

博士論文

論文題目 ベラプロストナトリウム徐放錠の肥満 2 型糖尿病
患者におけるインスリン抵抗性改善作用の検討
ー正常血糖高インスリンクランプ法を用いたラン
ダム化プラセボ対照二重盲検クロスオーバー試験ー

氏 名 原口 美貴子

目次

1. 要旨 : p.4-5
2. 序文 : p.6-p.17
3. 目的 : p.18-p.19
4. 方法 : p.20-p.44
5. 結果 : p.45-p.55
6. 考察 : p.56-p.59
7. 結論 : p.60
8. 謝辞 : p.61-p.62
9. 引用文献 : p.63-p.67

略語集

ADMA	asymmetric dimethylarginine	非対称性ジメチルアルギニン
BMI	body mass index	ボディマス指数 体重÷(身長) ²
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
CGM	Continuous glucose monitoring	持続的血糖モニタリング
CPR	C-peptide immunoreactivity	C ペプチド
FFA	Free fatty acid	遊離脂肪酸
GAD	glutamic acid decarboxylase	グルタミン酸脱炭酸酵素
GIR	glucose infusion rate	グルコース注入率
GLP-1	glucagon-like peptide-1	グルカゴン様ペプチド-1
HbA1c	Hemoglobin A1c	ヘモグロビンエーワンシー
HOMA-β	homeostatis model assessment- beta cell function	360×空腹時インスリン値(μU/mL)÷ (空腹時血糖値(mg/dl)-63)
HOMA-IR	homeostasis model assessment- insulin resistance	空腹時インスリン値(μU/mL)×空腹時 血糖値(mg/dl)÷405
IL	Interleukin	インターロイキン
IRB	Institutional review board	臨床試験審査委員会
IRS	Insulin receptor substrate	インスリン受容体基質
MCP	Monocyte chemotactic protein	単球走化性因子
M/I ratio	M/Insulin ratio	正常血糖高インスリンクランプ法にお けるインスリン抵抗性の指標 M 値(クランプ開始後 90-120 分の GIR の平均)/血清インスリン濃度(クランプ 開始後 120 分)
NGSP	National Glycohemoglobin Standardization Program	米国グリコヘモグロビン標準化プログ ラム
OGTT	oral glucose tolerance test	経口グルコース負荷試験
PGI ₂	Prostaglandin I ₂	プロスタサイクリン
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptor	ペルオキシソーム増殖因子活性化受容 体
SSPG	steady state plasma glucose	定常状態における血清グルコース濃度
TNF	Tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子
UHCT	University Hospital Clinical Trial Alliance	大学病院臨床試験アライアンス
vWF	Von Willebrand factor	フォン・ヴィルブランド因子

1. 要旨

プロスタサイクリン (PGI₂) 誘導体のベラプロストナトリウムは、血管内皮機能改善を介して骨格筋における糖取り込みを改善し、全身のインスリン抵抗性を改善させる作用があることが、高脂肪食負荷マウスを用いた基礎研究で報告されている。しかし、2型糖尿病患者においてどの程度インスリン抵抗性を改善させるかはまだ十分に検討されていない。本試験では、ベラプロストナトリウムのインスリン抵抗性改善作用を、正常血糖高インスリンクランプ法を用いて検討した。試験デザインはランダム化プラセボ対照二重盲検クロスオーバー試験とした。肥満 (BMI>25) を有する 2 型糖尿病患者 40 名をランダムに 2 群に割り付け、ベラプロストナトリウムまたはプラセボを各 8 週間投与し、各投薬期間終了後に正常血糖高インスリンクランプ法を施行し、M/I ratio にて、インスリン抵抗性を評価した。正常血糖高インスリンクランプ試験において、実薬およびプラセボ内服後の M/I ratio は有意な差を認めなかった (4.98 ± 2.58 vs 4.99 ± 3.06 , $p=0.913$)。一方、副次評価項目の 1 つである HbA1c において有意な改善が認められていた (6.82 ± 0.59 vs 6.97 ± 0.69 , $p=0.036$) これに関連する指標としてはインスリン分泌改善作用を示す HOMA- β が改善傾向を示していた (65.91 ± 59.33 vs 51.32 ± 27.38 , $p=0.101$)。

ベラプロストナトリウム徐放錠は、肥満 2 型糖尿病患者においてインスリン抵抗性を改善させなかったが、HbA1c を有意に改善した。それには、インスリン分泌の改善作用が介在していることが示唆された。

2. 序文

1. 2型糖尿病とインスリン抵抗性改善薬^{1,2}

糖尿病とは、インスリン作用不足による、慢性の高血糖状態を主徴とする代謝症候群である。インスリン作用不足は、インスリン分泌低下とインスリン抵抗性に大別される。インスリンは膵臓β細胞より分泌されるが、これは主に空腹時に持続的に低濃度で分泌される基礎分泌と、食物摂取による血糖値や消化管ホルモンの上昇により分泌量が増加する追加分泌に分けられる。2型糖尿病患者では主に、この追加分泌が遅延、低下している。それに対して、インスリン抵抗性とは、インスリン分泌が十分に保たれていたとしても、血中のインスリン濃度に見合ったインスリン作用が得られない状態である。インスリン抵抗性の増大には、過食・運動不足などの生活習慣、およびその結果としての肥満が強く関わっている。内臓脂肪型の肥満や高血圧、高中性脂肪血症、低HDLコレステロール血症などを有する症例でインスリン抵抗性が高いことが知られており、BMI \geq 25以上の肥満患者ではインスリン抵抗性がほぼ存在すると言ってよい。従って、肥満2型糖尿病患者の治療にあたって、インスリン抵抗性を改善させることは極めて重要である。

病態に合わせた経口血糖降下薬の選択

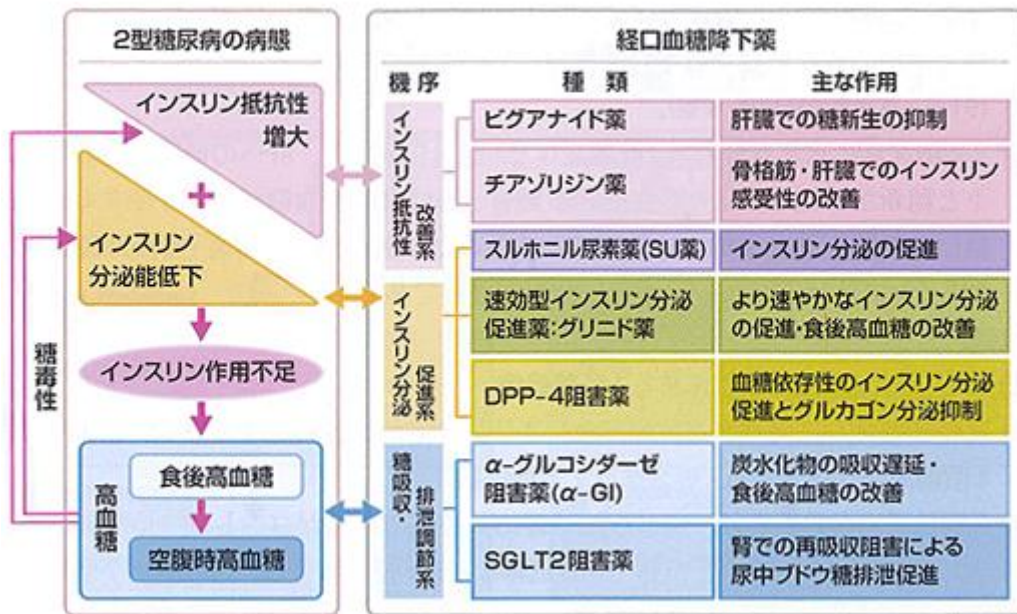


Figure1 病態に応じた経口血糖降下薬の選択¹

現在、臨床で使用されているインスリン抵抗性改善薬には、主にビグアナイド薬とチアゾリジン薬の2種類である (Figure1)。

ビグアナイド薬は肝における糖放出抑制および末梢組織における糖取り込みの増加を介して、血糖改善作用を示すことが知られている。プラセボと比較した研究によれば、メトホルミン投与による HbA1c 改善幅は約-0.6%~-1.5%である。インスリン分泌促進作用はないが、インスリン抵抗性の改善作用、体重増加抑制作用、心血管イベントおよび細小血管障害抑制、脂質改善作用、近年は癌抑制作用なども報告されている。ビグアナイド薬は、薬価も安いとため、肥満の多い米国においては 2 型糖尿病患者における第一選択薬となっているが、副

作用も多く、投与にあたっては注意が必要である。重度の肝機能・腎機能障害患者、また乳酸アシドーシスの誘因になりうる基礎疾患（下痢・嘔吐などの胃腸障害、ショックや心不全などの低酸素血症、過度のアルコール摂取、脱水、高齢者など）を持つ患者への投与は禁忌である。また、ヨード造影剤との併用で乳酸アシドーシスの発症が報告されており、造影 CT 検査後 48 時間は投与を中止する。また、悪心・嘔吐・下痢など消化器症状を認めることがあり、症状出現した場合は中止や減量が必要である。

チアゾリジン薬の作用メカニズムは、ビグアナイド薬とまた異なる。肥満患者において、インスリン抵抗性を惹起するメカニズムは脂肪細胞の肥大にあると考えられている。肥大した脂肪細胞からは、インスリン感受性ホルモンであるアディポネクチンの分泌が低下し、動脈硬化を促進する TNF α や IL-6 などのサイトカインや遊離脂肪酸（FFA）などが過剰に分泌される。チアゾリジン薬は、主に脂肪細胞に発現する核内受容体である peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) に結合して、TNF- α や IL-6、FFA の分泌抑制、およびアディポネクチンの分泌を増強させる。また、肝臓や骨格筋への脂肪沈着はインスリン抵抗性を増大させるが、チアゾリジン薬はこれらの脂肪沈着を軽減し、特に骨格筋における糖取り込み作用を改善することで、インスリン抵抗性を改善する。現在臨床で使用されているチアゾリジン薬は、主にピオグリ

タゾンである。ピオグリタゾンは HbA1c を約-1%改善するほか、中性脂肪低下および HDL-C 改善作用を有する。これは、PPAR γ 刺激作用に加え若干の PPAR α 刺激作用によるものと考えられている。副作用としてむくみや浮腫が特に女性で多く報告され、また高齢女性で骨折の増加が報告されている。まれに心不全を増悪させることがあり、心不全の既往のある患者には投与禁忌である。その他、2011 年頃より、膀胱癌について発症リスクの増加が疑われている。こちらは差があるという報告と差がないという報告があり、まだ結論は定まっていないが、使用時は血尿の有無に注意を払い、また膀胱癌の患者には投与を避けることが必要である。

インスリン抵抗性改善薬は、2 型糖尿病の病態改善に有効であるだけでなく、近年はインスリン分泌促進薬やインスリン注射の使用に比し、末梢動脈疾患 (Peripheral arterial disease) の予後改善に有用であることも報告されており³、今後ますます 2 型糖尿病治療の中心の役割を担っていく薬剤と考えられている。しかし、上述したようにインスリン抵抗性改善薬の選択肢は現在 2 種類のみであり、それぞれに副作用があり、適応も限定されていることから、臨床において使用できる選択肢は限られているというのが実情である。新たなインスリン抵抗性改善薬の開発は、2 型糖尿病の治療の進歩に非常に重要であると考えられる。

2. プロスタサイクリン (PGI₂) 誘導体：ベラプロストナトリウムの血管弛緩作用および血管内皮機能改善作用

血管内皮細胞は、血管内膜に存在し、血漿成分を選択的に血管壁に透過させるほか、種々の血管作動性物質を産生する器官である。血管弛緩因子としてはプロスタサイクリン、NO、アドレノメデュリンなどがあり、収縮因子としてはエンドセリンも遊離することが知られている⁴。

