

昭和62・63年度科学研究費補助金

研究成果報告書

(一般研究C)

糖尿病心筋におけるアドレナリン作用不全の
分子機構とその臨床的意義

平成元年3月

滋賀医科大学第三内科講師

研究代表者 柏木厚典

| |
|------|
| 集密図書 |
| K |
| SG |
| KAS |

(研究課題番号 62570284)

目 次

| | |
|--|------|
| 1. は し が き | 1 |
| 2. 研 究 発 表 | 2 |
| (1) 学 会 誌 | 2 |
| (2) 出 版 物 | 2 |
| 3. 研 究 成 果 | |
| 糖尿病心筋におけるアドレナリン作用不全の分子機構とその 臨床的意義 —まとめ— | 4 |
| 糖尿病患者における心肥大とうっ血性心不全への進展について | 資料 1 |
| 糖尿病患者における心臓エピネフリン反応性異常について | 資料 2 |
| 糖尿病における心臓交感神経障害の評価法 — エピネフリン点滴静注による 心拍数反応性からの検討 | 資料 3 |
| 単離心筋細胞系の確立 | |
| 正常ラット単離心筋細胞におけるエネルギー代謝の特性 | 資料 4 |
| ストレプトゾトシン糖尿病ラット単離心筋細胞での糖代謝異常 | 資料 5 |
| 単離心筋細胞膜 β -アドレナリン受容体異常について | 資料 6 |

滋賀医科大学附属図書館



1990029860

は し が き

糖尿病患者における心収縮不全は患者の予後決定上重要な要因であるが、その病態の解明のため、心筋代謝異常及び血管障害の面から検討されているが、基礎的検討が困難で、その特異的な病態の診断基準及び治療法は依然として確立していない。

そこで本研究では、まず (1)糖尿病患者で慢性うっ血性心不全がどれくらいの頻度で存在するかを当科入院糖尿病患者について検討した。(2)糖尿病患者における早期心機能異常の診断法として心不全症状のない時期に β -アドレナリン刺激薬に対する inotropic 作用と chronotropic 作用異常の有無を検討した。(3)次に心筋アドレナリン作用不全の機構を明らかにするために、糖尿病ラットにおける心筋細胞膜分画及び単離心筋細胞 β -アドレナリン受容体及びその情報伝達系異常を明らかにし、その異常のインスリン治療による可逆性を検討した。

研究組織

研究代表者 柏木厚典（滋賀医科大学第三内科）
協同研究者 西尾善彦，紀田康雄，児玉光顕，寺田雅彦，
阿部奈々美（滋賀医科大学第三内科）
佐伯行一（滋賀医科大学実験実習機器センター）

研究経費

| | |
|--------|----------|
| 昭和62年度 | 1,200 千円 |
| 昭和63年度 | 500 千円 |
| 計 | 1,700 千円 |

研 究 発 表

(1) 学 会 誌

1. Saeki Y., Kashiwagi A., Uehara N.: Effect of Insulin on the Glucose Utilization in Isolated Cardiac Myocytes from Adult Rat.
J Biochem 101: 977-985, 1987
2. Kashiwagi A., Saeki Y., Harano Y., Shigeta Y.: Transport and post-transport abnormalities of glucose metabolism in cardiocytes isolated from streptozotocin-induced diabetic rats.
Diabetes Res Clin Practice 4: 51-59, 1987
3. 西尾善彦, 柏木厚典, 寺田雅彦, 畑中行雄, 吉川隆一, 原納優, 繁田幸男: 糖尿病患者における心臓のエピネフリン反応性異常について
糖尿病 30: 411-417, 1987
4. 寺田雅彦, 安田斎, 柏木厚典, 西尾善彦, 畑中行雄, 山下真木夫, 宮本泰文, 吉川隆一, 繁田幸男: 糖尿病における心臓交感神経障害の評価法 — エピネフリン点滴静注による心拍数反応性からの検討 —
自律神経 24: 451-456, 1987
5. Nishio Y., Kashiwagi A., Kida Y., Kodama M., Abe N., Saeki Y., Shigeta Y.: Deficiency of cardiac β -adrenergic receptor in streptozocin-induced diabetic rats.
Diabetes 37: 1181-1187, 1988.
6. A. Kashiwagi., Y. Nishio., Saeki Y., Kida Y., Kodama M., Shigeta Y.
Plasma membrane-specific deficiency in cardiac β -adrenergic receptor in streptozocin-induced diabetic rats. Diabetes 37 (85A) 1988
7. 阿部奈々美, 柏木厚典, 紀田康雄, 西尾善彦, 児玉光顕, 田中逸, 繁田幸男
糖尿病患者のうっ血性心不全—9年間の入院患者606例での検討—
糖尿病 (印刷中) 1989.
8. Kashiwagi A., Nishio Y., Saeki Y., Kida Y., Kodama M., Shigeta Y. Plasma membrane-specific deficiency in cardiac β -adrenergic receptor in streptozocin-diabetic rats.
Amer. J. Physiol. (In Press) 1989.

