

74: 842-847, 1995.

- 11) Inoue N, et al: Polymorphisms of NADH/NADPH oxidase p22 phox gene in patients with coronary artery disease. *Circulation* 97: 135-137, 1998.
- 12) Anderson JL, et al: Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease and serological evidence for *Chlamydia pneumoniae* infection. The azithromycin in coronary artery disease: Elimination of myocardial infection with *Chlamydia* (ACADEMIC) study. *Circulation* 99: 1540-1547, 1999.

---

Diabetes Mellitus : Multiple risk factors for diabetic  
macroangiopathy

Yoshimitsu Yamasaki

Department of Internal Medicine and Therapeutics

# 糖尿病における高脂血症治療

山崎 義光

ポイント

- ▶ 糖尿病では、レムナントや small, dense LDL の増加する異脂質血症を呈することが多い。
- ▶ 糖尿病患者に対するスタチンの効果は、非糖尿病患者より大きい。

糖尿病においては、総コレステロールや中性脂肪が高値を示す高脂血症がみられる。さらに、たとえ総コレステロール濃度が正常範囲であっても脂質内容に病的変化がみられ(異脂質血症)、動脈硬化を進展させることが多い。すなわち、糖尿病では「高脂血症」や「異脂質血症」がみられる。したがって、糖尿病における高脂血症治療に関しては、より厳格な管理が要求されている。

本稿では、糖尿病にみられる「異脂質血症」の特徴とその治療効果について、血管内皮障害と大規模疫学研究結果を踏まえ検討したい。

## 糖尿病にみられる異脂質血症と血管内皮障害

種々の生活習慣病(糖尿病, 高脂血症, 高血圧, 肥満など)で血管内皮障害がみられる。血管内皮障害では、血管内皮細胞から放出される NO の低下のために、①血管平滑筋の弛緩反応の抑制、②血小板凝集亢進、③血管平滑筋の増殖、などにより動脈硬化が促進する。

糖尿病はいうまでもなく、軽度の耐糖能異常である「境界型糖尿病」でも動脈硬化の進行がみられる。この成因として、食後高血糖に伴う酸化ストレスの亢進や食後レムナントコレステロールの増加が考えられている。Nagai T らは<sup>1)</sup>、経口ブドウ糖負荷後の血中レムナントコレステロールの変化を検討した。健常人では、レムナントコレステロールの増加を全く認めなかったのに比較し、糖

尿病患者のみならず IGT(耐糖能異常)症例でも増加を認めた(図1)。このレムナントは血管内で代謝を受け、一部は small, dense LDL に変化する。冠動脈疾患の既往を有する患者の LDL サイズは、健常人に比較して有意に小さいことが報告されており、small, dense LDL の割合が多いことが示されている。平均 LDL サイズが 255 nm 未満の「パターン B」といわれる脂質異常を示す症例の頻度も糖尿病患者で有意に多く、糖尿病患者では small, dense LDL が増加し、動脈硬化を進展させ、冠動脈疾患を惹起させることが理解される。糖尿病患者では特に食後酸化ストレスの亢進が強くみられ、この酸化ストレスがより酸化を受けやすい small, dense LDL の酸化を惹起、血管壁に埋

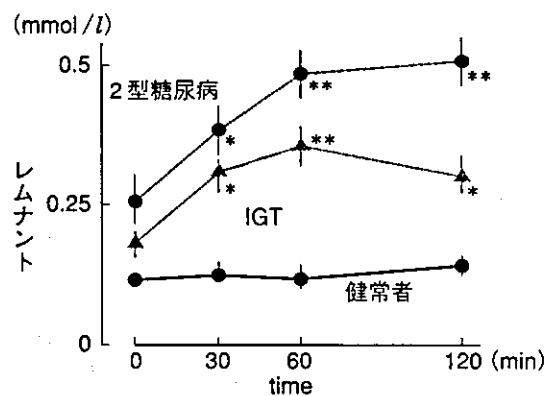


図1 2型糖尿病, 境界型糖尿病, 健常人における食後レムナント動態 (文献1より)  
\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01

やまざき よしみつ: 大阪大学大学院情報伝達医学専攻病態情報内科学 565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2

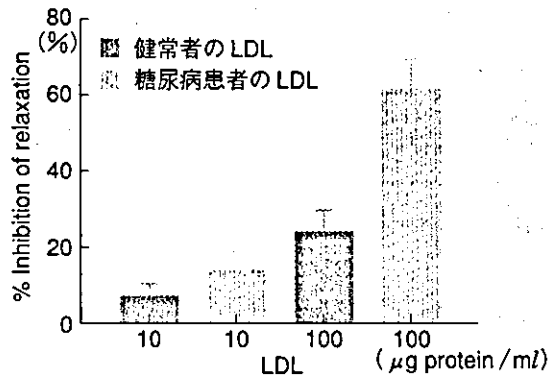


図2 LDLの家兎大動脈リング弛緩抑制効果

入し動脈硬化促進に働くと考えられる。

血管内皮障害として大動脈リング弛緩反応の抑制がみられるが、LDLの用量依存性に弛緩反応の抑制がみられる(図2)。また、糖尿病患者から得られたLDLでは、この抑制効果がさらに増強することが明らかにされて、糖尿病患者のLDLは質的異常もみられ、血管内皮障害をさらに助長する<sup>2)</sup>。抗高脂血症薬のスタチン系薬剤(以下、スタチン)は、NO合成酵素活性を直接亢進させ、この用量依存性のLDLによる血管内皮障害を改善することが報告されている。健康者と糖尿病患者でLDLのサイズと血流依存性の血管弛緩反応の障害に直線関係がみられ、糖尿病患者ではLDLサイズが小さく血管弛緩反応がさらに強く障害されることが示されている(図3)<sup>3)</sup>。

### 糖尿病における高脂血症治療

糖尿病にみられる異脂質血症は催動脈硬化作用が強いことより、スタチンなどによる高脂血症改善による冠動脈疾患発症抑制効果は、非糖尿病患者より大きいことが期待される。事実、シンバスタチンを用いた4S(Scandinavian Simvastatin Survival Study)のサブ解析の結果、糖尿病患者に対するシンバスタチンの主要冠動脈イベント発症抑制効果が42%と、IFG(impaired fasting glucose)に対する38%、耐糖能正常者に対する32%に比べ大であることが報告されている。すなわち、高脂血症改善効果は、耐糖能が悪化するほど大である

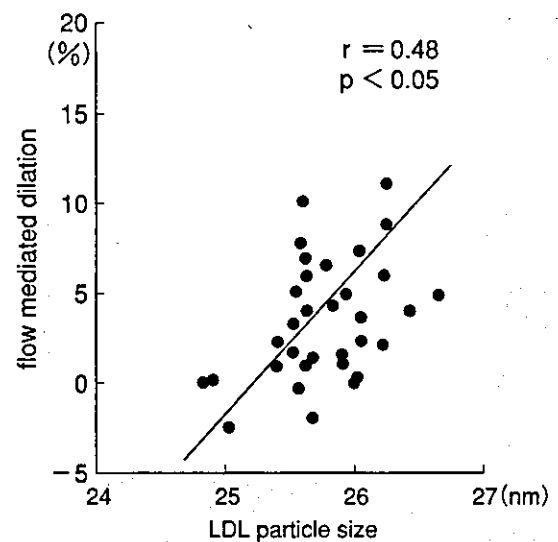
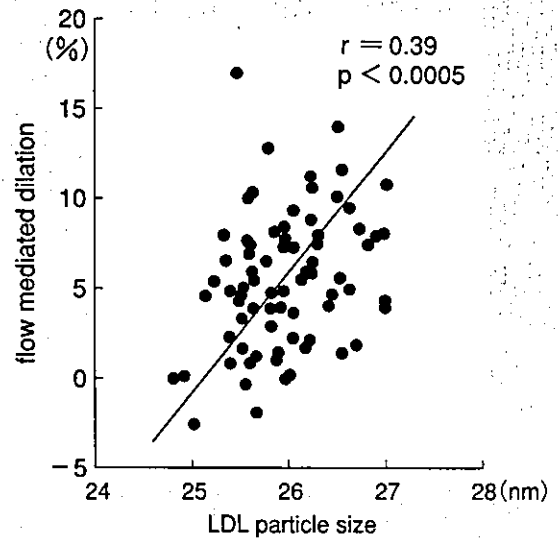


