

論 文 内 容 要 旨

題目 Canagliflozin Prevents Diabetes-Induced Vascular Dysfunction in ApoE-Deficient Mice

(カナグリフロジンは、ApoE 欠損マウスの糖尿病誘発性血管機能障害を予防する)

著者 Arief Rahadian, Daiju Fukuda, Hotimah Masdan Salim, Shusuke Yagi, Kenya Kusunose, Hirotsugu Yamada, Takeshi Soeki, Masataka Sata

令和 2 年 11 月 1 日発行 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis 第 27 巻第 11 号 1141 ページから 1151 ページに発表済

内容要旨

背景：最近の研究では、選択的ナトリウム-グルコース共輸送体 2 阻害剤 (SGLT2is) が心血管イベントを軽減することが示されているが、そのメカニズムは不明な点が多い。本研究は、SGLT2i のひとつであるカナグリフロジンの動脈硬化や血管機能への影響を調べ、そのメカニズムを検証した。

方法：ストレプトゾトシン 75mg/kg/日をアポリポタンパク質 E 欠損 (ApoE<sup>-/-</sup>) マウスに 3 日間連続で腹腔内注射し、糖尿病を誘導した。カナグリフロジン (30mg/kg/日) を糖尿病 ApoE<sup>-/-</sup>マウスに 8 週間または 12 週間強制経口投与した。アテローム性動脈硬化病変の進展を評価するために、大動脈弓で Sudan IV 染色を行った。大動脈基部のアテローム性動脈硬化病変において組織学的解析を行った。定量的 RT-PCR を使用して、マウス大動脈の mRNA 発現を測定した。内皮細胞依存性血管弛緩反応は、アセチルコリンに対する血管反応で評価した。酸化ストレスは、8-OHdG の尿中排泄により評価した。メチルグリオキサール (MGO) で処理されたヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を使用した細胞実験も実施した。

結果：カナグリフロジン投与は、糖尿病 ApoE<sup>-/-</sup>マウスの血糖値 (P<0.001) と総コレステロール値 (P<0.05) を減少させた。12 週間のカナグリフロジン投与は、大動脈弓におけるアテローム性動脈硬化病変を減少させた (P<0.05)。8 週間のカナグリフロジン投与は、内皮依存性血管拡張反応を改善した (P<0.05)。また、カナグリフロジンは大動脈基部のアテローム性動脈硬化症病変において、

## 様式(8)

脂質の沈着、マクロファージの浸潤、ICAM-1、および VCAM-1 の発現を低下させた。カナグリフロジンはまた、大動脈における ICAM-1、VCAM-1、MCP-1、F4/80、IL-6 などの炎症性分子や、iNOS、NOX2、NOX4、p22phox、p47phox などの NADPH オキシダーゼサブユニットの mRNA 発現を大幅に減少させた。実際に、酸化ストレスマーカーである 8-OHdG の尿中排泄は、カナグリフロジンによって大幅に減少していた。糖化最終産物の前駆体である MGO は、HUVEC における ICAM-1 および p22phox の発現を増加させた ( $P < 0.05$ )。MGO はまた、eNOS Ser1177 および Akt のリン酸化を減少させたが、HUVEC における eNOS Thr495 および p38MAPK のリン酸化を増加させた。

結論：カナグリフロジンは、糖尿病 ApoE<sup>-/-</sup>マウスの内皮機能障害とアテローム性動脈硬化の発症を予防することが示された。内皮細胞に対する糖毒性の低下による抗炎症および抗酸化作用が、カナグリフロジンによる血管保護効果のメカニズムの 1 つである可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 <b>1476</b> 号	氏名	Arief Rahadian
審査委員	主査 赤池 雅史 副査 秦 広樹 副査 松久 宗英		

題目 Canagliflozin Prevents Diabetes-Induced Vascular Dysfunction in ApoE-Deficient Mice

(カナグリフロジンは、ApoE 欠損マウスの糖尿病誘発性血管機能障害を予防する)

著者 Arief Rahadian, Daiju Fukuda, Hotimah Masdan Salim, Shusuke Yagi, Kenya Kusunose, Hirotsugu Yamada, Takeshi Soeki, Masataka Sata

令和 2 年 11 月 1 日発行 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis 第 27 巻第 11 号 1141 ページから 1151 ページに発表済

(主任教授 佐田政隆)

要旨 最近の臨床研究で、sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor (SGLT2i) が心血管イベントを減少させることが報告されているが、その詳細な機序は不明である。そこで、申請者らは、SGLT2i カナグリフロジンの抗動脈硬化作用とその作用機序を検討した。

8 週齢の雄性 Apolipoprotein E (ApoE) 欠損マウスにストレプトゾトシンを投与し糖尿病を誘導した。9 週齢から西洋型食餌と、カナグリフロジン (30mg/kg/日) もしくは 0.5% carboxymethyl cellulose を 12 週間または 8 週間投与した。また、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) を用いて、終末糖化産物の前駆体である

methylglyoxal(MGO)の影響を検討した。

得られた結果は以下の通りである。

- (1) カナグリフロジンは、投与 12 週後の血糖値 ( $P<0.001$ ) と総コレステロール値 ( $P<0.05$ ) を減少させ、大動脈の動脈硬化病変を減少させた ( $P<0.05$ )。
- (2) カナグリフロジンは、投与 8 週後の内皮依存性弛緩反応を改善させ ( $P<0.05$ )、大動脈における炎症性分子の発現を低下させ、動脈硬化病変におけるマクロファージの集簇および脂質沈着を軽減した。
- (3) カナグリフロジンは、大動脈における酸化ストレス関連分子の発現を低下させ、尿中 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine を減少させた。
- (4) MGO は、HUVECs の接着因子、酸化ストレス関連分子の発現を増加させ、一酸化窒素合成酵素のリン酸化を低下させたが、カナグリフロジンの直接効果は認められなかった。

以上の結果から、カナグリフロジンが、糖毒性を改善することで糖尿病 ApoE 欠損マウスの内皮機能障害と動脈硬化を抑制することが明らかになった。本研究はカナグリフロジンの糖尿病大血管合併症抑制効果の機序を明らかにしたものであり、その臨床的意義は大きく、学位授与に値すると判定した。