

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (薬学)	氏名	池 村 舞
論文題目	Catalase 誘導体を用いた持続的活性酸素消去による糖尿病及び関連疾患の治療に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>過剰な活性酸素による酸化ストレスは、様々な疾患の発症や進行に関与することが報告されているが、酸化ストレスを制御することによる疾患治療法の開発は十分には進んでいないのが現状である。この原因として、投与される抗酸化物質が、目的部位に十分量到達、維持できないことが挙げられる。これまでに、薬品動態制御学分野では、catalase や superoxide dismutase などの活性酸素消去酵素に化学修飾を施すことにより、体内動態を厳密に制御するとともに、癌転移や虚血再灌流障害などを効率良く抑制可能であることを報告している。しかしながら、その効果は短期的な検討に限られており、慢性疾患に対する有効性は検証されていない。</p> <p>肥満及び糖尿病は、欧米や日本などの先進国を中心に患者数の増大が問題となっている慢性疾患であり、酸化ストレスが全身レベルで持続的に亢進していることが知られている。過剰な活性酸素は、インスリンのシグナル伝達を阻害したり、インスリンを分泌する膵 <math>\beta</math> 細胞を傷害するなど、糖尿病の病態の進行にも関与することが示唆されている。そこで申請者は、血中滞留型 catalase 誘導体を用いて、糖尿病状態で慢性的に亢進する酸化ストレスを持続的に消去することによるインスリン抵抗性の改善を検討するとともに、糖尿病状態で亢進する癌転移の抑制を試みた。さらに、1 型糖尿病の治療法として期待される膵島移植に対して、catalase 誘導体による膵島の生存率改善による治療効果の増強を試みた。</p>			
第 1 章 血中滞留型 catalase によるインスリン抵抗性の改善			
<p>インスリン抵抗性は、インスリンが正常に作用せず、筋肉や脂肪において糖取り込みが低下する状態であり、慢性的かつ全身的に亢進する酸化ストレスの関与が指摘されている。従って、活性酸素消去によるインスリン抵抗性の改善には、活性酸素消去剤が全身にわたって長期的に分布する製剤設計・動態制御が必要と考えられる。そこで、血中滞留性を高めたポリエチレングリコール修飾 catalase (PEG-catalase) によるインスリン抵抗性の改善を試みた。糖尿病モデルマウスへの PEG-catalase の繰り返し投与により、酸化ストレスの効率的な抑制、非絶食下血糖値の低下、インスリン感受性及び耐糖能の改善が可能であった。さらに、ゼラチンハイドロゲルに含浸させることで、PEG-catalase の投与回数を大幅に減少させることも可能であった。以上より、PEG-catalase を用いて持続的に血中の過酸化水素を消去することで、2 型糖尿病治療の重要な治療標的であるインスリン抵抗性を改善可能であることが明らかとなった。</p>			
第 2 章 肥満・糖尿病状態における癌転移の亢進と活性酸素消去による抑制			
疫学的調査によると、肥満や糖尿病では癌の罹患率が高く、癌による死亡率も高い			

ことが報告されているが、その詳細はいまだ明らかではない。そこで、肥満及び糖尿病モデルマウスでの癌細胞動態を解析するとともに、酸化ストレスの影響について検討した。肥満・糖尿病マウスに癌細胞を移植したところ、正常マウスと比較して各臓器中に多くの癌細胞が認められた。また、糖尿病モデルマウスでは癌細胞移植により生存日数が短縮したことから、糖尿病状態では転移が亢進し、癌による死亡率が高まることが推察された。そこで、糖尿病マウスに PEG-catalase を繰り返し投与したところ、酸化ストレス及び血糖値上昇の抑制に加えて、癌細胞移植後の臓器中癌細胞数が正常マウスと同程度にまで抑制された。以上の結果から、糖尿病マウスにおいて亢進する酸化ストレスを制御することにより、糖尿病状態で亢進する癌の進行も抑制可能であることが示された。

