

るとしている¹³⁾。

5. 治療と予後

耐糖能異常の人々に治療介入を行うことによって、動脈硬化性疾患の予防ならびに進展阻止を実現できるのであろうか？ まだ数は少ないが、その有用性を示す研究成績も現れ始めている。132人のIGT者に対し、我が国でも2型糖尿病の治療薬として用いられている α グルコシダーゼ阻害薬アカルボースまたはプラセボを投与し、平均3.9年の観察期間の前後でIMT値その他のパラメータを比較検討した研究がある¹³⁾。その結果によると、アカルボース投与群ではプラセボ群に比べIMTの肥厚進展が約50%抑制された。本研究は比較的短期間の試験であり、イベントの発生をその評価の目的としてはいないが、一般にIMTの肥厚がCHDや脳血管障害の発症と相関することを考えると、IGTへの治

療介入は心血管イベントの予防に有効となる可能性が示唆される。

また、IGTをメタボリック症候群の一分症としてとらえた場合、動脈硬化のハイリスク患者を対象とした各種大規模臨床試験の成績から類推すると、高コレステロール血症や高血圧など^{14,15)}他のリスクを厳格に管理することによっても、動脈硬化の進展やイベントの発生を抑制できるかもしれない。この点については今後の更なる研究が期待される。

最後に、生活習慣への介入などを通じてIGTから2型糖尿病への移行を防ぎ得ることが近年報告されている。心血管イベントのリスクは糖尿病の発症により更に増加するわけであるから、‘耐糖能異常’の段階で生活習慣を見直し、これを改善させることは動脈硬化予防の観点からも極めて重要であることを改めて強調しておきたい。

■文 献

- 1) Kannel WB, McGee DL: Diabetes and cardiovascular diseases. The Framingham Study. *JAMA* 241: 2035-2038, 1979.
- 2) Coutinho M, et al: The relationship between glucose and incident cardiovascular events. *Diabetes Care* 22: 233-240, 1999.
- 3) Fujishima M, et al: Diabetes and cardiovascular disease in a prospective population survey in Japan. The Hisayama Study. *Diabetes* 45(Suppl 3): S14-16, 1996.
- 4) Barret-Connor E, Ferrera A: Isolated postchallenge hyperglycemia and the risk of fatal cardiovascular disease in older women and men. The Rancho Bernardo Study. *Diabetes Care* 21: 1236-1239, 1998.
- 5) Tominaga M, et al: Impaired glucose tolerance is a risk factor for cardiovascular disease, but not impaired fasting glucose. The Funagata Diabetes Study. *Diabetes Care* 22: 920-924, 1999.
- 6) The DECODE study group: Glucose tolerance and mortality: Comparison of WHO and American Diabetic Association diagnostic criteria. *Lancet* 354: 617-621, 1999.
- 7) Yamasaki Y, et al: Asymptomatic hyperglycemia is associated with increased intimal plus medial thickness of the carotid artery. *Diabetologia* 38: 585-591, 1995.
- 8) Bonora E, et al: Impaired glucose tolerance, type II diabetes mellitus and carotid atherosclerosis: prospective results from the Bruneck Study. *Diabetologia* 43: 154-164, 2000.
- 9) Ceriello A: The post-prandial state and cardiovascular disease: relevance to diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev* 16: 125-132, 2000.
- 10) Reaven GM: Role of insulin resistance in human disease(syndrome X): an expanded definition. *Annu Rev Med* 44: 121-131, 1993.
- 11) Alberti KG, Zimmet PZ: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 15: 539-553, 1998.
- 12) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment

- Panel III). *J Am Med Assoc* 285: 2486-2497, 2001.
- 13) Hanefeld M, et al: Acarbose slows progression of intima-media thickness of the carotid arteries in subjects with impaired glucose tolerance. *Stroke* 35: 1073-1078, 2004.
 - 14) Heart Protection Study Collaborative Group: MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 360: 7-22, 2002.
 - 15) Vedel P, et al: Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 348: 383-393, 2003.

糖尿病・高血圧と動脈硬化

小林 一 貴, 横 手 幸太郎
千葉大学大学院医学研究院 細胞治療学

はじめに

動脈硬化症の背景には血管壁構成細胞の機能障害があると考えられている。とくに血管内皮細胞が障害されると細胞遊走因子, 接着因子, 増殖因子などを発現し, 流血中から血管壁への炎症系細胞動員や中膜から内膜への平滑筋細胞の遊走・増殖を引き起こすなど, 動脈硬化発症・促進の端緒となる。また平滑筋細胞の機能障害/形質転換を直接促す要因も病変促進因子となる。

糖尿病や高血圧症は, 動脈硬化を来す代表的な疾患である。疫学的事実として, 糖尿病で3~4倍, 高血圧症で2~3倍, 動脈硬化性疾患が発症しやすく, それぞれが独立した危険因子であることが知られている^{1,2)}。ここでは高血糖, 高血圧が動脈硬化を発症・進展させていく機序について, それぞれ最近の知見を交えながら概説する。

糖尿病

糖尿病は細小血管や大血管の合併症を生じることが知られているが, その要因としては, 高血糖に由来する種々の生化学的異常がよく研究

されている。代表的なものとしては, 生体蛋白の糖化(グリケーション), protein kinase C (PKC)の活性化, ポリオール経路の亢進および酸化ストレスが挙げられる。これらの病態は, 互いに密接に関連しながら糖尿病の各種合併症進展に関与すると考えられる³⁾(図1)。本項では, とくに大血管合併症, すなわち糖尿病に合併する動脈硬化の原因について重要と考えられている知見について述べる。

1. グリケーション

これは蛋白質の非酵素的糖負荷反応である。種々の蛋白質がグルコースなどの還元糖と生化学的に反応することにより, advanced glycation endproducts (AGE)などの糖修飾蛋白質が生成される。

近年の研究により, AGEと大血管合併症の関連が注目されている。まずAGEに対する特異抗体を用いた免疫学的解析から, ヒトの動脈硬化巣⁴⁾や実験糖尿病動物の冠動脈病変部⁵⁾に著明なAGE蓄積を認めるなど, AGEと病態の関連が示唆されている。また, 現在までに6種類のAGE受容体の存在が明らかになり, それぞれの機能解析が進められている。とくに血管内皮細胞に発現するreceptor for advanced

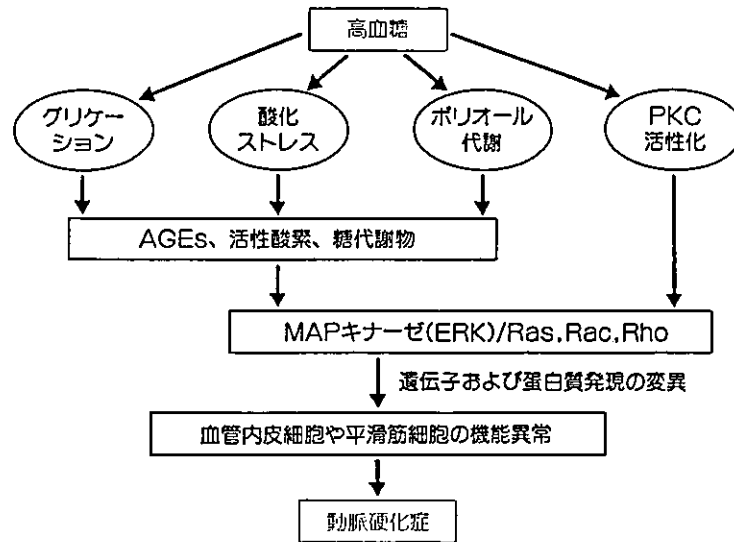


図 1. 高血糖状態における代謝異常と動脈硬化発症の関係

(文献 3 より改変引用)

glycation endproducts(RAGE)は、AGEとの結合により vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)の発現や血管透過性を亢進させるなど、動脈硬化形成につながる内皮機能障害を起こすことが報告されている⁹⁾。また、アポE欠損マウスの動脈硬化病変はストレプトゾトシンで糖尿病を誘導するとさらに促進するが、可溶性 RAGE の腹腔内注射によりその病変促進がほぼ完全に抑制されることも明らかになった⁶⁾。ほかの受容体についても、それぞれに動脈硬化形成にかかわることを示唆する報告が出てきており、AGEとAGE受容体の相互作用は動脈硬化形成に重要な役割を担うと考えられている。

