

論文の内容の要旨

2 型糖尿病ラットにおけるシロスタゾールの脳微小血管内皮機能改善効果

学位申請者 塚本 祐子

キーワード：シロスタゾール 糖尿病 血管内皮細胞機能 微小血管造影
奇異性血管反応

近年増加傾向にある 2 型糖尿病は脳梗塞の重大なリスクファクターである。本邦において、脳血管障害による死亡率は減少傾向にあるものの未だ上位であり、糖尿病による脳血管障害の病態解明および治療は重要な課題である。糖尿病は、高血糖による血管内皮細胞障害や、脳血管の自動調節能を低下させることにより、動脈硬化を促進し脳梗塞を引き起こすと考えられており、抗血小板薬であるシロスタゾールは phosphodiesterase 3 (PDE3) 阻害作用により細胞内 Cyclic-AMP (cAMP) 濃度を上昇させ、抗血小板作用のみならず血管拡張作用、血管新生作用、脳白質機能の改善効果など多面的な作用を有することが知られており、血管内皮細胞に保護的に作用すると考えられている。臨床では主に糖尿病や高血圧を有するラクナ梗塞患者の発症予防に有用であることが知られているが、その詳細な作用機序は不明である。

本研究では、2 型糖尿病モデルラットを用いて、糖尿病が脳微小血管にもたらす動脈硬化に先んじて生じる血管内皮細胞機能障害を検出し、シロスタゾールの長期投与が糖尿病ラットにもたらす血管内皮機能改善効果を多面的に検討した。血管内皮細胞機能が正常の血管では、アセチルコリンを投与し血管内皮細胞に作用すると、血管内皮細胞由来の血管弛緩因子である一酸化窒素 (Nitric Oxide, NO) が分泌され、血管が拡張する。一方で、血管内皮細胞機能が障害されている血管ではアセチルコリンが血管平滑筋に直接作用するため、血管が収縮する奇異性血管反応が生じる。そこで本研究ではこの奇異性血管反応についても検討した。さらに電子顕微鏡を用いて線条体、大脳皮質の各部位ごとに脳微小血管の構造変化を観察し、血小板凝集能、血液凝固能を測定した。

2 型糖尿病動物モデルとして Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat (OLETF) ラットを使用した。5 週令時に、0.1%シロスタゾール投与群 (CG) とコントロール群 (VG) に分類した。生理学的パラメーターを 3 ヶ月、6 ヶ月目に測定し、大型放射光施設 SPring-8 で得られる X 線源を用いた。生体内における頭蓋内血管の微小血管障害を可視化し、アセチルコリン投与による動的な血管径の変化を観察し、血管径を計測した。また、ウェスタンブロット法を用いて線条体と大脳皮質の各部位における内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS)、リン酸化 eNOS (peNOS)、VEGF のタンパク発現を検討した。さらに電子顕微鏡で脳微小血管の血管内皮細胞構造の形態学的変化を観察した。

その結果、脳微小血管の血管径は、VG ではアセチルコリン投与により血管径が狭小化する

る奇異性の血管収縮反応が認められたが、CG では血管はアセチルコリンを投与すると血管は拡張した。またタンパク発現量では、CG は VG と比較し大脳皮質と線条体領域の eNOS 活性が亢進しており、特に線条体で VEGF タンパク質の発現量が有意に増加した。電子顕微鏡による血管内皮構造の観察では、VG では基底膜が破綻している所見が認められたが、CG では血管内皮細胞の構造が維持されていた。生理学的パラメーターでは、3 ヶ月目に血清グルコース値は CG で有意に上昇し、同時期に体重も増加傾向がみられた。血液凝固系マーカーである白血球複合体 (WBC-complex)、血小板凝集能 (platelet aggregation) は、6 ヶ月値で CG で低下する傾向がみられ、fibrinogen は 3 カ月値には VG は CG と比較し有意に低かったが、6 ヶ月値は CG が低値となり、シロスタゾールの長期投与による血小板凝集能抑制効果は、糖尿病モデルラットでも認められた。

本研究は生体内で脳微小血管領域におけるアセチルコリン投与による奇異性血管反応を可視化することができた。糖尿病モデルラットにシロスタゾールを投与した結果、アセチルコリン反応性の変化は正常な血管弛緩反応に改善したが、改善率は血管径が小さくなるほど低下する傾向にあった。この背景として血管内皮細胞由来の血管弛緩因子には NOのほか、内皮由来過分極因子 (endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF) が知られており、EDHF は大血管よりも微小血管の血管弛緩反応に働くため、シロスタゾールが血管内皮細胞障害を抑制し、NO および EDHF の働きを改善した可能性がある。さらにシロスタゾールは Akt-eNOS 経路を活性化し NO 産生を増加させるが、本結果でも線条体、大脳皮質ともに CG で eNOS 活性が亢進する傾向がみられたことから、eNOS を介した血管弛緩反応の改善は大脳深部白質、大脳表層のいずれの部位においても改善すると考えられた。また、特に CG で線条体領域の VEGF タンパクの発現量の増加がみられたことから、ラクナ梗塞の原因となる大脳穿通枝領域においても血管新生を誘導する可能性があり、シロスタゾールが大脳白質障害に有効であると考えられる。

本研究では 2 型糖尿病実験動物モデルを利用することにより、シロスタゾールの長期投与は糖尿病血管内皮細胞障害を改善し、シロスタゾールは糖尿病性微小血管障害の早期治療選択として有用であると考えられた。