

糖尿病血管合併症における酸化ストレスの役割

井口, 登與志
九州大学大学院医学研究院病態制御内科学

高柳, 涼一
九州大学大学院医学研究院病態制御内科学

<https://doi.org/10.15017/10215>

出版情報：福岡醫學雑誌. 99 (3), pp.47-55, 2008-03-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：

総 説

糖尿病血管合併症における酸化ストレスの役割

九州大学大学院医学研究院 病態制御内科学

井 口 登與志, 高 柳 涼 一

はじめに

糖尿病患者数は、近年急速に増加しており、厚生労働省の試算では、1997年の調査で690万人であった本邦における糖尿病患者数は2010年には1000万人を超えることが推定されている。患者数の増加に伴うその合併症の増加は、国民の健康はもちろん医療経済両面においても極めて重要な問題となっている。糖尿病関連医療費は総医療費32兆円の約10%と試算されている。しかしながら、その重要性にも関わらず、糖尿病合併症の成因および治療法については未だ確立されていないのが現状である。糖尿病血管壁機能異常の機序として、高血糖に起因する代謝異常すなわち非酵素的糖化亢進、ポリオール代謝亢進、細胞内調節酵素であるプロテインキナーゼC (PKC) 活性化が推定されている。さらに近年、これらの代謝異常に密接に関連して生体内活性酸素種 (ROS) 産生が増加することが明らかとなり、酸化ストレスの血管合併症への関与が注目される。本稿においては、糖尿病血管合併症の成因としての酸化ストレス亢進とその分子機序について自験成績を中心に概説し、さらにこの機序をターゲットとした糖尿病血管合併症に対する抗酸化療法の可能性について考察する。

1. 糖尿病における酸化ストレス亢進

糖尿病患者や糖尿病動物において酸化ストレス亢進を示唆する多くの成績が報告されている。DNA酸化傷害の指標である8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) 含量の単球での増加、血中濃度や尿中排泄量の増加、糖尿病患者血清中の過酸化脂質、酸化LDLやリポ蛋白中のリゾホスファチジルコリン含量の増加、アラキドン酸の過酸化物質である8-iso-prostaglandin F_{2a}の血中濃度や尿中排泄量の増加などが報告されている。著者らは、非侵襲的かつ特異的に生体内フリーラジカル産生を測定出来るin vivo electron spin resonance (ESR)/スピンプローブ法を用い糖尿病動物におけるフリーラジカル産生亢進を確認した¹⁾。

2. 糖尿病における酸化ストレス亢進の機序

糖尿病における酸化ストレス亢進の機序として、高血糖を介した種々の代謝異常すなわちadvanced glycation end product (AGE)生成、グルコース自己酸化、ポリオール代謝異常、キサンチンオキシダーゼ活性化、ヘキソサミン代謝亢進、ミトコンドリアよりのスーパーオキシド産生亢進およびPKC活性化を介したNAD (P) Hオキシダーゼ活性化などが報告されている²⁾。特にミトコンドリアは酸化的リン酸化によって生体に必要なATPの産生をおこなっており、定常状態においてもミトコンドリア内の電子伝達系から逸脱した電子が酸素分子と反応しスーパーオキシドアニオンが生成される。高血糖状態においてこの経路が亢進し、酸化ストレスが亢進するという仮説が提唱されている³⁾。すなわち高グルコース下で培養した血管内皮細胞内のROSが増加し、ミトコンドリア電子伝達系における複合体II阻害薬および脱共役剤にて抑制されることが示された。さらにこれらの阻害剤によりミトコンドリアからのROSを抑制することにより、PKC活性、NF κ -B活性、およびAGEs産生がすべて低下することが示されている。一方、

