

## 論文の内容の要旨

論文題目     Pharmacological research of a novel selective SGLT2 inhibitor, Tofogliflozin  
                  (新規 SGLT2 選択的阻害剤 Tofogliflozin の薬効薬理学的研究)

氏 名     永 田     工

糖尿病は全世界でその罹患率が増加の一途を辿っており、2035 年までに総患者数は 5.9 億人に達することが予想されている。特に全患者数の内 85%を占める 2 型糖尿病はその病態初期において無症状であることから、診断時において何らかの合併症併発まで病態が進展してしまう事があり、早期診断および高血糖状態の是正が非常に重要である。

哺乳類において血糖値は小腸、肝臓、膵臓、脂肪、筋肉、および中枢神経系など多種器官によって複雑かつ精密に制御されているため、これらを標的とした薬剤開発、治療がなされてきた。一方、腎臓における尿糖再吸収を標的とした治療薬は近年まで開発されていなかった。正常人では一日約 150-180 g の尿糖が排泄されているが、これらは腎尿細管に発現する Sodium Glucose co-transporter (SGLT) 1/2 により 100%再吸収される。

SGLT2 は腎特異的な発現を示す一方で、SGLT1 は消化管、脳、心臓などで発現が確認されている。SGLT2 に変異を有する家族性腎性糖尿(Familial Renal Glucosuria: FRG)患者においては正常人の最大グルコース再吸収量(Transport Maximum of Glucose: TmG)と同程度の尿糖排泄が観察され、SGLT2 が腎糖再吸収(Renal Glucose Reabsorption: RGR)の主要な役割を担うと考えられること(図 1)、FRG 患者において腎性糖尿以外の症状を呈さないこと、一方 SGLT1 に変異を有するグルコース・ガラクトース吸収不全症(Glucose-Galactose Malabsorption: GGM)患者においては重度の消化器症状を呈することから、SGLT2 選択的阻害剤は安全な高血糖是正が期待される。

Tofogliflozin(TOFO)は 2014 年 3 月に糖尿病治療薬として承認された新規 SGLT2 阻害剤であり、他 SGLT2 阻害剤と比較して、SGLT family 分子全てに対し、より高い SGLT2 選択性が確認されている。また、2 型糖尿病モデル動物への単回あるいは反復投与試験において、尿糖排泄促進を介した強力な血糖降下作用・糖尿病進展抑制効果が報告されている。一方、TOFO を含め SGLT 阻害剤の薬理学的特性把握は、その他糖尿病治療薬と比較して十分になされていない。

本研究は新規 SGLT2 阻害剤である TOFO について、有効性の観点(長期投与時における合併症進展抑制効果)、安全性の観点(低血糖発現リスク)、および薬力学的観点(基質、阻害剤量の厳密な制御下における *in vivo* での薬効薬理解析)からより詳細な特性把握を実施した。

第一章においては、有効性の観点から糖尿病性腎症進展抑制への影響を評価した。糖尿病性腎症は糖尿病の主要合併症の一つであり、慢性腎不全患者の透析治療移行病因の多くを占める。糖尿病性腎症進展の病初期におけるリスクファクターとして糸球体濾過過剰が知られているが、その機序として SGLT2 を介した Na<sup>+</sup>再吸収過剰説などが提唱されており、

[テキストを入力してください]

SGLT2 選択的阻害剤による腎症進展抑制が期待される。そこで腎症進展が観察される 2 型糖尿病モデルである *db/db* マウスを用いて、臨床標準薬である Losartan(LOS)との比較試験を実施した。各薬剤は混餌投与によって 8 週齢から 8 週間実施した。TOFO 投与群では尿糖排泄促進による高血糖是正により、試験期間中良好な血糖コントロールが達成された。また腎症進展マーカーである ACR (Albumin / Creatinine Ratio)の増加抑制も認められ、その程度は LOS と同等であったことから、糖尿病性腎症の進展を抑制できる可能性を示した。興味深いことに、糸球体領域の詳細な解析の結果、糸球体拡大抑制が TOFO 投与群についてのみ認められ、メサンギウム基質増生については TOFO, LOS 処置群で差を認めなかったことから、両薬剤の腎保護作用は異なる機序が推察された。また、TOFO 投与群では溶媒, LOS 投与群と比較して、有意な体重増加が認められた。溶媒, LOS 群では病態進行と共に  $\beta$  細胞消失に伴う血中インスリン値減少が認められたが、TOFO 投与群では有意な  $\beta$  細胞消失抑制が認められたことから、TOFO 投与群で認められた体重増加は、長期投与による血糖コントロールの結果、インスリン分泌が保たれたためであると考えられた。

