慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	2型糖尿病患者における血管合併症に与える酸化ストレスの影響
Sub Title	Effect of oxidative stress on vascular complications in type 2 diabetes
Author	大橋, 徳巳(Ohashi, Norimi)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.55- 64
JaLC DOI	
Abstract	To investigate the relationship between oxidative stress and the development of diabetic angiopathy, 194 type 2 diabetic subjects were enrolled, and divided into three groups; Group I without diabetic angiopathy, Group II with microangiopathy. and Group III with macroangiopathy. We detemined the ratlo of oxidized albumin (ROA), and other oxidative stress markers, inflammation markers, PAI-1 and some growth factors. We then analyzed the relationshipbetween the levels of oxidative stress markers and the other markers. It was found that the ROA and SOD were increased relative to the control group in all the groups. A negative correlation between the ROA and PDGF and positive correlations between both glutathione peroxidase and lipid peroxide and PAI-1 were found in Group I. In Group II, positive correlations were found between catalase and CRP, and lipid peroxide and PAI-1, and a negative correlation was found between the ROA and PDGF. In Group m, a positive correLation between SOD and PAI-1 was observed. These findings suggest that the onset of microangiopathy in diabetes mellitus rnay be attributable to the effect of oxidative stresses on PDGF, PAI-1 and CRP, and that the onset of rnacroangiopathy may be attributable to the effect of oxidative stresses on PAI-1.
Notes	原著
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050600-0055

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

慶應医学・82(2)：55～64，2005

原　著

2型糖尿病患者における血管合併症に与える酸化ストレスの影響

慶應義塾大学医学部内科学教室
大橋徳巳（おおはしのりみ）

ABSTRACT

Effect of oxidative stress on vascular complications in type 2 diabetes

Norimi Ohashi

Department of Internal Medicine, Keio University School of Medicine

To investigate the relationship between oxidative stress and the development of diabetic angiopathy, 194 type 2 diabetic subjects were enrolled, and divided into three groups ; Group I without diabetic angiopathy, Group II with microangiopathy, and Group III with macroangiopathy. We determined the ratio of oxidized albumin (ROA), and other oxidative stress markers, inflammation markers, PAI- 1 and some growth factors. We then analyzed the relationship between the levels of oxidative stress markers and the other markers. It was found that the ROA and SOD were increased relative to the control group in all the groups. A negative correlation between the ROA and PDGF and positive correlations between both glutathione peroxidase and lipid peroxide and PAI-1 were found in Group I. In Group II, positive correlations were found between catalase and CRP, and lipid peroxide and PAI-1, and a negative correlation was found between the ROA and PDGF. In Group III, a positive correlation between SOD and PAI-1 was observed. These findings suggest that the onset of microangiopathy in diabetes mellitus may be attributable to the effect of oxidative stresses on PDGF, PAI-1, and CRP, and that the onset of macroangiopathy may be attributable to the effect of oxidative stresses on PAI-1.

Key Words：oxidative stress, ratio of oxidized albumin, high sensitive C reactive protein, plasminogen activator inhibitor 1, platelet -derived growth factor

糖尿病患者にとって血管合併症の存在は重要な予後規定因子であることは，議論の余地のないところである．したがって，その病因，病態の解明は重要な課題となっている．糖尿病患者の単球DNAにおいてその酸化変性の指標である8-hydroxydeoxyguanosineが増加していることがDandona[1]らにより報告されると，糖尿病患者や糖尿病モデル動物における血液，組織中で酸化ストレスが亢進していることが次々に報告された[2, 3]．そしてこの酸化ストレスの亢進が，これら糖尿病血管合併症の進展に強くかかわっている可能性が最近の研究で明らかにされつつある[4-6]．Tilton[7, 8]らは新生血管の豊富な皮膚肉芽組織を用い，高血糖あるいはスーパーオキシドアニオンによって血管の透過性亢進や血流増加が誘導される現象を，またvascular endothelial growth factor (VEGF)の中和抗体で肉芽組織を処置することによりそれを正常化しうることを示した．さらに，この現象は肉芽組織を一酸化窒素合成酵素（NOS）の阻害薬で処置しても同様の改善効果が得られることを示し，高血糖の状態，もしくは高血糖により誘導された酸化ストレスの亢進した状態により，VEGFの発現亢進，NOSの誘導による一酸化窒素（NO）の過剰産生が細胞障害をきたすという仮説を提唱している．一方，ヘキソサミン経路は解糖系の側副路であり，高血糖状態でその活性が亢進するが，この経路を介して過酸化水素（H_2O_2）が

産生され，細胞内酸化ストレスの増強に関与していることが報告されている．さらに細胞内培養糸球体メサンギウム細胞にヘキソサミンを添加すると，plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 発現が増強することが示され[9]，PAI-1 がマトリックス蛋白分解酵素の作用を阻害することから，糸球体へのマトリックス蛋白の蓄積をひき起こすのではないかと考えられている．また transforming growth factor (TGF-β) は血管壁構成細胞（血管内皮細胞，血管平滑筋細胞，周皮細胞）や血小板，マクロファージなど血液細胞から分泌され，血管壁構成細胞の機能を制御することが明らかになっており，糖尿病性網膜症の眼内新生血管，眼内出血過程でのその関与が示唆されている[10]．

