

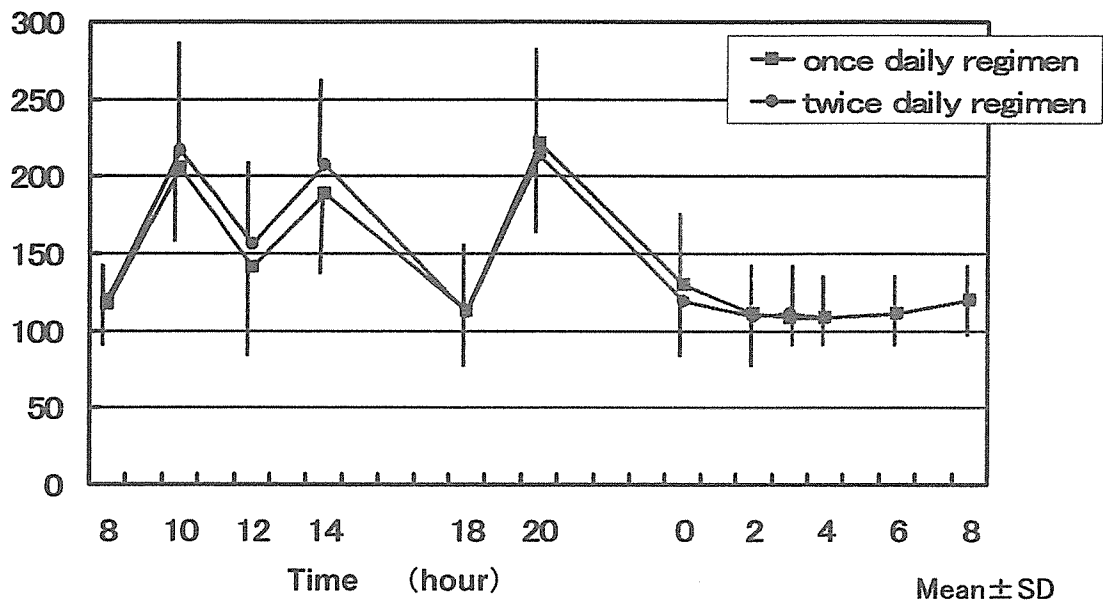
Table 1 Clinical characteristics of study subjects

	Gliclazide	Glibenclamide	P values
Number	9	9	
Male/Female	5/4	3/5	
Age (year)	68.7±5.0	70.9±6.6	0.434
Body mass index (kg/m ²)	21.7±3.1	22.7±3.1	0.490
Duration of diabetes (year)	10.3±7.2	17.9±9.5	0.075
Urine CPR (μg/day)	62.5±34.4	69.8±29.0	0.637
Ccr (L/day)	82.3±30.7	77.4±17.8	0.685
HbA _{1c} (%)	8.3±0.3	7.9±1.0	0.316

Data are means±SD or n. CPR, C peptide immunoreactivity; Ccr, creatinine clearance.

A

Plasma glucose (mg/dl)



B

IRI (μ U/ml)

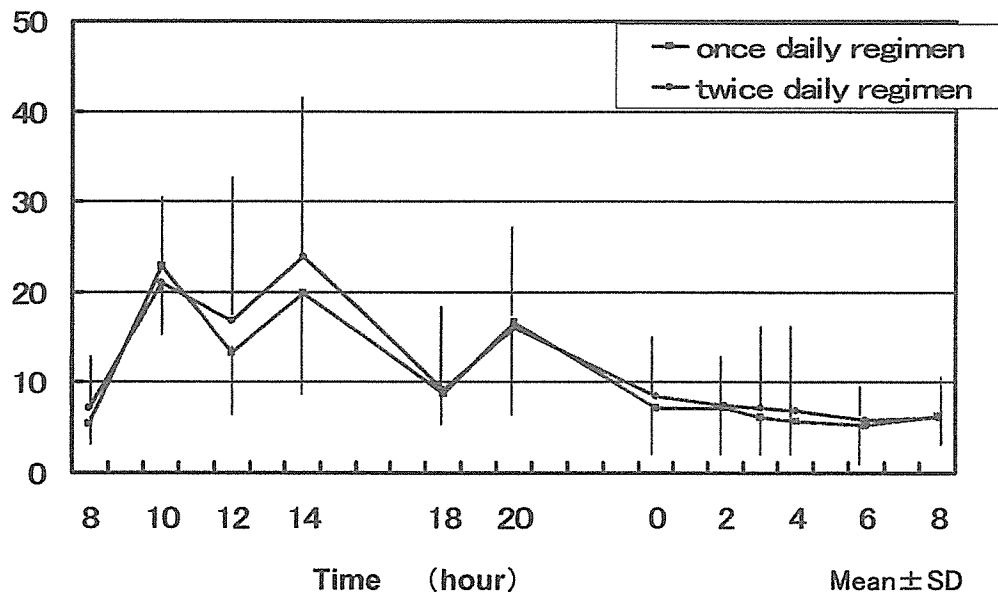
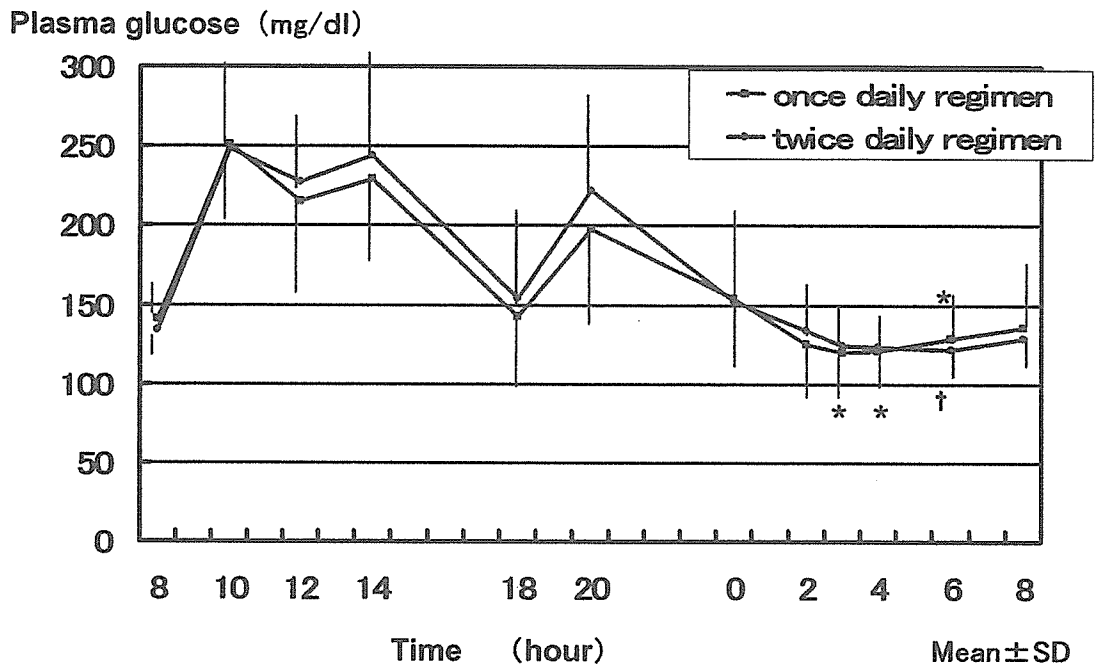


Fig. 1 (A): Diurnal plasma glucose profiles during treatment with gliclazide in once daily and in twice daily regimen. (B): Diurnal plasma IRI profiles during treatment with gliclazide in once daily and in twice daily regimen.

