

- basal flow and conduit vessel length. *Clin Sci* 1994; **87**: 45-51.
23. Coats P, Johnston F, MacDonald J, McMurray JJV, Hillier C: Endothelium-derived hyperpolarizing factor: identification and mechanisms of action in human subcutaneous resistance arteries. *Circulation* 2001; **103**: 1702-1708.
 24. Urakami-Harasawa L, Shimokawa H, Nakashima M, Egashira K, Takeshita A: Importance of endothelium-derived hyperpolarizing factor in human arteries. *J Clin Invest* 1997; **100**: 2793-2799.
 25. Fisslthaler B, Popp R, Kiss L, et al: Cytochrome P450 2C is an EDHF synthase in coronary arteries. *Nature* 1999; **40**: 493-497.
 26. Tagawa T, Hirooka Y, Shimokawa H, et al: Long-term treatment with eicosapentaenoic acid improves exercise-induced vasodilatation in patients with coronary artery disease. *Hypertens Res* 2002; **25**: 823-829.
 27. Hirooka Y, Eshima K, Setoguchi S, Kishi T, Egashira K, Takeshita A: Vitamin C improves attenuated angiotensin II-induced endothelium-dependent vasodilation in human forearm vessels. *Hypertens Res* 2003; **26**: 953-959.
 28. Chowienczyk PJ, Watts GF, Cockcroft JJR, Ritter JM: Impaired endothelium dependent vasodilatation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemia. *Lancet* 1992; **340**: 1430-1432.
 29. Honing ML, Smits P, Morrison PJ, Rabelink TJ: Bradykinin-induced vasodilatation of human forearm resistance vessels is primarily mediated by endothelium-dependent hyperpolarization. *Hypertension* 2000; **35**: 1314-1318.
 30. O'Kane KP, Webb DJ, Collier JG, Vallance PJ: Local L-N^G monomethyl-arginine attenuates the vasodilator action of bradykinin in the human forearm. *Br J Clin Pharmacol* 1994; **38**: 311-315.
 31. Cockcroft JR, Chowienczyk PJ, Brett SE, Ritter JM: Effect of N^G-monomethyl-L-arginine on kinin-induced vasodilatation in the human forearm. *Br J Clin Pharmacol* 1994; **38**: 307-310.

RAS

Renin-Angiotensin System

特集◇血管とRAS

II. 血管におけるRASの臨床応用

血管内皮機能とRAS

植田真一郎

琉球大学大学院医学研究科薬物作用制御学

アンジオテンシンIIさらにアルドステロンは基礎的な実験のみならずヒト *in vivo* 実験からも酸化ストレス亢進などを介した血管内皮機能低下を引き起こす可能性が示唆されている。本態性高血圧患者においては慢性レニン・アンジオテンシン系 (renin-angiotensin system: RAS) 抑制による特異的な血管内皮機能改善は明らかではないが、2型糖尿病においてはアンジオテンシン変換酵素 (angiotensin-converting enzyme: ACE) 阻害薬、AT₁受容体拮抗薬 (AT₁ receptor blocker: ARB) とともに血管内皮機能を改善することが報告されている。冠動脈疾患患者でも伝導血管において同様の結果が得られている。糖尿病や冠動脈疾患の患者においてはRAS抑制が血管内皮機能を改善し、予後を改善する可能性があるが、機序に関して不明な点や方法論・研究デザイン上の問題も多く、今後標準化された方法で検討されるべきである。

Key words

アセチルコリン、アンジオテンシン変換酵素阻害薬、アンジオテンシンII受容体拮抗薬、FMD、プレチスモグラフ

はじめに

血管内皮細胞はさまざまな機能を有するが、多くの臨床研究ではヒト血管における薬理的あるいは生理的刺激による内皮依存性血管拡張反応をその指標として評価している。この総説ではレニン・アンジオテンシン系 (renin-angiotensin system: RAS) 抑制はさまざまな疾患をもつ患者の血管内皮機能を改善させるか？ 改善するならばどのようなメカニズムが介在するか？ という問いに焦点をあて、文献をレビューし、考察を加えた。

ヒトにおける血管内皮機能評価とRAS活性の影響を検討する際の問題点

ヒトRASと血管内皮機能について述べる前に、ヒトにおける血管内皮機能評価法について簡単に紹介する。評価法の特徴、とくに交絡因子について知ることは提示

されたデータの解釈に必須である。ヒト血管内皮機能は、橈骨動脈にアセチルコリンを注入しアゴニスト刺激による前腕抵抗血管の内皮依存性拡張を、プレチスモグラフを用いた前腕血流量の測定により評価する方法と、阻血解除後の血流増加による血管拡張を、超音波を用いて血管径の変化として評価する方法により評価される。前者は薬理的刺激による抵抗血管の、後者は生理的刺激による伝導血管の内皮機能をそれぞれ評価していることになる。

1) アセチルコリン動注による前腕抵抗血管における評価法について

前腕血流量は、静脈閉塞による還流の抑制をおこなった状態で、流入する血流量を前腕体積の増大率としてプレチスモグラフを用いて計測する。アセチルコリン動注による血管拡張反応は血管内皮機能の指標となるが、

NO 依存性の拡張は全体の 40~50%程度とされる⁷⁾。この実験系におけるアセチルコリン血管拡張作用は前腕血流基礎値²⁾および血圧³⁾に影響されると報告されている。問題はこれらはアンジオテンシン変換酵素 (angiotensin-converting enzyme: ACE) 阻害薬または AT₁ 受容体拮抗薬 (AT₁ receptor blocker: ARB) の投与により変化しうることである。したがって、RAS 抑制の影響を検討するには対照として同程度の血圧降下をきたす介入をおこなうか、血圧や前腕血流が変化しない対象者(例: 塩分摂取正常の正常血圧者) で研究をおこなう必要がある。アセチルコリン血管拡張反応の再現性は、臨床研究プロトコル作成において症例数の決定に重要であるが、AUC による検討でも %CV は 15~25% であり⁴⁾、個人差も大きい。

2) FMD による伝導血管における検討

flow-mediated vasodilation (FMD) による評価は侵襲がアセチルコリン法よりも少なく、小児にも用いることが可能などの利点はあるが、現在おこなわれている方法では、RAS 抑制の効果を詳細に検討するような臨床研究に使用するには再現性が低すぎる⁶⁾。この点は、たとえばリアルタイムトラッキングシステムの導入やプローブの安定性などの点を今後改善していく必要がある。Ghiadoni らはリアルタイムトラッキング法を用いて、FMD のピーク値や反応の AUC を算出し、その半年後の再測定による再現性を報告しているが、CV 15% と以前の報告よりも良好である⁷⁾。

データの解釈に関しては、FMD は①阻血解除後の血管内皮刺激としての血流増加、②血流増加による NO などの血管内皮細胞からの遊離、③NO への cGMP の反応 (平滑筋機能) の 3 因子が影響することを念頭に置くべきである。FMD の改善が血管内皮機能の改善として評価されるには、このうち①と③は変化しないことが前提である。しかしここでもまた ACE 阻害薬や ARB は②のみならず①、③にも影響することに留意すべきである。①はそもそも測定されること自体が少ない。③は通常ニトログリセリン投与後の血管拡張反応として評価され、多くの研究では介入の前後で差がない。ゆえに FMD の改善は内皮機能の改善である、と解釈されている。しかし

1 用量での検討であり、反応も FMD の 2 倍程度と、対照実験としての妥当性が確立しているとはいえない。この点も今後検討・改善すべきであろう。先述した Ghiadoni らは低用量のニトログリセリンを投与して、FMD とほぼ同程度の血管拡張を得ることに成功している⁷⁾。またアセチルコリンテストと同様に血圧が影響することも報告されているため⁸⁾、ACE 阻害薬や ARB の介入による影響を評価する際に血圧の変動は問題になる。以上のようなこの 2 つの評価法の限界を知ったうえで、得られたデータの解釈をおこなうべきである。

アンジオテンシン II は血管内皮機能障害を引き起こすか?