また大血管障害，一般的に粥状動脈硬化症の発症機序に関しては，近年急速に明らかになりつつある．現在その最も受け入れられている仮説として，Ross[11, 12]の傷害反応仮説（response-to-injury hypothesis）がある．すなわち粥状硬化の発端に血管内皮傷害と内皮機能の障害が存在し，その傷害に対して血中単球が内皮細胞表面に接着因子との結合を介して接着し，内皮組織下へ進入する．そして脂質を貪食して泡沫細胞となり，初期病変である脂肪線条を形成する．また中膜の平滑筋細胞が内皮下へ進入して増殖し，細胞の壊死も加わり粥腫が形成される．さらにこの過程において血小板や T リンパ球が関与しているというものである．この仮説で考えられるように，動脈硬化形成過程における血管細胞や血中細胞の相互反応はよく理解されるようになった．しかし，その反応を最初に生じる，あるいは一連の反応の進行機序等に関しての解明は不十分である．高血圧症においては血圧という機械的ストレス（sheer stress）の関与は内皮傷害の機序として重要と考えられる．これまでに酸化 LDL をはじめとした変性脂質，活性酸素などの酸化ストレスの関与や，血漿中ホモシステインやあるいは感染・炎症の関与も血管障害の発症機序として示唆されている[12]．特に酸化 LDL に関しては，マクロファージが泡沫細胞化する際に大量の酸化 LDL を取り込み，細胞内にエステル化コレステロールを蓄積することが示されており，動脈硬化の進展因子として重要な役割を果たすと考えられている．実際，酸化 LDL に特異的なモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学により，ヒト及びモデル動物の粥状硬化病変部位に酸化 LDL が検出されることも報告されており，その仮説を支持する結果といえる．また，血小板由来成長因子（platelet-derived growth factor；PDGF）はリコンビナント PDGF の持続投与，あるいは動脈のバルーンによる内膜細胞擦過後の PDGF 遺伝子導入により内膜肥厚病変形成が著明に促進[13]）されることから，傷害を受けた血管内膜に集まった血小板やマクロファージなどから分泌された PDGF は，中膜平滑筋細胞の内膜側への遊走ならびに内膜での増殖を惹起する重要な因子と考えられている．

このように，血管障害と酸化ストレスの関係について多くの報告がなされてきたが，これまでに糖尿病性細小血管障害と大血管障害との病因・病態における酸化ストレスの役割，およびこれらの病態におけるその役割の差異に関しては，報告が少ない．酸化ストレスが advanced glycated endoproduct (AGE) 依存性の NFκB 活性化を介して TGF-β の発現亢進を生じたという動物実験の結果[14]）や，冠動脈病変をともなう症例で，TGF-β が有意に高値であったという臨床成績，それに反して有意に低値であったという報告[15, 16, 17]などが散見されるのみであり，酸化ストレスの役割に関しても，一致した結果は得られていない．

そこで今回糖尿病性血管合併症の発症過程における酸化ストレスの影響の差異について，細小血管障害と大血管障害において検討を加えた．本研究において糖尿病性血管障害における病因病態，特に酸化ストレスの各血管障害発症における影響の相違を検討するため，2型糖尿病患者を対象に，酸化ストレスマーカーとして，酸化アルブミン，カタラーゼ，スーパーオキサイドジスムターゼ（SOD），グルタチオンペルオキシダーゼ（GPx），過酸化脂質を，炎症マーカーとして高感度 C reactive protein (CRP)，インターロイキン-6 (IL-6) を，内皮細胞機能のマーカーとして plasminogen activator inhibitor-1 (PAI- 1)，形質転換成長因子-β（TGF-β），血小板由来成長因子（PDGF）を，各々測定した。検討症例は血管合併症の無い群，細小血管障害群，虚血性心疾患、脳卒中が合併した大血管障害群の3群に分け，各マーカーの測定値をもとに，全体そして3群別にそれぞれの因子間の関連性を統計解析し糖尿病患者における酸化ストレスマーカーと各パラメーターの関連性を各糖尿病性血管障害の有無により検討し，酸化ストレスの各血管障害の発現における役割を考察した．

材料・対象と方法

1．対象症例

対象症例はインフォームドコンセントを得た当院内科外来に通院中の2型糖尿病患者 120 例である（平均年齢 61±8.1 歳）．糖尿病の診断は 1985 年の WHO の診断基準に従った．すなわち空腹時血糖 140 mg/dl 以上，

随時血糖 200 mg/dl 以上あるいは経口 75 g ブドウ糖負荷試験にて 2 時間後血糖 200 mg/dl 以上を満たすものとした．このうち糖尿病性血管合併症を有さない 59 例を I 群とした．また，糖尿病性細小血管障害（網膜症，腎症，神経症のいずれか）のみを有し，大血管障害（虚血性心疾患，脳卒中，閉塞性動脈硬化症のいずれか）を有さない 30 例を II 群とした．糖尿病性細小血管障害を有さず，大血管障害のみを有す 31 例を III 群とした．患者背景の詳細は第 1 表に示した．また，年齢をマッチさせた糖尿病，高脂血症，高血圧症，腎疾患，心疾患，脳卒中の既往なく，職員健診で異常値を指摘されていない 26 名の健常人と比較した．

2．血管合併症の評価

合併症の評価は以下のとおり行った．細小血管障害は神経障害もしくは糖尿病性網膜症のいずれかを有するものとした．神経障害は四肢の異常冷感，痛み，痺れ，感覚障害を認め，糖尿病性末梢神経障害が最も疑われる症例と，安静時心電図 RR 幅変動係数（CVrr）を Cardimax FX-3301（Fukuda Denshi Co. Ltd., Tokyo, Japan）を用い測定し，1.66%以下（40 歳代の正常下限値）および深呼吸負荷心拍変動が 9 拍/分以下を満たす症例とした．なお CVrr 測定は測定 10 分前にベッド上安静の後測定を行った．網膜症は採血採尿時に当院の熟練した 1 人の眼科医に協力してもらい網膜症なし，ありの 2 段階に分類した．大血管障害は虚血性心疾患，もしくは脳卒中の既往をもつものとしその判定は以下のように評価した．虚血性心疾患は，心筋梗塞の既往，トレッドミル運動負荷試験と負荷 Thallium 心筋シンチグラムにより陽性のもの，冠動脈造影にて 75%以上の有意狭窄を認めるものを，また脳卒中の既往は神経学的異常があり頭部 CT，MRI で脳出血，脳梗塞の診断をされているもの，また MRI により糖尿病患者で多い無症候性脳梗塞の既往のあるものを陽性とした．

