

氏 名	さが ら まさ あき 相 良 匡 昭
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第727号
学位授与の日付	平成31年3月6日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (内科学（内分泌代謝）)
学位論文題目	<b>Impact of teneligliptin on oxidative stress and endothelial function in type 2 diabetes patients with chronic kidney disease : a case-control study</b> <b>(慢性腎臓病合併2型糖尿病患者におけるテネリグリプチンの酸化ストレスおよび血管内皮機能に及ぼす影響)</b>
論文審査委員	(主査) 教授 菱 沼 昭 (副査) 教授 石 光 俊 彦 教授 杉 本 博 之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【背 景】

Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬は、内因性インクレチンホルモンのglucagon-like peptide-1 (GLP-1) と glucose-dependent insulintropic peptide (GIP) 濃度を生理学レベルで上昇させ、血糖依存性のインスリン分泌促進により食後血糖低下作用を示す経口糖尿病治療薬である。糖尿病患者において血糖変動幅の増大（血糖スパイク）は酸化ストレスを誘発し、血管内皮細胞のアポトーシスを介して、血管内皮機能障害を惹起させることが指摘されているが、DPP-4阻害薬は血糖変動幅を改善させることが報告されている。

糖尿病性腎臓病は、慢性腎臓病（CKD）の一つとして、末期腎不全のみならず、心血管病の危険因子として確立されつつある。CKDは酸化ストレスの増加および血管内皮機能障害などを引き起こし、心血管イベントの発症および死亡率を上昇させることが知られている。

DPP-4阻害薬の一つであるテネリグリプチンは、他のDPP-4阻害薬と異なり、主に肝臓で代謝される薬剤であるため、CKDを有する患者において用量の変更なく投与可能であり、さらに構造的特徴から抗酸化作用を発揮することが期待されている。

### 【目 的】

今回、我々はCKD合併2型糖尿病患者を対象として、テネリグリプチンの酸化ストレスおよび血管内皮機能への影響について、他のDPP-4阻害薬であるシタグリプチンと比較検討した。

## 【対象と方法】

本研究は獨協医科大学生命倫理委員会の承認のもと対象患者に対しインフォームド・コンセントを取得し実施された。獨協医科大学病院内分泌代謝内科の外来に通院するCKD合併2型糖尿病患者45例を対象とした。選択基準は(1)年齢20歳以上、(2)HbA1c 6.5%以上を有する2型糖尿病、(3)CKD [推算糸球体濾過率 (eGFR) < 60mL /分/1.73m<sup>2</sup>]または30 mg/gCr以上の微量アルブミン尿を認める、(4)シタグリプチンで1年以上治療している、とした。

シタグリプチンの12ヶ月間以上の投与を受けた45名の糖尿病患者は、無作為にシタグリプチン群23例とテネリグリプチン群22例に割り付けられた。シタグリプチン群は50~100mg/日を継続とし、テネリグリプチン群はシタグリプチンからテネリグリプチン20mg/日へ切り替えられた。評価項目として、血管内皮機能、酸化ストレスマーカーなど種々のパラメーターなどが測定された。血管内皮機能はEndoPAT2000 (Itamar Medical Ltd.製)を用いて反応性充血指数 (reactive hyperaemia index : RHI) を指標として、試験開始時と24週後に測定した。血管内皮機能障害はRHI<1.67と定義した。酸化ストレスの評価には、d-ROMs (Diacron-reactive oxygen metabolites) テストを用い、試験開始時と24週後に測定した。d-ROMsは*in vitro*のアッセイであり、血液中の活性酸素であるヒドロペルオキシド (ROOH) を定量化して、生体内の酸化ストレスを評価する。さらに、8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン (8-OHdG) および8-イソプロスタノールも酸化ストレスマーカーとして測定した。HbA1c、血清脂質値、肝機能、eGFR、尿中アルブミン排泄量 (UAE)、尿中肝臓型脂肪酸結合蛋白 (liver-type fatty acid binding protein : L-FABP) などを試験開始時、12週間、24週間のポイントで測定した。

この期間中、血糖降下薬、降圧薬 (アンジオテンシン変換酵素阻害薬、アンジオテンシンⅡ受容体遮断薬など) の新規投与あるいは用量の変更は原則、禁止とした。

統計学的解析については、すべてのデータを平均±標準偏差あるいは中央値と四分位で表記した。群間比較はunpaired testまたはMann-Whitney U testを用い、対応のある2標本については、paired test、Wilcoxon's matched pairs testを用いて検定した。2因子の相関については直線回帰にて分析した。p<0.05をもって、統計学的有意差ありと判定した。

## 【結 果】

両群において、空腹時血糖値、HbA1c、血清C-ペプチド、脂質プロファイル、血圧、UAEはいずれも投与前後で有意な変化を認めなかった。

テネリグリプチン群において、RHI値は投与前の $1.49 \pm 0.32$ から投与後には $1.55 \pm 0.29$ に有意に上昇 ( $p < 0.01$ ) したが、シタグリプチン群では有意な変化を示さなかった。RHI上昇率は、テネリグリプチン群において、シタグリプチン群の変化率より有意に大きかった ( $p < 0.05$ )。酸化ストレスマーカーであるd-ROMsは、テネリグリプチン群で $399.8 \pm 88.4$ から $355.5 \pm 92.0$  U.CARRと有意に低下 ( $p < 0.01$ ) したが、シタグリプチン群では有意な変化を認めなかった。さらに、テネリグリプチン群では、8-OHdGは $7.1 \pm 4.9$ から $5.4 \pm 2.9$  ng/mg.Crへと有意な低下を示した。尿中L-FABPはテネリグリプチン群では有意に減少した ( $p < 0.05$ ) が、シタグリプチン群では低下を認めなかった。テネリグリプチン群において、投与前後のRHI変化率とd-ROMs変化率との間に有意な負の相関が認められた ( $r = -0.477$ ,

p<0.05)。

### 【考 察】

今回の研究では、12か月間以上シタグリプチンを投与されたCKD合併2型糖尿病患者において、テネリグリプチンへの変更後24週間投与により、酸化ストレスマーカーの低下と血管内皮機能の改善が示された。テネリグリプチン投与後のRHI変化率とd-ROMs変化率の間に有意な負の相関が認められたことから、テネリグリプチンは酸化ストレス抑制作用を介して、血管内皮機能を改善させた可能性が示唆された。また、テネリグリプチンは尿中L-FABPを有意に低下させたが、近位尿細管細胞においても抗酸化作用を介して腎保護に働いたことが考えられる。テネリグリプチンは、心・腎保護作用により、心腎連関を断ち切り、CKD合併2型糖尿病患者において心血管イベントを阻止できる可能性が期待される。

テネリグリプチンの酸化ストレス改善作用の機序として、テネリグリプチン構造内の硫黄原子がフリーラジカル・スカベンジャーとなり、ヒドロキシラジカルと反応して自らが酸化されることで、酸化ストレスを減少させる可能性が指摘されている。今回の研究でも、テネリグリプチンが複数の酸化ストレスマーカーを低下させることが確認された。

### 【結 論】

今回の研究で、テネリグリプチンはCKD合併2型糖尿病患者において血糖低下作用に独立して、酸化ストレスを減少させ、血管内皮機能の改善あるいは腎臓保護作用を有することが示された。これらの改善作用は、DPP-4阻害薬の中でもテネリグリプチンの構造的特徴によるフリーラジカル消去能と関連している可能性が考えられた。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

### 【論文概要】

Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬の1つであるテネリグリプチンは、他のDPP-4阻害薬とは異なり、主に肝・胆汁で代謝される薬剤であるため、腎障害を有する2型糖尿病患者において安全に投与することができる。さらに構造的特徴から抗酸化作用を有することが期待されている。慢性腎臓病 (CKD) は酸化ストレスなどの原因で血管内皮機能障害を引き起こし、心血管イベントの発症および死亡率を上昇させることが知られている。申請論文では、テネリグリプチンの酸化ストレスおよび血管内皮機能への影響を明らかにすることを目的として、CKD合併2型糖尿病患者45例を対象としてシタグリプチンをコントロールとして比較検討している。結果として、両群間で、HbA1c、血圧、推算糸球体濾過率 (eGFR)、尿中アルブミン量に変化は認められなかったが、テネリグリプチン群のみで、血管内皮機能として反応性充血指数 (reactive hyperaemia index : RHI) の改善、酸化ストレスマーカーのd-ROMs (Diacron-reactive oxygen metabolites) テストならびに尿中8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン (8-OHdG) の低下、尿細管障害マーカーとして尿中肝臓型脂肪酸結合蛋白 (liver-type fatty acid binding protein : L-FABP) の減少が認められた。テネリグリプチン群では、RHIとd-ROMsの変化率の間には有意な負の相関が認められた。これらの結果から、テネリグリプ

ンは酸化ストレスを軽減させることで、血管内皮機能改善ならびに腎保護などの多面的作用を有する可能性がある」と結論づけている。その理由として、テネリグリプチンの構造上有する硫黄（S）原子がラジカル・スカベンジャーと働き、抗酸化作用を発揮したものと考察している。

#### 【研究方法の妥当性】

申請論文では、血管内皮細胞機能障害が顕著で心血管疾患のリスクが高いCKD合併2型糖尿病患者を対象として、1対1で無作為に、テネリグリプチン群とシタグリプチン群の2群に割り付けられている。割り付け後のベースラインの患者背景では臨床指標において有意差を認めず、適切な対象群の設定と割り付けがなされている。血管内皮細胞機能は、FDAで承認を得ているEndo-PATを用いて適切に評価されている。酸化ストレスの評価は、d-ROMsおよび8-OhdGと複数のマーカーで検討されており、その信頼度は高い。腎障害の評価においても、尿中アルブミン、尿中L-FABP、推定糸球体濾過量と複数の客観的なマーカーを採用している。また、得られた結果に対して適切な統計解析を行っており、本研究方法は妥当なものである。

#### 【研究結果の新奇性・独創性】

DPP-4阻害薬の中でも、特異な排泄経路および構造的な特徴を有するテネリグリプチンを用いた、酸化ストレス、血管内皮細胞機能、近位尿細管機能を同時に検討した初めての臨床研究である。申請論文では、心血管イベント・心血管死リスクの高いCKD合併2型糖尿病患者を対象として、シタグリプチンをコントロールに置いて、テネリグリプチンの有する酸化ストレス減少、血管内皮機能改善、腎保護作用を明らかにした。すなわち、血糖低下作用に依存しないテネリグリプチンの多面的効果の結果、同薬剤が心血管イベント・心血管死のリスクを減少させる可能性を示した。この点において本研究は新奇性・独創性に優れた研究と評価する。

#### 【結論の妥当性】

申請論文では、比較する対照群を置き、適切な対象患者を1：1に無作為に割り付けにより得られた結果を適切な統計解析を用いて、テネリグリプチンの酸化ストレス、血管内皮機能、腎機能への影響を検討した。そこから導き出された結論は、論理的に矛盾するものではなく、関連領域の知見を踏まえても妥当なものである。

#### 【当該分野における位置付け】

申請論文では、テネリグリプチンが固有の抗酸化作用から、血管内皮機能改善と腎保護作用を有する可能性が指摘されている。その結果、心血管イベントのリスク軽減に期待される。CKD合併2型糖尿病患者の予後の改善には、心血管および腎イベントの抑制が重要になるが、ハイリスク患者への薬剤選択基準の根拠となる研究結果と高く評価される。

#### 【申請者の研究能力】

申請者は、血管内皮機能や酸化ストレス、CKDの理論を学び、研究計画を立案した後、適切に本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究成果は当該領域の国際誌への掲載が承認されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

**【学位授与の可否】**

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士（医学）の学位授与に相応しいと判定した。

**（主論文公表誌）**

Cardiovascular Diabetology

(15 : 76-85, 2016)