

学 位 論 文 要 旨

氏名 津村 好紀

題 目：グルコキナーゼ活性化剤長期投与時の血糖低下作用減弱機序の解明

論文要旨：

糖尿病は、慢性の高血糖を主徴とする代謝性疾患であり、インスリン抵抗性の増大及び代償的なインスリン分泌の不足による相対的なインスリン欠乏に起因する 2 型糖尿病が 90%を占める。糖尿病治療においては、様々な作用機序を示す糖尿病治療薬が用いられているが、合併症予防のための Hemoglobin A1C (HbA1c) の治療目標である 7%未満を達成できている 2 型糖尿病患者は半数程度にとどまっており、現在も新たな作用機序を持った糖尿病治療薬の開発がなされている。Glucokinase (GK) は糖代謝の最初の反応であるグルコースからグルコース-6-リン酸への変換を触媒する酵素であり、全身のグルコース恒常性維持に重要な役割を担っている。GK は糖尿病治療薬の標的タンパクとして着目されており、GK を活性化する薬剤が 2 型糖尿病に対する新しい治療戦略として検討されている。これまでに、GK 活性化剤は 2 型糖尿病患者を対象とした臨床試験において血糖低下作用が示されているが、一部の GK 活性化剤では長期投与時に薬効の減弱が認められた。現在においてもなお、GK 活性化剤長期投与時の薬効減弱の機序は明らかになっておらず、薬効減弱がクラスエフェクトであるかどうかは結論がついていない。薬効持続性は、慢性疾患である 2 型糖尿病の治療を目的とした薬剤開発という観点から解決すべき重要な問題点であり、減弱機序を解析し、薬効減弱を回避できる新規候補を開発することが求められている。本研究では、GK 活性化剤長期投与時の薬効減弱機序の解明を目的として、ラット肝臓を用いた新たな糖代謝評価系を構築し、2 型糖尿病動物モデルを用いた薬効減弱解析を行った。糖代謝評価系構築においては、安定同位体である ^{13}C で標識されたグルコースを含む緩衝液をラット肝臓の一部に灌流し、灌流前後の緩衝液中の総グルコース濃度測定結果、及びガスクロマトグラフ質量分析によって測定した[U- ^{12}C]グルコースと[U- ^{13}C]グルコースの存在比から、それぞれのグルコース濃度を算出することで、糖利用量、糖取り込み量、及び糖産生量を同時に解析する実験系を世界で初めて開発した。2 型糖尿病動物モデルを用いた薬効減弱解析においては、臨床試験で薬効減弱が認められた GK 活性化剤 (MK-0941) を用い、2 型糖尿病動物モデルである Goto-Kakizaki ラットに投与することで、GK 活性化剤長期投与時の薬効減弱が動物モデルで再現されることを明らかにし、さらにこの動物モデルを用いた肝臓酵素活性及び肝臓糖代謝評価によって、肝臓グルコース-6-ホスファターゼ活性の上昇による代謝異常が薬効減弱に寄与している可能性を示した。本研究の成果は GK 活性化剤長期投与時の薬効減弱機序の解明及び薬効減弱を回避できる GK 活性化剤の開発推進に寄与するものと考えられる。

