

平成 21 年 4 月 27 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2007-2008 年度  
 課題番号：19790197  
 研究課題名（和文）：血管内皮細胞成長因子の異常とニトロ化ストレス誘発糖尿病性血管障害の病態機序の解明  
 研究課題名（英文）：Relationship among vascular endothelial growth factor, nitrating stress and vascular dysfunction in diabetic states  
 研究代表者：  
 (1) 小林 恒雄  
 (2) 星薬科大学・薬学部・講師  
 (3) 90339523

## 研究成果の概要：

糖尿病時においては様々な因子により血管障害が誘発される。本研究の様々な糖尿病モデルから、特に血管成長因子であるインスリンの過剰は、活性酸素である superoxide、peroxynitrite の増加によって血管機能障害を生じることを明らかにした。この機序として、1). カルシウム筋小胞体のニトロ化による機能不全は、血管弛緩機能を低下させ、内皮細胞からの NO 産生も低下させる。2). Akt pathway の活性低下による NO 産生を低下する。3). MAP kinase の活性化による血管収縮の増加を生じる。4). 血中エンドセリンやアンギオテンシンの増加が、これらの酸化ストレスの血管異常を増加させている。以上の研究結果から、糖尿病時において、成長因子やエンドセリン、アンギオテンシンの増加を抑制することは、ニトロ化等の酸化ストレスを抑制し、糖尿病性血管障害を予防・改善できるものと期待できる。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19 年度	2,200,000	0	2,200,000
20 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	240,000	3,240,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：循環、糖尿病、酸化ストレス、血管障害

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病に起因する合併症に共通した病理学的特徴は血管障害（大血管障害と細小血管障害）であり、血管の正常な機能が損なわれることによって、合併症が誘発される。つまり、糖尿病性合併症は血管の病変であると極論しても間違いはないであろう。しかし、その詳

細な作用機序に関しては、まだ未解決の分野が多い。現在、培養細胞等による実験は盛んに行われているが、実際の糖尿病動物からの遺伝子発現の変化や機能変化の報告は少ない。更に、in vivo の内皮細胞に焦点を絞った報告は皆無である。この糖尿病時における血管合併症について、いくつかの原因を究明

する事、及び、実際の糖尿病動物における血管内皮細胞の機能変化について詳細を解明する必要があると考える。糖尿病時のインスリン抵抗における高インスリン血症は、臨床的に高血圧や動脈硬化を誘発する事が知られている。更に糖尿病時には、血糖値のコントロールだけでは完全に合併症を予防できず、一つの原因として、インスリン抵抗による血中のインスリン値の増加が問題とされている。インスリンは自身が成長因子であるとともに、様々な血管成長因子を誘導する。成長因子は、血管内皮細胞等の機能を劇的に改善する事が知られている。最近では、insulin-like growth factor (IGF-1) と vascular endothelial growth factor (VEGF) の作用の違い成長因子同士が密接に関わり、血管形成に相互作用している事が解りつつある (Smith et al., Nature Med 5:1390-1395, 1999)。一方、この IGF-1 や VEGF における研究は、糖尿病性網膜症の進行において重要な役割をしている事が知られている。更に VEGF の投与は、動脈硬化を悪化させるとの報告もされ (Celletti et al., Nature Med 7:425-9, 2001) 注意が必要であることも知られている。このように、血管成長因子は作用が強く、使い方を誤ると非常に重大な悪影響を及ぼす可能性がある。よって、この作用の強力な血管成長因子について、血管への影響を検討することは、血管合併症の予防、そしてこの合併症への劇的な治療方法を確立できる可能性がある。糖尿病性合併症の主な原因として、活性酸素の増加に伴う血管障害についての報告は、我々を含め多くの研究者が行っている。更に上述したように、VEGF 等の血管成長因子は、転写因子の活性、内皮細胞や平滑筋細胞を活性化すると共に、多くの活性酸素を産生することが知られ、平滑筋細胞におけるスーパーオキシドアニオン ( $O_2^-$ ) 産生亢進、内皮細胞における NO 産生亢進が知られている (Fulton D et al., Nature. 399:597-601, 1999)。近年、この  $O_2^-$  と NO によって産生されるパーオキシナイトライド (ONOO<sup>-</sup>) による内皮細胞や平滑筋細胞への分子メカニズム機能への影響が示唆された (Adachi T et al., Nature Med 10:1200-1206, 2004)。血管平滑筋において、ONOO<sup>-</sup> の作用の 1 つとして、細胞内  $Ca^{2+}$  濃度を低下させる筋小胞体の  $Ca^{2+}$ -ポンプをニトロ化することである。その結果、 $Ca^{2+}$ -ポンプの機能障害を生じ、血管平滑筋の細胞内  $Ca^{2+}$  低下障害、弛緩機能不全が報告された (Adachi T et al., Nature Med 10:1200-1206, 2004)。更に最近の報告で ONOO<sup>-</sup> は、グアニル酸シクラーゼを酸化変性し、c-GMP 産生障害を生じ、弛緩機能障害を生じることが示唆された (Stasch et al., J Clin Invest 116:2552-2561, 2006)。しかし、この ONOO<sup>-</sup> は、糖尿病性合併症や動

