

## 食後高血糖が血管反応性に及ぼす影響

座間味義人,<sup>a</sup> 高取真吾,<sup>b</sup> 岩谷有希子,<sup>a</sup> 山脇康佑,<sup>a</sup> 宮下智子,<sup>a</sup>  
藪前奈々,<sup>a</sup> 高山房子,<sup>a</sup> 見尾光庸,<sup>c</sup> 川崎博己<sup>\*,a</sup>

Effect of Postprandial Hyperglycemia and Hyperinsulinemia  
on Vascular Responsiveness

Yoshito ZAMAMI,<sup>a</sup> Shingo TAKATORI,<sup>b</sup> Yukiko IWATANI,<sup>a</sup> Kousuke YAMAWAKI,<sup>a</sup> Satoko MIYASHITA,<sup>a</sup>  
Nana YABUMAE,<sup>a</sup> Fusako TAKAYAMA,<sup>a</sup> Mitsunobu MIO,<sup>c</sup> and Hiromu KAWASAKI<sup>\*,a</sup>

<sup>a</sup>Department of Clinical Pharmaceutical Science, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, 1-1-1 Tsushima-naka, Okayama City 700-8530, Japan, <sup>b</sup>Pharmacology Department, Discovery Research Laboratories, Nippon Shinyaku Co., Ltd, 14 Nishinoshō-Monguchi-cho, Minami-ku, Kyoto 601-8550, Japan, and <sup>c</sup>Department of Pharmacology, Shujitsu University School of Pharmacy, 1-6-1 Nishigawara, Okayama City 703-8516, Japan

(Received October 31, 2007)

Recent clinical studies demonstrated that transient postprandial hyperglycemia and hyperinsulinemia may contribute to the development of hypertension. Therefore, we investigated influence of acute hyperglycemia and/or hyperinsulinemia induced by glucose or insulin infusion on neuronal and humoral control of vascular tone in rats. Euglycemic male Wistar rats were pithed under anesthesia and arterial blood pressure was measured. Changes in vascular responses to spinal cord stimulation (SCS) and intravenous bolus injections of noradrenaline, angiotensin II, calcitonin gene-related peptide (CGRP), acetylcholine and sodium nitroprusside (SNP) were studied by infusing various concentration of glucose or insulin. Continuous glucose infusion, which increased both blood glucose and serum insulin levels, significantly augmented adrenergic nerve-mediated pressor responses to SCS without affecting injection of pressor responses to noradrenaline or angiotensin II. In pithed rats with artificially increased blood pressure and blockade of autonomic outflow, glucose infusion attenuated CGRPergic nerve-depressor responses to SCS without affecting depressor responses to injection of CGRP, acetylcholine or SNP. In pithed rats treated with octreotide, which increased blood glucose without increasing serum insulin levels, glucose infusion caused only significant augmentation of adrenergic nerve-mediated pressor responses. Combined infusion of insulin and glucose, which resulted in increased serum insulin levels with euglycemic, significantly augmented adrenergic nerve-mediated pressor responses and attenuated CGRPergic nerve-mediated depressor responses. The present results suggest that acute hyperglycemia and hyperinsulinemia increases adrenergic nerve-mediated vasoconstriction, which is partly associated with the blunted CGRPergic nerve function, and that plasma insulin concentration associated with hyperglycemia may be responsible for alteration of neuronal vascular regulation.