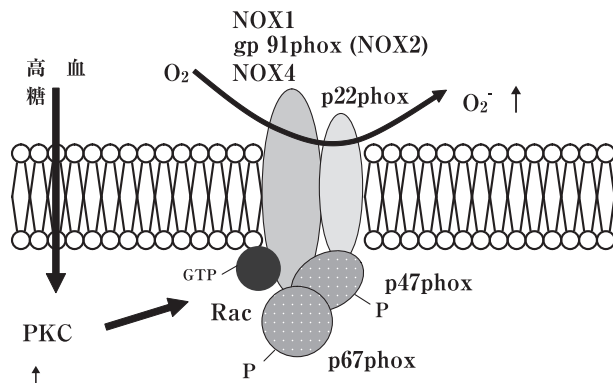


図1 血管壁細胞 NAD (P) H オキシダーゼと糖尿病における活性化機序

鎖の阻害薬 rotenone では抑制されなかった。さらに、PKC 阻害薬である calphostin C および GF109203X はこのフリーラジカル産生増加を有意に抑制した。以上の成績より、高グルコース培養により PKC 活性化を介し、血管壁細胞の NAD (P) H オキシダーゼよりのスーパーオキシドの産生が増加することが推定された。血管壁細胞 NAD (P) H オキシダーゼの酵素活性を担うのは細胞膜貫通型の蛋白質であるチトクローム b558p であり、p22phox と NOX ファミリー蛋白質の2つのサブユニットより構成される。NAD (P) H オキシダーゼの活性化は、細胞質に存在する特異的蛋白質 p47phox と p67phox および低分子量 GTP 結合蛋白質である Rac が細胞膜に移行し、チトクローム b558 と複合体を形成することによって引き起こされる。著者らは、NAD (P) H オキシダーゼの活性化の重要な調節因子である Rac に対する高グルコース培養の効果を検討し、高グルコース培養により血管平滑筋細胞の活性化型 Rac が増加すること、またこの Rac の活性化は PKC 阻害薬により是正されることを示した⁵⁾。高グルコースによる血管壁細胞 NAD (P) H オキシダーゼ活性化の機序として、PKC による低分子量 GTP 結合蛋白質 Rac の活性化が推定された。著者らは、非侵襲的生体外計測法 in vivo ESR 法を用いて糖尿病モデル動物における酸化ストレス亢進の機序についても検討した。糖尿病ラットで上昇したフリーラジカル産生亢進は staurosporine アナログである CGP41251 の投与および NAD (P) H オキシダーゼ阻害薬である apocynin 投与により有意に抑制された⁶⁾。すなわち、糖尿病ラットを用いた検討においてもフリーラジカル産生亢進に PKC 活性化を介した NAD (P) H オキシダーゼよりのスーパーオキシド産生増加が重要な役割を果たしていることが示された(図1)⁷⁾。

3. 酸化ストレス亢進と macroangiopathy

動脈硬化症進展の一成因として活性酸素 (ROS) やそれに由来するフリーラジカル、過酸化脂質などの酸化ストレスの関与が示唆されている。酸化ストレス亢進によって生成された LDL はマクロファージに取り込まれて泡沫化し、不安定プラークを形成して急性心筋梗塞や不安定狭心症の発症誘因となる。また、酸化 LDL やスーパーオキシドを含めたフリーラジカル自身が血管内皮細胞を傷害し、さらに NO 産生低下や血管壁での炎症を惹起し動脈硬化の進展に関与することが推定されている。

自然発症糖尿病モデルである OLETF ラットの大動脈において NAD (P) H オキシダーゼ膜構成蛋白質 p22phox の発現が増加していること、また同時に NAD (P) H オキシダーゼ活性も増加しており内皮依存性血管弛緩反応の異常と関連していることが報告された⁸⁾。また近年、食後高血糖と心血管イベントの間の密接な関係が明らかにされ、その機序として食後高血糖に起因する酸化ストレス亢進が注目されている。Ceriello らは、高炭水化物食と低炭水化物食による食事負荷試験を行い、食後2時間において過酸化脂質の指標である MDA (malondialdehyde) の増加、抗酸化能の指標である TRAP (total radical trapping antioxidant parameter) の低下、LDL oxidation の増強を認め、特に高炭水化物食摂取後の高血糖状態で顕著であったと報告し、食後高血糖は酸化ストレスを介して2型糖尿病における動脈硬化症促進に関与する

著者らは、高血糖により活性化された細胞内調節酵素である PKC が血管壁細胞 NAD (P) H オキシダーゼを活性化しスーパーオキシド産生を増加させることを報告した⁴⁾。すなわち、3日間の高グルコース (400mg/dl) 培養により培養大動脈血管内皮細胞と平滑筋細胞よりのフリーラジカルの産生は有意に増加し、この増加は NAD (P) H オキシダーゼ阻害薬である diphenylene iodonium 投与により完全に抑制された。一方、その他のフラビン蛋白阻害薬であるキサンチンオキシダーゼ阻害薬 oxypurinol、NO 合成酵素阻害薬 l-N-monomethyl arginine、ミトコンドリア呼吸

可能性を示唆した⁹⁾。さらに、Ceriello らのグループは高グルコース培養によりヒト臍帯静脈内皮細胞の PKC β 活性化とそれに続く NAD (P) H オキシダーゼ構成蛋白の発現増加, 酸化ストレス亢進およびアポトーシスの増加を示し, 高グルコースと正常グルコース条件を交互に繰り返すと, これらの変化はさらに顕著化することを明らかにした。変動する血糖状態は持続的高血糖よりも内皮細胞傷害性が強い可能性が推定された¹⁰⁾。また, 動脈硬化に関与する重要な接着分子である ICAM-1 が酸化ストレスを介して食後増加することも報告されている。

4. 酸化ストレス亢進と microangiopathy

糖尿病腎においても酸化ストレスの亢進を示唆する報告がなされている。Ha らは STZ ラットの腎組織における酸化ストレス指標である 8-OHdG 含量の増加を報告した¹¹⁾。著者らも ELISA 法による検討において, 尿中 8-OHdG 排泄量の増加とともに腎組織のミトコンドリア DNA の 8-OHdG 含量が有意に増加する成績を認めた (図 2)¹²⁾。そこで著者らは, 腎臓における酸化ストレス亢進における NAD (P) H オキシダーゼの役割を検討するため腎における主な構成蛋白である NOX4 と p22phox の発現についてストレプトゾトシン糖尿病ラットを用い検討した¹³⁾。糖尿病ラット腎における NOX4 と p22phox の mRNA 量

