

赤血球膜ナトリウム輸送に関する研究

上園, 慶子
九州大学健康科学センター

川崎, 晃一
九州大学健康科学センター

中牟田, 澄子
Second Department of Internal Medicine Faculty of Medicine Kyushu University

川副, 信行
Second Department of Internal Medicine Faculty of Medicine Kyushu University

<https://doi.org/10.15017/441>

出版情報 : 健康科学. 7, pp.43-50, 1985-03. Institute of Health Science, Kyushu University
バージョン :
権利関係 :

赤血球膜ナトリウム輸送に関する研究

上園慶子* 川崎晃一*
中牟田澄子** 川副信行**

Studies on Sodium Transport in Human Red Blood Cells.

Keiko UEZONO*, Terukazu KAWASAKI*,
Sumiko NAKAMUTA** and Nobuyuki KAWAZOE**

Na-influx in red cells was measured in normotensive and borderline hypertensive subjects using the Mahoney's method.

In normotensives, Na-influx was higher in males than in females, and also in offspring of hypertensives than in those without familial predisposition of hypertension, compared between age-matched groups. Influence of age on Na-influx was unclear in both sex groups.

In male subjects, Na-influx showed higher values in 14 borderline hypertensives than in 12 normotensives, and also higher in 9 women with high normal blood pressure (Hi-BP) than in 12 women with low normal blood pressure (Lo-BP).

To test the effect of Na and K intake on Na-influx, Hi-BP and Lo-BP groups were given 200–220 mEq of Na and 40–50 mEq of K one by one, in addition to a normal intake of 100–120 mEq Na and 40–50 mEq K per day. Na load significantly increased Na-influx in Hi-BP group, but did not in Lo-BP group. On the other hand K load insignificantly decreased Na-influx in Lo-BP group, but unchanged in Hi-Bp group.

In young men, Na-influx from 21 borderline hypertensives was statistically significantly increased after one-hour upright position, whereas that from 12 normotensives unchanged. Responsibility of Na-influx to upright position was not significantly correlated with blood pressure in either group. In order to investigate the mechanism of changes in Na-influx, variables other than blood pressure should be taken into account.

Six healthy women, 22 years of age, stayed in RISM (Rational Intensive Self Measurement) rooms, Kyushu University for 3 days seasonally. Four-hourly blood sampling revealed circadian variation of Na-influx. Its peak appeared at around midnight. No report has been made on circadian rhythm of Na-influx. Its detection and explanation remain to be resolved.

When we assess Na transport in cell membrane, conditions such as sampling time,

* Institute of Health Science, Kyushu University 11, Kasuga 816, Japan.

** Second Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kyushu University 61, Fukuoka 812, Japan.

position and Na intake should be considered.

(Journal of Health Science, Kyushu University, 7:43-50, 1985)

はじめに

細胞膜でのナトリウム (以下 Na) 輸送の異常は、1960 年代後半に高血圧症との関わりが報告されて以来、急速に研究が進められている。しかしながら、報告者により実験の対象、方法が種々であるため、必ずしも一定の見解は得られていない。今回、私達は臨床的に健康な人々を対象に正常値ならびに正常値に及ぼす諸因子の影響を検討した。

測定方法

赤血球膜での Na 輸送は 1981 年米国ミネソタ大学で開発された Mahoney たち¹⁾の方法により測定した。すなわち静脈血をヘパリンを加えて採血し、直ちに遠沈後赤血球をウワバイン加の緩衝液で洗浄する。次に赤血球を²²Na を含む緩衝液と共に 37°C でインキュベートする。その後速やかに赤血球を別種の緩衝液で洗い三塩素酢酸で膜を破壊、遠沈後上清中の放射能を測定することによって赤血球内に取り込まれた Na (Na-influx) を測定する。

対象と方法

対象は全例、日常生活を営んでいる臨床的に健康な男女である。

I. Na-influx に対する年齢・性別の影響

18 才～29 才の若年者 62 名と 50 才～76 才の高年者 21 名につき、男女別に朝食前午前 8 時の Na-influx を比較した。全例とも血圧は正常 (収縮期血圧 140 mmHg 未満かつ拡張期血圧 90 mmHg 未満) であった。

