

論文の内容の要旨

論文題目： インクレチン作用増強による膵β細胞保護作用の検討

氏名： 坂田 道教

【目的】 ノックアウトマウスの検討等から膵島 IRS-2 は糖代謝だけではなく、膵β細胞の増殖・代償性過形成に重要であることが報告されている。一方インクレチンには膵島増殖・保護作用があることが動物実験で示されている。インクレチン関連治療薬である DPP-4 阻害薬が膵島増殖・保護作用を發揮する際に、膵島 IRS-2 にどの程度寄与するのかを、2 系統の膵β細胞増殖・保護に障害を来す肥満糖尿病モデルマウスを用いて検討した。

【方法】膵島での IRS-2 の作用を検討するために、膵β細胞特異的 IRS-2 欠損 *ob/ob* (以下 β HTIRS-2^{-/-}/*ob/ob*) マウスを作製した。8 週齢の *ob/ob* マウスならびに β HTIRS-2^{-/-}/*ob/ob* マウスに 30mg/kg の vildagliptin を経口から 6 週間連日で投与し、耐糖能・膵臓インスリン含量・β細胞面積を解析した。

β HTIRS-2^{-/-}/*ob/ob* マウスは著明な高血糖を来したため、高血糖の影響を除外するために SGLT2 阻害剤である T-1095 を 150mg/kg/日の割合で vildagliptin と併用し、同様の検討を行った。

続いて β HTIRS-2^{-/-}/*ob/ob* マウスと同程度の高血糖になるが、遺伝子レベルでは *Irs2* が存在し、糖尿病の増悪とともに IRS-2 が低下する肥満 2 型糖尿病モデルマウスである *db/db* マウス (10 週齢) も用い、今までの実験と同様の検討を行った。

【結果】 *ob/ob* マウスでは vildagliptin 投与により経口ブドウ糖負荷後 (OGTT) のインスリン分泌の増加 (OGTT 中インスリン 0-30min AUC: *ob/ob* vehicle; 154.2 ± 14.36, *ob/ob* vilda; 241.9 ± 35.62, P < 0.05) 並びに血糖値の有意な低下 (OGTT 0-120min AUC: *ob/ob* vehicle; 32.7 ± 2.60, *ob/ob* vilda; 21.1 ±

1.65, $P < 0.05$) を認めた。 β HTIRS-2^{-/-} ob/ob マウスでは血糖値の低下は認めず (OGTT 0-120min AUC: β HTIRS-2^{-/-} ob/ob vehicle; 87.2 ± 2.71 , β HTIRS-2^{-/-} ob/ob vilda; 86.1 ± 2.79 , $P = 0.77$)、インスリン分泌の増加や β 細胞面積の増加も認めなかった。

β HTIRS-2^{-/-} ob/ob マウスでは随時血糖値が 700mg/dl 以上と高値であり、高血糖の影響で vildagliptin の薬効が示されていないのか、IRS-2 が欠損しているために vildagliptin の薬効が示されていないのかが明らかにならなかった。そこで SGLT2 阻害薬である T-1095 を使用し、血糖値を低下させた状態での vildagliptin の効果を確認することを試みた。

8 週齢の β HTIRS-2^{-/-} ob/ob マウスに T-1095 を 150mg/kg/日で単独投与、もしくは vildagliptin を 30mg/kg で T-1095 と併用投与を 6 週間連日で行った。

T-1095 単独投与群と T-1095+vildagliptin 併用群で体重・随時血糖値に差は認めなかった。T-1095 を使用することで随時血糖値は週齢とともに徐々に低下していたが、やはり高血糖を呈しており、T-1095 を投与しても高血糖の影響を完全に除外したとは言えなかった。

OGTT において、T-1095+vildagliptin 併用群では T-1095 単独投与群と比較して有意に血糖値の低下を認めた (OGTT 0-120min AUC: β HTIRS-2^{-/-} ob/ob T-1095; 88.51 ± 2.82 , β HTIRS-2^{-/-} ob/ob T-1095+vilda; 78.8 ± 2.06 , $P < 0.05$) が、インスリン分泌には差を認めなかった (OGTT 中インスリン 0-30min AUC: β HTIRS-2^{-/-} ob/ob T-1095; 58.3 ± 11.02 , β HTIRS-2^{-/-} ob/ob T-1095+vilda; 57.8 ± 16.36 , $P = 0.97$)。 β 細胞面積・膵臓のインスリン含量にも T-1095 単独投与群と T-1095+vildagliptin 併用群では差を認めなかった。