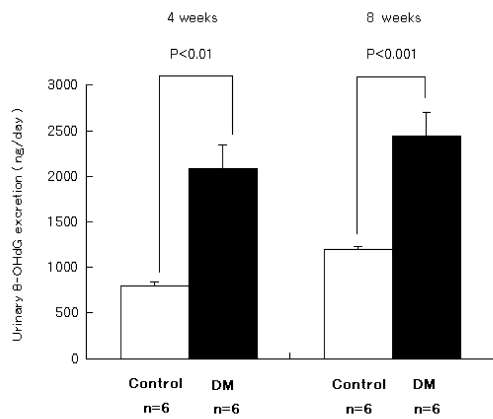


図 2 A 糖尿病ラット尿における 8-OHdG 排泄量の増加 (文献 12 より)

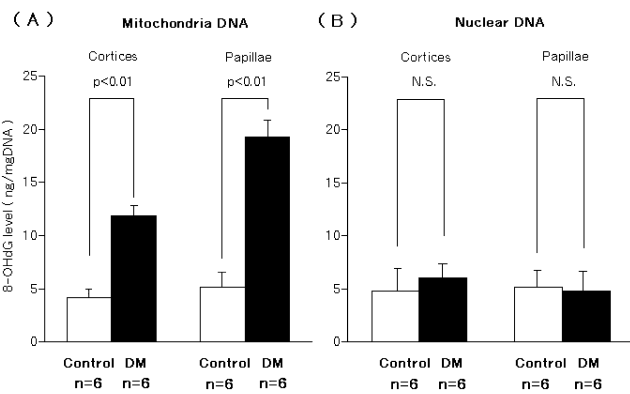


図 2 B 糖尿病腎組織ミトコンドリア DNA における 8-OHdG 含量の増加 (文献 12 より)

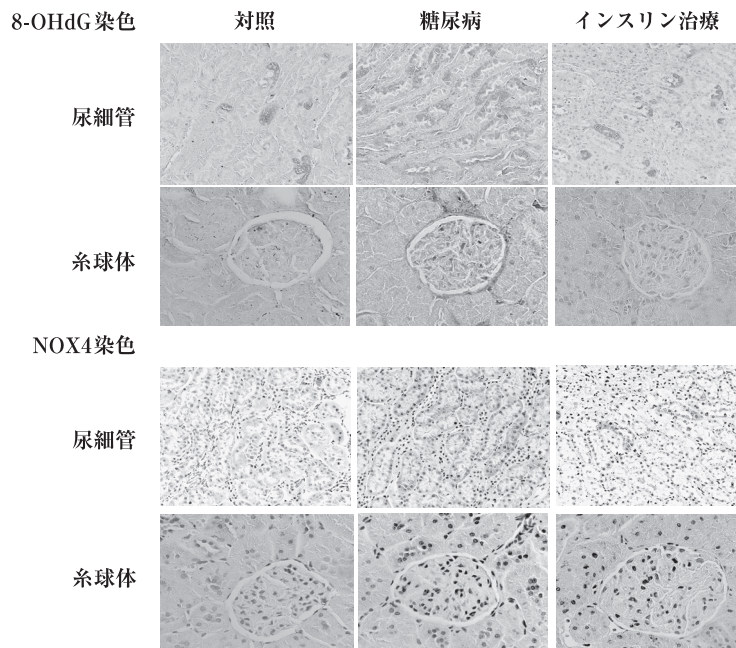


図 3 糖尿病ラット腎組織における 8-OHdG 染色と NOX4 染色 (文献 13 より改変)

は有意に増加しており、免疫染色法においても NOX4 と p22phox 蛋白の発現は明らかに増加する所見を認めた (図3)。興味あることに、免疫染色法による NOX4 と p22phox の発現部位は 8-OHdG の染色部位と極めて一致しており、糖尿病腎の酸化ストレス亢進における NAD (P) H オキシダーゼの役割を支持する成績と考えられた。

一方、糖尿病腎症の発症進展への AGE の関与を示唆する多くの報告がなされているが、AGE と酸化ストレスとの関連も推定されている。すなわち AGE は、細小血管内皮細胞の RAGE (receptor of AGE) を介して作用し細胞内酸化ストレス産生を亢進させること¹⁴⁾、またこの分子機構として NAD (P) H オキシダーゼを介した機序が報告されている。また腎近位尿細管上皮細胞に働き、細胞内酸化ストレス産生亢進を介して TGF β 遺伝子の発現を誘導することも報告されており AGE の酸化ストレスを介した腎症の発症進展への関与も推定される。