図3 糖尿病患者の血管内皮障害とLDLサイズ

ことが明らかとなっている<sup>4)</sup>。フェノフィブラートを投与し、リポ蛋白組成を変化させることにより、異脂質血症を改善したDAIS(Diabetes Atherosclerosis Intervention Study)研究では、投薬群で冠動脈の%狭窄率増加の抑制が報告されている<sup>5)</sup>。日本での大規模疫学研究の久山町研究では、第3集団の冠動脈疾患の発症率はLDLコレステロール値が160 mg/dl以上で高くなるのに比べ、糖尿病ではより低い120 mg/dlから発症率が高くなることが知られている。この事実は、糖尿病ではたとえ総コレステロール値が正常でもコレステロールに異常が存在する可能性があること、こ

これらの症例では、スタチンを投与し small, dense LDL を低下させることが冠動脈疾患発症抑制に有効である可能性が強いことを示唆し、今後の大規模介入試験の結果が待たれている。

●おわりに 糖尿病に伴う「異脂質血症」は、高血糖、高脂血症、酸化ストレス、インスリン抵抗性が密接に関連した「血管内皮障害」であり、LDL サイズの小粒子化、酸化 small, dense LDL の産生亢進、凝固線溶系の異常、血管平滑筋の増殖などが動脈硬化を促進する。スタチンを代表とする抗高脂血症薬は異脂質血症の改善、NO 産生改善効果、炎症反応の改善作用などが知られており、種々の面から糖尿病性動脈硬化に対する改善効果が期待される。

#### 文献

- 1) Nagai T, et al: Serum lipid and lipoprotein metabolism after glucose ingestion in NIDDM and IGT patients; Apolipoprotein-containing particles. *Diabetes Care* 19 : 365-368, 1996
- 2) McNeill KL, et al: Inhibitory effects of low-density lipoproteins from men with type II diabetes on endothelium-dependent relaxation. *J Am Coll Cardiol* 35 : 1622-1627, 2000
- 3) Skyrme-Jones RA, et al: Endothelial vasodilator function is related to low-density lipoprotein particle size and low-density lipoprotein vitamin E content in type 1 diabetes. *J Am Coll Cardiol* 35 : 292-299, 2000
- 4) Haffner SM, et al: Reduced coronary events in simvastatin-treated patients with coronary heart disease and diabetes or impaired fasting glucose levels: Subgroup analyses in the Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Arch Intern Med* 159 : 2661-2667, 1999
- 5) Effect of fenofibrate on progression of coronary-artery disease in type 2 diabetes; The Diabetes Atherosclerosis Intervention Study; A randomized study. *Lancet* 357 : 905-910, 2001

# 1 型糖尿病のインスリン療法

山崎 義光

内因性インスリン分泌が全く廃絶する1型糖尿病では、インスリン治療が必須である。内因性のインスリン分泌は、基礎インスリン分泌と食後のインスリン分泌とからなっていることから考え、良好な血糖管理のために、頻回インスリン注射と頻回血糖測定からなる強化インスリン療法が必須となる。



## 生理的インスリン分泌

1型糖尿病のインスリン療法を遂行するうえで生理的インスリン分泌、代謝動態を理解することは重要である。食後腸管からブドウ糖が吸収されると、速やかに膵β細胞からインスリンが分泌され門脈血中のインスリン濃度がブドウ糖濃度とともに高くなる。この食直後の血糖・インスリン濃度の増加は肝細胞からのブドウ糖放出を抑制し、かつ肝細胞へのブドウ糖摂取を亢進させる。肝臓をバイパスしたブドウ糖およびインスリンは、末梢血中に流入し、筋肉などのインスリン感受性組織で効率よくブドウ糖が摂取され、食後の血糖値はオーバーシュートすることなく、低下してくる。食物の吸収のない夜間は、膵β細胞からのインスリン分泌（基礎分泌）は徐々に低下し、深夜最低となる。早朝拮抗ホルモンの分泌亢進とともに血糖が上昇、内因性インスリン分泌が再上昇し、早朝空腹時の血糖が維持される。したがって、血中のインスリン濃度は毎食後上昇し、次の食前には前値に復するパターンをとる。

やまさき よしみつ／大阪大学大学院病態情報内科学助教授



## 1 型糖尿病に対するインスリン投与法

理想的な1型糖尿病に対するインスリン投与法は、毎食前速効型インスリン注射による追加インスリン分泌の補充と中間型あるいは持続型インスリン注射による基礎インスリン分泌の補充である。追加インスリン分泌と基礎インスリン分泌の比率は1:1とされている。1型糖尿病は基本的にインスリン抵抗性は有さないが、高血糖持続時糖毒性のためにインスリン抵抗性が存在する。一般的に朝はインスリン感受性が低下し、速効型インスリン注射量が少し多くなる症例が多い。混合型あるいは中間型インスリンを夜間注射するとき、その作用の持続が充分でなく、朝食前に速効型インスリンのみならず混合型・中間型インスリン注射を必要とする症例も多い（図1）。

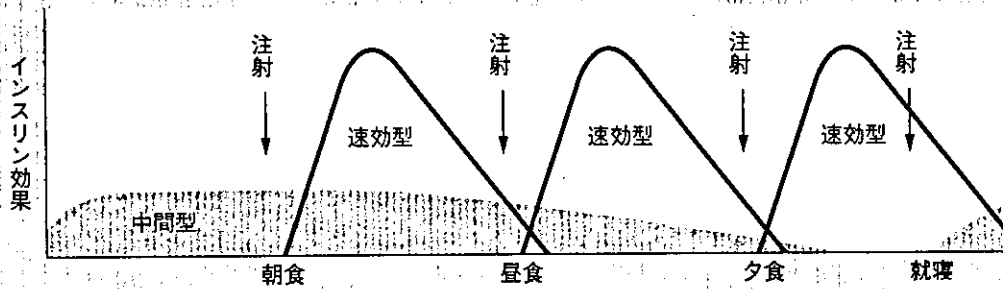
網膜症進展抑制には、同じヘモグロビンA1c値でも1日1~2回のインスリン注射よりも1日4回の頻回インスリン注射の方が優れていることが知られている。また、post DCCT study (EDIC study) は、糖尿病細小血管合併症の進展は、はじめに強化インスリン療法施行群の方がDCCT後に従来療法から強化インスリン療法に変更した群より少ないことが報告されている<sup>1)</sup>。すなわち、1型糖尿病の細小血管合併症の進展抑制には、頻回インスリン療法をできるだけ早く導入し、厳格な血糖管理を行うことであることが示された。

