

主論文

Pioglitazone Prevents the Endothelial Dysfunction Induced by Ischemia and Reperfusion in Healthy Subjects

(ピオグリタゾンによる虚血再灌流によって引き起こされる血管内皮機能障害を改善する)

[緒言]

急性心筋梗塞の治療において、冠動脈血流の早期再還流が不可欠であることが、いくつもの研究で示されている。しかし、血流再開によって心筋の組織傷害がおこる、いわゆる虚血再灌流傷害 (IR 傷害) のために、梗塞部位を完全に救済することは出来ない。IR 傷害において、血管内皮は病態生理学的に重要な役割を担っており、IR による内皮機能障害はその組織傷害の一因となっている。したがって、IR による内皮機能障害を予防することは臨床的に重要である。これまで、ヒトにおける IR による内皮機能障害モデルが報告され、薬物によって IR による内皮機能障害が軽減されることが示されている。ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) は、特異的応答エレメントに結合する核内受容体スーパーファミリーに属する転写因子であり、糖尿病薬のピオグリタゾン (PIO) およびロシグリタゾンのようなチアゾリジンジオンは PPAR のリガンドである。PIO は動物モデルにおいて心筋の IR 傷害を軽減する。また、IR 傷害に対する PIO の保護効果は、シクロオキシゲナーゼ (COX)-2 の活性増加によることも報告されている。しかし、これまで PIO の IR による内皮機能障害に対する効果は示されていない。

我々は、ヒトのモデルを用いて、まず、クロスオーバー試験にて、PIO 内服が IR による内皮機能障害を抑制するかを検証した。次に、COX-2 の関与を評価するために、COX-2 阻害剤のメロキシカムが PIO による IR による内皮保護効果を減少させるかどうかを検証した。

[材料と方法]

プロトコール

プロトコール 1 では、オープンラベルのクロスオーバー試験にて 25 歳～44 歳の 20 人の健常ボランティアを対象に検討を行った。血管内皮機能は上腕での血流依存性血管拡張 (Flow mediated dilation, FMD) によって測定した。PIO 群 (30mg/日を 1 週間内服) と対照群に分け IR (前腕駆血 [15 分間]+解放 [15 分間]) の前後での FMD を測定した。PIO 以外の内服薬は内服禁止とした。さらに、PIO 内服による血清マーカーの変化も検討した。プロトコール 2 では、単一群での検討で、15 人の健常人に対して、PIO (30mg/日) と COX-2 阻害剤メロキシカムを同時に 1 週間内服し、この群でも同様の FMD 測定を行った。PIO とメロキシカム以外の内服薬は内服禁止とした。

IR の方法

駆血帯を前腕に巻き収縮期血圧より 50mmHg 高い圧で 15 分間駆血することで上肢を虚血状態とし、その後、駆血解放し 15 分間待つことで短時間の IR とした。そして FMD は IR 前後で測定した。

FMD 測定方法

遠位の上腕動脈の FMD については、以前に記載されているように評価した。10-MHz のリニアアレイトランスデューサー端子を用いて仰臥位で 5 分以上の安静後に上腕動脈の長軸像を描出し、前壁から後壁までの径を測定した。右前腕に巻いた駆血帯を収縮期血圧より高い圧で 5 分間駆血した。上腕動脈径の計測は、駆血帯開放後 2 分以内に行った。

採血

プロトコール 1 では、7 日目に採血を行い、血糖・脂質関連項目、高感度 CRP、可溶性血管細胞接着分子 (VCAM-1)、細胞外スーパーオキシドジスムターゼ (ecSOD)、非対称ジメチルアルギニン (ADMA) の項目を測定した。血清 ecSOD 値は、酵素免疫測定法 (ELISA 法) キット (Uscon Life Science 社, Wuhan, China) を用いて測定した。アッセイ内、アッセイ間での変動係数は、それぞれ 10% 未満、12% 未満であった。血漿 ADMA 値を、ELISA キット (ALPCO Diagnostics, Salem, MA, USA) を用いて測定した。アッセイ内、アッセイ間での変動係数は、それぞれ 8% 未満、9% 未満であった。他の計測項目は、SRL 社 (Tokyo, Japan) で測定した。

統計解析

本検討のサンプルサイズは、IR により FMD が 8% から 2% (標準偏差 3%) に低下したとの報告をもとに、検出力 $\beta=0.8$ 、有意水準 $\alpha=0.05$ の設定で PIO がその低下を 50% 抑制するためには各クロスオーバー群において 10 人の被検者が必要と推定した。変数の正規性は Shapiro-Wilk 検定によって行い、パラメトリック検定とノンパラメトリック検定を適切に使用した。プロトコール 1 では、IR と薬剤使用との関係を 2 元配置分散分析で検定した。P < 0.05 を有意性の閾値として設定した。すべての分析は SPSS v17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) を用いて行った。