脈硬化への因果関係は報告されているが、血管内皮細胞への詳細なメカニズムについては明らかではない。以上のことから私は、ONOO<sup>-</sup>系による血管障害は、成長因子や転写因子が強く関与し、様々な他の遺伝子発現にも影響を及ぼしていると仮説を立てた。

## 2. 研究の目的

糖尿病に起因する合併症に共通した病理学的特徴は血管障害であり、血管の正常な機能が損なわれることによって、合併症が誘発される。つまり、糖尿病性合併症は血管の病変であると極論しても間違いないであろう。しかし、その詳細な作用機序に関しては、まだ未解決の分野が多い。特に、in vivo の内皮細胞に焦点を絞った報告は皆無である。この糖尿病時における血管合併症について、いくつかの原因を究明する事、及び、実際の糖尿病動物における血管内皮細胞の機能変化について詳細を解明する必要があると考える。今回の研究は、成長因子と糖尿病性血管合併症に重要な生理機能を持つ遺伝子の絞り込みが進み次第、直ちに in vivo への適用、更には薬理的な血管内皮細胞機能への検討を行う。更には、いくつかの新規及び既存(機能未知)遺伝子と血管成長因子の関与と ONOO<sup>-</sup>、血管収縮弛緩機能への関与を、in vitro, in vivo の両局面から明らかにし、新規生理機能の解明、新規治療法の確立と副作用の低減を目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 実験動物; ①実験には雄性 ICR マウス、および nicotinamide (1.5 g/kg i.p.) 前処置後 streptozotocin を投与することにより発症した 2 型糖尿病マウスを用いた。ロサルタン、シンバスタチンを粉末飼料中に混合した。②Wistar 系ラット、streptozotocin (STZ) 誘発糖尿病ラット、高インスリン血症糖尿病ラット、ピオグリタゾン、ロサルタン慢性投与ラットを用いた。糖尿病動物は、STZ 65mg/kg を尾静脈注射することにより作成し、STZ 投与後 10 週間の動物を糖尿病動物として用いた。高インスリン血症糖尿病動物は、STZ 投与後 8 週後の動物及び同週齢のコントロール動物に insulin (10-40 U/kg) 2 週間皮下投与した動物を高インスリン血症糖尿病動物として用いた。③ 32-38 週齢の Goto-Kakizaki rat (自然発症 2 型糖尿病) と同週齢の wistar 系ラットを用いた。④ 60-65 週齢の OLETF ラット (自然発症 2 型糖尿病) と同週齢の LETO ラットを用いた。またこれらの動物の血中パラメーターである、インスリン値、アンギオテンシン、エンドセリン、グルコース、コレステロール、トリグリセリド値は、ELISA kit 等を用いた。

