

機関番号：18001

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590542

研究課題名（和文） 血管内皮機能を指標とした抗動脈硬化薬の薬効評価システムの開発

研究課題名（英文） Development of pharmacometric system for anti-atherogenic effect based on vascular endothelial function

研究代表者

山川 研 (YAMAKAWA KEN)

琉球大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：00363664

研究成果の概要（和文）：血管内皮機能を指標とすることで動脈硬化性疾患の治療における薬物の有効性の評価が期待できる。血管内皮機能障害モデルにおいて心血管作働薬の血管内皮機能に与える影響とその機序について検討した。

内臓脂肪肥満のモデルとしてヒト脂肪酸負荷モデルを用いた検討を行った。このモデルにおいて血管内皮機能障害、白血球活性化およびインスリン感受性の低下を認め、その機序として白血球におけるレニン-アンジオテンシン系の活性化が関与する事を明らかにした。

白血球活性の評価が内臓脂肪肥満における血管内皮機能障害の指標としても有用である可能性について報告した。

研究成果の概要（英文）：Vascular endothelial function is not only a predictor of future cardiovascular events, but an useful therapeutic marker. We investigated pharmacometric analysis on vascular endothelial function for several cardiovascular drugs and their therapeutic mechanisms.

We adopted free fatty acids (FFA) loading model of human to investigate vascular and metabolic pathophysiology of visceral fat obesity. Elevated FFA caused endothelial dysfunction, increased sticking strength of leukocytes and insulin resistance partly via leukocyte renin-angiotensin system. Leukocyte renin-angiotensin system activity could be a marker of vascular endothelial dysfunction which accompanies visceral fat obesity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 20 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
平成 21 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
平成 22 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：臨床薬理学

## 1. 研究開始当初の背景

臨床的に動脈硬化性疾患の薬物療法を評価するエンドポイントは、本来心血管イベン

トであるが、短期間での評価は困難である。リスクの低い患者群においては将来のイベントを予測する指標や、リスクが集積しつ

ある患者では短期間で治療の評価が可能な指標が必要である。血管内皮機能は初期の動脈硬化性病変の指標となり得ると同時に、薬物療法の効果の判定にも役立つ可能性があり、最も有望な代替エンドポイントの一つと考えられる。ストレイナージプレチスモグラフ（プレチスモグラフ）は最も信頼できる血管内皮機能の評価法である。

我々は内臓脂肪肥満モデルとしてヒト脂肪酸負荷モデルを確立し、レニン-アンギオテンシン系の阻害薬が血管内皮機能障害を抑制することを報告した。

## 2. 研究の目的

実験的血管内皮機能障害モデルでの検討およびプレチスモグラフによるヒト血管内皮機能の評価を行うことで、血管内皮機能を改善する薬物の作用機序、および血管内皮機能障害のメカニズムについて検討を行った。

## 3. 研究の方法

内臓脂肪肥満モデルとしてヒト脂肪酸負荷モデルを用いて以下の検討を行った。

(1) 脂肪酸負荷モデルにおけるインスリン感受性を評価し、プレチスモグラフにおいて血管内皮機能を改善する薬剤がインスリン感受性も改善するか検討した。脂肪酸負荷とグルコースクランプ法を併用して血管内皮機能を改善する薬剤のインスリン感受性に与える影響を評価した。

(2) 動脈硬化性病変に関与する白血球が血管内皮機能障害にも関連しているか検討した。脂肪酸負荷モデルにおける白血球の活性を接着能、ミエロペルオキシダーゼ活性およびアンギオテンシン II 産生能で評価した。また、プレチスモグラフにおいて血管内皮機能を改善する薬剤が白血球活性に与える影響についても検討した。

(3) 脂肪酸による血管内皮機能障害の機序を検討するためにヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) の培養系にパルミチン酸およびエイコサペンタエン酸 (EPA) を添加し、活性酸素種 (ROS) の産生およびアポトーシスの評価を行った。

(4) 培養細胞で認めた EPA による血管内皮細胞の保護効果を検証するために、ヒト脂質異常症患者に EPA 製剤を投与して血管内皮機能に影響する因子について検討した。

## 4. 研究成果

(1) 脂肪酸負荷モデルにおけるインスリン感受性の評価では健常人において約 40% M 値（単位時間あたりのグルコース投与量でインスリン感受性の指標）が低下した。この系においてアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) のインスリン感受性に及ぼす影響を二重盲検交差法で検討した。ARB は用量依存性にインスリン感受性を改善した。この結果は遊離脂肪酸によるインスリン抵抗性にレニン-アンギオテンシン系が関与していること、血管内皮機能を改善させる薬剤の作用機序にインスリン感受性の改善が関与している可能性を示した。

