

総説

糖尿病合併症において血管平滑筋細胞機能に影響する因子

野部 浩司

城西大学 薬学部 薬学科 生理学講座

要 旨

糖尿病患者数は世界中で3億6000万人にのぼるとされ、特にインスリン非依存性糖尿病 (non-insulin dependent diabetic mellitus; NIDDM) 患者の増加が問題視されている。このNIDDM患者にとって血糖値コントロールに加えて糖尿病合併症対策が必須であることが広く認識されている。糖尿病の神経障害、網膜症、腎症などの主要な合併症の発症に関しては、それぞれの組織を走行する微小な抵抗血管の機能異常が深く関与していることが示唆されている。この血管機能異常に関しては、血管内腔を覆う内皮細胞 (endothelial cells; EC) に関する検討が先行しており、糖尿病病態下における EC 由来血管弛緩因子 (一酸化窒素および内皮依存性過分極因子) の機能低下が一因であるとされている。この機能低下が、血管の持続的な過収縮状態を引き起こすとされている。一方、血管トーンスの発生・維持に関与する血管平滑筋細胞に関しては、糖尿病による直接的な影響を受けることが予想されており、それは EC を除去した平滑筋標本の収縮応答が糖尿病病態下で変化するとの知見から裏付けられている。しかしながら、その詳細については不明な点が多く残されている。本総説では、糖尿病病態下において変化する因子として (1) EC 機能, (2) glucose 濃度, (3) insulin 濃度, (4) adiponectin, (5) 血管周辺脂肪組織由来の因子, および (6) 細胞増殖因子を取り上げ、これら因子が血管平滑筋細胞にどのように影響し、合併症発症に関与するかについて概説する。

キーワード：アディポネクチン、糖尿病、内皮細胞、インスリン、血管機能障害、血管平滑筋

はじめに

近年、様々なメディアを通じて糖尿病患者数の増加が伝えられている。厚生労働省による 2008 年の調査によると、糖尿病と診断され継続的に治療を受けている患者数は237万人にのぼり、国内の総入院患者数の約16%、外来患者の9.3%が何らかの糖尿病治療を受けている。この値は、2005年に行われた調査結果(246万人)とほぼ同等のレベルで推移している。さらに、糖尿病であるが治療を受けていない、あるいは強く疑われる人数を含めた日本の総糖尿病人口は2008年で1,067万人と推定されており、この数は世界ランキングの第六位に位置する数である。ちなみに、第一位は中

国(9,000万人)、第二位がインド(6,013万人)となっており、これら両国は、第三位の米国(2,370万人)を大きく引き離して爆発的な患者数増加を示している。日本は世界的に見ると六番目の糖尿病人口であるが、成人のおよそ10人に1人が発症している割合であり、決して楽観視することはできない。それでは、糖尿病はなぜこれほど社会的注目を集める疾患なのか？ 実際の糖尿病による死亡者数は2011年の一年間で14,664人である。これは死因別疾患割合第一位の悪性新生物(癌: 357,305人)、第二位の心血管障害(194,926人)と比較するとわずかな数であるように感じられる。しかしながら糖尿病は、心血管障害だけでなく、脳血管障害や高血圧症、高脂血症など死因の上位

を占める深刻な疾患を引き起こす原因となる基礎疾患である。つまり、糖尿病による直接的な死亡者数は少ないものの、糖尿病を原因として上記のような様々な疾患を発症し、それにより死亡するといった統計上の数値に現れない糖尿病による死亡者数が多数存在しているのが現実である。まさに「糖尿病は万病の元」といえる。

糖尿病は、「インスリンの分泌不足あるいは作用不足により慢性的に血糖値が上昇し、様々な組織異常を引き起こす疾患」とであると定義されている。しかしながら、糖尿病による血糖値の上昇を患者は全く自覚することができない。つまり、血糖値が上昇しても見かけ上「通常の生活」を続けることができ、患者が苦痛を感じることはないのである。むしろ実際に糖尿病患者にとって辛いのは糖尿病により引き起こされる「合併症」と呼ばれる二次的な疾患群の発症である。つまり、(血糖コントロールは必須であるが)合併症発症を回避・改善することができれば、糖尿病患者の QOL は飛躍的に向上することになる。糖尿病合併症に関しては、古くから「三大合併症」と呼ばれる神経障害、網膜症、腎症が糖尿病患者に高い割合で発症する代表的な合併症とされている。神経障害では、末梢の神経組織およびその周辺の微小血管が機能不全をおこし、血流障害を引き起こすにより壊疽を生じる。この壊疽は手足の先など四肢の先端部分で多く認められ、増悪すると切断を余儀なくされる。事故・災害など大きなアクシデント以外で成人が四肢を切断する最も大きな原因は、この糖尿病神経障害なのである。網膜症では、眼球内で光の情報を像として結び視神経に伝達するための網膜が糖尿病により機能不全を起こす。特に、網膜上の細い血管の機能が障害され、異常な血管新生により網膜上に破れやすい不要な血管が縦横無尽に作られてしまう。これにより網膜が本来の機能を維持することができなくなり最終的には失明に至る。日本における成人の失明原因の第一位は長い間糖尿病網膜症であった(現在は緑内障に次いで二位)。腎症に関しては、本来血液を濾過して老廃物を排出するための腎臓内の微小な血管が糖尿病により障害を起こし、腎臓としての機能が

維持できなくなることにより発症する。重篤化すると人工透析の導入が必要となり、新たな人工透析導入の原因第一位も糖尿病腎症である。これらのように三大合併症が引き起こす、四肢切断、失明、人工透析導入は、いずれか一つだけでも患者にとって大きな負担となる。しかしながら合併症対策が円滑に行われないと、さらに複数の合併症が併発することも珍しくない。また、三大合併症には含まれないものの呼吸器系、泌尿器系、生殖器系に様々な合併症が引き起こされることも知られている。これら合併症の発症メカニズムを考えると、いずれも組織を走行する末梢の血管機能障害が合併症の発症に深く関与していることが分かる。糖尿病で広く知られている大血管障害(冠血管や脳血管の動脈硬化症など)と併せて、糖尿病合併症は“血管の疾患”であるといえる。