2. PKCの活性化

高血糖状態では、グルコースが細胞内へ過剰に流入する結果、*de novo*のジアシルグリセロール(diacylglycerol: DAG)合成が亢進し、DAGによりPKCが活性化される。

動脈硬化とPKCの関連については、血管の内皮機能障害や平滑筋細胞の増殖などをもたらすことが示されており、また大血管における発現パターンや特異的阻害薬を用いた検討などからとくに β アイソフォームが注目されている^{3,7)}。内皮機能障害に関する検討例としては、内皮依存性の一酸化窒素(NO)合成や血管拡張反応の高血糖による減弱を、PKC β 阻害薬が抑制する^{3,8)}という報告がある。また平滑筋細胞については、高グルコース条件下にPKC活性化を介して、MAPキナーゼや核内転写因子などが活性化される、あるいはvascular endothelial growth factor(VEGF)やplatelet-derived growth factor(PDGF)などの増殖因子やその受容体の発現が変化する、などの検討がある^{3,7)}。我々の検討でも、PKCは平滑筋細胞の増殖・遊走や血管壁石灰化にかかわるオステオポンチン(osteopontin: OPN)の発現亢進をもたらし^{9,10)}、糖尿病における動脈硬化促進に寄与

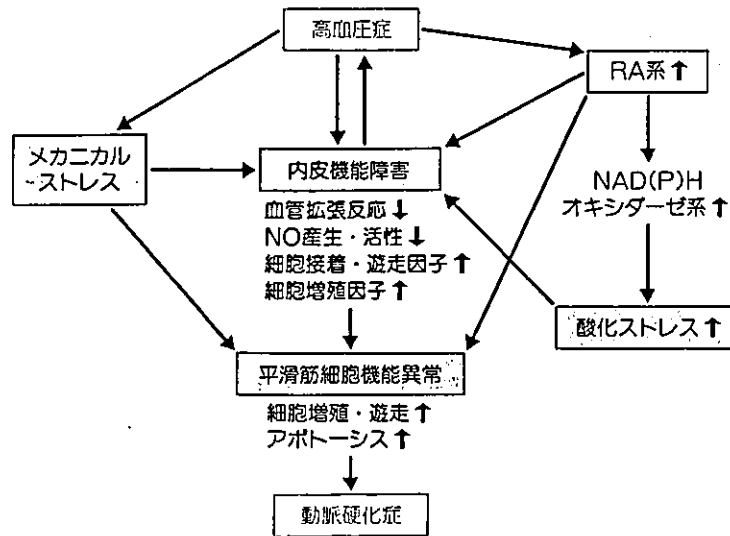


図 2. 高血圧状態における動脈硬化発症機序

(文献 16 より改変引用)

することが明らかとなっている。このように動脈硬化形成に寄与し得る因子で PKC の関与が報告されているものとしては、ほかにも transforming growth factor- β (TGF- β), matrix metalloproteinase (MMP) など多数認められ、PKC 活性化が糖尿病における動脈硬化形成に重要な役割を果たしていることが強く示唆される。

3. ポリオール経路の亢進

高血糖状態においては、アルドース還元酵素を介したポリオール(ソルビトールなどの糖アルコール類)代謝が亢進し、細胞内ソルビトール蓄積からの浸透圧変化などを介して、おもに細小血管合併症に関与すると考えられている。さらに近年、アルドース還元酵素阻害薬による動脈硬化抑制効果が報告されるなど^{11,12)}、大血管合併症への関与も示唆され、今後の研究進展が待たれる。

4. 酸化ストレス

酸化ストレスとは、活性酸素などにより生体

の蛋白、脂質、糖質および DNA などが酸化変性を受けることを指す。これにより血管壁構成細胞の機能障害が起こると、動脈硬化が促進されると考えられている。

近年、酸化による DNA 障害の指標である尿中 8-hydroxydeoxyguanosine は糖尿病患者で増加し、大血管合併症の進展した患者ではさらに増加していることが報告されている¹³⁾。すなわち糖尿病においては酸化ストレスが亢進し、動脈硬化の進展に深く関与することが示唆される。

高血糖状態における酸化ストレスは、AGE 産生、PKC 活性化、ポリオール経路の亢進といった種々の異常代謝過程で生じることが報告されている。また一方で、ミトコンドリア電子伝達系で生じる酸化ストレス(活性酸素の過剰産生)をマンガン依存性スーパーオキシドジスムターゼなどで抑制すると、AGE 産生、PKC 活性化、ポリオール経路亢進のいずれもが抑制できるという報告もあり¹⁴⁾、酸化ストレスはほかの代謝異常の原因とも結果とも考えられる。

酸化ストレスが動脈硬化を促進する機序としては、内皮細胞由来の重要な血管拡張因子である NO を不活化させるなど内皮機能障害を引き起こしたり、内皮下の LDL の酸化やマクロファージの泡沫化を促進させる、などが想定されているが、まだ十分には解明されていない。近年、内皮細胞などにおいて高グルコース刺激により核内転写因子である nuclear factor-kappa B (NF- κ B) や activation protein-1 (AP-1) が活性化されること、NF- κ B の活性化が酸化ストレス阻害薬などで抑制されることが報告され¹⁴⁾、酸化ストレスを介する機序として注目される。

高血圧症

図 2¹⁶⁾ に示すように、高血圧による動脈硬化の進展機序としては、血管壁に対するメカニカルストレスやレニン-アンジオテンシン系 (RA 系) の作用などが知られている。

1. メカニカルストレス

血管壁細胞、とくに内皮細胞と平滑筋細胞が血流により受ける機械的刺激、すなわちメカニカルストレスには大きく分けて二つある。一つは血流方向に血管内腔表面が受ける力、すなわち壁ずり応力であるが、その詳細は別稿に譲る。もう一つは血管内圧により壁内腔面が垂直に受ける力、すなわち壁張力である。壁ずり応力が内皮細胞に直接作用するのに対し、壁張力はおもに中膜の平滑筋細胞に影響を及ぼすと考えられている。急激な昇圧はラットの動脈壁において MAP キナーゼやその下流の転写因子を誘導する。培養平滑筋細胞を用いた検討でも、PDGF 受容体や MAP キナーゼの活性化が認められることから、壁張力は平滑筋細胞に増殖因子シグナルを誘導し増殖、遊走などを起こす可能性がある。これら平滑筋細胞機能変化が、動脈硬化形成に寄与するものと考えられている¹⁷⁾。

2. RA 系

RA 系は、大別して循環血中 RA 系と組織 RA 系からなり、血管壁細胞 (内皮細胞、平滑筋細胞) から独自に産生されるアンジオテンシノーゲン、レニン、アンジオテンシン変換酵素 (angiotensin-converting enzyme: ACE) そしてアンジオテンシン II (AII) などは後者に属する。高血圧や炎症などさまざまなストレス刺激が加わると血管壁細胞における RA 系が亢進し、産生された AII が AT1 (angiotensin II type 1) 受容体の過剰な活性化を介して、以下に述べるような機序で動脈硬化を促進すると考えられている。