A



B

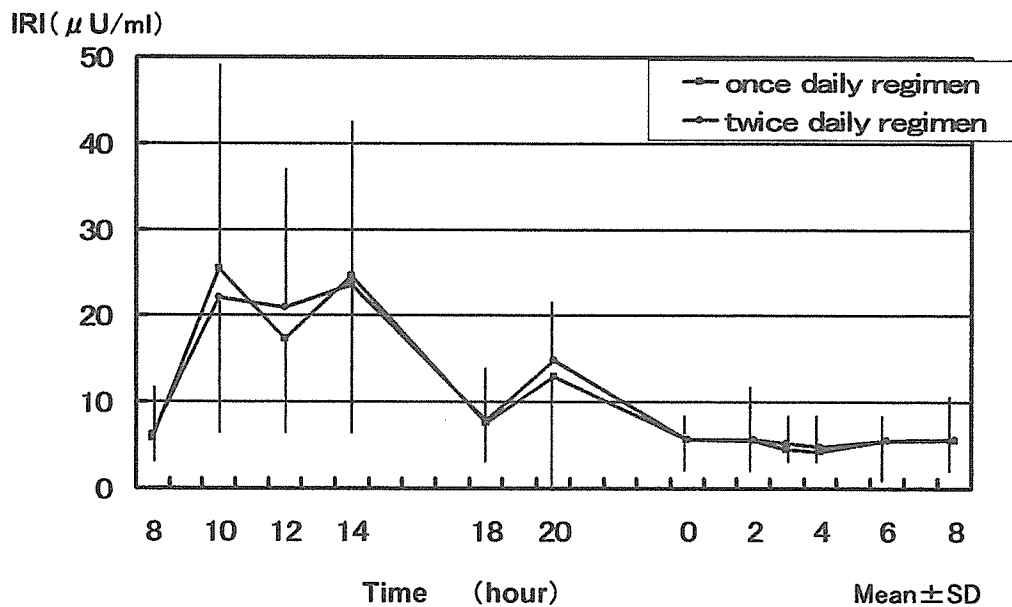


Fig. 2 (A): Diurnal plasma glucose profiles during treatment with glibenclamide in once daily and in twice daily regimen. (B): Diurnal plasma IRI profiles during treatment with glibenclamide in once daily and in twice daily regimen. * $P < 0.05$ vs. 08.00 hours plasma glucose value in once daily regimen group. † $P < 0.05$ vs. 08.00 hours plasma glucose value in twice daily regimen group.

高齢糖尿病患者における無症候性脳梗塞の の意義－長期縦断調査における検討

分担研究者 荒木 厚 東京都老人医療センター内分泌科部長
井藤英喜 東京都老人医療センター院長

研究要旨：高齢糖尿病患者において、無症候性脳梗塞の意義は明らかではない。そこで、高齢糖尿病患者 319 例を登録時の病歴と脳 MR により、無症候性脳梗塞群、症候性脳梗塞群、脳梗塞のない対照群の 3 群に分けて、約 5 年間の追跡期間中の症候性の脳梗塞発症、虚血性心疾患発症、死亡、心血管死亡の頻度を比較検討した。追跡期間中の症候性の脳梗塞の発症は、無症候性脳梗塞群で 19%、症候性脳梗塞群で 25%、対照群で 6% であり、無症候性脳梗塞群は対照群と比べて脳梗塞の発症が有意に増加した。無症候性脳梗塞群の虚血性心疾患発症、全死亡、心血管死亡は対照群と同様であった。Cox 回帰を用いた多変量解析では、他の動脈硬化の危険因子を考慮しても、無症候性脳梗塞は、症候性脳梗塞発症の独立した予知因子であった（ハザード比 3.3 [1.4-7.8], $P=0.006$ ）。高齢者糖尿病の脳 MR における無症候性脳梗塞は死亡には影響が少ないが、症候性脳梗塞発症の独立した予知因子である。

A. 研究目的

糖尿病患者は糖尿病がない対照と比べて約 2～3 倍脳梗塞をおこしやすいと言われている。糖尿病患者の脳梗塞は、脳幹、小脳などのテント下の脳梗塞が多い、ラクナ脳梗塞や多発性脳梗塞が多い、高血圧合併例に多いこと以外に無症候性脳梗塞が多いという特徴を有する¹⁻³⁾。しかしながら、高齢糖尿病患者において、無症候性脳梗塞の意義は不明である。また、無症候性脳梗塞が将来、症状を有する脳梗塞や心疾患をおこすかや死亡などの予後にどのような影響を及ぼすかも明らかでない。そこで、外来の高齢糖尿病患者を対象に、無症候性脳梗塞が追跡期間中の脳梗塞や心疾

患の発症、死亡と関連するか否かについて長期縦断調査により、検討を加えた。

B. 研究の対象と方法

1997 年に QOL 調査のために登録し、さらに 1998 年に脳 MRI を施行した外来高齢糖尿病患者 319 名（年齢：75±6 歳）で、対象を病歴と脳 MRI で、脳梗塞のない群（対照群）、無症候性脳梗塞群、症候性脳梗塞群の 3 群に分け、1998 年の臨床所見を ANOVA、または χ^2 検定で比較。脳梗塞は 3mm 以上 T2 高信号、T1 低信号の局所性病変と定義した。

この 3 群間で 5 年間の追跡期間中における脳梗塞、虚血性心疾患、全死亡、心血管死亡の頻度を

比較した。さらに脳梗塞のない群（対照群）、無症候性脳梗塞群を合わせて、脳梗塞発症の予知因子をCox回帰分析で検討した。

C. 研究結果

- 1) 登録時所見では無症候性脳梗塞群は、対照群と比較して、高齢、HbA1c高値、ホモシステイン高値、MMSE低値であったが、3群間でBMI、血圧、TC、TG、HDL-Cに有意差は認めなかった(表1、表2)。
- 2) 無症候性脳梗塞群の追跡期間中の収縮期血圧の平均は高値であったが、HbA1c、TC、TG、HDL-Cの平均値には3群間で差を認めなかった。
- 3) 追跡期間中の症候性の脳梗塞の発症は、無症候性脳梗塞群で19%、症候性脳梗塞群で25%、対照群で6%であり、無症候性脳梗塞群は対照群と比べて脳梗塞の発症が有意に増加した(図1、図2)。
- 4) 無症候性脳梗塞群の虚血性心疾患発症、全死亡、心血管死亡は対照群と同様であり、症候性脳梗塞群でそれらが有意に増加した(図3)。
- 5) 対照群と無症候性脳梗塞群を合わせて、Cox回帰を用いた多変量解析を行なうと、年齢、性、喫煙、ホモシステイン、追跡期間中の収縮期血圧、HbA1c、TC、TG、HDL-Cなどの他の因子を考慮しても、無症候性脳梗塞は、モラール低値とともに症候性脳梗塞発症の独立した予知因子であり、約3.3倍症候性脳梗塞をおこすリスクがあった(表3)。すべての対象で同様な解析を行なうと、無症候性脳梗塞とホモシステイン高値が症候性脳梗塞発症の独立した予知因子であった。

D. 考察

本研究は、長期縦断調査の結果、高齢糖尿病患者の脳MRIでの無症候性脳梗塞は、脳梗塞のない対照と比べると将来症候性脳梗塞をおこしやすいことを示している。無症候性脳梗塞群では、高齢、HbA1c高値、ホモシステイン高値などの危険因子を合併していたが、これらの危険因子を考慮しても脳梗塞を約3倍おこしやすいことが明らかになった。この機序としては、無症候性脳梗塞群では、登録時に既に、脳の動脈硬化をきたしていたこと以外に、追跡期間中の平均の収縮期血圧をみると、脳梗塞のない対照群と比べて若干高かったこと(142 mmHg vs. 138 mmHg)が動脈硬化をさらに進展させたことが考えられる。いずれにせよ、これらの結果は、高齢糖尿病患者で無症候性脳梗塞がある場合には、血圧や他の危険因子を長期的にもっと厳格にコントロールすべきことを示唆している。

一方、無症候性脳梗塞の存在は心疾患の発症や全死亡、心血管死亡に影響を及ぼさなかった。この結果は、冠状動脈と脳動脈の動脈硬化の機序が異なることからもたらされたと考えられ、興味深い。

今回の研究では、血糖コントロール(HbA1c)、血圧、コレステロールといった従来の危険因子は高齢糖尿病患者の脳梗塞の予知因子とはならなかった。むしろ、モラール低値で示されるWell-beingの低下やホモシステイン高値といった因子が無症候性脳梗塞とともに症候性脳梗塞発症の独立した予知因子であることが示され、これまで報告と一致する結果であった^{4,5)}。

このことは、高齢者糖尿病における血糖、血圧、脂質のコントロールの重要性を決して否定するものではない。比較的若い2型糖尿病患者の介入試験において、血糖コントロール⁶⁾、降圧薬のARB薬、atorvastatinの投与⁷⁾が脳梗塞の発症を減少させるという報告がみられていることより、今後、無症候性脳梗塞を合併した高齢糖尿病患者を対象にこうした介入試験が実施されることが必要であると思われる。

E. 結論

縦断調査により、高齢者糖尿病の脳MRにおける無症候性脳梗塞は死亡には影響が少ないが、症候性脳梗塞発症の独立した予知因子である。

F. 引用文献

1. Idris I, Thomson GA, Sharma JC: Diabetes and stroke. *Int J Clin Pract* 60:48-56, 2006.
2. Arauz A, Murillo L, Cantu C et al. Prospective study of single and multiple lacunar infarcts using magnetic resonance imaging. Risk factors, recurrence and outcome in 175 consecutive cases. *Stroke* 34: 2453-2458, 2003.
3. Eguchi K, Kario K, Shimada K. Greater impact of coexistence of hypertension and diabetes on silent cerebral infarcts. *Stroke* 34:392-396, 2003.
4. Araki A, Ito H, Majima Y, Hosoi T, Orimo H: Association between plasma homocysteine concentrations and asymptomatic cerebral infarction or leukoaraiosis in elderly diabetic patients. *Geriatrics and Gerontology International* 3: 12-20, 2003.
5. Araki A, Murotani Y, Kamimiya F, Ito H: Low well-being is an independent predictor

for stroke in elderly patients with diabetes mellitus. *J Am Geriatr Soc* 52: 205-210, 2004.

