

論文の内容の要旨

論文題目

糖新生の制御に基づく非肥満インスリン分泌不全型糖尿病の血糖調節技術に関する研究

氏名

吉田 大志

糖尿病は、高血糖を主徴とする疾患であり、血糖の恒常性維持のための調節システムが破綻した状態と捉えられる。2011年現在、世界で3億人強の患者が存在するといわれ、この数は、今後さらに増加すると予想されているものの、根本的な治療薬は存在せず、その開発は喫急の課題となっている。

糖尿病の原因は患者により異なるものの、血糖低下ホルモンであるインスリンの作用が减弱した「インスリン抵抗性型（作用不全型）」と、インスリンの産生臓器である膵臓からのインスリン分泌そのものが减弱した「インスリン分泌不全型」の2つに大きく分けられる。これらの発症原因の違いにより、現在治療に用いられている各種糖尿病薬の血糖低下作用には差異が認められるものの、患者の発症原因を簡便に決定する手段が存在しないため、臨床における治療薬選択は困難なものになっている。また、上述の2つの発症原因が混在する患者が多数存在する事も、治療薬選択の難しさに拍車をかけている。このことから、発症原因によらず広範な糖尿病患者に血糖低下作用を発揮する薬剤の開発が強く求められている。

ピルビン酸や乳酸などの非糖質からグルコースを生合成する経路は糖新生と呼ばれる。発症原因により病態が異なる糖尿病において、糖新生はその発症原因によらず亢進していることから、糖新生を抑制する薬剤は、広範な糖尿病患者に血糖低下作用を発揮する画期的な新薬になると考えられる。近年、糖新生律速酵素の一つであるフルクトース-1,6-ビスフォスファターゼ（FBPase）を阻害することにより、糖新生を抑制し、糖尿病の改善を目

指した化合物 CS-917 の開発が行われてきた。CS-917 はインスリン抵抗性型糖尿病モデル動物である Zucker 糖尿病肥満ラットや、同じくインスリン抵抗性型糖尿病が多い欧米人患者を対象とした臨床試験において血糖低下作用を発揮し、糖新生を抑制することがインスリン抵抗性型糖尿病の改善に有効であることが示された。一方で、もう一つの病型であるインスリン分泌不全型糖尿病において、糖新生を抑制することが糖尿病の改善に有効であるか否かは明らかでない。

そこで、インスリン分泌不全型糖尿病モデル動物として広く用いられている Goto-Kakizaki (GK) ラットを用いて、FBPase 阻害剤・CS-917 の血糖低下作用、及び、その血糖低下作用機序を解析する事により、インスリン分泌不全型糖尿病モデルである GK ラットの血糖調節システムにおける糖新生の寄与を明らかにし、また、CS-917 がインスリン分泌不全型糖尿病の高血糖を是正する有効な手段となりうるか否かを評価する事を目的として、鋭意研究を行った

はじめに、CS-917 の GK ラットにおける抗糖尿病作用について検討した。糖尿病の臨床における診断指標として、食後血糖値と空腹時血糖値の二つが用いられており、各々、死亡に対する独立した危険因子と考えられている。そこで、CS-917 の食後高血糖に対する上昇抑制効果と空腹時血糖値に対する低下作用を別々に評価した。前者を流動食負荷時の血糖上昇に対する抑制作用を指標として、後者を絶食下における血糖低下作用を指標として評価し、いずれにおいても、CS-917 は 2.5~40 mg/kg の範囲で用量依存的な改善作用を発揮した。また、GK ラットに CS-917 を 1 日 2 回、10 mg/kg の用量で 3 週間の反復投与を行うと、CS-917 は持続的な血糖低下作用を示した。以上の結果から、CS-917 は非肥満インスリン分泌不全型糖尿病である GK ラットにおいて、持続的な抗糖尿病作用を発揮する事が明らかとなった。

次に、CS-917 の GK ラットにおける血糖低下作用について、その詳細な機序解析を行った。血糖値は、一般に糖産生と呼ばれる組織から血中への糖の流入と、血中から組織への糖の流出の 2 つのバランスによって成り立っているが、CS-917 が血中への糖の流入と組織への糖の流出のいずれに影響を与えて血糖低下作用を発揮しているかを検討した。GK ラットの CS-917 投与による血糖低下作用発揮時に、 $[^3\text{H}]$ ラベルされたグルコースを静脈投与し、その血中 $[^3\text{H}]$ -グルコースの比活性を追跡した。組織から血中へ流入するグルコースは全て非ラベル体であることから、血中への糖の流入により、血中 $[^3\text{H}]$ -グルコースの比活性は減衰するが、血中への糖の流入が抑制された場合には、この比活性の減衰は遅延する。CS-917 投与群では血糖低下時に $[^3\text{H}]$ -グルコース比活性の減衰が対照群に比し遅延した。比活性の減衰と血糖値の推移を放射化学的な手法を用いて解析し、CS-917 投与による血糖低下作用発揮時の糖の流入速度、及び、流出速度を算出した。その結果、GK ラットにおける CS-917 による血糖低下作用発揮時には、組織から血中への糖の流入が抑制されていることが示された。一方、血中から組織への糖流出には影響を与えなかった。以上より、GK ラットにおける CS-917 による血糖低下作用は、組織から血中への糖の流入抑制による事が示された。