3．各種マーカーの測定法

早朝空腹時に採血し，各種マーカーの測定に供した．空腹時血糖（FPG），HbA1c，総コレステロール（TC），中性脂肪（TG），HDL の測定は，自動分析機にて行った．

酸化アルブミン

中性 pH (6.87) の Asahipak GS-520H カラム（旭化成，東京，日本）を用いた HPLC 法により Suzuki らの方法[18]に従って mercaptalbumin (HMA) および non mercaptalbumin (HNA) に分離した．酸化アルブミンの評価は酸化アルブミン比=HNA/HMA＋HNA にておこなった．

カタラーゼ

カタラーゼ活性を 240 nm の紫外部モニター速度法にて，基質である過酸化水素濃度の減少速度を測定し，国際単位で表現した．

スーパーオキサイドジスムターゼ（SOD）

テトラゾリウム塩還元法に準拠した測定試薬キット SOD Activity Detection Kit（和光純薬工業，大阪，日本）を用い，マイクロプレートリーダー（東ソー・テクノシステム，神奈川，日本）にて測定した．

グルタチオンペルオキシダーゼ（GPx）

遠心方式自動分析装置 COBAS FARA (Roche 社) を用いて，1 分間に 1 μmo1 の NADPH を酸化する酵素活性を 1 単位（U）とし，ブランクにはサンプルの代わりに，精製水（DW）を使用し，上記と同様に操作したものを用いた．活性値算出は，試料での 1 分間あたりの吸光度変化量からブランク（DW）測定の変化量を差し引き，これにファクターを乗じ活性測定値（U/L）とした．

過酸化脂質

TBA チオバルビツール酸法に準拠した測定試薬キット過酸化脂質テスト・ワコー（和光純薬工業，大阪，日本）を用いて測定した．分光蛍光光度計は，RF-5000（島津製作所，東京，日本）を使用した．

C reactive protein (CRP)

ラッテックス凝集法を用いた測定試薬キット，N-ラッテックス CRPII を使用しレーザーネフロメーター BNAII にて測定した．

Interleukin-6 (IL-6)

2 ステップサンドウィッチを用いた高感度試薬キット IL-6CLIA (富士レビオ，神奈川，日本) を使用し，専用機器 LP1200 にて測定した．

Plasminogen Activator Inhibitor (PAI-1)

ラテックス凝集法を用いた PAI-1 測定試薬キット，LPIA.Tpai テスト（ダイヤトロン，東京，日本）を使用し，全自動免疫血清検査装置の LPIA-A700（ダイヤトロン，東京，日本）にて測定した．

形質転換成長因子（TGF-β），血小板由来成長因子（PDGF）

形質転換成長因子（TGF-β），血小板由来成長因子（PDGF）は RDSystems 社製の各マーカーに対応した ELISA キットを使用し，マイクロプレートリーダー（東ソー・テクノシステム，神奈川，日本）にて測定した．

第1表　臨床背景

	I群（n=59）	II群（n=30）	III群（n=31）	コントロール群（n=26）
罹病期間（年）	12.3±4.0	13.1±3.3	12.1±3.8	
年齢（歳）	59±8	61±9	64±5$	60±10
性別（男／女）	37/22	20/10	22/9	14/10
現喫煙（%）	27	16	28	39
BMI (kg/m^2)	22.5±2.9	22.3±2.5	23.2±2.7	22.6±2.3
FPG (mg/dl)	151±42*	156±43*	152±35*	102±14
HbA1c (%)	7.2±1.0*	7.3±1.0*	7.1±1.2*	5.0±0.3
TC (mg/dl)	194±37	199±38	203±34	193±32
TG (mg/dl)	115±70	102±79	113±47	101±71
HDL (mg/dl)	53±18	55±13	54±14	55±17
BP (mmHg)	134±14/79±12	132±17/79±8	147±5/83±8$	132±19/78±10
M-Alb/Cr (mg/g Cr)	14.2±2.3	182.2±84.8$	31.9±13.6	13.9±7.6
網膜症		単純性　前増殖性　増殖性		
(n)	0	14　6　10	0	0
大血管障害			虚血性心疾患　脳卒中	
(n)			11　28	

I群：血管合併症なし，II群：細小血管障害のみ合併，III群：大血管障害のみ合併
数値は平均値・標準偏差で表示した．
+P<0.0001 vs コントロール群．$P<0.003 vs 他群
BMI：bodymassindex，FPG：空腹時血糖，HbA1c：ヘモグロビンA1c，TC：総コレステロール，TG：中性脂肪

4．統計

各群間の差の検定は一元配置分散分析法にて解析した．各マーカーの相関関係をsimple linear regression分析を用い解析した．各解析でp値0.05以下を有意とした．すべての統計解析はStat View Version5.0 (SAS Institute Inc. Cary, NC) を用い実施した．

結　果

1．臨床背景

III群の患者は，他群に比較して年齢，血圧が有意に高値であった．Body mass index (BMI) はIII群の患者で若干高値傾向であったが，有意ではなかった．罹病期間，性差，喫煙，TC，TG，HDLは，コントロール群も含めた全群で差は認めなかった．FPG，HbA1cは糖尿病群内では有意な差は認めなかった．（第1表）

2．酸化ストレスマーカーの測定値分布（第1図）

各群での各々の酸化ストレスマーカーの測定値分布をコントロール群と比較し，また群間の差を検定した。コントロール群との比較では，酸化アルブミン比，SODが全群でコントロール群に比し高値を示した．過酸化脂質はIII群においてのみコントロール群に比し有意に低値であったが，I，II群では低値傾向ではあるも有意ではなかった．カタラーゼ，GPoxは，全群でコントロール群と有意な差は認めなかった．

