

糖尿病治療におけるピオグリタゾンの副作用低減に関する基礎的研究
—n-3系脂肪酸(EPA・DHA)によるピオグリタゾンの皮下脂肪蓄積を伴う体重増加の抑制—

【緒言】

2型糖尿病に特徴的であるインスリン抵抗性は、長期間継続した場合、膵臓の疲弊によるインスリン分泌能の低下と、酸化ストレスおよび小胞体ストレスの増加を介して膵β細胞の機能障害を引き起こし、糖尿病を悪化させることにつながる。したがって、糖尿病の重症化を予防するという観点では、インスリン抵抗性を低減し、膵β細胞を保護することが重要となる。チアゾリジン薬であるピオグリタゾンは、経口糖尿病薬としてインスリン抵抗性の改善を目的とした糖尿病の薬物治療に用いられているが、副作用の1つとして皮下脂肪蓄積を伴う体重増加が報告されている。これは、服用中に適切な食事療法および運動療法を維持できず、エネルギーコントロールが不十分な患者の場合に多くみられ、チアゾリジン薬の治療効果を減弱させるだけでなく、体重増加によって日常生活や運動療法に支障を来し、糖尿病の治療にも悪影響を及ぼすと考えられている。また、チアゾリジン薬による副作用の発現リスクは、総使用量が多いほど高まることが報告されており、加齢によって薬の副作用が発現しやすくなる高齢者に使用する場合は、特に投薬量を留意しなければならない。

そこで本研究は、チアゾリジン薬の副作用低減および治療時における膵臓の機能維持に焦点を当て、幅広い年齢層に適用可能なn-3系脂肪酸製剤を併用した新たな薬物治療・処方設計のための基礎データを提供することを目的とした。具体的には、チアゾリジン薬としてピオグリタゾンと、n-3系脂肪酸(PUFA, EPA・DHA)の供給源としてDHA濃縮魚油を用いて、これらを肥満・2型糖尿病モデル動物であるKKマウスに併用投与し、以下の検討をおこなった。

【第1章 n-3系PUFAの併用によるピオグリタゾンの副作用低減および脂肪細胞の肥大化と炎症に及ぼす影響の検討】

若年成人におけるピオグリタゾンとEPA・DHAの併用効果を明らかにするため、若齢成獣期の雄性KKマウスにこれらを併用させ、糖・脂質代謝の改善作用、ピオグリタゾンによる皮下脂肪蓄積を伴う体重増加の低減作用、耐糖能の悪化と関連性が強い脂肪細胞の肥大化と炎症に対する抑制作用を検討した。その結果、ピオグリタゾンによりインスリン抵抗性が改善されたことにくわえ、皮下脂肪の蓄積が抑制され、EPA・DHAの脂肪酸合成抑制を中心としたメカニズムにより肝臓の脂肪蓄積が減少した。さらに、脂肪組織の解析結果から、ピオグリタゾンとEPA・DHAの併用は、内臓脂肪組織に対して脂肪細胞の肥大化と炎症を抑制することが明らかになった。

以上の結果から、若年成人の糖尿病患者に対してピオグリタゾンをを用いた薬物治療をおこなう際、厳格なエネルギーコントロールが維持できない場合でも、n-3系脂肪酸製剤を併用することでピオグリタゾンによるインスリン抵抗性改善効果を維持したまま、副作用の1つである皮下脂肪蓄積を伴う体重増加を低減できる可能性が示された。

【第2章 ピオグリタゾンと n-3 系 PUFA が膵臓の機能維持に及ぼす影響の検討】

第1章で示されたピオグリタゾンと EPA・DHA の併用による糖尿病治療効果のメカニズムを膵臓の機能維持の観点から明らかにするため、第1章と同様の若齢成獣期の KK マウスを用いて、ピオグリタゾンと EPA・DHA が膵臓に及ぼす影響を検討した。インスリン抵抗性改善作用を有するピオグリタゾンは、膵臓のインスリン合成および分泌を正常化することで、膵β細胞の保護作用が期待される。本章でもピオグリタゾンのインスリン抵抗性改善と、ランゲルハンス島の肥大化抑制効果および小胞体ストレスの低減による膵β細胞の保護効果が確認された。一方、EPA・DHA はインスリン抵抗性の悪化とランゲルハンス島の肥大化を抑制することはなかったが、膵β細胞の減少および小胞体ストレスの低減作用と、アポトーシスの抑制作用を示した。また、ピオグリタゾンと EPA・DHA を併用した場合は、それぞれの改善効果によりランゲルハンス島の肥大化を効果的に抑制できることが明らかになった。これらの成績は、ピオグリタゾンと n-3 系脂肪酸製剤の併用療法が、膵β細胞の機能障害による糖尿病の重症化を予防できる可能性を示すものである。