Harrison らのグループはアンジオテンシン II 慢性投与により高血圧を発症する動物モデルを作製した。このラットではアンジオテンシン II による膜結合型 NAD(P)H オキシダーゼの活性化または発現増加を介した活性酸素産生増加が血管内皮機能低下、血圧上昇に貢献している可能性が強い。また注目すべきことは同時に NO ドナーに対する血管拡張反応も低下していることで、NO の活性酸素による不活性化が介在していることを示している⁹⁾。腎血管性高血圧患者は RAS 活性が亢進しているが、Higashi らはこの疾患の患者において酸化ストレスのマーカーが高値であり、血管内皮機能が低下していること、ビタミン C 投与および腎血管形成術によりそれらが改善することから、ヒトにおいてもアンジオテンシン II への暴露が酸化ストレスを亢進させ、ヒトの血管内皮機能を障害することを明らかにした¹⁰⁾。しかし Higashi らの研究では、NO ドナーとして用いたイソソルビドに対する血管拡張反応の血管形成術後の変化については明らかではない。この点は RAS と内皮機能の関連を考察するうえで重要である。

Hirooka らは健常者においてアンジオテンシン II を動注し、アセチルコリンによる血管拡張反応への影響を検討した。アンジオテンシン II はアセチルコリンの血管拡張作用を減弱させ、この作用はビタミン C の同時投与により消失した¹¹⁾。またわれわれの研究室では NO ドナーの血管拡張作用に及ぼすアンジオテンシン II の影響を検討した。アンジオテンシン II は NO ドナーのニトロ

グリセリンの血管拡張作用を減弱させ、これはビタミンCおよびARBの投与により消失した¹²⁾。上記の2つの実験で使用されたアンジオテンシンIIの投与量により得られる前腕のアンジオテンシンII濃度は*in vitro*でNAD(P)Hオキシダーゼを活性化すると報告されているものであることから、ヒト抵抗血管において比較的短期間のアンジオテンシンIIへの暴露により、AT₁受容体を介して活性酸素の産生増加によるNOの不活性化、血管内皮機能低下が生じる可能性がある。

アルドステロンは血管内皮機能を低下させるか？

1999年に発表されたRALES研究は、抗アルドステロン薬であるスピロラク톤を、ACE阻害薬を含む心不全の標準治療に加えることが約30%の死亡率の低下を伴うことを明らかにした¹³⁾。これまでアンジオテンシンIIこそがRAS最終産物としてさまざまな心血管イベントに関連すると考えられてきたが、この試験の結果は心不全においてアルドステロンも生命予後に関与する危険因子として認識されるべきであることを強く示唆する。また、さまざまな基礎研究から、アルドステロンは心血管組織でも産生され、受容体も存在することが明らかになった。血管においてはNOの遊離を抑制することが示されたほか、ACE活性の増強などを介して、RAS活性を亢進させる可能性がある。Farquharsonらは心不全患者に対するスピロラク톤の標準治療への追加が、アセチルコリンテストで評価した血管内皮機能および基礎的なNO産生(L-NMMAの血管収縮作用で評価される)を改善することを、プラセボを使用したクロスオーバー法で明らかにした¹⁴⁾。この厳格な研究デザインの使用は、この結果の信頼性をきわめて高いものになっている。またFarquharsonらは健常者においてアルドステロンの全身投与が血管内皮機能を低下させることをやはり二重盲検クロスオーバー法により明らかにした¹⁵⁾。詳細な機序は現時点では不明であるが、アルドステロンは直接内皮細胞に作用し、NO産生または遊離の抑制により血管内皮機能を低下させると考えられる。

高血圧患者における血管内皮機能とRAS抑制

高血圧患者において血管内皮機能が低下しているこ

と、NOドナーへの反応は保持されていることを示唆する報告は多い。しかしすべての報告が一致しているわけではなく、内皮機能は保持されているとの報告、NOドナーへの反応も低下しているとする報告も存在する。年齢や存在する代謝異常などが影響すると考えられる。血管内皮機能低下が存在する場合、降圧薬による治療は血管内皮機能を改善させるか否かについて多くの研究がおこなわれた。

1) アセチルコリンを用いた前腕抵抗血管における検討—本態性高血圧—

HirookaらはACE阻害薬カプトプリルが血管内皮機能を改善すること、ニフェジピンは改善しないことを、それぞれ単回投与後であるが、はじめて報告した¹⁶⁾。ACE阻害薬はアンジオテンシンII産生抑制、ブラジキニンの不活性化抑制を介して血管内皮機能を改善する可能性はあるが、その後の研究では、一致した見解は得られていない(表①)。慢性投与の場合、ACE阻害薬では改善しないとする報告もみられ¹⁷⁾¹⁸⁾、逆にCa拮抗薬でも改善するとする報告¹⁹⁾もある。ARBは、L-NMMAの血管収縮作用で評価する基礎的NO産生を改善し、アセチルコリンに対する血管拡張反応も改善するが、同時にニトロプルシドへの反応も改善しており、内皮機能の改善とは結論づけられないとしている²⁰⁾。同様の結果はACE阻害薬についても報告されている²¹⁾。このように相容れない結果となってしまう理由については、前述したようにアセチルコリンが血圧の影響を受けること、長期にわたる再現性は確認されていないことなどがあげられる。現在のところクロスオーバーデザインや十分な検出力をもつランダム化平行群間比較試験デザインを用いた研究は少なく、ほとんどバイアスのかかりやすい前後比較であることも理由の1つであろう。結局、現時点では本態性高血圧患者においてRAS抑制がアセチルコリンへの血管拡張反応で評価した血管内皮機能を改善するという明確な証拠は得られていない。したがって逆にRAS活性亢進が本態性高血圧の血管内皮機能低下を引き起こしていることを裏づける証拠はないことになる。L-NMMAの血管収縮作用で基礎的NO産生を評価する方法も用いられている。高血圧患者で基礎的NO産生は

表① RAS 抑制と血管内皮機能一本態性高血圧一

前腕抵抗血管 (アセチルコリンテスト)			
Hirooka	カプトプリル 25 mg 単回投与	オープン試験, 前後比較 (n=7)	改善あり
Creager	カプトプリル 150 mg 7~8 週間	前後比較 (n=12)	変化なし
	エナラプリル 30 mg 7~8 週間	無作為割り付け	変化なし
Virdis	カプトプリル 100 mg 52 週間	オープン試験, 前後比較	改善あり (サブグループ解析にかぎり)
Kiowski	シラザプリル 10 mg 21 週間	オープン試験, 前後比較 (n=22)	変化なし
Taddei	リシノプリル 10 mg 単回投与	オープン試験, 前後比較 (n=10)	変化なし
	4 週間		変化なし
	1 年間		改善あり (SNP への反応も増加)
Ghiodoni	カンデサルタン 8~16 mg 8 週間 6 か月間	オープン試験, 前後比較 (n=10)	変化なし 改善あり (SNP への反応も増加)
伝導血管 (FMD)			
Ghiodoni	ペリンドプリル 2~4 mg 6 か月間	前後比較 (n=28)	改善あり
	テルミサルタン 80~160 mg 6 か月間	前後比較 (n=29)	変化なし
		無作為割り付け	

(筆者作成)

低下していることが知られているが、この方法では現在のところ、先述した ARB に加えて ACE 阻害薬、Ca 拮抗薬ともに高血圧患者では改善することが報告されている²²⁾。したがって現時点では本態性高血圧患者において血圧降下そのものではなく RAS 活性抑制が特異的に血管内皮 NO 産生を増加させるか否かは不明である。

2) 腎血管性高血圧における検討

先に腎血管性高血圧患者ではアンジオテンシン II 産生増加により酸化ストレス亢進による血管内皮機能低下が生じるとする報告があることを述べた。興味深いことに動脈硬化性の腎血管性高血圧患者においては ARB や α_1 遮断薬では血圧低下するものの内皮機能 (この研究では 100% NO 依存性の血管拡張を起こすセロトニンを使用) は改善せず、ACE 阻害薬投与時のみ改善が認められたとする報告がある²³⁾。もし腎血管性高血圧の内皮機能低下が AT_1 受容体を介した酸化ストレス亢進あるいは血圧上昇そのものにあるのなら、この結果は矛盾することになる。

3) FMD による検討一本態性高血圧一

FMD は先述したように臨床研究に用いるには多くの

問題があるが、最近、先に述べたように再現性を改善した方法による RAS 抑制の内皮機能への影響をみた研究が報告された。1 群約 180 名の患者を無作為に ACE 阻害薬、ARB、2 種類の Ca 拮抗薬、2 種類の β 遮断薬に割り付けて FMD を半年の治療前後で計測したものである。血圧は各群ともほぼ同程度 (<140/<90 mmHg) にコントロールされたが、ACE 阻害薬群でのみ内皮機能 (FMD) の改善が認められた²⁴⁾。ARB ではこの作用は認められず、RAS 抑制 (アンジオテンシン II の作用抑制) よりもブラジキニン不活性化による内皮機能改善の可能性が示唆される。事実、健常者における検討でも、ACE 阻害薬は急性に FMD を改善したが、ブラジキニン B_2 受容体拮抗薬と同時投与するとその作用は消失している。ただし、この仮説には抵抗血管での研究結果を考慮すると矛盾する点がある。

4) まとめ

本態性高血圧患者においては、前腕抵抗血管での慢性的な RAS 抑制による内皮機能の改善は明らかではなく、むしろ降圧そのものが基礎的 NO 産生を改善する可能性がある。一方、伝導血管では ACE 阻害薬による FMD の特異的な改善が報告されており、ARB では改善

