

主論文の要旨

Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor anagliptin facilitates restoration of dextran sulfate sodium-induced colitis

ジペプチジルペプチダーゼ4阻害薬アナグリプチンはデキストラン硫酸ナトリウム誘発腸炎での病変の修復を促進する

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻
病態内科学講座 消化器内科学分野

(指導：後藤 秀実 教授)

三村 俊哉

【諸言】

炎症性腸疾患は腸管粘膜の慢性炎症を特徴とする。現在の炎症性腸疾患の治療には5-アミノサリチル酸、抗 TNF- α 抗体、副腎皮質ステロイド、免疫抑制剤が用いられている。しかし難治例が数多く存在するため、長期投与に適した新たな治療法の開発の必要性がある。Glucagon-like peptide-2 (GLP-2)は、腸管の内分泌細胞から分泌されるペプチドホルモンで、腸管上皮の増殖促進作用を持つ。GLP-2の投与によって炎症により傷害された腸管粘膜が再生される事は既に報告されている。生理的環境下において、分泌後のGLP-2はDipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)による切断で急速にその活性を失う。DPP-4は種々の成長因子、ホルモン、ケモカイン、神経ペプチドのN末端からアミノ酸を2個切断しその生理的活性を変化させる。選択的DPP-4阻害薬はインクレチンの作用を増強する2型糖尿病治療薬として臨床応用されている。DPP-4抑制は内因性GLP-2の作用を増強する事を介して、炎症性腸疾患に何らかの治療的効果を示す可能性がある。しかし、その点については十分明らかになっていない。本研究では選択的DPP-4阻害薬アナグリプチンの、炎症性腸疾患の動物モデルであるDextran sulfate sodium (DSS)誘発腸炎に対する効果を評価した。

【方法】

8週齢雄C57BL/6マウスをアナグリプチン投与群と非投与群に分けた。DSS1.5%混入飲料水を7日間投与、その後通常の飲料水を7日間投与、最大14日間の観察を行った。アナグリプチンは餌に0.1%の濃度で混入しDSS投与2日前から開始した。餌と飲料水の消費量を測定した。DSS開始後の第7、第10、第14日に動物の解剖を行い、血漿と大腸を採取した(n=8, 8, 7)。健常8週齢雄C57BL/6マウスを正常コントロールとして同様に検体を採取した(n=8)。体重減少率およびDisease activity index (DAI)で症状の評価を行った。大腸の長さ、大腸組織へマトキシリンエオジン染色標本のHistological scoreを用いて、大腸炎の程度を病理学的に評価した。Ki67免疫染色で大腸上皮の増殖を評価した。大腸への好中球浸潤の程度を組織myeloperoxidase (MPO)活性で評価した。血漿および大腸組織のDPP-4活性を、蛍光基質(H-Gly-Pro-AMC)を用いて測定した。大腸組織のinsulin-like growth factor-1 (IGF-1)、keratinocyte growth factor (KGF)のmRNAの発現を評価した。血漿グルコース濃度を血糖測定器で測定した。血漿中のtotal GLP-1、total GLP-2をELIZA法、EIA法で測定した。本研究は名古屋大学動物実験委員会の承認を得て行った。

【結果】

アナグリプチン投与群では血漿および組織DPP-4活性が非投与群に対して有意に低下した(Fig. 1)。DSS投与終了時の第7日では体重減少率、DAIにアナグリプチン投与群と非投与群の間で有意差は無かった。しかし、DSS投与中止後の回復期にアナグリプチン投与群は非投与群に対して体重減少率、DAIの有意な改善を認めた(Fig. 2)。大腸の長さは第10、14日にアナグリプチン投与群で有意に長く、Histological score

は第 14 日にアナグリプチン投与群で有意に軽度であった (Fig. 3)。アナグリプチン投与群で第 10、14 日において大腸上皮の Ki67 陽性細胞率の有意な増加が認められた (Fig. 4)。IGF-1 の mRNA の大腸での発現に、DSS 投与を行った両群で、健常コントロールに対して有意な増加が認められた。KGF の mRNA の発現には有意差は無かった (Fig. 4)。組織 MPO 活性はアナグリプチン投与群と非投与群の間に有意差は無かった (Fig. 5)。アナグリプチン投与群と非投与群の間に、血漿 total GLP-1、total GLP-2、グルコース値に有意差は無かった (Table 1)。餌と水の消費量に、アナグリプチン投与群と非投与群の間の有意差はなかった。

【考察】

アナグリプチンによって血漿と大腸組織の DPP-4 活性は適切に抑制された。アナグリプチンは DSS 誘発腸炎の回復期における症状と病理学的所見を明らかに改善した。アナグリプチンは DPP-8,9 に対して 10 万倍以上の DPP-4 選択性を持つ薬剤であり、これは DPP-4 阻害を介した作用であると言える。非選択性 DPP-4 阻害薬が DSS 誘発腸炎の発症を抑制する事が既に報告されているが、本研究の第 7 日の症状、大腸病理所見、MPO 活性からアナグリプチンには DSS 誘発腸炎の発症を防ぐ効果は無いと言える。さらに我々は、アナグリプチンは DSS により傷害された大腸の上皮細胞の増殖を促進し、粘膜修復を高める事を示した。選択性 DPP-4 阻害薬シタグリプチンが短腸症候群の動物モデルにおいて、腸管上皮の増殖促進作用と血清活性型 GLP-2 濃度上昇作用を示したと報告されている。本研究では活性型 GLP-2 濃度の測定を行っていないが、アナグリプチン投与群と非投与群の血漿 total GLP-2 濃度は同程度であった。過去の報告を考慮すると、DPP-4 が有意に抑制されたアナグリプチン投与群では活性型 GLP-2 が増加していたと推測される。GLP-2 の腸管上皮増殖作用は、局所での IGF-1、KGF 分泌を介していると過去の研究でも報告されている。IGF-1 の投与で腸管上皮の増殖が有意に高まったという過去の報告がある。本研究では大腸組織の IGF-1 の mRNA の発現に、アナグリプチン投与群で増加の傾向は見られたが、有意差はなかった。IGF-1 は構造的に DPP-4 の切断を受けるペプチドである。また腸管は DPP-4 活性に富んだ組織である。これらを考慮すると、腸管組織の DPP-4 の抑制により、腸管局所の IGF-1 シグナルは mRNA の発現以上に増強されていた可能性が考えられる。

【結語】

選択的 DPP-4 阻害薬アナグリプチンは DSS 誘発腸炎により傷害された大腸粘膜の修復を高め、回復期における症状を改善した。この結果は選択的 DPP-4 阻害薬が炎症性腸疾患の治療に応用できる可能性を示唆した。