(2) 血管反応の測定; 各動物を麻酔下、胸部大動脈、腸間膜動脈を摘出した。胸部大動脈は、らせん状標本にて、腸間膜動脈は、リン

グ状標本として、血管収縮機能、血管弛緩機能を観察した。

(3)糖尿病動物血管におけるタンパク発現とリン酸化活性; eNOS, Akt, PTEN, SERCA, MEK1, MEK2, ERK1, ERK2, ET1A-R, ETB-R, nitrotyrosine, COX-1, COX-2, PI3-kinasep85, PI3-kinasep110delta, PI3-kinasep110 gamma, c-jun, NADPHoxidase p22phox, gp91phox, MnSOD, CuZnSOD, ECSOD

タンパク質は、ラットより抽出した血管を用い、ウエスタンブロットによって測定した。また、各タンパク質のリン酸化抗体を用いて、薬物刺激における活性も同様に測定した。

(4)免疫染色; eNOS, Akt, SERCA, ETA-R, ETB-R, nitrotyrosine, のタンパク質は、胸部大動脈の凍結切片を作成し、免疫染色を行った。

(5)免疫沈降; SERCA におけるニトロ化の検討を行うため、SERCA タンパク質を免疫沈降し、nitrotyrosine 抗体を用いて、イムノブロットを行った。

(6)NFkB 転写活性; 動物血管を用い、核タンパクを抽出した後、trans-Am 法を用いて、活性を測定した。

(7)NO の測定; 摘出血管より産生される NO 測定には、酸化窒素分析システム(ジアゾ化反応吸光度測定方式)にて  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  を測定した。

(8)器官培養; 摘出したラット大動脈は、インスリン、グルコース等を処置し、培養液にて 16 時間培養後、血管反応、生化学的実験を観察した。

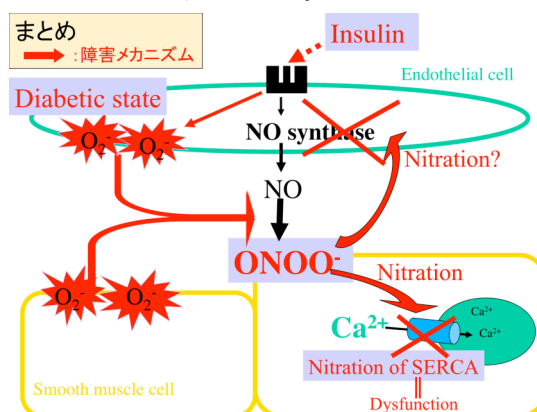
(9) 活性酸素の測定; 摘出血管の NBT 還元法、DHE staining により測定した。

(10) cGMP の測定; cGMP の測定は、各摘出血管を刺激後、EIA にて測定した。VASP の ser239 のリン酸化は cGMP の増加に関与しているため、ウエスタンブロットによってこのリン酸化を測定した。

#### 4. 研究成果

(1) 糖尿病時における高インスリン血症は、血管障害を誘発し、その一つとして血管内皮機能障害を生じる事が知られているが、詳細なメカニズムは明らかではない。活性酸素の一つ superoxide は、NO を不活化することにより内皮機能を傷害することが知られているが、近年 superoxide と NO が反応して生じる peroxynitrite も弛緩機能の障害などが報告されている。器官培養を用いた糖尿病血管へのインスリン処置は、a) ACh による内皮依存性弛緩反応、Angeli's salt (NO ドナー) による平滑筋弛緩反応の減弱を生じる。一方、コントロール血管では、インスリンによる弛緩の減弱は認められない。b) peroxynitrite もしくは superoxide scavenger 処置によって、この弛緩反応の減弱への効果は抑制される。c) ACh 刺激による NO 産生は低下した。d) superoxide、

