

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460228

研究課題名(和文)性差医療を目指した糖尿病血管障害のメカニズム解明

研究課題名(英文)Elucidating the mechanism of vascular dysfunction to achieve gender-specific medicine

研究代表者

菊池 千草(Kikuchi, Chigusa)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・講師

研究者番号：20444987

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：血管障害発症のメカニズムの性差を解明するため、糖尿病モデル動物を用いた血管内皮機能評価と、アンケートを用いた女性の健診受診率に影響する因子の検討を行った。雌性ラットと雄性ラットのpost-occlusive hind limb reactive hyperemia indexを比較したところ、糖尿病モデル動物の雌性ラットではコントロールと比較し早期に血管内皮障害がおこることが判明した。アンケートの結果よりストレスを感じている女性は多く、特に子の養育と経済的要因が女性の健診受診を阻んでいることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined vascular endothelium function using diabetes model animals and questionnaire on factors of going for a medical checkup for women to clarify the mechanism of vascular endothelium dysfunction mediated by sex difference. In diabetes model female rats, post-occlusive hind limb reactive hyperemia index was decreased as compared with control rats at early stage. As the result of the questionnaire, many women were under stress. It was suggested that especially child rearing and economic factors prevent women from going for a medical checkup.

研究分野：医療薬学

キーワード：糖尿病 性差医療 血管障害 健診受診 検体測定室

1. 研究開始当初の背景

閉経前女性の心血管疾患発症率は男性より著しく低い。これには女性ホルモンの関与が考えられている。しかし、糖尿病を発症すると女性の優位性が消失することが知られている。日本人の調査で心血管病罹病率は女性でのみ、糖尿病で有意に増加していたことが報告されている (Doi Y et al. *Stroke* 41: 203-209, 2010)。さらに、海外での報告でも心血管病死亡は、糖尿病患者では男女差は消失しており、心血管病の予後は男性と比較して女性の方が不良であることも報告されている (Kannel WB et al. *Diabetes Care* 2: 120-126, 1979)。以上のことから、糖尿病になることで、女性は男性とは異なる血管の変化が生じていることが考えられる。女性の心血管病が予後不良な理由として、冠動脈が解剖学的に細いこと、閉経後の肥満、健康診断を受ける機会が少なく発見が遅れることなどが考えられている。しかし、女性糖尿病患者の血管障害のメカニズムは十分に明らかにされておらず、性差を考慮した治療が実施されるには至っていない。

糖尿病において血管内皮が障害され、動脈硬化へと進展していく要因は、過剰な酸化ストレスに起因するところが大きいと言われている。酸化ストレスを生じる活性酸素産生増加の機序としては、グルコースの自動酸化、糖化蛋白産生、グルタチオンサイクル障害、プロテインキナーゼC (PKC) およびNADPH オキシダーゼ活性化、ミトコンドリア由来活性酸素産生、内皮型一酸化窒素産生酵素の過剰発現 (eNOS uncoupling) などが報告されている。一酸化窒素産生酵素 (eNOS) は、正常な状態では一酸化窒素 (NO) を産生する。NO は血管拡張作用を有し、血管保護的に働くものである。ところが、糖尿病では eNOS uncoupling が起こり、血管を障害する活性酸素を産生してしまうのである。女性ホルモンであるエストロゲンは抗酸化作用やNO合成あるいは活性化への関与が報告されている。そのメカニズムとして eNOS の補酵素テトラヒドロピオブテリン (BH4) 濃度の維持などの報告がある。しかしながら、心血管病治療を目的とした女性ホルモン投与の有効性に結論は出でおらず、治療法も定まっていない。

活性酸素は喫煙、飲酒、過度の運動、過度の紫外線、精神的なストレスにより生じる。喫煙習慣率、飲酒習慣率などは一般に女性より男性が高いため酸化ストレスも男性の方が高いと想像できる。健常人を対象とした酸化ストレスの研究では、飲酒習慣が抗酸化力を低下させていた。しかし、飲酒習慣率が低かったにも関わらず、女性は酸化ストレスの値が男性と比較して高かったという報告があり、性差と生活習慣による酸化ストレスについては十分に解明されていない。

研究代表者らは2型糖尿病モデルラットを用いて、大動脈や冠動脈において活性酸素産生が増加することをこれまでに明らかにしている。また、2型糖尿病モデルラットにスタチンを慢性投与することにより、大動脈活性酸素産生増加と血糖値の上昇が抑制されることを見出した (Kikuchi C et al. *Nagoya Med J* 49: 95-110, 2008; Kajikuri J et al. *Br J Pharmacol* 158: 621-632, 2009)。さらに、スタチンの糖尿病患者への効果を臨床データにて解析したところ、スタチンの血糖値への影響に性差がある可能性を見出した (第20回日本医療薬学会年会にて発表)。そのメカニズムの解明のため、培養細胞を用いた基礎研究と、患者の試料および臨床データを用いた臨床研究を現在行った (投稿準備中)。また、2型糖尿病モデルラットを用いた実験にて、スタチンの活性酸素産生抑制機序には、PKC と eNOS のリン酸化が関与していることを解明した (Kikuchi C et al. *Biol. Pharm. Bull.*, 37, 996-1002, 2014)。以上の結果と eNOS によるNOの合成あるいは活性化にはエストロゲンが関与していることから、PKC と eNOS のリン酸化に性差が生じているのではないかと考えた。

一方、申請者らは、保険薬局にて希望者を対象にグリコヘモグロビン A1c (HbA1c) を測定しており、生活習慣についての調査した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、モデル動物を用いた血管における血管内皮機能についての検討と、ヒトの生活習慣の調査により、糖尿病による血管障害発症メカニズムの性差と、生活習慣による危険因子を明らかにし、心血管病治療と

予防方法開発につなげることである。

3. 研究の方法

(1) 糖尿病モデル動物の作製

Streptozotocin (STZ) を投与すると膵臓を一部破壊するため、糖尿病モデル動物を作製することができる。STZ は投与量と投与週齢により、膵臓の破壊程度を調整することができる。実験には雌雄の Sprague-Dawley (SD) ラットを用いた。膵臓の機能を一部残すため、5 週齢のラットを購入し、1 週間の馴化の後、緩衝液に溶解した STZ を 30 mg/kg を腹腔内に投与した。4 週間の飼育の後、以下の実験に用いた。同様に緩衝液のみ腹腔内に投与したラットをコントロールとして用いた。

(2) 血管内皮機能の測定

血管内皮機能の測定はレーザー血流計を用いて行った。ラットの下肢の動脈上にセンサーを設置し、圧迫前の 1 分間、1 分間の圧迫、圧迫解除後の 1 分間の反応性充血の血流量を測定した。各期間の AUC を求め、反応性充血の AUC を圧迫前の AUC で除すことにより、post-occlusive hind limb reactive hyperaemia index を求めた。

(3) 健診受診と生活習慣の性差の臨床疫学的解明

愛知県内の検体測定を実施している薬局にて、満 20 歳以上の来局者を対象にアンケートを実施した。調査項目は、性別、年齢、生活環境を予測因子とした。結果因子は、主要評価項目として健診受診の有無、副次的評価項目として、HbA1c の測定実施の有無、生活習慣、健康状態、健診を受診しなかった理由、HbA1c を測定したあるいは測定しなかった理由とした。

全ての研究は、学内の動物実験委員会、倫理審査委員会において承認された研究計画に従い、実施した。

4. 研究成果

(1) 糖尿病モデル動物の血管内皮機能の性差

post-occlusive hind limb reactive hyperaemia index を測定したところ、糖尿病モデル雄性ラットに関しては、コントロールと比較し、16 週齢より低下が認められた。36 週齢を過ぎるとコントロールの測定値も低下したため、同程度となった。糖尿病モデル雌性ラットに関しては、コントロールと比較し、24 週齢から低下が認められた。雄性ラットと同様に 36 週齢になると、同程度となった。観察期間全てを通して、雌性ラットは雄性ラットと比較し、コントロールは高い値を示した。糖尿病モデル雌性ラットに関しては、糖尿病モデル雄性ラットと 24 週齢で同程度となった。以上のことから、経年による血管内皮機能の低下は、女性の方が遅いことが明らかとなった。しかし、糖尿病を発症すると、発症していない場合と比較し、早期に男性と同程度まで内皮機能は低下する可能性が示唆された。

(2) 女性の健診受診率に影響する因子

452 名よりアンケートを回収し、不備のなかった 440 名を解析対象とした。内訳は男性 111 名、女性 329 名であった。

健診の受診率に関しては、女性の比率の方が低い有意な差は認められなかった。健診を受診しなかった理由に関しては、「時間がかかるから」に関しては、男性と比較し、有意に女性の方が多く認められた。性別に健診受診に影響する因子を解析したところ、男性では、「自家用車の使用していないこと」、「家族の介護のストレスがあること」が健診未受診の原因となっていた。女性では、「子の養育をしていること」、「家計のやりくりがストレスがあること」が健診未受診の原因となっていた。多変量解析を行ったところ、男性では変わらず「自家用車」と「家族の介護ストレス」が、女性では「家計のやりくり」に加え、「仕事のストレスがないこと」、「年齢が若いこと」が健診未受診の原因となっていた。

また、薬局で検体検査をした理由について調査したところ、男女とも「薬局でできるから」の回答が 80%以上であった。

以上のことから、女性は男性よりも家事、

育児等で自分の時間がとれず，経済的なことでストレスを感じており，それが健診受診をしない理由となり，糖尿病の発見の遅れにつながると考えられた。

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 3 件)

Kikuchi C, Kajikuri J, Hori E, Nagami C, Matsunaga T, Kimura K, Itoh T.

