SHRSP の脳血管障害発症に及ぼす高血圧確立期 からの魚肉の影響

—血圧・脳卒中病変の改善および寿命の延長—

村上哲男*, 辻 章 夫*
山本和夫**, 岡本耕造***

* 近畿大学農学部食品栄養学科

** 近畿大学高血圧研究所

*** 近畿大学医学部第一病理学教室

Effects of a Fish Meal Diet Initiated at the Hypertensive Stage on the Development of Cerebrovascular Lesions in SHRSP

—Improvement of Blood Pressure and Cerebral Stroke Lesions,
and Prolongation of Life-span—

Tetsuo MURAKAMI,* Akio TSUJI,* Kazuo YAMAMOTO**
and Kozo OKAMOTO***

* Department of Food Science and Nutrition, Faculty of Agriculture,
Kinki University, Nara 631

** Research Institute of Hypertension, Kinki University, Osaka-sayama 589

*** The First Department of Pathology, Kinki University School of Medicine,
Osaka-sayama 589

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 45, 129~137 (1992)

From the hypertensive stage with blood pressure at 200 mmHg (8 weeks old) or 230 mmHg (10 weeks old), stroke-prone SHR (SHRSP) were fed a diet based on fish meal as a protein source, and the effect of this diet on blood pressure, cerebral stroke lesions and life-span were observed. The results were as follows: 1) Prevention of blood pressure elevation and reduction in the incidence of cerebral stroke lesions were more prominent when the fish meal diet was given from an earlier age, but these effects were also observed even when the diet was supplied from the hypertensive stage. On the other hand, in the group fed the fish meal diet starting from the time when blood pressure became higher than 230 mmHg, prevention of blood pressure elevation was not observed, but obvious prolongation of life-span occurred. 2) Inhibition of elevation of plasma renin activity (PRA) and suppression of the decrease in the elastic content of the aorta caused by hypertension were recognized in SHRSP fed the fish meal diet even from the hypertensive stage. These results suggest that administration of a fish meal diet to SHRSP at the hypertensive stage contributes to the suppression or therapy of hypertensive diseases.

Key Words SHRSP, fish meal, blood pressure, hypertensive stage, life-span, cerebral stroke lesion.

(Received September 27, 1991)

近年、脳卒中は死因においてがん、心疾患に1位の座を譲ったとはいえ、なお日本人の中では高頻度にみられる病気で、血管系疾患の中では依然として1位を維持している。高齢化社会を迎えつつある今日、日本人に

とって脳卒中は重要な成人病の一つである。若年期より発症する本態性高血圧は脳卒中のリスクファクターになっているが降圧剤による治療で血圧をコントロールすれば、その続発症である脳卒中は予防される。血圧は他の表現形質と同様、遺伝・環境の両因子によって規定されているので、環境因子、とくに栄養の改善は高血圧や脳卒

* 〒631 奈良市中町 3327-204

, 〒589 大阪狭山市大野東 337-2

中の予防に有益であると考えられる。ヒトの本態性高血圧および脳卒中の最良の疾患モデル動物である脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) が Okamoto ら¹⁾ により 1973 年に確立されて以来、予防・治療の研究も可能になり食餌性因子と高血圧や脳卒中発症との関係についての研究も可能になった。Okamoto ら^{2)~4)}、家森⁵⁾ は動・植物性のタンパク質について、著者ら^{6)~7)} は微生物タンパク質 (SCP) についての栄養実験を行い、幼若期から適当な栄養条件の管理を行えば血圧の上昇を緩和させ脳卒中の発症を予防できることを明らかにしている。一方、タンパク質以外の栄養成分について検討した研究もある。小川ら⁸⁾ は高脂肪食で SHRSP の重症高血圧の発症を抑制することや、Yamori ら^{9)~10)} は二、三の脂肪酸で脳卒中の発症抑制効果があると報告している。河村ら¹¹⁾ は SHR を使用して糖類について、三堀ら¹²⁾ は乳清ミネラルについて検討し高血圧の予防にこれらも有効であると報告している。このように食事条件の改善は高血圧、脳卒中の発症をコントロールできることを強く示唆しており、医食同源の理にかなった高血圧対策である。一方、血圧が上昇し、脳血管障害もある程度進行している時期からの栄養因子の改善が高血圧疾患の予後に及ぼす影響については、Okamoto ら²⁾ の高タンパク食の実験がある程度で、あまり明確にされていない。そこで、われわれは急激な血圧上昇を示す系統の SHR-SP を用いて脳血管障害が進行しはじめると考えられる時期から魚肉をタンパク源にした飼料を投与し、血圧、脳卒中病変の発生および寿命に及ぼす影響を検討した。

