

# アンジオテンシンII AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬による 高血圧自然発症ラットのインスリン感受性と 交感神経機能への影響

佐々木恭子 久代登志男 中川 滋 木\* 上松瀬勝男

Effects of angiotensin II receptor antagonist on insulin sensitivity  
and sympathetic activity in spontaneously hypertensive rats

Kyoko SASAKI, Toshio KUSHIRO, Shigeki NAKAGAWA\*, and Katsuo KANMATSUSE

The 2nd Department of Internal Medicine,

\*Department of Biochemistry, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan

Although angiotensin AT<sub>1</sub> receptor antagonist(AT<sub>1</sub> A) improves insulin sensitivity in insulin resistant models, its effect on spontaneously hypertensive rats(SHR) has not been elucidated. We investigated the effects of AT<sub>1</sub> A, candesartan on insulin sensitivity in SHR/Izm and the role of sympathetic activity in its mechanism.

In 9-week-old SHR/Izm, candesartan(10 mg/kg/day) was given orally for 5 days. A control group received vehicle. On the 6th day, mean arterial pressure(MAP), heart rate(HR), plasma norepinephrine(PNE), plasma epinephrine(PE) and plasma dopamine(PDA) were measured in both groups(n=11 in each group). In the separate groups of rats, fasting blood glucose(FBG), serum sodium, serum potassium and insulin sensitivity by steady state blood glucose(SSBG) were assessed(n=16 in the Candesartan group and n=8 in the Control group).

MAP and SSBG were significantly lower in the Candesartan group(117±2 mmHg and 138±5 mg/dl) than those in the Control group(155±6 mmHg and 164±10 mg/dl). Body weight, HR, FBG, PNE, PE, PDA, sodium and potassium were the same between the groups.

In conclusion, since AT<sub>1</sub> A, candesartan lowers blood pressure and improves insulin sensitivity irrespective of sympathetic activity in SHR/Izm, it is useful in treating hypertension associated with insulin resistance.

Jpn J Nephrol 1999 ; 41 : 692-696.

**Key words** : AT<sub>1</sub> receptor antagonist, candesartan, SHR/Izm, insulin sensitivity, sympathetic activity

## はじめに

レニン・アンジオテンシン系が血圧調節のみならず、細胞増殖、内分泌代謝系などの調節因子として関与することが知られている。高血圧の治療目的である心臓血管系疾患の予防と改善を達成するためには、血圧管理のみならず血圧以外の心臓血管系疾患危険因子を改善させることが重要であり、レニン・アンジオテンシン系作用薬が注目されて

いる<sup>1,2)</sup>。本態性高血圧とインスリン抵抗性は伴うことが多い病態であり、インスリン抵抗性が高血圧と動脈硬化性疾患に関連し、インスリン抵抗性症候群などの概念が提唱されている<sup>3,4)</sup>。降圧薬がインスリン感受性に与える影響は高血圧治療の目的を達成するうえで配慮すべき課題となっている<sup>5)</sup>。アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬はインスリン感受性を改善させ、糖代謝異常を伴う本態性高血圧患者に対して第一選択薬として勧められている<sup>6,7)</sup>。

近年、アンジオテンシン II  $AT_1$  受容体の特異的拮抗薬が臨床応用されるようになったが、インスリン感受性に対する影響は ACE 阻害薬と異なっていることが示されている<sup>8)</sup>。

われわれは高血圧自然発症ラット (SHR) において、ACE 阻害薬はインスリン感受性を改善させるが、 $AT_1$  受容体拮抗薬は明らかな改善作用を示さないことを報告した<sup>9)</sup>。その理由として ACE 阻害薬による内因性キニンの増加がインスリン感受性に影響する可能性を示した。 $AT_1$  受容体拮抗薬は fructose 負荷によるインスリン抵抗性ラットモデル<sup>10)</sup>では改善させるが、本態性高血圧患者では改善を認める報告<sup>11)</sup>と、改善させないとする報告<sup>12)</sup>がある。 $AT_1$  受容体拮抗薬によるインスリン感受性の変化が報告により異なる理由は判然としていないが、投与される個体のインスリン感受性が影響しインスリン感受性が低下している場合に改善させる可能性がある。

SHR のインスリン感受性は報告により異なっている<sup>13,14)</sup>。われわれは、通常の SHR のインスリン感受性は対照の Wistar Kyoto ラットと差はないが、遺伝的により純粋な系である SHR/Izm はインスリン感受性が低下していることを認めている<sup>15)</sup>。ゆえに、本態性高血圧とインスリン抵抗性が複合しているヒトのインスリン抵抗性症候群を検討するモデルとしては SHR/Izm のほうが適切と考えられる。しかし、SHR/Izm における  $AT_1$  受容体拮抗薬の影響に関する知見はない。