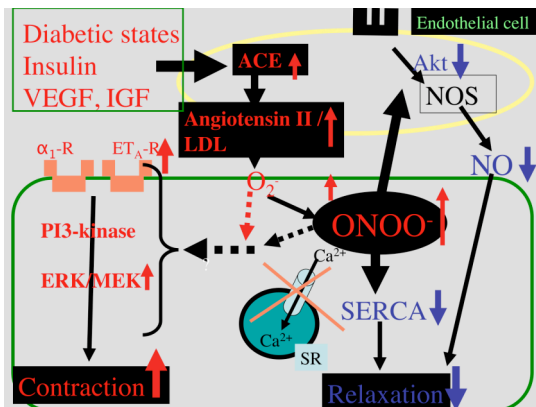
nitrotyrosine の増加が認められた。e) SERCA タンパクにおける nitrotyrosine 量の増加が認められ、peroxynitrite scavenger により抑制された。以上のことから、糖尿病状態の血管と高濃度のインスリンが共存する状態において、内皮依存性、非依存性弛緩反応の減弱を生じる。その原因としては、peroxynitrite 増加による内皮 NO 産生の低下、SERCA のニトロ化による SERCA 機能不全の可能性が考えられる。



(2) 糖尿病ラットにおいて活性酸素の増加は、ET-1 が関与していることが知られているが、今回、ET-1 の発現には、転写因子である AP-1 の増加が認められ、ピオグリタゾンには NO 産生には影響なく、AP-1 構成サブユニットの c-Jun 発現を低下して ET-1 産生を抑制する。更に superoxide 産生酵素である NAD(P)H oxidase 活性を抑制する一方で、そのスカベンジャーである SOD 活性を増加させるという二面性の機序により、酸化ストレスを軽減し、NO のバイオアベイラビリティを増加することによって内皮依存性弛緩反応の減弱を改善することを明らかにした。以上の実験結果から、糖尿病時や高インスリン血症時には、活性酸素である superoxide、peroxynitrite の増加によって血管障害を生じる。また、ピオグリタゾンはこれらの産生を低下させることによって、糖尿病性血管合併症を予防できることを示唆する。

(3) 糖尿病時においては、成長因子であるインスリン、アンジオテンシンなど様々な因子により、血管障害を誘発する。アンジオテンシン type1 受容体阻害薬であるロサルタンは、2 型糖尿病時において、Akt/Protein kinase B の活性化によって、減弱した血管内皮細胞、NO 産生を改善する事を報告した。更に、ロサルタンは、糖尿病時のインスリン処置動物や 2 型糖尿病ラットにおいて、エンドセリンの収縮増加、高血圧を生じるが、この機序として MAP kinase の活性化を抑制することによって、これらの症状を回復することも明らかにした。以上のことから、糖尿病状態においては、アンジオテンシンとインスリン値などの複合的な異常によって、糖尿

病性血管障害が生じることを示した。(4)内皮依存性過分極因子(EDHF)において、メトホルミンは2型糖尿病ラットにおいて生じるEDHFの低下を改善する。その機序として、メトホルミンが収縮性プロスタノイドの産生を抑制し、その結果EDHFを改善することが明らかになった。更に、トロンボキサン阻害薬は、EDHFを改善することによって内皮細胞機能を改善することを見いだした。これらのことは、糖尿病時においては収縮性プロスタノイド類の増加は、血管収縮だけでなく、内皮依存性弛緩因子であるEDHFを抑制していることを明らかにした。トロンボキサンの増加は、酸化ストレスの増加を生じることが古くから知られており、この増加により酸化ストレスの増加とEDHFの減弱などの関与が示唆された。以上のことから、これらの成長因子は、糖尿病時において複合的に作用していることが明らかであるが、これらの因子に共通するのは、酸化ストレスの増加であり、実際、インスリンや、過去の我々の研究から、トロンボキサンは、活性酸素を増加し、様々なタンパク質をニトロ化する事を報告している。よって今回の研究から、糖尿病時において、成長因子の増加を抑制することは、ニトロ化等の酸化ストレスを抑制し、糖尿病性血管障害を予防・改善できるものと期待できる。