**Key words**—hyperglycemia; hyperinsulinemia; Calcitonin gene-related peptide nerve

## 1. はじめに

疫学的な研究において、糖尿病患者の約40%が高血圧を合併していることから糖尿病と高血圧の関

連性が示唆されている。<sup>1-3)</sup> 糖尿病の病態には血糖値とインスリン分泌動態が関与していて、正常人では食後の血糖の上昇に対してすぐにインスリンが分泌され速やかに血糖値が下がるのに対して、近年、増加傾向にある糖尿病発症以前の糖尿病予備群の患者では、空腹時血糖値は正常な値を示すが、過食や運動不足などといった環境因子によってインスリン抵抗性が存在するために食後の高血糖が起こる。さらに悪いことにはそれを代償するためにインスリンが遅れて過剰に分泌され高インスリン血症を

<sup>a</sup>岡山大学大学院医歯薬学総合研究科臨床薬学分野 (〒700-8530 岡山市津島中 1-1-1), <sup>b</sup>日本新薬株式会社創薬研究所 (〒601-8550 京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 14), <sup>c</sup>就実大学薬学部薬効解析学分野 (〒703-8516 岡山市西川原 1-6-1)

\*e-mail: Kawasaki@pheasant.pharm.okayama-u.ac.jp  
本総説は、日本薬学会第127年会シンポジウムSD6で発表したものを中心に記述したものである。

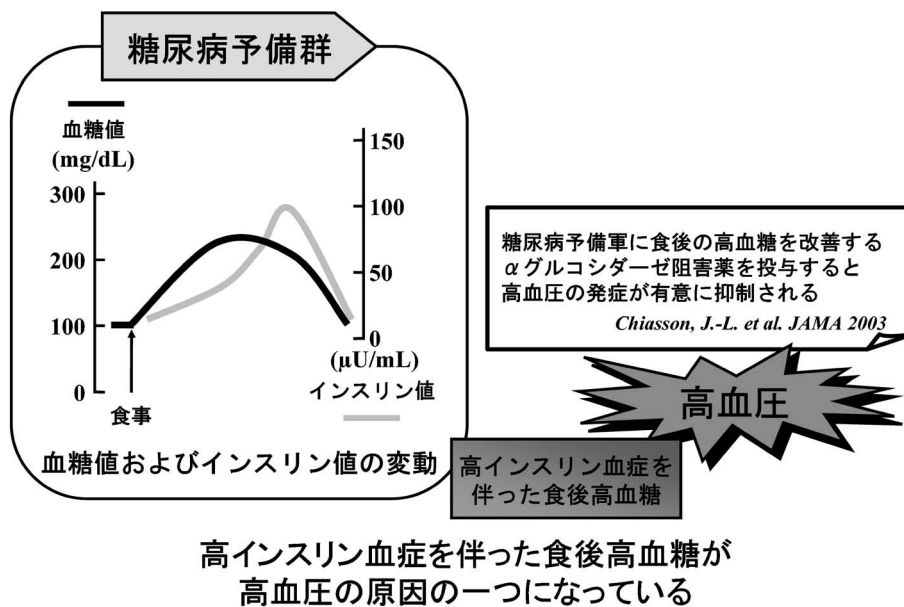


Fig. 1. Transient Postprandial Hyperglycemia and Hyperinsulinemia May Contribute to the Development of Hypertension

呈する。このような症例の患者に食後の高血糖を抑える  $\alpha$ -グリコシダーゼ阻害薬 ( $\alpha$ -GI) を投与すると高血圧の発症が有意に抑制されるという報告<sup>4,5)</sup>があることから、食後高血糖が糖尿病における高血圧の原因の1つになっていると考えられている (Fig. 1)。

血圧は血管の緊張度により決定され、血流量と血管抵抗の積で表される。血管は全身の各臓器に必要な量の血液を過不足なく供給するため緊張を維持する必要があり、持続的な調節を受けている。その調節機構は神経性調節と体液性調節に大別され、主な神経支配としては長年、交感神経による一重支配と考えられていた。しかし、われわれは血管には交感神経ばかりでなく、強力な血管弛緩作用を持つカルシトニン遺伝子関連ペプチド (calcitonin gene-related peptide; CGRP) を伝達物質とする血管拡張性神経が存在し、交感神経との相反支配によって抵抗血管の緊張度調節に関与していることを明らかにしてきた。<sup>6)</sup> また、体液性調節因子として血管緊張度を調節する angiotensin II は糖尿病の血管合併症の成因に関与していると考えられている。<sup>7)</sup> さらに血管の内腔側に一層の細胞群として存在する血管内皮細胞も収縮因子と弛緩因子を放出して血管緊張度を調節している。<sup>8)</sup>