AII は血管内皮細胞で plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)、E-セレクトリン、MCP-1 などの血栓形成や細胞接着・遊走にかかわる因子の発現を促進する。また平滑筋細胞においては TGF- β 、PDGF などの増殖因子やフィブロネクチン、コラーゲンなどの細胞外マトリクスの発現亢進を介して細胞の遊走、増殖を促進する作用を持つ¹⁸⁾。さらに NAD(P)H オキシダーゼ系の活性化を通じて活性酸素産生を亢進させ、血管拡張反応の低下をもたらすなど、酸化ストレスを介した機序も示唆されている¹⁸⁾。ACE 阻害薬とほかの降圧薬を比較した臨床研究において、同等の降圧効果にもかかわらず ACE 阻害薬の方が動脈の中膜/内腔比増大を有意に抑制する¹⁹⁾ という報告がある。すなわち高血圧状態において、圧負荷だけではなく AII にも直接的に血管リモデリングを促進する作用があることは臨床的にも実証されている¹⁸⁾。

おわりに

これまで述べてきたように、糖尿病や高血圧症はさまざまな機序によって血管壁の恒常性を破たんさせ、動脈硬化を進展させる。その病変形成機序の解明は、ACE 阻害薬のように直接的に血管壁に働き動脈硬化を抑制する薬剤の開発

につながるものであり、今後の研究進展によってさらなる新しい治療法の開発が期待される。

また近年、糖尿病あるいは耐糖能障害と高血圧はインスリン抵抗性/内臓脂肪蓄積を基盤としてしばしば併存することが知られ、メタボリック症候群として認識されるようになった。誌面の都合上今回は割愛したが、糖尿病・高血圧と動脈硬化の関係を考える上で本症候群を避けて通れないことはいうまでもない。

文 献

- 1) Abbott RD *et al* : The impact of diabetes on survival following myocardial infarction in men *vs* women. The Framingham Study. *JAMA* 260 : 3456, 1988.
- 2) Kannel WB *et al* : Hypertension, antihypertensive treatment, and sudden coronary death. The Framingham Study. *Hypertension* 11 : 1145, 1988.
- 3) Sheets MJ, King GL : Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. *JAMA* 288 : 2579, 2002.
- 4) Kume S *et al* : Immunohistochemical and ultrastructural detection of advanced glycation endproducts in atherosclerotic lesions of human aorta with a novel specific monoclonal antibody. *Am J Pathol* 147 : 654, 1995.
- 5) Nakamura Y *et al* : Immunohistochemical localization of advanced glycation endproducts in coronary atheroma and cardiac tissue in diabetes mellitus. *Am J Pathol* 143 : 1649, 1993.
- 6) Schmidt AM *et al* : The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses. *J Clin Invest* 108 : 949, 2001.
- 7) Aronson D, Rayfield EJ : How hyperglycemia promotes atherosclerosis : molecular mechanisms. *Cardiovasc Diabetol* 1 : 1, 2002.
- 8) Cotter MA *et al* : Effects of the protein kinase C beta inhibitor LY333531 on neural and vascular function in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci (Lond)* 103 : 311, 2002.
- 9) Takemoto M *et al* : Enhanced expression of osteopontin by high glucose in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 258 : 722, 1999.
- 10) Kawamura H *et al* : High glucose-induced upregulation of osteopontin is mediated *via* Rho/Rho kinase pathway in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24 : 276, 2004.
- 11) Kasuya Y *et al* : An aldose reductase inhibitor prevents the intimal thickening in coronary arteries of galactose-fed beagle dogs. *Diabetologia* 42 : 1404, 1999.
- 12) Kasuya Y *et al* : An aldose reductase inhibitor prevents the glucose-induced increase in PDGF-beta receptor in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 261 : 853, 1999.
- 13) Nishikawa T *et al* : Evaluation of urinary 8-hydroxydeoxy-guanosine as a novel biomarker of macrovascular complications in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 26 : 1507, 2003.
- 14) Nishikawa T *et al* : Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 404 : 787, 2000.
- 15) 西川武志ほか : 酸化ストレスと糖尿病合併症. *現代医療* 35 : 2133, 2003.
- 16) 川田啓之 : 血管系障害の発症機序 ; 血管内皮細胞障害. *日本臨牀* : 62 (増3) : 38, 2004.
- 17) 吉田俊彦, 小室一成 : 血管系障害の発症機序 ; メカニカルストレスと血管. *日本臨牀* 62 (増3) 29, 2004.
- 18) Kim S, Iwao H : Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol Rev* 52 : 11, 2000.
- 19) Thybo NK *et al* : Effect of antihypertensive treatment on small arteries of patients with previously untreated essential hypertension. *Hypertension* 25 : 474, 1995.

Diabetes Frontier

別刷

メディカルレビュー社

〒541-0046 大阪市中央区平野町1-7-3 吉田ビル 4 F ☎06-6223-1468 / ☎03-3639-1741

(SREBP) 1-c も bHLH 蛋白質であることから、これらの因子が互いに連携して、糖質・脂質代謝系酵素遺伝子群の転写調節に寄与すると考えられる²⁴⁾。いずれにせよ、今後の研究の進展が注目される。

●文 献

1. Noguchi T, Tanaka T : Dietary and hormonal regulation of L-type pyruvate kinase gene expression. In Nutrition and Gene Expression, ed by Berdanier CD, Hargrove JL. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1993
2. Doiron B, Cuif MH, Chen R, et al : Transcriptional glucose signaling through the glucose response element is mediated by the pentose phosphate pathway. *J Biol Chem* **271** : 5321-5324, 1996
3. Girard J, Ferre P, Foufelle F : Mechanisms by which carbohydrates regulate expression of genes for glycolytic and lipogenic enzymes. *Annu Rev Nutr* **17** : 325-352, 1997
4. Hardie DG : The AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status. *Endocrinology* **144** : 5179-5183, 2003
5. Leclerc I, Kahn A, Doiron B : The 5'-AMP-activated protein kinase inhibits the transcriptional stimulation by glucose in liver cells, acting through the glucose response complex. *FEBS Lett* **431** : 180-184, 1998
6. Yamada K, Noguchi T : Nutrient and hormonal regulation of pyruvate kinase gene expression. *Biochem J* **337** : 1-11, 1999
7. Bergot MO, Diaz-Guerra MJ, Puzenat N, et al : Cis-regulation of the L-type pyruvate kinase gene promoter by glucose, insulin and cyclic AMP. *Nucleic Acids Res* **20** : 1871-1877, 1992
8. Shih HM, Liu Z, Towle HC : Two CACGTG motifs with proper spacing dictate the carbohydrate regulation of hepatic gene transcription. *J Biol Chem* **270** : 21991-21997, 1995
9. Rufo C, Teran-Garcia M, Nakamura MT, et al : Involvement of a unique carbohydrate-responsive factor in the glucose regulation of rat liver fatty-acid synthase gene transcription. *J Biol Chem* **276** : 21969-21975, 2001
10. Vaulont S, Puzenat N, Kahn A, et al : Analysis by cell-free transcription of the liver-specific pyruvate kinase gene promoter. *Mol Cell Biol* **9** : 4409-4415, 1989
11. Lou DQ, Tannour M, Selig L, et al : Chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor II, a new partner of the glucose response element of the L-type pyruvate kinase gene, act as an inhibitor of the glucose response. *J Biol Chem* **274** : 28385-28394, 1999
12. Kronen A, Jungermann K, Kietzmann T : Cross-talk between the signals hypoxia and glucose at the glucose response element of the L-type pyruvate kinase gene. *Endocrinology* **142** : 2707-2718, 2001
13. Hasegawa J, Osatomi K, Wu RF, et al : A novel factor binding to the glucose response elements of liver pyruvate kinase and fatty acid synthase genes. *J Biol Chem* **274** : 1100-1107, 1999
14. Yamada K, Tanaka T, Noguchi T : Characterization and purification of carbohydrate response element-binding protein of the rat L-type pyruvate kinase gene promoter. *Biochem Biophys Res Commun* **257** : 44-49, 1999
15. Yamada K, Kawata H, Shou Z, et al : Insulin induces the expression of the SHARP-2/Stra13/DEC1 gene via a phosphoinositide 3-kinase pathway. *J Biol Chem* **278** : 30719-30724, 2003
16. Yamashita H, Takenoshita M, Sakurai M, et al : A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98** : 9116-9121, 2001
17. Uyeda K, Yamashita H, Kawaguchi T : Carbohydrate responsive element-binding protein (ChREBP): a key regulator of glucose metabolism and fat storage. *Biochem Pharmacol* **63** : 2075-2080, 2002
18. Kawaguchi T, Takenoshita M, Kabashima T, et al : Glucose and cAMP regulate the L-type pyruvate kinase gene by phosphorylation/dephosphorylation of the carbohydrate response element binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98** : 13710-13715, 2001
19. Kawaguchi T, Osatomi K, Yamashita H, et al : Mechanism for fatty acids "sparing effect" on glucose-induced transcription: Regulation of carbohydrate-response element-binding protein by AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* **277** : 3829-3835, 2002
20. Nishimura M, Uyeda K : Purification and characterization of a novel xylulose 5-phosphate-activated protein phosphatase catalyzing dephosphorylation of fructose 6-phosphate, 2-kinase:fructose-2, 6-bisphosphatase. *J Biol Chem* **270** : 26341-26346, 1995
21. Kabashima T, Kawaguchi T, Wadzinski BE, et al : Xylulose 5-phosphate mediates glucose-induced lipogenesis by xylulose 5-phosphate-activated protein phosphatase in rat liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100** : 5107-5112, 2003
22. Shen M, Kawamoto T, Yan W, et al : Molecular characterization of the novel basic helix-loop-helix protein DEC1 expressed in differentiated human embryo chondrocytes. *Biochem Biophys Res Commun* **236** : 294-298, 1997
23. Boudjelal M, Taneja R, Matsubara S, et al : Overexpression of Stra13, a novel retinoic acid-inducible gene of the basic helix-loop-helix family, inhibits mesodermal and promotes neuronal differentiation of P19 cells. *Genes Dev* **11** : 2052-2065, 1997
24. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS : SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* **109** : 1125-1131, 2002