(2) 脂肪酸負荷モデルにおける白血球活性の評価では白血球の接着亢進、血中ミエロペルオキシダーゼの上昇および白血球中のアンギオテンシン II 産性能の亢進を認めた。ARB はこれらの反応を抑制したが、ACE 阻害薬は部分的な抑制にとどまった。この結果は遊離脂肪酸による白血球活性化にレニン-アンギオテンシン系が関与していること、血管内皮機能を改善させる薬剤の作用機序に白血球の活性化抑制が関与している可能性を示した。

(3) パルミチン酸を添加して培養した HUVEC では ROS の産生が亢進し、アポトーシスが誘導された。EPA をパルミチン酸と同時に添加すると ROS の産生は不変だったが、HUVEC のアポトーシスは著明に抑制された。

(4) ヒト脂質異常症患者に EPA 製剤を投与して血管内皮機能に影響する因子について検討したところ、EPA 製剤投与によって前腕血管で測定した血管内皮機能の指標が改善した。EPA 製剤は血圧や耐糖能、中性脂肪および血清コレステロール値など、血管内皮機能に関連する既知の代謝指標に影響しなかった。検討した範囲において、血中の脂肪酸組成の変化が血管内皮機能の改善度と関連していた。脂肪酸組成に対する介入が血管内皮機能障害を改善する可能性が考えられた。（投稿中）

## 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 5 件）

1. Shimabukuro M, Higa N, Asahi T,

- Yamakawa K, Oshiro Y, Higa M, Masuzaki H. Impaired glucose tolerance, but not impaired fasting glucose, underlies left ventricular diastolic dysfunction. *Diabetes Care*. 34:686-90, 2011. (査読有)
2. Shimabukuro M, Higa M, Tanaka H, Shimabukuro T, Yamakawa K, Masuzaki H. Distinct effects of pitavastatin and atorvastatin on lipoprotein subclasses in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med*. doi: 10.1111/j.1464-5491.2011.03240.x. [Epub ahead of print]2011 Jan 18. (査読有)
  3. Azekoshi Y, Yasu T, Watanabe S, Tagawa T, Abe S, Yamakawa K, Uehara Y, Momomura S, Urata H, Ueda S. Free fatty acid causes leukocyte activation and resultant endothelial dysfunction through enhanced angiotensin II production in mononuclear and polymorphonuclear cells. *Hypertension*. 56:136-42, 2010. (査読有)
  4. Minami H, Yasu T, Tagawa T, Yamakawa K, Ueda S. Slower onset of vasodilating action of brain natriuretic peptide (BNP) compared to atrial natriuretic peptide (ANP) in human forearm resistant vessels. *Eur J Clin Pharmacol*. 64:859-6, 2008. (査読有)
  5. Ueda I, Tagawa T, Watanabe S, Yamakawa K, Yasu T, Ueda S. Comparability and reproducibility of the carotid-femoral pulse wave velocity measurements using a multi-element carotid tonometry sensor. *J Hum Hypertens*. 22:699-703, 2008. (査読有)
- [学会発表] (計 9 件)
1. 益崎裕章, 島袋充生, 山川研, 屋比久浩市, 池間朋己, 比嘉盛丈. 肥満糖尿病の病態: 沖縄クライシスの現場からの考察. 第 48 回日本糖尿病学会九州地方会シンポジウム 1. 2010/10/29, 別府市.
  2. 植田育子, 佐々木麻衣, 幸喜毅, 山川研, 城間勲, 屋良朝博, 長澤慶尚, 湧上民雄, 砂川優, 山里将浩, 平良伸一郎, 池間朋己, 神谷乗史, 小宮一郎, 益崎裕章, 植田真一郎. 進行性糖尿病性腎症患者を対象とした医師主導ランダム化臨床試験 OKINAWA study 実施における患者登録上の問題点. 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会. 2010/5/29, 岡山市.
  3. 大田聡子, 山内祐子, 山川研, 安隆則, 畦越陽子, 松下明子, 植田育子, 植田真一郎. 脂肪酸ならびにリポ多糖体 (LPS) によるヒト白血球内レニン-アンジオテンシン系の活性化. 第 30 回日本臨床薬理学会年会. 2009/12/3, 横浜.
  4. 安隆則, 小林真由美, 岩崎大地, 山川研, 井上卓, 畦越陽子, 百村伸一, 浦田秀則, 植田真一郎. Elevated FFA from visceral adipose tissue cause microcirculatory dysfunction partly via local renin-angiotensin system in mononuclear cells. 第 73 回日本循環器学会学術集会. 2009/3/21, 大阪.
  5. Yasu T, Azekoshi Y, Yamakawa K, Urata H, Ueda S. Elevated FFA from visceral adipose tissue cause microcirculatory dysfunction partly via local renin-angiotensin system in mononuclear cells. American College of Cardiology, 27th Mar 2009, Orland, USA
  6. Ueda S, Azekoshi Y, Yasu T, Yamakawa K, Abe T, Uehara Y, Urata H. Enhanced Angiotensin II Forming Activity In Mononuclear Cell By Elevated Free Fatty Acid: Possible Implication in Endothelial Dysfunction as Mobile Renin-Angiotensin System. Scientific Session of American Heart Association, 10th Nov 2008, New Orleans, USA.
  7. 畦越陽子, 小林真由美, 山川研, 安隆則, 植田真一郎. アンジオテンシ II 受容体阻害はヒトにおいて遊離脂肪酸惹起性インスリン抵抗性を改善させる. 第 31 回日本高血圧学会総会. 2008/10/11, 札幌.
  8. 安隆則, 小林真由美, 山川研, 植田真一郎. Ca 拮抗薬による FFA 惹起性内皮機能低下と白血球活性化の改善. 第 31 回日本高血圧学会総会. 2008/10/11, 札

