

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：34438

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09337

研究課題名(和文) 高血圧の細胞膜機能と血管・骨代謝分子機構からみた高齢者生活習慣関連疾患の病態生理

研究課題名(英文) Membrane Function and Bone-Metabolism in the Elderly with Metabolis Syndrome

研究代表者

津田 和志 (Tsuda, Kazushi)

関西医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：90217315

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では細胞膜異常として赤血球膜fluidityの調節メカニズムと、高齢者高血圧を中心とした生活習慣病における動脈硬化病変との関連を検討した。本態性高血圧患者の赤血球膜fluidityは正常血圧群に比し有意に低下し、動脈硬化病変の指標であるbrachial-ankle pulse wave velocityや頸動脈硬化度と有意に相関した。そのメカニズムとして一部内皮機能不全や酸化ストレスの関与が示唆された。一方、高齢女性高血圧患者では腰椎骨塩含量が正常血圧群に比し有意に低下していた。以上から、細胞膜機能調節機構や骨代謝動態が高血圧や生活習慣関連疾患の病態生理の一部関与すると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心血管系をはじめ、血球成分や骨組織をも含む広範な組織に存在すると考えられる高血圧やメタボリックシンドロームの細胞膜異常と情報伝達系の変化を細胞レベルから解析し、その調節メカニズムを検討することは新しい試みであり、高齢者生活習慣病ならびに骨代謝異常の成因の解明や病態の理解のみならず、治療効果の判定や合併症を予防する上で有意義であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The present study was performed to assess the possible relationship between atherosclerotic changes and membrane fluidity of red blood cells (RBCs) in the elderly with hypertension and metabolic syndrome using an electron spin resonance and spin-labeling method. Membrane fluidity of RBCs was significantly decreased in hypertensive subjects. The increased value of brachial-ankle pulse wave velocity and carotid artery atherosclerosis might be associated with reduced membrane fluidity of RBCs, suggesting that arterial stiffness might have a close correlation with microcirculatory disorders. The mechanism of the association might be partially explained by endothelial dysfunction and oxidative stress. On the other hand, bone mineral density was significantly lower in hypertensive elderly women than in normotensive elderly women. We propose that changes in membrane function and bone-metabolism might have a crucial role in the pathophysiology of hypertension and metabolic syndrome.

研究分野：医歯薬学

キーワード：高血圧 Metabolic syndrome 赤血球膜fluidity 電子スピン共鳴 動脈硬化 内皮機能 酸化ストレス 骨塩含量

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢者において微小循環障害は直接脳血管疾患や虚血性心疾患につながる可能性が強く、そのメカニズムとして内皮機能不全やレオロジー的变化としての細胞膜機能異常が示唆されているが、詳細については不明な点が多い。最近、細胞膜の physicochemical properties のひとつである膜流動性 (fluidity) は、膜の可塑性や変形能、さらには膜の酵素活性を規定する重要な因子のひとつと考えられ、細胞の収縮など各種の生理反応に關与する可能性が示されている。既に我々は電子スピン共鳴 (electron spin resonance: ESR) ならびにスピラベル法を用いて、赤血球膜 fluidity が本態性高血圧群で低下していることを報告した。このことは高血圧患者の細胞膜が固くなり膜の可塑性が低下していることを表し、微小循環障害を引き起こして脳血管障害や心血管系疾患の発症に結びつく可能性を示唆している。そして、細胞膜レベルから高血圧における各組織に共通した異常を解明することは、メタボリックシンドロームの病態生理を理解する上で重要と考えられるが、その調節メカニズムは明らかではない。本研究では、高齢者を中心とする生活習慣関連疾患の病態生理を細胞膜レベルの変化からみるため、その細胞膜機能を電子スピン共鳴法にて測定し、特に高血圧における微小循環障害を細胞膜機能異常や動脈硬化病変、内皮機能不全の關与から考察する。

近年、高血圧を中心とする生活習慣関連疾患と骨代謝との間に共通の病因、病態の存在が示唆されている。本研究では高血圧患者における骨代謝動態を骨塩含量の変化から観察し、全身の Ca 代謝と高血圧との關連について検討を加える。

この様に心血管系をはじめ、血球成分や骨組織をも含む広範な組織に存在すると考えられる高血圧やメタボリックシンドロームの細胞膜異常と情報伝達系の変化を細胞レベルから解析し、その調節機構を検討することは新しい試みであり、生活習慣関連疾患や骨代謝異常の病態を理解するのみならず、その治療効果の判定や合併症を予防する上で有意義であると考えられる。