6. Stettler C, Allemann S, Juni P, et al. Glycemic control and macrovascular disease in types 1 and 2 diabetes mellitus: Meta-analysis of randomized trials. *Am Heart J* 152:27-38, 2006.
7. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, et al. CARDS Investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 364:685-696, 2004.

G. 論文発表

1. Orimo H, Ito H, Suzuki T, Araki A, Hosoi T, Sawabe M. Reviewing the definition of "elderly". *Geriatrics and Gerontology International* 6: 149-158, 2006.
2. Yamada S, Yanagawa T, Sasamoto K, Araki A, Miyao M, Yamanouchi T. Atorvastatin lowers plasma low-density lipoprotein cholesterol and C-reactive protein in Japanese type 2 diabetic patients. *Metabolism* 55:67-71, 2006.
3. Akisaki T, Sakurai T, Takata T, Umegaki H, Araki A, Mizuno S, Tanaka S, Ohashi Y, Iguchi A, Yokono K, Ito H. Cognitive dysfunction associates with white matter hyperintensities and subcortical atrophy on magnetic resonance imaging of the elderly diabetes mellitus Japanese elderly diabetes intervention trial (J-EDIT). *Diabetes Metab Res Rev* 22:376-384, 2006.
4. Tamura Y, Araki A, Chiba Y, Ishimaru Y, Ishimaru Y, Horiuchi T, Mori S, Hosoi T. A case of Type 2 diabetes mellitus in an elderly patient with rapid attenuation of insulin secretion that resembled fulminant Type 1 DM but with

- incomplete beta cell damage. *Endocr J* 53:633-637,2006.
5. Tamura Y, Araki A, Chiba Y, Horiuchi T, Mori S, Hosoi T. Postprandial reactive hypoglycemia in an oldest-old patient effectively treated with low-dose acarbose. *Endocr J* 53:767-771, 2006.
 6. 荒木 厚 : 高齢者の QOL を考慮した療養指導のあり方. *日本臨床* 64: 134-139, 2006.
 7. 荒木 厚 : 糖尿病におけるホモシステインと大血管障害. *日本臨床* 64: 2153-2158, 2006.
 8. 荒木 厚, 大竹登志子 : 高齢糖尿病患者への運動療法は? *肥満と糖尿病* 5:2-4, 2006.
 9. 荒木 厚 : 高齢者糖尿病の食事療法—生活機能の維持を目指して. *Geriatric Medicine* 44:309-313, 2006.
 10. 横野浩一, 荒木 厚, 大庭建三, 井藤英喜 : 高齢者糖尿病の管理—何が重要か、何を指すのか. *Geriatric Medicine* 44:389-398, 2006.
 11. 荒木 厚 : 認知症合併患者の療養のしかたを知る. *糖尿病診療マスター* 4:224-230, 2006.
 12. 荒木 厚, 廣瀬敦子, 村松知城, 藤富篤子, 佐藤文子 : 高齢社会を迎えて—急性期病院での糖尿病チーム医療を探る. *Diabetes Team Now* 6: 1-8, 2006.
 13. 足立淳一郎, 荒木 厚, 井藤英喜 : 高齢者における介入試験—糖尿病への介入による血管障害の初発または再発予防 *Geriatric Medicine* 44 : 1687-1690, 2006.
 14. 千葉優子, 荒木 厚 : 高齢者の糖尿病の診療の実際 *Medical Practice* 24:85-88, 2007.
2. 田村嘉章(東京都老人医療センター 内分泌科), 森聖二郎, 千葉優子, 上宮文, 堀内敏行, 服部明德, 井藤英喜, 荒木 厚 : 高齢糖尿病患者における ACEI, ARB の投与は死亡の防御因子である. 第 49 回糖尿病学会年次学術総会, 東京, 5 月 26 日, 2006.
 3. 荒木 厚, 千葉優子, 田村嘉章, 上宮文, 服部明德, 堀内敏行, 森聖二郎, 井藤英喜 : 高齢糖尿病患者における無症候性脳梗塞の意義. 長期縦断調査における検討. 第 48 回日本老年医学会学術集会, 金沢, 6 月 8 日, 2006.
 4. 田村嘉章, 荒木 厚, 上宮文, 千葉優子, 服部明德, 森聖二郎, 堀内敏行, 細井孝之, 井藤英喜 : 高齢糖尿病患者への ACEI, ARB の投与は死亡率を抑制する. 第 48 回日本老年医学会学術集会, 金沢, 6 月 8 日, 2006.
 5. 千葉優子, 森聖二郎, 田村嘉章, 上宮文, 堀内敏行, 服部明德, 井藤英喜, 荒木 厚 : 高齢糖尿病患者の腎障害進行における脈圧増加と脂質代謝異常との関連. 第 48 回日本老年医学会学術集会, 金沢, 6 月 8 日, 2006.

H.学会発表

1. 千葉優子, 森聖二郎, 田村嘉章, 上宮文, 堀内敏行, 服部明德, 井藤英喜, 荒木 厚 : 脈圧増加と脂質代謝異常は高齢糖尿病患者における腎障害進行の危険因子である 第 49 回糖尿病学会年次学術総会, 東京, 5 月 26 日, 2006.

表1 登録時の臨床所見(1)

	脳梗塞なし (n=144)	無症候性脳梗塞 (n=100)	症候性脳梗塞 (n=75)
年齢(歳)	74.9 ± 5.4	77.5 ± 5.6***	76.6 ± 6.2
性(男性%)	24	40*	53***
罹病年数(年)	15.1 ± 8.4	15.9 ± 8.4	18.3 ± 9.6*
喫煙(%)	10	14	25*
BMI(kg/m ²)	22.5 ± 3.6	23.0 ± 3.3	22.8 ± 3.2
HbA1c(%)	7.6 ± 1.5	7.4 ± 1.3	7.7 ± 1.2
TC(mg/dl)	198 ± 34	196 ± 35	195 ± 39
TG(mg/dl)	128 ± 76	123 ± 65	113 ± 67
HDL-C(mg/dl)	57 ± 15	57 ± 16	56 ± 17

表2 登録時の臨床所見(2)

	脳梗塞なし (n=144)	無症候性脳梗塞 (n=100)	症候性脳梗塞 (n=75)
収縮期血圧	137 ± 17	143 ± 18	142 ± 22
拡張期血圧	73 ± 12	76 ± 10	73 ± 10
ホモシステイン	8.2 ± 3.1	10.0 ± 4.5*	11.6 ± 8.6**
高感度CRP	0.10 ± 0.12	0.09 ± 0.12	0.19 ± 0.16**
虚血性心疾患 既往(%)	7	5	18*
老研式ADL(点)	11.9 ± 2.1	11.3 ± 2.5	9.8 ± 3.5***
モラール(点)	11.4 ± 4.2	11.6 ± 3.9	10.1 ± 3.7
MMSE(点)	26.3 ± 2.6	25.6 ± 2.7	25.0 ± 3.4**