これらのことを背景に、糖尿病合併症の発症メカニズム解明や新たな治療法の確立が多くの研究グループにより進められており、糖尿病時の「血管機能障害」の原因を解明し正常化することができれば、糖尿病合併症を克服することができるのではないかと期待されている。現在までに蓄積した糖尿病病態下における血管機能障害に関する知見では、血管内腔を覆う血管内皮細胞 (endothelial cells; EC) の機能障害についての検討が特に先行している。詳細は後述するが、糖尿病による慢性的な血糖上昇が、EC からの一酸化窒素 (NO) や内皮細胞由来過分極因子 (endothelium derived hyperpolarizing factor; EDHF) 分泌を低下させ、これらにより血管平滑筋の弛緩反応減弱を導くことが重要なステップであるとされている。一方、血管緊張の維持・変化を担う血管平滑筋細胞に関しては、EC からの制御が変化するだけでなく平滑筋細胞自身も糖尿病による影響を受けているものと予想される。それは、EC を除去した血管平滑筋組織の収縮応答が糖尿病病態下において変化していることから裏付けられる。しかしながら、その変化の詳細については未だ不明な点が多い。血管平滑筋の機能異常に関して検討が遅れている理由の一つは、EC における機能異常が「弛緩因子の低下による血管

弛緩反応の減弱」という同一の方向性を持った障害として各種糖尿病モデル動物や血管部位で検出されているのに対して、血管平滑筋の異常は、糖尿病モデル動物の種類やコンディションにより血管収縮反応の亢進と低下が別々に検出されることである。さらに血管部位による差異も認められ、多様なパターンが存在することが結果の解釈を難しくしている。従って、血管平滑筋に関しては、それぞれの臓器機能を考慮した意味のある機能障害を抽出し、個々の対策を講じて行かなければならない。

本総説では、糖尿病病態下の血管平滑筋細胞にスポットを当て、現在までの知見を、(1) EC 由来因子による影響、(2) 血糖値上昇による影響、(3) インスリンによる影響、(4) アディポネクチンによる影響、(5) 血管周囲の脂肪組織由来の因子による影響、(6) 増殖因子による影響に分けて概説する。

(1) EC 由来因子による影響

血管組織は、血管内腔を一層に覆う EC 層とその周りを輪状に走行する血管平滑筋細胞層により構成されている。EC は、血液成分と血管平滑筋層を隔てるバリアーとして血管透過性を制御するとともに、血管平滑筋の緊張を制御する因子を産生するという2つの重要な役割を担っている。

EC 層における血管透過性制御に関しては、炎症などの組織障害部位において EC 細胞間の結合タンパク質が消失し、EC 自身も収縮に類似した細胞形態変化(非筋細胞収縮)を引き起こし、敷石状に存在した EC 層に隙間ができることが見出されている¹⁾。これによりバリアー機能が低下し血管透過性が亢進することとなる。糖尿病病態下においては、血糖値上昇によりこれらの反応が過剰に亢進することが見いだされており、これが糖尿病の浮腫や腎臓における血液濾過能低下の一因になると考えられている。このような血管透過性の亢進による組織機能障害は網膜においても認められている²⁾。

一方、EC 由来の血管収縮制御因子としては、NO および EDHF が知られている (Illustration-

1)。NO は EC 細胞膜上に存在するアセチルコリンのムスカリン受容体 (muscarinic receptor; Mus-R) への刺激により細胞内カルシウム濃度上昇を介して一酸化窒素合成酵素 (NO synthase; NOS) が活性化し、アルギニンを基質として産生される。この NO は血管平滑筋に移行し、平滑筋細胞内の cGMP 量を増加させることにより弛緩をひき起こす。正常な状態では、血管平滑筋収縮による持続的な張力発生と、EC による NO 産生を介した弛緩反応のバランスにより血管緊張 (トーン) は維持されている。しかしながら、糖尿病病態下においては血糖上昇や高インスリン血症によりスーパーオキシドアニオン (O_2^-) などの活性酸素が生じ、EC 内の NOS を障害して NO 産生量を低下させる^{3,4)}。併せて、産生された NO 分子に O_2^- が反応すると NO_3^- に変換され、血管弛緩活性は消失してしまう。従って、糖尿病病態下においては NO を介した血管弛緩反応が複合的に減弱する事となる^{5,6)}。さらに、ラット尾動脈では細胞外の糖濃度が上昇すると平滑筋細胞内の cGMP 量増加が抑制されることも報告されている⁷⁾。このような NO 依存的な弛緩反応の減弱は、胸部大動脈や肺動脈だけでなく、脳底動脈などでも認められる⁸⁻¹⁰⁾。EDHF については、EC 膜上の K^+ -channel が中心的な役割を果たしており、Mus-R 刺激による細胞内カルシウム濃度上昇に伴い発生する細胞外への K^+ の流出は、EC 膜の過分極を引き起こす。この過分極シグナルは、EC と血管平滑筋細胞間で形成されている Gap junction (myoendothelial junction) を介して血管平滑筋細胞に伝えられて過分極状態を引き起こす。このため、平滑筋細胞は通常の収縮性刺激では収縮反応を誘発・維持することが難しくなり、結果として血管弛緩反応へと導かれる^{11,12)}。この EDHF による弛緩反応も、糖尿病病態下における glucose やインスリン濃度上昇を介した EC 障害により抑制されることが報告されている^{13,14)}。このような EC 由来の弛緩因子による血管トーン制御は、大動脈など大量血液輸送のための血管組織では NO が主要な役割を果たし、末梢の微小血管組織では EDHF が主要な役割を果たすとされ

ており、いずれの血管部位においても糖尿病病態下では血管平滑筋弛緩反応シグナルが減弱することとなる。そのため、血管組織は慢性的な過剰収縮状態(拘縮)となり、糖尿病合併症につながる血流障害を引き起こす原因となる。このほか、EC から遊離する prostaglandin I₂ などのアラキドン酸代謝物も血管トーンに影響を与えていると考えられている¹⁵⁾。現在、糖尿病による血糖上昇やインスリン濃度の変化が酸化ストレスや細胞内の情報伝達系をどのように変化させてEC機能障害を引き起こすか、その詳細について検討が進められている。特に糖尿病合併症の発症に関わる血管平滑筋の機能異常を解明してゆく過程では微小血管に与える影響が大きいとされるEDHFに関する知見が重要になると思われる。

(2) 血糖値上昇による影響

糖尿病において血糖値の上昇は最も典型的な変化である。糖化ヘモグロビン(HbA_{1c})が重要な診断マーカーとされる今日においても空腹時血糖は重要な指標の一つである。糖尿病合併症を引き起こす原因の一つとしてこの慢性的に増加した血糖値、つまり glucose 濃度上昇が挙げられる。血液中あるいは細胞間質液中で増加した glucose がどのようにして血管平滑筋機能に影響を与えるのであろうか? そのメカニズムとしては2つの可能性があり、細胞外の別の因子と連動して血管平滑筋に影響する場合と、glucose が細胞内に直接取り込まれて機能変化を引き起こす場合が考えられる。