幌.

9. 安隆則, 小林真由美, 山川研, 畔越陽子, 百村伸一, 植田真一郎. メタボリック症候群を想定したヒト脂肪負荷血液流動性低下モデルにおける長時間持続型ニフェジピン介入研究. 第 31 回日本高血圧学会総会. 2008/10/10, 札幌.

[図書] (計 10 件)

1. 益崎裕章, 比嘉盛丈, 山川研. これからの糖尿病薬物治療, 求められる理念・予防の視点から. *Mebio*. 28: 91-97, 2011. メジカルビュー社.
2. 島袋充生, 山川研, 益崎裕章. 海外文献紹介・ビリルビンを増加させる HIV 治療薬アタザナビルは 2 型糖尿病患者の血管内皮機能を改善する. *Angiology Frontier*. 10: 76-77, 2011. メディカルレビュー社.
3. 山川研, 島袋充生, 比嘉盛丈, 島袋毅, 田仲秀明, 益崎裕章. テルミサルタン内服により降圧とともに内臓脂肪面積減少と糖代謝改善が得られた症例. *セラピューティックリサーチ*. 32:405-409, 2011. ライフサイエンス出版.
4. 小塚智沙代, 比嘉盛丈, 屋比久浩市, 島袋充生, 山川研, 益崎裕章. 肥満の脂肪組織における炎症. *血管医学*. 12: 23-29, 2011. メディカルレビュー社.
5. 益崎裕章, 山川研, 島袋充生. 脂肪組織グルココルチコイド作用過剰とアディポサイエンス. *アディポサイエンス*, 7: 168-174, 2010. フジメディカル出版
6. 山川研, 植田真一郎. バイオマーカーとしての酸化ストレス・炎症の意義. *Cardiovascular Frontier*, 1: 237-241, 2010. メディカルレビュー社.
7. 山川研, 植田真一郎. ACE 阻害薬の薬理学的作用機序(ACE, ブラジキニンなど). *Modern Physician*, 30: 383-386, 2010. 新興医学出版社.
8. 山川研, 植田真一郎. ARB の開発と薬剤特性. *診断と治療*, 97: 688-692, 2009. 診断と治療社.
9. 植田育子, 山川研, 植田真一郎. “日本人の大規模臨床試験 DIME study 日本人本態性高血圧患者における降圧利尿薬の安全性、降圧効果、費用対効果に関するランダム化臨床試験.” 高血圧

(第 4 版) 日本における最新の研究動向. *日本臨床* 67 巻増刊号 7 高血圧(下) Page632-635, 2009, 日本臨床社.

10. 山川研, 植田真一郎. “新薬の広場 高血圧治療薬” 【新薬展望 2008】治療における最近の新薬の位置付け. *医薬ジャーナル*. 44 (増刊): 450-456, 2008, 医薬ジャーナル社.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等 なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山川 研 (YAMAKAWA KEN)  
琉球大学・大学院医学研究科・講師  
研究者番号: 00363664

(2) 研究分担者

安 隆則 (YASU TAKANORI)  
琉球大学・大学院医学研究科・准教授  
研究者番号: 40265278

島袋 充生 (SHIMABUKURO MICHIO)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス  
研究部・特任教授  
研究者番号: 60271144

(3) 連携研究者

植田 真一郎 (UEDA SHINICHIRO)  
琉球大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号: 80285105