一般的に、少量のインスリン注射は作用時間が長く、大量のインスリン注射は作用時間が長くな

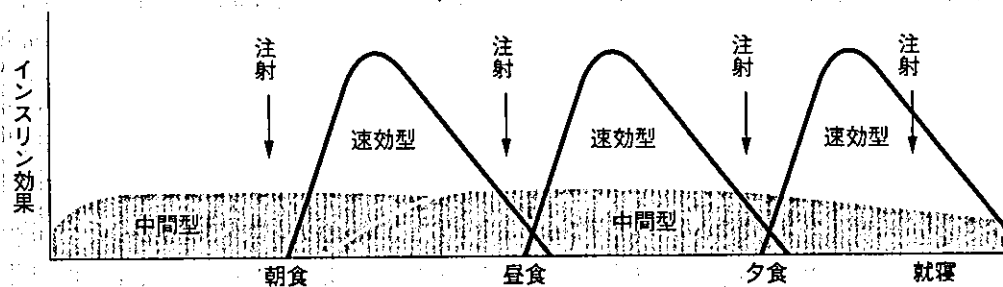
1979

インスリン依存状態でのインスリン注射例

1. 速効型インスリンを毎食前3回、就寝前に中間型インスリンを注射



2. 中間型を朝食後と就寝前に2回、速効型を毎食前に注射



3. 持続型を朝食、夕食後に2回、速効型を毎食前に注射

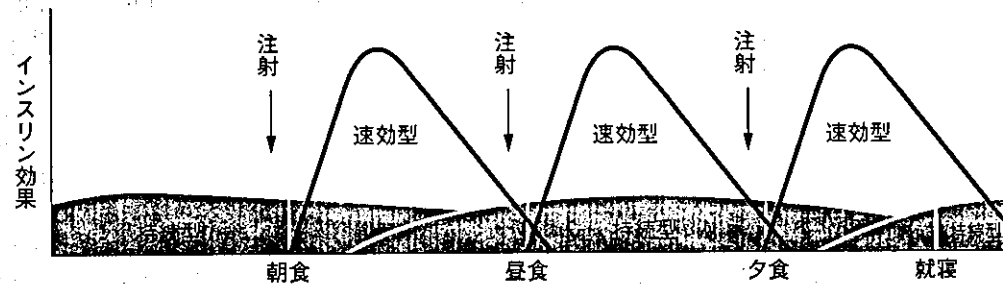


図1 1型糖尿病のインスリン療法  
(日本糖尿病学会, 編. 糖尿病治療ガイド. 文光堂; 2000)

る。また、腎障害が進むと、インスリンは腎臓でかなりの割合が分解されるためインスリン必要量が少なくなり、また、低血糖の発現も多くなる。

### 強化インスリン療法と血糖自己測定

血糖値を適正の日内変動におさめるため、内因性インスリン分泌はきわめて変動している。1型糖尿病患者をCSIIと人工膵島で血糖管理を試みた筆者らの成績では、インスリン注入量を固定としたCSIIでは著しい血糖日内変動を認めた<sup>2)</sup>。一方、血糖測定値に基づいてインスリン注入を変動しうる人工膵島による血糖管理では、血糖日内

1980

変動はきわめて少なかったが、逆に、インスリン注入パターンならびに1日インスリン注入量の変動はきわめて大であった(図3)。このことから、1型糖尿病患者の血糖管理をよくするためには、頻回の血糖測定とインスリン注射量を適宜に増減する必要があることが理解される。

実際は、毎食前血糖を測定し、測定血糖値によりインスリン注射量を加減するsliding scaleが推奨されている。また、早朝空腹時の血糖値から、眠前の中間型インスリン量を加減することも多い(表1)。さらに、食事と食事の間が長いとき(たとえば昼食と夕食の間)に、随時に血糖測定を行

い, sliding scaleに基づいてインスリン追加注射を行うことも進められる。ただし, 朝食前の血糖の過度の上昇には, Somogyi効果と暁現象を区別する必要がある (表2, 3)。

### CSII (continuous subcutaneous insulin infusion)

強化インスリン療法にても十分な血糖コントロールが得られない例や妊娠前および妊娠中で厳格な血糖コントロールが必要な例に行う。CSII専用の注入ポンプと注射器, 翼状針を用いる。1日インスリン投与量の40~50%を基礎注入量とし, 残りを追加注入量分として毎食前に3分割する。頻回に血糖測定を行い注入量を調節する。

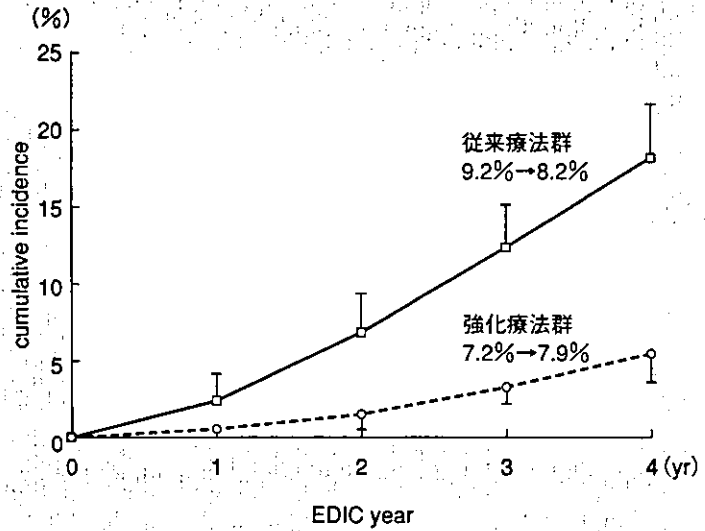


図2 DCCT後の強化療法群, 従来療法群における網膜症悪化率

従来療法群は, DCCT終了後強化インスリン療法に変更し, ヘモグロビンA<sub>1c</sub>値も9.2→8.2と低下したが, DCCTの強化療法群と比較し, 有意に網膜症の悪化を示した。 [N Engl J Med 2000; 342 (6): 381-9.]

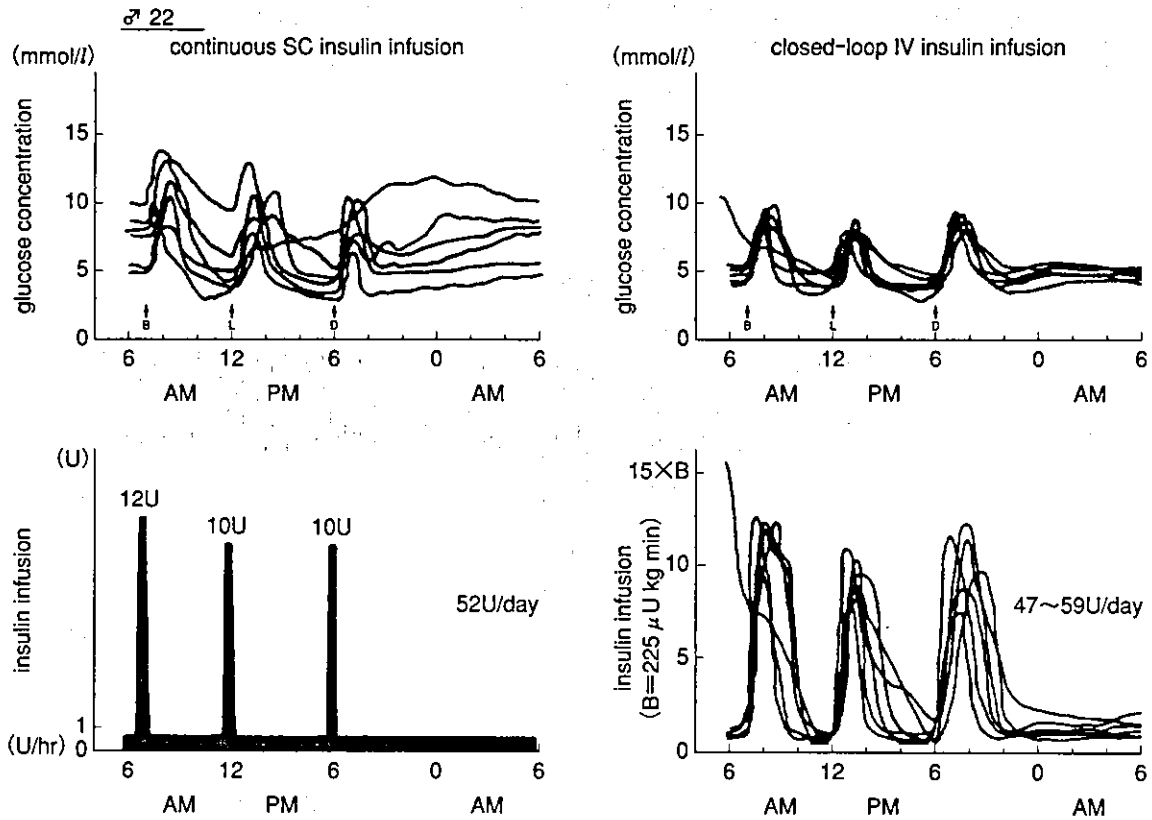


図3 1型糖尿病に対するCSII (左図) と携帯型人工膵島 (右図) による血糖日内変動 (上図) とインスリン注入量 (下図) (Shichiri M, et al. Diabetes 1984; 33: 1200-2.)