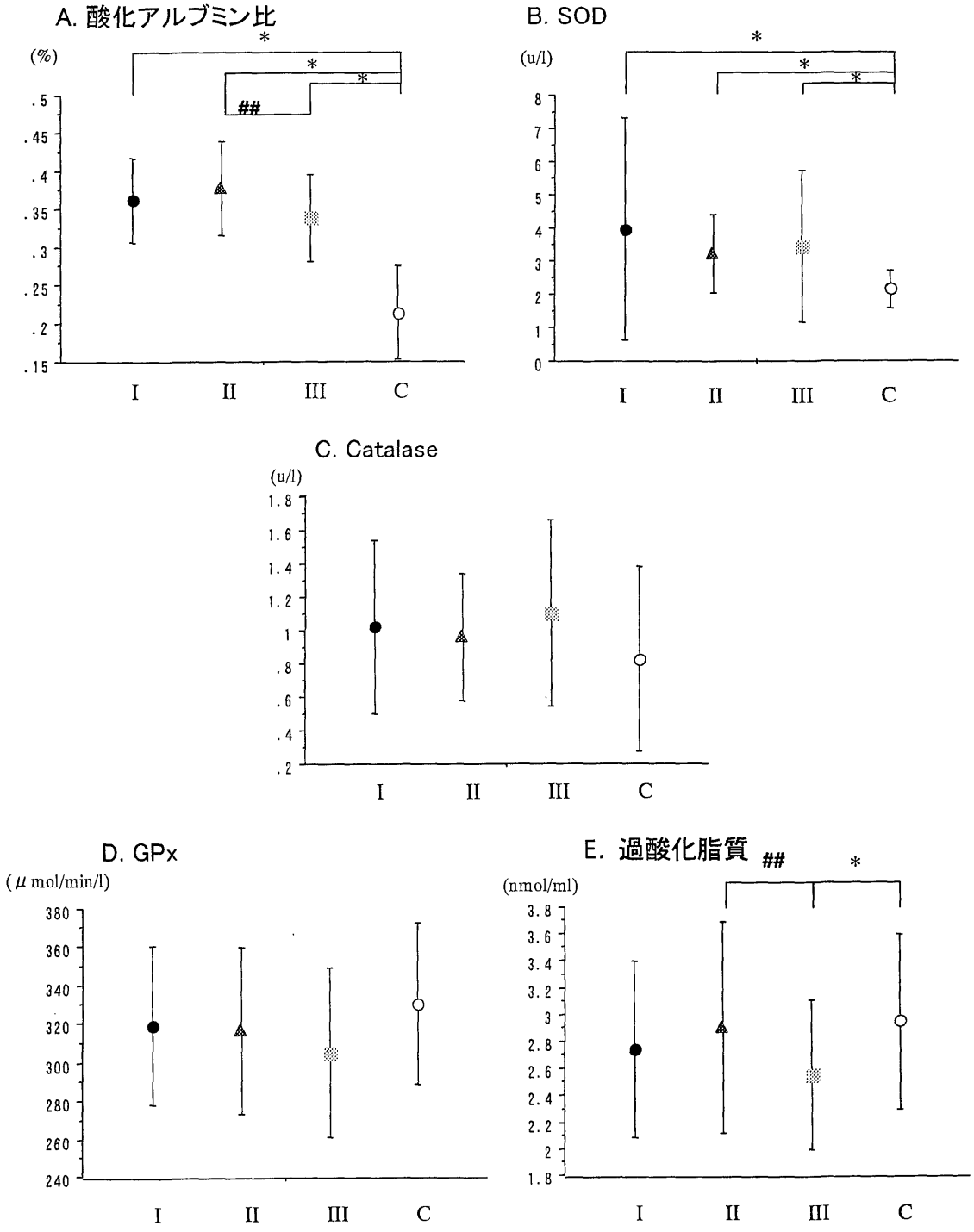
糖尿病群内で群間比較すると酸化アルブミン比，過酸化脂質はIII群に比しII群で有意に高値であった．カタラーゼ，SOD，GPoxは糖尿病群内いずれの群間にも差はなかった．なお過酸化脂質は喫煙者で有意な高値を示したが，各群で喫煙者の割合に差はなかった．

3．その他の病態マーカーの測定値分布（第2図）

CRPは糖尿病群内での群間差は認めなかったが，各群ともコントロール群より高値傾向を示し，III群では有意であった．IL-6は各群ともコントロール群より高値傾向ではあったが有意差は認めなかった．PAI-1はコントロール群，または各糖尿病群における群間の差は有意でなかった．TGF-β，PDGFは糖尿病群でコントロール群より有意に高値を示した．各糖尿病群における群間の差は有意でなかった．