このプロスタサイクリン (PGI₂) は 1970 年代に Vane らによって発見された生体内物質である⁵。主に血管内皮細胞で産生され、その血小板凝集抑制作用は内因性因子の中で最も強力である。また抗血栓作用・白血球接着抑制作用・平滑筋増殖抑制作用を有しており、その抗動脈硬化作用は末梢性血管疾患の有用な治療薬として期待されていた。しかし半減期は極めて短く、長期にわたり、ヒトへの投与経路は静注に限られ、その臨床応用は限定されていた。

ベラプロストナトリウム（以下ベラプロスト）は本邦で開発された、世界初の経口投与可能な安定型のプロスタサイクリン誘導体である。ベラプロストはプロスタサイクリンの不安定性の原因となっているエキソエノールエーテル構造をフェノールに置き換えるとともに、 ω -側鎖に化学修飾を加えることで、副作用の発現を抑制することに成功した(Figure 2)。

ベラプロストはプロスタサイクリン同様、血小板凝集抑制作用、血管拡張作用、血管平滑筋細胞増殖抑制、内皮細胞保護、炎症性サイトカインの産生抑制などの多彩な薬理作用を有するが、特に、その血管弛緩反応および血流増加作用が臨床上評価されている。Akiba らは、ノルエピネフリンあるいはプロスタグランジン $F_2\alpha$ で収縮させたイヌ摘出血管において、ベラプロストの血管弛緩作用を報告した⁶。これは、内皮細胞に依存しない血管平滑筋弛緩反応であり、血管平滑筋細胞の IP 受容体への結合によるアデニル酸シクラーゼの活性化を介する cAMP の上昇作用によるものと考えられている⁷。また、血管内皮機能改善による血管弛緩作用も報告されている。血管弛緩因子である NO は、正常血管では血管内皮細胞が常時発現する内皮型 NO 合成酵素(eNOs)より生成されるが、庭野らによるマウスにおける基礎研究では、マウスにベラプロストを 4 週間内服させたところ、血管壁における eNOs 遺伝子の発現が増加し、最終的に NO 産生増加に結び付いたことを明らかにした⁸。

現在、ベラプロストはドルナー®錠、プロサイリン®錠の商標で、末梢動脈疾患に対して臨床で使用されており、保険診療で「慢性動脈閉塞症に伴う潰瘍、疼痛及び冷感の改善」、および「原発性肺高血圧症」に対する効能が認められている。更に、2007 年に発売されたベラプロスト徐放錠（ケアロード LA®錠、ベラサス LA®錠）は、ベラプロスト通常錠に比べて血中濃度の持続化および Cmax

の抑制が図られ、治療効果の向上、および服用回数の低減による内服コンプライアンスの改善が期待されており、現在は保険診療において、「肺動脈性肺高血圧症」に対する効能が認められている (Figure 3)。

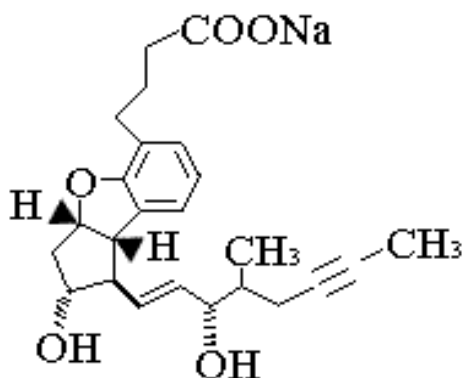


Figure 2 ベラプロストの構造式

本邦で開発された、 PGI_2 誘導体として初の経口薬。血小板や血管平滑筋の PGI_2 受容体に作用して細胞内 cAMP 濃度上昇, Ca^{2+} 流入抑制, TXA_2 生成抑制などを起こし, 抗血小板作用や血管拡張作用を示す。

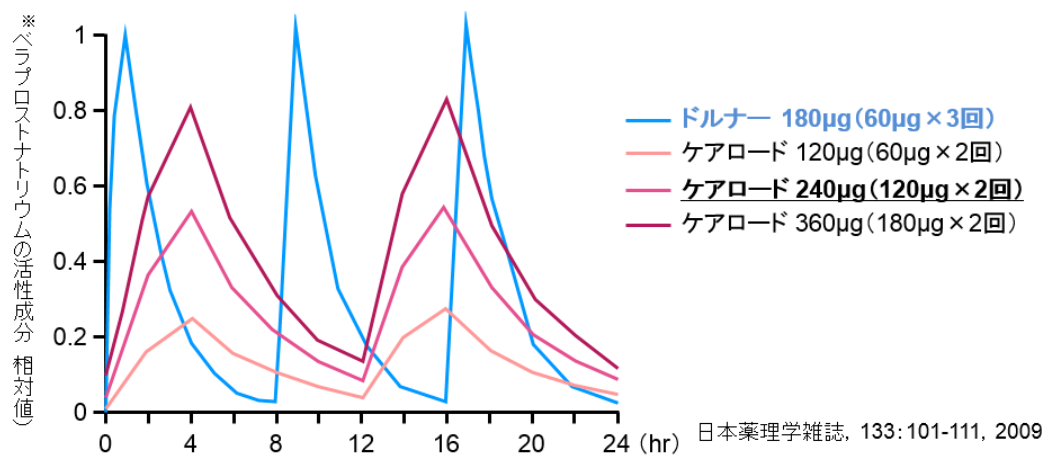


Figure 3 ドルナー®錠およびケアロード LA®錠の血中濃度変化⁹

ケアロード LA®錠の使用により、服用回数の低減、 C_{max} 上昇の抑制、血中濃度の持続時間の延長、AUC 増加が期待される。この結果、一日 2 回の投与回数で、ドルナー錠使用時の約 2 倍量のベラプロスト投与が可能。

3. ベラプロストが糖尿病合併症（大血管障害・細小血管障害）に与える影響

糖尿病は全身の動脈硬化を進行させる疾患である。ベラプロストはその抗動脈硬化作用から、糖尿病患者の合併症の進行遅延や症状改善の可能性が指摘されており、これまでも多くの研究が進められてきた。2型糖尿病の細小血管合併症である糖尿病腎症、糖尿病神経障害についても、各合併症の進行を抑制する可能性を示す報告がある。

佐藤らは、肥満 Zucker ラットに 12 週間ベラプロストを投与したところ、尿中の N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase の減少を認めた。また、病理組織学検査で、有意な腎保護効果に加え、腓線維症の進行阻害、脂肪肝の抑制を報告した¹⁰。豊田らは、閉塞性動脈硬化症をきたした糖尿病患者にベラプロストを投与したところ、間歇性歩行の改善だけでなく、冷感やしびれ、感覚障害など、糖尿病神経障害特有の異常感覚も改善させたことを報告した¹¹。

また、大血管合併症である閉塞性動脈硬化症に対しては、前述のようにベラプロストはすでに有効性が確認され、保険適応が認められている。ベラプロストの大規模臨床試験である BERCI-2 では、間歇性跛行患者 422 例を対象に、ベラプロストを 120μg/日投与するベラプロスト群 209 例と、プラセボ群 213 例の多施設二重盲検比較試験が施行された。試験薬を 24 週間投与したのちの跛行

出現期間および最大歩行距離をトレッドミル試験を用い評価したところ、ベラプロスト群では、プラセボ群に比してどちらも有意な距離の延長を認めた。本試験で特記すべきは重大な心血管イベントの発生率であり、これはベラプロスト群で 4.8%、プラセボ群で 8.9%と、ベラプロスト群で心血管イベントを 46% 減少させた($p=0.09$)¹²。しかし、労作性狭心症を持つ患者に対する一次予防や、心筋梗塞の一次予防・二次予防効果に対する臨床試験の結果は、有効とする報告¹³と無効とする報告¹⁴が混在しており、現時点で一定の見解には至っていない。

4. ベラプロストが 2 型糖尿病の病態（インスリン抵抗性・インスリン分泌）に与える効果

近年、2 型糖尿病の合併症だけでなく、2 型糖尿病の病態であるインスリン抵抗性やインスリン分泌においても、ベラプロスト投与により改善を示唆する報告が複数認められている。

Paolisso らは、プロスタサイクリン誘導体の静注薬であるイロプロストを、健常者および糖尿病患者に投与し、いずれにおいても全身のインスリン抵抗性が改善したことを報告した¹⁵。当研究室の窪田らは、血管内皮細胞において主

要なインスリン受容体基質である **IRS2** を血管内皮特異的に欠損させたマウスを作成し、インスリン刺激を行ったところ、骨格筋血流の増加や骨格筋間質へのインスリン移行の増加が障害され、骨格筋における糖取り込みの低下が認められたことを報告した。更に高脂肪食を負荷したマウスでは血管内皮細胞の **IRS2** が発現低下していることを利用し、肥満マウスに対しベラプロストを投与したところ、血管内皮細胞機能改善を介して、骨格筋間質へのインスリン移行および骨格筋における糖取り込みが改善し、全身のインスリン抵抗性が改善したことを報告した (**Figure 4,5**)¹⁶。また、井上らは高脂肪食を負荷したマウスにおける研究で、ベラプロストがインスリン抵抗性を増大させる **TNF- α** や **MCP-1** などの前炎症性サイトカインを減少させたことを示した¹⁷。当研究室の勝山らはさらに、閉塞性動脈硬化症を合併する 2 型糖尿病患者 14 例に対しベラプロスト通常錠を 12 週間投与し、投与前後のインスリン抵抗性の変化について正常血糖高インスリンクランプ法を用いて検討したところ、インスリン抵抗性が改善する傾向がみられた¹⁸。これらの結果から、ベラプロストは血管内皮機能の改善を介してインスリン抵抗性を改善し、糖尿病患者の病態を改善することが期待できるものと考えられた。

また、近年は臍島における血流量とインスリン分泌の関係性を示唆するデータが報告されている。橋本らは、前述の血管内皮特異的 **IRS2** 欠損マウスにおい

て、膵島における血流量が低下していること、またこのマウスで耐糖能異常および早期インスリン分泌障害を認めたことを報告した。このマウスに膵島血流量改善作用が報告されている低用量の ACE 阻害薬(マレイン酸エナラプリル)を投与することで、インスリン分泌改善作用が認められたことを報告した¹⁹。また、Chen らは、ベラプロストを前述のピオグリタゾンと併用することで、ピオグリタゾン単独と比較して HbA1c の有意な改善が得られることを指摘した²⁰。

まとめると、ベラプロストは 2 型糖尿病の細小血管合併症の進行抑制、心血管イベント抑制、さらにインスリン抵抗性・インスリン分泌低下などの病態改善にも有用であり、それを介した血糖コントロール改善の可能性も認められていることから、今後 2 型糖尿病治療に対してきわめて期待される薬剤である。今後臨床試験を通して、その効能を評価していく重要性が一段と高まっている。

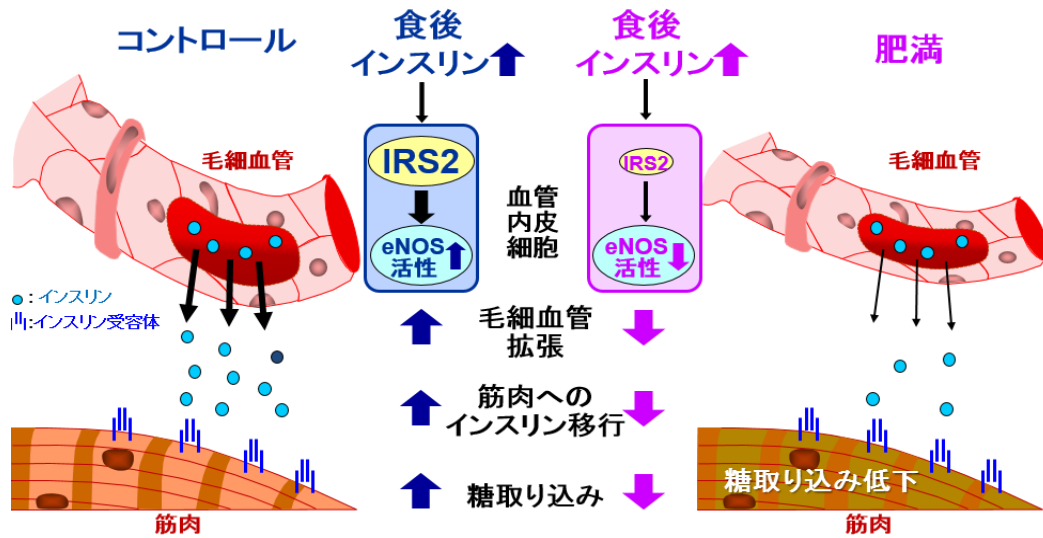


Figure 4

肥満では血管内皮細胞の IRS2 の発現が低下しており、食後インスリンが分泌されても血管内皮細胞の eNOs が十分に活性化されず、毛細血管の拡張や筋肉へのインスリン移行が正常に起こらないために、インスリンによる糖取り込みが低下してしまう