実験方法

1. 材料

魚肉はサバとアジを原料とした市販の削り節 (削り 2 号: ヤマキ (株)) であり、これをミキサーで細粉化して使用した。

2. 飼料の調製およびタンパク質の栄養評価

タンパク効率 (PER) の測定 生後 3 週齢の雄性 Wistar 系ラット (体重 40~45 g) を日本クレアより購入し実験に使用した。1 群 7 匹として対照群 (カゼイン区: 和光純薬製乳製カゼイン)、実験群 (魚肉区) に分け代謝ケージで単飼育した。環境に慣れさせるため市販粉末飼料 (船橋 SP) で 2 日間飼育したのち、Table 1 に示した魚肉飼料 (粗タンパク質量 10%) で 21 日間飼育した。この間、飼料と水は自由摂取させた。

3. 成長試験

Table 2 は飼料中のタンパク質量が 10, 13, 16, 18, 22% となるように魚肉の添加量を変化させて調製した配合割合である。生後 3 週齢の雄性 Wistar 系ラット (日本クレアより購入) を 1 群 5 匹として、体重を平

Table 1. Composition of diets used in measurement of protein efficiency ratios (PER). (%)

Component	Casein diet	Fish meal diet
Milk casein	11.90	—
Dried fish flake	—	13.74
α -Corn starch	74.80	73.02
Vitamin mixture* ¹	1.00	1.00
Salt mixture* ²	4.00	4.00
Cellulose powder* ³	3.00	3.00
Choline chloride	0.24	0.24
Soybean oil	5.00	5.00

The dietary protein levels were set at 10%.

*¹ A.E. Harper mixture (*J. Nutr.*, 68, 405 (1959)).

*² AIN-76 prescription. *³ Mesh size: over 200 mesh (Type-E, TOYO ROSHI Co., Ltd.).

Table 2. Composition of diets used in preliminary feeding test.

Components	Protein level				
	10%	13%	16%	18%	22%
Dried fish flake	13.74	17.86	21.98	24.73	30.22
α -Corn starch	73.02	68.90	64.78	62.03	56.54
Vitamin mixture* ¹			1.00		
Salt mixture* ²			4.00		
Cellulose powder* ³			3.00		
Choline chloride			0.24		
Soybean oil			5.00		

*¹ A.E. Harper mixture. *² AIN-76 prescription.

*³ Mesh size: over 200 mesh (Type-E, TOYO ROSHI Co., Ltd.).

均化させて 4 群に分け、各タンパク含量の飼料で 21 日間飼育した。

4. 実験動物および飼育実験

SHRSP は系統により血圧の上昇の緩急や生存日数が異なる。本実験には血圧上昇が急激で、寿命の短い系統 (SHRSP A₆) を使用した。自家繁殖させた雄性 SHRSP の同胞を 5 週齢時に 1 群 5~8 匹 (1 ケージ当り 3~4 匹) として対照群と実験群に分けた。実験群は正常血圧期 (130~140 mmHg) の 5 週齢 (5 週開始群)、血圧が 200 mmHg を示す 8 週齢 (8 週開始群) および 230 mmHg に達する 10 週齢時 (10 週開始群) に対照群の飼料から実験群の飼料に置換するサブグループに分けた。飼料は、対照群には、市販の船橋 SP 飼料 (動物性タ

ンパク給源にはホワイトフィッシュミールと脱脂粉乳、植物性タンパク給源には脱脂大豆を使用した飼料で、水分が 7.0%, 粗タンパク質 20.8%, 粗脂肪 4.5%, 粗繊維 3.4%, 粗灰分 5.7%, 可溶性無窒素物 58.6% である。また、100 g 中の Na および K 量は、それぞれ 390, 520 mg であり、Na/K 比は 0.75 である) を使用し、実験群には魚肉飼料 (粗タンパク質 22%) を使用した。動物は室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12 時間ごとの明暗切替 (点灯 7~19 時) の条件下で飼育した。水と飼料は自由摂取させた。この間、体重と血圧は毎週 1 回測定した。実験は自然死するまで飼育するグループ (実験 I) と 15 週齢で屠殺するグループ (実験 II) で行った。

5. 血圧および体重の測定

血圧の測定は、あらかじめラットを 40°C に設定した加温器中で予備加温しておき、Tail-cuff 法で無麻酔下で尾動脈圧および心拍数を測定した (KN-210-1; 夏目製作所)。血圧値は脈拍が一定に落ちついた後、5 回測定し、その平均を収縮期圧とした。

6. 飲水量、尿量および尿中 Na, K 量の測定

5 週齢から対照群の飼料で飼育し、8 および 10 週齢時に実験飼料に置換する前後の 3 日間、実験 II の各ラットを代謝ケージに移し、24 時間の飲水量および尿量を測定した。採集した尿は濾過後脱イオン蒸留水で希釈し炎光度計 (ANA-10AL; 東京光電) で Na, K 量を測定した。