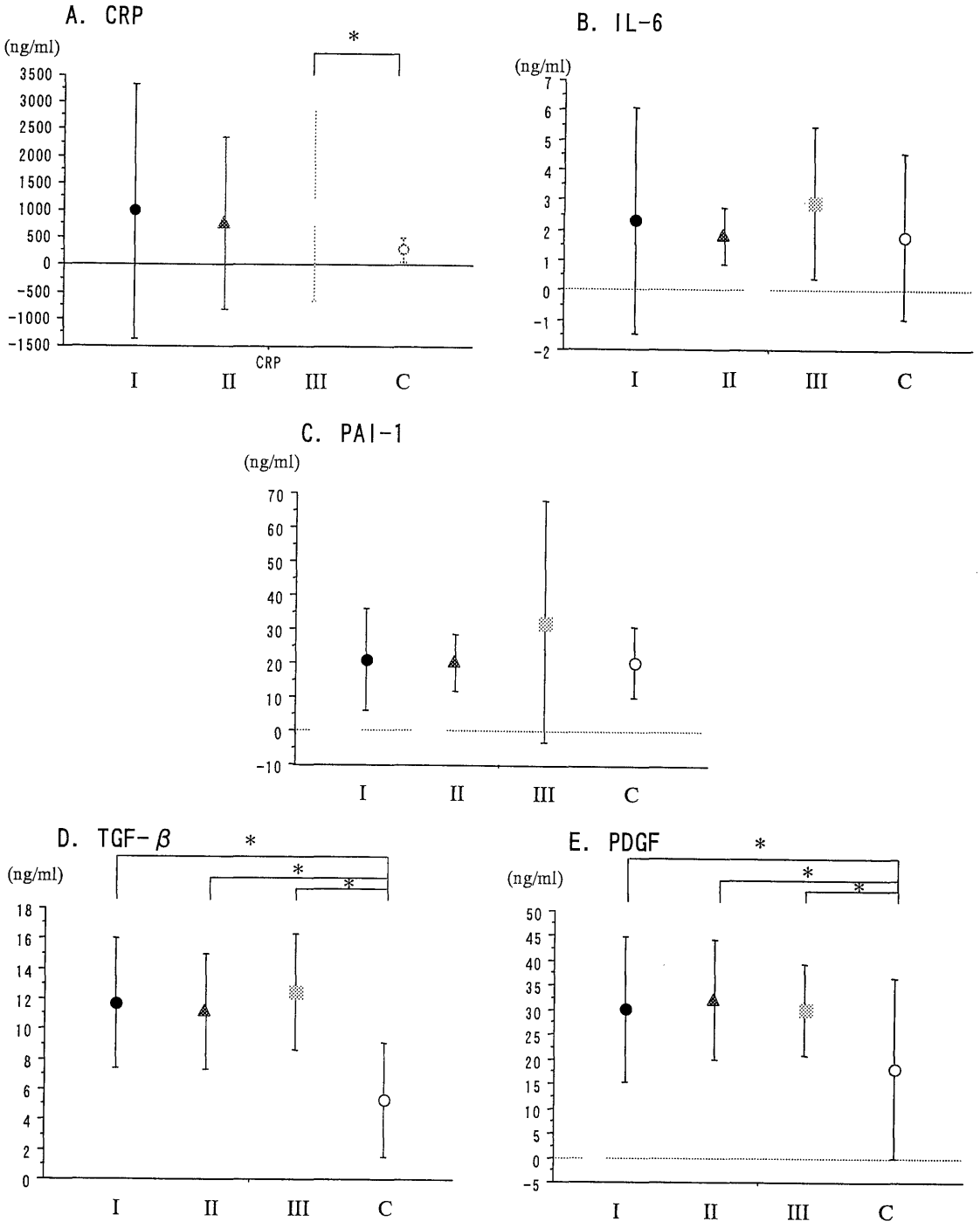
4．酸化ストレスマーカーと他の病態マーカーの各群での相関関係

以上の結果より，酸化ストレスマーカーであるSOD，酸化アルブミン比，過酸化脂質，CRP，TGF-β，PDGFの各マーカーで有意の変化を認めたことから，これらマーカー間の相関関係を糖尿病各群において検討した．血管



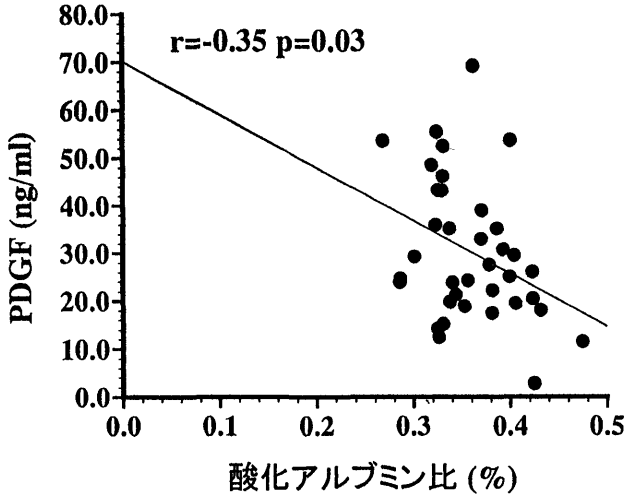
第1図　酸化ストレスマーカーの測定値分布

糖尿病患者を血管合併症の存在の有無により群を分け，血中の各酸化ストレスマーカーの測定値を示し，群間比較した．I：血管合併症を有さない糖尿病患者群（n＝59），II：細小血管障害のみを有する糖尿病患者群（n＝30），III：大血管障害のみを有する（n＝31）．C：対照群（n＝24）．*p＜0.05 対照群，**P＜0.05 II vs III，グラフは平均値 および 標準偏差を表示した．

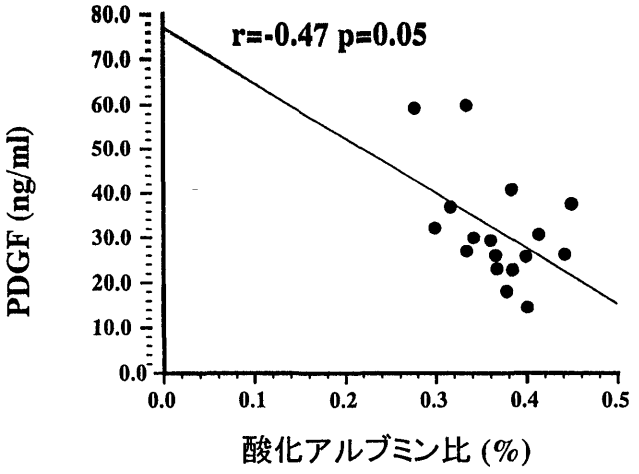


第２図　その他の病態マーカーの測定値分布

糖尿病患者を血管合併症の存在の有無により群を分け，血中のその他の病態マーカーの測定値を示し，群間比較した．I：血管合併症を有さない糖尿病患者群（n＝59），II：細小血管障害のみを有する糖尿病患者群（n＝30），III：大血管障害のみを有する（n＝31）．C：対照群（n＝24）．*$p<0.05$ 対照群，グラフは平均値 および 標準偏差を表示した．