II. Na-influx に対する高血圧素因の影響

高血圧の家族歴が調査できた若年男子 29 名若年女子 22 名のうち、両親とも高血圧の場合を素因(+), 両親とも正常血圧の場合を素因(-)とし、男女別に朝食前午前 8 時の Na-influx を比較した。

III. Na-influx に対する血圧値の影響

血圧を日を変えて 7 回以上測定し得た 18 才～23 才の若年男子のうち、収縮期血圧が 140 mmHg 以上か拡

張期血圧が 90 mmHg 以上的一方又は両方を全回満足した 14 名 (HT 群) と初回測定時に正常血圧であった 13 名 (NT 群) を比較した。

若年女子は約 900 名について血圧を測定した。前述の診断基準での高血圧者は 1 名のみであったので血圧値の高い方から 10 名のうちの 9 名 (Hi-BP 群) と低い方から 14 名中の 12 名 (Lo-BP 群) について比較した。

IV. Na-influx に及ぼす Na 及びカリウム摂取量の影響

対象はⅢと同じ若年女性 (Hi-BP 群 9 名, Lo-BP 群 10 名), 食事内容は①コントロール食 (C 食; Na 100-120 mEq/日, K 40-50 mEq/日), ②K 負荷食 (K 食; Na 100-120 mEq/日, K 80-90 mEq/日), ③ Na 負荷食 (Na 食; Na 310-330 mEq/日, K 40-50 mEq/日) の 3 種である。

月経周期の影響²⁾を除くため生理開始日から 10 日目までの卵胞期に行なった。10 日間①(または②または③)の食事を摂取し、最終の 3 日間蓄尿を行ない最終日の朝食前、30 分以上安静臥床後、臥位にて採血した。これを②と③について繰り返したが①②③の順序は不同であった。

V. Na-influx に及ぼす体位の影響

18 才～23 才の男子学生を対象とした。Ⅲの研究と同じ基準での正常血圧者 13 名と高血圧者 21 名について、朝食前 1 時間以上安静臥床後と立位歩行 1 時間後の 2 回、採血した。

VI. Na-influx の日内リズム及び季節変動

22 才の健康な女性 6 名を対象にした。九州大学健康科学センターに各季節毎 2 泊 3 日ずつ宿泊し、12:00 より 4 時間毎に 6 回採血した。12:00, 16:00, 20:00 の 3 回は座位にて 00:00, 04:00, 08:00 の 3 回は臥位にて採血した。赤血球は直ちに洗浄し 4°C にて保存、採血が全て終了した後一斉に測定した。

なお Na 摂取量は全回約 170 mEq/日とした。

有意差の検定は Student's t-test および Paired t-test により行ない、 $P < 0.05$ を有意差ありと判定した。日内リズムの検出は Cosinor 法³⁾を用い $P < 0.05$ を有意とした。