細胞外で glucose 濃度が上昇したことによる直接的な影響を評価するために、血管平滑筋の収縮応答を通常の glucose 濃度(約11mM) から2~3倍に増加させた高糖濃度条件下で測定すると、冠動脈¹⁶⁾ や腎臓内部の血管¹⁷⁾、門脈(静脈)¹⁸⁾ などのいくつかの血管部位で収縮応答が有意に上昇することが知られている。これは、糖尿病モデル動物由来の血管標本における収縮応答が促進するという報告¹³⁾ と一致した知見である。一方、糖尿病モデルマウス由来の腸間膜動脈収縮は有意に低下しており、細胞外糖濃度変化に対する応答性

も消失していることが報告されている¹⁹⁾。このような高糖濃度条件下での血管収縮変化に関しては、glucose がタンパク質と非酵素的に結合したアマドリ化合物の影響が考えられる(Illustration-1)。糖尿病マーカーの一つであるHbA_{1c} もこのアマドリ化合物であり、この化合物はさらにいくつかの中間物を経て糖化最終産物(advanced glycation endproduct; AGE)へと変化する。このAGEは、EC や血管平滑筋細胞表面の受容体に結合し、O₂⁻などの活性酸素を産生する。このO₂⁻は前述のようにNOを失活させて血管弛緩反応を減弱させる。さらに O₂⁻を消去する役割を担う superoxide dismutase (SOD)は、glucose と結合すると失活してしまうことから、高糖濃度状態が持続すると加速度的に酸化ストレスが増加することとなる²⁰⁾。このような血管組織周辺での酸化ストレスの増加は、コレステロールや脂質の酸化を介して動脈硬化を引き起こす大きな要因となる²¹⁾。さらに AGE は、NF κ B などの転写因子活性を増加させ、血管平滑筋の増殖・分化誘導を引き起こす²²⁾。これら glucose 濃度上昇が引き起こす現象が複合して血管平滑筋収縮の亢進に結びつくものと考えられている。糖尿病病態下において収縮低下現象が認められたマウス腸間膜動脈においても、糖尿病初期は収縮亢進が認められた可能性も否定できず、その後に平滑筋細胞の増殖や動脈硬化などにより血管応答性が低下したのではないかと推測される。

次に glucose が血管平滑筋細胞内に与える影響に関しては、細胞膜表面の糖鎖やタンパク質への glucose 結合が細胞内に情報として伝えられたり、glucose transporter type-4 (GLUT4)により細胞内へ取り込まれた glucose が影響すると考えられる。糖尿病モデル動物や高糖濃度処理時の血管平滑筋細胞内の変化としては、収縮反応のカルシウム感受性を制御する因子の一つである rho-rho kinase 経路の活性化や²³⁾、protein kinase C (PKC)の活性上昇^{19, 24)} などが報告されている。さらに plasminogen activator inhibitor-1²²⁾ や、tumor necrosis factor α (TNF α)^{25, 26)} の発現増加、rho-rho kinase 経路の活性化²⁷⁾ など血管

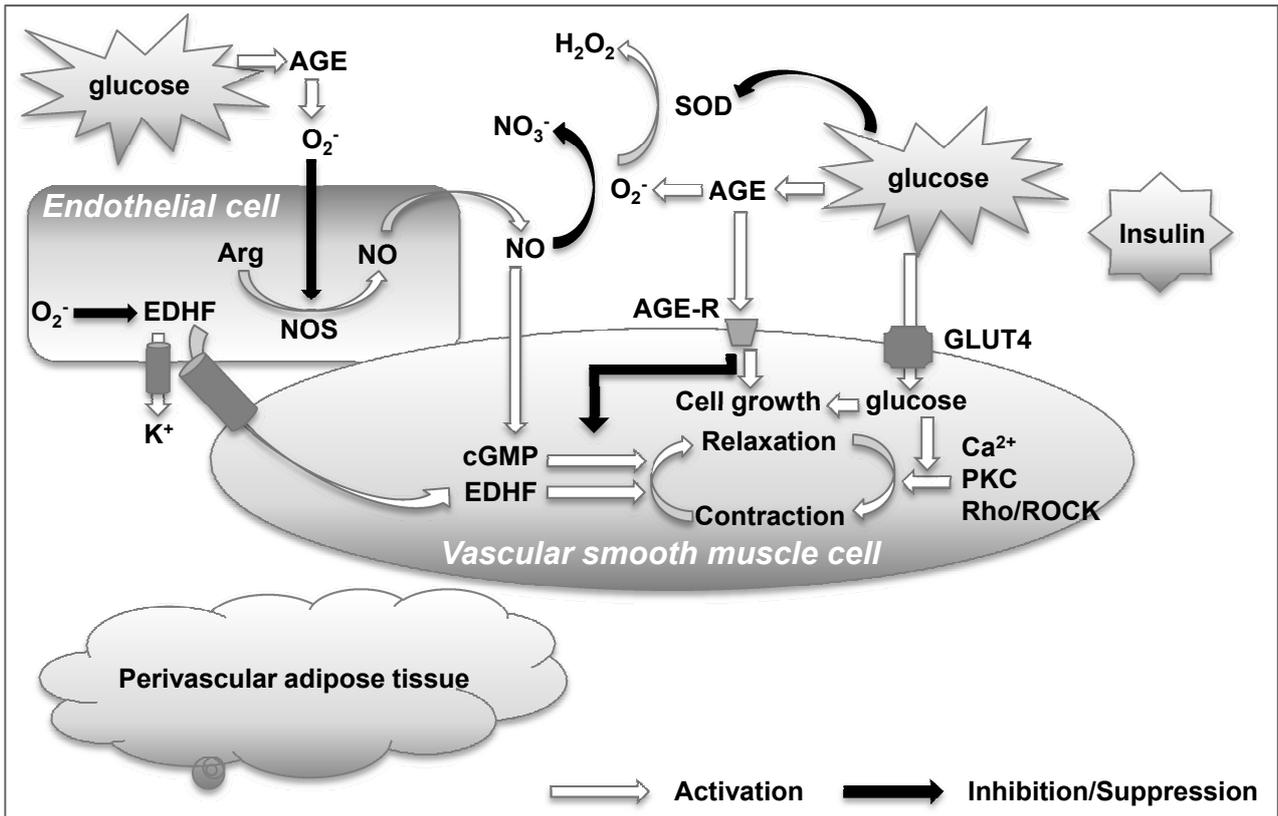


Illustration-1

平滑筋細胞の分化・増殖を増加させる因子が多く増加することも報告されている²⁸⁾。

以上の知見より、血糖上昇による glucose の慢性的な上昇は、直接・間接的に血管平滑筋に作用し、酸化ストレスによる血管収縮反応亢進を引き起こすだけでなく、慢性化することにより平滑筋細胞増殖による血管組織肥厚と弾力性の低下や発生張力変化を引き起こすと考えられる。今後は、糖尿病病態の進行に伴い血管平滑筋機能が経時的にどのように変化して行くかを明らかにし、血管状況に応じた対策を考えて行く必要がある。

