

博士論文（要約）

脂質代謝および肥満における **DPP-4** 阻害薬の作用に関する研究

福田 清香

論文題目 脂質代謝および肥満における DPP-4 阻害薬の作用に関する研究
氏名 福田 清香

【序論】

現在において、心血管系疾患は先進国において死因の上位を占めており、病態の予防および治療法の開発が望まれている。広範な統計的研究に基づいて、何が心血管系疾患にとって重要な因子であるかを調べた結果、「糖尿病」、「脂質異常症」、「肥満」、「高血圧」が四大因子であった (Kaplan., 1989)。これらは死の四重奏 (deadly quartet) と呼ばれている。これら四者を予防し、かつ適正に治療することが心血管系疾患を減らすために重要であると考えられている。

glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は、食事に応答して消化管から分泌され、膵臓からのインスリン分泌を促進し、食後過血糖の調節において重要な役割を果たしている (Kreymann et al., 1987)。2 型糖尿病患者において、GLP-1 の投与により、食後過血糖値及び HbA1c が低下すると報告されている (Zander et al., 2002)。GLP-1 は dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) により急速に分解不活化され、その半減期は約 2 分と短い (Holst and Deacon, 1998)。そこで DPP-4 を阻害することが糖尿病の治療ターゲットになりうると考えられ、薬物の開発がなされてきた。

DPP-4 阻害薬は、活性型 GLP-1 の分解抑制により、血糖低下作用を発揮する 2 型糖尿病治療薬である。DPP-4 阻害薬として、いくつかの薬剤は既に上市され、食後過血糖を改善することが報告されている (Ahren et al., 2004; Pratley and Salsali, 2007; Vella et al., 2007)。一方、DPP-4 は全身にユビキタスに発現し、その基質も GLP-1 以外に数多く存在することが判明している。しかしながら、血糖降下作用以外の作用に関しては、まだ不明な点が多い。本研究では DPP-4 阻害薬である teneligliptin を用いて、脂質異常症および肥満に対する作用に関して検討を行い、DPP-4 阻害薬の新たな可能性を探ることを目的とした。

【内容】

1. DPP-4 阻害薬である teneligliptin の基本的特性の解析

teneligliptin は新しいケモタイプであるプロリルチアゾリジンタイプの DPP-4 阻害薬である。まず、この項では teneligliptin の *in vitro* 及び *in vivo* における薬力学的プロファイルを特徴付けることを目的とした。*in vitro* において teneligliptin は競合的に DPP-4 を阻害し、human plasma, rat plasma 由来及びヒトリコンビナント DPP-4 に対し、その IC₅₀ は約 1 nmol/L であった。Wistar ラットに teneligliptin を経口投与すると、血漿中 DPP-4 活性の阻害作用が観察され、その ED₅₀ は 0.41 mg/kg であった。teneligliptin の 1 および 10 mg/kg 投与では 24 時間後においても血漿中 DPP-4 活性の阻害が認められた。肥満モデルであり、耐糖能異常を示す Zucker fatty rat を用いた検討において、teneligliptin は 0.1 mg/kg 以上で 40% 以上の DPP-4 阻害作用を示し、糖負荷後の血漿中 GLP-1 およびインスリン値の上昇及び血糖上昇抑制を示した。さらに、1 mg/kg において、血糖上昇抑制作用は投与 12 時間後でも観察され、持続的な作用を持つことも確認された。

2. DPP-4 阻害薬 teneligliptin における脂質代謝作用の解析

脂質異常症に対する teneligliptin の作用を検討するために、脂質異常を伴う肥満モデルである Zucker fatty ラットへの脂質負荷試験および連続投与を行い、血漿中の脂質の変化を調べた。単回の teneligliptin 1 mg/kg の投与により、脂質負荷後の血漿中 triglyceride や free fatty acid の上昇抑制が示された。さらにこの時、teneligliptin の投与により血漿中 GLP-1 濃度の上昇が引き起こされることも確認した。また、2 週間の連続投与試験後に 摂食条件下における血漿中 triglyceride や free fatty acid が減少することも示された。

3. DPP-4 阻害薬 teneligliptin における体重増加抑制作用の解析

肥満に対する teneligliptin の作用を検討するために、肥満のモデルとして高脂肪食負荷マウスを用いて体重の経時的変化を調べた。なお併せてそのメカニズムの手がかりとなる酸素消費量の測定を行った。さらに肥満に伴って生じる脂肪細胞の肥大化、脂肪肝、インスリン抵抗性への影響について評価した。

