血圧（EHT）の成因としても重要であるが、それに関与する因子はまだすべて解明されていない。最近、副腎由来の性ホルモンであるDehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S)にイ感受性亢進作用が認められるという報告があり、興味深い。

【目的】EHTのイ抵抗性におけるDHEA-Sの関与について臨床的に検討すること。

【方法】軽症NIDDMで教育入院中の患者を正常血圧群（NT群）とEHT合併群（HT群）に二分し、両群を対象にEuglycemic hyperinsulinemic glucose clamp法(GC)によってイ感受性を評価した。GCは人口膵臓(STG22model, NIKKISO)を用いて施行し、速効型イ(Humarin R)を40mU/㎡/minの速度で投与し続けたときの血糖値を100mg/dlに維持するために必要なGlucose infusion rate(GIR, mg/kg/min)を記録して、GC開始後約2時間目のGIRの平均値（M, mg/kg/min)をイ感受性の指標として用いた。GCの前後で安静採血を施行して血糖値(PG, mg/dl)、イ濃度(IRI, mcU/ml)およびDHEA-S濃度(DHEAS, mcg/ml)を測定して、GC前後でのDHEASの変化およびMとGC前DHEASとの相関性について検討した。さらに性、年齢およびBMIをマッチさせるために各群の男性例のみについて同様の検討を行った。

【結果】対象はNT群13例、HT群24例であり、両群間で年齢と血糖コントロールに差はなかったが、HT群はNT群に比べて血圧のみならず、BMIも有意に高かった。MはNT群に比してHT群で有意に低値であり、かつHT群ではイ抵抗性がみられた。GC前のDHEASはHT群がNT群より有意な低値を示し、GC後にはDHEASはGC前に比べ、NT群で有意に低下したが、HT群では有意な変化を示さなかった。MとGC前DHEASは、NT群で極めて高い有意な負の相関（$r=-0.895, p=0.0012$)を示したが、HT群では相関しなかった。次に、性、年齢およびBMIをマッチさせるべく、各群の男性例より、NT群9例、HT群14例を抽出して同様に検討したところ、血圧以外には両群間で年齢、BMIおよび血糖コントロールに有意な差はなく、NT群におけるMとGC前DHEASの相関性がやや低下した（$r=-0.739, p=0.0578$)こと以外は、両群ともにM、GC前DHEASおよびGC前後でのDHEASの変化のすべての項目について、群全体を対象にした検討と同様の結果を得た。

【まとめと考察】以上の成績より、

(1) DHEA-Sにイ感受性の増進作用があると仮定すれば、HT群ではイ感受性とDHEA-S分泌の低下がみられたがNT群ではともに正常であったことは、HT群のイ抵抗性にはDHEA-Sの分泌低下が関与している可能性を示唆する。

(2) NT群ではMとDHEASが高い負の相関を示したがHT群では両者は相関しなかったことから、DHEA-Sは生理学的にはイ感受性低下に対して代償的な拮抗作用を及ぼす可能性が示唆されるが、EHTにおいてはこの作用が破綻していると考えられる。

(3) NT群で観察されたGC後のDHEA-Sの分泌低下がHT群では欠如していたことから、インスリンの副腎における生理的作用の一つにDHEA-S分泌抑制作用がある可能性と、EHTにおいては副腎でのインスリン抵抗性によってインスリンによるDHEA-S産生分泌抑制作用が減弱している可能性が示唆されるものと考えられた。

【結論】以上の考察により、

(1) 本態性高血圧症でのインスリン抵抗性にはEHDA-Sの分泌低下が関与すること、

(2) インスリンにはDHEA-Sを抑制する生理的な作用があること、

(3) 本態性高血圧症ではインスリンによる生理学的なDHEA-Sの分泌抑制作用が副腎におけるインスリン抵抗性の存在によって減弱していること、

(4) 本態性高血圧症ではインスリン抵抗性に由来する高インスリン血症が存在してもDHEA-S産生分泌は抑制を受けにくいことがインスリン抵抗性の憎悪に対する代償的拮抗作用としての意義を有していること、

などが示唆された。

# 45 本態性高血圧症の血小板内遊離Ca増加反応におけるインスリン抵抗性

神戸大学医学部第一内科　前川浩一、斎藤公明、北崎和久、金鐘一、池田嘉弘、横山光宏

【結論】高インスリン血症を呈する本態性高血圧症患者においては、アゴニスト刺激時の血小板内Ca増加反応に対するインスリンの抑制効果に減弱が認められた。また、かかる血小板内Ca増加反応におけるインスリン抵抗性は、細胞膜Na-pump活性が低値かつ細胞内Na濃度が高値の者においてより顕著であることが示唆された。

【目的】近年、インスリン抵抗性が高血圧症の成因に関与するとされているが、本症における細胞内Ca動態異常との関連性については明らかでない。インスリンは血管平滑筋、血小板等においてangiotension Ⅱ, arginine vasopressin (AVP) 等のアゴニスト刺激時の細胞内Ca増加反応を抑制し、また血管平滑筋の収縮を抑制することが報告されている。一方、インスリンはNa-K ATPase活性亢進、交感神経活性亢進等を介して細胞内Na代謝に影響を及ぼすとされている。本研究では、本態性高血圧症におけるAVP刺激時の血小板内遊離Ca増加反応に対するインスリンの影響を検討するとともに、細胞内Na代謝異常との関連性から本症の成因におけるインスリン抵抗性の意義を明らかにしようとした。

【方法】対象は未治療の軽症本態性高血圧患者19名(年齢52.1 ± 1.2歳, mean ± SE)。早朝空腹時に75g経口糖負荷試験を施行し、∑IRI/∑BSの結果により、高インスリン血症群（HI群；n=7）及び正常インスリン血症群（NI群；n=12）に分類した。インスリン存在下（100μU/mLにて5分間前負荷）および非存在下に、$10^{-6}$ mol/L AVP刺激時の血小板内遊離Ca濃度増加反応（$\Delta[Ca^{2+}]_i$）をFura-2を用いて測定した。インスリンによる血小板内Ca増加反応の抑制効果はインスリン存在下および非存在下における$\Delta[Ca^{2+}]_i$の差（%Inh）により評価した。赤血球内Na濃度（R-Na）は炎光光度計を用いて測定し、細胞膜Na-pump活性はウアバイン$10^{-5}$mol/L存在下におけるR-Na増加量（/h）よりouabain-sensitive Na efflux rate constant（Kos）として算出した。

【成績】HI群ではNI群に比し、空腹時インスリン値、∑IRI/∑BSはいずれも高値（$p<.005$）を示したが、両群間で肥満度、血糖値、中性脂肪、血清コレステロール値に差を認めなかった。安静時血圧、AVP刺激前の$[Ca^{2+}]_i$は両群間に差を認めなかった。全体ではインスリン前負荷によりAVP刺激時の$\Delta[Ca^{2+}]_i$は309.0 ± 45.3から286.5 ± 44.1 nmol/Lに有意に減少（$p<.005$）した。%InhはHI群ではNI群に比し有意な減弱(-2.4 ± 3.1 vs. -14.2 ± 3.4%, $P<.05$）を認めた。また、%Inhと刺激前の血小板$[Ca^{2+}]_i$およびR-Naとの間には正の相関($r=0.52$および$r=0.50$, $p<.05$)、Kosとの間には負の相関($r=-0.59$, $p<.01$)が認められた。

【考察】近年、本態性高血圧症の成因としてインスリン抵抗性の関与が注目されている。インスリンはアゴニスト刺激時の細胞内Ca増加反応を抑制し、血管平滑筋の収縮を抑制することが報告されている。この抑制効果にインスリン抵抗性が存在する場合、細胞内Ca増加反応が増大し、高血圧の成因に関与する可能性がある。本研究結果より、高インスリン血症を呈する本態性高血圧症患者において、血小板内Ca増加反応に対するインスリンの抑制効果に減弱が認められた。また、血小板内Ca増加反応におけるインスリン抵抗性は、Kosが低値かつR-Naが高値の者においてより顕著であることが示唆された。これらのことより、細胞内Ca増加反応に対するインスリンの抑制作用の減弱は、血管平滑筋においてはNa-K ATPase活性の低下に伴う細胞内Na貯留に関連して、本症における末梢血管抵抗の増大に関与しうる可能性が考えられた。

# 46 血管平滑筋細胞由来一酸化炭素の血管トーヌス調節因子としての可能性

埼玉医大第４内科　盛田俊介　片山茂裕
Department of Pediatrics, Harvard Medical School　Stella Kourembanas

（　結論　）低酸素刺激により、血管平滑筋細胞はヘムオキシゲネース-１遺伝子を誘導し、増加したヘムオキシゲネース活性を介して酵素産物である一酸化炭素を産生した。この血管平滑筋細胞由来一酸化炭素はオートクラインとして血管平滑筋細胞のみならず、パラクラインとして共培養した内皮細胞でのcGMPレベルをも上昇させた。さらに内皮細胞におけるEndothelin-1遺伝子の低酸素刺激による誘導を抑制した。

（　目的　）一酸化窒素（NO）は、細胞内cGMPを介して血管トーヌスを調節している。NO類似のガス状物質である一酸化炭素（CO）の血管における生理活性はほとんど知られていない。COはその大部分が、ヘム代謝の過程で特異的酵素ヘムオキシゲネース（HO）により産生される。HOには２つのisoform、HO-1と HO-2とが存在する。HO-1はinducible form、HO-2はconstitutive formである。我々は、血管細胞がHO活性を有すれば、HOの産物であるCOが血管トーヌスに影響を与える病態の1つである低酸素状態で、何らかの病態生理学的役割を血管床にて果たすのではないかとの仮説を立て検討を加えた。

（　方法　）培養血管平滑筋細胞（VSMCs）にラットまたはヒト大動脈平滑筋細胞を、培養血管内皮細胞（ECs）にはヒト臍帯静脈細胞またはウシ肺動脈内皮細胞を用い、VSMCsとECsとの間接共培養系を確立した。まず、血管細胞におけるHO活性の有無ならびに、低酸素による影響を検討するために間接共培養系を低酸素状態（培養液中の酸素濃度は約２０torr）で一定時間培養後、HO遺伝子発現をNorthern解析およびNuclear Run on Assayにて、HO酵素活性は細胞ミクロゾーム分画を単離し、NADPH，Biliverdin Reductuse、Hemeを加え生産されるビリルビン量を吸光度にて測定した。次にHO活性を持つ培養血管細胞のCO産生能検討のため、適量のヘモグロビンを培養液に加え形成されるカルボシキヘモグロビン値（HbCO）を測定した。最後にこの血管細胞由来一酸化炭素の病態生理学的意義の検討のため、細胞内cGMP濃度とECsでのEndothelin-1（ET-1）遺伝子発現とを検討した。

（　成績　）Northern解析の結果、VSMCsとECs双方がHO-1 遺伝子とHO-2遺伝子を発現していた。低酸素刺激によりVSMCsにおけるHO-1 mRNAレベルは７倍に増加したが、HO-2 mRNAレベルは一定であった。Nuclear Run on Assayは、この増加が転写レベルであることを明らかにした。HO酵素活性は、HO-1 遺伝子と同様に低酸素刺激により増加した。一方、VSMCsと異なりECsにおけるHO-1 mRNAレベルは低酸素刺激により減少した。次に、HbCO値は、共培養の培養液中では低酸素刺激により増加したが、ECs単培養のそれでは、低値、不変で検出されなかった。以上の結果は、低酸素刺激により増加したHO酵素活性によりVSMCsが培養液中にCO（VSMCs-CO）を放出したことを示唆している。そこでこのVSMCs-COが細胞内cGMP濃度ならびにECsでのET-1遺伝子発現に与える影響を検討した。低酸素刺激によりVSMCsのみならず共培養したECsのcGMPレベルの増加を認めた。これはHO inhibitorを使った実験でVSMCs-COの作用であることが確認された。さらにこのVSMCs-COは、低酸素刺激によるECsにおけるET-1遺伝子の発現誘導を抑制した。

（　考察　）
VSMCsは低酸素刺激下で増加したHO活性の結果、より多量のCOを産生することが示された。このVSMCs-COは、オートクライン、パラクラインとしてVSMCs、ECsでのcGMPレベルを上昇させたのみならず、低酸素刺激で増加するECsにおけるET-1産生を抑制した。これらの結果は、VSMCs-COが低酸素状態で局所血管トーヌスを少なくとも２つの経路-cGMPを介する経路とET-1を介する経路-で調節している可能性を示唆した。

# 47 降圧治療は内皮依存性過分極反応を改善する　－高血圧自然発症ラットでの検討－

九州大学医学部第2内科　　尾中宇蘭、藤井弘二、阿部　功、藤島正敏

【結　論】高血圧自然発症ラット(SHR)の腸間膜動脈では、内皮由来過分極因子(EDHF)による内皮依存性過分極・弛緩反応が障害されており、降圧治療はこれらの異常を改善した。一方、内皮由来一酸化窒素(EDNO)を介した弛緩反応はSHRで有意な障害は認められず、治療の影響も受けなかった。

【目　的】血管内皮はEDNOおよびEDHFなどの諸因子を産生し、局所血管緊張の調節に重要な役割を果たしている。最近、抵抗血管においては EDHF を介する過分極反応の弛緩への寄与がEDNOを介する系によるものより大きいことが報告されており、その重要性が注目されている。我々はすでに6-8ヶ月齢のSHR腸間膜動脈でacetylcholine (ACh)による内皮依存性過分極と、それに伴う弛緩が著明に減弱していることを報告している[1,2]。降圧治療が内皮依存性弛緩を改善するか否かを検討した報告は散見されるが、EDHFに着目して検討した報告は少ない。そこで本研究ではSHRにおいて降圧治療がEDHFを介する過分極・弛緩を改善するか否かを検討し、併せてEDNOを介した弛緩と比較検討した。

【方　法】8-9ヶ月齢の雄性SHR/Izmを以下の3群に分け、3ヶ月間治療した（各群 n=6-8）：① Enalapril 35mg/kg/日(SHR-E), ② Hydralazine 25mg/kg/日 + Hydrochlorothiazide 10mg/kg/日(SHR-H), ③ 無治療(SHR-C)。対照群としてWistar Kyoto rat (WKY/Izm)を用いた。腸間膜動脈を単離摘出し、ACh による内皮依存性過分極・弛緩反応を記録した。EDHFを介する弛緩は norepinephrine (NE) 10$\mu$M で前収縮させた標本の indomethacin (10$\mu$M) + $N^G$-nitro-L-arginine (0.1mM; NOS阻害薬)存在下でのAChによる弛緩で評価した(前収縮に対する%で表示)。NOを介する弛緩は77mM高K溶液で前収縮させた標本のAChによる弛緩で表した(高 K 溶液下では EDHF による過分極反応は消失する)。

【成　績】収縮期血圧はSHR-C (260±5mmHg, ±SEM)に比し、SHR-E (146±9mmHg), SHR-H (166±7mmHg)で有意に降圧し、WKY (165±2mmHg)と有意な差はなかった。NEにより脱分極させた状態でのAChによる過分極反応はSHR-CでWKYに比し著明に減弱していたが (ACh 10$\mu$M; -6±1mV vs -13±3mV)、SHR-E (-12±2mV) および SHR-H (-12±1mV)で有意に改善していた。同様にEDHFを介する弛緩はSHR-E (ACh 10$\mu$M; 64±12%)およびSHR-H (39±13%)でSHR-C (13±12%)に比し有意に改善しており、WKY (47±15%)と差を認めなかった。一方EDNOを介する弛緩は各群間で有意差を認めなかった。Levcromakalim(Kチャンネル開口薬)による内皮非依存性弛緩はいずれの群間にも有意差はなかった。

【考　察】本研究によりSHRにおいて降圧治療がEDHFを介する内皮依存性過分極・弛緩反応の障害を改善することが示された。一方、EDNO を介した弛緩反応はSHR で明らかな障害は認められず、治療の影響も受けなかった。すなわちSHRの腸間膜動脈での内皮依存性弛緩の障害と、降圧治療によるその改善はいずれもEDHF を介した機序が主体であることが示唆された。これまでにも降圧治療により内皮機能が改善するとの報告は見られるが、本研究において EDHF を介した反応が改善することが初めて明らかとなった。EDNO を介した反応に関しては、脳卒中易発症SHRでは低下していると報告されているが、SHRを用いた検討では障害を認めないとの報告が多く、今回の我々の成績もそれに合致する。最近 Mäkynen ら[3]は DOCA 食塩高血圧ラットで障害される内皮依存性弛緩反応はEDHFを介した機序が主であることを報告しており、SHR に限らず種々の高血圧モデルの内皮機能異常においてEDHFを介した機序が関与していることが考えられる。また今回の成績では EDHF を介する反応は降圧薬の種類を問わず治療により改善しており、内皮機能の改善には降圧が重要であると考えられた。しかしながら ACE 阻害薬による改善効果はHydralazineと利尿剤の併用療法に比べて高い傾向にあり、薬物間の差異についてはさらに検討を加える必要がある。

【参考文献】

1) Fujii K et al: Circ Res 70: 660-669, 1992
2) Fujii K et al: Am J Physiol 265: H509-516, 1993
3) Mäkynen et al: Circulation 93:1000-1008, 1996

# 48　一酸化窒素（NO）合成酵素阻害薬のサル大槽内投与による脳動脈血管径および全身血圧への影響

滋賀医科大学　薬理学教室　　岡村　富夫、安屋敷和秀、戸田　昇

【結　論】

1）NO合成酵素阻害薬のサル大槽内投与による脳底動脈収縮作用には、中枢神経から緊張性調節を受けている血管拡張性神経におけるNOの合成抑制が関与している。

2）麻酔サルの脳底動脈径は交感神経およびNO作動性神経ならびに血管内皮に由来するNOにより調節されている。

3）サルでは、中枢神経系（少なくとも大槽にに接する脳領域）における内因性NOの全身血圧調節に対する関与はみられない。

【目　的】

全身ならびに局所の循環調節に内因性NOが重要な役割を果たしていることはよく知られている。我々はこれまでにNO合成酵素阻害薬の全身投与による昇圧はEDRFだけでなく、末梢血管に分布するNO作動性拡張性神経の機能抑制によることを見出し、神経性NOの重要性を明らかにしてきた。今回は、麻酔サルの大槽内にNO合成酵素阻害薬を投与することにより、脳動脈ならびに血圧に及ぼす影響を検討した。

【方　法】

全身麻酔下のニホンザル（体重7～10 kg）の大槽内にL－ニトロアルギニン（L－NNA, 1 mM, 2 ml）を投与し、脳底動脈径、血圧ならびに心拍数を測定した。脳底動脈径は右大腿動脈から椎骨動脈に挿入したカテーテルより血管造影を行い、ビデオレコーダーに記録し、画像解析装置により計測した。計測部位として①脳底動脈分岐部直上、②脳底－後小脳動脈接合部直下、③その中間点の3カ所を選び、その平均を薬物投与前後で比較した。実験によってはフェントールアミン（1 mg／kg, i.v., x 2）ならびにヘキサメトニウム（4 mg／kg, i.v. plus 0.4 mg／kg／min, infusion）を処置したサルを用いた。フェントールアミンの効果はノルアドレナリンによる昇圧反応の消失により、ヘキサメトニウムの効果はノルアドレナリン投与による反射性徐脈の消失により、それぞれ確認した。血圧は左大腿動脈に挿入したカテーテルより直接測定した。

【成　績】　L－NNAの大槽内投与により脳底動脈径は30分後より有意に減少し、2時間後に前値の約70%に達し、3時間以上持続した。同収縮はL－アルギニンの大槽内追加投与により消失した。一方、血圧（投与前の平均血圧：85.3 ± 6.4、2時間後：84.7 ± 3.9 mmHg）ならびに心拍数（投与前：171± 11、2時間後： 160 ± 14 bpm）には影響がみられなかった。L－NNAによる脳底動脈収縮は、フェントールアミン処置下では増強傾向がみられたのに対し、同程度の降圧を生じるヘキサメトニウム処置下では著明に抑制された。両薬物の処置下でもL－NNAは血圧に影響を与えなかった。フェントールアミン自身は脳底動脈径には影響はないが、フェントールアミン処置下に投与したヘキサメトニウムは有意に脳底動脈径を減少した。

【考　察】

大槽内に投与したL－NNAにより脳底動脈径は持続的に減少した。この動脈収縮作用はα遮断薬前処置下で増強傾向を示し、自律神経節遮断薬処置下で抑制されたことから、脳底動脈径の調節には内皮由来のNOよりも神経由来のNOが優位に関与していること、ならびにNO作動性の血管拡張神経は交感神経と生理的に拮抗していることが示唆された。一方、静脈内投与とは異なり、NO合成酵素阻害薬を大槽内投与しても全身血圧には影響がなかったことから、サルでは、少なくとも大槽周辺の中枢性のNO作動性神経は血圧調節にほとんど関与しないと考えられる。

# 49 本態性高血圧症患者におけるインスリン抵抗性と内皮依存性腎血管弛緩障害の関連

広島大学医学部第一内科　東　幸仁、松浦秀夫、石橋克彦、吉村光功、佐々木伸夫、小野法久、石岡規生、佐々木正太、井上敏明、梶山梧朗
同　臨床検査医学　大島哲也、小園亮次、中野由紀子、松本敏幸

【結論】本態性高血圧症患者(EHT)においてL-arginine投与時の内皮依存性腎血管弛緩障害およびインスリン感受性低下が共に存在していた。また両者に相関があることより、EHTの腎循環におけるL-arginine-Nitric Oxide(NO)-cGMP pathwayの変容とインスリン抵抗性の関連が示唆された。

【目的】血管内皮由来弛緩因子/NOは体循環や腎循環の調節に重要な役割を演じていることが明らかにされてきた。かかる内皮依存性血管弛緩反応がEHTや遺伝性高血圧ラットにおいて障害されているとの報告が多く、高血圧における血管内皮機能異常の病因的意義が想定されている。一方、インスリン抵抗性とEHTとの関連も強く示唆されている。今回、EHTにNOの前駆体でありインスリン放出刺激物質でもあるL-arginine投与時の腎血漿流量(RPF)、糸球体濾過量(GFR)、腎血管抵抗(RVR)など腎循環の反応性および血糖、インスリンの反応性を測定することにより、インスリン感受性と内皮依存性腎血管弛緩反応の異常の有無および両者の関連を検討した。

【方法】軽症、中等症のEHT22例および、正常血圧者20例(NT)を対象とした。一週間の常塩食(170 mmol/day)摂取下で血圧安定後、早朝空腹時にL-arginine(500 mg/kg, 30分間)を経静脈的に投与し、血圧、心拍数、RPF、GFRの測定、採血を行った。血圧、心拍数の測定は自動血圧計(TM2420)を用い、RPF(mL/min/1.48m$^2$)はパラアミノ馬尿酸クリアランス、GFR(mL/min/1.48m$^2$)はイヌリンクリアランスにてconstant infusion techniqueを用いて測定した。RVR(mmHg/mL/min/1.48m$^2$)は平均血圧を腎血流量で除して求めた。またNO産生の指標として血漿cyclic GMP(cGMP)の濃度変化をラジオイムノアッセイを用いて測定した。

【成績】両群間の年齢、性、Body mass indexに差はなかった。L-arginine投与時の血圧変化にも群間差はなかった。両群ともL-arginine投与によりRPFは増加し、RVRは減少し、腎血管弛緩が認められたが、GFRは有意な変化を示さなかった。EHT群ではNT群に比しL-arginine投与時のRPFの増加率(9.8±2.3% vs 16.2±2.1%、$p<0.05$)およびRVRの減少率(-10.9±2.9% vs -19.6±2.8%, $p<0.05$)は有意に小であった。また血漿cyclicGMP(cGMP)増加率もEHT群で低下していた(58±7% vs 86±8%, $p<0.05$)。L-arginine投与前の両群間の血糖、インスリン値に差ははかった。L-arginine投与時の血糖増加率は両群間に差はなかったが(EHT群:32.3±2.5%, NT群:29.8±3.3%)、インスリン増加率はNT群に比しEHT群で有意に大であった(667±30% vs 542±28%, $p<0.05$)。cGMP増加率はL-arginine投与30分後のΔ血糖/Δインスリン値と有意な正の相関を示した($R=0.56$, $p<0.01$)。

【考察】これまで、ヒト前腕動脈の内皮依存性NO合成とインスリン感受性に相関があること、インスリンの血管拡張作用がNO産生刺激により調節を受けること、また培養内皮細胞においてインスリンがNO放出を促すことなどが報告され、両者の密接な関連が示唆されている。さらに我々の結果よりインスリンとNOのバランスがヒトの腎血管トーヌスの調節においても重要な役割を果たしている可能性が示された。EHTの腎循環におけるL-arginine-NO-cGMP pathwayの変容とインスリン抵抗性との関連の機序として幾つかの説明が可能である。インスリン抵抗性の進展が血管内皮障害としてのNO産生低下をもたらすのか、NO産生障害がインスリン抵抗性の増悪をもたらすのか、あるいはインスリン抵抗性と内皮依存性腎血管弛緩障害が第三者を介して同時に存在するのかであるが、今回の我々の検討では明らかに出来なかった。今後は両者が関連するメカニズムの検討に加えて、降圧剤の投与時によりこれらの改善がみられるかどうかの検討も必要であると考えられる。

# 50 軽症高血圧患者におけるインスリン抵抗性とインスリンの血小板内$Ca^{2+}$動態および血小板凝集能に及ぼす影響

東京慈恵会医科大学 内科学講座第3 石橋健一、景山　茂、桜井達也、村川祐一、相原一夫、三村　明、横田邦信、谷口郁夫*、酒井　紀
内科学講座第4*

【結論】グルコースクランプ前後で、インスリン感受性の良好な軽症高血圧患者ではインスリンにより血小板内遊離$Ca^{2+}$濃度（静止時、トロンビン刺激時）および血小板凝集能は、前値に比較して減少し、インスリン抵抗性を示す軽症高血圧患者では変化が認められないか、むしろ増加傾向を示した。すなわち、インスリンは血小板内$Ca^{2+}$動態から観察して血管拡張性に作用し、またトロンビン刺激による血小板内$Ca^{2+}$濃度の上昇および血小板凝集反応に対して抑制的に作用するが、インスリン抵抗性を伴った軽症高血圧患者ではこれらの作用が低下していることが示された。

【目的】インスリンは昇圧作用と同時に血管拡張による降圧作用や血小板凝集抑制作用をも有しているが、軽症高血圧患者においてこれらの作用が低下しているか否か検討するため、インスリン感受性とグルコースクランプ前後の血小板内$Ca^{2+}$動態、および血小板凝集能とを比較した。

【方法】非糖尿病男性未治療軽症高血圧患者14名を対象にグルコースクランプ法(GC)を行い、インスリン感受性(glucose disposal rate; GDR)を測定し、同時にFura2を用いた二波長法によりGC前後の血小板内遊離$Ca^{2+}$濃度(PRE$[Ca^{2+}]i$, POST$[Ca^{2+}]i$)、およびトロンビン刺激時の血小板内$Ca^{2+}$濃度(T・PRE$[Ca^{2+}]i$, T・POST$[Ca^{2+}]i$)と血小板凝集能(PRE-AG, POST-AG)を測定した。また、GCの対照としてVehicle Infusion(生理食塩水注入)前後の$[Ca^{2+}]i$、T・$[Ca^{2+}]i$、AGを同様に測定した。

【成績】1) $[Ca^{2+}]i$に及ぼす影響：PRE$[Ca^{2+}]i$とPOST$[Ca^{2+}]i$の間に有意差は認められなかった。また、GDRとPRE$[Ca^{2+}]i$との間には相関を認めなかったが、GDRとPOST$[Ca^{2+}]i$、およびGDRとインスリン注入前後の$[Ca^{2+}]i$の差($\Delta[Ca^{2+}]i$)、すなわちPOST$[Ca^{2+}]i$－PRE$[Ca^{2+}]i$の間に有意な負の相関($r=-0.62$, $p<0.02$, $r=-0.75$, $p<0.01$)を認めた。
2) T-$[Ca^{2+}]i$に及ぼす影響：GDRとT-PRE$[Ca^{2+}]i$との間に有意な正相関($r=0.71$, $P<0.01$)を認めたが、GDRとT-POST$[Ca^{2+}]i$との間には相関を認めなかった。　また、T・PRE$[Ca^{2+}]i$とT・POST$[Ca^{2+}]i$の平均値に有意な差を認めなかったが、GDRとインスリン注入前後のT・$[Ca^{2+}]i$の差($\Delta$T・$[Ca^{2+}]i$)、すなわちT・POST$[Ca^{2+}]i$－T・PRE$[Ca^{2+}]i$との間には有意な負の相関($r=-0.63$, $p<0.02$)を認めた。
3) AGに及ぼす影響：グルコースクランプによりAGは変化しなかった。またGDRとPRE-AGおよびPOST-AGとの間には相関を認めなかった。しかし、GDRとインスリン注入前後のAGの差($\Delta$AG)、すなわちPOST-AG－PRE-AGの間に有意な負の相関($r=-0.67$, $p<0.01$)を認めた。
4) 対照ではいずれも相関を認めなかった。

【考察】インスリンの$[Ca^{2+}]i$に及ぼす影響についての報告は、増加、不変、減少と様々で、一定の見解を得ていない。しかし、今回インスリン感受性という因子を加えて血小板で検討したところ、インスリン注入前後の$[Ca^{2+}]i$の差とインスリン感受性との間に有意な負の相関が認められた。つまり、血小板内$Ca^{2+}$動態から推測すると、インスリン感受性が良好な高血圧患者ではインスリンは$[Ca^{2+}]i$を低下させて血管拡張性に作用し、インスリン抵抗性では$[Ca^{2+}]i$を変化させない、もしくは上昇させ、インスリンはむしろ血管収縮性に作用する可能性が考えられた。この機序を支持する報告としてインスリン抵抗性ではインスリンの$Ca^{2+}$-ATPase促進作用が低下していることがあげられる。

インスリンは血小板凝集抑制作用を有しているが、インスリン感受性と、インスリン注入前後のトロンビン刺激時$[Ca^{2+}]i$の差、および血小板凝集能の差の両者の間に同様な負の相関が認められた。従って、インスリンはトロンビンによる$[Ca^{2+}]i$の上昇を抑制することにより血小板凝集能を低下させ、インスリン抵抗性ではこの$[Ca^{2+}]i$の上昇抑制作用が減弱しているために血小板凝集抑制作用もまた低下しているものと考えられた。

# 51 Gene Targeting によるクラスIII POU転写因子Brn-1, Brn-2の機能解析

癌研究会癌研究所細胞生物部　中井茂康、野城孝夫[1]、阿部圭志[1]
東北大学医学部第二内科[1]　野田哲生、三浦幸雄[2]
東北大学大学院病態生理情報学[2]

【結論】Brn-2は視床下部の大細胞性ニューロンと一部の小細胞性ニューロンのの発生・発達に必須であることが明らかになると同時に、バゾプレッシン(VP)及びオキシトシン(OT)の発現を介した血圧の調節及び体液浸透圧の恒常性の維持に関わっていることが強く示唆された。一方、Brn-1は腎臓の発達と機能の発現に対して極めて重要な制御因子であることが明らかとなった。

【目的】POU転写因子はPOUドメインというDNA結合ドメインを有することを特徴とし、その構造の相同性により6クラスに分類されている。クラスIIIに属するPOU転写因子にはBrn-1, Brn-2, Brn-4, Oct-6があり、神経系の発生において非常に興味深い発現パターンがみられる。特にBrn-2は内分泌系の中枢として主要な視床下部の室傍核、視索上核などに発現しており、コルチコトロピン放出因子(CRF)遺伝子の転写を活性化すると考えられている。また、Brn-1はBrn-2とほぼ同様の発現パターンを示し、そのアミノ酸配列は非常に相同性が高い。哺乳類の中枢神経系の発生におけるクラスIIIPOU転写因子の機能を解明するため、gene targetingによりBrn-1及びBrn-2欠損マウスを作成し、その解析を行った。

【方法】Brn-2遺伝子の機能的ドメインであるPOUドメインをネオマイシン耐性遺伝子により置き換えた置換型のターゲティングベクターを作成し、これを電気穿孔法によりES細胞に導入した。約300個のG418耐性クローンをサザンブロット法にてスクリーニングした結果、5クローンの相同組換え体を得て、そのうち2クローンからBrn-2欠損マウスを樹立した。Brn-1についても、POUドメインを含む5'側をネオマイシン耐性遺伝子により置き換えた置換型のターゲティングベクターを作成しgene targeting を行った。約800個のG418耐性クローンをPCRにてスクリーニングした結果、9クローンの相同組換え体を得て、3クローンからBrn-1欠損マウスを樹立した。

【結果】Brn-2欠損マウスの解析を行った結果、ヘテロ接合体は何ら異常を示さないが、そのホモ接合体は全て生後10日以内に死亡することが判明した。中枢神経系の組織学的解析から、このホモ接合体マウスでは、大細胞性ニューロンであるVPニューロンとOTニューロンが欠失し、その結果、室傍核及び視索上核、下垂体後葉が欠失していることが判明した。また、室傍核にはCRFとサイロトロピン放出ホルモン(TRH)、室周囲領域にはソマトスタチン(SS)などの視床下部ホルモンを産生分泌する小細胞性ニューロンが存在するが、ホモ接合体ではこれらの小細胞性ニューロンも欠失していることが判明した。さらにBrn-2の発現量が半分になっているヘテロ接合体マウスで、大細胞性ニューロンにおけるVP及びOTのmRNAの発現量が野生型の半分に減少していることを確認した。

一方、Brn-1欠損マウスのヘテロ接合体に異常は認められないが、ホモ接合体は全て2日以内に死亡した。中枢神経系の組織学的解析では視床下部の神経内分泌系ニューロンに異常は認められず、腎臓の光顕レベルでの組織学的解析から、ホモ接合体では野生型に比較して発達が悪く、血液・尿検査などから腎不全を示すデータが得られ、ホモ接合体の死因は腎不全であると考えられた。現在、その詳細な検索を行っており、その結果についても報告する。

【考察】gene targetingを用いた解析により、Brn-2が視床下部の大細胞性ニューロンと一部の小細胞性ニューロンの発生・発達に必須であることが明らかとなった。また、ヘテロ接合体マウスでは大細胞性ニューロンにおけるVP及びOTの発現量が、野生型の半分に減少していることを発見した。以上の結果から、Brn-2はこれらの視床下部ニューロンの発生と機能に対する多角的な制御因子であることが明らかとなった。

一方、Brn-1は視床下部ニューロンの発生・発達には必須ではないが、腎臓の発達、機能に対して重要な因子であることが強く示唆された。

現在、Brn-1及びBrn-2の二重欠損マウスの作成を行っており、その解析からこれらの遺伝子の機能的代償性が明らかになると考えられる。

【文献】

Nakai S. et al. Genes & Dev. 9: 3109-3121, 1995

# 52

## ジーンターゲティングおよび新しい神経堤細胞培養系を用いた血管平滑筋細胞の発生分化機構解明の試み

[1]東京大学医学部第三内科
[2]University of Texas, Southwestern Medical Center

栗原由紀子[1]、栗原裕基[1]、Deepak Srivastrava[2]、Eric N. Olson[2]、矢崎義雄[1]

【結論】胎生期の発生過程において、エンドセリン-1（ET-1）はET-A受容体を介して頭部/心臓神経堤細胞から血管平滑筋などの細胞への分化に働くことにより、心血管系の形成に関与している。

【目的】血管トーヌス調節の主役である血管平滑筋細胞の発生分化機構の解明は、血圧調節や高血圧の病態生理の研究においても重要な基盤となる。最近我々はジーンターゲティングによりET-1遺伝子欠損マウスを樹立し、血管平滑筋への分化能を有する幹細胞である神経堤細胞の発生分化にET-1が関与していることを明らかにした。本研究では、このマウスの心血管奇形と遺伝子発現の解析からET-1の発生学的役割を検討するとともに、神経堤細胞 - 血管平滑筋細胞系の分化機構を解明するため、頭部神経堤からの幹細胞単離培養系を確立した。

【方法】1）遺伝子欠損マウス表現型の解析：マウス胚幹細胞のET-1遺伝子に相同組み換えを導入し、ET-1遺伝子欠損マウスを作成した。その完全欠損型であるホモ接合体の胎生期の発達に関し、形態は実体顕微鏡観察により、組織はH-E染色により解析した。

2）whole mount *in situ* hybridization：マウス胚を4% パラホルムアルデヒドで固定後、digoxigeninでラベルしたET-1, ET-A, B受容体, dHAND, eHAND, Msx1, 2のantisense RNAを用いてhybridizationを行い、アルカリフォスファターゼ標識抗digoxigenin抗体で処理後、発色反応を行った。

3）神経堤細胞の単離培養：マウス9～10日胚より頭部神経堤を分離し、コラーゲンゲル上で器官培養を行った。神経堤細胞の遊走を認めた後、これを適当な細胞間基質および培地条件下で単離・継代した。形態変化を観察後、抗平滑筋$\alpha$-actin抗体による免疫細胞染色を行った。

【成績】1）ET-1遺伝子欠損マウスは、頭頚部の鰓弓由来組織・器官の致死的形態異常とともに、大動脈弓管状低形成または遮断・右鎖骨下動脈起始異常・心室中隔欠損・大動脈起始異常を示した。その頻度・程度は母体への抗ET-1モノクローナル抗体やET-A受容体拮抗薬の慢性投与により増加した。心形成初期では、鰓弓動脈の形成異常・アンバランスが認められた。

2）胎生9.5日のwhole mount *in situ* hybridizationでは、ET-1 mRNAの発現は鰓弓の上皮細胞・心流出路の心内膜細胞・大血管の内皮細胞に最も著明に認められた。ET受容体遺伝子の発現は神経堤細胞に一致して認められた。頭部/心臓神経堤細胞においては、ET-B受容体は神経堤およびその近傍に発現しているのに対し、ET-A受容体は神経堤細胞が遊走した遠位部に一致して発現していた。同じ時期のET-1遺伝子欠損マウスでは、神経堤・心臓に強く発現しているbHLH型核転写因子dHAND, eHANDの発現が著明に低下していた。神経堤細胞に発現するホメオボックス遺伝子Msx1, 2の発現は遺伝子欠損マウスおよび野生型で差がなかった。

3）rhombomere 6-8領域に由来する頭部/心臓神経堤細胞は、コラーゲンゲル上で器官培養からの単離が可能であった。継代により、平滑筋$\alpha$-actin陽性の細胞を含むectomesenchyme系の細胞への分化が観察され、幹細胞としての性質を保持していることが示された。

【考察】ET-1欠損マウスの異常の発生部位・ET-1およびET受容体の発現部位から、ET-1が頭部/心臓神経堤細胞の分化発達に重要な因子であることが示された。ET受容体の発現に関しては、神経堤細胞の分化の過程において、ET-B受容体からET-A受容体へのスイッチングが起こっていると考えられた。ET-1は、上皮-間葉相互作用の介在因子としてET-A受容体に働き、HAND遺伝子を含めた細胞系特異的な遺伝子転写系を活性化することにより、頭部/心臓神経堤細胞から血管平滑筋細胞などへの分化・増殖を促進している可能性が考えられた。さらに、今回我々が成功した頭部/心臓神経堤細胞の単離培養は、ET-1 - HAND 経路を含めた血管平滑筋細胞の発生分化機構の解明に極めて有用であると考えられる。

**53**

# サイアザイド感受性Na-Clトランスポーター遺伝子と血圧調節: 家族性Gitelman's 症候群における検討

東北大学第二内科： 竹内和久、加藤太郎、高橋信行、谷山佳弘、角田一男、伊藤貞嘉、尾股　健、今井　潤、阿部圭志
東北大学病態代謝学：呉　繁夫、成澤邦明
岩手県立磐井病院第一内科：村松康成

【目的】サイアザイド感受性Na-Clトランスポーター(TSC)は、腎distal convoluted tubule　(DCT)に存在してNa-Clの吸収に関与しており、サイアザイド利尿剤は、このトランスポーター活性を抑制し利尿作用をもたらすと考えられている。Gitelman's　症候群はBartter's症候群に類似し、正常血圧ないし低血圧を示し、腎尿細管でのNa-Cl喪失とそれにともなう所見(二次性アルドステロン症や低カリウム血症)や、低マグネシウム血症および低カルシウム尿症を呈する疾患であり、従来の成人型のBartter's症候群はこのGitelman's症候群であろうとの考えられている。最近、このGitelman's症候群におけるTSC遺伝子変異の可能性について報告された(*Nature Genet.* 12:24, 1996)がTSC遺伝子と本疾患とのassociation studyは未だなされていない。そこで本研究の目的は、家族性Gitelman's症候群について、このTSC遺伝子の変異と形質の相関について検討するとともに、健常対照患者でこの異常の有無について検討し家族性Gitelman's症候群の病因遺伝子としてTSC遺伝子を決定しうるかを調べ、またこの家族解析により血圧調節におけるこのTSC遺伝子の意義を検討することである。

【方法および結果】家族性Gitelman's症候群の発端者の両親および母系祖父母はいとこ婚であった。発端者およびその母親は、それぞれ血中カリウム値2.6および2.7meq/l、血中マグネシウム値1.9および1.6mg/dl、そして尿中カルシウム排泄量は0.05および0.24mg/kg/day(正常>4mg/kg/day)であったが、これらの異常は、ほかの調べ得た家族にはみられなかった。TSCをコードするエクソンは26あるが、このすべてをPCR法にて増幅し、サイクルシークエンス法にてこのPCR断片を直接シークエンスした。その結果家族性Gitelman's症候群の発端者については、第15エクソン上の第1,868核酸部位がチミジンよりシトシンへ置換されることにより第623アミノ酸がロイシンよりプロリンに置換されるmissense mutation(L623P)が発見された。ほかに有意なアミノ酸置換はなかった。この点変異により新たに*NciI*制限酵素部位が創出され、この*NciI*制限酵素切断の有無により検出されるL623PとGitelman's症候群の電解質異常との相関を検討した。その結果、第15エクソンの*NciI*制限酵素切断にはホモとヘテロ接合体のパターンがあり、ホモ接合体のパターンは発端者およびその母親に見られた（図１）。ヘテロ接合体は、姉妹２人、父親および姪１人に見られたが、これらには電解質異常はなかった。また、このホモとヘテロ接合体いずれにも高血圧は見られなかった。さらに、正常対照患者100人において、このTSC遺伝子第15エクソンの*NciI*制限酵素切断パターンはまったく検出されなかった。

【結論】Gitelman's症候群はTSC遺伝子変異が病因と確定し得た。また、遺伝形式としては優性劣勢遺伝である。第623アミノ酸置換は、これまでに報告のない変異部位であり、これがTSCの活性に重要な役割をしていることが新たに示された。

【考察】Gitelman's症候群はサイアザイド利尿剤を連用している状態と近似しており、遺伝子変異によるTSC活性の低下が正血圧ないし低血圧などの形質発現(症候群)をもたらすものと考えられる。今回の結果は、TSC遺伝子異常がGitelman's症候群の病因であることを確定しうる成績であり、また血圧調節におけるTSC機能の重要性を示す。

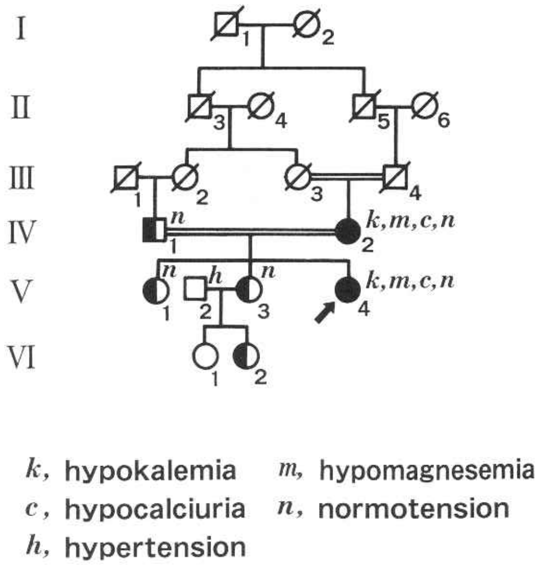



図１）家族性Gitelman's症候群における TSC遺伝子変異と形質の連関

# 54 上皮型Na チャンネルβサブユニットの新しいミスセンス変異による Liddle症候群の一家系

熊本大学医学部第三内科
大分県立病院第一内科*

井上準之助、山口康平*、岩岡大輔、直海晶二郎、徳永寛、Disashi Tumba、兼坂佳江、冨田公夫

【結　論】Liddle 症候群をきたすと考えられる新しい missense 変異が明らかになった。Hansson, Snyder, Tamura らの報告に加えて、この報告により、上皮型 Na チャンネルのC末端近くの conserved motif（PPP-X-Y)が機能調節に重要である事が臨床的にさらに確認された。

【目　的】Liddle 症候群は、高血圧、低K血症、代謝性アルカローシス、低レニン等の電解質コルチコイド過剰状態に似た臨床症状を呈するが、アルドステロン、DOC、コルチコステロンは低値である。スピロノラクトンが無効でトリアムテレンが有効な事より、遠位尿細管上皮の Na チャンネルの亢進に基ずく家族性の食塩感受性高血圧症であると考えられている。その診断は、上記基準に加え、先天性副腎過形成、DOC 産生腫瘍、11 β－OHSD 欠損症、甘草の服用等の除外などが必要で、臨床的な確定診断はかなり難しい。最近、アミロライド感受性 Na チャンネルがクローニングされ、そのβおよびγサブユニットのC末端近くの点突然変異が、premature stop、frameshift、missense 変異をおこし、本症候群を発症させる事が報告された。そこで、臨床的に本症候群と診断された症例で、遺伝子診断を試みた。

【方　法】患者のヘパリン血より buffy coat を取り、QIAamp blood kit で DNA を抽出した。DNA シークエンシングは、βサブユニットC端部に1組、γサブユニットC端部に2組の primer を設定して PCR 法にて増幅した後、マイクロコン-100 にて精製し、AutoCycle Sequencing Kit とファルマシア ALFred sequencer にて、ダイレクトシークエンスを行った。また点突然変異部を 3´末端とする野性型用と変異型用の primer を使用して PCR を行い、アガロースゲル電気泳動でのバンドの有無により変異を検出した(ASA：allele-specific amplification)。

【成　績】発端者は、14 歳時より高血圧を指摘され、22 歳時より降圧療法を受けている。母、母方の祖父、母の同胞4名、母方のいとこ4名に若年性高血圧症を認めた。発端者および母方のいとこ2人が入院精査を受け、血清カリウム、血清アルドステロン、血漿レニン活性が低値で、スピロノラクトンが無効でトリアムテレンが有効であった事より Liddle 症候群と診断された。
発端者では、βサブユニットで6カ所、γサブユニットで1カ所の既報の変異は認めなかったが、βサブユニットの 615 番目のプロリンがセリンに変わる新しい missense 変異（CCC→TCC）を認めた。若年性高血圧症をもつ母方のおじと2人のいとこでも同様の変異を認めたが、50 代発症の高血圧をもつが子供全員が正常血圧の母方のおばには変異を認めなかった。また ASA 法による変異の検出でも、発端者及び母方のおじと2人のいとこに野性型用と変異型用の primer でバンドを認めたが、母方のおばには野性型用の primer のみでバンドを認めた。