表1 血糖自己測定

- 1) 1日4検 毎食前3回+眠前 血糖測定 $\geq$ 28回/週
- 2) 1日8検 毎食前3回+毎食後2h3回+眠前 血糖測定 2回/週  
+朝食前 毎日 $\geq$ 21回/週  
(1日8検は、通常勤務日と休養日に各1日測定する)

表2 晩現象 dawn phenomenon と Somogyi 効果

晩現象: 基礎インスリン分泌は午前3~4時が最も低く、この時間帯から成長ホルモン、コルチゾールの分泌増加が起こる。これら拮抗ホルモンによるインスリン需要増加に対応できなければ朝食前血糖高値をきたす。基礎インスリン量の増加が必要。

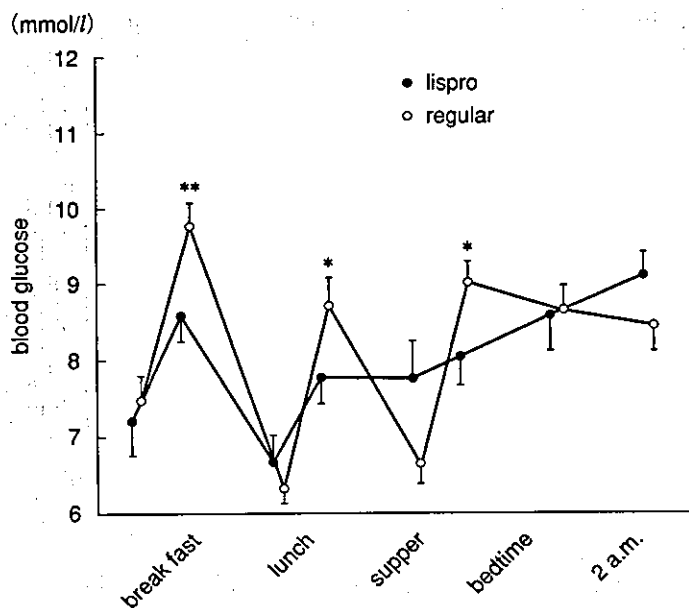
Somogyi 効果: 夜間の基礎インスリンが過剰であると深夜に低血糖を起こし、それに対し拮抗ホルモンが分泌され翌朝の血糖値を上昇させる。基礎インスリン量の減少が必要。

表3 インスリン必要量の変化要因

必要量の増加	必要量の増減	必要量の低下
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 成長期</li> <li>• 代謝失調時 (糖毒性時など)</li> <li>• 慢性・急性感染症</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 季節的変動</li> <li>• 糖尿病胃腸症 (腸管吸収の変動)</li> <li>• インスリン抗体の存在</li> <li>• 他の薬剤の影響</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 食欲低下時</li> <li>• 運動時</li> </ul>

図4 超速効型インスリンと速効型インスリンを用いたCSIIによる血糖日内変動

平均+SEMを示した。\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ . (Zinman, et al. Diabetes 1997; 46: 440-3.)



## 超速効型インスリン

速効型インスリンは、皮下に注射時バイアル中の存在形式の6量体から、2量体、単分子となり血中に出現する。このため、注射後、血漿インスリン濃度が最高になるのに45~60分を要し、食後血糖上昇を抑制するためには食前30分に注射する必要がある。したがって、食事が遅れたり食事量が少ないと低血糖になりやすい。この問題を解決するために開発されたのが皮下で速やかに単分子になる超速効型インスリンである。このインスリンは、食事直前に(ときには食直後)インスリン注射が可能となり、インスリン治療患者のQOLの改善にきわめて効果が大である。また、夜間の重症低血糖の発症率が有意に少ないことが報告されている。さらに、食後高血糖の是正に優れている<sup>3)</sup>(図4)。

## 文献

- 1) Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trial of intensive therapy. The diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications research group. N Engl J Med 2000; 342: 381-9.
- 2) Shichiri M, Kawamori R, Hakui N, et al. Closed-loop glycemetic control with a wearable artificial endocrine pancreas - Variations in daily insulin requirements to glycemetic response. Diabetes 1984; 33: 1200-2.
- 3) Zinman B, Tildesley H, Chiasson JL, et al. Insulin lispro in CSII: results of a double-blind crossover study. Diabetes 1997; 46: 440-3.
- 4) 日本糖尿病学会, 編. 糖尿病治療ガイド. 文光堂; 2000.



## 〈治療〉 膵移植の実施例

山崎 義光 松久 宗英  
黒田 暁生\*

### はじめに●

1型糖尿病の唯一の根治療法である膵移植により膵臓が生着し機能を果たすと、血糖値が正常化しインスリン注射が不要となり、さらに膵腎同時移植により透析治療も不要になり、著しい生活の質(QOL)の向上と生命予後の改善が見込まれる。膵移植の成績は他の臓器の移植から比べると遅れて向上してきたが、いまや他の臓器移植と肩を並べるレベルに達した。

本稿では、わが国における膵移植の現状と大阪大学で施行された3例について述べる。

### 世界の現況とわが国の状況●

2001年末のInternational Pancreas Transplant Registryの報告によると、膵移植は1966年の1例目以来、全世界で16,043例施行されており、米国を中心に年間約1,800例施行されており、1型糖尿病の治療法の一つとして定着している<sup>1)</sup>。膵移植は、①1型糖尿病患者に対して行われる膵単独移植、②腎不全を伴う1型糖尿病患者に膵、腎をともに移植する膵腎同時移植、③腎移植施行後に膵移植を行う腎移植後膵移植の3つのカテゴリーに分けられる。米国では膵腎同時移植が全体の約70%を占めている。移植手技、免疫抑制薬、臓器保存方法、拒絶診断の改善により、膵移植成績は良好となってきており、膵腎同時移植の1年生存率は94%、1年移植膵生着率が83%である。さらに糖尿病合併症の進展阻止のみならず腎症<sup>2)</sup>、神経障害<sup>3)</sup>が改善するという証拠も集まりつ

つある。

わが国では、1984年の1例目<sup>4)</sup>より、1994年までに主に心停止ドナーから11例の膵腎同時移植、および4例の腎移植後膵移植が行われた。腎移植ネットワークが1995年から稼働しはじめたため、心停止ドナーから膵と腎が摘出不可能となり、膵腎同時移植は中断された。1997年10月16日に脳死ドナーからの臓器移植法が制定されて、わが国でも脳死者からの移植が可能になった。そしてその2年後の1999年10月に移植関係学会合同委員会、膵臓移植中央調整委員会により「膵臓移植に関する実施要綱」が定められ、脳死ドナーからの膵移植のシステムが整った。腎移植希望レシピエントとの臓器配分に関しては、HLA抗原のうちDR座が1つでも合致すれば、1腎は膵腎同時移植希望レシピエントに優先的に移植されることが制定されたため、膵腎同時移植への道が再度開かれた。