7. 血漿レニン活性 (PRA) の測定

15 週齢時に既報⁹⁾と同様の方法で実験 II のラットから採血した。PRA の測定は一抗体デキストラン吸着法による radioimmunoassay 法で行い、血漿 1 ml 当たり 1 時間に生成されるアンギオテンシン I の量を ng (ng/h/ml) で表した。なお、レニン基質は Boucher ら¹⁰⁾の方法に従って両側腎を摘出後、40 時間以上経過したラットの血漿から作製した。

8. 大動脈エラスチンの分析

1) 大動脈の分離および比体重の測定 15 週齢で屠殺した実験 II のラットから胸部大動脈を摘出した。生理的食塩水で洗浄後、周囲結合線維や脂肪を除いた。分離した大動脈は濾紙で水分を除いた後その湿重量および長さを測定した。そして、屠殺時のラットの体重と大動脈重量から比体重を求めた。また、正確さを期すために長さに対する割合も求めた。

2) エラスチンの分離、精製 摘出した大動脈をグループごとに集め、0.25 M ショ糖溶液中で Virtis ホモゲナイザーおよびテフロンホモゲナイザーを用いてホモゲナイズし、遠心分離 (3,000 rpm, 15 min, 4°C) を行い核分画を得た。Partridge ら¹⁴⁾の方法でクルードなエラスチンを分離した (Partridge エラスチン)。さらにこれ

を Lansing ら¹⁵⁾の方法により 0.1 N NaOH で熱処理 (98°C , 45 min) し、アルカリ可溶性分画を除いて純粋なエラスチンを得た (Lansing エラスチン)。

9. 病理解剖

自然死したラットおよび屠殺したラットはすべて病理解剖を行い、諸臓器の重量を測定した。脳については、骨剪刀を用いて開頭し、大脳から延髄部までを摘出し重量を測定した。その後 10% ホルマリンで固定した。固定後、Fig.1 に示したように 5 分割し、脳卒中病変 (脳出血、脳軟化) の有無および発生部位を調べた。

10. 統計処理

実験データは平均値±標準偏差で表した。結果は、比較すべき数値の等分散性を検定後、Student's *t*-test によって、また等分散性を示さなかったものについては、Welch's *t*-test により有意差を判定した。なお、検定には、MUSCOT 統計解析プログラム (YUKMS Corp.) を使用し、 $p < 0.05$ を有意とした。

結 果

1. 魚肉のタンパク質の栄養評価および飼料条件

実験に使用した魚肉の一般成分は、粗タンパク質 72.8%, 粗脂肪 3.4%, 粗灰分 5.3%, 水分 17.7%, 可溶性無窒素物 0.8% であった。また、この魚肉 100 g 中の Na 量は、183 mg, K 量は 995 mg であった。これをタンパク源にして調製した飼料でラットを 21 日間飼育し、その間の増体重 (魚肉飼料群; 71 ± 2.4 g, カゼイン飼料群; 73 ± 3.0 g) および摂取タンパク質量 (魚肉飼料群; 23 ± 1.0 g, カゼイン飼料群; 26 ± 1.9 g) から算出した魚肉の PER は魚肉が 3.1 ± 0.1 であり、比較実験に用いたカゼインの PER は 2.8 ± 0.2 であった。PER の実測値からタンパク質の栄養価を評価する方法¹⁶⁾があるが、この評価基準からみれば魚肉タンパク質は「良質」であり単独のタンパク源として十分使用できることを確認した。さらに SHRSP への投与飼料のタンパクレベルを決

Fig.1. Sectioning of the brain of SHRSP.

The brains were cut into five frontal section after fixation with 10% formalin for macroscopic observation to detect cerebral lesions.

定するために飼料中のタンパク含量を 13~22% に変化させて 21 日間飼育し成長を観察した。いずれの群も飼料投与直後はほぼ同じ成長を示したが、8 日目以降になると飼料中のタンパク含量の違いにより成長に変化がみられた。投与 21 日目の体重は 10% 群が 114 ± 3 g, 13% 群が 137 ± 5 g, 16% 群が 148 ± 5 g, 18% 群が 153 ± 8 g, 22% 群が 155 ± 7 g であり、タンパク質含量が 16~18% で最大成長が得られた。一般に栄養実験などに使用する飼料中のタンパクレベルは、タンパク質の質にもよるが最大成長が得られるレベルを 3~4% 上まわる程度が適当とされているので SHRSF への投与飼料のタンパク質レベルは 22% ときめ、その含量になるように魚肉を配合した。なお、この実験群の飼料 100 g 中の Na および K 量は、それぞれ 190, 750 mg であり、Na/K 比は 0.25 であった。