表② RAS抑制と血管内皮機能—糖尿病—

1型糖尿病			
前腕抵抗血管 (アセチルコリンテスト)			
O'Driscoll	エナラプリル 20mg 4週間	オープン試験, 前後比較 (n=9)	改善あり
伝導血管 (FMD)			
MacFarlane	ベリンドプリル 2~4mg 12週間	二重盲検クロスオーバー (n=20)	変化なし
Schalkwijk	キナプリル 10mg 5週間	二重盲検クロスオーバー (n=24)	変化なし
Mullen	エナラプリル 20mg 24週間	二重盲検ランダム化 (n=45)	変化なし
2型糖尿病			
前腕抵抗血管 (アセチルコリンテスト)			
Bijlstra	ベリンドプリル 4~8mg 24週間	オープン試験, 前後比較 (n=10)	変化なし
O'Driscoll	エナラプリル 20mg 4週間	二重盲検クロスオーバー (n=10)	改善あり
Cheetham	ロサルタン 50mg 4週間	二重盲検クロスオーバー (n=9)	改善あり
伝導血管 (FMD)			
Cheetham	ロサルタン 50mg 4週間	二重盲検クロスオーバー (n=12)	改善あり

(筆者作成)

しなかったこと、健常者でもACE阻害薬はFMDを増大させ、その作用はB₂受容体拮抗薬により消失することなどから、RAS抑制よりもむしろブラジキニン不活性化が機序として考えられる²⁴⁾。しかし抵抗血管では、健常者でもACE阻害薬によるブラジキニン不活性化を介した血管拡張反応増強は認められるが、アセチルコリンの血管拡張作用は増強しない。つまりブラジキニン増加は抵抗血管のアセチルコリン刺激後の内皮依存性血管拡張に影響していないことになる。これは血管床による違いなのか、アセチルコリンテストはACE阻害薬(ブラジキニン不活性化)の内皮機能への影響を評価するには妥当でないのかは明らかではない。アセチルコリンの作用のうちNOに依存する部分はFMDでのそれにくらべ少ないことが理由となるかもしれない。実際ほぼ100%NOに依存するセロトニンの血管拡張作用を指標にした腎血管性高血圧患者における研究では、先述したようにACE阻害薬が抵抗血管の血管内皮機能を改善したと報告されている。ただこの結果は、よりRAS活性が亢進した状態(腎血管性高血圧)ではブラジキニン不活性化が内皮機能を改善するとも解釈できる。

糖尿病患者における血管内皮機能とRAS抑制 (表②)

1型糖尿病においては以前から血管内皮機能および

NOドナーへの血管拡張反応が低下していることが報告されている。RAS抑制の介入をおこなった研究はいくつか報告されているが、研究間の結果の不一致が認められる。O'Driscollらはエナラプリラートの動注およびエナラプリルの1ヵ月間投与が正常血圧の1型糖尿病患者の血管内皮機能(アセチルコリンテストにより評価した)を改善すると報告している²⁵⁾。Arcaroらは大腿動脈のFMDが1週間のカプトプリルまたはエナラプリル投与により改善することを示した²⁶⁾。しかしMcFarlaneらの研究ではより厳格な研究デザイン(二重盲検クロスオーバー法)において12週間のACE阻害薬の投与はFMDで評価した血管内皮機能に影響せず²⁷⁾。さらにMullenらは半年間のACE阻害薬投与がやはりFMDを改善しなかったと報告している²⁸⁾。ただし後者は従来のFMDの評価法を用いて、二重盲検ながらプラセボとの平行群間比較をおこなっており、検出力は十分でなかった可能性は残る。また重要なポイントとしてプラセボ群においても半年後のFMDは改善しており、この種の研究における、プラセボを用いない前後比較による過大評価の危険性を示唆している。長期RAS抑制のアセチルコリンを用いた評価は報告されていないが、総じて急性の抑制では改善するものの、慢性的RAS抑制が1型糖尿病の血管内皮機能を改善する明らかな証拠はまだ得られていない。

2型糖尿病においても血管内皮機能、平滑筋機能の低下が報告されている。1995年に Bijlstra らは10名の高血圧を合併した2型糖尿病患者において、半年間のACE阻害薬投与はメタコリン動注により評価した血管内皮機能を改善しなかったと報告している²⁹⁾。この研究は少人数での前後比較であるが、O'Driscoll らは正常血圧の2型糖尿病において二重盲検クロスオーバー法によりACE阻害薬4週間投与とプラセボを比較し、ACE阻害薬投与はアセチルコリンテストで評価した血管内皮機能およびL-NMMAの血管収縮反応で評価した基礎的NO産生を改善したと報告している³⁰⁾。同じ研究グループはさらに同じく正常血圧の2型糖尿病において、ARBロサルタン4週間投与がプラセボと比較してFMDで評価した伝導血管およびアセチルコリンテストで評価した前腕抵抗血管の血管内皮機能を改善することを二重盲検クロスオーバー法により明らかにした³¹⁾³²⁾。したがって、より長期の十分な検出力と客観性をもった研究はおこなわれていないが、4週間のRAS抑制は正常血圧の2型糖尿病患者の血管内皮機能を改善させることが示唆された。ARBでもACE阻害薬でも2型糖尿病の血管内皮機能が改善することは、アンジオテンシンIIの産生・作用の抑制を介したメカニズムが介在する可能性が強いことを示唆する。しかしARBと異なり、ACE阻害薬では基礎的NO産生の改善も認められている³⁰⁾。これはブラジキニン不活性化を介したものである可能性がある。

冠動脈疾患患者における血管内皮機能とRAS抑制

TREND研究は正常血圧の冠動脈疾患患者を無作為にACE阻害薬キナプリルとプラセボに割り付け、半年間の治療後の冠動脈血管内皮機能を評価したものである。キナプリルは有意に冠動脈血管内皮機能を改善した³³⁾。BANFF研究は8週間のエナラプリル、キナプリル、ロサルタン、アムロジピン投与のFMDで評価した血管内皮機能へ及ぼす影響をクロスオーバー法により検討したものであるが、キナプリル投与後のみ血管内皮機能の改善が認められた³⁴⁾。しかしこの研究で用いたFMD測定法は高血圧の項で紹介した最近の報告と異なり再現性が低く、十分な検出力を有していたかは疑問である。

有意ではないものの、少なくともロサルタン、アムロジピンでも改善する傾向はあった。Hornig らは同様の臨床的背景を有する患者においてACE阻害薬とARBを比較したが、両者とも同程度にFMDで評価された内皮機能を改善している³⁵⁾。L-NMMAやビタミンCを使用した実験から、両者ともNOの生体内有効利用を増加させ、酸化ストレスを減少させることが機序として考えられる。ただしプラセボによる評価はなく、先に引用した論文が示唆するように、両者の効果を過大評価している可能性もある。Prasad らはやはり冠動脈疾患患者において8週間のARBロサルタン投与がFMDを改善したと報告しているが、この研究ではプラセボなしの前後比較による過大評価とロサルタンにより血圧が低下していることが結果に影響したことも否定できない³⁶⁾。

要約すると、冠動脈疾患患者ではRAS抑制が内皮機能を改善する可能性がいくつかの研究から示唆される。このことは冠動脈疾患患者では血管のRAS活性亢進により酸化ストレス亢進、NOの生体内有効利用の低下などが起こり、血管内皮機能を低下させていることも示唆する。ARBとACE阻害薬に差がないことは、RAS抑制(アンジオテンシンIIの産生・作用の抑制)そのものが内皮機能改善に貢献していると考えられる。動物実験では血管(例:ラット冠動脈)にAT₂受容体が存在し、AT₁受容体の遮断によりAT₂受容体を刺激し、AT₁受容体刺激時とは逆の血管拡張、抗動脈硬化(抗酸化、抗炎症)作用を呈するとされる³⁷⁾。これまでヒト血管においてはAT₂受容体の存在や機能について明らかではなかった。しかし最近Danser らのグループは、AT₂受容体刺激によりB₂受容体およびNOを介してヒト冠微小動脈が拡張することを報告した³⁸⁾。興味深いことにAT₂受容体を介した作用の割合は年齢とともに増加することが示唆されている。このことは冠動脈疾患を有する比較的高齢者においてはARB投与によりAT₂受容体が刺激され、NO産生亢進などを介して内皮機能が改善する可能性があることを示唆する。おそらくARBの内皮機能への影響は血管におけるAT₂受容体の発現に依存しており、たとえば若年の高血圧患者では、その点でARBによる内皮機能の改善は認められない可能性もある。RASと血管内皮機能の理解のためには、今後この領域の臨床研究を