【考　察】Liddle 症候群の原因遺伝子を報告した Shimkets や Hansson の論文では、突然変異は premature stop や frameshift などの nonsense mutation で、Na チャンネルの機能亢進に重要な部位は不明であった。Hansson の第2の論文や tamura の論文で、C 末端近くの conserved motif(PPP-X-Y)の missense mutation が機能亢進に重要である事が報告された。さらに snyder は、人為的に点突然変異を導入した遺伝子を用いて、機能亢進の原因が個々のチャンネルの機能亢進ではなく Na チャンネルの数の増加であることを報告し、conserved motif が Na チャンネルの internalization に関与していると推測した。以上より、この家系では、Na チャンネルの機能調節に特に重要である conserved motif の2番目のプロリンがセリンに変わる点突然変異があるために Liddle 症候群が発症したと考えられる。

# 55

## Obese spontaneously hypertensive rats (obese SHR, Koletsky rat) ($fa^k/fa^k$)の脂肪組織における肥満遺伝子(*ob*遺伝子) 発現の亢進

京都大学大学院人間・環境学研究科
国際栄養予防医学講座
同　大学院医学研究科臨床病態
医科学講座・第二内科

平岡潤子、細田公則、池田克巳、奈良安雄、澤村　誠、
小川佳宏、家森幸男、中尾一和

【結論】遺伝性肥満・高血圧モデルであるobese spontaneously hypertensive rats(obese SHR, Koletsky rat)($fa^k/fa^k$)の脂肪組織における肥満(*ob*)遺伝子発現および血中*ob*遺伝子産物(レプチン)濃度は、それらの非肥満の同胞のlean SHR($Fa^k/?$)に比べ顕著に亢進していた。

【目的】肥満は高血圧症の危険因子の1つであるが、肥満における高血圧の発症・進展機序には未解明の部分が多い。遺伝性肥満マウスの病因遺伝子として同定された*ob*遺伝子は、脂肪組織特異的に発現し、その産物レプチンは脂肪組織から血中に分泌され、摂食調節やエネルギー消費増加作用を有することが報告されている。今回我々は、肥満と高血圧におけるレプチンの病態生理的意義を解明する為、遺伝性肥満・高血圧モデルであるobese SHRおよびそれらの非肥満の同胞のlean SHRで解剖学的に異なる部位の脂肪組織における*ob*遺伝子発現、および血中レプチン濃度を検討した。

【方法】対象として同胞の20週齢雄性obese SHRおよびlean SHRを用いた(各n=4)。血圧はtail-cuff 法で測定した。また血中インスリン、糖、総コレステロール、中性脂肪、遊離脂肪酸濃度を測定した。さらに、後腹膜、副精巣周囲、腸間膜、皮下の脂肪組織よりtotal RNAを抽出し、Northern blot法にて*ob*遺伝子発現を検討した。また、ラットのレプチンに対する抗体を調製し、ラットのレプチンに対するradioimmunoassay系を確立し、血中レプチン濃度を測定した。

【成績】20週齢における体重はobese SHRにおいて lean SHR に比べ有意に高値を示した(522±10.9g *vs.* 316±5.9g; $p<0.0001$)。また、血中インスリン濃度(688.4±83.6 μU/ml *vs.* 38.1±6.4 μU/ml; $p<0.05$)、総コレステロール濃度(144.8±8.6mEq/l *vs.* 57.0±1.9 mEq/l; $p<0.0001$)、遊離脂肪酸濃度(0.90±0.07mg/dl *vs.* 0.52±0.04mg/dl; $p<0.0001$)濃度、中性脂肪濃度(368.3±33.9 mg/dl *vs.* 60.7 ± 6.5 mg/dl; $p<0.0001$)は、obese SHRでlean SHRに比較し有意に高値を示し、血糖も高い傾向にあった(168.7 ± 17.6mg/dl *vs.* 132.0 ± 15.4 mg/dl; n.s.)。血圧は obese SHR と lean SHRで有意差はなかった(219 ± 16.1 mmHg *vs.* 216 ±17.3 mmHg)。obese SHRでの脂肪重量の増加の程度は、lean SHRと比較して後腹膜脂肪組織で4.2倍、副精巣周囲脂肪組織で3.2倍、腸間膜脂肪組織で6.4倍、皮下脂肪組織で13.3倍と今回検討したすべての部位の脂肪組織で増加していた。また、*ob*遺伝子発現は、obese SHRでlean SHRに比べ著増しており、さらに各部位の脂肪組織における*ob*遺伝子発現増加の程度は、後腹膜脂肪組織で5.4倍、副精巣周囲脂肪組織で4.4倍、腸間膜脂肪組織で4.8倍、皮下脂肪組織で56.2倍であった。また、obese SHRの血中レプチン濃度は、lean SHRに比較して、約50倍の有意に高値を示した($p<0.0001$)。

【考察】obese SHRの脂肪組織における*ob*遺伝子発現はlean SHRに比べ著増しており、亢進の程度は各脂肪組織の重量の増加の程度と同様な傾向にあり、体脂肪の増加が*ob*遺伝子発現の亢進に関与していることが示唆された。また、血中レプチン濃度は、obese SHRでlean SHRに比較して、約50倍の高値を示したが、この程度は皮下脂肪組織における*ob*遺伝子発現の増加の程度とよく一致しており、obese SHRにおいては、主に皮下脂肪組織からのレプチン分泌が、血中濃度の上昇に関与していると考えられた。

# 56　脳組織への遺伝子導入による中枢性血圧制御機構の解明

大阪大学 第４内科、　山田和生、守口　篤、森下竜一、青木元邦、
（＊）　細胞生体工学センター　三上　洋、浦田秀則（＊＊）、金田安史（＊）
（＊＊）福岡大学 第２内科　檜垣實男、荻原俊男

【結 論】１.ラット脳内に導入されたヒトアンジオテンシン変換酵素（ＡＣＥ）遺伝子やヒトキマーゼ遺伝子はアンジオテンシンⅡ産生系として機能発現し、脳内特異的なレニンーアンジオテンシン（Ｒ―Ａ）系の亢進が血圧上昇に関与していると考えられた。２.遺伝的高血圧モデルである自然発症高血圧ラット（ＳＨＲ）では中枢性のＲ―Ａ系がその血圧維持に関連しており、今回の実験では、ＡＣＥよりもアンジオテンシノージェンの抑制のほうが血圧に与える影響が大きく、ラット脳内におけるＡＣＥを介しないアンジオテンシンⅡ産生系の存在も示唆された。

【目 的】近年、生体内各種臓器への遺伝子導入、あるいは遺伝子治療の基礎的検討が盛んに行われるようになってきた。我々は、安全で効率の良い遺伝子導入法であるＨＶＪ―リポゾーム法を利用し、中枢神経系においても$\beta$-ガラクトシダーゼ遺伝子やオリゴヌクレオチド（ＯＤＮ）の高効率かつ安定した導入が可能であることを報告してきた。今回、我々はラット脳内へのＲ―Ａ系関連の遺伝子やアンチセンスＯＤＮの導入を試み、脳内Ｒ―Ａ系が循環調節にいかに寄与するかを検討した。

【方 法】ＨＶＪ―リポソーム法を用いて、正常血圧（ＳＤ）ラット脳室内へヒトＡＣＥ遺伝子あるいはヒトキマーゼ遺伝子の導入を行い、血圧、脈拍の変化及び脳組織、循環血液中のＡＣＥ活性、アンジオテンシンⅡ濃度の測定を行った。さらに、ＳＨＲを用いて中枢神経系へＡＣＥのアンチセンスＯＤＮ、あるいはアンジオテンシノージェン遺伝子の上流域に位置する転写結合配列ＡＧＥ２及びＡＧＥ３に対するおとり型核酸（デコイＯＤＮ）を導入し、脳内Ｒ―Ａ系を抑制したときの血圧に与える影響を検討した。

【結 果】１.ヒトＡＣＥ遺伝子のＳＤラット脳室内への投与では、対照群（ＡＣＥ遺伝子を有しないプラスミド導入群）に比し、導入翌日より血圧、脈拍の上昇を認め、１０日目においても血圧は有意に上昇していた。さらに、脳組織中でのＡＣＥ活性およびアンジオテンシンⅡ濃度の上昇も認められたが、循環血液中では変化していなかった。また、末梢静脈内投与では、血圧、脈拍に変化を与えない低容量のＡＣＥ阻害薬を脳室内投与するとＡＣＥ遺伝子導入ラットでは、血圧が正常化することも確認された。このヒトＡＣＥ遺伝子導入ラットでは脳内バゾプレッシン、血中バゾプレッシン濃度がいずれも有意に増加していた。２.ヒトキマーゼ遺伝子のＳＤラット脳室内への投与でも、対照群に比し、導入翌日より血圧の上昇を認め、１４日目においても血圧は有意に上昇していた。脳内アンジオテンシンⅡ濃度の上昇が認められ、ＡＣＥ阻害薬の脳室内投与では、血圧の変化はみられなかったが、アンジオテンシンⅡ受容体拮抗薬の脳室内投与では血圧が正常化した。３.　ＡＣＥ遺伝子に対するアンチセンスＯＤＮのＳＨＲ脳室内への導入では導入３日目において、一過性の血圧の低下を認めた。一方、アンジオテンシノージェンに対するおとり型核酸医薬（デコイＯＤＮ）の導入では脳内アンジオテンシノージェンやアンジオテンシンⅡ濃度の低下とともに、導入翌日より血圧の低下を認め７日目においても血圧は有意に低下していた。

# 57

## 雌ダール食塩感受性ラットにおける、卵巣摘出およびエストロゲン補充の、血圧および血小板凝集能に及ぼす影響

慶應義塾大学内科
*埼玉大学医学部第二内科

佐々木隆幸、大野洋一、大塚恵一、須沢大知、加藤喜之、*鈴木洋通、猿田享男

【結論】
雌ダール食塩感受性（ＤＳ）ラットでは食塩負荷のみならず卵巣摘出により、血圧上昇とともに血小板凝集能亢進をきたし、エストロゲン補充により改善することが示された。血小板凝集能亢進にＮＯの関与が示唆された。

【目的】
更年期以降、女性の高血圧、高脂血症の罹患率は急激に増加し心血管系合併症を引き起こすことが知られている。我々は以前雌のダール食塩感受性ラットにおいて、卵巣摘出が腎臓におけるＮａ圧利尿反応の抑制を介して高血圧の発症に寄与することを示した。今回このラットに卵巣摘出および卵巣摘出後にエストロゲン補充を行い、血圧、血小板凝集能および脂質代謝に及ぼす影響とその機序について検討した。

【方法】
生後より低食塩食(０.３％)で飼育した雌のＤＳラットを１２週令でSham手術、卵巣摘出(OVX)を行い、卵巣摘出した群の半数に１７β-estradiolの錠剤を腹部皮下に埋め込んだ(OVX+E)。それぞれ低塩食群と高塩食群(８％)に分けた(各群ｎ=４－５)。８週後に血圧、血清脂質、臓器重量、およびゲル濾過法により採取した血小板でコラーゲンによる血小板凝集能を測定した。この際、一酸化窒素合成酵素阻害薬であるＬ－ＮＡＭＥ添加による血小板凝集能の変化も測定した。収縮期血圧はTail Cuff法を用いて経時的に測定した。(TC-HDL)／HDLを動脈硬化指数として算出した。

【成績】
血圧・血小板凝集能は高食塩食群で低食塩食群よりも上昇し、低・高塩食群ともに、卵巣摘出により血圧および血小板凝集能は増悪し、エストロゲン補充により改善した。全体では血小板凝集能は血圧と相関した(r=0.536、P<0.01)。L-NAME添加による血小板凝集の変化率は、低食塩食の卵巣摘出群において、Sham手術、エストロゲン補充群よりも低下していた。エストロゲン補充群を除く各群では、血圧は心重量(Ht)／体重と正の相関を示し、(r=0.47、P<0.001)、子宮重量(Ut)／体重(r=-0.42、P<0.01)・血中１７β-estradiol濃度とは負の相関を示した(r=-0.58、P<0.001)。また、子宮重量／体重は総コレステロールと負の相関を示し(r=-0.55、P<0.001)、動脈硬化指数(A.I.)とも負の相関を示した(r=-0.41、P<0.001)。総コレステロールは食塩負荷のみでは無変化だったが、これに卵巣摘出が加わると有意に増加した。

【考察】
エストロゲンは雌のダール食塩感受性ラットにおいて、血圧以外にも、血小板凝集能、脂質代謝など広範囲にわたる制御因子の一つであると考えられた。血小板凝集能の変化は、ゲル濾過後の血小板において観察されたことから、エストロゲンの直接作用以外の機序と考えられ、そのひとつとして今回はＮＯ合成酵素系を通しての関与が示唆された。血小板凝集能に関しては、脂質の影響も大きいとされるが、今回は相関はみられなかった。雄ダールラットでの高食塩食での高脂血症が報告されているが、雌は食塩負荷のみでは変化を認めず、女性ホルモンが保護的に作用している可能性が示唆された。大動脈内皮細胞でのエストロゲンによるＮＯの誘導も報告されており、卵巣摘出による高血圧の発症の機序にもＮＯは関与しているものと考えられた。さらにエストロゲン補充療法は高血圧・血小板凝集能の改善に有用であったが、総コレステロール、心重量はむしろ増加させたことから、ホルモン補充量を含めた更なる検討が必要と考えられた。

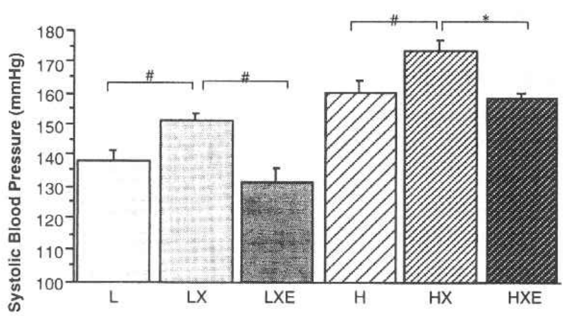



Fig　Bar graph shows effects of ovariectomy and salt loading on systolic blood pressure in DS rats.
L indicates low sodium diet, H ; high sodium diet, X ;ovariectomy. E ; estrogen supplementation.
Values are mean ± SEM. # p<0.01 ** p<0.05

# 58 食塩感受性高血圧における腎性11ß-hydroxysteroid dehydrogenaseの関与

金沢大学医学部第二内科　武田仁勇、宮森勇、稲葉聡、古川健治、米田隆、畠山治彦、森瀬敏夫、馬渕宏

【結論】腎性11ß-HSDはDSラットにおける高食塩による血圧上昇に一部関与している可能性が示唆された。

【目的】腎性11ß-hydroxysteroid dehydrogenase (11ß-HSD)の遺伝子異常により遺伝性の高血圧疾患であるapparent mineralocorticoid excess syndromeが生ずることが報告されている。我々は、内因性腎性11ß-HSD阻害物質(11ß-HSDIF)が低レニン性本態性高血圧症患者において高値を示すことを報告してきた[1]。今回食塩感受性高血圧モデルであるDahlラットを用いて食塩と腎性11ß-HSDの関係について検討した。

【方法】4週齢のDahl Iwai食塩感受性ラット(DS)及び非感受性ラット(DR)を用いて高食塩食4週間投与し腎における腎性11ß-HSD (11ß-HSDII)活性を検討した。11ß-HSDII活性は既報のごとく、ラット腎microsome分画を用いて$NAD^+$を補酵素として[$^3$H]-corticosterone(B)から[$^3$H]-11dehydrocorticostrerone(A)への変換率により測定した。[$^3$H]-Bと[$^3$H]-Aの分離はメタノールを用いる逆相HPLCにより行った。腎における11ß-HSDIImRNAの発現の定量化は、腎臓から既報のごとくRNAを抽出し、11ß-HSDIIcDNAに特異的なprimerを用いてcompetitivePCR法により行った。尿中腎性11ß-HSDIFの測定は、既報のごとく尿をSep-pakC18を用いて抽出し、HPLCで分離後Sprague-Dawleyラットの腎microsome分画、$NAD^+$を用いて[$^3$H]-Bから[$^3$H]-Aへの変換の阻害率により検討した。標準物質としてglycyrrhetinic acidを用いた。

【結果】DSラットにおいて高食塩食により血圧は有意に増加した(108±3 mmHg → 228 ± 17 mmHg)が、血漿B (51 ± 9 nmol/L)はDRラット(50 ± 6 nmol/L)と差を認めず、血漿アルドステロンは4週齢のDS (0.38 ± 0.04 nmol/L), 8週齢のDR (0.39 ± 0.03 nmol/L)に比して低値傾向であった(0.26±0.02 nmol/L)。4週齢のDS及びDRラットでは腎における11ß-HSDII活性、11ß-HSDIImRNAの発現に有意差を認めず、尿中腎性11ß-HSDIF排泄も差を認めなかった。8週齢のDSラットでは腎における11ß-HSDII活性はDRラットに比して平均35%低下していた。11ß-HSDIImRNAの発現も同様に8週齢のDSラットにおいて低下していた。尿中腎性11ß-HSDIF排泄は、8週齢のDSラットにおいて同週齢のDRラットに比して高値を示した。

【考察】我々は一部の本態性高血圧症患者や高血圧ラットにおいて11ß-HSD活性が低下していることを報告してきた。また11ß-HSD活性を阻害するグリチルレチン製剤を投与することによりNaの貯留及び高血圧が生ずることが報告されている。今回高食塩によりDSラットにおいて腎における11ß-HSDII活性及びmRNAレベルが低下した。腎における11ß-HSDII活性を調節する内因性の因子は現在のところ不明であるが、DSラットにおいて高食塩により尿中腎性11ß-HSDIF排泄が増加したことから11ß-HSDII活性の低下は内因性の阻害物質が影響していることも示唆される。高食塩による高血圧発症の機序に腎における11ß-HSDIIの関与が示唆されるが、内因性の阻害物質に関するさらなる検討が必要と考えられる。

1) Y. Takeda et al. Hypertension 1996;27:197.

# 59 エンドセリン-1はc-Myc依存性アポトーシスを抑制する

東京医科歯科大学第二内科

七里眞義、加藤博樹、岩崎裕明、横倉正明、岩科将虎、今井泰平、辻野元祥、平田結喜緒、丸茂文昭

**[結論]** (1) 線維芽細胞株における血清除去後のアポトーシスは、c-Myc過剰発現細胞におけるそれと同様にc-Myc依存性である。(2) エンドセリン-1(ET-1)は線維芽細胞の$ET_A$受容体を介してc-Myc依存性アポトーシスを強力に抑制する。(3) ET-1のアポトーシス抑制作用は細胞増殖作用をはるかに凌駕した生理量で発現される。

以上から、ET-1が高血圧や動脈硬化による血管障害の発症・進展にオートクリン・パラクリンとして抗アポトーシス作用に関与している可能性を示す。

**[目的]** 初期応答遺伝子の*c-myc*は増殖因子や血管収縮因子の刺激に対して発現し、細胞増殖、分化に関与するため、高血圧・動脈硬化などの血管障害の発症・進展への重要な役割が推察される。さらに、c-Myc過剰発現細胞では血清除去によりアポトーシスを惹起することが知られている。我々はpromoterless neo法を用いた新たなジーン・ターゲティング法により、*c-myc*ヘテロノックアウト細胞株を樹立し、更に外来*c-myc*遺伝子をconditionalに過剰発現する細胞株（ψM 5）の樹立に成功した。本細胞株は、親細胞、ヘテロ細胞とともに、生理的c-Myc発現量でのc-Myc依存性アポトーシスを観察できる細胞系を構成する。本パネル細胞系を用いて低用量のET-1がアポトーシスを強力に抑制することを見いだしたので報告する。

**[方法]** *c-myc*, *c-raf*などのoncogenesについてdiploidであるラット線維芽細胞株(TGR-1)を用いてジーン・ターゲティングにて樹立した*c-myc*ヘテロ細胞(HET15,HET16)に、retrovirus vectorを用いてc-Myc-estrogen receptorキメラ遺伝子を感染させ、キメラ蛋白を恒常的に発現するψM5細胞株を樹立した。同細胞は、β-estradiol添加によりc-Myc-estrogen receptorキメラ蛋白が機能的に活性化される結果、c-Myc蛋白が過剰発現する。ヘテロ細胞(HET15,HET16)、親細胞(TGR-1)、ψM 5細胞を用いてアポトーシスの頻度、およびアポトーシスに及ぼすET-1の効果を検討した。アポトーシスは、1）3'-end labelingによるnucleosomal ladder、2）抗single stranded(ss)DNA抗体を用いた免疫組織化学、3）Coulter Counterによる死細胞数の計測、により定量的に評価した。

**[成績]** 1）血清除去後の各細胞から抽出したDNAは3'-end labelingでnucleosomal ladderを示した(ψM 5 >>TGR-1>>HET15=HET16)。すなわち、c-Myc発現量に平行してアポトーシスが誘発されることより、アポトーシスはc-Myc依存性であることが確認された。2）形態学的検討では、血清除去によりクロマチンの濃縮、核の断片化などアポトーシスに特徴的な所見が著明に出現し、それらに一致してssDNA抗体染色は陽性を示した。3）低用量のET-1($10^{-13}$-$10^{-9}$M)はTGR-1,ψM5両細胞のアポトーシスを用量依存性に抑制した。高用量($2 \times 10^{-9}$M以上)のET-1はTGR-1の[$^3$H]-thymidine取り込みを用量依存性に亢進したが、低用量ではDNA合成を促進しなかった。4）ET-1によるアポトーシス抑制作用は、$ET_A$受容体拮抗薬(BQ123)により解除されたが、$ET_B$受容体拮抗薬(BQ788)は影響しなかった。5）[$^{125}$I]-ET-1による結合実験、およびNorthern解析より、各細胞には$ET_A$受容体の発現が確認されたが、$ET_B$受容体の発現は認められなかった。

**[考案]** 高血圧や動脈硬化といった病態では血管局所のET-1の産生は亢進するが、内因性ET-1の血管リモデリングへの関与が示唆されている。今回、従来知られている細胞増殖促進作用よりはるかに生理的な低濃度のET-1が強力なアポトーシス抑制作用を有することを示した。これは、c-Myc過剰発現細胞のみならず、正常親細胞株においても同様であった。したがって血管リモデリングにおいてET-1が細胞増殖因子としてのみならず、アポトーシスの制御に関与している可能性が示された。

60

# エンドセリン-1遺伝子過剰発現マウスの樹立と解析

東京大学第三内科[1]
同第二生理[2]
同第二病理[3]
中外製薬[4]

前村浩二[1]、栗原裕基[1]、上田乙也[4]、小田秀明[3]、桑木共之[2]、森田啓行[1]、栗原由紀子[1]、南野徹[1]、新藤隆行[1]、児玉龍彦[1]、鈴木宏志[4]、熊田衛[2]、石川隆俊[3]、矢崎義雄[1]

【結論】ET-1遺伝子過剰発現マウスは、正常のマウスと比較し脳、腎臓、大動脈、血液で約2倍、心臓で約4倍のエンドセリン-1（ET-1）濃度を認めた。血圧、心拍数の変化はなく、他の循環調節物質により代償されているものと考えられた。またET-1の正常な発現調節が、正常な個体の発育にとって重要であることが示唆された。今後このマウスと、以前我々の樹立したET-1遺伝子欠損マウスの、両者の表現型の解析により、ET-1の動脈硬化、心肥大などへの関与をET-1の過剰発現、発現減少の両面から解析できることが期待される。

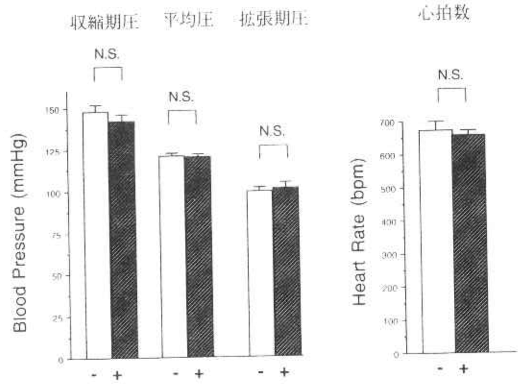
【目的】ET-1は主に血管内皮細胞で産生され、強力な血管収縮作用、細胞増殖作用をもち、高血圧、心肥大、動脈硬化などの病態への関与が示唆されてきた。一方、最近我々はET-1遺伝子欠損マウスを樹立し、その解析によりET-1の産生が野生型の約半分に減少しているヘテロ接合体において、血圧が上昇していることを示し、ET-1が生体では単に昇圧物質としてのみ働いているのではないことを示唆した。今回、さらにET-1の生理的意義について、遺伝子の過剰発現の面から追求する目的で、ET-1遺伝子過剰発現マウスを樹立し,その表現型を解析した。

【方法】マウスET-1遺伝子をクローニングし、そのプロモーター領域9.2kbの下流に、全open reading frameを含むマウスET-1 cDNA1.0kbを結合したtransgenic constructを作成した。このconstructをマウス受精卵にマイクロインジェクション法にて導入し、RT-PCR法、ノーザンブロット解析、ELISA法にてtransgeneの発現を確認した。8～12週令のET-1遺伝子過剰発現マウスヘテロ接合体と、そのlittermateマウスの大腿動脈にカテーテルを挿入し、翌日、無麻酔無拘束下に血圧を測定した。

【成績】作成したtransgenic constructを、FvBマウスの受精卵にインジェクションし、トランスジェニックマウスを作成した。RT-PCR法、ノーザンブロット解析にて、3系統でtransgeneの発現が確認された。そのうち、最も発現の多い系統ET-1 Tgm53では、脳、腎臓、大動脈、血液で約2倍、心臓で約4倍のET-1濃度を認めた。免疫組織染色では内皮細胞の他、心筋細胞で強い発現がみられた。これらのマウスは外見上、発育がやや不良で、正常のマウスの約9割の体重であり、毛が希薄であった。組織学的には、皮膚で毛根の数が減少していた以外、少なくとも8週齢では明かな異常は認めなかった。血圧、心拍数は、トランスジェニックマウスで平均血圧120±2mmHg、心拍数660±13/分、controlマウスで平均血圧121±1mmHg、心拍数674±26/分と有意差はなかった（図1）。

【考察】ET-1遺伝子過剰発現マウスは、正常のマウスと比較し、各組織で約2～4倍のET-1濃度を認めた。しかし、血圧、心拍数の変化はなく、この程度のET-1濃度の上昇は、生体における循環系のホメオスタシスの範囲内にあり、他の循環調節系により代償されているものと考えられた。またヒトの様々な疾患で、血中ET-1濃度の2倍程度の上昇がみられるが、この範囲の変動では、少なくともマウスでは高血圧の原因にならないことを示唆している。さらに、ET-1遺伝子過剰発現マウスでは体重の増加が不良であった。この原因については現在検討中であるが、少なくとも正常なET-1の発現調節が、正常な生体の発育にとって重要であることが示唆された。

図1




－：野生型マウス、＋：ET-1 過剰発現マウス、N.S.：有意差なし

# 61 動脈硬化血管におけるエンドセリン・サブタイプB($ET_B$)受容体刺激による一酸化窒素(NO)遊離能の検討

東京大学第二内科

鹿子木将夫、平田恭信、早川宏、藤乗嗣泰、鈴木越、長田太助、名越洋、石山明寛、上原誉志夫、新啓一郎、木村健二郎、後藤淳郎、小俣政男

【結論】

①健常ラットの腎血管では低濃度の$ET_B$受容体刺激は血管拡張性に、高濃度では血管収縮性に作用したが、NO遊離は用量依存性に増加させた。

②Dahl食塩感受性高血圧ラット、高脂血症ラットおよび糖尿病ラット腎では$ET_B$作働薬によるNO遊離が減少し、血管拡張作用をほとんど示さなかった。

③動脈硬化症では血管内皮上の$ET_B$受容体の減少あるいは/および血管平滑筋上の$ET_B$受容体の増加を伴い、本症における血管機能の異常に関与している可能性がある。

【目的】

エンドセリンは血管内皮上の$ET_B$受容体に作用してNOを遊離させ、時に血管拡張能を示す。一方、$ET_B$受容体が血管平滑筋細胞に存在する場合は、その刺激は血管を収縮させる。本研究では動脈硬化血管において$ET_B$受容体刺激がどのように修飾されるかを単離灌流腎を用いて血管抵抗とNO遊離速度を測定することによって検討した。

【方法】

対象は8週間の8%食塩負荷後のDahl食塩感受性(S)ラット、8週間の2%高コレステロール食下の高脂血症ラット、45mg/kgのストレプトゾトシン静脈内投与4週後の糖尿病ラット(WKYおよびSHR)ならびにそれらの対照ラットである。これらの右腎を単離灌流し、アセチルコリン(ACh)および$ET_B$刺激薬であるBQ-3020による腎動脈灌流圧と静脈還流液中のNO濃度(化学発光法)を同時に測定した。またこれらと同様の条件下のラットの腎臓を固定後、内皮型および神経型NO合成酵素をそれぞれの特異的抗血清を用いて組織化学的に検討した。

【結果】

Dahl Sラットは著明な高血圧と共に血漿エンドセリン-1濃度の増加を認めた(R 2.5±0.3 vs. S 4.0±0.2 pg/ml, $P<0.05$)。$10^{-10}$M以下のBQ-3020によりRラット腎では有意に腎灌流圧が低下したのに対し、Sラット腎では灌流圧が上昇した($10^{-10}$M: R −3.6±1.7% vs. S +9.8±1.4%, $P<0.001$)。$10^{-9}$M以上のBQ-3020はRラットでも灌流圧を上昇させたが、その増加はSラットに比し軽度であった($10^{-9}$M: R +7.1±5.2% vs. S +36.1±10.0%, $P<0.05$)。BQ-3020投与によってNO遊離は用量依存性に増加したが、その程度はSラットで減弱していた($10^{-10}$M: R +11.2±1.3 vs. S +6.3±1.5 fmol/min/g腎, $P<0.05$)。Dahl SラットではRラットに比し内皮型および神経型NOS共に染色強度は減弱していた(内皮型: R 1.8±0.1 vs. S 1.2±0.1, $P<0.01$)。BQ-3020による同様の現象は高脂血症ラット($10^{-10}$M BQ-3020: 灌流圧 対照 −2±0.5% vs. 高脂血症 +4±1%, NO遊離 対照 +13±2 vs. 高脂血症 +6±1 fmol/min/g腎, 共に$P<0.05$)および糖尿病ラット($10^{-10}$M BQ-3020: 灌流圧 対照 −10±4% vs. 糖尿病 +9±7%, NO遊離 対照 +12±2 vs. 糖尿病 +5±1 fmol/min/g腎, 共に$P<0.05$)でも観察された。SHRでこれらを作成するとBQ-3020に対する反応性の変化はさらに顕著であったが、組織化学的検討では腎内の内皮型および神経型NO合成酵素の発現に明らかな減少は無かった。BQ-3020による腎灌流圧の上昇/下降およびNO遊離の増加は$ET_A$受容体拮抗薬であるBQ-123の前処置では影響を受けずに、$ET_B$拮抗薬であるBQ-788でいずれも減弱した($10^{-8}$M BQ-3020 vs. $10^{-8}$M BQ-788 + $10^{-8}$M BQ-3020: 灌流圧 +66±12% vs. +1±2%, NO遊離 +15±2 vs. +2±1 fmol/min/g腎, 共に$P<0.01$)。またAChによる腎血管拡張反応ならびにNO遊離反応はDahl Sラット、高脂血症ラットおよび糖尿病ラットのいずれでもそれらの対照に比して減弱していた。

【考察】

ラット腎臓の正常血管においては低濃度のBQ-3020は血管拡張性に、高濃度では血管収縮性に作用するが、動脈硬化血管ではBQ-3020のいずれの濃度でも血管拡張作用を示さなかった。動脈硬化血管ではその病変の進行の過程で$ET_B$受容体に形質変換が生じ、内皮細胞に存在する$ET_B$受容体に比し、平滑筋細胞に存在する$ET_B$受容体の割合が増加する可能性がある。それに伴うNOの減少はその病態形成に一部関与すると考えられる。

62

# アンジオテンシンⅡ食塩負荷ラットの高血圧発症におけるインスリン抵抗性の役割

東京大学医学部第四内科　田口　圓、藤田敏郎

【結論】アンジオテンシンⅡ食塩負荷による高血圧の発症にインスリン抵抗性が関与している可能性がある。ＣＳ－０４５はアンジオテンシンⅡ食塩負荷によるインスリン抵抗性の増大を改善し、血圧上昇を抑制した。

【目的】高血圧患者にはしばしばインスリン抵抗性が認められる。高血圧発症に及ぼすインスリン抵抗性の役割を明らかにするため、高血圧モデル動物であるアンジオテンシンⅡ食塩負荷ラットを用いて、１）高血圧発症に伴ってインスリン抵抗性が認められるか、２）インスリン抵抗性を軽減することで血圧が変化するかを検討した。

【方法】雄性Sprague-Dawleyラット（７週令）を正食塩食または、8%食塩含有食で１２日間飼育し実験に供した。アンジオテンシンⅡは腹腔内に埋め込んだポンプにより持続的に投与（125ng/分）した。（アンジオテンシンⅡー正食塩群（Ａ－１群）アンジオテンシンⅡー高食塩群（Ａ－２群））一部のラットには同時にインスリン抵抗性を軽減し血糖を低下させるＣＳ－０４５を経口投与した（200mg/kg.day、B群）。血圧はコントロール群（コ群）、Ａ－１群、Ａ－２群、B群において頚動脈内にカテーテルを留置し直接測定した。インスリン抵抗性の指標として経口ブドウ糖負荷試験を行い（３ｇ／ｋｇ）、前、３０分、６０分、９０分、１２０分に尾静脈より採血し、血中ブドウ糖とインスリンを測定した。また、副睾丸脂肪織より単離、調製した脂肪細胞を用いてインスリンによるブドウ糖の取り込み促進作用を3-O-D-グルコースを用いて検討した。

【成績】アンジオテンシンⅡのみの負荷では血圧、耐糖能に有意な変化は認められなかった。アンジオテンシンⅡ食塩負荷により血圧は有意に上昇し、ＣＳ－０４５により低下した（コ群 112+3 mmHg、A-2群　146+8、B群　134+6　以下同順）。アンジオテンシンⅡ食塩負荷によりブドウ糖負荷後の血糖は有意に上昇し、ＣＳ－０４５により低下した（負荷120分後の血糖 コ群 96.2+11mg/dl A-2群 115.3+9.8、B群 101.4+8.1）。インスリン濃度はいずれの群においても有意な差は認められなかった。脂肪細胞のブドウ糖取り込みは、100μU/mlのインスリン濃度下でアンジオテンシンⅡ食塩負荷により低下し、ＣＳ－０４５により回復した（コ群 220+13% A-2群 213+17 B群 204+20）。500μU/mlのインスリン濃度においては３群間に有意な差を認めなかった。

【考察】アンジオテンシンⅡはインスリンの細胞内情報伝達機構の中で、ＩＲＳ－１のリン酸化を促進する一方、糖輸送体活性化に関わるＰＩ３ーキナーゼの活性化を抑制することが知られている。今回アンジオテンシンⅡ単独投与ではインスリン感受性に変化が認められなかったのはアンジオテンシンⅡのインスリン作用機構への相反する効果のためかもしれない。アンジオテンシンⅡ食塩負荷により、ブドウ糖負荷後のインスリン濃度には影響が無かったが血糖上昇が見られた。これは、抹消組織でのインスリン抵抗性が増大したことを示唆する。実際、脂肪細胞の生理的インスリン濃度下でのブドウ糖取り込みはアンジオテンシンⅡ食塩負荷により低ていた。ＣＳ－０４５の作用機序については明らかでない点もあるが、インスリンの情報伝達経路のどこかに作用しインスリン抵抗性を改善すると考えられている。ＣＳ－０４５の投与によりアンジオテンシンⅡ食塩負荷ラットのインスリン抵抗性は改善し、血圧上昇は抑制された。これは、高血圧の発症にインスリン抵抗性が関与している可能性があることを示している。

63

# インスリン抵抗性を示す糖尿病・高血圧ラットにおけるインスリン感受性改善薬の降圧、腎・血管保護作用

東京女子医科大学　第二内科

成瀬光栄、吉本貴宣、成瀬清子、田辺晶代、関　敏郎、田中正己、三品直子、安達千香子、新井桂子、今城俊浩、出村黎子、出村　博

【結論】インスリン抵抗性／高インスリン血症を伴う糖尿病と高血圧を合併する病態において、インスリン感受性の改善は糖代謝の改善のみならず降圧効果と腎、血管保護作用を呈した事から、その臨床的有用性が示唆された。

【目的】インスリン抵抗性／高インスリン血症と高血圧の成因との関連が注目されている。今回、肥満、インスリン抵抗性／高インスリン血症、糖尿病に加え高血圧を合併するWistar fatty (WF) ラットにおいて、thiazolidine系インスリン感受性改善薬pioglitazoneの投与が血圧および腎、血管病変に及ぼす影響を検討した。

【方法】雄性WFラットにおいて糖尿病発症前の５週齢から１８週齢までpioglitazone (3mg/kg/日) を連日経口投与 (WF-P群) し、収縮期血圧、各種血中代謝パラメーター（血糖、中性脂肪、インスリン）、２４時間尿蛋白排泄量、尿中Na排泄量、尿中カテコールアミン排泄量をvehicleを投与したWFラット (WF-V群) および対照であるWistar lean ラット (WL-V群) と比較した。また、光顕腎組織標本において、腎の組織学的変化即ちメサンギウム肥厚、糸球体硝子化、結節性病変および細動脈硬化の程度をRaijiら (Kidney Int.、1984) の方法を改変してスコア化 (injury score) し半定量的に比較すると共に、大動脈中膜壁厚も比較した。

【成績】１８週齢のWF-V群では著明な高血糖、高インスリン血症、高脂血症に加え、有意な高血圧（WF-V群：154±3、n=11; WL-V群：140±2 mmHg、n=8; P‹0.01）、尿蛋白の増加（WF-V群：71.0±6.2；WL-V群：6.2±2.0mg/日、P‹0.01）、メサンギウムの肥厚（WF-V群：118±9；WL-V群：6±1、P‹0.01）、糸球体硝子化（WF-V群：4±1；WL-V群：0、P‹0.01）、糸球体結節性病変（WF-V群：9±3；WL-V群：0、P‹0.01）および腎細動脈硬化（WF-V群：20±4；WL-V群：0、P‹0.01）を認めた。

WF-P群ではWF-V群に比し各代謝パラメーターの著明な改善（P‹0.01）に加えて、高血圧の改善（141±2mmHg、P‹0.01）、尿蛋白の減少（26.0±0.7mg/日、P‹0.01）を認めた。更に、腎組織所見のinjury scoreはWF-V群に比しメサンギウムの肥厚（32±14、P‹0.01）、細動脈硬化（7±1、P‹0.05）の有意な改善を認めると共に大動脈中膜壁厚の有意な減少（WF-P群：83±2μm；WF-V群：108±2μm、P‹0.05）を認めた。一方、24時間尿中Na、カテコールアミン排泄量はWF-P群とWF-V群間に有意差を認めなかった。

【考察】インスリン感受性改善薬pioglitazoneがWistar fattyラットにおいて、糖、脂質代謝を著明に改善する共に合併する高血圧を正常化させた事から、インスリン抵抗性／高インスリン血症と高血圧との関連が支持された。その降圧作用はインスリン抵抗性／高インスリン血症の改善と密接に関連する事が示唆されたが、尿中Na代謝、尿中カテコールアミンは有意な変化を示さず、これら以外の機序を介すると考えられる。

更にpioglitazone投与は尿蛋白の減少に加え、腎糸球体病変、腎細動脈硬化を有意に改善する事が明かにされた。その機序の詳細は不明であるが、糖、脂質代謝、インスリン抵抗性／高インスリン血症、高血圧の改善の総合的な結果であると考えられる。これらの結果から、インスリン感受性改善薬はインスリン抵抗性／高インスリン血症を伴う糖尿病と高血圧を合併する病態において、糖代謝、高血圧の改善のみならず臓器保護作用を示し、臨床的に有用であると考えられた。

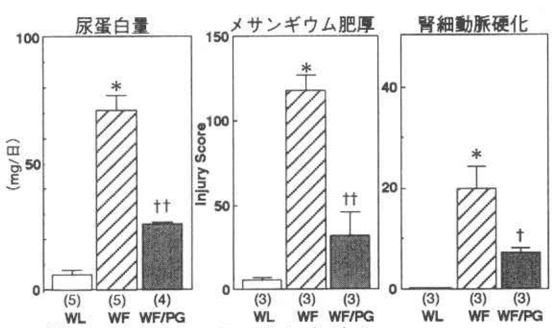



図　Wistar fattyラットにおけるpioglitazone (PG) の腎・血管保護作用
*P‹0.01 vs. WL；†P‹0.05、††P‹0.01 vs. WF

# 64 インスリン抵抗性ラットにおけるベザフィブラートの降圧効果

名古屋大学医学部第二内科　松井英夫、奥村健二、土岐幸生、伊藤隆之

【結論】
高フルクトース食によるインスリン抵抗性ラットにおいて、ベザフィブラートは骨格筋内トリグリセライド（TG）分画の脂肪酸組成を回復させることによってインスリン抵抗性を改善し、降圧作用を示すことが示唆された。

【目的】
インスリン抵抗性は高血圧、糖尿病、肥満、脂質代謝異常と密接に関連している。またインスリン抵抗性は食事中の脂質の影響を強く受けるとともに、骨格筋膜脂質の脂肪酸組成と関連することが報告されている。本研究では高フルクトース食によるインスリン抵抗性ラットを用い、高脂血症治療剤であるベザフィブラートの降圧効果及びその骨格筋内脂質の脂肪酸組成に与える影響について検討した。

【方法】
雄性SDラットに2種類の高フルクトース食を投与し、それぞれF群（フルクトース40%、n=6）、L群（フルクトース40% ＋ ラード7%、n=6）とした。コントロール群（標準食投与、n=6）、ベザフィブラート群（L群にベザフィブラート10mg/kg/dayを経口投与、n=6）の二群を加え二週間後に血圧を測定した。インスリン抵抗性の指標としてsteady-state plasma glucose（SSPG）値を測定し、骨格筋内脂質の脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーを用いて測定した。

【成績】
血圧はコントロール群と比較してL群で有意に上昇したが（120 ± 2 vs 101 ± 2 mmHg、$p<0.01$）、F群では上昇しなかった（102 ± 4 vs 101 ± 2、n.s.）。同様にSSPG値もL群で有意に上昇し（377 ± 16 vs 298 ± 20 mg/dl、$p<0.02$）インスリン抵抗性を示したが、F群では上昇しなかった（288 ± 28 vs 298 ± 20、n.s.)。またL群では骨格筋のTG分画でコントロール群に対し飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸の割合がそれぞれ19.5%（$p<0.01$）、31.9%（$p<0.01$）増加し、多価不飽和脂肪酸の割合が44.5%（$p<0.01$）減少した。F群ではこの変化は認められず、食餌中の脂肪酸組成によく一致していた。一方ベザフィブラート群では血圧はL群と比較して有意に低下し（99 ± 3 vs 120 ± 2、$p<0.01$）、コントロール群と同程度であった。SSPG値もベザフィブラート群で有意に低下し（280 ± 15 vs 377 ± 16、$p<0.01$）、インスリン抵抗性の改善を認めた。またTG脂肪酸組成はL群に対し飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸の割合がそれぞれ19.6%（$p<0.01$）、18.7%（$p<0.01$）減少、多価不飽和脂肪酸の割合が78.1%（$p<0.01$）増加し、コントロール群と同程度まで回復していた。

【考察】
ベザフィブラートは肝臓においてelongase、desaturase等の酵素を活性化させることが報告されており、本研究で認められたTG脂肪酸組成の回復もこの作用と関連している可能性が高い。一方インスリンの主要な標的臓器である骨格筋では、その膜脂質の多価不飽和脂肪酸の割合が減少するとインスリン感受性も低下すると言われている。本研究においてF群ではインスリン抵抗性が認められなかったのに対し、L群ではインスリン抵抗性が認められた。これはフルクトースの含有量だけでなく、食餌中の脂肪酸組成が高フルクトース食ラットのインスリン抵抗性発現に深く関与していることを示している。食餌の影響によって骨格筋内TGの多価不飽和脂肪酸の割合が減少したことがL群のインスリン感受性低下の主な原因と考えられ、このTG脂肪酸組成を回復したことがベザフィブラートのインスリン抵抗性の改善作用及び降圧作用の主要な機序と考えられた。

65

# 自然発症高血圧ラット（ＳＨＲ）血小板 12リポキシゲネース活性

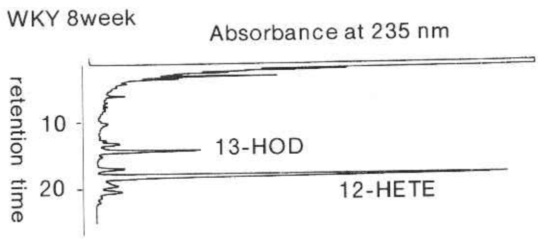
鳥取大学医学部第一内科　太田原　顕、久留一郎、濱田紀宏、真鍋一郎、山本康孝、坪井麻理子、広江　晃、藤本幸弘、吉田明雄、重政千秋
脳神経外科　渡部高志

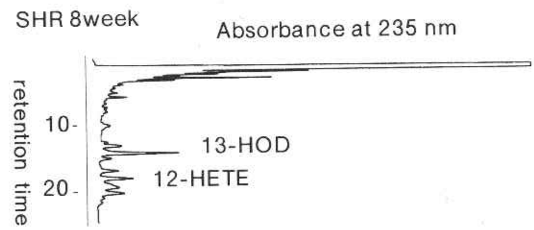
【結　論】
週令に従っても上昇しないSHR12-LO活性はエイコサノイドを含むアラキドン酸カスケード代謝産物量を変化させ高血圧発症に関与している可能性があると思われる。

【目　的】
近年エイコサノイドの産生系が明らかとなってきた。これらの分子は血管収縮拡張、血小板凝集、平滑筋分化、内分泌調節などの作用を有し生理活性物質として重要な働きを持つことが知られている。そして12-リポキシゲネース(12-LO)の産生する12-ヒドロキシ5,8,10エイコサテトラエン酸(12HETE)は血小板凝集促進、白血球遊走、平滑筋増殖作用などがあるとされており、動脈硬化発生に関与している可能性が示唆されている。そこで我々は生体内で12-HETEの多くを産生する血小板の12LO活性を高血圧モデルラットで検討した。

