

9437 蛋白摂取量とナトリウム代謝の関連に関する研究

助成研究者：菱田 明 (浜松医科大学 医学部)

共同研究者：大石 和久 (浜松医科大学 医学部)

遅 継明 (浜松医科大学 医学部)

渋谷 祐子 (浜松医科大学 医学部)

山本 龍夫 (浜松医科大学 医学部)

(目的) 食塩含有量を同一にした高蛋白食と低蛋白食を負荷した場合、高蛋白食摂取後には、低蛋白食摂取後に比し、尿中ナトリウム(Na)排泄量が有意に増加する。この高蛋白食摂取後の尿中Na排泄増加の一部は糸球体濾過値の増加によると考えられる。一方、高蛋白食を長期間摂取した場合、糸球体濾過値は高いまま維持されるにもかかわらず、尿中Na排泄量は低蛋白食摂取下と同じになる。糸球体濾過値が増加しているにもかかわらずNa排泄量が同じとなるには尿細管でのNa再吸収が高蛋白食で増加している必要がある。今回の研究では、長期間の低、正、高蛋白食摂取が腎でのNa排泄を変化させる機序について検討した。

(方法) 雄Sprague-Dawleyラットを用いて実験を行った。リン以外の電解質組成とカロリーを同じにした低蛋白食(LP:蛋白含量6%)、正蛋白食(NP:蛋白含量23%)、高蛋白食(HP:蛋白含量40%)をそれぞれ1日15gをラットに摂取させた。12週後に、血圧測定、尿採取、腎摘を行った。

(結果) 体重、血圧は3群間で有意差はなかった。左右腎重量は蛋白摂取量に比例して有意に増加した。血清Na、K、Cl値及び尿中Na、K、Cl排泄量は3群間で有意差はなかった。尿中尿素窒素排泄量は蛋白摂取量に比例して有意に増加した。クレアチニンクリアランスはLP群に比べHP群で有意に高値であった。血漿レニン活性は3群間で有意差はなかったが、血中アルドステロン値はLP群に比べHP群で有意に高値であった。腎皮質内レニン含量はLP群に比しHP群で有意に低値であった。

高蛋白食摂取による糸球濾過値増加に伴って糸球体を濾過されるNa量は増加するが、上昇したアルドステロンにより尿細管で再吸収されるNa量は増加するため、結果として、Na排泄量は低蛋白食摂取と同じになると考えられる。高蛋白食下ではレニン分泌が増加するため腎内レニン含量が減少している可能性がある。

9437 蛋白摂取量とナトリウム代謝の関連に関する研究

助成研究者：菱田 明 (浜松医科大学 医学部)

共同研究者：大石 和久 (浜松医科大学 医学部)

遅 継明 (浜松医科大学 医学部)

渋谷 祐子 (浜松医科大学 医学部)

山本 龍夫 (浜松医科大学 医学部)

1. 研究目的

食塩摂取量を同一にした高蛋白食と低蛋白食を急性に負荷した場合、高蛋白食摂取後には、低蛋白食摂取後に比し、尿中ナトリウム(Na)排泄量が有意に増加することが知られている。高蛋白食摂取は糸球体濾過値を増加させるため、この高蛋白食摂取後の尿中Na排泄量の増加の一部は糸球体濾過値の増加によると考えられる。一方、同量の食塩量を含む高蛋白食と低蛋白食を長期間摂取した場合、高蛋白食摂取下では糸球体濾過値は高いまま維持されるにもかかわらず、尿中Na排泄量は両食事摂取下で同じとなる。高蛋白食摂取により糸球体濾過値が増加しているにもかかわらずNa排泄量が低蛋白食摂取と同じとなるには尿細管でのNa再吸収が高蛋白食摂取下で増加していることが必要である。しかし、現在まで、蛋白摂取量が尿細管でのNa再吸収を変化させる機序についての検討はほとんど行われていない。

Na排泄に関与する因子としては、糸球体濾過値のほか、血圧、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系、心房性Na利尿ペプチドなどがあるが、このうち血圧と心房性Na利尿ペプチドは蛋白摂取量により影響されないことが報告されている。急性蛋白負荷及び短期間の高蛋白食摂取により血漿レニン活性は増加し、短期間の低蛋白食摂取下では血漿レニン活性は低下することが報告されている。しかし、長期間の高蛋白食及び低蛋白食摂取のレニン系への影響を検討した報告はない。また、同一条件下で、高蛋白食摂取、正常蛋白摂取、低蛋白食摂取のレニン系への効果を検討した報告もない。

そこで、今回の研究では、ラットに12週間にわたり高蛋白食、正蛋白食、低蛋白食を摂取させ、蛋白摂取量の差が血漿及び腎内レニン系に及ぼす影響を検討した。

2. 研究方法

雄Sprague-Dawleyラットを用いて実験を行った。ラットを搬入後、1週間は普通食で飼育し、その後、リン以外の電解質組成とカロリーを同じにした低蛋白食（LP：蛋白含量6%, N=9）、正蛋白食（NP：蛋白含量23%, N=6）、高蛋白食（HP：蛋白含量40%, N=9）のグループに分け、それぞれ1日15gをラットに12週間摂取させた。この間、摂取蛋白量を確認し、1週毎に体重を測定した。飲水は自由にさせた。12週後に、tail cuff法によりラットの収縮期血圧を測定し、メタボリックケージにて尿を採取した。ペントバルビタール麻酔（30mg/kg）直後に、ラットの腹部を正中切開し、両側腎を結紮摘出し、腹部大動脈より採血を行った。腎臓は摘出後、直ちに液体窒素に入れ、冷凍保存した。

クレアチニンは酵素法、電解質と尿素窒素は自動分析装置、アルドステロン及びレニン活性はRIA法で測定した。腎内レニン含量の測定には、両側腎摘出24-48時間後のラット血清を基質として使用した。腎皮質を4°Cでホモジナイズした後、腎摘ラット血清を添加し、RIA法でレニン活性を測定した。結果は、平均±標準誤差で表し、検定はANOVA、Benferroni検定を用いた。

3. 研究結果

各食事開始時の体重は、LP群 273±3 g、NP群 266±4 g、HP群 273±3 gと3群間に有意差はなかった。12週後の体重も、LP群 408±8 g、NP群 435±13 g、HP群 438±10 gと3群間で有意差はなかった。tail cuff法にて測定した収縮期血圧は、LP群 114±3 mmHg、NP群 107±2 mmHg、HP群 115±2 mmHgと3群間で有意差はなかった。

腎重量は、右腎、LP群 1.09±0.02 g、NP群 1.22±0.02 g、HP群 1.44±0.04 g、左腎、LP群 1.07±0.04 g、NP群 1.27±0.04 g、HP群 1.40±0.03 gと蛋白摂取量に比例して有意に増加した。

表1に示す如く、血清Na、K、Cl値は3群間で有意差はなかった。尿中Na、K、Cl排泄量も3群間で有意差はなかった。血液尿素窒素（BUN）はLP群に比べHP群で有意に高値であった。尿中尿素窒素排泄量は3群間で摂取蛋白量が増加するにつれ、有意に増加した。クレアチニンクリアランスは、LP群に比べHP群で有意に高値であった。

血漿レニン活性は、LP群 5.6±0.5、NP群 9.1±1.6、HP群 7.0±1.2 ngAI/ml/hと3群間で有意差はなかった（図1）。血清アルドステロン値は、LP群263±42、NP群518±111、HP群594±75 pg/mlとLP群に比べHP群で有意に高値であった（図2）。腎皮質内レニン含量は、LP群 406±40、NP群 303±55、HP群 212±19 ngAI/h/mgとLP群に比

べHP群で有意に低値であった(図1)。

		LP	NP	HP
s-Na	(mEq/l)	142±0.4	140±2.2	141±0.3
s-K	(mEq/l)	4.5±0.1	4.4±0.1	4.8±0.1
s-Cl	(mEq/l)	102±1	100±2	101±1
BUN	(mg/dl)	11±1	16±1	21±2***
u-Na	(mEq/day)	3.4±0.2	3.0±0.1	3.3±0.2
u-K	(mEq/day)	5.4±0.2	5.0±0.2	5.6±0.3
U-UN	(mg/day)	34±3	267±15***	560±28*****
Ccr	(ml/min)	0.9±0.1	1.4±0.2	1.7±0.2*

Table 1. Effect of low protein (LP), normal protein (NP) and high protein (HP) intake on serum electrolyte, blood urea nitrogen (BUN), urinary electrolyte excretion and urinary urea excretion (U-UN). *P<0.05 vs. LP. ***P<0.001 vs. LP. ****P<0.001 vs. NP.

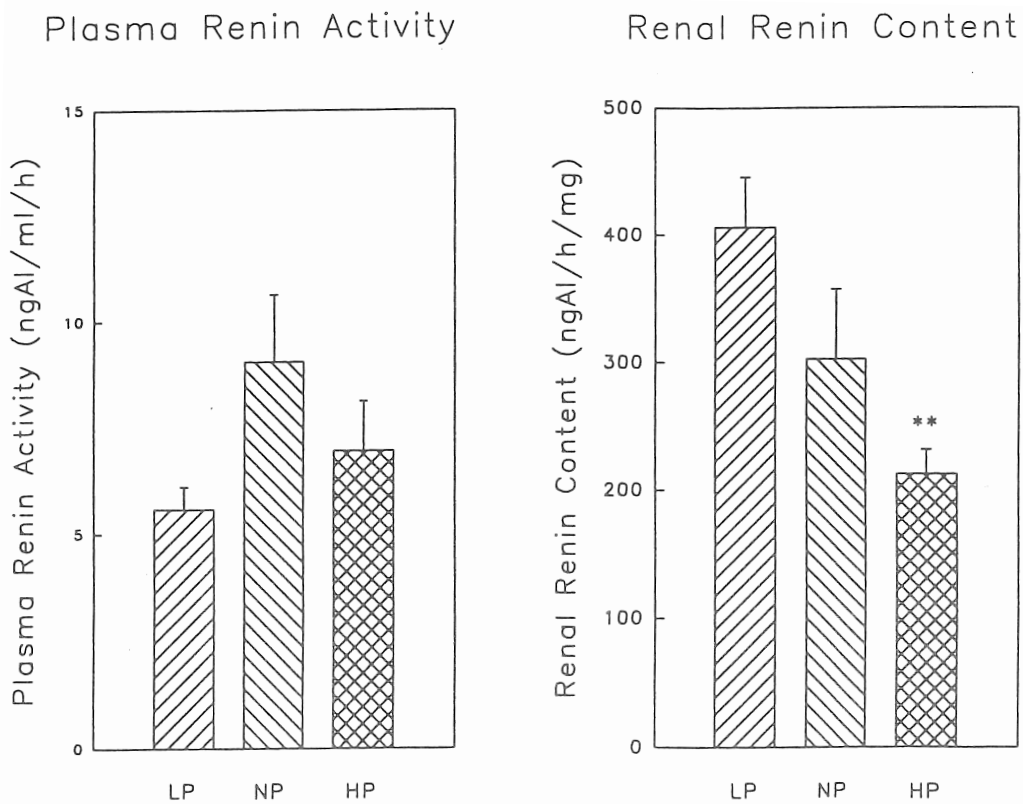


Fig. 1. Effect of low protein (LP), normal protein (NP) and high protein (HP) intake on plasma renin activity and renal renin content. **P<0.01 vs. LP.

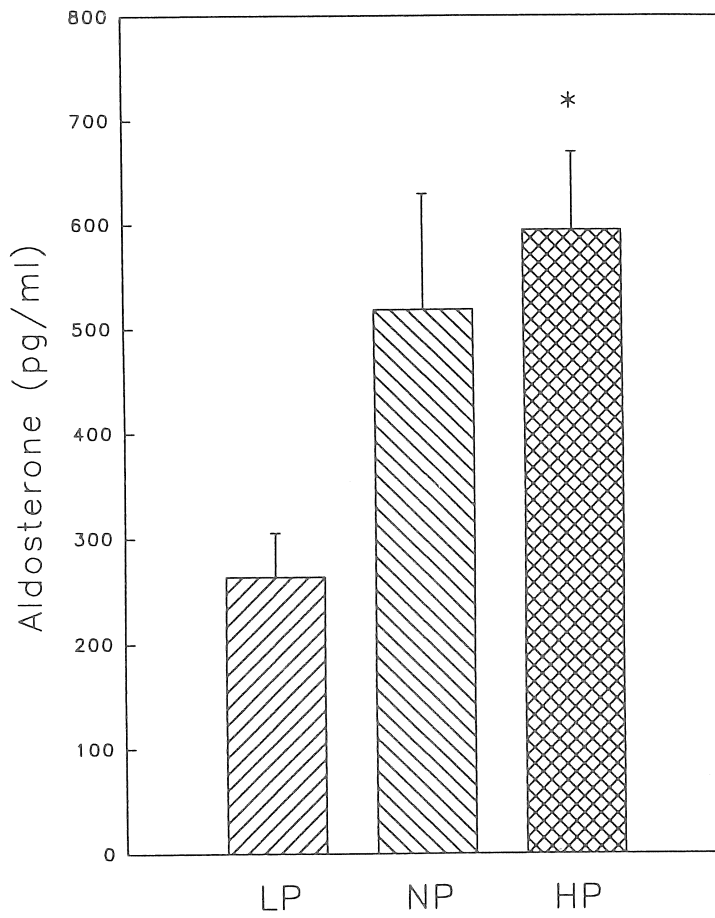


Fig. 2. Effect of low protein (LP), normal protein (NP) and high protein (HP) intake on serum aldosterone concentration. * $P < 0.05$ vs. LP.

4. 考察

従来多くの報告では、長期の低蛋白食下ではラットの食事摂取量が減少し、正及び高蛋白食摂取ラットに比べ体重増加が少なかった。しかし、今回の我々の実験条件下では、低蛋白食摂取群、正蛋白食摂取群、高蛋白食摂取群の3群間で体重に有意差はなかった。このことより、我々の用いた低蛋白食摂取ラットでは、食事摂取量の減少によるカロリー摂取不足やNa摂取量の低下の影響はなかったと考えられる。さらに、尿中NaCl排泄量に3群間で有意差がないことより、3群間で食塩摂取量に差がなかったと考えられる。また、尿中尿素窒素排泄量が摂取蛋白量の増加に比例して有意に増加したことより、予定した蛋白量摂取に有意差をつけ得たと考えられる。

tail cuff法にて測定した血圧は、3群間で有意差がなかったことより、摂取蛋白量の差が血圧に影響を与えたり、血圧の変化が腎のNa代謝に影響するとする可能性はないと考えられる。

Na含量を同じにした低蛋白食と高蛋白食を急性負荷または短期間摂取させた場合、低蛋白食に比べ高蛋白食摂取後に尿中Na排泄量が有意に増加すると報告されている。この高蛋白食摂取後のNa排泄増加の一部は糸球体濾過値の増加によると考えられている。一方、高蛋白食摂取後には血漿レニン活性が上昇するとする報告が多い。蛋白負荷後の糸球体濾過値の増加はtubuloglomerular feedback (TGF) mechanismの不活化によるとする研究報告もある。事実、TGFを不活化する種々の処置はレニン-アンジオテンシン系を活性化することが知られている。しかし、レニン系の活性化は腎によるNa再吸収を亢進させ、尿中Na排泄量を減少させる方向に働くので、高蛋白摂取後の血漿レニン活性の上昇はNa利尿を相殺する方向に作用していると考えられる。また、アンジオテンシン変換酵素阻害薬であるカプトプリル投与により蛋白負荷後のNa利尿が増強されるとする報告はこの可能性を支持している。現在のところ、急性蛋白負荷時の血漿レニン活性増加の生理的意義はほとんど検討されていない。

同量の食塩を含む低蛋白食と高蛋白食摂取を続けた場合、高蛋白食摂取下では糸球体濾過値は高いままに維持されるにもかかわらず、尿中Na排泄量が同じとなるには、尿細管でのNa再吸収が高蛋白食下で多くなっている必要がある。しかし、現在までのところ、蛋白摂取が尿細管でのNa再吸収を変化させる機序についての検討はほとんどされていない。

蛋白摂取量とレニン系の関係を検討した研究はいくつか報告されているが、長い観察でも3週間であり、それ以上の期間の報告はない。それらの報告では、低蛋白食では正蛋白食に比べて、1)血漿レニン活性の減少、2)腎内レニン含量の増加が認められるのに対し、高蛋白食では、1)血漿レニン活性の増加、2)腎内レニンmRNA量の増加が認められている。しかし、血漿レニン活性と腎内レニン含量が解離する理由は不明であり、また、低蛋白食、正蛋白食、高蛋白食の3群を同時に比較した報告はない。また、

高蛋白食で腎内レニン含量が変化するか否かについての報告はない。

我々の研究では、12週間の高蛋白食摂取下では低蛋白食摂取下に比べ、クレアチニンクリアランスと血清アルドステロン値は増加していた。高蛋白食摂取による糸球体濾過値増加に伴って糸球体を濾過されるNa量は増加するが、上昇したアルドステロンにより、尿細管で再吸収されるNa量は増加するため、結果として、Na排泄量は低蛋白食摂取と同じとなると考えられる。アンジオテンシンIIは尿細管でのNa再吸収を促進することが知られている。今回は、アンジオテンシンIIは測定しなかったが、高蛋白食下では血中アンジオテンシンIIも上昇しており、Naの再吸収に貢献している可能性がある。低蛋白食に比べ高蛋白食でアルドステロン値が上昇しているにもかかわらず、血漿レニン活性が高蛋白食で増加していない理由は不明である。麻酔により血漿レニン活性が増加すると報告されており、ひとつの可能性として、麻酔直後に採血したにもかかわらず麻酔が血漿レニン活性に影響している可能性がある。

低蛋白食下では、血清アルドステロン値は低下しているが腎内レニン含量は増加した。一方、高蛋白食下では、血清アルドステロン値は上昇したが腎内レニン含量は低下しており、アルドステロン値と腎内レニン含量は解離していた。この説明として、低蛋白食下ではレニン分泌が低下し、そのため、腎内レニン含量が増加し、高蛋白食下ではレニン分泌が増加するため腎内レニン含量が減少している可能性がある。これを証明するためには、腎内レニンmRNA量を測定し、低蛋白食により腎内レニンmRNA量が低下すること及び高蛋白食により腎内レニンmRNA量が増加することを確認しなければならない。

以上の結果をまとめると、

- 1) 長期間の摂取蛋白量の差が腎におけるNa代謝に与える影響を検討するため、Naとカロリー摂取量を同じにした12週間の低蛋白食、正蛋白食、高蛋白食摂取が血漿及び腎内レニンに及ぼす影響を検討した。
- 2) 血漿レニン活性は3群間で有意差はなかったが、血清アルドステロン値は低蛋白食群に比べ高蛋白食群で有意に高値であった。また、腎内レニン含量は、低蛋白食群に比べ高蛋白食群で有意に低値であった。

血漿レニン活性と腎内レニン含量の解離の理由は不明であるが、高蛋白食下において糸球体濾過値の上昇にもかかわらず、尿中Na排泄量が低蛋白食下と同じになる理由のひとつとして、高蛋白食下で活性化されたレニン系が腎でのNa再吸収を促進している可能性がある。

5. 今後の課題

高蛋白食下でレニン分泌が亢進していることにより腎内レニン含量が減少している

ことを証明するためには、腎内レニン産生の増加を確認しなければならない。また、低蛋白食下においてレニン分泌が低下していることにより腎内レニン含量が増加していることを証明するためには、腎内レニン産生の低下を確認しなければならない。そのためには、腎内レニンmRNA量の測定が必要となる。

Long-term effects of dietary protein intake on renin-angiotensin system and sodium balance.

Akira Hishida, Kazuhisa Ohishi, Chi Ji Ming, Yuko Shibuya and Tatsuo Yamamoto

First Department of Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

Summary

The effects of high and low protein diet on renin-angiotensin system and sodium balance were studied in 24 male Sprague-Dawley rats. Each rat was fed by 15 g/day of high (40%), normal (23%) or low (6%) protein diet for 12 weeks. High and low protein diets did not affect body weight, blood pressure and urinary excretion of sodium. Urinary excretion of urea nitrogen, kidney weight and 24 hr creatinine clearance were high in high protein diet rats and low in low protein diet animals. Plasma aldosterone concentration was lower in low protein diet when compared with high protein diet, though no significant difference was found in plasma renin activity in three groups. Renal renin content in high protein diet group was significantly lower than low protein diet rats. These results suggest that sodium balance in high protein diet might be maintained with the balance of high glomerular filtration and high tubular reabsorption rate. The high plasma aldosterone level and the low renal renin content might contribute to the sodium balance in high protein diet rat.