2. 実験 I

Fig. 2 に各群のラットの血圧 (上段) および体重 (下段) の推移を示した。対照群の飼料から魚肉飼料に置換しても以後の育成はいずれの群も順調であった。血圧は対照群では 5 週齢以後急上昇し、8 週齢時で平均 202 ± 9 mmHg, 10 週齢時で 232 ± 8 mmHg そして 12 週齢時には 252 ± 8 mmHg に達した。一方、正常圧の 5 週齢から魚肉飼料を投与した群では投与開始初期から血圧の上昇は抑制され、8 週齢時 (174 ± 6 mmHg) には対照群 (198 ± 7 mmHg) との間に有意な差が認められた ($p < 0.05$)。そして 15 週齢以降も $210 \sim 220$ mmHg の血圧で推移した。血圧上昇期の 8 週齢より開始した群でも血圧の上昇は有意に抑制され 230 mmHg 前後の血圧を維持した。ところが 230 mmHg 以上の血圧を示す時期より魚肉飼料の投与を開始した 10 週開始群では、投与後に対照群よりやや低い血圧を示す時期もみられたが有意な差ではなく、対照群と同じ血圧レベルであった。自然死したラットの脳卒中発生率および平均生存日数を Table 3 に示した。対照群の脳卒中病変の発生率は 100% であったが 5 週開始群では 0%, 8 週開始群では 33% そして 10 週開始群では 50% であり、実験群の脳卒中病変の発生率はいずれも低くなった。そして脳卒中病変の程度も対照群では脳出血をとまう病変が大半を占めていたが、実験群ではその発生頻度は低下した。平均生存日数は 5 週開始群では 435 ± 15 日, 8 週開始群では 450 ± 18 日であり対照群より有意に延長した ($p < 0.05$)。対照群に対する実験群の生存日数の延長割合は前者が 2.94, 後者が 3.15 でありほとんど変わらなかった。一方、10 週開始群の平均生存日数は 346 ± 73 日 (対照群に対する延長割合: 2.75) と 5, 8 週開始群より短かったが、対照群 (126 ± 48 日) に比べ著しい延命を示した ($p < 0.05$)。

Fig. 2. Changes of blood pressures and body weights of SHRSF fed fish meal diet from 5, 8 and 10 weeks of age.

The values are expressed as the mean $\pm$ SD. ----, Control; $\square$, 5 weeks-change; $\triangle$, 8 weeks-change; $\circ$, 10 weeks-change. * Significant difference from the control ($p < 0.05$).

3. 実験 II

1) 脳卒中病変の発生率 脳卒中病変の進行程度を比較するために 15 週齢で屠殺し、その発生割合を調べた。屠殺時の実験群の血圧は、5 週開始群が 261 ± 5 mmHg, 8 週開始群が 229 ± 6 mmHg で対照群より有意に低値を示した。しかし、10 週開始群では血圧上昇抑制作用は認められず実験 I と同じ傾向であった。対照群ではこの時期でも全例に脳卒中病変がみられ、5 例中 3 例に脳出血をとまう病変が認められた。しかし魚肉飼料群では病変の発生率は低く、10 週開始群の 1 例に脳出血が認められる程度であり、その発生は明らかに遅延していた (Table 4)。

2) 尿量および尿中の Na/K 比 Table 5 は 8, 10 週齢時に対照群の飼料から魚肉飼料に置換した前後 3 日間の飲水量、尿量、尿中の Na および K 排泄量を示したも

Table 3. Effects of fish meal diet from 5, 8 and 10 weeks of age on incidence of stroke lesions and life-spans in SHRSP.

Groups	Kinds of diet	No. of rats	No. of rats with lesions	Types of lesion	Incidence of lesions (%)	Average age of death (Days)
5-weeks change	Control diet	5	5	Hemorrhage (2/5)	100	148±72
				Hemorrhage plus Softening (3/5)		
				Softening (0/5)		
	Fish meal diet	5	0	Hemorrhage (0/5)	0	435±15*
				Hemorrhage plus Softening (0/5)		
				Softening (0/5)		
8-weeks change	Control diet	6	6	Hemorrhage (2/6)	100	143±80
				Hemorrhage plus Softening (4/6)		
				Softening (0/6)		
	Fish meal diet	6	2	Hemorrhage (0/6)	33	450±18*
				Hemorrhage plus Softening (0/6)		
				Softening (2/6)		
10-weeks change	Control diet	7	7	Hemorrhage (1/7)	100	126±48
				Hemorrhage plus Softening (6/7)		
				Softening (0/7)		
	Fish meal diet	8	4	Hemorrhage (0/8)	50	346±73*
				Hemorrhage plus Softening (2/8)		
				Softening (2/8)		

(/) : (No. of rats with stroke lesions/No. of rats examined). * Significant difference from the control ($p < 0.05$).

Table 4. Incidence rates of stroke lesion of SHRSP sacrificed at 15 weeks of age after feeding by fish meal diet from various age.

