

TABLE 1. Peak FBF, FDR, and variables

	Peak FBF				FDR			
	Simple correlation		Partial correlation		Simple correlation		Partial correlation	
	r ^a	P	r ^b	P	r ^a	P	r ^b	P
Age (yr)	-0.075	0.609			-0.177	0.215		
Waist circumference (cm)	-0.418	0.000	0.088	0.469	-0.414	0.000	0.090	0.455
BMI (kg/m ²)	-0.597	<0.0001			-0.626	<0.0001		
Systolic blood pressure (mm Hg)	-0.304	0.008	-0.294	0.010	-0.201	0.082	-0.118	0.310
Hemoglobin A1c	-0.156	0.194	0.047	0.697	-0.230	0.052	-0.023	0.848
HOMA-IR	-0.206	0.090	-0.021	0.864	-0.269	0.024	-0.052	0.669
Triglyceride (mg/100 ml)	-0.033	0.780	-0.081	0.493	-0.046	0.696	-0.016	0.892
LDL cholesterol (mg/100 ml)	-0.082	0.494	-0.124	0.296	-0.034	0.775	-0.129	0.273
FFA (mmol/liter)	-0.386	0.001	-0.331	0.004	-0.336	0.003	-0.210	0.073
Leptin (log ₁₀ ng/ml)	-0.453	0.000	-0.008	0.950	-0.349	0.004	0.019	0.880
Adiponectin (log ₁₀ μg/ml)	0.576	<0.0001	0.492	0.000	0.510	<0.0001	0.462	0.001

LDL, Low-density lipoprotein.

^a r, Pearson's correlation coefficient.^b r, Variables corrected by age, gender, and BMI.

TABLE 2. Stepwise multiple regression models predicting peak FBF and FDR

	Peak FBF				FDR			
	Model 1		Model 2		Model 1		Model 2	
	β	F	β	F	β	F	β	F
Adiponectin (log ₁₀ μg/ml)	0.468	16.473	0.439	16.907	0.474	14.354	0.388	12.58
Age (yr)	0.084	0.287	-0.122	0.621	-0.125	0.662	-0.281	3.59
Gender	0.258	2.857			0.012	0.006	-0.016	0.01
BMI (kg/m ²)			-0.498	21.765			-0.516	22.25
HOMA-IR	-0.186	1.439	0.06	0.148	-0.063	0.170	0.225	2.24
LDL cholesterol (mg/100 ml)	0.044	0.077	-0.093	0.358	-0.069	0.202	-0.144	0.88
FFA (mmol/liter)	-0.292	6.609	-0.274	3.317	-0.275	4.817	-0.208	1.90
Systolic blood pressure (mm Hg)	-0.273	5.75	-0.286	3.664	-0.192	1.599	-0.101	0.44
Hemoglobin A1c	-0.268	3.096	-0.149	0.93	-0.236	2.482	-0.184	1.47
r		0.698		0.745		0.588		0.721
r ²		0.487		0.555		0.346		0.520
F		12.976		26.151		11.353		23.33
P		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001

The F value to enter was 4.0 at each step. β, Parameter estimate; LDL, low-density lipoprotein.

-0.292; r² = 0.487; P < 0.0001), and predictive variables for FDR were adiponectin in log₁₀ (r = 0.474) and FFA (r = -0.275; r² = 0.346; P < 0.0001) (Table 2, model 1). When BMI was included in the model (Table 2, model 2), predictive variables for peak FBF and FDR were adiponectin in log₁₀ (r = 0.439 and 0.388, respectively) and BMI (r = -0.498 and -0.516, respectively). Serum adiponectin in log₁₀ (micrograms per milliliter) was negatively correlated with waist circumference (r = -0.334; P = 0.020), BMI (r = -0.365; P = 0.007), HOMA-IR (r = -0.302; P = 0.034), and FFA (r = -0.271; P = 0.052).

Discussion

The major findings of the present study were: 1) the peak FBF response and FDR to RH, indices of the function of vessel endothelial resistance, were impaired in proportion to the severity of obesity; and 2) the impairment in the FBF response and FDR was correlated with low levels of serum adiponectin. This is the first study that shows the effects of adiponectin on endothelial function in human subjects and that low levels of adiponectin were closely correlated with resistance vessel endothelial dysfunction.

Serum adiponectin and endothelial function

Measurements of FBF during intraarterial infusion of acetylcholine are used to investigate endothelium-dependent vasodilatation (12, 13). However, this technique is invasive and time consuming and cannot be used routinely. We measured FBF during RH using strain-gauge plethysmography. With this noninvasive method, resistant vessel endothelial function can be assessed physiologically with a high reproducibility (14, 15). Higashi et al. (15) reported that peak FBF during RH was well correlated with FBF to maximal acetylcholine dose (30 μg/min; r = 0.91; P < 0.001), indicating that this noninvasive method is a useful alternative for assessing resistance vessel endothelial function. Because the contribution of NO may be different at the RH phase, we used peak FBF as a combination marker of shear stress and local metabolic factors at an early phase of RH, and FDR as a relatively NO-dependent marker at the mid-to-late phase of RH (16).

The peak FBF and FDR were correlated negatively with waist circumference, BMI, FFA, systolic blood pressure (peak FBF), HOMA-IR (FDR), and leptin, and correlated positively with adiponectin. After correcting for age, gender, and BMI, the endothelial function indices were correlated positively

with adiponectin and negatively with FFA. NTG-induced FFB changes were not correlated with any metabolic and anthropometric variables, indicating that endothelium-dependent function was predominantly affected by hypoadiponectinemia. It is suggested that, in humans, the plasma level of adiponectin may be directly linked to endothelial function.

Mechanisms for a link between hypoadiponectinemia and endothelial dysfunction

Two possible mechanisms by which hypoadiponectinemia decreases endothelial function are postulated.

First, adiponectin level can be linked to whole-body insulin sensitivity, and hypoadiponectinemia can cause endothelial dysfunction by decreasing insulin sensitivity. Because the plasma adiponectin level was decreased in the prediabetic insulin-resistant phase in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), hypoadiponectinemia might play a causative role in the development of insulin resistance (19). We confirmed this concept by showing that experimental ablation of the adiponectin gene in mice reduces insulin sensitivity, and adenovirus-mediated supplementation of plasma adiponectin can recover the sensitivity (20). There is a close correlation between whole-body insulin sensitivity and endothelium-dependent vasodilatation (6, 7). We previously reported that endothelial NO production (21) and vasodilatation induced by local intraarterial infusion of insulin/glucose (22) were both closely linked to whole-body insulin sensitivity (21). In the current study, FDR was negatively correlated with HOMA-IR (Table 1), indicating a link between FDR and insulin sensitivity. But this correlation was abolished after correcting for age, gender, and BMI, probably by a strong confounding effect of BMI on insulin sensitivity. In multiple regression analysis, endothelial function was negatively correlated with FFA and positively correlated with adiponectin (Table 2, model 1). When BMI was included in the model as an independent variable, the power of FFA, but not of adiponectin, was abolished (Table 2, model 2). HOMA-IR, a casual marker for insulin resistance (18), was not selected as a predictor for endothelial function. Serum adiponectin levels were reported to be closely linked to insulin sensitivity in human subjects (19, 23), and the current study showed that adiponectin levels were correlated negatively with waist circumference, BMI, and HOMA-IR, indicating a close link between hypoadiponectinemia and insulin resistance. Adiponectin might eliminate the predictive power of HOMA-IR, which is a relatively weaker predictor for insulin sensitivity than other markers, such as an M-value by the hyperinsulinemic euglycemic clamp (23). It was also reported that FFA can directly impair endothelial function in humans by decreasing insulin sensitivity (6, 7). Adiponectin (19, 29, 23) and FFA (6, 7), which are both secreted from adipocytes, may independently and bidirectionally regulate endothelial function through modulation of insulin sensitivity in the whole body and vascular beds.

Second, hypoadiponectinemia may be directly linked to early atherosclerotic vascular damage and a subsequent endothelial dysfunction. Experimentally, Ouchi *et al.* (10) showed that adiponectin inhibited TNF- α -induced expres-

sion of endothelial adhesion molecules in endothelial cells and that adiponectin reduced atherogenic transformation of macrophage to foam cells by suppressing scavenger receptor expression (11). It was also evident that plasma adiponectin levels were decreased in patients with atherosclerotic risk factors such as obesity, impaired glucose tolerance, diabetes mellitus, or previous coronary heart disease (10). Loss of plasma adiponectin may accelerate early atherosclerotic vascular damage and reduce various physiological roles of endothelial cells, including NO synthesis and supply, which may be linked to decreases in the peak FFB and FDR, in the current study.

