

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：37604

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591556

研究課題名（和文） ヒト内胸動脈グラフトの血管れん縮を増強するリスクファクターの解明

研究課題名（英文） Is diabetes mellitus (DM) a high risk factor for coronary artery bypass grafting?

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

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、心バイパス手術において糖尿病がハイリスク因子であるかどうかを解明することにある。我々は、グラフトとして用いる伏在静脈のセロトニン(5-HT)による血管収縮反応が、糖尿病患者では非糖尿病患者と比較して有意に増強されることを見出した。本研究において、糖尿病の伏在静脈での5-HTの血管収縮反応増強には、ミオシン軽鎖脱リン酸化酵素（収縮血管を弛緩させる役割を担う酵素）の質的および量的障害が関係していることを明らかとした。さらに、インスリンには、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作用を有することなどを明らかとした。これらの結果から、我々は糖尿病が心バイパス手術においてハイリスク因子であると結論づけた。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to determine whether diabetes mellitus (DM) is a high risk factor for coronary artery bypass grafting (CABG). In isolated human endothelium-denuded saphenous vein (SV), the constrictions caused by 5-hydroxytryptamine (5-HT) were significantly greater (hyperreactivity) in the DM patients than in the non-DM (NDM) patients. In the study, we demonstrated that the hyperreactivity to 5-HT in the SV smooth muscle of DM patients resulted from not only the enhanced phosphorylation of myosin light chain phosphatase (MLCP) but also the defective protein levels of MLCP. Furthermore, we demonstrated that the relaxant effect of insulin on 5-HT-induced constriction of SV is mediated in part by the internalization of plasma membrane 5-HT_{2A} receptors and the production of nitric oxide via the PI3-K/Akt pathway. In conclusion, we demonstrated that DM is a high risk factor for CABG.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：心バイパス手術、バイパスグラフト、れん縮、セロトニン、ヒト伏在静脈

1. 研究開始当初の背景

冠動脈疾患の主な外科的手術として冠動脈

バイパス手術が行われるが、使用する血管の術中および術後の血管れん縮の防止と術後の

血栓性閉塞・狭窄の軽減が、グラフトの長期開存率ならびに予後良好な成績をもたらすとされている。内膜肥厚や糖尿病などの病態血管平滑筋に着目し、ノルアドレナリン、アンジオテンシンIIそしてセロトニン(5-HT)に対する血管反応性を薬理的に詳細に検討することは、バイパス手術後の予後改善のための新規薬物導入に繋がる。我々は、糖尿病患者の動脈グラフトとして用いる内胸動脈では、非糖尿病患者に比し、5-HTによる血管収縮作用が有意に増強されることをすでに見出している。

2. 研究の目的

今回の研究では、冠動脈バイパス手術における血管グラフトのれん縮を増大するリスクファクターについて解明をおこなう。リスクファクターとしての病態では糖尿病を、そして血管れん縮誘発因子として血小板由来の5-HTに焦点を絞っている。心バイパス手術において、糖尿病患者の血管グラフトが術中および術後にれん縮を起こし易く予後を悪化させる可能性が高いとされるが、科学的な証明はなされていない。そこで、血管グラフトのれん縮を増大するリスクファクターの解明をおこない、特に糖尿病患者の心バイパス手術における手術成績向上のために、新たな血管れん縮予防薬の可能性を探る。

3. 研究の方法

血管の反応性は、血管グラフトとしての働きに大きく影響すると考えられる。本研究では、ヒト伏在静脈を用いて、血小板から放出される5-HTによって惹起される血管収縮をマグヌス法による張力変化で測定し、糖尿病患者と非糖尿病患者における血管反応性の相違を確認した。さらに、その反応性の相違を細胞内分子メカニズムを含めて検討した。細胞内分子メカニズムは、種々の阻害薬を用いると共に、5-HTに対するRho-Aの細胞膜へのトランスロケーション、Rho-kinase (Rho-K)の活性、ミオシン軽鎖ホスファターゼ(MLCP)の活性及びPI3-Kの活性について検討し、糖尿病において変化する細胞内シグナル分子の同定をおこなった。