進める必要がある。

おわりに

基礎的実験で得られた結果に比べ、ヒトではRASと血管内皮機能に関して相反する結果も報告されており、明らかでない部分も多い。一部は方法論や研究デザインにも問題がある。また心血管イベントという本来のRAS抑制の目標を考慮すると、いうまでもなく短期間の研究で結論は出せない。しかし、代替エンドポイントとしての血管内皮機能の妥当性はさまざまな研究により明らかになりつつあり、より正当性がある方法論を用いた厳格なデザインで、いかなる病態においてどのようなメカニズムでRAS抑制が内皮機能を改善するのか、今後ヒトにおいて明らかにすべきである。

文 献

- 1) Ueda S *et al* : Validity and feasibility of NO clamp technique for human NO research. *Hypertens Res* : 2004 (in press)
- 2) Chowienzyk PJ *et al* : Blood flow responses to intra-arterial acetylcholine in man: effect of basal flow and conduit vessel length. *Clin Sci* 87 : 45-51, 1994
- 3) Millgard J *et al* : Acute hypertension impairs endothelium-dependent vasodilatation. *Clin Sci* 94 : 601-607, 1998
- 4) Walker HA *et al* : Assessment of forearm vasodilator responses to acetylcholine and albuterol by strain gauge plethysmography: reproducibility and influence of strain gauge placement. *Br J Clin Pharmacol* 51 : 225-229, 2001
- 5) Ueda S *et al* : Unpublished observation
- 6) Hijmering ML *et al* : Variability of flow mediated dilation: consequences for clinical application. *Atherosclerosis* 157 : 369-373, 2001
- 7) Ghiadoni L *et al* : Different effect of antihypertensive drugs on conduit artery endothelial function. *Hypertension* 41 : 1281-1286, 2003
- 8) Olsen MH *et al* : Vasodilatory capacity and vascular structure in long-standing hypertension: a LIFE sub-study. *Am J Hypertens* 15 : 398-404, 2002
- 9) Laursen JB *et al* : Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension. *Circulation* 95 : 588-593, 1997
- 10) Higashi Y *et al* : Endothelial function and oxidative stress in renovascular hypertension. *N Engl J Med* 346 : 1954-1962, 2002
- 11) Hirooka Y *et al* : Vitamin C improves attenuated angiotensin II-induced endothelium-dependent vasodilation in human forearm vessels. *Hypertens Res* 26 : 953-959, 2003
- 12) Wada A *et al* : Angiotensin II attenuates the vasodilating effect of a nitric oxide donor, glyceryl trinitrate: roles of superoxide and angiotensin II type 1 receptor. *Clin Pharmacol Ther* 71 : 440-447, 2002
- 13) Pitt B *et al* : The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. *N Engl J Med* 341 : 709-717, 1999
- 14) Farquharson CA *et al* : Spironolactone increases nitric oxide bioactivity, improves endothelial vasodilator dysfunction, and suppresses vascular angiotensin I/angiotensin II conversion in patients with chronic heart failure. *Circulation* 101 : 594-597, 2000
- 15) Farquharson CA *et al* : Aldosterone induces acute endothelial dysfunction *in vivo* in humans: evidence for an aldosterone-induced vasculopathy. *Clin Sci (Lond)* 103 : 425-431, 2002
- 16) Hirooka Y *et al* : Captopril improved impaired endothelium dependent vasodilatation in hypertensive patients. *Hypertension* 20 : 175-180, 1992
- 17) Creager MA *et al* : Effect of captopril and enalapril on endothelial function in hypertensive patients. *Hypertension* 24 : 499-505, 1994
- 18) Kiowski W *et al* : Effect of cilazapril on vascular structure and function in essential hypertension. *Hypertension* 27 : 371-376, 1996
- 19) Taddei S *et al* : Effect of lisinopril on endothelial function. *J Hypertens* 16 : 447-456, 1998
- 20) Ghiadoni L *et al* : Effect of the angiotensin II type 1 receptor blocker candesartan on endothelial function in patients with essential hypertension. *Hypertension* 35 : 501-506, 2000
- 21) Taddei S *et al* : Restoration of nitric oxide availability after Ca-antagonist in essential hypertensive patients. *Hypertension* 37 : 943-948, 2001
- 22) Lyons D *et al* : The effect of antihypertensive therapy on responsiveness to local intra-arterial NG-monomethyl-L-arginine in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 12 : 1047-1052, 1994
- 23) van Ampting JM *et al* : Vascular effects of ACE inhibi-

- tion independent of the renin-angiotensin system in hypertensive renovascular disease: a randomized, double-blind, crossover trial. *Hypertension* 37 : 40-45, 2001
- 24) Hornig B *et al* : Role of bradykinin in mediating vascular effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors in humans. *Circulation* 95 : 1115-1118, 1997
 - 25) O'Driscoll G *et al* : Improvement in endothelial function by angiotensin converting enzyme inhibition in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 100 : 678-684, 1997
 - 26) Arcaro G *et al* : ACE inhibitors improve endothelial function in type I diabetic patients with normal arterial pressure and microalbuminuria. *Diabetes Care* 22 : 1536-1542, 1999
 - 27) McFarlane R *et al* : Angiotensin converting enzyme inhibition and arterial endothelial function in adults with type I diabetes mellitus. *Diabet Med* 16 : 62-66, 1999
 - 28) Mullen MJ *et al* : Effect of enalapril on endothelial function in young insulin-dependent diabetic patients: a randomized, double-blind study. *J Am Coll Cardiol* 31 : 1330-1335, 1998
 - 29) Bijlstra PJ *et al* : Effect of long-term angiotensin-converting enzyme inhibition on endothelial function in patients with the insulin-resistance syndrome. *J Cardiovasc Pharmacol* 25 : 658-664, 1995
 - 30) O'Driscoll G *et al* : Improvement in endothelial function by angiotensin-converting enzyme inhibition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 33 : 1506-1511, 1999
 - 31) Cheetham C *et al* : Losartan, an angiotensin type I receptor antagonist, improves conduit vessel endothelial function in type II diabetes. *Clin Sci (Lond)* 100 : 13-17, 2001
 - 32) Cheetham C *et al* : Losartan, an angiotensin type I receptor antagonist, improves endothelial function in non-insulin-dependent diabetes. *J Am Coll Cardiol* 36 : 1461-1466, 2000
 - 33) Mancini GB *et al* : Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease: the TREND (Trial on Reversing ENdothelial Dysfunction) study. *Circulation* 94 : 258-265, 1996
 - 34) Anderson TJ *et al* : Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary disease. *J Am Coll Cardiol* 35 : 60-66, 2000
 - 35) Hornig B *et al* : Comparative effect of ace inhibition and angiotensin II type 1 receptor antagonism on bioavailability of nitric oxide in patients with coronary artery disease: role of superoxide dismutase. *Circulation* 103 : 799-805, 2001
 - 36) Prasad A *et al* : Angiotensin type 1 receptor antagonism reverses abnormal coronary vasomotion in atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 38 : 1089-1095, 2001
 - 37) Tsutsumi Y *et al* : Angiotensin II type 2 receptor over-expression activates the vascular kinin system and causes vasodilation. *J Clin Invest* 104 : 925-935, 1999
 - 38) Batenburg WW *et al* : Angiotensin II type 2 receptor-mediated vasodilation in human coronary microarteries. *Circulation* 109 : 2296-2301, 2004

Ⅳ. 治療

④ 糖尿病新規発症に及ぼす降圧薬の影響

New onset of diabetes and antihypertensive drugs

植田真一郎 Shinichiro Ueda

(琉球大学大学院医学研究科薬物作用制御学教授)

Key Words 糖尿病 降圧利尿薬 β 遮断薬

■ はじめに

糖尿病は強力な心血管リスクであり、糖尿病が存在するだけで心筋梗塞の既往をもつ患者のリスクと同等となることが知られている¹⁾。以前より高血圧患者は、インスリン抵抗性を伴うことが報告されているが²⁾、実際代謝症候群を有する患者も多く、糖尿病発生のリスクが高い。したがって糖代謝を悪化させるような治療介入は、もしそれが降圧によるリスク軽減に影響するなら避けるべきであるが、その一方で高血圧患者の予後に関しては、基本的に使用する降圧薬の種類を問わず降圧そのものに依存する部分が多い。これは最近のさまざまな臨床試験の結果が示唆している。この総説では、①高血圧治療中の糖尿病新規発症は心血管リスクを高めるか、②降圧利尿薬と β 遮断薬は糖尿病発生のリスクを高めるのか、③降圧薬の糖代謝への影響が降圧作用を超えて心血管リスクに影響するかの3点を議論したい。

