

研究種目：若手研究(スタートアップ)  
研究期間：2007～2008  
課題番号：19890096  
研究課題名(和文) 生活習慣病における酸化ストレス依存性血管前駆細胞制御機構の解明  
研究課題名(英文) Molecular mechanisms underlying oxidative-stress-induced dysfunction of vascular progenitor cells in metabolic syndrome.  
研究代表者  
坂東 泰子 (Kureishi-Bando Yasuko)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：60452190

## 研究成果の概要(和文)：

本研究では、動脈硬化促進型生活習慣病(メタボリックシンドロームに共通する分子血管病病態)の解析を目的とし、当該年度は、糖尿病状態における血管機能・創傷治癒能低下の分子機序の解析に従事した。糖尿病性血管障害および創傷治癒遅延には老化制御分子 p53 が関与しており、アトルバスタチンが Akt/MDM2 シグナリングを活性化を介して p53 の分解を促進することによりインスリン抵抗性を改善させるとともに、糖尿病性創傷遅延を緩和することが明らかとなった。

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,330,000	0	1,330,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
総計	2,680,000	405,000	3,085,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：糖尿病 血管新生 酸化ストレス 糖尿病性血管合併症

## 1. 研究開始当初の背景

動脈硬化促進型生活習慣病(メタボリック

症候群) は増加の一途に伴い合併する血管病の病態解析が急務となった。本研究では、動脈硬化促進型生活習慣病に共通する分子血管病病態の解析を目的とした。特に当該年度は、糖尿病状態における血管機能・創傷治癒能低下の分子機序に着目しその解析に従事した。

## 2. 研究の目的

本研究は以下の仮説を明らかにすることを目的とする。

(1)老化制御因子 p53 がインスリン抵抗性を制御することが報告されているが、糖尿病状態における血管機能・創傷治癒能低下の病態はこの p53 による分子制御が関与しているかどうか。

(2)血管機能改善薬スタチンにはインスリン抵抗性改善作用があることが報告されているが、これは p53 の発現を抑制することによるのかどうか。

(3)血管機能改善薬スタチンは非糖尿病状態において血管新生能を増強することが知られているが、糖尿病状態においても同様に血管新生を増強するのか、その場合、インスリン抵抗性改善作用との相関はあるのか否か。

## 3. 研究の方法

14週令雄2型糖尿病マウスモデル(KK/Ay)、同週令のインスリン抵抗性を有しない雄1型糖尿病マウスモデル(STZ)、同週令の非糖尿病マウス(C57BL6)において、アトルバ下枝虚血手術群及び非手術群ランダムに振り分け、さらに、4週間アトルバスタチン(ATR)経口投与群(2mg/kg/日)及び非投与群

に振り分け比較検討を行った。ATR 非投与群・投与群において血糖・体重・血漿インスリン値・アディポネクチン値・糖負荷試験・インスリン抵抗性評価・血管新生能評価(EPCアッセイ・aortic ring assay)・下肢脱落予後評価を行い解析した。血漿インスリン・アディポネクチン値はELISA法にて測定した。糖負荷試験は、各動物を16時間絶食にした後、1g/kgBWのブドウ糖を腹腔内投与し、0・30・60・90・120分と経時的に採血し血糖値を記録した。インスリン感受性組織(白色脂肪細胞・骨格筋・肝臓)のIRS-1チロシンリン酸化・Akt・MDM2活性については免疫沈降法及びウエスタンブロットにより評価した。血管新生能変化を評価するために下肢虚血モデルの骨髄から単核球を単離培養し、内皮細胞特異的マーカーDiI-LDLおよびLectinで二重陽性となる細胞を内皮前駆細胞(EPC)と同定し、その数をカウントした。各動物の血清を用いて、血中酸化ストレスレベルを特異的測定試薬ROM試薬を用いてFRAS法にて測定した。同様に、血中抗酸化力レベルを特異的測定試薬(BAP試薬)を用いてFRAS法で

## 4. 研究成果

2型糖尿病マウスモデルKK/Ayに対して4週間アトルバスタチンを経口投与した(2mg/kg/d)結果、体重は変化なかったが、血糖・血漿インスリン値は有意に低下した。また低アディポネクチン血症及び糖負荷試験による耐糖能も有意に改善していた。インスリン感受性組織(白色脂肪組織及び骨格筋)のIRS-1・Akt活性はアトルバスタチン群で亢進していた。肝臓におけるIRS-1・Akt活性は評価不能であった(検出さ

れなかった)。 KKAyにおいて血中酸化ストレスレベルは有意に減少しており、抗酸化力も有意に減少していた。局所の eNOS 活性は増加していた。この酸化ストレス増加および抗酸化力低下はアトルバスタチン投与により有意に改善された。下肢虚血 KK/Ay モデルにおいてアトルバスタチン無処理群では全例の下肢壊死脱落を認めたがアトルバスタチン群では下肢壊死脱落率の低下を認め、またその血管新生能および p53 依存性創傷遅延も改善していた。

以上よりアトルバスタチンは 2 型糖尿病マウスにおいて血中酸化ストレス及び抗酸化力も有意に改善した。局所の eNOS 活性は増加しており、NO 産生増加が抗酸化作用強化に寄与している可能性が考えられた。

またこれにともない糖尿病において低下していた血管新生能はアトルバスタチン処理により有意に改善していた。またアトルバスタチン投与群では、インスリン抵抗性があきらかに改善していた。この機序として、アトルバスタチンが Akt/MDM2 シグナリングを活性化させ、これによりインスリン抵抗性制御分子 p53 の分解を促進することによりインスリン抵抗性を改善させるとともに、糖尿病性創傷遅延を緩和することが明らかとなった。

## 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 2 件)

- ① 森本康嗣、坂東泰子、室原豊明、Calcium antagonist: current and future

applications based on new evidence. Pleiotropic effects of calcium channel blockers on vascular endothelial function. Clinical Calcium、査読無、20 巻、2010 年、69-75

- ② 吉田修、近藤隆久、坂東泰子、杉浦知範、前田健吾、奥村健二、室原豊明、Pitavastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, ameliorates endothelial function in chronic smokers. Circulation Journal、査読有、74 巻、2010 年、195-202

[学会発表] (計 4 件)

- ① 森本康嗣、坂東泰子、Atorvastatin confers ischemic limb salvage in type 2 diabetes by activation of two distinct Akt pathways. 第 74 回日本循環器学会総会学術集会、平成 22 年 3 月 6 日、京都
- ② 森本康嗣、坂東泰子、アトルバスタチンによる Akt/MDM2 シグナリング活性化はインスリン抵抗性及び糖尿病性創傷遅延を改善する。第 39 回日本心血管作動物質学会、平成 22 年 2 月 5 日、名古屋
- ③ 坂東泰子 Atorvastatin confers ischemic limb salvage in type 2 diabetes by modulation of angiogenesis and Akt/MDM2/p53 activity. アメリカ心臓病学会学術集会、平成 21 年 11 月 18 日、オランダ、米国

- ④ 森本康嗣、坂東泰子、Impaired Angiogenesis in Diabetes in Association with EPC kinetics Via Reduction in Serum SDF1・Level And Antioxidative Enzyme Activity. 第72回日本循環器学会総会学術集会、平成20年3月29日、福岡

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

坂東 泰子 (Kureishi-Bando Yasuko)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：60452190