

メタボリックシンドロームにおける 動脈拡張障害と血管周囲脂肪組織が及ぼす効果

籠田 智美, 丸山 加菜, 岩田 紗季, 多田有加里

要約: 内臓脂肪型肥満を基盤とするメタボリックシンドロームは、心血管病の発症リスクが相乗的に増加することから、重要な予防ターゲットとして注目されている。血管の内側を覆う内皮細胞は、種々の因子を産生・放出し、血管の恒常性維持に重要な役割を担っている。血管緊張性を抑制的に制御する因子として発見された一酸化窒素 (NO) は、これまでに様々な心血管病の発症における意義が報告されている。我々は、NO による血管弛緩機能に注目し、モデルラットを用いて、メタボリックシンドロームでは、動脈は酸化ストレスに慢性的に曝露されることによって NO に対する反応性が低下すること、冠動脈に生じる拡張機能低下が心機能の低下を引き起こす要因となることを見出した。さらに、動脈に拡張障害が生じている場合、代償的に血管周囲の脂肪組織は NO に対する血管弛緩作用を亢進させ、血管緊張性維持に寄与している可能性を見出した。このことは、動脈とその周囲脂肪組織との間にクロストークが存在することを示唆するものであり、肥満と心血管病とを結びつける臓器間ネットワークとして注目される。

1. はじめに

厚生労働省の調査によると、我が国の 40~74 歳における男性の約半数、女性の約 2 割が、メタボリックシンドロームおよびその予備軍と推定されている。メタボリックシンドロームは、内臓周囲に脂肪が蓄積する内臓脂肪型肥満を基盤とし、インスリン抵抗性、耐糖能異常、脂質代謝異常や血圧高値といった動脈硬化の危険因子が重複することにより、心血管病や糖尿病の発症リスクが相乗的に増加する病態である。このため、メタボリックシンドロームは、心血管病や糖尿病

の重要な予防ターゲットとして注目されている。

血管内皮細胞は、血管の内腔を覆う細胞で、バリアーとしての機能のみならず、種々の生理活性因子を産生・放出していることが知られている。中でも、内皮細胞が産生する血管緊張性調節に関わる因子として、一酸化窒素 (NO) が知られている。NO は血管緊張性を抑制的に制御する因子として発見され、その後、単球の血管内皮細胞への接着や内皮細胞下組織への浸潤、血小板の凝集、血管平滑筋細胞の増殖などの動脈硬化発症過程を抑制的に制御していることが明らかとされ、血管の恒常性維持に重要な役割を担っていると考えられている (1-3)。

メタボリックシンドロームのモデル動物には、食餌性にメタボリックシンドローム様症状を誘発させるモデルと、遺伝的要因によりメタボリックシンドローム様症状を発症するモデルが存在する。遺伝的要因に起因するメタボリックシンドロームモデルとして、レプチンやレプチン受容体に異常を呈する動物が汎用されており、正常な血圧を保持している (または、軽度な血圧上昇を伴う) モデルとして、ob/ob マウス、db/db マウス、Zucker fatty (ZF) ラット、Zucker diabetic fatty (ZDF) ラット等、遺伝的に高血圧を併発するモデルとして、obese SHR ラット、SHR/NDmcr-cp ラット、SHRSP.Z-*Lepr*^{fa}/IzmDmcr (SHRSP.ZF, 図 1A) ラット (4) 等がある。我々はこれまで、これらのモデル動物を用いて、メタボリックシンドロームにおける動脈拡張機能変化を検討してきた。本稿では、始めに、メタボリックシンドロームに生じる NO 依存性動脈弛緩機能障害とその機構について、次いで、血管周囲脂肪組織 (perivascular adipose tissue: PVAT) が及ぼす影響について、SHRSP.ZF ラットを用いた結果を中心に紹介する。

キーワード: 一酸化窒素, 血管周囲脂肪組織, 心血管病, メタボリックシンドローム

武庫川女子大学 薬学部 薬理学 II 研究室 (〒663-8179 西宮市甲子園九番町 11-68)

E-mail: skagota@mukogawa-u.ac.jp 原稿受領日: 2014 年 10 月 21 日, 依頼原稿

Title: Impairment of vasodilation and effects of perivascular adipose tissue in metabolic syndrome

