
インスリン抵抗性状態に伴う血管内皮 機能異常におけるPPAR α の役割

(研究課題番号 17590219)

平成17年度～平成18年度科学研究費補助金

(基盤研究(C)) 研究成果報告書

平成19年5月

研究代表者 篠崎 一哉

滋賀医科大学医学部助手

はじめに

これまでに我々は、インスリン抵抗性状態にともなう血管トーンスの異常や内皮機能障害の分子機構についてインスリン抵抗性ラットの胸部大動脈を用い検討を行ってきた。その結果、内皮プテリジン代謝異常に伴うeNOSの活性調節異常がその一因であることを明らかにした。すなわち、血管内皮に対するインスリン作用の低下に伴い、GTP-CH1活性および発現が著明に低下し、結果として組織BH₄含量が減少することがeNOSのアンカップリング（eNOS由来のO₂⁻（スーパーオキシドアニオン）生成の増加とNO産生の低下）をもたらすことを報告した。さらに、BH₄をインスリン抵抗性ラットに対して2ヶ月間経口投与することにより、内皮機能障害や酸化ストレスの改善が認められることも明らかにした。一方、BH₄の経口投与によりインスリン抵抗性ラットの血圧は正常化しなかったことや、アンジオテンシン変換酵素阻害薬は正常耐糖能者よりも、耐糖能異常者の心血管イベント発症率を有意に低下させることが報告されていることから、インスリン抵抗性状態では血管壁レニン・アンジオテンシン（RA）系の亢進により血管トーンスの亢進が惹起されるという仮説を立て検討を行った。その結果、インスリン抵抗性ラットの大動脈ではアンジオテンシンII（Ang II）に対する過収縮が生じていること、Ang IIは、NAD(P)Hオキシダーゼを活性化することにより血管内皮細胞でのO₂⁻生成を増加させることを明らかにした。さらに、AT1a受容体の欠失マウスを用いた検討から、インスリン抵抗性状態ではAT1a受容体のup-regulationが生じて組織RA系が亢進することも明らかにした。

近年、高脂血症治療薬のフィブラート系薬剤（PPAR α のリガンド）およびHMG-CoA還元酵素阻害薬（スタチン）は内皮型一酸化窒素合成酵素（eNOS）を活性化することが培養血管内皮細胞を用いたin vitroの検討により明らかにされているが、eNOSのタンパクやmRNAの発現量自体には影響を及ぼさないことから、何らかの機序によりeNOSを活性化することにより抗動脈硬化的に寄与する可能性が示唆される。本研究では、PPAR α の特異的なリガンドであり、フィブラート系薬剤であるフェノフィブラートおよび脂溶性のHMG-CoA還元酵素阻害薬であるピタバスタチンをインスリン抵抗性ラットに投与することによりその機序を検討するとともに、これらの薬剤がeNOSの活性調節や血管壁RA系に及ぼす影響について検討した。

研究組織

研究代表者	篠崎 一哉	(滋賀医科大学医学部助手)
研究分担者	岡村 富夫	(滋賀医科大学医学部教授)
研究分担者	安屋敷和秀	(滋賀医科大学医学部助教授)

交付決定額（配分額）

	直接経費	間接経費	合計
平成17年度	2,100,000 円	0 円	2,100,000 円
平成18年度	1,300,000 円	0 円	1,300,000 円
総計	3,400,000 円	0 円	3,400,000 円

研究発表

(1) 学会誌等

- 1) Shinozaki K, Nishio Y, Ayajiki K, Yoshida Y, Masada M, Kashiwagi A, Okamura T. Pitavastatin restores vascular dysfunction in insulin-resistant state by inhibiting NAD(P)H oxidase activity and uncoupled eNOS-dependent superoxide production. Journal of Cardiovascular Pharmacology. 49:122-130,2007
- 2) Shinozaki K, Nishio Y, Yoshida Y, Koya D, Ayajiki K, Masada M, Kashiwagi A, Okamura T. Supplement of Tetrahydrobiopterin by a Gene Transfer of GTP Cyclohydrolase I cDNA Improves Vascular Dysfunction in Insulin-Resistant Rats. Journal of Cardiovascular Pharmacology. 46:505-512,2005
- 3) Shinozaki K, Kashiwagi A, Masada M, Okamura T. Molecular mechanisms of endothelial dysfunction in the insulin-resistant state: the roles of abnormal pteridine metabolism. Pteridine. 14,13-16,2003
- 4) Yamamizu K, Shinozaki K, Ayajiki K, Gemba M, Okamura T. Oral Administration of Both Tetrahydrobiopterin and L-Arginine Prevents Endothelial Dysfunction in Rats With Chronic Renal Failure. Journal of Cardiovascular Pharmacology. 49:131-139,2007