第3図　I群での酸化アルブミン比と PDGF の相関関係
I群における酸化アルブミン比と PDGF の相関関係を検討した．I群（n=59）では酸化アルブミン比と PDGF は負の相関関係を示した（r=-0.35，p=0.03）．



第4図　II群での酸化アルブミン比と他の PDGF の相関関係
II群における酸化アルブミン比と PDGF の相関関係を検討した．II群（n=30）では酸化アルブミン比と PDGF は負の相関関係を示した（r=-0.47, p=0.05）．

合併症を有さないI群では酸化アルブミン比と PDGF に負の相関関係を認めた（第3図）．細小血管合併症を有するII群でも同様に，酸化アルブミン比と PDGF に負の相関関係を認めた（第4図）．一方，SOD，酸化アルブミン比と TGF-β の間には I，II 群ともに有意の相関関係を認めなかった．大血管合併症を有する III 群では SOD，酸化アルブミン比，過酸化脂質の酸化ストレスマーカーと，CRP，TGF-β，PDGF にコントロール群と比べ，有意の変化を認めたが，酸化ストレスマーカーと各マーカー間では有意の相関関係を認めなかった．

考　察

糖尿病において酸化ストレスは，その発症から血管合併症の進展に至るまで大きな役割を果たしていると考えられている[19, 20]．実際糖尿病モデル動物や糖尿病患者の血液中，もしくは組織中での酸化ストレスの亢進が報告されている[1]．特に2型糖尿病患者での報告は，DNA 酸化障害の指標である 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) 含量の増加が尿中[21]や血中[22]において示されている．この研究においても血中での酸化ストレスの亢進状態を認めた．血中タンパク質のうち量的に最も豊富に存在するアルブミンは mercaptalbumin (HMA 還元型) と non mercaptalbumin (HNA 酸化型) に大別される．そして HMA から HNA への変換は生体内での酸化産物のスカベンジャーとして重要な抗酸化ストレス作用の役割を担っていることが明らかになっており[23-25]，これまでにも糖尿病患者において酸化アルブミンの増加が報告されている[26]．

今回の検討でも過去の報告と一致して，各群の糖尿病患者において酸化アルブミンが対照群と比べ有意の増加を示したが，増加した酸化ストレスに対してアルブミンが抗酸化作用を示した結果である可能性が示唆された．さらに，酸化ストレスの消去に重要な役割を果たす SOD がコントロール群に比し有意に高値を示したことも高血糖による酸化ストレスの亢進が酸化ストレス消去系酵素を誘導した結果であるという可能性が考慮された．実際，内皮細胞ミトコンドリアでの superoxide の産生が高血糖により誘導されることが示されているが[27]，今回の検討は superoxide そのものの測定ではなく，その消去系である SOD の血中での検討であり，今後さらに検討を要すると考えられた．

これまでに，糖尿病患者の血中の SOD に関する報告は，Adachi ら[28]の2型糖尿病患者における血中 SOD レベルとインスリン抵抗性との関連についての検討を加

えた報告のみである．彼らは空腹時の血糖値，BMI，インスリン抵抗性と血中SODレベルが有意に逆相関したことを報告している．今回の検討では糖尿病群において空腹時の血糖値，BMIと血中SODの間には相関関係は見られなかった．Adachiらの報告は，肥満者も含めて検討されているのに対し，今回の検討は平均BMI22前後の肥満のない患者での検討であることにより差異を生じた可能性が考えられた．また，今回の検討では，血管障害の明らかとなった比較的病期の進んだ症例が多く含まれていることも要因となっている可能性が考慮された．

一方，GPx，カタラーゼもH_2O_2の消去系であるが，Atli Tら[29]の糖尿病患者での血中GPxの結果と同様に今回の研究においてもGPx，さらにカタラーゼも対照群に比して有意な差を認めなかった．

過酸化脂質が大血管障害合併群であるIII群でのみ有意に対照群に比し低値であったのは興味深い結果といえる．すなわち，過酸化脂質は動脈硬化病変部位に取り込まれ，LDLを酸化し，マクロファージの泡沫細胞化に寄与することを通して動脈硬化を促進することから，動脈硬化を発症している群においては，病変部位に過酸化脂質が取り込まれ，結果として血中濃度が低値となった可能性が考えられた．実際に，過酸化脂質は，ヒトの動脈硬化巣に沈着した酸化LDLとともに局在することが報告されている[30, 31]．以上のように酸化ストレスマーカー間で差異はあるものの，今回の検討で得られた結果は，2型糖尿病患者において酸化ストレスが亢進している可能性を支持する結果といえるであろう．

今回の研究のもうひとつの目的は，この亢進した酸化ストレスが血管合併症を発症するに当たり，その後の反応において細小血管障害と大血管障害で差異があるか否かを検討することであった．

