

氏名（本籍）	<small>あかはね けんじ</small> 赤羽 研二（長野県）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	論博第 354 号
学位授与の日付	平成 30 年 3 月 14 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	速効性インスリン分泌促進薬：ミチグリニドー糖尿病治療における併用薬としての有用性評価ー
論文審査委員	（主査） 教授 市田 公美 教授 馬場 広子 教授 田野中 浩一 教授 平野 俊彦

## 論文内容の要旨

人類が発展するにつれて糖尿病患者は増加し、患者数は 4.2 億人におよび、1980 年のその約 4 倍に増加している。一方、糖尿病医療の発展も目覚ましく、糖尿病の治療には運動療法、インスリンに加え経口血糖降下薬が使用されている。現在、我が国においては sulfonylurea (SU) 薬、ビッグアナイド薬、ピオグリタゾン、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬 ( $\alpha$ -GI)、速効性インスリン分泌促進薬（グリニド薬）、Dipeptidyl Peptidase-IV (DPP-IV) 阻害薬、sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) 阻害薬などが治療に用いられ、単独投与はもちろんとし、様々な組み合わせで併用されている。しかしながら、作用機序の異なる薬物での併用療法は、相乗的な血糖低下作用による低血糖リスクのみならず、副作用を含めた各薬物の有害事象を併用で補完できることが重要となる。

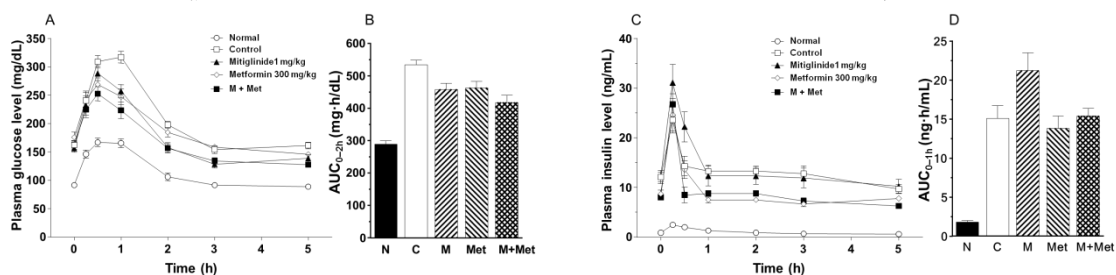
食後血糖値の急激な増大を抑制することは HbA1c レベルの目標値を達成することと同様に病態の進展抑制に重要である。そのため、HbA1c 値の抑制に加え、食後高血糖の是正を介した病態の進展抑制は薬物治療戦略で重要となる。現状では食後高血糖の改善と食後の早期のインスリンを分泌させる薬物はグリニド薬だけである。グリニド薬により食後のインスリン分泌動態が生理的な作用と同様に維持される特徴は他の薬物にはないため、併用を考えた際にグリニド薬の適用は大きなメリットとなる。

ミチグリニドはグリニド薬であり、速効性のインスリン分泌促進作用で食後の血糖上昇を抑制する。ミチグリニドは他の薬物との併用により、単独投与よりも効率的な食後の血糖上昇抑制作用と低血糖の回避を可能とするが、動物モデルでの一連の薬物併用によるメカニズムおよび有用性についての解析は十分にされていない。本研究目的は、ミチグリニドとインスリン抵抗性改善薬、 $\alpha$ -GI 薬、SGLT2 阻害薬および DPP-IV 阻害薬との併