2. 研究の目的

血管内皮障害による nitric oxide (NO) 作用不全は高血圧をはじめ循環器疾患の成因のひとつであるが、その調節機構については不明な点が多い。最近、高血圧の病態生理を細胞膜機能の変化からとらえようとする考え方が提唱されている。本研究ではまず、高血圧の細胞膜機能と動脈硬化病変や内皮機能との關連、さらにその調節機構を中心に検討を加えた。

一方、生活習慣病と骨代謝の間に共通の病因、病態の存在が示唆されている。そして細胞レベルでの Ca 代謝異常は全身の Ca-balance と關連し、さらにそれは動脈硬化の特徴のひとつである血管壁 Ca 沈着とも密接に結びついている可能性がある。そこで本研究では高齢高血圧患者を中心に骨密度の変化を含めた骨代謝動態について考察した。

3. 研究の方法

I. 高血圧の細胞膜機能の解析

本態性高血圧患者、ならびに正常血圧者を 30 分間安静臥床させた後、肘静脈より採血し洗滌赤血球を作成後、電子スピン共鳴 (electron spin resonance: ESR) 装置にて赤血球の細胞膜流動性 (fluidity) を測定した。赤血球は Tris-HCl buffer 内に浮遊させ、5-nitroxide stearate (5-NS) でスピラベルを行い、電子スピン共鳴装置にて細胞膜流動性 (fluidity) を測定した (power 5 mW, modulation frequency 100 KHz, modulation amplitude 0.2 mT(tesla), scan width 328 ± 5 mT(tesla), sweep time 8 min, response time 1.0 sec)。そして各 spectrum から order parameter (S) を算出し、細胞膜 fluidity の指標とした。すなわち、order parameter (S) 値の大きいほど、細胞膜 fluidity は低下していることを表している。

II. 高血圧の骨塩含量測定

本態性高血圧患者ならびに正常血圧者の腰椎骨塩含量 (bone mineral density:BMD)を dual energy X-ray absorptiometry (DXA) 法にて測定した。

4. 研究成果

1). 電子スピン共鳴からみた高血圧の赤血球膜 fluidity

本法を用いて我々は赤血球膜より得られた order parameter (S) 値は高血圧患者で正常血圧対照群に比し有意に高値を示し、高血圧で赤血球膜 fluidity が低下していることを明らかにした。この成績より高血圧では膜 stiffness が増大していることが示唆され、膜機能からみた微小循環調節機構の障害されている可能性が考えられる。

2) 赤血球膜 fluidity と動脈硬化病変との関連

今回、動脈硬化の代表的な指標である brachial-ankle pulse wave velocity (baPWV) や頸動脈硬化度 (intima media thickness: IMT) と赤血球膜 fluidity との関連を検討した。我々の成績では赤血球膜 fluidity の低下は baPWV や IMT の増加と有意に相関した。これらの関連は年齢、body mass index (BMI)、血中総コレステロール値、血糖値、収縮期血圧値等を補正した後も認められることより、赤血球のレオロジー的变化や微小循環の異常が動脈硬化病変と深い関連を持つと考えられる。両者の関連が血流速度変化などの物理的要因によるものか、あるいは内分泌代謝因子によるものかは不明であるが、一部血管内皮機能不全や酸化ストレスの増加が関与する可能性が示唆された。

3) 赤血球膜 fluidity と血管内皮機能との関連について

近年、赤血球に NO 合成酵素の存在することが明らかとなり、内皮細胞のみならず赤血球自身の産生する NO が赤血球機能や微小循環調節に重要な役割を果たす可能性が提唱されている。我々は in vitro において NO-donor のひとつである S-nitroso-N-acetyl-penicillamine が高血圧患者の赤血球膜 fluidity を有意に改善させることを報告し、NO が赤血球膜 fluidity 調節に重要な役割を果たす可能性を提唱してきた。

一方、従来から臨床的に血管内皮機能の指標のひとつとして、血漿 NO 代謝産物濃度が測定されている。我々の成績では、高血圧群では正常血圧群に比し血漿 NO 代謝産物濃度は有意に減少していた。また、赤血球膜の order parameter (S) 値は血漿 NO 代謝産物濃度と有意に負の相関を示した。この成績は血漿 NO 代謝産物濃度が低いほど赤血球膜 fluidity は低下していることを示している。また、血漿内因性 NO 合成酵素阻害物質 (asymmetric dimethylarginine: ADMA) 濃度は高血圧群では正常血圧群に比し有意に増加し、血漿 ADMA 濃度が高いほど赤血球膜 fluidity は低下していた。これらの結果は血管内皮機能障害や NO-bioavailability の低下が赤血球膜 fluidity の悪化につながる可能性を示唆するものと考えられる。