Aortic superoxide production at the early hyperglycemic stage in arat type 2 diabetes model and the effects of pravastatin.

Biol Pharm Bull., **37**: 996-1002 (2014).

Kikuchi C, Matsunaga T, Suzuki T.

Effects of training students through a program simulating medication administration and patient instructions in pre-training for practical training.

Yakugaku Zasshi, **135**: 809-820 (2015).

Fujita N, Nabetani N, Umemura N, Kikuchi C, Suzuki T.

Lifestyle improvement through continuous measurements of hemoglobin A1c levels and lifestyle checks at the community pharmacy in three cases.

Yakugaku Zasshi, **136**: 1445-1448 (2016).

[学会発表](計 11 件)

野田雅人, 永味千枝, 菊池千草, 堀 英生, 松永民秀

2 型糖尿病モデルラット大腿動脈における血管障害の機序と薬物療法の効果

医療薬学フォーラム 2014 第 22 回クリニカルファーマシーシンポジウム

2014 年 6 月 29 日 (東京); 154

野田雅人, 菊池千草, 永味千枝, 堀 英生, 松永民秀

DPP-4 阻害薬アナグリプチンの NADPH oxidase 活性抑制を介した血管障害機序の解明

第 24 回日本医療薬学会年会

2014 年 9 月 28 日(名古屋);28-P4PM-160

堀 英生, 永味千枝, 菊池千草, 竹内正義, 松永民秀

2 型糖尿病モデルラット大腿動脈における AGEs によるスーパーオキシド産生増加およびプラバスタチンによる抑制効果機序の解明

第 24 回日本医療薬学会年会

2014 年 9 月 28 日(名古屋);28-P4PM-177

野田雅人, 菊池千草, 堀 英生, 永味千枝, 竹内正義, 松永民秀

DPP-4 阻害薬アナグリプチンの酸化ストレス抑制を介した血管障害機序の解明

第 88 回日本糖尿病学会中部地方会

2014 年 10 月 26 日 (名古屋); C-17

堀 英生, 菊池千草, 野田雅人, 今枝憲郎, 岡山直司, 松永民秀

2 型糖尿病患者の血中アディポネクチンにスタチンが及ぼす影響の性差

第 88 回日本糖尿病学会中部地方会

2014 年 10 月 26 日 (名古屋); D-33

藤田直希, 鍋谷伸子, 梅村紀匡, 菊池千草, 鈴木 匡

薬局検体測定室における継続的 HbA1c 測定の効果

日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会 2014

2014 年 11 月 19 日 (静岡); D-25

菊池千草, 野田雅人, 堀 英生, 今枝憲郎, 岡山直司, 松永民秀

糖尿病患者の動脈硬化性疾患発症に対する血糖値変動の影響

第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会

2015 年 5 月 23 日 (下関); III-4-23.

藤田直希, 鍋谷伸子, 梅村紀匡, 菊池千草, 鈴木 匡

薬局検体測定室における継続的測定と生活指導の効果検証

医療薬学フォーラム 2015 第 23 回クリニカルファーマシーシンポジウム

2015 年 7 月 4 日 (名古屋); 104

川合結乃, 菊池千草, 壁谷知樹, 堀 英生, 松永民秀

ヒト脂肪細胞のアディポネクチン産生に対する性ホルモンとスタチンの影響

第 25 回日本医療薬学会年会

2015 年 11 月 23 日(横浜); P1308-23-AM

菊池千草, 松永民秀

DPP-4 阻害薬アナグリプチンの血管壁における活性酸素に対する効果 .

第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会

2016 年 5 月 20 日 (京都); II-宝-11 .

榊原明美, 菊池千草, 鈴木理珠, 関谷 茜, 末松菜月, 鈴木 匡

女性の健診受診率に影響する因子の検討 .

日本薬学会第 137 年会

2017 年 3 月 26 日 (仙台); 26F-pm09

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

菊池 千草 (KIKUCHI CHIGUSA)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・講師

研究者番号 : 20444987

(2) 研究分担者

松永 民秀 (MATSUNAGA TAMIHIDE)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号 : 40209581

今枝 憲郎 (IMAEDA KENRO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号 : 30347398

鈴木 匡 (SUZUKI TADASHI)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号 : 20555081

梶栗 潤子 (KAJIKURI JYUNKO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

員

研究者番号 : 10444986