用効果を解析することで、糖尿病治療のための併用薬としてのミチグリニドの有用性を検証することとした。

## 第1章 インスリン抵抗性改善薬（メトホルミン、ピオグリタゾン）との併用効果

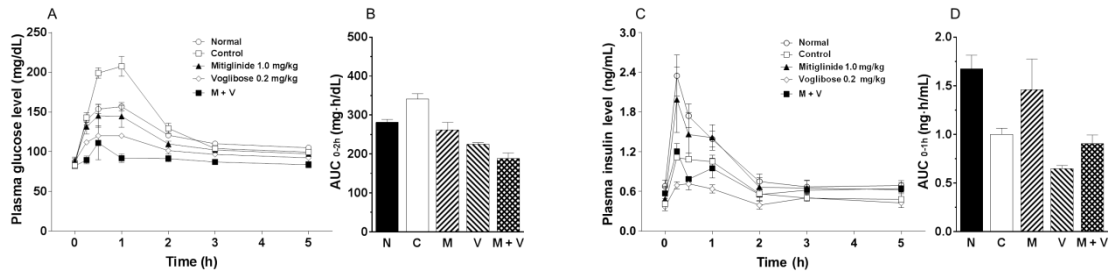
ミチグリニドとインスリン抵抗性改善薬であるメトホルミンやピオグリタゾンの併用効果を *zucker fatty* (ZF) ラットで検討した。メトホルミンやピオグリタゾンは ZF ラットへの反復投与で、高血糖並びに高インスリン血症を改善した。ここにミチグリニドを併用することで更なる血糖降下作用とインスリン分泌の節約作用がみられた。インスリン抵抗性改善薬とミチグリニドの組合せにおいて、ミチグリニドはインスリン分泌で、メトホルミンあるいはピオグリタゾンは食後の高血糖改善効果で2薬の併用による有益性が確認された。ミチグリニドとこれら薬物との併用は、食後血糖値が高いインスリン抵抗性改善薬を使用する患者および夜間あるいは空腹時の血糖値が高いミチグリニドを使用する患者に有効と考えられる。



**Figure 1**  
Effects of mitiglinide, metformin, and their combination on plasma glucose and insulin levels  
(A) Temporal transition of plasma glucose levels, (B) glucose AUC<sub>0-2h</sub>, (C) temporal transition of plasma insulin levels, and (D) insulin AUC<sub>0-1h</sub> in OGTT (1 g/kg) in ZF rats. Data are means  $\pm$  SEM of 12 animals. N: normal, C: control, M: mitiglinide, Met: metformin.

## 第2章 $\alpha$ -GI薬：ボグリボースとの併用効果

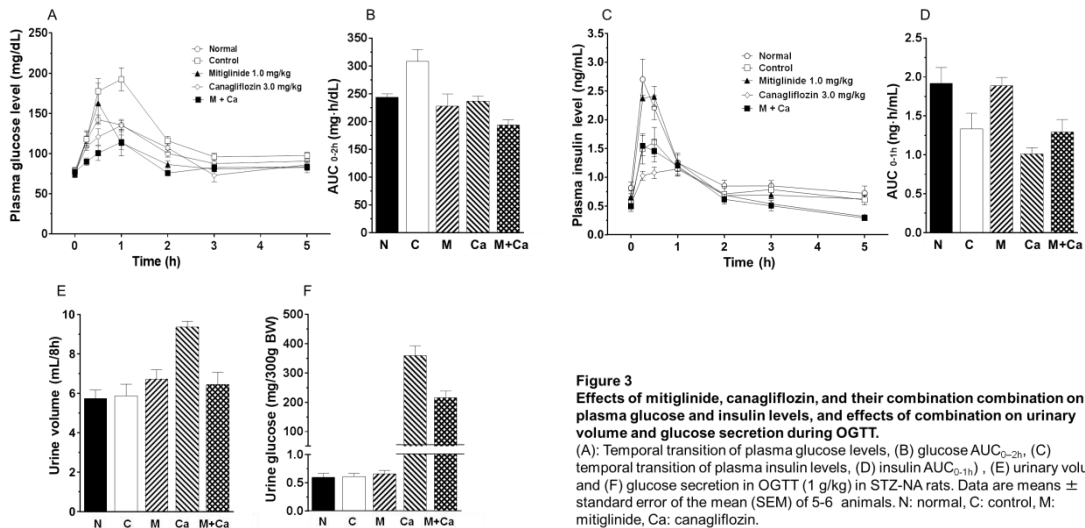
ミチグリニドと  $\alpha$ -GI薬であるボグリボースの併用効果を単回投与では streptozotocin-nicotinamide (STZ-NA) ラットで、反復投与では *zucker diabetic fatty* (ZDF) ラットで検討した。STZ-NA ラットを用いた実験結果から、ミチグリニドとボグリボースは併用で強力な食後高血糖降下作用を示した。ミチグリニドはインスリン分泌量の節約効果で、ボグリボースは生理的なインスリン分泌の付加で併用による有益性が認められた。単回の両薬物の併用は食後血糖上昇を是正したい糖尿病患者、特に食後の血糖値のみが高くなる IGT 患者には食間の低血糖リスクが小さく、かつ食後の血糖上昇を強力に抑制できる有効な薬物の組合せと考えられた。さらに ZDF ラットを用いた実験結果から、この併用は腓ランゲルハンス島の病理組織学的な変性を抑制し、糖尿病の症状進行を遅延させた。本実験結果は、ミチグリニドおよびボグリボースが2型糖尿病患者の病態進展に対して大きな効果を発揮することを期待させる。



**Figure 2**  
**Effects of mitiglinide, voglibose, and their combination on the plasma glucose levels and insulin levels**  
 (A) Temporal transition of plasma glucose levels, (B) glucose AUC<sub>0-2h</sub>, (C) temporal transition of plasma insulin levels, and (D) insulin AUC<sub>0-1h</sub> in OSTT (2.5 g/kg) in STZ-NA rats. Data are mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM) of 6 animals. N: normal, C: control, M: mitiglinide, V: voglibose.