5. 体質性黄疸ジルベール症候群併発糖尿病患者における血管合併症発症の抑制

上記のように、糖尿病性血管合併症の成因として酸化ストレス亢進が注目されているが、糖尿病患者を対象とした臨床成績では、一部の肯定的成績を除き、糖尿病腎症や macroangiopathy に対する抗酸化薬の有効性を支持する成績は極めて少ない。そこで、著者らは血清ビリルビンの抗酸化作用¹⁵⁾に着目し、高ビリルビン血症を示す体質性黄疸ジルベール症候群を併発した糖尿病患者における血管合併症発症頻度を検討した¹⁶⁾。ジルベール症候群併発糖尿病患者の網膜症、蛋白尿、虚血性心疾患の頻度は 12.5%、3.1% および 2.1% と対照糖尿病患者の 38.2%、16.2% および 12.3% に比較し有意に低率であった (各々 $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P = 0.006$)。さらに年齢、性、血圧値、BMI、HbA1c、総コレステロール、LDL コレステロール、中性脂肪、HDL コレステロールを含む多変量解析においてジルベール症候群併発は各合併症と有意な負の相関を認め、これらの因子で調整されたオッズ比は網膜症で 0.22、($P < 0.01$)、蛋白尿で 0.20 ($P < 0.01$)、虚血性心疾患で 0.21 ($P = 0.04$) と著明な低下を認めた (表 1)。また、ジルベール症候群併発群の酸化ストレス指標尿中 8-OHdG および炎症指標血清高感度 CRP 濃度は、ジルベール症候群非併発群に比し有意に低値であった。これらの成績は、糖尿病血管合併症に対する抗酸化療法の有用性を示す有力なエビデンスと考えられた。

6. 糖尿病血管合併症に対する抗酸化療法

現在臨床応用可能な抗酸化薬としてビタミン E、 α リポ酸、プロブコールなどラジカルスカベンジ作用を有する薬剤があげられる。実験動物を用いた検討では、これらの抗酸化薬の有効性を支持する成績が報告されている。Koya らは、ビタミン E 投与により糖尿病動物の糸球体濾過および尿中アルブミン排泄の増加が改善されることを報告した¹⁷⁾。また、Melhem らは、 α リポ酸投与により尿中アルブミン排泄の増加、糸球体体積の増加、糸球体の TGF- β 、タイプ VI コラーゲン含量の増加がすべて改善したと報告した¹⁸⁾。しかしながら、これらの抗酸化薬の有効性を支持するヒトでの臨床成績は極めて少ない。これまでの臨床成績はビタミン E 投与の効果を検討したものがほとんどであるが、抗酸化薬としてのビタミン E については 1) ビタミン E とラジカルの反応速度から推定するとこれまで用いられたビタミン E の投与量では臨床的效果をあげるには低容量過ぎる、2) ビタミン E がラジカルと反応するとトコフェロールラジカルを形成しプロオキシダントとして働く結果となるなど、ビタミン E の長期投与は有効な抗酸化薬と

表 1 体質性黄疸ジルベール症候群併発糖尿病患者における血管合併症発症のオッズ比 (多変量解析)

	オッズ比	95% C.I.	P 値
網膜症	0.215	0.104-0.446	< 0.0001
マクロアルブミン尿	0.205	0.061-0.687	0.0102
虚血性心疾患	0.206	0.048-0.885	0.0336
脳血管障害	0.607	0.200-1.843	0.3788

性別、年齢、BMI、収縮期血圧、拡張期血圧、HbA1c 値、LDL-コレステロール値、総コレステロール値、中性脂肪値、HDL-コレステロール値による補正 (論文 16 より改変)

して働いていなかった可能性も推定される¹⁹⁾。

そこで、酸化ストレス亢進の成因をターゲットとした抗酸化薬の可能性が考えられる。著者らは、血管壁や腎 NAD (P) H オキシダーゼをターゲットとした糖尿病合併症治療薬としての抗酸化療法を提唱してきた²⁰⁾²¹⁾。まず、HMG-CoA 還元酵素阻害薬であるスタチンの低分子量 GTP 結合蛋白抑制作用に着目し検討した。スタチンはメバロン酸代謝を抑制し、コレステロール合成を抑制するとともにゲラニルゲラニルピロリン酸の生成を抑制する。低分子量 GTP 結合蛋白 Rac の活性化には、ゲラニルゲラニル化により膜にアンカーされることが必要であることより、スタチンは Rac のゲラニルゲラニル化抑制作用により、高グルコースによる血管壁 NAD (P) H オキシダーゼの活性化を抑制する可能性が推定される。そこで、著者らは高グルコース培養および糖尿病動物におけるフリーラジカル産生に対するスタチンの効果を検討した⁵⁾。高グルコース培養により増加したラジカル産生の増加はピタバスタチン添加により抑制され、メバロン酸の同時添加によりその効果は消失した (図 4)。また同時に測定した Rac 活性は、ピタバスタチン添加により抑制され、メバロン酸の同時添加によりその効果は消失することを確認した。さらに、糖尿病ラットを用いた生体外非侵襲的計測法である in vivo ESR 法を用いた検討により、亢進したラジカル産生はピタバスタチン投与により改善することを確認した。以上の成績より、スタチンは糖尿病における酸化ストレス亢進を改善することが in vitro および in vivo において示された。さらに著者らは、db/db マウス腎障害に対するピタバスタチンの効果を検討した。db/db マウスにおいて尿中アルブミン排泄量および 8-OHdG 排泄量は有意に増加したが、ピタバスタチン投与にて有意に改善した。また、腎組織の検討でも、