実際に、2002年9月までに8例の膵腎同時移植と1例の腎移植後膵移植が施行された(Table 1)。これらの症例をまとめると、待機期間 $546 \pm 241$ 日で移植し、生存率は100%、インスリン離脱率は89%(8/9例)ときわめて良好な成績である。これらのうち、大阪大学で施行された3例について述べる。

#### 1. 1例目

症例は32歳男性。1981年(11歳時)に1型糖尿病を発症。インスリン療法を行うも、1996年、糖尿病腎症のため透析導入。1999年に膵腎同時移植適応評価を申請し、適応と判定された。2000年4月25日、くも膜下出血による脳死ドナー(50歳代

\* Y. Yamasaki(助教授), M. Matsuhisa, A. Kuroda: 大阪大学大学院医学系研究科病態情報内科学。

Table 1. 臓器移植法制定後の本邦における膵移植症例一覧

施設	施行日	待機期間(日)	ドナー	レシピエント	ドレナージ	インスリン離脱(日)	その他
1. 大阪大学	2000.4.25	200	50代女性	30代男性	膀胱	42	1年後に腸管ドレナージに変更
2. 大阪大学	2001.1.7	458	30代男性	30代男性	膀胱	依存	門脈血栓症から膵摘出, 心室頻拍
3. 東京女子医科大学	2001.1.20	389	50代女性	30代男性	膀胱	83	
4. 福島医科大学	2001.7.25	639	10代女性	40代男性	腸管	12	イレウス
5. 九州大学	2001.8.16	685	40代男性	30代女性	腸管	103	腎グラフト周囲血腫
6. 九州大学	2001.11.2	764	20代女性	20代女性	腸管	0	
7. 九州大学	2001.12.30	465	30代女性	30代女性	腸管	30	心停止ドナー
8. 大阪大学	2002.1.2	335	40代男性	30代女性	膀胱	225	腎移植後膵移植
9. 東京女子医科大学	2002.8.30	976	30代女性	30代男性	膀胱	0	

女性)が現れる。血液型一致, HLA-A, B, DR は 2 マッチであり第一候補となったため, 膵腎同時移植目的に同日入院。右腸骨窩に膵臓が, 左腸骨窩に腎臓が移植され, 膵液は膀胱にドレナージされた。免疫抑制薬は prednisolone, tacrolimus, mycophenolate mofetil の 3 剤を基本に導入した。術直後血糖値は 80 mg/dl であったが, ステロイドパルス療法により上昇したため, 膵グラフトを糖毒性から防ぐ目的でインスリンを投与した。免疫抑制薬減量とともにインスリン必要量は減少し, 術後 42 病日にインスリンを離脱した<sup>9)</sup>。グルカゴン負荷(1 mg)後 6 分間の血中 C ペプチドの上昇( $\Delta$ CPR)は, 術後 6 病日の 0.6 ng/ml から退院前の術後 84 病日には 2.4 ng/ml と改善し, 術後 6 ヶ月, 10 ヶ月後も同等の反応を呈していた。一方, 移植腎機能は, 術直後より自尿が出現し, 血清クレアチニン値が退院時には 1.4 mg/dl まで改善した。

Troppmann らは移植後インスリンの分泌が遅れて生じるものを“delayed endocrine pancreas graft function(DEGF)”と呼んでいる<sup>9)</sup>。その定義は, 1 日必要インスリン総量が移植術後 5~10 日のあいだに 30 単位以上である, あるいは 11~15 日のあいだに 15 単位以上であるものとしている。彼らの施行した膵腎同時移植症例のうちこのような症例は 69% に認められた。DEGF は,

① 80 kg 以上のレシピエント体重, ② 45 歳以上のドナー年齢, ③ 外傷以外によるドナー死因と有意な相関があり, 脳血管障害や心血管障害の死因と相関する傾向がある。今回の移植では, ① ドナーとレシピエントの体重格差, ② 50 歳代のドナー年齢, ③ 脳血管障害による脳死状態より, 膵グラフトは DEGF が起こりやすい状態であったと考えられる。

本症例, そして後に述べる当院の 3 例目もこの定義に適合する。DEGF がある場合の予後は, DEGF なしに比べ 1 年生着率は 76% vs 94%, 3 年生着率は 59% vs 82% と低いことが報告されている。本症例も術後 22 ヶ月の時点では経口糖負荷試験での耐糖能は正常であったが, グルカゴン負荷試験の  $\Delta$ CPR は 0.9 ng/ml と低下しており, 今後, 膵内分泌機能を注意深く観察していく必要がある。

移植後 22 ヶ月の時点で血尿および排尿困難症状が出現した。このような尿路系の症状は膵液を膀胱にドレナージした場合にはしばしば認められる。原因は, 膀胱に排泄された膵酵素が尿路感染などを契機として活性化して, 尿路系の障害をきたしたものと考えられている<sup>7)</sup>。通常は保存的に経過を観察するが, 改善がないため, 外分泌液を腸管へドレナージする手術を施行した。その後上記の症状は消失した。施設により差異はあるが,

約15~20%の症例で膀胱から腸管への外科的なドレナージの変更を要し、この手術によりほぼ全例で症状が改善する<sup>8)</sup>。

### 2. 2例目

1978年(14歳時)、1型糖尿病と診断され、インスリン療法を開始される。1987年、タンパク尿を指摘される。1995年、血液透析導入。1999年6月、膵腎同時移植適応評価を申請し、適応判定され、10月に日本臓器移植ネットワークに登録される。

2001年1月、くも膜下出血による脳死ドナー(30歳代男性)が現れる。血液型一致、HLA-A, B, DRは2マッチであり第一候補となったため、膵腎同時移植目的に当院入院。1例目同様の術式で移植が施行され、免疫抑制薬も1例目と同様の3剤を中心に導入された。通常、膵グラフトの外分泌液は十二指腸乳頭部より、膀胱あるいは小腸にドレナージされる。膀胱へのドレナージは非生理的であるが、尿中アミラーゼ排泄量の変動から拒絶反応が推測できる<sup>9)</sup>。術直後血糖値は100 mg/dlに低下した。

本症例は術直後のステロイドパルス療法は施行しなかったが、血糖値が徐々に上昇したため、外来性インスリン投与を必要とした。第5病日まで尿中アミラーゼは上昇してきたが、第6病日より逆に低下しており、何らかの膵グラフトの障害が疑われた。第7病日にドップラーエコーにて膵グラフト動脈の拡張期相での逆流が認められたこと、また血流シンチグラフィにても移植膵血流の消失を認めたため門脈血栓症を疑い、同日試験開腹に踏み切った。膵グラフトは壊死しており摘出を要した。また、第14病日には高濃度のtacrolimusの心毒性が原因と考えられる心室性頻拍のため、人工心肺による管理を要した。抗不整脈薬を投与すること、tacrolimusをcyclosporinに変更することにより不整脈は消失した。移植術後、自尿は速やかに流出し、血清クレアチニン値は低下し、1.2 mg/dl程度で経過した。強化インスリン療法を再開し、HbA<sub>1c</sub>値は5.8%で第143病日退院となる。