Study limitation

The current study cannot determine which of the following is plausible: 1) hypoadiponectinemia impairs endothelial function by impairment of insulin sensitivity in the whole body and vascular beds; 2) hypoadiponectinemia first accelerates vascular damage and then impairs NO supply from endothelium; or 3) hypoadiponectinemia first impairs NO synthesis and supply and then accelerates vascular damage (3). Direct actions of adiponectin on vascular function should be observed in future studies.

Conclusions

The current study showed that endothelial function was impaired in proportion to the severity of obesity and that endothelial function was closely related to plasma adiponectin levels. Adiponectin may play a protective role directly against the atherosclerotic vascular change and/or indirectly through improving insulin sensitivity. The loss of adiponectin effects enhances endothelial dysfunction and may be associated with future cardiovascular events.

Acknowledgments

Received November 30, 2002. Accepted March 14, 2003.

Address all correspondence and requests for reprints to: Dr. Michio Shimabukuro, Second Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of the Ryukyus, 207 Uehara, Nishihara, Okinawa 903-0215, Japan. E-mail: mshimabukuro-ur@umin.ac.jp or me447945@members.interq.or.jp.

This work was supported by grants from the Takeda Science Foundation and from the Japanese Society for the Promotion of Science (11770645).

References

1. Stevens J, Cai J, Pamuk ER, Williamson DF, Thun MJ, Wood JL 1998 The effect of age on the association between body mass index and mortality. *N Engl J Med* 338:1–8
2. 2000 Overweight, obesity, and health risk. National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity. *Arch Intern Med* 160:898–904
3. Eckel RH, Krauss RM 1998 American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. *Circulation* 97:2099–2100
4. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes Jr DR, Lerman A 2000 Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 101:948–954
5. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM 2000 Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 101:1899–1906
6. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD 1996 Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest* 97:2601–2610
7. Steinberg HO, Tarshoby M, Monestel R, Hook G, Cronin J, Johnson A,

- Bayazeed B, Baron AD 1997 Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation. *J Clin Invest* 100:1230-1239
8. Arcaro G, Zamboni M, Rossi L, Turcato E, Covi G, Armellini F, Bosello O, Lechi A 1999 Body fat distribution predicts the degree of endothelial dysfunction in uncomplicated obesity. *Int J Obes* 23:936-942
 9. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoaka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y 1999 Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Comm* 257:79-83
 10. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y 1999 Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein, adiponectin. *Circulation* 100:2473-2476
 11. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, Ishigami M, Kuriyama H, Kishida K, Nishizawa H, Hotta K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y 2001 Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 103:1057-1063
 12. Linder L, Klowski W, Bühler FR, Lüscher TF 1990 Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo: blunted response in essential hypertension. *Circulation* 81:1762-1777
 13. Panza JA, Quyyumi AA, Brush Jr JE, Epstein SE 1990 Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 323:22-27
 14. Takeshita A, Imaizumi T, Ashihara T, Yamamoto K, Hoka S, Nakamura M 1982 Limited maximal vasodilator capacity of forearm resistance vessels in normotensive young men with a familial predisposition to hypertension. *Circ Res* 50:671-677
 15. Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Matsuura H, Kajiyama G, Oshima T 2001 A noninvasive measurement of reactive hyperemia that can be used to assess resistance artery endothelial function in humans. *Am J Cardiol* 87:121-125
 16. Tagawa T, Imaizumi T, Endo T, Shiramoto M, Harasawa Y, Takeshita A 1994 Role of nitric oxide in reactive hyperemia in human forearm vessels. *Circulation* 90:2285-2290
 17. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS 1972 Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18:499-502
 18. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC 1985 Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28:412-419
 19. Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeier HK, Arita Y, Hansen BC, Matsuzawa Y 2001 Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes* 50:1126-1133
 20. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y 2002 Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med* 8:731-737
 21. Cleland SJ, Petrie JR, Ueda S, Elliott HL, Connell JM 1999 Insulin-mediated vasodilation and glucose uptake are functionally linked in humans. *Hypertension* 33(1 Pt 2):554-558
 22. Petrie JR, Ueda S, Webb DJ, Elliott HL, Connell JM 1996 Endothelial nitric oxide production and insulin sensitivity. A physiological link with implications for pathogenesis of cardiovascular disease. *Circulation* 93:1331-1333
 23. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA 2001 Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1930-1935

A single dose of nateglinide improves post-challenge glucose metabolism and endothelial dysfunction in Type 2 diabetic patients

M. Shimabukuro, N. Higa, N. Takasu, T. Tagawa* and S. Ueda*

Second Department of Internal Medicine, and
*Department of Clinical Pharmacology and
Therapeutics, Faculty of Medicine, University of the
Ryukyus, Okinawa, Japan

Accepted 3 November 2003

Abstract

Aims This randomized crossover placebo-controlled study aimed to assess the efficacy of nateglinide, a phenylalanine-derived insulin secretagogue, on forearm endothelial function in diabetic subjects before and after an oral glucose load.

Methods Forearm blood flow (FBF) was measured using strain-gauge plethysmography during reactive hyperaemia before and after an oral glucose load (75 g) with a prior use of placebo or nateglinide (90 mg) in 15 diet-treated Type 2 diabetic patients or age-matched controls with normal glucose tolerance.

Results The peak FBF response and total reactive hyperaemic flow (flow debt repayment: FDR), indices of resistance artery endothelial function, were decreased after an oral glucose load in diabetic patients, but unchanged in controls. Nateglinide administered to diabetic patients accelerated insulin secretion and reduced post-challenge plasma glucose, and also abolished the post-challenge impairment of endothelial function. The peak FBF and FDR were well correlated with 120-min glucose levels and 30-min insulinogenic index.

Conclusions A single challenge of glucose was shown to impair endothelial function in diabetic patients, and the post-challenge endothelial dysfunction was improved by a prior use of nateglinide. Long-term effects of nateglinide on endothelial function in Type 2 diabetic patients need to be clarified in future studies.

Diabet. Med. 21, 983–986 (2004)

Keywords endothelial function, nateglinide, post-challenge glucose metabolism, Type 2 diabetes

Introduction

Post-prandial hyperglycaemia has been associated with increased risk of macrovascular complications [1–3]. A meta-analysis including 95 783 people from 22 studies demonstrated the association between post-challenge hyperglycaemia and cardiovascular events [1]. Analysis of the prospective DECODE (the Diabetes Epidemiology: Collaborative Analysis of Diagnostic Criteria in Europe) data [2] and the Honolulu Heart Program

[3] showed that elevated 2-h glucose was a better predictor of mortality from cardiovascular diseases than fasting glucose alone. In a screened multicentre cohort, the Diabetes Intervention Study showed that poor control of post-prandial glucose increased the risk of myocardial infarction or mortality up to 3-fold, even under good control of fasting glycaemia [4]. Vascular endothelial dysfunction plays a pivotal role in the pathogenesis of atherosclerosis [5] and enhances the risk of future cardiovascular events [6,7]. The presence of vascular endothelial dysfunction has been demonstrated in Type 2 diabetic patients [8], but the contributions of post-prandial hyperglycaemia to endothelial dysfunction is largely unknown [9]. This crossover placebo-controlled study aimed to assess the efficacy of post-challenge hyperglycaemia reduction by nateglinide, which

Correspondence to: Dr Michio Shimabukuro, Second Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of the Ryukyus, 207 Uehara, Nishihara, Okinawa 903-0215, Japan. E-mail: mshimabukuro-ur@umin.ac.jp or me447945@members.interq.or.jp

rapidly enhances insulin secretion and reduces mealtime glucose excursions [10], on forearm endothelial function in Type 2 diabetic subjects.

Research design and methods

Diet-treated Type 2 diabetic patients (six male and nine female, 60 ± 3 years) without a history of cardiovascular complication were enrolled in this study. Age-matched healthy subjects with normal glucose tolerance were used as controls. The study protocol was approved by the Ethical Committee of the University of the Ryukyus and carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. All subjects gave informed consent. No subjects were taking medication, and all abstained from alcohol, tobacco and strenuous physical activity for 24 h and caffeine-containing drinks overnight.

