

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11086

研究課題名(和文)新規糖尿病治療薬であるSGLT2阻害薬の心保護作用への影響と細胞内機序

研究課題名(英文)Effect of SGLT2 inhibitor on cardioprotective effect

研究代表者

一ノ宮 大雅 (ICHINOMIYA, Taiga)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教

研究者番号：50404249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：新規糖尿病治療薬であるSGLT2阻害薬のSGLT1阻害作用は、虚血再灌流障害における内在性心筋保護効果を抑制する可能性がある。この研究は、市販のSGLT2阻害薬の影響とSGLT1阻害下でも効果を発揮する薬理学的な心筋保護法の開発を目的に行った。SGLT1阻害薬の内在性心筋保護効果抑制ではAMPKが重要な役割をなしており、AMPKを介さない薬理学的な心筋保護法はSGLT1阻害薬投与下でも効果を発揮することが分かった。またSGLT2選択性の高いトログリフロジンのSGLT1阻害作用は保護効果を抑制しないことも分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SGLT2阻害薬は糖尿病の重大な合併症である心血管イベント発生を抑制することを示した最新の治療薬である。しかし、SGLT2阻害薬が持つSGLT1阻害作用は心筋虚血再灌流傷害での内在性臓器保護を抑制する可能性が示唆され、また、SGLT2阻害薬の効果が不十分な患者に対するSGLT1/2阻害薬の開発も進められている。本研究の結果から、SGLT1阻害作用はやはり内在性臓器保護を抑制するものの、SGLT2選択性の高いSGLT2阻害薬であれば虚血再灌流傷害での内在性心筋保護効果を抑制しないことが示された。また、AMPKを介さない薬理学的な心筋保護法であればSGLT1阻害下でも効果を得ることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：SGLT1 inhibition of SGLT2 inhibitor may abrogate the effect of internal cardioprotection. This study was performed to investigate the effect of tofogliflozin, clinical drug of SGLT2 inhibitor, against ischemic reperfusion injury, and to develop the pharmacological cardioprotection even under SGLT1 inhibition. SGLT1 inhibition abrogated the internal cardioprotective effect, and AMPK played an important role in the abrogation. Additionally, the pharmacological cardioprotection which is independent of AMPK signaling had the protective effect even under SGLT1 inhibition. Furthermore, tofogliflozin which is high selectivity of SGLT2 inhibition doesn't abrogate the internal cardioprotection.

研究分野：麻酔科学

キーワード：薬理学的プレコンディショニング 心筋虚血再灌流傷害 SGLT2阻害薬

1. 研究開始当初の背景

虚血性心疾患 (IHD) は世界的に死亡原因の第 1 位であり、糖尿病 (DM) は心血管 (CV) イベントの独立した危険因子である。糖尿病患者の CV イベントの相対リスクは、非糖尿病患者に比べて 2~4 倍高いとされているが、大規模な臨床研究において CV リスクを低下させる抗糖尿病薬は見出されていなかった。ナトリウム-グルコース共輸送体 (Sodium-glucose cotransporter: SGLT) 2 阻害剤は、尿中のグルコース排泄を増加させる新しい糖尿病治療薬であり、EMPA-REG OUTCOME 試験では CV 死亡を有意に減少させることが示された。さらに、その後の大規模臨床試験でも、SGLT2 阻害剤が CV イベントを予防できることが明らかになった。そのため、SGLT2 阻害剤は CV リスクのある DM 患者への使用が増加している。

SGLT2 阻害剤は、SGLT2 だけでなく SGLT1 も阻害し、SGLT1 に対する SGLT2 の選択性は 155 倍から 2912 倍と大きく異なる。現在、SGLT1/2 の両阻害薬を開発することで、より優れた血糖コントロールを実現しようとしている。これは、SGLT2 阻害剤による血糖低下効果が、SGLT1 での代償的な再吸収により低下するためである。一方で、SGLT1 が虚血再灌流傷害 (I/R) に対する保護効果をもたらすと思われることがいくつかの研究で示されており、SGLT1 を阻害すると虚血性プレコンディショニング (IPC) が阻害されることが明らかになっている。したがって、SGLT2 および SGLT1/2 阻害剤による SGLT1 阻害は、近い将来、臨床において重要な役割を果たす可能性がある。しかしながら、SGLT2 阻害剤の臨床用量が IPC を抑制するかどうかは不明であり、また SGLT1 阻害下での効果的な心筋保護に関する情報はない。

