

氏名(本籍)	田島敦(埼玉県)
学位の種類	博士(生物工学)
学位記番号	博甲第6530号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	DPP-IV阻害薬の薬理作用及びMetforminとの併用効果に関する研究
主査	筑波大学教授 工学博士 王碧昭
副査	筑波大学教授 農学博士 杉浦則夫
副査	筑波大学教授 理学博士 中村幸治
副査	筑波大学教授 博士(農学) 北村豊

### 論文の内容の要旨

本研究は、糖尿病の治療薬として膵臓β細胞の機能低下を抑制できる新規薬剤(DPP-IV阻害薬)を見出し、その薬理作用を明らかにしたうえ、既存薬剤 metaformin と併用した相補的効果を確認し、新たな治療法を提示したものである。

糖尿病発症後膵β細胞機能低下に伴う病態進展を十分抑制できる薬剤が存在しないため、もっと安全かつ長期に渡る病態進展抑制効果の高い治療薬の開発が切望されている。本研究は血漿中に存在するDipeptidyl peptidase (DPP) -IVを着目した。(DPP) -IVは腸管細胞が分泌されるホルモン Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) を不活性化することが知られている。DPP-IV阻害薬は食後の血中活性型 GLP-1濃度を高める機序により、血糖レベル依存的なインスリン分泌促進作用を介し血糖コントロール改善作用を発揮する。本研究は選択的で強力な新規 DPP-IV阻害薬 TS-021を見出し、その薬理作用を酵素速度論で解析し、さらに実験動物を用い、実際投与した効果と薬理活性を検討した。その結果、TS-021はヒト DPP-IV に対する  $K_i=4.96$  nM と強力な DPP-IV 阻害活性を示し、阻害様式は拮抗-非拮抗混合型であることが示された。Slow-tight binding model を用い酵素反応速度論を解析したところ、 $K_i=2.96$  nM と強力な DPP-IV 阻害活性を示す一方で、解離定数  $k_{off}=1.09 \times 10^{-3}$  /s と既知阻害剤に比し高い性質を持つことが明らかにした。

TS-021の動物に対する血中動態と血中 DPP-IV 阻害作用との相関において、耐糖能異常モデル Zucker fatty ラットに TS-021 を単回投与した結果、強力な阻害活性と高い  $k_{off}$  値を反映した。連続投与では、血中活性型 GLP-1 濃度上昇とともに、インスリン分泌増強を介した耐糖能改善作用が認められた。さらに2型糖尿病モデル (HFD-STZ) マウスを用いた単回投与経口糖負荷試験 (OGTT) 及び1か月の治療的反復投与した結果、TS-021 及び糖尿病の経口薬物療法における第1選択薬である metformin は各々単独で有意な耐糖能改善作用を示し、両者のうち TS-021 のみ有意な糖負荷後インスリン分泌促進作用が認められた。また、絶食-再摂食試験では、TS-021 及び metformin により、再摂食後の門脈内活性型 GLP-1 濃度の有意かつ著明な上昇し、両薬物の併用により相加的な上昇が認められ、GLP-1 作用を介する血糖コントロールの改善作用は各々単独の効果を上回る有効性が期待された。また、1か月反復投与した HFD-STZ マウスの病理検査により、膵ランゲルハンス島(膵島)組織切片における膵島面積に対するβ細胞(インスリン陽性)が占める面積

率を画像解析し、病態組織では正常組織に比し大きく低下していることが観察され、インスリン分泌不全の病態を裏付けた。TS-021 及び metformin が各々単独では有意な効果を示さなかった一方、TS-021+metformin 併用により相乗的な  $\beta$  細胞陽性面積率の増加が観察され、正常組織に匹敵する  $\beta$  細胞量を有することが示唆された。これらの結果に基づき、TS-021 と metformin の併用は低血糖リスクを抑えられ、内因性インクレチン作用の増強を介して膵  $\beta$  細胞機能を維持しうることを提示した。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、糖尿病の新薬開発を目的とし、内因性 GLP-1 の不活性化を協力的に抑制し、低血糖を引き起こすことなく効果的に糖尿病患者の病態を改善する DPP-IV 阻害剤 TS-021 を見出した。申請者は TS-021 の酵素学的な諸性質を調べ、TS-021 が極めて特異性の高い DPP-IV 阻害剤であることを確認した。また、in vivo の薬力学的作用を解析するため、肥満・耐糖能異常モデルの ZF ラットに TS-021 を経口投与し、投与量と経過時間を通じて血漿 DPP-IV 活性を検討した。その結果、TS-021 は速やかな薬効発現、持続的な効果と投薬の可逆性を明らかにした。さらに薬理作用を明らかにするため、経口糖負荷試験 (OGTT) を行った。その結果、TS-021 は生体内腸管上皮分泌細胞から分泌された GLP-1 の分解を阻害し、糖負荷後血中活性型 GLP-1 濃度を高めることが確認された。この現象は投与量依存的に増大し、濃度依存的にインスリン分泌を増強することを示唆した。また安全かつ長期に薬効果を発揮する治療法を開発するため、欧米で第一選択薬として推奨される metformin と併用して、耐糖能およびインスリン分泌に相加的な作用増強を見出した。長期反復投与実験により、両者の併用は血糖コントロールの改善のみならず、膵ランゲルハンス島  $\beta$  細胞量の増加と  $\alpha$  細胞量の相対的低下を同時にもたらすことを初めて示した。

本研究で得られた知見により、2 型糖尿病に対し新規治療薬創出への道が拓かれ、根治をもたらす治療法の開発に繋がってゆくことが期待される。

平成 25 年 1 月 18 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、さらに英語能力も評価し、その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (生物工学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。