

氏 名 寺脇 悠一
てらわき ゆういち

学位の種類 博士 (医学)

報告番号 甲第 1580 号

学位授与の日付 平成 27 年 9 月 13 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当 (課程博士)

学位論文題目

Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor linagliptin attenuates neointima
formation after vascular injury
(DPP-4 阻害薬リナグリプチンは血管傷害術後の新生内膜形成を抑制
する)

論文審査委員 (主査)	福岡大学	教授	柳瀬 敏彦
(副査)	福岡大学	教授	岩本 隆宏
	福岡大学	教授	浦田 秀則
	福岡大学	准教授	瀬川 波子

博士学位申請論文内容の要旨

【目的】糖尿病診療の目標が血糖値やヘモグロビン A1c を低下させるのみならず、血管合併症を抑制し、患者の生活の質や余命を改善することにあるため、抗糖尿病薬の血管保護作用を検討することは重要と思われる。インクレチン関連薬は近年わが国の 2 型糖尿病治療に汎用されている抗糖尿病薬であり、血糖降下作用を超えた臓器保護作用がある可能性が注目されている。我々は GLP-1 受容体作動薬 Exendin-4 がアテローム形成抑制作用や (Diabetes 2010)、新生内膜形成抑制作用(BBRC. 2011)、さらには癌細胞増殖抑制作用 (Diabetes 2014) を血糖非依存性に有することを見出し報告してきた。リナグリプチンは、最近臨床応用可能となった DPP-4 阻害薬であり、後ろ向き試験ではリナグリプチンが対照薬に比べ有意に心血管イベントを抑制したことが報告されており (Cardiovasc Diabetol 2012)、また酸化ストレス抑制(Cardiovasc Res 2012)、AGE-RAGE 系の抑制(Cardiovasc Diabetol 2013)、血管の DPP-4 活性の抑制(Pharmacol Sci 2014)などが報告されているが、直接的な血管保護作用を検討した報告は少ない。そこで今回我々はリナグリプチンの血管保護作用を血管傷害後の新生内膜形成抑制に着目し検討することとした。

【対象と方法】6 週齢の正常血糖 C57BL/6 マウスにリナグリプチン 3mg/kg/day の混餌もしくは対照餌を経口投与した。8 週齢時に左大腿動脈に血管傷害術を施行し、術前後において尿中 8OHdG を測定した。12 週齢時に新生内膜形成をエラスチン染色にて評価し、血中活性型 GLP-1、SDF-1 α 、PDGF 濃度を測定した。またラット大動脈血管平滑筋細胞を初代培養し、リナグリプチンを添加し細胞増殖を BrdU アッセイにて検討した。

【結果】血管傷害術後の新生内膜形成はリナグリプチン群で有意に抑制されていた($p<0.05$)。リナグリプチンを投与されたマウスは体重、血糖値ともに対照群と差を認めず、血清活性型 GLP-1 濃度は有意に高値を認め($p<0.05$)、血管傷害術後の尿中 8OHdG は低下傾向であった($p=0.064$)。一方、血清 SDF-1 α 濃度、血清 PDGF 濃度に差を認めなかった。さらに、リナグリプチンによって培養血管平滑筋細胞増殖は増殖因子 PDGF の刺激の有無に関わらず、有意に抑制され($p<0.05$)、同様に DPP-4 による培養血管平滑筋細胞増殖を有意に抑制した ($p<0.05$)。

【結論】今回の研究ではリナグリプチンが血糖降下作用に関係なく血管傷害術後の新生内膜形成を抑制することが示唆された。リナグリプチンを投与されたマウスは Ex-4 を投与されたマウスとは異なり、活性型 GLP-1 濃度が対照群の約 1.5 倍程度しか上昇していないため、リナグリプチンには GLP-1 受容体刺激作用とは異なる機序も介した血管保護作用を有すると考えられた。DPP-4 はインクレチン以外の基質も分解しており、その一つに内皮前駆細胞のケモカインである SDF-1 α があるが、今回の我々の検討では血清 SDF-1 α 濃度は対照群と差は認めなかった。またリナグリプチンはキサンチン骨格を有することから直接的抗酸化作用を有する可能性が報告されている。血管傷害術前後に、酸化ストレスマーカー

である尿中 8OHdG を測定したところ、血管傷害術後においてリナグリプチンが対照群に比して尿中 8OHdG を低下させる傾向にあることが分かり、リナグリプチンの抗酸化作用が新生内膜形成抑制の一機序になっている可能性が示唆された。また、我々は過去の報告において Ex-4 が PDGF 依存性の血管平滑筋細胞増殖を有意に抑制することを見出している (BBRC 2011)。今回の検討で、リナグリプチンは PDGF 刺激の有無に関係なく血管平滑筋細胞増殖を抑制していることから、Ex-4 とは異なった機序を介している可能性も考えられ、直接的な増殖抑制作用に加え DPP-4 誘導性の細胞増殖を抑制していることを見出した。以上の結果から、リナグリプチンは血清活性型 GLP-1 濃度の上昇、抗酸化作用、直接的な平滑筋細胞増殖抑制効果の三つの機序を介し、血管傷害後の新生内膜形成を抑制し、血糖降下作用に依存しない血管保護作用を有する可能性が示唆された。このような研究が、血糖降下のみならず、糖尿病患者の血管保護や未来を見据えた糖尿病診療の一助に成り得ると考える。