これまでの報告で、I/R 時に AMPK と ERK が SGLT1 の働きに重要であることが示されているため、AMPK と ERK に依存しない心筋保護戦略が SGLT1 阻害下での I/R 傷害に対して求められる。以前、我々は、オルプリノンの心筋保護作用が、I/R 傷害時に AMPK および ERK とは無関係に、PI3K-Akt を介して行われることを発見した。したがって、オルプリノンは SGLT1 阻害下でも心筋保護作用を発揮する可能性がある。

2. 研究の目的

In vivo のラット I/R モデルを用いて、フロリジンによる高い SGLT1 阻害作用と臨床用量の tofogliflozin (SGLT2 阻害剤) による低い阻害作用が IPC に影響を与えるかどうか、また、オルプリノンが SGLT1 阻害作用下で心筋保護作用を持つかどうかを検討した。

3. 研究の方法

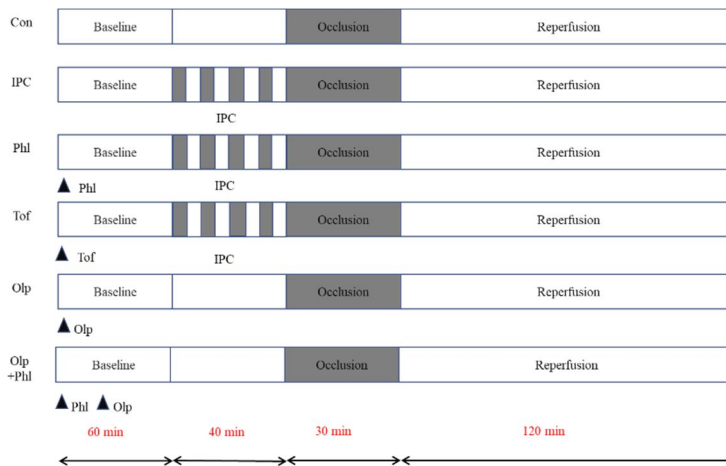
(1) Wistar 系の雄ラット (体重 200-250g) に全身麻酔を行い、右頸静脈と右頸動脈にカテーテルを挿入し、輸液や薬物投与と動脈血圧の測定を行った。気管切開後、カニューレを挿管し、人工呼吸を行った。血行動態のモニタリングのために動脈血圧を連続的に測定した。

(2) 虚血再灌流 (I/R) および虚血性プレコンディショニング (IPC) プロトコル
左胸部切開後、左前下行 (LAD) 冠動脈を 30 分間閉塞し (虚血) その後 120 分間の再灌流を行った。LAD 閉塞は 7-0 プロレン縫合糸を用いて結紮し、再灌流は結紮を緩めて行った。IPC は、5 分間の LAD 閉塞と 5 分間の再灌流を 4 サイクル行うことで達成した。

(3) 実験プロトコル

実験プロトコルを図1に示す。ラットを6群に分け(各群 n=7) I/Rを行う前に以下の処理を行った: なし (Con 群) IPC (IPC 群) フロリジン注入後の IPC (Phi 群) tofogliflozin 注入後の IPC (Tof 群) オルプリノン注入 (Olp 群) フロリジン注入後のオルプリノン注入 (Olp+Phi 群)

図1. 実験プロトコル



再灌流終了後, LAD 閉塞を行い, 左心室 (LV) の正常領域を染色するためにパテントブルー色素を静脈内投与した後, 速やかに心臓を摘出した。LV 組織を単離し, 約 10 個の断面に切り分けた。LAD から供給される心筋床の領域である AAR (Area at risk) を, 青く染色された LV 正常領域の周囲から分離した。AAR と他の LV 領域の重量を測定し, AAR/LV 比を算出した。またウエスタンブロッティングで p-AMPK および EGFR の発現についても検討した。

4. 研究成果

体重および年齢については, 各群間で有意な差はなかった。平均動脈圧 (MAP) (表 1) と心拍数も各群間で有意な差はなかった。Phi, Tof, Olp+Phi 群の薬剤注入前および注入後 60 分の血糖値を測定したが, 各群で差はなかった (表 2)。LV 重量, AAR 重量, および LV に対する AAR の比率は, すべてのグループで同様であった (表 3)。梗塞サイズ/AAR 比は, IPC 群 (25.8 [31-12.7])、Tof 群 (21.8 [33.3-13.8])、Olp+Phi 群 (33.9 [40-14.8])、Olp 群 (21.4 [30.5-15.3]) では Con 群 (46 [67.3-40.7]) に比べて有意に減少した。しかし, Phi 群 (42.5 [59.1-33.5]) と Con 群の梗塞サイズ/AAR 比は同程度であった (図 2)。p-AMPK のタンパク質発現レベルは, IPC 群より Phi 群の方が低かったが (図 3) EGFR の発現は両群で同程度であった。