【方　法】
ウィスターキョウトラット(WKY)をコントロールとしてSHR、WKYそれぞれ4週令8週令をネンブタール麻酔下で心腔内穿刺を行い採血をした。3.8%クエン酸ナトリウムを採血量の0.1 volume加え遠心し、血小板浮遊液を作成した。2 mM EDTAを含む燐酸バッファーで置換した後氷冷下で超音波破砕を行なった後、遠心して上清をサンプルとした。反応促進剤、内部標準として3 pmolの13-ヒドロペルオキシオクタデカン酸(13-HPOD)を含む反応液［50 mM Tris-HCl (PH7.4), 6.7 mM $CaCl_2$］に100 μMのアラキドン酸を加え37℃5分間反応させた。メタノールで反応を停止させ、上清を逆相高速液体クロマトグラフィーで12-HETEピークエリアを測定した。13-HPODの変化体13-ヒドロオキシオクタデカン酸(13-HOD)との比をとって酵素活性値とした。反応液の沈殿は0.2% SDSで溶解し、蛋白定量をウシ血清アルブミン換算で行った。

【結　果】
以下の酵素活性の単位はpmol/ mg protein 5minである。SHR WKYとも4週令では酵素活性に差は認められなかったが、8週令ではWKYは219.6±17.18と著明な酵素活性上昇をきたしていたが、SHRでは16.00±15.53と酵素活性の上昇は見られなかった。




【考　察】
WKY8週令で12-LO活性が上昇するがSHRでは上昇せず血管内での12-HETE産生量はSHRで減少していると考えられる。さらに若年SHRでの肝臓の脂質比率はアラキドン酸が少ないという報告もあり、12-LO活性の低いSHR血管ではWKYに比べて血管内の12-HETEはごく少ない可能性もある。12-HETEそのものの生体内での動態は依然明らかではないが、血管内皮細胞や平滑筋細胞へ影響を及ぼす可能性は報告されている。またこの12-LO活性の上昇は12-HETE産生量を変化させるのみにとどまらずアラキドン酸カスケードへのスチール効果をもたらし、種々の生理活性物質量を変化させうると考えられる。血小板におけるエイコサノイドの発現量の違いはSHRの高血圧病態に関連する可能性があると示唆される。

# 66 SHR心から抽出したプロスタサイクリン産生抑制物質の単離同定とその特性

弘前大学医学部第二内科　長内智宏、鎌田孝篤、奥口知行、小杉拓生、中野陽夫、今岡泰郎、藤田紀生、高橋広希、金沢武道、奥村謙
黎明郷リハビリテーション病院　目時弘文

【結　論】高血圧自然発症ラット(SHR)の心抽出物中にプロスタサイクリン($PGI_2$)産生抑制peptideが多量に含有され、アミノ酸組成とアミノ酸配列からcoupling factor 6と考えられた。また、このpeptideは血管平滑筋細胞と内皮細胞の$PGI_2$産生を特異的に抑制し、血圧調節に関与する可能性がある。

【目　的】SHRの大動脈壁における$PGI_2$産生は亢進しているが、内因性$PGI_2$産生(尿中2,3-dinor-6-keto-$PGF_{1\alpha}$)は逆に低下している。従って、内因性$PGI_2$産生抑制物質がSHRに存在している可能性がある。本研究の目的は、内因性$PGI_2$産生抑制物質を単離同定することである。

【方　法】①単離・同定：SHRの脳、心、肺、腎、肝、小腸を100℃の沸騰水中で10分間熱処理後、1M酢酸中でhomogenizeし、66%アセトン沈殿で除蛋白した。その上清をSepakカラムを通して脱塩後、凍結乾燥し、粗抽出物とした。$PGI_2$産生の抑制系のassayはSHRの血管平滑筋細胞(VSMC)より産生放出される6-keto-$PGF_{1\alpha}$をradioimmunoassay(RIA)法で測定した。更に、セファデックスG25カラムでゲル濾過を行い、引き続きODSカラムで逆相HPLCを行い0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル系の直線的濃度勾配法で単離精製した。精製物質は、アミノ酸組成の決定と、気相シークエンサーを用いたAsp　N処理前後のアミノ酸配列決定に使用された。
②特性：$10^{-7}$Mの抽出した$PGI_2$産生抑制物質を投与し、SHR　VSMCとヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)から産生放出される6-keto-$PGF_{1\alpha}$並びにラット血小板から放出されるthromboxane(TX)$B_2$をRIA法で測定した。

【成　績】①6種類の臓器からの粗抽出物質(10$\mu$g protein/ml)とSHR VSMCとの反応では、心抽出物でのみ6-keto-$PGF_{1\alpha}$産生の抑制が認められた。また、この産生抑制はtrypsinとchymotrypsinの処理により完全に消失した。
②心抽出物より、ゲル濾過で分子量約9000に抑制活性peakを認め、それを逆相HPLCにてsingle peakへと単離精製した。
③アミノ酸組成比はAsx 9.4, Ser 2.2, Glx 13.3, Val 4.3, Met 2.3, Ile 1.0, Leu 6.6, Tyr 2.8, Phe 6.2, Lys 10.8, Thr 1.9, Arg 3.3, Gly 5.1, Pro 6.3, Ala 2.2であった。
④Asp　N処理前のN末端からの部分アミノ酸配列はNKELDPVQKLFLDKIREYKAKRLASGGPVDTGPEYQQEVDであった。AspN処理後のsegmentのアミノ酸配列はそれぞれDPVQKLFL, DKIREYKAKRLASGGPV, DTGPEYQQEV, DRELFKLKQMYGKGEM, DKFPTFNFE, DPKFEであった。
⑤$10^{-7}$M $PGI_2$産生抑制物質はSHR VSMCのbasalな$PGI_2$産生を約50%抑制したが、10$\mu$g/mlのアラキドン酸添加による$PGI_2$産生には影響しなかった。また、$10^{-7}$M$PGI_2$産生抑制物質は、2$\mu$g/mlのIonomycin($Ca^{2+}$ ionophore)投与によるHUVECからの$PGI_2$産生を約50%抑制した。一方、$10^{-7}$M $PGI_2$ 産生抑制物質は5$\mu$M ADP投与によるラット血小板からの$TXB_2$産生放出に影響しなかった。

【考　察】Coupling factor 6は、これまでATP産生を調節する因子として知られてきたが、今回$PGI_2$産生を抑制するという新しい作用が明らかにされた。現在までのところ、内因性の$PGI_2$産生抑制ペプチドの報告はなく、本ペプチドがエネルギー代謝の調節のみでなく、血中$PGI_2$濃度を決定する重要なfactorの1つとなる可能性がある。

# 67 高血圧性脳病変の発症，進展とPI 3-kinase

三楽病院内科　住友金属*　田上幹樹、久保田昌良、山形一雄*
東京医科歯科大学第三内科　沼野藤夫
京都大学人間環境学研究科　池田克己、奈良安雄、家森幸男

**(結論)** In vitro 及び in vivo 実験により、**(1)** 神経細胞に遺伝的脆弱性が存在すると脳虚血時に放出される neurotoxic substance により広範な神経細胞アポトーシスが起こる、**(2)** この脆弱性は PI 3-kinase の活性化により相殺される事が示唆された。

**(目的)** Stroke-prone SHR (SHRSP) では高血圧の発症，重症化とともに脳血流量が減少するが，降圧治療により回復する。また両側頚動脈を結紮すると、SHRSP神経細胞 (SP-N) はWKY神経細胞 (WK-N) より脆弱であり、短時間の脳虚血後 delayed neuronal death が出現する。本研究では (1) SP-Nは細胞レベルでも WK-Nよりも脆弱であるのか、(2) SP-N の脆弱性(アポトーシスを起しやすいという遺伝形質)は何に起因するのか、(3) どのような条件設定をすれば in vitro でアポトーシスを防ぐことができるか、(4) in vitro の結果を in vivo で再現できるかどうか、検討を行った。

**(方法)** WKY 及び SHRSP の胎児 (胎生15日) より大脳皮質を採取し、トリプシン及びパパインで酵素処理後ポリ-L-リジンで coat した plate 上に大脳皮質を培養した。培養開始２日目よりウリジン及びFDU を添加してグリア細胞の増殖を抑制し神経細胞を単独培養した。神経細胞が十分に分化した段階 (培養開始後６－７日目) で **(1)** neurotoxic substanceである (a) glutamate (Glu), or (b) sodium nitroprusside (SNP)の添加実験、**(2)** neuroprotective である (c) benzamide (Benz) or (d) L-nitroarginine (L-NA) 添加による前処置後に neurotoxic substance の添加実験を行った。続いて **(3)** 培養開始３日目より120時間、或いは6日目より24時間 growth factor (20 ng/ml IGF-1 or 2, NGF or EGF) を添加して神経細胞を培養した。その後に (e) neurotoxic substance の添加実験 及び (f) wortmannin (PI 3-kinase inhibitor) 添加による前処置後に neurotoxic substance の添加実験を行い、光顕、In Situ Staining、電顕、ゲル電気泳動により検討した。さらに **(4)** WKY 及び SHRSP の腹腔内に IGF-1 20 $\mu$g (対照生理食塩水) を投与、１時間後に両側頚動脈を20分間結紮、再灌流した。６日後に屠殺、IGF-1が海馬CA-1領域における神経細胞アポトーシスを予防できるか検討した。

**(結果)** **(1)** SP-Nは WK-Nよりも neurotoxic substance に脆弱であった ($p<0.01$)。**(2)** Benz 及び L-NA は Glu 添加による神経細胞障害を軽減するが ($p<0.01$)、SNP 添加による神経細胞障害には無効であった。**(3)** 神経細胞保護効果は IGFs≧NGF ＞EGF＞L-NA≧Benzであった。**(4)** Growth factor (特に IGFs, NGF) により24 時間前処置すると神経細胞は良好に分化、神経突起及び synapse 形成が促進した。neurotoxic substance による神経細胞アポトーシスは有意に減少するが ($p<0.01$)、wortmannin による前処置でPI 3-kinase 活性を抑制すると neurotoxic substance による神経細胞アポトーシスは増加した ($p<0.01$)。**(4)** IGF-1 添加で 120 時間培養すると、神経細胞の分化は顕著であり多数の神経突起及び synapse が形成された。SP-N の neurotoxic substance に対する脆弱性はほぼ消失し、wortmannin 添加による影響も有意に少なかった ($p<0.01$)。**(5)** IGF-1を腹腔内に投与した SHRSPでは、虚血、再灌流後の神経細胞アポトーシスに有意な減少が認められた ($p<0.01$)。

**(考案)** 脳血流が減少し虚血状態になると、神経細胞の Glu 放出が亢進する。Glu は神経細胞受容体を刺激して大量の$Ca^{2+}$流入、NO 産生を起こし、その結果 神経細胞死が起る。Yao らは PC 12 細胞のアポトーシスの防止には Ras 情報伝達経路は必要でなく、PI 3-kinase の活性化が密接に関与している事を示した(Science 267:2003,1995)。我々は、SP-N はWK-N よりも脆弱であり、Glu 及び SNP 刺激により容易にアポトーシスが起こり、growth factor (特に IGFs 及び NGF) 添加による前処置で SP-N のアポトーシスが有意に減少する事を証明した。また growth factor による前処置が短時間だと PI 3-kinase 活性の抑制により SP-N のアポトーシスが増加するが、長時間 IGF-1 を添加して十分に PI 3-kinase 及び Ras 情報伝達経路を活性化した後にPI 3-kinase 活性を抑制しても SP-N のアポトーシスは増加しない事が明らかになった。これらの成績は SP-N のアポトーシス防止には PI 3-kinase が重要な役割を果たしているが、Ras 情報伝達経路も関与している可能性を示唆している。In vitro での IGF-1 の有用性は、SHRSP を用いた脳虚血、再灌流実験により in vivo でも確認することができた。

# 68 高血圧症における $Na^+/H^+$ Exchanger kinase 活性の亢進

東京電力病院内科、
慶應義塾大学呼吸循環器内科、
Univ. of Washington

楠原正俊、小川 聡、Bradford C. Berk

【結論】90 kD NHE-1 kinase 活性の亢進は、SHR大動脈培養血管平滑筋細胞および高血圧症患者皮膚線維芽細胞における特徴的な変化の一つであり、高血圧症の病態に重要であることが示唆された。

【目的】高血圧自然発症ラット（SHR）の血管平滑筋細胞では $Na^+/H^+$ Exchanger-1（NHE-1）の機能が亢進していると共に、NHE-1のリン酸化が増加している。リン酸化はNHE-1の機能調節機構の一つとして重要であると考えられており、NHE-1のリン酸化機構、すなわちNHE-1 kinaseの異常がSHRに存在すると考えられる。本研究は高血圧症におけるNHE-1 kinase活性を測定し、その調節機構を解明することを目的とした。

【方法】（1）ラット大動脈培養血管平滑筋細胞（VSMC）：10-12週令のSHRとWKYの胸部大動脈を酵素法を用いて分離し、2-4継代の細胞を実験に使用した。

（2）ヒト皮膚線維芽細胞：健常人および、NHE-1活性の亢進している高血圧症患者の皮膚生検し、explant法により得た細胞を使用した（Dr.Siffertより供与）。

（3）NHE-1 kinase活性：GST-NHE-1融合タンパク質を基質として用いたin-gel-kinase assayにより測定した。GST-NHE-1融合タンパク質はPCRによりNHE-1の細胞質内ドメイン（アミノ酸516-815）をpGEX-KGにsubcloningし、作成した。 in-gel-kinase assayは、0.15mg/mlのGST-NHE-1融合タンパク質を加え、SDSゲルを作成した。電気泳動後、20％イソプロパノール溶液中でゲルを洗浄し、ゲル内のSDSを除去した。6 Mグアニジン溶液によりゲル内のタンパク質を完全に変性させた後、0.04％Tween-20溶液で4℃、18時間インキュベートすることによりrenatureさせた。$^{32}P$-γ-ATPを含む反応液中でゲルごとリン酸化反応を行い、ゲルを洗浄、乾燥後、オートラジオグラフィーを行った。

【成績】（1）SHRとWKY-VSMCには少なくとも5個のNHE-1 kinases（42kD、44kD、56kD、62kD、90kD）が認められた。このうち90 kD kinase活性は、静止期のSHR-VSMCにおいてWKY-VSMCより亢進していること（1.8倍）、アンジオテンシII（A II）刺激後、最も活性化されたこと（3.8倍）より、90kD kinaseについてさらに検討した。

（2）75 μM BAPTAで前処置し $Ca^{2+}$ をキレートすることにより、SHR-VMSCにおいてA IIによる90 kD kinaseの活性化は完全にブロックされた。

（3）PKCをdown regulationしたVSMCにおいてもA IIにより90kD kinaseは活性化された。

（4）MEK inhibitor、PD 098059によりA IIによる90kD kinaseの活性化は約50％抑制された。

（5）ヒト皮膚線維芽細胞を用いたNHE-1 kinasesの検討では、主に42kD、90kDのNHE-1 kinasesが認められた。特に90kD kinase活性はSHR／WKYと同様に、高血圧症患者において静止期、およびLPA刺激後の両方で亢進していた。

【考案】 90kD kinase活性は、静止期のWKY-VSMCと比較しSHR-VSMCにおいて亢進していた。この結果は静止期のSHR-VSMCにおいて細胞内pHが高いこと、NHE-1がよりリン酸化されていることとよく対応している。更に、A IIによる90kD kinaseの活性化は $Ca^{2+}$-dependent、PKC -independentであり、そのシグナル伝達の特性は A IIによるNHE-1活性化とよく一致していると考えられた。以上よりSHRにおけるNHE-1活性の調節異常の原因として、90kD NHE-1 kinaseが重要な役割をはたしていることが示唆された。

また、高血圧症患者ヒト皮膚線維芽細胞についても同様に90kD kinase活性亢進が認められたことより、ラットのみならずヒトにおいても90kD kinaseがNHE-1の活性調節に重要であると考えられた。

# 69　延髄孤束核神経細胞活動およびシナプス伝達に及ぼすエンドセリン－1の役割

九州大学医学部循環器内科　紫原美和子　廣岡良隆　松尾勇　田川辰也　鈴木哲　竹下彰

九州大学歯学部薬理　堀信顕

【結論】1）エンドセリン-1（ET-1）は、延髄孤束核（NTS）神経細胞におけるシナプス後膜の$ET_A$受容体を介してその神経活動を増加させる。2）外因性ET-1のみならず内因性ET-1もNTS神経細胞活動に寄与している。3）ET-1はグルタミン酸（Glu）に対する感受性を増大させることによりシナプス伝達を増強させる。以上の成績は、NTSにおいてET-1が交感神経活動及び血圧の調節に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

【目的】ET-1は血管内皮細胞で産生されるだけではなく中枢神経系にも存在し、神経伝達物質あるいは修飾物質として作用していると考えられている。*in vivo*の実験にてET-1をNTSに微量注入すると血圧低下、心拍数減少が生じることが報告されており、ET-1はNTSにおける神経細胞活動を増加させる可能性が示唆されている。また、spontaneous hypertensive rat（SHR）ではWistar Kyoto rat（WKY）に比して延髄でのET-1量およびET-1受容体結合数の減少が報告されており、高血圧への関与も示唆されている。本研究の目的は、1）NTSにおける神経細胞レベルでのET-1の作用機序、2）ET-1のNTSにおけるシナプス伝達に及ぼす影響について検討することであった。

【方法】NTSとその求心性神経線維である孤束を含むラット脳幹部スライス標本を作製し単一NTS神経細胞活動を細胞外記録法を用いて記録した。記録は、圧受容器からの求心性線維を最も密に受けている内側NTSにて行い、孤束の電気刺激に応じる細胞にて行った。1）ET-1及びET-1受容体拮抗薬の効果、2）ET-1及びET-1受容体拮抗薬投与前後で孤束からの神経伝達物質と考えられているGluに対する効果が変化するか否か、3）孤束の電気刺激に対する反応がET-1により変化するか否かを検討した。ET-1（$10^{-4}$ M、8-30 nA）とGlu（0.5 M、8-20 nA）は記録神経細胞の樹状突起に電気泳動的に投与し、$ET_A$受容体拮抗薬（BQ-123、$10^{-5}$-$10^{-4}$M）及び$ET_B$受容体拮抗薬（BQ-788、$10^{-4}$M）は記録槽内へ灌流投与した。さらに、ET-1（$10^{-4}$ M、10μl）の記録電極近辺への投与前後における孤束電気刺激に対する反応の有無の割合を検討した。刺激強度は孤束電気刺激に約50％応じるように設定し、ET-1投与前後で50回加算した孤束電気刺激に対する反応の潜時をヒストグラムを作成して検討した。

【成績】1）ET-1により単一NTS神経細胞活動が増加（2.1±0.7→5.5±0.4 spikes/sec、$p<0.01$、n=55）し、その増加はBQ-123にて抑制されたが、BQ-788では不変だった。BQ-123によりNTS神経細胞の自然放電は減少（$10^{-5}$ M BQ-123：2.6±0.7→2.5±0.7 spikes/sec、N.S.、n=10、$10^{-4}$ M BQ-123：2.2±0.2→1.8±0.2 spikes/sec、$p<0.01$、n=20）した。2）GluによりNTS神経細胞活動が増加したが、その増加の程度はET-1投与後増強（＋4.6±0.5→＋7.4±0.8 spikes/sec、$p<0.01$、n=21）した。Gluによる増加の程度は$10^{-4}$ M BQ-123によって抑制（＋4.5±0.3→＋2.9±0.6 spikes/sec、$p<0.05$、n=10）されたが、BQ-788では不変だった。3）ET-1投与により孤束電気刺激に対するNTS神経細胞の反応する割合が増強（50±2.2→90±13 ％、$p<0.01$、n=11）した。

【考察】1）孤束と直接シナプスを形成しているNTS神経細胞においてET-1を電気泳動的に樹状突起に投与するとその神経細胞活動が増加した。その神経細胞活動の増加は$ET_A$受容体拮抗薬によって抑制された。従って、ET-1はNTS神経細胞のシナプス後膜に作用してその神経活動を増加させることが示唆された。また、内因性ET-1もNTS神経細胞活動に寄与していると考えられた。2）ET-1はNTSにおけるシナプス伝達を増強させた。その機序としてET-1がシナプス後膜におけるGluに対する感受性を増加させることが示唆された。

**70**

# 尾側腹外側延髄（CVLM）降圧部位のドーパ性シナプス前・後成分は圧受容器－大動脈降圧神経－孤束核－CVLM 神経経路を介する同反射情報伝達に必須である

横浜市立大学医学部薬理学　　宮前丈明、五嶋良郎、古川信也、三須良實

【結論】タイトルそのものである。今回の知見はドーパ伝達物質説(1)の妥当性をさらに支持する。

【目的】我々は、ドパミン(DA)の前駆体にすぎないとされてきた、ドーパの中枢性血圧制御伝達物質説を提起、検証してきた(1)。ドーパは孤束核(NTS)に終末する圧受容器第一次求心性感覚神経の伝達物質たりうる(2)。大動脈降圧神経(ADN)刺激はNTSからドーパを伝達物質様に遊離し、微量注入ドーパと同様、シナプス後競合的拮抗薬-感受性の降圧・徐脈応答を示す。ADN切断はNTSのチロシン水酸化酵素、ドーパまでの免疫組織化学活性のみを特異的に減弱した。フェニレフリン刺激はNTS ドーパ遊離を増大、増大は両側ADN・頸動脈洞神経切断により消失する。ドーパはCVLMにおいても緊張性に機能し、降圧部位を興奮させる。CVLMの緊張性神経性ドーパ遊離活性消失 (3)、NTS の同活性減弱、吻側腹外側延髄(RVLM)の同活性亢進と昇圧部位のドーパ感受性亢進(4)は高血圧自然発症ラット (SHR) の高血圧維持に関与する。今回、CVLM のシナプス前後ドーパ性成分の圧受容反射情報伝達への関与の有無を検討した。

【方法】雄性Wistarラット(250-350 g) に、ウレタン麻酔、人工呼吸下、血圧・心拍測定と薬物注入用の大腿動・静脈カニューレ、右ADNに刺激電極を留置した。脳定位固定下、右CVLM降圧部位に微量注入ピペットまたは微量透析プローブを刺入、採液中ドーパはHPLC-ECD法にて定量した。

【成績】1) 右NTS電気破壊は、10日後、同側CVLM及び RVLM 領域のドーパ含量を特異的に各々45%, 14%減少した(DA、ノルアドレナリン、アドレナリン不変)。2) フェニレフリン（50 μg/kg/分, i.v. 20分）は擬破壊群CVLMからのドーパ遊離を増大、増大はNTS急性電気破壊により消失した(図1)。3) ADN間歇刺激(20 Hz, 30分)はCVLMドーパ遊離と徐脈・降圧応答を誘発した。α-メチルパラチロシン 30 μM CVLM灌流による局所的ドーパ合成阻害は同誘発性遊離を消失、徐脈応答を不変、降圧応答を 65% 抑制した。4) ADN刺激(20 Hz, 10秒)に対する降圧応答は神経伝達阻害薬 $CoCl_2$ 119 ng及びドーパの競合的拮抗薬ドーパメチルエステル 1 μg のCVLM微量注入により各々 60 %抑制され、同徐脈応答は不変であった。

【考察】NTS電気破壊によるCVLMドーパ含量の特異的減少、フェニレフリン誘発性CVLMドーパ遊離とそのNTS破壊による消失およびADN間歇刺激によるドーパ遊離とそのCVLM内ドーパ合成阻害による消失は、いずれも、ドーパ性単シナプス性 NTS－CVLM ニューロンの存在を強く示唆する。NTSの結果(2)を勘案すれば、ドーパ性神経は圧受容器－ADN－NTS－CVLM 経路を介する圧受容反射情報伝達に必須の役割を果たしていると想定される。ADN刺激降圧応答の $CoCl_2$ による抑制はCVLM内伝達の必然性を、CVLM内ドーパ合成阻害による抑制はドーパ性伝達のシナプス前抑制を、また競合的拮抗薬による抑制は同シナプス後抑制を示す。徐脈応答神経経路はCVLM降圧部位を介さない。現結果はCVLM緊張性神経性ドーパ遊離活性消失がSHR高血圧維持の主要な中枢機序たりうるとの知見(3)を更に支持し、又NTS破壊神経性高血圧発症の一要因として NTS－CVLM ドーパ性神経の変性が関与する可能性を示唆する。

［文献］
(1) Misu et al., Adv. Pharmacol. 32: 427, 1995
(2) Yue et al., Neuroscience 62: 145, 1994
(3) Miyamae et al., Neurosci. Lett. 198: 37, 1995
(4) Yue et al., Neuroscience 67: 95, 1995

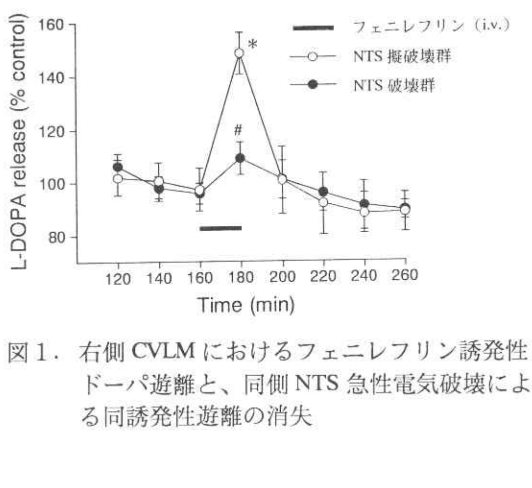



図1．右側CVLMにおけるフェニレフリン誘発性ドーパ遊離と、同側NTS急性電気破壊による同誘発性遊離の消失

# 71 血圧ならびに血圧関連因子と肥満との関係 -特に腹部全脂肪の関与-

中村学園大学
中村学園大学大学院研究科[1)]

伊藤和枝、今井克巳、増田 隆、阿部志磨子、
中村元臣[1)]

【結論】中等度肥満者の減量により、高血圧群にのみ有意な降圧が認められ、ΣIRI/ΣBGも有意に減少した。肥満の是正に伴う降圧には、腹部全脂肪の関与が認められ、腹部全脂肪を介したインスリン抵抗性の関わりが示唆され、腹部内臓脂肪の関わりではなかった。肥満を伴う高血圧群の血清Mgは、正常群に比し有意に低値であった。

【目的】肥満は、高血圧発症因子の一つと考えられており、インスリン抵抗性を介した昇圧も報告されているが、その機序はまだ明らかではない。そこで、肥満者を対象に、肥満ならびに肥満の是正が血圧ならびに血圧関連因子に如何なる影響を及ぼしているかを腹部全脂肪、内臓脂肪、皮下脂肪ならびにインスリン抵抗性との関連を中心に検討した。

【対象と方法】対象は、年齢45.7±9.9歳のボランチア46名(男性:6、女性:40)で、BMIは30.0±3.1kg/m²、V/S比は0.35±0.15であった。開始時の血圧により、米国合同委員会の基準にもとづき、収縮期血圧(SBP)130-139または拡張期血圧(DBP)85-89mmHg以上の高値正常血圧者および高血圧者(140/90以上)を高圧群(HT群:17名;男:3,女:14)とし、SBP130未満かつDBP85mmHg未満を正常群(NT群:29名;男:3、女:26)として2群間の比較を行った。栄養・運動による減量指導を3カ月間行い、開始時(Ex0)と1.5カ月後(Ex1.5)、3カ月後(Ex3)に、血圧を測定し、早朝空腹時の採血を行った。血圧は座位にて安静後、日本コーリン自動血圧計BP8800を用い、深呼吸後連続3回測定し、その平均値を用いた。Ex0、Ex3にMRIにより腹部の全脂肪・内臓脂肪・皮下脂肪を測定し、75gOGTTならびに24時間蓄尿を行った。減量による血圧変化率(Ex3/Ex0)について、単回帰分析ならびに重回帰分析を行い、p<0.05をもって有意とした。

【成績】①Ex0の年齢、体重、腹部の全脂肪と内臓脂肪、皮下脂肪、BMI、24HUNa・K・Ca・Mg排泄量、Σインスリン(IRI)/Σ血糖(BG)はHT群・NT群の間に差を示さなかった。HT群の血清MgはNT群のそれに比し有意に低値であった(p<0.01)。血清Kには差はなかった。②Ex3の体重は平均4.0±0.6kg減少し、BMIと腹部全脂肪・内臓脂肪・皮下脂肪は、両群共にEx0のそれらに比して有意に減少した(各 p<0.001)。③血圧はHT群でのみ、SBP:144から133mmHg、DBP:84から79mmHgにいずれも有意に低下した(p<0.01)。ΣIRI・ΣBGは共に有意に低下し(各 p<0.01)、ΣIRI/ΣBGは有意に低下した(p<0.001)。PRAは有意に低下し(p<0.05)、24HUアルドステロンは有意に上昇した(p<0.05)。24HUノルエピネフリン排泄量(NE)、24HUNa・K・Ca・Mgには有意差を認めなかった。④単回帰分析では、SBP変化率は腹部全脂肪変化率とのみ有意な関連を示したが、内臓脂肪・BMI・除脂肪体重変化率、ΣIRI/ΣBG変化率とには示さなかった。DBP変化率と、腹部全脂肪・BMI・体重変化率・ΣIRI/ΣBG変化率とは有意な正の関連を示した。⑥HT群のSBP・DBP変化率を従属変数とし、体重、24HUNa・K、24HUNE、24HUアルドステロン、PRA、ΣIRI/ΣBGの各変化率を説明変数とした、重回帰分析を変数増減法で行った。SBP変化率には、体重・24HUNa・ΣIRI/ΣBGの各変化率が正に回帰され、DBP変化率には、体重、24HUNEの各変化率が正に、24HUKの変化率が負に回帰された。さらに、説明変数の体重を腹部全脂肪に変えて補正した結果、SBP・DBP変化率には、腹部全脂肪変化率のみがいずれも有意に正に回帰され(p<0.01)、ΣIRI/ΣBG変化率は回帰されなかった。体重を内臓脂肪、V/S比、除脂肪体重に変えて補正した場合にも、いずれも回帰されなかった。⑦NT群でも、ΣIRI/ΣBGとPRAは有意に低下したが、血圧の変動はなかった。

【考察】従来、肥満を伴う高血圧には腹部内臓脂肪との関与が注目されているが、本研究では中等度肥満における降圧には、単回帰ならびに重回帰分析の結果から、腹部全脂肪が最も大きな因子として関わっていることが示唆された。血圧変化率とインスリン抵抗性変化率との間には単回帰分析では関わりが認められたが、腹部全脂肪変化率で補正すると有意な関連は消失した。従って、肥満者の血圧には、腹部全脂肪の関与が大と思われる。

72

# 肥満、とくに腹部脂肪蓄積異常と高血圧の関連に関する疫学的検討
## —北海道循環器疾患疫学調査成績より—

札幌医科大学第二内科

斉藤重幸、田中繁道、青山真也、高木　覚、高橋　弘
坂本賢一、仲野昌弘、林　義人、小原史生、濱上志保
島本和明

【結論】　中・高年男性では体格指数よりも、腹部脂肪蓄積異常が血圧との関連を有し、この腹部脂肪蓄積異常はインスリン抵抗性、高インスリン血症を介して、あるいはより直接的に高血圧に関与している可能性を窺わせた。

また高血圧と肥満の関連を疫学的に検討する際に体脂肪率とウエスト径／ヒップ径比の積から導いた腹部脂肪分布指数の評価は有用と考えられた。

【目的】　肥満は脂肪過剰蓄積として定義される。従来からの身長と体重から算出される体格指数は体脂肪過剰蓄積あるいは脂肪異常蓄積を直接反映しているとは限らない。そこで本研究では肥満・体脂肪異常蓄積の血圧に与かる影響を知る目的で、教室で継続中の北海道端野・壮瞥両町の循環器疫学調査から成人病検診受診者を対象にインピーダンス法により得られた体脂肪率(%FAT)とウエスト径／ヒップ径比 (WHR)の積から腹部脂肪分布指数(abdominal fat distribution index:AFDI)を算定し、さらに75gブドウ糖経口負荷試験(75gOGTT)の成績からTurnerらのformula(homeostasis model assessment)を用いてインスリン抵抗性指数(insulin resistance index :INRI)を算出した。そして、これらと血漿インスリン値および血圧との関連を検討した。

【対象・方法】　北海道端野・壮瞥両町の一般住民成人病検診受診者のうち降圧薬の服用がなく、問診および空腹時血糖値より糖尿病が否定された男性628名 (平均年齢56.6±9.8歳) を対象とした。また対象より無作為抽出し、インフォームド・コンセントの得られた162名に75gOGTTを施行した。

検診は早朝空腹下で、身長(BH:m)、体重(BW:kg)、安静坐位血圧 (収縮期血圧:SBP、拡張期血圧:DBP)、体脂肪率(タニタBF102使用:%FAT) 、腹囲・腰囲径を測定した後、採血および75gOGTTを行った。解析項目は Body Mass Index (BMI：$kg/m^2$)、%FAT、WHR (腹囲／腰囲径)、abdominal fat distribution index： AFDI ＝ %FAT x WHR、SBP、DBP、75gOGTTから糖負荷前血糖および血漿インスリン値(F-glu、F-ins)と前、60、120分インスリン値の総和(Σins)、およびinsulin resistance index ：INRI = F-ins／( 22.5 x $e^{-\mathrm{In}\cdot \mathrm{F\text{-}glu}}$)：(Turnerらの formula)である。

【成績】　男性検診受診者628名でのAFDIは18.9±5.4 (mean±SD) であった。AFDIはSBP, DBPと有意な正の相関を、年齢とは負の相関を示した。AFDIの四分位での検討ではAFDI高値群は低値群に比しSBP、DBPは有意に高かった。スッテプワイズ法による重回帰分析ではDBPの説明変数としてBMIは採択されず、年齢($\beta$=0.1978：$p<0.001$)とAFDI($\beta$＝0.2938：$p<0.001$)が選択された。75gOGTT被検者162名における検討では、AFDIは18.9±5.2で男性検診受診者628名での成績と差異はなかった。INRIは0.98±0.74、Σinsは68.1±54.2μU/mlであり、AFDIはINRI (r=0.375：$p<0.001$)と、INRIはΣins(r=0.583：$p<0.0001$)と、ΣinsはDBP (r=0.209：p=0.008)とに有意な正の相関が認められた。またINRI、Σins両値で補正した偏相関分析では AFDIはDBPとに有意な正の相関(r=0.267 ：$p<0.001$)が保たれた。

【考察】　降圧薬を服用しない非糖尿病者の中・高年男性群では、年齢の影響を考慮するとBMIと血圧値の関連は消失した。このときAFDIと血圧値は有意に相関し、体格指数よりも腹部脂肪蓄積異常を示す指標の方が血圧とより強い関連を有していることが示された。この腹部脂肪蓄積異常(AFDI)はインスリン抵抗性(INRI)と高インスリン血症(Σins)を介して血圧とに有意な関連を有していた。さらに、INRI、Σins両値で補正してもAFDIと血圧値との相関が保たれたことより、腹部脂肪蓄積異常がより直接的に高血圧の成因に関与している可能性が推測された。

AFDIは、簡便に測定できるインピーダンス法を用いた体脂肪率とウエスト径／ヒップ径比から算定した。高血圧と肥満の関連を疫学的に検討する場合に、腹部脂肪蓄積異常の指標としてAFDIを用いることは有用であると考えられた。

# 73 肥満を伴う本態性高血圧患者でのカロリー制限療法によるリスクファクターの改善度　－若年者と高齢者での比較検討－

岩手医科大学第２内科　安達季之、川村実、中島淳、藤原拓也、平盛勝彦

【結論】短期のカロリー制限により、脂質代謝（LDLコレステロールの変化）と肝臓でのインスリン抵抗性（空腹時グルコースとインスリンの比の変化）は若年者と高齢者で同等に改善したが、血圧低下と体重減少の点では若年者の方が恩恵が大きかった。又、2時間時グルコースとインスリンの比が減量前後で変化がないことより、短期のカロリー制限は骨格筋でのインスリン抵抗性を改善しないと考えた。

【目的】肥満を伴う高血圧患者でのカロリー制限治療による血圧低下は個々の症例で異なる（１）。我々は年齢がその降圧度を決定する因子であることを報告した(２)。また、カロリー制限治療は降圧のみならず、糖・脂質代謝をも改善させる。今回我々は対象例を若年群と老年群に分け、カロリー制限療法による降圧と他のリスクファクターの改善度を両群で比較検討を行った。

【方法】対象は30名の肥満を伴った本態性高血圧女性患者［体重80kg以下、Body mass index (BMI) 25～30 kg/m$^2$］であった。高齢群は60歳以上とし、若年群は55歳未満とした。いずれの群も15名であり、平均年齢はそれぞれ63±3歳と49±5歳であった。入院諸検査後5週間プロトコールに従った検索を行った。2週間標準食（6.3～8.4 MJ/day）摂取後、続く2週間は低カロリー食（1.9 MJ/day、オプティファスト$^R$）とした。5週目は4.6～6.3MJ/dayまで段階的に増加させ、この期間を体重維持期とした。尚1日あたりのナトリウム摂取量を120mEqとした。採血は各週におこなった。75グラム糖負荷テストを減量前後におこなった。危険率5%以下を有意水準とした。

【結果】標準食時での体重、BMI、血圧、空腹時のグルコース値(FBG)およびグルコース／インスリン比(FGIR)、２時間グルコース値(2h-BG)およびグルコース／インスリン比(2h-GIR)、LDLコレステロール値(LDLC)、HDLコレステロール値(HDLC)、HDLCは両群間に有意差はなかった。体重はカロリー制限期間はほぼ直線的に減少し、血中ケトン体も上昇した。両群とも、体重維持期の後半では体重の減少はみられなくなり、血中ケトン体も標準食期のレベルに回復した。両群とも、体重減少により、平均血圧、FBG、LDLCは有意に低下し、FGIRは有意に増加した。一方、2h-BG、2h-GIR、HDLC、UAには有意な変化がなかった。体重減少による変化度を両群間で比較すると、若年群は高齢群よりも体重(kg)（4.8 vs 4.1)、平均血圧　(mmHg)　(8.2 vs 4.6)で有意に低下したが、FGIR(mmol/U)（0.86 vs 1.39)、LDLC(mmol/L)　(0.67 vs 0.76)は有意差はなかった。

【考案】短期のカロリー制限は血圧を低下させるという以前の報告（1、2）を我々は再確認した。加えて、カロリー制限から体重維持に必要なまでのカロリー量を増加させても血圧の再上昇はみられなかった。すなわち、カロリー制限療法による降圧は、カロリー制限中に生じる一時的な変化ではないことを示している。若年群は高齢群より平均血圧が有意に低下し、体重も有意に低下しており、体重の減少と血圧低下と関連性が示唆される。

インスリン抵抗性が高血圧の成因であると提唱されており、体重減少はそのインスリン抵抗性を改善することが知られている。しかしながら今回の短期のカロリー制限では、2h-GIRが減量前後で変化がないことより、短期のカロリー制限は骨格筋でのインスリン抵抗性を改善しないと考えた。すなわち、今回の降圧機序は、インスリン抵抗性とは独立したものであると思われる。

【文献】

（1）KAWAMURA M et al.
J Hypertension. 1993;11(suppl 5):S320.
(2) KAWAMURA M et al.
Hypertension. 1996;27[part 1]:408.

# 74 高血圧臓器合併症における高Lp(a)血症の意義 －冠動脈疾患との関連から－

北海道立北見病院内科　坂本孝志、宮本憲次郎、成田浩二、岩元利裕、野澤明彦
札幌医科大学第二内科　島本和明

【結論】高血圧患者では正常血圧者に比して血清Lp(a)がより高値であり、また高Lp(a)血症の頻度が高く動脈硬化のリスクがより大であると考えられた。高Lp(a)血症が高血圧臓器合併症、ことに、冠動脈疾患の発症・進展に関与している可能性が示唆された。

【目的】近年血中Lp(a)高値が動脈硬化の独立した危険因子であることが数多く報告され注目されている。血中Lp(a)濃度は遺伝的に決定されており、性、年齢、栄養、薬剤その他の環境因子の影響をほとんど受けないとされている。また、日本人ではその分布が著しく低値側に片寄るものの平均値は15mg/dl前後で、血中濃度30mg/dl以上では心筋梗塞や脳梗塞の危険度が高いことが明らかにされてきた。しかしながら、高血圧症におけるLp(a)の役割に関してはいまだ不明である。そこで、今回我々は高血圧臓器合併症の進展にかかわるLp(a)の役割を検討した。

【方法】当院入院および外来通院中の高血圧患者304名と正常血圧者156名を対象とし早朝絶食下に採血を行ない、血中Lp(a)濃度をラテックス凝集比濁法により測定し、高血圧と正常血圧の両群間で比較検討した。また、WHO/ISH委員会による高血圧病期分類基準（1993年）により高血圧病期別による血中Lp(a)値を比較検討した。さらには冠動脈疾患の有無により各群間で血中Lp(a)値を比較検討した。血中Lp(a)値が正規分布を示さないことより群間のLp(a)値の比較にはMann-WhitneyのU検定を用いた。また血中Lp(a)濃度30 mg/dl 以上を高Lp(a)血症とし、$\chi$ 2乗検定を用いて高Lp(a)血症の頻度を比較した。いずれも $p<0.05$を有意と判定した。

【結果】血中Lp(a)平均値は正常血圧群に比して高血圧群で高値であった(15.4±1.2 mg/dl vs 25.2±1.4 mg/dl、$p<0.01$)。Lp(a)濃度 30 mg/dl以上の高Lp(a)血症の頻度も高血圧群において大であった(10.3％ vs 29.9％、$p<0.01$)。高血圧病期分類ではWHO I 期に比してIII 期でLp(a)値はより有意に高値であった：WHO I 期 17.8±1.7mg/dl（n=81）、WHO II 期 26.1±2.7 mg/dl（n=108)、WHO III 期 29.6±2.8 mg/dl (n=115)、p＜0.01。さらに、冠動脈疾患合併高血圧群（n=97）においては非合併高血圧群（n=217）に比して血中Lp(a)値はより有意に大であった(31.6±2.8 mg/dl vs 22.6±1.5 mg/dl、$p<0.01$)。一方、冠動脈心疾患合併正常血圧群(n=52)と非合併正常血圧群　(n=104)とにおいては血中Lp(a)値はほぼ同等であった（15.2±0.5 mg/dl vs 15.7±2.0 mg/dl、n.s.)。

【考察】正常血圧群に比して高血圧群で血中Lp(a)値が高値であったことより、高血圧患者においては高Lp(a)血症に起因する動脈硬化性疾患のリスクが正常血圧者に比べてより高いと考えられ、またこの動脈硬化自体により血圧上昇をきたしている可能性も推察された。さらには、高血圧病期分類において病期の重症度に比例して血中Lp(a)値が高値であったことから、高血圧臓器合併症の発症・進展における高Lp(a)血症の関与が示唆された。従来より、Lp(a)が冠動脈疾患の危険因子であるとの報告が多数なされてきたが、否定的な報告も散見され現在のところ意見の一致をみない。今回のわれわれの検討においては、正常血圧群においては、冠動脈疾患の有無において血中Lp(a)値に差を認めなかったため、正常血圧者における冠動脈疾患にLp(a)が関与している可能性は少ないと考えられた。一方、高血圧患者においては冠動脈疾患を有する群において、血中Lp(a)値がより高値であり、Lp(a)が高血圧患者においては高血圧臓器合併症としての冠動脈疾患の発症・進展に関与している可能性を示唆すると考えられた。

**75**

# 早期の高血圧臓器障害としての無症候性脳梗塞
## -脳ドックを用いた40-50才代での検討-

大阪大学医学部第一内科　　寶學英隆、人野忠芳*、伊藤泰司、橋本弘行、
IR健康管理システム*　　坂口　学、松本昌泰

［結論］40-50才代の無症候性脳梗塞（SCI）初期発現年代における検討で、各種脳卒中危険因子のなかで、梗塞発現に唯一密接に関与する危険因子は高血圧であった。また、各種高血圧性臓器障害のなかで、心、腎など他の臓器障害の発現に比し、脳の細動脈硬化性変化が最も初期に出現する可能性を認めた。

［目的］既に我々は、SCIが、高血圧性臓器障害の一型であり、高齢で臓器障害を伴う高血圧例に高率に出現し、その本体は、脳内穿通枝領域に多発する小梗塞であることを明らかにした（Hypertension 1992; 20: 816-820）。しかし、諸家の研究も含め、これまでの検討の対象は、危険因子を多数有する高齢者についてが主であり、SCI初期発現年代である40-50才代において、いかなる危険因子が梗塞発現にどう関わっているかを明らかにした研究は少ない。一方、我々の研究（Am. J. Physiol. 1995; 286: H1418-1421）も含め、高血圧性臓器障害は脳内細動脈の変化から現れるとする報告も多い。今回、我々は、SCIの初期発現に及ぼす高血圧の役割を究明するため、無症候性脳梗塞初期発現年代である40-50才代の脳ドック例を検討し、他の高血圧性臓器障害との関係を検討した。

［方法］脳ドック施設を受診した神経学的に異常を認めない40-50才代の連続237例（高血圧例45例51.9±4.0才、正常血圧例192例50.5±5.3才、平均年齢±SD）を対象とした。高血圧は、安静坐位血圧≧140/90mmHgの例か降圧薬服用例とした。全例に頭部MRI検査（0.5T、8mmスライス）を施行し、T1、T2強調像で延長する径5mm以上の局所的な病変を脳梗塞病変として診断した。この定義を満たさないMRI上の脳内微細変化（血管周囲腔の拡大を含む: UBO）、側脳室周囲高信号域（PVH）、脳萎縮（BA）に関しても同時に評価した。各種脳卒中危険因子（年齢、性別、ヘマトクリット高値、高脂血症、糖尿病、飲酒、喫煙）の有無や程度を評価するとともに、脳以外の臓器障害の有無（心電図上の左室肥大、尿蛋白陽性、血清クレアチニン高値）に関しても検索した。

［成績］対象全例におけるSCI合併率は6.8%であった。高血圧例におけるSCI合併率は20%であり、正常血圧例における3.6%に比し有意に高値を呈した（p<0.01）。収縮期・拡張期血圧は、ともにSCI発現に有意に関与した（それぞれp<0.05）。他の危険因子はSCI発現に有意な関与は示さなかった。多変量解析の結果からもSCI発現に有意に独立して関与する危険因子は高血圧のみであった（p<0.001）。他の臓器障害に関しては、全対象における尿蛋白陽性率は7.5%、血清クレアチニン高値（1.2mg/dl以上）の率は11.8%とSCIの合併率に比し高値を呈したが、それらの発現と高血圧との間に有意な関係は観察されなかった。左室肥大は高血圧と有意に関与した（p<0.05）が、発現率は1.7%と低値に留まった。一方、UBOは対象全体の29.5%に認められ、やはり高血圧のみが有意に独立して関与した（p<0.001）。PVHは2%に、BAは1.3%にのみ認めた。PVHの発現には、SCIやUBOと同様、高血圧の強い関与を認めた（p<0.001）が、BAの発現における高血圧の関与は有意でなく、40-50才代という限られた年代の検討であるにもかかわらず、加齢の影響が有意に関与した（p<0.05）。

