

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：37604

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462154

研究課題名(和文) 糖尿病患者における血管グラフトれん縮増大の分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism for enhanced constriction of coronary artery bypass graft in patients with diabetes mellitus

研究代表者

山本 隆一 (Yamamoto, Ryuichi)

九州保健福祉大学・薬学部・教授

研究者番号：10094111

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)：糖尿病患者のバイパス血管は、体内に移植された後で異常な収縮を起こす傾向にある。主要な実験結果は、アンジオテンシン (AngII) やセロトニン(5-HT) のような血管収縮物質が引き起こす反応が、糖尿病患者から摘出された伏在静脈や内胸動脈で有意に大きい。糖尿病患者のAngIIや5-HT_{2A}受容体の内胸動脈細胞膜蛋白レベルは非糖尿病患者に比べて有意に増加している。しかし、糖尿病の伏在静脈ではAngII受容体蛋白レベルのみが有意に増加しているが5-HT受容体レベルでは変化がない。これらの結果から、糖尿病患者の5-HTによる反応性増大分子メカニズムは、動脈と静脈血管において異なることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Bypass grafts harvested from Diabetes mellitus (DM) patients tend to spasm after implantation into coronary circulation. Our main findings are that angiotensin II (AngII)- and 5-HT-induced constrictions of human endothelium-denuded saphenous vein (SV) and internal thoracic artery (ITA) were significantly greater in the DM group than in the non-DM group. The protein level of the AngII and 5-HT_{2A} receptors in the membrane fraction of ITA smooth muscle cells were significantly increased in the DM group compared with the non-DM group. However, only AngII receptor, but not 5-HT_{2A} receptor, in the membrane fraction of human SV smooth muscle cells was significantly increased in the DM group. Our findings suggest that the molecular mechanisms for 5-HT-induced hyper reactivity in an arterial graft are different from those in a venous graft.

研究分野：薬理学

キーワード：冠動脈バイパス手術 糖尿病 伏在静脈 内胸動脈 スパズム セロトニン アンジオテンシン

1. 研究開始当初の背景

(1) 糖尿病患者の冠動脈バイパス手術においては、グラフトのれん縮が生じやすいことが知られているが、国内外で実際に糖尿病患者の血管平滑筋を用いての詳細な科学的検討はなされていなかった。そこで我々は糖尿病患者の伏在静脈のセロトニン(5-HT)に対する血管反応性と細胞内シグナル伝達機構の変化を非糖尿病患者と比較することによって、糖尿病血管では、有意に血管収縮反応が増強していること、また平滑筋のミオシン軽鎖脱リン酸化酵素(MLCP: 収縮した血管を弛緩させる役割を担う酵素)の量的および質的障害が引き起こされていることを明らかにしている。

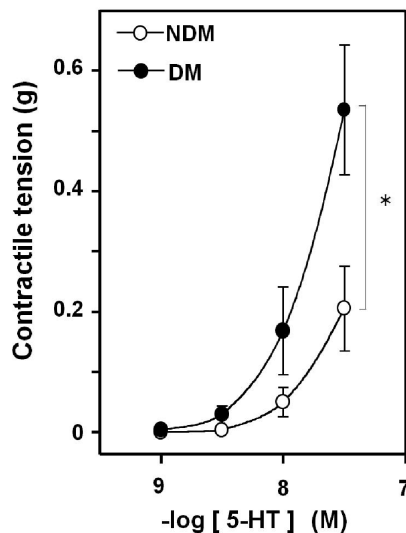


図1 ヒト伏在静脈でのセロトニン誘発血管収縮反応

糖尿病患者(DM)では、非糖尿病患者(NDM)と比較して血管収縮反応が増強しており、これが冠動脈バイパス手術の周術期において血管れん縮を惹起する要因の一つと考えられる