表 1. 平均動脈圧

MAP (mmHg)	Baseline	Intervention	Preocclusion	Occlusion 15 min	Reperfusion 60 min	Reperfusion 120 min
Con	112±15	103±15	97±10	99±17	92±16	89±21
IPC	106±11	107±7	106±10	100±13	98±13	102±17
Phi	101±24	108±26	106±24	97±16	93±13	91±13
Tof	98±15	100±25	94±22	89±17	88±26	95±21
Olp+Phi	102±22	102±21	103±22	105±20	106±21	108±33

表 2 . 血糖値

Blood glucose	Intervention	
	Baseline	60 min
Phl	105 ± 8	112 ± 24
Tof	111 ± 15	123 ± 16
Olp+Phl	112 ± 16	113 ± 17

表 3 . 左室虚血危険領域

	Number	Area at risk/left ventricle (%)
Con	7	46.7 ± 5.6
IPC	7	45.2 ± 3.5
Phl	7	47.3 ± 3.7
Tof	7	45.3 ± 1.7
Olp+Phl	7	46.9 ± 4.1

図 2 . 梗塞範囲

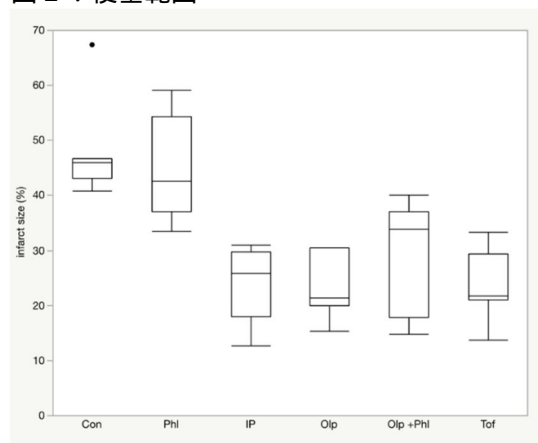
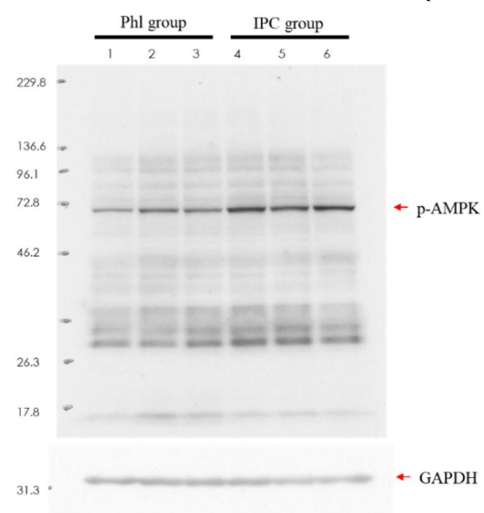


図 3 . ウェスタンブロッティング (P-AMPK)



以上の結果から、SGLT1 を高濃度に阻害すると IPC の心筋保護効果が阻害され、機序としては p-AMPK の活性阻害の関与が示唆された。一方で、臨床投与量のトフォグリフロジンによる SGLT1 の低濃度阻害下では IPC の保護効果は阻害されなかった。また、オルプリノンによる薬理的なプレコンディショニングは、SGLT1 の高濃度阻害下でも心筋保護効果を発揮することが明らかとなった。

今回、フロリジンによる高度の SGLT1 阻害が心筋保護効果を抑制することは明らかとなったが、SGLT 選択性の異なる各種 SGLT2 阻害薬の臨床投与量下での SGLT1 阻害作用が、保護効果をどの程度抑制させるかは依然として不明である。また、SGLT2 阻害薬が臨床で投与されるのは糖尿病患者であるが本研究は正常ラットのみを使用しており、加えて、投与方法が臨床と異なり急性投与であった。そこで次の段階としてより臨床に則するために、糖尿病ラットを用い、投与方法として慢性投与(4週間内服)を加え、SGLT1 選択性の異なる複数の SGLT 阻害薬の臓器保護効果と作用機序を検討する予定である。SGLT2 阻害薬の SGLT 選択性の違いが心筋保護に与える影響を、実臨床に限りなく近い形で示すことで、糖尿病患者の虚血性心疾患の重症化および心不全リスクの低下、予後や QOL の改善に寄与できると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 江頭崇、一ノ宮大雅
2. 発表標題 オルブリンの心筋保護効果に及ぼすSGLT1阻害薬の影響の検討
3. 学会等名 第47回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	江頭 崇 (EGASHIRA Takashi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------