

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 渡邊 郁剛

学位論文題名

分子イメージングを用いた糖尿病治療薬の体内動態解析及び薬効評価に関する研究

糖尿病はインスリンの作用が不足することによって、血糖値が高い状態が持続する疾患である。糖尿病の進行に伴い、重篤な合併症を引き起こすことから、個々の患者に合わせた個別化治療が望まれる。個別化治療において有用な情報を得るためには、個々の患者における糖尿病治療薬の体内動態、病態及び治療効果を評価する必要がある。分子イメージングは、生体内における生命現象の分子及び細胞レベルのプロセスを生きた状態で可視化する技術であり、近年、個別化治療の実現において高く期待されている。本研究では、分子イメージングを用いた個別化治療を目指して、糖尿病治療薬の体内動態解析及び薬効評価に関する研究を行った。

1. 分子イメージングを用いた糖尿病治療薬の体内動態解析に関する研究:ガンマカメラを用いた糖鎖修飾 GLP-1 の組織分布解析

【背景及び目的】糖尿病治療薬として望まれている Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) は、糖鎖修飾により血糖降下作用が向上することが糖尿病モデル動物において報告されている。本研究では、GLP-1 の体内動態に及ぼす糖鎖修飾の影響を精査することを目的に、ガンマカメラを用いて糖鎖修飾 GLP-1 の組織分布解析を実施した。

【対象及び方法】GLP-1 及び糖鎖修飾 GLP-1 の放射性ヨウ素標識は、クロラミン T 法により行った。¹²³I 標識 GLP-1 及び糖鎖修飾 GLP-1 をラットに尾静脈内投与し、ガンマカメラ (E-CAM, Siemens 社製) を用いて非侵襲的に撮像した後、得られた画像に関心領域を設定した。また、¹²⁵I 標識 GLP-1 及び糖鎖修飾 GLP-1 をラットに尾静脈内投与後、所定時間に血液及び組織を採取し、血漿中トリクロロ酢酸 (TCA) 不溶画分 (未変化体等の高分子成分) 及び組織中の放射能濃度を測定した。得られた測定値を用いて、投与後 60 分間の血漿中 TCA 不溶画分及び組織中放射能濃度の時間放射能曲線下面積 (AUC) 比を算出した。

【結果及び考察】¹²³I 標識 GLP-1 は肝臓に高く集積したが、¹²³I 標識糖鎖修飾 GLP-1 は ¹²³I 標識 GLP-1 と比べ、肝臓の AUC 比が 89%まで有意に低下した。これらの結果は ¹²⁵I 標識体による組織摘出法の結果とよく合致した。また、糖鎖修飾していないものと比べ、¹²³I 標識糖鎖修飾 GLP-1 の血漿中 TCA 不溶画分放射能の AUC 比は 1.7 倍有意に高く、肝臓への分布の低下が起因していると考えられた。

【小括】GLP-1 を糖鎖修飾することにより、代謝組織である肝臓への放射能の分布が有意に低下し、血漿中 TCA 不溶画分の放射能濃度が上昇した。

2. 分子イメージングを用いた糖尿病治療薬の薬効評価に関する研究：^{99m}Tc 標識アネキシン A5 を用いた膵β細胞のアポトーシスイメージング

【背景及び目的】1 型糖尿病では病態の進行に伴い、膵β細胞が消失する。この膵β細胞の消失にはアポトーシスが関与していることから、膵β細胞のアポトーシスを非侵襲的に

検出できれば、糖尿病の早期診断及び治療効果評価に役立つと考えられる。しかしながら、臨床応用に適した画像化の試みは未だなされていない。本研究では、膵β細胞のアポトーシスの定量化における、アポトーシスのプローブである^{99m}Tc 標識アネキシン A5 の有用性を検証するために、1 型糖尿病モデルであるストレプトゾトシン (STZ) 処置マウス及び NOD マウスを用いて検討した。