［考察］過去の我々の高齢者における検討では、SCI発現には、高血圧、加齢、心房細動、糖尿病、頚動脈病変など症候性脳梗塞同様に多様な危険因子が関与し、また、危険因子が多数合併するほどその発現率は高くなった（Stroke1994;25:566-570）。しかし、一般住民に近い対象と思われる脳ドック例においての検討で、しかもSCIが初期発現する年代での検討においては、高血圧のみが密接に関与した。この結果は、脳卒中発作の前段階であると考えられるSCIの初期発現の予防と進展阻止に中・壮年代からの適切な高血圧管理が重要である可能性を示している。一方、これまでは、症候を呈して初めて臓器障害として確認できた脳の臓器障害を、MRIを用いることによりSCI、UBOやPVHの形として計測できることが明らかになった。特にSCIやUBOはその高合併率であるがゆえに、脳の細動脈硬化性変化が他臓器の障害に比し早期の時点で障害を受ける事実が明らかとなり、この事実は今後の老年医療に重要であると考えられた。

# 76　高血圧患者における脳心事故発症前の降圧治療と危険因子

国立循環器病センター内科　南　順一、河野雄平、牧野百合子、野々木宏、山口武典、瀧下修一

【結 論】治療中の高血圧患者についての解析で次のことが判明した。脳卒中とくに脳出血の1次予防には降圧の徹底が重要である。一方、心筋梗塞の発症者の拡張期血圧は非発症者より低かった。心筋梗塞発症者には糖・脂質代謝異常や喫煙歴を有する場合が多く、これらの危険因子のコントロールが必要である。降圧薬の種類が脳心事故の発症に影響を与える可能性については更に検討が必要である。

【目 的】脳卒中あるいは心筋梗塞を初回発症した高血圧患者と、非発症の高血圧患者の血圧の経過と他の危険因子を比較し、1 次予防のために適切な治療方法について検討する。

【方 法】過去5年間('91-'95年)に脳卒中あるいは心筋梗塞を初回発症し、当施設の脳卒中あるいは冠動脈疾患集中治療室に入院した高血圧患者のうち、発症前に少なくとも当院の外来で1年以上高血圧の治療を受けていて血圧の記録がある者と、これらの患者と性と年齢を対応させた脳卒中あるいは心筋梗塞の既往がない高血圧患者の1年間の血圧の経過、各種代謝指標等を比較検討した。脳卒中発症者(S群)は56名(男32名, 女24名)、年齢52-91歳(平均71±1歳, mean±SE)、心筋梗塞発症者(M群)は42名(男27名, 女15名)、年齢47-87歳(69±1歳)、対照患者(C群)は98名(男59名, 女39名)、年齢51-86歳(69±1歳)であった。統計処理は主に分散分析(要因分析)によった。

【成 績】高血圧の罹病期間は3群とも18年前後で差がなく、BMIはS群がC群より有意に小さかった(22.3±0.4 vs 24.0±0.3 kg/m$^2$)。発症前1年間の外来血圧の平均は、S群: 149±2/83±1 mmHg、M群: 147±2/81±2 mmHg、C群: 146±2/84±1 mmHgで、M群の拡張期血圧はC群より有意に低かった(P=0.02)。収縮期血圧はS群>M群>C群であったが有意差はなかった。S群の病型別の検討では、アテローム血栓性梗塞患者(ATBI群, n=20): 146±3/81±2 mmHg、ラクナ梗塞患者(n=12): 153±4/83±3 mmHg、脳塞栓患者(n=16): 147±2/83±1 mmHg、脳出血患者(BH群, n=8): 156±5/89±2 mmHgであり、BH群がATBI群より有意に高かった(P=0.04)。発症1ヵ月前の血圧の検討でも結果は同様であった。M群で狭心症の既往を有する者は62%とS、C群より有意に多かった。空腹時血糖はS、M群ともにC群より有意に高く(S群: 116, M群: 126, C群: 102 mg/dL)、HDLコレステロールはM群がC群より有意に低かった(S群: 53, M: 47, C群: 57 mg/dL)。M群で喫煙歴を有する者は70%とS、C群より有意に多かった。降圧薬は、S群で利尿薬(S群: 32%, M群: 23%, C群: 21%)とアンジオテンシン変換酵素阻害薬(S群: 30%, M群: 15%, C群: 14%)の使用が多く、ベータ遮断薬(S群: 23%, M群: 38%, C群: 34%)の使用が少ない傾向が認められ、M群でカルシウム拮抗薬(S群: 72%, M群: 85%, C群: 69%)の使用が多い傾向が認められた。

【考 察】これまでに、高血圧患者における脳心事故発症の危険因子についての研究報告は多くなされているが、同一施設にて通院治療中の高血圧患者について、脳卒中あるいは心筋梗塞を初回発症した場合の降圧治療や危険因子に関する研究報告は少ないと思われる。今回のわれわれの検討により、脳卒中とくに脳出血の1次予防には降圧の徹底が重要であることが確認された。しかし、脳卒中の病型によっては、あるいは心筋梗塞においては、降圧の徹底が必ずしも1次予防に有効でない場合があり得ることが示唆された。降圧薬の種類別の検討では、心筋梗塞発症者にカルシウム拮抗薬の使用が多いなど3群間で差異が認められた。しかし、心筋梗塞発症者に狭心症の既往が高率であるなど患者の臨床背景も3群間で差異が認められた。したがって、降圧薬の種類が脳心事故の発症に影響を与える可能性については更に検討が必要であると考えられる。

# 77 頸動脈壁厚と左室肥大：肥大型心筋症と高血圧性心肥大との鑑別

九州大学医学部第二内科　大屋祐輔、阿部　功、藤井弘二、尾中宇蘭、藤島正敏
福岡日赤病院循環器科　小林和夫

【結論】超音波断層法により測定した肥大型心筋症の頸動脈内膜中膜厚は、正常血圧者のそれと差がなかった。頸動脈内膜中膜厚は高血圧性左室肥大と強く関連しており、その計測は高血圧性左室肥大と肥大型心筋症の鑑別に有用であると考えられた。

【目的】超音波断層法による頸動脈の内膜中膜厚は高血圧者で増大し、心臓超音波断層法による左室壁厚や左室心筋重量と相関することが報告されている。肥大型心筋症は高血圧を伴わず心筋壁が異常に肥厚する病態であるが、血管壁にも構築変化が生じるか否かについては明らかでない。本研究では、職域集団の男性職員を対象に、左室壁厚と頸動脈内膜中膜厚との関係を正常血圧者、高血圧者、および肥大型心筋症患者で検討し、1）肥大型心筋症で動脈壁に異常がみられるか、2）頸動脈内膜中膜厚が高血圧性左室肥大と肥大型心筋症の鑑別診断の補助検査になりうるかについて検討を行った。

【方法】職域の全男性職員7940人を対象に、問診、心電図、血圧測定による1次スクリーニングを行い、この中の1074人に心臓と頸動脈の超音波断層法および負荷心電図による2次スクリーニングを行った。このうち、肥大型心筋症16名と弁膜症、虚血性心臓病、拡張型心筋症、スポーツ心臓のない750名（正常血圧者364名、高血圧者386名）について解析を行った。今回の検討では、高血圧をはじめとする左室肥大を来す疾患を有さず、左室中隔厚が15mm以上の非対称性心室中隔肥大（ＡＳＨ）を有する者を肥大型心筋症とした。心尖部肥大型心筋症（6名）、ＡＳＨを伴う15mm以上の肥厚は認めるものの高血圧歴のあるもの（15名）、高血圧歴がなく15mm以上の肥厚を認めるがＡＳＨのないもの（2名）は、今回の解析より除外した。さらに、高血圧者のうち、左室中隔厚が13mm以上と明らかに肥厚している高血圧肥大群（74名）と13mmより小さい高血圧群（312名）に分類した。心臓超音波断層法はＢモードガイド下にＭモードで記録し、左室形態はPenn Convensionに従い計測した。Ｍモード記録が困難であった一部の肥大型心筋症例では２Ｄ、Ｂモード法により測定した。頸動脈超音波断層法はＢモードで記録し、両総頸動脈の内頸動脈外頸動脈分岐部より1cm～3cm近位部の遠位側で内膜中膜厚を測定した。

【結果】肥大型心筋症群と他群との間で、年齢、ヘモグロビンA1c、総コレステロール値、喫煙者の割合に差を認めなかった。一方、肥大型心筋症群は正常血圧者群に比較し体重および体表面積が大であった。頸動脈内膜中膜厚は正常血圧者（0.60±0.10mm; mean±SD）で高血圧群（0.66±0.11mm）と高血圧肥大群（0.70±0.13mm）に比較し有意に薄かった。肥大型心筋症群の内膜中膜厚（0.61±0.08mm）は、正常血圧群と有意差なく、高血圧肥大群に比較し有意に小さかった。肥大型心筋症および降圧薬、糖尿病治療薬、高脂血症治療薬を服用するものを除いた580名について行った重回帰分析では、内膜中膜厚には、年齢、血圧、体表面積、総コレステロール値、ヘモグロビンA1cが、左室壁厚には年齢、血圧、体表面積がそれぞれ独立に相関を有していた。内膜中膜厚と心室中隔厚との相関図では、正常血圧者と高血圧者は同一の直線に沿った分布を示したが、肥大型心筋症例はその95%信頼限界外に分布した。

【考察】肥大型心筋症の頸動脈内膜中膜厚は正常血圧者と差がなかった。これは、肥大型心筋症において心筋壁の肥厚を引きおこす要因が、血管壁の構築には関与しないことを示している。一方、既報のように、正常血圧者と高血圧者では、内膜中膜厚に対して、年齢、血圧、体表面積、コレステロール値、ヘモグロビンA1cが独立に正の相関を有していた。このうち、年齢、血圧、体表面積は左室壁厚とも相関を有すること、また、左室壁厚と内膜中膜厚は強い相関を有することより、内膜中膜厚は初期動脈硬化の指標としてのみならず、高血圧の臓器障害の指標としても有用と考えられた。とくに、心筋の異常な肥大を認めた際に、その肥大が高血圧によるか否かの推定に、頸動脈内膜中厚の測定は簡便な補助検査になりうると考えられた。

# 78　本態性高血圧症の左室形態と頸動脈・細動脈構造異常、体液性因子との関係

富山医科薬科大学第２内科　安本耕太郎、高田正信、富田　新、上野　均、供田文宏、泉野　潔、井上　博

【結論】求心性左室肥大群では、前腕最小血管抵抗および特性弾性係数の増大があり、高血圧による構造的変化が左室－動脈系で連関することが明らかとなった。また、壁厚増大に伴い左室拡張能は低下し、ANPおよびBNPは増加していた。遠心性左室肥大群では、圧負荷に加えて体液貯留による容量負荷の増大が左室肥大に大きく関与しているものと考えられた。求心性左室再構築群には臨床的特徴は少なかった。

【目的】本態性高血圧症（EHT）における左室肥大（LVH）は慢性の圧負荷に対する適応と考えられるが、肥大の程度や左室形態の変化は一様ではない。この原因として体液性因子や循環動態の差、心筋細胞のcontractilityの違い等の関与が示唆されているが、これらと左室形態との関係については明らかでない。本研究では、左室形態を４群に分類し、左室形態と体液性因子および血管の機能的・構造的特性との関係を検討し、その特徴を調べた。

【方法】外来時血圧が160/95mmHg以上の軽・中等症の未治療EHT143例（男性74例、女性69例、平均年齢48歳）を対象とした。朝絶食のうえ安静臥位にて断層心エコードにＭモード心エコー図を施行し、左室重量係数（LVMI：Penn法）と相対的壁厚（RWT）を求め、LVMI；男性111g/m$^2$、女性106g/m$^2$、RWT；0.44をcutoff値とし、左室形態をDevereuxらによる正常左室群（Normal LV：N）、求心性左室再構築群（Concentric LV remodeling：CR）、遠心性左室肥大群（Eccentric LVH：EH）、求心性左室肥大群（Concentric LVH：CH）の４群に分けた。また、左室収縮能として短縮率（%FS）を求め、左室拡張能として僧帽弁E/A比（E/A）を超音波Doppler法にて測定した。細小動脈の構造指標（中膜/内腔比）として前腕最小血管抵抗（MVR）をStrain gauge plethysmography法にて測定した。弾性血管の構造指標として総頸動脈の特性弾性係数（β）を位相追従型超音波変移計にて計測した。安静臥位60分後に採血し、血漿レニン活性（PRA）および血中アルドステロン濃度（PAC）をラジオイムノアッセイ法により、血漿ノルエピネフリン濃度（PNE）および血漿エピネフリン濃度（PE）を高速液体クロマトグラフィーを用いTHI法により測定した。また、心房性および脳性ナトリウム利尿ペプチド（ANP、BNP）をイムノラジオメトリックアッセイ法により測定した。

【成績】症例数はN群60例（42%）、CR群21例（15%）、EH群32例（22%）、CH群30例（21%）で、各群の年齢構成や男女比には差はなかった。血圧はN群158±11/100±8、CR群162±12/104±7、EH群166±11/101±9、CH群177±21/105±7mmHgであり、CH群の収縮期血圧はN群に比し有意（$p<0.05$）に高値であった。%FSはEH群において低下の傾向が、E/AはCH群において低下の傾向が認められた。MVRはN群1.7±0.5、CR群1.7±0.3、EH群1.7±0.6、CH群2.1±0.6PRUとCH群において有意（$p<0.05$）な増加が認められた。βはN群N群10.8±4.0、CR群11.2±4.8、EH群11.6±3.7、CH群13.7±3.7とCH群において有意（$p<0.05$）に増加していた。PRAはEH群において低下の傾向があり、ANPおよびBNPはCH群において増加の傾向が認められた。PAC、PNE、PEには４群間に差がなかった。

【考察】本態性高血圧症における左室形態変化の分布は従来の報告と類似していたが、求心性左室肥大群においてMVRおよびβの増大がみられた。これは細小動脈ならびに大動脈の構造的異常の存在を示しており、圧負荷の増大による構造的変化が左室－動脈系において連関しているものと考えられた。また、求心性左室肥大群では、E/Aが低下傾向を示していることより壁厚増大による左室拡張能の低下があり、肥大に伴いANPとBNPは増加傾向を示していた。一方、遠心性左室肥大群ではPRAの抑制と%FSの低下があり、圧負荷に加えて体液貯留による容量負荷の増大が左室収縮能の低下および左室肥大に大きく関与しているものと考えられた。また、求心性左室再構築群には、遠心性左室肥大群および求心性左室肥大群に比し、特徴的な臨床像は認められなかった。

# 79　本態性高血圧患者における腎動脈硬化性変化の腎血流ドプラ法による計測意義

大阪大学　第一内科　○伊藤泰司、半田伸夫、寶學英隆、飯地　理、橋本弘行、坂口　学、松本昌泰.

**【結語】** 腎血流ドプラ法にて測定された臓器血管抵抗の指標であるRI (resistive index) 値は、腎動脈硬化 (RA; renal arteriosclerosis) による腎機能障害の血行動態面からの指標として有用であった. また, RI値の異常は心臓・頚動脈などの大血管系の器質的変化とより関係が深いと推察された。

**【目的】** 超音波ドプラ法による腎動脈血流速測定は、腎血管性高血圧の診断[1]や急性腎不全の予後判定、さらにRAの評価に有用と考えられている。本態性高血圧患者においては臓器障害の一つとしてRAが見られるが、本法はRAの経時的変化を非侵襲的に短時間で定性的に計測できる可能性がある。今回我々は、本法にて計測された血流速より求められる指標で, 末梢血管抵抗と関係が深いRI値を使ってRAの早期診断への有用性を検討した。さらに, このRI値と腎以外の高血圧性臓器障害（頚動脈の早期動脈硬化の評価に有用な頚部B-mode法を含む[2]）との関係についても加えて調べた。

**【方法】** RI値の正常範囲は22例の健常者 (30.2 ± 5.6 歳) より設定した。対象は血清creatinine値が 1.5 mg/dL以下で、WHO stage I or IIの未治療本態性高血圧患者107例 (51.5±14.5 歳)とし、全例に腎血流ドプラ検査を施行した。方法は、患者を腹臥位にして背部より超音波にて腎臓を描出した後に、カラードプラ法にて腎主幹動脈・葉間動脈を同定して、左右それぞれ３血管以上の腎動脈血流速を測定した[1]。上記の方法で測定された血流速の値から、RI 値［(収縮期最高血流速ー拡張末期血流速)／収縮期最高血流速］を計算して左右それぞれの腎臓のRI値の平均値を求めた後に、左右のRI値の平均値をその個人のRI値とした。高血圧性臓器障害の評価としては、心電図・眼底検査・蛋白尿の有無・血清BUN, creatinine値・CCr (creatinine clearance) などを測定すると共に、一部の例では頚部B-mode法 (n=81例) で頚動脈病変を調べた。頚部B-mode法は、Handaらの報告[2]に従って, 頚動脈壁厚 (内膜中膜複合体厚) が1mmを越える病変をplaqueとし、病変厚の総和を plaque score (PS) 値として個人の頚動脈硬化の代表値として表現した。

**【成績】** 健常者22例のRI値は 0.59 ± 0.05 で、どの症例も0.7 (mean + 2S.D.) を越えることはなく、左右差はいずれも0.05以下であった。以上より、RI<0.7を正常範囲とした。RI値は、眼底所見・蛋白尿の有無・血清creatinine値・性別とは有意な関係はなかったが、年齢 (R=0.43; p<0.01) および血清BUN値 (R=0.32; p<0.01) とは正相関を、またCCr (N=59, R=-0.29; p<0.05) とは負相関を認めた。RI 値異常 (RI≥0.7; n=27) は、心電図正常群 (13.8%, 8/58) に比して、左室肥大・myocardial change などの心電図異常群 (38.8%, 19/49) に高率に見られた (p<0.01)。またRI値は、頚部B-mode法によるPSとの間に有意な正相関を認めた (R=0.635, p<0.01)。

**【考察】** 既存の報告[3]では、腎病理所見においてRI値の上昇はarteriosclerosisなどの非特異的血管障害と関係が深いと結論づけている。今回我々は非侵襲的な超音波検査が、高血圧患者における腎機能障害の評価法になりうるかを検討した。RI値は腎機能障害の一般的な指標であるCcr値・BUN値と有意な関係を認め、本法は動脈硬化による腎機能障害の血行動態面からの評価法になりうると考えられた。また、RI値異常のみでは眼底などの細動脈の動脈硬化性変化とは有意な関係はなかったが、心臓および頚部頚動脈などの大血管の動脈硬化性変化と有意な関係があったことより、RI値の変化は大血管系の器質的変化との関係が深いと考えられた。今後は、患者個々の腎機能の経時的変化をRI値で観察できるかを調べるとともに、腎血管拡張剤などの使用によるRI値の反応性を加えることで、腎動脈系の応答能の変化がとらえうるかを検討する必要があると思われた。

**【文献】**

1) Handa N, et al. Ultrasound Med Biol. 1986; 12: 945-952.
2) Handa N, et al. Stroke. 1990; 21: 1567-1572.
3) Mostbeck GH, et al. J Ultrasound Med. 1991; 10: 189-194.

# 80　高解像超音波検査により検出された頸動脈所見と高血圧との関連

国立循環器病ｾﾝﾀｰ集団検診部　万波俊文，西　信雄，馬場俊六

愛媛大学公衆衛生学教室　小西正光

**【結論】** 高解像超音波検査により検出した頸動脈硬化病変と血圧との間に有意な関連を認め，最近欧米で報告され始めた収縮期の総頸動脈径と血圧との間にも有意の関連を認めた。また総頸動脈径と動脈硬化との間に強い関連を認め，高血圧による頸部動脈初期障害の1つとして総頸動脈径の拡大が示唆された。

**【目的】** 大都市部一般住民において高血圧と高解像超音波装置により検出した頸部動脈硬化病変，及び総頸動脈径との関連を検討する。

**【方法】** 対象は大阪府S市一般住民からの無作為抽出者で，平成6年4月～平成8年2月の間に国立循環器病ｾﾝﾀｰで検診を受け，しかも脳卒中・虚血性心疾患の既往のない50～79歳の男性570名，女性634名の計1204名である。装置は，東芝SSA-250Aを用い，検索範囲は両側頸動脈のbifurcation bulb(BB)起始部より近位30mm～内頸・外頸動脈分岐点より遠位15mmの間の領域とした。動脈硬化指標としては下記の3つを用いた。すなわち1，BB起始部より近位10mmの地点でのIntimal-Medial Thickness (IMT)の値；(PIMT)。2，検索領域でIMTが1.1mm以上ある場合をﾌﾟﾗｰｸありとした時の左右のﾌﾟﾗｰｸの総数；(Plaque Number，PN)。3，左右のﾌﾟﾗｰｸの最大壁厚の総和；(Plaque Score，PS)。及びBB起始部の収縮期の血管径（総頸動脈径，CCD）を測定した。血圧値は，検診受診時第2回目の右上腕座位での値を用い，これと高血圧治療状況により正常群（NT群：SBP<140mmHg and DBP<90mmHg），境界域群（BHT群：160>SBP≧140 and/or 95>DBP≧90），高血圧群（HT群：SBP≧160 and/or DBP≧95 または治療中）の3群に分けて群間比較をおこなった。

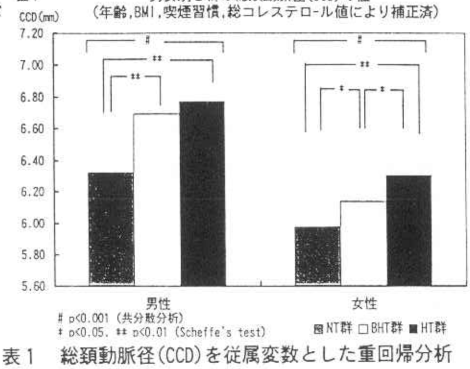
**【成績】** 1，年齢，Body Mass Index(BMI)，喫煙習慣，総ｺﾚｽﾃﾛｰﾙ値を共変量とした共分散分析の結果，血圧が高い群ほど全ての動脈硬化指標（PIMT・PN・PS）及び総頸動脈径（CCD）が増加する傾向を有意に認め，2群間比較（Scheffe法）により，男性では全ての動脈硬化指標，及びCCDにおいてNT群とBHT群，NT群とHT群との間に有意差（p<0.01）を認め，女性ではPIMTにおいてNT群とHT群との間に，PN・PSにおいてNT群と HT群，BHT群とHT群との間に，CCDにおいては3つの全ての群間に有意差（p<0.05）を認めた。（図１）

２，3つの動脈硬化指標（PIMT・PN・PS）及び総頸動脈径（CCD）を従属変数とし，年齢，BMI，喫煙習慣（箱/日×年数），飲酒習慣（合/日），収縮期血圧値（SBP），総ｺﾚｽﾃﾛｰﾙ値，HDLｺﾚｽﾃﾛｰﾙ値，中性脂肪値，空腹時血糖値を独立変数とする重回帰分析の結果，男女ともにPIMT・PN・PSとは年齢，SBPが有意に関連し（p<0.05～p<0.0001），CCDとはBMI，SBP，喫煙習慣が有意に関連していた（p<0.05～p<0.0001）。（表１）

３，男女とも3つの動脈硬化指標の間に有意の相関関係（PIMTとPNとの間；r=0.708～0.711，p<0.001，PIMTとPSとの間；r=0.707～0.712，p<0.001，PNとPSとの間；r=0.957～0.978，p<0.001）を認め，更に男女とも総頸動脈径と3つの全ての動脈硬化指標との間に有意の相関関係（PIMT；r=0.222～0.233，p<0.001，PN；r=0.174～0.188，p<0.001，PS；r=0.167～0.183 p<0.001）を認めた。

**【考察】** 今回のcross-sectional studyにより頸動脈硬化と高血圧との間に強い関連を認めたことから，従来細動脈硬化との関連が強いと指摘されている高血圧は，細動脈硬化だけではなくもっと太い動脈の動脈硬化とも強い関連があることが示唆された。また本検査は，非侵襲性，簡便性，及びほとんどの対象で良好なデータが得られることより動脈硬化評価の有力な検査として検診での今後の用途が考えられる。

図1　男女別３群の総頸動脈径（CCD）の値（年齢，BMI，喫煙習慣，総コレステロール値により補正済）




# p<0.001 (共分散分析)
* p<0.05, ** p<0.01 (Scheffe's test)

表１　総頸動脈径（CCD）を従属変数とした重回帰分析

| | 男性 | | 女性 | |
|---|---|---|---|---|
| 独立変数 | β | p | β | p |
| 年齢（歳） | 0.0511 | 0.2926 | 0.1786 | 0.0000 |
| BMI(kg/m²) | 0.2020 | 0.0001 | 0.1986 | 0.0000 |
| 収縮期血圧値(mmHg) | 0.2790 | 0.0000 | 0.2309 | 0.0000 |
| 空腹時血糖値(mg/dl) | -0.0861 | 0.0740 | 0.0121 | 0.7834 |
| 総ｺﾚｽﾃﾛｰﾙ値(mg/dl) | -0.0990 | 0.0486 | | 0.9538 |
| HDLｺﾚｽﾃﾛｰﾙ値(mg/dl) | 0.0511 | 0.3686 | -0.0402 | 0.4203 |
| 中性脂肪(mg/dl) | | 0.9855 | -0.0429 | 0.3954 |
| 喫煙習慣（箱/日×年数） | 0.1346 | 0.0038 | 0.0971 | 0.0237 |
| 飲酒習慣（合/日） | 0.0901 | 0.0815 | -0.0148 | 0.7309 |
| Multiple R | 0.3902 | | 0.4003 | |

81

# 高血圧における心自律神経機能と頸動脈コンプライアンスおよび心肥大の関連：カルシウム拮抗薬およびACE阻害薬の効果

帝京大学医学部
第三内科

冨山博史、佐久間義弘、塩島功一郎、渡辺剛毅、
西川英輔、石川康朗、吉田秀夫、道場信孝

【結論】高血圧における自律神経機能障害は、左室肥大の程度より頸動脈コンプライアンスの障害とより密接に関連する。降圧薬の自律神経機能および頸動脈コンプライアンスに与える影響は薬剤により異なり、ACE 阻害薬は、自律神経機能および動脈コンプライアンスを改善するが、カルシウム拮抗薬ではこのような効果を認めなかった。

【目的】心拍変動の減少や圧受容体反射感受性の低下は、虚血性心疾患、心不全における予後不良の危険因子である。我々は虚血性心疾患における圧受容体反射感受性低下に頸動脈伸展性低下が関連することを報告した (Am J Cardiol, 1996, July)。高血圧症でも心拍変動の減少、圧受容体反射感受性低下、頸動脈伸展度低下が合併するとされるが、血圧高や心肥大と、これら指標の関連の有無や、各降圧薬が自律神経機能に与える影響は明確でない。本研究は、高血圧における血圧高、心肥大、心拍変動、圧受容体反射感受性、頸動脈伸展性に対するカルシウム拮抗薬と ACE 阻害薬の効果について検討した。

【方法】未治療高血圧 37 例 (56 ± 4 才) の心拍変動、圧受容体反射感受性、心肥大、頸動脈伸展性、および心肥大の程度を評価した。心拍変動は 24 時間 Holter 心電図記録より Marquette 8500 system を用いて Frequency domain 解析を行い High frequency power (HF)、 Low frequency power (LF) を求めた。圧受容体反射感受性 (BRS) は Colin 社 Jento による非観血的血圧測定と心電図の同時記録より、 Smyth 法での Phenylephrine 静注にて算出し、頸動脈伸展度 (CAE) は 7.5MHz エコー M−mode 記録および同時測定の血圧より、そして心肥大は M−mode 心エコー記録より左室心筋重量係数 (LVMI) として算出した。さらに、これら対象は無作為に 2 群分け、カルシウム拮抗薬 (Manidipine)、または ACE 阻害薬 (Delapril) が処方された。そして 20 週後、再度、上記指標の評価を行った。

【結果】治療開始前に、CAE は、HF、 LF、 BRS と各々 r=0.52、 r=0.54、 r=0.50 の有意な正相関を示した。 LVMI は HF、 LF と r=−0.30、r=−0.30 の負相関を示したが、 BRS とは相関を認めなかった。降圧薬処方により、両薬剤とも有意な同程度の血圧下降と心肥大の改善を示した。すなわち Manidipine(n=19): 血圧 =159 ± 13/97 ± 3 → 135 ± 7/83 ± 5 mmHg, LVMI=137 ± 25 → 126 ± 19g/m $^2$, Delapril(n=18): 血圧 =158 ± 7/96 ± 3 → 136 ± 5/86 ± 3 mmHg, LVMI=138 ± 28 → 124 ± 16g/m $^2$。 Delapril は、 HF{4.6 ± 0.8 → 4.8 ± 0.8 In(msec)}、 LF{5.6 ± 0.7 → 5.8 ± 0.7 In(msec)}、 BRS(5.0 ± 1.9 → 5.6 ± 1.7 msec/mmHg)、 CAE(2.1 ± 0.8 → 2.5 ± 1.0 %kPa) といずれも有意に改善したが、 Manidipine ではいずれの指標にも有意な変化を認めなかった。全症例において治療に伴う CAE 変化率は、 BRS の変化率と r=0.43 の有意な相関を示した。

【考案】従来の研究では、高血圧に合併する心臓自律神経機能異常は、左室肥大合併症例で顕著であることが報告されていたが、本研究で、自律神経機能異常が左室肥大より動脈コンプライアンスの障害される病態と密接に関連することが示唆され、高血圧の病態評価に動脈コンプライアンスの評価が有用な指標になると考えられた。カルシウム拮抗薬、 ACE 阻害薬ともに同程度の降圧および左室肥大の改善を示したが、自律神経機能の改善および頸動脈コンプライアンスの改善は ACE 阻害薬でのみ認められた。今回の検討は、降圧薬による降圧効果および左室肥大改善効果が同等でも動脈コンプライアンスや自律神経機能に及ぼす効果は、薬剤で異なることが示された。 ACE 阻害薬による動脈コンプライアンスおよび自律神経機能改善の機序の詳細については不明であるが、圧受容体反射感受性と動脈コンプライアンスの両者の改善の度合いに相関があることより、動脈コンプライアンスの改善が自律神経機能の改善に関与する可能性が示唆された。

**82**

# 本態性高血圧症患者への運動療法処方における一考
## ～トレッドミル運動負荷試験時の尿中微量アルブミン動態より～

東京慈恵会医科大学
内科学講座第二

家口慶彦，小林英之，林　文宏，徳留悟朗，
内田浩之，中村宏二，友成治夫，栗山　哲，
橋本隆男，酒井　紀

【結論】本態性高血圧症患者におけるトレッドミル運動負荷試験（TMET）時の微量アルブミン尿増加率は心血管合併症の一つの指標として有用であると考えられた。軽症高血圧症での運動療法処方に際して運動負荷時に尿中微量アルブミン排泄量が増加する症例では、過度の運動療法は心臓・腎臓への長期的負荷の一因となりうる可能性が示唆され、その処方には十分な配慮が必要と考えられた。

【目的】近年、本態性高血圧症に対する運動療法の有用性が見直され、本年度より高血圧症に対する運動療法処方が保険適応となった。軽症高血圧において運動療法により降圧することが知られているが、全ての症例が同様の運動処方の適応となるのか否かについては未だ検討の余地がある。一方、本態性高血圧症患者における腎障害合併症における尿中微量アルブミン（mAIb）の意義については未だ十分に解明がなされていない。また運動負荷時の尿中mAIb増加度（△mAIb）は、心血管系合併症発症との関連が示唆されており、高血圧症に対する適正運動処方の一助となる可能性が期待される。本研究ではTMET時のmAIb動態と各種パラメーターについて比較検討し、その臨床的意義を明らかにした。

【方法】顕性蛋白尿を有さない未治療高血圧症患者（WHO分類Ⅰ期、Ⅱ期）30名（HT群；50.6±8.6歳）、および正常血圧者10名（NT群；46.1±8.3歳）を対象とし、全例に超音波断層エコー検査、眼底検査、TMETを行った。TMET施行時には経時的に血漿PRA、PAC、ADR、NOR、ANP、BNPを測定し、さらに負荷前後で蓄尿を行い尿中電解質、mAIb、β2MG、NAGを測定した。そして得られた各種パラメータと負荷前mAIb（pre-mAIb）、△mAIbとの相関について検討した。

【成績】(1) pre-mAIbはHT群（26.1±10.8ug/min）、NT群（15.1±8.1ug/min）と2群間で有意な差を認めなかった。(2) HT群、NT群ともにTMETによりmAIb排泄量は増加したが、HT群で△mAIbは有意に高かった（HT：116.4±42.5ug/min, VS, NT：14.9±12.5ug/min：$p<0.05$）(3) pre-mAIbはLVMIと相関を認めなかったが、△mAIbはLVMIと相関を認めた（$p<0.001$）(4) 負荷前BNP（pre-BNP）はLVMIと相関を認めなかったが、△BNPはLVMIと相関を認めた（$p<0.01$）。一方、ANPは負荷前および増加率ともLVMIとは相関を認めなかった。(5) 遠心性肥大（EH）群は正常（NL）群、求心性リモデリング（CRM）群に比し、TMET時のST低下の頻度が大であった（$p<0.05$）(6) △mAIbは、眼底所見（高血圧性眼底所見）を含むその他各種パラメーターとは相関を認めなかった (7) pre-mAIb低値の症例においても、心筋肥大、高血圧性眼底変化を合併した症例では△mAIbは大きかった。

【考察】本態性高血圧患者において日常的な好気的運動により降圧効果が期待できることは、これまでの多くの臨床研究より明らかとなっている。運動療法の施行に際しては種々の臓器障害の程度や高血圧以外の心血管系危険因子を評価することが心要と考えられる。1984年Mogensenらは NIDDM患者での運動後尿蛋白量増大とDM腎症進行との関連について、一方1988年Yudkin, Samuelsonらは本態性高血圧症患者における尿中mAIbと心血管疾患の罹患率，死亡率との関連について報告した。そこで我々は尿中mAIbに着目し、運動負荷前後のmAIb動態について検討することにより上記の結果を得た。運動負荷時の尿中mAIb増加の原因としては、糸球体濾過率（FF）の上昇に代表される腎血行動態の変化とR-A-A系亢進・cathecolamine活性化などの分泌環境の変化が考えられる。高血圧症患者におけるTMET運動負荷時の微量アルブミン尿増加が△BNP, LVMIと有意な正相関を示したことより心血管系合併症の一つの指標として有用であると考えられた。軽症高血圧症においても、運動負荷時に尿中微量アルブミン排泄量が増加する症例での過度の運動療法は長期的な心臓および腎臓への負荷を考慮するとその運用に十分な注意を要する。

# 83



大阪市立大学医学部
産科婦人科学教室
和泉市立病院産婦人科＊

友田昭二、荻田幸雄、田村俊次＊

【目的】高血圧症の予防及び治療法として最近運動療法が用いられ一定の評価を得ているがその降圧機序に関しては諸説があり未だ明確にされていない。一方妊娠中にみられる高血圧症(妊娠性高血圧症)は高血圧に対するハイリスク因子を持った妊婦に発症しやすく、発症すれば母児の予後を悪化させる。そこで本研究ではハイリスク因子を持った妊婦に運動療法を施行し，妊娠性高血圧症(Gestational Hypertension:ＧＨ)の発症が予防できるか否かを検討すると共にその降圧機序解明のため運動による血管抵抗の変化も併せて検討した。

【方法】妊娠12週未満に当科を受診した妊婦のなかで，ＧＨのハイリスク因子としての非妊時BMI24以上の肥満・平均血圧90mmHg以上の高平均血圧・両親のいずれかが重症本態性高血圧を有する高血圧性家族歴・高血圧の既往歴・治療を要した糸球体腎炎の既往のいずれかを有する妊婦を対象とし運動療法(EX)群と非運動療法(NEX)群に分類した。両群とも同様の妊婦管理を行ったがEX群では1日30分以上の速歩(脈拍数が120BPMに達する軽度－中等度の運動)を週3回以上行わせ両群におけるＧＨの発症頻度を比較検討した。次に運動療法の降圧機序を解明する目的で両群妊婦に対し妊娠12週，22週，29週，36週そして産褥１ヶ月においてErgocizerを用いた運動負荷テストを行った。運動負荷テストでは妊婦を半座位にて５分間の安静を保った後ペダル運動を行なわせ妊婦の脈拍数が120bpmまで増加させた後10分間の安静にてテストを終了した。運動前・運動負荷時の心拍出量・平均血圧の測定をImpedance Cardiography及び連続自動血圧測定器を用い，平均血圧を心拍出量で除することにより血管抵抗(VR)を求めそれぞれの期間の最後の１分間の各平均値を求め妊娠中の推移および運動による変化を検討した。

【結果】ハイリスク因子を有した71名の妊婦をEX群31名，NEX群40名に分類した。両群間において年齢・初経産・リスク因子の頻度に有意な差はみられなかった。母体平均血圧は妊娠27週までは両群間に有意な差異は認められなかったがそれ以降の血圧上昇はNEX群で著明でありＧＨの発症はNEX群9名(22.5%)に認められたがEX群での発症はみられなかった。心拍出量は両群において妊娠の進行と共に増加したがNEX群では妊娠36週になると有意に低下したのに対してEX群では高値を維持していた。次にVRの検討では、安静時でのVRは29週までは両群間に有意な差は無かったが妊娠36週にてNEX群で有意に高値を示した(表参照　数値は平均(標準偏差)　単位はmmHG*MIN/L)。一方運動負荷によるVR

| | 12GW | 22GW | 29GW | 36GW | PP |
|---|---|---|---|---|---|
| NEX | 2.45<br>(1.60) | 1.72<br>(1.32) | 1.58<br>(2.42) | 2.53<br>(2.61) | 4.30<br>(6.81) |
| EX | 3.17<br>(2.07) | 2.78<br>(2.37) | 2.97<br>(2.24) | 2.61<br>(2.58) | 6.81<br>(5.15) |

の低下は両群で認められたが妊娠12週ですでにEX群では3.02(mmHG•L$^{-1}$•MIN)とNEX群2.45に較べ大きな低下を示し、妊娠経過を通じ同様の有意な差が認められた。すなわちEX群では妊娠より増加した循環血液量を運動により弛緩・拡張がもたらされた血管壁により血管内に保持することが可能であったがNEX群では妊娠後半期にはVRが低下して血圧の上昇と心拍出量の減少がみられた。。

【結論】運動療法によりＧＨの発症予防効果が認められた。運動は１日30分であるが運動中に見られる血管抵抗の低下が血管壁の易拡張性をもたらされ非運動時にもその効果が持続してＧＨの発症が予防できたのもと考えられた。

## 84　運動療法によるインシュリン抵抗性改善は神経性因子を介して血圧降下をもたらす。

久留米大学　第三内科　　河野啓助、松岡秀洋、竹中研治、三宅　陽
和田芳文、玉井　収、野村岳而、今泉　勉

【結論】運動療法による降圧に伴いインシュリン抵抗性が改善した。インシュリン抵抗性の改善に伴い圧反射が改善し心拍数減少と血漿レニン活性の低下がみられたことより、運動療法による降圧に、インシュリン抵抗性の改善を介した神経性血圧調節機序の関与が示唆された。

【目的】インシュリンは中枢性交感神経活動を亢進させ、圧反射機能に変化をもたらし、末梢におけるノルエピネフリン放出をもたらすことにより、高血圧発症・維持に関与することが示唆されている。高血圧患者に対し運動療法を行うとインシュリン抵抗性の改善が認められるが、これが運動療法の降圧に果たす役割については明らかでない。そこで、高血圧患者の運動療法前後において、インシュリン抵抗性と神経性因子の関連を検討することにより、運動療法におけるインシュリン抵抗性改善による神経性降圧機序を明らかにする。

【方法】入院により食餌・活動度を一定にした未治療の本態性高血圧患者30例（男性17例女性13例、平均年齢　43±2歳）に対しVO2max75%の運動を6分間1日4回3週間施行し.その前後で24時間血圧により降圧度を評価し.頸動脈圧反射(BSI)、血漿ノルエピネフリン値(PNE)・血漿レニン活性(PRA)を測定した。運動療法前後の75g経口糖負荷試験(75g-OGTT)によりインシュリン反応直線下面積（AUCI）を測定しインシュリン抵抗性の指標とした。

【結果】運動療法前、空腹時インシュリンはPNE((r=.57, p<.01)及びBSI(r=.65, p<.05)と、75g-OGTTインシュリン120分値(r=.47, p<.01)及びAUCI(r=.46, p<.05)もPNEと各々有意に相関した。運動療法により、運動耐容能は明らかに改善し(p<.05)、24時間平均血圧は収縮期(p<.005)拡張期(p<.05)共に有意に下降し、24時間平均心拍数は低下した(p<.05)。標準偏差でみた24時間(p<.05)及び日中(p<.05)の収縮期血圧変動性は低下し、BSIは改善し((p<.05)、PNE(p<.05)・PRA(p<.05)は有意に低下した。運動により75g-OGTTインシュリン60分値(p<.005)・120分値(p<.05)及びAUCI(p<.005)は著明に低下した。AUCI低下度と降圧度（r=0.53, *p*<.005)・心拍数減少度（r=0.57, *p*<.05)・BSI改善度（r=0.64,　*p*<.05)・PRA低下度（r=0.52,　*p*<.05)の間には各々有意な相関が見られた。

【考察】インシュリン抵抗性の結果生じる高インシュリン血症は、インシュリンの持つ中枢・末梢の交感神経活動亢進や圧反射への影響を通じて神経性昇圧に関与する可能性が考えられている。本研究において我々は運動療法によるインシュリン抵抗性の改善に伴い降圧と神経性因子の改善が互いに関連して起こることを明らかにした。しかしながら、今回のデザインではインシュリン抵抗性の改善が運動療法の降圧に直接関与しているのか或いは他の神経体液性因子の変化に伴う二次的な現象なのか結論づけることは困難であり今後の更なる検討を要する。

# 85　新規DHP系Ca拮抗薬シルニジピンのN型Caチャネルに対する阻害作用

富士レビオ㈱医薬研究所　藤井茂雄、細野昌宏、林裕、
＊福岡歯科大学歯科薬理学教室　＊北村憲司

【結論】　ラット脊髄後根神経細胞において、DHP系Caチャネル拮抗薬、シルニジピンはL型Caチャネルに加えてN型Caチャネルも抑制することが示された。N型Caチャネル拮抗作用はL型Caチャネル拮抗作用と同等の濃度域で発現しており、臨床用量においてもこの作用が薬効に反映される可能性が示唆された。

【目的】　シルニジピンは DHP系Caチャネル拮抗薬に共通する降圧作用に加えて、交感神経終末からのノルエピネフリン遊離も抑制するが、この作用はN型Caチャネル拮抗作用による可能性が高い[1)]。本研究では、ラット脊髄後根神経細胞を標本としてパッチクランプ法によりシルニジピンのN型Caチャネルに対する作用を検討した。

【方法】　新生仔ラットの脊髄後根神経節より神経細胞を酵素的に単離しDMEM培地中で培養した。播種1～5日目に5mM Baを電流担体としてホールセルパッチクランプ法によりCaチャネル電流を記録した。膜電位は-60mV に保持し、0mVまでの連続脱分極刺激（頻度, 0.2Hz;持続, 30ms）を与えてBa電流を惹起した。チャンバー内液および電極内液には以下の組成の溶液を用いた。チャンバー内液(mM);Tris 100,CsCl 5,$BaCl_2$ 5,$MgCl_2$ 1,TEA-Cl 25,HEPES 5,glucose 20 (pH 7.4)　電極内液(mM);CsCl 135,$MgCl_2$ 5,HEPES 10,glucose 12, BAPTA 5,ATP $Na_2$ 5 (pH 7.0)　薬物は灌流によりチャンバー内に投与した。実験は室温で行った。

【結果】　脱分極刺激により得られた内向きBa電流は、N型、L型、P/Q 型Caチャネルおよび前記のいずれとも異なるCaチャネル(unknown型) を介する成分を含んでいた。各々のCaチャネル電流に対するシルニジピンの作用を検討するため、各Caチャネルに対する特異的ブロッカーを適宜併用して目的とする電流成分を分離した。すなわち、L型Caチャネル抑制の目的でカルシセプチン(Cal)を、N型Caチャネルの抑制にはωコノトキシン（ωCgTx）を、P/Q 型Caチャネルの抑制にはωアガトキシン（ωAgTx）を各々用いた。

ωCgTx, ωAgTx前処置細胞において、L型Caチャネル電流は10nMシルニジピンにより20%抑制された。この抑制は濃度依存的に増大し、$IC_{50}$値は100 nMであった。さらに、シルニジピンは Cal, ωAgTx前処置細胞においてN型Caチャネル電流を著明に抑制した。10nMシルニジピンによりL型Caチャネル電流に対する場合とほぼ同程度のN型Caチャネル電流の抑制が認められた。この抑制は濃度依存的であり$IC_{50}$値は200nM であった。一方、ニカルジピンはL型Caチャネル電流をシルニジピンと同様に抑制したが、N型Caチャネル電流は1μM まで殆ど抑制しなかった。シルニジピンのP/Q 型Caチャネル電流(Cal, ωCgTx前処置細胞において検討）に対する抑制作用は100nM まで認められなかった。さらに unknown型Caチャネル電流(Cal, ωCgTx, ωAgTx前処置細胞において検討）に対しても3μM まで抑制は認められなかった。

【考察】　シルニジピンは、L型Caチャネル拮抗作用に加えて DHP非感受性であるN型Caチャネルも著明に抑制することが示された。N型Caチャネルはノルエピネフリンなどの神経伝達物質遊離に関与するとされており、両Caチャネルに対する抑制作用の発現濃度は近接していることから、シルニジピンのN型Caチャネル拮抗作用は臨床用量においても薬効に反映されている可能性が考えられた。以上のことから、シルニジピンの降圧作用にはL型Caチャネル拮抗作用に基づく直接的な血管弛緩作用に加えて、N型Caチャネル拮抗作用に基づく交感神経興奮抑制による間接的な血管緊張の緩和が関与している可能性が考えられる。

1) Hosono, M., et al. : Jpn. J. Pharmacol., 69, 127-134 (1995)

# 86

## 脳幹部動脈拡張反応に及ぼす加齢の影響
## －Kチャンネル開口薬および段階的降圧に対する反応－

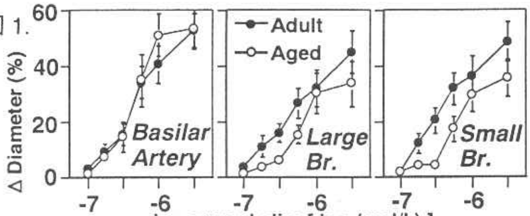
九州歯科大学 内科　豊田 一則
＊福岡赤十字病院 内科　藤井 健一郎＊
藤川 潤
高田 豊

【結論】ATP感受性K($K_{ATP}$)チャンネル活性化、および高度降圧に伴う脳幹部動脈の拡張反応は、加齢によってarterioleにおいてより強く抑制され、一方large arteryでの拡張反応は加齢の影響をより受けにくかった。加齢に伴う脳幹部動脈拡張反応の抑制の程度が、血管のサイズによって異なることが示された。　【目的】近年in vivoにて、(1) $K_{ATP}$チャンネルの活性化や(2)高度の降圧に伴い、脳幹部arterioleのみならず脳底動脈も拡張することが確認された(Toyoda, et al: Am J Physiol 1996)。すなわち脳のlarge arteryはarterioleと同様に、各種生理的刺激や薬物に反応してその血管径を変化させる。一方、加齢はこのような血管反応の幾つかを抑制する。本研究では上記(1),(2)の拡張反応に及ぼす加齢の影響を検討した。

### *実験 1*

【方法】成熟(4-6Mo, n=7)・老齢(24-26Mo, n=7)雄Sprague-Dawleyラットに、麻酔下に腹側脳幹部の開放頭蓋窓を作製した。$K_{ATP}$チャンネル開口薬levcromakalim($10^{-7}$-$10^{-5.5}$M)、nitroprusside ($10^{-8}$-$10^{-6}$M)、選択的$K_{ATP}$チャンネル阻害薬glibenclamide($10^{-6}$M)を人工髄液に混じて局所投与し、脳底動脈(径267±8 μm)・大きな分枝(108±6 μm)・小さな分枝(49±3 μm)の内径の変化を測定した。【結果】Levcromakalim投与により、成熟群では三血管系とも同程度に濃度依存性に拡張した。老齢群では脳底動脈での濃度-反応曲線は成熟群とほぼ一致し、小さな分枝の拡張反応は成熟群に比べて有意に減弱した(*P*<.05, 2-way ANOVA, 図1)。Glibenclamideは両ラット群での三血管系のlevcromakalim($10^{-6}$M)に対する拡張反応を、ほぼ完全に抑制した。Nitroprussideに対する三血管系の拡張反応は、両群とも保たれた。

図 1.