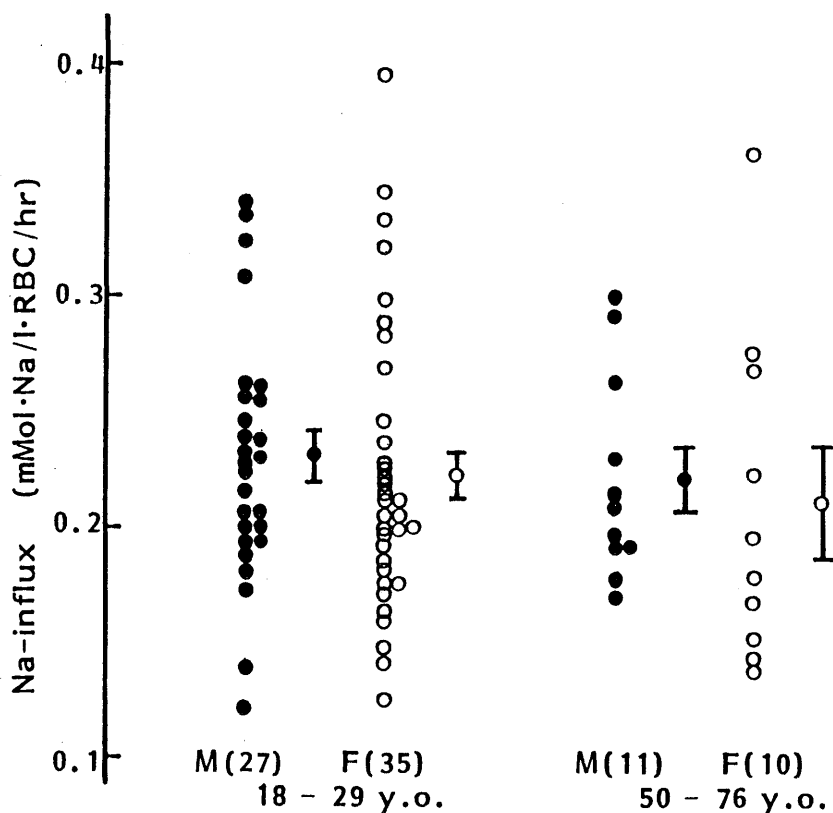


Fig. 1. Effect of Age and Sex on Na-influx
M: Males, F: Females, (numbers).

結 果

I. Na-influx に対する年齢および性別の影響

Fig. 1 に示すように若年者も高年者もほぼ同じ値を示し有意差は認めなかった。男性に比べ女性は僅かに低い値を示すが有意差はなかった。

II. Na-influx に対する家族歴の影響 (Fig. 2)

男女とも高血圧の家族的素因のある者が平均値としてやや高い値を示したが有意差はなかった。

III. Na-influx に対する血圧値の影響 (Table 1)

血圧は男女とも2群間で有意差を認めた。Na-influx は男女とも血圧の高い群が低い群より高い値を示したが有意差はなかった。Na-influx と血圧の間には収縮期血圧, 拡張期血圧とも有意の相関関係はなかった。

IV. Na-influx に対する Na, K の影響 (Fig. 3)

3日間の24時間蓄尿の結果, Na, K の排泄量は血圧値の異なる2群間で有意差はなかった。

Na-influx はHi-BP群では, Na 負荷で, 有意に増加した。Lo-BP群ではK 負荷で僅かに減少した。Na-influx の値及び変化率と血圧値或いはその変化率はNa 負荷時には, 両群とも有意の関係がなかった。

V. Na-influx に対する立位の影響 (Table 2)

NT群, HT群ともに立位1時間後が高い値を示し, HT群では有意差 ($P < 0.05$) を認めた。しかし立位に対するNa-influx の反応性は血圧の反応とは有意の関係がなかった。