また、末梢交感神経系はインスリン感受性と血圧調節に関与しており、高血圧とインスリン抵抗性の背景因子である可能性がある<sup>16)</sup>。ACE 阻害薬、 $AT_1$  受容体拮抗薬ともに交感神経機能に影響するが、インスリン感受性に対する作用との関連は不明である。今回、 $AT_1$  受容体拮抗薬である candesartan が SHR/Izm の血圧とインスリン感受性に与える影響と、その機序における交感神経系の関与について検討した。

## 対象と方法

8 週齢の雄性 SHR/Izm (船橋農場) を 12 時間ごとの明暗サイクル室温 24°C、湿度 65% の管理下に、飲水、摂食 (標準ラット固形食) を自由に、個別ゲージで 1 週間飼育し、9 週齢となったものを実験に用いた。ラットは無作為に 2 群に分け、以下の実験を行った。

**実験 1:** アラビアゴムに溶解した candesartan 10 mg/kg/日を午前 9 時に連日 5 日間強制経口投与した (Candesartan

群, n=11)。対照はアラビアゴムのみ強制経口投与した (Control 群, n=11)。両群とも実験開始後 5 日目にエーテル麻酔下にて、一側頸動脈に polyethylene カテーテル (PE-50, Intermedic, USA) を留置し、皮下を通じ両肩甲骨間の皮膚に固定した。その後飲水のみ与え、24 時間後に意識下でケージ内で自由に行動できる状態で以下の測定を行った。頸動脈カテーテルを三方活栓と swivel (Instech Laboratories, USA) を介し圧トランスデューサー (P23-Db, Statham, USA) に接続し、平均動脈圧 (MAP) および pulse recorder (日本光電社) による心拍数 (HR) をポリグラフ (Minipolygraph, 日本光電社) で測定した。MAP, HR ともに少なくとも 20 分間以上の観察後に安定した状態で測定した。MAP と HR 測定後、頸動脈カテーテルより 1.5 ml 採血し、血漿 epinephrine, 血漿 norepinephrine および血漿 dopamine を高速液体クロマトグラフィにより測定した。

**実験 2:** 実験 1 とは異なるラットに対し、同様の方法で candesartan (n=16)、およびアラビアゴム (n=8) のみを投与し 5 日目に一側頸動脈カテーテルを挿入した。6 日目に MAP, HR 測定後にインスリン感受性を steady state blood glucose (SSBG) 法により評価した。

SSBG 法は頸動脈カテーテルから血液をヘマトクリット管により採取し、全血血糖 (FBG) 測定後、頸静脈カテーテルより octreotide acetate (Sandostatin; Sandoz, Switzerland) 50  $\mu$ g/kg を bolus 投与した。その後 glucose, regular insulin (Actrapid Insulin, Novo Nordisk, Denmark) および octreotide acetate を混合した溶液をシリンジポンプ (EP-60, Eicom 社) より 120 分間持続投与した。血糖は oxydase 法 (Antsense, マイルス・三共) により測定した。各薬物の投与量は glucose 16mg/kg/分, regular insulin 7mU/kg/分, および octreotide acetate 0.077 $\mu$ g/kg/分とした。薬物投与開始 120 分後に血糖, 血漿インスリン濃度 (RIA), 血清ナトリウム, 血清カリウムを測定した。120 分時の血糖値を SSBG, 血漿インスリン濃度を steady state plasma insulin (SSPI) とした。

**統計解析:** 成績は平均値と標準誤差で表し、各群の比較は Student's *t* test により 5% 未満を有意とした。

## 結果

**実験 1:** 体重は Candesartan 群 (236 $\pm$ 1g) と Control 群 (237 $\pm$ 1g) に有意差はなかった。MAP は Candesartan 群 (117 $\pm$ 2mmHg) が Control 群 (155 $\pm$ 6mmHg) より有意に低

**Table 1. Body weight, mean arterial pressure (MAP) and heart rate(HR) in Candesartan group and Control group**

	Candesartan	Control
n	11	11
Body weight(g)	236±1	237±1
MAP(mmHg)	117±2***	155±6
HR(bpm)	344±8	349±11