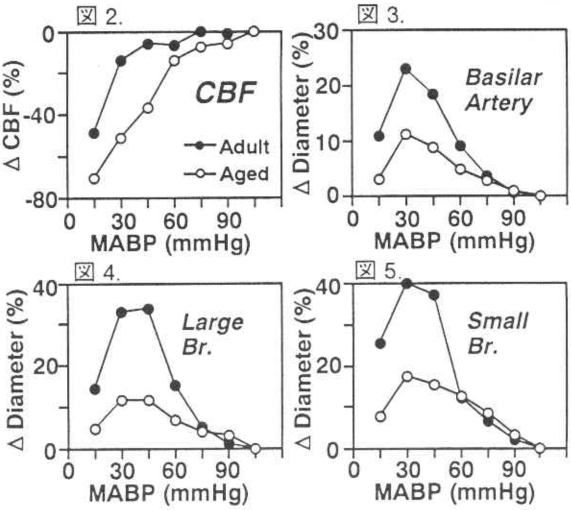



### *実験 2*

【方法】成熟(n=8)・老齢(n=7)雄SDラットに脳幹部頭蓋窓を作製し、脱血によって血圧を15mmHg間隔で下降させ、各血管径とlaser-Doppler血流計による局所血流量の変化を測定した。

【結果】(i)<u>脳幹血流量</u>: 成熟群は30mmHg、老齢群は60mmHgまで降圧した時点で、前値に比べ有意に低下し、全降圧段階を通した比較でも老齢群が有意に低かった(*P*<.02, 2-way ANOVA, 図2)。(ii)<u>動脈径拡張率</u>: 全降圧段階を通した血圧-反応曲線［脳底動脈(P<.05, 図3)、大分枝(P<.005, 図4)、小分枝(P<.01, 図5)］、高度降圧時(30mmHg)の最大拡張率［脳底動脈(成熟:23±4 vs 老齢:11±3%, *P*<.05)、大分枝(33±6 vs 12±3%, *P*<.005)、小分枝(40±5 vs 17±2%, *P*<.0005)］のいずれも、老齢群で有意に拡張反応が抑制され、抑制の程度はともに脳底動脈よりも分枝の方がより強かった。

図 2.　図 3.　図 4.　図 5.




【考察】実験1は、$K_{ATP}$チャンネルの数ないし親和性が、arterioleにおいて加齢と共に著しく減少することを示唆する。また両実験の結果から、老齢ラットでの脳幹血流自動調節能の障害の原因の一部に、$K_{ATP}$チャンネル活性化を介するarterioleの拡張反応の加齢に伴う減弱が予想される。

## 87　降圧を来さない低用量のACE阻害薬の心血管系への影響

埼玉医科大学第四内科　野口　雄一、小瀬川　至、泉田　太郎、稲葉　宗通
柏原　秀行、丸野　世志子、片山　茂裕

【結論】降圧を来たさない低用量のベナゼプリルの投与においても、心肥大が有意に抑制され、コラーゲンtype1のm-RNAレベルも有意に低下した。

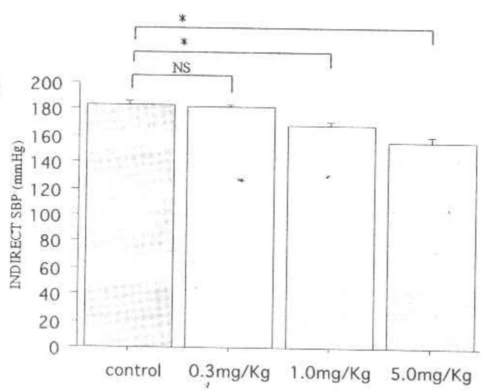
【目的】高血圧に伴う、左室肥大は心不全、虚血性心疾患、不整脈、突然死などに深く関与しており、今回、高血圧発症ラット(SHR)の、心筋肥大や血管肥厚に及ぼす降圧を来さない低用量のＡＣＥ阻害薬（塩酸ベナゼプリル）の作用を検討した。

【方法】8週齢雄性SHR/NCrjラットに対し、塩酸ベナゼプリルを0.3、1.0、5.0mg/kg/日ずつ、飲水中に溶解して12週間投与した(n=20)。対照(C)群(n=19)は水道水のみを投与した。各グループの半数は断頭後、心重量を測定し、Northern blot法により左室心筋コラーゲンtype1 α1鎖及びアクチンのmRNAを測定した。同様にTGF-βのmRNAを測定した。残りは、左室より120mmＨｇでホルマリンによる環流固定後、胸部大動脈、前腸間膜動脈第3枝を採取、Ｈ＆Ｅ染色を施し、血管中膜の外周、内腔長及び面積を画像解析装置にて測定した。外周、内腔長より半径を求め、その差を中膜厚とした。結果は平均±SEで表し、有意差はＳｃｈｅｆｆｅの多重比較で検定した。

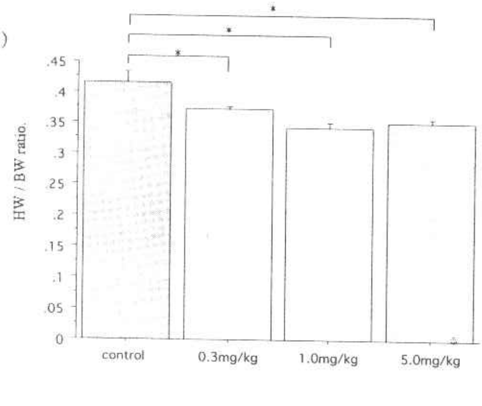
【結果】血圧は、C群(183.8±2.5mmHg)に対し0.3mg(182.3±1.4)では有意差は認めず、1.0mg(168.5±2.4)、5.0mg(155.8±3.4)では有意に低下した。心重量の体重補正による比較では、C群(0.41±0.002%)に比べ、0.3mg群（0.37±0.005)で既に有意に低下した。左室心筋のコラーゲンtype1のmRNAをアクチンで補正して比較すると、C群に比べ、0.3mg投与群で有意に低下していた(0.231±0.044 vs. 0.121±0.031)。投与群内の比較では、有意差はなかった。TGF-βのmRNAはC群に対してベナゼプリル投与群で、用量依存性を示して増加した(C群 3099±448、0.3mg/kg群 3795±470、1.0mg/kg群 3856±769、5.0mg/kg群 4306±589 :C群vs.5mg群 $p<0.05$)。胸部大動脈の中膜厚の比較では、C群(0.141±0.016mm)に対して、0.3mg群では有意差には到らなかった(0.136±0.004)が、1.0mg群(0.129±0.007)及び、5.0mg群(0.124±0.005)で有意に低下した。各群間での前腸間膜動脈第3枝中膜厚あるいは血管壁面積/内腔面積(M/L)比の比較では、有意差には到らなかったものの、用量依存性を示して減少する傾向を認めた。血圧と胸部大動脈の中膜厚あるいは腸間膜第3枝のM/L比は正の相関を示した($r=0.463$、$p<0.05$ あるいは$r=0.330$、$p<0.05$)。

【考案】血圧の低下を来さない低用量のACE阻害薬の投与で、SHRにおける心肥大の予防効果が認められた。この効果は、主たる細胞外基質であるコラーゲンの遺伝子発現の低下を伴っていた。一方、血管肥厚の抑制効果は低用量でも弱い効果が認められるものの、用量依存性であった。心筋におけるTGF-βのmRNAがACE阻害薬の投与で増加した意義は不明であり、尚検討中である。

(a)




(b)



# 88 アンジオテンシン変換酵素阻害薬の降圧効果は、遺伝型と関連するのか

滋賀医科大学第一内科　　大道　信之
岩井　直温
木之下　正彦

「結論」 降圧程度は、投与前のACE活性によりある程度規定されており、活性が高い程、イミダプリル5mgは効きにくい。活性値は、かなりの程度ACEの遺伝型で決定されており、IDあるいはDD型では、イミダプリル5mgは効きにくいとも言える。心重量の退縮程度にはACE遺伝型の影響は観察されなかったが、症例数が25例と少なく更なる検討が必要である。

「目的」 アンジオテンシン変換酵素(ACE)のI/D polymorphismと循環器疾患の関連が注目されている。ACE D型は、ACE活性が高く、組織内のアンジオテンシンの濃度を高めるのではと推定されているためである。我々は、ACE D型が、心肥大や心筋梗塞後の左室リモデリングの危険因子であることを報告した。今回は、このACEの遺伝型と、アンジオテンシン変換酵素阻害薬の降圧効果との関連を追求した。

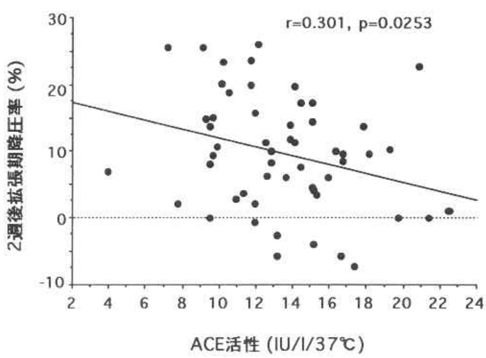
「方法」 対象は、当科及び関連施設の高血圧外来患者。4週間の観察期間を置き高血圧と判断された後、イミダプリルを5mgを6カ月間投与する。投与前にACE活性、アルドステロン、レニン濃度、可能な場合心エコーによる心重量の測定を行った。ACEの遺伝型は既に報告した方法にて決定した。エントリーは約100名であり、現時点で57名の解析を終了した。降圧不十分なため併用薬を使用した場合は、その時点で脱落したとみなした。

「結果」 57名の内訳は、男性29名、女性28名であり、平均年齢57.9±12.5、投与前収縮期血圧169.9±12.2mmHg、拡張期血圧96.0±9.0mmHgであった。投与後、2週、4週、6週目の血圧を平均したものを、投与後の血圧と考えると、収縮期で19.4±14.4mmHg、拡張期で9.6±8.6mmHgの降圧が認められ、良好な降圧効果が認められた。ACE遺伝型は、II/ID/DDがそれぞれ、21名、31名、5名であった。降圧程度は、降圧値を投与前の値で除したもので表した。収縮期、拡張期血圧の降圧程度は何によって予想されるのかを、多変量解析にて解析した結果、拡張期血圧の降圧程度は、投与前の拡張期血圧（$p=0.0214$）とACEの活性（$p=0.0385$）で予測される（$p=0.0058$、$R^2=0.180$）事が判明した。ACEの活性が高い程、降圧程度は低いとの結果であった。Tableに示した如く、ACEの遺伝型とACEの活性は密接に関連しており、ID及びDD型の遺伝型を持つ場合、降圧程度が低い（$p=0.0669$、ANOVA）と考えられた。25名について、投与前、6カ月後に心エコーがとられており、退縮程度が何によって規定されるかを多変量解析したが、遺伝型の影響は観察されなかった。

「考察」 降圧程度が、ACE活性と逆相関し、一方、活性型レニン濃度やアルドステロン値と相関を示さない事は、ACEが組織に於いてはアンジオテンシンあるいはブラジキニン生成の律速になっている可能性を示唆する。今回の観察がイミダプリル5mgに特異的な現象なのか否かは、別に確かめる必要がある。

Table

| ACE遺伝型 | DD | ID | II | P value |
|---|---|---|---|---|
| n | 5 | 31 | 21 | |
| 性(男/女) | 3/2 | 15/16 | 11/10 | n.s. |
| 年令(才) | 54.4±4.8 | 58.5±2.1 | 57.6±3.0 | n.s. |
| **観察期** | | | | |
| 収縮期血圧(mmHg) | 165.2±2.7 | 170.6±2.3 | 170.0±2.6 | n.s. |
| 拡張期血圧(mmHg) | 94.2±2.8 | 94.5±1.7 | 98.3±1.8 | n.s. |
| ACE活性(IU/l/37℃) | 17.6±1.9 | 14.5±0.6 | 11.0±0.5 | 0.0001 |
| レニン濃度(ng/dl) | 13.5±6.5 | 23.8±5.4 | 20.5±4.0 | n.s. |
| アルドステロン(ng/dl) | 82.6±15.1 | 92.2±10.6 | 81.7±8.4 | n.s. |
| LVMI(g/m²) | 142±14 | 160±11 | 177±15 | n.s. |
| **2週後** | | | | |
| 収縮期降圧度(mmHg) | 26.2±4.7 | 17.6±2.6 | 20.1±3.2 | n.s. |
| 収縮期降圧率(%) | 15.9±2.9 | 10.1±1.5 | 11.7±1.9 | n.s. |
| 拡張期降圧度(mmHg) | 11.9±4.2 | 7.1±1.1 | 12.3±2.2 | 0.0839 |
| 拡張期降圧率(%) | 12.3±4.3 | 7.4±1.2 | 12.4±2.2 | 0.0900 |
| LVMI(g/m²) | 130±16 | 146±16 | 178±16 | n.s. |




謝辞　本研究は、以下の方々の協力があって遂行する事ができました。
中村保幸、内田康和、七里源正、山田哲博、宮内喜男、山地尚、佐山晴美。

# 89 未治療高血圧患者の標的臓器障害に及ぼす飲酒量の影響

獨協医科大学　循環器内科　　石光俊彦，吉田佳織，中村美貴，
八木　繁，松岡博昭
同　　　　　健康管理科　　大類方巳，久内　徹

【結論】高血圧患者において中等度以上の飲酒習慣は心肥大の進展に寄与すると考えられる。

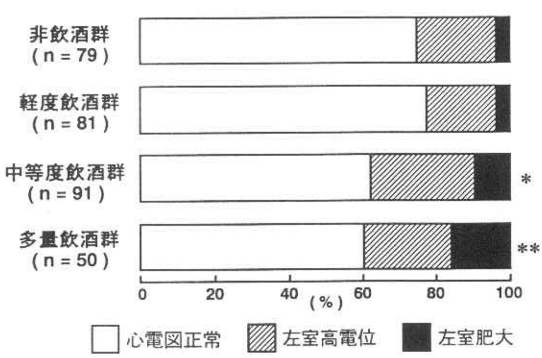
【目的】過度の飲酒が高血圧の発症を促進することはよく知られているが、近年では飲酒量と血圧の間にＪ字型の関係も観察されている。また、軽ー中等度の飲酒者では非飲酒者に比べむしろ冠動脈疾患の発生が少ないことが報告されており、これにはHDL-コレステロールの増加が関与する可能性が推測されている。高血圧治療の究極的な目標は、心肥大，腎障害などの臓器障害の抑制そして脳卒中，心筋梗塞などの循環器疾患の予防であり、高血圧患者に望ましい飲酒習慣を指導する際にもこの面が考慮されるべきであるが、高血圧性臓器障害の進展に及ぼす飲酒量の影響に関する知見は乏しい。本研究では、人間ドックを受診した未治療高血圧患者を対象として、飲酒量と標的臓器障害の関係を調査した。

【方法】1990-94年に当施設人間ドックを受診した男性4557名中302名が臥位安静時血圧≥140/90 mmHgの未治療高血圧患者であった。1日当りの飲酒量をエタノールに換算し、≤10 mlを非飲酒者(79名)，11-29mlを軽度飲酒者(82名)，30-58 mlを中等度飲酒者(91名)，≥59mlを多量飲酒者(50名)とした。各群で、肝機能，耐糖能，血清脂質とともに眼底所見(Keith-Wagener分類)，心電図，尿中アルブミン排泄などの高血圧性臓器障害の指標を評価し、飲酒量との関係を検討した。心電図所見は、ミネソタ・コードに従い、左室高電位とこれにST-T変化を伴う左室肥大に分類した。

【成績】各群の平均年齢は、非飲酒群51±9(SD)才，軽度飲酒群49±9才，中等度飲酒群50±9才，多量飲酒群49±7才、臥位安静時血圧は非飲酒群143±11/90±9mmHg，軽度飲酒群144±12/92±9，中等度飲酒群143±11/92±9，多量飲酒群141±10/93±8と同程度であったが、心電図上の左室肥大所見は中等度以上の飲酒群で増加していた(図)。眼底所見や尿中アルブミン排泄には各群で有意な差はなかった。肥満度(BMI)や耐糖能(75g GTT)は４群間に差はなかったが、血清γ-GTPは中等度以上の飲酒群で増加していた(非飲酒群19±17U/L，軽度飲酒群22±17，中等度飲酒群32±30，多量飲酒群41±36；p<0.001)。血清脂質に関しては、総コレステロール値には飲酒量による影響は認められなかったが、中性脂肪は多量飲酒群で増加(非飲酒群143±81mg/dL，軽度飲酒群148±72，中等度飲酒群152±106，多量飲酒群192±137；p<0.04)、HDL-コレステロールは軽度飲酒群より用量依存的に増加していた(非飲酒群42±10mg/dL，軽度飲酒群48±12，中等度飲酒群52±12，多量飲酒群55±11；p<0.001)。重回帰分析の結果、飲酒量と心電図左室肥大の間に血圧と独立して有意な相関が認められた(p<0.01)。

【考察】過度の飲酒は血圧の上昇のみならず肝機能障害や血清中性脂肪の増加などをもたらすが、本研究ではこれに加え中等度以上の飲酒習慣をもつ高血圧患者では心肥大の頻度が増加することが観察された。しかしながら適度の飲酒はむしろQOLの向上やストレスの緩和に有効であると思われ、HDL-コレステロールの増加など心血管系の危険因子を減じる効果も期待される。本研究においても軽度飲酒群では肝酵素の上昇や心肥大の増加を伴うことなくHDL-コレステロールが増加しており、高血圧患者においては日本酒にして１合程度の飲酒習慣が好ましいと考えられる。

**飲酒量別４群の未治療高血圧患者における心電図上左室肥大所見の頻度**




* p<0.05,　** p<0.01 vs. 非飲酒群

**90**

# 若年者血圧の経年的変化に及ぼす身体計測値の影響－栃木県下５０２名の若年者血圧１２年間の追跡調査からの成績

自治医科大学臨床薬理

海老原昭夫、熊谷雄治、河口達二、大石正平、大橋京一、藤村昭夫、杉本孝一、原田和博、須永健一郎、大森正規

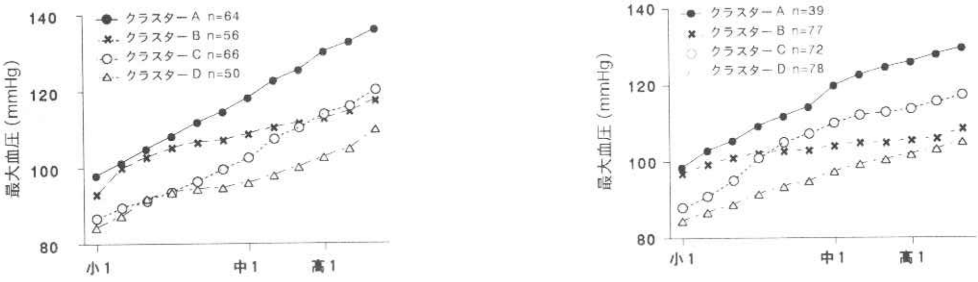
【結論】血圧の経年的上昇パターンをクラスター分析により４群に分類した結果、成長に伴う若年者の血圧上昇においてトラッキング現象が見られ、その上昇パターンには高血圧症の家族歴が関与していることが示唆された。

【目的】若年者血圧の経年的変化におよぼす身体計測値ならびに高血圧家族歴の影響を明らかにすること。

【方法】昭和５７年度に栃木市内の小学校に入学した児童５０２名（男子２３６名、女子２６６名）を対象とした。毎年１回、血圧・脈拍数（オムロン社製自動血圧計による）、身長、体重を測定した。中学入学時にアンケートにより高血圧症の家族歴を調査した。測定は高校３年生時まで１２年間行った。血圧の経年的変化を、単調増加関数と仮定し、まず、前処理としてアイソトニック回帰を用いて平滑化し、得られた推定値に対して k-means 法によるクラスター分析を行った。得られた成績は mean ± SD で表わした。

【結果】男子の最大血圧の平均値は小学１年生時 94.9±12.1 mmHg であったが、次第に上昇し、高校３年生時には 120.2± 13.3 mmHg となった。血圧の上昇率は高校生になって鈍くなる現象を認めた。女子においては、小学１年生時 95.2±11.6 mmHg、高校３年生時 110.0±12.6 mmHg と上昇したが、中学３年生時以降はほとんど上昇しなかった。最小血圧に関しては、男女とも中学１年生時まで上昇を認めなかったが、これ以降に上昇を認めた。最大血圧についてのクラスター分析では、経年的変化のパターンは、つぎの４群に分類された。この４群は (A) 小学校１年生時に血圧が高く、高校３年生時にも高い群（男子 n=64、女子 n=39）、(B) 小学１年生時には高めであったが、(A) に比して小さい群（男子 n=56、女子 n=77）、(C) 小学１年生時には低めであったが、(B) と同程度に上昇した群（男子 n=66、女子 n=72）、および (D) 小学１年生時から高校３年生時まで血圧が低い群（男子 n=50、女子 n=78）である（図）。A群と D群は１２年間を通じて、血圧は高値或いは低値をとり続け、トラッキング現象が認められた。血圧の高いグループは低いグループに比し、高血圧症の家族歴を有する頻度が高い傾向が示された。図には示さないが、体重の推移に関して血圧と同様に k-means 法によりクラスター分析を用いて３群に分類した。この３群は変化のパターンよりも体重そのものにより分類され、１２年間にわたり高いレベルで推移する群、中等度のレベルで推移する群、低いレベルで推移する群であった。この群に関してその最大血圧値を検討したところ、高いレベルで推移した群では、低いレベルで推移した群に比して、最大血圧値も有意に高値で推移していた。身長の推移についてのクラスター分析では体重におけるほどの差異は認められなかった。

**最大血圧（平滑化データ）の推移のクラスター分析**



# 91　左室肥大は血圧とは独立した予後規定因子である
## ― 透析患者に於ける検討から ―

国立循環器病センター　　中村敏子、藤井　健、宇津　貴、
内科（腎・透析部門）　　稲永　隆、木村玄次郎

【結論】心電図上の左室肥大は、血圧とは独立した予後規定因子であることが、透析患者と云う循環器疾患加速モデルに於いて明確になった。

【目的】左室肥大LVHが循環器系 risk factor として重視されているが、血圧と独立しているか否か未だ確定的でない。透析患者では、年齢を一致させた場合の死亡率が一般住民に比し3.5倍も高く、導入後の5年生存率は60%と低い。さらに、死因の半数を循環器疾患が占めている。そのため、循環器疾患に対する risk factor を解析する上で、加速モデルを提供していると考えられる。従って、比較的少数例・短期間で risk factor の意義を明らかにすることが可能である。そこで、LVHと高血圧が互いに独立した予後規定因子であるか否か検討した。

【方法】1977年から1987年の間に当院で血液透析へ導入し転院し得た195例のうち、虚血性心疾患の既往のない160例(男94、女66、平均年齢52±1歳)を対象とした。原疾患は慢性糸球体腎炎90例、糖尿病性腎症29例、腎硬化症13例、多発性嚢胞腎7例、腎盂腎炎3例、SLE3例および不明15例であった。導入期および維持期(転院時)の血圧と血液検査、導入時の心拡大HE(胸部レ線上の心胸比≧50%)の有無、LVH(心電図所見上)の有無、脳卒中の既往、喫煙歴を調べた。1994年6月現在の生死についてアンケート調査を行い、100%の回収率を得た。血圧に関しては維持期収縮期血圧(SBP)のみが独立した因子であることを既に報告しているので、SBPのみを解析に用いた。

【成績】平均89±4カ月(生存例では123±3カ月)の観察期間中、69例が死亡した。5年生存率は71±4%、10年生存率は57±4%であった。導入後3年以内に37例が死亡し、3年以内の年間死亡率(1年目8.8%、2年目5.7%、3年目8.8%)は、3年以降(4年目3.8%、5年目3.1%)に比し高く、循環器死亡が導入後3年以内に多いとの報告と一致していた。Kaplan-Meier法を用いた生存分析では、HEを有する群(n=104)は、有さない群(n=56)より予後不良で、5年生存率は 64±5 vs 80±5 % であった。同様に、LVHを有する群(n=105)は、有さない群(n=55)より予後不良で、5年生存率は 64±5 vs 80±6 % であった。HEとLVHを共に有する群(n=75)の予後は最悪(5年生存率59±6%)で、いずれも認めない群(n=26)で最良(5年生存率88±7%)であった。HEの有無に拘わらず、SBP高値(≧160mmHg)は予後増悪因子であった。一方、LVHを有する群ではSBPの高低は予後と無関係であった。種々の危険因子の生存曲線への影響をCox比例ハザードモデルを用いて解析すると、LVHの相対危険度は1.3($p<0.05$)であり、SBP高値(≧160mmHg)の2.0($p<0.005$)とは独立して有意であることが実証された。腎不全の原疾患としての糖尿病が3.3($p<0.0001$)と最も高く、次いで60歳以上の高齢が2.5($p<0.0001$)であった。ただし、HE($p=0.16$)や脳卒中の既往、喫煙歴、高コレステロール血症は risk として有意でなかった。ロジスティック重回帰分析を用いて導入後3年以内の死亡に対する寄与率を算出すると、LVHが8%($p<0.05$)、SBP高値(≧160mmHg)が9%($p<0.01$)とやはり互いに独立したriskであることが明確であった。糖尿病が35%($p<0.001$)、60歳以上の高齢が16%($p<0.01$)と有意であったが、HE、脳卒中の既往、喫煙歴、高コレステロール血症は、いずれも有意ではなかった。

【考察】透析導入時の心拡大や左室肥大が予後に及ぼす影響について検討したところ、年齢、糖尿病、SBPと左室肥大が独立した予後規定因子として明らかになった。SBPと左室肥大は、年齢や糖尿病と異なり、維持透析の経過中に改善させ得る因子である。我々は血圧の正常化が透析患者の予後改善に寄与することを既に報告している。しかし、透析条件の改善や降圧剤の使用、貧血の治療などによって左室肥大を退縮させることが予後改善につながるか否かは今後の検討を要する。透析患者は循環器疾患加速モデルを提出し、危険因子を同定する上で有用と考えられた。

# 92 高血圧性心肥大シグナルにおける心アンジオテンシノーゲンの意義に関する *in vivo* および *in vitro* における分子生物学的検討

横浜市立大学医学部第2内科
田村功一，梅村　敏，乳井伸夫，日比　潔，山口　聡，石上友章，中丸真志，木原　実，矢花真知子，常田康夫，高木信嘉，石井當男

【結論】心アンジオテンシノーゲンは，他の組織アンジオテンシノーゲンとは異なる特異的な発現調節を受け，生理活性物質や物理的刺激などの心肥大シグナルが発現の活性化をもたらす．一方，アンジオテンシノーゲン欠損マウスを用いた実験結果からは，これのら刺激による心筋細胞の情報伝達系の活性化には，心レニン・アンジオテンシン系の存在は必ずしも必要ではないと考えられる．

【目的】心レニン・アンジオテンシン系は心筋組織においてautocrine/paracrineに作用すると考えられ，また，心肥大形成と密接に関連していると考えられている．よって，本研究では，心筋組織のレニン・アンジオテンシン系の病態生理学的意義について，特にアンジオテンシノーゲンに注目して，その役割を*in vivo*および*in vitro*にて検討した．

【方法】実験1：遺伝性高血圧ラットにおける心アンジオテンシノーゲン発現調節についての検討．高血圧自然発症ラット（SHR）および遺伝性肥満Wistar fattyラット（WFR）において高血圧の進展にともなう心ATNG遺伝子発現の変化を解析した．実験2：ラット培養心筋細胞におけるアンジオテンシノーゲン発現についての検討．ラット心筋細胞および大動脈平滑筋細胞においてアンジオテンシンII添加および伸展刺激にともなうアンジオテンシノーゲン遺伝子発現の変化を解析した．実験3：アンジオテンシノーゲン欠損マウスにおける情報伝達系活性化についての検討．アンジオテンシノーゲン欠損マウスは正常マウスに比べて低血圧を呈することが明らかにされている．アンジオテンシノーゲン欠損マウスの新生児から得られた心筋細胞および心線維芽細胞においてアンジオテンシンII添加および伸展刺激にともなうmitogen activated protein kinase（MAPK）活性の変化を解析した．

【成績】実験1：SHRおよびWFRでは高血圧の進展にともない肝アンジオテンシノーゲン遺伝子発現には変化がみられなかったが，心アンジオテンシノーゲン遺伝子発現の増加が認められ，その経時的変化は大動脈アンジオテンシノーゲン遺伝子や他の組織アンジオテンシノーゲン遺伝子において観察された変化とは異なっていた．実験2：心筋細胞においてはアンジオテンシンII添加および伸展刺激にともないアンジオテンシノーゲン遺伝子発現の増加が認められた．一方，大動脈平滑筋細胞ではこれらの刺激により細胞外マトリックス遺伝子の発現増加がみられたが，アンジオテンシノーゲン遺伝子発現の増加はみられなかった．実験3：アンジオテンシノーゲン欠損マウス由来心筋細胞および心線維芽細胞においては，対照のICRマウスと同様に，アンジオテンシンII添加および伸展刺激によりMAPK活性の増加が認められた．

【考察】心アンジオテンシノーゲンは，生体での主要産生臓器である肝アンジオテンシノーゲンやその他の組織アンジオテンシノーゲンとは異なる発現調節を受けると考えられる．また，アンジオテンシンII添加および伸展刺激などの心肥大シグナルが発現の活性化をもたらすと考えられる．現在，心肥大シグナルに反応する発現調節機構について解析中である．一方，心レニン・アンジオテンシン系が存在しない状態においても，これらの刺激により心筋細胞の情報伝達系の活性化が起こる可能性があり，心レニン・アンジオテンシン系に依存せずに活性化される情報伝達系について検討中である．

93

# 心疾患の進展におけるTGF-βとACEの役割ーNIDDMと高血圧での相違点ー

大阪市立大学医学部薬理学教室　金　勝慶、濱口晃規、矢野昌彦、太田健介、泉　康雄、三浦克之、岩尾　洋

（結論）

（1）NIDDM（インスリン非依存型糖尿病）モデルであるOLETFラット（Otsuka Long Evans Tokushima Fatty rat）の心臓では、冠状動脈周囲に著明な線維化がみられ、その成因にTGF-β1の発現亢進が関与している。また、TGF-β1の発現亢進には、ACEにより産生されるアンジオテンシンIIがAT1受容体を介して関与すると思われる。（2）OLETFでは、糖尿病の進展とともに心臓でのβ型ミオシン重鎖(β-MHC)の発現が増加するが、一方、α型ミオシン重鎖(α-MHC）の発現は低下し、心機能障害が示唆された。（3）以上の点で、NIDDMの心臓障害のメカニズムは高血圧（Ohta et al., Hypertension (1996)）と異なることを明らかにした。

（目的）

NIDDMと高血圧は極めて関連性の深い疾患であり、両疾患ともに虚血性心疾患の危険因子であることはよく知られている。しかしながら、両疾患による心疾患の詳細な進展機序や相違点については不明である。今回、NIDDMのモデルラットを使って、NIDDMでみられる心疾患の進展機序を検討し、また、ACEの役割についても調べた。さらに、今回の成績を遺伝性高血圧のSHRの心臓障害の特徴と比較検討した。

（方法）

（実験1）OLETFを、14週齢（糖尿病発症前）、30週齢（糖尿病中期）、54週齢（糖尿病末期）の時点で、心臓のTGF-β1、コラーゲン、収縮蛋白の遺伝子発現をノーザンブロット法で検討し、また、心臓の病理組織も調べた。コントロールラットとして、LETOラットを用いた。
(実験2)20週齢(糖尿病発症早期)のOLETFにACE阻害薬(シラザプリル; 1と10 mg/kg/day)とアンジオテンシンAT1受容体拮抗薬(E4177; 10 mg/kg/day)をそれぞれ46あるいは60週齢まで経口投与し、心臓への影響を検討した。

（成績）

(実験1)コントロールのLETOラットに比べて、OLETFでは14週齢で既に心臓のTGF-β1のmRNAが1.5倍($P<0.01$)増加しており、60週齢(糖尿病末期)まで増加は持続した。また、LETOと比べて、コラーゲンタイプIとIIIの発現も増加しており、病理学的には、心臓の冠動脈周囲に著明な線維化がみられた。心筋収縮蛋白に関しては、LETOに比べて、OLETFではβ-MHCの有意な発現の増加が30週齢からみられ、また、α-MHCの発現は54週齢で減少した。従って、OLETFでの心機能の異常が示唆された。（実験2）ACE阻害薬とAT1拮抗薬は、OLETFの耐糖能異常には影響しなかったが、両薬剤ともに心臓のTGF-β1の発現を有意に抑制した。しかも、冠動脈周囲の線維化も抑制した。また、両薬剤は、OLETFでのβ-MHCの発現増加には影響しなかったが、α-MHCの発現低下を抑制した。

（考察）

我々はSHRで同様な検討をおこなった（Ohta et al, Hypertension(1996)）。SHRでも心臓のコラーゲンの増加がみられ、しかもその増加にACEが関与している。しかし、OLETFと異なり、SHRではTGF-β1の発現はまったく増加しないことからTGF-β1の関与は少ない。また、OLETFと対照的に、SHRではβ-MHCの発現は変化しない。このように、NIDDMラット、高血圧ラットともに心臓障害にACEが重要な役割を演じているが、TGF-β1の関与の有無、ミオシンの発現異常のパターンの点で、心臓障害のメカニズムは両疾患で異なることを明らかにした。

（参考文献）

Ohta et al., Hypertension. in press

# 94　心筋細胞伸展負荷によるアンジオテンシンII(AT1 AT2)受容体発現亢進
## -AngII非依存性tyrosine kinaseの関与-

関西医科大学第二内科　貴島和久 松原弘明 森 泰清 村澤 聡 丸山勝也
東京大学医学部第三内科　小室一成 矢崎義雄 岩坂壽二 稲田満夫

**結論**

心筋細胞に存在するアンジオテンシン(Ang)II 受容体サブタイプ(AT1・AT2)は機械的伸展負荷により発現は増加し、また伸展細胞ではAngIIを介する蛋白リン酸化反応は機能的にも亢進していた。この機序として心筋細胞より放出されるAngIIなどの分泌因子ではなく、AngII非依存性の非分泌経路を介したtyrosine kinase活性化が遺伝子転写、転写後修飾機構によりAT1・AT2発現亢進を引き起こす。また,この機構にはde novo protein 合成は関与しない。

**目的**

高血圧性心肥大の初期発症機転に機械的伸展負荷は重要な役割を演ずることが知られている。私達はこれまで心筋細胞伸展による蛋白リン酸化カスケード活性化には分泌されたAngIIやEndothelin-1(ET-1)が主な役割を演じるが、AngII非依存性の非分泌経路も関与することを報告してきた。　一方、各種の高血圧実験モデルにおいて心肥大ではAngII受容体を含めた心筋局所レニン・アンジオテンシン系が亢進することが知られているが、心肥大の重要な誘導刺激である機械的伸展負荷時のAngII受容体サブタイプの発現調節は検討されていない。今回私達はAT1 AT2遺伝子の発現様式およびその調節機構の解明を試みた。

**方法**

１.心室筋細胞は１日令Wistarラットよりcollagenaseを用いてpreplating法により作製し、10%FCSで24ｈ培養後に無血清培地(insulin, transferrin, selenium)に置換し、さらに24h培養後、伸展刺激(10%)を加えた。２. AT1・AT2 mRNA・蛋白量は既報の如く[$^{32}$P]dCTPとdeletion-mutated cRNAの存在下にて競合的RT-PCRを行い, Northern blotで測定したGAPDH量により補正・定量化し、arbitrary unitで示した。蛋白量は膜分画を用いてリガンド結合実験にて測定し、さらに合成ペプチドを用いて家兎免疫より作製したAT1特異的抗体を用いたWestern blot法で定量化した。

３.核転写は細胞より核分画を回収し、[$^{32}$P]CTPを取り込ませてラベルし、既報の如くrun-off assayで 定量化した。mRNA半減期はactinomycin D添加にて時間依存性のmRNA減少を測定することにより求めた。

**結果**

１.伸展刺激6h後よりAT1・AT2mRNA量は有意に増加し、12hで頂値(AT1:2.8倍　AT2:3.3倍)に達し、同レベルを18hまで維持した。Western blot、リガンド結合実験では親和性は変化せず蛋白量はそれぞれ2.4倍、2.6倍増加した。

２.線維芽細胞では伸展刺激は発現するAT1mRNA量に変化を与えなかった。

３.AT1拮抗薬は伸展刺激によるAT1・AT2mRNA変化をそれぞれ27%、31%さらに増加させた。AT2拮抗薬は伸展刺激によるmRNA量の増加に影響しなかった。

４.12h伸展刺激を加えた細胞の培養液は無処置心筋細胞のAT1・AT2mRNA量を22%、27%減少させた。この変化はAT1拮抗剤で完全に抑制され、AT2拮抗薬やET-1受容体拮抗薬では影響を受けなかった。

５.伸展された心筋細胞ではAngII(1$\mu$M)によるinositol phosphate産生は約2倍亢進した。

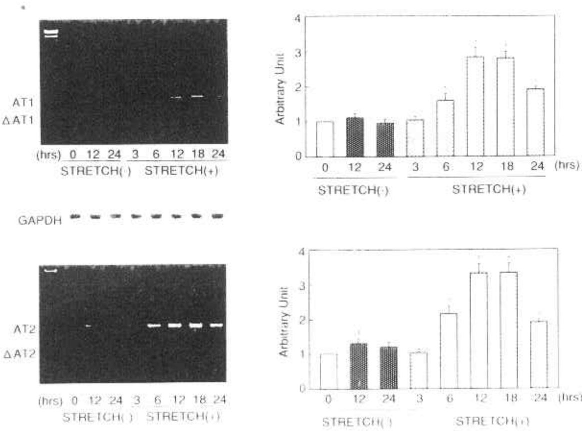
６.伸展によるAT1・AT2mRNAの増加はgenistein (tyrosine kinase阻害剤)で抑制され、H7, staurosporin, BAPTA-AM ($Ca^{2+}$ chelating剤)やcycloheximideは影響しなかった。

７.伸展刺激によりAT1遺伝子核転写率は2.3倍、mRNA半減期は1.3倍延長した(12→16h).　一方、AT2遺伝子核転写率は変化せず、mRNA半減期は約2倍延長した(14.5→28h)。

**考察**

１.心筋細胞の機械的伸展負荷によりAT1・AT2の発現量は増加し、さらにAngIIで誘導される蛋白リン酸化反応も伸展心筋細胞では亢進することが明らかになった。これらの所見は圧負荷心肥大では、AT1・AT2の発現が亢進し、これら増加した受容体を介するAngII作用も増強して伝達されることを示唆する。しかしながら、今回の実験は新生児由来の心筋細胞を用いており、またAT1・AT2は成長段階に伴い発現減少することより、これらの実験結果が成熟心筋でのAngII受容体の発現調節にも合致するかは、さらなる検討が必要である。

２.これまで心筋細胞伸展で誘導される細胞内情報伝達には分泌されるAngIIが主たる役割を演じていると考えられてきたが、今回の実験結果により伸展刺激はAngII非依存性の経路を介しても情報伝達されることが、明確に証明された。



**95**

# 出生時体重と成人時の血圧値との関連
## －レコード・リンケージによる出生後20年の追跡研究－

金沢医科大学　公衆衛生学　三浦克之、中川秀昭、田畑正司
森河裕子、西条旨子、河野俊一
石川県松任保健所　伊川あけみ

【結論】出生時の低体重が成人後の血圧の上昇に関与する可能性が示唆された。この傾向は特に男性の収縮期血圧において顕著に示され、成人時の肥満度とは独立した関連であった。Thrifty phenotype 仮説を裏付けた結果といえる。

【目的】近年英国において、出生時の低体重が成人後の高血圧、糖尿病や冠動脈疾患の発症に関連するという報告がなされ、母胎内での低栄養がインスリン抵抗性症候群を引き起こすとする thrifty phenotype 仮説が提唱されている。日本人においてこの仮説があてはまるのかを、出生時体重と成人後の血圧値との関連に焦点を当てて検討する。

【方法】出生時体重は、石川県松任保健所管内にて昭和40年以降実施された乳幼児検診を受診した昭和40年から昭和49年生まれの 13,426 人（男 6,845 人、女 6,581 人）における検診受診票より得た。一方、石川県において20歳に達したものを対象に行われた成年健康調査を昭和60年から平成6年に受診した、やはり昭和40年から昭和49年生まれの同保健所管内の男女 8,741 人（男 4,182 人、女 4,559 人）において収縮期および拡張期血圧、身長、体重を測定した。得られた出生時データと成人時データにつき、生年月日および姓名を用いてレコード・リンケージを行ったところ、5,000 人（男 2,382 人、女 2,618 人）においてデータの結合が可能であった。男女別に出生時体重について20パーセンタイルずつの五分位にカテゴライズし、五分位間での血圧の平均値を比較した。この際、20歳時の肥満度を補正した平均値を共分散分析 (ANCOVA) を用いて算出、比較した。統計解析は SAS を用いて行った。

【成績】男女別に出生時体重についての五分位を作成したところ、出生時体重最低の第1五分位には男で 2810 g 未満、女で 2800 g 未満が設定された。出生時体重の高い分位ほど20歳時の肥満度は有意に高かった。男における20歳時の収縮期血圧の肥満度補正平均値は、出生時体重が高いほど低下する直線的な関連を示し、出生時体重最低の第1五分位の 125.4 mmHg に対し最高の第5五分位では 123.0 mmHg と有意に低値であった (p=0.001)（図1）。男の拡張期血圧の肥満度補正平均値は第1五分位で最も高い値を示したが、有意差はなかった。女の収縮期血圧の肥満度補正平均値は第1五分位で最も高く (114.3 mmHg)、第4五分位 (113.0 mmHg) との間に有意差があった (p=0.033)（図2）。女の拡張期血圧と出生時体重との間には関連を認めなかった。

【考察】母胎内での胎児の低栄養やこれに伴う出生時の臓器の未成熟が、成人後のインスリン抵抗性発現を介して高血圧、糖尿病さらには循環器疾患罹患に結びつくというメカニズムが推定されている。

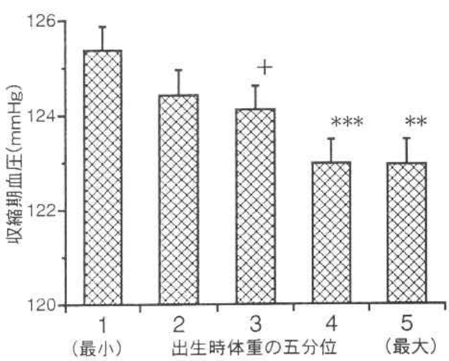



図1. 出生時体重の五分位における、20歳時収縮期血圧の肥満度補正平均値と標準誤差（男）.
+ p<0.1, ** p<0.01, *** p<0.001（第1五分位に対して）

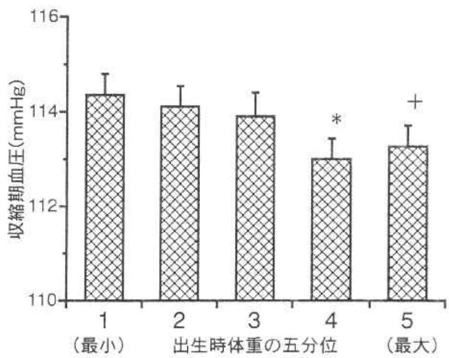



図2. 出生時体重の五分位における、20歳時収縮期血圧の肥満度補正平均値と標準誤差（女）.
+ p<0.1, * p<0.05（第1五分位に対して）

**96** 食塩感受性：本態性高血圧症患者に於ける新しい予後規定因子

国立循環器病センター
内科（腎・透析部門）

森本淳詞、宇津　貴、石川一彦、藤井　健、
中村敏子、稲永　隆、木村玄次郎

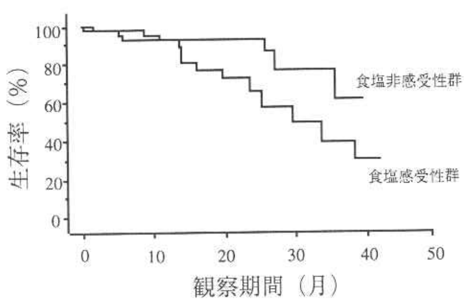
【結論】本態性高血圧症患者において食塩感受性群は非感受性群に比し、循環器合併症の発症率は有意に高いことが明らかになった。食塩感受性は、本態性高血圧症患者の予後を規定する新しい危険因子と考えられた。

【目的】高血圧患者は、健常者に比し循環器疾患合併率が高く、その生命予後は不良とされている。我々は既に、食塩感受性は糸球体高血圧のマーカーであり、腎障害進展に対する危険因子となり得ること、食塩感受性本態性高血圧症患者はnon-dipper型血圧日内変動を呈することを報告して来た。そこで、本研究では、本態性高血圧症患者において、食塩感受性が循環器合併症の新しい危険因子となり得るかどうかを検討した。

