



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	膵β細胞量増加を目指した新たな2型糖尿病治療法の確立 [全文の要約]
Author(s)	大森, 一乃
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2579 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14264号
Issue Date	2020-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/79449
Type	doctoral thesis
File Information	Kazuno_Omori_summary.pdf



学位論文（要約）

膵 β 細胞量増加を目指した

新たな 2 型糖尿病治療法の確立

**(Establishment of novel therapeutic approach for type
2 diabetes aimed at increasing pancreatic beta-cell
mass)**

2020 年 9 月

北海道大学

大森 一乃

Kazuno Omori

学位論文（要約）

膵 β 細胞量増加を目指した

新たな 2 型糖尿病治療法の確立

**(Establishment of novel therapeutic approach for type
2 diabetes aimed at increasing pancreatic beta-cell
mass)**

2020 年 9 月

北海道大学

大森 一乃

Kazuno Omori

要約

第一章：SGLT2（Sodium-glucose cotransporter 2）阻害薬またはインスリンによる血糖降下作用が膵β細胞量と肝脂肪化に与える影響

【背景と目的】

肥満などによって生じるインスリン抵抗性に対する正常な膵β細胞の反応は、血糖値を維持するため代償性にインスリンをより多く分泌することであり、膵β細胞の代償反応が破綻すると2型糖尿病を発症する。この膵β細胞の障害は膵β細胞の機能障害に加え、膵β細胞量の低下とも関係していることが明らかになっている。そのため、進行性に低下する膵β細胞量を保持することが2型糖尿病の病態に即した治療として考えられる。

本邦において実臨床で近年使用可能となったSGLT2阻害薬は、インスリン分泌に依存することなく近位尿細管より尿糖の再吸収を抑制させて尿糖排出を亢進し、持続的に血糖を低下させる薬剤である。また、内臓脂肪減少による体重の減少、脂肪肝の改善、脂質異常や高血圧などの種々の代謝障害の改善効果、さらに、心血管イベントの二次予防や腎臓への保護的作用といった、これまでの経口血糖降下薬には認めなかった多面的な効果を有することが明らかになってきた。しかし膵β細胞量保護と肝脂肪化抑制の機序が血糖降下作用によるものか、薬剤に特異的な機序が存在するかは明らかではない。そこで肥満糖尿病モデルマウスにおいてSGLT2阻害薬またはSGLT2阻害薬と同等に血糖を降下させるよう調整したインスリンの投与が膵β細胞量と肝脂肪化に与える影響を検証する。

【対象と方法】

肥満糖尿病モデルマウスである db/db マウス雄性6週齢を普通食飼育群（Placebo群）とSGLT2阻害薬のダパグリフロジン投与群（Dapa群）、Dapa群と同等に血糖を降下させたインスリングルルギン群（Gla群）、ダパグリフロジンとインスリングルルギンを併用した群（Dapa+Gla群）に群別し8週間飼育後、膵β細胞量、肝内中性脂肪含量、肝遺伝子発現を比較検討した。

【結果】

Placebo群に比し治療群（Dapa群、Gla群、Dapa+Gla群）で随時血糖が同等に低

下した。膵 β 細胞量は Placebo 群に比し Dapa 群および Dapa+Gla 群で有意に保持された(Placebo 2.25 ± 1.44 、Dapa 5.01 ± 1.63 、Gla 3.79 ± 0.96 、Dapa+Gla 5.19 ± 1.78 mg)。肝内中性脂肪含量は他の 3 群に比し Gla 群で有意に増加した(Placebo 24.1 ± 11.5 、Dapa 30.6 ± 12.9 、Gla 128 ± 49.7 、Dapa+Gla 54.4 ± 14.1 mg/g liver)。肝組織のマイクロアレイ解析では Placebo 群に比し Gla 群で脂肪蓄積に関する *Cidea*、*Cidec*、*Mogat1* 等の遺伝子群の発現が有意に上昇していた。さらに定量的 Real-time PCR 法を用いて肝組織の mRNA 発現を比較検討したところ、*Fas*、*Elovl6*、*Scd1* や *Mogat1* などの脂肪酸合成に関わる遺伝子群と *Pparg2* およびその下流の *Mogat1* や *Cidec* といった脂肪蓄積に関わる遺伝子群が、Placebo 群に比し Gla 群で有意に上昇していた。

【考察】

db/db マウスにおいて、インスリングルゲンの単独の投与は肝の脂肪化を誘導した一方、ダパグリフロジンの単独投与またはインスリングルゲンとダパグリフロジンの併用投与では、膵 β 細胞量は保持され、肝の脂肪化は促進されないことが示された。

【結論】

db/db マウスにインスリンを単独投与するのに対し、SGLT2 阻害薬を単独投与およびインスリンと SGLT2 阻害薬を併用投与する方が、肝の脂肪化を来さずに血糖を改善させ、膵 β 細胞量も保持できることを明らかにした。