■ I 高血圧治療中の糖尿病発症は心血管リスクとなるのか

最近、Verdecchiaらは795名の未治療高血圧患者を登録し、治療開始後のフォローアップ(中央値で3年後)で新たに糖尿病と診断された患者は、糖尿病と診断されなかった患者に比べ登録時糖尿

病と診断された患者と同程度に心血管リスクが高いこと(図1)、また糖尿病発症には治療前の血糖値と利尿薬の使用がリスクになると報告している³⁾。引用した図は一見説得力に富む。しかし心血管イベントの判定が厳密ではなく、イベント発生数そのものが非常に少ない研究であり(脳卒中18例、心筋梗塞13例)、しかも診断の妥当性を判定しにくい新たな狭心症の発生(15例)やTIA(10例)でイベント全体の1/3を占めるような結果であり、このような結論を引き出せるかどうか疑問である。確かに糖尿病は疑いもなく強力な心血管リスクであり、高血圧治療中に新たに発生した糖尿病とはいえ診断される以前からのインスリン抵抗性や血管内皮機能低下により動脈硬化は進行しているため、心血管リスクは高いであろう。したがって彼らの仮説は妥当なものであるが、残念ながらこの研究はそれを支持する結果を十分提供しているとはいえない。

しかしこの研究の問題点はむしろもう1つの結論、すなわち降圧利尿薬使用が糖尿病発症のリスクになり、ひいては心血管リスクになるという論調である。これは43名の新たな糖尿病を発症した患者と約700名の糖尿病を発症しなかった患者の降圧薬の頻度を比較し、利尿薬の使用が新たに発症した患者では多いという結果から引き出されたものである。しかし実際は、利尿薬のみならずカル

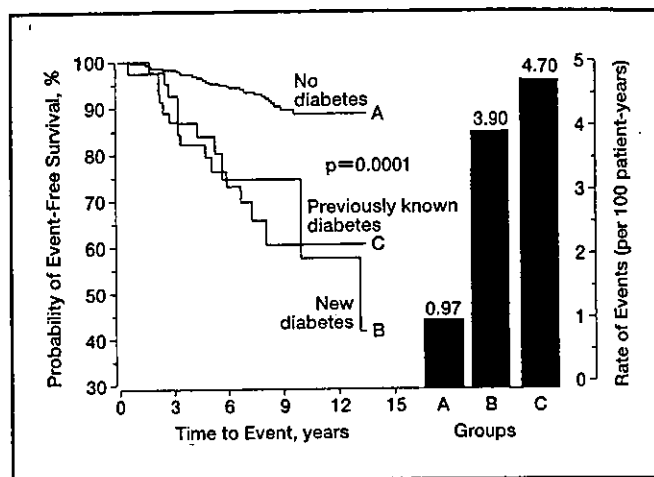


図1 Cardiovascular events in treated hypertensive subjects without diabetes (group A), new-onset diabetes (group B), and previously known diabetes (group C)

シウム拮抗薬やACE阻害薬も新規糖尿病発症患者で多く(図2), 要するに新規に糖尿病を発症するような患者では血圧のコントロールに多くの薬剤を要する, あるいは降圧利尿薬が必要とされるとも解釈できる。より多くの症例で検討すれば, ACE阻害薬が新規糖尿病の発生と関連があるという結果が出たかもしれない。したがってこの結論の根拠は脆弱であり, 結果のサマリーだけが独り歩きして降圧における利尿薬の使用を理由なくためらわせることになる。

この問題にチャレンジした研究がDunderらによりもう1つ報告されている⁴⁾。彼らは治療されている高血圧(主として利尿薬と β 遮断薬, $n=291$)と正常血圧者群($n=1,358$)において治療中(10年間, 正常者はもちろん治療していない)の血糖値の上昇の心筋梗塞発症への影響を検討している。高血圧治療群では経過観察中に血糖値が上昇し, それが心筋梗塞のリスクを37%増すことが報告された。この研究には大きな問題があり, なぜ質の高い臨床研究を掲載するBMJがこのような論文を受理したか理解に苦しむ。対照群との症例数の差が大きいのも問題であるが, 最大の問題は対照を正常血圧者としているため, 高血圧そのものの血糖値へ

の影響を検討できていないことである。この論文の論調では, 降圧利尿薬や β 遮断薬による血糖上昇は心筋梗塞のリスクになるので他剤を使用すべきであるというところに行き着く。実際この論文が出た日, 多くの熱心なジュニアドクターが降圧利尿薬を処方から外そうとしたことが指導医により報告されている⁵⁾。この行為は全く「エビデンスに基づいたもの」ではなく, ここに降圧薬の糖代謝への影響を過大評価する危険性——角を矯めて牛を殺すという言葉があてはまる——が集約されている。

そもそも2型糖尿病では診断される前にインスリン抵抗性や内皮機能低下などにより動脈硬化が進行していることが指摘されており, 実際, 前糖尿病状態とも考えられる代謝症候群の新血管リスクは高い。したがって発症した(むしろ新たに診断されたというべきか)糖尿病は心血管リスクをある程度増すことは明らかであるが, それがすべて使用する降圧薬に関連するという論調は誤りである。

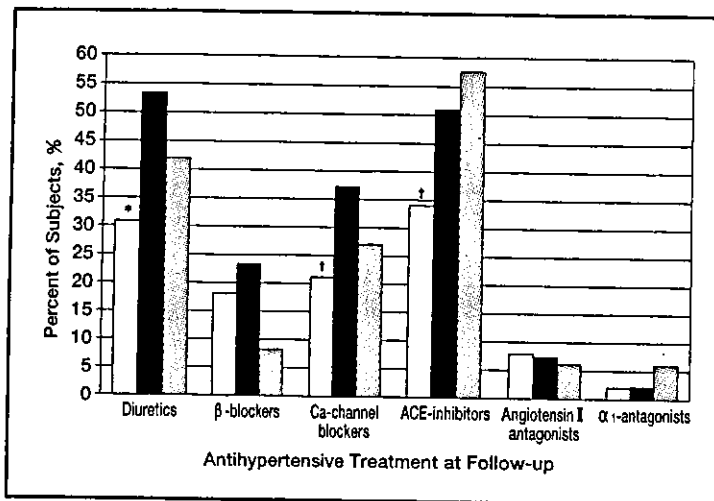


図2 Distribution of antihypertensive treatments at the follow-up visit in nondiabetic subjects, subjects with new-onset diabetes, and subjects with previously known diabetes
 □ : No diabetes, ■ : New diabetes, ▨ : Previously known diabetes
 *p<0.01 vs. new diabetes, †p<0.05 vs. new diabetes

■ II 降圧利尿薬やβ遮断薬は糖尿病発生のリスクとなるのか

高用量の利尿降圧薬では、糖尿病の発生をはじめ種々の代謝面の副作用が報告されている。しかし低用量では必ずしもそうではない。SHEP研究によると、高齢者の収縮期性高血圧において、糖尿病は3年間の観察期間中に利尿薬群で1,631名中140例(8.6%)、プラセボ群でも1,578名中118名(7.5%)に発症し有意差はなかった⁶⁾。11,855名の血糖降下療法を開始した患者においても降圧薬服用(したがって高血圧そのもの)は有意な危険因子であったが、降圧薬間でのリスクの差は認めなかった⁷⁾。12,550名の高血圧患者における前向き研究では、高血圧自体が新たな糖尿病発症のリスクになるが、利尿降圧薬そのものはリスクとならないと報告された⁸⁾。この研究ではβ遮断薬の使用が糖尿病発症のリスクとなるとされているが、著者らは賢明にも、これを理由にβ遮断薬投与によってもたらされる多くの心疾患におけるbenefitを忘

れてはならないと注意を喚起している。

CAPPP研究⁹⁾ではカプトプリルとβ遮断薬、利尿薬などいわゆるconventional therapyを比較したが、糖尿病の発生は前者でやや少なかった(relative riskのCIは境界域[0.74-0.99])。この研究では糖尿病発症が二次エンドポイントとして試験前に設定されている。INSIGHT研究ではカルシウム拮抗薬と降圧利尿薬を比較し、糖尿病の発生は降圧利尿薬群で多かったが、この研究のプロトコルは基本的に降圧利尿薬とカルシウム拮抗薬の単独治療を比較したもので、ハイドロクロロチアジドは25mgで開始され、効果不十分であれば増量し、その後基本的にβ遮断薬を併用している¹⁰⁾。ハイドロクロロチアジドは25mg以上から代謝系副作用は増えるが、降圧効果は12.5mgと変わらないとされるため¹¹⁾、この使用法は現在では適切ではないと考えられる。したがって、より少量の降圧利尿薬を用いた併用療法では、このような糖尿病発生の差は生じない可能性がある。