Author: Satomi Kagota, Kana Maruyama, Saki Iwata, Yukari Tada

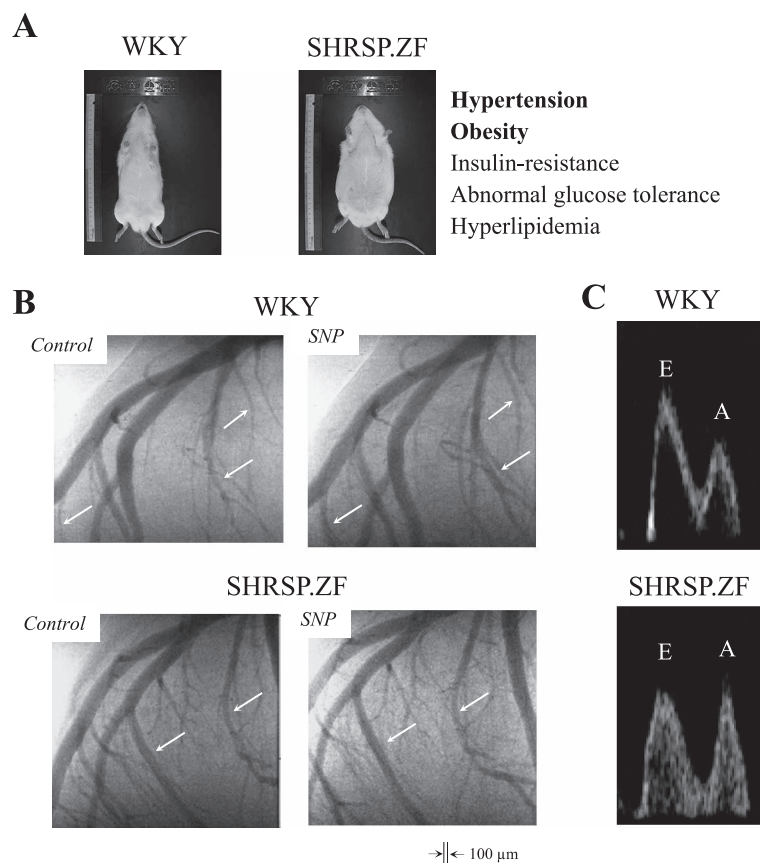


図1 メタボリックシンドロームにおける冠動脈拡張障害および左室拡張能の低下

(A) SHRSP.Z-*Lepr^{fa}/lzmDmcr* (SHRSP.ZF) ラットおよび正常対照 Wistar-Kyoto ラット (WKY). (B) 冠動脈造影法による左冠動脈拡張機能評価: ニトロプルシドナトリウム (SNP) 添加前 (Control) に比べ添加後には, WKY では拡張がみられるが, SHRSP.ZF ラットではほとんど認められない. (C) 心エコー法 (パルスドプラ法) による左室拡張機能評価: SHRSP.ZF ラットにおける左室流入血流速度波形では E 波の低下 (拡張機能障害の指標) が認められる. (文献 6 および 8 より改変)

2. メタボリックシンドロームにおける動脈拡張機能変化

1) メタボリックシンドロームの動脈では NO 依存性弛緩機能が低下している

SHRSP.ZF ラットは, 離乳直後より体重過多が認められ, 実験に用いた 13 から 23 週齢において, 肥満, 血圧高値, 脂質異常, 高血糖といった, いわゆるメタボリックシンドロームの症状を呈する(5). 18 週齢 SHRSP.ZF ラットの胸部大動脈や腸間膜動脈では, 血管内皮細胞による NO 産生を介した弛緩反応性 (アセチルコリンに対する弛緩反応) および血管平滑筋細胞における NO に対する弛緩反応性 (ニトロプルシドナトリウムに対する弛緩反応) は, とともに, 正常対照 Wistar-Kyoto Izm ラット (WKY) に比べ低下していること, その機序として, NO の作用点である可溶性グアニル酸シクラーゼ (sGC) の mRNA およびタンパク質発現量の減少が関与していることを見出した(6). このような変化は, より高週齢の 23 週齢においても同様に認められたが, 若齢の 13 週齢においてはみ

れず正常を維持していた(5). これらのことから, メタボリックシンドロームの状態に動脈が一定期間さらされると, NO 依存性動脈弛緩機能の低下が生じると考えられる.

