

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19426

研究課題名(和文) エムツール阻害薬による間質性肺疾患に対する治療法の開発

研究課題名(英文) Treatment of mTOR inhibitor-induced lung disease

研究代表者

鷲野 聡 (Satoshi, Washino)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：50406162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：mTOR阻害薬は様々な腫瘍に対して抗腫瘍作用を発揮するが、間質性肺疾患や2型糖尿病などの有害事象を発症させることが知られている。2型糖尿病モデルマウスにmTOR阻害薬であるTemsirrolimusを投与し、コントロールマウスと比較してより高度の糖尿病・肺傷害が誘発されるか否かを検討した。2型糖尿病モデルマウスでは、Temsirrolimus投与により著明な2型糖尿病が誘発されたが、肺傷害の程度はコントロールマウスと同等であった。2型糖尿病治療薬であるRosiglitazoneはTemsirrolimus誘発性2型糖尿病を改善させたが、肺傷害を軽減させなかった。

研究成果の概要(英文)：mTOR inhibitors have recently been developed as antineoplastic targeted therapies in various cancers. However, mTOR inhibitors have several adverse effects, including interstitial lung disease and type 2 diabetes. We recently found that temsirolimus induced interstitial lung disease more frequently in patients with diabetes. It was the purpose of this experiment to reveal the association between temsirolimus-induced lung disease and type 2 diabetes. Male moderate diabetic mice or control mice were administered by temsirolimus or vehicle. A subgroup of diabetic mice administered with temsirolimus was treated by rosiglitazone maleate, glimepiride, or vehicle. Temsirolimus worsened type 2 diabetes markedly in diabetic mice. However, lung inflammation in diabetic mice was equivalent to that in control mice. Rosiglitazone ameliorated temsirolimus-induced type 2 diabetes but not lung inflammation. Glimepiride did not ameliorate temsirolimus-induced type 2 diabetes.

研究分野：泌尿器科

キーワード：mTOR阻害薬 Temsirolimus 肺傷害 糖尿病 血糖降下薬

1. 研究開始当初の背景

mammalian target of rapamycin (mTOR) 阻害薬は腎細胞癌を含む様々な腫瘍に対して抗腫瘍作用を発揮するが、その有害反応の一つとして間質性肺疾患が 15% 程度の症例に発症する。我々は、mTOR 阻害薬は肺胞上皮細胞傷害や肺胞内の脂質蓄積を介して肺の炎症を惹起させることを見出した。また、mTOR 阻害薬は 12 ~ 50% の症例に 2 型糖尿病を含む脂質代謝異常も引き起こすことが知られている。我々は、臨床研究により、糖尿病合併例で mTOR 阻害薬による間質性肺疾患の発症頻度が増加することを見出した。

2. 研究の目的

mTOR 阻害薬による間質性肺疾患の発症機序を糖代謝障害の観点から明らかにし、治療法を開発することを本研究の目的とした。具体的には 2 型糖尿病モデルマウスに mTOR 阻害薬である Temsirolimus を投与し、コントロールマウスと比較してより高度の糖尿病・肺傷害が誘発されるか否かを明らかにし、血糖降下薬による糖尿病の是正が肺傷害の軽減に寄与するか否かを明らかにすることを研究の目的とした。

3. 研究の方法

20 ~ 23 週齢の糖尿病モデル Ob/Ob マウス (B6.Cg-Lep ob/J・雄) およびコントロール B6 マウス (C57BL/6J・雄) に Temsirolimus 10mg/kg もしくは Vehicle を 3 回/週もしくは 5 回/週・4 週間投与した。Ob/Ob マウスにおいて Temsirolimus が高血糖を誘発することを確認し、肺傷害が B6 マウスと比較してより高度に誘発されるか否かを検討した。食餌は通常食もしくは高脂肪食を投与した。また、Temsirolimus を投与した Ob/Ob マウス (Temsirolimus 誘発性糖尿病・肺傷害マウス) に血糖降下薬 (Rosiglitazone maleate : 1 mg/kg もしくは 10 mg/kg、Glimepiride : 25 mg/kg) を投与し、高血糖の改善および肺傷害の改善が認められるか否かを検討した。高血糖の評価として、随時血糖値を 1 回/週測定した。また、グルコース負荷試験 (intraperitoneal glucose tolerance test [IPGTT] : 1g/kg) を施行した。インスリン感受性の評価として、インスリン負荷試験 (B6 マウス: 1.5U/kg、Ob/Ob マウス: 8U/kg) を施行した。

