

論文審査の結果の要旨

申請者名 小 田 民 美

インクレチンとは、摂食にともない小腸から分泌される消化管ホルモンである。インクレチンにはグルコース依存性インスリン分泌刺激ペプチド (GIP) とグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) の2種類があり、これらはともに血糖依存的なインスリン分泌促進作用を持つほか、様々な形で糖代謝の調整を行っている。GLP-1 はインスリン分泌促進やグルカゴン分泌抑制、消化管運動抑制、中枢性の食欲抑制作用を有する。GIP もインスリン分泌促進作用を持つが、GLP-1 比べてややその作用は小さく、また、グルカゴン分泌に関しては逆に促進的に働くことがわかっている。また、GIP は体内への脂肪蓄積作用も有することから、糖尿病治療においては GLP-1 の方が注目されている。ヒトの2型糖尿病患者においては、このインクレチンの分泌障害や感受性低下による糖代謝異常が報告されており、これらを治療ターゲットとした食事療法および薬剤治療が勧められている。近年、小動物領域でも肥満が大きく問題とされている中で、インクレチンは糖代謝の重要な因子とされていて、小動物臨床においてもその有用性は大きいと考える。本論文は犬におけるインクレチン作用とインクレチン製剤の糖代謝に及ぼす影響について検討を行ったものである。

第2章では、犬におけるインクレチン作用の存在を明らかとし、犬小腸におけるインクレチンの RNA 発現量の定量を行った。グルコースを経口投与した場合、同程度の血糖上昇をきたすように経静脈投与した場合と比較して、経口投与の方がインスリン分泌反応は大きくなる。これは、小腸へのグルコース刺激によってインクレチンが分泌され、血糖依存的にインスリン分泌を促進させたためである。このような反応をインクレチン作用と呼ぶ。この作用が犬にも存在するのかを検討するため、リアルタイムで血糖値を測定、モニタリングできる人工膵臓装置を健常犬に設置し、経口糖負荷試験 (OGTT) と静脈内糖負荷試験 (IVGTT) を実施した。始めに、OGTT を行い血糖値を記録し、その後、OGTT の血糖変動を IVGTT で再現するため、静脈内点滴にてグルコースを注入して、OGTT と IVGTT の血糖変動を同等条件下でインスリン分泌量を比較した。その結果、OGTT の方が約 1.3 倍インスリン分泌量が多くなったため、犬においてもインクレチン作用の存在が確認できた。また、ヒトと比べて犬はグルコース刺激による GLP-1 の分泌反応が小さいことが考えられたため、犬小腸における GIP、GLP-1 RNA 発現量の定量を行った。犬では、小腸上部十二指腸領域では GLP-1 はほとんど発現していません。

下部回腸領域で最も多く発現していた。この結果は、小腸中部で GLP-1 発現量が最も多いというヒトの報告とは異なるものであった。このことから、犬でグルコース刺激による GLP-1 分泌反応が小さいのは、GLP-1 分泌細胞である L 細胞の小腸における分布の違いが影響をおよぼしている可能性を示唆した。

OGTT の血糖変動を IVGTT で再現するということは、頻繁に血糖値をモニタリングし糖注入量を細やかに調節する必要があるが、この作業をリアルタイムで血糖値を測定できる人工膵臓装置を用いることで可能にし、高い再現性を得ることに成功した。獣医学分野においては、人工膵臓装置を設置している施設自体が非常に数少なく、ヒトと同様の方法で犬のインクレチン作用の存在を確認することができた貴重なデータである。

第 3 章では、犬のインクレチン日内変動と栄養組成の違いがインクレチン分泌に与える影響について研究を行った。インクレチンはインスリン分泌促進作用以外にも様々な形で糖代謝の調節を行っており、現在、ヒトの糖尿病患者に対する食事療法や肥満予防プログラムにて、内因性のインクレチン分泌に焦点を当てた研究が数々進められている。ヒトの糖尿病患者においては、肥満を誘発する GIP 分泌は抑制し、食後高血糖抑制、食欲抑制作用をもつ GLP-1 分泌は促進させるような食事管理が有用であるといわれている。そこで本章では、様々なフードを用いて犬のインクレチン分泌パターンがどのように変動するのかを明らかとした。