C57BL/6N マウスに、高脂肪食 (HF 食, 60%Kcal fat) あるいは通常食 (10%Kcal fat) を 10 週間自由摂餌させ、同時に teneligliptin (30 および 60 mg/kg/day) を飲水投与した。HF 食の負荷により体重が増加したが、teneligliptin の投与は、この増加を抑制した。そのメカニズムを考察するために、摂餌量の測定と投与開始後 10 週における酸素消費量の測定を実施したところ、teneligliptin の投与により、摂餌量の僅かな減少と酸素消費量の増加が認められ、体重増加抑制作用はこの両者によって引き起こされている可能性が示された。一方で自発運動量の変化はなかった。さらに骨格筋の遺伝子発現を検討したところ、UCP-3 の mRNA の増大が観察され、酸素消費量の増大には UCP-3 の発現増加が伴うことが示された。次に脂肪に着目した。teneligliptin 投与群では、HF 食による脂肪量の増大が抑制された。この脂肪量の減少が脂肪細胞の数の変化であるのか、一つ一つの細胞のサイズに変化が生じたのか検討するために、病理組織学的検討を行った。teneligliptin 投与群では肥大化が抑制され、高用量群の平均脂肪細胞断面積は HF 食群に比べて 66%低下した。また各投与群での脂肪細胞の大きさの分布を調べたところ、teneligliptin の投与により、細胞のサイズが小さいものが増加していることが判明した。肝臓に関しては、HF 食負荷により脂肪肝を呈したが、teneligliptin の投与により抑制され、また肝重量、肝臓中 triglyceride の減少も観察された。これらの変化に伴い、血漿中の HF 食負荷により上昇した血漿インスリン値は teneligliptin 投与により低下した。この結果から、teneligliptin によるインスリン抵抗性の改善が引き起こされた可能性が示唆されたため、インスリン抵抗性を測定するグルコースクランプ試験を実施した。グルコースクランプ試験において、用量依存的なグルコース注入量の増加と、特に末梢でのインスリンによる糖取り込みの増加が観察された。これらのことから、とくに末梢でのインスリン抵抗性の改善が示された。また、血漿中のレジスチンの増加抑制も観察され、インスリン抵抗性の改善に寄与している可能性が示唆された。

teneligliptin を長期間投与すると、高脂肪食負荷マウスの酸素消費量を増大させ、体重増加抑制、脂肪肝の改善および脂肪細胞の小型化を伴う内臓脂肪量の減少を引き起こし、その結果、各種アディポカインの変化を引き起こし、最終的に末梢組織のインスリン抵抗性が改善すると推

察された。

【結語】

teneligliptin の基本的解析では、teneligliptin の *in vitro* から *in vivo* の DPP-4 阻害作用に関して報告した。さらに糖尿病治療薬として主要な作用である血糖降下作用およびそのメカニズムとして GLP-1 の上昇を示した。これらは、糖尿病治療薬としての teneligliptin の有用性を示した。

teneligliptin における脂質代謝作用の解析では、これまでの DPP-4 阻害薬では報告のなかった高脂血症を呈する肥満モデルでの脂質負荷後の血漿中脂質の増加抑制作用を新たに見出した。また 14 日間の投与により脂質を下げる作用が示された。脂質異常症は先に挙げた死の 4 重奏の一端を担うものであることはもとより、2 型糖尿病患者は脂質異常症を伴うことが多いと報告されている (Boden and Shulman, 2002; Taskinen, 2003)。脂質異常症は多くの心血管疾患及び死のリスク上昇と相関し (Nordestgaard et al., 2007; Pirro et al., 2002; Stampfer et al., 1996)、動脈硬化の病因にも重要な役割を果たすことが分かってきた (Bae et al., 2001; Ceriello et al., 2002; Pleiner et al., 2002)。これらのことから、脂質異常症の改善は、2 型糖尿病患者にとって、心血管疾患の予防における 1 つの治療ターゲットであると考えられる。今回の結果は、脂質異常症を併発する糖尿病患者にとって有用である可能性を示した点で意義のある結果だと思われる。また、糖負荷の場合と同じように、脂質負荷においても GLP-1 の上昇を伴って、血漿中の脂質の低下が観察されたことは、GLP-1 の関与も示唆する。

肥満に対する teneligliptin の作用においては、teneligliptin が酸素消費量の増大を伴って、体重増加を抑制していることを新たに明らかにした。また、脂肪細胞の肥大化抑制、脂肪肝抑制、インスリン抵抗性の抑制も観察された。DPP-4 はこれまでは GLP-1 の不活化酵素としての作用が着目されていたが、全身にユビキタスに発現している酵素であり、近年その新たな作用に注目が集まっている (Lamers et al., 2011)。今回、teneligliptin というツールを使って、DPP-4 を阻害することによって生じるこれら一連の作用を見出すことができた。さらに肥満はインスリン抵抗性を増悪し、2 型糖尿病の発症および進展の重要なリスクファクターである。また過体重や 2 型糖尿病の患者にとって、5-10%の体重低下が心血管疾患のリスクを下げるのに十分であるという報告もある (Van Gaal et al., 2005; Wing et al., 2011)。今回の結果は、1 章および 2 章の結果と併せて、teneligliptin が糖尿病患者にとって、血糖コントロールだけでなく、脂質異常症や肥満といった死の 4 重奏の一端を予防することで心血管系疾患を減らす可能性を示唆した点で有用であると考えている。