Groups	No. of rats examined	No. of rats with lesions	
Control diet	5	5(3)	
Fish meal diets	5-weeks change	5	0(0)
	8-weeks change	5	0(0)
	10-weeks change	5	2(1)

() : No. of rats with hemorrhage.

のである。8, 10 週開始群とも飲水量には変化は認められなかったが、尿量は有意に増加した ($p < 0.05$)。尿中への Na 排泄量は 8, 10 週開始群とも飼料を置換してもその前後で変わらなかったが、K 排泄量は著しい増加を示し、尿中 Na/K 比も対照群より有意に低下した。

3) 血漿レニン活性 Table 6 に 15 週齢時の各群のラットの血圧および PRA 値を示した。血圧は対照群に

比べて魚肉飼料群ではいずれも有意に低く、投与時期が早いほど低かった。対照群の PRA は 100.1 ± 7.7 ng/ml/h であったが 5 週開始群および 8 週開始群ではそれぞれ 63.4 ± 6.3 , 67.6 ± 14.7 ng/ml/h と対照群より有意に低かった。10 週開始群でも対照群よりやや低い傾向であったが有意な差ではなかった。

4) 大動脈重量とエラスチン量 屠殺したラットから摘出した大動脈の湿重量および体重に対する割合を Table 7 に示した。屠殺時の体重は対照群と実験群間に差はみられなかった。摘出した大動脈の比体重 (mg/g 体重/cm) は対照群に比べて魚肉飼料群は有意に低値であり投与時期が早期ほどその値も低かった。次に、これらの大動脈から分離したエラスチン量を大動脈重量当りの割合 (mg/g 大動脈) で示したのが Fig. 3 である。Partridge らの方法で得たクルードなエラスチン量は魚肉飼料群が $82.5 \sim 73.8$ mg/g であり対照群 (66.2 mg/g) よりかなり高い値であった。Lansing らの方法によってアルカリ可溶性成分を除去すると 60~68% の重量減少が認められる。しかし、このようにして得られた純粋な Lansing エラスチン量でも魚肉飼料群はいずれも対

Table 5. Average daily drinking volume, urinary volume, urinary Na and K excretion and urinary Na/K ratio over 3-days period of SHRSP after change into fish meal diet from control diet at 8 or 10 weeks of age.

	8 weeks-change (5)		10 weeks-change (5)	
	before	after	before	after
Drinking volume (ml/rat/day)	22.8 ± 3.1	22.8 ± 0.9	25.8 ± 7.4	21.8 ± 4.8
Urinary volume (ml/rat/day)	3.6 ± 0.9	6.0 ± 1.2*	3.4 ± 1.2	7.0 ± 0.7*
Na excretion in urine (mg/rat/day)	76.6 ± 11.4	72.3 ± 4.8	80.2 ± 14.2	78.8 ± 14.8
K excretion in urine (mg/rat/day)	66.0 ± 6.8	92.0 ± 6.8*	67.6 ± 7.7	96.0 ± 10.8*
Urinary Na/K ratio	1.13 ± 0.10	0.78 ± 0.06*	1.19 ± 0.15	0.82 ± 0.07*

Results are expressed as the mean ± SD of 5 rats. (): No. of rats examined. * Significant difference from the control ($p < 0.05$).

Table 6. Plasma renin activity and blood pressure in SHRSP fed fish meal diet from various age.

Groups	No. of rats examined	Blood pressure (mmHg)	Plasma renin activity (ng/h/ml)
Control diet	5	256 ± 1	100.1 ± 7.7
Fish meal diets	5-weeks change	219 ± 11*	63.4 ± 6.3*
	8-weeks change	230 ± 9*	67.6 ± 14.7*
	10-weeks change	249 ± 4	82.3 ± 28.5

The values are expressed as the mean ± SD of 15 weeks of age of SHRSP. * Significant difference from the control ($p < 0.05$).

Table 7. Ratios of aorta to body weight for SHRSP sacrificed at 15 weeks of age after feeding by fish meal diet from various age.

Groups	Body weight (g)	Wet weight of aorta (mg)	Length of aorta (cm)	Portion of aorta	
				(mg/g body wt.)	(mg/g body wt./cm)
Control diet (5)	241 ± 13	35.2 ± 3.0	3.53 ± 0.10	0.146 ± 0.011	0.041 ± 0.002
Fish meal diets	5-weeks change (5)	254 ± 11	3.31 ± 0.26	0.107 ± 0.014*	0.032 ± 0.002*
	8-weeks change (5)	249 ± 11	3.34 ± 0.19	0.110 ± 0.012*	0.033 ± 0.002*
	10-weeks change (5)	253 ± 14	3.25 ± 0.14	0.121 ± 0.007*	0.037 ± 0.002*

Results are expressed as the mean ± SD of 5 rats. (): No. of rats examined. * Significant difference from the control ($p < 0.05$).

照群より高値であった。

考 察

脳卒中の発症には、小児期から発症までの長い経過がありアンバランスな栄養素の摂取や食習慣によるところが大きい。日本では欧米に比べて脳卒中が多かったのは、米の過食、食塩の過剰摂取および動物性食品の摂取不足などがその原因となっていたが、最近はいこれらの食習慣が改善され脳卒中は減少している。このような食生

活の改善を若い世代から行えば脳卒中中の発症防止に有効であることは、ヒトの脳卒中中のモデル動物である SHRSP を使用した実験でもいくつか証明されている。Okamoto ら²³⁻²⁴は食生活を含めた生活環境因子と脳卒中予防との関係を SHRSP を用いて調べ、幼若期から魚粉やカゼイン等の良質タンパクを適当量投与すれば血圧の上昇を抑制し、脳卒中中の発症をも阻止できることを明らかにした。家森²⁵は SHRSP の血圧および脳卒中発症に対するタンパク質の影響について検討し、高タンパク食 (50

Fig. 3. Ratios of Partridge and Lansing elastin to aorta of SHRSP sacrificed at 15 weeks of age after feeding by fish meal diet from various age.

▨, Partridge elastin; ■, Lansing elastin.

% タンパクレベル)の条件下では食塩負荷を行っても脳卒中の発生は阻止できると報告している。また、最近魚肉タンパク質の酵素分解物¹⁷⁾、ある種の脂肪¹⁰⁾、糖質¹¹⁾、ミネラル¹²⁾等が高血圧性疾患に有益であるとする報告もある。高血圧や脳卒中の発症には遺伝因子が大きく関与しているが、そのような素因が存在しても幼若期から栄養条件に配慮すればこれらの発症を防げることが実験的に証明されたわけである。しかし、実際の食生活の管理は、これらの疾患が発生してから始める場合が多い。したがって、高血圧確立期からの栄養因子の改善が高血圧疾患の予後に及ぼす影響を調べることは重要である。そこで著者らは、これまでに脳卒中の発症予防に関する栄養実験で、その有効性が認められている数種の実験材料から魚肉をタンパク源に選び飼料を調製した。その際、添加量(タンパク質含量)には注意を払った。それは、高タンパク食の投与では肝臓や腎臓の肥大、さらにそれらに基づく他の障害の併発も考えられ、長期間の高タンパク食投与は、高血圧疾患の実際の予防食として適当でないと思われるからである。したがって、本研究では予備的に魚肉飼料のタンパク栄養価を検討した上で最適なタンパクレベルに調製し、その飼料を高血圧進行期および高血圧確立期の SHRSP に投与した。若齢期から魚肉飼料の投与を開始すると Okamoto ら²¹⁻²²⁾も報告しているように血圧の上昇は抑制され、13 週齢以後は 210~220 mmHg と血圧値は一定した。そして脳卒中の発生も完全に予防された。一方、血圧上昇期の 200 mmHg から魚肉飼料の投与を開始しても血圧の上昇は抑制され、脳卒中の発生も抑えられ、正常血圧期から魚肉飼料の投与を開始したグループと変わらない顕著な延命がみられた。しかし血圧が 230 mmHg 以上を示す高

血圧確立期からの投与では、血圧上昇抑制は認められなかったが、脳卒中の発生率の低下や延命が認められた。

上記のように、若齢期のみならず高血圧進行期以後からでもタンパク栄養の改善が血圧上昇抑制あるいは脳卒中発症抑制に有益であることが明らかになった。そこで、その抑制作用のメカニズムを知るために若干の実験を行った。第一は、血管の弾性と栄養との関係である。Ito ら¹⁸⁾¹⁹⁾は SHRSP の大動脈の弾性繊維の構成タンパクであるエラスチンの量的および質的变化を詳しくしらべている。SHRSP のエラスチンは正常圧の WKY に比べて早くから減量するがカゼインや魚肉タンパク飼料を投与するとその減量は抑制されることから脳卒中発症防止の機序として血管の弾性保持が考えられると報告している。本実験でも魚肉飼料の投与時期が早期ほど Partridge および Lansing 両エラスチンともその減少が抑えられ、また、大動脈の比体重も小さかった。これらの結果は、魚肉飼料が血管壁の肥厚や弾性繊維の老化を抑制していることを示唆している。

第二は、体液性の血圧調節因子の一つである PRA 値との関係である。SHRSP では PRA の異常な上昇をきたし、WKY の 3 倍またはそれ以上となるが、この上昇は高血圧性血管病変の発生により引き起こされると解釈されている²⁰⁾。今回の実験でも魚肉飼料の投与で PRA 値の上昇がいくぶんか抑制された。これは、血管障害の進行が遅延していることを証明する一つの結果と思われる。事実、魚肉投与群では対照群に比し、出血性の脳卒中病変の発生割合が低下しており、血管の弾性がよく保持されているものと推察できる。

第三は、飼料中のミネラル、とくに Na, K との関係である。SHRSP では 1% の食塩水を与えると血圧は上

昇するが、塩化カリウム (K) を与えると血圧の上昇が抑制されることが知られている。また、魚肉タンパク飼料は、食塩負荷を行っても尿中への Na の排泄を促進し、血圧の上昇が抑制される⁵⁾²¹⁾。この作用は含硫アミノ酸の作用によることも明らかにされている。このシリーズの実験は食塩負荷を行っていないので、対照群の飼料から魚肉飼料に置換しても尿中 Na 量の増加はみられなかった。しかし、尿量の増加および尿中の K 量の著しい増加がみられた。その結果、尿中 Na/K 比が低下した。これは、魚肉飼料が対照群の飼料に比べ、Na が少なく K を多く含んでいるために Na/K 比が低く、それが、尿中 Na/K 比の低下に反映したものと思われる。一般に尿中の Na/K 比が低いほど脳卒中の発症率も低いということが、疫学的にも実験的にも証明されており²²⁾、魚肉の K が SHRSP の電解質バランスの改善の一助となっているとも考えられる。

飼料中のタンパク質やアミノ酸の改善による血圧上昇抑制作用や脳卒中発症予防のメカニズムについて種々の論議がなされているが、岡本²³⁾、Suzuki ら²⁴⁾ はタンパク源による降圧効果のメカニズムの少なくとも一つは消化過程の生成物が吸収されて、血圧の上昇を抑制している可能性が考えられると報告している。また、最近アンギオテンシン I 変換酵素 (ACE) を阻害するペプチドも各種食品中に存在することが報告されている^{25)~28)}。それらの中には魚肉から見いだされたものもいくつかあり、これらの ACE 阻害ペプチドが血圧の上昇を抑制し、血管壁の肥厚化および血管病変の遅延に寄与しているとする報告もある²⁹⁾³⁰⁾。Yamori ら³¹⁾、奈良ら³²⁾ は魚肉タンパクによる脳卒中の予防機序の解明をアミノ酸栄養との関連から追求し、その効果は魚肉タンパクに多く含まれるメチオニン、タウリン等の含硫アミノ酸による中枢神経性降圧によると結論づけている。今回、魚肉飼料の投与実験で得た血圧上昇抑制作用や脳血管障害の発症抑制に対し、これらの作用の関与も無視できない。

本実験で得られた種々の現象は、高血圧状態からでも栄養管理に配慮すれば高血圧疾患の予後に好影響をもたらすことを暗示している。したがって、その作用機序の解明は病態栄養学や食品機能学の面からも注目される分野であり、鋭意検討中である。

要 約

高血圧状態からの栄養因子の改善が、高血圧疾患の予後に及ぼす影響を検討するために、脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) の血圧が 200 mmHg を示す 8 週齢および 230 mmHg を示す 10 週齢から魚肉をタンパク源とした飼料 (粗タンパク質 22%) を投与して、血圧、脳卒中病変の発生および寿命に及ぼす影響を検討

した。

1) 血圧の上昇抑制効果は、魚肉飼料の投与時期が早期ほど顕著であった。しかし、血圧が 230 mmHg 以上になってからの投与では、その効果は認められなかった。

2) 生存日数は、対照群に比べて魚肉飼料投与群では著しい延長を示した。対照群に対する延長割合は 5 週開始群で 2.94、8 週開始群で 3.15、そして 10 週開始群で 2.75 であった。

3) 脳卒中発症率は、対照群では 100% であったが、魚肉飼料の投与を正常血圧期の 5 週齢より開始した群は 0% で、8、10 週齢より開始した群では、それぞれ 33、50% であった。そして出血をとまなう病変の発生割合も対照群より低下した。

4) 尿中の Na/K 比は、対照群の飼料から魚肉飼料に置換すると低下した。

5) PRA は、対照群に比べ 5 および 8 週開始群では有意に低値を示したが、10 週開始群では対照群と変わらなかった。これらの値は血圧値と相関していた。

6) 大動脈比体重は対照群に比べて魚肉飼料群ではいずれも有意に小さく、血管壁の肥厚が抑制された。そして、弾性タンパクである Partridge エラスチンおよび Lansing エラスチンも魚肉飼料群が対照群に比べていずれも高値を保持した。