特集 糖毒性の分子機構

Ⅲ 糖代謝物による遺伝子発現調節機構

オステオポンチン遺伝子発現に関する糖反応性エレメントの同定

河村 治清 Harukiyo Kawamura (千葉大学大学院医学研究院細胞治療学)

浅海 直 Sunao Asami (千葉大学大学院医学研究院細胞治療学)

横手幸太郎 Koutarou Yokote (千葉大学大学院医学研究院細胞治療学)

○ key words オステオポンチン/グルコース/血管平滑筋細胞/Rho/E-Box

はじめに

糖尿病では動脈硬化が著しく進行しやすいが、その機構の1つとして、われわれは高血糖状態で発現が亢進するオステオポンチン(OPN)という蛋白に着目して研究をしてきた。

OPNは骨基質から同定されたリン酸化糖蛋白であるが、骨のみならず、消化管、腎泌尿器、大血管、リンパ球などさまざまな臓器での発現が確認されている。構造上はインテグリンなどに結合すると思われるRGD配列やCa結合部位、トロンピンによる切断部位をもつことが特徴である。リン酸化部位も有しているが、その機能はまだ明らかではない¹⁾²⁾。また、その生物学的活性も骨のリモデリング³⁾、悪性腫瘍の発症⁴⁾や転移⁵⁾、結石の形成⁶⁾、自己免疫疾患⁷⁾、創傷治癒⁸⁾など多岐にわたっている。

本稿では糖尿病動脈硬化形成におけるOPNの関与、特に高血糖状態における血管平滑筋細胞でのOPN発現亢進の分子機構に

ついて、われわれの研究結果を中心に概説する。

I. OPNと動脈硬化

OPNの動脈硬化への関与を表に示した。OPNは血管壁内膜肥厚部(図1)や石灰化した動脈硬化巣においてmRNA、蛋白レベルで発現が亢進していること⁹⁾、ラット頸動脈において内膜擦過後に生じる内膜肥厚が抗OPN抗体によって抑制されること¹⁰⁾が報告されている。また、動脈硬化モデルマウスであるアポE欠損マウスにおいてOPNをノックアウトすると内膜肥厚が減少することが確認されている¹¹⁾。これらのことから、OPNは動脈硬化に対して促進的に作用するものと考えられる。

われわれは糖尿病大血管障害とOPNの関連を検討してきた。ヒト、ラットにおいて糖尿病動脈壁中膜で蛋白レベルで発現が亢進していること¹²⁾、培養ラット血管平滑筋細胞(SMC)において高濃度グルコースにより蛋白、mRNAレベルで発現が亢進す

表. オステオポンチンと動脈硬化

- 肥厚内膜、石灰化動脈硬化巣における高発現
- 抗オステオポンチン抗体による内膜肥厚の抑制
- オステオポンチンノックアウトマウスにおける内膜肥厚の抑制
- 血管平滑筋細胞に対する遊走能促進、PDGFによる増殖作用の増強

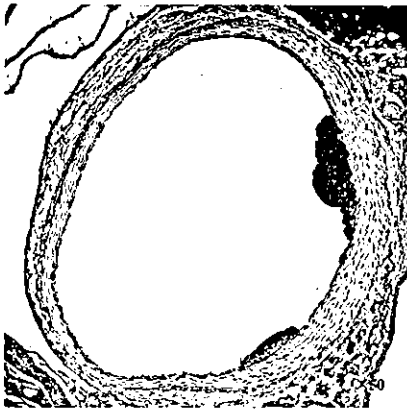


図1. 高コレステロール食で飼育したアポEノックアウトマウス(10週齢オス)における弓部大動脈の抗オステオポンチン抗体による免疫染色

ること¹³⁾, SMCの遊走促進ならびにPlatelet Derived Growth Factor (PDGF)存在下で増殖促進作用を有すること¹²⁾を認めている。つまり, SMCにおいて動脈硬化促進性蛋白であるOPNが高濃度グルコース刺激により亢進することが明らかとなっている。

II. OPN 過剰発現とグルコース代謝経路

このSMCでの高濃度グルコースによるOPN過剰発現の分子機構を明らかにするため検討を加えた。

まず, グルコースの細胞内代謝経路の一つであるプロテインキナーゼC(PKC)経路, ヘキソサミン経路の関与につき検討を行った。PKCの抑制剤であるGF109203Xを添加することにより高濃度グルコースによるOPNの発現亢進効果が蛋白, mRNA, 転写レベルで濃度依存性に抑制された。

さらに, グルコサミンの添加によりヘキソサミン経路を活性化すると, OPNの発現が増加し, また, ヘキソサミン経路の阻害薬であるアザセリンにより高濃度グルコースの効果が抑制された。

以上のことから, 高濃度グルコースに伴うOPN発現上昇にはPKC経路ならびにヘキソサミン経路が関与していることが示唆された¹⁴⁾。

III. OPN 過剰発現と Rho 経路

また, われわれはストレプトゾトシン惹起糖尿病ラットの大動脈でみられるOPN mRNAの過剰発現が, HMG-CoA還元酵素阻害薬の一つであるピタバスタチンを経口投与することにより抑制されることを明らかにしている¹⁴⁾。このスタチンによるOPN発現抑制効果をもとに, SMCでの高濃度グルコースによるOPN発現亢進の分子機構に関し, さらに詳細な検討を加えた。