2) メタボリックシンドロームに生じる NO 依存性動脈弛緩機能の低下は臓器機能の低下を引き起こす

SHRSP.ZF ラットの左冠動脈における拡張機能を検討したところ, 先に述べた腸間膜動脈や胸部大動脈と同様に, NO に対する拡張機能が低下すること (図 1B, 冠血管造影法) (6), また, 冠流量が減少することを見出した(7). このような SHRSP.ZF ラットの左室機能は, 収縮機能は正常を維持しているが拡張に時間がかかるといった拡張障害が生じていた (心エコー法, 図 1C) (8). この結果は, メタボリックシンドロームを呈するヒトの左室で拡張機能が低下している(9) とする報告と一致している. また, 冠動脈狭窄により作成した虚血ラットの心筋では, 細胞内 Ca^{2+} 濃度調節に関与するタンパク質である心筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase (SERCA2a) および phospholamban (SERCA2a タンパク質の抑制性機能タンパク質) の発現量が変化するこ

とが知られている(10). SHRSP.ZF ラットの心室においても両タンパク質発現に異常がみられた(7) ことから, メタボリックシンドロームに生じる冠動脈拡張機能の低下が, 左室拡張機能障害を引き起こす要因の1つであると考えられる.

3) 動脈および心筋の拡張機能低下は酸化ストレスを抑制することにより防止できる

SHRSP.ZF ラットの動脈に生じる NO 依存性弛緩機能低下を引き起こす要因は何か? この問題を検証するため, 我々は種々のモデル動物を用いて検討した. 高血圧を併発するメタボリックシンドロームモデル SHR/NDmcr-cp ラットの動脈においても SHRSP.ZF ラットと同様の変化が観察された(11, 12) ことから, 「血圧高値」による影響を考えカルシウム拮抗薬処置により血圧降下を試みたが機能改善は認められず(11), db/db マウスの動脈においても SHRSP.ZF ラットと同様の変化が観察された(13). また, インスリン抵抗性改善薬処置によっても機能改善は認められなかった(14). これらの結果から, メタボリックシンドロームを構成する病態を個々に改善したとしても, メタボリックシンドロームに生じる NO 依存性動脈弛緩機能低下の発症を防止する効果は小さいと考えられる.

マルチプルリスクファクター症候群であるメタボリックシンドロームには, 共通の発症基盤があるとする考え方がある. その因子として, アンジオテンシン II による酸化ストレスが注目されている(15-17). SHRSP.ZF ラットでは, 血中過酸化脂質値(全身の酸化ストレスの指標)の増加, 血管壁における活性酸素(O_2^-)産生の亢進, 血管壁ニトロ化タンパク量(パーオキシナイトライトの産生指標)の増加が認められ, メタボリックシンドロームにおいて動脈壁は酸化ストレスにさらされていることを確認した(6). そこで, SHRSP.ZF ラットに AT_1 受容体拮抗薬を処置すると, 酸化ストレスが抑制されるとともに, 動脈拡張機能の低下, 冠流量の減少, 左室拡張機能の低下が防止できることを見出した(6, 7, 14). また, ラジカスルカベンジャー(Tempol)投与においても同様の予防効果が確認された(18).

以上のことから, メタボリックシンドロームでは, 動脈が酸化ストレスに慢性的にさらされることにより, NO 依存性動脈弛緩機能の低下が引き起こされると考えられる(図2). 機能低下の機序として, 内皮型 NO 合成酵素(eNOS)の活性低下, NO 活性の低下, sGC タンパクのニトロ化変性が関与する可能性は低く, sGC の mRNA 発現量の減少が関与していると思われる(18). 今後は, 発症機構の詳細を明らかにする必要がある.