図1 登録時の無症候性脳梗塞と5年間の追跡期間における症候性脳梗塞発症との関係

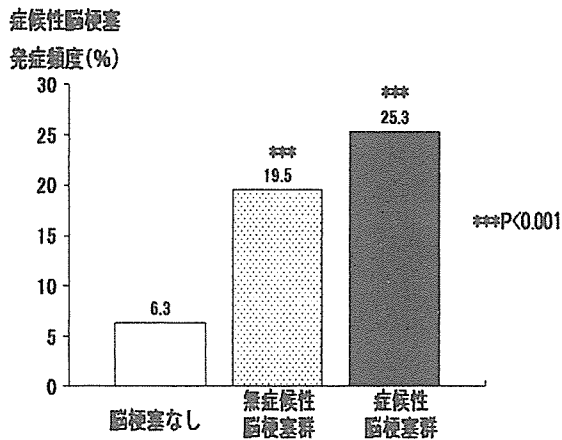


図2 脳MRIの無症候性脳梗塞と追跡期間における症候性脳梗塞発症

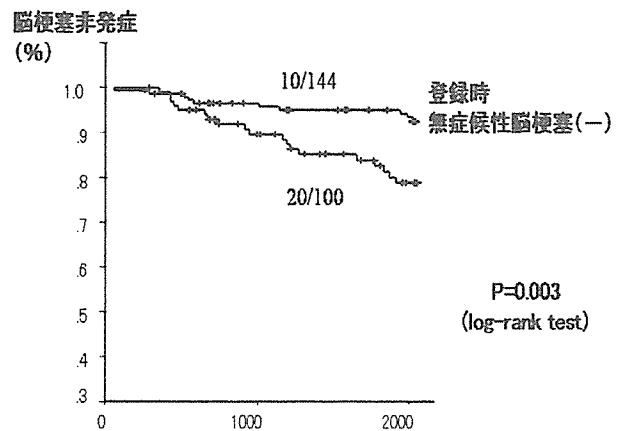


図3 登録時の無症候性脳梗塞と虚血性心疾患発症、全死亡、心血管死亡との関係

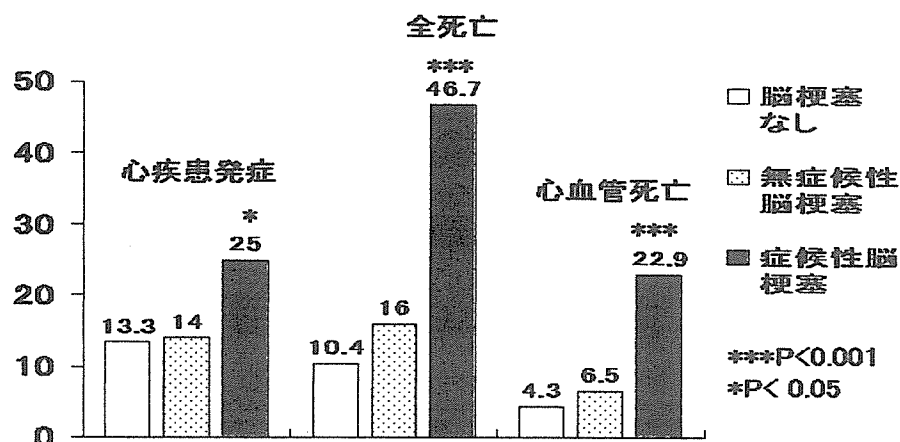


表3 脳梗塞発症の予知因子—Cox回帰分析

モデル1: 無症候性脳梗塞、年齢、性、喫煙、モラール、HbA1c、TC、TG、HDL-C、収縮期血圧 (対照群+無症候性脳梗塞群)

	β値	ハザード比	95%信頼区間	有意確率
無症候性脳梗塞	1.192	3.29	1.4-7.8	0.006
モラール	-0.103	0.90	0.82-0.99	0.030

モデル2: 無症候性脳梗塞、年齢、性、喫煙、モラール、ホモシステイン、HbA1c、TC、TG、HDL-C、収縮期血圧 (すべての対象)

	β値	ハザード比	95%信頼区間	有意確率
無症候性脳梗塞	0.719	2.05	1.3-3.2	0.001
ホモシステイン	0.042	1.04	1.00-1.09	0.038

心血管組織石灰化の分子機序の解明 - HMG-CoA 還元酵素阻害剤 (スタチン) の石灰化抑制作用の検討 -

分担研究者 飯島 勝矢 (東京大学大学院医学系研究科 加齢医学講座 講師)

研究要旨：高齢者循環器疾患の中でも大きな問題である血管石灰化には、メンケベルグ型血管中膜石灰化や冠状動脈・頸動脈に見られる粥状硬化内の石灰化などがあり、心血管イベント発症や予後を規定する大きな因子である。しかし、分子機序およびその制御法に関する研究はほとんど進んでいない。大動脈石灰化は糖尿病や腎不全、高齢者などによく認められることから、我々はまず培養系石灰化モデルの一つとして、リン刺激による血管平滑筋細胞の石灰化誘導を用いて、従来言われていた同細胞の骨芽細胞様細胞への形質転換が必須であるだけでなく、細胞のアポトーシスが重要であり、その分子機序として Gas6-Axl survival pathway の抑制が関与しており、スタチンはその経路を復活させアポトーシスを抑えることによって石灰化を抑制することを見出した。また、ラット腎不全モデルにおいて大動脈中膜に認められた石灰化に対しても、スタチンは著明な石灰化抑制作用を発揮し、その抑制効果は脂質や血圧、腎機能に影響を及ぼさない低濃度においても認められた。心血管組織の石灰化は、循環器疾患の診療を行う上で極めて重要な病態であるとともに治療のターゲットとなりうるため、今後スタチンが心血管石灰化を制御できる治療法の選択肢の一つになり得る可能性がある。

A. 研究目的

高齢者における心血管疾患の発症や病態には、加齢に伴う心血管組織の石灰化が重要な役割を果たしており、特に糖尿病や腎不全も含めた Chronic Kidney Disease (CKD)、高齢者においては血管石灰化を非常に多く認めることが知られている。そして、加齢による血管系の特徴的变化の一つとして、大動脈や筋性動脈における伸展性の低下であり、この主たる原因はこれらの血管石灰化による硬化の増大である。この心血管組織(血管や弁)石灰化は、その部位に受動的にカルシウム成分が沈着するだけでなく、同部位に骨基質蛋白や骨代謝制御因子が存在することから、骨組織における骨化ときわめて類似の能動的なメカニズムによって制御されているダイナミックな病態であることが想定されている。しかしながら、心血管組織石灰化の分子メカニズム及びその制御法に関する研究は、ほとんど進んでないのが現状であり、そのため心血管石灰化に対する根本的な治療は全く存在しない。

我々は、以前に「高齢糖尿病患者における血管石灰化に關与する因子」を横断的に探索するために、J-EDIT試験における登録患者の胸部X線写真における大動脈石灰化の有無によって2群に分け検討したところ、多

重ロジスティック回帰解析を行った結果、年齢・拡張期血圧・糖尿病性神経障害・メタボリック・シンドローム(NCEP分類)の各因子が5%の有意水準で有意な相関があることを確認した。また、高血圧や糖尿病性腎症などの腎不全患者にも高頻度に認められることから、生活習慣病が石灰化現象に寄与する可能性も強く示唆される。さらに、我々は高齢者(約150例)においても有意な相関をもって、腎機能(血清Cre値とCcr値)の悪化に伴い大動脈石灰化(腹部CT scanでの評価)が増加していることを確認した。

よって、今回の目的として、特に腎機能障害の病態における心血管組織石灰化がどのようなメカニズムで起こるのかを培養細胞系および動物モデルを用いて分子生物学的に明らかにし、関連因子の同定と役割の解明により、新たな治療法の開発につなげることである。さらには、高脂血症治療薬スタチン製剤により血管石灰化を抑制し得るか、そしてその詳細な分子生物学的機序も検討する。

B. 研究方法および結果

血管石灰化の発症機序の一つとして血清リン値(P)および血清カルシウム(Ca)値と血清リン値の積(Ca

XP)の上昇が重要と考えられている。糖尿病患者には腎機能障害および腎不全による透析症例が多く、それによる高リン血症も(血管石灰化も含めた)心血管イベントに関係していることが報告されている¹⁾。その事実注目し、我々はすでに培養系におけるリン(Inorganic phosphate: Pi)刺激によるヒト大動脈平滑筋細胞(HASMC)の石灰化誘導モデルを確立し、その機序の一つとしてNa依存性リン共輸送体(Na-dependent Phosphate Cotransporter: NPC)を介した血管平滑筋細胞の骨芽細胞様形質転換が重要であることを確認した。

