

カルシウム負荷による降圧効果の検討 ～牛乳の血圧調節への影響～

慶應義塾大学医学部内科教授 猿 田 享 男

- 1) 本態性高血圧症における牛乳摂取量の増加による血圧および脂質代謝の改善効果
- 2) 高血圧自然発症ラットにおける筋小胞体カルシウムポンプ遺伝子(2型)の分子生物学的検討

【目 的】

最近、本態性高血圧症にはカルシウム代謝異常やインスリン感受性の低下などの代謝異常症が合併しやすいことが報告されている。私どもは昨年度の研究により本態性高血圧患者の中で牛乳摂取量の少ないものは高脂血症を合併しやすいことを報告した。本年度はこれらの牛乳摂取量の少ない本態性高血圧患者に乳製品を積極的に摂取したときに、血圧および脂質代謝に対する影響を検討した。

一方、本態性高血圧症は従来より遺伝的疾患とされてきたが、カルシウム代謝の面からの検討は殆ど行われていない。そこで基礎的研究として遺伝的高血圧症の疾患モデルでカルシウム代謝異常がその成因に深く関与することが明らかにされている高血圧自然発症ラット(Spontaneously hypertensive rat 以下SHR)を用いて、細胞レベルでのカルシウム代謝異常の一つの候補遺伝子である筋小胞体カルシウムポンプ遺伝子(2型)の分子生物学的検討を行った。

【対象及び方法】

- 1) 本態性高血圧症における牛乳摂取量の増加による血圧および脂質代謝の改善効果

慶應義塾大学病院の内科外来通院中の高血圧患者120名より、特に牛乳摂取量の少ないもの(1週間に1本以下)を抽出し、牛乳または牛乳不耐症の患者にはヨーグルトを1カ月間1日1本または1個以上摂取するように指導し、良好なコンプライアンス

スが達成できたものについて血圧、脂質代謝に及ぼす影響を検討した。

2) 高血圧自然発症ラットにおける筋小胞体カルシウムポンプ遺伝子(2型)の分子生物学的検討

筋小胞体カルシウムポンプ(2型)について、既知の正常血圧 Sprague-Dawley ラット(SD)の塩基配列を参照し、逆転写反応とPCRのためのプライマーを合成した。高血圧の発症が確認されたSHRの脳よりRNAを精製した。全翻訳領域を分割し、300~400塩基対のcDNAを逆転写PCRで増幅し、クローン化後Autosequencerを用いて塩基配列を決定した。点突然変異部位は正常血圧でSHRの遺伝的コントロールとされるWistar Kyotoラット(WKY)についても同様に解析した。更に、変異部位が制限酵素の認識配列になるかを検討した。

【結 果】

1) 本態性高血圧症における牛乳摂取量の増加による血圧および脂質代謝の改善効果

牛乳摂取量の少ない高血圧患者8名において牛乳摂取を指示しない期間の血圧、脂質代謝の変化はほとんど認められなかった。しかし、牛乳またはヨーグルト摂取量を増加することに指示できた高血圧患者4名が同一の降圧薬の内服を継続した条件において収縮期血圧は139mmHgから134mmHgに低下し、血清Caは8.7mg/dlから8.9mg/dlに増加し、トリグリセリドは168mg/dlから121mg/dlに低下した。これらは検討症例数が少ないために統計学的有意差に到達しなかった。総コレステロールは229mg/dlのままで変化を認めなかった(表1)。

2) 高血圧自然発症ラットにおける筋小胞体カルシウムポンプ遺伝子(2型)の分子生物学的検討

SDラットと比較しSHRにおいて翻訳開始点から579、1434および2352番目の3カ所の点突然変異を見出した(図1、図2、図3)。このうち579、1434番目の変異はWKYにも共通して認められた。2352番目の塩基はSHRだけがグアニンからアデニンに変異しており、アミノ酸配列には影響を与えないものの、制限酵素多型を与えるものであった(図3)。この部分の塩基配列はSHRではCCTGAAGCTTであり、HindⅢにより切断され(下線、変異は袋文字)、SauⅠにより切断されない。