【第3章 加齢マウスにおけるピオグリタゾンと n-3 系 PUFA の併用による有効性の検討】

第1章および第2章で確認された併用効果が、高齢者を対象とした場合も得られるか確認するとともに、有意なインスリン抵抗性改善効果がみられない用量のピオグリタゾンに EPA・DHA を併用することで、従来のインスリン抵抗性改善効果を維持したままピオグリタゾンの投薬量を減少させることができるか明らかにすることを目的として、40週齢の KK マウスに対する併用効果を検討した。その結果、ピオグリタゾンと EPA・DHA、およびこれらの併用は、加齢させた条件においても脂肪細胞の肥大化抑制作用と膵β細胞の保護作用を示すことを確認した。くわえて、EPA・DHA の併用は、皮下脂肪量の増加がみられる用量のピオグリタゾンに対しては、肝臓の脂肪酸合成抑制と脂肪酸のβ酸化亢進をもたらし、皮下脂肪蓄積に抑制的に作用することが示された。さらに、皮下脂肪蓄積およびインスリン抵抗性改善効果がみられない用量のピオグリタゾンに対しては、皮下脂肪を増加させることなく、インスリン抵抗性改善効果を増強することが明らかになった。

以上のことから、高齢糖尿病患者に対する n-3 系脂肪酸製剤の併用は、ピオグリタゾンを用いた薬物治療をおこなう上で、インスリン抵抗性改善効果を確保しながらピオグリタゾンの投薬量を減らすことができ、副作用の発生日スクの低減を目指した新しい処方設計になる可能性を示した。

【結論】

これまで、2型糖尿病の治療を目的とした n-3 系脂肪酸製剤の使用およびピオグリタゾンと併用した場合の有効性については全く検討されていなかった。本研究によって得られた知見は、ピオグリタゾンと n-3 系脂肪酸製剤の併用が、若齢成人のみならず、現在急増している高齢の糖尿病患者に対しても有効であることを示唆するものであった。本研究が提案する併用法は、糖尿病の治療効果を向上させ重症化を予防できるだけでなく、ピオグリタゾンの副作用の低減を目的としている点が先進的であり、幅広い年齢層の糖尿病患者の QOL 向上に貢献できる、新たな治療法・処方設計のための基礎データとして有用であると考えられる。

ABSTRACT

Fundamental study on reducing the adverse effects of pioglitazone for treating type 2 diabetes

“N-3 polyunsaturated fatty acids (icosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid) suppress body weight gain associated with excessive accumulation of subcutaneous fat caused by the pioglitazone”

Yuzuru Iizuka

Introduction Chronic insulin resistance (IR) with aging increases oxidative and endoplasmic reticulum (ER) stresses in the pancreas, leading to a reduction in the pancreatic β -cell functions such as insulin production and secretion, which further aggravates the symptoms of type 2 diabetes. Pioglitazone (PGZ) is a thiazolidinedione (TZD) that is used for treating type 2 diabetes as an oral anti-diabetic drug. Despite TZDs being helpful insulin sensitizers, an increase in body weight by the accumulation of subcutaneous fat is an adverse effect, resulting in decreasing treatment effectiveness of TZDs and disrupting daily life and physical activity. In particular, the adverse effect is well observed in patients with energy imbalance. In addition, adverse effects have been observed to occur in a dose-dependent manner; therefore, careful administration of TZDs is required in older patients who have higher risks of harm from medication. To improve the pharmacological therapy of TZDs for patients across a wide range of ages, this study focused on reducing the adverse effects of TZD therapy and providing evidence for a new therapy approach for type 2 diabetes by combining TZDs and n-3 polyunsaturated fatty acids such as icosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). For all experiments, KK mice were used as the model animal of type 2 diabetes, which were treated with PGZ and DHA-enriched fish oil as a source of EPA and DHA.

Chapter 1 Effects of EPA and DHA on body weight gain associated with excessive accumulation of subcutaneous fat by PGZ administration and hypertrophy and inflammation in adipocytes

The author investigated whether the combined therapy of PGZ and DHA-enriched fish oil improved glucose and lipid metabolism, suppressed body weight gain associated with accumulation of subcutaneous fat by PGZ, and lowered adipocyte hypertrophy and inflammation related to glucose intolerance in young adult KK mice. The results revealed that PGZ therapy improved IR and DHA-enriched fish oil decreased the accumulations of hepatic lipids and subcutaneous fat by PGZ, mainly by suppressing lipogenesis in the liver. In addition, the combined therapy of PGZ and DHA-enriched fish oil lowered adipocyte hypertrophy and inflammation in visceral fat. These results suggest that the combined therapy using a purified EPA-DHA formulation and PGZ prevents body weight gain and accumulation of subcutaneous fat by PGZ and improves IR in young adult patients with type 2 diabetes who struggle to follow strict therapies comprising diet and exercise.