The acute effects of oral glucose loading with placebo or nateglinide on forearm blood flow (FBF) was studied in a double-blinded placebo-controlled crossover design. Studies were done on two separate mornings at least 1 week apart. After overnight fasting, either 90 mg nateglinide (Yamanouchi Pharmaceutical, Tokyo, Japan) or placebo was ingested, followed by an oral 75-g glucose load (Trelan-G, Takeda, Japan). We measured FBF during reactive hyperaemia using a mercury-filled silastic strain-gauge plethysmograph (EC-5R, D. E. Hokanson Inc., Issaquah, WA, USA) before and 120 min after a glucose load [11–13]. Before and after release of a 5-min upper arm cuff occlusion at 200 mmHg (reactive hyperaemia), FBF was measured by repeated inflations of the upper arm at 40 mmHg during a wrist cuff inflation at 200 mmHg [11, 12]. We used peak FBF as a combination marker of shear stress and local metabolic factors at early phase of RH, and total reactive hyperaemic flow (flow debt repayment: FDR), as a relatively NO-dependent marker at mid-to-late phase of RH [13].

Values are expressed as the mean \pm SEM. Two-tailed unpaired Student's *t*-test and two-way analysis of variance (ANOVA) for repeated measures on one factor followed by Bonferroni's correction for multiple-paired comparisons, were analysed using StatView J-5.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA) software package.

Results

The baseline characteristics of the 15 diabetic subjects are as follows: body mass index 26.1 ± 1.13 (kg/m^2); heart rate 73 ± 3 (beats/min); blood pressure $129/72 \pm 4/2$ (mmHg); total cholesterol 5.39 ± 0.20 (mmol/l); triglyceride 1.63 ± 0.21 (mmol/l); HDL-cholesterol 1.42 ± 0.05 (mmol/l); and glycosylated haemoglobin A_{1c} 7.53 ± 0.30 (%).

With a prior use of placebo, plasma insulin levels were low at 30 min and peaked at ≈ 350 pmol/l between 90 and 120 min after an oral glucose load, and plasma glucose levels remained ≈ 19 mmol/l at 120 min (Table 1). With a prior use of nateglinide, post-challenge insulin levels increased rapidly at 30 min and glucose levels significantly decreased to ≈ 15 mmol/l at 120 min. All medications were well tolerated and no adverse events were observed during the study. Systemic haemodynamics and metabolic parameters at baseline were comparable between two study days.

Table 1 Plasma glucose and serum insulin levels after an oral glucose load during a prior use of placebo or 90 mg nateglinide in 15 diabetic patients

Time (min)	Plasma glucose (mmol/l)		Serum insulin (pmol/l)	
	Placebo	Nateglinide	Placebo	Nateglinide
0	8.8 ± 0.4	8.2 ± 0.4	85 ± 14	64 ± 11
30	14.6 ± 0.6	13.1 ± 0.5	198 ± 19	345 ± 25
60	18.1 ± 0.8	14.9 ± 0.8	309 ± 37	351 ± 51
90	19.4 ± 0.6	15.7 ± 0.8	358 ± 51	403 ± 60
120	19.2 ± 0.8	14.9 ± 0.6	350 ± 45	431 ± 70
P-value	$P < 0.001$		$P = 0.056$	

Data represent the mean \pm SEM. The P-values for curve difference by two-way ANOVA were shown.

With placebo, FBF response during reactive hyperaemia decreased significantly after a glucose load ($P < 0.001$ for trend), but, with nateglinide, post-challenge FBF response remained unchanged ($P = 0.137$). The peak FBF response and FDR, indices of resistance artery endothelial function, were both decreased after an oral glucose load in diabetic patients, but not in healthy controls (Fig. 1a). A single ingestion of nateglinide prevented the post-challenge decrease in the peak FBF and FDR. The peak FBF and FDR were well correlated with 120-min glucose levels (Fig. 1b). Peak FBF was negatively correlated with area under the curve for glucose ($\text{AUC}_{\text{glucose}}$, $R = -0.423$, $P = 0.017$) and insulin ($\text{AUC}_{\text{insulin}}$, $R = -0.387$, $P = 0.034$). Peak FBF and FDR were positively correlated with 30 min insulinogenic index ($\Delta\text{insulin}/\Delta\text{glucose}$) ($R = 0.450$, $P = 0.012$ and $R = 0.438$, $P = 0.015$, respectively).

Discussion

This is the first study demonstrating that endothelial function was impaired by acute post-challenge glucose excursion in Type 2 diabetic patients, and a single dose administration of nateglinide abrogated the post-challenge endothelial dysfunction by decreasing the glucose excursion.

The peak FBF and FDR were both decreased after an oral glucose load in diabetic patients, but not in healthy controls with normal glucose tolerance. Kawano *et al.* [14] showed that endothelium-dependent flow-mediated dilatation (FMD) of the brachial artery were decreased after an oral glucose load in patients with Type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. As there was a close negative correlation between indices of endothelial function and plasma glucose levels, post-prandial hyperglycaemia itself could be the culprit for post-prandial endothelial dysfunction [9, 14]. Williams *et al.* [15] demonstrated that effects of acute hyperglycaemia on endothelium-dependent vasodilation were similar after blocking insulin release with octreotide, supporting this notion. A potential mechanism by which post-prandial hyperglycaemia impairs endothelial function could be generation of reactive oxygen stress

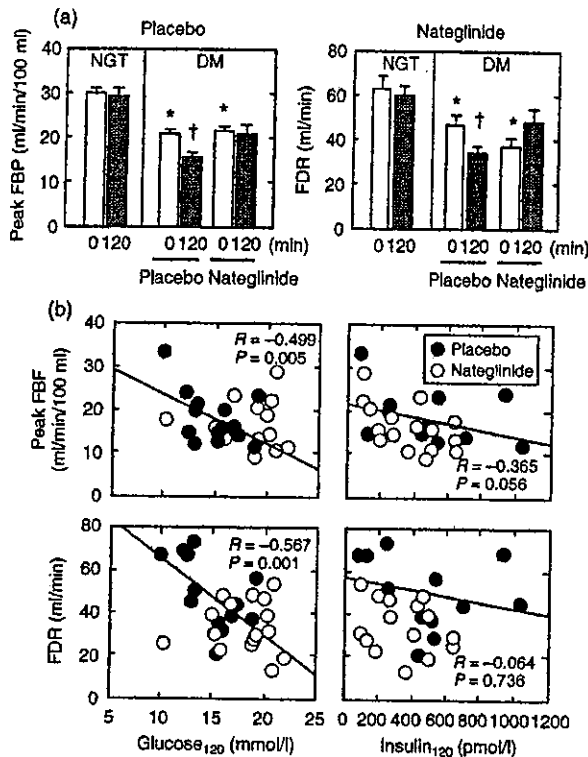


Figure 1 (a) Peak forearm blood flow (FBF) and flow debt repayment (FDR) before (0 min, open bars) and after (120 min, closed bars) an oral glucose load during a prior ingestion of placebo or nateglinide in 15 diabetic patients. For comparison, values in healthy subjects with normal glucose tolerance (NGT) were shown. Data represent the mean \pm SEM. * $P < 0.05$ vs. NGT and † $P < 0.05$ vs. 0 min. (b) Correlation between 120-min glucose and insulin levels and peak FBF and FDR after an oral glucose load in diabetic patients. An ingestion of either placebo (open circles) or 90 mg nateglinide (closed circles) was followed by an oral 75-g glucose load. Pearson's correlation coefficients (R) and P -values were shown.

(ROS) [9,14,16], as antioxidants can restore post-prandial endothelial function [17,18].