動脈硬化症の発症，進展において感染・炎症の関与が示唆されている[12]が，IL-6は，血管平滑筋細胞に作用し，PDGFを誘導することによりその増殖を促進することが明らかになっている[32]．また，Paul M. RidkerらのCARE (the Cholesterol and Recurrent Events) trialのサブ解析[33]によれば，心筋梗塞再発例，冠疾患による死亡例について，5年間の試験期間中に心血管イベントを発生しなかった年齢性別が同等の対照群とCRP値を比較したところ，CRP値が0.66以上を示す群ではCRP値0.12以下の群に比べて，心血管イベント発生の相対リスクが約2倍高まることが明らかになっている．Saitoらは糖尿病患者のCRPは正常対照群に比べ有意に高値を示し，正常対照群において空腹時血糖値とCRPが有意に相関したと報告している[34]．今回の検討ではIII群のみ対照群に比しCRPが高値であった．Saitoらの報告は糖尿病患者の血管合併症の状態まで検討しておらず，今回の検討で糖尿病細小血管障害と大血管障害で差異が存在することが初めて示されたといえる．すなわち，糖尿病患者において何らかの因子（たとえば喫煙，肥満，高血圧など）により炎症を生じてCRP高値となり，大血管障害を伴うという可能性が示唆された．

糖尿病性細小血管症の発症要因として，血管の異常な収縮，拡張，またそれによる血流異常，血管透過性亢進，血管細胞外基質の過剰蓄積などの可能性があげられる．また，これらの異常の原因として，血管構成細胞の機能や増殖活性に強力に作用する因子であるvascular endothelial growth factor (VEGF)，PDGFやTGF-βなどの血管局所での過剰発現が強く関与していると考えられている．つまりPDGFは血小板，マクロファージ，血管平滑筋細胞，血管内皮細胞より分泌される動脈硬化病変にかかわる生理活性物質であり，かつ細小血管症発症の要因でもあるため，糖尿病血管合併症の発症，進展には重要な役割を果たすことが推察されている．しかしこれまで血中PDGFについてほとんど検討されておらず，対照に比べ減少していたとの報告[35]や増加していたとの報告[36]があり一定ではない．

今回の検討では，PDGFは，対照群と比べ，いずれの糖尿病群においても有意の高値を示した．血管障害を伴わないI群においても高値を示した結果については，I群の患者ではPDGFに拮抗する他の因子が存在する，あるいは反対に，既に血管障害は始まっているものの顕症化していないといった可能性が考慮される．この可能性を検証するためには，I群症例の長期経過観察を行い，PDGFと血管障害発症の関連を検討する必要があろう．さらに今回の検討では酸化アルブミン比がI，II群においてのみPDGFと負の相関を示し，III群においてその相関関係を認めなかったこと，また酸化アルブミン比はIII群でII群に比し有意に低値であったことから，大血管障害の発症にはアルブミンを中心とした酸化ストレスの消去系の作用が破綻をきたし，血管内皮細胞をはじめとしてPDGFの発現が亢進することにより，酸化ストレスが大血管障害発症進展に寄与している可能性も考えられた．

以上のように，本研究より，糖尿病患者で，酸化ストレスの亢進が確認され，その酸化ストレスによる血管障害機序は，細小血管障害と大血管障害で異なる可能性が示唆されたが，今後，さらに症例を増やして前向き研究などを行い，この可能性を確認する必要性があると考えられた．

総　括

糖尿病患者における酸化アルブミンを中心とした酸化ストレスマーカーと各パラメーターの関連性から各糖尿病性血管障害の発現における役割を考察し，各血管障害の病因病態の違いを検討した．糖尿病患者において酸化ストレスが亢進していることを示した．また細小血管障害と，大血管障害の病態の差は，大血管障害での CRP 高値，過酸化脂質の低値である可能性が示唆された．

本稿を終えるにあたり，御指導，御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部内科学教室猿田享男教授に深甚なる謝意を表します．本研究に際し直接御指導頂いた同中央臨床検査部武井泉講師に深謝いたします．さらに多大なる貴重な御助言を頂きました先生方に感謝いたします．

文　献

1) Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder B, Makowski J, Armstrong D, Nicotera T：Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. Lancet 347：444-445, 1996
2) Takahara N, Kashiwagi A, Nishio Y, Harada N, Kojima H, Maegawa H, Hidaka H, Kikkawa R：Oxidized lipoproteins found in patients with NIDDM stimulate radical-induced monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression in cultured human endothelial cells. Diabetologia 40：662-670, 1997
3) Nishio Y, Kashiwagi A, Taki H, Shinozaki K, Maeno Y, Kojima H, Maegawa H, Haneda M, Hidaka H, Yasuda H, *et al*：Altered activities of transcription factors and their related gene expression in cardiac tissues of diabetic rats. Diabetes 47：1318-1325, 1998
4) Maejima K, Nakano S, Himeno M, Tsuda S, Makiishi H, Ito T, Nakagawa A, Kigoshi T, Ishibashi T, Nishio M, *et al*：Increased basal levels of plasma nitric oxide in Type 2 diabetic subjects. Relationship to microvascular complications. J Diabetes Complications 15：135-143, 2001
5) Tooke JE：Possible pathophysiological mechanisms for diabetic angiopathy in type 2 diabetes. J Diabetes Complications 14：197-200, 2000
6) Cerielo A, Motz E, Cavarape A, Lizzio S, Russo A, Quatraro A, Giugliano D：Hyperglycemia counterbalances the antihypertensive effect of glutathione in diabetic patients：evidence linking hypertension and glycemia through the oxidative stress in diabetes mellitus. J Diabetes Complications 11：250-255, 1997
7) Tilton RG, Kawamura T, Chang KC, Ido Y, Bjercke RJ, Stephan CC, Brock TA, Williamson JR：Vascular dysfunction induced by elevated glucose levels in rats is mediated by vascular endothelial growth factor. J Clin Invest 99：2192-2202, 1997
8) Tilton RG：Diabetic vascular dysfunction：links to glucose-induced reductive stress and VEGF. Microsc Res Tech. 57：390-407, 2002
9) James LR, Fantus IG, Goldberg H, Ly H, Scholey JW：Overexpression of GFAT activates PAI-1 promoter in mesangial cells. Am J Physiol Renal Physiol 279：F718-727, 2000
10) Ideta R, Yamashita H, Tanaka Y, Kato S, Kitano S, Hori S：Roles of cytokines in diabetic retinopathy. Arch Ophthalmol 117：700-701, 1999
11) Ross R, Faggiotto A, Bowen-Pope D, Raines E：The role of endothelial injury and platelet and macrophage interactions in atherosclerosis. Circulation 70：III77-82, 1984
12) Ross R：Atherosclerosis--an inflammatory disease. N Engl J Med 340：115-126, 1999
13) Waltenberger J：Modulation of growth factor action：implications for the treatment of cardiovascular diseases. Circulation 96：4083-4094 1997
14) Heidland A, Sebekova K, Schinzel R：Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. Am J Kidney Dis 38：S100-106, 2001
15) Grainger DJ, Kemp PR, Metcalfe JC, Liu AC, Lawn RM, Williams NR, Grace AA, Schofield PM, Chauhan A：The serum concentration of active transforming growth factor-beta is severely depressed in advanced atherosclerosis. Nat Med 1：74-79, 1995
16) Grainger DJ, Wakefield L, Bethell HW, Farndale RW, Metcalfe JC：Release and activation of platelet latent TGF-beta in blood clots during dissolution with plasmin. Nat Med 1：932-937, 1995
17) Wang XL, Liu SX, Wilcken DE：Circulating transforming growth factor beta 1 and coronary artery disease. Cardiovasc Res 34：404-410, 1997
18) Suzuki E, Yasuda K, Takeda N, Sakata S, Era S, Kuwata K, Sogami M, Miura K：Increased oxidized form of human serum albumin in patients with diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract 18：153-158, 1992
19) Bambolkar S, Sainani GS：Evaluation of oxidative stress in diabetics with or without vascular complications. J Assoc Physicians India 43：10-12, 1995
20) Wohaieb SA, Godin DV：Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozocin-induced diabetes in rat. Effects of insulin treatment. Diabetes 36：1014-1018 1987
21) Leinonen J, Lehtimaki T, Toyokuni S, Okada K, Tanaka T, Hiai H, Ochi H, Laippala P, Rantalaiho V, Wirta O, *et al*：New biomarker evidence of oxidative DNA damage in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. FEBS Lett 417：150-152, 1997
22) Shin CS, Moon BS, Park KS, Kim SY, Park SJ, Chung MH, Lee HK：Serum 8-hydroxy-guanine levels are