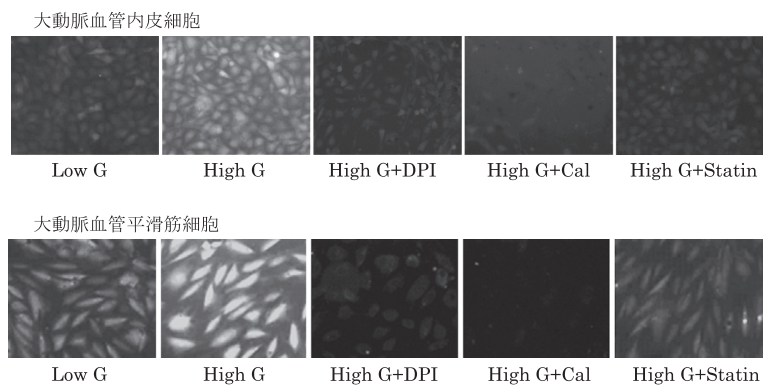


図 4 高グルコース培養における血管壁細胞内酸化ストレス亢進と NAD (P) H オキシダーゼ阻害薬 (diphenylene iodonium ; DPI), PKC 阻害薬 (calphostin C ; Cal), およびピタバスタチン (Statin) の抑制効果 (DCF-DA 法), Low G ; 100mg/dl グルコース, High G ; 450 mg/dl グルコース (文献 5 より改変)

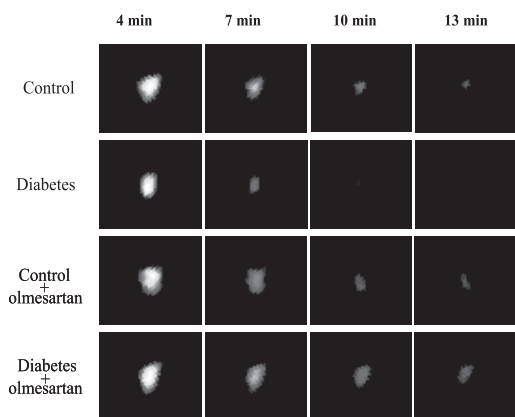


図 5 A ESR イメージング法による糖尿病腎のラジカル産生亢進とオルメサルタンの改善効果。シグナル減衰率は腎におけるラジカル産生量を反映する (文献 23 より改変)

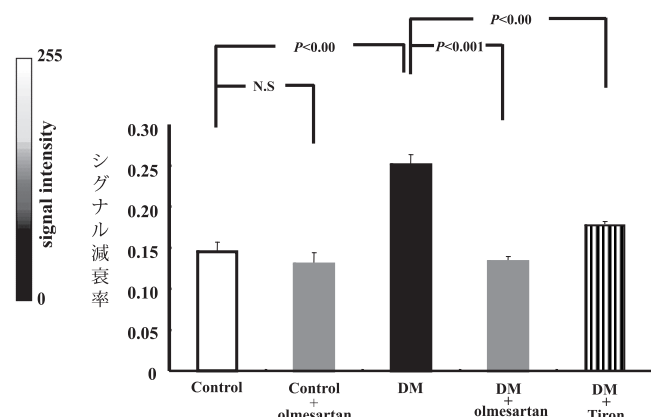


図 5 B ESR イメージング法によるプローブのシグナル減衰率により評価した腎特異的ラジカル産生量 (文献 23 より改変)