【対象及び方法】Ba1b/c マウス (雄性, 10 週齢) に STZ (120 あるいは 200 mg/kg, n=5) を単回腹腔内投与することにより 1 型糖尿病モデルを作製した。また、自然発症型の 1 型糖尿病モデルとして、5, 9, 16 及び 20 週齢の雌性 NOD マウス (各週齢 n=5-8) を用いた。マウスに^{99m}Tc 標識アネキシン A5 (18.5 MBq/マウス) を静脈内投与し、投与した 6 時間後に膵臓を摘出し、膵臓の凍結切片を作製した後、オートラジオグラフィ、インスリン免疫染色及び TUNEL 染色を実施した。得られたデータを、膵ラ氏島の面積で補正した放射能量 (%ID*10E6/mm²/kg) あるいは TUNEL 陽性細胞数 (cells/mm²) で表示した。

【結果及び考察】STZ (200 mg/kg) 処置マウスの膵ラ氏島に対する^{99m}Tc 標識アネキシン A5 の集積量は対照マウスに比べ、有意に高かった (2.5 ± 0.7 vs 0.7 ± 0.1 %ID*10E6/mm²/kg, p<0.01)。NOD マウスを用いた検討において、^{99m}Tc 標識アネキシン A5 の膵ラ氏島への集積は、16 週齢の NOD マウスにおいて最も高く、16 週齢の NOD マウスの膵ラ氏島に対する^{99m}Tc 標識アネキシン A5 の集積量は 5 週齢の NOD マウスに比べ、有意に高かった (1.1 ± 0.4 vs 0.5 ± 0.1 %ID*10E6/mm²/kg, p<0.01)。TUNEL 陽性細胞は STZ (200 mg/kg) 処置マウスの膵ラ氏島において多く観察され、STZ (200 mg/kg) 処置マウスの膵ラ氏島における TUNEL 陽性細胞数は対照マウスに比べ、有意に多かった (1170 ± 535 vs 5 ± 6 cells/mm², p<0.01)。NOD マウスを用いた検討において、TUNEL 陽性細胞は、16 週齢の NOD マウスの膵ラ氏島に多く観察され、5 週齢の NOD マウスに比べ有意に多かった (152 ± 82 vs. 4 ± 9 cells/mm², p<0.05)。さらに、STZ 処置マウス及び NOD マウスにおいて、膵ラ氏島における^{99m}Tc 標識アネキシン A5 の集積量は、TUNEL 陽性細胞数と正の相関を示した (STZ 処置マウス: r=0.821, p<0.001, NOD マウス: r=0.721, p<0.001)。

【小括】^{99m}Tc 標識アネキシン A5 は、アポトーシスを惹起した 1 型糖尿病モデルマウスの膵ラ氏島に高く集積し、その集積量は TUNEL 陽性細胞数と正の相関を示した。

【結論】第 1 の研究では、GLP-1 を糖鎖修飾することにより、代謝組織である肝臓への放射能の分布が有意に低下し、血漿中 TCA 不溶画分の放射能濃度が上昇することを示した。これらの結果から、糖尿病モデル動物における糖鎖修飾 GLP-1 の血糖降下作用の機序を部分的に説明できるとともに、糖鎖修飾はペプチドの肝移行を回避するために有用な手段であると考えられる。第 2 の研究では、^{99m}Tc 標識アネキシン A5 は、アポトーシスを惹起した糖尿病モデルマウスの膵ラ氏島に高く集積することを示した。この結果から、^{99m}Tc 標識アネキシン A5 は 1 型糖尿病に起因する膵β細胞のアポトーシスを検出できるプローブとして有用である可能性が示された。以上の研究結果から、分子イメージングを用いて、糖尿病治療薬の体内動態解析及び薬効評価を行い、生きた状態で医薬品の薬効機序の解明及び糖尿病の病態を評価できる可能性を示した。今後、分子イメージングを用いて、糖尿病治療薬の体内動態、病態及び治療効果を評価することにより、糖尿病の個別化治療において有用な情報を提供できると考えられる。