VI. Na-influx の日内変動及び季節変動 (Fig. 4)

各人の実測値は夏期を除いてほぼ安定した値を示した。1日6回の測定値の平均値に対する変動の割合を, 平均値に対する変化率 (%-change) で図示する。

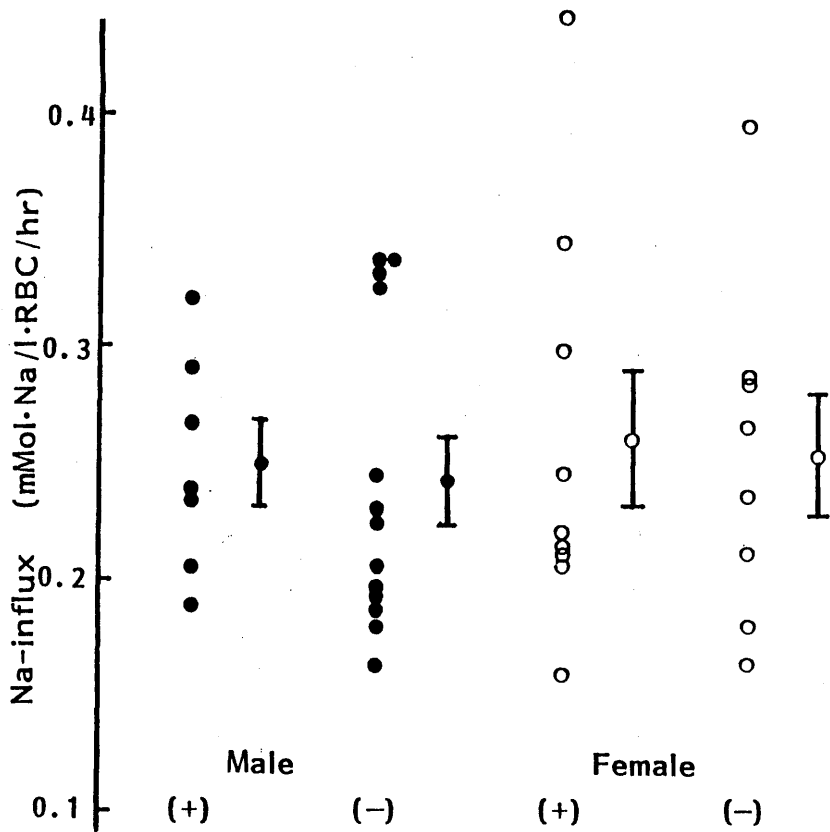


Fig.2. Effect of Familial Predisposition of Hypertension on Na-influx in Young Adults.

Table 1. Effect of Blood Pressure on Na-influx in Young Adults.

Variable (unit)	Male		Female	
	HT	NT	Hi-BP	Lo-BP
n	14	12	9	12
Age (y.o.)	22.4±0.5	21.9±0.4	19.2±0.2	19.9±0.4
Na-influx (mmol/l.RBC/hr)	0.244±0.015	0.225±0.016	0.245±0.034	0.234±0.020
SBP (mmHg)	154±3 ***	116±5	133±3 ***	90±1
DBP (mmHg)	83±4 **	68±3	82±3 ***	56±1
HR (/min)	94±5 ***	59±4	87±3 **	72±3

** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$.

春, 夏, 冬期は 00:00, 04:00 にやや高値を示した。秋期は変動が少なく日内変動の有無は明らかではなかった。各期の %change を Cosinor 法¹⁹⁾で分析すると有意ではなかったが各期とも 23:00 から 02:00 の間に頂値となった。

考 按

現在までの種々の研究により赤血球膜には Fig. 5 のような 4 つの Na 輸送機構があることが知られてい

る¹⁹⁾。細胞膜での Na 輸送の大部分は Na, K-ATPase を介する Na, K ポンプによる能動輸送であり, この輸送機構はウパイン感受性である。この他に Na-K 共輸送と Na-Li (Na) 逆輸送の 2 つの能動輸送と, 透過性による Na の受動輸送があり, これらはウパイン非感受性である。

本能性高血圧症での細胞膜 Na 輸送の異常は各 Na 輸送機構について報告されている¹⁶⁾⁹⁾²¹⁾が, 最近では反

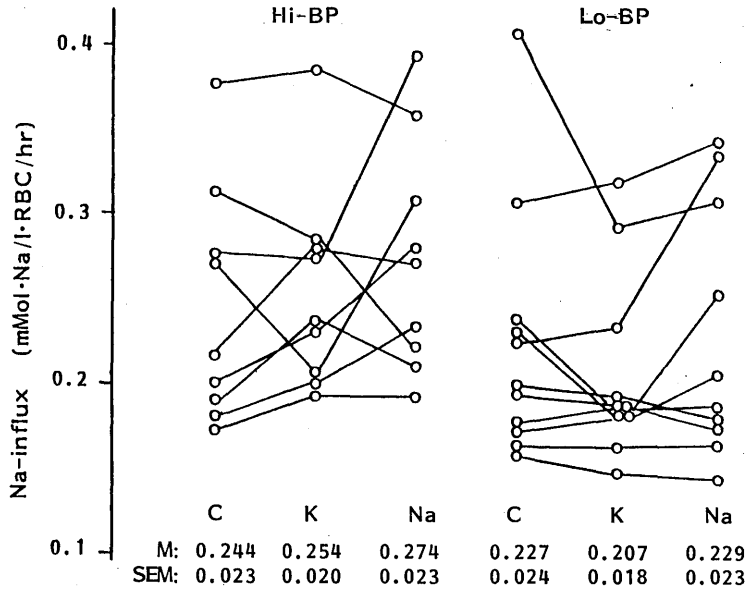


Fig. 3. Effect of Dietary Na and K Intake on Na-influx in Young Females with High Normal (Hi-BP) and Low Normal (Lo-BP) Blood Pressure. C: Control Diet, K: K Load, Na: Na Load.

