

|         |   |
|---------|---|
| 氏名      | 竹内 光明   |
| 学位の種類   | 博士（農学）  |
| 学位記番号   | 乙 第21号  |
| 学位授与の日付 | 令和元年9月30日   |
| 学位授与の要件 | 信州大学学位規程第5条第2項該当  |
| 学位論文題目  | 新規 GLP-1 受容体作動薬の創製と薬理学的研究   |
| 論文審査委員  | 主査 教授 真壁 秀文<br>副査 教授 藤井 博<br>教授 下里 剛士<br>准教授 米倉 真一<br>教授 今野 博行 (山形大学) |

## 論文内容の要旨

Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は食事の際に小腸 L 細胞から分泌されるペプチドホルモンであり、膵臓  $\beta$  細胞に発現している GLP-1 受容体を介し、血糖値に依存したインスリン分泌作用および膵臓  $\beta$  細胞保護作用を示す。その生理作用から、2 型糖尿病治療薬候補として研究が進められてきた。GLP-1 は分泌後に速やかに分解酵素 (DPP-4) または腎排泄により消失するため、作用持続の試みが数多く検証されている。既に、本邦でも生体内安定性を高めた GLP-1 受容体作動薬が上市され、広く糖尿病患者に処方されている。しかしながら、消化管に関連する副作用（悪心、嘔吐等）が多数報告され、臨床適応上の課題と認識されている。

本研究では、新規 GLP-1 受容体作動薬候補を創製し、その薬理学的特徴を把握して、有効性や安全性面で類薬と異なるプロファイルを獲得できるか検証した。我々は、高分子化による生体内安定性改善を目標として、アルブミンと強固な結合を示す細菌由来のドメイン (ABD) の活用に着目した。ABD 内で、アルブミンと直接結合が示唆される部分配列を選択し、DPP-4 耐性を示す [Ser<sup>8</sup>]GLP-1 の C 末端にそれら配列を付加した 10 種のペプチドを合成した。各ペプチドは、いずれもインスリン分泌能を保持し、ラットやヒト血漿中で高い安定性を示す事が確認された。さらに、各ペプチドを 2 型糖尿病モデル (db/db マウス) でスクリーニングした結果、強力且つ持続的な血糖降下作用を示す SKL-18287 を見出すことができた。

次いで、SKL-18287 のラット血漿動態及び各動物血清を用いたタンパク結合率を測定した。その結果、SKL-18287 の消失半減期は 5 時間以上であり、野生型 GLP-1 の半減期 (数分) と比較して著しく延長した。一方、タンパク結合率は 55~83% であり、血清タンパクに対する親和性は高くなかった。さらに、SKL-18287 と GLP-1 受容体の結合がアルブミン濃度に依存するかを確認したが、受容体結合能はアルブミン濃度を変えてもほぼ一定であった。これらの結果から、SKL-18287 の生体内安定化には、アルブミンとの結合とは異なる機序が寄与していると推測された。

そこで、PBS 溶液中の SKL-18287 の存在形態を、超遠心分析法により解析した結果、溶液中で 3、6 または 10 量体 (多量体) で存在していることが示唆された。さらに、<sup>[125I]</sup>-SKL-18287 をラットに皮下投与後、血漿中放射能の分子サイズを薄層ゲル濾過 (TLGC) 法により確認した結果、放射能の分子サイズは SKL-18287 の分子量 (約 4,300) より大きく (44KDa 以上)、生体中でも多量体を形成することが強く示唆された。

SKL-18287 の薬理学的特徴を確認するため、既存の GLP-1 受容体作動薬 (Exendin-4 及び Liraglutide) と有効性を比較した。正常マウスを用いた腹腔内糖負荷試験 (IPGTT) では、SKL-18287 は Exendin-4 よりも血糖降下作用が持続することが確認された。また、

非肥満 2 型糖尿病モデル (GK ラット) における反復投与試験では、Liraglutide と比較して、グリコヘモグロビン改善作用が強く、投与初期の摂餌抑制は弱い事が確認された。これらの結果から、SKL-18287 は類薬と比較してインスリン分泌能が強いと推測された。さらに、正常ラットにおける胃排泄運動抑制作用は Liraglutide よりも弱く、消化管に対する影響は少ないと推測された。

SKL-18287 の組織分布を把握するため、 $[^3\text{H}]$ -SKL-18287 をラットに皮下投与し、組織内放射能濃度推移を確認した。投与後 2 時間及び 6 時間における膵臓 (GLP-1 の標的組織) の放射能濃度は、他の組織と比較して高く、膵臓に特異的に分布する事が確認された。さらに、SKL-18287 のラット、サル及びミニブタの薬物動態試験により、ヒトにおける消失半減期は 14.8 時間と予測され、1 日 1 回の適用が可能である事が強く示唆された。

以上、本研究により、新規持続型 GLP-1 受容体作動薬候補である SKL-18287 を創製することができた。SKL-18287 は強力且つ持続的な血糖降下作用と消化管に関連する副作用の発現が少ない特徴を有し、2 型糖尿病患者に新たな治療オプションを提供できる薬剤になると考えられた。