治療終了時にマウスに麻酔後、血液を採取した。失血死させ後に気管支肺胞洗浄液を採取し、また、肺組織を採取した。肺傷害の評価としては、気管支肺胞洗浄液中の細胞分画とタンパク濃度を測定し、肺組織中の炎症性サイトカインの mRNA 発現を測定した。

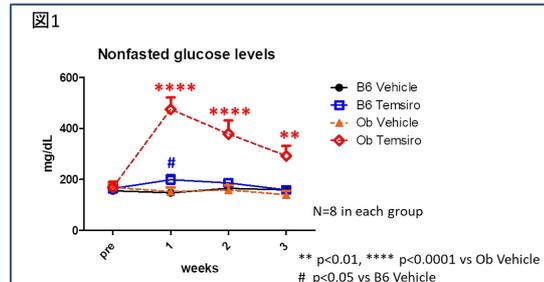
データはすべて平均±標準誤差で示した。

4. 研究成果

(1) 通常食・Temsirolimus 3 回/週投与し

た時の結果

随時血糖値 : B6 マウスにおいて Temsirolimus 投与により軽度の高血糖が誘発された (1 週間後 : 147.1 ± 5.5 vs 198.9 ± 17.6 mg/dL、p<0.05)。Ob/Ob マウスでは Temsirolimus 投与後に著明な高血糖が誘発された (1 週間後 : 474.5 ± 46.7 vs 151.0 ± 17.5 mg/dL、p<0.0001、図 1)。



IPGTT : B6 マウスにおいて Temsirolimus 投与により有意に高血糖が引き起こされた (p<0.001)。Ob/Ob マウスにおいては B6 マウスと比較して著明な高血糖が引き起こされた。

インスリン負荷試験

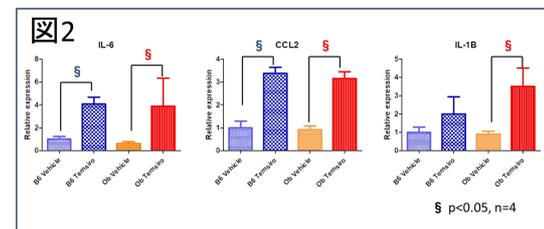
B6 マウス・Ob/Ob マウスともに Temsirolimus 投与群においてインスリン投与後の血糖値の低下は有意に軽微であり、インスリン抵抗性が示された。

気管支肺胞洗浄液中の細胞分画・タンパク濃度

Temsirolimus 投与群において気管支肺胞洗浄液中のリンパ球・好中球分画が有意に増加していた。しかし、Ob/Ob マウスと B6 マウス間ではリンパ球・好中球分画の増加は同等であった。気管支肺胞洗浄液中タンパク濃度も Temsirolimus 投与群で増加したが、Ob/Ob マウスと B6 マウス間では同等であった。

肺組織中の炎症性サイトカイン mRNA 発現 (図 2)

Temsirolimus 投与群において Interleukin-6 (IL-6)、C-C motif chemokine 2 (CCL2)、Interleukin-1β (IL-1β) の mRNA 発現が増加した。しかし、これらの炎症性サイトカイン発現の増加は、Ob/Ob マウスと B6 マウス間で同等であり有意差は認められなかった。