(3) インスリン上昇による影響

インスリンは、血糖値を下げることのできる唯一のホルモンである。このインスリンが遺伝的要因などにより若年から産生・分泌できなくなってしまうのが1型糖尿病である。このため、1型糖尿病ではインスリン投与が必須となる。一方、成人以後に発症する2型糖尿病は、病態の進行に依存してインスリン分泌量が変化する。糖尿病発症初期ではインスリンの量的不足よりも、むしろイン

スリンが正常量分泌されているにも関わらず血糖値が下がらない、いわゆるインスリン抵抗性が生じる。生体は、通常のインスリン分泌量で十分な血糖降下(組織への glucose の分配)が得られないことから、段階的にインスリン分泌量を増加させ、膵臓が産生しうる最大量までインスリンの産生・分泌を促進する。この状態を高インスリン血症といい、インスリン抵抗性2型糖尿病患者の特徴的な現象となる。さらに2型糖尿病の病態が進行すると膵臓の疲弊が起これ、次第にインスリン分泌量が低下し、最終的には枯渇(インスリン産生能の消失)してしまう。この最終状態は1型糖尿病に類似しており、外部からのインスリン補充が必須となる²⁹⁾。

インスリンは血糖調節ホルモンとして機能するが、その受容体は生体内に広く分布しており、細胞増殖や脂質合成など様々な生理活性を示す (Illustration-2)。インスリン受容体の活性化は、insulin receptor substrate type-1 (IRS1) や type-2 (IRS2)、phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K) などいくつかのシグナル分子を介して

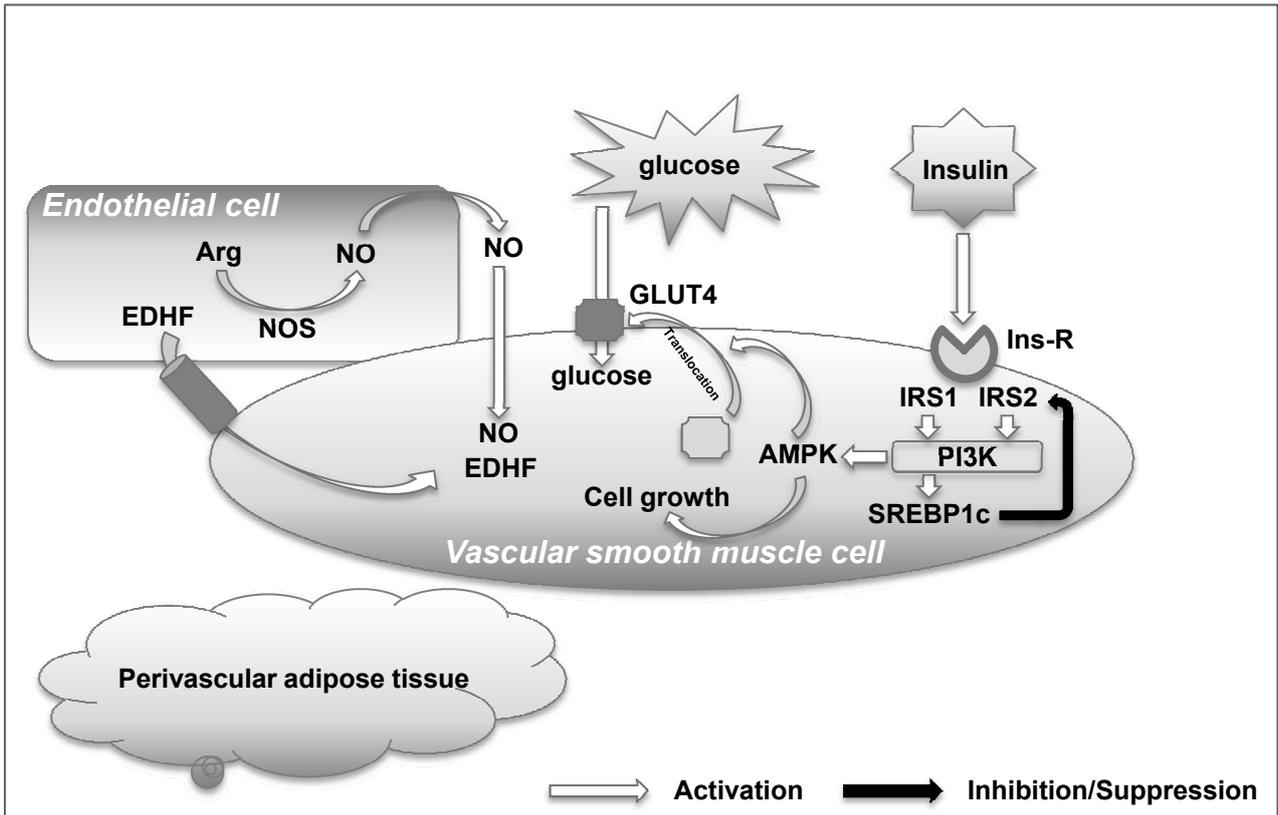


Illustration-2

sterol-regulatory element binding protein 1c (SREBP1c) などの転写因子を産生する³⁰⁾。この SREBP1c は、脂肪酸合成酵素の発現を促進する(糖尿病で脂肪酸合成が促進する原因)と同時に IRS2 発現を抑制する効果を示す。従って、高インスリン血漿が持続するとインスリン刺激を仲介するための IRS2 量が低下し、インスリンの作用が現れにくくなる³¹⁾。これがインスリン抵抗性メカニズムのひとつであると考えられている。このようにインスリン抵抗性が亢進するとインスリンへの感受性がさらに低下すると共に、高インスリン血漿による血糖降下以外の様々な生理活性が過剰に発現することとなる。従って、高インスリン血症状態の患者にインスリン投与の追加のみで治療を行うことは望ましくない。そのため、既存のインスリン作用を増幅させるような、いわゆるインスリン抵抗性改善効果をもった医薬品の開発が盛んに進められている。

インスリンが血管平滑筋細胞に与える影響についてはあまり明らかとされていないが、インスリン処理により血管平滑筋細胞の増殖が促進され

ることが知られている^{32, 33)}。血管平滑筋の過剰な増殖は、平滑筋層の肥厚を引き起こすこととなり、自律神経や内皮細胞による収縮・弛緩シグナルへの応答性が低下する。さらに平滑筋層の肥厚は血管内腔を狭める結果となり、血流が妨げられるだけでなく血液成分の接着や血栓形成の原因となる。また、インスリン投与により血管部位の石灰化が促進するとの報告もある³⁴⁾。この他に、インスリンが血管平滑筋に影響する可能性としては、インスリン受容体への結合により細胞膜表面の α_2 -adrenaline receptor の機能変化や³⁵⁾、Akt リン酸化³⁶⁾、カルシウムチャネルの活性変動³⁷⁾などが指摘されているが全容は明らかとなっていない。糖尿病治療においてインスリンは重要な柱の一つとなるが、過剰なインスリン投与は血糖低下以外に血管組織に少なからず影響を与えることを十分に考慮することが求められる。