さらに、HASMCの石灰化現象においてリン刺激によりアポトーシスが濃度依存的に増加し、Caspase阻害薬(ZVAD.fmk)により石灰化・アポトーシスともに有意に抑制されたことから、石灰化におけるアポトーシスの関与が示された。さらに、この過程において、アポトーシス調節因子でありビタミンK依存性分泌タンパクである「Gas6 (growth arrest-specific gene6)」とそのチロシンキナーゼ型受容体である「Axl」の発現及びGas6の分泌が減少することも発見した。一方、recombinant human Gas6 (rhGas6)添加は石灰化・アポトーシスをともに抑制し、Axlの細胞外ドメイン(Axl-ECD)によってその抑制効果がブロックされたことからAxlを介する作用と考えられた(図1)。リン刺激によるこのアポトーシスはPI3K-Akt依存性であり、さらに同刺激によりBcl2・Badのリン酸化が低下し、これらの現象もrhGas6添加により復元された。

現在、臨床研究における報告では、心血管石灰化に対し高脂血症治療薬であるHMG-CoA還元酵素阻害剤(スタチン)の作用はまだ議論の余地があるところではあるが、我々はこの培養系石灰化モデルを用いてスタチン(アトルバスタチン使用)の石灰化への作用を検討したところ、スタチンはNPC活性に対してスタチンは有意な抑制効果を示さなかったにもかかわらず、石灰化とともにアポトーシスを抑制し、リン刺激で減少されたGas6・Axlの発現、Akt、Bcl2・Badのリン酸化を回復させることによる効果であることを明らかにした(図2)。

さらに、血管石灰化に対するスタチンの作用を動物モデルにて検討するために、アデニンによるラット腎不全モデルを作成した。雄Wistarラット(12週)にアデニン(0.75%)含有餌を6週間投与し、さらに同時にプラバスタチン(10, 50, 100 mg/kg/day)を合計8週間飲水投与した。アデニン投与により著明な腎機能

障害(クレアチニン値:コントロール群 0.3 ± 0.04 vs. アデニン群 3.0 ± 0.9)が誘発された。大動脈石灰化をvon Kossa染色により評価したところ、投与開始8週後の最終時点において大動脈(特に上行大動脈~大動脈弓)に著明な石灰化が誘導され、またプラバスタチンは濃度依存的に著明な抑制作用を示した(図3)。血圧(収縮期血圧)はプラバスタチン中~高濃度において低下傾向を示し、また腎機能(血清Cre値)と総コレステロール値はプラバスタチン高濃度において低下傾向を示した(表1)。大動脈石灰化を定量化するために乾燥重量当たり的大動脈内カルシウムおよびリン含量($\mu\text{g}/\text{mg}$)を検討したところ、プラバスタチンは血圧や腎機能、脂質に影響を及ぼさない低濃度にて十分な石灰化抑制効果を認めた(図4)。また、血管切片においてTUNEL染色によりapoptosis所見を検討したところ、血管石灰化部位に一致しており、さらにスタチン投与によりapoptosis所見も抑制された。

C. 考察と今後の計画

リン刺激によるヒト血管平滑筋細胞の石灰化には、従来言われていた血管平滑筋細胞の骨芽細胞様細胞への形質転換が必須であるだけでなく、細胞のアポトーシスが重要であり、その分子機序としてGas6-Axl survival pathwayの抑制が関与しており、スタチンはその経路を復活させ、アポトーシスを抑えることによって石灰化を抑制することを見出した。

まず、以前から言われており、血管石灰化に重要とされている血管平滑筋細胞の骨芽細胞様細胞への形質転換において、その主要因子の一つに転写因子cbfa-1がある²⁾。今後、まず高リン刺激によりHASMCにおいてcbfa-1の発現(mRNAレベルや蛋白レベル)およびEMSAを用いて転写活性の制御について検討が必要と考えられる。また、オステオポンチンやマトリックスGla蛋白などのcbfa-1で制御される骨代謝関連因子の発現についても検討を加え、それらの発現に対してスタチン製剤の作用も検討をする必要がある。

さらに、今回の我々の研究において、もう一つの重要なメカニズムとしての石灰化に先行するアポトーシスに関して、より詳細な機序の解明が今後求められる。Gas6-Axl survival pathwayは細胞増殖や接着、遊走など様々な細胞機能を担っている経路であり³⁻⁶⁾、血管平滑筋細胞石灰化におけるその詳細な解明は報告が無い。今後は、Gas6の発現が高リン刺激によりどのよう

に制御されているのか、また、この経路に対するスタチンの保護効果の詳細な機序を細胞内シグナルの点から解明しなければならない。

また、今回、ラットの腎不全モデルを作成し著明な大動脈石灰化を誘導し得た。このモデルを用いて水溶性スタチンであるプラバスタチンの濃度依存性の石灰化抑制効果が確認できた。面白いことに、血圧や腎機能、脂質に影響を及ぼさない低濃度でもプラバスタチンは著明な抑制効果を示し、スタチンの新たな多面的作用 pleiotropic effect である可能性が示唆された。今後、さらなる機序の解明のために、血管における Gas6/Axl の発現やアポトーシスの関与などを検討したいと考えている。さらに、cbfa-1 の発現や石灰化部位との局在を組織学的にも検討する。動物実験における血管石灰化の評価は①大動脈における組織中 Ca 濃度測定と②von Kossa 染色にて行っているが、血管機能として摘出大動脈を用いた血管伸展性 (stiffness) を評価することも予定している。スタチンの心血管組織石灰化に対する作用は臨床研究において幾つか報告されており、レトロスペクティブな研究ではスタチン内服により大動脈弁石灰化の進行に抑制効果が見られたが^{7, 8)}、プロスペクティブ研究ではスタチンによる石灰化抑制効果は不十分であり^{9, 10)}、まだ議論の残すところである。そのため、我々が遂行している培養系および動物を用いた血管石灰化モデルにより、スタチンの作用を詳細に検討することは非常に重要である。

我々は基礎研究に平行して臨床的検討も進めている。当科外来もしくは入院中の患者を対象とし、石灰化の評価として①側面 X 線による腹部大動脈石灰化、②腹部 CT scan による腹部大動脈石灰化、③心エコーによる大動脈弁石灰化をスコア化することにより心血管石灰化の臨床指標を得て、石灰化の程度を規定する因子を検討している。具体的には、生活習慣病との血管壁硬化の定量 (脈波伝播速度 PWV)、脂質 profile や血管障害マーカーとして高感度 CRP、Adiponectin、PAI-1、Homocysteine、MCP-1、血管石灰化関連マーカーとして可溶性 RANKL と osteoprotegerin の血中濃度など幅広く測定している。すでに横断調査により心血管石灰化と血圧 (特に脈圧) との有意な相関が認められ、今後も経年変化として縦断調査を施行し、石灰化の進行および脳心血管イベントの規定因子を探索したいと考えている。

心血管組織の石灰化は、高齢者循環器疾患において極めて重要な病態であるとともに、治療のターゲット

となりうる。心血管石灰化を制御することができれば、心血管を“若くしなやかに”保つことが可能となり、石灰化を背景とした循環器疾患の発症・進展を抑制することができると思われる。本研究では、あまり研究の進んでいない心血管組織石灰化の分子メカニズムを新しい視点から明らかにし、それに基づいてスタチン製剤が今後新たな治療法の選択肢としての可能性があることが示唆された。

【参考文献】

- 1) Marcello Tonelli, Frank Sacks, Marc Pfeffer, Zhiwei Gao, Gary Curhan for the Cholesterol And Recurrent Events (CARE) Trial Investigators. Relation Between Serum Phosphate Level and Cardiovascular Event Rate in People With Coronary Disease. *Circulation* 2005; 112: 2627-2633.
- 2) Engelse MA, Neele JM, Bronckers AL, Pannekoek H, de Vries CJ. Vascular calcification: expression patterns of the osteoblast-specific gene core binding factor alpha-1 and the protective factor matrix gla protein in human atherogenesis. *Cardiovasc Res.* 2001;52:281-289.
- 3) Yanagita M, Arai H, Ishii K, Nakano T, Ohashi K, Mizuno K, Varnum B, Fukatsu A, Doi T, Kita T. Gas6 regulates mesangial cell proliferation through Axl in experimental glomerulonephritis. *Am J Pathol.* 2001;158:1423-1432.
- 4) Goruppi S, Ruaro E, Schneider C. Gas6, the ligand of Axl tyrosine kinase receptor, has mitogenic and survival activities for serum starved NIH3T3 fibroblasts. *Oncogene.* 1996;12:471-480.
- 5) Nakano T, Ishimoto Y, Kishino J, Umeda M, Inoue K, Nagata K, Ohashi K, Mizuno K, Arita H. Cell adhesion to phosphatidylserine mediated by a product of growth arrest-specific gene 6. *J Biol Chem.* 1997;272:29411-29414.
- 6) Fridell YW, Villa J Jr, Attar EC, Liu ET. Gas6 induces Axl-mediated chemotaxis of vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 1998;273:7123-7126.
- 7) Shavelle DM, Takasu J, Budoff MJ, Mao S, Zhao XQ, O'Brien KD. HMG CoA reductase inhibitor (statin) and aortic valve calcium. *Lancet.* 2002;359:1125-1126.
- 8) Novaro GM, Tiong IY, Pearce GL, Lauer MS,

Sprecher DL, Griffin BP. Effect of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on the progression of calcific aortic stenosis. *Circulation*. 2001;104:2205-2209.