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

1. Matsumoto T, Noguchi E, Kobayashi T, Kamata K. Mechanisms underlying the chronic pioglitazone treatment-induced improvement in the impaired endothelium-dependent relaxation seen in aortas from diabetic rats. *Free Radic Biol Med.* 2007 Apr 1;42(7):993-1007. 査読有り

2. Kobayashi T, Taguchi K, Takenouchi Y,

Matsumoto T, Kamata K. Insulin-induced impairment via peroxynitrite production of endothelium-dependent relaxation and sarco/endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase function in aortas from diabetic rats. *Free Radic Biol Med.* 2007 Aug 1;43(3):431-43. 査読有り

3. Matsumoto T, Kakami M, Noguchi E, Kobayashi T, Kamata K. Imbalance between endothelium-derived relaxing and contracting factors in mesenteric arteries from aged OLETF rats, a model of type 2 diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007 Sep;293(3):H1480-90 査読有り

4. Fukushima M, Hattori Y, Tsukada H, Koga K, Kajiwara E, Kawano K, Kobayashi T, Kamata K, Maitani Y. Adiponectin gene therapy of streptozotocin-induced diabetic mice using hydrodynamic injection. *J Gene Med.* 2007 Nov;9(11):976-85 査読有り

5. Takenouchi Y, Kobayashi T, Matsumoto T, Kamata K. Possible involvement of Akt activity in endothelial dysfunction in type 2 diabetic mice. *J Pharmacol Sci.* 2008 Apr;106(4):600-8. 査読有り

6. Matsumoto T, Kakami M, Kobayashi T, Kamata K. Gender differences in vascular reactivity to endothelin-1 (1-31) in mesenteric arteries from diabetic mice. *Peptides.* 2008 Aug;29(8):1338-46. 査読有り

7. Matsumoto T, Noguchi E, Ishida K, Kobayashi T, Yamada N, Kamata K. Metformin normalizes endothelial function by suppressing vasoconstrictor prostanoids in mesenteric arteries from OLETF rats, a model of type 2 diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008 Sep;295(3):H1165-H1176. 査読有り

8. Kobayashi T, Nogami T, Taguchi K, Matsumoto T and Kamata K. Diabetic state, and high plasma insulin and Ang II combine to augment ET-1-induced contraction via ET<sub>A</sub>-receptor and ERK. *Br J Pharmacol.* 2008 Dec;155(7):974-83 査読有り

9. Matsumoto T, Noguchi E, Ishida K, Nakayama N, Kobayashi T, Kamata K. Cilostazol improves endothelial dysfunction by increasing endothelium-derived hyperpolarizing factor response in mesenteric arteries from Type 2 diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 2008 Dec 3;599(1-3):102-9 査読有り

10. Matsumoto T, Takaoka E, Ishida K, Nakayama N, Noguchi E, Kobayashi T, Kamata K. Abnormalities of endothelium-dependent responses in mesenteric arteries from Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats are improved by chronic treatment with thromboxane A(2) synthase inhibitor. *Atherosclerosis*. 2008 Nov 25. [Epub ahead of print] 査読有り

11. Kamata K, Ozawa Y, Kobayashi T, Matsumoto T. Effect of long-term streptozotocin-induced diabetes on coronary vasoconstriction in isolated perfused rat heart. *J Smooth Muscle Res*. 2008 Oct;44(5):177-88. 査読有り

12. Matsumoto T, Nakayama N, Ishida K, Kobayashi T, Kamata K. Eicosapentaenoic acid improves imbalance between vasodilator and vasoconstrictor actions of endothelium-derived factors in mesenteric arteries from rats at chronic stage of type 2 diabetes. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009 Apr;329(1):324-34. 査読有り

13. Matsumoto T, Ishida K, Nakayama N, Kobayashi T, Kamata K. Involvement of NO and MEK/ERK pathway in enhancement of endothelin-1-induced mesenteric artery contraction in later-stage type 2 diabetic Goto-Kakizaki rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009 査読有り