A single administration of nateglinide abrogated the post-challenge endothelial dysfunction in diabetic patients. As reported [10], nateglinide recovered early phase insulin secretion and decreased post-challenge glucose levels (Table 1). This raises the question whether the improvement of post-challenge endothelial function by nateglinide is the result of a suppression of post-challenge hyperglycaemia, a rise in insulin, or an effect of the drug itself. As 120-min glucose levels and AUC_{glucose} were well correlated with peak FBF and FDR, suppression of post-challenge hyperglycaemia seemed to be the most likely factor. As peak FBF and FDR were negatively correlated with AUC_{insulin} , insulin resistance also might be involved in the endothelial dysfunction of diabetic patients. Nateglinide significantly increased insulinogenic index, but did not alter AUC_{insulin} and 120-min insulin levels. This suggests that suppression of post-challenge hyperglycaemia by a recovery of early insulin secretion, but not an increase in insulin-mediated

vasodilatation [19,20], explained the improved endothelial function.

In summary, a single glucose challenge impaired endothelial function in Type 2 diabetic patients, which was improved by prior use of nateglinide. Long-term effects of nateglinide on endothelial dysfunction in Type 2 diabetic patients need to be clarified in future studies.

References

- Coutinho M, Gerstein HC, Wang Y, Yusuf S. The relationship between glucose and incident cardiovascular events: a metaregression analysis of published data from 20 studies of 95 783 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care* 1999; 22: 233–240.
- The DECODE Study Group. Glucose tolerance and cardiovascular mortality: comparison of fasting and 2-hour diagnostic criteria. *Arch Intern Med* 2001; 161: 397–405.
- Rodriguez BL, Abbott RD, Fujimoto W, Waitzfelder B, Chen R, Masaki K *et al.* The American Diabetes Association and World Health Organization classifications for diabetes: their impact on diabetes prevalence and total and cardiovascular disease mortality in elderly Japanese-American men. *Diabetes Care* 2002; 25: 951–955.
- Hanefeld M, Fischer S, Julius U, Schulze J, Schwanebeck U, Schmechel H *et al.* Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM: the Diabetes Intervention Study, 11-year follow-up. *Diabetologia* 1996; 39: 1577–1583.
- Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002; 105: 546–549.
- Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000; 101: 1899–1906.
- Gokce N, Keaney JF Jr, Hunter LM, Watkins MT, Menzoian JO, Vita JA. Risk stratification for postoperative cardiovascular events via noninvasive assessment of endothelial function: a prospective study. *Circulation* 2002; 105: 1567–1572.
- McVeigh GE, Brennan GM, Johnstone GD, McDermott BJ, McGrath LT, Henry WR *et al.* Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with Type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1992; 35: 771–776.
- de Koning EJP, Rabelink TJ. Endothelial function in the post-prandial state. *Atherosclerosis* 2002; 3: 11–16.
- Keilson L, Mather S, Walter YH, Subramanian S, McLeod JF. Synergistic effects of nateglinide and meal administration on insulin secretion in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1081–1086.
- Linder L, Kiowski W, Bühler FR, Lüscher TF. Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation *in vivo*: blunted response in essential hypertension. *Circulation* 1990; 81: 1762–1777.
- Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 22–27.
- Shimabukuro M, Higa N, Asahi T, Oshiro Y, Takasu N, Tagawa T *et al.* Hypoadiponectinemia is closely linked to endothelial dysfunction in man. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3236–3240.
- Kawano H, Motoyama T, Hirashima O, Hirai N, Miyao Y, Sakamoto T *et al.* Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 146–154.
- Williams SB, Goldfine AB, Timimi FK, Ting HH, Roddy MA, Simonson DC, Creager MA. Acute hyperglycemia attenuates endothelium-dependent vasodilation in humans *in vivo*. *Circulation* 1998; 97: 1695–1701.

- 16 Tesfamariam B, Cohen RA. Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. *Am J Physiol* 1992; 263: H321–H326.
- 17 Ting MH, Tunimi FK, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1996; 97: 22–28.
- 18 Title LM, Cummings PM, Giddens K, Nassar BA. Oral glucose loading acutely attenuates endothelium-dependent vasodilation in healthy adults without diabetes: an effect prevented by vitamins C and E. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 2185–2191.
- 19 Baron AD. Hemodynamic actions of insulin. *Am J Physiol* 1994; 267: E187–202.
- 20 Scherrer U, Randin D, Vollenweider P. Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. *J Clin Invest* 1994; 94: 2511–2515.

1 血管内皮機能診断法

植田真一郎

琉球大学大学院医学研究科薬物作用制御学

2型糖尿病においては、診断されたときはすでに動脈硬化は進行していることが知られている。これはpre-diabetic stateにおいてすでにインスリン感受性の低下とともに機能的動脈硬化ともいべき血管内皮機能低下が存在するためと考えられる。また糖尿病患者における血管不全の病態を理解するには内皮機能低下とともに平滑筋の一酸化窒素 (nitric oxide ; NO) への反応低下も考慮されるべきである。これらの観点からアセチルコリンを用いた抵抗血管の内皮機能診断法、血流依存性血管拡張反応検査 (flow mediated dilatation ; FMD) を用いた伝導血管の内皮機能診断法について述べる。

アセチルコリン動注による血管拡張反応のプレシスモグラフによる測定

□ 方法の概略

静脈閉塞プレシスモグラフはおよそ100年前にすでに報告されている前腕血流量測定法である¹⁾。原理は上腕に巻いたカフを40mmHgに加圧することによって静脈還流を遮断し、動脈からの血液の流入量 (= 前腕血流量) を前腕周の変化として計測する。現在手首に巻いたカフを200mmHgに加圧することによって手の血流を遮断して行われる。これは、前腕血流の30%を皮膚血流が占めるが、手の血流は特に温度に影響され、調節機構も骨格筋血流と異なるためである。また現在ではほぼその記録、計測もコンピュータ化され、より客観性が改善している。この方法による前腕血流量の測定に、brachial arteryからの薬物注入を組み合わせ、さまざまな*in vivo*の薬理学、生理学的な実験がヒトで行われている [1]。ほとんどの血管作動性物質は全身投与量の1/100~1/1,000で局所の血管収縮、拡張作用を引き起こすので、全身の血行動態に影響を及ぼすことなく、局所血管作用を評価できる。ヒト血管内皮機能はアセチルコリン (10~400nmol/min) を動注し、内皮依存性の血管拡張作用による前腕血流量の増加を測定することによって評価される [1, 2]。また対照として主にニトロプルシドを動注し、内皮非依存性の血管拡張による前腕血流量の増加を測定する。この方法により血管平滑筋のNOへの反応性を評価することもできるので、アセチルコリンの血管拡張反応の低下が、内皮機能の低下か、NOへの反応性低下によるものか判定することができる。

□ 解析方法

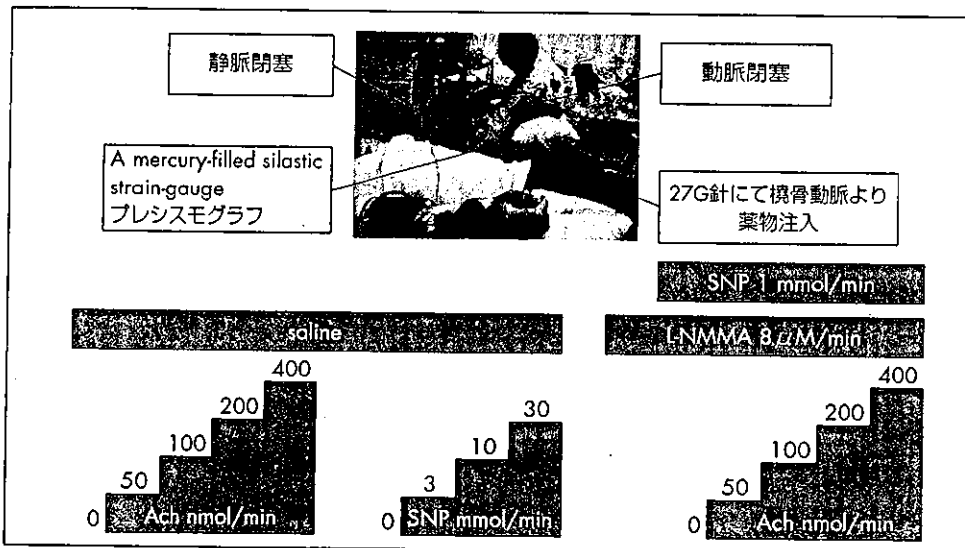
動注は通常左腕で行う (左利きの場合は右腕) が、筆者らは常に左右の血流量を測定してその比を算出している。したがって薬物の血管収縮または拡張作用はこの左右の血流量比で表される。これは非特異的な刺激による前腕血流量の変化を除外し、動注した薬物の効果をより正確に判定するためである²⁾。