まず糖尿病ラットにおいてみられたスタチンのOPN抑制効果が, 高濃度グルコースによりOPNの発現が亢進した状態のSMCにおいてもみられるかどうかを検討したところ, ラットに経口投与した場合と同様にピタバスタチンの添加により高濃度グルコースのOPN発現亢進効果は抑制された。

このスタチンのOPNに対する抑制効果は, スタチンのコレステロール合成系の抑制によるゲラニルゲラニルピロリン酸やファルネシルピロリン酸などのイソプレノイドの合成阻害によりイソプレニル化が阻害されたためではないかと考え, この仮説を確認するためゲラニルゲラニルトランスフェラーゼI阻害薬であるGGTI-298, ファルネシルトランスフェラーゼ阻害薬FTI-277のOPN過剰発現に対する効果を検討した。その結果, GGTI-298, FTI-277のいずれの投与でも高濃度グルコースによるOPNの発現亢進が抑制されることが確認され, イソプレニル化が高濃度グルコースによるOPN発現亢進機構において, 重要な役割を果たしていることが示唆された。

さらにゲラニルゲラニル化を受ける主要な蛋白であり, 動脈硬化との関連が認められる低分子量GTP結合蛋白のRhoおよびその標的蛋白であるRhoキナーゼの関与につき検討を加えた。その結果, 高濃度グルコース条件下ではSMCにおけるRhoの活性が亢進していることが確認され, また, Rhoの持続活性型変異体のトランスフェクションによりOPNの発現が亢進し, Rhoキナーゼ阻害薬であるY-27632により高濃度グルコースによるOPNの発現亢進は抑制されることが確認された。

以上の結果より, 高濃度グルコースによるOPNの発現亢進にはRho/Rhoキナーゼを含む機構が関与することが明らかとなった。

次に, 先に述べたPKC, ヘキソサミン経路とこのRho/Rhoキナーゼ経路との相互関係を明らかにするため, GF109203X, アザセリンを高濃度グルコース下で培養したSMCに加えRhoの活性を検討した。その結果, 高濃度グルコース刺激でみられた

Rhoの活性化はそれぞれの経路の阻害薬であるGF109203X, アザセリンのいずれの添加でも抑制された。また, グルコサミンの投与により Rho の活性亢進が認められた。このことから Rho/Rho キナーゼ経路は PKC, ヘキソサミン経路の共通の下流シグナルとして存在していることが示唆された。

さらに, Rho などの低分子量 GTP 結合蛋白は種々の mitogen-activated protein (MAP) キナーゼカスケードを活性化することから, 高濃度グルコースによる OPN 発現亢進機構における extra-

cellular signal regulated kinase (ERK), p38 MAP kinase, c-Jun N-terminal kinase (JNK) の関与を検討した。その結果, 高濃度グルコースにより ERK の活性亢進を認め, また, Map/Erk kinase (MEK) の阻害薬である PD98059 により高濃度グルコースによる OPN 過剰発現は抑制された。また, 持続活性型 Rho のトランスフェクションにより ERK の活性亢進がもたらされることが確認され, この結果より高濃度グルコースによる OPN 発現亢進機構には ERK が関与しており, ERK は Rho の下流シグナルとして機能していることが示唆された(図2)。

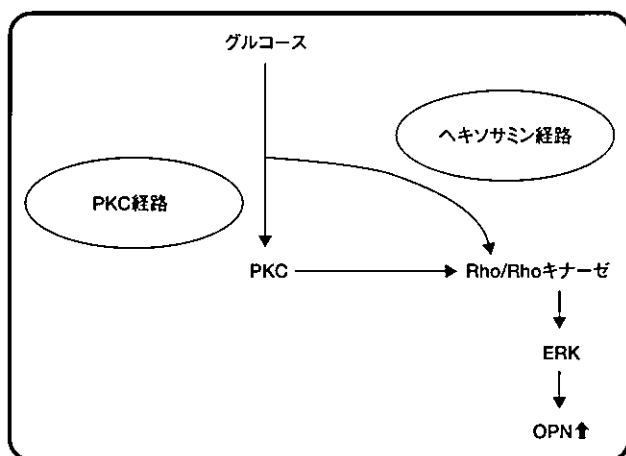


図2. 高濃度グルコースによるオステオポンチン発現亢進の分子機構

II. OPN プロモーター領域におけるグルコース反応領域の特定

さらに, 高濃度グルコース刺激による OPN プロモーターの反応領域の特定を行った。5' 末端より任意の領域を短縮した数種の異なる大きさの OPN プロモーターの DNA 断片をルシフェラーゼレポーターを有するベクターに挿入した部分欠損変異体(図3)を SMC にトランスフェクションし, 高濃度グルコースおよびグルコサミン刺激を加えた後, ルシフェラーゼアッセイにより, プロモーター活性を測定した。

その結果, 1984-rOPN-LUC, 1895-rOPN-LUC, 1032-rOPN-LUC, 554-rOPN-LUC, 295-rOPN-LUC, 112-rOPN-LUC コンストラクトをトランスフェクションした細胞では, 高濃度グルコースおよびグルコサミン刺激により 1.5 ~ 4 倍のプロモーター活

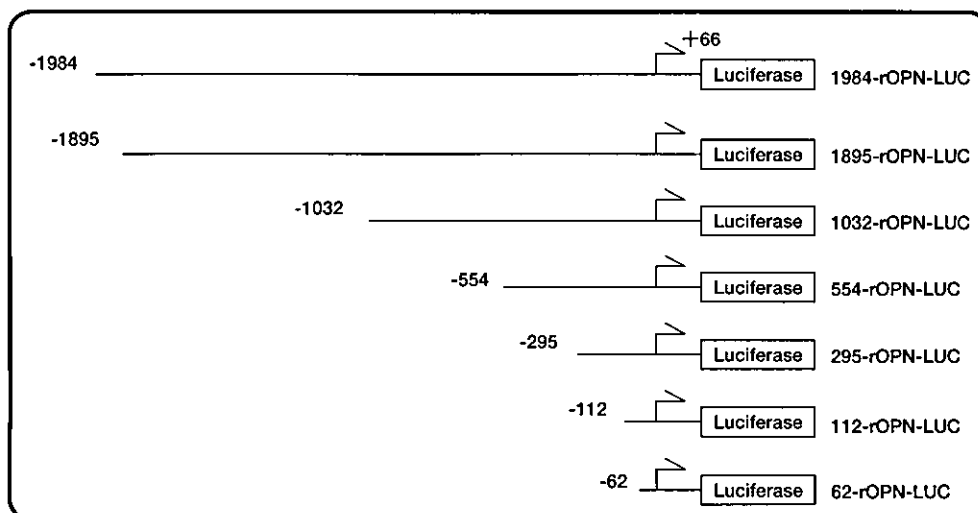


図3. ラットオステオポンチンプロモーター部分欠損変異体

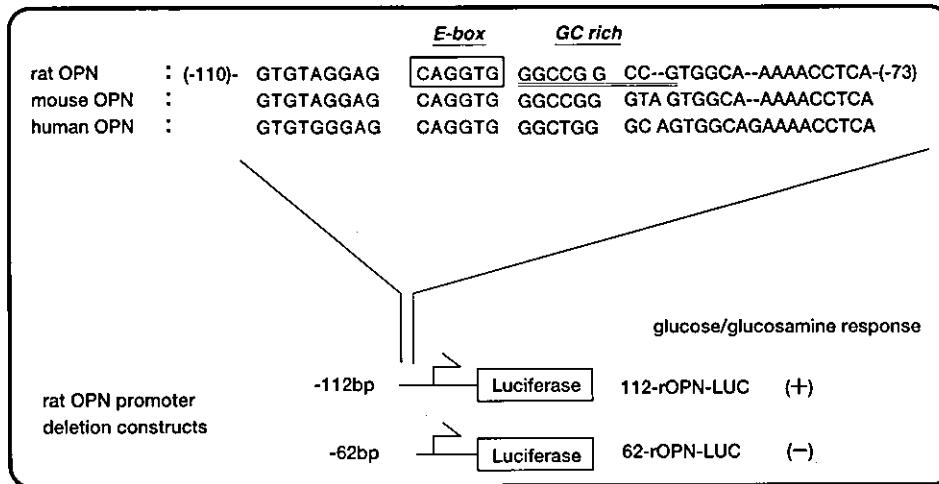


図4. オステオポンチンプロモーターにおけるグルコース/グルコサミン反応領域

性の上昇がみられたが、62-rOPN-LUCコンストラクトをトランスフェクションした細胞ではプロモーター活性の上昇はみられなかった。このことから、-112～-62bpの領域にグルコース反応領域があることが示唆された¹⁵⁾。