学位論文審査の結果の要旨

氏名	津村 好紀
審査委員	主査：山口大学 教授 佐藤 晃一
	副査：鹿児島大学 教授 宮本 篤
	副査：山口大学 教授 水野 拓也
	副査：山口大学 教授 加納 聖
	副査：山口大学 准教授 大濱 剛
題目	グルコキナーゼ活性化剤長期投与時の血糖低下作用減弱機序の解明
<p>審査結果の要旨：</p> <p>糖尿病は、長年にわたって各種治療薬が開発されているが、現在もなお世界の患者数が 5 億人を超えており、より効果的な新規治療薬が求められている。グルコキナーゼ (GK) 活性化剤は、2 型糖尿病に対する新しい治療戦略として着目され、多くの GK 活性化剤が開発されてきた。2 型糖尿病患者を対象とした臨床試験においても血糖改善効果が報告されているが、長期投与時に薬効が減弱すること等から上市された薬はない。このような背景のもと津村好紀氏は、GK 活性化剤長期投与時に薬効減弱が起こる作用機序を解明することで、薬効減弱を回避できる GK 活性化剤の開発推進を目指して本研究を行った。</p> <p>第 1 章では、GK 活性化剤の薬効減弱機序の詳細な解析に不可欠となる、薬効減弱を再現できる実験系の開発を行った。はじめに糖尿病自然発症ラットである Goto-Kakizaki ラットを用い、臨床試験で薬効減弱が報告されている MK-0941 を長期投与することで薬効減弱が再現されることを明らかにした。本実験モデルを用いた肝臓酵素活性評価により、肝臓中 G6Pase 活性上昇が薬効減弱機序に関与する可能性が示唆されたが、さらなる機序解析には、肝臓糖代謝を総合的に評価できる実験系の開発が必要であった。そこで本研究では、安定同位体である ^{13}C で標識されたグルコースを含む緩衝液をラットの肝臓に部分灌流し、灌流前後の緩衝液中の総グルコース濃度と、$[\text{U-}^{12}\text{C}]$グルコース及び$[\text{U-}^{13}\text{C}]$グルコースの存在比からそれぞれの濃度を算出することで糖利用量、糖取り込み量、及び糖産生量を同時に解析する ex vivo 評価系を開発した。</p> <p>第 2 章では、第 1 章で開発した実験系を用い、GK 活性化剤長期投与時の血糖低下作用減弱機序の解明を行った。本評価系を用いた解析によって、Goto-Kakizaki ラットに MK-0941 を長期投与した際、糖取り込み量の低下及び糖産生量の増加を伴う糖利用量の低下が生じている</p>	

ことを発見し、肝臓での糖代謝異常が薬効減弱に寄与していることを明らかとした。次に、GK 活性化剤の長期投与時の薬効減弱機序として以下の 3 つの機序を想定し研究を行った。一つ目は、GK 活性化剤の作用による過剰な糖代謝亢進によって、膵臓 β 細胞で酸化ストレスによるアポトーシスが生じ、2 型糖尿病患者のインスリン分泌能の低下が生じる機序である。しかし、MK-0941 を長期投与した際に血漿インスリン値の大きな変化は認められず、GK 活性化剤の薬効減弱機序として、インスリン分泌低下以外の機序が想定された。二つ目は、GK の安定化に寄与する GK related protein と GK の結合が阻害され、GK 発現量の低下が生じた可能性である。しかし、Goto-Kakizaki ラットにおける長期投与試験で、MK-0941 及び TMG-123 群の GK 活性は Control 群と比較して高い結果が得られ、薬効減弱に GK 発現低下の寄与は低いことが考えられた。最後に、糖代謝産物によるフィードバック機構の関与、及び転写因子である ChREBP 発現上昇による糖新生の亢進である。本実験では、Goto-Kakizaki ラットにおける長期投与試験で、MK-0941 群の G6Pase 活性が Control 群と比較して高い結果が得られたことから、薬効減弱の少なくとも一部に本機序が関与していると考えられた。一方、TMG-123 の長期投与では、持続的な血糖低下作用が認められ、薬効減弱は起こらなかった。TMG-123 投与によって肝臓の糖代謝異常が認められなかったこと、及び TMG-123 の長期投与によって血漿インスリン値の上昇が認められたことから、長期投与試験における血漿インスリン値の上昇は、糖毒性からの保護による膵 β 細胞の機能回復に起因する GK 活性化剤の間接的な作用の可能性が示唆された。従って、薬効の持続性は主に肝臓の糖代謝異常の有無に起因することが考えられた。GK 活性化剤は肝臓の糖代謝に様々な影響を与え、その作用は GK 活性化剤の化学構造によって異なると考えられる。MK-0941 のような GK 活性化剤が肝臓の糖代謝異常を引き起こす機序、及び糖代謝異常を回避できる GK 活性化剤の特性の解明には、Goto-Kakizaki ラットを用いた肝臓中の糖代謝物の経時的な解析や GK 活性化剤間の糖代謝への影響の違いに着目した更なる研究が必要である。

本研究では、GK 活性化剤の長期投与時の薬効減弱機序として、肝臓での糖代謝異常が関与していることが示された。薬効減弱が起こる作用機序の詳細解明には更なる研究が必要と考えられるが、薬効持続が期待できる GK 活性化剤として TMG-123 が挙げられた。これらの成果は、今後の GK 活性化剤の開発推進に貢献するものであると考える。

以上により本論文は、博士（獣医学）の学位論文にふさわしい価値があると認められる。