9) Callister TQ, Raggi P, Cooil B, Lippolis NJ, Russo DJ. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on coronary artery disease as assessed by electron-beam computed tomography.

N Engl J Med. 1998;339:1972-1978.

10) Cowell SJ, Newby DE, Prescott RJ, Bloomfield P, Reid J, Northridge DB, Boon NA. A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis. *N Engl J Med*. 2005;352:2389-2397.

D. 研究発表

1. 論文発表

1) Son BK, Kozaki K, Iijima K, Eto M, Nakano T, Akishita M, Ouchi Y. Gas6/Axl-PI3K/Akt pathway plays a central role in the effect of statins on inorganic phosphate-induced calcification of vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol*. 2007;556:1-8.

2) Son BK, Kozaki K, Iijima K, Eto M, Kojima T, Ota H, Senda Y, Maemura K, Nakano T, Akishita M, Ouchi Y. Statin Protects Human Aortic Smooth Muscle Cells from Inorganic Phosphate-induced Calcification by Restoring Gas6-Axl Survival Pathway. *Circ Res*. 2006;98:1024-31.

3) Ota H, Tokunaga E, Chang K, Hikasa M, Iijima K, Eto M, Kozaki K, Akishita M, Ouchi Y, Kaneki M. Sirt1 inhibitor, Sirtinol, induces senescence-like growth arrest with attenuated Ras-MAPK signaling in human cancer cells. *Oncogene*. 2006;25(2):176-85.

4) Eto M, Toba K, Akishita M, Kozaki K, Watanabe T, Kim S, Hashimoto M, Ako J, Iijima K, Sudoh N, Yoshizumi M, Ouchi Y. Impact of blood pressure variability on cardiovascular events in elderly patients with hypertension. *Hypertens Res*. 2005 ;28(1):1-7.

5) Ohike Y, Kozaki K, Iijima K, Eto M, Kojima T, Ohga E, Santa T, Imai K, Hashimoto M, Yoshizumi M, Ouchi Y. Amelioration of vascular endothelial dysfunction in obstructive sleep apnea syndrome by nasal continuous positive airway pressure—possible involvement of nitric oxide and asymmetric NG, NG-dimethylarginine. *Circ J*.

2005;69(2):221-6.

6) Nakamura T, Akishita M, Kozaki K, Toba K, Orimo H, Ouchi Y. Influence of sex and estrogen on vitamin D-induced arterial calcification in rats. *Geriatr Gerontol Int*. 2003;3:145-149.

2. 学会発表

1) 飯島勝矢、伊藤友紀、孫輔卿、江頭正人、大池裕美子、小島太郎、大田秀隆、小林貴、秋下雅弘、大内尉義 プラバスタチンの腎不全ラットモデルにおける大動脈石灰化抑制作用 Pravastatin inhibits aortic calcification in uremic rats induced by adenine diet. 日本動脈硬化学会 総会・学術集会 2006年6月東京

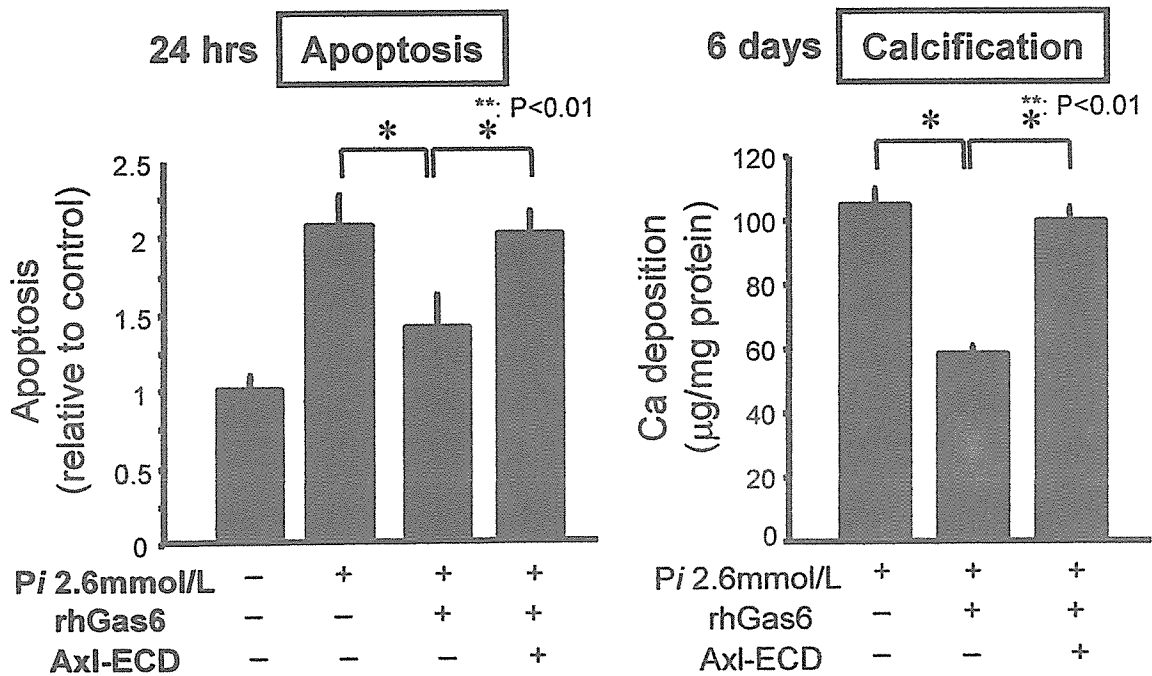
2) Iijima K, Ito Y, Son BK, Eto M, Ogawa S, Ohike Y, Kojima T, Ota H, Hashimoto H, Yamada Y, Fukai S, Akishita M, Ouchi Y. Angiotensin-II Receptor Blocker Enhances the Inhibitory Effect of Statins on Vascular Calcification in Uremic Rats Induced by Adenine Diet. 日本循環器学会学術集会 2007年3月神戸