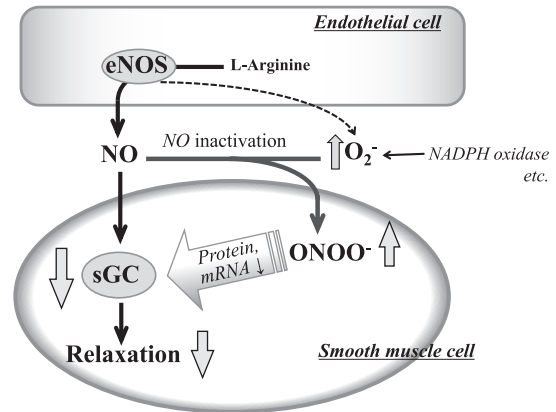


図2 メタボリックシンドロームにおける動脈拡張障害の機序
メタボリックシンドロームを呈する SHRSP.Z-*Lepr^{fa}*/IzmDmcr (SHRSP.ZF) ラットの動脈は, 慢性的に酸化ストレスにさらされており, 可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)発現量が減少することにより, 一酸化窒素(NO)依存性弛緩機能が低下する。eNOS:内皮型NO合成酵素, O_2^- :スーパーオキシドアニオン, ONOO⁻:パーオキシナイトライト。

3. 血管周囲脂肪組織が及ぼす血管緊張性への影響

1) メタボリックシンドロームの成因として脂肪組織由来生理活性物質の役割が注目されている

メタボリックシンドロームの発症基盤は内臓周囲脂肪であるとの考えから, 脂肪組織の重要性が注目されている。脂肪細胞は, 従来, エネルギー貯蔵臓器として捉えられてきたが, 種々の生理活性物質(アディポサイトカイン)を分泌することが明らかとされ, 肥満と心血管病とを結びつける重要な要因であると考えられるようになってきた。これまでの研究により, アディポサイトカインは, 血管平滑筋細胞の増殖や遊走, 物質透過性を変化させることにより, 血管壁の恒常性に影響を及ぼすことが知られている(19, 20)。アディポサイトカインの中には血管緊張性に影響を及ぼすものもあり, 弛緩因子として, レプチン, アディポネクチン, ビスファチン, omentin(本特集 風間ら), hydrogen sulfide (H_2S), NO, アンジオテンシン(1-7)など, 収縮因子として, レジスチン, reactive oxygen species, ケメリン, アンジオテンシン II などが報告されている(20-22)。

2) 血管周囲に存在する PVAT が血管緊張性に影響を及ぼしているとする報告は多いが一定した見解は得られていない

1991年, Soltis らにより「正常ラット胸部大動脈の PVAT は, 血管の収縮反応性を抑制している」と報告された(23)。それ以降, 様々な動物種や動脈部位を用いて, PVAT は「血管の収縮反応性を抑制する」とする報告がある一方で, PVAT は「収縮反応性を増強す

表1 血管周囲脂肪組織 (perivascular adipose tissue : PVAT) の血管収縮・弛緩反応性に与える影響

Agonists	Species	Vessel type	References
PVAT inhibits contraction			
NAd	Sprague-Dawley rat	Aorta	(23)
Phenyl, 5-HT, ET-1	Sprague-Dawley rat	Mesenteric artery	Verlohren S, et al. Hypertension. 2004;44:271-276.
NAd, 5-HT	Wistar rat	Aorta	Gao YJ, et al. Br J Pharmacol. 2007;151:323-331.
NAd	WKY, SHR	Mesenteric artery	(29)
NAd	Human	Saphenous vein, Internal mammary artery	Ozen G, et al. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2013;107:13-17.
Phenyl	Obese SHR (SHROB)	Mesenteric artery	(26)
PVAT enhances contraction (↑) / No effect (→)			
NAd →, ET-1 →, Ang II →	New Zealand obese mouse	Mesenteric artery	Marchesi C, et al. Hypertension. 2009;54:1384-1392.
NAd →	Wistar rat, Diet-induced obesity	Aorta	Sun X, et al. J Molecular Cellular Cardiol. 2013;63:169-174.
KCl ↑	Pig, Diet-induced obesity	Coronary artery, Mesenteric artery	(28)
NAd →	C57/BL6 mouse, Diet-induced obesity	Mesenteric artery	(25)
PVAT inhibits relaxation (↓) / No effect (→)			
ACh →, BK →, SNP →	Pig, Diet-induced obesity	Coronary artery	Reifenberger MS, et al. Med Sci Sports Exerc. 2007;39:2125-2134.
BK ↓, SNP →	Dog	Coronary artery	Payne GA, et al. Microcirculation. 2008;15:417-426.
ACh ↓, SNP ↓	Sprague-Dawley rat	Mesenteric artery	(29)
ACh ↓	WKY, SHROB	Mesenteric artery	(26)
PVAT increases relaxation			
ACh, SNP	C57/BL6 mouse, Diet-induced obesity	Mesenteric artery	(27)
Insulin	C57/BL6 mouse	Resistant artery (gracilis muscle)	Meijer RJ, et al. Diabetes. 2013;62:590-598.