組織から血中への糖の流入は、ピルビン酸や乳酸などの非糖質からグルコースを合成する糖新生と、摂食時に肝臓や骨格筋に蓄えられたグリコーゲン分解の 2 つからなりたっている。そこで、CS-917 がこれらのいずれに作用する事で、血中への糖流入の抑制作用を発揮しているかを検討した。糖新生は $[^{14}\text{C}]$ -重曹 (NaHCO_3) 静脈注射法により定量した。静脈注射された重曹中の $[^{14}\text{C}]$ は、糖新生経路のピルビン酸がオキサロ酢酸に変換される段階で組み込まれ、最終的にグルコース分子に取り込まれることから、血中の $[^{14}\text{C}]$ -グルコース生成量は糖新生量を反映すると考えられる。GK ラットにおいて、CS-917 投与による血糖低下作用発揮時に、 $[^{14}\text{C}]$ -重曹を静脈注射後の血中の $[^{14}\text{C}]$ -グルコース生成量は、対照群に比し減少した。このことから、GK ラットにおいて CS-917 による血糖低下作用発揮時に糖新生が抑制されることが示された。一方、グリコーゲン分解への作用は、CS-917 投与前と投与後の肝グリコーゲン含量を比較する事により評価した。CS-917 投与により対照群に比し、肝グリコーゲン含量は減少した。これにより、GK ラットにおいて CS-917 による血糖低下作用発揮時に肝グリコーゲン分解が促進する事が示された。以上の結果から、GK ラットにおける CS-917 による血糖低下時の糖流入抑制は、糖新生の抑制によるものであり、非肥満インスリン分泌不全型糖尿病である GK ラットにおいて、糖新生抑制がその血糖調節に重要な役割を果たす事が、直接的に示された。一方で、CS-917 による血糖低下作用発揮時に、グリコーゲン分解は抑制されるどころか、むしろ代償的に促進している事が示唆された。

また、CS-917 の血糖低下作用発揮時にどの臓器で糖新生抑制が起こっているのかを明らかにする為、生体内で糖新生を担う主要な臓器である肝臓、腎臓及び消化管における糖、及び、糖新生の基質の一つである乳酸の出入バランスを評価した。対照群のラットの各臓器の血液流入口に相当する血管内、及び、流出口に相当する血管内の血糖値、及び、乳酸値を比較すると、肝臓においてのみ入口（門脈）→出口（肝静脈）の血糖値の上昇（糖新生の増加を意味する）及び乳酸値の低下（糖新生基質の取り込みを意味する）が認められた。GK ラットに CS-917 を投与すると、この血糖値の上昇と乳酸値の低下は対照群に比べて抑制された。このとき、肝臓中では FBPase の基質であるフルクトース-1,6-ビスリン酸の増加と生成物であるフルクトース-6-リン酸の減少を認めた。一方で、腎臓や消化管においては、対照群において入口→出口の血糖値上昇・乳酸値低下は認めなかった。以上の結果から、GK ラットにおける糖新生臓器として、肝臓が主要な役割を担っており、腎臓及び消化管の寄与は小さい事が示された。また、CS-917 は GK ラットにおいて、肝臓における FBPase 阻害に基づく糖新生抑制を主作用として、血糖低下作用を発揮する事を示した。

最後に、CS-917 投与時に見られたグリコーゲン分解の促進という現象に着目し、これを抑制する事により、さらに強力な CS-917 の血糖低下作用が得られる可能性について検討した。GK ラットに、CS-917 と共に、グリコーゲン分解を抑制するホスホリラーゼ阻害剤・CP-91149 を併用投与すると、CS-917 による肝グリコーゲン分解が抑制され、より強力な血糖低下作用が発揮される事を示した。このことは、インスリン分泌不全型糖尿病モデルである GK ラットにおいて、糖新生とグリコーゲン分解を同時に抑制する事により強力な

血糖低下作用が得られることを示す。

以上より、非肥満インスリン分泌不全型糖尿病モデルである GK ラットにおいて、CS-917 は肝 **FBPase** 阻害に基づく糖新生抑制により、空腹時血糖低下作用、食後高血糖抑制作用を併せ持つ抗糖尿病作用を発揮する事が示された。今回 GK ラットにおいて得られた結果と、従来明らかになっていた CS-917 が肥満インスリン抵抗性型糖尿病である **Zucker** 糖尿病肥満ラットや欧米人において抗糖尿病作用を発揮するという事実から、CS-917 は肥満インスリン抵抗性型の糖尿病患者のみならず、非肥満インスリン分泌不全型も含む広範な糖尿病において、血糖調節の有効な手段となる可能性を強く示唆する。