(2) また、糖尿病のインスリン抵抗性発現状態においては、インスリンによる膜7回貫通型Gタンパク共役型受容体であるセロトニン 2A (5-HT_{2A})受容体を血管平滑筋細胞膜から細胞質に引き込むインターナリゼーション作用が減弱されることが血管反応性増強の機序となりえることなどを報告してきた。

2. 研究の目的

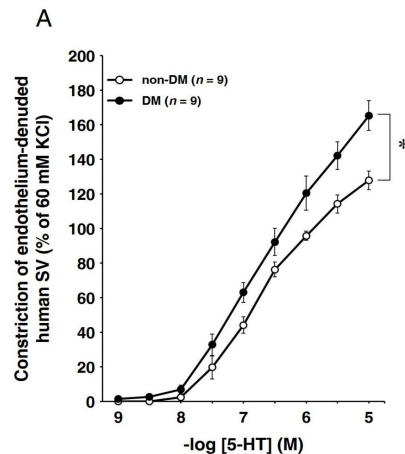
糖尿病患者の伏在静脈および内胸動脈において、セロトニンに加えて、Gタンパク共役型受容体であるアンジオテンシン 受容体(AT1 受容体)についても収縮増強反応が引き起こされるのかどうか検討した。さらに、これらの糖尿病患者の血管収縮増強作用について分子メカニズム解析をおこなった。

3. 研究の方法

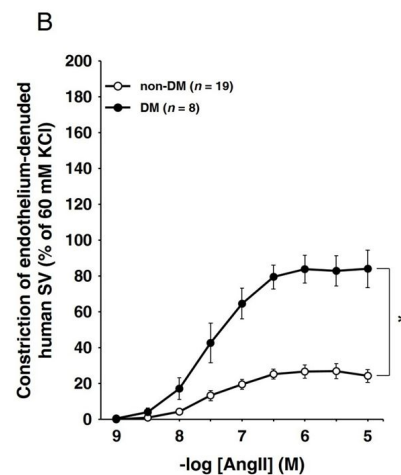
糖尿病患者の伏在静脈におけるセロトニンの血管収縮増強反応に係わるミオシン軽鎖脱リン酸化酵素の量的そして質的障害について明らかとしたことから、糖尿病でのインスリンのセロトニン 2A (5-HT_{2A})受容体インターナリゼーション減弱の分子メカニズムを伏在静脈を用いて検討した。しかし、糖尿病患者伏在静脈ではセロトニン受容体のインターナリゼーション効果がその詳細な分子メカニズムを解明するのに充分でないことが判明した。そこで、セロトニンに加えて、Gタンパク共役型受容体であるアンジオテンシン 受容体(AT1 受容体)の細胞膜蛋白レベルについて伏在静脈及び内胸動脈を用いて詳細な実験をおこなった。

4. 研究成果

(1) 糖尿病患者伏在静脈のセロトニン及びアンジオテンシン による血管収縮増強作用: ヒト糖尿病患者の伏在静脈では、セロトニンのみならずアンジオテンシン による血管収縮反応が非糖尿病患者に比し有意に増強されていた。