\*\*\* : p<0.0001 vs Control group

**Table 2. Plasma catecholamines in Candesartan group and Control group**

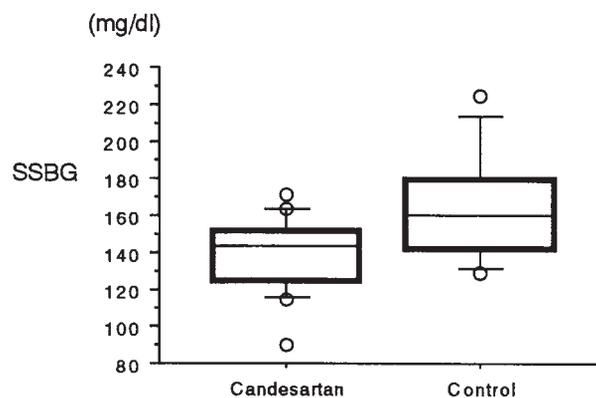
	Candesartan	Control
n	11	11
Epinephrine(ng/ml)	0.424±0.126	0.309±0.045
Norepinephrine(ng/ml)	0.293±0.032	0.208±0.031
Dopamine(ng/ml)	0.095±0.036	0.040±0.016

く、HRは両群(Candesartan群: 344±8bpm, Control群: 349±11bpm)に有意差はなかった(Table 1)。血漿 epinephrine, 血漿 norepinephrine, 血漿 dopamineはCandesartan投与群で各々0.424±0.126ng/ml, 0.293±0.032ng/ml, 0.095±0.036ng/ml, Control群は0.309±0.045ng/ml, 0.208±0.031ng/ml, 0.040±0.016ng/mlであり、両群間に有意差はなかった(Table 2)。

**実験2:** FBGはCandesartan群(154±4mg/dl)とControl群(159±4mg/dl)に有意差はなかった。SSBGはCandesartan群(138±5mg/dl)がControl群(164±10mg/dl)より有意に低値であった(p=0.024, Table 3, Fig.)。SSPIはCandesartan群(69±1μU/ml)とControl群(70±3μU/ml)に有意差はなかった。なお、血清ナトリウムと血清カリウムに両群間に差はなかった(Table 3)。

## 考 察

AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬がインスリン感受性に与える影響は報告により異なっている。Moanらは軽症本態性高血圧患者に対しlosartanを4週間投与し、インスリン感受性は変化しなかったと報告した<sup>12)</sup>。Fogariらは過体重の本態性高血圧患者においてACE阻害薬(perindopril)はインスリン感受性を改善するが、losartanはインスリン感受性に影響しないことを報告した<sup>8)</sup>。われわれも、SHRにおいてACE阻害薬(enalapril)はインスリン感受性を改善するが、losartanは明らかな影響を与えないことを認めている<sup>9)</sup>。



**Figure** Box and whisker plot of steady state blood glucose(SSBG) in Candesartan group and Control group

Box plots depict median (thin line), 25% and 75% quartile values (end of box) and 10<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentile values (error bars). Outliers are marked (○).

**Table 3. Fasting blood glucose(FBG), steady state blood glucose(SSBG), steady state plasma insulin(SSPI), Na and K in Candesartan group and Control group**

	Candesartan	Control
n	16	8
FBG(mg/dl)	154±4	159±4
SSBG(mg/dl)	138±5*	164±10
SSPI(μU/ml)	69±1	70±3
Na(mEq/l)	144±0.3	144±0.1
K(mEq/l)	4.2±0.1	4.2±0.1

\*p<0.05 vs Control group

これに対しIimuraらは本態性高血圧患者にACE阻害薬(derapril)とcandesartanを投与し、両薬ともにインスリン感受性を改善することを報告した<sup>10)</sup>。また、本態性高血圧患者でlosartanがインスリン感受性を改善したという報告もある<sup>11)</sup>。

ACE阻害薬と異なりAT<sub>1</sub>受容体拮抗薬は内因性キニンの代謝には影響しないため、AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬がインスリン感受性を改善させる機序には、末梢血管拡張による骨格筋などの末梢組織へのグルコースとインスリンの供給増加、および交感神経機能抑制作用が考えられる。AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬によるインスリン感受性に対する作用が一律でないのは、投与される個体のインスリン感受性が影響すると考えられる<sup>17)</sup>。すなわち、インスリン感受性が低下していない場合にインスリン感受性改善作用は明らかでないが、インスリン抵抗性が存在する場合に改善させる可能性があ