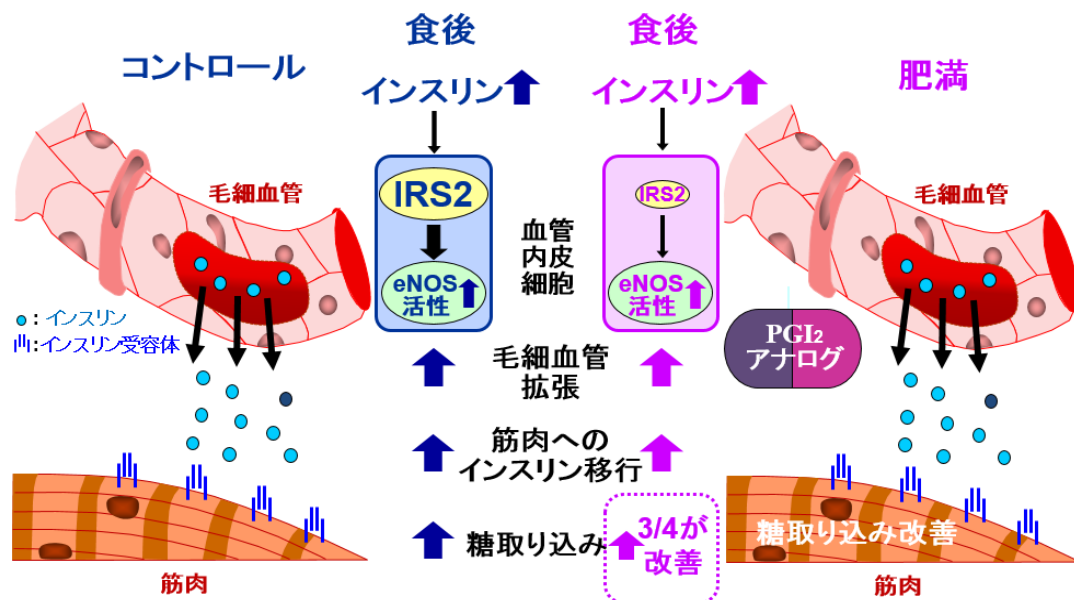


Figure 5

ベラプロスト投与により、血管内皮細胞の eNOS の活性の改善を介して、毛細血管の拡張や筋肉へのインスリン移行が回復し、インスリンによる糖取り込みが改善する

3. 目的

本試験は、インスリン抵抗性を有すると予想される肥満 2 型糖尿病患者に対し、ベラプロスト徐放錠を投与し、ベラプロスト徐放錠のインスリン抵抗性および血管内皮機能に対する影響を評価することを目的とする。

本試験は、2009 年より当研究室の勝山らが実施したベラプロスト通常錠を用いたパイロット試験¹⁸を基に、よりエビデンスレベルの高い試験デザインを用いて評価を試みたものである。

パイロット試験のデザインは前後比較試験であり、ベラプロスト通常錠を保険診療で処方したため、対象患者は閉塞性動脈硬化症を合併する 2 型糖尿病患者であった。しかし、閉塞性動脈硬化症を合併した患者は、罹病期間が長く、動脈硬化が著しく進行しており、血管内皮機能改善を介したベラプロストの効果が発揮されにくいことが懸念されていた。実際に、試験終了後のサブ解析では、BMI 高値でインスリン抵抗性が大きく、血管障害が比較的軽度の症例で、ベラプロストがインスリン抵抗性改善効果を発揮しやすいことが示唆された。

そこで今回は、閉塞性動脈硬化症の合併を選択基準から除外し、肥満 2 型糖尿病患者を対象とした。更に、ベラプロスト通常錠（ドルナー®錠）の 2 倍量のベラプロストを投与できるベラプロスト徐放錠（ケアロード LA®錠）を用いる

こととし、試験デザインは Evidence Level の高いプラセボ対照・二重盲検・クロスオーバー試験を選択した。

インスリン抵抗性の測定に当たっては、ゴールドスタンダードとされる正常血糖高インスリンランプ法を選択し、臨床で最も頻用されている HOMA-IR と合わせて、インスリン抵抗性の評価を行うこととした。本試験を通じて、ベラプロスト徐放錠が内皮機能の改善を介して、インスリン抵抗性をどの程度改善しうるか、より明確に評価できるものと考えられる。

4. 方法

試験デザイン

試験デザインは単施設・ランダム化プラセボ対照二重盲検クロスオーバー試験とした。

肥満を合併する 2 型糖尿病患者に対し、1 か月の観察期間ののち、ベラプロスト徐放錠（ケアロード LA[®]錠）またはプラセボを 8 週間投与（前期投薬期間）し、4 週間の休薬期間の後、対薬を 8 週間投与（後期投薬期間）した。前期投薬期間・後期投薬期間において、ベラプロスト徐放錠またはプラセボは、ともに最初の 2 週間は 2 錠分 2（朝食後 1 錠、夕食後 1 錠）とし、その後 4 錠分 2（朝食後 2 錠、夕食後 2 錠）へ増量して 6 週間継続した。頭痛などの理由で内服継続が困難な場合、2 錠分 2 までは減量可能としたが、有害事象により 2 錠分 2 の内服継続も困難な場合は投与を中止し、脱落扱いとした。

試験薬の前期投薬期間終了時、および後期投薬期間終了時に、人工膵臓を用いた正常血糖高インスリンクランプ法を行い、インスリン抵抗性を評価した。

(Figure 6)

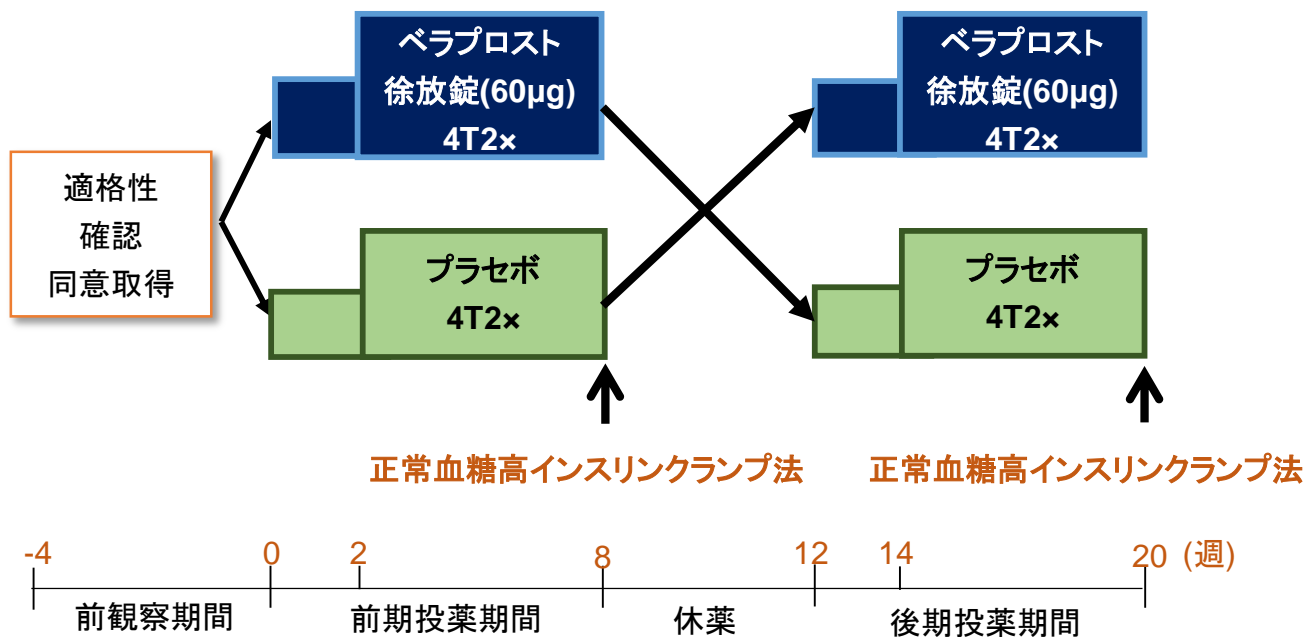


Figure 6 ランダム化プラセボ対照二重盲検クロスオーバー試験の概要

サンプルサイズ

当研究室の勝山らの検討では、閉塞性動脈硬化症を合併する2型糖尿病患者14例に対しベラプロスト通常錠を12週間投与したところ、ベラプロスト投与前後に置いて、正常血糖高インスリンランプ法における M/I ratio は治療前 $4.3 \pm 1.4 \text{ mg/kg/min}$ から治療後 $4.8 \pm 1.5 \text{ mg/kg/min}$ に改善した¹⁸。この結果から、有意水準5%、検出力80%、標準偏差1.4、個人差指数を1.5とした場合のサンプルサイズは、1群における前後比較試験で64例、平行群間比較試験で248例(1群124例)、クロスオーバー試験で38例(1群19例)と算出された。実施可能性を考慮し、クロスオーバーデザインを選択、各群の目標症例数を20例、

計 40 例とした。

対象患者

肥満を合併した 2 型糖尿病患者を対象とした。

(1) 選択基準

1. 年齢 20 歳以上 80 歳未満
2. 2 型糖尿病
3. HbA1c (NGSP 値) 8.4%未満
4. BMI 25kg/m² 以上

(2) 除外基準

1. 出血傾向のみられる患者
2. 1 型糖尿病 (*抗 GAD 抗体陽性)、二次性糖尿病の患者
3. 重篤な腎疾患を有する患者 (血清 Cre \geq 2.0mg/dL)
4. 重篤な肝疾患を有する患者 (AST もしくは ALT \geq 100IU/L)
5. 薬剤過敏症の既往歴のある患者
6. 妊婦または妊娠している可能性のある女性
7. 授乳中の女性

8. 試験薬の投与開始前3ヶ月以内に試験薬または全てのプロスタグランジン誘導体(点眼薬を除く)の投与を受けた患者
9. 試験薬の投与開始前3ヶ月以内に処方薬が変更された患者
10. その他、試験責任(分担)医師が本試験への参加が不相当と判断した患者

(3) 併用禁止薬

1. インスリン製剤
2. 全てのプロスタグランジン誘導体(点眼薬を除く)

(4) 併用制限薬(本試験期間中に投与量は変更しない)

1. 抗血小板薬
2. チアゾリジン薬
3. ビグアナイド薬
4. インスリン分泌促進薬(スルホニル尿素薬・グリニド薬)
5. α グルコシダーゼ阻害薬
6. DPP-4阻害薬
7. GLP-1受容体作動薬
8. HMG-CoA還元酵素阻害薬

9. 全ての降圧薬

リクルートは、東京大学医学部附属病院糖尿病・代謝内科外来を定期的に受診している患者に、ポスターまたはチラシを配布することで行った。(Figure 7)