科学的妥当性は？

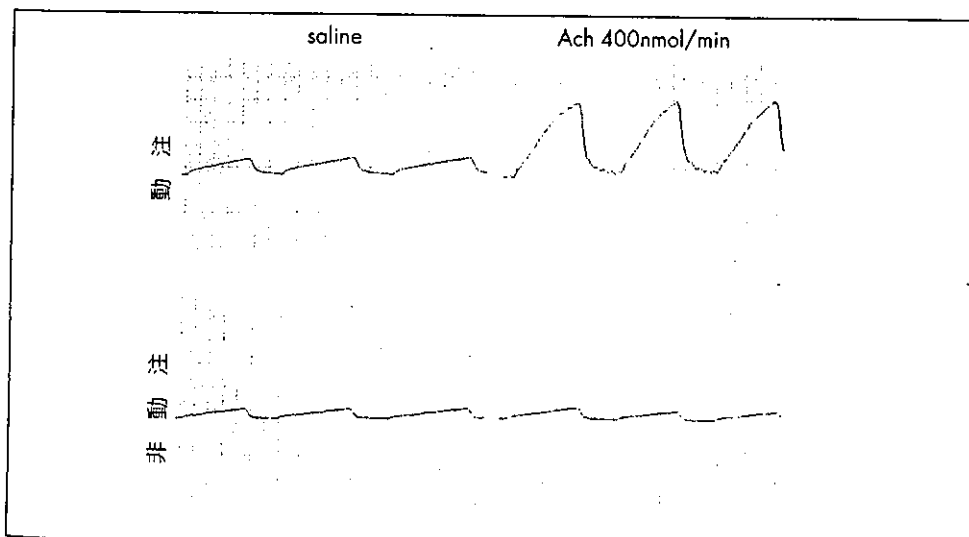
本法の科学的根拠はノーベル賞の対象となった1980年のFurchgottらの論文に求められる³⁾。彼らは血管がアセチルコリンにより弛緩するには内皮細胞の存在が必要であり、このことからアセチルコリンは内皮細胞を刺激し血管拡張性物質 [内皮依存性血管弛緩因子 (endothelium derived relaxing factor ; EDRF)] を遊離させることを提唱した。本法は後述するような方法論的あるいは解釈上の問題点を有するものの、内皮機能評価の標準法として十分な科学的妥当性をもつと考えられる。

方法論的妥当性—再現性とconfounding factors

プレシスモグラフによる前腕血流量の測定そのものの再現性は筆者らにより検討されている²⁾。血流量の絶対値の再現性は良好とはいえ、左右の血流量の比はCV20%以下と比較的よい。前述したように筆者らは常に左右の血流比の変化を算出しているが、アンジオテンシンIIやノルアドレナリンの血管収縮作用に関しては血流量比のほうが再現性に優れる。アセチルコリンの血管拡張作用については再現性の観点からは両側測定 of 優位性は明らかではない。しかし基礎値の重要性を考慮すると理想的には両側測定を行うべきであろう。筆者の研究室ではアセチルコリン血管拡張反応の再現性 (CV) は約15%である。再現性は本法を抗動脈硬化治療の



[1] 薬物の動注を併用したプレシスモグラフによる両側の前腕血流量測定
写真の下は標準的なNO依存拡張の測定を含めた内皮機能測定のための実験プロトコル。



[2] プレシスモグラフで測定された実際の前腕血流量とアセチルコリンによる増加

代替エンドポイントとして用いるときに重要である。なぜならばtype 2 errorを避けるための必要症例数は再現性と期待できる治療効果で決定されるからである。

本法のconfounding factorとして最も重要なものは前腕血流量の基礎値である。Chowienczykらはアセチルコリンの反応はベースラインの血流量に影響されることを報告している⁴⁾。したがってある疾患の患者と対照者の内皮機能の比較を行うとき、基礎前腕血流量は同等であることが前提となる。しかし現実には統計学的な有意差はないものの、同等とはいえない場合が多く、%changeで表す方法などが使用されるが根本的な解決方法にはならない。基礎血流量が大きな問題になるのはアセチルコリンによる血管拡張作用の、NO依存性の部分を評価するときである。この場合L-NMMAを用いてNO産生を阻害した状態でアセチルコリンを投与するが、L-NMMAは血管収縮作用を有し、約50%の血流量低下が生じる。この血管収縮自体が血管拡張反応の測定に非特異的に影響することを筆者らは明らかにし、さらにこの影響を除外するため、後述するようなNOクランプ法を用いている⁵⁾。ほかに、Chowienczykらが指摘するような前腕の長さやコリンエステラーゼ活性などがconfounding factorになりうる可能性もあるが、これらは薬効評価など同一個体内での比較に際しては問題にならない。降圧薬の血管内皮機能への影響がいくつか報告されているが、血圧そのものも血管内皮機能またはアセチルコリンへの反応に影響する可能性が示唆されている⁶⁾。Millgardらはノルアドレナリンの静注による急性の血圧上昇が前腕でのアセチルコリンへの血管拡張反応を減弱させたことを報告している。降圧薬の内皮機能への影響を比較検討するならば、少なくとも同等の降圧を達成することが前提条件となるであろう。

□ アセチルコリンのNO依存性血管拡張の評価法

アセチルコリンによる血管拡張反応のNO依存性は、NO合成酵素阻害薬であるL-NMMA投与により血管拡張がどの程度減弱するかで評価される。前述したようにL-NMMAによる血管収縮は非特異的にアセチルコリンの血管拡張作用に影響するため、筆者らはNOクランプ法を用いている⁵⁾。これはまずアセチルコリンの動注を行い、用量反応曲線を得た後、L-NMMAを8 μ mol/minで持続動注する。このL-NMMA動注により減少した前腕血流量をニトロプルシドまたはニトログリセリンを同時に動注することでL-NMMA投与前の基礎値に戻す。その状態で再びアセチルコリンの動注を開始する。この方法により血管収縮による非特異的な影響を排除して、NO合成酵素阻害によるアセチルコリンの血管拡張作用減弱、すなわちNO依存性をAUC比などで評価できる。

L-NMMAの投与量であるが、多くの施設で4または8 μ mol/minの持続投与が行われている。この量ではNO合成酵素の阻害に不十分であり16~64 μ mol/minを投与すべきとする報告もあるが、筆者らの検討では8と16 μ mol/minとの間に差はなく、16 μ mol/minでは血圧の上昇をきたすなど全身の血行動態に影響するため、8 μ mol/minが適切であると考えられる(植田, 和田, 梅村, 未発表データ)。また4~8 μ mol/minで、*in vitro*でNO合成酵素を阻害できる濃度が計算上達成できる。

□ 臨床的妥当性—抗動脈硬化治療の代替エンドポイントとなりえるか?

これまでに高血圧, 糖尿病, 高コレステロール血症の患者や喫煙者などでアセチル

ルコリン血管拡張反応の低下が報告され、これらの疾患における内皮機能の低下が示唆されている。しかし本法で測定された血管内皮機能が臨床的な妥当性を有するには、疾患の予後（心血管イベントの発生）との関連が認められること、内皮機能を改善する介入が予後をも改善することを証明する必要がある。前者に関しては冠動脈のアセチルコリンへの反応と予後の関連を示唆する報告があり、また高血圧患者においてプレシスモグラフで測定したアセチルコリンの血管拡張反応と心血管イベントの間に関連が認められたとする報告がある。ただし本法は比較的侵襲が多い検査法であり、1万人前後の症例数を必要とする（治療による15%のエンドポイントの差を検出力80~90%で検出するために必要な症例数）高血圧などの大規模臨床試験に用いることは不可能である。その意味では厳密に疾患の予後との関連を検討することは困難である。後者に関しては、スタチンが冠動脈疾患患者の予後を改善し、同時にアセチルコリンへの血管拡張反応で評価した内皮機能を改善することが報告されている。

これらの知見を統合すると、本法により測定された内皮機能は臨床的妥当性を有すると考えられ、抗動脈硬化治療の代替エンドポイントとなりえる。しかし大規模臨床試験での使用は不可能であり、比較的小規模な臨床研究での詳細な抗動脈硬化薬効評価（の予測）に適切である。