NAd: noradrenaline, Phenyl: phenylephrine, 5-HT: 5-hydroxytryptamine (serotonin), ET-1: endothelin-1, Ang II: angiotensin II, KCl: potassium chloride, ACh: acetylcholine, BK: bradykinin, SNP: sodium nitroprusside, WKY: Wistar-Kyoto rat, SHR: spontaneously hypertensive rat.

る」,「弛緩反応性を抑制する」,「弛緩反応性を増強する」との報告もある(表1)。このようなPVATの効果の違いは, PVAT由来の血管作動性物質に依存する, または, その産生量が病態発症に伴い変化すると考えると理解できるのかもしれない。メタボリックシンドロームでは, 内臓脂肪の増加に伴い, 動脈周囲の脂肪組織も増加することから, PVATが動脈の収縮・弛緩反応性に影響する可能性は高い。これまでの報告では, メタボリックシンドローム状態のPVATが及ぼす動脈収縮・弛緩反応性への効果は, 正常動物に比べ, 効果が小さい(24, 25), 効果に違いはない(26), 効果が大きい(27, 28)と様々である。そこで, 我々のモデル動物を用いて検討を開始した。

3) メタボリックシンドロームにおいて動脈拡張機能が低下している時には血管抵抗性維持のためPVATが代償的に働いているのではないか

SHRSP.ZFラットの動脈周囲には多くのPVATが存在している(図3A, 腸間膜動脈)。そこで, PVATを剥離しない摘出動脈標本を作成し(図3B), 動脈の収縮・弛緩反応性に及ぼす影響を検討した。その結果, メタボリックシンドロームを呈しているSHRSP.ZFラットの腸間膜動脈周囲に存在するPVATは, フェニレフリンに対する収縮反応に影響しないこと, ニトロ

プルシドナトリウム(SNP)に対する弛緩反応(血管平滑筋細胞のNOに対する弛緩反応性)の低下を正常対照WKY程度にまで亢進することを見いだした(18週齢, 図3C)。一方, 同週齢の正常対照WKYのPVATでは動脈収縮・弛緩反応性に影響しなかったことから, メタボリックシンドローム状態のPVATがNOによる動脈弛緩作用を亢進すると考えられた。また, 週齢によるPVATの効果の違いを検討したところ, NOに対する弛緩機能が維持されている若齢(13週齢)では効果は認められないが, NOに対する弛緩機能に減弱が生じている週齢(18~23週齢)ではPVATによる増強効果が観察された。さらに, PVATによる効果は, PVAT量(重量)には依存せず, 動脈の弛緩機能低下の程度に依存することを見いだした(18~20週齢SHRSP.ZFラット, 図3D)。このことから, メタボリックシンドロームを発症しているSHRSP.ZFラットでは, 動脈のNOに対する弛緩機能が低下した場合, 代償的に, PVATによる増強効果が生じるのではないかと推察された。

SHRSP.ZFラットにおける結果と同様に, 食餌性に誘発した肥満マウスの腸間膜動脈では, PVATによりNO依存性動脈弛緩機能が亢進すること, その機序としてPVATから代償的にNO産生が亢進しているとの