- 5) 篠崎一哉。インスリン抵抗性に伴う血管障害の分子機構の解明『日本薬理学会誌』125(5):285-290,2005.
- 6) 篠崎一哉。テトラヒドロピオプテリンの酸化と内皮型 NO 合成酵素のアンカップリング『日本薬理学会誌』125(6):400,2005.
- 7) 篠崎一哉。パーオキシナイトライトと血管内皮障害『日本薬理学会誌』126:299,2005.
- 8) 篠崎一哉、柏木厚典。血管内皮細胞機能と酸化ストレス『BIO Clinica 生活習慣病：糖尿病』21(1):48-53,2006

(2) 口頭発表

- 1) 第 78 回日本薬理学会年会 受賞講演（横浜）2005 年 3 月 23 日

インスリン抵抗性に伴う血管障害の分子機構の解明

篠崎 一哉

- 2) 第 5 回日本 NO 学会学術集会 シンポジウム（札幌）2005 年 4 月 28 日

循環器領域における NO 関連研究の最近の進歩—NO と酸化ストレス

篠崎 一哉、安屋敷和秀、岡村 富夫

- 3) 第 12 回サイトカイン・ネオプテリン研究会（東京）2005 年 7 月 23 日

血管内皮機能障害の分子メカニズムとテトラヒドロピオプテリン

篠崎 一哉

- 4) 第 13 回創薬薬理フォーラム シンポジウム（東京）2005 年 9 月 9 日

インスリン抵抗性に伴う血管内皮機能障害の分子機構

篠崎 一哉、岡村 富夫

- 5) 第 79 回日本薬理学会年会（横浜）2006 年 3 月 9 日

ピタバスタチンは NAD(P)H オキシダーゼ活性および eNOS アンカップリングに伴うスーパーオキシドアニオンの産生を抑制することによりインスリン抵抗性に伴う血管機能障害を改善する

篠崎 一哉、安屋敷和秀、岡村 富夫

- 6) 第 36 回日本心脈管作動物質学会（徳島）2007 年 2 月 9 日

ピタバスタチンは NAD(P)H オキシダーゼ活性および eNOS アンカップリングに伴

うスーパーオキシダアニオンの産生を抑制することによりインスリン抵抗性に伴う血管機能障害を改善する

篠崎 一哉、安屋敷和秀、玉山 卓己、岡村 富夫

7) 第7回日本NO学会学術集会 シンポジウム(大津) 2007年5月17日

NOとインスリン抵抗性

篠崎 一哉、玉山 卓己、安屋敷和秀、岡村 富夫

研究成果の要約

遺伝的インスリン抵抗性ラットである Zucker Fatty ラット (ZF) および 対照ラットである Zucker lean ラット (ZL) に対し、フェノフィブラートおよびピタバスタチン (HMG-CoA 還元酵素阻害薬) を投与し各種の検討を行った。その結果、ZF では内皮型 NO 合成酵素(eNOS) 活性が対照ラットの 58% に低下していたが、両薬剤とも eNOS 活性を有意に増加させた。ZF では GTP シクロヒドラーゼ 1 (GTP-CH1) 活性の低下に伴い BH₄ 含量の低下を認めたが、ピタバスタチン投与によりそれぞれ有意に増加し、正常化した。一方、フェノフィブラート投与では BH₄ 含量及び GTP-CH1 活性は変化しなかった。以上の結果より、これら 2 つの高脂血症治療薬は異なる機序により eNOS を活性化することが明らかになった。そこで今回、インスリン抵抗性ラットにピタバスタチンを投与し、血管機能異常に及ぼす影響とその機序について検討した。6 週齢雄性 ZF とその対照である ZL を通常食で飼育し、各々その一部にピタバスタチン (3 mg/kg/day) を食餌混合投与した。8 週間後に胸部大動脈を採取し、①ルシゲニン化学発光法を用いた O₂⁻生成量と NAD(P)H オキシダーゼ活性の測定、②eNOS 活性の測定、③等尺性張力試験を用いた血管反応、④HPLC 法を用いた NOS の補酵素含有量及び GTP-CH1 活性測定、⑤ウエスタンブロット法による各種蛋白の発現について検討を行った。その結果、ZF では①A23187 刺激下の O₂⁻生成量は ZL と比較し約 4 倍の高値を示し、NAD(P)H オキシダーゼ活性は約 2 倍の高値を示したが、ピタバスタチンにより正常化した。②eNOS 活性は ZL の 40% に低下していたが、ピタバスタチンにより有意に改善した。③ZL と比較し、A23187 による血管弛緩反応は減弱し、Ang II による収縮反応は増加した。ピタバスタチンにより血管弛緩反応は正常化し、Ang II による収縮は減弱した。④ZL と比べて血管内皮での BH₄ 含量及び GCH-CH1 活性が有意に低下していたが、ピタバスタチン投与により共に有意に増加した。⑤eNOS の発現量は 4 群間で有意差を認めなかったが、ZL と比較して GCH-CH1 発現量は有意に低下し、AT1 受容体発現量は増加していた。ピタバスタチン投与によりこれらは正常化した。これらの結果より、ピタバスタチンは NAD(P) H オキシダーゼ活性及び eNOS アンカップリングを是正することによりインスリン抵抗性に伴う血管機能異常を改善することが示唆された (文献 1 ~ 3)。