一方、WKYではSDラットと同様にCCTGAAGCTTであり、Sau Iにより切断され（2重下線）、Hind IIIにより切断されない。この変異を含む約400塩基対のPCR産物をHind IIIあるいはSau Iにより切断すると、SHRではHind IIIでだけ、WKYではSau Iでだけ切断され制限酵素多型がえられることを確認した（図4）。

【考 察】

1) 本態性高血圧症における牛乳摂取量の増加による脂質代謝異常の改善効果

経口カルシウムに降圧作用があることは従来からの疫学的、実験的研究により明らかにされてきた。今回は牛乳摂取量が特に少ない外来通院中の本態性高血圧患者を対象として牛乳またはヨーグルト投与による血圧および脂質代謝に対する影響を検討した。今回、従来指摘されている研究に比しても良好な降圧効果が認められた。また、牛乳摂取量の少ない高血圧患者においては高脂血症を合併する頻度が多いことを報告したが、トリグリセリドは牛乳またはヨーグルトの投与で改善傾向があることが示された。しかしながら、今回の検討では牛乳摂取量が1週間に1本以下と対象を限定したために、症例数が少なく統計学的有意差に到達しなかったことは残念である。今後、引き続き検討すべき課題と考えられた。

2) 高血圧自然発症ラットにおける筋小胞体カルシウムポンプ遺伝子（2型）の分子生物学的検討

SHRの筋小胞体カルシウムポンプ（2型）にWKYと比較して点突然変異が存在し、この変異がSHRとWKYの遺伝子型を識別するマーカー（制限酵素多型）となることを見出した。この制限酵素多型はSHR型とWKY型をPCRにより簡単にかつ2種類の制限酵素を用いて確実に識別できるものであることを確認した。SHRにおけるカルシウムポンプのこのような変異が高血圧の成因およびカルシウム代謝異常の原因であるかどうかを今回得られた制限酵素多型を用いて家系分析を行うことが可能となった。

【結 論】

牛乳摂取量の特に少ない本態性高血圧患者を対象として牛乳またはヨーグルトの摂

取量を増加させたところ、血圧は低下、血清Caは増加および血清トリグリセリドは低下する傾向を認めた。Ca摂取量の増加による好影響と考えられた。

一方、遺伝的高血圧症の疾患モデル動物であるSHRの筋小胞体カルシウムポンプ遺伝子（2型）においては家系解析を行うための遺伝的マーカーとなる制限酵素多型を見出した。

表1 牛乳摂取量の少ない本態性高血圧症4名において牛乳または
ヨーグルト摂取量を増加させたときの血圧および脂質代謝の変化

(Mean $\pm$ SEM)

		投与前	投与後
収縮期血圧	(mmHg)	139 $\pm$ 1	134 $\pm$ 5
拡張期血圧	(mmHg)	80 $\pm$ 2	79 $\pm$ 3
血清Ca	(mg/dl)	8.7 $\pm$ 0.2	8.9 $\pm$ 0.2
血清P	(mg/dl)	3.0 $\pm$ 0.1	2.9 $\pm$ 0.2
総コレステロール	(mg/dl)	229 $\pm$ 11	229 $\pm$ 13
トリグリセリド	(mg/dl)	168 $\pm$ 30	121 $\pm$ 15

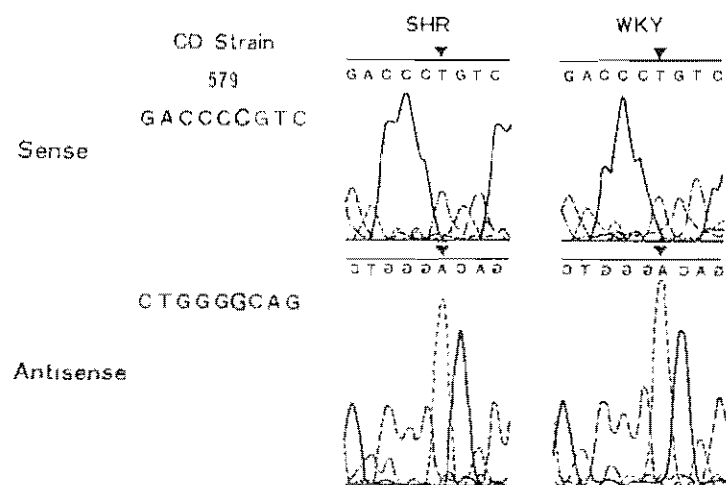


図1 Point mutation of SRCA D in the 579th base in SHR and WKY compared with CD strain

