

## エタノール投与が血圧に及ぼす影響とADH活性及び レニン活性の変動

林 あつみ, 小林 愛, 木元 幸一

(平成7年10月12日受理)

### Effect of Ethanol Injection on Blood Pressure, ADH Activity and Renin Activity.

Atsumi HAYASHI, Ai KOBAYASHI and Koichi KIMOTO

(Received October 12, 1995)

#### 緒 言

血圧は心臓から押し出された血液が血管内を流れ全身を回ってまた心臓に戻ってくる過程で決められる。血圧を維持する上で基本となるものは血管の緊張性である。血圧の調節系には2つあり、主に腎臓に作用するホルモンにより長期的に全身の血液量を調節する事によって血圧を一定に保つ調節系と、心臓と血管に作用する自律神経により短期的に心臓と血管の働きを調節する事によって血圧調節する系とがある。

その中でもレニン・アンギオテンシン系は、血圧と、それに伴い体内の水分量・電解質のバランスを調節している大変重要な調節系である。レニンは、腎臓の糸球体の入口付近の動脈に存在している細胞(傍糸球体細胞)から、血圧の低下および循環血液量の減少・血漿中の $\text{Na}^+$ や $\text{Cl}^-$ 濃度の低下・腎臓支配の交感神経興奮等の刺激に応じて、血液中に分泌されるタンパク質分解酵素である。各々、糸球体から分泌されたレニンは左右の腎静脈に集まって全身循環に入る。このレニンは、肝臓で合成されて血液中に存在しているアンギオテンシノーゲンに働いてアンギオテンシンI(AI)をつくる。アンギオテンシンIには生理的作用はないが、1回の肺循環の間に大部分のものはアンギオテンシンI変換酵素(ACE)により生理的作用をもったアンギオテンシンIIに変わる。アンギオテンシンII(AII)の生理的作用により、結果として血圧を上昇させることになる。しかし、腎臓からレニンの分泌が高まった後、アンギオテンシンIIの作用により血圧が上昇すると、レニンの分泌は抑え

られる。また、アンギオテンシンIIは副腎皮質からのアルドステロン分泌を刺激し、その作用で体内にナトリウムと水が蓄積され高血圧を招くとレニンの分泌を抑えるように働く。レニン・アンギオテンシン系は、ホメオスタシスを維持するために微妙な調節系の中に組み込まれている。このようなフィードバックシステムが何らかの原因でどちらかに片寄るとアンギオテンシンIIが高まり、高血圧になる<sup>1)</sup>。

一方、アルコール摂取は血圧に影響を与えられている。アルコールを摂取すると急性期においては血管を拡張させ血圧は低下する。心・血管系の疾病において軽度になると適度な飲酒は許可される。健常者には、適度な飲酒は心・血管系に好ましいとする学者もいる。一方、慢性摂取になると血圧はむしろ上昇し、高血圧の一因となる事がわかってきた<sup>2)</sup>。そこで今回、高血圧自然発症ラット(SHR)を用いて血圧と、血圧調節にとって重要なレニン分泌に及ぼすエタノール投与の影響、さらに肝臓のアルコール脱水素酵素(ADH)活性の変動を検討したので報告する。

#### 実験方法

##### 1. 実験材料

5週齢雄性の高血圧自然発症ラット(SHR)を東京実験動物(株)より購入した。飼料((株)日本医科学動物資材研究所)・飲料水(水道水)は自由摂取させ、8週齢で採血、9週齢でエタノール3~5g/kg weightを腹腔投与し、その後採血した。6日間飼育後、エーテル麻酔下心臓より採血し、肝臓を摘出した。採血した血液は遠心分離(3,000rpm, 10min, 4℃)して血漿を