(2) 出 版 物

9. 柏木厚典, 佐伯行一, 繁田幸男
“糖尿病ラット単離心筋細胞におけるエネルギー代謝について”
糖尿病と心臓障害(2) 杉本恒明, 永野允, 垂井清一郎編
PP 159-167, 医歯薬出版株式会社 1987
10. 柏木厚典, 阿部奈々美, 紀田康雄

“糖尿病患者における心肥大とうっ血性心不全への進展について”

糖尿病記録号 1988

長期の血糖コントロールと合併症 前澤秀憲編

PP 217-221, 医学図書出版株式会社 1988

11. 柏木厚典, 繁田幸男

“糖尿病(10): 糖尿病とうっ血性心不全—糖尿病性心筋症の病態と治療—”

PP 43-46, 日本医事新報 1987

12. 柏木厚典

“糖尿病性心筋症と思われる一症例”

糖尿病実地診療と病態解析 原納優編

新薬と治療 37 PP 37-40. 1987.

13. Nishio T, Kashiwagi A, Terada M, Kida Y, Hatanaka I, Shigeta Y: The effect of cardiac contractile response to epinephrine infusion in subjects with diabetes mellitus. Excerpta Medica (Amst) BEST APPROACH TO THE IDEAL THERAPY OF DIABETES MELLITUS 459-462, 1987

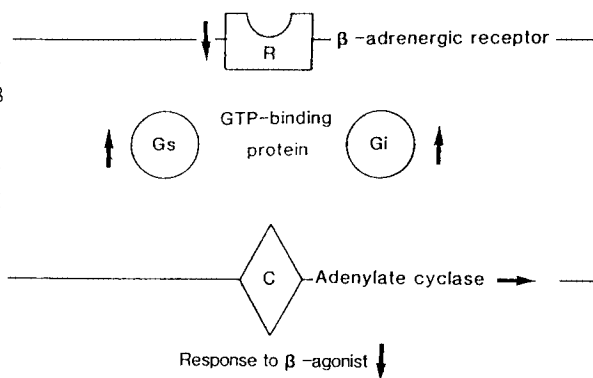
14. Terada M, Yasuda H, Kashiwagi A, Nishio Y, Hatanaka I, Yamashita M, Miyamoto Y, Kikkawa R, Shigeta Y,: Sympathetic nerve dysfunction and increased heart rate response to epinephrine in diabetic patients. Excerpta Medica (Amst) BEST APPROACH TO THE IDEAL THERAPY OF DIABETES MELLITUS 497-500, 1987

研 究 成 果

糖尿病心筋におけるアドレナリン作用不全の分子機構とその臨床的意義……まとめ……

図1

Abnormalities in β -Adrenergic signaling System in Diabetic Rats



1. 近年糖尿病患者における心血管障害は死因の半数を占め、その重要性が指摘されている。有名な Framingham 研究 (Kannel et al. Am. J. Cardiol 34: 29, 1974) によると、糖尿病患者でのうっ血性心不全の発症頻度は、非糖尿病患者に比較して男性で 3.8 倍、女性で 5.5 倍高値で、糖尿病に特有な心機能障害が示唆された。発表論文 7, 10 に示すごとく、9 年間に我々の内科に入院した糖尿病患者における心拡大 (CTR 50% 以上) の頻度は 9.9% で、更にうっ血性心不全の頻度は入院糖尿病患者の男性で 3%、女性で 8.5% であった。