Chapter 2 Effects of PGZ and EPA-DHA on maintenance of pancreatic islet function

To elucidate mechanisms underlying the anti-diabetic effects on pancreatic islet function, the author investigated the effects of PGZ and EPA-DHA on the pancreas of young adult KK mice reared under a similar condition to that described in Chapter 1. PGZ is expected to protect pancreatic β -cells from functional deterioration with normalizing insulin production and secretion by improving IR. In this study, PGZ therapy ameliorated IR, which suppressed hypertrophy and ER stress enhancement in pancreatic islets. Although DHA-enriched fish oil therapy prevented the reduction in the number of insulin-positive β -cells, enhancement of ER stress, and an apoptosis-induced cell death in pancreatic islets, it did not prevent deterioration of IR and pancreatic islet hypertrophy. In addition, the combination of PGZ and DHA-enriched fish oil effectively suppressed the hypertrophy of the pancreatic islets. These results suggest that the combined therapy of a purified EPA-DHA formulation and PGZ prevents the aggravation of type 2 diabetes symptoms attributed to pancreatic β -cell dysfunction.

Chapter 3 Effects of the combined therapy of PGZ and EPA-DHA in aged KK mice

As described in Chapters 1 and 2, the therapeutic benefits provided by treating type 2 diabetes using the combined therapy of PGZ and DHA-enriched fish oil were found in young adult KK mice. This chapter investigated whether the anti-diabetic effects of the combined therapy were also evident in 40 weeks-aged KK mice and also examined whether a low PGZ dosage that had no significant effects on IR improvement was able to ameliorate diabetic symptoms in combination with DHA-enriched fish oil. The results showed that combined therapy using PGZ and DHA-enriched fish oil inhibited adipocyte hypertrophy and β -cell dysfunction in aged KK mice. Using a PGZ dosage that induced the accumulation of subcutaneous fat, DHA-enriched fish oil combined therapy decreased the fat accumulation by suppressing lipogenesis and stimulating fatty acid β oxidation in the liver. Moreover, using a PGZ dosage that had no effects on the subcutaneous fat and IR, DHA-enriched fish oil combined therapy increased insulin sensitivity without increasing subcutaneous fat mass. These results suggest that the combined therapy of PGZ and a purified EPA-DHA formulation has beneficial effects for treating type 2 diabetes in older patients by not only the protective effect on subcutaneous fat accumulation by PGZ therapy in a therapeutic dosage but also the enhancement of therapeutic efficacy of type 2 diabetes to improve IR without adverse effects using a subtherapeutic dosage of PGZ.

Conclusion The present study indicates that the combined therapy using PGZ and a purified EPA-DHA formulation is effective and contributes to increasing the quality of life for both young and old patients with type 2 diabetes. The present study may offer proof of an alternative therapeutic method using a new combination of drugs for treating type 2 diabetes.

論文審査の結果の要旨

2型糖尿病に特徴的であるインスリン抵抗性は、膵臓の疲弊によるインスリン分泌能の低下、酸化ストレスおよび小胞体ストレスの増加を介して膵臓β細胞の機能障害を引き起こし、糖尿病を悪化させることにつながる事が知られている。そのため、糖尿病の重症化を予防する観点から、インスリン抵抗性を低減し、膵臓β細胞を保護することは重要で、糖尿病治療薬のチアゾリジン薬の一つのピオグリタゾンには、インスリン抵抗性の改善を目的とした糖尿病の治療に用いられている。しかしながら、ピオグリタゾンの副作用として皮下脂肪蓄積を伴う体重増加が知られている。特に、これはピオグリタゾン服用中に適切な食事療法および運動療法を維持できず、エネルギーコントロールが不十分な場合に多くみられる副作用で、ピオグリタゾンの治療効果を減弱させるだけでなく、体重増加によって日常生活や運動療法に障害を惹起し、糖尿病治療にも悪影響を及ぼす。また、ピオグリタゾンによる副作用の発生リスクは、その総使用量が多いほど高まる事が知られており、加齢によって薬の副作用が発現しやすくなる高齢者に使用する場合は、特に投薬量に留意する必要がある。

このため飯塚 讓氏は、ピオグリタゾンの副作用低減および治療時における膵臓の機能維持に着目し、若齢マウスと高齢マウスを用い幅広い年齢層に適用可能なピオグリタゾンとn-3系脂肪酸製剤を併用した新たな糖尿病治療のための基礎的データを収集することを目的に解析をすすめ、その結果を3章構成で論じている。具体的には、n-3系脂肪酸[icosapentaenoic acid (EPA)・docosahexaenoic acid (DHA)]含有魚油とピオグリタゾンを用いて、これらを若齢および高齢の肥満・2型糖尿病モデル動物であるKKマウスに併用投与し解析を行った。