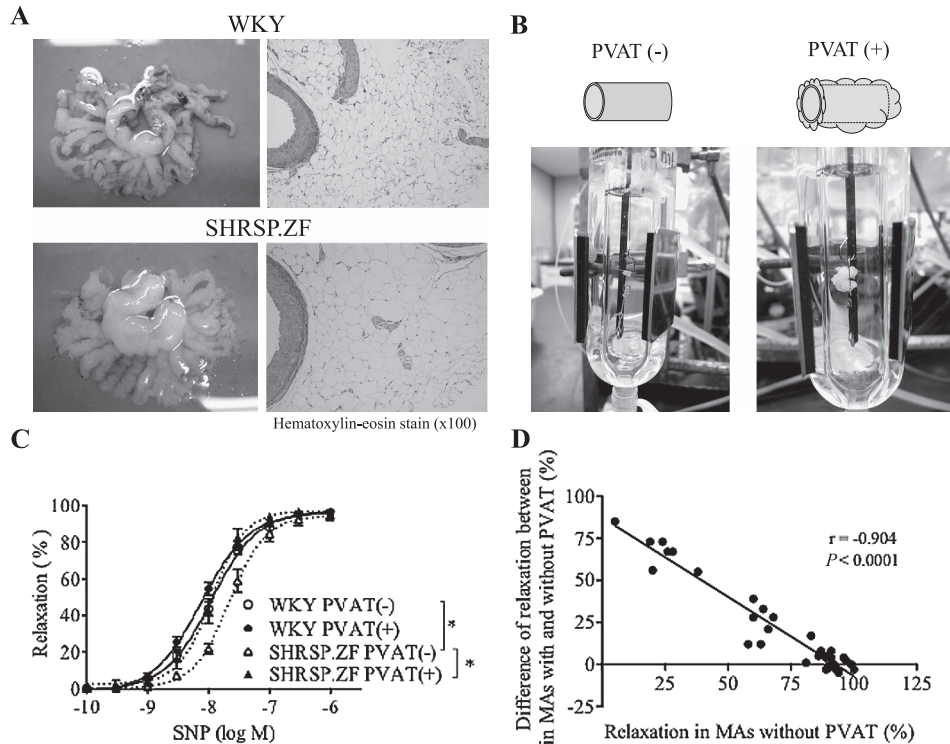


図3 メタボリックシンドロームにおける血管周囲脂肪組織 (PVAT) の動脈弛緩機能に及ぼす効果

(A) PVATに覆われた腸間膜動脈の肉眼写真および組織切片像。(B) 摘出腸間膜動脈標本の肉眼写真: PVAT 剥離動脈標本 PVAT(-) および PVAT 付着動脈標本 PVAT(+). (C) NO ドナー (ニトロプルシドナトリウム, SNP) に対する動脈弛緩反応に及ぼす PVAT の効果: SHRSP.Z-*Lepr^{fa}*/lzmDmcr (SHRSP.ZF) ラットでは NO に対する弛緩反応性が低下しているが, PVAT が共存すると WKY 程度にまで弛緩反応が増強した (Mean $\pm$ S.E.M., * $P < 0.05$, compared with $-\log EC_{50}$). (D) SHRSP.ZF ラットの PVAT 剥離動脈標本における SNP に対する弛緩反応性 (横軸) と PVAT 剥離および付着動脈標本における SNP に対する弛緩反応の差 (縦軸) との相関: SHRSP.ZF ラットでは, NO に対する動脈弛緩反応が低下しているほど, PVAT による弛緩反応の増強効果が大きい (r 相関係数).

報告がある(27). また最近, SHRSPZF ラットと同じくレプチン受容体異常を基盤とする obese SHR ラットの PVAT はプロスタグランジン類 (PGs) を(26), SHR の PVAT は K^+ チャンネル開口因子を(29) 産生・放出していると報告された. しかし, SHRSPZF ラットの PVAT による増強効果はインドメタシンおよび各種 K^+ チャンネル拮抗薬によって影響されなかったことから, SHRSPZF ラットの PVAT が PGs や K^+ チャンネル開口因子を産生・放出している可能性は低い. PVAT による血管弛緩の機構や活性本体については, 今後の研究課題である.

以上のことから, メタボリックシンドロームにおいて, 動脈の NO に対する弛緩機能が低下した際には, 肥満に伴い増加した血管周囲の脂肪組織 PVAT は, 血管緊張性維持のために代償的に働くのではないかと推察された. 今後は, メタボリックシンドローム状態の継続期間によって PVAT の効果が変化する可能性が考えられるため, より慢性期の動物を使った検討を実施したいと考えている.

4. おわりに

メタボリックシンドロームでは, 動脈は慢性的に酸

化ストレスにさらされることにより, NO に対する弛緩機能が低下すること, このような際には, 血管周囲の脂肪組織 PVAT は, 代償的に血管弛緩機能を亢進させることにより, 血管緊張性維持に寄与するのではないかと考えられる. これらの結果は, 動脈とその周囲の脂肪組織との間にクロストークが存在することを示唆している(図4). 今後は, その機構の詳細について明らかにしていきたい.