る。本実験では、遺伝的に SHR より純系でありインスリン感受性が低下している SHR/Izm を用いて検討した。

Candesartan は SHR において用量依存性に降圧をもたらすことが認められている。本実験では強制的な経口薬剤投与によるストレスが交感神経とインスリン感受性に与える影響を避けるため、インスリン感受性を薬剤投与 24 時間後に評価した。そのため candesartan は投与 24 時間後も十分な降圧を示すことが確認されている 10mg/kg/day を用いた<sup>18)</sup>。candesartan, losartan とともに AT<sub>1</sub>受容体に対する特異性は高いが、candesartan は losartan に比し AT<sub>1</sub>受容体に対する親和性が高く、解離しにくいことが認められている<sup>19,20)</sup>。しかし、インスリン感受性については両薬ともに改善するとの報告があり、candesartan と losartan の薬物動態の違いがインスリン感受性に影響するかどうかは不明である。

インスリン感受性は SSBG 法を用いたが、この方法は Reaven らにより steady state plasma glucose (SSPG) 法として開発された<sup>21)</sup>。インスリン感受性については、euglycemic hyperinsulinemic clamp 法と高い相関を示すことが認められている<sup>22)</sup>。SSPG 法は内因性インスリン分泌を抑制するために epinephrine などを用いるため、血圧に対する影響が問題になる。このため原納らは somatostatin を用いる SSPG 法を開発した<sup>23)</sup>。われわれはこの方法をラットに応用し SSBG 法が euglycemic hyperinsulinemic clamp 法と高い相関を示すことを認めている<sup>15)</sup>。

交感神経系に関しては、カテコールアミン自体がインスリンの糖代謝に抑制的に作用し、さらに末梢血管収縮による組織血流量低下がインスリン感受性に影響する<sup>16)</sup>。Moan らは本態性高血圧患者において、losartan により血中 norepinephrine が低下し、インスリン感受性が改善したことを報告している<sup>24)</sup>。今回の検討では、candesartan により降圧とインスリン感受性の改善が認められたにもかかわらず、血漿カテコールアミンは変化しなかった。通常、末梢血管拡張による降圧は反射性交感神経緊張をもたらす。血漿カテコールアミンが変化しなかったことは、AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬の交感神経機能に対する作用が反射性交感神経緊張を抑制した可能性がある。しかし、今回認められた SHR/Izm における降圧、あるいはインスリン感受性の改善自体に candesartan の末梢交感神経機能に対する作用が関与した可能性は少ない。

また、ACE 阻害薬と AT<sub>1</sub>受容体機能の作用上の違いに AT<sub>2</sub>受容体機能に対する影響がある。AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬は ACE 阻害薬と同様に AT<sub>1</sub>受容体機能抑制に伴う feedback

機構により血漿レニン活性とアンジオテンシン I を上昇させる<sup>25)</sup>。ACE 阻害薬と異なり、AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬はアンジオテンシン II を上昇させるため、これによる AT<sub>2</sub>受容体刺激をもたらすと考えられる<sup>26)</sup>。AT<sub>2</sub>受容体の生体内作用は十分に明らかにされていないが、血管拡張、細胞増殖抑制的に作用することが指摘されている<sup>26)</sup>。ゆえに、AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬による血管拡張作用、あるいはインスリン感受性改善作用の一部に AT<sub>2</sub>受容体機能亢進が関与した可能性がある。今後、AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬による AT<sub>2</sub>受容体機能の変化と生体内作用についてさらに検討が必要である。

## 結 論

SHR/Izm において AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬は交感神経機能に関係なく降圧とインスリン感受性改善をもたらし、AT<sub>1</sub>受容体拮抗薬はインスリン感受性低下を伴う高血圧の治療に有用な降圧薬と考えられる。

## 文 献

1. Schiffrin EL. Vascular protection with newer antihypertensive agents. *J Hypertens* 1998 ; 16(Suppl 5) : S25-9.
2. Burnier M, Brunner HR. Angiotensin II receptor antagonists in hypertension. *Kidney Int* 1998 ; 54(Suppl 68) : S107-11.
3. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease (syndrome X) : An expanded definition. *Annu Rev Med* 1993 ; 14 : 121-31.
4. DeFronzo RA. Insulin resistance, hyperinsulinemia, and coronary artery disease : a complex metabolic web. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992 ; 20(Suppl 11) : S1-16.
5. 久代登志男, 原澤信介, 上松瀬勝男. 高血圧とインスリン. *日内誌* 1999 ; 88(2) : 29-35.
6. The Sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Arch Int Med* 1997 ; 157 : 2413-46.
7. WHO/ISH Guidelines Subcommittee. *J Hypertens* 1999 ; 17 : 151-83.
8. Fogari R, Zoppi A, Lazzari P, Preti P, Mugellini A, Corradi L, Lusardi P. ACE inhibition but not angiotensin II antagonism reduces plasma fibrinogen and insulin resistance in overweight hypertensive patients. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998 ; 32 : 616-20.
9. Tomiyama H, Kushiro T, Abeta H, Ishii T, Takahashi A, Furukawa L, Asagami T, Hino T, Saito F, Otsuka Y, Kurumatani H, Kobayashi F, Kanmatsuse K, Kajiwara N. Kinins contribute to the improvement of insulin sensitivity during treatment with angiotensin converting enzyme in-