NOドナーの血管拡張作用を検討することの重要性

アセチルコリンへの血管拡張反応の低下が内皮機能の低下によるものと結論するには血管内皮非依存性の血管拡張反応およびNOへの反応が正常であることが前提条件となる。このために、アセチルコリン動注を行う際、ニトロプルシドやニトログリセリンなどのNOドナーの血管拡張作用を検討する。この検討は糖尿病患者においては特に重要である。2型および1型糖尿病患者では内皮機能の低下とともにニトロプルシドやニトログリセリンへの反応が低下していることが報告されている^{7,8)}。さらに最近筆者らは、すでに確立した2型糖尿病患者のみならず耐糖能障害を有する患者においても内皮機能低下とともにNOへの反応も低下していることを報告した⁹⁾。また冠動脈のNOドナーへの反応も予後規定因子の1つであることも判明している。つまり血管不全の病態によっては内皮機能を改善させる治療のみでは不十分であり、NOへの平滑筋の反応をも改善させようような治療を開発する必要がある。

L-NMMAによる血管収縮反応のプレシスモグラフによる測定

NO合成酵素阻害薬であるL-NMMAは動注により前腕血流の低下が生じる。このことは前腕抵抗血管では基礎的なNO産生があり、血管トーンスの維持に貢献していることを示唆している。したがってL-NMMA動注時の血管収縮反応を測定することによって間接的に基礎的なNO産生を評価することが可能である。筆者らはL-NMMAを8 μ mol/minで持続動注し、steady stateに達した時点の前腕血流量の減少を基礎的なNO産生量の指標としている。

本法の問題点は科学的な妥当性に曖昧さが残ることである。NO合成酵素はNOのみを産生するわけではなく（例：スーパーオキシド）またNO合成酵素を介さないNO産生系も存在する。さらにそもそも基礎的なNO産生抑制による血管収縮はどの血

管収縮経路がunmaskされることにより生じるのか不明である。この点は今後解明される必要がある。また筆者らはインスリン感受性との相関を報告したが¹⁰⁾ 動脈硬化性疾患の予後との関連は明らかではない。

プレシスモグラフィによる反応性充血(reactive hyperemia)の測定

本法は上腕の阻血を解除した際に反応性充血による前腕血流量の増加をプレシスモグラフィで測定するものである。

本法はアセチルコリンへの反応に比べ生理的血管拡張であり、侵襲がなく、良好な再現性(CV5%)が報告されており、ある程度の規模の臨床試験には使用可能である。Higashiらはアセチルコリンへの血管拡張反応と相関することを報告しており¹¹⁾、代替法となる可能性はある。しかし問題点として血管拡張反応のピークはL-NMMAにより抑制されず、アセチルコリンへの反応との合致性(NO依存に関して)に問題があり、得られた結果のメカニズムに関する解釈は単純ではないこと、血管の最大拡張を評価する方法であり血管内皮機能よりもむしろ血管構造を評価している可能性もあること、冠動脈疾患の予後との関連をみた研究や介入試験のデータが少なく、臨床的妥当性が確立していないことなどがあげられる。しかし再現性のよさと侵襲のなさを考慮すると今後検討を加え、予後との関連が明らかになれば抗動脈硬化治療の代替エンドポイントとなりえる可能性がある。

血流依存性血管拡張反応検査(flow mediated dilatation ; FMD)

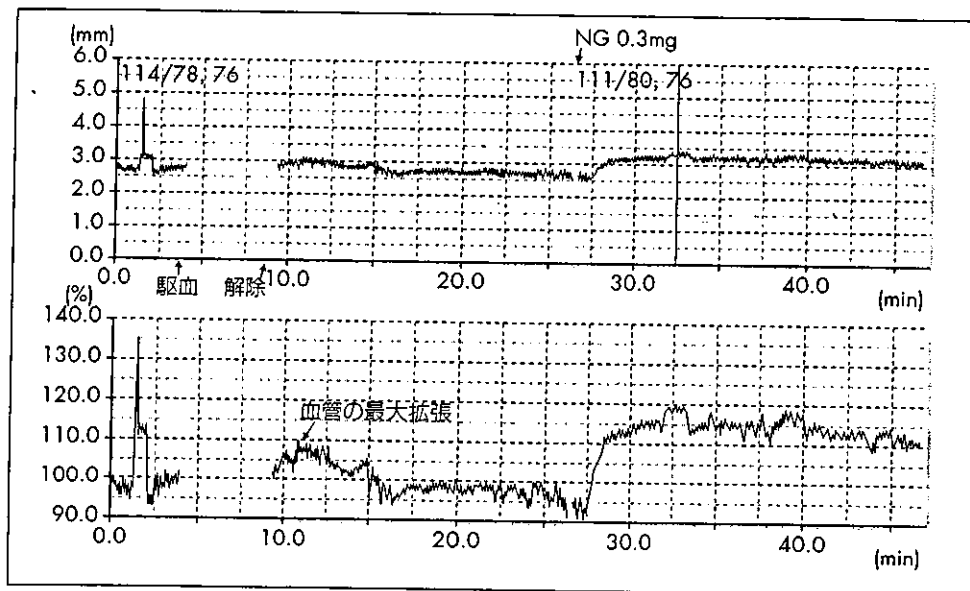
FMDは非侵襲的内皮機能診断法として広く用いられている。この方法はその利点を生かして小児にも使用可能である¹²⁾。カフによる圧迫、解除で得られた反応性充血に伴う血流増加刺激による内皮依存の、主として産生遊離されたNOを介した血管拡張を血管径の変化として測定する。血管内皮非依存の血管拡張はニトログリセリンの舌下(400 μ g)またはスプレーによる投与後に測定される。本法は非侵襲的、生理的であり、プレシスモグラフィでは評価できない伝導血管の内皮機能を測定できる利点がある。しかし多くの問題を有する。

第一の問題は測定の再現性である。最近の報告では群としてのなんらかのリスクファクターによる影響の検出(例:喫煙群での低下)には使用できるが、臨床試験に使用するには再現性が十分ではないとされる¹²⁾。この報告をみるかぎり、抗動脈硬化治療の評価に使用するのは困難なようである。再現性を改善するために筆者の共同研究者である大屋らや久留米大学の松岡らはまずプローブの位置を固定できる装置を開発し、さらにリアルタイムトラッキングシステム(α 同期させた持続的自動測定)を使用している[3]。このデータからピーク値やTmax, AUCなどが得られ、再現性に関しても例えば阻血解除後60秒などのワンポイント測定に比べ良好である。

第二の問題は科学的な妥当性であり、得られた結果の解釈である。本法で阻血解除後の血管径増加が減弱していることが「内皮機能低下」と判断されるには、血管拡張刺激(血流の増加)および平滑筋のNOへの反応が不変であることが前提である。例えば降圧薬などの内皮機能への影響をFMDで検討した報告があるが、一部

を除き(久留米大学 松岡ら)血流への影響は考慮されないまま解析されている。後者は通常測定されているが、用量反応曲線を構築したものではなく、血管径の増加もFMDの倍以上であり、対照実験としては問題が多い。これらの問題の解決には血流量の測定と解析での補正、ニトログリセリンの用量の再検討などが必要である。

抗動脈硬化治療の代替エンドポイントとしてはまず前述したように再現性の改善が前提であるが、非侵襲であることと、伝導血管の内皮機能を評価できることにより抵抗血管を評価するプレシモグラフ+動注法と相補的であるなどの利点がある。今後方法論的な再検討のうえで介入試験や小児の臨床研究、予後との関連をみる縦断的研究が行われるべきである。



[3] リアルタイムトラッキングによるFMD測定

(琉球大学医学部循環器系総合内科 大屋祐輔氏提供)