さらに、ヒト伏在静脈を用いて、インスリンによる5-HT受容体の細胞膜からのインターナリゼーション誘導作用について検討した。

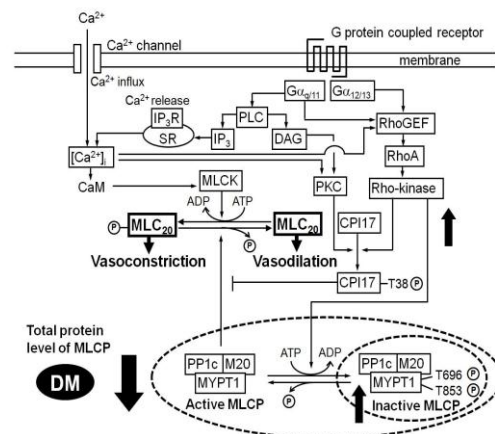
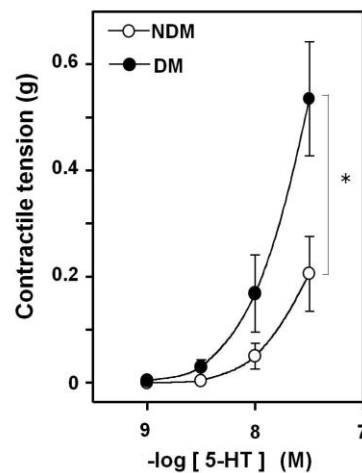
本研究は、九州保健福祉大学及び宮崎県立延岡病院の両倫理委員会の承認を受け実施された。

4. 研究成果

(1) ヒト伏在静脈の5-HT受容体サブタイプ：冠動脈バイパス手術にバイパスグラフトとして汎用されているヒト伏在静脈におい

て、5-HTによる血管収縮作用は5-HT_{2A}および5-HT_{1B}受容体の両者が関与していることを明らかとした。

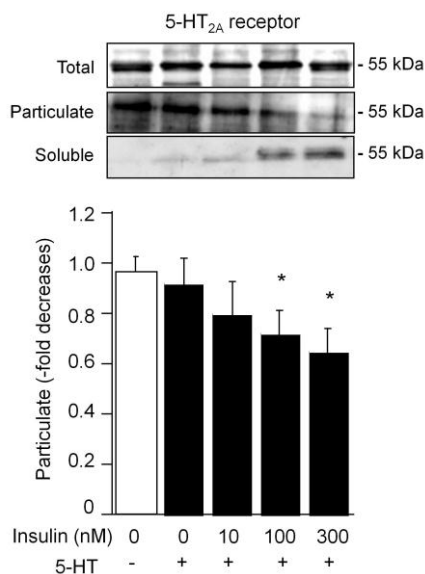
(2) 糖尿病患者の伏在静脈の5-HTによる血管収縮増強作用：糖尿病(DM)患者の内皮除去伏在静脈は、非糖尿病(NDM)患者に比し、5-HTによる血管収縮作用が有意に増強していることを見出し、そのメカニズムとしてミオシン軽鎖脱リン酸化酵素(MLCP：収縮血管を弛緩させる役割を担う酵素)が質的及び量的に障害されていることを明らかとした。



Biochemical and Biophysical Research Communications 412 (2), pp. 323-327, (2011)

(3) インスリンと5-HT_{2A}受容体：インスリンには、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を有することをヒト摘出伏在静脈にお

いて明らかとした。インスリン作用不全の糖尿病では、このことがれん縮発現増大に関連することを示している。



Journal of Pharmacological Sciences 118 (2), pp. 178-185, (2012)

我々は、糖尿病患者の摘出伏在静脈の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したこれらの実験によって、冠動脈バイパス手術において糖尿病がグラフトれん縮増大のハイリスク因子であることを証明した。

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)

- ① Kanai T., Kuwabara M., Tanaka-Totoribe N., Nakamura E., Matsuo Y., Gamoh S., Suzuki A., Asada Y., Hisa H., Yamamoto R. 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. *Journal of Pharmacological Sciences* (査読有) 118 (2), pp. 178-185, (2012) doi: 10.1254/phs.1172FP
- ② Matsuo Y., Kuwabara M., Tanaka-Totoribe N., Kanai T., Nakamura E., Gamoh S., Suzuki A., Asada Y., Hisa

