

氏 名	依 藤 直 紀
(ふりがな)	(よりふじ なおき)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第 号
学位審査年月日	平成28年1月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	The dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin suppresses mouse colon tumorigenesis in type 2 diabetic mice (DPP-4 阻害剤は2型糖尿病モデル誘発結腸腫瘍の発生を抑制する)
論文審査委員	(主) 教授 花 房 俊 昭 教授 内 山 和 久 教授 朝 日 通 雄

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《目 的》

2 型糖尿病患者において大腸癌の罹患率が上昇することは疫学的によく知られている。Insulinotropic effect を有する glucagon-like peptide-1 (GLP-1)は、dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)によって速やかに不活化されることから、DPP-4 阻害剤は2型糖尿病の治療薬として用いられている。また、intestinotrophic effect を有する GLP-2 も DPP-4 の基質であり、絨毛の増殖や上皮のバリア機能、腸管血流の増加など様々な機能に携わっている。DPP-4 は GLP-2 を不活化することから、DPP4 阻害剤は小腸炎に対する新たな治療薬として注目されており、我々はマウスにおけるインドメタシン起因性小腸粘膜傷害に対する DPP4 阻害剤の保護的な働きについて報告している。しかし、DPP-4 の基質には insulin-like growth factor-1 (IGF-1)や stromal cell-derived factor-1(SDF-1)などの腫瘍の

発育進展に寄与する可能性があるホルモンやサイトカインも含まれることから、DPP-4 阻害剤は腫瘍を増加させる可能性も指摘されている。しかし、2 型糖尿病患者での DPP-4 阻害剤の大腸腫瘍における影響については、未だ解明されていない。そこで今回我々は、2 型糖尿病モデルマウスを用いて、DPP-4 阻害剤による大腸腫瘍への影響について検討した。

《方 法》

2 型糖尿病モデルとして 6 週齢の雄性 ob/ob マウスを使用した。大腸腫瘍は 1,2-dimethylhydrazine (DMH) と dextran sulfate sodium (DSS) を用いて作製した。具体的には DMH20mg/kg を 1 週間のうちに 3 回皮下投与した。続いて 3%DSS を 1 週間自由飲水、2 週間休薬を 2 回繰り返したのち、28 日後に実体顕微鏡下で大腸腫瘍数を測定した。DPP-4 阻害剤として sitagliptin (STG) を使用した。実験群は Wild-type マウス群(WT 群)、ob/ob マウス群(ob/ob 群)、ob/ob マウスに STG3mg/kg/日を全実験期間中、経口投与した群(ob/ob+STG 群)の 3 群を作製した。なお、粘膜内の DPP 活性は Gly-Pro AMC を用いて測定し、血漿および粘膜内 GLPs は ELISA 法を用いて測定した。そして、アディポカインやアディポカイン関連タンパクは、プロテオームアレイを用いて測定し、粘膜内の interleukin (IL)-6 や tumor necrosis factor (TNF)- α 、IGF-1 はリアルタイム PCR を用いて測定した。

《結 果》

DSS 投与中、体重減少は WT 群で有意に増悪していた。しかし、ob/ob マウスに STG を投与しても、実験期間中、ob/ob マウスと比較して DSS 投与中も含めて体重に有意な変化を与えなかった。平均腫瘍数は WT 群に比し、ob/ob 群で有意に増加していたが、ob/ob+STG 群では ob/ob 群に比して、有意に減少していた。血漿および粘膜内の GLPs 濃度はいずれも WT 群と比べて ob/ob 群で有意に上昇していたが、STG 投与による変化は認めなかった。また、粘膜内の DPP 活性も STG を投与しても、有意な差を認めなかった。アディポカインおよびアディポカイン関連タンパクに関しても検討したが、ob/ob マウスに STG を投与