ALLHAT研究では降圧利尿薬群で糖尿病の発生

表 降圧利尿薬臨床試験における新規糖尿病の発症

研究名	観察期間 (年)	糖尿病発症(%)		
		利尿薬または β遮断薬	プラセボまたは ACEI, CA, ARB	
SHEP	3	140/1,631 (8.6)	118/1,578 (7.5)	(diuretics vs placebo)
CAPP	5	380/5,493 (6.9)	337/5,492 (6.1)	("conventional" vs ACEI)
NORDIL	5	251/5,471 (4.6)	216/5,410 (4.0)	("conventional" vs CA)
STOP-2	6	252/2,213 (11.4)	467/4,404 (10.6)	("conventional" vs CA/ACEI)
INSIGHT	4	137/3,164 (4.3)	96/3,147 (3.0)	(diuretics vs CA)
NICS-EH	5	4/210 (0.2)	0/204 (0)	(diuretics vs CA)
ALLHAT	4	302/2,606 (11.6)	154/1,567 (9.8)	(diuretics vs CA)
			119/1,464 (8.1)	(diuretics vs ACEI)
LIFE	5	319/3,959	241/4,019	(β blocker+diuretics vs ARB+diuretics)

ACEI: ACE阻害薬, CE: カルシウム拮抗薬, ARB: アンジオテンシントイプ1 受容体拮抗薬

が多いが、平均BMI 30kg/m²という肥満高血圧患者を対象にした試験であることや併用薬としてカルシウム拮抗薬、ACE阻害薬、ARBは使用できなかったことも考慮すべきである¹²⁾。LIFE研究ではβ遮断薬+利尿薬治療群よりもARBロサルタン+利尿薬治療群のほうで糖尿病発症が少なかった¹³⁾。この研究は最近発表になったVALUE研究と異なり、糖尿病発症がエンドポイントとして設定され、診断基準なども事前に設けられ、毎年の検査により発症リスクがきちんと Kaplan-Meier からの hazard ratio にて表現されているため信頼性も高い。またこの研究は、言ってみれば利尿薬と組み合わせるにはARBのほうが糖代謝についてはメリットがあると読み替えることもできる（もちろん重要な所見である）。この研究が優れているのは、薬剤の影響を過大評価せず、他の糖尿病発症のリスクと、β遮断薬群への割り付けによるリスクを比較して論じていることである¹⁴⁾。それによると、いわゆる古典的なリスクおよび血圧がより重要とされる。その薬剤のプロモーションばかりにとらわれず、このような科学的なRCTの解釈こそ臨床の現場に貢献することは強調されるべきである。

日本ではトリクロルメチアジドとニカルジピンとの比較試験が行われたが¹⁵⁾、この試験も厳密な単独治療の比較であり、トリクロルメチアジドが4mgまで40%の患者において増量されている。結

果として新たな糖尿病は利尿薬群で210名中4名に発生し、ニカルジピン群では発生がなかったが、できればより多い対象者において、降圧利尿薬は少量併用のかたちで比較すべきであると考えられる。表に降圧利尿薬を用いた臨床試験における糖尿病の発生についてまとめた。いずれも降圧利尿薬を含む治療群で糖尿病の発生が多い傾向にはあるが、今後低用量かつより適切な併用薬の使用のもとに評価すべきである。

図3に最近われわれが開始した研究のプロトコルを示す。この研究は本態性高血圧患者を低用量降圧利尿薬使用群（トリクロルメチアジドやインダパミドで1mg/day以下、併用薬はいずれの降圧薬も可）非使用群（利尿薬以外いかなる降圧薬も可）にランダムに割り付け、一次エンドポイントとして糖尿病の発症を比較するものである。これまでの試験と異なりβ遮断薬+利尿薬という併用ではなくARBやACE阻害薬も併用でき、しかも利尿薬の用量は厳格に低用量を維持する。このような使用法であれば、われわれは糖尿病の発生において差がないと考えており、したがって（そのような副作用の問題がなければ）医療経済学的にも安価な利尿薬の使用は有利なはずである。

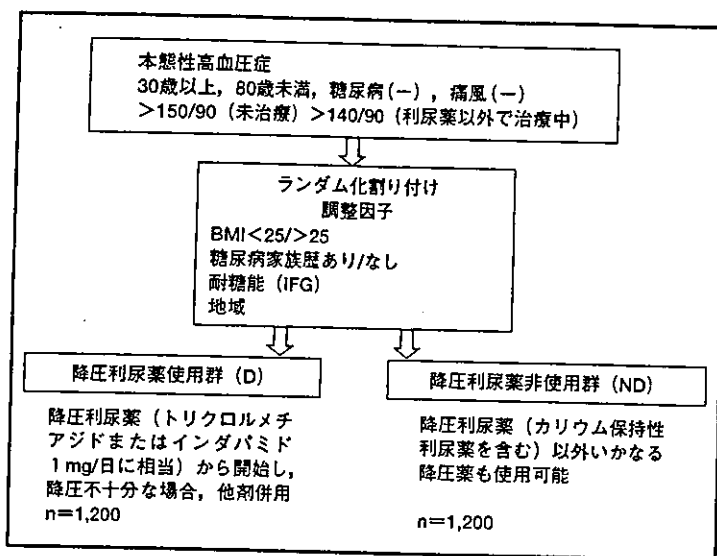


図3 1. 一次エンドポイント：新たな糖尿病の発生
 2. 二次エンドポイント：①その他の有害事象、②血圧、血糖値、耐糖能、血中脂質、③心血管イベント
 3. 費用対効果の検討

■Ⅲ 降圧薬の糖代謝への影響が降圧作用を超えて心血管リスクに影響するか

高血圧そのものが糖尿病発症のリスクとなるならば、治療中の高血圧患者が糖尿病を発症したとしてもそれが降圧薬によるものか否かは明らかではない。もちろん中止して糖代謝が改善すればその可能性があるものの、それにしても全くの薬剤性糖尿病か、なんらかの代謝異常(たとえば高用量の降圧利尿薬による低カリウム血症)により糖尿病発症の素因もつものがより早期に発症したものは不明である。高血圧治療中の糖尿病発症の多くは自然経過としての発症であることが大規模なコホート研究からも示唆されている。したがってこれらの自然発症した糖尿病が将来、心血管リスクになりうることはある程度自明であるが、問題は薬剤で糖尿病の発症が一部促進されたとして、そこが心血管リスクとなりうるかである。あるいは降圧が心血管リスク減少に働いている場合、同様に薬理作用としての軽微な代謝への影響

をどう臨床的に判断するかである。

これはまず対象となる疾患のリスクがどの程度かによる。β遮断薬は冠動脈疾患、心筋梗塞患者の予後、心不全患者の生命予後を改善することが確認されている。このようなハイリスク患者群ではβ遮断薬によるリスク軽減が大きいため、おそらく糖代謝への影響は無視できるであろう。UKPDS研究ではハイリスクの糖尿病を伴う高血圧患者において厳格な血圧の管理により、糖代謝への影響という点からはβ遮断薬よりも有利なACE阻害薬カプトプリルと同等のリスク低下が得られている¹⁶⁾。しかし、たとえば一次予防を目的とした高齢者高血圧の治療にはβ遮断薬が他剤ほど心血管リスク軽減に貢献しないと報告されており、そのような場合糖代謝の悪化が存在すれば、β遮断薬の使用にこだわる理由はない。もう1つの観点は併用薬である。LIFE研究のサブ解析の結果は、糖尿病をもつ高血圧患者において降圧利尿薬が使用されていれば、併用薬としてはβ遮断薬に比べARBロサルタンの方が糖代謝および生命予後の点

で有利であることを示唆している¹⁷⁾。UKPDS研究との差は併用薬および心筋梗塞のリスク(UKPDSがよりリスクが高い)であろう。

降圧利尿薬の場合は糖尿病を伴う高血圧においてすらカルシウム拮抗薬と同等のリスク低下が得られていることや¹⁸⁾、ACE阻害薬やARBは適切な降圧を達成するためには降圧利尿薬併用がほぼ必須であり(LIFE研究では9割が服用)、目標血圧のより低い糖尿病においてはむしろ必要とされる場合が多く、糖代謝への影響は、基本的には個々の症例で判断すべきことではあるが、投与を思いとどまる理由にはならないと考えられる。逆にVALUE研究ではバルサルタンに降圧利尿薬を併用するタイミングが(倍量より降圧利尿薬追加のほうがより降圧するというデータがあるにもかかわらず)遅れたため血圧のコントロールの点で劣り、結果的に心筋梗塞と脳卒中が対照薬のアムロジピンよりも多いという結果になった¹⁹⁾。また、PROGRESS研究では降圧利尿薬インダパミドとACE阻害薬ペリンドプリルの併用であれば脳卒中二次予防が可能であるが、ペリンドプリルエルブミン単独では不可能であった²⁰⁾。すなわちARBやACE阻害薬への利尿薬の追加は糖代謝においてはやや不利になるが、心血管リスクの軽減に関しては明らかに有益ではないだろうか。