第1章では、若年成人におけるピオグリタゾンとEPA・DHAの併用による糖・脂質代謝に対する効果を明らかにするため、若齢の雄性KKマウスにこれらを併用させ、糖・脂質代謝の改善作用、ピオグリタゾンによる皮下脂肪蓄積を伴う体重増加の低減作用、脂肪細胞の肥大化と炎症に対する抑制作用を検討した。その結果、ピオグリタゾンによりインスリン抵抗性が改善され、EPA・DHAによる肝臓の脂肪酸合成抑制を介して、皮下脂肪の蓄積が抑制されていた。さらに、脂肪組織の解析結果から、ピオグリタゾンとEPA・DHAの併用は、内臓脂肪組織の脂肪細胞肥大化と炎症を抑制した。

以上、若年成人の糖尿病患者に対してピオグリタゾンを用いた薬物治療を行う際、厳格なエネルギーコントロールが維持できない状態であっても、n-3系脂肪酸製剤を併用することでピオグリタゾンによるインスリン抵抗性改善効果を維持したまま、副作用の1つである皮下脂肪蓄積を伴う体重増加を低減できる可能性があると考えた。

第2章では、ピオグリタゾンとEPA・DHAの併用による膵臓に対する効果を明らかにするため、第1章

と同じ条件で解析を行った。インスリン抵抗性改善作用を有するピオグリタゾンは、膵臓のインスリン合成および分泌を正常化することで、膵臓 β 細胞の保護作用が期待されていた。予想のとおり、ピオグリタゾンによるインスリン抵抗性改善と、膵臓のランゲルハンス島の肥大化抑制効果および小胞体ストレスの低減による膵臓 β 細胞の保護効果を確認した。一方、EPA・DHA は、膵臓 β 細胞数の減少およびランゲルハンス島構成細胞の小胞体ストレスとアポトーシスを抑制した。さらに、ピオグリタゾンと EPA・DHA を併用した場合は、それぞれの改善効果に加えランゲルハンス島の肥大化を顕著に抑制できることを明らかにした。

以上、若年成人の糖尿病患者に対して、ピオグリタゾンと n-3 系脂肪酸製剤の併用法が、膵臓 β 細胞の機能障害による糖尿病の重症化を予防できる可能性が高いと考察した。

第 3 章では、第 1 章および第 2 章で確認されたピオグリタゾンと EPA・DHA の併用効果が、高齢者を対象とした場合も得られるか考察するとともに、インスリン抵抗性改善効果がみられない用量のピオグリタゾンに EPA・DHA を併用することで、従来のインスリン抵抗性改善効果を維持したままピオグリタゾンの投薬量を減少させることができるかを明らかにすることを目的として、40 週齢の高齢 KK マウスを用いてピオグリタゾンと EPA・DHA の併用効果を検討した。その結果、ピオグリタゾンと EPA・DHA の併用は、高齢 KK マウスにおいても脂肪細胞の肥大化抑制作用と膵臓 β 細胞の保護作用を示すことを確認した。さらにピオグリタゾンと EPA・DHA の併用は、皮下脂肪量の増加がみられる用量のピオグリタゾンに対しては、肝臓の脂肪酸合成抑制と脂肪酸の β 酸化亢進をもたらし、皮下脂肪蓄積に抑制的に作用することを示した。一方、皮下脂肪蓄積およびインスリン抵抗性改善効果がみられない用量のピオグリタゾンに対しては、EPA・DHA は、皮下脂肪量を増加させることなくインスリン抵抗性改善作用を増強することを明らかにした。

以上、高齢糖尿病患者に対するピオグリタゾン療法における n-3 系脂肪酸製剤の併用は、ピオグリタゾンを用いた薬物治療を行う上で、インスリン抵抗性改善効果を確保しながらピオグリタゾンの投薬量を減らすことで、副作用の発生リスクの低減を目指した新しい処方設計につながる可能性を考察した。

以上、飯塚 讓氏は、本論文において、若齢および高齢の KK マウスを用いた *in vivo* 実験系で、n-3 系脂肪酸(EPA・DHA)が、ピオグリタゾンによる皮下脂肪蓄積を伴う体重増加を抑制することを示した。すなわち、n-3 系脂肪酸製剤とピオグリタゾンの併用が、若年成人および高齢の糖尿病患者に対して有効である可能性を示唆するものである。また、本研究が提案する併用法は、糖尿病の治療効果を向上させ重症化を予防できるだけでなく、ピオグリタゾンの副作用の低減を目的としている点が先進的であり、また、幅広い年齢層の糖尿病患者の生活の質の向上に貢献することが期待できる。すなわち本研究は、新たな治療法・処方設計のための基礎的データとして有用であると考えられる。よって、本論文は、本研究科課程による博士（薬科学）論文に十分値すると判定した。