【方法】当センターに入院し、食塩感受性の有無を調べた本態性高血圧症患者（不投薬下での外来血圧160 / 95 mmHg 以上）94例のうち、退院直後は外来で血圧が140 / 90 mmHg 以下にコントロールし得た85例を対象とした。食塩感受性群（S）は40例（51±11歳）で非感受性群（R）は45例（51±9歳）であった。対象患者の循環器疾患合併率と死亡率を調査するにあたりend pointを心筋梗塞症（MI）、狭心症（AP）、脳梗塞（CI）、脳出血（CH）、一過性脳虚血発作（TIA）、心不全（CHF）、腎不全（CRF）、閉塞性動脈硬化症（ASO）、大動脈疾患（Ao-D）、突然死（Sudden death）の各eventとした。S群とR群で各々循環器疾患合併率、および、全てのeventと致死的なeventにおける Event - free 生存曲線をKaplan-Meier法に基づいて比較検討し、かつCox比例ハザードモデルに基づいて食塩感受性が予後に対して独立した危険因子となるか否かを検討した。

【成績】平均追跡期間は7.3±4.6年であった。S群40例中13例に循環器合併症が発症し（CI 1例、CRF 1例、CHF 1例、Ao-D 1例、AP 2例、MI 2例、CH 5例）、うち7例が死亡した。R群45例中7例に循環器合併症が発症し（MI 1例、CH 3例、CI 3例）、うち5例が死亡した。S群とR群との間で年齢、性別、動脈硬化指数、Body Mass Index、および退院時血圧に有意差を認めなかった。循環器疾患合併率はS群が0.12、R群が0.04（per 100 patient - years）であった。全eventを対象としたEvent - free生存曲線は、S群とR群との間に有意差が存在し、循環器合併症発症率がS群で有意に高かった（図；$p<0.05$）。食塩感受性の有無に年齢、性別、動脈硬化指数、Body Mass Index、および退院時血圧を加えて行った比例ハザードモデルでは、食塩感受性のみが独立した危険因子であった（$p<0.05$）。致死的なeventを対象としたEvent-free生存曲線では、S群がR群に比し死亡率が高い傾向を示したが、有意差は認めなかった（$p=0.35$）。ただし、食塩感受性の有無のかわりに食塩感受性係数を用いた比例ハザードモデルでは、食塩感受性係数のみが生存曲線に影響を与える因子であった（$p<0.05$）。

【考察】本態性高血圧症患者において、食塩感受性群は非感受性群に比し、循環器合併症の発症率は有意に高く、その生命予後も不良であった。食塩感受性本態性高血圧症患者はnon-dipper型血圧日内変動や糸球体高血圧などが関与し、臓器障害の進展や循環器合併症の発症のみならず、生命予後を不良にする可能性があると考えられた。



# 97 本態性高血圧と糖尿病における糸球体高血圧：腎内血行動態の比較

大阪市立総合医療センター　内科　今西政仁、吉岡克宣、小西啓夫、佐藤利彦、田中史朗、藤井暁
国立循環器病センター　内科＊　木村玄次郎＊

【結論】

食塩感受性の本態性高血圧および糖尿病性腎症初期には、糸球体高血圧が存在する。ただし、両者には次のような相違点がある：本態性高血圧では、全身血圧の上昇に対して糸球体輸入細動脈の血管抵抗(RA)が増加しており、食塩感受性になると輸出細動脈の血管抵抗 (RE)が増加して糸球体高血圧になる。一方、糖尿病では、RAが減少しており、REが増加して糸球体高血圧になる。これが腎症(蛋白尿)進展の一因になっている。

【目的】

糸球体血圧の上昇は、本態性高血圧にとっても糖尿病にとっても腎機能障害を進展させる重要な因子であると考えられているが、動物実験等による推測である。そこで、両者における糸球体高血圧存在の有無と血行動態的相違点を、糖尿病性腎症(初期)の蛋白尿への関わりも含めて、臨床的に評価・検討した。

【方法】

本態性高血圧患者15例：食塩非感受性(**HT-NS**) 7例(52±3才), 感受性(**HT-SS**) 8例(52±2才)と、糖尿病(NIDDM)歴10年以上で血圧が160/95 mmHg未満の患者13例：尿アルブミン(UAlb)が 20 mg/日未満(**DM-N**) 6例(57±6才), 20 mg/日以上(**DM-A**) 7例(60±3才)を、対象とした。全例 BUN・血清creatinine値と尿沈渣所見は正常で、血圧が安定し、血糖も充分コントロールされてから、以下のプロトコールを施行した。正塩食(15 g/日)を7日・減塩食(5 g/日)を7日計14日間摂取し、各週の最終日に、血圧 (24時間)・腎血漿流量・糸球体濾過率等を測定して、圧-Na利尿の関係を用いた腎内血行動態を評価する式(Circ Res 69: 421, '91)にあてはめ、糸球体血圧(PG)と輸出および輸入細動脈の血管抵抗(各々RE, RA)を計算した。UAlbとNaの排泄量は、各週後半3日蓄尿測定し、3回の平均をとって比較した。さらに、糖尿病患者8例に対して 変換酵素阻害薬：cilazapril (2 mg/day)の服用下で 同様のプロトコールを施行し、UAlbと腎内血行動態の変化を検討した。なお、糸球体濾過率はcreatinine clearanceで代用したが、この値はDTPA-renogramで算出した値と正相関 (r=0.978, n=22)し、腎内血行動態の評価には支障無い事を確認した。

【成績】

得られた血行動態を**表1**に示した。本態性高血圧では食塩感受性の患者で、糖尿病ではアルブミン尿が出現した患者で、PGの有意な上昇が認められた。ただし、本態性高血圧ではRAが相対的に上昇しており、食塩感受性になるとREが増加していた。糖尿病においては、RAが相対的に低く、腎症を発症するとREが増加していた。この糖尿病患者では、cilazaprilによってREが減少してPGが降下すると共にUAlbは減少し、PGとUAlbの変化は正相関した。

**表1**

| | HT-NS | HT-SS 食塩感受性+ | DM-N | DM-A albumin尿+ |
|---|---|---|---|---|
| 平均血圧 (mmHg) | 124±2 | 127±5 | 95±4* | 102±3* |
| PG (mmHg) | 47±1 | 59±2# | 41±2* | 56±2*# |
| RA (dyne·sec·cm-5) | 10300 ±1100 | 10100 ±1800 | 4670 ±680* | 5800 ±800* |
| RA/RE | 2.10 ±0.09 | 1.42 ±0.10# | 1.30 ±0.11* | 0.83 ±0.07*# |

（正塩食期の値）*P<0.01, vs HT-NS; #P<0.01, HT-NS vs HT-SS & DM-N vs DM-A;

【考察】

正常血圧者におけるPGは、40代 mm Hgと言う報告がある。我々の得られた結果と合わせると、本態性高血圧では、全身血圧の上昇に対して、輸入細動脈が収縮してPGを保とうとする働きがあるが、食塩感受性の高血圧になると、輸出細動脈の収縮がおこり、糸球体高血圧になると考えられる。一方、糖尿病では、輸入細動脈は相対的に拡張しており、これに輸出細動脈の収縮が加わってPGの上昇がおこり、アルブミン尿（腎症進展）の原因になっているらしい。変換酵素阻害薬 (cilazapril)に対するUAlbと腎内血行動態の反応も、それを裏付けている。

本態性高血圧 (食塩感受性)と糖尿病性腎症初期における糸球体高血圧の存在と相違点を臨床的に評価できた。

# 98 腎臓アンジオテンシンII産生系におけるchymaseの役割

慶應義塾大学医学部内科　　松田洋人、村上円人*、林晃一、久保田英司、
日野市立総合病院*　　猿田享男

【結論】アンジオテンシンII（AII）は、腎臓でＡＣＥ依存性経路のみならず、一部ＡＣＥ非依存性経路（chymase様酵素）で産生され、それが循環血液中ではなく主に組織内のAII増加をもたらすことを示した。血液中および血管内皮のＡＣＥにより産生されたAIIが腎血行動態の調節に重要であり、一方、ＡＣＥ非依存性経路で産生された腎臓内のAIIはパラクリンとして作用し、ＡＣＥ由来のAIIとは異なるかたちで腎血管床に作用しうることが示唆された。

【目的】組織レニン・アンジオテンシン系において、アンジオテンシンＩ（AI）をＡIIへ変換する酵素として、各々ＡＣＥ以外にchymaseなどのセリンプロテアーゼが注目されているが、その生理的意義は不明である。[Pro$^{11}$, D-Ala$^{12}$]-AI（Ｓ）は、chymaseに選択的基質で、ＡＣＥはAIIを産生できない(Circulation1992;86:I-432)。本研究では、血圧調節に重要である腎臓におけるＡＣＥ非依存性経路によるAII産生の役割を、イヌにおいて検討した。

【方法】実験１．組織内酵素活性：イヌの心臓、腎臓、大動脈、腎動脈の膜分画を調製し蛋白濃度を測定後、0.5ｍＭのAIと反応させ逆相HPLCにてAII産生を定量した。captopril 1mM、chymostatin100 $\mu$Ｍで抑制されたAIIをＡＣＥ活性、chymase様活性とした。さらに、血清のAII産生能も検討した。

実験２．血行動態：麻酔下で、ＳとAIを腎動脈内投与し、平均血圧、腎血流量（電磁血流計）を測定し、同時にNeedle型ＣＣＤカメラにより皮質表在性ネフロンの輸入・輸出細動脈径を観察した。

実験３．AIとＳの投与前後の血漿及び腎臓内AII濃度：腎臓内のAII濃度は、生検針で腎皮質片を採取後液体窒素で瞬間凍結し、プロテアーゼ阻害薬含有バッファー内でホモジェネート後エタノール抽出し、AIIをRIAで測定した。

【成績】実験１：組織のAII産生能の比率（ＡＣＥ／chymase様活性）は心臓で37/60、腎動脈で58/38、腎皮質で78/19であった。血清のAIからのAII産生はcaptoprilで消失し、Ｓからは１ｍＭの高濃度でもAII産生を検出できなかった。

実験２：腎動脈内AI投与により、腎血流量が容量依存性に減少し、同時に平均血圧が上昇した。Ｓは1nmolから腎血流量を減少させ、血圧は100nmolから遅れて上昇した。Ｓによる腎血流量の減少はE4177(AT1拮抗薬：エーザイ）前処置で消失し、chymostatin前処置で有意に抑制された。AIにより輸入・輸出細動脈径は容量依存性に減少し、10nmol 投与で約５０％減少した。Ｓにより輸入・輸出細動脈径は、1nmolで約３０％減少し500nmolまでプラトーであった。

実験３：腎臓内のAIIは702±90 pg/g･tissue 、血漿中は71±8pg/mlであった。AII濃度（血漿・腎臓内）はAI 1nmol 投与で約６．３倍・１．２倍となり、Ｓ100nmol投与で約１．６倍・７．１倍に増加した。

【考案】イヌを対象にして、ＡＣＥ非依存性経路により産生されたAIIの腎血行動態に及ぼす効果を検討した。AIの腎動脈内投与により腎組織内のAIIは僅かな上昇にもかかわらず、血漿で著明に上昇したことから、ＡＣＥにより産生された循環血液中のAIIが輸入・輸出細動脈を容量依存性に収縮させ、腎血行動態の調節に重要であることが確認された。

一方、腎臓内で少なくとも一部はＡＣＥ非依存性経路でもAIIが産生され、循環血液中ではなく主に組織内のAII増加をもたらすことが*in vivo*で強く示唆された。このchymase様酵素で産生された組織内のAIIはパラクラインとして作用し、輸入・輸出細動脈のみならず他の腎血管床（小葉間動脈等）をも強力に収縮させることが推察された。

# P－1　本態性高血圧患者，正常血圧者におけるインスリンの腎Na，Ca代謝と腎血流量に及ぼす加齢の影響

札幌医科大学医学部第二内科　福岡将匡，増田　敦，宮崎義則，平田顕文，村上英之，島本和明

【結論】インスリン感受性低下に伴う高インスリン血症がNaとCa貯留を介し，昇圧に働く可能性が示唆された．またこの高インスリン血症によるNa，Ca貯留機序には，インスリンの腎血管拡張作用の減弱に伴う腎血漿流量(RPF)の変化が関与すると考えられた．

【目的】我々は，腎Na代謝に及ぼす高インスリン血症の影響に関して，中高年正常血圧者，本態性高血圧患者ではNa貯留作用が存在するものの，若年正常血圧者ではこれが認められないことを報告してきた．一方インスリン自体はNO，prostacyclinや血管平滑筋のCaイオン減少を介し直接的な血管拡張作用を有することが知られている．そのため高インスリン血症の腎への直接作用に加えて，腎血行動態を介した腎Na，Ca代謝に及ぼす効果が注目される．そこで，本態性高血圧患者，正常血圧者で高インスリン血症の腎Na，Ca代謝に及ぼす影響を加齢とRPFとの関連において検討した．

【方法】当科入院の正常血圧者(NT)15例，WHO I，II期の本態性高血圧患者(HT)12例を，それぞれ若年者群(Y)と中高年者群(M)に分け，YNT 8例，MNT 7例，YHT 3例，MHT 9例を対象として，Na120mEq，K75mEq，Ca600mg/dayの一定食摂取下，早朝安静臥床下に120分間のeuglycemic hyperinsulinemic glucose clamp(GC)法でインスリン感受性の指標であるM値を測定，また，GC前後で血漿イオン化Ca濃度(pCa)，血漿副甲状腺ホルモン濃度(PTH)，尿中Na,Ca排泄量(UNaV，UCaV)とハラアミノ馬尿酸クリアランスによるRPFを測定した．

【成績】M値はNT (217.1±24.7 mg/m2/min)に比しHT (156.3±9.9 mg/m2/min)で有意($p<0.05$)な低値を示し，YNT (266.4±36.2 mg/m2/min)に比しMNT (160.8±11.3 mg/m2/min)でM値は有意($p<0.05$)な低値を示したが，YHT (150.7±24.8 mg/m2/min)とMHT (158.2±11.2 mg/m2/min)の間に差はなかった．UNaVはGC後で前に比し，YNT (136.3±9.9 μEq/min→214.8±39.9 μEq/min)で増加傾向を示したが，MNT (226.5±38.3 μEq/min→125.31±17.7 μEq/min)，YHT (143.9±8.9 μEq/min→88.4±13.8 μEq/min)，MHT (210.4±20.9 μEq/min→113.3±20.4 μEq/min)では有意な減少を認めた．UCaVはGC後で前に比し，YNT (75.3±16.5 μg/min→145.8±27.8 μg/min)で有意な増加を認めたが，MNT (96.8±25.3 μg/min→86.9±13.8 μg/min)，YHT (95.9±52.8 μg/min→57.5±14.0 μg/min)，MHT (64.6±9.6 μg/min→55.9±10.0 μg/min)では有意な変化を認めなかった．いずれの群でもPTHは有意に低下，pCaは有意に上昇した．RPFはYNT (501.1±33.7ml/min→747.5±32.0ml/min)で有意($p<0.01$)な増加を認めたが，MNT (491.2±48.3ml/min→523.7±60.7 ml/min)，YHT (526.5±77.3ml/min→454.1±23.1ml/min)，MHT (593.4±68.5ml/min→529.3±69.9ml/min)では変化を認めなかった．一方RPFの増加度(△RPF)はNT (151.7±36.5ml/min)に比しHT (-66.2±53.3ml/min)で有意な低値を示し，YNT (246.4±46.4ml/min)に比しMNT (43.5±11.8ml/min)で△RPFは有意な低値を示したが，YHT (-72.4±54.5ml/min)とMHT (-64.1±70.4ml/min)には差はなかった．また，全例において△UNaVと△RPFの間には有意な正相関 ($r=0.50, p<0.01$)を認め，また△UNaVと△UCaVの間では，有意な正相関 ($r=0.76, p<0.01$)が存在したが，回帰直線は左側に偏位していた．

【考察】高インスリン血症下でYNTではRPF増加によるNa利尿作用がインスリンの尿細管での直接的Na貯留作用を凌駕すること，MNT，HTではその増加反応が減弱するため腎Na貯留作用が顕著になることが示唆された．また腎でのNa排泄，Ca排泄の変化率の間には正相関がみられ，高インスリン血症による腎Ca代謝の変化には，本来の腎尿細管に対する直接的Ca利尿作用に加え，腎尿細管でのNa再吸収亢進に共役するCa再吸収が2次的に関与している可能性が示唆された．

# P－2　2-kidney, 1-clip高血圧ラットの初期昇圧機転における腎性降圧系とouabain-like factorの役割

札幌医科大学
内科学第二講座

滝沢英毅、浦　信行、中川基哉、青山　徹、買手順一、
林　学、鳥井孝明、縣　潤、島本和明

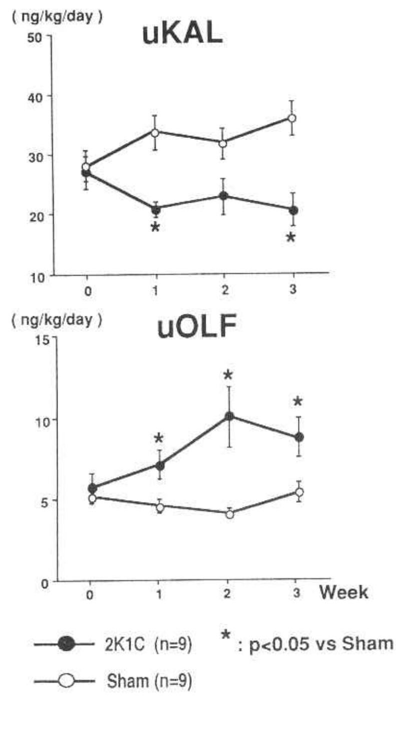
【結　論】 2-kidney, 1-clip高血圧ラット (2K1C) の初期昇圧期においては、renin-angiotensin-aldosterone系の亢進にもかかわらず、kallikrein-kinin (K-K) 系の抑制が主体をなす腎性降圧系の減弱があり、これが2K1Cの相対的体液量増加と昇圧の一因をなすと考えた。Ouabain-like factor (OLF) は体液量増大の代償機転として作動するが、この作動も結果的に高血圧発症の一因をなすものと考えられた。

【目　的】 2K1Cは、その初期昇圧期においてはangiotensin II依存性の昇圧機転が主体をなし体液量依存性因子は小さいと考えられていたが、この高血圧発症早期においても、増強したrenin-angiotensin系に不相応な相対的体液量増加のあることが報告されている。そこで今回我々は2K1Cの初期昇圧期に、腎性体液量調節因子であるdopamine、kallikrein、prostaglandinE2の尿中排泄量 (uDA、uKAL、uPGE2) を測定、同時にOLFの尿中排泄 (uOLF) の経時変動を観察し、比較検討した。

【方　法】 代謝ケージ内で個別に飼育した5週齢Sprague-Dawley rat (n=9) の左腎動脈に内径0.2mmのクリップを装着し、前、1週、2週および3週後に体重 (BW)、収縮期血圧 (SBP)、尿量 (UV)、尿中Na排泄量 (UNaV)、uDA、uKAL、uPGE2およびuOLFを、さらに3週後に大動脈より採血し、血漿レニン活性 (PRA) および血中OLF濃度 (pOLF) を測定、Sham手術群 (Sham, n=9) と比較検討した。

【成　績】 2K1CではShamに比し、SBPは2週後から有意に高く (175 ± 6 vs 125 ± 2 mmHg, $P<0.01$)、3週後のPRAも有意に高かった (37.0 ± 5.3 vs 15.8 ± 2.6 ng/ml/h, $p<0.01$)。BW、UV、UNaVは経過中いずれも2群間で有意差を認めなかった。uDAおよびuPGE2は経過中2群間で差をみないが、uKALは2K1Cで前値に比し1週後より有意に抑制され (27.0 ± 2.8 to 22.1 ± 1.7 ng/kg/day, $p<0.05$)、かつShamに比し有意に低値であり (22.1 ± 1.7 vs 32.7 ± 2.7 ng/kg/day, $p<0.05$)、以後3週後まで有意に抑制されていた。一方uOLFは1週後より有意に増加し (5.71 ± 0.87 to 10.05 ± 1.86 ng/kg/day, $p<0.05$)、かつShamに比し有意に高値であり (10.05 ± 1.86 vs 4.10 ± 0.31 ng/kg/day, $p<0.05$)、以後有意な高値を持続した。3週後のpOLFは2K1CでShamに比し高値傾向を示した (124.6 ± 3.5 vs 107.4 ± 8.8 pg/ml, $p<0.1$)。

【考　察】 2K1CにおいてはPRAの増加にもかかわらず、BW、UV、UNaVはShamと差を見ず、亢進したrenin-angiotensin系に不相応な相対的体液量増大の存在が示唆された。この相対的体液量増大は、詳細な機序は不明だが腎性K-K系の抑制と、DAおよびPG系の代償的作動の欠如が大きな要因と考えられ、昇圧の機序の一部をなすと考えた。OLFはこの体液量増大を反映して作動し、腎においては水・Na貯留に代償するが、同時にこのOLF作動が血管収縮を介し、結果的に高血圧の発症に寄与すると考えられた。



# P－3　5/6腎摘ラットの高血圧発症及び維持における内因性ウアバイン様物質とジゴキシン様物質の意義

札幌医大第二内科　買手順一、中川基哉、高田　珠、吉田英昭、浦　信行、島本和明

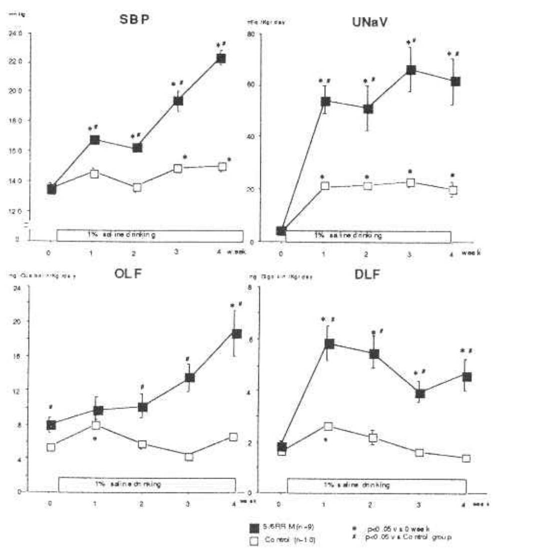
【結　論】 ラット尿中には、ウアバイン様物質(OLF)とジゴキシン様物質(DLF)がともに存在しており、5/6腎摘ラット(RRM)においてDLFは食塩負荷初期の軽度の昇圧と腎Na排泄に関与し、OLFは腎Na排泄と昇圧の維持に強く関わっている可能性が示唆された。

【目　的】 本態性高血圧、特に体液貯留型高血圧において内因性Na-K ATPase inhibitorの重要性が指摘されているが、その本態に関してはDLFとOLFの両者が推測されている。そこで我々は、5/6腎摘ラットにおいて尿中のOLFとDLFを経時的に同時測定し、高血圧発症・維持および腎Na代謝における意義について検討した。

【方　法】 雄性SDラットの左腎2/3を切除、さらに1週後に右腎を摘出してRRM群(n=9)を作成。対照(C群：n=10)には2回の偽手術を行った。全ラットは術後、個別に代謝ケージで普通飼料にて飼育、1週間の水道水(対照期)に続いて1%食塩水を4週間自由飲水させた。対照期の最終2日間、食塩水開始後1週間は連日、以後各週最後の2日間に体重、尿量(UV)、尿中Na排泄量(UNaV)を測定、さらに各週最後の2日間に収縮期血圧(SBP)をtail-cuff法で計測した。尿中OLFはDuPont社製抗ウアバイン抗体を用いたELISA法により、尿中DLFはMallinckrodt社製抗ジゴキシン抗体を用いたRIA法により測定した。

【成　績】 SBPはRRM群でのみ1週目より有意に上昇した。UV、UNaVは食塩負荷後両群で有意に増加、かつRRM群でC群に比し有意に高値であった。尿中OLFはRRM群において食塩負荷後7日間は有意な変動を認めなかったが、その後SBPの上昇と平行して段階的に増加、4週目で対照期に比し有意な高値を示した。C群では1週目にのみ軽度ながらも有意な増加をみとめたが、その後前値に復した。一方、尿中DLFはRRM群において食塩負荷後3日目で最高値を示し、4週目まで対照期に比して有意な高値を持続した。C群ではOLFと同様に一過性の増加を認めた。食塩負荷後1週間の尿中OLF、DLFの総排泄量(ΣOLF、ΣDLF)はいずれもRRM群がC群より大(OLF：79.1 ± 8.4 vs 46.0 ± 2.8ng ouabain/kg/week, P<0.05、DLF：39.7 ± 2.4 vs 18.0 ± 0.9 ng digoxin/kg/week, P<0.05)であった。また、SBPの1週目の変化度⊿SBPは、ΣDLFと有意な正相関を、ΣOLFとは正の相関傾向を示した。次に全経過を通じたRRM群におけるUNaVは尿中OLF、DLFとともに有意な正相関を認めた。SBPは尿中DLFとは正の相関傾向にとどまったが、尿中OLFとは有意な正相関をみとめ、SBPの経時変化はOLFの経時変化と合致した。

【考　察】 今回使用した抗ウアバイン抗体はジゴキシンと3%の交叉反応を示す。しかし、尿中DLFは抽出操作によりほぼ完全に除かれることから、ラット尿中にはOLFとDLFがともに存在している可能性が考えられた。尿中OLFとDLFは異なる動態を示し、初期の軽度の昇圧と腎Na排泄にはDLFの関与が強く示唆され、OLFの関与は大きくないものと考えられた。一方、全経過を通じてみると、OLFがSBPとより良好な相関を示すことから、本高血圧モデルにおける慢性期の高血圧の進展、維持に関してはOLFの果たす役割がより大であると考えられた。



# P－4　エンドセリン変換酵素の腎における発現：SHRにおける検討

熊本大学医学部第三内科

Disashi Tumba, 岩岡大輔, 直海晶二郎, 井上準之助, 徳永寛, 兼坂佳江, 中山裕史, 野々口博史, 冨田公夫

【結論】高血圧発症前 SHRにおけるECEの産生亢進は、ET-1による腎Na貯留を介してSHRの高血圧発症に関与しうることが示唆された。

【目的】SHRの高血圧の成因の一つに，腎臓のNa代謝異常が示唆されている。オートクリンあるいはパラクリン因子であるエンドセリン－1（ET-1）は，GFRの調節および尿細管におけるNa再吸収機構を介して腎Na代謝に重要な役割を果たしており，高血圧の成因の一つと考えられている。最近，big ET-1よりET-1を産生するエンドセリン変換酵素（ECE）がクローニングされたので自然発症高血圧ラット（SHR）とWistar-Kyotoラット（WKY）の腎におけるECE mRNAの発現 およびECE蛋白量を検討した。

【方法】4週齢と12週齢のSHRとWKYを用い、tail-cuff法により収縮期血圧を測定後、以下の実験を行った。実験(1)　4週齢のSHRとWKYから腎臓を摘出し，糸球体および尿細管のmicrodissectionを行った。RT-PCRとSouthern blot法により糸球体、尿細管各セグメントのECEmRNAおよびpreproET-1 mRNA の発現を検討した。対照としては，GAPDH mRNAを用いた。また，Western blot法により皮質および髄質のECE蛋白量を比較した。

実験(2)　12週齢のSHRとWKYを用いて同様の実験条件で，糸球体のECE mRNA の発現を検討した。

【成績】4週齢ではSHRとWKYの収縮期血圧に有意差を認めなかったが($109\pm3$ vs $109\pm4$ mmHg, $n=4$, NS)、12週齢ではSHRがWKYに比して有意に高値であった($137\pm9$ vs $231\pm2$ mmHg, $n=4$, $p<0.05$)。4週齢の高血圧発症前SHRではWKYに比べて，糸球体，近位直尿細管，髄質部太いヘンレ係蹄上行脚，皮質部太いヘンレ係蹄上行脚，皮質部集合尿細管，髄質外層集合尿細管，髄質内層集合尿細管においてECE mRNAの発現亢進が認められた。一方，近位曲尿細管(PCT)における発現は、SHRで低下していた。Western blot 法による検討では、髄質のECE蛋白量はWKYに比べてSHRで増加していたが、皮質では明らかな差を認めなかった。また，糸球体のpreproET-1 mRNAの発現はSHRとWKYに差がなかった。

12週齢の高血圧発症後SHRでは糸球体におけるECE mRNAの発現亢進は認められず、ECE蛋白量の増加も認められなかった。

【考案】4週齢のSHRではWKYに比べて糸球体のpreproET-1mRNAの発現に有意差がないにも拘らず，糸球体および尿細管のECE産生が上昇しており，この結果ET-1の産生が亢進している可能性がある。上昇したET-1は，血管収縮によるGFR低下と尿細管におけるNa再吸収亢進により
Na貯留をきたし，高血圧発症の一因となりうる。SHRのPCTにおけるECE mRNAの発現低下については、constitutiveなものか、あるいは糸球体から大量にろ過されたET-1に対するnegative feedbackによるものと考えられる。また、12週齢のSHRにおけるECEの発現低下は血圧の上昇に対する二次的現象であると考えられる。

# P-5 アンジオテンシンIIによる糸球体硬化の分子メカニズム

大阪市立大学医学部薬理学教室　濱口晃規、金　勝慶、矢野昌彦、瀬戸真澄、泉　康雄、三浦克之、岩尾　洋

【結論】ラットにアンジオテンシンII(Ang II)を持続投与することにより、腎糸球体で転写因子AP-1の活性化が見られた。この機序として糸球体におけるMitogen-activated protein kinase(MAPK)およびc-jun $NH_2$-terminal kinase(JNK)の活性化の関与が考えられる。さらに、平滑筋α-アクチンのプロモーター領域のCArGボックスへの結合蛋白の活性化が見られ、糸球体形質変換におけるCArGボックスの役割が注目される。

【目的】糸球体硬化の進展において、AngIIは重要な役割を演じている。しかし、in vivoでのAngIIの機序に関しては、細胞内情報伝達系、転写因子のレベルでは不明である。今回、in vivoでAngIIを持続投与し、AngIIによる糸球体硬化の分子メカニズムについて検討した。

【方法】

(実験I)8週令のSprague-Dawleyラットを(1)生理食塩水注入群(コントロール群)、(2)AngII注入群、(3) AngII注入およびCS-866(AT1受容体拮抗薬, 10 mg/kg/day)投与群の3群に分けた。AngII(400 ng/min/kg)は、浸透圧ミニポンプにて持続注入した。AngII注入開始6時間、24時間、3日、7日後に腎臓を摘出し、Sieving法にて糸球体を単離した。糸球体におけるMAPK活性はin-gel kinase法により測定した。また、ウエスタンブロット法によりMAPKのリン酸化について検討した。JNK活性は、GST-c-junを基質として測定した。また、糸球体から核蛋白を抽出し、ゲルシフト法により転写因子AP-1、SP-1、CArGボックス結合蛋白のDNA結合活性を測定した。

(実験II)AngIIの糸球体への急性効果を検討するために、AngII (200 ng/kg/min)を大腿静脈から持続注入した。ラットを(1)コントロール群、(2)AngII注入群、(3) AngII注入およびAT1受容体拮抗薬投与群に分けた。注入開始5分後に腎臓を摘出し、糸球体を単離した。同様に、上述のパラメーターについて測定した。

【成績】(実験I)AngIIの投与開始6時間後から、コントロール群に比して糸球体AP-1の結合活性の上昇がみられた。投与1日、3日後では、それぞれ1.5倍、1.2倍と有意に上昇していた。血管平滑筋α-アクチン遺伝子のプロモーター領域に存在するCArGボックスへの結合蛋白の活性は、Ang II投与3日後に約1.2倍と有意に増加していた。一方、Ang IIは、SP-1のDNA結合活性には影響を与えなかった。AT1受容体拮抗薬の投与により、AP-1活性の増加は抑制された。また、糸球体MAPK、JNK活性は、コントロール群との間に差は見られなかった。

(実験II)Ang II投与5分後、糸球体AP-1、SP-1、CArGボックス結合蛋白への影響は見られなかった。しかしながら、糸球体でMAPKファミリーのERK1およびERK2の活性が、それぞれ1.5倍、1.4倍とコントロール群に比して有意に上昇していた。また、同時にAng II投与群では、ERK1、ERK2のリン酸化も増加していた。さらに、糸球体におけるJNK活性も、コントロール群に比して約1.4倍の増加が見られた。AT1受容体拮抗薬の投与により、ERK1、ERK2活性の増加は、それぞれ抑制された。

【考察】AngII投与により、腎糸球体ではTGF-β1の産生増加および形質変換が生じることが知られており、AngIIは糸球体硬化の進展に重要な役割を演じている。TGF-β1のプロモーター領域にはAP-1結合部位が存在することから、AngII投与によるAP-1の活性化は、TGF-β1の発現上昇に関与しているかもしれない。また、このAP-1活性化の機序としてMAPK、JNKの活性化が関与している可能性が考えられる。さらに、AngIIは、CArGボックス結合蛋白の活性化を介して平滑筋α-アクチンの発現を上昇させ、糸球体の形質変換を引き起こす可能性が考えられる。

# P－6

## アンジオテンシンII受容体遺伝子多型は本態性高血圧症の発症、進展に関与するか？

大阪大学医学部第四内科

高見成洲、勝谷友宏、楽木宏実、中田幸子、佐藤憲幸、
大石　充、神出　計、三木哲郎、檜垣實男、荻原俊男

【結論】$AT_1$、$AT_2$遺伝子多型は、本態性高血圧症の*発症*には直接関与しないと考えられた。しかし、$AT_1$遺伝子多型(CCホモ接合体)は*高血圧の重症化*に、また$AT_2$遺伝子は*脂質代謝*に関与する可能性が示唆された。

【目的】アンジオテンシンIIの2つのタイプの受容体($AT_1$: angiotensin II type 1 receptor、$AT_2$: angiotensin II type 2 receptor)遺伝子が相次いでクローニングされ、その作用機序が徐々に明らかになってきている。中でも、$AT_1$、$AT_2$ノックアウトマウスにおける相反する血圧への影響が報告され、本遺伝子の血圧調節への関与が示唆されている。今回我々は、白人で高血圧症発症と緩やかな相関を認めた$AT_1$遺伝子多型と、最近我々が単離、同定した$AT_2$遺伝子多型を用いて、両遺伝子の本態性高血圧症の病態への関与を詳細に検討した。

【方法】大阪大学医学部第４内科において本態性高血圧症と確定診断された患者(N=337)、および正常血圧者(N=272)の白血球よりDNAを抽出し、$AT_1$、$AT_2$の遺伝子をPCR法にて増幅した。$AT_1$遺伝子の3'非翻訳領域に存在する多型($A^{1166} \rightarrow C^{1166}$)は*Dde I*-PCR-RFLPにより、$AT_2$遺伝子の3'非翻訳領域に存在する多型($C^{3123} \rightarrow A^{3123}$)は*Alu I*-PCR-RFLPを用いて決定し、高血圧患者-正常血圧者群間の遺伝子頻度を、$\chi^2$検定を用いて比較検討した。臓器別重症度は東京大学３内科分類に基づき定量評価した。さらに血圧、心臓超音波所見、腎機能、脂質・糖代謝等の因子との関連を分散分析法(ANOVA)を用いて検討した。

【結果】$AT_1$、$AT_2$両遺伝子多型頻度は、両群間において有意な差を認めなかった($AT_1$: $\chi^2$=0.042, p=0.84, Odds Ratio=0.96, $AT_2$: $\chi^2$=2.06, p=0.15, Odds Ratio=1.23)。一方、高血圧患者群における収縮期血圧値、血圧重症度と$AT_1$遺伝子多型との間には関連を認め、C alleleをホモで持つものが高い収縮期血圧を示し、血圧重症度でも高値を示した(収縮期血圧: $p < 0.0001$, 血圧重症度: p=0.029)。また$AT_2$遺伝子多型については、正常血圧者群の中で血清中性脂肪値とに関連を認め、A alleleをホモで持つものが高値を示した(p=0.001)。なお、その他の各種因子や、臓器別重症度と両遺伝子多型の間に、有意な相関は認められなかった。

【考察】白人において$AT_1$遺伝子多型と高血圧症との関連の報告がなされているが、日本人高血圧患者では関連を認めず、高血圧の発症に対する直接の関与はないものと考えられた。しかしながら収縮期血圧値、血圧重症度との有意な相関を認めたことから、高血圧症の重症化に対して何らかの関与が推測され、以前よりアンジオテンシノージェン遺伝子と高血圧症との関連が指摘されていることと併せて、アンジオテンシノージェン遺伝子の異常に伴う血中アンジオテンシノージェン濃度の上昇が高血圧症を引き起こし、さらに$AT_1$遺伝子の異常によって生じるアンジオテンシンII刺激に対する反応性の変化から、高血圧の重症化を招くといった機序が考えられた。一方$AT_2$遺伝子に関しては、この遺伝子がX染色体上に存在していることからその評価に関して性差による影響を除外することが問題となるが、$AT_1$遺伝子同様日本人高血圧症への直接の関与は認められなかった。しかしながら、ノックアウトマウスにおいて血圧抑制に働くかにみえる結果が報告されていることから、今後さらに厳密な機能の検討が必要である。なお今回正常血圧者において血清中性脂肪値との間に相関を示したことから、脂質代謝系に対する未知の作用の存在が推測され、動脈硬化など臓器傷害への関与の有無の検討が必要になるものと考えられた。

# P-7

## 本態性高血圧症の若年発症および左室肥大におけるアンジオテンシン変換酵素遺伝子 D alleleの意義

広島大学臨床検査医学　中野由紀子、大島哲也、小園亮二、松本敏幸、神辺眞之
同第一内科　東幸仁、石橋克彦、吉村光功、石岡規生、佐々木伸夫
佐々木正太、井上敏明、吉水功憲、松浦秀夫、梶山梧朗

【結論】
本態性高血圧症患者と健常人との間にアンジオテンシン変換酵素(ACE)遺伝子多型に差はなかったが、本態性高血圧症のうち若年発症群および左室肥大を有する群でdeletion(D) alleleが有意に高頻度であった。ACE遺伝子多型と血圧重症度、血漿レニン活性、ACE阻害薬に対する反応性との関連は見いだせなかった。

【目的】
本態性高血圧症とACE遺伝子との関係については否定的な報告が多い。しかし，本態性高血圧症の病態は多様であり全体で検討するよりむしろ、subgroupに分類した検討が必要である。今回、血圧の重症度、臓器障害、ACE阻害薬に対する反応性など個々の臨床的特性にACE遺伝子の多形性が関与するか否かを検討した。

【方法】
本態性高血圧症患者140例(年齢53±13歳，男70例，女70例)および正常血圧健常者83例(年齢56±13歳，男40例，女43例)を対象とした。高血圧症患者は食塩10g/日を一週間摂取させ、血圧および血漿レニン活性の基礎値およびカプトプリル50mg負荷時の反応性を測定した。これらに加え年齢、高血圧の発症年齢、高血圧家族歴、左室肥大、眼底所見および蛋白尿とACE遺伝子型の関連を検討した。左室心筋重量は、経胸壁心エコー法を用いて測定し男性は≥135g/m2、女性では≥110g/m2を左室肥大と定義した。ACE遺伝子型は、末梢血白血球よりDNAを抽出し、PCR法にて増幅してintron 16の挿入/欠失(I/D)genotypeを判定した。

【結果】
1)本態性高血圧症患者と健常者の2群間でACE遺伝子多型に差を認めなかった(II:63, ID:57, DD:20vsII:36,ID:33,DD:14,I/D:0.64/0.36vs0.65/0.35)。

2)40歳未満の若年発症の高血圧(n=62)では40歳以上の発症群(n=78)に比し有意にD alleleの頻度が高かった(II:25, ID:20, DD:17 vs II:38, ID:37, DD:3, I/D: 0.56/0.44 vs 0.72/0.28, X2=5.6, p<0.01)。

3)高血圧症患者のうち左室肥大(+)群(n=54)で左室肥大(―)群(n=86)に比し有意にD alleleの頻度が高かった(II:21, ID:19, DD:14 vs II:42, ID:38, DD:6, I/D: 0.56/0.44 vs 0.71/0.29, X2=4.9, p<0.01)。両群間に血圧値、血漿レニン活性、眼底所見や蛋白尿、高血圧発症後の年数などに差を認めなかった。

4)本態性高血圧患者におけるACE遺伝子多型の3群間に年齢、高血圧家族歴、血圧値、眼底所見、蛋白尿の有無について有意差を認めず、血漿レニン活性およびACE阻害薬に対する反応性にも差がなかったが、DD群で有意に発症年齢が低く、左室心筋重量が大きかった。

【考察】
ACE遺伝子多型は本態性高血圧全体では異常を示さなかった。しかしACE遺伝子のD-alleleが、本態性高血圧症の若年発症に関連する遺伝子マーカーであることが明らかになり、このことは、若年発症高血圧が遺伝的に規定された独立した症候群である可能性を示すものである。また、ACE遺伝子多形性によりACE阻害薬の降圧効果や血漿レニン活性の反応が異なるか否かを検討したが、両者に明らかな関連を認められず、降圧薬選択における本遺伝子の臨床的意義は少ないと考えられた。また、ACE遺伝子のD alleleは、本態性高血圧症の左室肥大の進行において、血圧、他の臓器障害の重症度やレニン-アンジオテンシン系とは独立した予測因子であることが示された。高血圧における左室肥大の進行が、一部には遺伝的素因により決定されている可能性を示唆している。

# P-8　遺伝子導入法を用いた心臓レニン－アンギオテンシン系の役割

大阪大学医学部第四内科　青木元邦、森下竜一、檜垣実男、松本邦夫[1]、中村敏一[1]、
同腫瘍生化1)　荻原俊男

【結論】心局所でのヒトACE遺伝子の過剰発現は、心レニン－アンギオテンシン系の心疾患における機能解明に役立つ。また、HVJ-liposome法は心臓への遺伝子導入法としてすぐれており、心局所での脈管作動物質の機能解明に役立つ。レニン－アンギオテンシン系の心臓における役割を解明し、遺伝子、アンチセンスあるいはデコイなどを用いて心疾患に対する治療につなげるためには心臓への遺伝子導入法の確立は必須であり、HVJ-liposome法は心臓への遺伝子導入法として非常に有用である。

【目的】心血管疾患において、レニン－アンギオテンシン系などの種々の血管作動物質の機能解明が重要であるが、遺伝子導入法を利用することは分子レベルでの病態解明と遺伝子治療などの新たな治療法につながる。現在までにプラスミドを直接心筋に注入する方法、アデノウイルスベクターを用いた方法など種々の生体内遺伝子導入法が試行されているが、直接導入法では導入効率の低さが、ウイルスベクターを用いた方法ではウイルスによる炎症の問題があり、毒性がなく高効率な心血管への遺伝子導入法の確立が必要である。今回我々は既に血管などへの高効率な遺伝子導入法であるHVJ-liposome法を用いて、心臓への遺伝子、アンチセンスの導入効率について検討した。また同法を用いてACE遺伝子を心臓に導入し、ACE遺伝子の過剰発現とそれによる心筋細胞の肥大について検討した。

【方法】心臓への遺伝子導入法としてHVJ-liposome法について検討した。まず、アンチオリゴあるいは遺伝子の導入効率を検討するため、FITC-oligo, β-galactosidase, Luciferaseをラット心臓に導入し、ベクターを持たない直接導入法と比較した。アプローチとして針による心筋への直接注入法、心外膜貯留法、冠動脈注入法のそれぞれを施行した。FITC-oligo導入群については蛍光顕微鏡にて蛍光発色を経時的に、β-galactosidase導入群では導入4日後染色後光顕にて、Luciferase導入群では導入4日後ルミノメーターによる酵素活性測定にて検討した。次に、ACE遺伝子を同法を用いてラット心臓に直接注入法にて導入し、4日後ACE活性を測定、さらに14日後導入周囲部位の心筋細胞の肥大についてHE染色後光顕にて検討した。

【成績】FITC-oligoの導入は、直接導入法が3日以内に蛍光発色が消退するのに対し、HVJ-liposome法により一週間以上にわたる核内の発色を認め、また蛍光強度の測定にて有為な導入効率の高さが確認できた(day 3; Direct: ND, HVJ: 135±23, fluorescence, P<0.05)。Luciferase活性の測定でも同法による有為に高い遺伝子発現が確認された(day 4; Direct: 437±23, HVJ: 16800±2930, light intensity, P<0.01)。β-galactosidaseの発現も直接注入法で針穴周囲に、心外膜貯留法で心臓表面広範囲に、冠動脈注入法でも血管壁を超えまた微小血管を介して広範囲に認められた。同法でACE遺伝子を導入した心臓は、対照群に比し有為なACE活性の上昇を認め(day 4; untreat: 21+3.8, HVJ: 54+13.5, units/400mg tissue, P<0.01)、ACE遺伝子の心臓への高効率な導入が可能であり、ACE遺伝子を導入した心臓の組織切片（HE染色）にて、導入周囲部の心筋細胞の肥大を認めた。

【考察】HVJ-liposome法ではウイルスの表面蛋白により細胞膜と脂質膜とが融合し、endocytosisの経路を介することなく脂質内のオリゴあるいは遺伝子が細胞内に入るため、高効率に遺伝子発現が可能である。同法は遺伝子治療に有用であるのみならず、心血管疾患における分子レベルでの病態解明にも有用である。心レニン－アンギオテンシン系の局所での機能解明は従来の薬理学的手法では困難であったが、本研究で示されたような心局所でのACE発現は、高血圧性心肥大などの各種心疾患における心レニン－アンギオテンシン系の重要性を示している。

# P-9 高血圧自然発症ラット左心室におけるHeparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor およびEpidermal Growth Factor Receptor の発現増加について

旭川医科大学第一内科

藤野貴行、長谷部直幸、藤田雅章、竹内克呂、辻史郎、中村秀樹　名取俊介、井門明、松橋浩伸、飛世克之、菊池健次郎

【結論】 本研究は高血圧自然発症ラット/izm(SHR)の心筋細胞におけるHeparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor(HB-EGF)の過剰発現を初めて明らかにしたものであり, 心筋細胞に発現するHB-EGFとその情報伝達系が、SHRの特に早期の左室リモデリングにおいて重要な役割を果たしているものと考えられた。

【目的】HB-EGFは培養心筋, 平滑筋, 線維芽細胞において, その肥大,増殖, 分化への関与が報告されているが, 高血圧性肥大心における報告はない。本研究ではSHRの左室リモデリングにおけるHB-EGFおよびそのレセプタ-であるEGFレセプタ- (EGF-R)のmRNAおよび蛋白発現の経時的変化を検索、その意義を検討した。