(1) の結果のまとめ

Temsirolimus 投与によりコントロールマウス

ス群・糖尿病モデルマウス群においても高血糖・インスリン抵抗性が誘発された。その作用は糖尿病モデルマウス群においてはより著明であった。

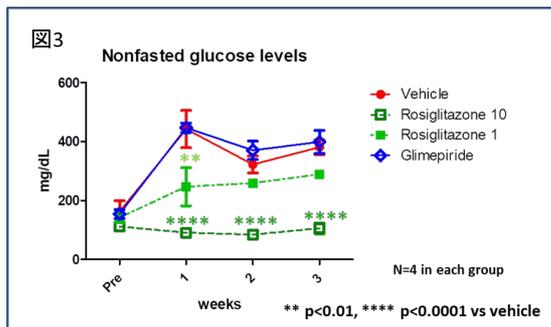
Temsirolimus 投与によりコントロールマウス群・糖尿病モデルマウス群両群において肺の炎症が惹起された。しかし、肺の炎症の程度はコントロールマウス群・糖尿病モデルマウス群間で同等であった。

これらの結果は、食餌を高脂肪食とした場合においても、Temsirolimus 投与を 5 回/週とした場合においても同様であった。

(2) Temsirolimus 誘発性糖尿病・肺傷害に対する血糖降下薬の治療効果

Rosiglitazone・Glimepiride の糖尿病への治療効果

随時血糖値: Rosiglitazone 投与により随時血糖値は用量依存的に低下したが、Glimepiride 投与では随時血糖値は低下しなかった(1 週間後、Vehicle: 442 ± 63.4 mg/dL、Rosiglitazone 1mg/kg: 247 ± 64.5 、Rosiglitazone 10mg/kg: 90.5 ± 10.4 、Glimepiride 25mg/kg: 447 ± 15.8 、図 3)

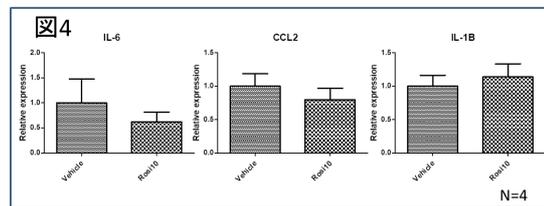


IPGTT: Rosiglitazone 10mg/kg は Vehicle 群と比較して血糖値を有意に低下させた ($p < 0.0001$) が、Rosiglitazone 1mg/kg、Glimepiride 25mg/kg 群では Vehicle 群と比較して有意差は認められなかった。

インスリン負荷試験:

Rosiglitazone 10mg/kg 群において、Vehicle 群と比較して有意なインスリン抵抗性の改善が認められた ($p < 0.0001$) が、Rosiglitazone 1mg/kg 群・Glimepiride 群は Vehicle 群と比較して有意差を認めなかった。

Rosiglitazone の肺傷害への治療効果
肺組織中の炎症性サイトカイン (IL-6、CCL2、IL-1) mRNA の発現は Vehicle 群と Rosiglitazone 10mg/kg 群間に有意差は認められなかった (図 4)



(2) の結果のまとめ

Rosiglitazone 投与により Temsirolimus 誘発性糖尿病の改善は認められたが、肺傷害の改善は認められなかった。

Glimepiride 投与にて Temsirolimus 誘発性糖尿病の改善は認められなかった。

総括

2 型糖尿病モデルマウスにおいて Temsirolimus はインスリン抵抗性の増悪を介して糖尿病の著明な増悪を誘発したが、肺傷害の増悪は誘発しなかった。

Temsirolimus 誘発性糖尿病の治療薬として Rosiglitazone は有効であったが、Glimepiride は無効であった。Rosiglitazone により糖尿病は改善したが、肺傷害の軽減は認められなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

自治医科大学・医学部・助教

鷲野 聡 (Washino,Satoshi)

研究者番号 : 50406162

(2)研究分担者

()

研究者番号 :

(3)連携研究者

(4)研究協力者

自治医科大学・医学部・講師

牛島 健太郎 (Ushijima,Kentaro)

研究者番号 : 70448843