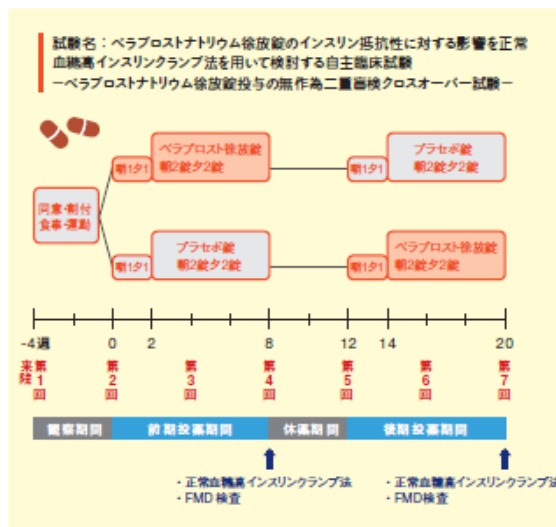
試験参加に当たっては、臨床試験審査委員会で承認の得られた説明文書を患者に渡し、文書および口頭による十分な説明を行い、患者の自由意思による同意を文書で得た。

ベラプロストナトリウムのクロスオーバー試験

自主臨床試験にご参加いただける方を募集しています

ベラプロストナトリウム（以下、ベラプロストと省略）は血管を広げたり、血液を固まりにくくする作用などがあり、閉塞性動脈硬化症や肺高血圧症などの患者さんに投与されているお薬です。最近の研究で、ベラプロストが糖尿病の患者さんにもよい効果がある可能性が示唆され、期待されています。

この試験は、ベラプロストの糖尿病に対する効果を調べるために、皆様のご協力を得て行っております。下の図のように、どちらが先になっているかは分からない形で、ベラプロストを8週間、プラセボ（偽薬）を8週間飲んでいただき、内服終了時に「正常血糖高インスリンランプ法（インスリンの効きを調べる検査）」と、「FMD検査（血管の柔らかさを測る検査）」の、2種類の検査を行い、効果を判定いたします。



【正常血糖高インスリンランプ試験】



【FMD検査】



こちらの試験にご興味ございましたら、ぜひ主治医の先生に一言お伝えください。くわしい試験の内容につきまして、外来の後や、次の外来前（採血待ち時間）など、あなたのご都合の良い時間に、ご説明をさせていただきます。

糖尿病治療の進歩のため、ぜひあなたのお力をお貸しいただければ幸いです。ご連絡、お待ちしております。

連絡先はこちら↓

（1回目は主治医の先生より、ご連絡をお願いいたします）

東京大学医学部附属病院 糖尿病・代謝内科
試験担当者 原口 美貴子 (PHS 30257)
03-3815-5411(代表)

Figure 7 リクルートに使用したチラシ

割付

被験者の各薬剤群への割付は、中央登録方式とした。割付因子は、HbA1c、性別、年齢、BMI とし、最小化法で行った。

ランダム表は東京大学医学部附属病院臨床研究支援センターで制作され、大学病院臨床試験アライアンス（UHCT アライアンス）で開発された臨床研究用症例登録割付・データ収集管理システム(UHCT Acress)に登録された。ランダム表は臨床研究支援センターに厳重に保管され、キーオープンはデータ固定終了時とした。試験実施者は被験者の同意を取得した後、UHCT Acress に登録することで被験者識別コードおよび試験薬割り付けコードを取得した。

試験実施者は被験者識別コードリストに、同意取得日およびカルテ ID・氏名など、被験者を識別する情報を記載し、被験者識別コードおよび試験薬割り付けコードを対応させた。被験者識別コードリストは試験責任医師が保管した。また、患者登録時、被験者識別コード・試験薬割り付けコードを記載した症例登録書は、臨床研究支援センターに提出された。

試験薬の調剤・二重盲検化

試験薬は東京大学医学部附属病院臨床研究支援センター試験薬部門および薬剤部にて調剤された。光で内容物が透けることを防ぐため、実薬は赤茶色に染

色された DBCaps®カプセルを使用した (Figure 8)。また、血糖への影響を防ぐため、充填物はマンニトールを選択した (通常は乳糖を用いることが多い)。



Figure 8 DBCaps®カプセル

調剤後、試験薬は 28 錠ずつボトリングされた。これらは臨床研究支援センター試験薬部門へ直接搬入され、マスキングおよびラベリングを行い、厳重に管理された。準備終了後、臨床研究支援センターより試験実施者に「試験薬処方箋」(Figure 9)が発行され、試験実施者はそれを用いて患者に試験薬の処方を行った。

試験薬は 1 日 2 回、朝食後及び夕食後に内服を指示した。飲み忘れた場合は、服用時刻から 3 時間以内であれば気づいた時点で内服すること、3 時間以上であればスキップし、次の内服時間から再開するよう指導した。試験薬は常温で保管し、残薬・容器は次回外来時に返却を義務づけた。残薬数は研究担当者がカウントし、症例報告書およびカルテに記載した。

自主臨床試験

P2011068-11X

ベラプロストナトリウム徐放錠のインスリン抵抗性に対する影響を正常血糖高インスリンクランプ法を用いて検討する自主臨床試験—ベラプロストナトリウム徐放錠投与の無作為二重盲検クロスオーバー試験—

試験薬番号【 _____ 】

【 月 日】～【 月 日】服用分

ケアロードLA(60 μ g)/プラセボ
1日2回朝夕食後

受診2 (0週)

① 1回1カプセル 1日2カプセル 【14】日分
② 1回2カプセル 1日4カプセル 【14】日分

<①→②の順で服用>

【併用禁止薬】・インスリン製剤 ・全てのプロスタグランジン誘導体(点眼を除く)
【併用制限薬】(本臨床試験期間中に投与量は変更しない) 抗血小板製剤、チアゾリジン誘導体、ピグアナイド薬、インスリン分泌促進薬(SU剤・グリニド薬)、 α グルコシターゼ阻害薬、DPP-4阻害薬、GLP-1受容体作動薬、HMGCo-A還元酵素阻害薬、全ての降圧薬
・室温保存
・かまわずに服用

発行医療機関の所在地及び名称
東京都文京区本郷7-3-1
東京大学医学部附属病院
電話番号 03-3815-5411

※処方箋に関しては臨床研究支援センター(TEL内線34292・FAX内線34297)までご連絡下さい。

Figure 9 試験薬用処方箋
東京大学医学部附属病院臨床研究支援センターにて制作

インスリン抵抗性評価

インスリン抵抗性の評価には、これまでに様々な手法が提唱されている。本試験で使用したインスリン抵抗性の評価方法である、正常血糖高インスリンクランプ法および HOMA-IR について詳述する。(その他の評価法として、インスリン負荷試験、ミニマルモデル法、SSPG(steady state plasma glucose)法、Matsuda index などが使用されている)

正常血糖高インスリンクランプ法

現時点で世界的に最も信頼性が高いとされている評価方法である。1979年に De Fronzo が提唱したインスリン抵抗性の評価法²¹であり、インスリン抵抗性評価のゴールドスタンダードとされている。

正常血糖高インスリンクランプ法は、血中のインスリン濃度が約 100 μ U/ml 程度を保つように、持続的に一定量のインスリンを投与しながら、一方で血糖値が正常範囲(95mg/dl)に保たれるようにブドウ糖を投与し、定常状態に達した際のブドウ糖注入量 GIR (Glucose Infusion Rate) で全身のインスリン抵抗性を評価する。(Figure9)。正常血糖高インスリンクランプ開始 90 分後から 120 分後のブドウ糖注入量 GIR の平均を M 値といい、それを 120 分後の血中インスリン濃度(I)で除した M/I ratio はインスリン抵抗性の鋭敏な指標として用いられている。

本邦では正常血糖高インスリンクランプ法に日機装株式会社の人工膵臓 STG-22 もしくは STG-55 が用いられる (Figure 10)。これらの人工膵臓では、持続的に静脈血採血 (採血量は 1 時間に 2ml 以下) を行い、グルコースセンサーがリアルタイムに血糖値を測定する。さらに、あらかじめ設定した血糖値よりも上昇または低下すると、測定された血糖値を基に、内蔵されているアルゴリズムにより血糖管理に必要なインスリン量・グルコース量を演算し、それぞ

れのポンプで自動的にインスリン・グルコースを静脈に注入して設定値内に血
 糖値を是正する Closed Loop system である。患者に接続している間、血糖値を
 正常範囲に維持することができ、低血糖発作を起こさないことから、最近は外
 科における周術期の血糖管理に多く使用されている。更に、近年開発された
 STG-55 は、STG-22 をより小型化、省力化、操作性向上、安全性向上をコンセ
 プトに開発され、STG-22 に比しスリム化・軽量化が図られている ²²(Figure 11)。
 あらかじめ認定された施設では保険診療の一環として人工膵臓を使用すること
 ができ、当院も人工膵臓使用の認定施設となっている。

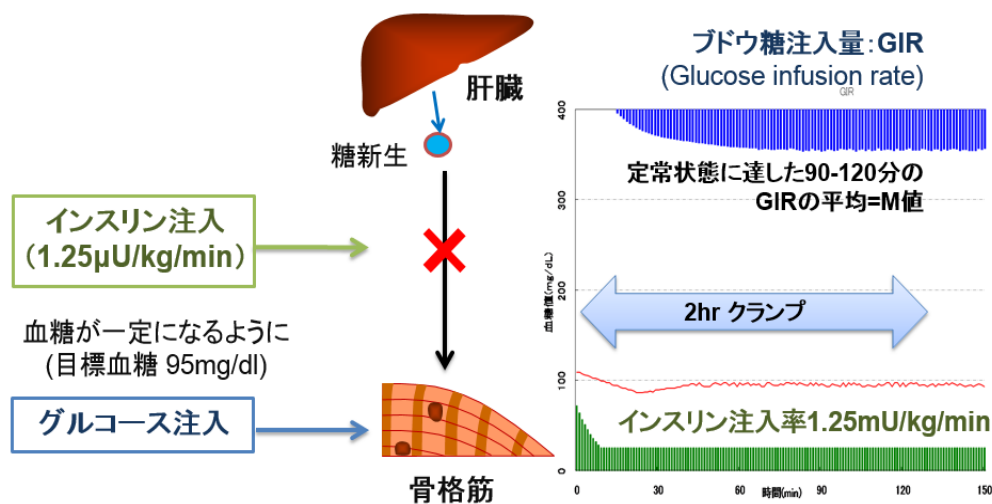


Figure 10 正常血糖高インスリンクランプ法

ブドウ糖注入量 (GIR) と末梢組織の糖取り込み量は等しい。M 値 (GIR) が
 大きいほどインスリン感受性が良好。

$M/I \text{ ratio} = M \text{ 値} / \text{Insulin 濃度 (クランプ開始後 120 分)}$



Figure 11 人工膵臓（日機装社製）とその構成
左 STG-22(旧型) 右 STG-55 (新型)

HOMA-IR (homeostasis model assessment insulin resistance index)²³

HOMA-IR は臨床現場で最も汎用されているインスリン抵抗性指標である。

HOMA モデルは、空腹時血糖とインスリン値が、肝臓からの糖新生と膵β細胞からのインスリン分泌のフィードバックループにより規定されているというモデルであり²⁴、空腹時インスリン値($\mu\text{U}/\text{mL}$) \times 空腹時血糖値(mg/dl) $\div 405$ で算出される。正常値は 1.6 未満で、2.5 以上でインスリン抵抗性ありと判定される。空腹時採血のみで評価が可能であるため、測定が簡便である。しかし、外来性・内因性のインスリンを区別できないことから、インスリン分泌能が低下している場合や空腹時血糖が高い場合、また外来性インスリンを投与している患者に

