

論文の内容の要旨

論文題目 ナトリウムグルコース依存性グルコース輸送担体(SGLT)2 阻害薬
イプラグリフロジンのインスリン抵抗性改善作用に関するメカニズムの検討

氏名 荒川 直子

最近登場した尿中へのグルコース放出を促す抗糖尿病薬である SGLT2 (sodium glucose cotransporter 2)阻害薬の作用メカニズムを解明するため、SGLT2 阻害薬である Ipragliflozin を食事誘発性肥満糖尿病モデルマウスに投与して検討した。

C57BL/6J マウスに普通食を 20 週投与した群を普通食群(以下 NC 群:normal chow diet)として、高脂肪・高ショ糖食を C57BL/6J マウスに 14 週間負荷後も引き続き高脂肪・高ショ糖食を継続する群(以下 HFHS 群:high fat high sucrose)および 14 週以降は高脂肪・高ショ糖食に Ipragliflozin を混餌して投与する群(以下 HFHS+Ipra 群)に分けて 3 群で比較検討した。

HFHS+Ipra 群では HFHS 群に比べて、Ipragliflozin 投与開始後体重増加が抑制され、インスリン負荷試験において HFHS+Ipra 群はインスリン抵抗性が改善した。HFHS+Ipra 群の内臓脂肪組織重量は HFHS 群よりも減少しており、組織像でも HFHS+Ipra 群の脂肪細胞が HFHS 群よりも小型化していた。MRI による腹腔内の内臓脂肪量の評価においても HFHS+Ipra 群の内臓脂肪量は HFHS 群に比べて有意に低下していた。また脂肪細胞の遺伝子発現を RT-PCR を用いて解析すると HFHS 群より HFHS+Ipra 群においては脂肪組織の炎症に関連する遺伝子の発現が HFHS 群より低下していた。

また Ipragliflozin による体重減少の内訳を検討するために MRI による筋肉量の評価を行った。HFHS 群と HFHS+Ipra 群では筋肉量に差は認めなかった。

肝臓の解析においては組織像では HFHS 群と比較して HFHS+Ipra 群で脂肪肝の改善を認め、MRI による肝臓脂肪量の評価においても HFHS+Ipra 群の肝臓の脂肪量は HFHS 群に比べて減少していた。次世代シーケンサーによる肝臓の遺伝子発現の網羅的な解析を行ったところ Pathway 解析では脂質の蓄積に関する Pathway が有意に変化していた。また糖代謝改善作用や褐色脂肪化作用があることが知られている *FGF21 (fibroblast growth factor 21)* の発現が上昇していた。RT-PCR においても肝臓の遺伝子発現を解析したところ HFHS+Ipra 群では脂肪の蓄積に関連する *Pparg(peroxisome proliferator-activated receptor γ)*、*Cd36(Cluster of differentiation 36)* の発現が HFHS 群では上昇していたが、HFHS+Ipra 群では低下していた。さらに HFHS+Ipra 群においては *Ppara(peroxisome proliferator-activated receptor alpha)*、*Ppargc1a(peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha)*、*Cpt1a(Carnitine Palmitoyltransferase 1A)* という肝臓での脂質の β 酸化を促す遺伝子が上昇していた。また糖新生に関連する *Pck1(phosphoenolpyruvate carboxykinase 1)* や *G6pc(Glucose-6-phosphatase)* という遺伝子も HFHS+Ipra 群で上昇していた。RT-PCR においても HFHS+Ipra 群における

FGF21 の発現の上昇も確認できた。*Ppara* は転写因子であり、 β 酸化に関連する遺伝子や *FGF21* を誘導すると言われている。

このような病態の改善の機序が、*Ipragliflozin* の作用によるものか体重減少によるものかを検討するために *Ipragliflozin* 投与群(以下 HFHS+Ipra 群)と同体重となるよう摂取カロリーを制限した HFHS 摂食マウス(以下 Weight Match 群)においても検討した。HFHS+Ipra 群と Weight Match 群はインスリン負荷試験とブドウ糖負荷試験では大きな差は認めなかった。HFHS+Ipra 群と Weight Match 群ではともに脂肪肝は改善していたが HFHS+Ipra 群の方が肝臓の中性脂肪含量は低下していた。脂肪肝改善の機序としては脂質の β 酸化亢進が HFHS+Ipra 群において特徴的であった。また HFHS+Ipra 群においてのみ *FGF21* の産生亢進が生じていた。また *Ipragliflozin* 投与群はグルカゴン分泌が上昇していた。グルカゴンにより脂肪分解や β 酸化の亢進がより促進された可能性も考えられた。他剤の同様の検討ではグルカゴン分泌が減少しているものもあり、SGLT2 阻害薬のグルカゴン分泌が SGLT2 の選択性に影響を受けるのではないかという報告もあることから、薬剤毎の生体への影響の違いがある可能性が示唆された。また *FGF21* の増加は他剤でも報告があり、SGLT2 阻害薬に共通する作用の可能性が高いと考えられた。

以上から、*Ipragliflozin* による糖代謝改善作用には、尿中へのグルコース放出による血糖降下作用や体重減少作用のみならず、脂肪細胞での脂肪酸分解促進を介した肝臓での *FGF21* 産生亢進による作用が加わっている可能性が示唆された。

また今回腸内細菌の解析も行ったが、インスリン抵抗性モデルである HFHS 群では NC 群に比べて *Bacteroidetes/Firmicutes* 比が低下していた。*Ipragliflozin* を 4 週間投与したところ、*Bacteroidetes/Firmicutes* 比は変化しておらず、*Ipragliflozin* は腸内細菌叢非依存的に作用していると考えられた。腸内細菌叢への影響も、腸管に発現が多い SGLT1 をどの程度阻害するかという SGLT2 の選択性に影響を受けている可能性も考えられた。