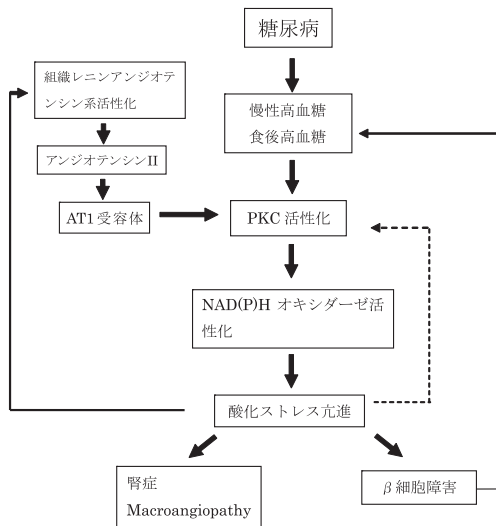


図6 糖尿病性腎症および Macroangiopathy における酸化ストレス亢進の機序（文献21より改変）

ARB であるオルメサルタンメドキシシルの投与により有意に抑制された（図5）²³。同時に検討した NAD (P) H オキシダーゼの発現も ARB 投与により確かに改善しており，糖尿病腎における酸化ストレス亢進にはアンジオテンシン II を介した NAD (P) H オキシダーゼ活性化の関与が示唆された。糖尿病腎における NAD (P) H オキシダーゼ活性化には高血糖のみばかりでなく組織レニンアンジオテンシン (RA) 系の活性化の関与を示唆している。著者らは，糖尿病モデル動物腎において組織キマーゼ発現が著明に増加する成績を認めており，糖尿病腎組織 RA 系活性化の重要な要因と考えられる。一方，糖尿病腎組織のみならず2型糖尿病の膵β細胞障害においても RA 系活性化と酸化ストレスの関与が推定される。すなわち，膵β細胞でも NAD (P) H オキシダーゼが存在し，高グルコースやスルフォニール尿素剤により，PKC 活性化を介して酸化ストレスが増大すること²⁴，また2型糖尿病モデル (OLETF ラット，db/db マウス) の膵島において gp91phox (NOX2) と p22phox の発現亢進と酸化ストレス亢進を認めた²⁵。ARB 投与はこの NAD (P) H オキシダーゼ発現異常と酸化ストレス亢進を改善させ，同時に膵β細胞の保護効果を認め，2型糖尿病膵β細胞障害においても組織 RA 系の関与が推定された²⁵。糖尿病における PKC-NAD (P) H オキシダーゼ系の活性化は，膵β細胞，細小血管および大血管と広範な組織で認められ，酸化ストレス亢進を介して糖尿病の進展増悪から糖尿病性細小血管症や大血管症の発症進展に至るすべての段階に深く関与し，その上流には高血糖と組織 RA 系の活性化が関わっている可能性が示唆された（図6）。

糖尿病血管壁では種々ある PKC アイソフォームのなかでも PKCβ2 の優位の増加が推定されており^{26)~28)}，欧米を中心に PKCβ アイソフォーム特異的阻害薬 LY33531 の糖尿病性網膜症，神経症および腎症に対する臨床試験が進行中である。LY33531 は実験糖尿病動物における腎機能異常²⁹⁾³⁰⁾および腎組織変化を改善すること，また臨床治験の中間報告でもその有用性が示唆され PKC β アイソフォーム特異的阻害薬の腎症改善効果が期待される³¹⁾。その機序の少なくとも一部に抗酸化作用の関与も推定され，このような観点からの今後の検討が期待される。

さらに最近，NOX4 アンチセンス投与により糖尿病ラット腎における酸化ストレスの改善と腎糸球体の肥大やフィブロネクチン発現増加の改善を認めたとの報告³²⁾や，NAD (P) H オキシダーゼ阻害薬 apocynin の投与により糖尿病ラット腎における酸化ストレス亢進の改善とメサンジウム基質の増加や蛋白尿の増加の改善を認めたとの報告³³⁾がなされており，今後臨床応用可能な有効な腎 NAD (P) H オキシダーゼ阻害薬の開発が期待される。

ピタバスタチン投与にて，db/db マウス腎で増加した 8-OHdG 含量は，NOX4 蛋白量および NOX4mRNA 量の改善と並行して改善し，メサンジウム基質増加などの組織学的異常も改善した²²⁾。ピタバスタチンは腎 NOX4 発現を低下させ酸化ストレス亢進を抑制し腎症を改善する可能性が示された。

一方，アンジオテンシン II 変換酵素阻害薬 (ACEI) やアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 (ARB) は糖尿病性腎症の発現および進展抑制作用が多くの大規模臨床研究により確立されており，降圧作用や腎血流改善作用とともに抗酸化作用も重要な役割を果たしている可能性が推定される。そこで，著者らは糖尿病モデル動物腎における酸化ストレス亢進および NAD (P) H オキシダーゼ発現亢進に対する ARB の効果を検討した。腎における酸化ストレス状態の評価には前述した in vivo ESR の画像化法を用いた。糖尿病ラット腎において亢進したフリーラジカルの産生亢進は

おわりに

糖尿病性合併症発症および進展阻止のためには、高血糖の是正を中心に、高血圧、高脂血症の是正が試みられているが、未だ糖尿病性腎症の発症数は年々増加傾向にある。高齢社会を迎え、糖尿病を基盤とした動脈硬化性疾患の増加も社会問題となっている。このような背景の下で、糖尿病性合併症に対するその成因に基づいた特異的治療法の確立が期待される。本稿において、糖尿病性血管合併症の成因としての酸化ストレス亢進と、その機序として血管組織 NAD (P) H オキシダーゼ活性化を示した。また、この機序をターゲットとした現在使用可能な薬剤としてスタチン、ARB や ACEI、および PKC β 阻害薬の抗酸化作用を示した。さらには、これらの機序をターゲットとしたより有効な抗酸化薬の開発が期待される。