【方法】5週齢(5W), 9W, 12WのSHR、対照として同週齢のWistar Kyoto Rat/izm (WKY)を、体重およびtail cuff法による血圧の測定後、断頭屠殺し心臓を摘出, 心重量を測定した。左心室よりpoly(A)$^+$RNAを抽出し、 HB-EGF および EGF-R cDNAをプロ-ブとしてノ-ザンブロット法により、$\beta$-actin mRNAを対照として定量化した。また左心室より凍結切片を作成し 免疫組織化学的手法を用いて蛋白レベルの検出を行った。

【結果】1) 収縮期血圧 ( sBP ) は、SHRではWKYに比し5Wでは有意差を認めず、その後9W,12Wにて有意に上昇した。左室重量対体重比( LV / BW ) は、5Wより12WにかけてSHRがWKYに比し有意な高値を示した。

2) HB-EGF mRNAは約2.5kbにSHR, WKYともに認められたが、 SHRではWKYに比し、5Wで1.2倍、9Wで3.0倍と最高値に達するが、12WではWKYとほぼ同レベルに低下した。EGF-R mRNAは約9.5kbに認められ、SHRではWKYに比し、5Wで1.2倍の上昇を認め、9Wで4.7倍に上昇し、これが12Wにおいても3.5倍の上昇を持続した。WKYでは全経過を通じて、EGF-R mRNAの発現はわずかにとどまった。

3) 免疫組織化学的には、HB-EGFは主に心筋細胞の細胞膜および細胞質に存在し、血管周囲平滑筋にもわずかながら存在を認めた。EGF-Rは主に間質および心筋細胞の細胞膜に存在した。

( Table 値は平均。P*<0.01 vs WKY, n=6)

| | s BP | LV / BW |
|---|---|---|
| 5W SHR/WKY | 114 / 109 | 3.48* / 3.10 |
| 9W SHR/WKY | 182* / 119 | 2.95* / 2.57 |
| 12W SHR/WKY | 199* / 128 | 2.92* / 2.48 |

| | HB-EGF / $\beta$ -actin | EGF-R / $\beta$ -actin |
|---|---|---|
| 5W SHR/WKY | 0.65* / 0.54 | 0.42* / 0.35 |
| 9W SHR/WKY | 2.31* / 0.77 | 0.93* / 0.20 |
| 12W SHR/WKY | 1.05 / 1.01 | 0.69* / 0.20 |

【考察】HB-EGFはneonatalおよびadultラット培養心筋細胞において、 $\alpha$-adrenergic agonistや高頻拍刺激によりautocrineに発現が増加し、paracrine作用により心筋細胞の肥大に関与していることが指摘されている。また前駆体HB-EGFは細胞膜に結合した状態で隣接する細胞の増殖を促進するjuxtacrine作用を持つことが指摘されている。今回の研究により、in vivoにおける高血圧性心肥大の形成早期に、心筋細胞からのHB-EGFの産生増加が、そのレセプタ-の間質および心筋細胞での増加とともに認められたことは、juxtacrine作用, autocrine-paracrine作用により、間質の線維化や心筋細胞の肥大に関与している可能性が強く示唆された。

# P-10

## 高血圧性心肥大の代償期より心不全に至る過程における筋小胞体カルシウム調節蛋白群の遺伝子発現変化

愛媛大学医学部第２内科　岡山英樹、川上秀生、池田俊太郎、橋田英俊、重松裕二、濱田希臣、日和田邦男

【結　論】心筋の筋小胞体(以下SR)カルシウム調節蛋白遺伝子群は、高血圧による代償性心肥大期にはカルシウム取り込み能の低下すなわち弛緩の遅延、カルシウム貯蔵能の亢進すなわち収縮力増大の方向に発現が変化する。また心不全期にはさらなるカルシウム取り込み能の低下の方向に発現が変化する。以上のことからSRカルシウム調節蛋白遺伝子群は、高血圧による心肥大の心機能の規定因子として重要な働きをしていると考えられる。

【目　的】SRのカルシウム調節蛋白群は、カルシウムの放出と取り込みを行うことにより心筋の収縮および弛緩能を直接規定している細胞内小器官である。拡張型心筋症などの不全心筋では、これらの遺伝子発現の低下が心機能の低下に密接に関与していることが報告されている。また大動脈や肺動脈の縮窄による急激な圧負荷肥大心においても同様に遺伝子レベルで発現が低下することが報告されている。しかしながら現在まで緩徐な慢性的圧上昇による、より生理的な圧負荷による代償性心肥大から心不全にいたる過程でのこれらの変化を検討した報告はない。今回我々は代償性心肥大からうっ血を伴う左室機能障害にいたる過程の収縮性の変化のメカニズムを明らかにする目的で、その移行過程を再現性よく観察できるモデルであるダール食塩感受性ラット（以下DS）を用いSRカルシウム調節蛋白群の遺伝子変化について検討した。

【方　法】Inokoらの方法（Am J Physiol1994; 267: H2471)に従い、DSに６週齢より８％高食塩食を投与し、代償性心肥大期（C期:11週齢）、心不全期（F期:16週齢以降）において実験を施行した。コントロールとして同一週齢のダール食塩抵抗性ラット（以下DR）を用いた。各週齢において7.5MHzセクタープローブを用いた心エコー図を記録後、左心室を摘出し、AGPC法によりRNAを抽出した。ノーザンブロット法にてSRのカルシウム調節蛋白遺伝子群[sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase (SERCA), phospholamban (PLB), ryanodine receptor (RYR), calsequestrin (CSQ)]およびANP, BNP遺伝子の発現について検討した。

【成　績】DSの血圧は緩徐に上昇し、12週齢でプラトーに達した。心エコー上C期はconcentric hypertrophyを呈したがend-systolic wall stress (ESWS)は正常、一方F期はeccentric hypertrophyを呈しESWSは2.2倍に上昇した。C期のSERCAのmRNAは有意な変化を認めなかったが、F期には有意に低下(0.68倍)した。SERCAとLVMIの回帰曲線は２次曲線でより近似できた。C期のPLBmRNAは有意な上昇(1.6倍)を認めたが、F期には有意な変化を認めなかった。SERCA/PLB比（以下S/P比）はC期で0.8倍と有意に低下し、F期には0.64倍とさらに低下した。このS/P比とLVMI間には有意な逆相関が存在した（$r=0.77$, $p<0.01$)。CSQのmRNAはC期において有意に上昇(2.4倍)したが、F期にはDRと有意差を認めなかった。RYRのmRNAはいずれの時期においても有意な変化を認めなかった。またANPmRNAはC期、F期に各々5.0倍、9.6倍と上昇し、BNPmRNAは各々1.8倍、2.4倍と上昇した。左室心筋重量係数とANPmRNA、BNPmRNA間には有意な正相関が存在した（各々$r=0.89$, $r=0.77$）。

【考　察】SERCAはカルシウムの取り込みを行い、PLBはSERCAの活性を抑制する。すなわち本心肥大モデルでは、代償期にはPLBの上昇により、不全期にはSERCAの低下によってカルシウム取り込みの低下をきたす方向に遺伝子発現が変化し、肥大心の拡張能低下に関与している可能性が示唆された。CSQは代償性肥大期においてSRのカルシウム貯蔵能を増加させる方向に発現が亢進し、後負荷増大に適応していることが示唆された。不全期のCSQおよびRYRのmRNAはDRと有意な変化を認めず、この時期の収縮力低下の機序はこれらの遺伝子の量的変化にはよらないことが示唆された。

# P-11 圧負荷による心肥大形成に心レニンーアンジオテンシン系は関与しない。

東京大学医学部第三内科

原田光一郎、小室一成、久藤純代、
菅谷健、矢崎義雄

【結論】圧負荷による心肥大形成過程において、その早期反応には、アンジオテンシン II は関与していない可能性が示唆された。

【目的】心肥大は高血圧患者の約 25 %に存在し、患者予後を規定する重要な因子であることが知られている。最近、高血圧における心肥大形成の機序として、血行力学的負荷といった機械的な刺激によって、心臓局所のレニンーアンジオテンシン系が活性化されることが、 in vitro の実験系で示されている。本研究では、圧負荷による心肥大形成において、心レニンーアンジオテンシン系が必須の因子であるか否かを調べるために、遺伝学的にアンジオテンシン II 受容体タイプ 1a (AT1a) を介する情報伝達系の存在しない AT1a 欠損マウスと野生型マウスを用いて、 in vivo における圧負荷による情報伝達系の活性化と圧負荷に反応する遺伝子発現について検討した。

【方法】マウスの心臓への圧負荷は、開胸手術を行った後、大動脈弓中央部を縮窄することにより作成した。また開胸手術だけ行ったものを対照とした。 AT1a 欠損マウスと野生型マウスに対して、大動脈縮窄 30 分間、 60 分間、 120 分間の圧負荷を行った。マウスの心臓より mRNA を抽出し、 Reverse trascription - polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いて、心筋組織における AT1a 、 AT1b の発現量について解析した。またノーザンブロット法を用いて、 c-fos / c-jun / brain natriuretic peptide (BNP) 遺伝子の発現を検討した。さらにこのモデルを用いて、機械的圧負荷によって心肥大を形成する過程において重要な情報伝達因子である、mitogen-activated protein kinases (MAPKs) の活性化についても検討した。

【成績】 RT-PCR により、 AT1a は野生型マウスの心臓に多量に存在し、 AT1a 欠損マウスの心臓には全く存在しないことが確かめられた。また AT1b は野生型マウスと AT1a 欠損マウスの両者の心臓において、同量ごく微量のみ存在した。圧負荷刺激により、野生型マウスと AT1a 欠損マウスの両者の心臓において c-fos / c-jun / BNP 遺伝子の発現が認められた。これらの遺伝子発現のピークは、野生型マウスと AT1a 欠損マウスの両者でともに圧負荷後 30 分であり、遺伝子発現の時間経過による変化には大きな差は認めなかった。また MAPKs の活性化も両マウスにおいて同様に認められた。興味深いことには、これら一連の圧負荷に対する反応は全て野生型マウスよりも AT1a 欠損マウスにおいて顕著であった。

【考察】最近、心肥大形成の機序の一つである血行力学的負荷といった機械的刺激によって、心臓局所のレニンーアンジオテンシン系が活性化されることが、 in vitro の実験系で示され、心肥大の進展にアンジオテンシン II が重要な役割を果たしていることが示唆されている。しかし機械的負荷によって惹起される心肥大反応に、本当に心臓局所のレニンーアンジオテンシン系を介する経路が必須なものであるか否かは全く不明であった。一般にレニンーアンジオテンシン系の最終産物であるアンジオテンシン II は、主にその特異的受容体である AT1 を介して既知の生理的作用を発揮することが知られている。よって今回我々は、遺伝学的に AT1a を介する情報伝達系の存在しない AT1a 欠損マウスを用いて、 in vivo における圧負荷による情報伝達系の活性化について検討した。野生型マウスにおいて圧負荷により活性化する情報伝達系は、 AT1a が存在しない AT1a 欠損マウスにおいても同様に活性化され、また関連した遺伝子発現も同様に起こることが示された。これらの結果により、圧負荷により活性化する情報伝達系には、必ずしも AT1a を介するアンジオテンシン II の作用は必要ないと考えられた。

# P-12　発生工学的手法により作製した妊娠高血圧マウスの病態解析

筑波大学応用生物化学系　瀧本英理子、石田純治、村上和雄、深水昭吉
同　動物実験センター　杉山文博

【結論】ヒトアンギオテンシノーゲン遺伝子を導入したメスマウスに、ヒトレニン遺伝子を導入したオスマウスを交配することにより、母体は妊娠時特異的な高血圧を呈する。この妊娠高血圧マウスには尿中蛋白排泄量の増加を伴った腎糸球体腫大、求心性心肥大、および胎盤組織の壊死、浮腫、鬱血による虚血性病変が観察されることが明かとなった。

【目的】妊娠時に母体循環中のレニン-アンギオテンシン系(RA系)が著しく亢進することは、心血管系および腎臓を中心とした様々な生理的変化に対する母体の適応であると考えられている。これまでの多くの研究から、妊娠時におけるRA系の変動が妊娠高血圧の発症に重要な役割を担う可能性が示唆されており、また妊娠に基づいて発症する高血圧が妊娠中毒症の病因の1つであると考えられている。しかし、一部の妊婦でなぜ血圧が上昇し、その高血圧がなぜ妊娠中毒症に進展するのかについて、その分子生物学的機序は未だ不明である。また現在、ヒト胎盤においてもRA系の存在が知られており、胎盤で産生されるレニンが母体血圧および子宮胎盤循環の調節機構に関与する可能性が考えられている。しかし、実際に胎盤レニンが母体血中に放出されるという決定的な証拠は今までなかった。これまでに我々の研究室において、ヒトアンギオテンシノーゲン遺伝子を導入したメスマウスにヒトレニン遺伝子を導入したオスマウスを交配することにより、胎盤の栄養膜細胞で産生されたヒトレニンが母体血中に分泌され、妊娠後期に母体の顕著な血圧上昇を引き起こすことを明かにした。また、この血圧上昇は産後速やかに正常レベルに回復することが観察されている。そこで本研究では、妊娠時特異的に高血圧を呈するこの妊娠高血圧マウスにおいて病態生理学的解析を行なった。

【方法】ヒトレニン基質であるヒトアンギオテンシノーゲン遺伝子を導入したメスマウスに、ヒトレニン遺伝子を導入したオスマウスを交配し、以下の解析を行なった。またコントロール群として、野性型(C57BL/6J)のオスマウスおよびメスマウスを交配し、同様に解析を行ない比較した。

(1) 自由飲水および飲食の条件下において代謝ケージ内で飼育を行ない、24時間尿を採取し、尿中蛋白量をProtein Assay Kit (BioRad)により測定した。また同時に尿量および飲水量の測定を行なった。

(2) 妊娠後期から分娩直後にかけ死亡した個体および体調異常により解剖した個体について心臓、腎臓および胎盤における組織変化を解析した。

【成績】

(1)妊娠末期の19日において妊娠高血圧マウスの尿中蛋白排泄量は顕著に増加し、コントロールに比べ約7倍高い値を示した。また尿量および飲水量も有意に増加し、コントロールに比べそれぞれ約5倍、約3倍高い値を示した。

(2)妊娠17日から分娩後3日までに、全26例中、胸腔内出血5例、腹腔内出血2例、また4例のマウスにおいては全身性の痙攣が観察された。これらのマウスには腎糸球体腫大、求心性心肥大、および胎盤組織の壊死、浮腫、鬱血による虚血性病変が観察されることが明かとなった。また体重に対する心重量はコントロールに比べ、約2倍高い値を示した。

【考察】胎盤ヒトレニンの母体透過性により妊娠時特異的な高血圧を呈する妊娠高血圧マウスには、尿中蛋白排泄量の増加、腎糸球体腫大、求心性心肥大、および胎盤組織の虚血性病変が観察されることが明かとなった。今後このマウスにおける詳細な解析は、妊娠高血圧および妊娠中毒症の発症機序の解明に新たな知見を与えることが期待される。

# P-13 ヒトアンジオテンシノーゲン遺伝子のコアプロモーター領域の解析 -結合因子の同定と遺伝子多型による転写活性への影響

筑波大学応用生物化学系　　柳内和幸、村上和雄、深水昭吉

【結論】ヒトアンジオテンシノーゲン（hAG）遺伝子のコアプロモーターには、転写活性化領域の応答に重要なmediatorとしての役割を担うAGCF1が結合する。また、AGCF1の結合領域内に存在する遺伝子多型によりAGCF1のDNA結合活性が変化しており、hAG遺伝子の転写活性が大きく影響を受けている可能性が示唆された。これは、hAGの遺伝子多型と発現調節機構の関係を示す初めての報告である。

【目的】AGを過剰に発現させた遺伝子導入マウスにおいて血圧の上昇が見られることや、ヒト高血圧患者で血中AG濃度が高いことなどから、AGの発現量の変化は高血圧発症に重要な役割を担っていると考えられる。AGは主に肝臓で合成され、非調節性経路で血中に分泌されるため、発現調節機構の中でも転写レベルでの制御が特に重要である。これまでに我々は、転写活性化に重要な領域として、5'上流調節領域｛hASR（－344～－313 bp), ALE（－102～－87)｝と3'下流にエンハンサー領域｛Downstream Enhancer（＋1399～＋2230)｝を同定してきた。本研究では、転写開始点近傍のコアプロモーター領域に着目し、近年注目されている遺伝子多型の影響も含めて検討した。

【方法】転写活性の測定にはrepoterとしてCAT遺伝子を用い、ヒト肝癌由来の細胞株HepG2で検討した。transfection効率はβ-galにより補正した。転写因子の解析にはelectropholetic mobility shift assay (EMSA)・DNaseI footprint・UV Cross Linkを用いた。

【成績】コアプロモーターは、様々な遺伝子でほぼ共通の基本転写因子群が作用する転写開始点付近の領域であり、転写開始に必須である。hAG遺伝子のプロモーター上流領域（－1222～－36）は自身のコアプロモーター（－32～＋44）に連結すると機能したが、SV40ウイルスのコアプロモーターに連結しても全く機能しなかった。これらより、hAGコアプロモーターはSV40のそれと機能的に異なっており、基本転写因子群以外の因子が作用する可能性が示唆された。これをEMSAにより検討した結果、転写開始点とTATA boxの間のAGCE1（Angiotensinogen core promoter element 1, －25～－1)に結合するAGCF1（AGCE-binding factor 1）を同定した。UV Cross LinkによるとAGCF1は少なくとも、31・33・43 kDaの因子を含み、footprintはTATA boxと一部重なる－26～－9であった。AGCF1の機能を明らかにするため、約1.3 kbのプロモーターとDowmstream Enhancer及びCAT遺伝子により再構成したhAG遺伝子に、AGCF1の結合が阻害される変異を導入した。野生型に比較して転写活性は２５％程度にまで低下し、AGCF1がAG遺伝子の転写に非常に重要であることが明らかとなった。さらに詳細な解析により、hASRはAGCF1とは独立に転写を活性化できるものの、ALEとDowmstream EnhancerはAGCF1の結合を阻害すると転写活性化領域として機能できず、mediatorとしてAGCF1を必要とすることが明らかとなった。次に、以前に報告されていた遺伝子多型がAGCF1認識配列内のE-box（CACGTG）に似た配列（－19～－14)に位置したので、EMSAとsite-directed mutagenesisによりその影響を検討した。すると、CTCGTGとATCGTGタイプはATTGTGタイプに比較して、AGCF1の結合活性が強く、転写活性が2.5倍であった。

【考察】AG遺伝子の第2エクソンの235番目のMetがThrに置換した変異（M235T)を持つ場合、血中AG濃度が高く、高血圧との連鎖が認められている。しかしながら、このアミノ酸変異が直接血中濃度に影響を及ぼすとは考えにくいため、M235Tとリンクする転写調節領域の変異がAG濃度を規定している可能性が指摘されてきた。本研究により、AGCE1内の遺伝子多型がAGCF1の結合活性の変化を介して、AGの発現量に大きく影響することが示唆された。ATTGTGタイプをホモで持つヒトと比較すると、CTCGTGのホモとATCGTGのホモ及び、CTCGTGとATCGTGのヘテロでは、転写量が2.5倍になっていると考えられる。今後、これらの多型と血中AG濃度及び高血圧症との連鎖解析を行うことが重要である。

# P-14 糖尿病と高血圧を伴う病態における血管壁Na利尿ペプチド系の病態生理学的意義

東京女子医科大学第二内科

吉本貴宣、成瀬光栄、成瀬清子、田辺晶代、
関　敏郎、新井桂子、三品直子、今城俊浩、
出村　博

【結論】Wistar fatty rat (WFR)を用いた検討より、糖尿病と高血圧を合併した病態下ではANP・BNP/A受容体系に加えて血管壁CNP/B受容体系の遺伝子発現増加と機能亢進があり、高血圧に対する代償あるいは血管保護としての病態生理学的役割が示唆された。

【目的】Na利尿ペプチド（NP）系にはエンドクリン様式で作用するANP・BNP/A受容体系とパラクリン様式で作用するCNP/B受容体系が存在する。今回、肥満、高インスリン血症、糖尿病に加えて高血圧を合併するWistar fattyラット（WFR）において、血管壁および腎のNP系遺伝子発現動態およびNP受容体拮抗薬投与の影響を検討したので報告する。

【方法】18週齢のWFRおよび対照であるWistar leanラット（WLR）の大動脈および腎からRNAを抽出後、特異的なribonuclease protection assay（Yoshimoto et al. Endocrinology, 1995)を用いてNP-A、NP-B受容体mRNAを定量、CNPmRNAを半定量した。血漿ANP濃度はRIAにて測定した。更に、NP-A/NP-B受容体の特異的拮抗薬であるHS-142-1をWFRおよびWLRに急性投与し、収縮期血圧への影響（無麻酔無拘束下、8mg/kg, i.p.）および血漿cGMP濃度、尿中Na排泄量への影響（ペントバルビタール麻酔下、8mg/kg, i.v.）を検討した。

【結果】18週齢のWFRの収縮期血圧（158±4mmHg, n=7）は同週齢のWLR（142±3 mmHg, n=7, P<0.01）に比し有意に高値であった。WFRの血管壁におけるNP-A、NP-B受容体mRNAの発現量は各々WLRの約2倍であった（NP-A：51.0±3.8 vs. 25.0±0.8 amol/20μg total RNA；NP-B：19.0±1.4 vs. 9.2±0.2amol/20μg total RNA, 各n=4～7, P<0.01）。また、WFRの血漿ANP濃度（133±9pg/ml, n=10）はWLR（99±3 pg/ml, n=10, P<0.05）に比べて有意に高く、かつ血管壁CNP mRNA 発現量もWLRの約2倍（各n=6, P<0.01）であった。一方、腎におけるNP-A、NP-B受容体、CNPのmRNA発現量はWFRとWLR間で差を認めなかった。HS-142-1投与によりWFRでは有意な収縮期血圧の上昇（153±3→166±4mmHg、n=4、P<0.05）を示したが、WLRでは血圧の変化（143±2→146±3mmHg、n=4、NS）を認めなかった。更にHS-142-1投与後の血漿cGMP濃度の減少程度はWFR（-74±5%, n=4）でWLR（-41±4%, n=4, P<0.05）より顕著であった。HS-142-1投与による尿量、尿中Na排泄量の減少程度には両群間で差を認めなかった。

【考案】我々はこれまで、非糖尿病高血圧モデルでの血管壁ANP/A受容体系のup-regulationを報告した。WFRの血管壁においてはANP/A受容体系に加え、CNP/B受容体系のmRNAレベルでのup-regulationが認められた。また、NP受容体拮抗剤の投与によりWFRではさらなる血圧上昇を生じたが、同薬剤による腎の水・Na排泄への影響はWFR、WLR間で差を認めなかった。以上より、WFRにおける血管壁NP系の発現亢進は同ラットの血圧上昇に対して代償的な病態生理学的意義を有する事が示されたと共に、糖尿病と高血圧を合併した病態下において血管壁NP系のup-regulationが降圧あるいは血管保護に重要な病態生理学的役割を有する可能性が示された。

# P-15

細胞外マトリックスによる血管内皮細胞からのC型ナトリウム利尿ペプチド及びアドレノメデュリンの分泌調節とその臨床的意義

京都大学医学部臨床病態医科学・第2内科

土居健太郎、伊藤裕、菅真一、小川佳宏、井垣俊郎、田村尚久、高屋和彦、山下潤、全泰和、井上真由美、政次健、桝田出、斉藤能彦、吉政孝明、中尾一和

【結論】細胞外マトリックス(ECM)は、内皮細胞(EC)のフェノタイプを変化させるとともに、ECからの新しい内皮由来血管弛緩因子であるC型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)及びアドレノメデュリン(AM)の分泌調節に関与することが明かとなった。高血圧等の血管合併症においては、ECM成分の変化が知られており、ECMによるECの分化、増殖・脱分化といったフェノタイプの変化に伴う血管リモデリングにおける、ECからのCNP及びAM分泌調節の意義が注目された。【目的】最近、高血圧症における血管リモデリングにおいて、ECから分泌される血管作動性物質の意義が注目されている。我々は、ECからCNPが合成分泌されることを明かにし、ペプチド性内皮由来血管弛緩因子としての意義に注目し、「血管壁ナトリウム利尿ペプチド系」の存在を提唱している。また、ヒト褐色細胞腫から単離・同定された降圧物質であるAMも、ECより産生される事が明かとなった。一方、正常ECは、分化し静止期にあるが、高血圧等によりECが損傷すると、その修復反応として、ECは脱分化、遊走し増殖する。最近我々は、血管新生因子であるVEGFの刺激により増殖期にあるECにおいてCNP分泌が低下することを明らかにした。一方、ECMが、ECの分化、増殖等を制御していることが知られている。そこで今回、我々は、ECMによるECのフェノタイプ変化の血管リモデリングにおける意義を明らかにするために、ECMによるECからの新しいペプチド性内皮由来血管弛緩因子であるCNP及びAMの分泌調節を検討した。【方法・結果】ラミニン、マトリゲル、IV型コラーゲン、及びフィブロネクチンをコートしたプレートにウシEC ($4x10^5$cells/dish) を培養した。ラミニン及びマトリゲルでコートしたプレートで培養したECは、培養開始24時間後、形態変化を認め、cobblestone様からspindle様に変化した。一方、IV型コラーゲン及びフィブロネクチンでコートしたプレートで培養したECでは、光顕上、形態変化は認められなかった。IV型コラーゲン及びフィブロネクチンでコートしたプレートで、30時間及び60時間培養したECの培養上清中のCNP濃度は、対照群と比較して変化を示さなかったが、ラミニン及びマトリゲルでコートしたプレートで培養したECからのCNP分泌は、対照群と比較して有意に上昇した（表）。ラミニンのCNP分泌亢進作用のメカニズムを明らかにするため、ラミニンコート群のECからのCNP分泌に対するカルフォスチンCの効果を検討したところ、カルフォスチンC $10^{-6}$M添加により、ECからのCNP分泌は、対照群の60%に抑制された。さらに同様にECからのAM分泌量は、対照群(1.8±0.2pmol/ml)に比べ、マトリゲル群(3.5±0.1pmol/ml)で有意に高く、またラミニン群のECからのAM分泌量は、対照群の1.4倍に上昇した。【考察】以上の結果より、血管内皮細胞基底膜構成成分であるECMは、ECの分化に関与し、ECからのCNP及びAMの分泌を制御していることが明かとなった。血管損傷や血管新生においては、血管内皮細胞基底膜のマトリックス構成が変化し、ECからのCNP及びAMの分泌調節を受けることが想定される。我々はこれまでに、我々が開発したCNP特異的モノクローナル抗体(KY-CNP-I)を用いた免疫組織化学による検討により、細胞外マトリックス組成が変化していると考えられる動脈硬化性プラークを認めるヒト冠動脈において、ECでのCNP発現は著明に低下していることを明らかにしている。今回の成績は、高血圧や動脈硬化症、糖尿病性血管合併症等の血管病変で認められる血管リモデリングにおいて、ECMがCNP及びAMの分泌を調節することにより間接的に血管収縮及びその増殖の制御に関与している可能性を示唆すると考えられた。

（表）

| CNP (fmol/well) | 30hrs | 60hrs |
|---|---|---|
| Laminin | 19.2±1.8* | 23.0±3.6* |
| Matrigel | 18.4±1.6* | 19.5±2.4* |
| Collagen | 11.8±1.2 | 12.2±1.1 |
| Fibronectin | 13.7±1.9 | 12.2±3.1 |
| non-coated | 12.6±0.8 | 9.0±1.1 |

*; $p<0.01$ vs. non-coated

# P-16 血管リモデリングにおけるアポトーシスとその関連遺伝子

愛媛大学医学部第2内科　伊賀瀬道也，大蔵隆文，福岡富和，間口元文，北見　裕，Deng Li-Zhi，小原克彦，日和田邦男．

【結論】血管傷害後の血管再構築（リモデリング）において、各種細胞増殖因子に加え細胞増殖抑制因子が関与していることが知られている。本研究では、ラット血管傷害モデルにおける新生内膜増殖時および退縮時において細胞増殖抑制因子としてアポトーシスが関与しており、この誘導にIL-1β converting enzyme（ＩＣＥ）が関与していることを明らかにした。

【目的】動脈硬化巣およびＰＴＣＡ後の血管病変ではリモデリングが認められる。このリモデリングには各種細胞増殖因子に加え細胞増殖抑制因子が関与している。この抑制機構の一つにアポトーシスによる細胞死があり、病変形成に重要な役割を演じていると考えられている。ところがこれまで細胞の遊走と増殖の観点からの研究は多いが、細胞死の観点からみた報告は少ない。また現在までに数多くのアポトーシス誘導遺伝子およびアポトーシス抑制遺伝子が報告されているが、これらの血管リモデリングにおける役割は不明である。そこで本研究では、ラット血管傷害モデルを作製し、新生内膜増殖時および退縮時の血管平滑筋（ＳＭＣ）におけるアポトーシスの誘導と種々のアポトーシス関連遺伝子の発現を検討した。

【方法】雄性 Sprague- Dawleyラット(350-450g)を用いた。50mg/kg の sodium pentobarbital の腹腔内投与にて麻酔の後、左外頚動脈より 2F Fogarty balloon catheterを挿入し左総頚動脈をバルーンにて傷害した。傷害後１、２、３、４および５週の傷害モデルを灌流固定後左右の総頚動脈を切除し、樹脂包埋切片を作製した。新生内膜の確認はヘマトキシリン－エオジン染色で行い、アポトーシスの検出は、組織切片上で Terminal deoxynucleotidyl transferaseを用い、アポトーシス細胞の DNA3'-OH 末端を Digoxigenin nucleotide で標識しAnti-digoxigenin antibody peroxidase conjugateで反応後、3,3'Diamino - benzidine 4 HClで発色した。各アポトーシス関連遺伝子の検出は Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT- PCR) 法で行った。左右の総頚動脈を摘出後、Acid Guanidinium-Phenol-Chloroform 法により総 RNA を抽出し、オリゴ dTプライマーと逆転写酵素により cDNA を合成した。アポトーシス誘導遺伝子として fas antigen，bax，p53 およびＩＣＥに、アポトーシス抑制遺伝子として bcl-2 に特異的なプライマーを作製し、傷害側および非傷害側動脈より合成した cDNA より PCR 増幅を行い、非傷害側をコントロールとして病変部における各々の遺伝子発現を比較検討した。

【成績】内膜の新生は傷害後２週および３週で最も強く、その後徐々に肥厚は退縮した。アポトーシス細胞は、全時期を通じて新生内膜の特に内腔よりに強く認められた。内膜の増殖が最も強い時期と一致して、アポトーシスは最も高度に誘導され、ＳＭＣの４０－５０％に認められた。アポトーシス関連遺伝子の検討では、アポトーシスが強く誘導される傷害後２週および３週の総頚動脈での検討では fas antigen, bax および p53 の遺伝子発現には傷害側、非傷害側で差を認めなかったが、ＩＣＥ遺伝子が非傷害側に比し、傷害側で高度に誘導、発現されていた。bcl-2 は今回のRT-PCR 法による検討では検出不能であった。

【考察】これらの成績からいわゆるアポトーシス関連遺伝子のなかで、血管傷害モデルにおけるリモデリングにおいてアポトーシスの誘導にＩＣＥが重要な役割を演じている可能性が示唆された。動脈硬化巣の形成、進行およびＰＴＣＡ後の再狭窄、リモデリングにアポトーシスが関与していることが示唆されているがその詳細なメカニズムについてはまだ不明な点が多い。今後これらの病変におけるアポトーシスの関連遺伝子を明らかにすることは遺伝子治療を含めた新たな治療的展開が期待される。

# P-17

## ラット血管内皮細胞におけるアドレノメデュリンのアポトーシス抑制作用

東京医科歯科大学第二内科　加藤博樹、七里眞義、岩崎裕明、横倉正明、辻野元祥、平田結喜緒、丸茂文昭

【結論】1）血管内皮細胞(EC)は血清除去後アポトーシスを起こし、そのメカニズムにc-Myc蛋白の発現が関与している。2）アドレノメデュリン(AM)はECのアポトーシス抑制作用を持ち、オートクリン・パラクリン因子として内皮機能の維持に関与している可能性が示唆される。3）AMはMax蛋白の発現を誘導することにより、c-Myc依存性アポトーシスを一部制御する可能性がある。

【目的】血圧調節因子が血管内皮障害発生に関与することが示唆されている。しかし、細胞排除・細胞数制御の重要なメカニズムである細胞死については、ECでは血清除去後アポトーシスを起こすが、その機序は不明である。AMはヒト褐色細胞腫より発見された新しい降圧性ペプチドであり、血管内皮や平滑筋でも発現していることが最近明らかにされている。しかし、AMの内皮への生理作用は不明である。今回、ECにおいてAMがアポトーシスを制御し、その機序に核内蛋白であるc-MycおよびMaxが関与していることを見いだした。

【方法】ラット胸部大動脈より酵素法で調整したECを10%牛胎児血清添加DMEM培地にて継代培養(10-18代)した。ノーザン解析はAGPC法にてtotal RNAを抽出し、ラットAM cDNAおよびmax cDNAをプローブに用いて行った。培養上清中のAM濃度はRIAにより測定した。結合実験はECを[$^{125}$I]ラットAMと4℃、4時間反応させた後、特異的結合を測定した。細胞内cyclic AMP産生はECを0.5mM IBMX含有Hanks培地中で37℃、10分間反応させ、RIAで測定した。アポトーシスの評価は以下の方法により検討した。1)<u>形態学的検討</u>：Hematoxylin染色および抗single stranded(ss) DNA抗体を用いた免疫組織染色を行った。2)<u>DNA fragmentation</u>：細胞よりDNAを抽出し、1.6%アガロースゲルにて電気泳動した。3)<u>アポトーシスによる死細胞数</u>：培養上清中の浮遊死細胞数をCoulter counter にて計測した。さらにAMのアポトーシス抑制作用の機序にc-Mycが関与するかどうかを調べる目的で*max*遺伝子発現ベクター(pSP-max)をelectroporation法でECに導入しアポトーシスへの影響を調べた。また抗Max抗体を用いたウエスタン解析も行った.

【成績】(1) ECでのAMとそのレセプターの発現：ノーザン解析にてECにAMmRNA(1.6kb)の発現を認め、RIAにより36.5±5 fmol/5X10$^6$ cells/24 hourのAM産生が認められた。結合実験によりECには単一で高親和性のAM受容体(Kd: 7.7X10$^{-8}$M, Bmax: 4.8X10$^5$ sites/cell)の存在を認めた。(2) AMの抗アポトーシス作用：ECは血清除去後、抗ssDNA抗体を用いた免疫組織染色によってアポトーシスが確認され、また細胞から抽出したDNAの電気泳動によりnucleosomal laddarを認めた。AMは濃度依存性(10$^{-10}$-10$^{-6}$M)にECのアポトーシスを抑制し、その効果はcAMP阻害薬(Rp-cAMP)及び$Ca^{2+}$ channel阻害薬(nicardipine)により影響を受けなかった。ECはAMにより濃度依存性にcAMP産生を増加させた。Forskolin (10$^{-5}$M)、Prostaglandin $I_2$ (10$^{-6}$M)はcAMP産生を促進したが、アポトーシス抑制作用は示さなかった。培養上清中に抗ラットAM抗体(1:100)を添加したところ、著明なアポトーシスの増加を認めた。(3) AMによる*max*発現作用：pSP-max plasmidの導入はMax蛋白を発現させ、濃度依存性にECにおけるアポトーシスを抑制した。ノーザンおよびウエスタン解析から、AMは*max*発現を亢進させるが、*c-myc*には影響しないことが確認された.

【考察】今回、AMがECにおいてアポトーシス抑制作用を示すことを始めて明らかにし、内皮保護的に作用していることを示した。ECにおけるアポトーシスは血清除去により発現することが示されているが、これがc-Myc依存性であることも明らかにした。AMのアポトーシス抑制作用はそのcAMP産生促進作用と一致しないことから、cAMP以外の情報伝達経路が関与している可能性がある。さらに、AMが*c-myc*を誘導せずに、c-Mycとheterodimerを形成するMax発現を誘導することを見いだした。c-Myc-Max heterodimerは、E-boxに結合することにより転写促進作用を示すが、Max-Max homodimerは逆にc-Myc-Max heterodimerと競合して転写を抑制する。したがって、AMによるMax蛋白の発現は、アポトーシス抑制的に作用している可能性が示唆される。

# P-18

Senescent Cell - Derived Inhibitor 1(Sdi - 1)遺伝子導入による血管平滑筋細胞の増殖制御と分化

大阪大学医学部第四内科
同医学部第一外科1)
同細胞生体工学センター2)

木田岩男、森下竜一、檜垣実男、青木元邦、林　真一郎、
守口　篤、荻原俊男、白　鴻志1)、澤　芳樹1)、松田　暉1)
金田安史2)

【結論】血管平滑筋細胞におけるSenescent Cell-Derived Inhibitor 1(Sdi-1)の過剰発現は、細胞増殖の抑制、細胞フェノタイプの胎児型から成熟型への分化、さらにはアポトーシスの誘導に働くことが確認された。さらに、静脈グラフトの内膜肥厚はSdi-1遺伝子導入で抑制され、平滑筋細胞の分化も生体において確認された。これらの結果は、細胞周期の制御と分化、細胞死が独立したものではなく、密接に関連していることを示唆している。

【目的】高血圧合併症である動脈硬化症の一因は、血管平滑筋細胞の肥大もしくは増殖・遊走にあると考えられる。従って平滑筋細胞の細胞周期進展抑制の検討は、動脈硬化の病態解明及び治療法確立の上で重要である。我々はすでに、HVJ-リポソーム法を用いて血管組織への高効率な遺伝子の導入及び発現が可能なことを報告してきた。本研究では同方法を用い、サイクリン依存性リン酸化酵素の活性を阻害する分子として知られるSenescent Cell-Derived Inhibitor 1(Sdi-1)の過剰発現が、平滑筋細胞の増殖及び分化に及ぼす影響について検討を行った。

【方法】(*in vitro*) 培養ヒト大動脈平滑筋細胞に、HVJ-リポソーム法を用いてSdi-l遺伝子組み換えプラスミドまたはコントロールプラスミドを導入し、5日後WST assayにて細胞数を測定、さらにヘキスト及びPI核染色によるアポトーシスの検討を行った。また、RT-PCR法によるミオシン重鎖アイソフォームSM1,SM2及びSMembの発現定量を行った。(*in vivo*) 予め家兎の頚静脈グラフトに、HVJ-リポソーム法を用いてSdi-l遺伝子組み換えプラスミドまたはコントロールプラスミドの導入を行い、それを頚動脈に移植、さらに2週間後そのグラフトを採取した。採取したグラフトのSdi-l発現をウェスタンブロッティング法により確認した。また、グラフトの組織切片を作成し、新生内膜の面積測定、PCNA抗体を用いた免疫組織染色、SM1,SM2及びSMemb抗体を用いた免疫組織染色を行った。

【結果】(*in vitro*) Sdi-l遺伝子導入細胞では、コントロールに比して約20％の細胞数減少がみられた。さらにSdi-1遺伝子導入細胞では、ヘキスト及びPI核染色共に核の凝集と断片化が観察され、アポトーシスの存在が示唆された。また、Sdi-1遺伝子導入細胞ではコントロールで確認されないSM2の発現が確認された。(*in vivo*) Sdi-1遺伝子導入群でSdi-1蛋白の過剰発現が確認された。Sdi-1遺伝子導入群(S)の新生内膜は、コントロール群(C)に比して71％の減少(内膜面積：SvsC,0.52 ± 0.20vs1.81 ± 0.41mm$^2$,$p<0.05$)が観られた。また、Sdi1遺伝子導入群の新生内膜中におけるPCNA陽性細胞は、コントロール群の新生内膜のそれに比して48%の減少(PCNA陽性細胞数/全細胞数：SvsC,8.5±2.4vs16.5±4.8%,$p<0.05$)が観られた。さらにコントロール群では観られないSM2の発現を、Sdi-1導入群では確認した（術後２週間）。

【考察】細胞周期進展を抑制するSdi-1の過剰発現により、静脈グラフトの新生内膜肥厚が抑制された。これは細胞増殖の抑制、細胞のフェノタイプの胎児型から成熟型への分化、及びアポトーシスの誘導が複合的に生じた結果であることが確認された。つまり、細胞周期の制御と分化、細胞死が独立したものではなく、密接に関連していることが示唆された。血管平滑筋細胞の増殖・分化ならびに細胞死のメカニズム解明は、動脈硬化をはじめ、循環器疾患の治療法を確立して行く上で重要であると考えられる。

# P-19 アンジオテンシンII type 2受容体刺激による腎糸球体輸入細動脈の拡張とその機序 - In vitro microperfusionでの検討-

東北大学医学部病態液性調節学　有馬秀二
同第二内科　伊藤貞嘉、尾股健、小川晋、角田一男、矢尾板啓、佐藤龍行、福田元司、阿部圭志

［結論］アンジオテンシンII (Ang II)はtype 2 ($AT_2$)受容体を介して内皮依存性に輸入細動脈(Af-Art)を拡張させ、type 1 ($AT_1$)受容体を介するAf-Artの収縮を制御していることが明らかとなった。さらに、$AT_2$受容体を介するAng IIの血管拡張作用には内皮由来過分極因子の１つであるepoxyeicosatrienoic acid (EET)の合成が関与していると考えられた。

［目的］Ang IIの受容体には$AT_1$受容体と$AT_2$受容体の２つのサブタイプが存在する。血管収縮作用やアルドステロン分泌刺激作用などAng IIの生理作用の多くは$AT_1$受容体を介していることが明らかにされているが、$AT_2$受容体の機能の詳細は未だ不明である。しかしながら、$AT_2$受容体拮抗薬がAng IIの血管収縮作用を増強させるとの報告や$AT_2$受容体欠損マウスでは血圧が上昇しているとの報告から、Ang IIには$AT_2$受容体を介した血管拡張作用があり、この作用を介して末梢血管抵抗を低下させている可能性が示唆される。そこで今回、糸球体前血管抵抗の大部分を占めるAf-Artにおける$AT_2$受容体を介したAng IIの作用とその機序を微小灌流法を用いて検討した。

［方法］ウサギの腎皮質表層部より糸球体と共にAf-Artを単離して60mmHgで灌流し、そのbathとlumenに投与したAng II ($10^{-11}$ - $10^{-8}$ M)の作用に及ぼす$AT_1$受容体拮抗薬CV 11974 (CV, $10^{-8}$ M)と$AT_2$受容体拮抗薬PD 123319 (PD, $10^{-7}$ M)の影響を検討した。

［結果］Ang IIは濃度依存性にAf-Artを収縮させ、$10^{-10}$ Mで内径を26±3%(n=7, $P<0.01$)減少させた。この収縮はCVでAf-Artを前処置することにより消失した(n=6)が、PDで前処置することにより有意($P<0.05$)に増強し、$10^{-10}$ MのAng IIは42±4%(n=7)の収縮を起こした。したがって、Ang IIは$AT_1$受容体を介してAf-Artを収縮させ、$AT_2$受容体を介してこの作用に拮抗していることが判明した。そこで次に、$AT_2$受容体を選択的に刺激するとAf-Artが拡張するか否かを検討した。単離血管ではbasalのvascular toneが低く血管拡張反応が生じにくいため、ノルエピネフリンで約40%収縮させたAf-Art (NE-Af-Art)にAng IIを投与した。Ang IIはNE-Af-Artを濃度依存性に収縮させた(n=7)が、CVで前処置したNE-Af-Artでは濃度依存性の拡張を起こし、$10^{-8}$ Mで内径を29±2%(n=7, $P<0.01$)増加させた。この拡張はPDで前処置することにより消失し(n=6)、Ang IIは$AT_2$受容体を介してAf-Artを拡張させることが判明した。$AT_2$受容体を介するAf-Artの拡張はnitric oxide (NO, n=7)やプロスタグランデイン(PG, n=7)の合成を阻害しても影響されなかったが、Af-Artの内皮を除去する(n=6)か内皮由来過分極因子の１つであるEETの合成を阻害する(n=7)ことにより消失した。さらに我々は、ヒト臍帯静脈内皮細胞を培養し、CV ($10^{-8}$ M)と共に投与したAng II ($10^{-7}$ M)が内皮細胞におけるEETの合成を約３倍に増加させるが、PD($10^{-7}$ M)と共に投与した場合にはAng IIがEETの合成に影響を与えないことを明らかにし、Ang IIが$AT_2$受容体を介して内皮におけるEETの合成を刺激することを確認した。

［考察］我々はこれまでAf-ArtにおけるAng IIの血管収縮作用が内因性のNOとPGによって制御されていることを報告してきたが、今回の検討により、$AT_2$受容体を介して合成されたEETによっても制御されていることが明らかとなった。EETはcytochrome P450依存性のアラキドン酸代謝産物であり、最近Campbellらにより内皮由来過分極因子の１つであることが明らかにされた。また、高血圧発症期の自然発症高血圧ラット(SHR)では同週齢のWistar Kyotoラットに比してEETの腎内含有量が著明に低下していることが明らかにされており、高血圧発症期のSHRで認められる腎血管抵抗の上昇には$AT_2$受容体を介するAf-Artの拡張の異常が関与している可能性が示唆される。今後、Af-Artにおける$AT_2$受容体の機能異常が高血圧の病態生理に関与しているか否かを検討する予定である。

# P-20　$Na^+/H^+$逆輸送担体過剰発現トランスジェニックマウスにおける食塩負荷時のNO産生の亢進

1) 朝日生命成人病研究所
2) 群馬大学第二内科
3) 国立精神神経センター神経研究所
4) 東京大学第三内科

喜楽順一[1)]、中村哲也[2)]、高橋直之[4)]、芦田英直[1)]
杉山卓郎[1)]、黒尾誠[3)]、酒巻哲夫[2)]、
永井良三[2)]、矢崎義雄[4)]、藤井潤[1)]

【結論】食塩感受性血圧上昇を示す $Na^+/H^+$逆輸送担体過剰発現トランスジェニックマウスでは、食塩負荷により、対照マウスよりも著明にNO産生が亢進し、血圧上昇の代償機序となる。

【目的】我々は、$Na^+/H^+$逆輸送担体過剰発現トランスジェニックマウスでは食塩負荷により血圧が上昇することを報告した。しかし、この血圧上昇は一過性であり、何らかの代償機序が働いていると考えられる。そこで、我々はこのマウスにおいて、食塩負荷によるNO産生量がどう推移するのかを調べ、NO産生が血圧上昇の代償機序として働いているのかを検討した。

【方法】生後8週齢の過剰発現マウス10匹と同週齢の対照マウス10匹のそれぞれを、高食塩食(8%NaCl)を与えた高食塩群と低食塩食(0.3%NaCl)を与えた低食塩群の2群に分け、12週間にわたり、毎週tail cuff法にて血圧を測定し、代謝ケージにて17時間の採尿を行い、毎週尿中電解質を、隔週で尿中NO代謝物排泄量を測定した。