これらの結果は、幼若期のみならず高血圧進行期および高血圧確立期からでも栄養因子を改善すれば SHRSP の脳卒中の発生抑制や延命に有効であることを示している。

本研究を進めるにあたり、終始ご指導とご助言を賜りました故飯塚義富先生に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) Okamoto, K., Yamori, Y. and Nagaoka, A.: *Circ. Res.*, 34: 35 (suppl. 1), 143 (1974)
- 2) Okamoto, K., Suzuki, T., Ito, H., Mitachi, Y. and Morita, N.: Spontaneous Hypertension: Its Pathogenesis and Complications, Proc. Second Int. Symp. on SHR, DHEW Publ. No. (NIH) 77-1179, 21 (1976)
- 3) Okamoto, K., Suzuki, T., Murakami, T. and Miyake, H.: *Jpn. Heart J.*, 20 (suppl. 1), 334 (1979)
- 4) Okamoto, K.: Spontaneous Hypertension and Stroke in Rats, Advances in Experimental Medicine: A Centenary Tribute to Claude Bernard (Parvez, H. and Parvez, S., eds.), 169 (1989), Biomedical Press, Elsevier/North-Holland (Limerick)
- 5) 家森幸男: 栄養誌, 41, 129 (1983)
- 6) 村上哲男, 岡本耕造, 大垣昌弘, 飯塚義富: 栄養誌, 40, 351 (1987)

- 7) 村上哲男, 岡本耕造, 北岡正三郎, 飯塚義富: 栄食誌, 41, 115 (1988)
- 8) 小川 博, 福島晋一, 笹川祐成: 日衛誌, 40, 763 (1985)
- 9) Yamori, Y., Nara, Y. and Tsubouchi, T.: *J. Hypertension*, 4 (suppl. 3), s449 (1986)
- 10) 家森幸男, 奈良安雄, 坪内俊憲: 化学と生物, 25, 631 (1987)
- 11) 河村雅子, 中川晴枝, 辻 啓介, 市川富夫: 日本栄養・食糧学会講演要旨集, 118 (1987)
- 12) 三堀智広, 富田多嘉子, 池田優彦, 杉浦一美, 稲岡みゆき, 佐川満昭, 富田 勲: SHR 学会講演要旨集, 100 (1987)
- 13) Boucher, R., Menard, J. and Genest, J.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 45, 881 (1967)
- 14) Partridge, S.M., Davis, H.F. and Adair, G.S.: *Biochem. J.*, 61, 11 (1955)
- 15) Lansing, A.I., Rosenthal, T.B., Alex, M. and Dempsey, E.W.: *Anat. Rec.*, 144, 555 (1952)
- 16) 細谷憲政, 印南 敏, 五島牧郎 (編著): 小動物を用いる栄養実験, (1980), 第一出版 (東京)
- 17) 杉山圭吉, 高田康二, 江川 真, 山本郁雄, 鬼塚博, 大場健吉: 農化, 65, 35 (1991)
- 18) Ito, H. and Okamoto, K.: *Jpn. Heart J.*, 18, 592 (1977)
- 19) Ito, H., Yamamoto, K. and Okamoto, K.: *Jpn. Heart J.*, 20 (suppl. 1), 240 (1979)
- 20) Matsunaga, M., Yamamoto, J., Hara, A., Yamori, Y., Ogino, K. and Okamoto, K.: *Jpn. Circ. J.*, 39, 1305 (1975)
- 21) Yamori, Y., Horie, R., Nara, Y., Ikeda, K., Ohtaka, M., Ohshima, A. and Sasagawa, S.: *Jpn. Heart J.*, 20, 742 (1979)
- 22) Yamori, Y., Kihara, M., Nara, Y., Ohtaka, M., Horie, R., Tsunematsu, T. and Note, S.: *Lancet*, 1, 1204 (1981)
- 23) 岡本耕造: 総合臨床, 27 (別冊), 63 (1978)
- 24) Suzuki, T., Murakami, T., Iizuka, Y., Miyake, H., Hasegawa, I. and Okamoto, K.: *Jpn. Heart J.*, 20 (suppl. 1), 337 (1979)
- 25) Maruyama, S., Nakagomi, K., Tomizuka, N. and Suzuki, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 49, 1405 (1985)
- 26) 河村幸雄: 食品工業, 1月号, 20 (1990)
- 27) 吉川正明, 千葉英雄: 食品工業, 2月号, 20 (1990)
- 28) Kohmura, M., Nio, N., Kubo, K., Minoshima, Y., Munekata, E. and Ariyoshi, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 53, 2107 (1989)
- 29) Kohama, Y., Matsumoto, S., Oka, H., Teramoto, T., Okabe, M. and Mimura, T.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 155, 332 (1988)
- 30) 末綱邦男, 成島克裕: 栄食誌, 42, 47 (1989)
- 31) Yamori, Y., Fujiwara, M., Horie, R. and Lovenberg, W.: *Eur. J. Pharmacol.*, 68, 201 (1980)
- 32) 奈良安雄, 家森幸男: 代謝, 28, 117 (1991)

(1991年9月27日受理)