犬におけるインクレチン日内変動および糖代謝関連項目の朝夜での変動の違いについて検討を行った結果、血中 GIP、GLP-1 濃度は食事摂取にともない急激に上昇していき、食後 1.5-3 時間に最高値を迎え、その後緩やかに下降していくといった食事摂取に依存する日内変動をとることが示された。また、1 日 2 回、同じ食事を同じ量給与しても昼夜のインクレチン変動は異なっていることを明らかにした。夜間の GLP-1 分泌が上昇していることから、消化管通過時間が遅延していることが示唆された。そして夜間はインスリン分泌が朝と比べて上昇していたことから、朝フードの内容として適切なのは、吸収の緩やかな水溶性繊維を含み、夜食前のエネルギー不足を補うこと、もしくは 12 時間毎ではなく夜食を多少早めの時間に給与することがよく、夜用フードは炭水化物割合を落としてインスリン過剰分泌を防ぐことも有用であると考えられる。

次に、栄養組成の異なる食事が犬のインクレチン分泌におよぼす影響について検討した。通常食、高炭水化物食、高脂肪食、高繊維高タンパク食、高繊維高脂肪食の 5 種のフードを給与し、GIP、GLP-1 濃度を測定したところ、犬の GLP-1 分泌には栄養組成の違いはそれほど影響せず、むしろ繊維の量に依存することを明らかにした。この結果は、犬の GLP-1 分泌細胞の小腸における分布と関係があるものと考えられた。また、GIP 分泌は他動物種の報告と同様、フード中の脂肪含量の増加で上昇し、繊維を添加すると低下することを明らかにした。GLP-1 分泌を促進させ、GIP 分泌を抑制する食事として

は繊維量が多く、脂肪含量の少ない食事が有効であることが示された。以上より、食事組成や食事の時間、食事配分など、犬におけるインクレチンの食事療法への応用について新たな示唆を得た。

第4章では、現在ヒトの糖尿病患者に使用されている GLP-1 受容体作動薬であるリラグルチドを用いて、犬での効果を検討した。

日本においては 2009 年に初めてインクレチン製剤が糖尿病治療薬として導入され、その後も次々と臨床応用されている。インクレチン製剤の 1 種であるリラグルチドは、GLP-1 のアミノ酸構造の一部を人工的に変化させることで、GLP-1 分解酵素である dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) に対して抵抗性を持ち、GLP-1 特異的受容体に結合して特異的かつ強力な GLP-1 作用を示す薬剤である。ヒトの 2 型糖尿病患者においてはリラグルチド投与により、食後高血糖改善とともに、グルカゴン分泌の有意な抑制、体重減少効果が示され、インスリン分泌能の欠如した 1 型糖尿病患者においても食後高血糖の抑制や血糖値日内変動幅の減少など、血糖コントロールの改善が報告されている。この報告より、インスリン分泌能の欠如した 1 型糖尿病の犬においても、血糖コントロール改善の可能性が期待できたため、本章ではリラグルチド投与が犬の糖代謝へおよぼす影響について検討した。

健康犬におけるリラグルチド投与において、血糖変動は OGTT 下でも空腹時の値からほとんど上下せず、顕著な血糖降下作用が認められた。また、この作用は GLP-1 のインスリン分泌促進作用に加えて、消化管運動抑制、グルカゴン分泌抑制作用が血糖降下に寄与した可能性が考えられた。この結果より、インスリン自己分泌の欠如した糖尿病犬においても血糖降下作用が期待されたため、糖尿病犬に対してインスリンとリラグルチドの併用療法が血糖変動におよぼす影響について検討した。インスリンとリラグルチドの併用療法によって、全ての糖尿病犬で食後高血糖の抑制、血糖変動幅の減少が顕著に認められ、GLP-1 によるグルカゴン分泌抑制作用や消化管運動抑制作用が血糖降下に寄与していることが示された。糖尿病犬へのリラグルチド投与により、血糖コントロール改善に加えて、インスリン投与量の減量など、インスリン補助療法としての有用性が期待された。

現在、ヒトの糖尿病患者に対する薬剤治療や食事療法にて、インクレチンに焦点を当てた研究が数多く行われている。その中でインクレチンは、血糖正常化のみならず肥満、生活習慣病予防や糖代謝改善の重要な因子とされており、今後、小動物臨床においてもその有用性は大きく期待できる。

以上のように、本論文は犬におけるインクレチン作用を明らかにし、また犬小腸におけるインクレチンの RNA 発現分布についても示した。また、GIP、GLP-1 の日内変動

や食事の成分によるインクレチン分泌の変動についても明らかとした。さらには、ヒトの糖尿病治療ですでに使用されている GLP-1 製剤の犬での効果を示し、糖尿病犬に対する作用、応用の可能性を示した。これらは糖代謝改善、肥満予防に対するより効果的なフードの開発や栄養指導へと繋がる有用な知見となりえ、糖尿病犬における新たな治療法、管理法、看護法の可能性を示しており、学術上、応用上貢献するところが少なくない。

よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医保健看護学）の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。