【成績】血圧は過剰発現マウス高食塩群でのみ、4～8週後に有意な一過性上昇を示した。尿中NO代謝物は、過剰発現マウス高食塩群で食塩負荷前の1.300±0.203 μmol/kg/17h（平均値±標準誤差）から負荷8週後に2.487±0.054と約2倍に増加した。この増加は、対照マウス高食塩群での1.089±0.360から1.880±0.504よりも有意に亢進していた。対照マウス低食塩群では1.096±0.223から0.968±0.291、過剰発現マウス低食塩群では0.945±0.074から1.354±0.145であり有意な上昇はなかった。尿中Na排泄量は、食塩負荷1週後では対照マウス高食塩群132.4±21.0mEq/kg/17h（平均値±標準誤差）が過剰発現マウス高食塩群101.2±8.7より多い傾向であったが、以後はほぼ同じであった。

【考察】今回我々は、既にラットにおいて報告されているように、マウスにおいても、食塩負荷が尿中NO代謝物を上昇させることを明らかにした。しかも、過剰発現マウスでは対照マウスよりもこの尿中NO代謝物の増加は顕著であり、これは、代償機序として降圧に働き、過剰発現マウスの食塩感受性血圧上昇が一過性である一因になると考えられる。食塩負荷がNO産生を増加させる機序は十分明らかにされていないが、過剰発現マウスにおいては、Na排泄障害があるために対照マウスに比べて食塩負荷刺激が過剰にかかり、NO産生がより亢進したと考えられる。また、我々は、過剰発現マウスでは、$Na^+/H^+$逆輸送担体を介した機序で血管平滑筋細胞内Ca濃度の上昇が予想されることを既に報告しているが、血管内皮細胞での細胞内Ca濃度が上昇していれば、これによりNO synthase活性が亢進し、NO産生が上昇することも予想される。食塩負荷1週目に過剰発現マウスのNa排泄量が対照マウスより少なかったのは、過剰発現マウスでは、Na排泄量が、食塩負荷で増加したNa摂取量と平衡するまでにより長時間を要する(delayed escape)ためと考えられる。腎でのNO産生はNa利尿に働くことが示されており、食塩負荷によるNO産生亢進とそれによる降圧は、Na排泄障害に起因する食塩感受性高血圧において、最終的に決定される血圧値を推測する上で極めて重要と思われる。

# P-21　流れ刺激に対する血管内皮細胞カルシウム反応

東京大学医学部　第四内科　一色政志、下沢達雄、高橋克敏、島田潔、小野歩、長瀬美樹、伊東康、安東克之、藤田敏郎
同　脈管病態生理学講座　安藤譲二
同　医用電子研究施設　神谷暸

【結論】
内皮細胞群全体としてみるとATP存在下での反復した流れ刺激はそれに応じた$Ca^{2+}$上昇反応を示すが、個々の細胞では反応パターンがheterogenousであること、反応の開始は常に辺縁の限局した部位から生じてそこから$Ca^{2+}$ waveが細胞全体あるいは周辺の細胞に伝播していることが示された。

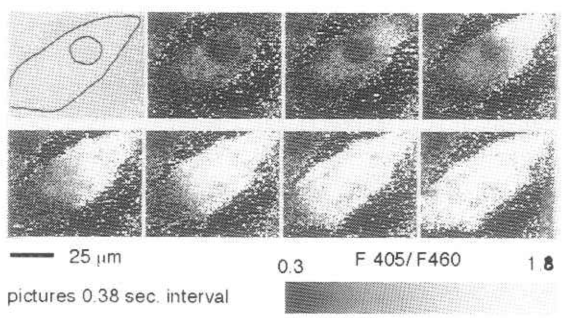
【目的】
血管内皮細胞は血流に応じて血管トーヌス、遺伝子発現などを調節している。その細胞内情報伝達系のセカンドメッセンジャーとして$Ca^{2+}$は重要な役割を果たしており、NO、$PGI_2$、エンドセリンなどの血管作動性物質を介して高血圧や動脈硬化の病態とも深く関連している。われわれはこれまで内皮細胞が細胞外ATPの存在下で、流れずり応力の情報を細胞内$Ca^{2+}$濃度変化として伝達する機構を有する事を提唱してきた[1)]。今回は、こうした流れ刺激に対する個々の内皮細胞の細胞質および核の$Ca^{2+}$反応を共焦点レーザー顕微鏡を用いて画像解析を行った。

【方法】
共焦点レーザー顕微鏡は試料の光学的断層像を得ることができ、従来の蛍光顕微鏡に比べて特に空間分解能やコントラストの点で優れているので、より精度の高い2次元、あるいは3次元的な蛍光測光が可能となる。培養ウシ胎児大動脈内皮細胞にIndo1AMを負荷し、平行平板型流れ負荷装置にて1～5分間隔で2分間の反復流れ刺激を加え、共焦点レーザー顕微鏡（351nm励起、405/460nm蛍光）を用いて細胞内$Ca^{2+}$反応の変化を解析した。

【成績】
1)流れ刺激（15 dyn/$cm^2$以下）に対する$Ca^{2+}$反応はアゴニスト非存在下では認められないが、ATP、bradikinin、thrombin存在下では$Ca^{2+}$上昇反応が起こる。2)特に、ATP 500nMの条件においては短い間隔（約1分）で反復する流れ刺激に対応した$Ca^{2+}$反応が認められた。3)ATP 500nMにおける個々の細胞の$Ca^{2+}$反応を画像解析したところ、反応パターンに差異がみられた（biphasic, oscillation, peak, no response）。4)$Ca^{2+}$上昇反応は常に細胞辺縁の限局した部位から始まり、$Ca^{2+}$ waveとして細胞全体へと15～30μm/sec.の速度で減衰しないで伝播する（ Fig. ）。この際、核においても$Ca^{2+}$上昇反応が認められた。さらに、$Ca^{2+}$ waveは隣接する細胞にも伝播することが示された。 5)同一細胞において、反復流れ刺激に対して$Ca^{2+}$ waveは細胞辺縁上の同一部位から繰返して発火した。また、その発火部位や$Ca^{2+}$ waveの伝播経路は流れの方向や細胞外$Ca^{2+}$には依存しなかった。

【考察】
培養血管内皮細胞にATPのような$IP_3$を上昇させるagonistが流れによって到達したときに生じる$Ca^{2+}$上昇反応の開始点（常に細胞辺縁に存在する）や$Ca^{2+}$ waveの伝播経路、反応パターンは細胞によって決まっている。今後それらを規定している機構の解明が望まれる。$Ca^{2+}$ waveは内皮細胞内$Ca^{2+}$ストアからの放出により、CICRのようなregenerativeな機構により細胞全体へと伝播していると考えられる。こうした細胞外ATP存在下で起こる、流れに対する内皮の$Ca^{2+}$反応は、血流のon-offなどの情報伝達に関与している可能性がある。

Fig. $Ca^{2+}$ wave propagation in endothelial cells




1) Ando J. et al. Wall shear stress rather than shear rate regulates cytoplasmic $Ca^{2+}$ responses to flow in vascular endothelial cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 190: 716-723, 1993

# P-22

## 高血圧心の冠血管におけるEndothelin反応亢進に占めるNitric Oxide (NO)遊離低下の役割

京都府立医科大学第二内科

三木茂行、武田和夫、藤田　博、木山昌洋、八田　告、河　哲吉、森本　聡、森口次郎、中村和恵、伊東　宏、中田徹男、佐々木享、中川雅夫

【結論】高血圧心の冠血管ではNOの遊離低下とET-1によるETA受容体を介する収縮反応に亢進が認められ、ET反応亢進はNOの低下がその発現に寄与することが示唆された。

【目的】高血圧心における冠循環障害に冠血管でのNO遊離の低下が示唆されている。しかしこのNOの低下は冠血流維持のみならず冠血管収縮性の亢進にも関与することが推察される。他方endothelinが高血圧で血圧維持に一部関与することが示唆されているが冠血管への作用については余り知られていない。今回、高血圧心の冠血管でのNOの遊離低下の有無及び冠血管でのendothelinの収縮亢進について検討しさらにこの両者の関連について検討した。

【方法】体重230-280gの雄性Wistar rat(NT), 9-10週令のWKY, SHRを用いた。NT, SHRの一部にはL-NAME 75 mg/Lを飲料水に混じ1週間投与した。これらのラットはTail　cuff法にて血圧測定した後、心臓を摘出しLangendorff法にてKrebs-Henselite液にて定圧(75 mmHg)で灌流し、流量をdrop　counterで計測し灌流した。心拍数は300/minにstimulaterにて調整した、灌流圧は圧transducerにてモニターした。灌流圧と流量から冠灌流抵抗(CPR)を算出した。灌流液中にadensosine10-5Mを加えた最大拡張時のCPRをminimum coronary perfusion resistance (MCPR)とし、さらにL-NMMA 10-4M, Endothelin-1(ET-1)1.5x10-10 , 1.5x10-9, 3x10-9 Mの3濃度、及びETA受容体拮抗薬FR 139317 10-5 MをET-1投与10分前に投与しCPRの変化を観察した。

【結果】(1)SHRの心臓では左室重量はWKYに比して有意に大で、MCPRはWKYに比して有意に高かった(0.090±0.011 vs 0.041±0.004 mmHg/mL/ min / 100g, P<0.01)。(2)L-NMMA投与時WKYでは有意の冠血管抵抗の上昇がみられたがSHRでは認められなかった。(3)ET-1は用量依存性にNT及びSHRで冠血管抵抗を増大させたが、いずれの濃度においてもSHRではこの反応は有意に大であった（表）。(4)ET-1の冠血管抵抗増大反応はETA受容体拮抗薬FR139317の前投与でNT,SHRともに有意に抑制された。(5)L-NAME投与1週間でNT,SHRで有意の血圧上昇をきたした。(6)L-NAME投与NTではET-1の反応は有意に亢進したが、SHRでは有意な亢進は認められなかった。さらにL-NAME投与NT,SHRでET-1に対する反応の差は消失した。

【考察】高血圧症において無症候性心筋虚血の発症頻度が多くさらに冠動脈造影にて狭窄病変のない患者においても狭心症様症状の発現が認められることが知られている。これらの病態発現に高血圧心における微小冠血管における冠循環障害の関与が推定される。しかし、高血圧心における冠循環異常の詳細についてはなお知られていない。今回の成績から高血圧心の冠血管ではNOの遊離が少ないことが示された。Egashiraらによりヒト高血圧の冠血管においてAcetylcholine投与時の冠血管拡張反応が高血圧心で低下していることが報告されていることからも高血圧心冠血管におけるNO遊離の低下が支持される。さらに今回の成績から高血圧心の冠血管ではETA受容体を介した血管収縮作用が亢進していることが示唆され、その亢進にNO遊離の低下が関与していることが示された。高血圧で血管内皮でのNO遊離が低下してるのか代償的に増加してるのかなお明らかではない。しかし今回の成績から少なくとも高血圧心の冠血管ではNO遊離が低下している可能性が示唆されこのことが高血圧心の冠循環障害の発現に重要な役割をはたしている可能性が示唆された。

ET-1投与時の冠血管反応(mmHg/ml/min/100g)

| ET-1 | 1.5x10-10M | 1.5x10-9M |
|---|---|---|
| NT | 0.067±0.069 | 0.263±0.102 |
| SHR | 0.551±0.109 | 0.902±0.130 |
| | P<0.006 | P<0.005 |

# P-23 慢性一酸化窒素合成酵素阻害高血圧ラットの血管平滑筋では内皮依存性過分極反応が障害されている

九州大学医学部第二内科　尾中宇蘭、藤井弘二、阿部 功、藤島正敏
同　　循環器内科　竹本真生、江頭健輔、竹下 彰

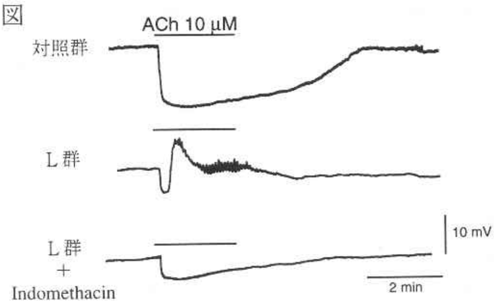
【結 論】一酸化窒素合成酵素(NOS)を慢性的に阻害した高血圧ラットの血管では、内皮由来過分極因子(EDHF)を介した内皮依存性過分極反応は著明に減弱しており、さらにシクロオキシゲナーゼ系を介して産生される内皮由来収縮因子(EDCF)による脱分極反応が亢進していた。

【目 的】血管内皮は内皮由来一酸化窒素(EDNO), EDHF および EDCF を産生し、血管緊張の調節にきわめて重要な役割を果たしている。慢性的に NOS を阻害すると、持続的な血圧上昇と高度の臓器障害がみられることが報告されており、高血圧モデルの一つとして用いられている。本研究では慢性 NOS 阻害高血圧ラットにおいてEDHF, EDCF など EDNO 以外の内皮依存性機序が循環調節にはたしている役割と、それに対する降圧治療の影響について電気生理学的検討を加えた。

【方 法】体重 300～400g の雄性 Wistar Kyoto rat を4群に分け(n=7～8)、以下の処置を8週間行った：①L群, $N^G$-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) 100mg/kg/日, ② ACEI 群,L-NAME + temocapril 10mg/kg/日, ③H群,L-NAME + hydralazine 12mg/kg/日, ④対照群。薬物はいずれも飲水投与した。摘出腸間膜動脈において微小電極法を用いて、acetylcholine (ACh)による EDHF を介した内皮依存性過分極反応を記録した。また、L群および対照群では腸間膜動脈のリング状標本を用いて等尺性張力を測定し、ACh による内皮依存性弛緩反応を記録した。 Indomethacin (10μM), $N^G$-nitro-L-arginine (0.1mM)存在下での ACh による弛緩反応を EDHF による反応とした。

【成 績】血圧はL群で 198±9mmHg(±SEM)と有意に上昇したが、ACEI 群,H群ではそれぞれ 137±7mmHg, 138±9mmHg と対照群(137±3mmHg)と同等であった。対照群では ACh により持続する内皮依存性過分極反応が惹起された(ACh 10μM; -12.6±1.1mV)のに対して(図)、L群では過分極反応が著しく減弱していた(ACh 10μM; -4.3±0.7mV)。さらにL群では過分極反応に続いて脱分極反応が認められ、ACh による反応は二相性であった(図)。この脱分極反応は indomethacin 前処置により消失した。 ACEI 群, H群ではL群に比べ過分極反応が有意に改善されたが、対照群と比べると依然減弱していた。脱分極反応の出現は ACEI 群でのみ抑制された。また ACh による内皮依存性弛緩反応は対照群に比して L 群で著明に減弱していた。この反応の減弱の一部は EDNO を介した弛緩反応の抑制によって招来されたものであったが、さらに EDHF を介する弛緩反応もL群で有意に減弱していた。($p<0.05$)

図




【考 察】本研究により慢性的に NOS を阻害した高血圧ラットの血管では、内皮由来過分極因子(EDHF)を介した内皮依存性過分極反応は著明に障害され、さらにシクロオキシゲナーゼ系を介して産生される内皮由来収縮因子(EDCF)による脱分極反応が亢進していることが明らかとなった。また、これらの異常は実際に本モデルでの内皮依存性弛緩反応の低下に寄与しているものと考えられた。すなわち慢性NOS阻害時にはEDNO以外の内皮由来因子の作用にも異常が認められ、内皮による局所循環の調節に破綻を来している状態と考えられた。また EDHF, EDCF の異常は降圧治療によっても完全には改善されないことから、これらの異常には高血圧以外の慢性 NOS 阻害に伴う因子も関与することが示唆された。以上の結果より本モデルにおいてはNOの産生抑制に加えて EDHF, EDCF を介する内皮機能の異常が加味されて、臓器障害を発症していることが推察された。

# P-24　高血圧で認められたアドレノメジュリンによる血管拡張反応の減弱とその機序

群馬大学第２内科

斎藤勇一郎、中村哲也、持田学、大山良雄、星野仁、加藤達也、佐藤邦雄、小野善平、酒巻哲夫、永井良三

【結論】①アドレノメジュリンの血管拡張作用はATP感受性カリウム（$K_{ATP}$）チャンネルを介する。②自然高血圧発症ラット（SHR）では、アドレノメジュリンによる細動脈拡張作用が、正常血圧ラット（WKY）に比し、減弱していた。
③ SHRにおいて$K_{ATP}$チャンネル開口薬（クロマカリウム）の細動脈拡張作用は減弱していた。

【目的】アドレノメジュリンは褐色細胞腫から発見された降圧ペプチドである。最近、高血圧で血中アドレノメジュリン濃度が上昇していることが明らかとなり、血圧の調節に重要な役割を演じている可能性が示唆されている。しかしながら、その降圧機序は十分に解明されていない。本研究では、①血管平滑筋のATP感受性カリウム($K_{ATP}$)チャンネルに注目しアドレノメジュリンの降圧機序を検討した、②高血圧モデルである自然高血圧発症ラット（SHR）を用いて、アドレノメジュリンおよび$K_{ATP}$チャンネル開口薬（クロマカリウム）による血管拡張作用を正常血圧ラット（WKY）と比較した。

【方法】14-17週令の雄SHRとWKYとの広背筋標本を作成し、その表面を生理的食塩水で灌流しながら生体顕微鏡を用いて細動脈径を測定した。$K_{ATP}$チャンネルが遮断されたことを確かめるため、$K_{ATP}$チャンネル阻害薬であるグリベンクラミド（10 μ M）局所投与前後で、クロマカリウム（0.01－1 μ M）の細動脈拡張反応を比較した（n=7）。次にグリベンクラミド投与前後で、アドレノメジュリン（0.01、0.1 μ M）局所投与時の細動脈径を測定した（n=7）。WKYとSHRとにアドレノメジュリンを局所投与し細動脈拡張を観察した（n=7）。さらに、クロマカリウム（0.01－1 μ M)局所投与時の血管拡張反応をWKYとSHRで比較した（n=7）。

【成績】クロマカリウム(0.01、0.1、1 μ M)は、濃度依存性に細動脈を拡張（5±1、16±4、26±5 μ m）させ、その血管拡張はグリベンクラミドにより有意に減弱(2±1、5±2、17±5 μ m)された（$p<0.05$）。アドレノメジュリン（0.01、0.1 μ M）の血管拡張作用(4±1、13±1 μ m)は、グリベンクラミドにより有意に減弱（2±1、7±1 μ m)された($p<0.05$)。平均血圧はWKY(108±6mmHg)に比しSHR(156±8mmHg)で有意に上昇していた（$p<0.05$）。SHRでは、アドレノメジュリンによる細動脈拡張がWKYに比べ有意に減弱していた（図１）。クロマカリウムは濃度依存性に細動脈を拡張させたが、その拡張反応はSHRで有意に抑制されていた（図２）。

【考察】アドレノメジュリンの降圧作用は、血管平滑筋の$K_{ATP}$チャンネルの開口による。SHRでは、アドレノメジュリンと$K_{ATP}$チャンネル開口薬との血管拡張作用が減弱していた。以上より、SHRで認められたアドレノメジュリンによる血管拡張反応の低下は$K_{ATP}$チャンネルの開口障害が関与している可能性が考えられた。また、高血圧の成因の一つとして、血管平滑筋の$K_{ATP}$チャンネルの活性低下があることが示唆された。

図１アドレノメジュリン投与時の血管径変化

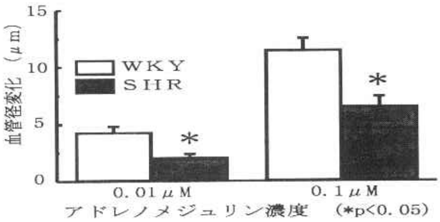
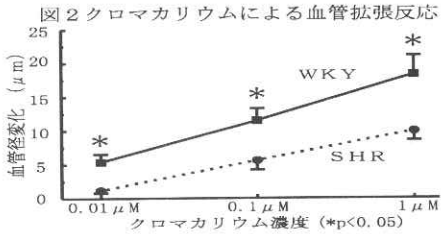



図２クロマカリウムによる血管拡張反応



# P-25　脳内一酸化窒素（NO）合成阻害による食塩感受性高血圧の発症

琉球大学医学部第三内科　崎間敦、照屋寛、山里正演、又吉理似子
村谷博美、柊山幸志郎

【結論】正常血圧 Sprague-Dawley (SD)ラットの脳内一酸化窒素合成酵素 (NOS) を慢性に阻害すると、血圧の食塩感受性が増し、食塩負荷により昇圧した。食塩感受性高血圧の一部に、脳内NOの産生障害が関与する可能性がある。

【目的】NOの産生障害が、食塩感受性高血圧の病態に関与する可能性が示唆されている。Dahl食塩感受性ラットにL-arginineを慢性に全身投与すると食塩負荷による血圧上昇は抑制され、圧・利尿曲線の傾きが急峻になる。正常血圧のラットやイヌにNOS阻害薬のL-nitroarginine methyl ester（L-NAME）を慢性に全身投与して食塩負荷を行うと、高血圧が発症する。DOCA-saltラットでは、視床下部のNOSの遺伝子発現が低下しており、NOS阻害薬の$N^{G}$-monomethyl-L-arginine（L-NMMA）を慢性に脳室内投与すると、昇圧の程度が有意に亢進することも報告されている。

今回、高塩食あるいは低塩食で飼育した正常血圧SDラットの脳室内にL-NMMAを慢性投与し、血圧やナトリウム出納の変化を観察し、脳内NOの産生障害が食塩感受性高血圧の発症に関与するかを検討した。

【方法】4週齢のSDラットを低塩食（0.3％NaCl）で2週間飼育後、高塩食群（8％NaCl）と低塩食群に分け、同日よりL-NMMA（0.5 mg/kg/day）を11日間、脳室内に慢性投与した。なお、0.5および1.5 mg/kgのL-NMMA一回静注では、明らかな血圧の上昇は惹起されなかった。高塩、低塩の各対照群には人工髄液を投与した。各群につき、脳室内投与開始直前ならびに5・8日目にtail-cuff法で収縮期血圧（SBP）を測定、6・7日目には代謝ケージを用いて食餌・水摂取量、尿量、尿中ナトリウム排泄量を測定した。8日目に大動脈内にカテーテルを挿入し、9または10日目に少なくとも30分間無麻酔、無拘束下に平均動脈圧と心拍数を記録した。データ解析には、二元配置分散分析、Duncanの多重比較検定を用いた。P値0.05未満を統計学的に有意とした。

【成績】脳室内投与直前のSBP、体重には、高塩食、低塩食下のL-NMMA投与群（各11匹）、対照群（高塩9、低塩8匹）間に有意差はなかった。5・8日目のSBPは、高塩・L-NMMA群ではそれぞれ150±2、153±3 mmHg（平均値±標準誤差）で、低塩・L-NMMA群（136±2、141±3 mmHg）、高塩・対照群（142±2、140±1 mmHg）、低塩・対照群（137±4、136±3 mmHg）に比し有意に高かった（$p<0.05$）。L-NMMA群では高塩、低塩を問わず8日目の体重が低い傾向にあった（$p=0.07$）。9または10日目の平均動脈圧は、高塩・L-NMMA群では129±3 mmHgで、低塩・L-NMMA群の114±2 mmHg、高塩・対照群の113±2 mmHg、低塩・対照群の108±31 mmHgに比し、有意に高かった（$p<0.05$）。心拍数は4群間に差はなかった。二元配置分散分析では、食塩負荷、L-NMMA脳室内投与のいずれもが昇圧に関与しており、その効果は独立していた。尿中ナトリウム排泄量は、L-NMMA投与群では、高塩食下15.7±1.0 mmol/日、低塩食下0.4±0.03 mmol/日、対照群ではそれぞれ14.7±0.8 mmol/日、0.2±0.03 mmol/日で、各食塩食下でのL-NMMA群と対照群との間に有意の差はなかった。尿量、食餌摂取量、水摂取量にも、L-NMMA群と対照群の間に有意の差はなかった。

【考察】脳内のNOが血圧調節に関与する可能性は、多くの急性実験により示されている。NOS阻害薬を脳室内や脳槽内に投与したり、孤束核や延髄腹外側野へ微量注入すると、腎交感神経の活動亢進を伴う昇圧を認めるという報告がある。今回の成績は、正常血圧動物の脳内NOSを慢性に阻害すると同時に食塩を負荷すると、高血圧が発症することを示した。L-NMMA群と対照群の間には、食餌摂取量や尿中ナトリウム摂取量がほぼ等しかったことから、脳内NOS阻害による食塩感受性高血圧の発症は、圧・ナトリウム利尿曲線の傾きの低下を伴うと推測された。我々の成績は、DOCA-saltラットで報告された結果とも矛盾しない。これまでの報告とあわせ考えると、食塩感受性高血圧の一部に、脳内NOの産生障害の関与が示唆される。

# P-26 高血圧症のストレス負荷時過大昇圧反応に占める視床下部NO作動不全

京都府立医科大学第2内科

河　哲吉、中田徹男、八田　告、木山昌洋、
森口次郎、三木茂行、森本　聡、中村和恵、
伊東　宏、佐々木享、武田和夫、中川雅夫。

【結論】ストレス負荷時の昇圧反応に対し視床下部室傍核(PVN)での一酸化窒素（NO）遊離が抑制性に作用しており、SHR-SPにおいてはこの系の不全が過大昇圧反応に関与している可能性が示唆された。

【目的】最近、NOの中枢における神経伝達物質としての作用が注目され、中枢血圧制御への関与が示唆されている。PVNは免疫組織学的にNO合成酵素が多量に存在し、我々はL-NAME慢性投与による高血圧ラットにおいてはPVNのNO遊離障害と共に、ストレス負荷時の過大昇圧反応を生じることを既に報告した。今回、覚醒下の高血圧および正常血圧ラットにshaker stressを負荷し、血圧と共に脳微小灌流法にてPVNのNO動態、さらに同部へのNO donor投与時の反応を検討した。

【方法】12週齢のSHR-SP, SHR, WKYおよびWistarラットを用いた。Pentobarbital麻酔下に大腿動静脈にカニューレを挿入後、定位脳固定装置を用い右側PVN直上までガイドカニューレを挿入固定し、48時間後に無麻酔無拘束下に以下の実験を行った。（実験1）ラットはmicro-dialysis probe($\phi$200$\mu$m, 1mm)を挿入後shaker上にセットしたプラスチックケージに入れ、血圧の持続記録下に毎分200回の頻度で10分間のshaker stressを負荷した。脳灌流液は毎分2$\mu$lの灌流速度で10分毎にauto-injectorを介し閉鎖系としてEicom社製NO analyzer(ENO-10, Griess法)にて$NO_2$-と$NO_3$-の和(NOx)を測定した。またshaking前後で採血し、血漿NOx値についても検討した。（実験2）SHR-SPを用い、両側PVN直上にガイドカニューレを挿入固定し、48時間後に両側のmicro-dialysis probeをNO donorである10mM molsidomine溶液にて30分以上灌流後に同様のshaker stress負荷を行った。

【成績】Shaker stress下の昇圧反応はSHR-SP群＞SHR群＝WKY群＞Wistar群の順に大であった。PVN灌流液中のNOxはshaker stressに伴いWistar群では有意な増加を認めたが、SHRとWKYでは抑制されておりSHR-SP群では反応はほぼ欠除していた(Wistar＞SHR＝WKY＞SHR-SP)。すべての群を併せての検討ではshaker stress時の昇圧反応とPVN灌流液中のNOxの変化の間には有意な負の相関を認めた。一方、SHR-SPに対する両側PVNのmolsidomine灌流は灌流液中NOx濃度を有意に上昇させ、shaker stress時の昇圧反応をSHRやWKYのレベルまで抑制したが、安静時の血圧、心拍数には差を認めなかった。血漿NOxはいずれの群においてもshaker stress前後で有意な変化を認めなかった。

【考察】中枢性血圧調節における脳内NOの役割についてはこれまで主にNOS阻害薬またはNO donor投与時の心血管反応より論じられてきた。NO donorの脳内微量注入はそれぞれの神経核において神経活動に抑制的に作用することが報告されており、今回の我々の検討においてもPVNの神経活動の抑制がshaker stress負荷時の昇圧反応の抑制に関与したことが考えられる。PVNは神経内分泌の中枢として知られる一方、同部の破壊が末梢交感神経活動の抑制を介して様々な高血圧モデルラットの血圧上昇を抑制することより、交感神経中枢としても知られている。我々は以前、shaker stress負荷時の昇圧反応がPVNのnoradrenergic neuronの活動亢進を伴って生じ、同部の$\alpha$遮断剤の前処置にて抑制されることを報告したが、今回のPVNにおけるNOの遊離増加がnoradrenergic neuronの抑制を介して作用している可能性も考えられるものの詳細は不明である。今回、SHR-SPの両側PVNのNO donorによる灌流実験でshaker stress負荷時の昇圧反応がSHRやWKYのレベルにまで抑制されたことより、SHR-SPの過剰昇圧機序にPVNのNO作動不全の関与が示唆された。

# P-27 ウアバインおよび内因性ウアバイン様因子が血圧受容体反射機能に及ぼす影響 — ラット吻側延髄腹外側野における作用

琉球大学医学部第三内科　山里正演、照屋寛、崎間敦、又吉理似子
*大阪市立大学医学部第二生理学　村谷博美、寺野由剛*、柊山幸志郎

【結 論】 ラット吻側延髄腹外側野（RVLM）のニューロンにモノクローナル抗ウアバイン抗体で認識されるウアバイン様因子( ouabain-like compound : OLC ）が存在する。RVLM 局所の OLC は、血管運動ニューロンの活動を緊張性に保つと同時に、血圧受容体反射機能に対して抑制性に作用している。

【目 的】我々は昨年の本学会で、ポリクローナル抗ウアバイン抗体を用いて OLC がラットの RVLM に存在すること、 RVLM 局所の OLC は血管運動ニューロンの活動を緊張性に保って末梢交感神経活動の維持に寄与することを報告した。今回、モノクローナル抗ウアバイン抗体を用いて RVLM における OLC の局在を再確認するとともに、RVLM に注入した外因性ウアバインおよび RVLM 局所の OLC が血圧受容体反射の感受性(BS)に及ぼす影響を調べた。

【方 法】(1) RVLM における OLC の局在：5～8週齢の雄性 Sprague-Dawley (SD) ラットを使用した。灌流固定した延髄の浮遊切片をモノクローナル抗ウアバイン抗体（T8B11）で4日間インキュベーションした後、ABC 法を用いてジアミノベンチジンで発色させた。一次抗体を省いたものを陰性対照とした。染色の特異性の検定には、ウアバインによる免疫吸収試験を行った。(2) BS に及ぼす影響：7～8週齢の雄性 SD ラットを使用した。ウレタン麻酔、クラーレ無動化、人工呼吸下に延髄腹側を露出し、RVLM に薬剤の微量注入をおこなった。ウアバイン群 (n=6)：ウアバイン (10 ng) を一側 RVLM へ微量注入し、その前後でフェニレフリンの持続静注およびニトログリセリンの静注により、それぞれ平均血圧 (MAP) を約 50 mmHg 変化させ、腎交感神経活動 (RSNA) の反応を記録した。OLC 阻害群：抗ジゴキシン抗体 Fab 部位（ジギバインド 1 $\mu$g）を両側 (n=6) あるいは一側 (n=8) の RVLM へ微量注入し、その前後でフェニレフリンおよびニトロプルシッドの持続静注により、MAP を約 50 mmHg 変化させ RSNA の反応を記録した。対照群 (n=5) には非特異的 IgG Fab 部位を微量注入した。MAP の変化に対する RSNA の%変化をプロットし、回帰直線の傾きを BS とした。

【成 績】(1) OLC の局在：概ね RVLM ニューロンに一致してウアバイン免疫活性が見いだされた。その他、各網様体核にウアバイン免疫活性を認めたが、孤束核、迷走神経背側核には認められなかった。(2) BS に及ぼす影響：ウアバインおよびジギバインド微量注入前の MAP はそれぞれ 87±2、88±2 mmHg（平均値±標準誤差）であった。一側 RVLM へのウアバイン微量注入は、MAP を 14±1 mmHg 上昇、RSNA を 53±11% 増強させ、フェニレフリンで昇圧したときの BS を -1.74±0.20 %/mmHg から -1.35±0.14 %/mmHg へと、有意に ($p<0.05$) 低下させた。両側 RVLM へのジギバインドの微量注入は MAP を -6±1 mmHg 低下、RSNA を 8±2 % 減弱させ、フェニレフリンで昇圧したときの BS を -0.81±0.20 %/mmHg から -1.13±0.18 %/mmHg へと有意に ($p<0.01$) 改善させた。ニトロプルシッドで降圧した時の BS は、ジギバインド微量注入の前後で有意の変化を示さなかった。ジギバインドを一側 RVLM へ微量注入した時、および非特異的 IgG Fab 部位を両側 RVLM へ微量注入した前後で調べた BS は、フェニレフリンでの昇圧時にもニトロプルシッドでの降圧時にも、有意の変化を示さなかった。

【考 察】 高食塩を負荷した Dahl 食塩感受性ラットおよび高血圧自然発症ラットにおいてジギバインドの脳室内投与が、交感神経活動の低下及び血圧受容体反射感受性を改善させるという報告がある。今回我々は、特異性の高いモノクローナル抗体を用い、ウアバインによる免疫吸収試験も行って、RVLM ニューロンに OLC が存在することを再確認した。さらにジギバインドの微量注入後、昇圧時の BS が改善したことは RVLM 局所の OLC が交感神経活動の緊張性の維持に加え血圧受容体反射機能を調節していることを示す。従来、OLC の脳内の作用部位として主に視床下部が想定されてきたが、今回の成績は、 RVLM も OLC の生理的な作用部位である可能性を示唆する。

# P-28 頭側延髄腹外側野への拍動性圧迫による昇圧反応およびその機序

京都府立医科大学第2内科　森本　聡、佐々木享、木山昌洋、八田　告、
森口次郎、三木茂行、河　哲吉、中村和恵、
市田竜也、伊東　宏、中田徹男、武田和夫、中川雅夫

【結論】頭側延髄腹外側野(RVLM)への拍動性圧迫により交感神経活動の亢進を介して血圧および脈拍数が上昇することが示された。このことはRVLMへの動脈性圧迫が本態性高血圧症の成因の一つであるという仮説を支持するものである。

【目的】RVLMは交感神経の緊張性放電の発生源として知られ、中枢性血圧調節機構における重要な部位である。これまでに、私どもは高分解能MRIを用いて、本態性高血圧症ではRVLMへの椎骨脳底動脈系の動脈による圧迫を高率に認めることを確認し、同様の圧迫が本態性高血圧症の成因の一つである可能性を示した。そこで、今回はラットを用いて、RVLMへの拍動性圧迫が昇圧反応をきたすかどうか、およびその昇圧の機序について検討した。

【方法】urethane麻酔下の雄性Wistar系ラット(300-400 g)を仰臥位にて定位脳固定装置に固定し延髄の腹側面を露出した後、L-glutamateの微量注入による昇圧反応にてRVLMを同定した。RVLMへの圧迫のためurethane製カニューラ（外径　1.5　mm）をpneumatic pumpに接続し、先端に張ったゴム製の膜を任意の圧および頻度で拍動させた。人工呼吸管理下に、圧迫用カニューラの先端をRVLMの表面に密着させた上、種々の条件下で拍動性圧迫を加え、血圧、脈拍、内臓交感神経活動を測定した。また、別のラットにおいて拍動性圧迫後に血漿catecholamine値およびvasopressin値を測定した。

【成績】1)左側RVLMへの心電図同期下の拍動性圧迫により交感神経活動（変化率：+6.9±4.7%、n=13、P<0.01）の亢進とともに平均血圧（+17±5　mmHg、P<0.01）と脈拍数（+9±4/分、P<0.01）が上昇したが、RVLMの周囲への拍動性圧迫（sham処置）ではこれらの変化は見られなかった。上記変化は右側RVLMの拍動性圧迫においても同様であった（n=8）。また、上記変化は拍動の強度依存性かつ頻度依存性に大となった。
2)拍動性圧迫により血漿norepinephrine値（n=6、P<0.01　vs　shamラット）、epinephrine値（n=6、P<0.05）およびvasopressin値（n=6、P<0.05）が有意に上昇した。hexamethoniumの静注による交感神経節遮断後には拍動性圧迫による上記変化は完全に消失した。
3)kainic acidの局所注入によるRVLMの破壊後には拍動性圧迫による上記変化は完全に消失した。
4)sinoaortic denervationをほどこしたラットでは拍動性圧迫による平均血圧の上昇は22±9 mmHg（n=14）であったが、非選択的興奮性アミノ酸受容体拮抗薬のkynurenateのRVLM内注入後にはこの反応はほぼ完全に抑制された（上昇血圧：3±1　mmHg、　n=8）。一方、NMDA受容体拮抗薬のAP-5、非NMDA受容体拮抗薬のCNQXのRVLM内注入後には血圧上昇は部分的に抑制されたが、抑制の程度は前者の方が大であった（上昇血圧：8±1　vs　16±2　mmHg、n=6、P<0.05）。

【考察】RVLMへの拍動性圧迫により交感神経活動の亢進を伴う血圧および脈拍数の上昇が見られた。さらに、同圧迫により血漿norepinephrine値とepinephrine値が有意に上昇を示したこと、およびhexamethoniumによる交感神経節遮断後には拍動性圧迫によるこれらの反応が完全に消失したことより、同圧迫により交感神経活動の亢進を介して血圧および脈拍数が上昇すると考えられた。また、交感神経亢進の機序としてはRVLMにおける、主としてNMDA受容体を介する交感神経遠心路の活性化の関与が示唆された。

# P-29 地域住民における血圧日内変動性：殊に高齢者における non-dipperとextreme-dipperの出現頻度について

東北大学医学部第二内科
*公衆衛生学
**衛生学
***岩手県立大迫病院

西山　昭光、今井　潤、渡辺　哲子、加藤　順子
菊池　典子、関野　慎、相原　彰子、阿部　圭志
辻　一郎*、大久保　孝義*、久道　茂*
佐藤　洋**、永井　謙一***

【結論】①夜間血圧レベルは昼間血圧レベルの上昇に伴い上昇する。従って、降圧療法は一般に２４時間にわたる効果が期待される。②高齢高血圧女性に夜間降圧率が２０％以上のextreme-dipperを高率に認め、高齢正常血圧男性にnon-dipperを高率に認めた。③extreme-dipperを示す高齢高血圧では更なる夜間降圧をもたらす降圧療法には注意を要する。④正常血圧non-dipperにおける臓器障害の検討が必要である。⑤２４時間血圧のＳＤは日内変動性の指標であり、短期変動性の指標ではない。

【目的】近年、夜間降圧の程度により血圧日内変動パターンを夜間降下型（dipper）と夜間非降下型（non-dipper）に分類したとき、non-dipperでは臓器障害が著しいことが報告されてる。さらに、dipperの中で過度の夜間降圧を示す例（extreme-dipper）の存在と無症候性脳血管障害の関係が報告されている。本研究では地域住民を対象に２４時間血圧（ＡＢＰ）と検診時随時血圧を測定し、夜間降圧と夜間血圧レベルに影響を与える因子と、non-dipperおよびextreme-dipperの出現頻度について検討を行った。

【方法】岩手県Ｏ町の２地区（人口３５３３人）で、２０歳以上の住民を対象に１９８７年よりＡＢＰ測定を継続している。ＡＢＰは日本コーリンＡＢＰＭ６３０を用いて、３０分間隔で２４時間測定した。昼間ＡＢＰの平均値から夜間ＡＢＰの平均値を引いたものを夜間降圧度とし、さらにそれを昼間ＡＢＰの平均値で除したものを夜間降圧率とした。夜間降圧率が１０％未満をnon-dipper、２０％以上をextreme-dipper、その中間をdipperとした。統計学的手法としては、得られた変数を用いて単相関および重回帰分析を行った。

【結果】降圧薬非服用で、ＡＢＰと検診時血圧の測定を受けた住民は、合計８２３人（男性２７４人、女性５４９人、平均年齢５５.１±１３.２歳）であった。男女ともに各年齢群で昼間血圧の上昇にともない夜間降圧度は増大したが、夜間血圧レベルは昼間血圧の上昇とともに上昇した。男性では加齢とともに夜間降圧度は減少し、女性では変化しなかった。男女とも夜間降圧率は加齢とともに減少した。non-dipperの割合は５０歳以上の正常血圧男性において多く認められ、特に７０歳以上の正常血圧男性におけるnon-dipperの割合は７３.３％を占めた。一方、高齢高血圧にはnon-dipperの割合が少なく、特に高齢高血圧女性においてその出現頻度は極めて少ない（図１）。対照的にextreme-dipperの割合は中高年高血圧女性に多く認められ、特に７０歳以上の高血圧女性において拡張期血圧のextreme-dipperの割合は４５％を占めた（図２）。多変量解析の結果、夜間降圧度の規定因子として最も大きいものは昼間血圧レベルと夜間血圧レベルであり、その他昼間血圧のＳＤ、心拍数、脈圧、年齢が独立した説明変数として採択された。２４時間血圧のＳＤは、夜間降圧と高度に相関することから、これは日内変動性の指標である。

【考察】本態性高血圧症においては、昼間血圧レベルの上昇に伴い夜間血圧レベルも上昇することから、一般的に降圧療法には昼間・夜間を通しての降圧が必要とされる。しかしながら、地域住民を対象とした検討では、高齢高血圧女性において高度な夜間降圧を示す一群の対象（extreme-dipper）があり、我々の以前の調査においてもこのextreme-dipperで無症候性脳血管障害の頻度が高いことから（Stroke、１９９６）、extreme-dipperでは過度な夜間降圧をもたらす降圧療法には注意を要するものと思われる。さらに、臓器障害と夜間降圧の関係が正常血圧non-dipperにおいても認められるか否かの検討が必要であると思われる。

図１

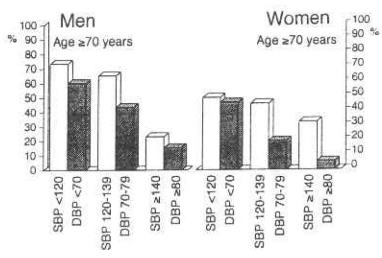
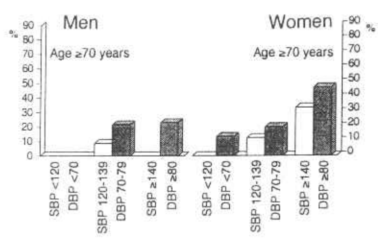



図２



# P-30 日本人高血圧症患者におけるβ3-Adrenegic Recepter遺伝子の検討

埼玉医科大学第四内科

泉田太郎、粟田卓也、小瀬川 至、柏原秀行
稲葉宗通、丸野世志子、片山茂裕

【結論】日本人におけるβ3-Adrenergic Receptor（β3-AR）遺伝子のコドン64のTrp64→Arg64の変異は、糖尿病発症年齢の違いやインスリン抵抗性には、大きくは関与しないと考えられる。また、この変異は、血圧値にも影響を及ぼさなかった。

【目的】β3-ARは、脂肪細胞に存在し、G蛋白に共約した7回膜貫通型の細胞膜上の受容体である。本遺伝子の点変異により、脂肪分解や熱産生が低下し、エネルギーの蓄積により肥満が生じると考えられる。実際、コドン64における点変異は、海外(Pima Indian、Finns)において肥満のみでなく、インスリン非依存型糖尿病（NIDDM）の早期発症とインスリン抵抗性に関与するとの報告がなされている。また、拡張期血圧が高いことが報告されている。これまでの我々の検討では、β3-AR遺伝子のコドン64の点変異は、日本人における肥満、NIDDMの発症年齢への関与は低いと考えられる。今回、高血圧症患者において、β3-AR遺伝子のコドン64点変異と血圧との関連を検討した。

【方法】日本人のNIDDMと診断された206名と、明らかな糖尿病の認められない本態性高血圧患者93例（男47例、女46例 平均年齢 60.0±1.6歳）を対象とした。対象の末梢血白血球より抽出したDNAを、β3-AR遺伝子コドン64をはさむprimerを用い、PCR法により210bpの大きさに増幅した。PCR産物を制限酵素BSTN1を用いて、37℃でover nightにて切断し、3％アガロースゲルにて電気泳動をおこなった。

【成績】本態性高血圧症患者におけるTrp64/Trp64、Trp64/Arg64、Arg64/Arg64 genotypeは 56、32、5名（60.2％、34.4％、5.4％）であり、これまでに検討を行ってきたcontrol症例、NIDDM患者のgonotypeの頻度と比較し、差は認められなかった。未治療時の平均血圧やBMI（body mass index）は、genotypeによりそれぞれ、119.2±2.6（SE）、124±3.7、116.2±9.9mmHg、24.3±0.5、24.1±0.6、23.5±2.4kg/m²であり、有意な差は認められなかった。空腹時血糖値や血中インスリン濃度においても、genotypeにより有意な差は認められなかった（Trp64/Trp64 vs. Trp64/Arg64、99.5±1.6 vs. 110.6±2.4 mg/dl、 8.5±0.8 vs. 10.2±1.0 μU/ml なお、Arg64/Arg64を有する症例の血糖値や血中インスリン濃度は現在測定中である。）。また中性脂肪は、Trp64/Trp64、Trp64/Arg64、Arg64/Arg64 genotypeにおいて、それぞれ223.5±59.1、151.5±20.4、105.3±25.0mg/dlであり、有意差は認められなかったが、Arg64をヘテロあるいはホモに持つ者で低い傾向にあった。

1 高血圧症例におけるβ3-AR遺伝子の多型性の頻度（genotype）

| Trp/Trp | Trp/Arg | Arg/Arg |
|---|---|---|
| 56<br>(60.2%) | 32<br>(34.4%) | 5<br>(5.4%) |

2 β3-AR遺伝子多型性によるBMI、血圧、血糖、血中インスリン濃度の比較

| | Trp/Trp | Trp/Arg | Arg/Arg | P |
|---|---|---|---|---|
| 1 BMI | 24.3±0.52<br>(n=56) | 24.1±0.60<br>(n=32) | 23.5±2.36<br>(n= 5) | NS |
| 2 平均血圧 (MBP) | 119.8±2.6<br>(n=56) | 124±3.7<br>(n=32) | 116.2±9.9<br>(n= 4) | NS |
| 3 TG | 223.5±59.1<br>(n=52) | 151.5±20.4<br>(n=30) | 105.3±25.0<br>(n= 4) | NS |

第19回　日本高血圧学会総会　プログラム・抄録集

発　行　　日本高血圧学会　　〒113　東京都文京区本駒込５－16－９
財団法人　日本学会事務センター内
電話　(03)5814-5801　Fax　(03)5814-5820

製　作　　財団法人　日本学会事務センター大阪事務所（学会センター関西）
〒565　豊中市新千里東町１－４－２
千里ライフサイエンスセンタービル14階
電話　(06)873-2301　Fax　(06)873-2300