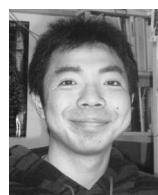
糖尿病状態では、血管反応の異常が多く報告されている。<sup>9-13)</sup> われわれもフルクトースを長期間飲水

させて作製したインスリン抵抗性モデルラットでは交感神経機能が亢進し、CGRP 神経機能は減弱することを明らかにしている。<sup>14)</sup> しかしながら血管緊張度調節機構に食後の高血糖がどのように影響を及ぼすかは明らかにされていない。

そこで本研究では、中枢神経性の循環反射が消失した脊髄穿刺ラットを用いて、食後高血糖を想定した急性の高血糖と高インスリン血症が共存する状態における神経性及び血管作動物質による血圧反応を *in vivo* 系において検討した。また高血糖あるいは高インスリン血症の各単独状態下における血圧反応も同様に検討した。

## 2. 食後高血糖を想定した急性高血糖及び高インスリン状態における血管反応性

インスリン抵抗性や高血糖の暴露期間といった要因を除外して食後高血糖のみの影響を評価するために、糖尿病モデルラットを用いるのではなくあえて正常血糖を示す Wistar 系雄性ラットを用いた。Pentobarbital 麻酔下に脊髄穿刺ラット (pithed rat) を作製し、頸静脈より 15-25% グルコースを持続注



座間味義人

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科臨床薬学、博士後期過程3年、沖縄出身。研究テーマ：糖尿病病態時における血管反応性の変化に関する研究。特技：島唄を歌いながらエアートレーニング。趣味：スノーボード、サッカー。目標：ゴーヤー博士。

入すると、注入量に依存して血糖値は急速に増加し、容量と浸透圧のコントロールとして用いた生理食塩液及びマンニトール持続注入に比べて高値を維持し定常状態となった。また血糖値の上昇により膵臓からのインスリン分泌が引き起こされ、血清中インスリン値も、コントロールに比べて高い値を示した。このとき観察された高血糖、高血中インスリン値は、糖代謝異常を示す糖尿病前段階の動物モデルである obese Zucker rats における糖負荷試験後のピーク値と近い値であった。<sup>15)</sup> したがって本研究で用いたグルコース注入法による急性的な高血糖と高血中インスリンが共存する状態は耐糖能異常患者や糖尿病患者でみられる高インスリン血症を伴った食後高血糖状態に近い状態になっていると考えることができる。

また、このときの平均血圧は生理食塩液持続注入ではほとんど変化しなかったのに対して、グルコース及びマンニトール持続注入では血圧はわずかに 2-6 mmHg 程度上昇したが、注入前後で有意な差は認められなかった。中枢神経による血管緊張調節と神経性循環反射が喪失した脊髄穿刺ラットにおいて、血圧は心拍出量と血管抵抗のみで維持されている。したがって、グルコース注入により血圧上昇は観察されなかったため、急性的な高血糖と高血中インスリンは直接的に血管平滑筋に影響を及ぼさないと推察される。

一方、グルコース注入群における脊髄胸髄下部 (Th 9-12) の電気刺激 (2-8 Hz) による心拍数の変化を伴わない血圧上昇反応はコントロール群の約 1.5 倍と大きくなった。脊髄穿刺ラットにおける脊髄電気刺激による昇圧反応は、自律神経節遮断薬である hexamethonium 以外にも神経毒である tetrodotoxin、アドレナリン作動性神経遮断薬である guanethidine 及び  $\alpha_1$ -アドレナリン受容体遮断薬である prazosin によっても消失することが確認されている。<sup>16)</sup> したがって、脊髄電気刺激による昇圧反応は、遠心性交感神経の節後線維終末部から遊離された noradrenaline を介した血管収縮反応である。