(4) アディポネクチンによる影響

アディポネクチン (adiponectin; Adip) は、脂肪細胞より分泌されるサイトカインの一種であ

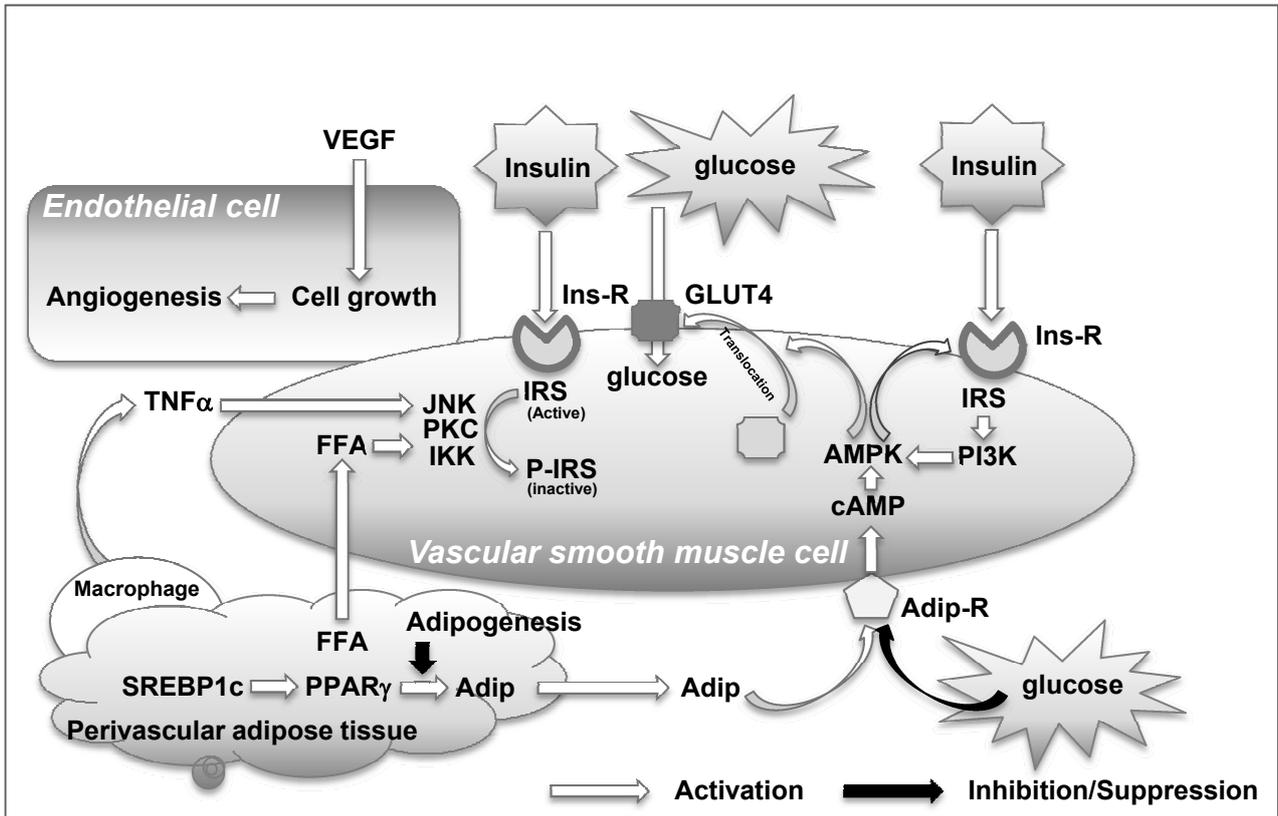


Illustration-3

り、抗糖尿病因子として注目を集めている³⁸⁾。脂肪細胞における Adip 産生には、peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) が関与しており、長鎖脂肪酸、エイコサノイドなどの PPAR γ アゴニストによる刺激により Adip を産生する (Illustration-3)。この Adip は、正常状態で血中に 2~5 μ M という高い濃度で存在しているが、肥満などによる脂肪細胞の肥大化が起ると酸化的ストレスを受けて分泌量が減少するという特徴を有している。従って、血中 Adip 濃度の低下は、糖尿病発症リスクを評価する一つの目安と考えられる。分泌した Adip のエフェクターは特異的な受容体 (Adip-receptor; Adip-R) であり、2種以上が生体内に広く分布している。骨格筋や肝臓細胞などにおいて Adip-R への Adip 結合は、細胞内で cAMP および cAMP-dependent protein kinase (AMPK) 活性を上昇させ、これによりインスリン受容体の感受性が上昇したり (インスリン抵抗性の改善)、細胞質内の glucose transporter 4 (GLUT4) を形質膜へ移動させることにより細胞内への glucose 取り込み

を促進する効果を示すことが明らかとなっている³⁹⁾。これらの効果はいずれも糖尿病を改善する効果であることから、Adip は内因性抗糖尿病因子として注目されている⁴⁰⁾。このように魅力的な作用を示す Adip であるが、血管組織に対しては、平滑筋増殖を抑制する可能性や⁴¹⁾、動脈硬化の発症リスクを軽減することが指摘されているものの⁴²⁾、血管平滑筋収縮応答に対する直接的な効果については明らかとされていない。我々の研究グループは、Adip 遺伝子改変マウス由来の血管組織を用いて、血中 Adip 濃度の低下が血管平滑筋収縮を亢進する可能性があることを見いだしている (投稿準備中)。しかしながら、その詳細についての検討は開始されたばかりである。血管平滑筋細胞に Adip-R が存在することは我々により確認されていることから (未発表データ)、生理的な環境下においても血管平滑筋は Adip により何らかの制御を受けていると予想され、今後検討を進めるべき点であると認識している。近年、高糖濃度条件下において Adip-R の発現が低下することが報告されていることから⁴³⁾、血管平滑筋の Adip-R

とその下流シグナルについても解明が期待される。さらに、脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインとして、Adip以外にもビスファチンやオメンチンなど複数の新たな分子が見いだされている⁴⁴⁾。これらについても糖尿病病態下の血管機能との関連性が明らかになることが期待される。

(5) 血管周辺脂肪細胞由来の因子による影響

脂肪細胞は脂肪酸という貯蔵型のエネルギーを貯めておくための単なる保管庫であるとされてきたが、前述のAdipをはじめ多くの生理活性物質を分泌する分泌細胞であるとの認識が定着するようになってきた⁴⁵⁾。特に、血管組織周辺の脂肪組織 (perivascular adipose tissue) は、その分泌物質が直接血管機能に影響を与えることが予想され、その解明が求められている⁴⁶⁾。