2. 糖尿病患者に心カテコラミン反応性異常は存在するか？

In vitro エピネフリン負荷試験を開発し、発表論文 3, 4, 13, 14 に示すごとく、心血管系の異常を認めない 2 型糖尿病患者において、その糖尿病の罹病期間及び、血糖コントロール状態に依存して心エピネフリン反応性低下が認められた。一方エピネフリンによる心拍数増加作用は糖尿病で有意に増加し、起立性低血圧症を有する患者では特にその増加が顕著であった。

3. 糖尿病における心筋カテコラミン反応性低下機構を明らかにするためにストレプトゾトシン糖尿病ラットモデルを用いて β -アドレナリン作用の情報伝達機構の異常を検討した。(発表論文 5, 6.)

糖尿病ラット心筋細胞膜 β -アドレナリン受容体数は対照ラットの 50% に低下した。しかし論文 5 に示すごとく GTP 結合タンパク質の Gs, Gi は共に糖尿病ラット心筋で増加し、一方アデニルシクラーゼ活性は基礎値及び、フォルスコリン最大刺激下の活性は糖尿病と対照ラットで差を認めなかった。但し、 β -アドレナリン受容体作動薬 (イソプロテレノール) によるアデニルシクラーゼ活性化は糖尿病で 56% 低下した。以上の結果を図 1 にまとめたが、糖尿病ラット心筋では β -アドレナリン受容体の特異的低下が認められた。

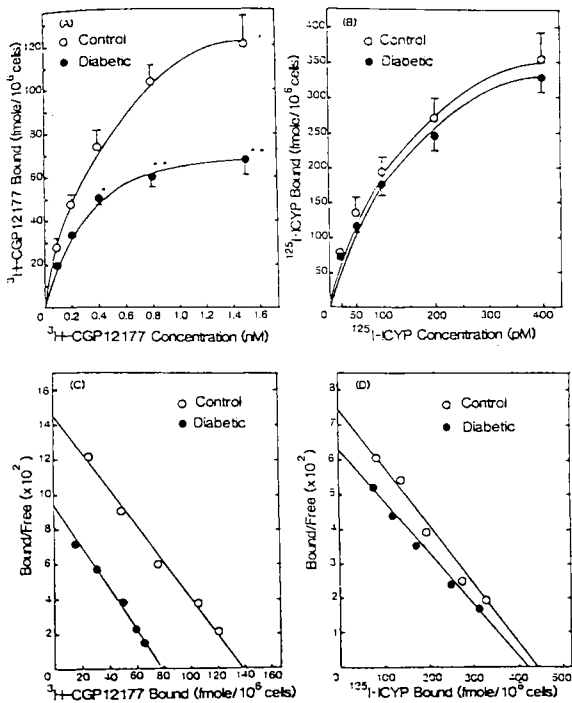
4. 糖尿病ラット心筋 β -アドレナリン受容体の細胞内分布異常の検討

i) 心筋細胞を正常成熟ラットよりコラゲナーゼ法にて単離し、発表論文 1.2.9 に示すごとくインスリン感受性を有する心筋細胞が得られた。又糖尿病ラットより単離した心筋細胞ではインスリン反応性は著明に低下していた。この様な心筋細胞を用いて細胞表面 β -アドレナリン受容体数を水溶性 (^3H) CGP-12177 結合にて、又全細胞 β -アドレナリン受容体数を (^{125}I) ヨードシアノピンドロール (ICYP) を用いて測定した。図 2 に示すごとく糖尿病心筋の β -Ad 受容体異常は全細胞受容体の低下ではなく、細胞表面の機能的 β -Ad 受容体数の低下が認められ、結合の親和性に差を認めなかった。糖尿病ラット心筋 β -アドレナリン受容体の細胞内分布異常を図 3 に模式図で示した。