審査の結果の要旨

本論文は、DPP-4 阻害薬のリナグリプチンが血管平滑筋細胞の増殖抑制作用を介して抗動脈硬化作用を有する可能性を示した論文である。

1. 斬新さ：DPP-4 阻害薬リナグリプチンの抗動脈硬化作用を血管障害モデルを用いた実験研究においてはじめて明らかにした。

2. 重要性：リナグリプチンは血清活性型 GLP-1 濃度の上昇、抗酸化作用、直接的な平滑筋細胞増殖抑制効果の三つの機序を介し、血管傷害後の新生内膜形成を抑制し、血糖降下作用に依存しない血管保護作用を有する可能性を提示した。本研究は、DPP-4 阻害薬が、血糖降下作用のみならず、合併症予防の観点から血管保護を見据えた糖尿病診療の一助になり得ることを示しており、その臨床的意義は大きい。

3. 研究方法の正確性：実験方法を明示し、注意深い研究を行った。一部、統計処理方法の選択において、副査より適切性に関する助言があった。

4. 表現の明確さ：概ね妥当と判断されたが、研究目的に関して副査より以下の助言があった。糖尿病マウスでなく正常マウスの血管傷害モデルを用いて本研究を行った理由を introduction の項で説明する必要があるとの指摘があった。

5. 主な質疑応答

Q: 今回のマウスにおいて血中の DPP-4 を測定したか？

A: 測定したが 2 群間で有意差がなかった

Q: 今回は正常血糖モデルで行ったが、糖尿病モデルマウスではどのように起こるのか。

A: 現在、2型糖尿病モデル db/db マウスを用いて行っており、結果はまだ出ていない。

Q: DPP-4 ノックアウトマウスの表現型はどのようなものか。また、DPP-4 阻害薬間の違いはどのようにになっているか。

A: DPP-4 阻害薬は、心筋梗塞モデルマウスの心機能改善効果が示されているが、DPP-4 ノックアウトマウスにおける心筋梗塞モデルにおいても、SDF-1 α の増加等により、心機能改善効果が報告されている。DPP-4 阻害薬には、脂質性薬剤と水溶性薬剤があり DPP-4 阻害強度は、薬剤間で若干、異なる可能性が指摘されているが、少なくとも血糖改善効果については大きな違いは指摘されていない。また、構造上、本研究で用いたリナグリプチンはキサンチン骨格を有することから、抗酸化作用が示されており、本研究でもその作用が、

発揮されたものを考える。

Q: 血中のインスリン濃度には変化があったのか。

A: 特に血中インスリン濃度には変化はなかった。

Q: 同じインスリン分泌促進薬の DPP-4 阻害薬と SU 剤を比較すると、何が違うか？

A: SU 剤はインスリンを無秩序に出すがゆえに低血糖がみられることがある。低血糖がみられるとマクロファージの浸潤が起り動脈硬化の進行が認められる。DPP-4 阻害薬は、血糖依存的に作働する薬剤なおので、単独投与で低血糖を起こすことは、極めて少ない薬剤である。合併症予防の観点からは、DPP-4 阻害薬投与の方が好ましいと考える。

Q: vivo 研究のトラゼンタの dose はどのように決めたか。

A: 3mg/kg/day はヒトの常用量よりは多い。また過去のマウスにおいてリナグリプチンを投与した実験で、上記の量を使用していたため、それに準じた。

Q: 他剤の間での DPP-4 阻害薬の比較は行ったか。

A: 今回は行っていない。

Q: 今回の実験は正常血糖マウスを用いて実験を行っているが、実臨床に即してないように思われるが。実臨床に即して行うのであれば、たとえば動脈硬化モデルの ApoEKO マウスを糖尿病状態にして行う方がよいのではないか？

A: 糖尿病は血管合併症を抑制し、患者の余命を守ることが重要である。また合併症抑制のために HbA1c を 7%未満に下げることが求められるが、同時に血糖制御を越えて、合併症抑制効果を有する薬剤を投与するほうが望ましいと思われる。今回は血糖に関わらない血管保護効果をみたかったのであえて正常血糖マウスを用いた。

Q: 左右の血管で中膜を測定しなかったのか。

A: 内膜の肥厚がみられていなかったため、求めていなかった。

上記の何れの質問にも適切に回答した。

以上、審査の結果、本論文は学位論文に値すると判断された。