しても、SDF-1、IGF-1、resistin に影響を与えなかった。一方、炎症性サイトカインである TNF- α 、IL-6、IGF-1mRNA に関して検討したところ、粘膜内の IL-6mRNA は ob/ob 群で WT 群に比し有意に発現が上昇していたが、STG 投与により有意に抑制されていた。

《考 察》

本研究で STG の長期投与は、粘膜内の GLPs 発現や DPP 活性、血漿中の GLPs 濃度、SDF-1 濃度に影響を及ぼさなかった。また、アディポカイン関連タンパクも STG 投与による有意差を認めないことから、代謝異常に関わる因子への影響は限定的と考えられた。これらの結果の原因として、DPP-4 は主として小腸に発現し、大腸には発現が乏しいこと、STG 投与による摂食抑制効果が乏しいことなどが考えられた。しかし、それでも STG 投与により大腸腫瘍は有意に抑制されていた。このため粘膜内の炎症性サイトカインの mRNA 発現を検討したところ、IL-6 は ob/ob マウスで有意に上昇し、STG 投与により有意に抑制されていた。

IL-6 は糖尿病患者における大腸癌の発育に関与すること、DPP-4 が IL-6 の転写を促進することなどが報告されていることから、STG の長期投与により大腸の局所で発現する IL-6 は DPP-4 に抑制され、結果として大腸腫瘍の発生を抑制していた可能性が考えられた。

これまで我々は高脂肪食の摂取で作製した肥満マウスに、DPP-4 阻害剤を長期投与したところ、代謝異常の改善とともに小腸腫瘍を抑制する傾向を示すことを報告している。本研究における DPP-4 阻害剤の長期投与が代謝異常の改善を伴わずに大腸腫瘍を抑制したという結果は、大腸腫瘍に対する DPP-4 の役割の解明にも寄与する興味深い結果であると考えられた。

《結 論》

2 型糖尿病モデルマウスにおいて、DPP-4 阻害剤の長期投与は DPP-4 による GLP-2 などの分解を抑制する機序とは異なった機序により大腸腫瘍を抑制させる可能性が示唆された。

(様式 甲 6)

論文審査結果の要旨

近年、本邦では食生活の変化や生活習慣の変化により 2 型糖尿病患者が増加傾向にある。また、2 型糖尿病に大腸腫瘍の合併が多いことは疫学的によく知られている。Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)阻害剤は 2 型糖尿病の治療薬として用いられているが、DPP-4 は glucagon-like peptide-1 (GLP-1)のみならず GLP-2、insulin-like growth factor-1 (IGF-1) や stromal cell-derived factor-1 (SDF-1)などの不活化にも関与する。これらは腫瘍の発育進展に影響を与えるため、DPP-4 阻害剤の長期使用例においては腫瘍に与える影響が危惧されるが、これまで明らかにはされていない。

申請者は 2 型糖尿病モデルマウスを用いて誘発結腸癌を作成し、同モデルにおける DPP-4 阻害剤長期投与の影響について検討した。本研究では DPP-4 阻害剤の長期投与は大腸腫瘍の発生を有意に抑制していたが、粘膜内 GLPs を始め、本研究で検討した種々の DPP-4 の基質には有意な影響を及ぼさなかった。一方、粘膜内の IL-6mRNA 発現は DPP-4 阻害剤により、有意に抑制されていた。IL-6 は糖尿病において発現が亢進し、腫瘍の発育進展に関与する因子として知られている。DPP-4 は IL-6 の転写を促進することが報告されていることも併せると、本研究において、DPP-4 阻害剤の長期投与は、代謝異常の改善を介さずに大腸腫瘍を抑制した可能性が考えられた。

大腸腫瘍の合併が多い 2 型糖尿病患者に使用される DPP-4 阻害剤は、代謝異常の改善の有無に関わらず大腸腫瘍を抑制する可能性を有することを示唆した本研究は、臨床的に意義あるものであると考える。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Oncology report 35(2): 676-682, 2016