H., Yamamoto R. The defective protein level 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). *Biochemical and Biophysical Research Communications* (査読有) 412 (2), pp. 323-327, (2011) doi: 10.1016/j.bbrc.011.07.097

- ③ Nakamura E., Tanaka N., Kuwabara M., Yamashita A., Matsuo Y., Kanai T., Asada Y., Hisa H., Yamamoto R. Relative contributions of 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptor subtypes in 5-HT-induced vasoconstriction of the distended human saphenous vein as a coronary artery bypass graft. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* (査読有) 34 (1), pp. 82-86, (2011) doi: 10.1248/bpb.34.82

[雑誌総説] (計 1 件)

- ① 鳥取部直子、金井祐、山本隆一、糖尿病バイパス血管における5-HT誘発性血管収縮反応増強のメカニズム、*日本薬理学雑誌* (査読有) 141(2), pp. 117, (2013) doi: 10.1254/fpj.141.117

[学会発表] (計 8 件)

- ① 中村栄作、児嶋一司、新名克彦、横田敦子、金井祐、桑原正知、蒲生修治、比佐博彰、山本隆一、浅田祐士郎、摘出ヒト内皮除去伏在静脈でのインスリンによる細胞膜セロトニン 2A 受容体のインターナリゼーション促進効果、第 65 回日本胸部外科学会総会 (2012, 10 福岡)
- ② 金井祐、桑原正知、鳥取部直子、松尾徳子、中村栄作、蒲生修治、鈴木彰人、浅田祐士郎、比佐博彰、山本隆一、インスリンはヒト内皮除去摘出大伏在静脈において細胞膜セロトニン 2A 受容体のインターナリゼーションを引き起こす、第 85 回日本薬理学会年会 (2012, 3 京都)
- ③ 松尾徳子、桑原正知、鳥取部直子、金井祐、中村栄作、蒲生修治、鈴木彰人、浅田祐士郎、比佐博彰、山本隆一、糖尿病患者の大伏在静脈における MLCP タンパクレベルの低下、第 85 回日本薬理学会年会 (2012, 3 京都)
- ④ 金井祐、桑原正知、中村栄作、鳥取部直子、松尾徳子、比佐博彰、山本隆一、PI3K 経路を介したヒト大伏在静脈におけるインスリンの血管弛緩反応、第 28 回日本薬理学会九州支部会 (2011, 12 福岡)

- ⑤ 松尾徳子、桑原正知、鳥取部直子、金井祐、中村栄作、蒲生修治、浅田祐士郎、比佐博彰、山本隆一、糖尿病患者の大伏在静脈におけるセロトニン誘発性血管反応増大メカニズムの検討、第 64 回日本薬理学会西南部会 (2011, 11 福岡)
- ⑥ 金井祐、松尾徳子、田中直子、桑原正知、比佐博彰、山本隆一、ヒト内皮除去大伏在静脈におけるインスリンの NO 非依存性血管弛緩反応、第 84 回 日本薬理学会年会 (2011, 3 横浜)
- ⑦ 金井祐、松尾徳子、田中直子、桑原正知、比佐博彰、山本隆一、セロトニンの血管収縮反応に対するインスリンの抑制効果—摘出ヒト大伏在静脈での検討—、第 63 回 日本薬理学会西南部会 (2010, 11 鹿児島)
- ⑧ Tanaka N., Kanai T., Matsuo Y., Kuwabara M., Nakamura E., Nakamura K., Asada Y., Hisa H., Yamamoto R. Different contributions of Rho-kinase to the vasoconstrictions caused by 5-HT and noradrenalin in the isolated internal thoracic artery and saphenous vein. World Pharma 2010・copenhagen, Denmark・(2010, 7 デンマーク、コペンハーゲン)

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・講師
研究者番号：20273930

金井 祐 (KANAI TASUKU)
九州保健福祉大学・薬学部・助教
研究者番号：20551295

松尾 徳子 (MATSUO YASUKO)
九州保健福祉大学・薬学部・助手
研究者番号：30551296
(H23→H24：研究協力者)