それに対してグルコース群における外因性 noradrenaline (0.75-3 nmol/kg *i.v.*) による血管平滑筋上の  $\alpha_1$ -アドレナリン受容体を介した血圧上昇反応はコントロールの反応と同程度であり、有意な差は認められなかった。本実験では noradrenaline 遊

離量を測定していないが、血管反応と遊離量を比較した研究では、外因性 noradrenaline の反応が同程度の場合、神経性の血管反応が大きいと、伝達物質の遊離量が多いことが確認されている。<sup>17)</sup> したがって、グルコースによる交感神経性昇圧反応の増強作用機序として、血管平滑筋上に分布する  $\alpha_1$ -アドレナリン受容体の感受性は変化させず、主に交感神経終末部 (シナプス前部) に影響を及ぼし、noradrenaline などの神経伝達物質遊離の促進が起こっているのではないかと示唆される。

$\alpha_1$ -アドレナリン受容体作動薬 methoxamine で平均血圧を人工的に上昇維持し、自律神経節遮断薬 hexamethonium で自律神経を遮断した脊髄穿刺ラットにおいて、グルコース群における脊髄電気刺激による心拍数の変化を伴わない血圧下降反応はコントロール群の約 0.7 倍と小さくなった。またこの降圧反応は、外因性の CGRP 静脈内投与による降圧反応に類似しており、持続的であるのが特徴である。この降圧反応については、既に Taguchi らによって神経毒である tetrodotoxin 及び CGRP<sub>1</sub> 受容体遮断薬である CGRP [8-37] により抑制されることが確認されている。<sup>16)</sup> したがって、胸髄下部刺激による血圧下降反応は、CGRP 作動性神経の終末部から遊離される CGRP を介した血管拡張反応である。一方、外因性 CGRP (0.1, 0.2 nmol/kg *i.v.*) による血管平滑筋上の CGRP<sub>1</sub> 受容体を介した降圧反応はグルコース注入によって影響されなかったことから、グルコース注入による CGRP 神経性の降圧反応の抑制は CGRP 神経からの CGRP 遊離量の減少が関与していると推察される。

内因性の CGRP は血管平滑筋上に分布している CGRP<sub>1</sub> 受容体を介して血管拡張作用を発現する。また CGRP<sub>1</sub> 受容体は CGRP 神経シナプス前部にも存在し、ネガティブフィードバック機構を介して CGRP 神経から CGRP 遊離を抑制する作用があると考えられている。<sup>18)</sup> ラット腸管膜動脈を用いた *in vitro* 系の研究では、インスリンが CGRP<sub>1</sub> 受容体を介して血管弛緩反応を生じることが報告されている。<sup>19)</sup> またインスリンのペプチド構造の一部が CGRP と類似した構造を有することからグルコース注入による CGRP 神経性の降圧反応の抑制にはグルコースではなくグルコース刺激に対して分泌された過剰なインスリンが CGRP<sub>1</sub> 受容体に作用して

CGRP 神経から CGRP 遊離を抑制し、脊髄電気刺激による降圧反応を抑制した可能性が示唆される。一方、CGRP 神経は交感神経性収縮反応を抑制的に調節していることが知られている。<sup>20)</sup>したがって、グルコース注入後みられた交感神経性収縮反応増大は CGRP 神経機能の抑制が関与している可能性も十分考えられる。

本実験における高血糖及び高血中インスリン条件下では angiotensin II (50–200 pmol/kg *i.v.*) による昇圧反応の増大は起こらなかった。一方、1 型糖尿病モデルラットから摘出した血管や重度の高血糖条件に暴露された摘出血管では angiotensin II による昇圧反応は増大したと報告されている。<sup>21,22)</sup>したがって、AT<sub>1</sub> (angiotensin II type 1) 受容体の up-regulation は緩和な高血糖ではなく、重度の高血糖によって誘導されると考えられる。予備的に行った実験において高濃度のグルコース持続注入により重度の高血糖条件下にすると angiotensin II による昇圧反応が増大したことからこの考察は支持される。