◆文献◆

- 1) Hewlett AW, van Zwaluwenburg JG: The rate of blood flow in the arm. *Heart* 1: 87-97, 1909.
- 2) Petrie JR, Ueda S, Morris AD, et al: How reproducible is bilateral forearm plethysmography? *Br J Clin Pharmacol* 45: 131-139, 1998.
- 3) Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the regulation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288: 373-376, 1980.
- 4) Chowienczyk PJ, Cockcroft JR, Ritter JM: Blood flow responses to intra-arterial acetylcholine in man: effects of basal flow and conduit vessel length. *Clin Sci* 87: 45-51, 1994.
- 5) Ueda S, Wada A, Umemura S: Methodological validity and feasibility of NO clamp technique. *Hypertens Res* (in press).
- 6) Millgard J, Lind L: Acute hypertension impairs endothelium-dependent vasodilatation. *Clin Sci* 94: 601-607, 1998.
- 7) Chan NN, Vallance P, Colhoun HM: Endothelium-dependent and -independent vascular dysfunction in type 1 diabetes: role of conventional risk factors, sex, and glycemic control. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: 1048-1054, 2003.
- 8) McVeigh GE, Brennan GM, Johnston GD, et al: Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 35: 771-776, 1992.
- 9) 島袋充生, 比嘉南夫, 植田真一郎, ほか: 第67回日本循環器学会. 2003, 福岡.
- 10) Petrie JR, Ueda S, Webb DJ, et al: Direct association between insulin sensitivity and basal nitric oxide production in man. *Circulation* 93: 1331-1333, 1996.
- 11) Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, et al: A noninvasive measurement of reactive hyperemia that can be used to assess resistance artery endothelial function in humans. *Am J Cardiol* 87: 121-125, 2001.
- 12) Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 340: 1111-1115, 1992.
- 13) Hijmering ML, Stroes ES, Pasterkamp G, et al: Variability of flow mediated dilation: consequences for clinical application. *Atherosclerosis* 157: 369-373, 2001.

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
宮川 政昭	降圧薬の服用時刻への配慮	島田和幸	高血圧診療のコツと落とし穴	中山書店	東京	2004	102-104

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
宮川 政昭	1日1回投与の持続性降圧薬カンデサルタンの服薬時間変更による早朝血圧への影響	血圧	11(4)	92(410)- 96(414)	2004
宮川 政昭	日本独自のエビデンスを目指して—神奈川県高血圧メガスタディ研究—	日本臨床内科 医会会誌	19(1)	50-58	2004
宮川 政昭	血圧の自己測定とその管理の陥穽	総合臨床	53(9)	2451-2460	2004
宮川 政昭	家庭血圧計を用いた新規ARBテルミサルタンの有効性の検討	血圧	11(12)	115(1373)- 119(1377)	2004
宮川 政昭	服薬時刻変更による早朝高血圧管理と薬剤選択に根拠はあるか	血圧	12(2)	84(236)- 88(240)	2005

日本独自のエビデンスを目指して

—神奈川県高血圧メガスタディ研究—

神奈川県内科医学会メガスタディ委員長 宮川 政昭

私たちは、高血圧に対してどのように治療をしてきたのか、その治療目標を目指して何をしてきたのかを考えなければなりません。世界8カ国の脳血管障害の死亡率の時代的な変遷をたどれば、1960年代を境に急速に減少してきました。これは、降圧薬の歴史的な変遷とってよいと思います。

しかしながら、脳梗塞の患者さんは逆に増加しています。この原因は、致死的な脳卒中の減少、高齢人口の増加、そして高齢者における軽症の脳卒中の発症が原因と考えられています。このことから今後、降圧の質を考えなくてはなりません。

さて、そのような中で私たちは平均寿命の延長の質を考えていかなければいけないと思います。実際には、障害を持ちながら生活している人たちの割合が増えてきているわけです。この方たちに対してどのような医学的配慮が必要なのか考えていかなければなりません。

活動的平均寿命というものがあります。全平均寿命の中で、活動的な平均寿命をどれだけ延ばしていくのかを問われているのです。そして、障害のあるところからかかわるのではなく、疾患の存在を確認されたところから障害の発生までをいかに延ばしていくのかということも、私たちの務めの一つではなかろうかと思うわけです。

その中で活動的平均寿命を向上させるために

は、やはり早朝の高血圧のリスクを下げていかなければいけないだろうと思います。早朝に急激な高血圧を認めることがあります。朝方に脳卒中や心筋梗塞が多いということは、先生方もご存じのとおりだろうと思います。この時間帯に早朝高血圧が大きく関与しています。その病因としては、早朝の交感神経活性(特に α_1 -受容体)、RAS、凝固・線溶系の活性亢進が関与するといわれています。このリスクをいかにコントロールするかがこれからの高血圧治療のポイントのひとつとなります。

よくいわれることのひとつですが、3600万人の高血圧患者さんがいて、高血圧の治療を受けているのは半分、外来血圧のコントロールができてるのが半分、そして早朝高血圧のコントロールができてるのは、その中の半分ということです。早朝高血圧の管理を考えれば、私たちは8分の1しかコントロールしていないことになるわけであり、患者さんのコンプライアンスばかりでなく、医師の高血圧治療に対するモチベーションの高さも問われるところです。

このような現状の中で、私たちの武器は何でしょうか。私たちの武器は、家庭血圧測定だと思います。家庭血圧というものは、長期変動性の評価、再現性、さらに薬効の持続時間の評価に優れています。再現性の良さは、血圧測定条件をしっかり守ることから生まれてきます。

今回、東北大の今井教授の下、その班員の一人として家庭血圧の測定条件の設定に参画してきました。どのような条件を設定していくのかについ

本編は平成15年9月13日～15日に神奈川県で行われた第17回日本臨床内科医学会での問題提起講演を整理、要約したものである。

表 1 家庭血圧の測定条件

■家庭血圧測定	
朝：	起床1時間以内
	食前
	服薬前
	座位（椅子，正座，胡座いずれでも）
	排尿後
夜：	就寝前
	座位
	排尿後
	※夜は飲酒したり，入浴したり，さまざまなことがあります，とにかく寝る前に測定しましょう
■測定は一回測定	

ての詳細は，今度の高血圧学会で発表されることになっています。今回はその一部をお話します。

測定時刻ですが，朝は，起床後1時間以内で食前，服薬前，座位，排尿後に測定します。そして測定は座位で行います。イスであろうが，正座であろうが，胡座（こざ）であろうがいずれもよいということです。これは，患者さんのライフスタイルに合わせていただいて結構です。イスに座って測定してくださいといっても，日本間しかないという患者さんのお宅もあります。そういう意味では，同じ条件で長期間測定できる条件作りが求められました（表1）。

夜は，就寝前に座位，排尿後という形です。実際には飲酒したり，入浴したりさまざまなことがあります，とにかく寝る前に測定していただければ結構です。測定は，1回で結構です。2回測り平均しなさい，さらに3回測り平均しなさいなどと，さまざまなことがいわれましたが，3回測定したら3回とも記入はしていただければと思いますし，2回測定すれば，そのすべてを記入していただければ幸いです。

ただし，測定は原則的には1回。つまり，患者さんに平均してその値を持ってきてもらったり，先生方が平均してその場でまた平均値を出していくことは大変なことです。それを長期にやり続けるということは，むずかしいことになりますし，大変煩雑になります。そして複数回の測定はすべ

て異なった値として表示されるため，被験者の混乱を招くこと，さらに一般に被験者は低い血圧を好む心理的傾向があり，低くなるまで家庭血圧を測定し，その値を選択し報告する可能性が高く，患者さんがバイアスをかけてしまう可能性もあるわけです。

そして長期間の測定の間には平均集束効果が出現します。通常正常血圧者では2日，高血圧患者では5～7日で平均集束効果が認められるので，長期間測定すると自ずからその人固有の血圧値に至ることがわかっています。

家庭血圧は長期間にわたり測定するものですから，1機会に複数回の測定を求めるより，1機会に1回でもよいから被験者に長期間測定を求めるべきでしょう。そういうようなことで，私たちは持続的で安定した血圧のコントロールを目指しているということです。

家庭血圧の測定の意義ですが，情報源として量的にも質的にも随時血圧に勝ること，非医療環境下であり，白衣現象がないこと，脳心血管イベントの予測能が随時血圧より良いこと，降圧薬の効果に関する評価指標として優れ，ME比はTP比より薬効持続効果を判定しやすいこと，さらに患者の治療に対するコンプライアンスの改善や医療費削減の貢献に寄与することにあります。

今日は時間がないのでお話ししませんがME比（モーニング・イブニング比）は，TP比よりは確実に薬効評価を判定しやすいのです。家庭血圧をきちんと測定し続けていただくと，ME比が算出されます（表2，図1）。これは，TP比のようにSDの値の幅が大きいわけではないので，非常にいい指標になります。