は使用できないことから、糖尿病患者には評価に使用できない場合も多い。

安全性の評価

試験実施にあたり、予期される有害事象について検討した。ベラプロスト徐放錠は、現在原発性肺高血圧症のみに効能が認められている。ベラプロスト徐放錠を健常男性に投与した第 I 相試験では、頭痛が 76 例中 17 例(22.4%)に認められている。また、赤血球減少・血色素減少・ヘマトクリット値減少、フィブリノゲン増加、好酸球百分率上昇などがまれに認められたが、本剤とは関連なしと判断された。ALT 上昇をきたした 1 例については不明と判断された。その他重篤な副作用は認められていない²⁵。原発性肺高血圧症及び膠原病に伴う肺高血圧症患者を対象とした試験では、総症例 46 例中、45 例(97.8%)に副作用(臨床検査値異常を含む)が認められ、その主なものは頭痛 34 例(73.9%)、顔面潮紅 31 例(67.4%)、ほてり 26 例(56.5%)、嘔気 13 例(28.3%)、倦怠感 13 例(28.3%)、下痢 10 例(21.7%)、動悸 8 例(17.4%)、腹痛 8 例(17.4%)であった。その他、頻度は少ないものの重篤な副作用として、出血傾向(脳出血、消化管出血、眼底出血)、ショック、間質性肺炎、肝機能障害、狭心症、心筋梗塞などが報告されている²⁶。

また人工膵臓を用いた正常血糖高インスリンクランプ法の安全性についても検討した。正常血糖高インスリンクランプ法は、速効型インスリン製剤を静脈

内に投与し高インスリン血症の状態とするため、試験中または試験後には低血糖が生じる可能性がある。ただし、クランプ試験 288 例を含めた、465 例の人工膵臓使用例に関する過去の調査では、重症低血糖の発症例は皆無であり、機器のトラブルとして、センサ機能劣化 2 例、注入ポンプ誤動作 2 例、電氣的トラブル 1 例が報告されているのみである²⁷。また、速効型インスリン製剤の副作用として主なものに低血糖、AST/ALT 上昇、頻度の少ないものの重篤な副作用としてアナフィラキシーショック、血管神経性浮腫などが報告されている²⁸。

これらの副作用につき、被験者へは同意説明文書を用いて説明を行い、副作用などの健康被害が生じた場合は、医師が適切な診察と治療を行うこと、またその治療に要する治療は病院が負担することを説明し、同意を得た。

これら健康被害の補償は、東大病院においては「医師主導の治験ならびに自主臨床試験等における患者の費用負担の取扱要領」および「東大病院（臨床試験審査委員会）における変更被害の補償の運用方針」の規定に従って行うこととした。また、賠償責任に備え、試験分担医師および責任医師は、臨床研究保険に加入した。

評価項目

主要評価項目

ベラプロスト徐放錠またはプラセボの前期投薬期間終了時(第 12 週)および後期投薬期間終了時(第 24 週)に、正常血糖高インスリンクランプ法を行い、定常状態のブドウ糖注入量を血中インスリン濃度で補正した M/I ratio でインスリン抵抗性を評価した。(正常血糖高インスリンクランプ法の詳細は p.25-27 参照)

副次評価項目

・ HOMA (homeostasis model assessment)-IR

インスリン抵抗性の簡便な指標として臨床で頻用されている HOMA-IR の指標を利用し、ベラプロスト徐放錠の投与によってインスリン抵抗性が改善するかを評価する。(詳細は p.28 を参照)

$$\text{HOMA-IR} = \text{空腹時インスリン値}(\mu\text{U/mL}) \times \text{空腹時血糖値}(\text{mg/dl}) \div 405$$

・ 血糖コントロール指標

空腹時血糖、グリコアルブミン、HbA1c を測定し、ベラプロスト徐放錠の血糖コントロールに対する影響を検討する。

- ・ ADMA (asymmetric dimethyl arginine)

ADMA は内因性 NO 産生阻害物質であり、内皮機能障害に関連した疾患では血漿濃度が上昇することが報告されている。本研究では血管内皮機能マーカーとして ADMA を測定する。

- ・ vWF(von Willebrand factor)

vWF は血管内皮細胞および巨核球で産生され、血漿、血管内皮下組織および血小板に存在する高分子糖蛋白であり、内皮機能障害に関連して血漿濃度が上昇することが報告されている。本研究では血管内皮機能マーカーとして vWF を測定する。

- ・ %FMD (Flow-mediated dilation) : 血流依存性血管拡張反応

超音波検査装置を用いて、非侵襲的に血管内皮機能を測定する検査である。安静時の上腕動脈の血管径を測定した後、上腕部を血圧カフを用いて 5 分間駆血する。駆血解除後、上腕動脈の最大血管径を測定し、以下の式で計算する。本試験では FMD 測定に ProSound-α7(日立アロカメディカル社製)を使用した。

$$\% \text{FMD} = \{ \text{最大拡張血管径 (mm)} - \text{安静時血管径 (mm)} \} / \text{安静時血管径}$$

(mm)×100

・安全性評価

以下の方法で被験者より副作用の確認を行った。

1. 問診で被験者の自発報告を引き出す。
2. チェックリストにより、特定の症状の有無を確認する。ここで確認する症状は頭痛、顔面潮紅である。
3. 出血傾向を疑わせる症状（鼻出血・口腔内の粘膜出血・紫斑）の有無を問診で確認すると共に、口腔内・皮膚を診察し、出血傾向を疑わせる所見の有無を評価する。
4. 臨床検査値やバイタルサインの測定結果から、臨床的に意味のある変化を同定する。
5. 正常血糖高インスリンクランプ法を実施する際には試験担当医師がベッドサイドに常駐し、人工膵臓に装備された連続血糖測定だけでなく、簡易血糖測定器も準備し、必要に応じて血糖測定を行う。

その他の評価項目

・HOMA-β

インスリン分泌能の簡便な指標として臨床で頻用されている HOMA-β の指標

を利用し、ベラプロスト徐放錠の投与によってインスリン分泌能が改善するかを評価する。

$$\text{HOMA-}\beta = 360 \times \text{空腹時インスリン値}(\mu\text{U/mL}) \div (\text{空腹時血糖値}(\text{mg/dl}) - 63)$$

・ ABI(Ankle Brachial Index):足関節上腕血圧比

超音波ドップラー法を用いて足関節および上腕血圧の血圧を同時に測定し、その比を求める方法で、下肢動脈狭窄や閉塞の程度を表す指標である。正常は 1.0-1.2 程度であり、0.9 未満で下肢動脈狭窄または閉塞の疑いを示す。ベラプロスト徐放錠の投与によって ABI が改善するかを評価する。

・ CAVI (Cardio Ankle Vascular Index)

大動脈を含む心臓から足首までの動脈硬化を反映する指標。血圧に依存しない血管固有の硬化度を測定できる。年齢によって正常値は変動するが、正常は 8.0 未満程度であり、9.0 以上は動脈硬化の疑いありとされる。ベラプロスト徐放錠の投与によって動脈硬化指標が改善するかを評価する。

観察および検査スケジュール

スケジュール表を Table 1 に示す。スケジュール表に対応した項目の詳細を以

下に示す。

①患者背景：カルテ番号、患者イニシャル、性別、生年月日、人種、身長、
体重、BMI、既往歴、現病歴、合併症

②試験薬および併用薬の服薬状況の確認

③自覚症状・他覚症状の確認

④有害事象と副作用の確認。

⑤観察項目：血圧(座位)、脈拍、体重、腹囲

⑥臨床検査：

－血液検査：白血球数、赤血球数、Hb、血小板数

－血液生化学検査：AST、ALT、 γ -GTP、CPK、血清クレアチニン、BUN、
尿酸、HDL-コレステロール値、LDL-コレステロール、中性脂肪、ブドウ糖、
HbA1c、グリコアルブミン*、インスリン*、血中CPR*、ADMA* (*は0,8,12,
20週後のみ)

－尿検査：尿定性一般

⑦その他の検査：心電図

⑧ABI検査・CAVI検査・FMD検査・正常血糖高インスリンクランプ法(8・
20週)

⑨保存血清の採血

受診日については受診予定日を基準として ± 7 日とした。受診日の血液検査には中性脂肪、血糖、インスリン等食事によって大きく影響を受ける検査項目が含まれているため、受診は午前中に限定し、前日の午後 9 時以降は水以外摂取しないこととし、受診当日は空腹時採血を行なった。

正常血糖高インスリンクランプ法実施日は、前日は激しい運動を避けるよう指導した。被験者は午前 8 時に来院し、FMD 検査・ABI 検査・CAVI 検査・尿検査の順で検査を行った。午前 9 時頃より正常血糖高インスリンクランプ法を施行した。血液検査は、被験者を人工臓に接続するためにルートを確保する際に、同時に採血を行い、検査部へ提出した。

血清は被験者の同意の下で、採取し保存した。プライバシーの保護には十分に配慮し、検体に添付する検体番号は患者氏名ではなく、研究者によって発生させられた 3 桁の乱数を匿名化番号として使用した。匿名化番号と被験者の氏名の対応表はサンプルとは全く別に、かつ外部への漏洩がないよう厳重に管理された。匿名化されたサンプルは施錠され、入室者の管理された部屋で保存された。血清はインスリン抵抗性などに関する新たな知見が得られた場合などに用いる予定であり、その結果は本研究以外に用いられる場合もあるが、遺伝子検査に用いられることはないことを被験者に説明の上、被験者より検体の破棄の申し出があった場合は、保存中の血清は破棄することを

説明した。また、血清は試験期間終了後 5 年が経過した時点で破棄することとした。

Table1 スケジュール表

項目	前観察期間	前期投薬開始日		前期投薬終了日	後期投薬開始日		後期投薬終了日	
時期	4 週前	0 週	4 週	8 週	12 週	16 週	20 週	
受診	受診 1	受診 2	受診 3	受診 4	受診 5	受診 6	受診 7	
試験の説明	○							
同意取得	○							
①患者背景の確認	○							
②試験薬投与		←————→			←————→			
③自覚症状の確認	○	○	●	●	○	●	●	
③他覚症状の確認	○	○	●	●	○	●	●	
④有害事象の観察			●	●	○	●	●	
⑤血圧(座位)測定	○	○	●	●	○	●	●	
⑤脈拍測定	○	○	●	●	○	●	●	
⑤身長測定	○							
⑤体重測定	○	○	●	●	○	●	●	
⑤腹囲測定		○		●	○		●	
⑥臨床検査	血液学的検査	○	○	●	●	○	●	●
	血液生化学的検査	○	○	●	●	●	●	●
	尿検査	○	○	●	●	●	●	●
⑦心電図検査	○							
⑧ABI/CAVI 検査				●			●	
⑧正常血糖高インスリンランプ法				●			●	
⑧FMD 検査				●			●	
⑨保存血清の採血				●			●	

○印は試験薬投与開始前に行なう項目 ●印は試験薬投与開始後に行なう項目

中止基準

中止・脱落基準を以下に示す。以下の理由で試験継続が不可能と判断した場合には、試験薬の投与を中止し、中止・脱落の日付・時期、中止・脱落の理由、経過をカルテ並びに症例報告書に記載した。

1. 試験薬投与中に頭痛等の副作用が生じ、2錠分2まで減量しても試験薬の内服が困難であった場合
2. 試験期間中に別記の併用制限薬の開始または中止、種類や用量の変更が必要であると主治医が判断した場合
3. 被験者から試験参加の辞退の申し出や同意の撤回があった場合
4. 登録後に適格性を満足しないことが判明した場合
5. 有害事象の増悪により試験の継続が困難な場合
6. 妊娠が判明した場合
7. 著しくコンプライアンスが不良の場合
8. その他の理由により、医師が試験を中止することが適当と判断した場合

有害事象

1. 有害事象発生時の被験者への対応

試験実施者は、有害事象を認めたときは、直ちに適切な処置を行うとともに、

カルテならびに症例報告書に齟齬なく記載した。また、試験薬の投与を中止した場合や、有害事象に対する治療が必要となった場合には、被験者にその旨を伝えた。また、緊急避難的に試験薬の識別を行う必要がある場合は、研究代表者等を通じて試験薬割付・コード化担当者に依頼し、当該症例について開封結果の開示を受けることとした。