参 考 文 献

- 1) Sano T, Umeda F, Hashimoto T, Nawata H and Utsumi H : Oxidative stress measurement by in vivo electron spin resonance spectroscopy in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 41 : 1355-1360, 1998.
- 2) Sheets MJ and King GL : Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic vascular complications. *JAMA* 288 : 2579-2588, 2002.
- 3) Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I and Brownlee M : Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 404 : 787-790, 2000.
- 4) Inoguchi T, Li P, Umeda F, Kakimoto M, Imamura M, Aoki T, Etoh T, Hashimoto T, Naruse M, Sano T, Utsumi H and Nawata H : High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD (P) H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes* 49 : 1939-1945, 2000.
- 5) Tsubouchi H, Inoguchi T, Sonta T, Sato N, Sekiguchi N, Kobayashi K, Sumimoto H, Utsumi H and Nawata H : Statin attenuates high glucose-induced and diabetes-induced oxidative stress in vitro and in vivo evaluated by electron spin resonance measurement. *Free Radic. Biol. Med.* 39 : 444-452, 2005.
- 6) Sonta T, Inoguchi T, Tsubouchi H, Sekiguchi N, Kobayashi K, Matsumoto S, Utsumi H and Nawata H : Evidence for contribution of vascular NAD (P) H oxidase to increased oxidative stress in animal models of diabetes and obesity. *Free Radic. Biol. Med.* 37 (1) : 115-123, 2004.
- 7) Inoguchi T, Sonta T, Tsubouchi H, Tsubouchi H, Kakimoto M, Yu H.Y, Utsumi H, Sonoda N, Sumimoto H, Sato N, Sekiguchi N, Kobayashi K and Nawata H : Protein kinase C-dependent increase in reactive oxygen species production in vascular tissues of diabetes : role of vascular NAD (P) H oxidase. *J. Am. Soc. Nephrol.* 14 : 227-232, 2003.
- 8) Kim YK, Lee MS, Son SM, Kim IJ, Lee WS, Rhim BY, Hong KW and Kim CD : Vascular NADH oxidase is involved in impaired endothelium-dependent vasodilation in OLETF rats, a model of type 2 diabetes. *Diabetes* 51 : 522-527, 2002.
- 9) Ceriello A, Bortolotti N, Motz E, Pieri C, Marra M, Tonutti L, Lizzio S, Feletto F, Catone B and Taboga C : Meal-induced oxidative stress and low-density lipoprotein oxidation in diabetes: the possible role of hyperglycemia. *Metabolism* 48 : 1503-1508, 1999.
- 10) Quagliari L, Piconi L, Assaloni R, Martinelli L, Motz E and Ceriello A : Intermittent high glucose enhances apoptosis related to oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells: the role of protein kinase C and NAD (P) H-oxidase activation. *Diabetes* 52 : 2795-2804, 2003.
- 11) Ha H, Kim C, Son Y, Chung MH, Chung MH and Kim KH : DNA damage in the kidneys of diabetic rats exhibiting microalbuminuria. *Free Radic. Biol. Med.* 16: 271-274, 1994.
- 12) Kakimoto T, Inoguchi T, Sonta T, Yu H.Y, Imamura M, Etoh T, Hashimoto T and Nawata H : Accumulation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and mitochondrial DNA deletion in kidney of diabetic rats. *Diabetes* 51 : 1588-1595, 2002.
- 13) Etoh T, Inoguchi T, Kakimoto M, Sonoda N, Kobayashi K, Kuroda J, Sumimoto H and Nawata H : Increased expression of NAD (P) H oxidase subunits, NOX4 and p22phox, in kidney of streptozotocin-induced diabetic rats and its reversibility by interventional insulin treatment. *Diabetologia* 46 : 1428-1437, 2003.
- 14) Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, Pinsky D and Stern D : Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J.*