increased in diabetic patients. Diabetes Care 24 : 733-737, 2001

23) Sogami M, Era S, Nagaoka S, Kuwata K, Kida K, Shigemi J, Miura K, Suzuki E, Muto Y, Tomita E, *et al* : High-performance liquid chromatographic studies on non-mercapt in equilibrium with mercapt conversion of human serum albumin. II. J Chromatogr 332 : 19-27, 1985

24) Sogami M, Era S, Nagaoka S, Kuwata K, Kida K, Miura K, Inouye H, Suzuki E, Hayano S, Sawada S : HPLC-studies on nonmercapt-mercapt conversion of human serum albumin. Int J Pept Protein Res 25 : 398-402, 1985

25) Sogami M, Nagoka S, Era S, Honda M, Noguchi K : Resolution of human mercapt- and nonmercaptalbumin by high-performance liquid chromatography. Int J Pept Protein Res 24 : 96-103, 1984

26) Bourdon E, Loreau N, Blache D : Glucose and free radicals impair the antioxidant properties of serum albumin. FASEB J 13 : 233-244, 1999

27) Brownlee M : Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature 414 : 813-820, 2001

28) Adachi T, Inoue M, Hara H, Maehata E, Suzuki S : Relationship of plasma extracellular-superoxide dismutase level with insulin resistance in type 2 diabetic patients. J Endocrinol 181 : 413-417, 2004

29) Atli T, Keven K, Avci A, Kutlay S, Turkcapar N, Varli M, Aras S, Ertug E, Canbolat O : Oxidative stress and antioxidant status in elderly diabetes mellitus and glucose intolerance patients. Arch Gerontol Geriatr 39 : 269-275, 2004

30) Yla-Herttuala S, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Glass CK, Sigal E, Witztum JL, Steinberg D : Coloca lization of 15-lipoxygenase mRNA and protein with epitopes of oxidized low density lipoprotein in macrophage-rich areas of atherosclerotic lesions. Proc Natl Acad Sci USA 87 : 6959-6963, 1990

31) Yla-Herttuala S, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Sigal E, Sarkioja T, Witztum JL, Steinberg D : Gene expression in macrophage-rich human atherosclerotic lesions. 15-lipoxygenase and acetyl low density lipoprotein receptor messenger RNA colocalize with oxidation specific lipid-protein adducts. J Clin Invest 87 : 1146-1152, 1991

32) Klouche M, Bhakdi S, Hemmes M, Rose-John S : Novel path to activation of vascular smooth muscle cells : up-regulation of gp130 creates an autocrine activation loop by IL-6 and its soluble receptor. J Immunol 163 : 4583-4589, 1999

33) Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, Brown L, Warnica JW, Arnold JM, Wun CC, Davis BR, Braunwald E : The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. N Engl J Med 335 : 1001-1009, 1996

34) Saito M, Ishimitsu T, Minami J, Ono H, Ohrui M, Matsuoka H : Relations of plasma high-sensitivity C-reactive protein to traditional cardiovascular risk factors. Atherosclerosis 167 : 73-79, 2003

35) Nakashima N, Umeda F, Yamauchi T, Ishii H, Hisatomi A, Nawata H, Masuko H, Nakayama K, Tatematsu A : Platelet-derived growth factor and growth-promoting activity in the serum samples and platelets of patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. J Lab Clin Med 120 : 78-85, 1992

36) Lev-Ran A, Hwang DL : Epidermal growth factor and platelet-derived growth factor in blood in diabetes mellitus.Acta Endocrinol (Copenh) 123 : 326-330, 1990