E. 健康危険情報

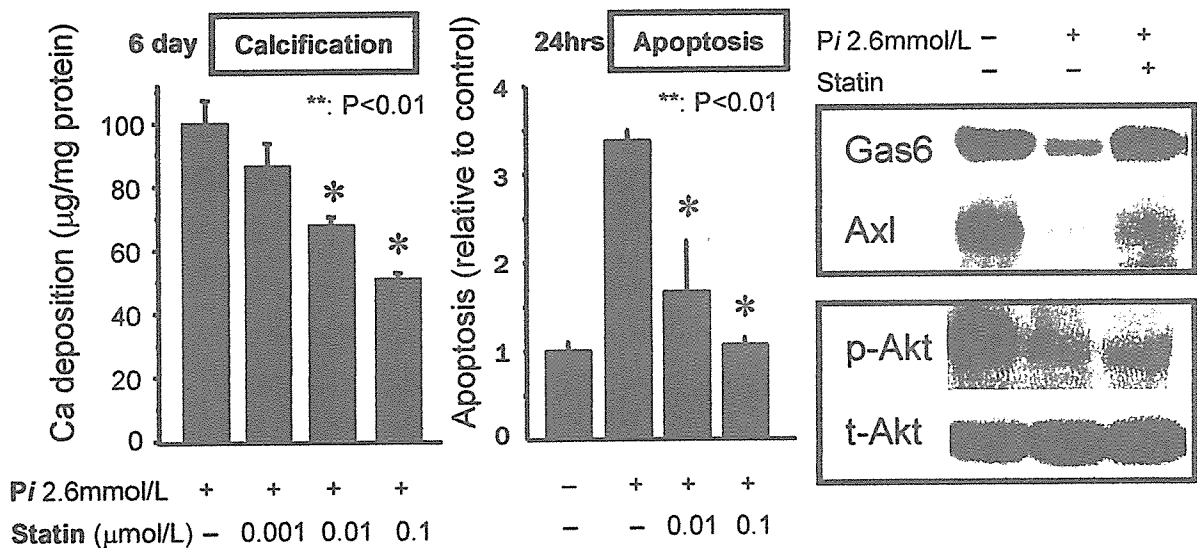
なし

F. 知的財産権の出願、登録状況

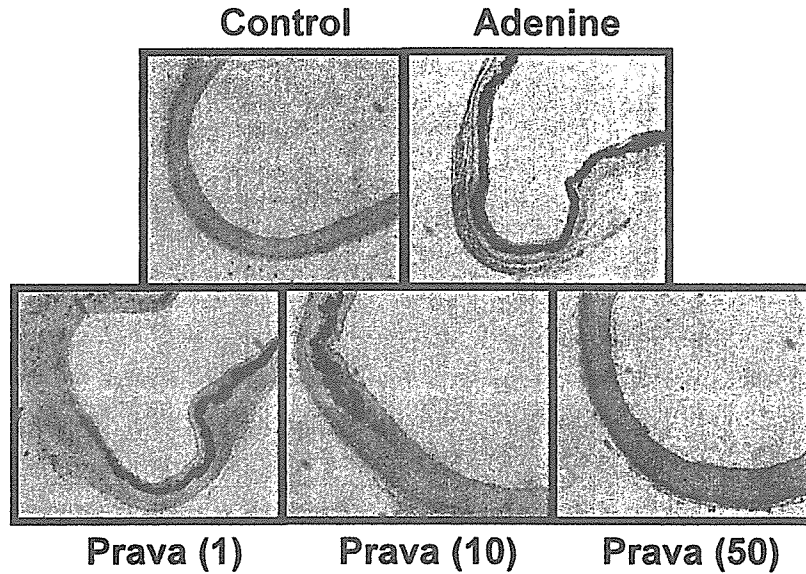
なし



<図1>リン (Inorganic phosphate: Pi) 刺激によるHASMC石灰化およびアポトーシスに対するGas6/Axl pathwayの関与



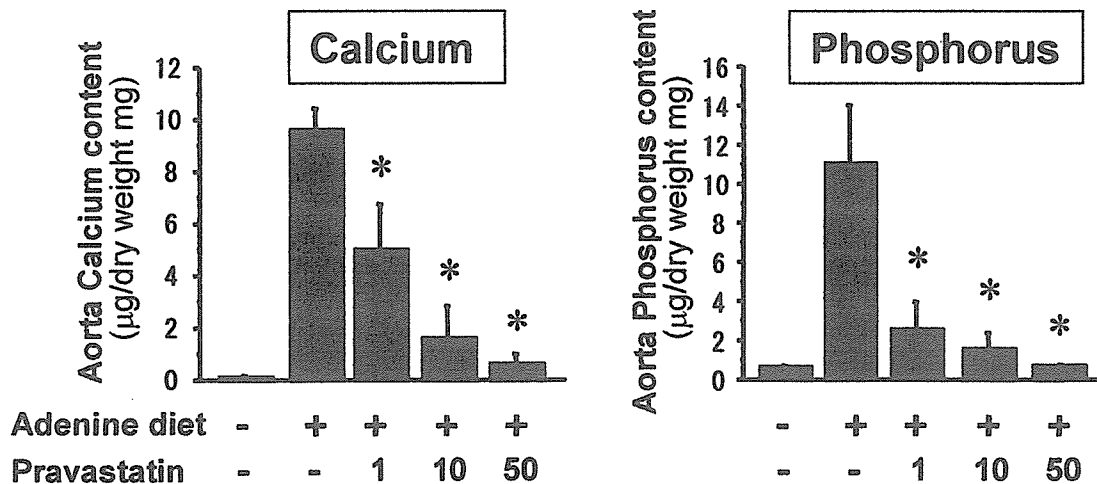
<図2> スタチンのGas6/Axl pathwayを介したアポトーシス制御によるHASMC石灰化の抑制作用 (Statin: Atorvastatin)



<図3>ラット腎不全モデルにおける大動脈石灰化に対するプラバスタチン投与による効果 (von Kossa染色;()内はmg/kg/day)

<表1> 血圧および血清データ(クレアチニン、カルシウム、リン、総コレステロール)に対するプラバスタチン投与による効果 (*: p<0.05 vs. adenine diet without drug treatment)

<Group>	<systolic BP>	<Cre>	<Ca>	<P>	<T-cho>
Control	125.0±5.6	0.3±0.0	10.6±0.5	9.8±0.9	81.8±6.7
Adenine	171.5±16.9	3.0±0.9	8.9±1.7	18.9±4.7	215.5±64.1
Pravastatin (1)	173.3±7.9	2.9±0.8	8.6±2.0	14.8±4.7*	198.0±74.7
Pravastatin (10)	146.1±23.7	2.7±0.6	7.1±1.9	17.6±4.2	208.0±80.8
Pravastatin (50)	141.1±23.0*	2.2±0.5*	7.2±1.3	15.7±3.0	155.6±17.8*



Mean±SD *: p<0.05 vs adenine diet without drug treatment

<図4>ラット腎不全モデルにおける大動脈内カルシウム含量およびリン含量に対するプラバスタチン投与による効果

厚生労働科学研究研究費補助金

長寿科学総合研究事業

高齢者糖尿病に対する総合診療体制確立のための総合的研究
—無作為化比較研究（J-EDIT）を中心に—

（H17-H18年 分担研究課題）

高齢者糖尿病における日常生活活動の低下の規定要因に関する検討（4年間追跡調査）および主観的幸福感（QOL）や抑うつ状態の変化に及ぼす臨床要因に関する検討（2年間追跡研究）

分担研究者 （財）東京都保健医療公社多摩北部医療センター 中野忠澄、

研究要旨：高齢糖尿病患者におけるADLおよび運動量の低下規定要因を4年間の追跡から検討し、日常生活動作（ADL）および運動量の増進・向上に資することを目的とした。さらに、高齢糖尿病患者ではいかなる臨床要因が主観的幸福感（QOL）の維持・向上や抑うつ状態の軽減や改善に寄与するかにつき2年間追跡し検討することをもうひとつの目的とした。対象は、歩行や視力に重度の障害、痴呆または重症疾患がなく、外来通院が可能で4年間追跡し得た60才以上の糖尿病患者130例（男性70例、女性60例、年齢 72.0 ± 6.1 才）である。これら対象に関し、まず追跡開始時、2年後および4年後の臨床成績、ADLおよび運動量を調査し、その間に認められたADLおよび運動量の変化と合併症の発症・進展を含む臨床成績との関係につき検討した。さらに、主観的幸福感（QOL）および抑うつ状態（GDS）の状態および推移に影響を及ぼす臨床要因につき追跡開始時および2年後に検討した。その結果、まず（1）4年間で、ADLおよび運動量は有意に低下した。（2）4年間における運動量の低下は開始時運動量やHbA1cと関連し、ADLの低下は開始時ADLや糖尿病合併症と関連していた。また、QOLおよびGDSについては、（3）開始時低QOLは、高GDS、女性、治療法と、また高GDSは低QOL、低手段的日常生活動作（低ADL）、低運動量、動脈硬化性疾患と有意に相関した。（2）2年間におけるQOLの低下にはGDS悪化、開始時低QOL、網膜症の進展、血清脂質降下薬不使用と、またGDSの増悪は開始時QOL低下、GDS高値、降圧薬使用が、それぞれ有意に相関した。

以上、高齢者糖尿病においては、（1）および（2）から、運動量の増加がHbA1cの改善に寄与し、ひいては合併症を防止することによりADLを保持増進しうる可能性が示唆される。また、（3）および（4）の成績から、QOL低下や