2. 重篤な有害事象の報告

重篤な有害事象の定義は、薬事法施行規則第273条に準じて以下のように定義されている。

1. 死亡または死亡につながるおそれ
2. 治療のための入院または入院期間の延長
3. 障害または障害につながるおそれ
4. 1－3に準じて重篤
5. 後世代における先天性の疾病または異常

試験期間中の全ての重篤な有害事象、試験終了（中止）後に試験薬との関連性が疑われる重篤な有害事象については、臨床試験審査委員会へ報告した。報告は第一報（緊急報告）および第二報（詳細報告）とした。また、試験責任医師は、

臨床研究に関連する予期しない重篤な有害事象及び不具合等が発生した場合には、速やかに臨床試験審査委員会に報告するとともに、病院長による厚生労働大臣への報告ならびに公表について報告すること、また市販後の薬剤等においては、厚生労働省の医薬品等安全性情報報告制度により厚生労働省に報告することとした。その他の有害事象については、症例報告書に記載した。

試験の終了、中止、中断の規定

試験薬の品質、安全性、有効性に関する重大な情報が得られたときや、被験者のリクルートが困難で予定症例を達成することが到底困難であると判断されたとき、IRBにより、実施計画等の変更の指示があり、これを受入れることが困難と判断されたとき、またはIRBにより、中止の勧告あるいは指示があった場合は、試験を中止することとした。もし試験の中止または中断を決定した時は、速やかに病院長にその理由とともに文書で報告することとした。また、問題なく試験が遂行・終了した場合は、終了時に試験終了報告書を臨床研究審査委員会へ提出することとした。

データの集計および統計解析方法

データの収集は別に用意した症例報告書によって行なった。症例報告書に掲

載されたデータとカルテの記載の整合性について定期的にモニタリングを行なった。統計解析は、研究実施者と独立した第三者（統計解析責任者）により行うこととした。研究実施者は計測された全てのデータを固定後、臨床研究支援センター及び統計解析責任者に送付した。また、統計解析責任者は統計解析計画書を制作し、臨床研究支援センターに送付した。データおよび統計解析計画書を提出後、臨床研究支援センターにおいてキーオープンを行った。

解析、集計及び一部図表の表示には JMP Pro11 を使用した。一覧表及び図表は Microsoft Word 又は Microsoft Excel を使用した。

試験実施の経過

試験実施の経過を Table 2 に示す。

2012年3月15日	東京大学医学部附属病院臨床試験審査委員会（IRB）承認 人工臓器 STG-22/55 および FMD 検査機器(prosound-α7)の準備・調整 東京大学医学部附属病院薬剤部及び臨床研究支援センターによる試験薬制作・ラベリング・マスキング処理
2012年7月18日	UMIN-CTR 登録（UMIN000008469）
2012年12月14日	リクルート開始 患者同意取得（1例目）
2013年11月7日	患者同意取得終了（40例目）
2014年6月5日	試験終了
	データ固定・統計解析計画書制作 試験終了報告書提出
2014年11月7日	統計解析計画書提出・キーオープン

Table 2 本試験の実施経過

5. 結果

40名が試験に登録され、38名が試験を完了した。経過中、重篤な有害事象（脳梗塞）の発現により、1例が試験を中止した。また、血糖コントロール悪化により、主治医判断で内服追加が必要と判断された1例が試験を中止した。また、試験終了後に1例でプロスタグランジン阻害薬の内服が事後報告され、脱落した。本試験は Intention-to-treat 解析を用いたため、脱落例を除く39例で解析を行った。

患者背景を Table 3 に示す。被験者の平均年齢は 62.23 ± 8.48 歳、平均 BMI は 29.81 ± 3.81 、平均腹囲は 100.85 ± 8.15 cm であった。平均罹病期間は 13.23 ± 8.21 年であった。高血圧症は 79.5%、脂質異常症は 89.7% で合併していた。心筋梗塞・狭心症・脳梗塞・脳出血などの心血管イベントは 23.1% に合併していた。家族歴において、糖尿病は 60.5%、高血圧症は 28.2%、心血管イベントは 41.0% であった。現在喫煙している被験者は 15.4% であったが、喫煙の既往がある被験者を合わせると 61.5% に上った。また、機会飲酒を含めた飲酒者は 78.9% であった。

84.6% の被験者がいずれかの糖尿病薬を使用していた。インスリン抵抗性改善作用のあるビグアナイド薬は 56.4%、チアゾリジン薬は 41.0% で内服されていた。

た。56.4%の被験者が1剤以上の降圧薬を内服していた。また、59.0%の被験者がスタチンを内服していた。

被験者の採血データを Table 4 に示す。血糖 $133.13 \pm 19.49 \text{mg/dl}$ 、HbA1c $6.82 \pm 0.47\%$ 、HOMA-IR 3.29 ± 3.02 、HOMA- β 51.40 ± 31.00 であった。被験者の平均 BMI は 29.8、腹囲は 100.9 cm であることから、内臓脂肪型肥満を合併し、かつ血糖コントロールは比較的良好で、インスリン分泌能も保たれているが、インスリン抵抗性が高い被験者群を抽出しえていると考えられた。

脂質パラメータは、T-chol $191.03 \pm 32.73 \text{mg/dl}$ 、HDL $54.71 \pm 12.53 \text{mg/dl}$ 、LDL $109.84 \pm 27.57 \text{mg/dl}$ 、TG $134.10 \pm 58.03 \text{mg/dl}$ と、内服管理下でコントロール良好であった。また、腎機能の指標であるクレアチニンは $0.81 \pm 0.19 \text{mg/dl}$ 、eGFR は $73.29 \pm 15.80 \text{ mL/min/1.73m}^2$ であった。尿蛋白(1+)以上を指摘された被験者は 17.5%と少数であり、腎機能は比較的保たれている被験者群と考えられた。

ベラプロスト先行投与群 19 例とプラセボ先行投与群 20 例で、背景を比較したところ、HOMA- β 、TG で有意な群間差が認められたが、その他の背景に有意な差は認められなかった(Table 3,4)。本試験はクロスオーバー試験であるため、ベラプロスト投与前(39 例)とプラセボ投与前(39 例)で背景を比較したところ、これらの有意差は消失した。

試験中は来院日ごとに残薬確認を行った。試験薬の平均内服率は前期投与期

間中 94.11±7.99%、後期投与期間中 91.19±12.80%であり、内服率は良好であった。

Table 3

	全体	ベラプロスト 先行投与群 (n=19) Visit 1	プラセボ 先行投与群 (n=20) Visit 1	<i>p</i> value
人種	日本人	日本人	日本人	
性別 (M/F)	29/10	13/6	16/4	0.645
年齢 (歳)	62.23±8.48	63.63±6.60	60.90±9.93	0.321
身長 (cm)	163.36±9.30	161.2±8.05	165.36±10.14	0.170
体重 (kg)	79.72±12.95	78.16±9.59	81.20±15.61	0.471
BMI	29.81±3.81	30.12±3.66	29.51±4.01	0.628
sBP (mmHg)	136.79±15.66	141.68±13.28	132.15±16.64	0.056
dBP (mmHg)	81.05±10.37	80.89±9.98	81.20±10.98	0.928
脈拍 (/min)	75.46±8.44	76.84±8.80	74.15±8.09	0.326
腹囲 (cm)	100.85±8.15	100.42±7.34	101.25±9.03	0.756
罹病期間 (年)	13.23±8.21	15.42±8.66	11.15±7.39	0.105
合併症				
CVD	10.26%	5.26%	10.00%	0.963
CHD	17.95%	26.30%	10.00%	0.363
高血圧	79.49%	78.90%	80.00%	0.753
脂質異常症	89.74%	84.20%	95.00%	0.560

家族歴				
糖尿病	60.53%	55.56%	65.00%	0.793
高血圧	28.20%	42.11%	15.00%	0.127
CVD または CHD	41.03%	47.37%	35.00%	0.745
喫煙歴				
喫煙中	15.39%	10.53%	20.00%	0.707
禁煙	46.15%	57.90%	35.00%	0.266
なし	38.46%	31.58%	45.0%	0.595
飲酒歴	78.90%	72.22%	89.50%	0.571
内服薬				
BG	56.41%	57.89%	55.00%	0.888
TZD	41.02%	42.11%	40.00%	0.848
SU	38.46%	52.63%	25.00%	0.262
Glinide	2.56%	5.26%	0.00%	0.979
DPP-4i	66.67%	68.42%	65.00%	0.910
GLP-1	5.13%	5.26%	5.00%	0.491
α GI	17.94%	21.05%	15.00%	0.940
ACE/ARB	51.28%	52.63%	50.00%	0.876
Ca blocker	35.89%	42.10%	30.00%	0.650
β blocker	2.56%	0.00%	5.00%	0.979
α blocker	7.69%	10.53%	5.00%	0.963
Diuretics	10.26%	15.79%	5.00%	0.560
Statins	56.41%	63.16%	50.00%	0.613
Aspirin	17.95%	15.79%	20.00%	0.940

Table 3 被験者背景

(Yates 補正 χ^2 検定, Unpaired-t test)

Table 4

	全体	ベラプロスト 先行投与群	プラセボ 先行投与群	<i>p</i> value
		ベラプロスト 投与前(n=19) Visit 2	プラセボ投与 前(n=20) Visit 2	
Glu (mg/dl)	133.13±19.49	132.32±15.48	133.90±23.06	0.804
HbA1c (%)	6.82±0.47	6.74±0.36	6.90±0.55	0.285
GA(%)	16.38±2.23	16.69±2.20	16.09±2.27	0.405
Insulin (μIU/ml)	9.70±7.30	7.59±3.33	11.70±9.34	0.063
CPR (ng/ml)	2.33±0.80	2.09±0.69	2.57±0.85	0.078
HOMA-IR	3.29±3.02	2.50±1.25	4.04±3.94	0.112
HOMA-β	51.40±31.00	40.92±19.87	61.36±36.52	0.038*
WBC (10 ³ /μl)	6.01±1.44	5.85±1.58	6.17±1.32	0.500
RBC (10 ⁶ /μl)	469.26±52.00	457.32±51.08	480.60±51.56	0.165
Hb (g/dl)	14.33±1.42	13.97±1.49	14.67±1.29	0.124
PLT (10 ⁴ /μl)	21.86±5.12	22.22±4.64	21.52±5.64	0.675
AST (IU/L)	24.84±8.33	25.05±9.51	24.63±7.23	0.879
ALT (IU/L)	30.15±17.70	26.16±13.01	33.95±20.86	0.172
γGTP (IU/L)	41.13±34.77	33.11±24.62	48.75±41.45	0.163
T-chol (mg/dl)	191.03±32.73	180.22±37.50	200.75±24.87	0.052
HDL (mg/dl)	54.71±12.53	56.89±14.54	52.52±10.06	0.288
LDL (mg/dl)	109.84±27.57	104.89±27.41	114.79±27.57	0.275
TG (mg/dl)	134.10±58.03	103.26±42.38	163.40±56.39	<0.001*
BUN (mg/dl)	15.41±4.71	16.06±4.21	14.71±5.22	0.390
Cre (mg/dl)	0.81±0.19	0.77±0.20	0.84±0.19	0.278

UA (mg/dl)	5.94±1.29	5.67±1.35	6.19±1.21	0.225
CK (IU/L)	172.46±208.07	218.84±285.19	128.40±73.08	0.178
eGFR (mL/min/ 1.73m ²)	73.29±15.80	75.55±17.88	71.15±13.65	0.392

Table 4 被験者背景

(Yates 補正 χ^2 検定, Unpaired-t test)