### 第3章 Catalase 誘導体による膵島生存率の改善

膵島移植は、インスリンの絶対的不足を特徴とする 1 型糖尿病の根治療法として期待されている。すでに臨床でも行われているが、移植可能な膵島の確保が十分でないことに加えて、治療効果も十分ではない。膵  $\beta$  細胞は、酸化ストレスに極めて弱く、移植時に曝される活性酸素が原因で生存率が低下することも不十分な治療成績の一因と考えられる。そこで、catalase を用いて膵  $\beta$  細胞並びに膵島の生存率改善を試みた。酸化ストレス及び低酸素下における膵  $\beta$  細胞の生存率は、catalase 誘導体であらかじめ処理することで有意に改善された。また、catalase で処理した膵島は、グルコース依存的なインスリン分泌に変化を示さず、糖尿病モデルマウス移植後の血糖値を顕著に低下させた。

以上、申請者は、活性酸素消去酵素 catalase に化学修飾や製剤的工夫を施すことにより、糖尿病状態で亢進する酸化ストレスを効率的に抑制し、インスリン抵抗性などの糖尿病状態や糖尿病で亢進する癌転移を抑制することに成功した。また、catalase 誘導体は、膵島移植による糖尿病治療においても、低酸素環境下等で亢進する酸化ストレスを抑制することで、治療効果を改善した。本研究で得られた知見は、活性酸素消去酵素を用いた慢性疾患の治療法の開発に有益な情報を提供するものとする。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

過剰な活性酸素による酸化ストレスは様々な疾患の発症や進行に関与するが、酸化ストレスの制御による疾患治療法の開発は進んでおらず、その理由として投与される抗酸化物質が目的部位に十分量到達できないことが挙げられる。肥満及び糖尿病では酸化ストレスが全身レベルで持続的に亢進し、過剰な活性酸素がインスリンのシグナル伝達の阻害や膵  $\beta$  細胞の傷害などを引き起こして糖尿病の進行に関与する。そこで著者は、血中滞留型 catalase 誘導体を用いて、糖尿病状態で慢性的に亢進する酸化ストレスを持続的に消去することによるインスリン抵抗性の改善と糖尿病状態で亢進する癌転移の抑制を試みた。さらに、膵島の生存率改善による膵島移植の治療効果の増強についても検討を行った。

先ず、活性酸素消去によるインスリン抵抗性の改善には活性酸素消去剤が全身に長期的に分布する製剤設計・動態制御が必要であることから、血中滞留性を高めたポリエチレングリコール修飾 catalase (PEG-catalase) によるインスリン抵抗性の改善を試みた。糖尿病モデルマウスへの PEG-catalase の繰り返し投与により、酸化ストレスの効率的な抑制、非絶食下血糖値の低下、インスリン感受性及び耐糖能の改善が認められ、2 型糖尿病治療の重要な治療標的であるインスリン抵抗性を改善可能であることが明らかとなった。次に、肥満や糖尿病では癌の罹患率が高いことが報告されていることから、肥満及び糖尿病モデルマウスでの癌細胞動態を解析するとともに、酸化ストレスの影響について検討した。肥満・糖尿病マウスに癌細胞を移植した場合、正常マウスと比較して各臓器中に多くの癌細胞が認められ生存日数も短縮されたことから、糖尿病状態では癌転移が亢進することが推察された。そこで、糖尿病マウスに PEG-catalase を繰り返し投与したところ、酸化ストレス及び血糖値上昇の抑制に加えて癌の進行も抑制された。さらに、1 型糖尿病の治療法として期待されている膵島移植に対し catalase を用いた膵  $\beta$  細胞並びに膵島の生存率改善を試み、酸化ストレス及び低酸素下における膵  $\beta$  細胞の生存率が catalase 誘導体処理により有意に改善され、その移植により糖尿病モデルマウスの血糖値は顕著に低下することを明らかにした。

以上、著者は、活性酸素消去酵素 catalase に化学修飾や製剤的工夫を施すことにより、糖尿病状態で亢進する酸化ストレスを効率的に抑制し、インスリン抵抗性などの糖尿病状態や糖尿病で亢進する癌転移を抑制することに成功した。また、膵島移植時における酸化ストレスを catalase 誘導体を用いて抑制することにより、治療効果の改善を得た。本研究で得られた知見は、活性酸素消去酵素を用いた慢性疾患の治療法の開発に有益な情報を提供するものと考えられる。

よって本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。さらに、平成24年2月22日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成 年 月 日以降