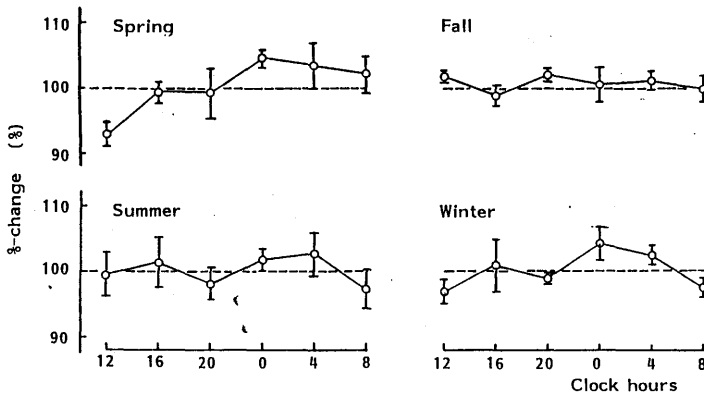


Fig. 4. Circadian Rhythm of RBC Na-influx in 6 Clinically Healthy Women.

Table 2. Effect of Posture on Na-influx and Related Variables in Young Hypertensive Men (n=21)

Variable	supine	upright	P
Systolic BP	125.7±10.1	131.4±10.6	*
Diastolic BP	66.3±13.2	79.3± 8.4	***
Heart Rate	68.0±13.2	90.5±17.3	***
Na-influx	0.249±0.055	0.256±0.056	*
Hematocrit (%)	45.8± 2.2	47.8± 1.9	***
PRA (ng/ml/hr)	2.94±2.26	4.92±2.42	**
PAC (ng/dl)	9.93±2.68	11.06±2.83	**

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$.

論も多く、正常血圧者と高血圧者の間で有意差を認めない報告¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁸⁾、人種により反応に違いがあるとする報告²⁴⁾もある。正常血圧の人でも高血圧の家族的素因の有無により値が異なり将来の高血圧発症の指標として、また高血圧の早期発見に有用であるとの報告もあるが、測定値に及ぼす諸因子の影響、各種刺激に対する反応性や日内変動についての報告はない。また、いずれの報告も、Na 輸送の測定法は操作が繁雑で長時間を要しかなり大量の放射性同位元素を必要とした。私達は簡便で放射性同位元素の使用量の少ない本法を用いて Na-influx に影響を及ぼす諸因子の検討を行った。この方法ではウワバインを使用するので Na-

K ポンプによる能動輸送以外の3つの輸送機構をまとめて反映するが、大部分は透過性による Na の受動輸送である。測定値の正常範囲は原著と大差なく再現性も良好であった。

Na-influx に対する年齢、性別の影響は本態性高血圧症では認められていない²⁰⁾が、男性は女性より有意に高いとの報告¹⁰⁾もある。また家族的素因は、素因(+)の者が素因(-)の者より高値を示す報告⁸⁾が多いが、男女間で異なる結果も報告¹⁰⁾されている。本研究では拡張期血圧が 95 mmHg 以上のいわゆる高血圧症は含まれていないので血圧値の影響は諸家の報告とは異なると思われるが、Fujita ら⁵⁾は Na-Li 逆輸送を測定し高血圧症の家族歴を有する若年者の境界域高血圧症で、正常血圧者より有意に高い値を得ている。しかしながら家族歴のない高血圧者は正常血圧者と有意差がなく、高血圧者に於て血圧値との間に有意の関係は得られていない。Milner たち¹²⁾も血圧との間にくい違いを報告している。私達の成績でも Na-influx と血圧値の間には有意の関係は得られず、Na 輸送異常は血圧以外の因子の影響も大きいと考えられる。

In vitro での実験で細胞外液の Na, K 濃度を高くすれば Na-influx が増加することが知られている¹⁹⁾。またヒトを対象にした研究では経口的 Na 負荷で同様の結果³⁾が、K 負荷で逆の結果⁷⁾が報告されている。同年代の若年女性を血圧値によって2群に分けてみると