ベラプロスト内服 8 週後およびプラセボ内服 8 週後で、各パラメータを評価した(Table 5)。体重、BMI、血圧などの身体所見に差は認めなかった。主要評価項目である正常糖高インスリンクランプ試験において、ベラプロストおよびプラセボ内服後の M/I ratio は有意な差を認めず (4.98±2.58 vs 4.95±3.06, p=0.913)、GIR も有意な差を認めなかった(4.54±1.96 vs 4.50±2.06, p=0.873)。HOMA-IR も有意な差を認めなかった(2.07±1.68 vs 1.97±1.09, p=0.723)。対して、血糖コントロール指標である HbA1c は有意に改善し(6.82±0.59 vs 6.97±0.69, p=0.036)、インスリン分泌の指標である HOMA- β は改善傾向が示唆された (65.91±59.33 vs 51.32±27.38, p=0.101)。

血管内皮機能の評価項目である vWF は改善傾向を認めた(97.94±47.95 vs 109.38±47.60, p=0.058)が、FMD 試験においては有意な差を認めず(3.72±3.33 vs 3.86±3.29, p=0.693)、ADMA も有意な差を認めなかった (0.47±0.07 vs 0.47±0.07, p=0.656)。

Table 5

()内は人数

	ベラプロスト投与 後	プラセボ投与後	<i>p</i> value
	Week 8	Week 8	
腹囲 (cm)	99.44±8.44 (37)	99.51±8.76 (39)	0.589
体重 (kg)	80.03±13.21(37)	79.40±12.73 (39)	0.274
BMI (kg/m ²)	29.87±3.91 (37)	29.70±3.77 (39)	0.305
SBP (mmHg)	135.62±12.04 (37)	136.56±14.44 (39)	0.723
DBP (mmHg)	83.08±9.46 (37)	81.03±11.02 (39)	0.317
Glu (mg/dl)	121.86±23.54 (37)	125.51±24.06 (39)	0.263
HbA1c (%)	6.82±0.59 (37)	6.97±0.69 (39)	0.036*
GA (%)	16.28±2.61 (36)	16.44±2.89 (39)	0.376
Insulin (μIU/ml)	8.69±6.55 (36)	8.19±4.85 (39)	0.389
CPR (ng/ml)	2.12±0.87 (36)	2.12±0.80 (39)	0.678
M/I ratio	4.98±2.58 (35)	4.95±3.06 (39)	0.913
GIR (mg/kg/min)	4.60±1.98 (36)	4.54±2.02 (39)	0.844
HOMA-IR	2.76±2.61 (36)	2.60±1.76 (39)	0.440
HOMA-β	65.91±59.33 (36)	51.32±27.38 (39)	0.101
FMD(Systole) (%)	3.72±3.33 (35)	3.86±3.29 (34)	0.693
FMD(Diastole) (%)	3.93±3.64 (35)	4.15±3.21 (34)	0.631
ADMA (μmol/L)	0.47±0.07 (36)	0.47±0.07 (39)	0.656
vWF (%)	97.94±47.95 (36)	109.38±47.60 (39)	0.058
ABI	1.15±0.07 (36)	1.16±0.07 (36)	0.320
CAVI	8.29±1.37 (36)	8.25±1.18 (36)	0.829

Table 5 主要評価項目・副次評価項目・その他の項目

(Paired-t test)

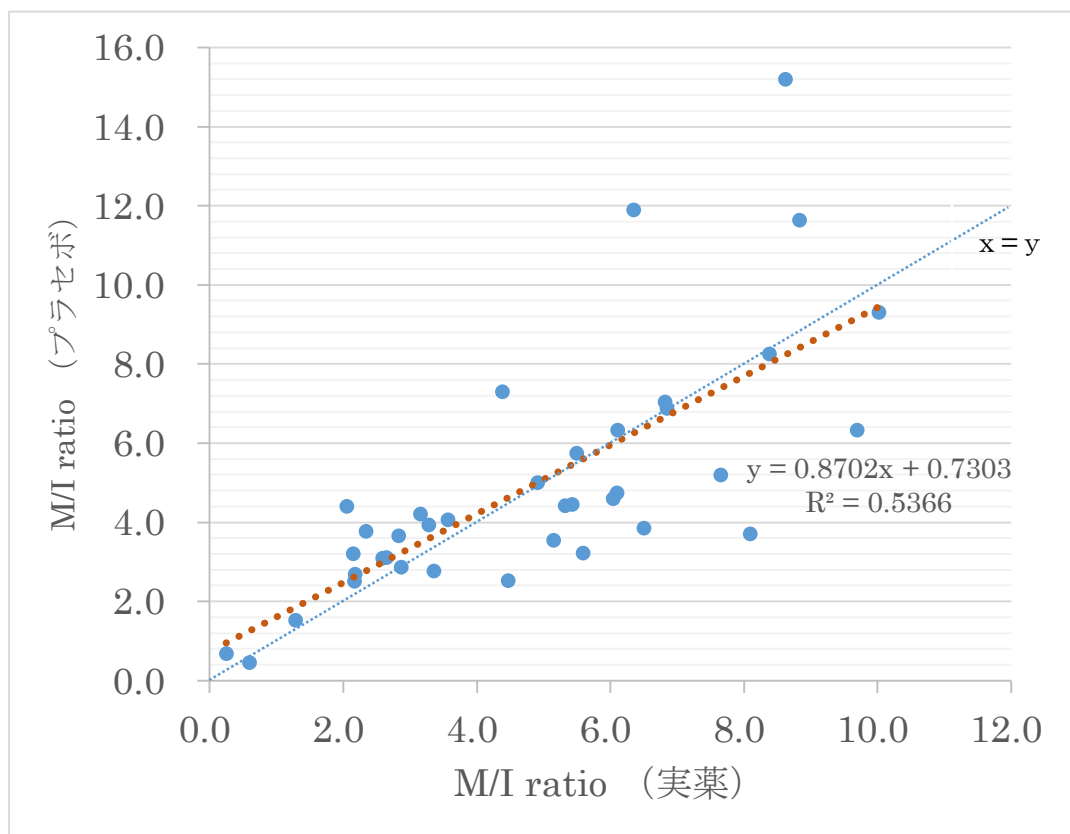


Figure 12 主要評価項目 M/I ratio (実薬とプラセボの比較)

実薬投与後およびプラセボ投与後における M/I ratio を、散布図に示す (Figure12)。M/I ratio の測定が実薬・プラセボともに可能であった 35 例で検討したところ、実薬投与後で M/I ratio がより改善したのは 16 例(45.7%)、プラセボ投与後で M/I ratio がより改善したのは 19 例(54.3%)であり、特定の傾向は認められなかった。また、試験開始時の年齢・BMI・罹病期間などで 2 群に分け、層別解析を行ったが、これらのパラメータが M/I ratio に及ぼす影響は認められなかった。

有害事象

経過中、重篤な有害事象としての報告は1例であった。

被験者は70歳男性で、試験薬内服中、朝から足の動きにくさを自覚したため、夕方救急車で来院。脳梗塞と診断された。緊急入院および治療を行い、リハビリテーション病院へ転院となったため、試験継続は困難と判断し、試験中止となった。ベラプロストによる脳梗塞について、添付文書や医薬品インタビューフォームを確認したところ、予期される副作用としての記載はなく、予期せぬ副作用の可能性が考えられた。過去の治験・特定使用成績調査・自発報告から検討したところ、これまでにベラプロスト内服中に発症した脳梗塞の報告は国内・海外を合わせて9例であった。そのうち薬剤との因果関係がないと否定されたものが5例、因果関係が否定できないとされたものが4例であり、明らかに因果関係ありと認められた報告はなかった。全9例のうち、ケアロード LA錠®に限った場合、報告は3例であり、そのうち薬剤との因果関係がないと否定されたものが2例、因果関係が否定できないとされたものが1例であった。

本件の脳梗塞発症につき、重篤な有害事象としてIRBへ報告したところ、試験薬による予期せぬ副作用の可能性は極めて低いと判断されたため、キーオープンを行わず試験を継続することが認められた。キーオープン後、脳梗塞発症時の試験薬を確認したところ、プラセボであった。

また、重篤ではないものの、副作用が生じ、試験薬の減量を必要とした症例は2例であった。どちらも、投与開始後2週間(120 μ g/日)では副作用を認めなかったが、試験薬増量後(240 μ g/日)に副作用が生じ、プロトコルに従って試験薬を減量した。1例は慢性膀胱炎の既往のある女性であり、試験薬増量後数日で血尿を認めたため受診した。泌尿器科では膀胱炎の所見であった。直ちに試験薬を中止し、1週間後再検査を行ったところ血尿は消失した。その後、試験薬を減量し、120 μ g/日にて継続したところ、血尿の再発を認めなかった。

もう1例は同様に、試験薬増量後数日で、顔面潮紅、胸痛、腕のだるさを主訴に受診した。内服継続が困難な状況と判断されたため、試験薬を120 μ g/日に減量したところ、副作用は軽減され、内服継続が可能であった。キーオープン後、2例とも副作用発現時はベラプロストを内服していたことが確認された。

合併症の発症数と発症率をTable 6に示す。ベラプロスト投与期間中に頭痛、顔面潮紅・ほてり、消化器症状が有意に増加した。すべての副作用は副作用評価基準においてグレード1であった。

プラセボに比し有意に増加した各副作用の発症頻度について、報告されている複数の第I相試験の副作用と比較した。第I相試験では、頭痛13.0~29.1%、顔面潮紅・ほてり5.6%~16.7%、消化器症状1.8~13.5%と報告されている。本試験における副作用の発症頻度は、頭痛25.0%、顔面潮紅・ほてり15.0%、消

化器症状 17.5%であり、消化器症状で既報よりやや多いものの、その他はほぼ第 I 相試験と同等の発症頻度と考えられた。

また、正常血糖高インスリンクランプ法実施中、繰り返す迷走神経反射のため 1 例が検査を中止した。その他、正常血糖高インスリンクランプ法において特記すべき副作用は認められなかった。

Table 6 (n=40)

	ベラプロスト 群	プラセボ群	<i>p</i>
頭痛	10 (25.0%)	4 (10.0%)	<0.001*
顔面潮紅・ほてり	6 (15.0%)	3 (7.5%)	0.001*
歯肉出血	2 (5.0%)	2 (5.0%)	0.910
脳梗塞	0 (0.0%)	1 (2.5%)	0.414
消化器症状	7 (17.5%)	2 (5.0%)	<0.001*
内出血	1 (2.5%)	0 (0.0%)	0.414
血尿	1 (2.5%)	0 (0.0%)	0.414
浮腫	3 (7.5%)	1 (2.5%)	0.410
感冒	2 (5.0%)	3 (7.5%)	0.414
動悸	1 (2.5%)	1 (2.5%)	0.910

Table 6 副作用の発現数・発現率

(Yates 補正 χ^2 検定)

6. 考察

本試験は、インスリン抵抗性を有すると予想される肥満 2 型糖尿病患者に対し、ベラプロスト徐放錠を投与し、ベラプロスト徐放錠のインスリン抵抗性および血管内皮機能に対する影響を評価することを目的とした。試験デザインはランダム化プラセボ対照二重盲検クロスオーバー試験とした。本試験の主要評価項目に用いた正常血糖高インスリンクランプ法は、インスリン抵抗性評価の手法として確立されているが、人工膵臓による血糖測定値が±10%程度ばらつくため、血液検査による血糖値と乖離がある場合、血液検査を繰り返し施行しながら、人工膵臓における目標血糖値を補正する場合がある。また、副次評価項目である FMD 検査も、超音波検査装置を用いて血管径を測定する際、自動測定で微細なずれが生じることがあり、目視により補正する場合がある。これらは試験実施にあたり、観察者バイアスとなり得る可能性があるため、薬剤部及び臨床研究支援センターにおいて二重盲検化を行った。また、本試験の主要評価項目・副次評価項目の統計解析は、研究実施者と独立した第三者（統計解析責任者）により行い、信頼性の担保に務めた。