しかし注意したいのは、最近の臨床試験は基本的に高リスク患者において行われており、投与期間が長期に及ぶ低リスク患者のデータはMRC研究以降存在しないことである。どちらかと言えば高リスク患者において投与されることの多い β 遮断薬と異なり、降圧利尿薬は低リスク患者に長期にわたって投与される可能性が高いため、低用量であれば糖代謝への影響が軽微であることを日本人高血圧患者において確認しなければならない。これだけのエビデンスがあるにもかかわらず、おそらく糖代謝悪化への懸念が日本における利尿薬処方減少につながっていると思われる。また β 遮断薬と利尿薬は安価であり、適切に使用すること

によって安価に心血管イベントを減少させうることも忘れてはならない。糖代謝に拘泥するあまり、これらを使うべき患者に使用せず、結果として心血管リスクを減少させられないようなことは避けるべきである。

■ 文 献

- 1) Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, et al : Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 339 : 229-234, 1998
- 2) Ferrannini E, Buzzigoli G, Bonadonna R, et al : Insulin resistance in essential hypertension. *N Engl J Med* 317 : 350-357, 1987
- 3) Verdecchia P, Reboldi G, Angeli F, et al : Adverse prognostic significance of new diabetes in treated hypertensive subjects. *Hypertension* 43 : 963-969, 2004
- 4) Dunder K, Lind L, Zethelius B, et al : Increase in blood glucose concentration during antihypertensive treatment as a predictor of myocardial infarction: population based cohort study. *BMJ* 326 : 681, 2003
- 5) Petrie JR, McDougall C, Al-Mamari A, et al : Controversies from observational data: dangers for evidence-based prescribing in hypertension. *BMJ* 2 Apr 2003
- 6) Savage PJ, Pressel SL, Curb JD, et al : Influence of long-term, low-dose, diuretic-based, antihypertensive therapy on glucose, lipid, uric acid, and potassium levels in older men and women with isolated systolic hypertension: The Systolic Hypertension in the Elderly Program. SHEP Cooperative Research Group. *Arch Intern Med* 158 : 741-751, 1998
- 7) Gurwitz JH, Bohn RL, Glynn RJ, et al : Antihypertensive drug therapy and the initiation of treatment for diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 118 : 273-278, 1993
- 8) Gress TW, Nieto FJ, Shahar E, et al : Hypertension and antihypertensive therapy as risk factors for type 2 diabetes mellitus. Atherosclerosis Risk in Communities Study. *N Engl J Med* 342 : 905-912, 2000
- 9) Hansson L, Lindholm LH, Niskanen L, et al : Effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition compared with conventional therapy on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: CAPP randomized trial. *Lancet* 353 : 611-616, 1999
- 10) Brown MJ, Palmer CR, Castaigne A, et al : Morbidity and mortality in patients randomized to double-blind treatment with a long-acting calcium channel blocker or diuretic in the International Nifedipine GITS study: Intervention as a

- Goal in Hypertension Treatment (INSIGHT). *Lancet* 356 : 366-372, 2000
- 11) Flack JM, Cushman WC : Evidence for the efficacy of low-dose diuretic monotherapy. *Am J Med* 101 : 53S-60S, 1996
 - 12) The ALLHAT collaborative research group : Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to ACE inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic. *JAMA* 288 : 2981-2997, 2002
 - 13) Dahlöf B, Devereux RB, Kjeldsen SE, et al : Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For End-points reduction (LIFE) in hypertension study. A randomized trial against atenolol. *Lancet* 359 : 995-1003, 2002
 - 14) Lindholm LH, Ibsen H, Borch-Johnsen K, et al : Risk of new-onset diabetes in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study. *J Hypertens* 20 : 1879-1886, 2002
 - 15) NICS-EH Study Group : Randomised double-blind comparison of a calcium antagonist and a diuretic in elderly hypertensives. *Hypertension* 34 : 1129-1133, 1999
 - 16) UK Prospective Diabetes Study Group : Efficacy of atenolol and captopril in reducing risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS39. *BMJ* 317 : 713-720, 1998
 - 17) Lindholm LH, Ibsen H, Dahlöf B, et al : Cardiovascular morbidity and mortality in patients with diabetes in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet* 359 : 1004-1010, 2002
 - 18) Curb JD, Pressel SL, Cutler JA, et al : Effect of diuretic-based antihypertensive treatment on cardiovascular disease risk in older diabetic patients with isolated systolic hypertension. Systolic Hypertension in the Elderly Program Cooperative Research Group. *JAMA* 276 : 1886-1892, 1996
 - 19) Julius S, Kjeldsen SE, Brunner H, et al : VALUE trial: Long-term blood pressure trends in 13,449 patients with hypertension and high cardiovascular risk. *Am J Hypertens* 16 : 544-548, 2003
 - 20) PROGRESS collaborative groups : Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6,105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. *Lancet* 358 : 1033-1041, 2001

Hypoadiponectinemia Is Closely Linked to Endothelial Dysfunction in Man

MICHIO SHIMABUKURO, NAMIO HIGA, TOMOHIRO ASAHI, YOSHITO OSHIRO, NOBUYUKI TAKASU, TATSUYA TAGAWA, SHINICHIRO UEDA, IICHIRO SHIMOMURA, TOHRU FUNAHASHI, AND YUJI MATSUZAWA

Second Department of Internal Medicine (M.S., N.H., T.A., Y.O., N.T.) and Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Faculty of Medicine (T.T., S.U.), University of the Ryukyus, 903-0215 Okinawa, Japan; and Departments of Medicine and Pathophysiology (I.S.) and Internal Medicine and Molecular Science (T.F., Y.M.), Graduate School of Medicine, Osaka University, Osaka 565-0871, Japan

Vascular endothelial dysfunction has been demonstrated in overweight or obese patients, but the molecular basis for this link has not been clarified. We asked what the relationship was between adiponectin, an adipose-specific molecule, and endothelial function. Forearm blood flow (FBF) was measured during reactive hyperemia by using strain-gauge plethysmography in 76 Japanese subjects without a history of cardiovascular or cerebrovascular disease, diabetes mellitus, hepatic, or renal disease. The peak FBF and total reactive hyperemic flow [flow debt repayment (FDR)] during reactive hyperemia were correlated with waist circumference ($r = -0.418$ and -0.414 , respectively) and body mass index ($r = -0.597$ and -0.626 , respectively). After correcting for age, gender, and body mass index, the peak FBF was correlated with sys-

tolic blood pressure ($r = -0.294$; $P = 0.010$), free fatty acid (FFA) ($r = -0.331$; $P = 0.004$), and adiponectin in log 10 ($r = 0.492$; $P < 0.001$), and FDR was correlated with adiponectin in log 10 ($r = 0.462$; $P = 0.001$). In stepwise multiple regression analyses, predictive variables for peak FBF were adiponectin in log 10 ($r = 0.468$) and FFA ($r = -0.292$; $r^2 = 0.487$; $P < 0.0001$); and predictive variables for FDR were adiponectin in log 10 ($r = 0.474$) and FFA ($r = -0.275$; $r^2 = 0.346$, $P < 0.0001$). Endothelial function was impaired in proportion to the severity of obesity, and the level of severity was closely related to plasma adiponectin levels. Adiponectin may play a protective role against the atherosclerotic vascular change, and loss of effects enhances endothelial dysfunction, as in obese people. (*J Clin Endocrinol Metab* 88: 3236-3240, 2003)

OBESITY IS ASSOCIATED with increased cardiovascular morbidity and mortality (1, 2). The American Heart Association determined that obesity is a major, modifiable risk factor for coronary heart disease, based on emerging data about the link between adiposity and coronary heart disease (3). Vascular endothelial dysfunction plays a pivotal role in the pathogenesis of atherosclerosis and enhances the risk of future cardiovascular events (4, 5). The presence of vascular endothelial dysfunction has been demonstrated in overweight or obese patients with insulin resistance (6, 7) and visceral obesity (8). However, the molecular basis for the link between obesity and vascular endothelial dysfunction has not been clarified. A newly discovered adipose-specific molecule, adiponectin, was shown to be decreased in obese people (hypoadiponectinemia) (9), as in patients with coronary artery disease (10). Because adiponectin may protect the endothelium from early atherosclerotic events such as the expression of adhesion molecules (10) or the attachment of monocytic cells (11), hypoadiponectinemia could be linked to endothelial damage. The present study questioned the relationship between plasma adiponectin levels and endothelial function in humans.