脂肪細胞由来の分子として遊離脂肪酸 (free fatty acid; FFA) が知られている (Illustration-3)。このFFAは、燃焼によりエネルギー源として各種細胞で利用されるが、その他にprotein kinase C や I κ B kinase (IKK) 活性化を介して IRS1 およびIRS2のリン酸化を促進することが知られている。このPKCやIKKによるIRSのリン酸化は、通常のインスリンシグナルによるリン酸化部位とは異なるため、インスリンによる GLUT4 の膜への移行作用などが阻害されることとなる。従ってFFAの増加はインスリン抵抗性を示す一因となる^{47, 48)}。さらに、肥大化した脂肪細胞はマクロファージに作用し、TNF α の分泌を促進する。このTNF α も受容体結合および c-Jun amino-terminal kinase (JNK) 活性化を介して IRS1 およびIRS2をリン酸化する。FFAと同様にTNF α によりリン酸化されたIRSは、インスリンシグナルを伝達することができなくなる^{49, 50)}。このように血管周辺で肥大化した脂肪細胞からは、インスリン抵抗性を引き起こすような FFA や TNF α が分泌され、糖尿病の増悪および合併症の発症に寄与することとなる。さらに、強力な血管収縮効果を示す angiotensin II の前駆体である angiotensin I を産生するアンギオテンノーゼンは、肝臓のみから分泌されるとされていたが、

肥大化した脂肪細胞からも分泌されることが明らかとなり、肥満を伴う糖尿病におけるレニン-アンギオテンシン系の活性上昇をもたらす重要な昇圧機構であると考えられている⁵¹⁾。一方、脂肪細胞が分泌するレプチンは、食欲中枢に作用して満腹であることを伝えるシグナルとして機能しているが、末梢では Adip と同様にインスリン抵抗性を改善する効果があることが知られている⁵²⁾。

血管周辺を取り巻くように存在する脂肪細胞からは、糖尿病および糖尿病合併症の進行に関連する複数の物質が分泌されることが近年明らかになりつつある⁵³⁾。血管平滑筋に対する効果については不明な点が多く残されているが、これらの中で血管機能に特異的に作用する因子が見い出されれば、合併症の治療ターゲットになり得るのではないかと考えられる。

(6) 増殖因子による影響

インスリンは血糖降下作用だけでなく血管平滑筋細胞を含む種々の細胞増殖を引き起こす増殖因子であることをこれまでに述べてきた。また、慢性的な血糖上昇も AGE 産生を介して血管平滑筋の分化・増殖を促進することにも触れた。さらに、糖尿病病態下における血管平滑筋の増殖は、平滑筋層の肥厚や収縮応答性変化をもたらすだけでなく、血管新生にも関与する。血管新生においては、始めに EC が管腔構造を形成し、それに続いて血管平滑筋増殖が起こり安定した新生血管となる。この血管新生の影響を受けやすいのが三大合併症のうちの網膜症である。網膜における血管新生を最も強力に誘発するとされているのが、血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) である (Illustration-3)。この VEGF は EC 表面の VEGF receptor に結合し、EC の基底膜への浸潤を引き起こして新たな管腔構造を形成して血管平滑筋増殖を伴う新生血管の引き金となる⁵⁴⁾。従って、VEGF 抗体を用いることにより VEGF の作用を阻害して糖尿病網膜症の発症・進行を妨げる治療が行われている⁵⁵⁾。この他の合併症に関しても、糖尿病神経障害で発生する壊疽が血管障害による血流不全により引き起

こされることから、増殖因子を用いることにより血管新生を促進して組織に血液を供給させるための治療も試みられている⁵⁶⁾。

これら以外にも糖尿病病態下において増殖因子が血管機能に影響する可能性がいくつか挙げられており、糖尿病病態下の冠血管応答に内皮細胞由来増殖因子が関与する可能性や⁵⁷⁾、高血糖が insulin-like growth factor-1 (IGF-1) による Src 活性化を引き起こすことも報告されている。さらに、血管収縮を制御する細胞内カルシウム動態に transforming growth factor β (TGF β) が関与することも指摘されている。

糖尿病病態下においては様々な増殖因子活性が変化している。これらにより血管機能も影響を受けていることが近年明らかとなってきた。VEGF を用いた合併症対策のように増殖因子活性を人為的にコントロールすることにより合併症を治療する新たなアプローチが今後注目されることになるだろう。

まとめ

糖尿病治療における合併症対策は、血糖コントロールと併せて治療の大きな柱の一つであり、その重要性は広く認識されている。この合併症発症における共通の障害である微小血管の平滑筋収縮障害に関しては、EC障害による二次的な機能変化によるものとされてきたが、実際には本稿で取り上げたような様々な因子の影響を受け、複雑に変化していることが明らかとなってきた。さらに本稿では取り上げなかったが、糖尿病による脂質異常と酸化LDLによる粥状動脈硬化症も血管平滑筋機能に影響を与えることが予想され、血管平滑筋の機能変化を解釈するためには血管周囲の病態環境がどのようになっているかを常に意識しておくことが求められる。

現在、糖尿病合併症対策として進められている「EC機能の正常化」に加えて、今後は、仮にECが機能障害を起こしても「血管平滑筋機能を正常に維持する」ための平滑筋側の方策を新たな戦略として考えて行くべきであろう。本稿では、糖尿病病態下の血管平滑筋機能に関して複数の側面から

考察してきたが、血管平滑筋における合併症対策のターゲットを見いだすための一助となれば幸いである。

References

- 1) Nobe, K., Miyatake, M., Sone, T., et al.: High-glucose-altered endothelial cell function involves both disruption of cell-to-cell connection and enhancement of force development. *J Pharmacol Exp Ther.* 318, 530-539 (2006)
- 2) Sugiyama, T., Kobayashi, M., Kawamura, H., et al.: Enhancement of P2X (7) - induced pore formation and apoptosis: An early effect of diabetes on the retinal microvasculature. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 45, 1026-1032 (2004)
- 3) Su, J., Lucchesi, P.A., Gonzalez-Villalobos, R.A., et al.: Role of advanced glycation end products with oxidative stress in resistance artery dysfunction in type 2 diabetic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 28, 1432-1438 (2008)
- 4) Feletou, M., Rasetti, C. and Duhault, J.: Magnesium modulates endothelial dysfunction produced by elevated glucose incubation. *J Cardiovasc Pharmacol.* 24, 470-478 (1994)
- 5) Kamata, K., Miyata, N. and Kasuya, Y.: Involvement of endothelial cells in relaxation and contraction responses of the aorta to isoproterenol in naive and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 249, 890-894 (1989)
- 6) Nava, P., Collados, M.T., Masso, F., et al.: Endothelin mediation of insulin and glucose-induced changes in vascular contractility. *Hypertension.* 30, 825-829 (1997)
- 7) Hamaty, M., Guzman, C.B., Walsh, M.F., et al.: High glucose-enhanced acetylcholine stimulated cgmp masks impaired vascular

