

[別紙2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 福 田 清 香

心血管系疾患は依然として先進国において死因の上位を占めており、病態の解明および治療法の開発が望まれている。疫学的研究から、「高血圧」、「高脂血症」、「肥満」、「糖尿病」が心臓疾患の四大因子であることが示され、これらは死の四重奏と呼ばれている。これらの因子がどのようなメカニズムで働いているかは必ずしも明確になっているわけではないが、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役割を果たしている。2 型糖尿病患者において、GLP-1 の単回あるいは持続投与により、食後過血糖値及び HbA1c が低下すると報告されている。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。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。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、血糖降下以外の作用に関しては、まだ報告が少ない。本研究では DPP-4 阻害薬である teneligliptin を用いて、高脂血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。

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 阻害薬であり、まず *in vitro* 及び *in vivo* における薬力学的プロファイルを検討した。*in vitro* において teneligliptin は競合的に DPP-4 を阻害し、ヒト血漿やラット血漿由来及びヒトリコンビナント DPP-4 に対し、その IC₅₀ は約 1 nM であった。Wistar ラットに teneligliptin を経口投与した場合でも血漿中 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。また 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。Zucker fatty rat を用いた検討において、teneligliptin は糖負荷後の血漿中 GLP-1 およびインスリン値の上昇及び血糖上昇を持続的に抑制した。

Teneligliptin の脂質代謝への作用解析

脂質異常症に対する teneligliptin の作用を検討するために、ラットへの脂質負荷試験および脂質異常を伴う肥満モデルである Zucker fatty ラットへの連続投与を行い、血漿中の脂質の変化を

調べた。Teneligliptin の単回投与により、脂質負荷後の血漿中トリグリセリドや遊離脂肪酸の上昇が抑制された。この時、GLP-1 濃度が上昇することも確認した。また、脂質異常を伴う肥満モデルである Zucker fatty ラットにおいて、2 週間の連続投与試験後に non-fasting における血漿中トリグリセリドや遊離脂肪酸が減少することも示された。

Teneligliptin における抗肥満作用の解析

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。そこで、肥満のモデルとして、高脂肪食負荷マウスを用い teneligliptin の作用を検討した。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を評価した。

マウスに、高脂肪食を 10 週間自由摂餌させ、同時に teneligliptin を飲水投与しながら、体重、摂餌量および飲水量を経時的に測定した。10 週間投与後、オキシマックスシステムを用いて基礎代謝量を、グルコースクランプ法によりインスリン感受性をそれぞれ評価した。投与終了後、内臓脂肪量、腸間膜周囲脂肪の脂肪細胞断面積を測定した。その結果、高脂肪食負荷により、体重および内臓脂肪量が増加したが teneligliptin はこれらの増加を用量依存的に抑制した。そのメカニズムを明らかにするために、摂餌量の測定と酸素消費量の測定を実施したところ teneligliptin 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ことが示された。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 が関与していることが示された。さらに、teneligliptin 投与群では、高脂肪食による脂肪量の増大が抑制されていた。病理組織学的検討により、Teneligliptin 投与群では脂肪細胞の肥大化が抑制され平均脂肪細胞断面積は約 2/3 に低下していることが示された。脂肪細胞の大きさの分布を調べたところ、サイズが小さい脂肪細胞が増加していることが判明した。一方、高脂肪食負荷により呈した脂肪肝は teneligliptin の投与により抑制され、肝重量や肝臓中トリグリセリドも減少していた。肝の遺伝子発現を検討したところ、teneligliptin の投与により CPT-1 と CD36 の増大が観察され、これらによって肝への脂質の取り込みと β 酸化の亢進が引き起こされ、脂肪肝の改善につながったのではないかと考えられた。これらの変化に伴い、高脂肪食負荷により上昇した血漿インスリン値は teneligliptin 投与により低下しており、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。インスリン抵抗性を測定するグルコースクランプ試験により、teneligliptin による用量依存的なグルコース注入量の増加と、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。また、血漿中のレジスチンの増加も抑制され、teneligliptin が末梢でのインスリン抵抗性の改善に寄与している可能性が示された。

Teneligliptin を長期間投与すると、高脂肪食負荷マウスの基礎代謝量を増大させ、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。

本研究において **teneligliptin** の **DPP-4** 阻害作用に基づく血糖降下作用と **GLP-1** の上昇を示しただけでなく、これまでの **DPP-4** 阻害薬では報告のなかった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。脂質異常症は心血管系疾患の 4 重奏の一端を担うものであり、2 型糖尿病患者では脂質異常症を伴うことが多いことから、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が評価される。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、脂質異常への **GLP-1** の関与を示唆する。さらに、**teneligliptin** がエネルギー消費量を増大させることにより体重増加を抑制していることも明らかにした。また、その作用が **UCP-3** の増大という遺伝子変化を伴うことも示した。**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きたが、全身にユビキタスに発現している酵素であり、**DPP-4** 阻害の新たな側面を明らかにするとともに、**DPP-4** 阻害による肥満治療の可能性を示した。このように、本研究は、**DPP-4** 阻害薬が糖尿病治療だけでなく、脂質異常症や肥満の治療にも有効であり、これらの疾患への **DPP-4** や **GLP-1** の役割について新たな可能性を示した点で評価され、博士(薬学)の授与に値すると判断された。