4) 赤血球膜 fluidity と肥満関連血管作動物質との関連

最近、脂肪細胞で産生されるアディポネクチンをはじめ多くの肥満関連血管作動物質の動脈硬化に対する影響が注目されている。本態性高血圧患者では正常血圧者に比し血漿アディポネクチン濃度は有意に低値であった。また、血漿アディポネクチン濃度は血漿 NO 代謝産物濃度と有意に相関した。さらに血漿アディポネクチン濃度と赤血球膜の order parameter (S) 値は有意に

負の相関を示した。この成績は血漿アディポネクチン濃度が低いほど赤血球膜 fluidity は低下することを表し、アディポネクチンは NO を介して高血圧の細胞膜機能調節に深く関与する可能性が示唆される。対照的に、血漿レジスチン濃度や visfatin 濃度は血漿 NO 代謝産物濃度と有意に逆相関した。さらに血漿レジスチン濃度や visfatin 濃度が高いほど赤血球膜 fluidity は低下していることが示された。

一方、ホモシステインは高血圧やメタボリックシンドロームで増加し、血管障害の促進因子と考えられている。最近、ホモシステインの血管内皮への作用が注目され、ホモシステインが NO 産生を抑制することが報告されている。我々の成績でも血漿ホモシステイン濃度は血漿 NO 代謝産物濃度と逆相関した。さらに血漿ホモシステイン濃度と赤血球膜の order parameter (S) 値は有意な正の相関を示した。この成績は血漿ホモシステイン濃度が高いほど赤血球膜 fluidity は低下することを示している。また、酸化ストレスの指標である血漿 8-iso-prostaglandin F2 α (8-iso-PGF2 α) や炎症の程度を示す high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) の濃度は高血圧や肥満、ならびに動脈硬化性病変で増加することが知られている。そして酸化ストレスや炎症の増大は赤血球膜の order parameter (S) 値と有意な正の相関を示し、血漿 NO 代謝産物濃度と逆相関した。以上より、肥満関連血管作動物質や酸化ストレス、炎症が一部内皮機能不全を介して高血圧の細胞膜機能異常に関与する可能性が示唆される。

5) 高血圧の腰椎骨塩含量の変化について

本態性高血圧患者ならびに正常血圧者の腰椎骨塩含量 (bone mineral density: BMD) を dual energy X-ray absorptiometry (DXA) 法にて測定した。DXA 法で測定した腰椎骨塩含量 (BMD) は年齢と共に減少した。また、高齢女性高血圧患者で年齢を一致させた女性正常血圧対照群に比し、腰椎骨塩含量 (BMD) が有意に低下していた。一方、男性高血圧患者では正常血圧者に比し、腰椎骨塩含量 (BMD) に有意な変化はみられなかった。さらに腰椎骨塩含量 (BMD) と血圧値との関連を検討してみると、女性対象者において骨塩含量と収縮期血圧値の間には有意な負の相関がみられた。この成績は、特に高齢女性において高血圧が骨粗鬆症の病態に深く関与している可能性を示唆するものと考えられる。

(総括と結語)

本研究では細胞膜異常として赤血球膜 fluidity の調節メカニズムと高齢者高血圧を中心とした生活習慣関連疾患における動脈硬化との関連を中心に検討した。本態性高血圧患者の赤血球膜 fluidity は正常血圧群に比し有意に低下し、動脈硬化の指標と有意に相関した。また、内皮機能との関連では血漿 NO 代謝産物濃度が低いほど、また血漿 ADMA 濃度が高いほど赤血球膜 fluidity は低下した。赤血球膜 fluidity の低下の要因として内皮機能不全や酸化ストレス、慢性炎症が基盤にあると考えられるが、今後さらに内分泌因子の関与も含め、細胞膜機能異常とその調節メカニズムについて詳細な検討が必要である。

一方、加齢とともに腰椎骨塩含量 (BMD) は低下するが、特に高齢女性高血圧患者では正常血圧対照群に比し腰椎骨塩含量が有意に低下していた。また、女性対象者において骨塩含量と収縮期血圧値の間には有意な負の相関が認められた。これらの成績から、メタボリックシンドロームの構成因子である高血圧が骨代謝動態に重要な役割を果たし、動脈硬化における血管の石灰化、骨から血管への Ca-shift theory、ならびに骨血管相関のメカニズムに一部関与する可能性が示唆された。

この様に心血管系をはじめ、血球成分や骨組織をも含む広範な組織に存在すると考えられる高血圧やメタボリックシンドロームの細胞膜異常と情報伝達系の変化を細胞レベルから解析し、そ

