

健常犬における GLP-1 受容体作動薬投与が  
消化管通過時間におよぼす影響の検討  
(Effect of glucagon like peptide-1 receptor agonists  
on gastrointestinal transit in healthy dogs)

学位論文の内容の要約

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科  
獣医保健看護学専攻博士後期課程平成 27 年入学

生野 佐織

(指導教員：左向 敏紀)

GLP-1 受容体作動薬は、糖尿病の治療薬であり、血糖依存的にインスリン分泌を促す作用だけでなく、グルカゴン分泌抑制、消化管通過時間遅延などの作用により血糖コントロールを改善する薬剤である。上記作用の中でも、食後の血糖値上昇抑制を促す消化管通過時間遅延が重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、イヌにおいては、GLP-1 受容体作動薬における消化管通過時間（胃内容排出時間および小腸通過時間）の抑制に関する報告はなされていない。また、胃内容排出時間および小腸通過時間を簡便に測定する方法として、アセトアミノフェン（以降 APAP）法およびサラゾスルファピリジン（以降 SASP）法がある。APAP 法は、APAP が胃からほとんど吸収されず、小腸から急速に吸収され血中に出現する性質を利用した方法で、APAP を経口投与し、経時的に血中の APAP 濃度を測定することで、間接的に胃内容排出時間を測定できるとされている。SASP 法は、SASP が胃および小腸ではほとんど分解されず、大腸で腸内細菌により分解、吸収され速やかに血中に出現する性質を利用した方法で、SASP を経口投与し、経時的に血中の SP 濃度を測定することで、間接的に小腸通過時間を測定できるとされている。しかし、イヌの胃内容排出時間および小腸通過時間を正確に捉えているか明らかにされていない。そこで、本研究では、APAP 法および SASP 法がイヌにおいて正確に測定できるかを検討し、さらにこれらを用い、GLP-1 受容体作動薬が健常犬の胃内容排出時間および小腸通過時間におよぼす影響を明らかにすることを目的とした。

## 第 1 章 イヌにおける血清アセトアミノフェン濃度および血清スルファピリジン濃度測定法の基礎的研究

はじめに、ヒトで簡易に測定できる APAP 検出キットを用いて、健常犬の血清 APAP 濃度の精度・妥当性を調査した。さらに、イヌにおける APAP 投与量を検討した。健常犬 1 頭に APAP を投与し採血した血清サンプルを用いて、同時再現性試験および日差再現性試験を行ったところ、両試験の変動

係数 (CV) は、基準とする 20%以内の良好な再現性が得られた。しかし、希釈直線性試験では、血清サンプルを 2 倍、4 倍、8 倍、16 倍に段階希釈した結果、 $P < 0.05$  の良好な直線性が得られたが、原点を通過せず、 $5 \mu\text{g/ml}$  未満の血清濃度は正確に評価することができなかった。したがって、APAP 検出キットではイヌの血清 APAP 濃度は測定できるものの、低濃度の測定には適さないことが示された。また、イヌにおける安全で定量可能な APAP 投与量を、健常犬 6 頭に APAP を  $10 \text{ mg/kg}$  および  $20 \text{ mg/kg}$  投与し比較検討したところ、 $20 \text{ mg/kg}$  投与量で有意な上昇が見られ、さらに副作用が認められなかった。

次に、高速液体クロマトグラフィー (以降 HPLC) を用いて血清 APAP 濃度および血清スルファピリジン (以降 SP) 濃度の信頼性、精度および妥当性を検討した。信頼性では、健常犬 5 頭のプール血清を用い添加回収試験を行った結果、血清 APAP 濃度および血清 SP 濃度の両方で米国の FDA の基準の 80 - 120%内であり、サンプル、試薬および検出反応に干渉する物質が存在しないことが示された。また、精度および妥当性試験では、健常犬 1 頭に APAP および SASP を投与し採血し、高濃度、中濃度および低濃度の各血清サンプルを用いて、同時再現性試験および日差再現性試験を行った。同時再現性試験では、すべての濃度で良好な結果を示した。日差再現性試験では、血清 APAP 濃度の高濃度サンプルのみ、CV がサンプル採取後 10 日で基準とする 20%を超えたため、血清 APAP 濃度測定は、検体採取 7 日以内に実施することで、測定の信頼性が高くなることが示された。希釈直線性試験は、血清 APAP 濃度および血清 SP 濃度の高濃度サンプルを用いた結果、良好な直線性を示し、希釈可能であることを示した。

以上のことから、血清 APAP 濃度および血清 SP 濃度の測定には、APAP 検出キットでは難しいが、HPLC を用いて同時に測定できることが分かった。ただし、検体採取 7 日以内に実施する必要がある。また、 $20 \text{ mg/kg}$  の APAP 投与量は安全な用量であり、イヌの胃内容排出時間を正確に評価する