GDS 増悪に關与する臨床要因を併有する患者は、QOL 低下やうつ傾向へのハイリスク群となることが示唆された。

A. 研究目的

高齢者糖尿病においては、高齢という因子と糖尿病という因子を併せ持つ。いうまでもなく、これらの因子はいずれも、日常生活動作 (ADL) を低下させ、運動量の低下を招くものと考えられる。そこで、高齢糖尿病患者における日常生活活動を ADL および運動量の面から 2 年ごとに 4 年間追跡・評価し、それらの低下規定要因を検討すること、および高齢糖尿病患者ではいかなる臨床要因が 2 年間追跡した主観的幸福感 (QOL) の維持・向上や抑うつ状態の軽減や改善に寄与するかにつき検討することを目的とした。

B. 研究方法

歩行や視力に重度の障害、痴呆または重症疾患がなく、外来通院が可能で 4 年間追跡し得た 60 才以上の糖尿病患者 130 例 (男性 70 例、女性 60 例、年齢 72.0 ± 6.1 才; 平均 \pm 標準偏差、以下同様、罹病期間 13 ± 9 年、糖尿病家族歴 48 %、BMI 23.7 ± 3.3 、治療法は食事 21%: 経口剤 63%: インスリン注射 16%、HbA1c 6.9 ± 1.0 %、網膜症 36 %、神経障害 61 %、腎症 46 %、高血圧症治療者 46 %、高脂血症治療者 25 %、動脈硬化性疾患 27 %) を対象として、日常生活活動を、ADL は「老研式活動能力指標」

により、運動量は「Beacke の日常生活活動」により評価した。2 年間および 4 年間に認められた ADL および運動量の変化と臨床成績を含め合併症の発症・進展との関係につき検討した。主観的幸福感 (Philadelphia Geriatric Center モラール・スケール改訂版、17 項目、以下 QOL と略) と抑うつ状態 (Geriatric Depression Scale 簡易版、15 項目、以下 GDS と略) を比較し、QOL や GDS の推移およびそれらに影響を及ぼす臨床要因につき検討した。統計処理には、t 検定、 χ^2 検定、分散分析、分割表分析、ステップワイズ回帰分析を用い、検定結果は $p < 0.05$ をもって有意とした。

C. 研究結果

(1) 4 年間で、ADL (手段的 ADL) および運動量 (レジャー活動) は有意に低下した (表 1)。(2) 2 年後の ADL 低下は、追跡開始時の低 ADL およびコレステロール低値と有意に関連し、4 年後の ADL の低下は、高齢および中性脂肪高値と、また網膜症および動脈硬化症の発症・進展とそれぞれ有意に関連した (表 2)。(3) 2 年後の運動量の低下は、HbA1c の高値と有意に関連したが、合併症の発症・進展とは 4 年後においても有意の関連はなかった (表 2)。

(4) 2年後および4年後のADLおよび運動量の低下と、追跡開始時の臨床成績および経過中に認められた合併症の有無との関連性を回帰分析により検討した。2年後のADL低下と有意に関連したのは、開始時低ADLと網膜症であり、4年後では開始時の高齢、血清クレアチニン高値および網膜症であった(表3)。一方、2年後、4年後のいずれにおいても、運動量の低下に有意に関連したのは、開始時低運動量であったが、これを除くとHbA1cの高値であった(表4)。

一方、QOLおよびGDSに関しては、

(1) 2年間の追跡では、QOLおよびGDSについて有意の変化は見られなかったが、それぞれ低下および増加の傾向が見られた(図1)。(2) 開始時のQOLおよびGDSと関連する20臨床要因を検討したところ、QOL(低値)は、GDS(高値)、性別(女性)、治療法(非薬物療法)($p < 0.001$ 、表5)と、またGDS(高値)はQOL(低値)、開始時ADLことに社会的役割(低値)、運動量(低下)および動脈硬化性疾患の存在と有意に関連した($p < 0.001$)(表6)。(3) 2年間におけるQOLおよびGDSの変化とADL・運動量を含む22臨床指標および変化指標(2年間)としての合併症(神経障害、網膜症、腎症、動脈硬化性疾患)発症または進展、QOL維持・向上またはGDS軽減との関連性を回帰分析により検討した。その結果、QOLの低下にはGDS(2年間に

悪化)、開始時QOL(低値)、網膜症(発症や進展)および血清脂質降下薬不使用(表7)が、またGDSの増悪にはQOLの低下、開始時GDS(高値)および降圧薬使用(表8)が、それぞれ有意に関連していた。

D. 考察

4年間に見られた運動量の低下は開始時運動量に規定されるがHbA1cとの関連性も深いことが示唆された。一方、ADLの低下は開始時ADLのほか糖尿病合併症との関わりの大きいことが認められた。このことは、高齢者糖尿病においては、レジャー活動をはじめとする運動量の増加によりHbA1cの改善を図ることが重要であり、そのコントロールによって合併症を防止することにより、高齢患者のADLを保持増進しうる可能性を示唆したものとして、重要な知見と考えられる。

一方、高齢者糖尿病において臨床諸因子が継時的にQOLと抑うつ状態に及ぼす影響に関する検討は十分にはなされていない。今回の研究は、こうした課題に対するひとつの成績を示したものと考えられる。すなわち、今回の検討から、高齢糖尿病患者では、ADLや運動量の変化を含む臨床諸指標との関連性を検討した結果、QOL高値は、うつ状態軽度、男性、治療法(薬物療法)、総コレステロール(高値)と有意に関連し、うつ状態高度は、QOL低値、ADL低値、治療法

(薬物療法)と有意に関連していたことを報告した。

E. 結論

4年間で、ADL および運動量は有意に低下した。4年間における運動量の低下は開始時運動量やHbA1cと関連し、ADLの低下は開始時ADLや糖尿病合併症と関連していた。以上から、高齢者糖尿病においては、運動量の増加がHbA1cの改善に寄与し、ひいては合併症を防止することによりADLを保持増進しうる可能性が示唆された。

また、2年間では、主観的幸福感(QOL)および抑うつ状態(GDS)は、有意な変化ではなかったが、それぞれ低下および増悪の傾向は見られた。高齢糖尿病患者では上記の臨床要因がQOLの維持・向上や抑うつ状態の軽減・改善に寄与することが示唆された。一方、それとは反対の臨床要因を併有する患者は、QOL低下やうつ傾向へのハイリスク群となることが示唆され、今後さらに増大する高齢糖尿病患者の診療ならびに療養指導上留意すべきことと考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 中野忠澄：認知症を有する糖尿

病例、ホルモンと臨床、53(秋季増刊号):85-91, 2005.

2) 中野忠澄：高齢者糖尿病治療ガイドライン、日本臨床、64:64-69, 2005.

3) 中野忠澄：男性更年期と生活習慣病、男の更年期、奥山明彦編、昭和堂、京都、2005年、P39-48

4) 中野忠澄：糖尿病における脳血管障害の病態と治療からだの科学247:54-59, 2006.

5) 中野忠澄：高齢者糖尿病の疫学—現状と特徴、Geriatric Medicine(老年医学)44:277-284, 2006.

2. 学会発表

1) 中野忠澄、藤田寛子、宮川高一、井藤英喜：高齢者糖尿病患者における日常生活活動低下の規定要因に関する検討(4年間追跡研究)。第48回日本糖尿病学会総会。2005.5.12-14. 神戸

2) T. Nakano, H. Fujita, T. Miyakawa, H. Ito: Risk analysis for decrease in activities of daily living and physical activity in the elderly patients with type 2 diabetes mellitus using 4-year prospective follow-up study. 41th European Association for the Study of Diabetes (EASD). 2005.9.10-15. Athens, Greece

3) Tadasumi Nakano, Hideki Ito: Epidemiologic State of Diabetes Mellitus in Old Age

in Japan. 13th Korea-Japan
Symposium on Diabetes Mellitus.
2005. 11. 12-13, Seoul, Korea

4) 中野忠澄、藤田寛子、加納稔子、
宮川高一、井藤英喜:高齢糖尿病患者
ではいかなる臨床要因が主観的幸福
感(QOL)の維持や向上や抑うつ状態
の軽減や改善に寄与するか(2年間
追跡研究). 第49回日本糖尿病学会
総会. 2006. 5. 25-27. 東京

5) M. Kato, N. Kato, T. Nakano,
H. Fujii, T. Smith, T. Miyakawa : Use

of broad technology and remote
diagnosis of diabetic retinopathy.
The 42th Annual Meeting of the
European Association for the Study
of Diabetes. 2006. 9. 12-17.
Copenhagen, Denmark

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし