
原 著

糖尿病性細小血管合併症と血中アルドース
還元酵素蛋白量および肝細胞増殖因子

金子 晋

新潟大学大学院医歯学総合研究科内部環境医学講座
内分泌代謝学分野
(主任：相澤 義房教授)

Significance of Blood Aldose Reductase Level and Hepatocyte Growth
Factor Measurement in Diabetic Microangiopathy

Susumu KANEKO

*Division of Endocrinology and Metabolism,
Department of Homeostatic Regulation and Development,
Course for Biological Functions and Medical Control,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
(Director : Prof. Yoshifusa AIZAWA)*

Abstract

To clarify the relationship between blood aldose reductase (AR) level and hepatocyte growth factor (HGF) of diabetic microangiopathy, correlations between blood AR levels and HbA1c, serum lipid, mean blood pressure and an annual change were examined. AR levels were correlated with morbidity rates of diabetic microangiopathy.

Serum HGF were measured of type 2 DM. Correlations between mean blood pressure, HbA1c and stage of diabetic retinopathy, nephropathy and neuropathy were examined. AR/Hb (Measured AR level was divided by hemoglobin level) was not affected by time, blood glucose

Reprint requests to: Susumu KANEKO
Division of Endocrinology and Metabolism
Department of Homeostatic Regulation and
Development Course for Biological Functions
and Medical Control Niigata University Graduate
School of Medical and Dental Sciences
1-754 Asahimachi-Dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通り 1-754
新潟大学大学院医歯学総合研究科内部環境医学講座内
分泌代謝学分野 (第1内科) 金子 晋

control, or serum lipid. Patients with estimated duration < 10 years did not have retinopathy, nephropathy, or neuropathy when AR/Hb was < 8 ng/mgHb. However in patients with AR/Hb of ≥ 8 ng/mgHb, higher AR/Hb levels tended to result in higher incidences of each complication. In the group with HbA1c below 8 %, patients with AR/Hb ≥ 10 ng/mgHb developed retinopathy, nephropathy, and neuropathy even if their estimated duration of diabetes was < 10 years.

It is suggested that AR levels are specific to each patient and are an independent risk factor of diabetic microangiopathy irrespective of blood glucose level; individual differences of AR levels are likely to influence the development of diabetic complications. Correlations between mean blood pressure, HbA1c and serum HGF were not admitted. Also between stage of diabetic microangiopathy and serum HGF were not admitted. This data suggests that measuring the AR level is significant for considering risks of developing of diabetic microangiopathy, but measuring the serum HGF level is not useful in diabetic microangiopathy.

Key words: Type 2 DM, Aldose reductase protein, Hepatocyte growth factor, Diabetic microangiopathy

はじめに

2型糖尿病は生活習慣病の代表的疾患の1つで、生活習慣、社会環境の変化に伴い増加の一途をたどっている¹⁾。またインスリンやその他の治療薬の開発により高血糖による死亡数は激減したが、糖尿病の合併症対策が重要となっている。アルドース還元酵素 (aldose reductase, 以下 AR) はポリオール代謝回路の律速酵素として重要で、糖尿病合併症の発症と進展に関与すると考えられている^{2) - 4)}。

ここではARの蛋白量を測定し、糖尿病細小血管合併症との関係を検討した。また血管新生作用を有する肝細胞増殖因子 (Hepatocyte growth factor, HGF) と細小血管合併症の関係も検討した。

対象と方法

対象は1996年1月に当院糖尿病外来を受診した2型糖尿病152名とした。これらの患者における血液、生化学的検査所見とAR蛋白量との関係を検討した。

また1996年1月から1年間(76名, 男性33名, 女性43名, 推定罹病期間16.4 ± 6.73年), 1995年1月から5年間(32名, 男性16名, 女性16名, 推定罹病期間13.8 ± 5.44年)の経過にお

けるAR蛋白量の経時変化を検討した。

AR蛋白量と糖尿病細小血管合併症の発症率との関係を推定罹病期間と、HbA1c別に検討した。

糖尿病の診断は1999年の日本糖尿病学会の判定基準⁵⁾によった。推定罹病期間は糖尿病と診断された時期または尿糖指摘されてから今回の検討までの時期とした。

AR蛋白量の測定は、抗凝固剤(EDTA)を含む全血を凍結融解し、ヒト組換えARに特異的に結合するマウス抗ヒトARモノクローナル抗体を用いたワンステップサンドイッチEIAによって行うアルドース還元酵素は三菱ガス化学(株)社製(「MGC」EIA)を用いた。ARのほとんどは赤血球由来であることから、AR蛋白量をヘモグロビンで除し、ヘモグロビン1mg当たりの量として表した(AR/Hb: ng/mgHb)。

HGFの測定は122名を対象とした。血清HGF測定はELISA法によるキット(大塚アッセイ)を使用した(normal range: 0.21ng/ml以下)。数値は平均値±標準偏差で表した。HGF値と平均血圧、HbA1cと網膜症、腎症、神経障害につき病期別に検討した。網膜症の有無と程度は当院の眼科専門医によった。微量アルブミン尿以上を腎症合併と診断し、尿中アルブミン・クレアチニン比で30mg/g.cr以上を微量アルブミン尿、300mg/g.cr以上を顕性蛋白尿と分類した。神経障害は脳

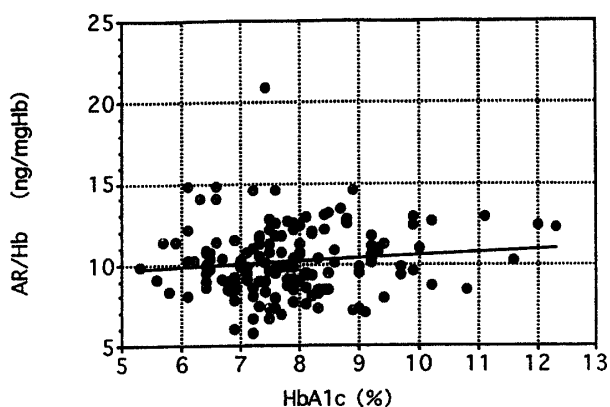


図1 HbA1cとAR/Hbとの関係

HbA1cとAR/Hbの2群において相関関係は認められない。(r = 0.1001)

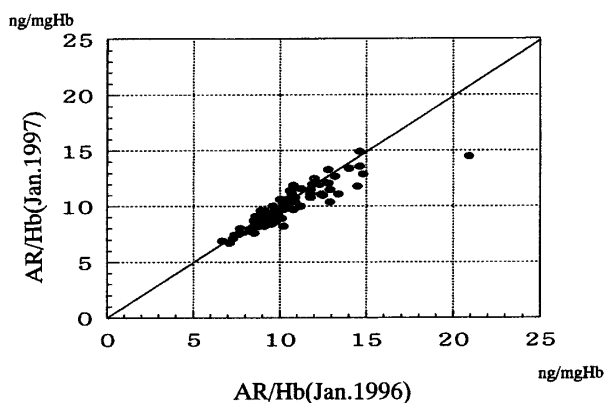


図2 1996年1月から1997年1月まで経時的に経過観察した76名におけるAR/Hbの変化。

AR/Hbは経時的変化は見られない。(r = 0.74)

梗塞や脊髄疾患によらないしびれ、心電図のRR変動、神経伝導速度のいずれかの異常の有無で判定した。統計学的検討は2群間の比較には non-paired t 検定を用いた。相関関係は直線回帰分析により検討した。p 値が0.05以下を有意差ありとした。

結 果

1. 臨床像およびAR蛋白量と検査データの関係

152名の内訳は男性80名、女性72名、推定罹病期間は 16.5 ± 7.23 年であった。AR蛋白量と

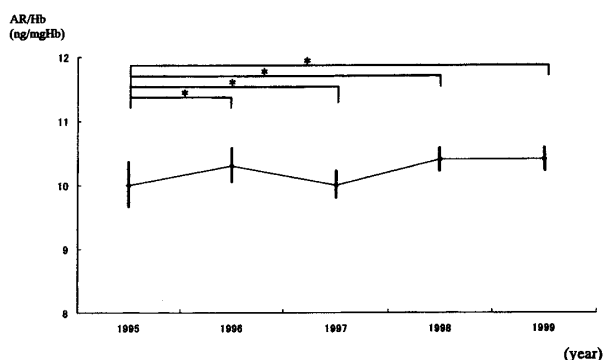


図3 5年後に検討し得た32名におけるAR/Hbの変化を示す。

5年間においても経時的変化は見られない。

* NS

HbA1c (図1)、総コレステロール、中性脂肪、HDLコレステロール、血圧の間に相関関係は認められなかった。

2. AR蛋白量の経時的変化

2型糖尿病患者の1年間の経時的推移(n = 76)は、AR/Hb: 10.1 ± 2.1 ng/mgHb \rightarrow 10.0 ± 1.9 ng/mgHbと有意の変化を示さなかった(図2)。5年間の経過観察(n = 32)でも、AR/Hbに有意な変動はみられなかった(図3)。

3. 細小血管合併症とAR蛋白量

糖尿病の推定罹病期間が10年未満の群でかつAR/Hb値が8 ng/mgHb未満の群では、網膜症、腎症、神経障害は1例も認めなかった。AR/Hb値が8 ~ 12 ng/mgHbとAR/Hb 12 ng/mgHb以上の群で比較すると、有意差はみられないものの、網膜症は14.3%対25.0%、腎症は7.1%対25.0%、神経障害は21.4%対37.5%とAR蛋白量の高値な程合併症発症率は高かった(図4)。

HbA1c 8%未満の群(n = 44)では、AR/Hbが10 ng/mgHb以上と高い症例では推定罹病期間10年未満と比較的短くても各合併症は発症していた(図5)。

4. 細小血管合併症と血清HGF (n = 122)

平均血圧と血清HGF濃度の間には相関関係は認められなかった(図6, r = 0.02)。またHbA1cとの間にも相関関係は認められなかった(図7,

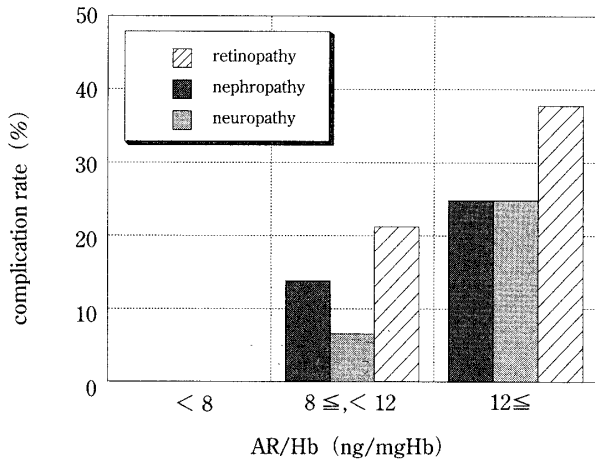


図4 推定罹病期間10年未満におけるAR/Hb値と合併症発症率の関係
推定罹病期間10年未満においてAR/Hbが8ng/mgHb未満で網膜症、腎症、神経障害とも発症していない。

r = 0.08).

網膜症の有無と血清HGFの関係を見ると血清HGFは0.21 ± 0.01ng/ml対0.20 ± 0.01ng/mlと合併、非合併群には差は認められなかった。網膜症の重症度と血清HGF値に相関は認められなかった(N.S, 図8)。

腎症の合併の有無との関連では血清HGFは非合併群0.205 ± 0.010ng/mlで微量アルブミン尿以上の腎症合併群の0.219 ± 0.020ng/mlと差はなかった(N.S)。腎症のない群と微量アルブミン尿、顕性腎症と血清HGFの間にも相関は認めなかった(N.S, 図9)。神経障害非合併群は0.208 ± 0.010ng/mlで合併群の0.204 ± 0.010ng/mlに比べ差は認められなかった(N.S, 図10)。

考 察

神経細胞内のグルコース濃度が上昇すると、グルコースはARによりソルビトールに変換され、ソルビトールの蓄積は細胞内の浸透圧を上昇させる。その結果、シュワン細胞の膨化、細胞内代謝の破綻、更に細胞体の変性が惹起され、神経細胞障害が発生する⁶⁾。他にもARは腎糸球体、網膜、水晶体などにも存在し⁷⁾、これらの細胞障害に関

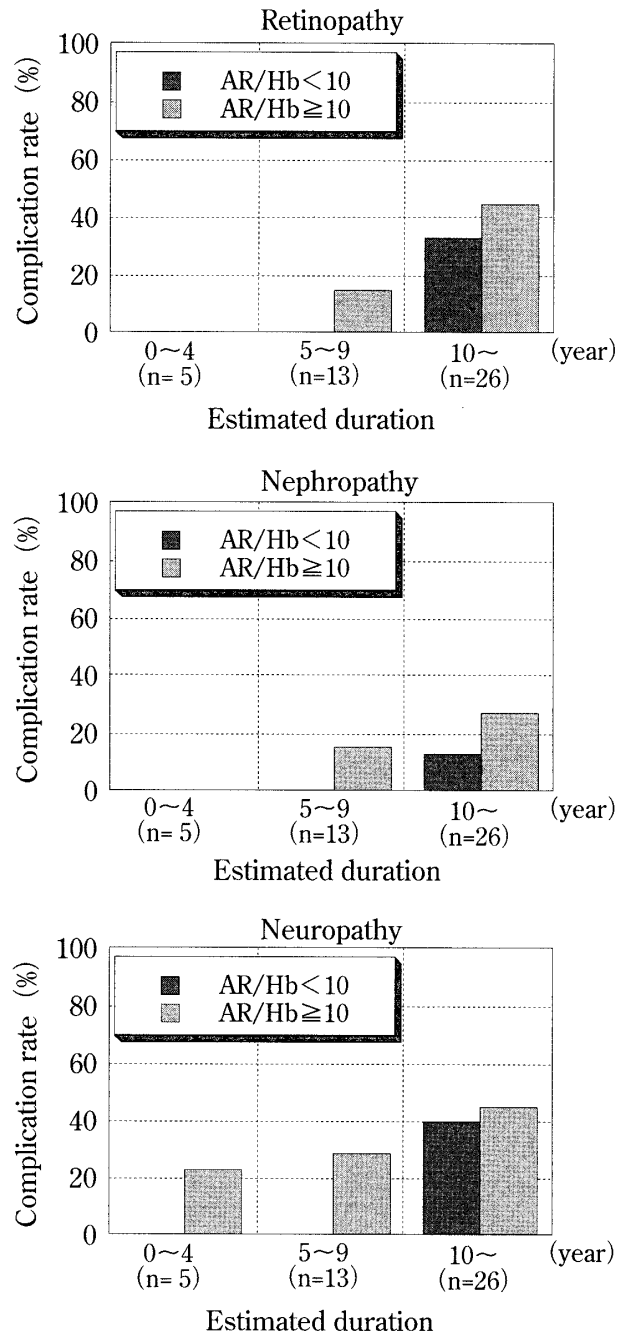


図5 HbA1c 8%未満における推定罹病期間と合併症発症率との関係。

AR/Hb 10ng/mgHb以上であると推定罹病期間10年未満でも網膜症、腎症、神経障害が発症している。

与すると考えられている。AR活性には個体差があり、その差が糖尿病性細小血管合併症の発症に影響する可能性⁸⁾も指摘されている。AR活性と

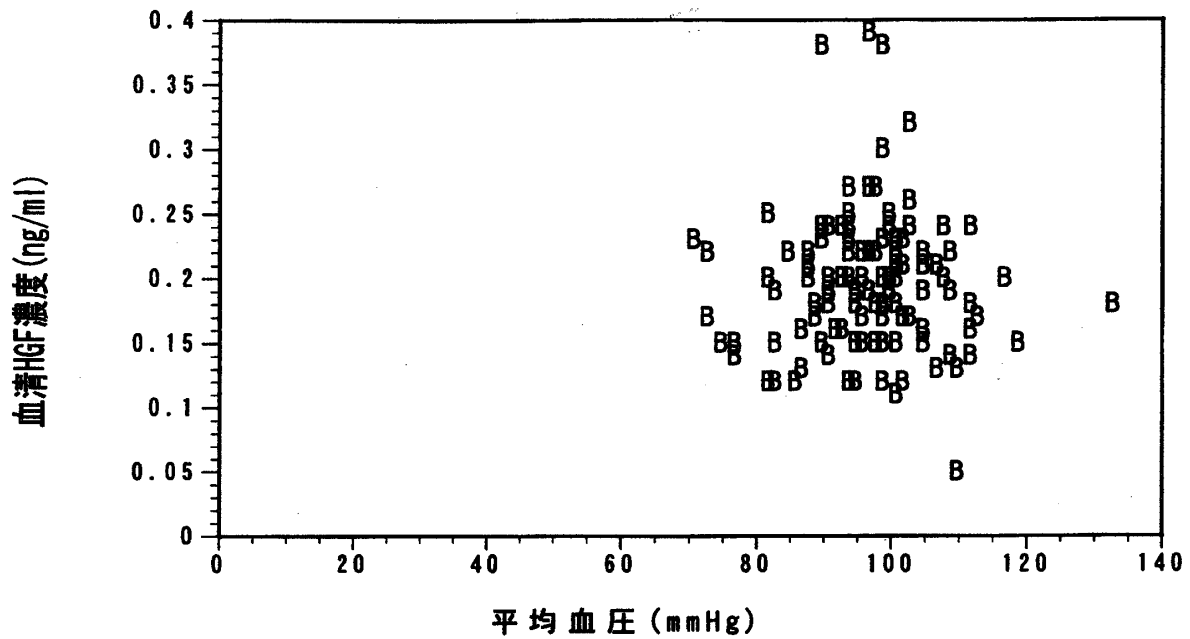


図6 平均血圧と血清 HGF 濃度の関係
平均血圧と血清 HGF 濃度には相関関係は認められない。
($r = 0.023$)

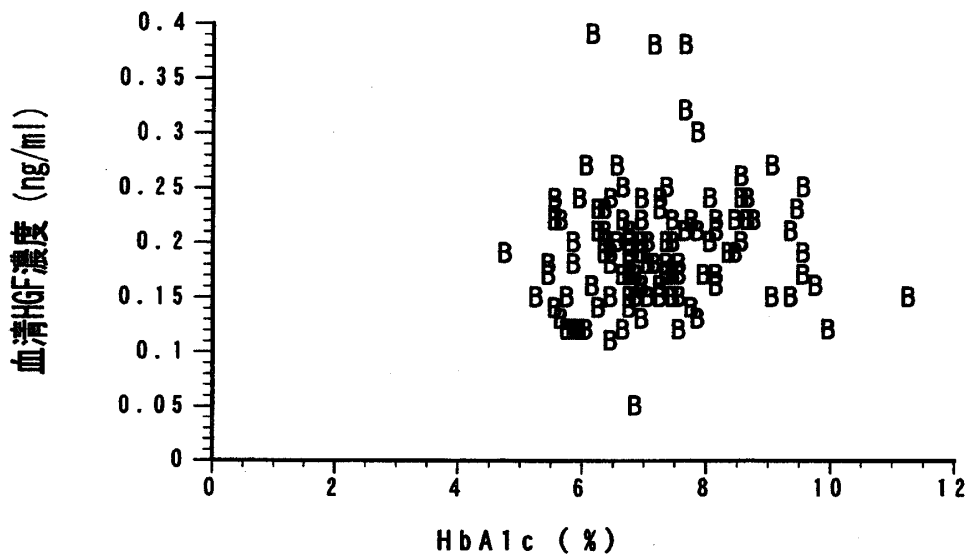


図7 HbA1c と血清 HGF 濃度との関係
平均血圧と血清 HGF 濃度には相関関係は認められない。
($r = 0.078$)

AR 蛋白量は良好な相関を示すが⁹⁾、伊藤らは2型糖尿病患者と健常者の赤血球中 AR 蛋白量を比較し、両者の間に有意差は認められないことを報告している¹⁰⁾。今回の検討では、AR/Hb は血糖コ

ントロール状態や5年間の観察でも経時的な変動は認められなかった。このことより AR 蛋白量はおそらく遺伝的に規定されて一定値を示している可能性が考えられる。ヒト AR 遺伝子の転写部位

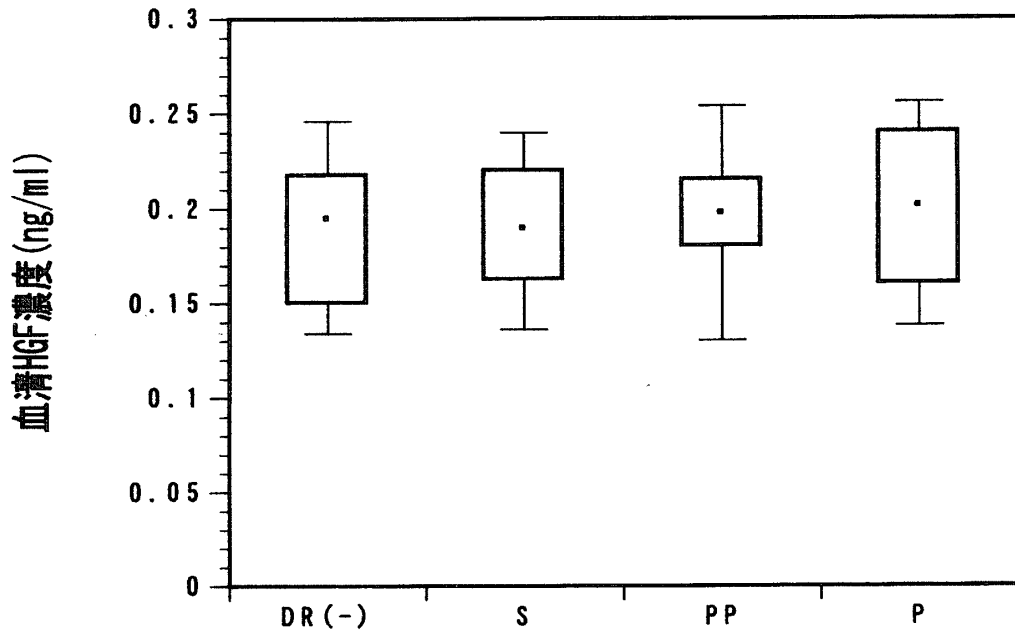


図8 網膜症病期別血清 HGF 濃度

DR: Diabetic retinopathy S: Simple diabetic retinopathy

PP: Preproliferative diabetic retinopathy

P: Proliferative diabetic retinopathy

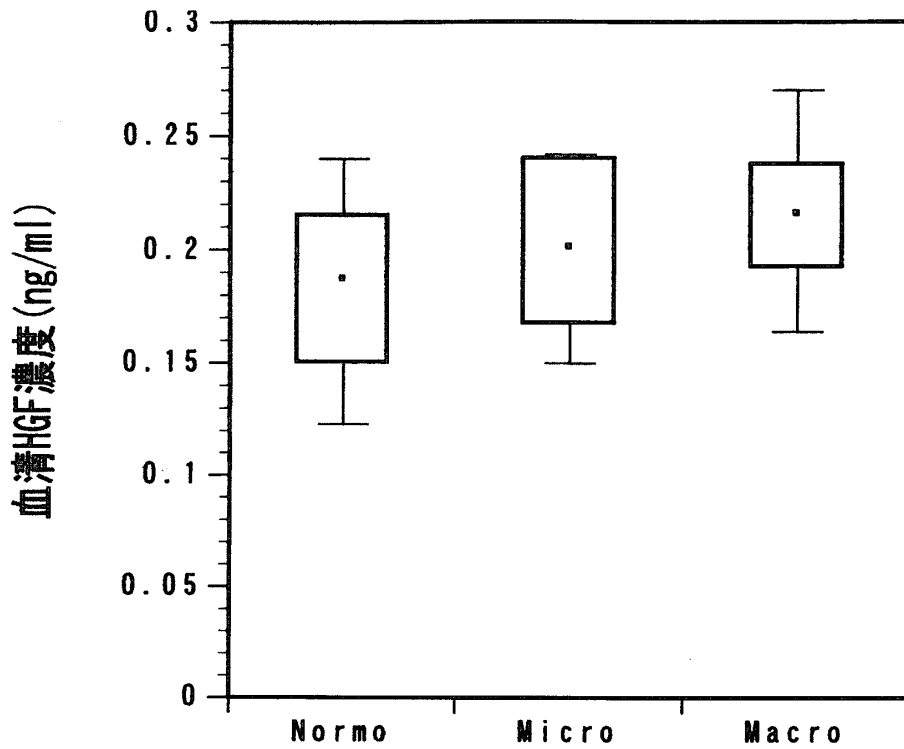


図9 腎症病期と血清 HGF 濃度

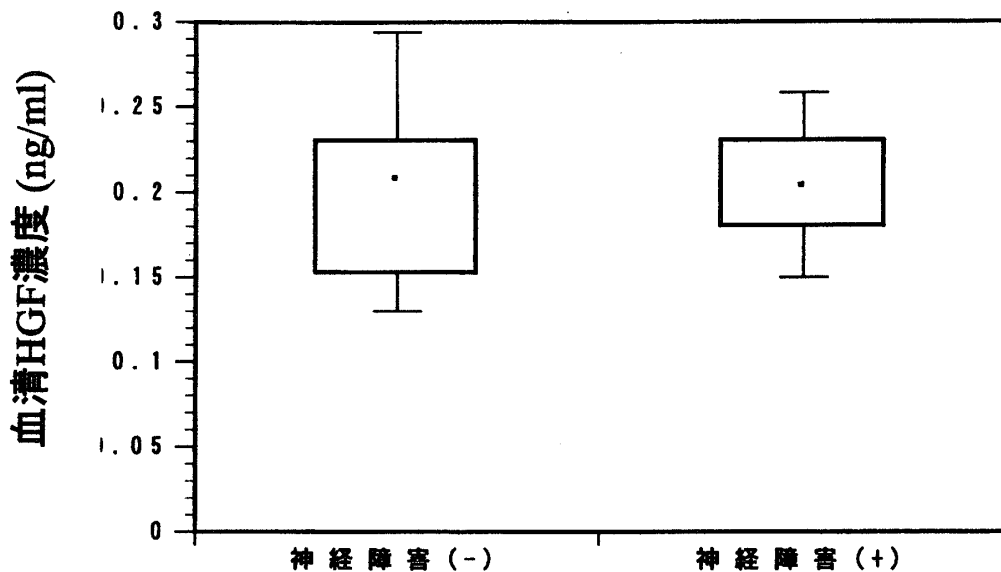


図10 神経障害と血清 HGF 濃度

から 2.1Kbp 上流には 2 塩基 (AC) の繰り返し配列があり, この繰り返し数には多型性が認められている。2 型糖尿病患者の糖尿病発症早期に網膜症を認めた群, 1 型糖尿病で神経障害を認めた群では Z-2 allele を持っている群が有意に多いこと^{11) - 13)} が報告されている。糖尿病性腎症においては AR 遺伝子の多型性と AR 酵素活性や蛋白発現量との関連性は証明されていない。またここでは遺伝子検索は行わなかった。

谷本らは糖尿病の推定罹病期間が 10 年以上になると, AR 蛋白量高値例のほうが細小血管合併症の発症率が高いことを報告している¹⁴⁾。今回の我々の検討では図 4, 5 に示すように AR/Hb 高値例では細小血管合併症の発症率が高く, HbA1c が 8% 未満と比較的コントロールされている例では, 推定罹病期間が短い症例でも細小血管合併症の発症が認められた。このことは細小血管合併症の発症には血糖値以外, AR 蛋白量自身にも影響を与えることが示唆される。

各臓器における AR 蛋白量を測定することが望ましいが, 簡便な全血中の AR 蛋白量も糖尿病性細小血管合併症のリスクを考える上で有用であると思われた。

一方 HGF は血管内皮の特異的増殖因子である¹⁵⁾。

血清 HGF は合併症のない糖尿病患者では正常群より低く, また血糖レベルと逆相関することが報告されている¹⁶⁾。一方, 増殖型糖尿病性網膜症の硝子体液中の HGF 濃度は高値であること¹⁷⁾, また腎不全患者や透析患者では血清 HGF は高値であること¹⁸⁾, 心筋梗塞や閉塞性動脈硬化症など大血管合併症では有意に高値を示すことなどが知られている¹⁹⁾。

従って網膜症や腎症, 神経障害などの糖尿病性細小血管合併症では局所の HGF の重要性が, また大血管合併症では血清 HGF との重要性が示唆される。ここでの検討では, 血清 HGF からみる HbA1c 値や各合併症との関係は認められず, 合併症予測因子としては限界があるものと思われた。

結 語

血中 AR 蛋白量の測定が糖尿病性細小血管合併症のリスクを考える上で有用であることを明らかにした。また血清 HGF は細小血管合併症の重症度とは相関がみられなかった。

謝 辞

最後に AR 測定に御協力いただいた三菱ガス化学の立

川智一殿, 御指導, 御鞭撻いただいた県立がんセンター新潟病院谷 長行先生ならびに新潟大学第1内科中川 理先生, 相澤義房教授に深謝いたします.