ために適していると考えられた。

## 第2章 イヌにおけるアセトアミノフェン法およびサラゾスルファピリジン法の消化管通過時間の正確性の検討

まず、小動物に使用される硫酸バリウム含侵ポリエチレン球（以降 BIPS）と、APAP 法および SASP 法を比較検討した。健常犬 4 頭に、ウェットフードに混ぜた BIPS と共に APAP および SASP を投与し、経時的にレントゲン撮影および採血を同時に行った結果、APAP 法では、投与後 0.5 時間で食物はすでに胃から排出され、SASP 法では投与後 4 時間以降で食物が小腸を通過し大腸に到達した結果となった。一方、BIPS の胃内容排割合は、投与後 10 時間で  $23.10 \pm 22.74\%$  と、10 時間経過しても大部分が胃内に残っており、さらに小腸および大腸の詳細な判別が困難であったため、小腸排出割合を算出することができなかった。したがって、イヌにおける APAP 法および SASP 法が正確な測定法であるかは、BIPS では明らかにすることができなかった。

次に、液体造影剤を用いて、APAP 法および SASP 法の正確性を検討した。さらに、食事の吸収動態を表す血中代謝マーカー（Glucose、Insulin、NEFA および TG）も同時に比較検討した。健常犬 4 頭に、ウェットフードに混ぜた液体造影剤と共に APAP および SASP を投与し、経時的にレントゲン撮影および採血を同時に行った結果、APAP 法では投与後 0.5 時間で食物はすでに胃から排出され、さらにレントゲン画像ではすべてのイヌで 0.5 時間に小腸で液体造影剤が確認されたことから、APAP 法の胃内容排出時間は正確である可能性が高いことが示唆された。一方、SASP 法では、4 頭中 2 頭で SASP 法よりも液体造影剤の方が、小腸通過時間が 2 時間早く現れる傾向にあったが、他の 2 頭では、レントゲン画像と一致したため、約 2 時間のタイムラグがあったものの大きな差異はなく、SASP 法は毎回のレントゲンを撮影することなく小腸通過時間が反映できる鋭敏なマーカーであると考え

えられた。さらに、血中代謝マーカーでは、Glucose および Insulin では、大きな変動がなかったため、APAP 法および SASP 法と比較することができなかった。NEFA および TG の血中動態は、投与後 0.5 時間では、食物が胃から十二指腸に到達し吸収され、食後 4 時間以降に小腸からの糖や脂肪の吸収が少なくなり、栄養素が吸収された食物が小腸から大腸へ移動し始めたことが示唆され、APAP 法および SASP 法と一致した。

以上のことから、APAP 法および SASP 法は、レントゲンを撮影することなく胃内容排出時間および小腸通過時間を正確に捉えている可能性が高く、さらに NEFA および TG の血中動態とほぼ類似した変動を取ることが考えられた。

### 第 3 章 健常犬における GLP-1 受容体作動薬投与が消化管通過時間に与える影響の検討

GLP-1 受容体作動薬の消化管通過時間を遅延させる作用は、食後の血糖値上昇を抑制する主要なメカニズムであるとされているが、イヌにおいてはそのような報告はなされていない。そこで、本章では、GLP-1 受容体作動薬が、健常犬の消化管通過時間および血中代謝マーカーにおよぼす影響を APAP 法および SASP 法を用い検討した。

本試験では、健常犬 5 頭を用い、GLP-1 受容体作動薬であるエキセナチドまたはリラグルチド、さらにコントロールとして生理食塩水を用いた 3 群で、クロスオーバー法で行った。エキセナチド、リラグルチドまたは生理食塩水を皮下注射し、1 時間後にフード、APAP および SASP を投与し、経時的に採血を行い、血清 APAP 濃度、血清 SP 濃度、Glucose、Insulin、NEFA、TG、GIP および GLP-1 を測定した。本研究の結果では、エキセナチドおよびリラグルチドのどちらも胃内容排出時間の遅延が認められたが、エキセナチドの方が胃内容排出時間の遅延が顕著であった。また、この胃内容排出抑制作用が食後の Glucose、Insulin、TG および GIP 上昇抑制に強く

関与した可能性を示唆した。さらに、どちらも小腸通過時間が遅延したが、リラグルチドの方が小腸通過時間の遅延が顕著であり、副作用である軟便も認められたため、小腸での栄養吸収に影響をおよぼし消化器症状を起こしやすい可能性も示唆された。

本論文では、イヌの血清 APAP 濃度および血清 SP 濃度の HPLC を用いた同時測定法を確立し、APAP 法および SASP 法が健常犬の胃内容排出時間および小腸通過時間を正確に測定していることを確認した。さらに、GLP-1 受容体作動薬が消化管通過時間におよぼす影響を APAP 法および SASP 法を用いて検討した結果、GLP-1 受容体は健常犬の胃内容排出時間および小腸通過時間を遅延させることが分かった。これらの結果は、APAP 法および SASP 法がイヌにおける消化管運動のモニタリングに有用な方法であり、さらに、GLP-1 受容体作動薬は糖尿病犬における新たな治療薬として、血糖コントロールの改善および QOL の向上をもたらす可能性を示した。