この領域はラット、マウス、ヒトで高度に保存されており、CAGGTGタイプのE-boxとGC rich部位が含まれている¹⁶⁾(図4)。E-boxは他の種類の細胞を用いた検討で、Transforming Growth Factor(TGF) β -1、Spot14などのプロモーターにおける高濃度グルコース反応領域として重要であることが示されている¹⁷⁾¹⁸⁾。

このE-boxおよびGC rich部位に変異を加えた295-rOPN-LUCコンストラクトをトランスフェクションしプロモーター活性を測定したところ、いずれの変異コンストラクトでも高濃度グルコースおよびグルコサミンによるプロモーター活性上昇が約30%抑制された。このことからE-boxおよびGC rich部位がOPN遺伝子におけるグルコース/グルコサミン反応領域であることが示唆された¹⁵⁾。

転写因子側の検討として、Bidderらは高濃度グルコースによるOPN発現に関わる転写因子としてUpstream Stimulatory Factor(USF)およびActivator Protein-1(AP-1)を報告している¹⁹⁾。USFはE-boxに結合する転写因子であり、また、AP-1はERKによりプロモーターへの結合が促進されることから、われわれが明らかとしたPKC、ヘキソサミン-Rho-ERK経路に参与する転写因子として非常に興味深い。

また、SMC、メサンギウム細胞などで高濃度グルコース、グ

ルコサミンによる plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)発現にE-boxと結合する sterol response element binding protein 1(Sp1)が関与することが報告されている²⁰⁾²¹⁾。

われわれの検討ではUSF1、USF2、Sp1のmRNA、蛋白レベルでの発現は高濃度グルコース、グルコサミン刺激により有意な変化は認められなかったが、DNA結合能の亢進など質的な変化がもたらされる可能性もあり、今後さらに検討が必要である。

おわりに

高濃度グルコースによる遺伝子発現制御機構の1つとしてOPNの発現について概説した。糖尿病では多種の因子が複雑に絡み動脈硬化に促進的に働くものと考えられ、そのすべてを明らかにすることは容易ではない。しかし、今回報告したように1つひとつの因子についてその機構を解明することで、病態の理解を深め、治療の進展に役立つものと期待される。

●文 献

1. Sode J, Gans B, McKee MD : Osteopontin. Crit Rev Oral Biol Med **11** : 279-303, 2000
2. Xie Y, Sakatsume M, Nishi S, et al : Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney. Kidney Int **60** : 1645-1657, 2001
3. Denhardt DT, Noda M : Osteopontin expression and function: role in bone remodeling. J Cell Biochem **31** : 92-102, 1998
4. Senger DR, Perruzzi CA, Papadopoulos A : Elevated expression of secreted phosphoprotein I (osteopontin, 2ar) as a consequence of neoplastic transformation. Anticancer Res **9** : 1291-1300, 1989

5. Craig AM, Bowden GT, Chambers AF, et al : Secreted phosphoprotein mRNA is induced during multi-stage carcinogenesis in mouse skin and correlates with the metastatic potential of murine fibroblasts. *Int J Cancer* **46** : 133-137, 1990
6. Kohri K, Nomura S, Kitamura Y, et al : Structure and expression of the mRNA encoding urinary stone protein (osteopontin). *J Biol Chem* **268** : 15180-15184, 1993
7. Cantor H : The role of Eta-1/osteopontin in the pathogenesis of immunological disorders. *Ann NY Acad Sci* **760** : 143-150, 1995
8. Liaw L, Birk DE, Ballas CB, et al : Altered wound healing in mice lacking a functional osteopontin gene (spp1). *J Clin Invest* **101** : 1468-1478, 1998
9. Shanahan CM, Cary NR, Metcalfe JC, et al : High expression of genes for calcification-regulating proteins in human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* **93** : 2393-2402, 1994
10. Liaw L, Lombardi DM, Almeida MM, et al : Neutralizing antibodies directed against osteopontin inhibit rat carotid neointimal thickening after endothelial denudation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **17** : 188-193, 1997
11. Matsui Y, Rittling SR, Okamoto H, et al : Osteopontin deficiency attenuates atherosclerosis in female apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **23** : 1029-1034, 2003
12. Takemoto M, Yokote K, Nishimura M, et al : Enhanced expression of osteopontin in human diabetic artery and analysis of its functional role in accelerated atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **20** : 624-628, 2000
13. Takemoto M, Yokote K, Yamazaki M, et al : Enhanced expression of osteopontin by high glucose in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* **258** : 722-726, 1999
14. Takemoto M, Kitahara M, Yokote K, et al : NK-104, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, reduces osteopontin expression by rat aortic smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* **133** : 83-88, 2001
15. Asami S, Takemoto M, Yokote K, et al : Identification and characterization of high glucose and glucosamine responsive element in the rat osteopontin promoter. *J Diabetes Complications* **17** : 34-38, 2003
16. Malyankar UM, Hanson R, Schwartz SM, et al : Upstream stimulatory factor 1 regulates osteopontin expression in smooth muscle



筆者プロフィール

●
河村 治清

1997年 千葉大学医学部卒業

同 附属病院第2内科入局

2000年 千葉大学大学院医学研究院細胞治療学入学
現在に至る。

糖尿病大血管障害に関する研究を行っている。

cells. *Exp Cell Res* **250** : 535-547, 1999

17. Hoffman BB, Sharma K, Zhu Y, et al : Transcriptional activation of transforming growth factor beta-1 in mesangial cell culture by high glucose concentration. *Kidney Int* **54** : 1107-1116, 1998

18. Koo SH, Towle HC : Glucose regulation of mouse S(14) gene expression in hepatocytes. Involvement of a novel transcription factor complex. *J Biol Chem* **275** : 5200-5207, 2000

19. Bidder M, Shao JS, Charlton-Kachigian N, et al : Osteopontin transcription in aortic vascular smooth muscle cells is controlled by glucose-regulated upstream stimulatory factor and activator protein-1 activities. *J Biol Chem* **277** : 44485-44496, 2002

20. Chen YQ, Su M, Walia RR, et al : Sp1 sites mediate activation of the plasminogen activator inhibitor-1 promoter by glucose in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* **273** : 8225-8231, 1998

21. Goldberg IJ, Scholey J, Fantus IG : Glucosamine activates the plasminogen activator inhibitor 1 gene promoter through Sp1 DNA binding sites in glomerular mesangial cells. *Diabetes* **49** : 863-871, 2000

Annual Review 内分泌, 代謝 2005

2005年1月20日発行

中外医学社

4c. 合併症—腎症

千葉大学医学部附属病院糖尿病・代謝・内分泌内科/大学院医学研究院細胞治療学 横手幸太郎
同 前澤 善朗
同 曾根崎桐子
同 教授 齋藤 康

key words diabetic nephropathy, podocyte, oxidative stress, polymorphism, multifactorial intervention