14. Takenouchi Y, Kobayashi T, Matsumoto T, Kamata K. Gender differences in age-related endothelial function in the murine aorta. *Atherosclerosis*. 2009 Mar 19. [Epub ahead of print] 査読有り

[学会発表] (計 31 件)

1. 第51回日本薬学会関東支部大会2007. 10. 6 星薬科大学 糖尿病性血管合併症における血管成長因子とニトロ化ストレスの関係(平成19年度日本薬学会関東支部) 小林恒雄

2. 第51回日本薬学会関東支部大会2007. 10. 6 星薬科大学 糖尿病ラット摘出脳底動脈の内皮機能不全に対する酸化ストレスの関与松本貴之 他

3. 第51回日本薬学会関東支部大会2007. 10. 6 星薬科大学 糖尿病マウス腸間膜動脈におけるエンドセリン-1収縮に対する性差の影響 各務実花 他

4. 第51回日本薬学会関東支部大会2007. 10. 6 星薬科大学 2型糖尿病モデルマウスの胸部大動脈における simvastatin 慢性処置による内皮細胞機能の検討 竹之内康広 他

5. 第1回 先端分子薬理学研究会

2007. 10. 13 北里大学

nicotinamide+streptozotocin 誘発 2 型糖尿病モデルマウスにおける losartan 慢性処置による内皮細胞に対する影響 竹之内康広 他

6. 第1回 先端分子薬理学研究会 2007. 10. 13 北里大学 2 型糖尿病ラット摘出腸間膜動脈における内皮由来因子のバランス変化 各務実花 他

7. 第17回日本循環薬理学会2007. 11. 30 大阪大学医学部銀杏会館 糖尿病血管を用いたインスリンによるニトロ化 SERCA の増加と弛緩反応の減弱 小林恒雄 他

8. 第17回日本循環薬理学会2007. 11. 30 大阪大学医学部銀杏会館 2 型糖尿病ラット腸間膜動脈の内皮機能障害に対する AMP-activated protein kinase の関与 松本貴之 他

9. 第81回日本薬理学会年会2008. 3. 17-19 パシフィコ横浜 2 型糖尿病ラット腸間膜動脈における内皮細胞機能変化に対する AMP キナーゼ刺激効果 松本貴之 他

10. 第81回日本薬理学会年会 2008. 3. 17-19 パシフィコ横浜 2 型糖尿病モデルマウスの内皮障害に対する losartan, simvastatin 慢性処置による改善メカニズムの違い 竹之内康広 他

11. 第81回日本薬理学会年会 2008. 3. 17-19 パシフィコ横浜 糖尿病マウス腸間膜動脈におけるエンドセリン収縮に対する性差の影響 各務実花 他

12. 第81回日本薬理学会年会 2008. 3. 17-19 パシフィコ横浜 糖尿病ラットとインスリン処置における胸部大動脈の血管弛緩反応の変化と Akt pathway の関与について 小林恒雄 他

13. 第51回日本糖尿病学会年次学術集会 2008. 5. 22-24 東京国際フォーラム 2 型糖尿病ラット摘出腸間膜動脈の血管内皮細胞機能変化に対する AMP キナーゼ刺激効果 松本貴之 他

14. 第118回日本薬理学会関東部会 2008. 6. 7-8 星薬科大学 2 型糖尿病モデルマウスにおける血管障害に対する治療 竹之内康広 他

15. 第50回日本平滑筋学会総会 2008. 7. 2-4 ホテルニューキャッスル(青森県弘前市) Mechanisms underlying the chronic pioglitazone treatment-induced improvement in the impaired endothelium-dependent relaxation seen in aortas from diabetic rats. 松本貴之 他

16. 第 50 回日本平滑筋学会総会 2008. 7. 2-4  
ホテルニューキャッスル(青森県弘前市)  
糖尿病時のインスリン欠乏と過剰時における  
血管弛緩反応の変化を Akt/NOS pathway の  
関与について 小林恒雄 他