- Biol. Chem. 269 : 9889-9897, 1994.
- 15) Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN and Ames BN. : Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 235 : 1043-1046, 1987.
 - 16]** Inoguchi T, Sasaki S, Yamada T, Kobayashi K, H and Takayanagi R : Relationship between Gilbert syndrome and prevalence of vascular complications in patients with diabetes. *JAMA* 298 (12) : 1398-1400, 2007.
 - 17) Koya D, Lee IK, Ishii H, Kanoh H and King GL : Prevention of glomerular dysfunction in diabetic rats by treatment with d-alpha-tocopherol. *J. Am. Soc. Nephrol.* 8 : 426-435, 1997.
 - 18) Melhem MF, Craven PA and Derubertis FR : Effects of dietary supplementation of alpha-lipoic acid on early glomerular injury in diabetes mellitus. *J. Am. Soc. Nephrol.* 12 : 124-133.
 - 19) Stocker R : The ambivalence of vitamin E in atherogenesis. *Trends Biochem. Sci.* 24 : 219-223 1999.
 - 20) Inoguchi T, Tsubouchi H, Etoh H, Kakimoto M, Sonta T, Yu H.Y, Sonoda N, Inuo M, Sato N, Sekiguchi N, Kobayashi K, Sumimoto H, Utsumi H and Nawata H : A possible target of antioxidative therapy for diabetic vascular complications: vascular NAD (P) H oxidase. *Curr. Med. Chem.* 10 : 1759-1764, 2003.
 - 21]** Inoguchi T and Nawata H : NAD (P) H oxidase activation : a potential target mechanism for diabetic vascular complications, progressive beta-cell dysfunction and metabolic syndrome. *Curr. Drug Targets* 6:495-501, 2005.
 - 22) Fujii M, Inoguchi T, Maeda Y, Sasaki S, Sawada F, Saito R, Kobayashi K, Sumimoto H and Takayanagi R : Pitavastatin ameliorates albuminuria and renal mesangial expansion via down-regulation of NOX4 in db/db mice. *Kidney Int.* 72 : 473-480, 2007.
 - 23) Sonta T, Inoguchi T, Matsumoto S, Yasukawa K, Inuo M, Tsubouchi H, Sonoda N, Kobayashi K, Utsumi H and Nawata H : In vivo imaging of oxidative stress in the kidney of diabetic mice and its normalization by angiotensin II type 1 receptor blocker. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 330 : 415-422, 2005.
 - 24) Tsubouchi H, Inoguchi T, Inuo M, Kakimoto M, Sonta T, Sonoda N, Sasaki S, Kobayashi K and Sumimoto H Nawata H : Sulfonylurea as well as elevated glucose levels stimulate reactive oxygen species production in the pancreatic beta-cell line, MIN6-a role of NAD (P) H oxidase in beta-cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 326 : 60-65, 2005.
 - 25) Nakayama M, Inoguchi T, Sonta T, Maeda Y, Sasaki S, Sawada F, Tsubouchi H, Sonoda N, Kobayashi K, Sumimoto H and Nawata H : Increased expression of NAD (P) H oxidase in islets of animal models of Type 2 diabetes and its improvement by an AT1 receptor antagonist. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 332 : 927-933, 2005.
 - 26]** Inoguchi T, Battan R, Handler E, Sportsman J.R, Heath W and King G.L : Preferential elevation of protein kinase C beta isoform beta II and diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rats: differential reversibility to glycemic control by islet cell transplantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 : 11059-11063, 1992.
 - 27) Inoguchi T, Pu X, Kunisaki M, Higashi S, Feener E.P and King G.L : Insulin's effect on protein kinase C and diacylglycerol induced by diabetes and glucose in vascular tissues. *Am. J. Physiol.* 267 (3) : 369-379, 1994.
 - 28) He Z and King GL : Can protein kinase C beta-selective inhibitor, ruboxistaurin, stop vascular complications in diabetic patients? *Diabetes Care* 28 (11) : 2803-2805, 2005.
 - 29) Ishii H, Jirousek MR, Koya D, Takagi C, Xia P, Clermont A, Bursell SE, Kern TS, Ballas LM, Heath WF, Stramm LE, Feener EP and King GL : Amelioration of vascular dysfunctions in diabetic rats by an oral PKC β inhibitor. *Science* 272 : 728-731, 1996.
 - 30) Koya D, Haneda M, Nakagawa H, Isshiki K, Sato H, Maeda S, Sugimoto T, Yasuda H, Kashiwagi A, Ways DK, King GL and Kikkawa R : Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with a PKCbeta inhibitor in diabetic db/db mice, a rodent model for type 2 diabetes. *FASEB J.* 14:439-447, 2000.
 - 31) Tuttle KR, Bakris GL, Toto RD, McGill JB, Hu K and Anderson PW : The effect of ruboxistaurin on nephropathy in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 28 : 2686-2690, 2005.
 - 32) Gorin Y, Block K, Hernandez J, Bhandari B, Wagner B, Barnes JL, Abboud HE: Nox4 NAD (P) H oxidase mediates hypertrophy and fibronectin expression in the diabetic kidney. *J. Biol. Chem.* 280 : 39616-39626, 2005.
 - 33) Asaba K, Tojo A, Onozato ML, Goto A, Quinn MT, Fujita T and Wilcox CS : Effects of NADPH oxidase inhibitor in diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 67 : 1890-1898, 2005.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

プロフィール

井口 登與志 (いのぐち とよし)

九州大学講師 (大学院医学研究院病態制御内科学), 医博.

◆**略歴**: 昭和 56 年九州大学医学部卒業. 平成 2 年ハーバード大学医学部ジョスリン糖尿病センター客員研究員. 平成 9 年九州大学医学部助手. 平成 12 年九州大学医学部講師. 平成 13 年より現職.

◆**研究テーマと抱負**: 糖尿病臓器障害 (血管合併症や膵 β 細胞障害) の成因解明とそれに基づく合併症特異的治療薬および膵 β 保護薬の開発をめざしています.

◆**趣味**: 写真, 旅, 読書, 映画鑑賞