の調節メカニズムを検討することは新しい試みであり、高齢者生活習慣病ならびに骨代謝異常の成因の解明や病態の理解のみならず、治療効果の判定や合併症を予防する上で有意義であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 32
2. 論文標題 Angiotensin 1-7 and the sympathetic nervous system in hypertensive kidney disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 e3-e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpz114.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 32
2. 論文標題 Carotid flow velocities and endothelial function in cognitive ability of hypertension.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 e8-e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpz032.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 50
2. 論文標題 Letter by Tsuda regarding article, High-sensitivity CRP (C-reactive protein) is associated with incident carotid artery plaque in Chinese aged adults.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Stroke	6. 最初と最後の頁 e323-e323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/STROKEAHA.119.027028.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 43
2. 論文標題 Red blood cell abnormalities and hypertension.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 72-73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-019-0353-0.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 141
2. 論文標題 Letter by Tsuda regarding article, Effect of empagliflozin on left ventricular mass in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease: The EMPA-HEART CardioLink-6 Randomized Clinical Trial'.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 e100-e101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044977.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 31
2. 論文標題 Association among sodium intake, endothelial dysfunction, and endothelial damage biomarkers in hypertension.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 e8-e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpy141	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 31
2. 論文標題 Associations among total homocysteine levels, circadian blood pressure variation, and endothelial function in hypertension.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 e1-e2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpy002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 49
2. 論文標題 Letter by Tsuda regarding article, Oxidative stress biomarkers of brain damages: hyperacute plasma F2-isoprostane predicts infarct growth in stroke.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stroke	6. 最初と最後の頁 e263-e263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/STROKEAHA.118.021400	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 137
2. 論文標題 Letter by Tsuda regarding article, A novel alpha-calcitonin gene-related peptide analogue protects against end-organ damage in experimental hypertension, cardiac hypertrophy, and heart failure.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 1198-1199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030714	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 30
2. 論文標題 Underlying mechanism for reduced left ventricular mass by physical activity in obese and hypertensive subjects.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 American Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 e12-e12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpx106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 30
2. 論文標題 Oxidative stress participates in the associations between serum uric acid and albuminuria in the obesity.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 American Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 e1-e1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpw162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 135
2. 論文標題 Letter by Tsuda regarding article, Prediabetes and type 2 diabetes are associated with generalized microvascular dysfunction.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Circulation	6. 最初と最後の頁 e858-e859
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.026309	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 48
2. 論文標題 Letter by Tsuda regarding article, Association of vegetable nitrate intake with carotid atherosclerosis and ischemic cerebrovascular disease in older women.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Stroke	6. 最初と最後の頁 e304-e304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/STROKEAHA.117.018571	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kazushi Tsuda	4. 巻 48
2. 論文標題 Letter by Tsuda regarding article, Combined effects of inflammatory status and carotid atherosclerosis: A 12-year follow-up study.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Stroke	6. 最初と最後の頁 e93-e93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/STROKEAHA.116.016381	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 津田 和志
2. 発表標題 Left ventricular hypertrophy is closely associated with endothelial dysfunction and membrane fluidity of red blood cells in hypertension: an ESR study.
3. 学会等名 第42回日本高血圧学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazushi Tsuda
2. 発表標題 Carotid artery atherosclerosis is closely associated with reduced membrane fluidity of red blood cells in normotensive and hypertensive subjects: an electron spin resonance (ESR) study.
3. 学会等名 Pulse of Asia 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazushi Tsuda
2. 発表標題 Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) is associated with impaired membrane fluidity of red blood cells in hypertensive subjects: In relation to endothelial dysfunction.
3. 学会等名 The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazushi Tsuda
2. 発表標題 Tumor necrosis factor alpha predicts impaired membrane microviscosity of red blood cells and microcirculatory dysfunction in hypertensive subjects via an asymmetric dimethylarginine-dependent mechanism.
3. 学会等名 The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 津田 和志
2. 発表標題 Galectin-3 predicts impaired membrane microviscosity of red blood cells and microcirculatory dysfunction in hypertensive subjects by a nitric oxide-dependent mechanism.
3. 学会等名 第83回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazushi Tsuda
2. 発表標題 MCP-1 and TNF-alpha have a close correlation with membrane fluidity of red blood cells in hypertension via asymmetric dimethylarginine-dependent mechanism.
3. 学会等名 第40回日本高血圧学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kazushi Tsuda
2. 発表標題 Adipsin predicts membrane microviscosity of red blood cells and microcirculatory dysfunction in hypertensive subjects by a nitric oxide-dependent mechanism.
3. 学会等名 第82回日本循環器学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----