動 向

わが国では糖尿病性腎症から末期腎不全へと移行する患者の数が年々増加し、ついに慢性糸球体腎炎を抜いて新規透析療法導入原因の第1位となった。今後は医療経済の観点からもその対策が重要になると予想される。

糖尿病性腎症の形成には高血糖が必須であり、高血圧がこれを後押しすると考えられている。その発症機序について、細胞生物学的には糸球体バリアー機能の主たる担い手である足細胞 podocyteの機能障害が近年注目されている。また、生化学的には酸化ストレスの役割が重要視され、遺伝学的には腎症の進行に寄与する遺伝子多型の研究も精力的に行われている。診断面ではいくつかの新しい血中・尿中マーカーが報告され、病態の理解や予後判定への応用が期待される。一方、その予防と治療については、レニン-アンギオテンシン系阻害剤の有効性が各種大規模臨床試験により確立され、すでに日常臨床における標準的な選択薬となっている。さらに、代謝性リスクファクターを総合的に管理することによって、腎症の発症と進展を阻止できる可能性も示された。

本稿では、糖尿病性腎症の成因・診断と治療に大別して、これら最近の話題を紹介する。

A. 成 因

1. 糖尿病性腎症と足細胞機能

腎糸球体の主要構成細胞は、内皮細胞とメサンギウム細胞、それに足細胞である。腎症の病理学的な特徴の一つはびまん性～結節性のマトリクス沈着であり、しばしばメサンギウム領域の拡大を認める。このためメサンギウム細胞はこれまで最も重要な研究対象とされてきた。加えて近年、足細胞の機能変化が重視されるようになった。足細胞は、あたかもタコの足のように複数の“足突起 foot process”を伸ばし、糸球体基底膜の外側を覆っている。隣り合う足細胞の間隙にはスリット隔膜 slit diaphragmとよばれる構造があり、糸球体血管腔から内皮細胞層・基底膜を通過してきた血漿成分の選択的透過を担う、いわば分子篩(ふるい)の役割を果たすと考えられる。

1998年以降、家族性ネフローゼ症候群の原因としてネフリン nephrin, ポドシン podocinなどスリット隔膜構成タンパクの遺伝的欠損が相次いで報告され、尿タンパク出現の新しい分子機序として脚光を浴びた。糖尿病の糸球体においても、足細胞の数¹⁾や密度²⁾の減少、足突起の肥大や癒合が認められることなどから足細胞機能の障害

が想定されていたが、ネフリンをはじめとする足細胞特異的分子の発見と機能解析から、より詳細な事実が明らかとなってきた。アルブミン尿を示す1型および2型糖尿病患者の腎糸球体では、ネフリンの発現がmRNAならびにタンパクレベルで低下し、その発現量と尿中アルブミン排泄量の間に負の相関がみられること^{3,4)}、1型糖尿病患者の腎症初期に尿中へのネフリン排泄が認められること⁵⁾などが明らかとなり、糖尿病性腎症におけるタンパク尿の発現機序、予後予測因子としての意義が注目されている。

2. 酸化ストレス

高血糖が細胞機能を傷害する機序としては、プロテインキナーゼC (PKC) 経路、ポリオール経路、ヘキソサミン経路、終末糖化産物 advanced glycation end-product (AGE) などの役割がよく研究されている。また、高血糖状態では活性酸素種 reactive oxygen species (ROS) によるタンパクや細胞の障害が増し、酸化ストレスと総称される。ROSはポリオール経路やグリケーションの過程でも発生することが知られている。特に、Brownleeらは高血糖によりミトコンドリア電子伝達系を通じて産生されるスーパーオキシドが解糖系酵素の一つであるGAPDH (グリセルアルデヒドリン酸脱水素酵素) の機能を低下させる結果、PKC、ヘキソサミン、AGEの3大経路を亢進させるとの説を提唱した。また、少なくとも網膜症のモデルでは、ビタミンB₁の脂溶性誘導体であるベンフォチアミン benfothiamineを投与してトランスケトラーゼを活性化、ペントースリン酸経路への逃げ道をうながすと、これらすべての経路を抑制することができることを報告している⁶⁾。これに対して、糖尿病の腎糸球体におけるROSの生成には、PKC β の活性化とそれに伴うNADPHオキシダーゼの活性化が必須であるとも示されており⁷⁾、今後のより詳細な検討が期待さ

れる。

3. 遺伝子多型

欧米での調査によると、1型、2型糖尿病いずれの場合にも、正常から微量アルブミン尿へ、微量アルブミン尿から顕性タンパク尿へ、そして顕性タンパク尿から腎不全状態へと病期が1段階進行する速度はおおよそ等しく、1年に2~4%と算出されている^{8,9)}。一方、血糖や血圧のコントロールに著しい差がなくとも、腎症進展の度合いには個人差が大きいことを日常臨床ではしばしば経験する。このような背景から、遺伝的素因に関する研究が数多くなされている。詳しくは本書他稿に譲るが、2型糖尿病における腎症の進展促進要因としてNADPHオキシダーゼのサブユニットであるp22phox¹⁰⁾、細胞膜上の糖タンパクでありインスリンシグナルを阻害することで知られるPC-1¹¹⁾、自然免疫の担い手の一つであるTLR (toll-like receptor)-4¹²⁾、アルドース還元酵素¹³⁾、アポリポ蛋白E¹⁴⁾、ケモカインであるRANTES¹⁵⁾などの遺伝子多型の関与が報告されている。

B. 診断

糖尿病性腎症の正確な診断には腎生検が必要である。しかし、日常的には尿中アルブミン排泄と糸球体濾過率、血清クレアチニン値等に基づいて臨床的評価がなされ、また血糖や血圧値の状態を踏まえてその予後が推定される。一方、先にも述べたように腎症の転帰は患者ごとで異なるため、その病態および予後をより正確かつ簡便に評価できる臨床マーカーの開発も望まれる。CTGF (connective tissue growth factor) は、単独あるいはTGF- β の下流で糖尿病腎組織のマトリクス沈着を促進すると考えられるサイトカインだが、最近、1型糖尿病患者の血中・尿中CTGF濃度と腎症病期との関連が示された^{16,17)}。また、単球

による組織浸潤と線維化の促進にも関わるケモカインMCP-1の尿中濃度が、2型糖尿病患者にACE阻害剤リシノプリルを投与することによって低下し、同時に腎機能の改善もみられたとの報