第二章：膵 β 細胞特異的グルコキナーゼ抑制が膵 β 細胞量に与える影響

【背景と目的】

グルコキナーゼは、解糖系の最初のステップ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、膵、肝、中枢、消化管などの代謝に関与する組織に発現が限局している。特に膵 β 細胞におけるグルコースセンサーとしての役割は全身の糖代謝を調節する上で重要である。膵 β 細胞では、グルコキナーゼによるグルコースのリン酸化がインスリン分泌の律速段階である。また、グルコキナーゼを活性化させることで、肝臓では、グルコースのリン酸化により、グルコースの取り込みが促進され血糖値の低下につながる。以上の知見から開発されたグルコキナーゼ活性化薬 (Glucokinase activator: GKA) は臨床試験で血糖コントロールを改善することを示したが、その効果は長期には持続し

なかった。長期での有効性が失われた理由の一つとして、GKA の膵 β 細胞に対するブドウ糖毒性の増大が考えられる。本研究では、肥満糖尿病モデルマウスを用いて、膵 β 細胞におけるグルコキナーゼヘテロ欠損が膵 β 細胞の機能および量に及ぼす影響を検討する。

【対象と方法】

Lepr^{db/+} (*db/+*) マウスを、膵 β 細胞特異的グルコキナーゼヘテロ欠損 ($\beta Gck^{+/-}$) マウスと交配し、 $\beta Gck^{+/-}db/+$ マウスを作製した。その後、マウスを交配して、膵 β 細胞特異的グルコキナーゼヘテロ欠損 *db/db* ($\beta Gck^{+/-}db/db$) マウスを作製した。*db/db* ($\beta Gck^{+/+}db/db$) マウスを対照とし、耐糖能、膵 β 細胞量および生存時間を比較検討した。また、単離された膵島の遺伝子発現を DNA マイクロアレイ法および定量的リアルタイム PCR 法を用いて評価した。また、単離された膵島のメタボローム解析を行い、代謝産物を比較検討した。

【結果】

$\beta Gck^{+/-}db/db$ マウスでは、 $\beta Gck^{+/+}db/db$ マウスよりも随時血糖値が 13 週齢以降徐々に低下した。経口ブドウ糖負荷試験では、 $\beta Gck^{+/-}db/db$ マウスは $\beta Gck^{+/+}db/db$ マウスと比較して有意に耐糖能が改善した。また、24 週齢の $\beta Gck^{+/-}db/db$ マウスでは、 $\beta Gck^{+/+}db/db$ マウスと比較して、膵 β 細胞量が有意に増加していた ($Gck^{+/-}db/db$ 22.5 ± 10.1 mg vs. $Gck^{+/+}db/db$ 7.0 ± 7.1 mg)。さらに、 $\beta Gck^{+/-}db/db$ マウスの生存期間は、 $\beta Gck^{+/+}db/db$ マウスの生存期間よりも有意に長かった。DNA マイクロアレイ法を用いて膵島の遺伝子発現を網羅的に解析したところ、 $\beta Gck^{+/+}db/db$ マウスと比較して $\beta Gck^{+/-}db/db$ マウスの膵島では、酸化ストレス関連遺伝子の発現が低下していることが明らかになった。定量的リアルタイム PCR を用いた遺伝子発現の比較検討の結果、 $\beta Gck^{+/-}db/db$ マウスでは $\beta Gck^{+/+}db/db$ マウスと比較して、ブドウ糖代謝に関わるピルビン酸カルボキシラーゼ (*Pcx*)、膵 β 細胞機能や成熟に関わる転写因子である *Nkx6.1*、*Mafa*、*Pdx1*、増殖に関わる *Ki67*、*Ccnd2* の発現が増加していることが明らかになった。一方、酸化ストレスに関連する遺伝子である *Atf3* や *Cyba* は $\beta Gck^{+/-}db/db$ マウスで減少していた。メタボローム解析では、解糖系に属するフルクトース 6-リン酸、ピルビン酸、乳酸などの代謝物が減少し、TCA 回路や酸化的リン酸化に関連するイソクエン酸や ATP が増加していた。

【考察】

これらの結果から、膵 β 細胞のグルコキナーゼを抑制することで、酸化ストレスが軽減し、膵 β 細胞関連転写因子の発現が上昇すると同時に、膵島の代謝パターンが糖尿病性膵島で観察されるような解糖系優位から、TCA サイクルと酸化的リン酸化優位へとシフトすることで、膵 β 細胞量が増大し、耐糖能が改善することが示唆された。

【結論】

膵 β 細胞特異的グルコキナーゼの抑制が、過剰なグルコースシグナルを抑制（適正化）することにつながり、ブドウ糖毒性による膵 β 細胞不全を抑制し、膵 β 細胞機能ならびに膵 β 細胞量を保持することで耐糖能を改善するということを、個体レベルで明らかにした。