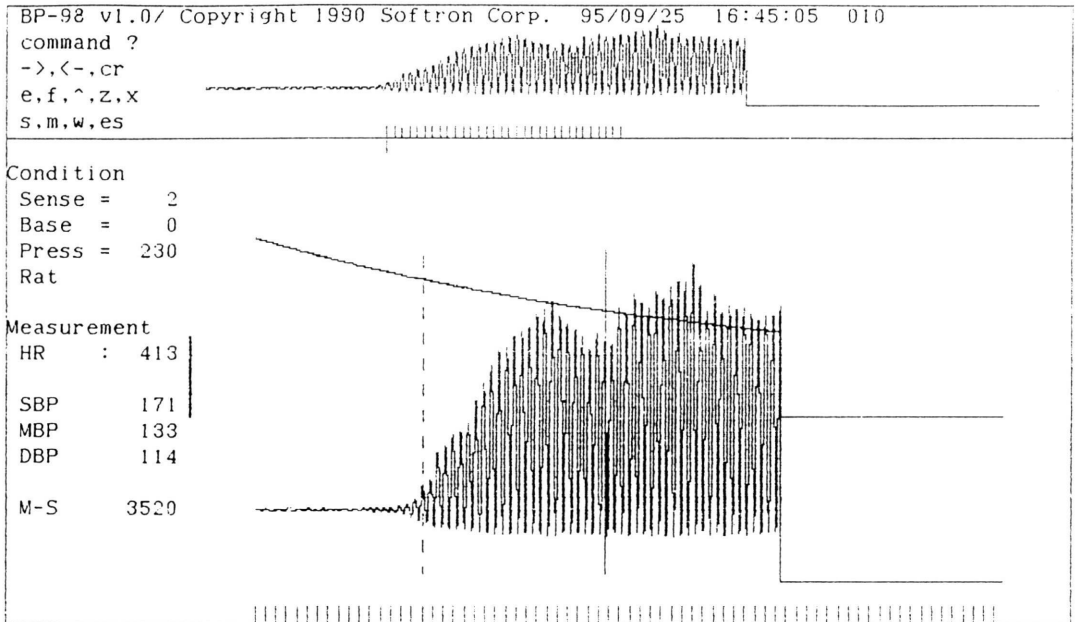


Fig.1 Sphygmogram monitor.



Photo.1 Measurement of Blood pressure by Softron BP-98A.



Photo.2 Sleep drunkenness after injection of ethanol.

得た。

## 2. 血圧測定

Softron非観血式自動血圧測定装置BP-98A ((株)ソフtron)を用いて行った。

## 3. 血漿レニン活性測定

レニン基質であるアンギオテンシノーゲンとレニン及び希釈した血漿Sampleを加えて37℃で2時間反応させ、A I generation assayを行った。A I generation assayにより生成したA Iを、鈴木ら<sup>3)</sup>によるマイクロプレートを用いたELISA法により測定した。A I抗体を含む血清をマイクロプレートに固定化し、反応終了したA I generation assayを適当に希釈し、標識A Iとcompetition coagulationを行った。別に市販のA Iを希釈して検量線を求め、それぞれに標識A Iを加えて反応させ、RIA mateによる検量線よりSampleのA I量を求めた。血漿1 ml中のレニンが1時間に生成するA I重量をレニン活性として表した。

## 4. 肝ADH粗酵素液の調製

肝臓を5倍量の5 mMトリス塩酸緩衝液 (pH7.5,

0.5mM NAD及び0.25M蔗糖を含む) 中でホモジナイザーを用いて粉碎し, 100,000×g 60分の遠心分離により上清を得, 酵素液とした。抽出操作は水中又は4℃下で行った。

#### 5. ADH活性測定法<sup>4)</sup>

酵素反応は, 1mM NADを含む0.1Mグリシンナトリウム緩衝液(pH10.7)に酵素液を加え, 基質として15mMエタノール又は5mMヘキセノールを添加し, NADHの産生速度を分光光度計(波長340nm)で測定した。酵素の活性単位は1  $\mu\text{mol}$  NADH/minを1 unitとした。

#### 6. 蛋白量測定法

蛋白量の測定は, Bio-RAD Protein assay法により行った。希釈したSample 20  $\mu\text{l}$ に1/5希釈したDye Reagent Concentrate 1mlを加え, 室温で5分以上放置後, 595nmの吸光度を測定した。牛血清アルブミン(BSA)による検量線よりprotein濃度を求めた。

### 結果及び考察

#### 1. 血圧に及ぼすエタノール投与の影響

エタノール投与前後の中間血圧の変動をFig. 2に示した。マウスの報告<sup>5)</sup>をもとに投与量を体重kg当りで比較し, マウスにおいては投与後睡眠に入り, 耐アルコールの程度により目覚める時間が変わる量のアルコールを投与しようとした。体重に対してエタノールをAは4 g/kg, Bは3 g/kg投与した。いずれもエタノールの投与後, 2時間の間に血圧は急激に低下している。Aは, 6日後完全に回復し投与時の血圧よりも高くなり投与前と同じになったが, Bについては, 投与量が少ないにもかかわらず完全に回復せず5日後に死亡してしまった。個体差が大きかったようである。一般に体重当りで投与するとマウスよりもエタノールの影響を受けやすいようである。