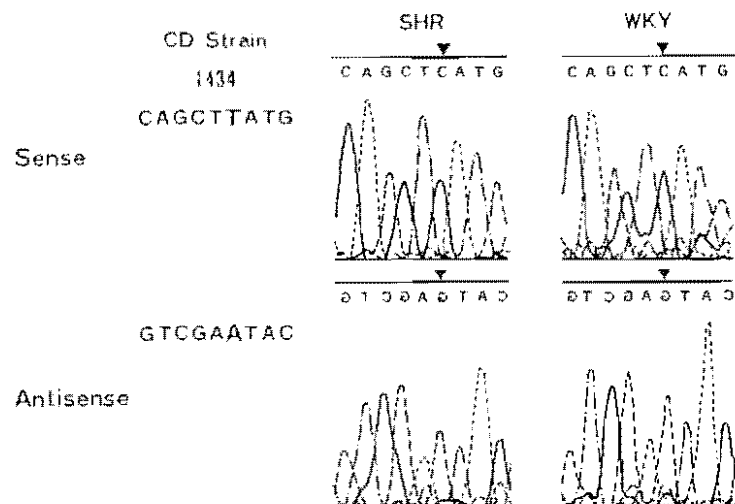


图2 Point mutation of SRCA II in the 1434th base in SHR and WKY compared with CD strain

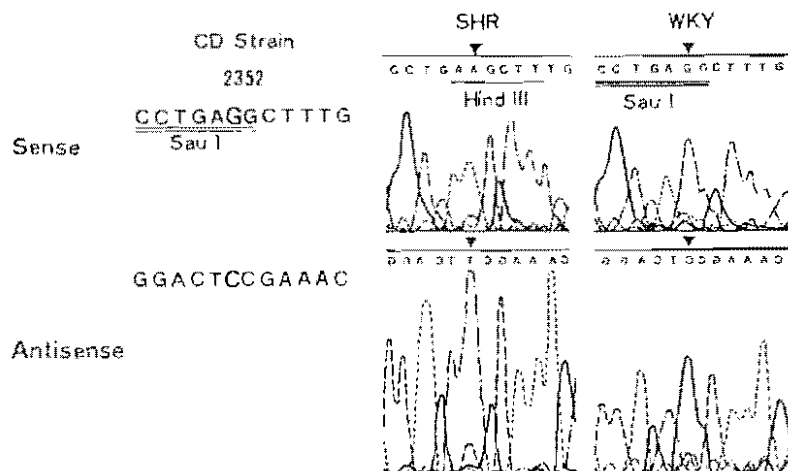


图3 Point mutation of SRCA II in the 2352nd base in SHR compared with WKY and CD strain

The sequence of AAGCTT in SHR was digested by Hind III and that of CCTGAGG was digested by Sau I, respectively

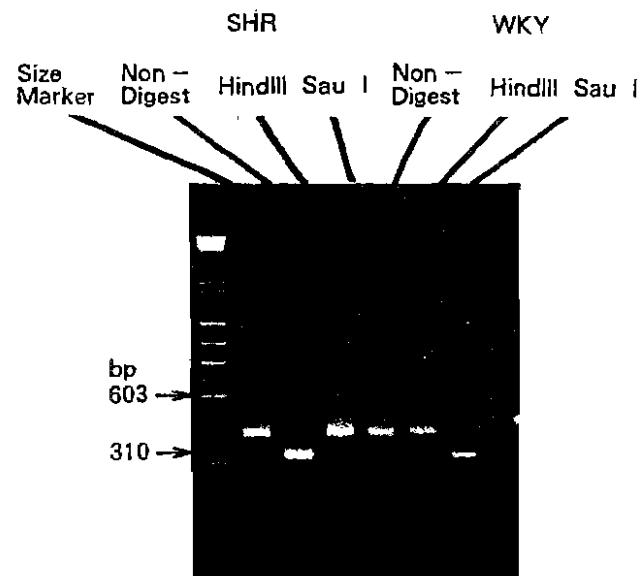


图 4 Restriction fragment length polymorphisms between SHR and WKY