17. 第 50 回日本平滑筋学会総会 2008. 7. 2-4  
ホテルニューキャッスル(青森県弘前市)  
糖尿病性血管障害に対する losartan 及び  
simvastatin による治療効果 竹之内康広  
他

18. 生体機能と創薬シンポジウム 2008  
2008. 9. 5, 6 星薬科大学 胸部大動脈にお  
ける加齢による血管内皮機能の性差 竹之内  
康広 他

19. 第 119 回日本薬理学会関東部会  
2008. 10. 4 主婦会館プラザエフ(千代田区)  
2 型糖尿病モデルラット腸間膜動脈における  
endothelin-1 収縮の増強メカニズム 石田恵  
子 他

20. 第 18 回日本循環薬理学会 2008. 11. 21 京  
成ホテルミラマーレ(千葉市) エイコサペ  
ンタエン酸慢性投与は 2 型糖尿病ラット腸  
間膜動脈の内皮由来因子のバランス異常を  
改善する 松本貴之 他

21. 第 2 回 先端分子薬理学研究会  
2008. 11. 29 東京大学 2 型糖尿病ラット  
(Goto-Kakizaki rat) 腸間膜動脈における  
endothelin-1 収縮の増強メカニズム 石田恵  
子 他

22. 第 2 回 先端分子薬理学研究会  
2008. 11. 29 東京大学 高インスリン血症糖  
尿病動物における血管 PDK1/Akt/NOS  
pathway の関与とアンジオテンシンの影響  
根本真吾 他

23. 第 38 回日本心脈管作動物質学会 2009. 2. 6  
岡山大学創立五十周年記念館 高インスリ  
ン血症糖尿病動物における PDK1/Akt/NOS  
pathway の低下とロサルタン慢性投与の影響  
小林恒雄 他

24. 第 38 回日本心脈管作動物質学会 2009. 2. 6  
岡山大学創立五十周年記念館 2 型糖尿病  
モデルラット腸間膜動脈における  
endothelin-1 収縮に対する MEK/ERK pathway  
の関与 松本貴之 他

25. 第 82 回日本薬理学会年会 2009. 3. 16-18  
パシフィコ横浜 EPA 慢性投与は 2 型糖尿病  
ラット腸間膜動脈における内皮細胞機能障  
害を改善する 松本貴之 他

26. 第 82 回日本薬理学会年会 2009. 3. 16-18  
パシフィコ横浜 ロサルタンは高インスリ  
ン血症糖尿病動物における PDK/Akt pathway  
を介した血管弛緩反応の減弱を改善する  
小林恒雄 他

27. 第 82 回日本薬理学会年会 2009. 3. 16-18  
パシフィコ横浜 2 型糖尿病モデルラット  
腸間膜動脈における endothelin-1 収縮の増  
強メカニズム 石田恵子 他

28. 第 82 回日本薬理学会年会 2009. 3. 16-18  
パシフィコ横浜 糖尿病ラット摘出心臓灌  
流標本を用いた冠動脈収縮反応の検討 小  
澤遊太 他

29. 第 82 回日本薬理学会年会 2009. 3. 16-18  
パシフィコ横浜 糖尿病時の内皮依存性血  
管弛緩反応における PDK1/Akt/eNOS pathway  
の関与と血中インスリン値の影響 根本真  
吾 他

30. 第 82 回日本薬理学会年会 2009. 3. 16-18  
パシフィコ横浜 2 型糖尿病ラット腸間膜  
動脈の内皮機能障害に対するトロンボキサ  
ン合成酵素阻害薬慢性投与の影響 高岡絵  
里他

31. 第 82 回日本薬理学会年会 2009. 3. 16-18  
パシフィコ横浜 マウス摘出胸部大動脈に  
おける加齢による血管内皮機能の性差 竹  
之内康広 他

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

- (1) 小林 恒雄
- (2) 星薬科大学・薬学部・講師
- (3) 90339523

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者