#### 2. レニン活性に及ぼすエタノール投与の影響

レニン活性の測定結果をTable 1に示す。エタノール投与前に比べて投与後, Aは2倍, Bについては4倍以上の高値を示した。これは, レニン・アンギオテンシン系が, エタノールによる急激な血圧降下に対し, 血圧

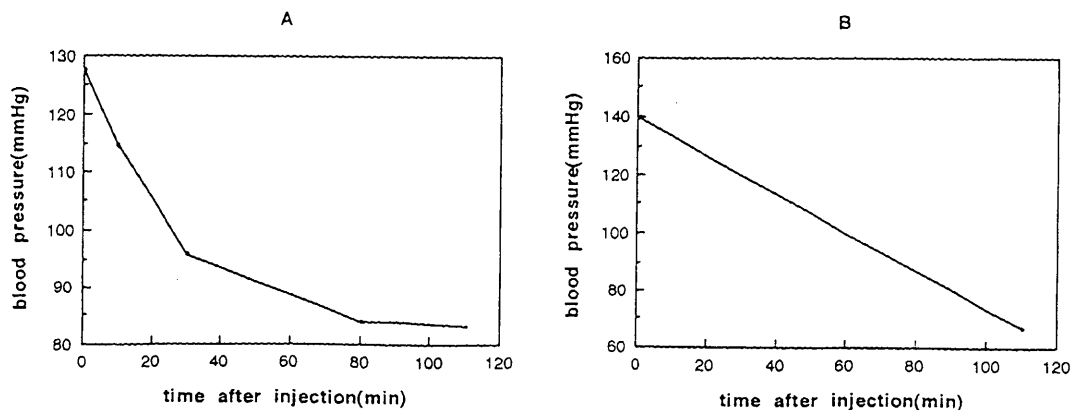


Fig. 2 Effect of ethanol injection on Blood pressure.

After injection of ethanol to Spontaneously Hypertensive Rats(SHR). 9 weeks of ages. Blood pressure was measured by using Softron BP-98A. SHR A was injectioned 4g/kg weight ethanol and SHR B was injectioned 3g/kg weight ethanol.

Table 1 Effect of ethanol injection on Renin activity.

	Renin activity(ngAI/ml/hr)	
	before injection	after injection
A	65.4	138.6
B	87.6	361.2

Renin activities was measured by the ELISA method of Suzuki et al.

Renin activity of plasma was measured after injection of ethanol.

A: SHR A in Fig.2

B: SHR B in Fig.2

を上昇させ回復させようとする、生体の一種の補償反応として働いているためと推定される。この結果を人間に置き換えると、急激・過剰な飲酒は一時的には血圧降下を表す。それに伴いレニン活性が異常な高値になることにより昇圧物質AⅡの急激な増加を招く事になる。AⅡには、血圧上昇のための血管収縮や様々な機能があり、これはまさにホメオスタシスの乱れに呼応しているのであるが同時に大変危険な状態を誘発すると考えられる。つまり一気飲み・過飲は避けた方が良いということになる。なお、投与後回復したAについて6日後解剖時のレニン活性を測定したところ、投与直後に比べてレニン活性は低下していた。

アルコールと高血圧の関係については1970年代から多くの報告があり、飲酒量の多いほど血圧平均値が高く、大量飲酒者では脳出血の頻度が高いと言われている<sup>6)</sup>。また、最近では長期間の飲酒により血圧が上昇し、高血圧の原因となることがわかってきた。さらに、多量飲酒者では節酒により比較的短期間に血圧が低下することが実証されている<sup>7)</sup>。

### 3. エタノール投与量の違いによる肝ADH活性の変動

エタノールの投与量の違いによる肝臓のADH活性への影響を検討した結果をFig. 3に示した。0 g/kg投与はエタノール投与していないSHR 2匹の平均をとったものである。4 g/kg投与はFig. 2, Table 1のAラット、5 g/kgはエタノール投与後数分で死亡したラットの肝ADH活性である。明らかに4 g/kg投与のラットのADH活性が高く、特にエタノールを基質とした場合に高くなっている。これは、エタノール投与し

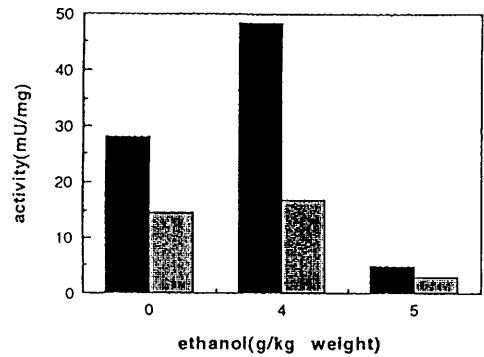


Fig. 3. Effect of the injection of ethanol on liver ADH activities.