- hibitor. *Hypertension* 1994 ; 23 : 450-5.
10. Iimura O, Shimamoto K, Matsuda K, Masuda A, Takizawa H, Higashiura K, Miyazaki Y, Hirata A, Ura N, Nakagawa M. Effects of angiotensin receptor antagonist and angiotensin converting enzyme inhibitor on insulin sensitivity in fructose-fed hypertensive rats and essential hypertensives. *Am J Hypertens* 1995 ; 8 : 353-7.
  11. Moan A, Hoiegggen A, Nordby G, Eide IK, Kjeldsen SE. Effects of losartan on insulin sensitivity in severe hypertension : connections through sympathetic nervous system activity? *J Hum Hypertens* 1995 ; 9(Suppl 5) : S45-50.
  12. Moan A, Hoiegggen A, Seljeflot I, Risanger T, Arnesen H, Kjeldsen SE. The effect of angiotensin II receptor antagonism with losartan on glucose metabolism and insulin sensitivity. *J Hypertens* 1996 ; 14 : 1093-7.
  13. Hulman S, Falkner B, Chen YQ. Insulin resistance in the spontaneously hypertensive rat. *Metabolism* 1991 ; 40(4) : 359-61.
  14. Buchanan TA, Sipos GF, Madrilejo N, Liu C, Campese VM. Hypertension without peripheral insulin resistance in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 1992 ; 262 (1pt 1) : E14-9.
  15. Furukawa LN, Kushiro T, Asagami T, Takahashi A, Kanmatsuse K, Ishikawa K. Variations in insulin sensitivity in spontaneously hypertensive rats from different sources. *Metabolism* 1998 ; 47(5) : 493-6.
  16. Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities—the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N Engl J Med* 1996 ; 334(6) : 374-81.
  17. 久代登志男, 原澤信介, 上松瀬勝男. ACE阻害薬とAT<sub>1</sub>受容体拮抗薬 : インスリン抵抗性に対する効果. *治療学* 1999 ; 33(1) : 60-2.
  18. Nishikawa K, Naka T, Chatani F, Yoshimura Y. Candesartan cilexetil : a review of its preclinical pharmacology. *J Hum Hypertens* 1997 ; 11(Suppl 2) : S9-17.
  19. Noda M, Shibouta Y, Inada Y, Ojima M, Wada T, Sanada T, Kubo K, Kohara Y, Naka T, Nishikawa K. Inhibition of rabbit aortic angiotensin II (A II) receptor by CV11974, a new nonpeptide A II antagonist. *Biochem Pharmacol* 1993 ; 46(2) : 311-8.
  20. Ojima M, Inada Y, Shibouta Y, Wada T, Sanada T, Kubo K, Nishikawa K. Candesartan (CV-11974) dissociates slowly from the angiotensin AT<sub>1</sub> receptor. *Eur J Pharm Sci* 1997 ; 319 : 137-46.
  21. Reaven GM, Farquhar JW. Steady state plasma insulin response to continuous glucose infusion in normal and diabetic subjects. *Diabetes* 1969 ; 18(5) : 273-9.
  22. Ferrannini E, Mari A. How to measure insulin sensitivity. *J Hypertens* 1998 ; 16 : 895-906.
  23. Harano Y, Ohgaku S, Hidaka H, Haneda K, Kikkawa R, Shigeta Y, Abe H. Glucose, insulin and somatostatin infusion for the determination of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 1977 ; 45(5) : 1124-7.
  24. Moan A, Risanger T, Eide I, Kjeldsen SE. The effect of angiotensin II receptor blockade on insulin sensitivity and sympathetic nervous system activity in primary hypertension. *Blood Press* 1994 ; 3(3) : 185-8.
  25. Hubner R, Hogemann AM, Sunzel M, Riddell JG. Pharmacokinetics of candesartan after single and repeated doses of candesartan cilexetil in young and elderly healthy volunteers. *J Hum Hypertens* 1997 ; 11(Suppl 2) : S19-25.
  26. Stroth U, Unger T. The renin-angiotensin system and its receptors. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999 ; 33(Suppl 1) : S21-8.