[結果]

IR 前において、上腕動脈径や FMD 測定時の反応性充血による血流増加は、プロトコール 1 の対照群、PIO 群で同様な結果であり、プロトコール 1、2 における被検者間でも類似していた。

PIO 投与一週間後の採血では、血清 ecSOD は対照群よりも PIO 群で高値であったが、他の脂質やグルコース、インスリン、VCAM-1、ADMA は両群でも同様であった。

対照群と PIO 群で、IR 後の上腕動脈径は IR 前よりもわずかに拡大を認めたが、IR の前後で FMD 測定時の反応性充血による血流増加は同様であった。また、対照群では IR によって FMD は低下したが (IR 前 10.2% ± 2.6%、IR 後 3.5% ± 1.9%)、PIO によってその低下は有意に抑制された (IR 前 9.7% ± 2.5%、IR 後 8.8% ± 2.9%)。

PIO の IR による血管内皮機能障害の抑制効果について検討したプロトコール 2 では、PIO にメロキシカムの内服を併用すると、プロトコール 1 でみられた PIO による IR 後の FMD 低下抑制効果は消失した。(IR 前 9.9% ± 2.2%、IR 後 9.4% ± 2.4%)

[考察]

本検討では、初めてヒトの動脈において PIO が IR による内皮機能障害を抑制することを示した。この作用は COX-2 経路とは無関係であり、抗酸化ストレスのメカニズムの活性化により媒介されているようであった。

我々の結果は、PIO が心筋の再灌流傷害と梗塞範囲を軽減することができることを示した動物研究を裏付けた。IR 傷害は、心筋細胞のみでなく、冠動脈の血管内皮にも影響する可能性がある。スーパーオキシドアニオンは、ラジカルラジカル反応を介して内皮由来の一酸化窒素と反応し、強力な酸化剤であるペルオキシナイトライトを生成し、また一酸化窒素の生物学的利用能を低下させる。スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) は、スーパーオキシドアニオンの重要なスカベンジャーであり、異なる部位にある 3 つのアイソフォームを有している。本検討では、PIO を一週間投与すると、その一つの血清中の ecSOD 値が有意に上昇した。ecSOD は内皮機能を調整することにより、血圧や血管収縮を調整する。したがって、PIO の IR 傷害の抑制効果は、ecSOD 値の増加により部分的に説明することができた。

別のヒトでの検討では、IR による内皮機能障害に対するロスバスタチンの保護効果が示され、この効果は COX-2 阻害剤のセレコキシブによって阻害された。本検討では、COX-2 阻害剤メロキシカムは IR による内皮機能障害に対する PIO の抑制効果を制御せず、PIO の効果が COX-2 経路とは無関係であることを示唆している。PIO は COX-2 阻害剤を内服している患者の心血管死亡率の増加を抑制する可能性があるため、この検討は更に臨床的意義を有する可能性がある。

2 型糖尿病患者の心血管死亡率に対しいくつかの糖尿病薬を使用し、血糖値を低下させることの有用性はまだ確立されていない。いくつかの検討では、厳格な血糖コントロールが心血管死亡率を低下させず、重度の低血糖発作を増加させることが報告されている。DPP-4 阻害剤を用いた最近の 2 つの検討でも、心血管死亡率について DPP-4 阻害剤を追加することによる優位性は示されなかった。しかし、PIO の前向きの大規模臨床試験 (PROactive) では、全死亡率、そして心筋梗塞、脳卒中の発生率を低下させることが示された。我々のデータと合わせ、これらの結果は PIO が 2 型糖尿病における心血管イベント予防に有効な薬剤であることを示唆している。

我々の検討ではいくつかの限界があった。一つ目は、健常人より得られたデータであり、糖尿病患者との違いを考慮する必要がある。2つ目に、プロトコール1の個々のグループではベースラインのデータを取れていなかった。統計学的分析では、FMDは2つの治療期間の間に持ち越し効果や期間効果は示されなかったが、結果に影響を与える可能性を排除することは出来ない。3つ目は、この検討には女性1人しか含まれていないため、これらの効果が女性には適用されない可能性がある。

[結論]

我々は、PIO投与が抗酸化ストレス効果を介して強力な内皮保護を有することを示した。これらは、ヒトにおいてPIOの内皮の再灌流傷害に対する効果を初めて示した検討である。機序や潜在的な臨床意義をより詳細に検討するためには、さらなる研究が必要である。