- reactivity in tail arteries from short-term hyperglycemic rats. *Int J Exp Diabetes Res.* 1, 69-79 (2000)
- 8) Abiru, T., Kamata, K., Miyata, N., et al.: Differences in vascular responses to vasoactive agents of basilar artery and aorta from rabbits with alloxan-induced diabetes. *Can J Physiol Pharmacol.* 68, 882-888 (1990)
 - 9) Sikorski, B.W., James, G.M., Glance, S.D., et al.: Effect of endothelium on diabetes-induced changes in constrictor responses mediated by 5-hydroxytryptamine in rat aorta. *J Cardiovasc Pharmacol.* 22, 423-430 (1993)
 - 10) Lu, X., Bean, J.S., Kassab, G.S., et al.: Protein kinase c inhibition ameliorates functional endothelial insulin resistance and vascular smooth muscle cell hypersensitivity to insulin in diabetic hypertensive rats. *Cardiovasc Diabetol.* 10, 48 (2011)
 - 11) Barton, M.: Obesity and aging: Determinants of endothelial cell dysfunction and atherosclerosis. *Pflugers Arch.* 460, 825-837 (2010)
 - 12) Figueroa, X.F. and Duling, B.R.: Gap junctions in the control of vascular function. *Antioxid Redox Signal.* 11, 251-266 (2009)
 - 13) Vanhoutte, P.M., Feletou, M. and Taddei, S.: Endothelium-dependent contractions in hypertension. *Br J Pharmacol.* 144, 449-458 (2005)
 - 14) Tsai, S.H., Hein, T.W., Kuo, L., et al.: High glucose impairs EDHF-mediated dilation of coronary arterioles via reduced cytochrome P450 activity. *Microvasc Res.* 82, 356-363 (2011)
 - 15) Goya, K., Otsuki, M., Xu, X., et al.: Effects of the prostaglandin I₂ analogue, beraprost sodium, on vascular cell adhesion molecule-1 expression in human vascular endothelial cells and circulating vascular cell adhesion molecule-1 level in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 52, 192-198 (2003)
 - 16) Ahmad, J., Hameed, B., Das, G., et al.: Postprandial hypertriglyceridemia and carotid intima-media thickness in north indian type 2 diabetic subjects. *Diabetes Res Clin Pract.* 69, 142-150 (2005)
 - 17) Nobe, K., Nezu, Y., Tsumita, N., et al.: Intra- and extrarenal arteries exhibit different profiles of contractile responses in high glucose conditions. *Br J Pharmacol.* 155, 1204-1213 (2008)
 - 18) Nobe, K., Miyatake, M., Nobe, H., et al.: Novel diacylglycerol kinase inhibitor selectively suppressed an U46619-induced enhancement of mouse portal vein contraction under high glucose conditions. *Br J Pharmacol.* 143, 166-178 (2004)
 - 19) Nobe, K., Hashimoto, T. and Honda, K.: Two distinct dysfunctions in diabetic mouse mesenteric artery contraction are caused by changes in the rho A-rho kinase signaling pathway. *Eur J Pharmacol.* 683, 217-225 (2012)
 - 20) Descorbeth, M. and Anand-Srivastava, M.B.: Role of oxidative stress in high-glucose- and diabetes-induced increased expression of Gq/11 α proteins and associated signaling in vascular smooth muscle cells. *Free Radic Biol Med.* 49, 1395-1405 (2010)
 - 21) Wang, Z., Jiang, Y., Liu, N., et al.: Advanced glycation end-product nepisilon-carboxymethyl-lysine accelerates progression of atherosclerotic calcification in diabetes. *Atherosclerosis.* 221, 387-396 (2012)
 - 22) Jeong, I.K., Oh da, H., Park, S.J., et al.: Inhibition of NF- κ B prevents high glucose-induced proliferation and plasminogen activator

- inhibitor-1 expression in vascular smooth muscle cells. *Exp Mol Med.* 43, 684-692 (2011)
- 23) Xie, Z., Gong, M.C., Su, W., et al.: Role of calcium-independent phospholipase $A_2\beta$ in high glucose-induced activation of rhoA, rho kinase, and CPI-17 in cultured vascular smooth muscle cells and vascular smooth muscle hypercontractility in diabetic animals. *J Biol Chem.* 285, 8628-8638 (2010)
- 24) Yang, J., Han, Y., Sun, H., et al.: (-) - epigallocatechin gallate suppresses proliferation of vascular smooth muscle cells induced by high glucose by inhibition of PKC and ERK1/2 signalings. *J Agric Food Chem.* 59, 11483-11490 (2011)
- 25) Ramana, K.V., Tammali, R., Reddy, A.B., et al.: Aldose reductase - regulated tumor necrosis factor - α production is essential for high glucose - induced vascular smooth muscle cell growth. *Endocrinology.* 148, 4371-4384 (2007)
- 26) Reddy, A.B., Ramana, K.V., Srivastava, S., et al.: Aldose reductase regulates high glucose-induced ectodomain shedding of tumor necrosis factor (TNF)- α via protein kinase C- δ and TNF- α converting enzyme in vascular smooth muscle cells. *Endocrinology.* 150, 63-74 (2009)
- 27) Akiyama, N., Naruse, K., Kobayashi, Y., et al.: High glucose-induced upregulation of rho/rho-kinase via platelet-derived growth factor receptor - β increases migration of aortic smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol.* 45, 326-332 (2008)
- 28) Xie, Z., Su, W., Guo, Z., et al.: Up-regulation of CPI-17 phosphorylation in diabetic vasculature and high glucose cultured vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res.* 69, 491-501 (2006)
- 29) Breen, D.M. and Giacca, A.: Effects of insulin on the vasculature. *Curr Vasc Pharmacol.* 9, 321-332 (2011)
- 30) Sun, L., Halaihel, N., Zhang, W., et al.: Role of sterol regulatory element-binding protein 1 in regulation of renal lipid metabolism and glomerulosclerosis in diabetes mellitus. *J Biol Chem.* 277, 18919-18927 (2002)
- 31) Kaplan, M., Aviram, M. and Hayek, T.: Oxidative stress and macrophage foam cell formation during diabetes mellitus-induced atherogenesis: Role of insulin therapy. *Pharmacol Ther.* (2012)
- 32) Shi, J., Wang, A., Sen, S., et al.: Insulin induces production of new elastin in cultures of human aortic smooth muscle cells. *Am J Pathol.* 180, 715-726 (2012)
- 33) Su, X.L., Wang, Y., Zhang, W., et al.: Insulin-mediated upregulation of K (Ca) 3.1 channels promotes cell migration and proliferation in rat vascular smooth muscle. *J Mol Cell Cardiol.* 51, 51-57 (2011)
- 34) Zhou, Y.B., Zhang, J., Cai, Y., et al.: Insulin resistance induces medial artery calcification in fructose-fed rats. *Exp Biol Med (Maywood)* . 237, 50-57 (2012)
- 35) Yoshida, Y., Ohyanagi, M. and Iwasaki, T.: Chronological changes of α -adrenoceptor-mediated vascular constriction in Otsuka - Long - Evans - Tokushima fatty rats. *Hypertens Res.* 26, 559-567 (2003)
- 36) Lee, J.H., Palaia, T. and Ragolia, L.: Impaired insulin-mediated vasorelaxation in diabetic Goto - Kakizaki rats is caused by impaired Akt phosphorylation. *Am J Physiol Cell Physiol.* 296, C327-338 (2009)
- 37) Ouchi, Y., Han, S.Z., Kim, S., et al.: Augmented contractile function and abnormal Ca^{2+} handling in the aorta of zucker obese rats with insulin resistance. *Diabetes.* 45 Suppl 3, S55-58 (1996)
- 38) Hui, X., Lam, K.S., Vanhoutte, P.M., et al.:

- Adiponectin and cardiovascular health: An update. *Br J Pharmacol.* 165, 574-590 (2012)
- 39) Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., et al.: Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 116, 1784-1792 (2006)
- 40) Whitehead, J.P., Richards, A.A., Hickman, I.J., et al.: Adiponectin - a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab.* 8, 264-280 (2006)
- 41) Fuerst, M., Taylor, C.G., Wright, B., et al.: Inhibition of smooth muscle cell proliferation by adiponectin requires proteolytic conversion to its globular form. *J Endocrinol.* 215, 107-117 (2012)
- 42) Li, F.Y., Cheng, K.K., Lam, K.S., et al.: Cross-talk between adipose tissue and vasculature: Role of adiponectin. *Acta Physiol (Oxf)* . 203, 167-180 (2011)
- 43) Shen, X., Li, H., Li, W., et al.: Pioglitazone prevents hyperglycemia induced decrease of adipoR1 and adipoR2 in coronary arteries and coronary VSMCs. *Mol Cell Endocrinol.* 17, 17 (2012)
- 44) Yamawaki, H.: Vascular effects of novel adipocytokines: Focus on vascular contractility and inflammatory responses. *Biol Pharm Bull.* 34, 307-310 (2011)
- 45) Eringa, E.C., Bakker, W. and van Hinsbergh, V.W.: Paracrine regulation of vascular tone, inflammation and insulin sensitivity by perivascular adipose tissue. *Vascul Pharmacol.* 56, 204-209 (2012)
- 46) Meijer, R.I., Serne, E.H., Smulders, Y.M., et al.: Perivascular adipose tissue and its role in type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Curr Diab Rep.* 11, 211-217 (2011)
- 47) Itani, S.I., Ruderman, N.B., Schmieder, F., et al.: Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and I κ B- α . *Diabetes.* 51, 2005-2011 (2002)
- 48) Zhao, H.L., Liu, L.Z., Sui, Y., et al.: Fatty acids inhibit insulin-mediated glucose transport associated with actin remodeling in rat l6 muscle cells. *Acta Diabetol.* 47, 331-339 (2010)
- 49) Capurso, C. and Capurso, A.: From excess adiposity to insulin resistance: The role of free fatty acids. *Vascul Pharmacol.* 57, 91-97 (2012)
- 50) Stephens, J.M., Lee, J. and Pilch, P.F.: Tumor necrosis factor- α -induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is accompanied by a loss of insulin receptor substrate-1 and GLUT4 expression without a loss of insulin receptor-mediated signal transduction. *J Biol Chem.* 272, 971-976 (1997)
- 51) Harte, A.L., McTernan, P.G., McTernan, C.L., et al.: Insulin increases angiotensinogen expression in human abdominal subcutaneous adipocytes. *Diabetes Obes Metab.* 5, 462-467 (2003)
- 52) Dagogo-Jack, S., Liu, J., Askari, H., et al.: Impaired leptin response to glucocorticoid as a chronic complication of diabetes. *J Diabetes Complications.* 14, 327-332 (2000)
- 53) Maenhaut, N. and Van de Voorde, J.: Regulation of vascular tone by adipocytes. *BMC Med.* 9, 25 (2011)
- 54) Crawford, T.N., Alfaro, D.V., 3rd, Kerrison, J.B., et al.: Diabetic retinopathy and angiogenesis. *Curr Diabetes Rev.* 5, 8-13 (2009)
- 55) Tremolada, G., Del Turco, C., Lattanzio, R., et al.: The role of angiogenesis in the development of proliferative diabetic retinopathy: Impact of intravitreal anti-VEGF treatment. *Exp Diabetes Res.* 2012, 728325 (2012)

- 56) Kim, E.K., Li, G., Lee, T.J., et al.: The effect of human adipose-derived stem cells on healing of ischemic wounds in a diabetic nude mouse model. *Plast Reconstr Surg.* 128, 387-394 (2011)
- 57) Belmadani, S., Palen, D.I., Gonzalez-Villalobos, R.A., et al.: Elevated epidermal growth factor receptor phosphorylation induces resistance artery dysfunction in diabetic db/db mice. *Diabetes.* 57, 1629-1637 (2008)

Associations between diabetes-related factors and vascular smooth muscle function in diabetic complications

Koji Nobe, Ph.D.

Laboratory of Physiology,
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University

Abstract

It is estimated that diabetes mellitus currently affects more than 360 million people worldwide. Moreover, the number of non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) patients is expected to increase. It is widely accepted that controlling both blood glucose levels and complications are essential for NIDDM patients. In major diabetic complications, including angioneurosis, retinopathy and nephropathy, microvascular dysfunction is responsible for perivascular tissue damage. Alterations in vascular endothelial cell (EC) -derived vasorelaxing factors (nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarizing factor) have been investigated in this dysfunction. These alterations induce an over-contraction of vascular smooth muscle cells. However, it is still unknown whether there is a direct association between diabetes and vascular smooth muscle function. Based on the findings that contractile responses were altered in diabetic EC-denuded resistant micro-arteries, it was expected that the smooth muscle responses would also be directly influenced by diabetes. In this review, typical diabetes-related factors (EC, glucose, insulin, adiponectin, perivascular adipose tissue, and growth factors) were examined, and associations between these factors and vascular smooth muscle dysfunctions are discussed.

Key words : adiponectin, complications, diabetes, endothelial cells, insulin, vascular dysfunction, vascular smooth muscle cells.

Received 17 October 2012 ; accepted 26 November 2012