

## 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 正木 芳宏

### 学位論文題名

## Studies on the Effect of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor on Exercise Capacity and Energy Metabolism in the Skeletal Muscle from the Experimental Heart Failure after Myocardial Infarction in Mice

(心筋梗塞後心不全における骨格筋エネルギー代謝および運動能力に対する DPP-4 阻害薬の効果に関する研究)

【背景と目的】心不全患者では運動能力が低下しており，運動能力低下は予後の規定因子として知られている．また有酸素運動による運動療法は心不全患者の運動能力を改善し，予後を改善することが知られている．一方，心不全患者の運動能力を特異的に改善させる薬物療法は知られていない．心不全における運動能力低下について，骨格筋の形態・機能異常が重要な役割を果たしていることが明らかにされている．

インクレチンホルモンは食事摂取に伴い消化管から分泌され，膵  $\beta$  細胞に作用してインスリン分泌を促進するホルモンの総称であるが，その一種である glucagon-like peptide-1 (GLP-1) の受容体は心筋細胞，血管内皮細胞，骨格筋細胞に存在することが見出され，GLP-1 はインスリン分泌作用だけでなく，心血管，骨格筋への直接的な作用を有すると考えられている．GLP-1 は dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) によって数分のうちに分解されるが，DPP-4 阻害薬は，濃度依存性に DPP-4 を阻害し，活性型 GLP-1 濃度を増加させる薬剤である．これまで，GLP-1 持続投与により，心不全患者での運動耐容能が改善することが報告されているが，これまでに心不全での DPP-4 阻害薬投与による運動能力，骨格筋機能についての検討は行われていない．

本研究では DPP-4 阻害薬投与は心筋梗塞後心不全モデルにおいて，骨格筋エネルギー代謝を改善し，運動能力を改善するかどうかを検討することを目的とした．

【材料と方法】C57BL/6J マウスの左冠動脈を結紮し心筋梗塞 (MI) を作成し，手術を行ったマウスを無作為に 2 群に分け，DPP-4 阻害薬である MK-0626 (1 mg/kg/day) を混入した餌あるいは MK-0626 を含まない通常の餌 (normal diet : ND) を 4 週間投与した．対照として偽手術 (Sham) マウスを作成し，同様に 2 群に分け，Sham+ND 群，Sham+MK-0626 群，MI+ND 群，MI+MK-0626 群の 4 群で実験を行った．手術後 4 週間の時点で，心エコー，血行動態測定，運動能力テスト，血液生化学検査，糖負荷試験，心筋・骨格筋の病理組織学的検討，骨格筋ミトコンドリア機能評価，免疫ブロットによる評価を行った．

【結果】MK-0626 の投与により，心筋梗塞後の左室機能および梗塞サイズへの影響は認められなかった．また MK-0626 の投与により，血漿 DPP-4 活性は低下し，活性型 GLP-1 濃度の上昇が認められたが，インスリン，糖負荷試験への反応は変化を認めなかったが，MI 群で低下した運動能力は MK-0626 の投与により改善が得られた．ミトコンドリア機能の評価として，骨格筋組織の抽出溶液にて測定したクエン酸合成酵素 (CS) 活性は，MI 群で低下し，MK-0626 の投与により改善が得られた．一方で，単離したミトコンドリア溶液で測定した CS 活性は，全ての群間で差は認めなかった．またミトコンドリア電子伝達系複合体活性についても，4 群間で差は認めなかった．骨格筋の組織学的評価において，MI 群で有酸素

的な Type I 線維が減少し、解糖系酵素の多い Type IIb 線維は MI 群で増加し、骨格筋線維型変移が起こっていた。MI 群への MK-0626 投与は、Type I 線維が増加し、Type IIb 線維が減少した。運動能力や骨格筋線維タイプに関わることが知られ、ミトコンドリア生合成に関わる蛋白発現の測定では、AMPK のリン酸化、Sirt-1、PGC-1、および Tfam の総蛋白量は、MI 群で有意に低下し、MK-0626 の投与により改善した。ミトコンドリア電子伝達系複合体の蛋白の免疫ブロットでは、骨格筋細胞抽出液においては、MI 群でそれぞれの蛋白発現が低下し、MK-0626 の投与により改善したが、ミトコンドリア単離溶液において測定した各複合体の発現は 4 群間に変化がなかった。これらの MK-0626 の効果は、いずれにおいても Sham 群では認められなかった。

【考察】本研究において MK-0626 の投与は、心筋梗塞後の心機能や左室リモデリングに影響することなく、心不全マウスで認めた運動能力の低下を改善することが示された。さらに MK-0626 は心不全マウスでの骨格筋線維を、Type II 線維から Type I 線維へと変移させ、骨格筋での CS 活性を正常化させた。それらの作用と一致して、ミトコンドリアの生合成を司る蛋白の発現が MK-0626 の投与により改善し、MI 群の骨格筋において減少していたミトコンドリアの量が、MK-0626 の投与により改善した。

今回の研究では 1 mg/kg/日の MK-0626 の投与により、DPP-4 活性の抑制、GLP-1 濃度の上昇を認めたが、この投与量では糖代謝やインスリンへの影響は認められなかった。これまでの報告では、マウスの圧負荷後心不全モデルに、他の DPP-4 阻害薬であるビルダグリプチンを投与し、糖代謝を改善することによって心不全が改善したと報告されている。今回の研究では、DPP-4 阻害薬を用いたこれまでの他の研究に比較し、DPP-4 阻害作用が弱く、血中 GLP-1 濃度の上昇も少ないため、糖代謝やインスリンへの影響が認められなかったと考えられ、運動能力や骨格筋への、糖代謝またインスリンの影響を除外するために、この濃度での投与を選択した。

今回の研究では MK-0626 の投与により、心不全マウスで認めた運動能力の低下が改善した。運動能力の低下は、骨格筋でのエネルギー代謝異常に伴うものと考えられ、エネルギー代謝異常はミトコンドリア機能の低下に伴うものと考えられている。今回の研究では、MI マウスの骨格筋において個々のミトコンドリアの機能には変化がなかったが、ミトコンドリア量が減少し、線維型変移が起こっていた。MI 群で骨格筋におけるミトコンドリア生合成が低下し、MK-0626 の投与によりミトコンドリア生合成、つまり量が改善し、線維型が正常化したことが、骨格筋全体での CS 活性の改善を引き起こし、運動能力を改善させた可能性を示唆している。

本研究では MK-0626 投与により、心筋梗塞後の左室リモデリング、心機能への影響はなかった。これまで、他の DPP-4 阻害薬また GLP-1 の投与で心機能、左室リモデリングが改善したとの報告があるが、これらの研究と本研究の結果の違いとしては、種の違い、動物モデルの違い、糖尿病の有無、使用した DPP4 阻害薬や、GLP-1 の直接投与といった薬剤の違いがあげられるが、最も大きな違いとしては、今回の研究では比較的少量の DPP4 阻害薬を使用しており、DPP4 阻害活性、GLP-1 濃度も比較的軽度の変化を示した点である。結果として、本研究では心機能の改善を認めなかったため、運動能力への心機能の影響を除外できたと考える。

【結論】本研究では心筋梗塞後心不全マウスに対する MK-0626 の投与は、骨格筋線維タイプの改善と、運動能力の改善をもたらした。したがって、DPP-4 阻害薬は心不全における骨格筋機能障害に対する新規治療薬になり得ることが考えられる。