Abbreviations: BMI, Body mass index; FBF, Forearm blood flow; FDR, flow debt repayment; FFA, free fatty acid; HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance; NO, nitric oxide; NTG, nitroglycerin; RH, reactive hyperemia.

Subjects and Methods

Subjects

This study consisted of 76 Japanese subjects without a history of cardiovascular or cerebrovascular disease, diabetes mellitus, hepatic, or renal disease. The study protocol complied with the Guidelines of the Ethical Committee of the University of the Ryukyus. Informed consent was obtained from all subjects.

Endothelial function

Forearm blood flow (FBF) was measured using a mercury-filled SILASTIC strain-gauge plethysmograph (EC-5R, D. E. Hokanson, Inc., Issaquah, WA), as previously described (12, 13). The strain gauge was attached to the upper arm, held above the right atrium, and connected to a plethysmographic device. A wrist cuff was inflated to a pressure of 200 mm Hg to exclude the hand circulation from the measurements 1 min before each measurement and throughout the measurement of FBF. The upper arm cuff was inflated to 40 mm Hg for 7 sec in each 15-sec cycle to occlude venous outflow from the arm, using a rapid cuff inflator (EC-20, D. E. Hokanson, Inc.). The FBF output signal was transmitted to a recorder (U-228, Advance Co., Nagoya, Japan). FBF was expressed as milliliters per minute per 100 ml of forearm tissue. The FBF was then calculated by two independent observers who had no knowledge of the subjects' profiles; the interobserver coefficient of variation was $3.0 \pm 1.3\%$.

Study protocol

The study began at 0900 h, after the subjects fasted for at least 12 h. The subjects were kept in a supine position, in a quiet, dark, air-conditioned room (constant temperature of 25 C) throughout the study. After 30 min in the supine position, the basal FBF was measured. Then the effect of reactive hyperemia (RH) and sublingual nitroglycerin (NTG) on FBF was measured, as described, with modifications (14, 15).

To induce RH, FBF was occluded by inflating the cuff on the right upper arm to a pressure of 200 mm Hg for 5 min. After releasing the cuff, FBF was measured for 180 sec. Subjects were then given 0.3 mg of NTG sublingually, and FBF was measured for 5 min. The end of the response to RH or sublingual NTG was followed by a 15-min recovery period. Baseline blood samples were obtained after 30 min at rest. The peak FBF response (12) and total reactive hyperemic flow [flow debt repayment (FDR)] (16) during RH were used to assess the resistance of vessel endothelial function. FDR was defined as the curve under the area flow *vs.* time during RH above baseline flow (16). Because FDR, but not peak FBF, was significantly decreased by intraarterial infusion of N^G -monomethyl-L-arginine ($4 \mu\text{mol}/\text{min}$), a blocker of nitric oxide (NO) synthesis, we used FDR as a relatively NO-dependent marker (16). In the preliminary study, we confirmed the reproducibility of RH and sublingual NTG-induced vasodilation on two separate occasions in 28 healthy male subjects (mean age, 27 ± 5 yr). The coefficients of variation were 4.3% and 2.8%, respectively.

Biochemical measurements

Venous blood samples were obtained in tubes containing EDTA-sodium (1 mg/ml) and polystyrene tubes without an anticoagulant. The EDTA-containing tubes were promptly chilled. Plasma was immediately separated by centrifugation at 3000 rpm at 4 C for 10 min, and serum was separated by centrifugation at 1000 rpm at room temperature for 10 min. Samples were stored at -80 C until assayed. Routine chemical methods were used to determine the serum concentrations of total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, creatinine, glucose, and electrolytes. The serum concentration of low-density lipoprotein was estimated using Friedewald's method (17). The plasma adiponectin concentration was measured by sandwich ELISA, as previously described (9). Homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR), an insulin resistance index, was calculated as described (18).

Statistical analysis

Values are expressed as the mean \pm sd. Comparisons of time-course curves of FBF during RH were analyzed by two-way ANOVA for repeated measures on one factor, followed by Fisher's protected least significant difference for multiple-paired comparisons. The repeated factor was time of RH, and the nonrepeated factor was one group *vs.* the other group. Multigroup comparisons of variables were made by one-way ANOVA followed by Fisher's protected least significant difference for multiple-paired comparisons. Probabilities less than 0.05 were considered to be significant. The data were processed using StatView J-5.0 software (SAS Institute Inc., Cary, NC).

Results

The mean values (range) of basal FBF, peak FBF, and the maximal flow after NTG administration (in milliliters per minute per 100 ml) were 3.27 ± 1.43 (1.37–6.19), 18.45 ± 6.76 (4.05–35.3), and 4.26 ± 1.64 (2.35–6.88) in all 76 subjects. Single correlation analyses showed that the peak FBF was negatively correlated with waist circumference, body mass index (BMI), systolic blood pressure, free fatty acid (FFA), and leptin, and was positively correlated with adiponectin (Fig. 1 and Table 1). FDR correlated negatively with waist circumference, BMI, HOMA-IR, FFA, and leptin, and positively with adiponectin. The maximal flow after NTG did not correlate with any metabolic and anthropometric variables. After correcting for age, gender, and BMI, the peak FBF was correlated only with systolic blood pressure, FFA, and adiponectin, and FDR was correlated with adiponectin. In stepwise multiple regression analyses, predictive variables for peak FBF were adiponectin in log₁₀ ($r = 0.468$) and FFA ($r =$

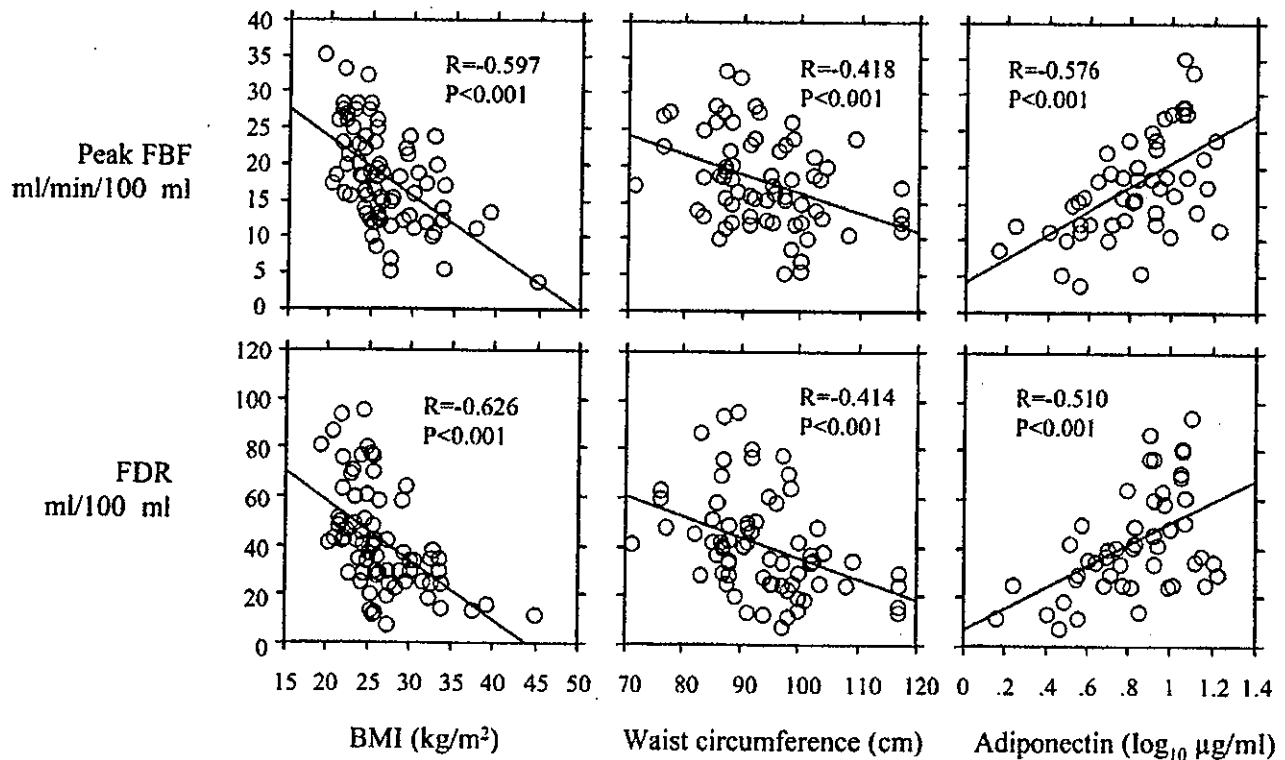


FIG. 1. Correlation between peak FBF (upper panels) and FDR (lower panels) during RH, BMI, waist circumference, and serum adiponectin levels in all 76 subjects. Pearson's correlation coefficients are shown.