参考文献

- 1) 厚生省糖尿病実態調査: 長期慢性疾患総合研究事業糖尿病研究班報告書
- 2) Heath H and Hamlett YC: The sorbitol pathway: effect of streptozotocin induced diabetes and the feeding of a sucrose-rich diet on glucose, sorbitol and fructose in the retina, blood and liver of rats. *Diabetologia* 12: 43-46 1976.
- 3) Malone JI and Lowitt S: Measurements of tissue sorbitol in diabetes mellitus: enzyme method versus gas-liquid chromatography. *Metabolism* 41: 224-227 1992.
- 4) Sima AA, Greene DA, et al: Regeneration and repair of myelinated fibers in sural-nerve biopsy specimens from patients with diabetic neuropathy treated with sorbinil. *N Engl J Med* 319: 548-555 1988.
- 5) 葛谷 健, 中川昌一ら: 糖尿病の分類と診断基準に関する委員会報告. *糖尿病* 42: 385-401 1999.
- 6) Greene DA, Lattimer S and Ulbrecht J: Glucose induced alterations in nerve metabolism: Current perspective on the pathogenesis of diabetic neuropathy and future directions for research and therapy. *Diabetes Care* 8: 290-299 1985.
- 7) Nishimura C, Furue M and Ito T: Quantitative determination of human aldose reductase by enzyme-linked immunosorbent assay. *Biochem Pharmacol* 46: 21-28 1993.
- 8) Hamada Y, Kitoh R and Raskin P: Association of erythrocyte aldose reductase activity with diabetic complications in Type 1 diabetes mellitus. *Diabetic Med* 10: 33-38 1993.
- 9) 濱田洋司, 堀田 饒: Aldose reductase の免疫学的測定. *Diabetes Journal* 24: 125-127 1996.
- 10) 伊藤威之: 糖尿病神経障害における赤血球内アルドース還元酵素. *東女医大誌* 65: 808-816 1995.
- 11) Ko BC, Lam KS and Wat NM: An (A - C)_n Dinucleotide Repeat Polymorphic Marker at the 5' End of the Aldose Reductase Gene Is Associated With Early - Onset Diabetic Retinopathy in NIDDM Patient, *Diabetes* 44: 727-732 1995.
- 12) Heesom AE, Millward A and Demaine AG: Susceptibility to diabetic neuropathy in patients with insulin dependent diabetes mellitus is associated with a polymorphism at the 5'end of the aldose reductase gene. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 4: 213-216 1998.
- 13) Maeda S, Kikkawa R, et al: Diabetic nephropathy is not associated with the dinucleotide repeat polymorphism upstream of the aldose reductase (ALR2) gene but with erythrocyte aldose reductase content in Japanese subjects with type 2 diabetes, *Diabetes* 48: 420-422 1999.
- 14) 谷本 剛, 西村千尋: アルドース還元酵素の生化学と臨床的意義. *末梢神経* 4: 149-158 1993.
- 15) Nakamura Y, Morishita R, Nakamura S et al: A vasucular modulator, Hepatocyte growth factor, is associated with systolic pressure, *Hypertension* 28: 409-413 1999.
- 16) Nakamura S, Morishita R et al: Hepatocyte growth factor as a potential index of complication in diabetes mellitus, *Journal of Hypertension* 16: 2019-2026 1998.
- 17) Katsura Y, Nishigori H, et al: Hepatocyte Growth Factor in Vitreous Fluid of Patients With Proliferative Diabetic Retinopathy and Other Retinal disorders. *Diabetes Care* 21: 1763-1795 1998.
- 18) Lohr JW, Lee TP et al: Increased levels of serum hepatocyte growth factor in patients with end-stage renal disease. *Journal of Medicine* 31: 131-141 2000.
- 19) Soeki T, Tamura Y, Shinohara H, Tanaka H, Bando K and Fukuda N: Serial changes in serum VEGF and HGF in patients with acute myocardial infarction. *Cardiology* 93: 168-174 2000.

(平成14年4月25日受付)