

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	池 堂 太 一
論文題目	Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Anagliptin Prevents Intracranial Aneurysm Growth by Suppressing Macrophage Infiltration and Activation (DPP-4 阻害薬アナグリプチンはマクロファージの浸潤と活性化を抑制し脳動脈瘤増大を予防する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【目的】くも膜下出血は8-67%の患者が死亡、また生存患者のうち40%が社会復帰困難な障害を残す重篤な疾患である。脳動脈瘤破裂が最大の原因であり、未破裂脳動脈瘤に対する破裂予防手術が行われている。しかしながら、脳動脈瘤破裂を抑制する薬剤治療は存在せず、この分野での予防医療の確立が喫緊の課題となっている。これまでの研究において、脳動脈瘤の発生増大には、内皮細胞への流体負荷と、引き続き慢性炎症が関与していることが報告されてきた。また、近年糖尿病薬として使用されている、dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬は、他の慢性炎症関連疾患モデルにおいて、抗炎症効果を発揮することが報告されている。本研究では、DPP-4 阻害薬の実験的脳動脈瘤モデルにおける、脳動脈瘤増大抑制効果及びその分子メカニズムについて検討することを目的とした。</p> <p>【方法】7 週齢オスのSprague Dawley (SD) ラットを用いた。左頸動脈、左腎動脈の結紮を行い、右前大脳動脈-嗅動脈分岐部に脳動脈瘤を作成した。手術後よりVehicle 群、DPP-4 阻害薬であるAnagliptin 300mg/kg 投与群の2 群に分け、手術後2、4 週において脳動脈瘤の形態評価を行った。また、免疫染色法、定量的PCR により脳動脈瘤壁へのマクロファージの集積や炎症関連遺伝子の発現を検討した。さらに、マクロファージ細胞株であるRaw264.7 細胞を用い、Anagliptin の抗炎症作用における分子メカニズムを解析した。</p> <p>【結果】Anagliptin 投与群において、Vehicle 群と比較し2、4 週目における脳動脈瘤サイズ:(高さ+横幅)/2 が抑制された(2 週目サイズ:Vehicle 群 53.6± 4.5 μm vs Anagliptin 群 39.0±2.2 μm, p=0.016; 4 週目サイズ: Vehicle 群 81.6±15.6 μm vs Anagliptin 群 42.9±3.5 μm, p=0.026)。また動脈瘤標本を用いた、免疫染色法、定量的PCR において、Anagliptin 投与群では、マクロファージの集積と、monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1)及びnuclear factor -κB (NF-κB)経路に関わるリン酸化p65 の発現が抑制されていた。</p> <p>次にRaw264.7 細胞を用いた実験では、lipopolysaccharide (LPS)により惹起される炎症性サイトカイン産生がAnagliptin 前処理により抑制された。さらに、ウェスタンブロッティングにおいてAnagliptin はLPS 投与によるp65 リン酸化、extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK 1/2)リン酸化を抑制した。Anagliptin はインクレチン glucagon-like peptide-1 (GLP-1)の分解酵素であるDPP-4 を阻害することで抗糖尿病作用を発揮する。LPS 処置したRaw264.7 細胞に対してAnagliptin 投与に先行し、GLP-1 受容体アンタゴニストであるexendin9-39 を添加し培養液中の炎症性サイトカインを測定した。exendin9-39 前処置によりAnagliptin の抗炎症作用は減弱せず、Anagliptin の抗炎症効果はGLP -1 やGLP-1 受容体を介さない可能性が示唆された。</p> <p>先行研究では、HMG-CoA 還元酵素阻害薬のスタチン投与により、ラット脳動脈瘤モデルにおける脳動脈瘤の増大抑制効果が報告されている。スタチンは、</p> <p>extracellular signal-regulated kinase 5(ERK5)のリン酸化を正に制御することを通じて、内皮細胞における抗炎症作用や、マクロファージの食食作用に関わることが示されている。本論文では、さらに、Anagliptin の抗炎症作用においてもERK5 リン酸化が関与するか否かを調べた。まず、LPS 処置を行ったRaw264.7 細胞に対し、Anagliptin 100 μM を投与し、ウェスタンブロッティングにおいてERK5 がリン酸化されることを見出した。また、ERK5 阻害薬であるBIX02189 で前処置を行うことで、Anagliptin の抗炎症作用によるLPS 刺激によるMCP-1 やinterleukin 6 (IL-6)の上昇抑制効果が減弱すること、さらにp65 リン酸化抑制効果が減弱することを示した。以上の結果より、Anagliptin はERK5 のリン酸化を介し抗炎症効果を発揮することが示された。</p> <p>【結論】DPP-4 阻害薬であるAnagliptin は、ラット脳動脈瘤モデルにおいてマクロファージ浸潤と活性化を抑え、脳動脈瘤増大を抑制する。本論文はAnagliptin などDPP- 4 阻害薬が脳動脈瘤に対する新規候補薬となる可能性を示唆し、さらにERK5 リン酸化による下流経路の調整が脳動脈瘤治療の新しいターゲットとなる可能性を示した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

くも膜下出血の最大の原因である、脳動脈瘤破裂を抑制する薬物治療は存在せず、その確立が喫緊の課題である。これまで、脳動脈瘤の発生増大への慢性炎症の関与が報告されてきた。また、近年糖尿病治療薬dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬が、抗炎症効果を発揮することが報告されている。本研究では、DPP-4阻害薬の脳動脈瘤増大抑制効果及び分子メカニズムの検討を目的とした。

7週齢オスのSprague Dawleyラットを用いて、左頸動脈、左腎動脈を結紮し、高塩分食負荷により、脳動脈瘤を誘発した。Vehicle群、DPP-4阻害薬であるAnagliptin 300mg/kg 投与群に分け評価を行った。

Anagliptin投与群では、Vehicle群と比較して、脳動脈瘤増大が抑制された。また、Anagliptin投与群ではマクロファージ集積と,monocyte chemotactic protein 1(MCP-1)産生及びnuclear factor -κBの活性化が抑制された。

次に、Anagliptinによる抗炎症作用の分子メカニズムをマクロファージ細胞株Raw264.7細胞を用いて検討した。Raw264.7細胞にlipopolysaccharideを加えるとIL-6やMCP-1などの炎症性サイトカインが産生されるが、Anagliptin前処理によりそれが抑制された。また、その抗炎症効果は、抗糖尿病作用におけるターゲットであるglucagon-like peptide-1(GLP-1)やGLP-1受容体を介さず、extracellular signal-regulated kinase 5(ERK5)のリン酸化を介することが明らかとなった。

このように本論文はDPP-4阻害薬が脳動脈瘤壁の炎症性変化を抑制し、その増大を抑制する可能性及びERK5リン酸化が脳動脈瘤増大抑制の新しいターゲットとなる可能性を示した。

本研究は脳動脈瘤発生増大の新たな分子メカニズムを解明し、将来的にくも膜下出血予防の為の新規治療法開発に寄与することが期待される。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成30年1月16日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降