ベラプロストは既出の論文で、血管内皮機能の改善を介したインスリン抵抗性の改善作用が報告されている。しかし、本試験においては、ベラプロスト群

はプラセボ群に比し、M/I ratio, GIR, HOMA-IR のいずれの指標においても、インスリン抵抗性改善作用は示されなかった。vWF は改善傾向を示し、ベラプロストによる血小板凝集抑制作用は効果を示したと考えられたが、FMD 検査や ADMA では有意な変化は認められず、ベラプロストによる血管内皮機能改善作用は検出されなかった。

主要評価項目であるインスリン抵抗性改善作用が得られなかった理由として、今回の試験では期待された血管内皮機能改善作用が限定的であったことが可能性として挙げられた。それには二つの原因が考えられる。一つは、本試験の被験者における 2 型糖尿病の平均罹病期間は 13 年とやや長く、更に高血圧、脂質異常症を高率に合併していたため、動脈硬化がすでに進行しており、ベラプロストの血管内皮機能改善作用が十分に効果を発揮できなかった可能性がある。二つは、ベラプロストの投与期間である。当試験では試験薬の投与期間が 8 週間と短期であり、血管内皮機能改善を介したインスリン抵抗性改善作用を十分に評価するためには、試験薬の投与期間が短かった可能性が挙げられる。したがって、ベラプロストの血管内皮機能改善を介したインスリン抵抗性改善作用をより正確かつ適切に評価するためには、動脈硬化の進行が比較的軽度な若年の健常肥満者や IGT などの耐糖能異常患者を対象とするか、より長期にわたりベラプロストを投与する研究デザインを考慮する必要がある。

興味深いことに、当試験では、副次評価項目において HbA1c の有意な改善が認められた(6.82±0.59% vs 6.97±0.69%, p=0.036)。当試験のパイロット試験に当たる、閉塞性動脈硬化症を合併した 2 型糖尿病患者に 12 週間ベラプロストを投与した勝山らの臨床試験においても、ベラプロスト投与前後で HbA1c は改善傾向が示唆されていた(6.86±0.49% vs 6.71±0.05%, p=0.163)¹⁸。

ベラプロスト投与による HbA1c 改善効果は、過去にも幾つか報告されている。野田らは、2 型糖尿病患者にベラプロストを 3 か月間投与したところ、HbA1c が 6.8±0.3% から 6.4±0.3% まで有意に改善したことを報告している²⁹。また、Chen らは、閉塞性動脈硬化症のある 2 型糖尿病患者でベラプロストを内服していた 28 例に対し、ピオグリタゾンもしくは他の経口糖尿病薬を追加し、平均 6.4 か月経過観察したところ、ピオグリタゾン群で他の経口糖尿病薬に比し、有意に HbA1c を改善したことを報告した (ピオグリタゾン併用群 : 6.7±0.5% から 6.2±0.4%, ピオグリタゾン非併用群 : 6.9±1.7% から 6.7±1.3%)²⁰。

ベラプロストが血糖コントロールを改善する機序として、当試験ではインスリン分泌指標である HOMA-β が改善傾向を示唆しており、ベラプロストによるインスリン分泌改善作用が示唆された(65.91±59.33 vs 51.32±27.38%, p=0.101)。序文で示したように、Hashimoto らは、血管内皮機能に異常を有する血管内皮特異的 IRS-2 欠損マウスに対し、内皮機能改善作用のある低用量 ACE 阻害薬を

投与することで、腓島血流量の増加及びそれに伴うインスリン分泌改善を報告している¹⁹。当試験でも、同様の効能を持つベラプロストが、腓島における血管内皮機能を改善し、インスリン分泌増加により HbA1c を改善させた可能性が考えられ、今後更に検討していく必要があると考えられる。

これらの結果を踏まえ、今後、ベラプロストが 2 型糖尿病の病態や合併症に与える効果を総合的に評価するためには、長期投与による介入試験が必要と考えられる。主要評価項目を心血管イベントや細小血管合併症抑制におき、その中でインスリン抵抗性改善作用やインスリン分泌改善作用、血糖コントロール改善作用などを合わせて検討するような試験デザインが望ましい。これらの項目につき、十分な検出力を持って評価するためには、少なくとも数百例の被験者に対し、2-3 年以上前向きに介入するような試験デザインが必要となるため、実施可能性や費用の面で課題は残るが、ベラプロストは 2 型糖尿病の予後改善に有望な薬剤であり、今後積極的に検討する価値が十分にあると考えられる。最後に、本試験は文部科学省地域産学官連携科学技術振興事業費補助金「先端融合領域イノベーション創出拠点の形成」からの研究助成により実施した。本試験の計画・実施・報告において、試験の結果および結果の解釈に影響を及ぼすような「起こりえる利益の衝突」は存在しない。また本試験の実施が被験者の権利・利益をそこねることがないことを確認する。

7. 結論

ベラプロスト徐放錠は、肥満 2 型糖尿病患者においてインスリン抵抗性を改善させなかったが、HbA1c を有意に改善した。それには、インスリン分泌の改善作用が介在していることが示唆された。

8. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご指導ご鞭撻を賜りました、東京大学医学系研究科糖尿病・代謝内科教授の門脇孝先生に、厚く御礼申し上げます。

本研究を進めるにあたり、多大なるご指導を頂きました、東京大学医学部附属病院病態栄養治療部准教授の窪田直人先生に、深く感謝申し上げます。また、多くのご助言を頂きました、東京大学医学系研究科糖尿病・代謝内科講師の鈴木亮先生、国立国際医療センター国府台病院内科の勝山修行先生に、深く感謝申し上げます。

共同研究を受託してくださり、FMD 試験実施に多大なご助力をいただきました東京大学医学系研究科血管外科の宮田哲郎先生、重松邦広先生、清水照美さん、試験薬制作に多大なご助力をいただきました東京大学医学部附属病院薬剤部の故・柳原良次先生、試験実施全般にわたり適切なご助言とサポートをいただきました東京大学医学部附属病院臨床研究支援センターの荒川義弘先生、青木敦先生、飯室聡先生、永川由香さん、針木保子さん、豊田満美子さん、統計解析を担当してくださった、東京大学医学部 臨床試験データ管理学講座の山口拓洋特任教授に御礼申し上げます。

合わせて、試験実施にご協力いただきました、東京大学医学系研究科糖尿病・

代謝内科の岩崎美奈香先生、河野恭之先生、小林由佳先生、澤田知伸先生、鈴木頭先生、廣田雄輔先生、三宅加奈先生、森田あい先生、相原允一先生、飯塚陽子先生、泉田欣彦先生、岩部真人先生、岡崎由希子先生、岸暁子先生、久保田みどり先生、蔵野信先生、坂田道教先生、櫻井賛孝先生、笹子敬洋先生、周聖浦先生、高瀬暁先生、高本偉碩先生、寺井愛先生、原一雄先生、脇裕典先生、山内敏正先生、植木浩二郎先生、および全ての正常血糖高インスリンクランプ試験および試験外来を共に遂行してくださいました臨床検査技師・Clinical Research Coordinator の長谷川千春さんに、心より感謝申し上げます。

9. 文献

1. 日本糖尿病学会 編・著 糖尿病治療ガイド 2014-2015 p.8-29, 2014
2. 原口美貴子、鈴木亮 経口血糖降下薬：医学と薬学 71(1):27-34, 2014.
3. Althouse AD, Abbott JD, Sutton-Tyrrell K, et al. Favorable effects of insulin sensitizers pertinent to peripheral arterial disease in type 2 diabetes: results from the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation 2 Diabetes (BARI 2D) trial. *Diabetes Care* 2013;36:3269-75.
4. 中野元、山崎純一 PGI₂ 誘導体制剤ベラプロストナトリウムの可能性を探る—その多彩な Pleiotropic 作用— *Progress in Medicine* 27(2): 339-352, 2007
5. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976;263:663-5.
6. Akiba T, Miyazaki M, Toda N. Vasodilator actions of TRK-100, a new prostaglandin I₂ analogue. *Br J Pharmacol* 1986;89:703-11.
7. 青木元邦、森下竜一、荻原俊男：プロスタサイクリンの血管に対する作用：血流改善、内皮機能改善作用、プロスタサイクリンの多様性と今後の展望(森下竜一編), メディカルレビュー社 2002;p.61-69

8. 庭野和生、荒井昌史、倉林雅彦：プロスタサイクリンの血管に対する作用：血管内皮細胞への作用、プロスタサイクリンの多様性と今後の展望(森下竜一編), メディカルレビュー社 2002;p.51-59
9. 車谷元, 東レ株式会社医薬研究所、東レ株式会社医薬事業部：経口ベラプロストナトリウム徐放性製剤(ケアロード LA錠 60 μ g, ベラサス LA錠 60 μ g)の特徴および臨床試験成績 日本薬理学雑誌 133(2):101-111, 2009
10. Sato N, Kaneko M, Tamura M, Kurumatani H. The prostacyclin analog beraprost sodium ameliorates characteristics of metabolic syndrome in obese Zucker (fatty) rats. *Diabetes* 2010;59:1092-100.
11. Toyota T, Oikawa S, Group BSS. Effects of beraprost sodium (Dorner) in patients with diabetes mellitus complicated by chronic arterial obstruction. *Angiology* 2002;53:7-12.
12. Lièvre M, Morand S, Besse B, Fiessinger JN, Boissel JP. Oral Beraprost sodium, a prostaglandin I(2) analogue, for intermittent claudication: a double-blind, randomized, multicenter controlled trial. Beraprost et Claudication Intermittente (BERCI) Research Group. *Circulation* 2000;102:426-31.
13. Szczeklik A, Szczeklik J, Nizankowski R, Głuszko P. Prostacyclin for

unstable angina. *N Engl J Med* 1980;303:881.

14. Chierchia S, Patrono C, Crea F, et al. Effects of intravenous prostacyclin in variant angina. *Circulation* 1982;65:470-7.

15. Paolisso G, Di Maro G, D'Amore A, et al. Low-dose iloprost infusion improves insulin action in aged healthy subjects and NIDDM patients. *Diabetes Care* 1995;18:200-5.

16. Kubota T, Kubota N, Kumagai H, et al. Impaired insulin signaling in endothelial cells reduces insulin-induced glucose uptake by skeletal muscle. *Cell Metab* 2011;13:294-307.

17. Inoue E, Ichiki T, Takeda K, et al. Beraprost sodium, a stable prostacyclin analogue, improves insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice. *J Endocrinol* 2012;213:285-91.

18. Katsuyama H, Kubota N, Kubota T, et al. Effects of beraprost sodium, an oral prostacyclin analog, on insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *Diabetology International* 2014; on published

19. Hashimoto S, Kubota N, Sato H, et al. Insulin Receptor Substrate-2 (Irs2) in Endothelial Cells Plays a Crucial Role in Insulin Secretion. *Diabetes* 2014.

20. Chen T, Kusunoki M, Sato D, et al. Clinical effect of addition of beraprost sodium to pioglitazone treatment on the blood glucose levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2013;121:624-7.
21. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214-23
22. 北川博之、岡林雄大、花崎和弘：人工膵臓（日機装の新しい機器「STG®-55」）, *Diabetes Frontier* Vol.22 No.4 337-340, 2011-8
23. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
24. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004;27:1487-95.
25. ケアロード LA錠 60 μ g ベラサス LA錠 60 μ g 医薬品製造販売承認申請資料 CTD 第2部 CTD の概要（サマリー） 2.7.4 臨床的安全性の概要 p.18

26. ケアロード LA錠 60 μ g 添付文書 p.2
27. 人工膝島. 人工臓器 35 別冊 66-68, 2006
28. 「ヒューマリン R 注 100 単位/mL」 添付文書 2008 年 11 月改訂(第 10 版)
29. 野田克己、梅田丈夫、名和田新：糖尿病患者の脂質代謝異常に対するベラプロストナトリウムの有用性 現代医療 1996 ; Vol.28(増IV) : 3207-3211