糖尿病患者や糖尿病モデル動物において高血糖により血管内皮機能が低下することがよく知られている。<sup>23–25)</sup>しかし、これらはいずれも慢性的な高血糖により内皮細胞の形態が変化し内皮機能異常が起こったと考えられている。一方、急性的な高血糖では健常者において内皮依存性の弛緩反応が減弱されたと報告されている。<sup>26,27)</sup>これらの報告に反して、今回の *in vivo* の実験において、内皮依存性の弛緩反応を起こす acetylcholine (0.05, 0.5 nmol/kg *i.v.*) や NO 供与体である sodium nitroprusside (1.7, 17 nmol/kg *i.v.*) の反応にはグルコース持続注入は影響を及ぼさなかった。これは本実験のプロトコールでは高血糖及び高血中インスリンに暴露されている時間が短かったため内皮機能が減弱するまでに至らなかったと推察される。

### 3. 急性高血糖単独の条件下における血管反応性

内因性のインスリン分泌を抑制するためにソマトスタチン製剤である octreotide (50, 150 µg/kg) を前処置したのち、グルコース注入を行うと血糖値は上昇したが、グルコース刺激に対する血清中インスリン値の上昇は抑制され、高血糖単独の条件下になった。この条件下における脊髄電気刺激による昇圧反応すなわち交感神経性の収縮反応は octreotide の濃度に関係なくコントロール群に比べて約 1.4 倍と

大きくなった。一方、外因性 noradrenaline による血圧上昇反応も神経性血管反応と同様に増強傾向がみられたが有意な差は認められなかった。さらに高インスリン血症を伴わない急性的な高血糖は骨格筋の交感神経活動を活性化する<sup>28)</sup>という報告があることから高血糖単独でも交感神経に対して影響を及ぼすことが明らかになった。

一方、平均血圧を人工的に上昇維持し、自律神経を遮断した脊髄穿刺ラットにおいて、脊髄電気刺激による降圧反応すなわち CGRP 神経性の弛緩反応はコントロール群に比べてオクトレオチド低濃度群では小さくなる傾向、高濃度群では大きくなる傾向がみられたが、有意な差は認められなかった。また外因性 CGRP による降圧反応は神経性血管反応と同様にグルコース注入によって影響されなかったことから、CGRP 神経性の降圧反応には高血糖は関与していないと推察される。

### 4. 急性高インスリン単独の条件下における血管反応性

インスリンと同時に正常血糖を保つ目的で低濃度のグルコースを持続注入すると高血中インスリン単独の条件になった。この条件下における脊髄電気刺激による昇圧反応すなわち交感神経性の収縮反応は低濃度のインスリン注入群ではコントロール群とほとんど同じ値を示したが、高濃度のインスリン群ではコントロール群の約 1.3 倍と大きくなった。一方、外因性 noradrenaline による血圧上昇反応も神経性血管反応と同様にコントロール群より大きな値となった。この結果からインスリンは交感神経終末部(シナプス前部)若しくは血管平滑筋細胞(シナプス後部)に作用した可能性が考えられるが、外因性 noradrenaline による反応より脊髄電気刺激による反応の方が強く影響されたのでインスリンは主に交感神経終末部に影響を及ぼし、noradrenaline などの神経伝達物質遊離を増加させたと考えられる。

一方、平均血圧を人工的に上昇維持し、自律神経を遮断した脊髄穿刺ラットにおいて、脊髄電気刺激による降圧反応すなわち CGRP 神経性の弛緩反応はインスリン注入群ではコントロール群に比べて約 0.7 倍と小さくなった。また外因性 CGRP による降圧反応はインスリン注入によって影響されなかったことからインスリン注入による CGRP 神経性の降圧反応の抑制は CGRP 神経からの CGRP 遊離量の

