

## 血圧調節におけるカルシウムの対立する二つの役割

秋山佳代<sup>1</sup>、須藤伝悦<sup>2</sup>

筑波大学人間総合等教育研究支援室（医学系）

〒305-8575 茨城県つくば市天王台 1-1-1

### 概要

先に確立したメカニズムと分析技術を用いて実験し、血圧調節において、カルシウムは対立する二つの作用を持つことを明らかにした。一つは、広く知られている末梢の血管平滑筋を介した昇圧作用であり、二つ目は、中枢のカルシウム依存性ドーパミン合成系を介した降圧作用である。後者は、日常の高カルシウム食により高血圧症を予防する上で極めて重用なものである。

### 1. はじめに

カルシウムと血圧の関係は、分子生物学から臨床領域まで広く研究されてきた。多くの研究者は、血中カルシウムの増加が血管平滑筋を収縮し、摩擦を高める事により血圧が上昇する事を報告している。そのため、ある種のカルシウムブロッカー剤が高血圧症の治療薬として使用されている。一方、疫学調査や動物実験によって、カルシウムが血圧を低下させる事が示唆されており、血圧に対するカルシウムの相反する作用は、医学上の大きなテーマの一つになっていた。昇圧作用については基礎的メカニズムが解明されているが、降圧作用に関しては解明されていない。

先に開発した Brain Mapping Analyzer や行動学的、薬理学的、生化学的手法を用いて、日常の生活を通じて摂取されたカルシウムが、中枢のカルモジュリンを活性化し、タイロシン水酸化酵素（カテコラミン合成の律速酵素）を賦活化し、引き続きドーパミン（カテコラミンの一つで、神経伝達物質）の合成能を高める事を解明した<sup>1,4</sup>。このメカニズムを様々な疾病の発症機序解明に応用してきたが、その一環としてカルシウムの降圧作用を研究してきた。

### 2. カルシウムによる脳内ドーパミンの合成調節

はじめに、カルシウムによる脳内ドーパミンの合成調節のメカニズムに関して簡単に述べる。マウスの腹腔内にエタノールを投与すると、行動の上で睡眠状態に陥る。このエタノール誘発性の睡眠時間の長さは、脳内生体アミン（カテコラミンの他、セロトニン等も含む）の濃度によって調節されているが、カルシウムの脳室内投与によっても濃度依存的に増加する。この睡眠時間を延長するカルシウムの効果は、カテコラミンの合成酵素阻害剤やカルモジュリン拮抗剤によって抑えられる。この結果から、カルシウムがカルモジュリン系を介してカテコラ

ミンの合成酵素を賦活化し、濃度の高くなったカテコラミンが睡眠時間を延長させたと示唆される<sup>1</sup>。この実験を基に、高速液体クロマトグラフィーによって、脳内のカテコラミン濃度に対するカルシウムの効果を分析した。その結果、カルシウムの投与によって大脳全体で約 25%のドーパミンの増加が確認された<sup>1</sup>。しかし、生化学的方法では、ドーパミンの合成がどの部位で高められたのか詳細な同定ができなかった。

この部位を明らかにするため、Brain Mapping Analyzer を開発した<sup>1</sup>。この装置は、落射蛍光顕微鏡のカメラマウントに高感度の光電子増倍管をセットし、光路にピンホールを挿入しているため、標本内の微小な一点から発せられる蛍光だけを選択して測光できる。さらに、顕微鏡の電動ステージがコンピュータで制御されており、二次元方向に 0.25 μm 以上のステップ幅で移動するため、標本全面を微細にスキャンすることができる。一度に小動物の脳切片全体を分析することが可能で、各領域の蛍光強度の分布を細胞レベルで定量できる。テレビカメラを用いた画像解析法や電気化学検出器を用いた高速液体クロマトグラフィー法と比べて、少なくとも 4 桁以上微細で正確な分析結果が得られる。しかも、脳切片上の非特異的な蛍光を完全に消去することも可能で、純粋な神経化学物質だけを選択して定量できる他、一枚の標本から複数の物質を個別に定量して、それらの分布を比較解析することも可能である<sup>4,5</sup>。