伏在静脈におけるセロトニンの反応

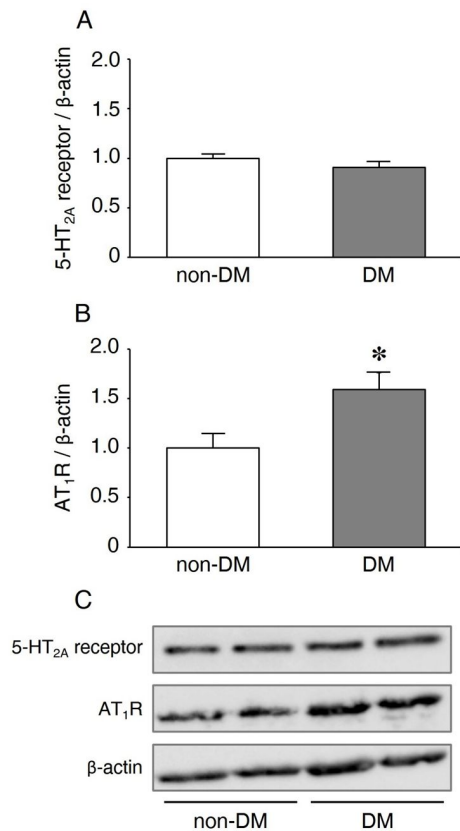


伏在静脈におけるアンジオテンシンの反応

非糖尿病患者の伏在静脈では、セロトニンに比しアンジオテンシンによる血管収縮反応は明らかに小さく、心バイパス手術においてアンジオテンシンが血管れん縮の原因とはなりにくいことが示唆された。しかし、糖尿病患者における血管収縮増強作用は、明らかにセロトニンよりもアンジオテンシンに対する増幅率が高く、糖尿病患者ではアンジオテンシンは血管れん縮のリスクファクターと成り得ることが明らかとなった。

(2) 糖尿病患者内胸動脈のセロトニン及びアンジオテンシンによる血管収縮増強作用：上記伏在静脈とほぼ同傾向の結果を得ている。

(3) 糖尿病患者の伏在静脈細胞膜のセロトニン(5-HT_{2A})受容体タンパクレベル発現量の解析：糖尿病患者の伏在静脈細胞膜5-HT_{2A}受容体タンパクレベルは、非糖尿病患者と比し有意な変化を認めることはできなかった。このことは、糖尿病におけるセロトニンの血管収縮反応増強メカニズムは、ミオシン軽鎖脱リン酸化酵素の質的・量的障害が重要であることが示唆する。



(4) 糖尿病患者の伏在静脈細胞膜のアンジオテンシン受容体タンパクレベル発現量の解析：糖尿病患者の伏在静脈細胞膜アンジオテンシン受容体タンパクレベルは、非糖

尿病患者と比し有意に増加していた。このことは、糖尿病におけるセロトニンの血管収縮反応増強メカニズムに、ミオシン軽鎖脱リン酸化酵素の質的・量的障害に加えて細胞膜アンジオテンシン受容体タンパクレベルの増加が貢献していることを示唆する。

(5) 糖尿病患者の内胸動脈細胞膜のセロトニン(5-HT_{2A})受容体タンパクレベル及びアンジオテンシン受容体タンパクレベル発現量の解析：糖尿病患者の内胸動脈細胞膜5-HT_{2A}受容体タンパクレベル及びアンジオテンシン受容体タンパクレベルは、共に非糖尿病患者と比し有意な増加されていた。このことは、糖尿病の内胸動脈では、セロトニンやアンジオテンシンの血管収縮反応増強メカニズムに、ミオシン軽鎖脱リン酸化酵素の質的・量的障害に加えて細胞膜受容体タンパクレベルの増加が貢献していることを示唆する。

(6) これらの結果から、糖尿病患者の5-HTに対する反応性増大分子メカニズムは、動脈と静脈血管において異なることが示唆された。しかし、糖尿病患者のアンジオテンシンに対する反応性増大分子メカニズムは、動脈と静脈において基本的に共通することが示唆された。

<引用文献>

Y.Matsuo, M.Kuwabara, N.Tanaka-Totoribe, T.Kanai, E.Nakamura, S. Gamoh, A.Suzuki, Y.Asada, H.Hisa, R.Yamamoto. The defective protein levels of myosin light chain phosphatase (MLCP) in the isolated saphenous vein, as a vascular conduit in coronary artery bypass grafting (CABG), harvested from patients with diabetes mellitus (DM). *Biochem. Biophys. Commun.* 412 (2011) 323-327.

T.Kanai, M.Kuwabara, N.Tanaka-Totoribe, E.Nakamura, Y.Matsuo, S. Gamoh, A.Suzuki, Y.Asada, H.Hisa, R.Yamamoto. Insulin induces internalization of the plasma membrane 5-hydroxytryptamine_{2A} (5-HT_{2A}) Receptor in the isolated human endothelium-denuded saphenous vein via the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J.Pharmacol.Sci.* 118 (2012) 178-185.