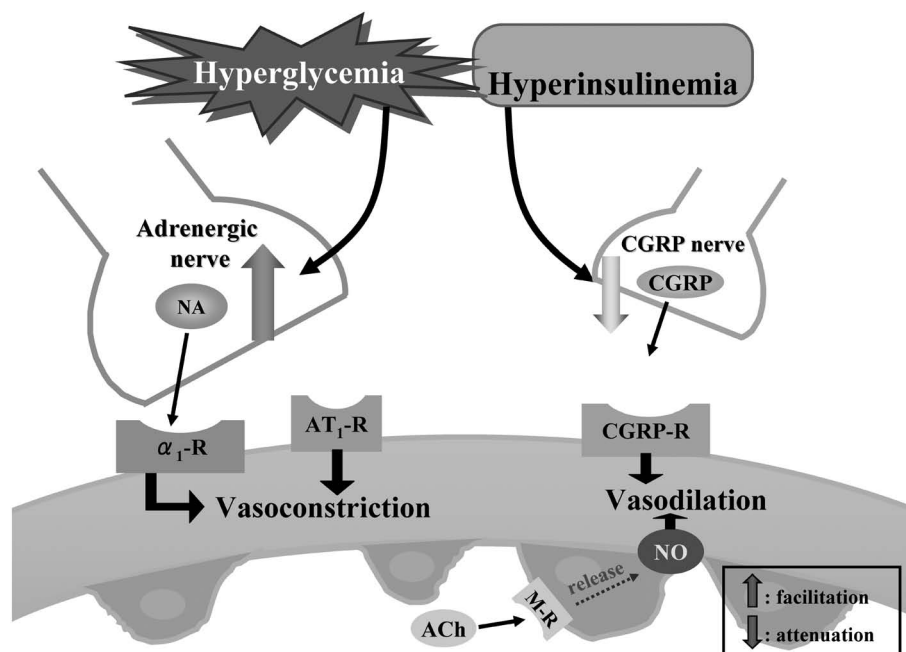


Fig. 2. Schematic Drawing of Possible Mechanisms Underlying Alteration of Adrenergic Vasoconstriction and Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP)-containing Nerve-mediated Vasodilation under Acute Hyperglycemia and Hyperinsulinemia Correspond to Postprandial Hyperglycemia and Hyperinsulinemia in Pithed Rats

$\alpha_1$ -R:  $\alpha_1$ -adrenoceptor, CGRP-R: CGRP-receptor, AT<sub>1</sub>-R: angiotensin II type 1 receptor, M-R: muscarinic receptor, NA: noradrenaline, Ang II: angiotensin II, CGRP: calcitonin gene-related peptide, ACh: acetylcholine, SNP: sodiumnitroprusside.

減少が関与していると推察される。さらにこの考察はグルコースのみを持続注入して作製した急性的な高血糖と高血中インスリンが共存する状態において、インスリンの濃度が最も高かったグルコース注入群で CGRP 神経性降圧反応が強く減弱していることから支持される。

### 5. おわりに

本稿の研究から急性的な高血糖は交感神経機能を亢進し、高血中インスリンは CGRP 神経機能を低下させるという知見が得られた (Fig. 2)。したがって、糖尿病患者や糖尿病発症以前の境界型患者の食後にみられる一時的な高血糖とそれに伴うインスリン過剰分泌により起こる血中インスリン濃度上昇が交感神経及び CGRP 神経による血管緊張度調節系の異常を引き起こし、これが高血圧発症の要因になっている可能性が示唆される。現在、糖尿病治療において、治療効果の高い様々な作用機序の血糖下降薬が開発され、良好な血糖コントロールが得られる症例も増えている。しかし、糖尿病は、病態的、遺伝的に多様性を示すため、コントロール不良になる糖尿病患者も多数存在する。そういった糖尿病患者の血管合併症の発症を抑制する薬の創薬研究に本