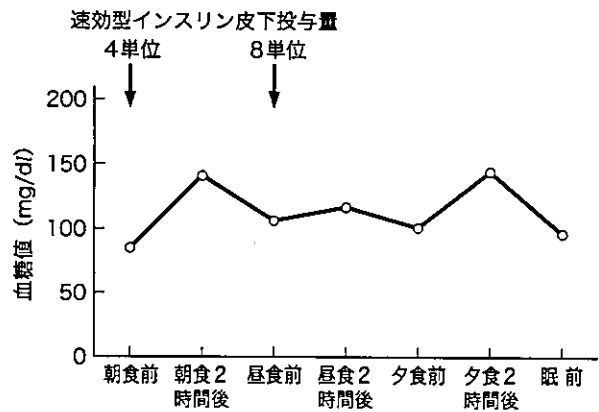


Fig. 1. 大阪大学膵移植3例目の血糖日内変動

本症例は現在も膵移植の希望をされており、腎移植後膵移植の登録を再度申請して適応判定され、現在も外来通院待機中である。

### 3. 3例目

1981年(12歳時)、1型糖尿病を発症しインスリン療法を開始した。1991年、タンパク尿を指摘され、1999年、血液透析導入される。2000年、膵腎同時移植適応評価を申請し適応判定され、2001年2月に日本臓器移植ネットワークへ登録。2001年5月、母親をドナーとして生体腎移植を施行される。膵腎同時移植から腎移植後膵移植に登録を変更した。退院時の血清クレアチニン値は1.6 mg/dl。2002年1月2日、くも膜下出血による脳死ドナー(40歳代男性)が現れる。血液型は適合で、HLA-A, B, DRは1マッチであった。腎移植後膵移植目的に同日入院。膵グラフトはfattyで小出血もあり、最良の状態ではなく、移植腎の生検から拒絶の評価が不可能であり、術後の移植膵機能をモニターすべく、外分泌を膀胱にドレナージする術式を選択した。尿中アミラーゼ値は徐々に上昇し、膵外分泌機能は良好であった。一方、膵内分泌機能は徐々に回復してきたが、大量の外来性インスリン投与を要した。さらに、第22病日に1日約30~35単位必要であった外来性インスリンが増加し、1日53単位必要となり、また尿中のアミラーゼ排泄量が低下してきていたため、移植膵グラフトに対する拒絶反応を疑い、ステロイド

パルス療法を施行した。直後よりインスリン必要量は1日約30単位まで低下した。以後免疫抑制薬の投与量の減量とともに、インスリン必要量は低下したが、退院前の第81病日でも血糖値をコントロールするためには朝4単位、昼8単位の速効型インスリンの投与を必要とした(Fig. 1)。長期間にわたる激しい血糖変動から少量のインスリンのみで血糖コントロールができるようになったレシピエントの満足度はきわめて高いものであり、この時点で膵移植の目的の大半は果たしているものとする。その後、移植から7ヵ月の時点でインスリンを離脱することができた。

本症例の移植はドナーがサイトメガロウイルス(CMV)抗体陽性、レシピエントが陰性といわれるCMVミスマッチの移植であった。CMVの移植臓器障害では吻合部潰瘍や出血が知られている。血尿の際にCMVによる吻合部の潰瘍や出血を推測することができることも、外分泌腺を膀胱にドレナージすることの利点である<sup>10)</sup>。定期的な血中のCMV抗原(HRP-C7陽性白血球)のモニターでは、移植当初、HRP-C7陽性白血球は検出されなかったが、術後1ヵ月の時点で血中にHRP-C7陽性白血球が検出されたため免疫グロブリン、抗ウイルス薬(ganciclovir)を投与した。移植から8ヵ月経た現在も、HRP-C7陽性白血球は少量存在し、また免疫抑制薬、ganciclovirによると考えられる骨髄抑制により治療困難となっている。

#### おわりに●

欧米において膵移植は一般的な治療として定着しているが、本邦はまだまだ後進国である。しか

し本邦の膵移植は術後の合併症もある程度生じてはいるものの、きわめて優れた成績であると考えられる。末期腎障害にいたった1型糖尿病患者に対する膵(腎同時)移植は大変すばらしい医療ではあるが、そのような治療へいたらないように1型糖尿病患者のコントロールを心掛けるべきである。

#### 文 献●

- 1) <<http://www.iptr.umn.edu/default.htm>> [Accessed 12 November 2002]
- 2) Fioretto P et al: Reversal of lesions of diabetic nephropathy after pancreas transplantation. *N Engl J Med* 339: 69, 1998
- 3) Nankivell BJ et al: Recovery of diabetic neuropathy after pancreas transplantation. *Transplant Proc* 29: 658, 1997
- 4) 深尾 立ほか: 同種膵腎同時移植の一例. *移植* 21: 331, 1986
- 5) 松久宗英ほか: 脳死ドナーからの膵腎同時移植症例の移植膵機能評価. *糖尿病* 44: 901, 2001
- 6) Troppmann C et al: Delayed endocrine pancreas graft function after simultaneous pancreas-kidney transplantation: incidence, risk factors, and impact on long-term outcome. *Transplantation* 61: 1323, 1996
- 7) Munda R et al: Pancreatic allograft exocrine urinary tract diversion: pathophysiology. *Transplantation* 43: 95, 1987
- 8) Connolly EM et al: Enteric conversion after bladder-drained pancreatic transplantation: a simple and safe salvage procedure. *Eur J Surg* 167: 371, 2001
- 9) Prieto M et al: Experimental and clinical experience with urine amylase monitoring for early diagnosis of rejection in pancreas transplantation. *Transplantation* 43: 73, 1987
- 10) Marsh CL, Forg P: The diagnosis and management of urologic complications in nonrenal transplant recipients. *Semin Urol* 12: 233, 1994

Ⅲ. 研究成果の刊行物・別刷

# 雑 誌 (Ⅱ)

(平成15年度)



CLINICAL AND EXPERIMENTAL HYPERTENSION  
Vol. 25, No. 2, pp. 73–84, 2003

## Hypertension Associated with Reduced Plasma Thrombomodulin Levels and a Hypercoagulable State in Rats

Kazuyoshi Sawada,<sup>1,2,\*</sup> Mitsuru Naiki,<sup>1</sup> Hisashi Yago,<sup>1</sup>  
Kohji Matsushita,<sup>2</sup> Toshiho Ohtsuki,<sup>2</sup> Kazuo Kitagawa,<sup>2</sup>  
Masayasu Matsumoto,<sup>2,\*</sup> and Masatsugu Hori<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Bio-Active Science, Nippon Zoki Pharmaceutical Co., LTD.,  
Kinashi, Yashiro-Cho, Kato-Gun, Hyogo, Japan

<sup>2</sup>Department of Internal Medicine and Therapeutics, Course of Medical  
Biosignaling, Osaka University Graduate School of Medicine,  
Yamadaoka, Suita, Osaka, Japan

### ABSTRACT

The plasma thrombomodulin (TM) level, an indicator of systemic endothelial cell damage, was measured in spontaneously hypertensive rats (SHR), deoxycorticosteron acetate (DOCA)-induced hypertensive rats and normotensive Wistar-Kyoto (WKY) rats to clarify its changes in hypertension. Plasma TM levels, measured by enzyme-linked immuno-sorbent assay, decreased with aging (5–20-weeks-old) in both SHR and WKY, and they were lower in SHR than age-matched WKY in all ages examined. Deoxycorticosteron acetate-induced hypertensive WKY also showed decreased TM levels compared with normotensive WKY. Accelerated coagulation and fibrinolysis shown by the increases in thrombin–antithrombin complex (TAT) and D-dimer levels were observed in both groups of hypertensive rats. These results suggest that hypertension may decrease plasma TM levels and induce a hypercoagulable state in rats.

\*Correspondence: K. Sawada, Institute of Bio-Active Science, Nippon Zoki Pharmaceutical Co., LTD., 442-1, Kinashi, Yashiro-Cho, Kato-Gun, Hyogo, 673-1461, Japan. Fax: +81-795-42-5332; E-mail: k-sawada@nippon-zoki.co.jp. M. Matsumoto, Department of Internal Medicine and Therapeutics, Course of Medical Biosignaling, Osaka University Graduate School of Medicine, 2-2, Yamadaoka, Suita, Osaka, 565-0871, Japan. Fax: +81-6-6879-3639; E-mail: him@medone.med.osaka-u.ac.jp.

73

DOI: 10.1081/CEH-120017928  
Copyright © 2003 by Marcel Dekker, Inc.

1064-1963 (Print); 1525-6006 (Online)  
www.dekker.com



**Key Words:** Thrombomodulin; Hypertension; Spontaneously hypertensive rat; Thrombin-antithrombin complex; D-dimer; Hypercoagulable state.

## INTRODUCTION

Thrombomodulin (TM) is a glycoprotein expressed mainly on the surface of the endothelial cells, which binds to thrombin and shows anticoagulant activity by activating protein C (1,2). Soluble TM has been found in blood and urine (3). Elevated levels of plasma TM are thought to reflect endothelial cell damage, because TM is released from the endothelial cells only when the cells are injured (4). Clinically, elevated plasma TM levels have been reported in patients with diabetes mellitus, disseminated intravascular coagulation (DIC) syndrome, or systemic lupus erythematosus (SLE), which were accompanied by systemic endothelial cell damage (5,6).

High blood pressure is known to be one of the most important factors promoting vascular dysfunctions such as vascular wall hyperplasia, decrease in sensitivity to vasodilative substances and increased expression of adhesion molecules and cytokines in animal models (7–10). Many investigators have studied plasma TM levels in hypertensive patients to examine damage of endothelial cells in hypertension. Elevated plasma TM levels were observed in sustained hypertensive patients with microalbuminuria and patients with postcapillary pulmonary hypertension (11,12). On the other hand, Cacoub et al. reported lowered plasma TM levels in patients with primary pulmonary hypertension, precapillary pulmonary hypertension, primary arterial hypertension, and systemic hypertension. (11,13–15). Furthermore, there was no significant difference in plasma TM levels between patients with essential hypertension without any complications and normal control subjects (16–18). Although there have been many reports about plasma TM levels in hypertensive patients, above-mentioned controversy still remains. It seems to be difficult to study changes in plasma TM levels induced solely by high blood pressure condition in human subject because of several variable factors such as hypertensive complications and their treatments.

We, therefore, examined the relationship between hypertension and circulating levels of TM using well-established rat models of hypertension. In the present study, plasma TM levels of spontaneously hypertensive rat (SHR), a model for genetically chronic hypertension and deoxycorticosteron acetate (DOCA)-induced hypertensive rats, a model of sub-acute hypertension caused by the retention of sodium, were studied in conjunction with the changes in the coagulation and fibrinolytic systems, which are related to vascular thromboresistance.

## MATERIALS AND METHODS

### Experimental Animals

Male SHR/Izm and normotensive control Wistar-Kyoto (WKY)/Izm were purchased from Funabashi Farm (Chiba, Japan) and acclimated for a week. All animals were allowed access to water and standard food *ad libitum*, and maintained on a 12-hr light-dark cycle.



### Lowered Plasma TM Level in Hypertension

75

The rats were anesthetized with diethyl ether and blood was withdrawn from the abdominal aorta. Deoxycorticosteron acetate was used to induce hypertension in WKY in the following manner: Five-week old animals were injected subcutaneously with DOCA suspension containing 50 mg DOCA, 10.5 mg methylcellulose, 1 mg polyoxyethylene-sorbitan monooleate, and 15 mg NaCl per milliliter of water (2 mL/kg) or vehicle suspension once a week. Blood samples were collected from the tail vein before and 1, 2, 3, and 4 weeks after the first DOCA treatment. After 5 weeks, the rats were sacrificed and citrated plasma was obtained for the measurement of TM and other factors. Urine was collected from rats fed with standard diet and water *ad libitum* in individual metabolic cages for 24 hr.

### Measurement of Thrombomodulin in Plasma and Urine

Thrombomodulin was isolated from rat lungs by diisopropylphosphofluoridate-thrombin Sepharose 4B affinity chromatography (2) and purified TM showed a single band with SDS-PAGE. Thrombomodulin was immunized into rabbits (Japanese White, Japan SLC, Shizuoka, Japan) with Freund's complete adjuvant (DIFCO Laboratories, Detroit, MI). Purified TM showed a single line with the antiserum by immuno electrophoresis. Antibody was prepared from the antiserum by ion exchange chromatography, and it was conjugated with horseradish peroxidase (Boehringer Mannheim GmbH, FRG). Antibody inhibited the activity of thrombin-TM complex to activate protein C. Thrombomodulin levels in plasma and urine were determined by ELISA from the standard curve obtained with purified soluble rat TM (19).

### Blood Pressure Measurement

Systolic blood pressure was measured by the standard tail cuff method.

### Coagulation and Fibrinolytic Factors

Thrombin-antithrombin complex (TAT) and D-dimer were measured with commercially available diagnostic kits (Teijin, Tokyo, Japan and Boehringer Mannheim Yamanouchi, Tokyo, Japan, respectively) according to the manufacturers' instructions. Concentrations of these factors in rats were expressed as equivalent to human corresponding factors.

### Statistical Analyses

Data are presented as means  $\pm$  SEM. Statistical significance was estimated using analysis of variance tests, followed by Dunnett's post hoc test for multiple comparisons. *P* value of less than 0.05 was considered to be statistically significant.





## RESULTS

### Thrombomodulin Level in Plasma

#### Spontaneously Hypertensive Rat

In the experiments with SHR, 5-, 10- and 20-week-old rats were compared with age-matched WKY. As shown in Table 1, systolic blood pressure rose significantly with age in SHR, concomitant with an increase in heart weight, whereas no significant alteration in systolic blood pressure was observed in WKY. Plasma TM levels decreased with age both in SHR and WKY, and were significantly lower in SHR than in WKY at all ages [Fig. 1(A)]. The amount of TM excreted into urine for 24 hr elevated with age, possibly due to the increase in body weight, and the amount of excreted TM in SHR was slightly lower than that in WKY without statistical significance [Fig. 1(B)].

#### Deoxycorticosteron Acetate-Induced Hypertensive Rat

Elevation of blood pressure started one week after the injection and reached  $201 \pm 4.5$  mmHg at the 5th week (Fig. 2). Although body weight of DOCA-treated rats did not differ from that of control rats (control;  $258.1 \pm 7.1$ , DOCA;  $245.5 \pm 6.2$  g), heart weight was significantly higher in the DOCA-treated rats than in the control (control;  $782.3 \pm 16.6$ , DOCA;  $1144.3 \pm 24.0$  mg). Plasma TM levels gradually decreased with age in the vehicle treated control. Although no significant difference in plasma TM levels was observed between DOCA-treated rats and the control group during the first 2 weeks, the TM levels became lower in DOCA-treated rats from the third week compared with the control groups [Fig. 3(A)]. There was no significant difference in the amount of TM into urine between the two groups [Fig. 3(B)].

### Coagulation and Fibrinolytic Systems

#### Spontaneously Hypertensive Rat

Thrombin-antithrombin complex and D-dimer, respective markers of intravascular coagulation and fibrinolysis, were measured to examine the thromboresistance of vessel walls. The mean TAT level in SHR was significantly higher than that in WKY at all ages [Fig. 4(A)] and its ratio to that in WKY rose concomitantly with age (4.2 at 5 w, 8.5 at 10 w and 7.1 at 20 w). The D-dimer level in SHR and its ratio to that in WKY rats (1.0 at 5 w, 1.3 at 10 w, 1.3 at 20 w) also increased with age [Fig. 4(B)].

#### Deoxycorticosteron Acetate-Induced Hypertensive Rats

Five weeks after the first DOCA-treatment, the TAT level was significantly higher in hypertensive rats than in normotensive controls [Fig. 5(A)], control;  $139 \pm 21$ , DOCA;



## Lowered Plasma TM Level in Hypertension

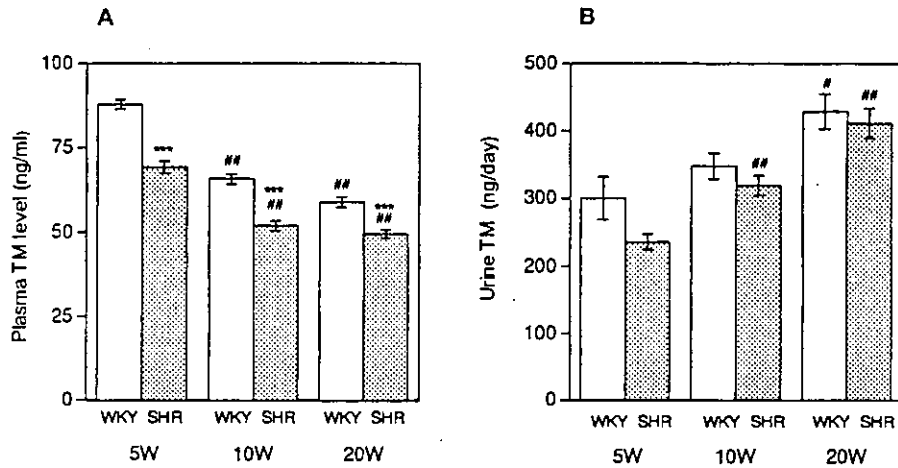
77

Table 1. Body weight, systolic blood pressure, and heart weight of WKY and SHR.

	Weight (g)		Blood pressure (mmHg)		Heart weight (mg)	
	WKY	SHR	WKY	SHR	WKY	SHR
5w	134.1 ± 2.3	131.3 ± 2.3	121.8 ± 4.4	158.3 ± 3.4 <sup>b</sup>	489.4 ± 5.2	531.7 ± 8.3 <sup>a</sup>
10w	283.3 ± 5.0 <sup>d</sup>	290.3 ± 4.3 <sup>d</sup>	112.9 ± 2.8	180.9 ± 5.8 <sup>b,c</sup>	808.0 ± 14.8 <sup>d</sup>	978.9 ± 14.8 <sup>b,d</sup>
20w	365.2 ± 7.9 <sup>d</sup>	349.5 ± 2.7 <sup>d</sup>	120.1 ± 4.0	220.2 ± 6.9 <sup>b,d</sup>	1069.7 ± 21.1 <sup>d</sup>	1240.1 ± 12.2 <sup>b,d</sup>

Note: n = 10.

<sup>a</sup>P < 0.05.<sup>b</sup>P < 0.001 vs. age-matched WKY.<sup>c</sup>P < 0.05.<sup>d</sup>P < 0.001 vs. 5-week-old rats.



**Figure 1.** Comparison of plasma TM levels (A) and TM excreted into urine (B) between SHR and WKY. Plasma was obtained from SHR and WKY at different ages, and urine was collected from rats kept in isolated metabolic cages for 24 hrs. Thrombomodulin levels in plasma and urine were measured by ELISA. Key: ( $n = 10$ ) \*\*\*,  $P < 0.001$  vs. age-matched WKY; #,  $P < 0.05$ ; ##,  $P < 0.01$  vs. 5-week-old rats.

$923 \pm 283$  pg/mL equivalent to human TAT]. In addition, the D-dimer level in DOCA-treated rats was slightly higher than that in controls [Fig. 5(B)].

## DISCUSSION

In this study, we demonstrated that plasma TM levels in SHR were lower than those in age-matched WKY. Since the TM level in SHR was already decreased at 5-weeks-old, this change may have been due to genetic difference. We therefore, examined plasma TM levels in another hypertensive model induced by DOCA. The plasma TM level was also decreased in this model, suggesting that hypertension is one of reasons for decreased plasma TM levels.

Thrombomodulin is expressed in endothelial cells, platelets, megakaryocytes, and mesangial cells (20–23). Plasma TM seems to be derived mainly from damaged endothelial cells, and plasma level of TM is known as a good marker of systemic endothelial cell damage (4–6). Oxidants, proteolytic enzyme, endotoxin (24–26) and, violent physical vibration (27) all can induce endothelial cell injury. Since physical stress such as high blood pressure, and chemical stress such as oxidation, are greater in hypertension than in normotension (28–30), less damage to endothelial cells in hypertension would not explain the lowered plasma TM levels. The amounts of TM excreted into urine were also compared in both groups, since the plasma TM is thought to be excreted into urine and the plasma level of TM is influenced by renal function (5,6). However, there was no abnormal increase in the amount of TM excreted into urine in hypertensive rats.



Lowered Plasma TM Level in Hypertension

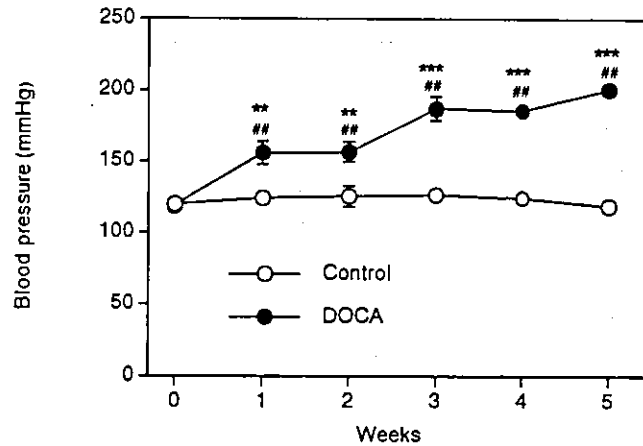


Figure 2. Elevation of blood pressure in DOCA-treated WKY. Deoxycorticosteron acetate was administered once a week, and systolic blood pressure was measured every week. Key: (n = 7) \*\*, P < 0.01; \*\*\*, P < 0.001 vs. each control; ##, P < 0.01 vs. blood pressure before treatment (week 0).

On the other hand, plasma TM level may be affected by the amount of TM expressed on the endothelial cells. We have examined the relationship between endothelial cell damage and the amount of released TM from the cell (25). Our in vitro experiments, in which less TM was released from endothelial cells expressing less TM by treatment of a cytotoxic substance, such as hydrogen peroxide (unpublished observations), also support this observation. The inflammatory cytokines such as IL-1 or TNF, are known to decrease TM expression on endothelial cells (31-33). Humbert et al. reported increased levels of plasma inflammatory cytokine in hypertension (34-36). Furthermore, hypertension causes

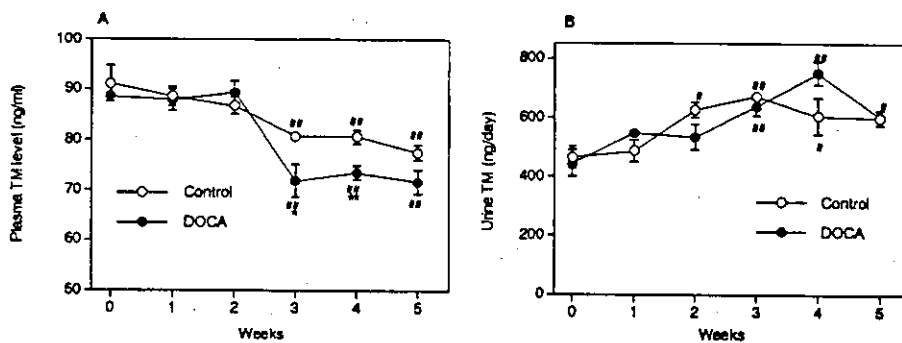


Figure 3. Changes in plasma TM level (A) and excretion of TM into urine (B) in DOCA-treated hypertensive rats and normotensive rats. Plasma was collected from the tail vein every week and urine was collected from rats kept in isolated metabolic cages for 24 hrs. Thrombomodulin levels in plasma and urine were measured by ELISA. Key: (n = 7) \* P < 0.05; \*\*, P < 0.01 vs. each control; #, P < 0.05; ##, P < 0.01 vs. TM level before treatment (week 0).