### 第3章 SGLT2 阻害薬 (ダパグリフロジン, カナグリフロジン) との併用効果

ミチグリニドと SGLT2 阻害薬であるダパグリフロジンあるいはカナグリフロジンの併用効果を ZF ラットおよび STZ-NA ラットを用いて検討した。両ラットにおいて、ダパグリフロジンあるいはカナグリフロジンはミチグリニドとの併用で相加的に血糖降下作用を増強し、かつインスリン分泌を節約した。さらにミチグリニドの併用は SGLT2 阻害薬の特徴でもある尿糖排泄量を SGLT2 阻害薬の単独投与のそれと比較しておよそ 50%まで減少させた。本章の結果から、SGLT2 阻害薬とミチグリニドの組合せで、ミチグリニドはインスリン分泌で、SGLT2 阻害薬は食後の高血糖改善効果とそれに伴う尿糖排泄量の低下で併用による有益性が確認された。これらの結果からミチグリニドと SGLT2 阻害薬の併用は SGLT2 阻害薬を使用していながら食後血糖値が高い患者あるいは、ミチグリニドを使用しながら肥満を伴い夜間および空腹時の血糖値が高い患者に有効であることが示された。

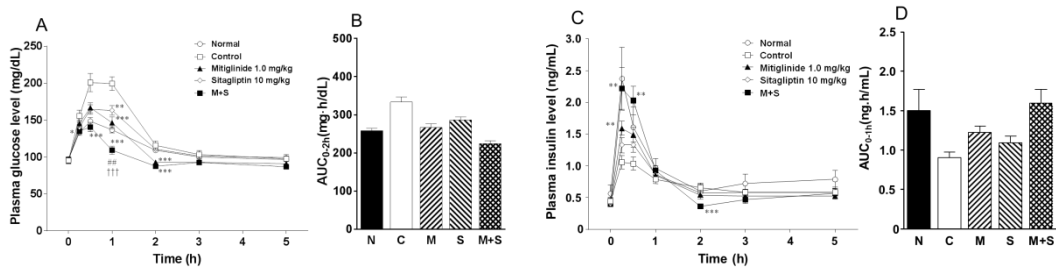


**Figure 3**  
**Effects of mitiglinide, canagliflozin, and their combination on plasma glucose and insulin levels, and effects of combination on urinary volume and glucose secretion during OGTT.**  
 (A) Temporal transition of plasma glucose levels, (B) glucose AUC<sub>0-2h</sub>, (C) temporal transition of plasma insulin levels, (D) insulin AUC<sub>0-1h</sub>, (E) urinary volume and (F) glucose secretion in OGTT (1 g/kg) in STZ-NA rats. Data are means  $\pm$  standard error of the mean (SEM) of 5-6 animals. N: normal, C: control, M: mitiglinide, Ca: canagliflozin.

### 第4章 DPP-IV 阻害薬 (シタグリプチン) との併用効果

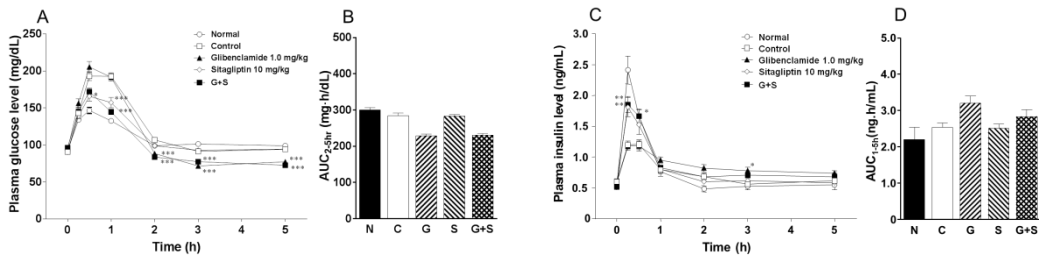
ミチグリニドと DPP-IV 阻害薬であるシタグリプチンの併用効果を STZ-NA ラットを用いて検討した。ミチグリニドはシタグリプチンと併用することで相加的な血糖降下作用と早期のインスリン分泌作用の増強を示した。さらに、シタグリプチンとミチグリニドの併用の効果を、シタグリプチンと SU 薬であるグリベンクラミドとの併用のそれと比較検討した。