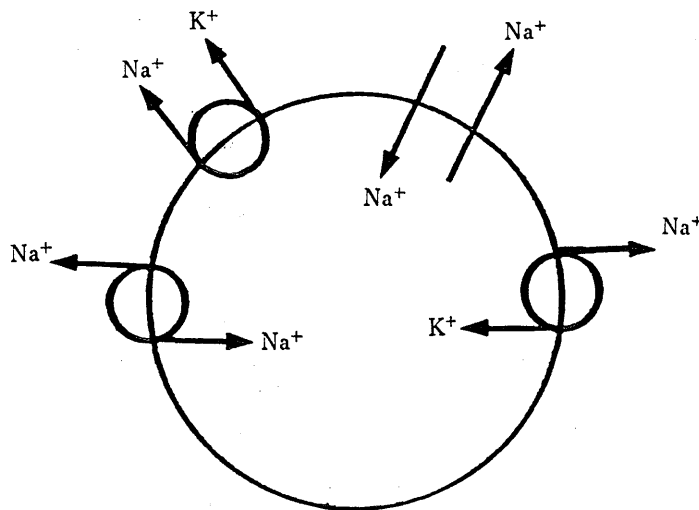


Fig. 5. Na Transport Systems in RBC Membrane.

血圧の高い群はNa 負荷で有意に高い値を示したが、血圧の低い群はNa 負荷の影響をほとんど受けずK 負荷でやや低値を示した。血圧の高い群が昇圧刺激に反応し、低い群が降圧刺激に反応した事は両群の反応性が異なることを示唆している。

立位負荷により若年男子の高血圧群は有意の上昇 ($p < 0.05$) を認めたが同年代の正常血圧者では有意の変化はなかった。立位刺激に対するNa-influxの上昇が何を介するかは未だ不明だが、正常血圧者に於るNa-influxは血漿アルドステロンと相関するという報告¹⁰もあり、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系の関与があると思われる。

血圧の高い人は正常血圧者より各種昇圧刺激に対する反応が著しいと言われているが、Na-influxに対する反応も血圧の高い人が強く現われる傾向がある。

Na-influxの日内変動は症例が少なく有意ではないが23:00から02:00に頂値を示した。これは体位によるものとは考えられない。日内変動についてはこれまで全く報告がなく、Na-influxの日内リズムの検出、その発現機構の解明は今後の課題である。