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 1 件)

A. Yokota, S.Gamoh, N.Tanaka-Totoribe, T.Shiba, M.Kuwabara, E.Nakamura, T.Hayase, H.Hisa, K.Nakamura, R.Yamamoto, Angiotensin, as well as 5-hydroxytryptamine, is a potent

vasospasm inducer of saphenous vein graft for coronary artery bypass grafting in patients with diabetes mellitus. Biochemistry and Biophysics Reports.6(2016)82-87.

〔学会発表〕(計 12 件)

横田敦子、糖尿病におけるアンギオテンシン 誘発性血管収縮の増強反応、第 44 回日本心臓血管外科学会学術総会、2014 年 2 月 19 日、くまもと県民交流館パレオ(熊本市)

横田敦子、糖尿病患者におけるアンギオテンシン 誘発性血管収縮反応の増強メカニズム、第 67 回日本胸部外科学会定期学術集会、2014 年 10 月 3 日、福岡国際会議場(福岡市)

蒲生修治、大伏在静脈瘤の発症には血管平滑筋の緊張低下が関与する、第 67 回日本薬理学会西南部会、2014 年 11 月 23 日、産業医科大学マラツィーニホール(北九州市)

蒲生修治、糖尿病患者の CABG 周術期リスクにおけるアンギオテン の寄与、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 28 日、神戸サンポーホール(神戸市)

横田敦子、インスリンによるアンギオテンシン 誘発性血管収縮反応抑制効果、第 68 回日本胸部外科学会定期学術集会、2015 年 10 月 18 日、神戸国際展示場(神戸市)

芝達雄、糖尿病患者の CABG における 5-HT 誘発性スパズム発生リスク増大メカニズム (ヒト伏在静脈細胞膜 5-HT_{2A} 受容体発現量の検討)、第 68 回日本薬理学会西南部会、2015 年 11 月 21 日、海峡メッセ下関(下関市)

横田敦子、糖尿病患者におけるセロトニン誘発性血管収縮の増強反応-内胸動脈と大伏在静脈での比較-、第 46 回日本心臓血管外科学会学術総会、2016 年 2 月 15 日、名古屋国際会議場(名古屋市)

芝達雄、アンギオテンシン は糖尿病患者において冠動脈バイパス手術後の血管スパズムのリスクファクターとなる、第 89 回日本薬理学会年会、2016 年 3 月 10 日、パシフィコ横浜(横浜市)

芝達雄、糖尿病患者の摘出伏在静脈におけるアンギオテンシン 誘発性血管収縮反応増強メカニズム、日本薬学会第 136 年会、2016 年 3 月 29 日、パシフィコ横浜(横浜市)

横田敦子、糖尿病患者におけるアンギオテンシン 誘発性血管収縮反応増強メカニズムについて-摘出ヒト大伏在静脈での検討-、第 69 回日本胸部外科学会定期学術集会、2016 年 10 月 1 日、ANA クラウンプラザホテル岡山(岡山市)

芝達雄、ヒト伏在静脈および内胸動脈におけるセロトニン誘発性収縮に対する

糖尿病の影響、第 90 回日本薬理学会年会、2017 年 3 月 16 日、長崎ブリックホール(長崎市)

芝達雄、ヒト内胸動脈および伏在静脈におけるアンギオテンシン 誘発性収縮反応に対する糖尿病の影響、日本薬学会第 137 年会、2017 年 3 月 26 日、仙台国際センター(仙台市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 隆一 (YAMAMOTO, Ryuichi)
九州保健福祉大学・薬学部・教授
研究者番号：10094111

(2) 研究分担者

蒲生 修治 (GAMOH, SHUJI)
九州保健福祉大学・薬学部・准教授
研究者番号：20273930

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()