β HTIRS-2^{-/-} ob/ob マウスは予想以上の高血糖を呈しており、SGLT2 阻害薬を最大量使用しても血

糖値は低下せず、vildagliptinによる血糖降下作用・ β 細胞増殖作用への膵 β 細胞 IRS-2の寄与度は確認することができなかった。vildagliptin単独投与では血糖降下作用が認められなかったが、SGLT2阻害薬を併用投与することで、SGLT2阻害薬による血糖改善に加えて、僅かではあるがvildagliptinによる追加の血糖改善効果が認められた。そこで β HTIRS-2^{-/-} ob/obマウスと同程度の高血糖になるが、遺伝子レベルでは*Irs2*が存在し、糖尿病の増悪とともにIRS-2が低下する肥満2型糖尿病モデルマウスであるdb/dbマウスを用い、今までの実験と同様の検討を行った。

10週齢のdb/dbマウスをvehicle群・vildagliptin単独投与群・T-1095単独投与群・T-1095+vildagliptin併用投与群に群分けし、薬剤投与を6週間行い、同様の検討を行った。OGTTにおいてvildagliptin単独投与群では対照群と比較して差を認めなかったが、T-1095+vildagliptin併用群では対照群と比較して、インスリン分泌が有意に増加(OGTT中インスリン0-30min AUC: db/db vehicle; 96.7±15.7, db/db vilda; 95.3±22.1, db/db T-1095; 119.8±15.84, db/db T-1095+vilda; 184.3±14.9 P<0.05)し、T-1095+vildagliptin併用群は対照群と比較して有意に血糖値の低下を認めた(OGTT 0-120min AUC: db/db vehicle; 102.6±2.85, db/db vilda; 102.3±4.00, db/db T-1095; 94.5±3.76, db/db T-1095+vilda; 69.2±2.93 P<0.05)。IPGTTにおいてもT-1095+vildagliptin併用群では対照群と比較して血糖値の低下を認めた(IPGTT 0-120min AUC: db/db vehicle; 117.7±3.06, db/db vilda; 110.1±8.89, db/db T-1095; 123.4±4.49, db/db T-1095+vilda; 101.2±7.12 P<0.05)。膵 β 細胞面積もT-1095+vildagliptin併用群では他の三群と比較して有意に増加しており、Ki67陽性細胞/isletの有意な増加、TUNEL陽性細胞/isletの有意な減少も認めた。またT-1095+vildagliptin併用群では膵臓でのインスリン含量も他の三群と比較して有意に増加していた。膵島での血糖調節維持

に重要な遺伝子の発現量には薬剤投与による差を認めなかった。膵β細胞での GLP-1 受容体の発現を確認したところ、T-1095+vildagliptin 併用群でβ細胞における GLP-1 受容体の発現は他の三群と比較して有意に増加していた。

【考察】*ob/ob* マウスでは vildagliptin 投与により OGTT においてインスリン分泌の増加と耐糖能の改善を認めたが、βHTIRS-2-/- *ob/ob* マウスでは vildagliptin 投与による耐糖能の改善は認めなかった。βHTIRS-2-/- *ob/ob* マウスは著明な高血糖を呈しており、その影響で薬効が示されていない可能性があり、T-1095 を併用投与し、高血糖の影響を除外した状態での vildagliptin の効果を確認することを試みた。T-1095 と vildagliptin を併用することで OGTT において耐糖能の改善は認めたが、β細胞面積・インスリン含量の増加は認めなかった。T-1095 を投与しても十分に血糖値を低下させるには至らず、vildagliptin による血糖降下作用・β細胞増殖作用への膵β細胞 IRS-2 の寄与度は確認することができなかった。

しかしβHTIRS-2-/- *ob/ob* マウスと同程度の血糖値となり、遺伝子レベルで *Irs2* が存在し、糖尿病の増悪とともに IRS-2 が低下する *db/db* マウスにおいては vildagliptin 単独投与では耐糖能・膵β細胞面積に差は認めなかったが、T-1095 と vildagliptin を併用することで耐糖能の改善だけではなく、β細胞面積・インスリン含量の増加を認めた。高血糖の影響を除外・是正することがインクレチン作用を増強し、膵β細胞を保護する可能性が示唆され、T-1095 と vildagliptin 併用療法は今後有効な治療となる可能性が示された。