ただし家庭血圧測定の欠点は，まだ診断基準が確立していないこと，エビデンスが少ないということで，可能性をこれから膨らませていかなければいけないだろうと思います（表3）。

今後，家庭血圧の測定の意義が広がり，診断治療の新しい分野が展開されていくのではなかろうかと思っています。また，これから実地医家の先生方が積極的に臨床試験に参加すること，特に家庭血

圧の分野で参加していただくことで、さらなる知識の集積がはかれるのではなかろうかと思うわけです。

これまでいろいろな大規模臨床試験が行われてきました。CCB 優位、ACE-I 優位、ARB 優位とさまざまな報告がありました。実際に高血圧全般をみたいろいろな試験でも、結果はさまざまです。糖尿病に関するものでも、腎症に関するものでも、そして脳卒中に関するものでも同様です。ありとあらゆるさまざまな試験結果が出てきて、私たちが何をこれから得て実際の治療に直結させてよいのか非常に迷うわけであります。

血管といっても、脳・心・腎でその構造が少しずつ異なり、脳梗塞・心筋梗塞・腎障害といった病態により血管の反応性も変わります。脳梗塞の場合は、降圧薬の種類にかかわらず、厳格な降圧が発症リスクを低下させることがわかっています。心筋梗塞は正常血圧でも起こり、血圧の関与は脳梗塞ほど強くなく、その予防には、降圧より血管や心筋の保護のほうが重要かもしれません。腎障害は、RA 系の障害が大きな意味を持つこと

がわかっています。以上のことから、臓器ごとに使うべき降圧薬が限定されてくる可能性もあります。

薬剤特性・臓器保護作用がどこまで差があるのか、降圧プラス血管保護作用はどこまで必要なのだろうか、血管を守る場合に降圧による保護作用とそれ以外の機序による保護作用とどちらが強いのかなど、さまざまな課題があります。

大規模臨床試験から、降圧薬をどのように選択していけばよいのか。大規模な臨床試験の後に、さまざまな報告とか解説があるのですが、どこまで信用して、どう理解してよいのか、非常に理解に苦しむときがあります。しかし、とにかくまず目指さなければならないことは、厳格な降圧を目指していくことが原則だろうと思います。日常診

表 2 M/E 比

<ul style="list-style-type: none"> ■ Morning/evening 比 <p>家庭血圧測定に基づいた 降圧薬の効果判定法</p> <p>朝の家庭血圧：起床 1 時間以内、坐位 服薬前、排尿後、食前</p> <p>夜の家庭血圧：就寝前（もしくは夕方）</p>
--

表 3 家庭血圧測定の意義

<p>利点</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 情報源として量的にも質的にも随時血圧に勝る ■ 非医療環境下であり、白衣現象がない ■ 脳心血管イベントの予測能が随時血圧より良い ■ 降圧薬の効果に関する評価指標 ME 比は、TP 比より薬効持続効果を判定しやすい ■ 患者の治療に対するコンプライアンスの改善 ■ 医療費削減への貢献 <p>欠点</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 高血圧の診断基準が確立していない ■ エビデンスが少ない — 将来への課題と期待がまだ多い—
--

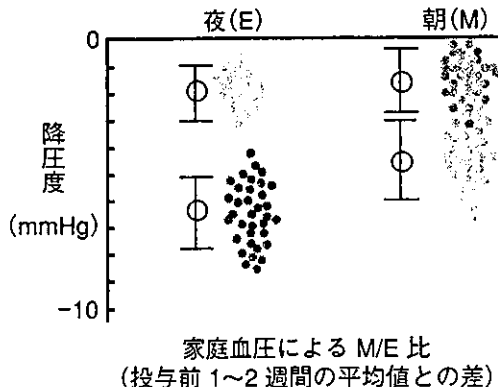
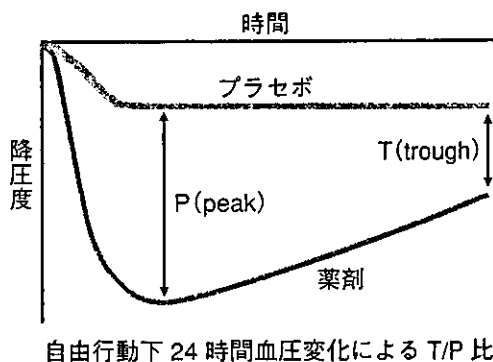


図 1 降圧薬の効果持続の評価

療の中でまず先生方に、きちんと降圧目標まで降圧をしていただきたいところであります。

さて、これから私たちは何をすべきなのかということです。24時間の変動を考え、一定の降圧が得られるような治療計画を立てていかなければいけません。食後服用の考え方を捨てなければいけません。つまり起床後であったり、就寝前であったりという投与方法も考えなければいけません。1日1回の長時間作用型の降圧薬にも個人差があり、早朝まで効いていないものもあります。これは患者さん個々の個人差が大きいためだろうと思います。降圧薬の1日2回の服用を見直すことも必要かもしれません。少量併用を考えて朝と夜の降圧薬は、別な種類のものを使い分けしていかなければならない場合も数多く出てくるでしょう。

そうなってくるとテーラーメイドの治療をするためにも、24時間の降圧を得られるためにも、日本人のためのエビデンスが欲しくなります。個人差もあり、1日2回の降圧薬の服用を見直すためにも、独自のエビデンスが欲しくなります。少量併用とか、朝夜別々なものが必要だという、併用の新しいパターンをつくっていくためにも、また自分たちのエビデンスが欲しくなるわけがあります。

このような現況を踏まえて、我々開業医はいま何をすべきかということです。EBMのことを盛んにいわれるわけですが、エビデンスそのものばかりが強調されています。実際には3つの要素の重なり合いの中で論じられなければなりません(図2)。まずエビデンスがあり、患者・医師の因子があって、そこに社会的な制約が入ってきます。その重なったところに知識、ガイドライン、医療の倫理が入ってきます。そして真ん中のすべてのコンポーネントが重なったところが、臨床判断です。どちらにしてもEBMの担い手は誰なのかということになりますと、患者さんに直接携わる臨床家によって行われるということは、異論のないことだろうと思います。

臨床試験を妨げるものは何があるのかというこ

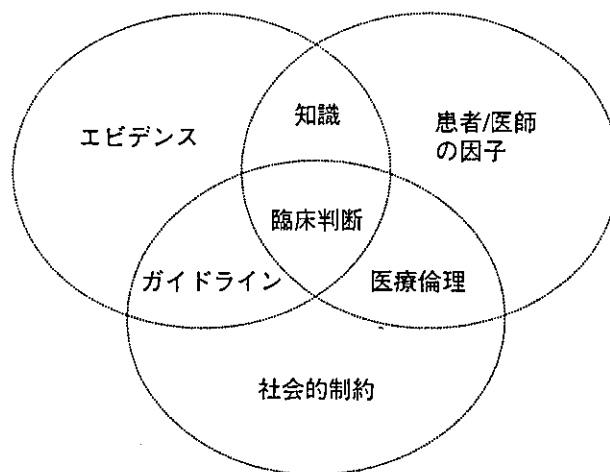


図2

とですが、国の援助が少ないという現状、マンパワーが少ないという現状、経済力の問題、歴史的な背景、そして意識の問題があるわけです。臨床試験を妨げるものの歴史的な背景の中では、日本が西洋医学を受け入れる段階で、臨床研究のシステムが同時に入ってこなかったということがあります。そして、ドイツ医学に代表される実験主義が主体で、英国医学に代表されるような実証主義の考え方というのは、一部にしか浸透しなかったということがあるわけです。それが今も響いているわけであります。

援助、マンパワーから経済力という問題では、米国のNIHのようなレベルまでとはいいいませんが、臨床試験に対して国からの援助が少ない状態を何とかしなければなりません。リサーチナースが少ない現状、患者に対するインセンティブの問題などさまざまな障害があります。

その中で特に意識の問題が一番大きいのではないだろうかと思います。患者さん自身が人体実験を受けているようだ、もしかしたらマイナスの結果になるかもしれないと危惧している現状があります。これに対しては早い時期に是正することが必要です。

私たち自身が臨床試験に参加することで、患者さんに対してより高いレベルの医療を供給する可能性を広げること。さらに臨床試験に参加している医師は、臨床的にも高いレベルにあると、私た