Liver ADH activities were measured after injection of 0g/kg weight, 4g/kg weight and 5g/kg weight ethanol.

Livers were homogenized individually in 5 vol(w/v) of extraction buffer (5mM Tris-HCl, pH 7.5, containing 0.5mM NAD, 0.25M sucrose) and centrifuged at 100,000xg for 1 h to obtain liver extracts. ADH activity of the liver extracts were assayed at 37 °C in 0.1M glycine-Na<sub>2</sub> buffer (pH 10.7) containing 1mM NAD and 15mM ethanol or 5mM hexenol by measuring the rate of NADH production at 340nm. Enzyme units were determined as 4E/min. One unit of activity equals to 1 μmol of NADH produced per min.

■ : ethanol (15mM)

▨ : hexenol (5mM)

たために上がったのか、あるいはこの個体がもともと活性が高かったのか断定することはできないが、エタノールを基質とした時の活性が大幅に増加したことより、また、ラットに慢性エタノール投与を行うと、肝ADH活性は雌では低下し雄では増加するという報告<sup>7)</sup>もあり、エタノール投与の影響によるものと推定される。逆に、5 g/kg投与のラットでは極端にADH活性が低下した。投与後、死亡した影響も考慮に入れなければならないが、マウスを用いた実験では、低濃度エタノール (1 g/kg) 投与後、初期 (0.5~2 時間) にADH活性は上昇し、中濃度 (3 g/kg) 投与後、中期 (4~8 時間) で及び高濃度 (5 g/kg) 投与では初期から中期で低下することが明らかにされている<sup>8)</sup>。この事より、ラットにおいても高濃度投与により活性が低下したと考えられる。また1 g/kg, 3 g/kg, 5 g/kgという投与量を人間の飲酒量に換算してみると、体重60kgの人が日本酒2.6合、7.9合及び1升5合を一気に飲んだ事になる。人間の場合、2.6合飲むと血中アルコール濃度は約20mMになり、脈拍・呼吸やや促進、情緒不安定、多弁

になる程度であるが、7合以上という量では血中アルコール濃度が70mM以上にもなり、致死量に相当する。体重が少ない動物種ほどアルコールの代謝速度は速いという報告<sup>8)</sup>もあり、マウスやラットの結果がそのまま人間には当てはまらないが、人間の場合血中アルコール濃度が10mMに相当する清酒1合、ビール大ビン1本及びウイスキーシングル2杯前後が健康飲酒の指標と考えられる。

今後さらに、投与エタノール濃度を細かく変え、個体数を増やし、検討結果によりエタノール摂取による人体への影響を調べたい。

### 要 約

血圧・レニン活性及び肝ADH活性に及ぼすエタノール投与の影響を検討した。

- 1) エタノール3～4 g/kg weight投与後、2時間の間に急激に血圧は低下した。
- 2) 血漿中のレニン活性は、下がった血圧を元の状態に戻すため、2倍以上の高値を示した。
- 3) 肝ADH活性は、中濃度エタノール投与により上昇し高濃度の投与では低下した。

### 謝 辞

本研究を行うにあたり、ご指導いただきました日本医科大学法医学教室長谷場健先生に心より深く感謝致します。

す。また、実験にご協力いただきました、平成6年度本学栄養学科栄養学専攻理科コース卒業の谷中希実子さんに御礼申し上げます。

この研究の一部は、本学特別研究費の使用において行われたものであり、関係各位に深謝する。

### 参考文献

- 1) 日和田邦男：からだの科学，66 (1993)
- 2) 上島弘嗣：からだの科学，40 (1993)
- 3) F.SUZUKI, S.YAMASHITA, A. TAKAHASHI, M.ITO, S.MIYAZAKI, Y.NAGATA. and Y.NAKAMURA : *Clin. and Exper. A* 12, 83 (1990)
- 4) T.HASEBA : *Jpn. Alcohol & Drug Dependence* 20, 333 (1985)
- 5) 岡崎紀子，塚田敏子：東京家政大学卒業論文 (1985)
- 6) 小出直：医学のあゆみ，154 : 939 (1990)
- 7) M.YAMAUCHI, J.HIRAKAWA, K.KIMURA, et al. : *Acta Hepatol Jap.*, 30, 643 (1989)
- 8) L.VIDELA, K.V.FLATTERY, E.A.SELLERS and Y.ISRAEL : *J.Pharmacol. Exp.Ther.*, 192, 575 (1975)