- ii) 糖尿病ラット心筋細胞膜の β -アドレナリン受容体低下は In vivo インスリン治療により正常化するか？

48 時間の強力なインスリン治療により血中インスリンは $580 \mu\text{U}/\text{ml}$ まで上昇し、血糖値が正常化すると心筋細胞膜 β -アドレナリン受容体は正常値まで改善した。このことからインスリン治療は β -アドレナリン受容体数増加を介して心機能改善効果を示すことが示唆された。

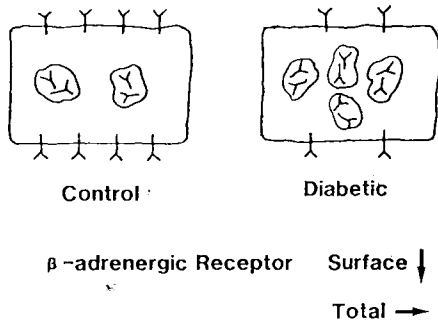
図 2



心筋細胞表面及び全細胞β-アドレナリン受容体量の糖尿病における異常。細胞表面受容体を³H-CGP12177で又全細胞受容体を¹²⁵I-CYPを用いて測定した。

図 3

β-Adrenergic Receptor Redistribution in Cardiocytes Isolated from Diabetic Rats



5. 糖尿病ラット心筋細胞膜β-アドレナリン受容体低下機構の検討
 糖尿病ラット心筋細胞膜β-アドレナリン受容体数低下をきたす因子としては、以下の要因が考えられる。

- a) カテコラミン
- b) 甲状腺ホルモン
- c) 高血糖
- d) 低インスリン血症
- i) 糖尿病ラットのinvivoインスリン治療によりβ-アドレナリン受容体は回復したが、この場合に尿中カテコラミン排泄及び血中T₃レベルに変化はなく、又用いた10週目の糖尿病ラットの尿中カテコラミン排泄と血中T₃レベルは対照正常ラットと差がなかったことから1), 2)の要因は強く関与していないと考えられる。
- ii) 単離心筋細胞に33mMグルコース, 10mMケトン体, 8 nMインスリンを処理したが、表面β-アドレナリン受容体の変化を認めなかった。
- iii) 単離心筋細胞にphorbol12-myristate 13-acetateを処理すると膜表面β-アドレナリン受容体が15%改善したことから、受容体の細胞内プールより膜表面への転送にC-キナーゼが関与する可能性が示唆された。
- iv) β-アドレナリン刺激(イソプロテレノール)による“down regulation”とそれからの回復の異常について。

図 4

Isoproterenol-induced Down Regulation and Its Recovery of Cell Surface β-adrenergic Receptor in Control and Diabetic Cardiocytes

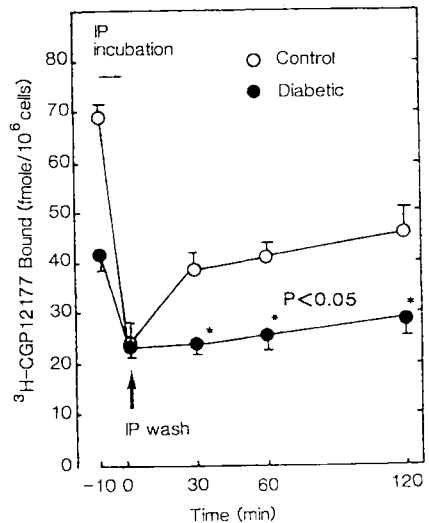


図4に示すごとく、イソプロテレノール処理にて心筋細胞表面β-アドレナリン受容体は糖尿病ラット細

胞では正常細胞より down regulationを受けにくく又、down regulation よりの受容体の回復も糖尿病ラットの方が有意に少なかった。以上のことから、糖尿病ラット心筋細胞膜 β -アドレナリン受容体数の低下の原因として受容体の細胞内分布異常、特に細胞内より表面への受容体転送異常が重要であることが示された。その異常はインスリン治療により可逆性であることから、糖尿病患者の心機能低下におけるインスリン治療の臨床的意義が明らかになった。更に今後 β -アドレナリン受容体の細胞表面への転送調節機構の解明が、糖尿病心筋での異常機構を明らかにする上で重要である。