ミチグリニドは併用時に、投与直後からのインスリン分泌を促進させることで、投与初期の血糖降下作用のみを増強した。



**Figure 4**  
Effects of mitigliidine, sitagliptin, and their combination on plasma glucose and insulin levels : (A) Temporal transition of plasma glucose levels, (B) glucose  $AUC_{0-2h}$ , (C) temporal transition of plasma insulin levels, and (D) insulin  $AUC_{0-1h}$  in OGTT (1 g/kg) in STZ-NA rats. Data are means  $\pm$  SEM of 10-16 animals. N: normal, C: control, M: mitigliidine, S: sitagliptin. Glucose: \*\*\*  $P < 0.001$  \*  $P < 0.05$  vs control. (Mitigliidine, 1 h:  $P < 0.0001$ , 2 h:  $P = 0.0004$ ; Sitagliptin, 1 h:  $P = 0.0052$ ; Mitigliidine + Sitagliptin, 15 min:  $P = 0.0488$ , 0.5 h:  $P < 0.0001$ , 1 h:  $P < 0.0001$ , 2 h:  $P < 0.0001$ ).#  $P < 0.01$  vs Mitigliidine. †††  $P < 0.001$  vs Sitagliptin. (Mitigliidine + Sitagliptin, 1 h:  $P = 0.0034$  vs. mitigliidine; 1 h:  $P < 0.0001$  vs. sitagliptin). Insulin: \*\*\*  $P < 0.001$  \*\*  $P < 0.01$  \*  $P < 0.05$  vs control. (Mitigliidine, 15 min,  $P = 0.009$ ; Mitigliidine + Sitagliptin, 15 min:  $P = 0.0014$ , 0.5 h:  $P = 0.0001$ , 2 h:  $P < 0.0001$ ).

一方、グリベンクラミドはシタグリプチンとの併用時に食間のインスリン分泌を増強させることで、食間の血糖値を低下させた。ミチグリニドとDPP-IV阻害薬の併用は、DPP-IV阻害薬の単独投与で血糖値の制御が不十分な糖尿病患者に対し、食後高血糖を制御すると同時に低血糖リスクを回避する、薬物治療の有効性と安全性の観点から有益な薬物の組み合わせであることが示唆された。



**Figure 5**  
Effects of glibenclamide, sitagliptin, and their combination on plasma glucose and insulin levels : (A) Temporal transition of plasma glucose levels, (B) glucose  $AUC_{0-5h}$ , (C) temporal transition of plasma insulin levels, and (D) insulin  $AUC_{0-1h}$  in OGTT (1 g/kg) in STZ-NA rats. Data are means  $\pm$  SEM of 10-16 animals. N: normal, C: control, G: glibenclamide, S: sitagliptin. \*\*\*  $P < 0.001$  \*  $P < 0.05$  vs control. (glibenclamide, 2 h, 3 h, 5 h,  $P < 0.0001$ ; sitagliptin, 0.5 h,  $P = 0.0172$ ; 1 h,  $P < 0.0001$ ; glibenclamide + sitagliptin, 1 h, 2 h, 3 h, 5 h,  $P < 0.0001$ ). Insulin: \*\*  $P < 0.01$  \*  $P < 0.05$  vs control. (Sitagliptin, 15 min,  $P = 0.0071$ ; Glibenclamide, 3 h,  $P = 0.0033$ ; Glibenclamide + Sitagliptin, 15 min,  $P = 0.0023$ , 0.5 h,  $P = 0.0171$ ).

## 総括

早期かつ短時間のインスリン分泌作用により食後高血糖を是正する薬物であるミチグリニドと5種類6薬の経口血糖降下薬の併用効果を検討した。全ての併用検討で、ミチグリニドは相加的な血糖降下作用を示したことから、臨床における併用療法において、薬物の単独投与に比較してより効果的な血糖値の制御を可能にすることが期待される。さらに、ミチグリニドは単独および他の薬物との併用で、低血糖状態を示さなかったことから、単独投与だけでなく併用薬としてもミチグリニドが有用かつ安全であることを実験動物モデルで初めて示すことができた。

ミチグリニドによる膵ランゲルハンス島  $\beta$  細胞の疲弊も少なからずあるが、本研究の一連の検討により、他の薬物と併用をすることによりミチグリニドの薬効を発揮させると同時に、有害事象の発生を回避することができることを示した。また、本試験の結果から、相加的な血糖降下作用が認められたことは、単純な薬物の作用強化には留まらず、薬物の単独投与の服用量を減量することにより、血糖降下作用を維持しながら各糖尿病治

療薬が抱えている有害事象を減弱させる可能性も示された。

本研究でのミチグリニドでの一連の薬物併用の検討は、血糖値およびインスリン分泌の解析により、併用薬としてのミチグリニドの有用性を動物モデルで初めて示すことができた。現在の薬物で制御が難しい食後高血糖の抑制を目的として併用薬を選択する場合、早期の生理的状态に近似したインスリン分泌により食後の血糖上昇を抑制するとともに低血糖リスクが少ない速効性インスリン分泌促進薬は併用療法に適した有用な糖尿病治療薬の一つと考えられる。

[研究結果の掲載雑誌]

(1) *Drug Research.*, **65**, 416-421 (2015).

(2) *Drug Research.*, **67**, 396-403 (2017).

(3) *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.*, **44**, 1263-1271 (2017).

## 論文審査の結果の要旨

今回の赤羽研二氏の研究目的は、速効性インスリン分泌促進作用を持つグリニド系経口血糖降下薬、ミチグリニドと 5 種類の 6 薬物の経口血糖降下薬の併用効果を各種糖尿病動物を用いて明らかにすることで、併用薬としてのミチグリニドの有用性を検証することである。

第 1 章ではミチグリニドとインスリン抵抗性改善薬であるメトホルミンやピオグリタゾンの併用効果を **zucker fatty (ZF)** ラットにて検討した。インスリン抵抗性改善薬は反復投与により、高血糖並びに高インスリン血症を改善させた。ここにミチグリニドを併用することで更なる血糖降下作用とインスリン分泌の節約作用がみられた。ミチグリニドにとってはインスリン分泌の面で、インスリン抵抗性改善薬にとっては食後の高血糖改善効果の面で併用によるメリットが確認された。

第 2 章ではミチグリニドと  $\alpha$ -glucosidase 阻害薬であるボグリボースの併用効果を単回併用では **streptozotocin-nicotinamide (STZ-NA)** ラットで、反復併用では **zucker diabetic fatty (ZDF)** ラットで検討した。STZ-NA ラットでの結果では、両薬物の併用により強力な食後高血糖降下作用を示した。ミチグリニドにとってはインスリン分泌の節約効果で、 $\alpha$ -glucosidase 阻害薬にとっては生理的なインスリン分泌の追加で併用によるメリットが確認された。さらに ZDF ラットの結果では、両薬物の反復併用により、膵  $\beta$  細胞の病理組織学的な変性を抑制し、病態進展抑制による合併症の予防に有効である可能性を示した。

第 3 章ではミチグリニドと **sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2)** 阻害薬であるダパグリフロジンやカナグリフロジンの併用効果を ZF ラットおよび STZ-NA ラットにて検討した。両ラットにおいて、SGLT2 阻害薬はミチグリニドと併用することで相加的な血糖降下作用の増強と、ミチグリニドは SGLT2 阻害薬と併用することでインスリン分泌の節約作用がみられた。さらに尿糖排泄量を SGLT2 阻害薬単独投与と比較して半減させた。ミチグリニドにとってはインスリン分泌の面で、SGLT2 阻害薬にとっては食後の高血糖改善効果とそれに伴う尿糖排泄量の低下の面で併用によるメリットが確認された。

第 4 章では **Dipeptidyl Peptidase-IV (DPP-IV)** 阻害薬であるシタグリプチンとの併用効果をミチグリニドと **sulfonylurea (SU)** 薬であるグリベンクラミドとで STZ-NA ラットにて比較検討した。シタグリプチンはミチグリニドと併用することで相加的な血糖降下作用と早期のインスリン分泌作用の増強がみられた。一方、グリベンクラミドとの併用では併用効果は認められず、また食間の低血糖リスクを増強する結果となった。ミチグリニドとシタグリプチンの併用は食後に効果を追加でき、食間の低血糖リスクも低いことから、ミチグリニドは DPP-IV 阻害薬との併用に適していることが確認された。

以上、今回の一連の併用検討では、併用薬としてのミチグリニドの有用性を動物モデルにおいて初めて示すことができた。本研究で得られた知見は、今後臨床における併用薬の選択に有用である。さらに、経口血糖降下薬間の併用効果検討の動物実験モデルの構築ができたことにより、今後、新規経口血糖降下薬が開発された際の併用薬の選択を開発時に検討することが可能となり、構築の意義は大きい。したがって、本論文は、博士(薬学)学位申請論文としてふさわしいもの

と判断した。