

糖尿病性血管障害の機序解明

○山脇英之、北里大・獣医・獣医薬理学

【背景と目的】 動脈硬化症の初期病変は血管内皮の炎症性障害である。動脈硬化症の主要なリスク因子の1つである糖尿病においても、しばしば血管内皮の炎症性障害や細胞死が認められるが、その詳細機序に関しては明らかにされていない。本研究では、特に糖尿病合併症患者においてその血中濃度が上昇している糖代謝物質であるグリオキサル(glyoxal: GO)、メチルグリオキサル(methylglyoxal: MGO)に着目し、糖尿病による血管内皮細胞の炎症性障害の機序を解明することを目的とした。加えて近年、高血圧モデルラットや老化血管組織において MGO の蓄積が報告されている。これらのことから、MGO が直接血管反応性に影響を与える可能性も考えられ、MGO の摘出血管組織の収縮性に及ぼす影響についても検討した。

【方法】 (1) ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)に高濃度グルコース(High glucose: HG)、終末糖化産物(Advanced glycation endproducts: AGEs)及びその中間体である GO, MGO を処置し、細胞の形態変化を観察するとともに、ウエスタンブロット法を用いてタンパク質発現及びリン酸化解析を行った。(2) ウイスターラットから胸部大動脈、腸間膜動脈を摘出し内皮細胞を取り除いた後、マグヌス装置を用いて等尺性収縮張力を測定した。

【結果】 (1) HG (26 mM) 或いは AGEs (100-500 μ M) を 24 時間処置しても内皮細胞の形態は正常で、炎症性マーカーである cyclooxygenase (COX)-2 発現も変化しなかった。一方、GO (50-500 μ M), MGO (42-420 μ M) 処置により濃度と時間依存性(0-24 時間)に細胞障害性の形態変化が観察され、COX-2 発現と prostaglandin E₂ 産生が上昇した。MGO は JNK と p38MAPK のリン酸化を誘導し、JNK 及び p38 阻害薬は MGO による COX-2 発現を抑制した。一方、高濃度 GO (5 mM), MGO (560 μ M) 処置では、caspase-3 依存性の細胞死が観察された。(2) MGO 急性処置後 (42-420 μ M, 30 min)、noradrenaline (NA: 1 nM-1 μ M) による収縮の濃度反応曲線は MGO の濃度に依存して右方にシフトした。Cimetidine (10 μ M), indomethacin (30 μ M) は MGO による NA 収縮抑制作用に影響を与えなかったが、非選択的 K⁺チャネル阻害薬である tetramethylammonium (10 mM) は MGO による NA 収縮抑制作用を改善した。ATP 感受性 K⁺チャネル阻害薬の glibenclamide (3 μ M)、カルシウム感受性 SK チャネル阻害薬の apamin (1 μ M) は影響を与えなかったが、BK_{Ca} チャネル阻害薬の iberiotoxin (100 nM) は MGO による NA 収縮抑制作用を改善した。また、腸間膜動脈においても MGO 急性処置後 (420 μ M, 30 min)、NA による収縮の濃度反応曲線は右方にシフトした。

【考察】 本研究の結果から、糖尿病性血管障害においては、HG そのものや AGEs よりも、むしろその中間代謝産物である GO, MGO が内皮細胞の炎症性障害誘導により強く関与している可能性が示された。一方で、MGO の摘出血管組織に対する急性処置は、血管平滑筋の BK_{Ca} チャネルの活性化により収縮抑制作用を示すことが明らかとなった (Yamawaki H & Hara Y, *BBRC* 2008; Baden T et al., *BBRC* 2008; Yamawaki H et al., *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; Mukohda M et al., *J Pharmacol Sci* 2009)。