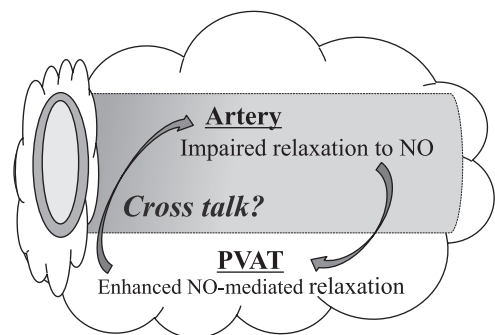


図4 動脈と周囲脂肪組織とのクロストーク

メタボリックシンドロームにおいて, NO に対する動脈弛緩機能が低下すると, 血管周囲脂肪組織 (PVAT) は, 代償的にその弛緩機能を亢進させることにより, 血管緊張性維持に寄与している.

謝辞：執筆の機会を与えてくださいました山脇英之先生、松本貴之先生に御礼申し上げます。本研究を行うにあたりご協力賜りました、武庫川女子大学薬学部 篠塚和正教授を始め、国友勝名誉教授、和久田浩一博士、卒論研究生の皆様感謝いたします。冠動脈機能解析は、国立循環器病研究センター病院 福島和人先生、高輝度光科学研究センター 梅谷啓二先生、心機能解析は、兵庫医科大学 増山理教授、小柴賢洋教授、内藤由朗先生、松本実佳先生、兵庫医療大学 辻野健教授、芝田宏美先生にご協力ご助言賜りました。心より感謝申し上げます。血管研究の道へと導いていただいた藤原元始先生に深く御礼申し上げます。

SHRSP.ZF ラットおよび WKY は、SHR 等疾患モデル共同研究会（京都）から分与いただきました。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Raij L, et al. J Clin Hypertens. 2006;8:30-39.
- 2) Heitzer T, et al. Circulation. 2001;104:2673-2678.
- 3) Rajendran P, et al. Int J Biol Sci. 2013;9:1057-1069.
- 4) Hiraoka-Yamamoto J, et al. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2004;31:107-109.
- 5) Kagota S, et al. Vas Pharmacol. 2014;63:46-54.
- 6) Kagota S, et al. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2010;37:1035-1043.
- 7) Kagota S, et al. Can J Pharmacol. 2013;94:124-133.

- 8) Tada Y, et al. Biol Pharm Bull. 2010;33:1971-1977.
- 9) Dinh W, et al. Acta Cardiol. 2011;66:167-174.
- 10) Shintani-Ishida K, et al. Biochim Biophys Acta. 2011;1812:743-751.
- 11) Kagota S, et al. J Cardiovasc Pharmacol. 2007;50:677-685.
- 12) Kagota S, et al. Life Sci. 2006;78:1187-1196.
- 13) Kagota S, et al. Br J Pharmacol. 2011;164:358-371.
- 14) Kagota S, et al. Can J Physiol Pharmacol. 2011;89:355-363.
- 15) Roberts MA, et al. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2010;51:4327-4336.
- 16) Munzel T, et al. Eur Heart J. 2010;31:2741-2749.
- 17) Kamide K. Curr Hypertens Rev. 2014;9:238-245.
- 18) Kagota S, et al. Microvasc Pharmacol. 2013;88:70-78.
- 19) Maury E, et al. Mol Cell Endocrinol. 2010;314:1-16.
- 20) Szasz T, et al. Vasc Health Risk Manag. 2013;9:105-116.
- 21) Mendizabal Y, et al. Int J Hypertens. 2013;2013:230868.
- 22) Gu Y, et al. Rev Endocr Metab Disord. 2013;14:49-58.
- 23) Soltis EE, et al. Clin Exp Hypertens. 1991;13:277-296.
- 24) Sun X, et al. J Molecular Cellular Cardiol. 2013;63:169-174.
- 25) Aoqui C, et al. Cardiovasc Diabetol. 2014;13:31.
- 26) Mendizabal Y, et al. Life Sci. 2013;93:1023-1032.
- 27) Gil-Ortega M, et al. Endocrinology. 2010;151:3299-3306.
- 28) Owen MK, et al. Circulation. 2013;128:9-18.
- 29) Li R, et al. Eur J Pharmacol. 2013;698:310-315.

著者プロフィール

籠田 智美 (かごた さとみ)

武庫川女子大学 薬学部 薬理学Ⅱ研究室, 准教授, 薬学博士.