告もなされている¹⁸⁾。いずれも数十例の患者を対象とした小規模な研究であるが、今後より厳密な検討を経て新しいマーカーとしての可能性が期待される。

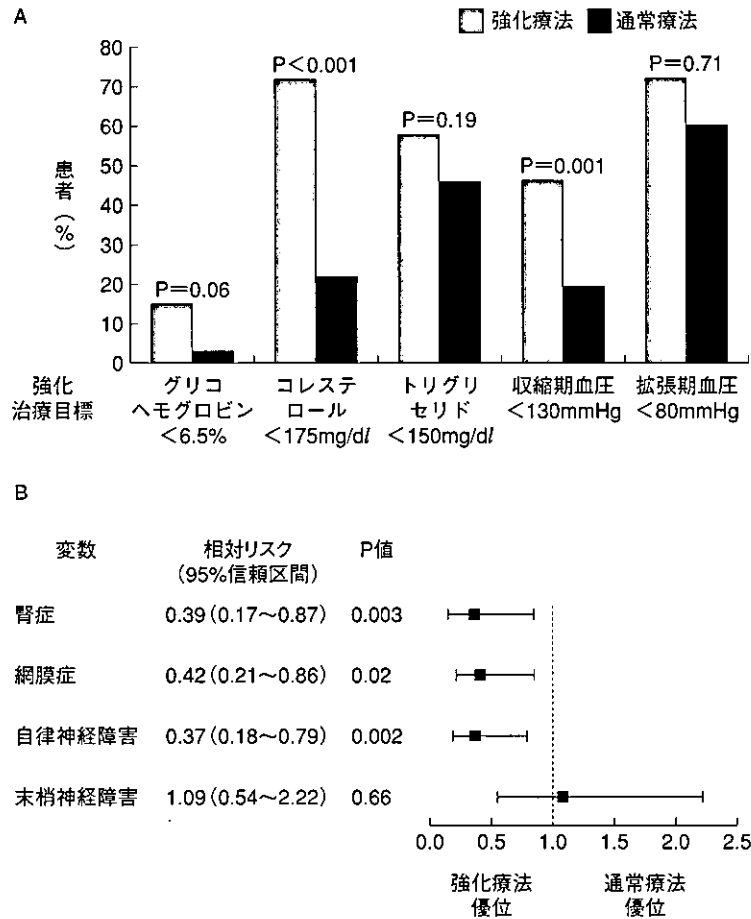


図1 2型糖尿病患者における多角的強化療方は、腎症を含む細小血管合併症の進行を抑制する²¹⁾。

- A. Steno-2スタディにおいて、7.8年の追跡期間の後に強化治療目標を達成した患者の割合。強化療法群には厳格な生活指導とスタチン・ACE阻害剤・インスリンまたは経口血糖降下剤などによる薬物治療が施行された。いずれの群においても満足のいく血糖コントロール（グリコヘモグロビン値）は得られていないが、コレステロール値と収縮期血圧値については強化療法群で有意に達成率が高いことがわかる。
- B. 強化療法群における各種細小血管合併症の発症および進行の相対リスク（通常療法群の比較）。強化療法は通常療法に比べて、有意に腎症・網膜症・自律神経障害の新規発症と進行を抑制した。

C. 治療法

1. レニン-アンジオテンシン系を標的とした治療

1型および2型糖尿病患者における微量アルブミン尿から顕性タンパク尿への進展抑制に、アンジオテンシン変換酵素 (angiotensin-converting enzyme (ACE) 阻害剤およびアンジオテンシン II 受容体拮抗剤 (angiotensin II receptor inhibitor (ARB)) がともに有効であることはこれまでの大規模臨床試験の結果から明らかである。一方、末期腎不全への進行を遅延させる効果についても、ARBは1型、2型糖尿病の両方に対して有効であると示されているが、ACE阻害剤の有効性は1型糖尿病患者でのみ確立している。さらに、ACE、ARB単独投与では効果が不十分な患者に対し、両者を併用した場合の腎保護作用についても比較的短期間・少人数の研究結果が示されつつある¹⁹⁾、より大規模な研究の成果が待たれる。

2. 糖尿病性腎症の治療としての心血管リスク管理

腎症を合併した糖尿病患者は、脂質代謝異常、高血圧、インスリン抵抗性など代謝性の心血管危険因子を多数合併していることが多い。また、アルブミン尿はそれ自体が心血管イベント発生のリスクとなることも知られており、腎症と動脈硬化症(大血管症)とを結ぶ、いまだ明らかでない共通要因の存在が推測される。Steno-2スタディでは、微量アルブミン尿を示す2型糖尿病患者に対して禁煙や運動励行などの生活習慣改善、スタチンを用いた高脂血症治療、ACE阻害剤を用いた高血圧治療、それにアスピリンや総合ビタミン剤の服用など、多角的強化治療を約8年間施行したところ、コントロールの通常療法群に比べて心血管イベントが50%減少しただけでなく、顕性タンパク尿への進行も60%抑制された(図1)。この

研究は糖尿病性腎症に対する新しい治療の方向性を示すとともに、その成因論についても新たな示唆を与えるものと考えられる²⁰⁾。

文献

- 1) White KE, Bilous RW; Diabiopsies Study Group. Structural alterations to the podocyte are related to proteinuria in type 2 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 1437-40.
- 2) Dalla Vestra M, Masiero A, Roiter AM, et al. Is podocyte injury relevant in diabetic nephropathy? Studies in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 1031-5.
- 3) Toyoda M, Suzuki D, Umezono T, et al. Expression of human nephrin mRNA in diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 380-5.
- 4) Doublie S, Salvidio G, Lupia E, et al. Nephrin expression is reduced in human diabetic nephropathy: evidence for a distinct role for glycosylated albumin and angiotensin II. *Diabetes* 2003; 52: 1023-30.
- 5) Patari A, Forsblom C, Havana M, et al. Nephrinuria in diabetic nephropathy of type 1 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 2969-74.
- 6) Hammes HP, Du X, Edelstein D, et al. Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy. *Nat Med* 2003; 9: 294-9.
- 7) Kitada M, Koya D, Sugimoto T, et al. Translocation of glomerular p47phox and p67phox by protein kinase C-beta activation is required for oxidative stress in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2003; 52: 2603-14.
- 8) Arun C, Stoddart J, Mackin P, et al. Significance of microalbuminuria in long-duration Type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 2144-9.
- 9) Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, et al. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS64). *Kidney Int* 2003; 63: 225-32.
- 10) Matsunaga-Irie S, Maruyama T, Yamamoto Y, et al. Relationship between development of nephropathy and the p22phox C242T and receptor for advanced glycation end product G1704T gene polymorphisms in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2004; 27:

- 303-7.
- 11) De Cosmo S, Trevisan R, Dalla Vestra M, et al. PC-1 amino acid variant Q12I is associated with a lower glomerular filtration rate in type 2 diabetic patients with abnormal albumin excretion rates. *Diabetes Care* 2003; 26: 2898-902.
 - 12) Rudofsky G Jr, Reismann P, Witte S, et al. Asp299Gly and Thr399Ile genotypes of the TLR4 gene are associated with a reduced prevalence of diabetic neuropathy in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 179-83.
 - 13) Makiishi T, Araki S, Koya D, et al. C-106T polymorphism of AKR1B1 is associated with diabetic nephropathy and erythrocyte aldose reductase content in Japanese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 943-51.
 - 14) Araki S, Koya D, Makiishi T, et al. APOE polymorphism and the progression of diabetic nephropathy in Japanese subjects with type 2 diabetes: results of a prospective observational follow-up study. *Diabetes Care* 2003; 26: 2416-20.
 - 15) Nakajima K, Tanaka Y, Nomiyama T, et al. RANTES promoter genotype is associated with diabetic nephropathy in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care* 2003; 26: 892-8.
 - 16) Gilbert RE, Akdeniz A, Weitz S, et al. Urinary connective tissue growth factor excretion in patients with type 1 diabetes and nephropathy. *Diabetes Care* 2003; 26: 2632-6.
 - 17) Roestenberg P, van Nieuwenhoven FA, Wieten L, et al. Connective tissue growth factor is increased in plasma of type 1 diabetic patients with nephropathy. *Diabetes Care* 2004; 27: 1164-70.
 - 18) Amann B, Tinzmann R, Angelkort B, et al. ACE inhibitors improve diabetic nephropathy through suppression of renal MCP-1. *Diabetes Care* 2003; 26: 2421-5.
 - 19) Berl T. Angiotensin-converting enzyme inhibitors versus AT1 receptor antagonist in cardiovascular and renal protection: the case for AT1 receptor antagonist. *J Am Soc Nephrol* 2004; Suppl 1: S71-6.
 - 20) Jacobsen P, Rossing K, Parving HH, et al. Single versus dual blockade of the renin-angiotensin system (angiotensin-converting enzyme inhibitors and/or angiotensin II receptor blockers) in diabetic nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2004; 13: 319-24.
 - 21) Gaede P, Vedel P, Larsen N, et al. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2003; 348: 383-93.