結 語

健康な成人を対象に赤血球膜でのNa-influxに対する諸因子の影響および日内変動を検討した。

男性は女性より、高血圧の家族的素因のある群は無群より、血圧の高い群は低い群より高値を示したが、いずれも有意ではなかった。年齢の影響は明らかではなかった。

Na 負荷および立位負荷によって血圧の高い群ではNa-influxが増加し、両刺激とも有意差を認めた。しかし血圧との間に有意の関係はなかった。

Cosinor 法による分析の結果、Na-influxの日内変動は有意ではなかったが23:00~02:00頃に頂値を示した。

またNa-influxの評価に際しては採血時刻や体位などの条件を考慮に入れる必要があると思われる。

本研究は厚生省循環器病研究委託費(57指-2)の援助を受けた。

文 献

- 1) Canessa, M., Adragna, N., Solomon, H.S., Connolly, T.M. and Tosteson, D.C.: Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension. *New Eng. J. Med.*, **302**: 772-776, 1980.
- 2) Canessa, M., Spalvins, A., Adragna, N. and Falkner, B.: Red cell sodium countertransport and cotransport in normotensive and hypertensive blacks. *Hypertension*, **6**: 344-351, 1984.
- 3) Dagher, G., Mendonca, M.D., Knorr, A., Brossard, M., Franck, D., Feray, J., Garay, R.P., Ben-Ishay, D. and Meyer, P.: Na⁺ induced Na⁺ fluxes in erythrocytes. *J.Hypertension*, **1** (suppl 2): 398-400, 1983.
- 4) Etkin, N.L., Mahoney, J.R., Forsthoefel, M. W., Eckman, J.R., McSwigan, J.D., Gillum, R.F. and Eaton, J.W.: Racial differences in hypertension-associated red cell sodium permeability. *Nature*, **297**: 588-589, 1982.
- 5) Fujita, T., Noda, H., Ando, K. and Sato, Y.: Peripheral resistance and red cell Li-Na countertransport in borderline hypertensives. *Life Sci.*, **32**: 1621-1627, 1983.
- 6) Garay, R.P., Dagher, G., Pernollet, M., Devynck, M. and Meyer, P.: Inherited defect in a Na⁺, K⁺-co-transport system in erythrocytes from essential hypertensive patients. *Nature*, **284**: 281-283, 1980.
- 7) Glänzer, K., Kramer, H.J., Adams, O., Dusing, R., Sorger, M. and Kruck, F.: High dietary potassium attenuates the vasoconstrictor effect of ouabain and enhances baroreceptor sensitivity. *J.Hypertension*, **1** (suppl 2): 214-216, 1983.
- 8) Gudmundsson, O., Berglund, G., Herlitz, H., Andersson, O. and Jonsson, O.: Influence of age on the response to increased salt intake: Effects on blood pressure and sodium in erythrocytes. *J.Hypertension*, **1**(suppl 2): 15-17, 1983.
- 9) Haddy, F.J., Pamnani, M.B. and Clough, D. L.: Volume overload hypertension: A defect in the sodium-potassium pump? *Cardiovasc. Rev. Rep.*, **1**: 376-385, 1980.
- 10) Henningsen, N.C. and Nelson, D.: Net influx and efflux of ²²Na in erythrocytes from nor-

- motensive offspring of patients with essential hypertension. *Acta Med. Scand.*, **210**: 85-91, 1981.
- 11) Mahoney, J.R., Etkin, N.L., McSwigan, J.D. and Eaton, J.W.: Assessment of red cell sodium transport in essential hypertension. *Blood*, **59**: 439-442, 1982.
 - 12) Milner, M., Heagerty, A.M., Bing, R.F., Thurston, H. and Swales, J.D.: Changes in leucocyte sodium transport in normotensive relatives of hypertensive subjects. Dissociation from blood pressure. *Hypertension*, **6**: 369-373, 1984.
 - 13) Nelson, W., Tong, Y.L., Lee, J.K. and Halberg, F.: Methods for cosinor-rhythmometry. *Chronobiologia*, **6**: 305-323, 1979.
 - 14) Smith, J.B., Ash, K.O., Hunt, S.C., Hentschel, W.M., Sprowell, W., Dadone, M.M. and Williams, R.R.: Three red cell sodium transport systems in hypertensive and normotensive Utah adults. *Hypertension*, **6**: 159-166, 1984.
 - 15) Swarts, H.G.P., Bonting, S.L., de Pont, J.J.H. H.M., Stekhoven, F.M.A.H.S., Thien, T.A. and Laar, A.V.: Cation fluxes and $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -activated ATPase activity in erythrocytes of patients with essential hypertension. *Hypertension*, **3**: 641-649, 1981.
 - 16) 上園慶子, 川崎晃一, 上野道雄, 中牟田澄子, 尾前照雄: 正常人の血漿レニン活性, 血漿アルドステロン濃度に及ぼす加齢・性・月経周期および電解質の影響, *日内泌誌*, **56**: 1618-1629, 1980.
 - 17) 上園慶子, 川崎晃一: 高血圧の成因 ナトリウム, 肺と心, **31**: 76-83, 1984.
 - 18) Wiley, J.S., Clarke, D.A., Bonacquisti, L.A., Scarlett, J.D., Harrap, S.B. and Doyle, A.E.: Erythrocyte cation cotransport and countertransport in essential hypertension. *Hypertension*, **6**: 360-368, 1984.
 - 19) Wiley, J.S. and Cooper, R.A.: A furosemide-sensitive cotransport of sodium plus potassium in the human red cell. *J.Clin. Invest.*, **53**: 745-755, 1974.
 - 20) Woods, K.L., Beevers, D.C. and West, M.: Familial abnormality of erythrocyte cation transport in essential hypertension. *Brit. Med. J.*, **282**: 1186-1188, 1981.
 - 21) Yamori, Y., Nara, Y., Horie, R. and Ohtaka, M.: Ion permeability of erythrocyte membrane in SHR. *Jap. Heart J.*, **18**: 604-605, 1977.