第二章においては、安全性の観点から Tofogliflozin の低血糖発現リスクについて検討を実施した。SGLT2 は RGR の主要な役割を担うと考えられている。一方、Hummel らによる生理的条件下での whole-cell patch-clamp 法を用いた SGLT1/2 の解析結果や、SGLT2 ノックアウトマウスを用いた Glucose Titration Study の結果により、特に低血糖下で SGLT1 の RGR に対する貢献比が高くなる可能性が示唆されている。もしそうであるならば、SGLT1/2 選択性の低い薬剤は低血糖リスクがより高くなると考えられる。しかしながら、厳密な薬剤、血糖コントロール下において RGR を測定した報告はなく、SGLT1/2 の RGR に対する貢献比は不明であった。そこで Wistar ラットに対し、TOFO と SGLT1/2 非選択的阻害剤である Phlorizin(PHZ)について血中薬剤濃度を持続 infusion により一定にコントロールし、グルコース溶液の段階的注入あるいはインスリン/グルコースクランプ法により、高血糖、正常血糖、ないし低血糖状態を維持した条件下において、各薬剤の RGR 阻害率を測定した。高血糖状態において、TOFO の RGR 阻害率は PHZ と比較して血中濃度比で 3 倍程度強く、最大 RGR 阻害率(血糖値 250-350 mg/dL 付近での RGR 阻害率)に顕著な差異は認められなかった。一方、低血糖、正常血糖状態においては、TOFO による RGR 阻害はほぼ消失したのに対し、PHZ では有意に残存した。血中薬物濃度から推定される尿細管中薬物濃度における SGLT1 阻害率を換算したところ、TOFO では全く阻害せず、PHZ は最大 50%程度と見積もられたことから、この RGR 阻害率の差異は SGLT1 阻害によるものであると考えられ、SGLT1/2 の RGR に対する貢献比が血糖値依存的に変化する可能性が示唆された。また、正常血糖状態における代償性肝糖新生を測定したところ、PHZ ではより高い肝糖新生の増加が認められたが、その程度は尿糖排泄量より小さく、血糖値は減少傾向であった。以上より、TOFO は PHZ より低血糖リスクが低い薬剤であることが示された。

第三章においては、薬力学的観点から TOFO の RGR 阻害様式をモデル化した。SGLT を介した RGR 阻害様式として、FRG 患者における Glucose Titration Study から 1) TmG 低下(非

[テキストを入力してください]

競合阻害様式)、2) Splay 拡大(RGR 閾値低下, 競合阻害様式)が想定される。SGLT2 阻害剤である Sertgliflozin などを用いた動物試験では TmG 低下が報告されているが、SGLT2 阻害剤の *in vitro* での阻害は競合阻害様式であり、FRG 患者からの予測とは乖離が認められる。加えて、Splay については定量法が確立されていなかったため、SGLT2 阻害剤投与による影響は不明であった。そこで、より精緻な解析手法の確立のため、カニクイザルを用いた SGLT2 阻害剤の薬力学モデル開発を行った。カニクイザル SGLT1/2 (cSGLT1/2)をクローニングし、COS7 細胞に一過的に強制発現したところ、Na<sup>+</sup>依存的な基質取り込みが観察された。また、TOFO, PHZ の cSGLT1/2 に対する IC<sub>50</sub> および SGLT2 選択性は他種由来 SGLT1/2 の場合と同程度であり、またその阻害様式は競合拮抗様式であった。次に、TOFO, PHZ の持続 infusion 条件下において、正常カニクイザルを用いた Glucose Titration Study を行ったところ、十分な高血糖時では SGLT2 阻害剤による尿糖排泄促進が認められなくなったことから、*in vivo* での阻害様式についても競合拮抗作用であることが確かめられた。また、非線形回帰による尿糖排泄フィッティングカーブの曲線下面積を Splay として評価したところ、溶媒群と比較して有意な Splay 増加が確認された。以上のことから、SGLT2 阻害剤が競合拮抗作用にて RGR を抑制する場合、尿糖排泄促進は主に Splay 拡大によって起こることを示した。このことから、TOFO は *in vivo* においても *in vitro* 同様、理に適った薬効薬理作用を示すことを明らかにした。

以上より、TOFO による SGLT2 阻害は糖尿病治療において高血糖是正のみでなく、糖尿病性腎症といった糖尿病性合併症の進展を抑制できるポテンシャルを秘めており、かつ副作用である低血糖発現が SGLT1/2 阻害剤と比較して低い、安全な薬剤であることが推察された。また、血中薬剤濃度を一定にコントロールした場合においても、高濃度の基質によって作用が減弱し、*in vivo* においても *in vitro* 同様、理に適った薬効薬理作用の発現を呈することから、薬力学的にも使用しやすい薬剤であると推察された。

本研究により、TOFO が糖尿病治療において、有効性、安全性、および動態学的見地から高い治療ポテンシャルを有した薬剤であることが明らかとなった。

[テキストを入力してください]

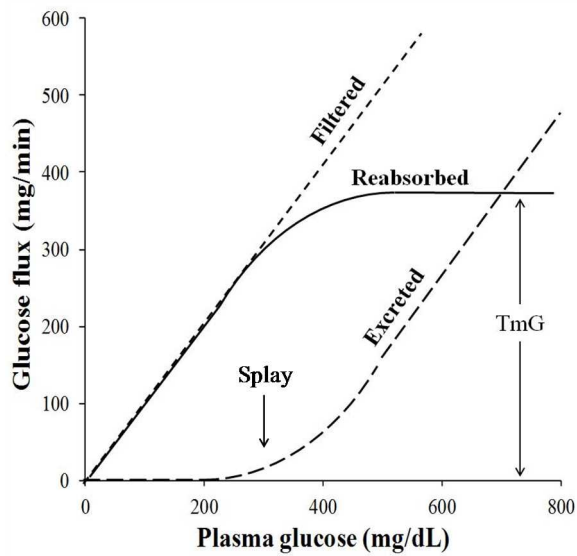


図 1 腎臓におけるグルコース排泄と再吸収

グルコース濾過量 (Filtered) とグルコース再吸収量 (Reabsorbed) は共に血糖値の上昇に伴い増加するが、再吸収量には限界 (尿細管最大輸送量, TmG) がある。高血糖状態が続く糖尿病患者では濾過量が TmG を越え、尿中にグルコースが排泄される (Excreted)。

(Pitts: Physiology of the kidney and body fluids, Year Book Medical Publ. Inc., 1963 の図を改変)