研究の成果が貢献をもたらすことを期待する。

### REFERENCES

- 1) Hypertension in Diabetes Study (HDS) I, *J. Hypertens.*, **11**(3), 309–317 (1993).
- 2) Anderson E. A., Mark A. L., *Hypertension*, **21**(2), 136–141 (1993).
- 3) Scherrer U., Sartori C., *Circulation*, **96**(11), 4104–4113 (1997).
- 4) Chiasson J. L., Josse R. G., Gomis R., Hanefeld M., Karasik A., Laakso M., *JAMA*, **290**(4), 486–494 (2003).
- 5) Zeymer U., *Int. J. Cardiol.*, **107**(1), 11–20 (2006).
- 6) Kawasaki H., Takasaki K., Saito A., Goto K., *Nature*, **335**(6186), 164–167 (1988).
- 7) Hsueh W. A., *Am. J. Med.*, **92**(4B), 13S–19S (1992).
- 8) Vanhoutte P. M., Mombouli J. V., *Prog. Cardiovasc. Dis.*, **39**(3), 229–238 (1996).
- 9) Verma S., Bhanot S., Yao L., McNeill J. H., *Am. J. Hypertens.*, **9**(4 Pt 1), 370–376 (1996).
- 10) Misurski D. A., Hopfner R. L., Gopalakrishnan

- V., *Exp. Biol. Med* (Maywood), **226**(10), 940–946 (2001).
- 11) He Y., MacLeod K. M., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **80**(3), 171–179 (2002).
  - 12) Brondum E., Nilsson H., Aalkjaer C., *Horm. Metab. Res.*, **37**(1), 56–60 (2005).
  - 13) Rosen P., Wiernsperger N. F., *Diabetes Metab. Res. Rev.*, **22**(4), 323–330 (2006).
  - 14) Takatori S., Zamami Y., Mio M., Kurosaki Y., Kawasaki H., *Hypertens. Res.*, **29**(5), 361–368 (2006).
  - 15) Henriksen E. J., Jacob S., Kinnick T. R., Teachey M. K., Krekler M., *Hypertension*, **38**(4), 884–890 (2001).
  - 16) Taguchi T., Kawasaki H., Imamura T., Takasaki K., *Circ. Res.*, **71**(2), 357–364 (1992).
  - 17) von Kugelgen I., Starke K., *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **344**(4), 419–429 (1991).
  - 18) Nuki C., Kawasaki H., Takasaki K., Wada A., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **268**(1), 59–64 (1994).
  - 19) Mimaki Y., Kawasaki H., Okazaki M., Nakatsuma A., Araki H., Gomita Y., *Br. J. Pharmacol.*, **123**(8), 1684–1690 (1998).
  - 20) Kawasaki H., Nuki C., Saito A., Takasaki K., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **252**(1), 403–409 (1990).
  - 21) Ramarao P., *Pharmacol. Res.*, **50**(6), 561–568 (2004).
  - 22) Saini A. K., Patel R. J., Sharma S. S., *Pharmacol. Res.*, **54**(1), 6–10 (2006).
  - 23) Verma S., Bhanot S., Yao L., McNeill J. H., *Am. J. Hypertens.*, **9**(4 Pt 1), 370–376 (1996).
  - 24) Sakamoto S., Minami K., Niwa Y., Ohnaka M., Nakaya Y., Mizuno A., Kuwajima M., Shima K., *Diabetes*, **47**(1), 82–86 (1998).
  - 25) Kobayashi T., Kamata K., *Atherosclerosis*, **155**(2), 313–320 (2001).
  - 26) Williams S. B., Goldfine A. B., Timimi F. K., Ting H. H., Roddy M. A., Simonson D. C., Creager M. A., *Circulation*, **97**(17), 1695–1701 (1998).
  - 27) Title L. M., Cummings P. M., Giddens K., Nassar B. A., *J. Am. Coll. Cardiol.*, **36**(7), 2185–2191 (2000).
  - 28) Hoffman RP., Hausberg M., Sinkey CA., Anderson EA., *J. Diabetes Complications* **13**, 17–22 (1999).