一枚のラットの脳切片をタイロシン水酸化酵素、カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II 及びカルモジュリンの抗体によって蛍光免疫組織化学的に三重染色し、Brain Mapping Analyzer を用いて 25 万領域に分割し、それぞれの物質の分布を定量的に分析した。線条体と側坐核には、三物質が共に高濃度で分布しており<sup>1</sup>、さらに、これらの部位でカルシウムがカルモジュリン依存系を介してドーパミンの合成系を調節している事を確認した<sup>1</sup>。

### 3. 中枢カルシウム依存性の降圧作用

中枢ドーパミンの増加は、血圧を低下させる事が知られている。カルシウムがドーパミンの合成を高める事より、レベルの高くなったドーパミンが血圧を下げる事が推察されるので確認した。

覚醒ラットの側脳室にカルシウムを投与すると、投与後 6 分から 1 時間以上に渡り血圧が有意に低下する。このカルシウムの降圧作用は、カルモジュリンの特異的な拮抗剤、カテコラミンの合成酵素阻害剤、神経節遮断薬或いはドーパミン D<sub>2</sub> レセプター阻害剤の何れかの投与によって抑制されるが、ド

<sup>1</sup> E-mail: akiyamak@md.tsukuba.ac.jp; Tel: 029-853-3330

<sup>2</sup> E-mail: dsutoo@md.tsukuba.ac.jp; Tel: 029-853-3113

ーパミン  $D_1$  レセプター阻害剤の投与によっては何の変化も見られない<sup>[6-8]</sup> (図1)。

この結果より、中枢のカルシウムは、カルモジュリン依存系を介してドーパミンの合成を高め、レベルの高くなったドーパミンが  $D_2$  レセプターを介して血圧調節中枢に作用し、交感神経系を抑制する事によって血圧を降下させると考えられる。

#### 4. 血中のカルシウムと血圧

脳室内に投与したカルシウムがドーパミンの作用を介して血圧を降下させる事を確認したが、末梢か

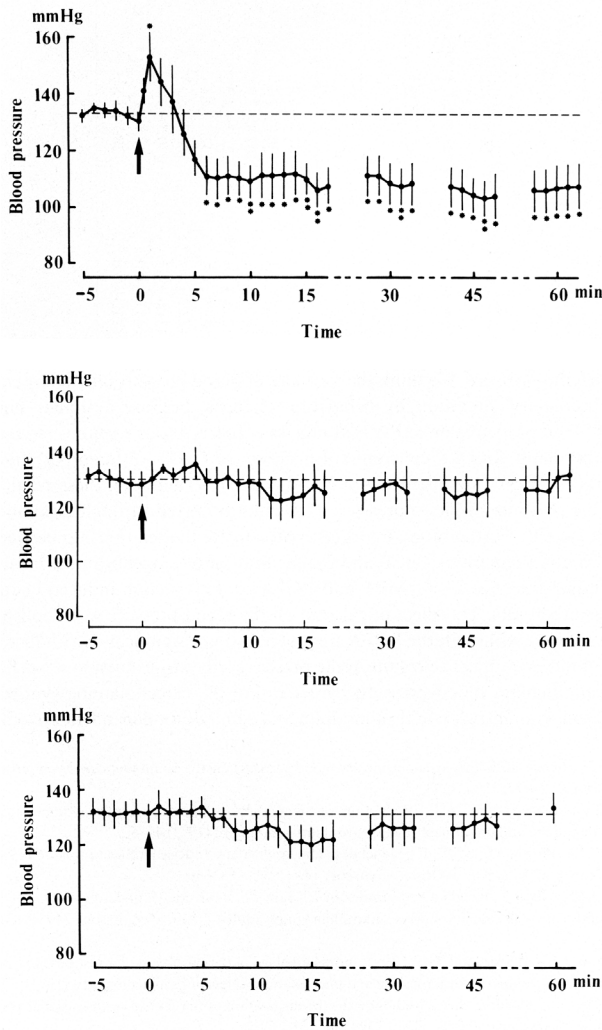


図1. 覚醒ラットの平均動脈圧に対するカルシウムの脳室内投与の効果

塩化カルシウム (30  $\mu\text{mol/kg}$ ) の側脳室への投与によって、一過性の昇圧反応と1時間以上に渡る持続した有意な降圧反応がみられる (上)。このカルシウムの効果は、カルモジュリン拮抗剤の同時投与 (中) や、タイロシン水酸化酵素阻害剤の前投与 (下) によって消失する。

↑: カルシウム投与点、\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ 、カルシウム投与前と比較 (Student's *t*-test)。 (Sutoo *et al.*, 1987)<sup>[6]</sup>

ら投与したカルシウムによっても同じ効果が得られるかを確認した。カルシウムを静脈内に投与すると、血管平滑筋を収縮し血圧が上昇するため、中枢での降圧反応を確認することができない。そこで、カルシウムブロッカー剤によって、血管平滑筋の収縮を抑制しながら中枢の降圧反応を観察した。

ラットの静脈内にカルシウムブロッカー剤を投与すると、一時的な血圧の降下が見られる。この効果は、カルシウムの静脈内前投与によって増加し、カルシウムの効果は、脳室内に前投与したカルシウムキレート剤によって抑制される (図2)。この結果より、血中のカルシウムの一部は直接血管に作用し血圧を高めるが、一部は脳内に移行し、ドーパミンの作用を介して血圧を降下させる事が示唆される<sup>[9]</sup>。前者は急性反応であり、後者は慢性的な反応である。

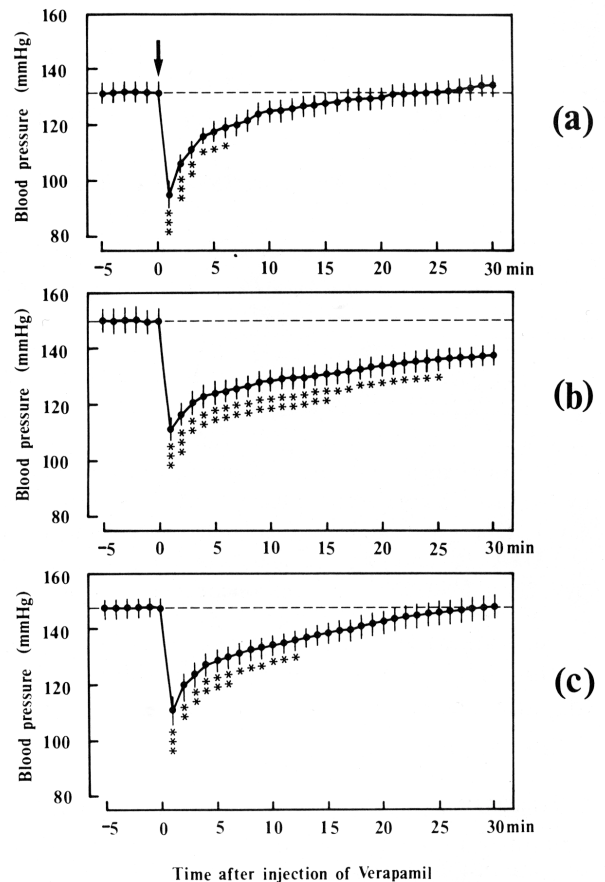


図2. 覚醒ラットの平均動脈圧に対するカルシウムブロッカー剤の静脈内投与の効果

上: カルシウムブロッカー剤 (Verapamil, 300  $\mu\text{g/kg}$ ) の静脈内投与によって、有意な降圧反応がみられる。

中: 一時間前に塩化カルシウム (300  $\mu\text{mol/kg}$ ) を静脈内投与したラットでは、カルシウムブロッカー剤による降圧反応が、約4倍持続する。

下: 5分前にカルシウムキレート剤を脳室内に投与すると、カルシウムの静脈内投与の効果は半減する。

↓: カルシウムブロッカー剤投与点、\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ 、カルシウムブロッカー剤投与前と比較 (Student's *t*-test)。 (Sutoo *et al.*, 1988)<sup>[9]</sup>

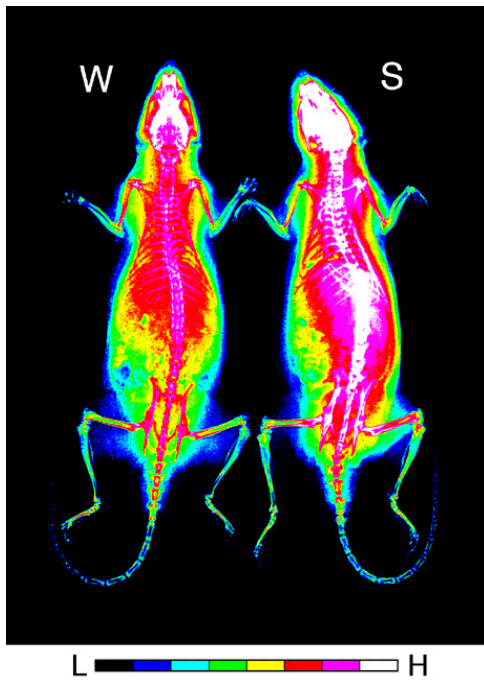


図3. SHR の 骨カルシウム分布

13 週齢の自然発症高血圧ラット(SHR)と母系のWKY を X 線撮影し、得られたフィルムを Brain Mapping Analyzer によって定量的に解析した。SHR は、WKY と比較して全身に渡って骨カルシウムレベルが高い。

(Sutoo *et al.*, 1993) <sup>[10]</sup>

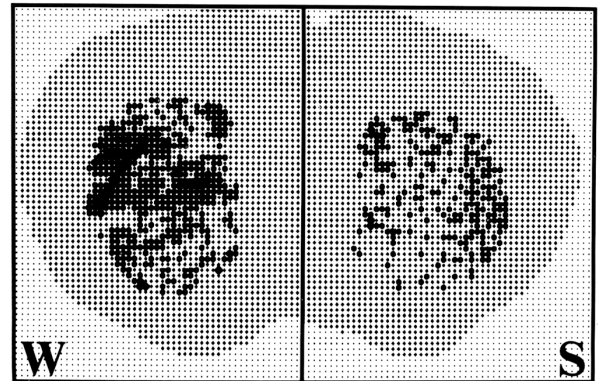


図4. SHR の 脳内ドーパミン分布

13 週齢の自然発症高血圧ラット(SHR)と母系のWKY を灌流固定し、脳切片をドーパミンに対する抗体によって免疫組織化学的に染色した。各切片を Brain Mapping Analyzer によって定量的に解析した。SHR の線条体と側坐核で有意なドーパミンの減少が確認される。

(Sutoo *et al.*, 1993) <sup>[10]</sup>

## 5. 高血圧症モデル動物の解析

高血圧症のモデル動物として広く知られている自然発症高血圧ラット(SHR)のカルシウム依存性ドーパミン合成系に関する種々の物質を分析した。

母系の健常ラット(WKY)に比べ、SHR は骨カルシウムレベルが有意に高く (図3)、逆に血清カルシウムレベルが低い。この事が、中枢へのカルシウムの供給を減少させ、脳内のカルモジュリン依存性ドーパミンの合成を低下させていると示唆される。実際、SHR の線条体と側坐核のドーパミンレベルは、WKY に比べ有意に低く (図4)、カルシウムの脳室内投与によって改善される。これが、SHR にみられる高血圧症の発症原因の一つと考えられる<sup>[10,11]</sup>。

表1. ラットの収縮期血圧に対するカルシウムの経口摂取の効果

Treatment		After administration (day)								
p.o.	i.c.v.	1	5	9	11	12	14	16	18	
Water	Saline	7.9±4.7	6.0±4.3	9.2±6.1	9.0±5.6	6.3±5.1	10.0±6.6	7.7±4.8	6.8±4.6	
Water	αMPT	-3.1±3.8	-5.1±4.1	-6.7±5.2	-5.7±5.0	-5.8±4.5	-4.4±4.4	-3.3±3.5	-5.1±4.4	
CaCl <sub>2</sub>	Saline	2.5±3.4	1.4±3.3	-19.7±5.1 <sup>b</sup>	-26.7±4.9 <sup>b</sup>	-29.6±4.2 <sup>b</sup>	-35.7±4.2 <sup>b</sup>	-44.9±4.0 <sup>b</sup>	-50.9±5.6 <sup>b</sup>	
CaCl <sub>2</sub>	αMPT	3.3±3.1	4.1±3.4	-4.8±4.6	-13.3±5.3 <sup>a</sup>	-25.8±6.4 <sup>b</sup>	-28.1±5.8 <sup>b</sup>	-31.0±5.1 <sup>bc</sup>	-30.1±5.4 <sup>bd</sup>	

飲料水として 1.5% 塩化カルシウム溶液を摂取させると、9日目から有意に血圧が降下する。カルシウムの効果は、タイロシン水酸化酵素阻害剤(αMPT)の脳室内投与によって抑制される。各血圧値は、投与前の血圧を差し引いた値を示している。<sup>a</sup>  $p < 0.05$ ; <sup>b</sup>  $p < 0.01$ 、water + 生理食塩水 (saline) 投与群と比較; <sup>c</sup>  $p < 0.05$ ; <sup>d</sup>  $p < 0.01$ 、CaCl<sub>2</sub>+ saline 投与群と比較 (Newman-Keuls *t*-test)。 (Sutoo *et al.*, 1990) <sup>[12]</sup>

## 6. 高カルシウム食による血圧調節

ラットに、慢性的に高カルシウム飲料水を与えると、9日目から有意に血圧が降下する。このカルシウムの効果は、カテコルアミンの合成酵素阻害剤の脳室内投与によって抑制される (表1)。さらに、

カルシウムの腹腔内投与によっても同様な降圧反応がみられる。この結果より、経口或いは腹腔内から慢性的に投与したカルシウムも、脳室内及び静脈内に投与した場合と同様に中枢ドーパミンの合成を高め、徐々に血圧を降下させることが示唆される<sup>[12]</sup>。

最近、各国で高カルシウム食によって高血圧症を予防・治療する試みが始まっている<sup>[7]</sup>。軽度の高血圧患者に高カルシウムを含有する菜食を与えると血圧が低下し、肉食を再開すると再び血圧が上昇することが報告されている。さらに、牛乳の摂取量と血圧には負の相関があり、毎日牛乳を摂取すると血圧が低下することが報告されている。

## 7. まとめ

血圧調節において、カルシウムは対立する二つの作用を持つ。一つは、末梢の血管平滑筋を介した昇

圧作用であり、もう一つは、中枢のカルシウム依存性ドーパミン合成系を介した降圧作用である。この降圧作用のメカニズムは以下のように考えられる。食事などによって血中カルシウムが少しずつ増加しても、血管を刺激する濃度ではないので収縮させない。増加した血中カルシウムの一部は脳内へ移行し、カルモジュリン依存系を介してドーパミンの合成を亢進する。レベルの高くなったドーパミンが  $D_2$  レセプターを介して血圧調節中枢に作用し、末梢の交感神経系を抑制して血圧を低下させる(図5)<sup>[7]</sup>。

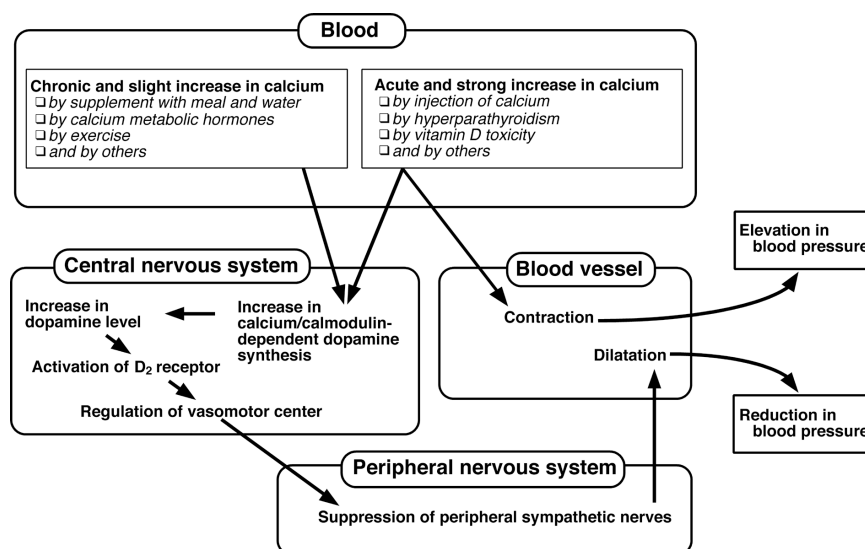


図5. カルシウムによる血圧調節のメカニズム (Sutoo et al., 1997)<sup>[7]</sup>

## 参考文献

- [1] D. Sutoo, K. Sano, Modulating effects of biogenic amines on calcium and ethanol-induced sleeping time, *Alcohol* 1 (1984) 141-144.
- [2] D. Sutoo, K. Akiyama, K. Iimura, Effect of calmodulin antagonists on calcium and ethanol-induced sleeping time in mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 23 (1985) 627-631.
- [3] D. Sutoo, K. Akiyama, M. Geffard, Central dopamine-synthesis regulation by the calcium-calmodulin-dependent system, *Brain Res. Bull.* 22 (1989) 565-569.
- [4] D. Sutoo, K. Akiyama, K. Yabe, Comparison analysis of distributions of tyrosine hydroxylase, calmodulin and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in a triple stained slice of rat brain, *Brain Res.* 933 (2002) 1-11.
- [5] D. Sutoo, K. Akiyama, K. Yabe, Quantitative mapping analyzer for determining the distribution of neurochemicals in the human brain, *J. Neurosci. Methods* 85 (1998) 161-173.
- [6] D. Sutoo, T. Matsukura, K. Akiyama, Effect of intraventricular administration of calcium and calmodulin antagonist on the blood pressure in the rat, *Neurosci. Lett.* 82 (1987) 297-302.
- [7] D. Sutoo, K. Akiyama, Regulation of blood pressure with calcium-dependent dopamine synthesizing system in the brain and its related phenomena, *Brain Res. Rev.* 25 (1997) 1-26.
- [8] D. Sutoo, K. Akiyama, Effect of dopamine receptor antagonists on the calcium-dependent central function that reduces blood pressure in spontaneously hypertensive rats, *Neurosci. Lett.* 269 (1999) 133-136.
- [9] D. Sutoo, T. Matsukura, K. Akiyama, The mechanism by which calcium reduces blood pressure, *Eur. J. Pharmacol.* 155 (1988) 189-192.
- [10] D. Sutoo, K. Akiyama, T. Matsukura, R. K. Nakamoto, Decrease of central dopamine level in the adult spontaneously hypertensive rats related to the calcium metabolism disorder, *Brain Res. Bull.* 30 (1993) 107-113.
- [11] K. Akiyama, D. Sutoo, Rectifying effect of exercise on hypertension in spontaneously hypertensive rats via a calcium-dependent dopamine synthesizing system in the brain, *Brain Res.* 823 (1999) 154-160.
- [12] D. Sutoo, T. Matsukura, K. Akiyama, Reduction of blood pressure with calcium supplementation, *Eur. J. Pharmacol.* 183 (1990) 1313-1314.