

# 論文内容要旨

Linagliptin Ameliorates Methylglyoxal-induced Peritoneal  
Fibrosis in Mice.

(メチルグリオキサールによる腹膜線維化に対するリナグリプチンの効果)  
PLoS One, 11:e0160993, 2016.

主指導教員：正木崇生教授

(病院 腎臓内科学)

副指導教員：茶山一彰教授

(応用生命科学部門 消化器・代謝内科学)

副指導教員：服部 登 准教授

(応用生命科学部門 分子内科学)

永井巧雄

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

## (メチルグリオキサールによる腹膜線維化に対するリナグリプチンの効果)

### (背景・目的)

腹膜透析は、患者の生活の質を向上させるのみでなく、医療経済面からも優れた治療法であるが、長期間の腹膜透析の継続によって、腹膜劣化のみではなく、生命の危険を脅かす被嚢性腹膜硬化症を引き起こすことが、その普及を妨げる要因となっている。

近年、透析液中に含まれる糖分化産物に含まれるメチルグリオキサール (MGO) が、腹膜障害に寄与することが明らかにされた。一方、近年、血糖降下薬として、臨床使用されている dipeptidyl peptidase-4(DPP-4)阻害薬は、血糖降下作用とは独立して、心臓、肝臓、皮膚、腎臓の臓器保護作用を有していることが報告されており、MGO による腹膜障害にも保護的作用を有することが示唆される。

本研究では、MGO 刺激によるマウス腹膜障害モデルにおける DPP-4 阻害薬の有効性を、免疫染色による線維化マーカーや炎症マーカーの発現と、腹膜平衡機能検査で評価した。また、腹腔内排液中のサイトカインの発現も併せて検討した。さらに、MGO による腹膜障害発症の機序、DPP-4 阻害薬の腹膜保護効果に関して、ヒト腹膜中皮細胞、ヒト単球細胞を用いて検討した。

### (方法)

MGO 投与による腹膜線維化モデル：10 週齢の C57BL/6J マウスに、MGO (40mM/2.5mL) を 3 週間、腹腔内に注入することによって腹膜線維化モデルを作製し、リナグリプチン内服により腹膜線維化が抑制されるかを調べた。また、腹膜中皮細胞とマクロファージにおける Glicagon-like peptide-1(GLP-1)レセプターの発現は、ヒト腹膜中皮細胞、THP-1 細胞を用いて検討した。

- 1) 生理食塩水腹注マウス
  - 2) MGO 腹注マウス
  - 3) MGO 腹注+リナグリプチン投与マウス
- の 3 群を作製し、腹膜の組織学的な評価を行った。

評価項目:

1. 細胞外マトリックスの発現：マッソントリクローム染色を使用。
2. 間葉系マーカーの発現： $\alpha$ -Smooth muscle actin (SMA)  
Fibrotic specific factor (FSP-1)
3. 細胞外マトリックスの発現：コラーゲン I ,コラーゲン III
4. 線維化形成中心に中心的な役割を果たす Transforming growth factor- $\beta$  1 (TGF- $\beta$ 1) の発現。
5. マクロファージ (F4/80 陽性細胞) の発現

6. 腹膜組織における GLP-1receptor の発現。(マウス腹膜組織、ヒト腹膜中皮細胞、THP-1 細胞 )  
マウス血漿、腹水から下記項目を検証した。
7. 血漿中の GLP-1 濃度、グルコース濃度を測定し、リナグリプチンの血糖への作用。
8. 腹水中の TGF-β1 を Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) で測定し、両群間での比較。
9. 腹膜機能の評価として腹膜平衡機能検査を実施した。

(結果)

1. リナグリプチン群で有意に腹膜肥厚を抑制した。
2. リナグリプチン群で有意に α-Smooth muscle actin (SMA) Fibrotic specific factor (FSP-1) 間葉系マーカーの発現を抑制した。
3. リナグリプチン群で有意にコラーゲン I ,コラーゲンIII の発現を抑制した。
4. 5 リナグリプチン群で TGF-β1、マクロファージの発現を抑制した。
6. GLP-1 の発現を免疫染色にてマクロファージと一致して局在していることを認めた。また、THP-1 細胞、腹膜中皮細胞を使用しウエスタンブロッティングにて THP-1 細胞に GLP-1receptor 発現を認め、腹膜中皮細胞には発現を認めなかった。
7. GLP-1 濃度は、リナグリプチン群で有意に高かったが、グルコース濃度に関しては、MGO 群、リナグリプチン群に差を認めなかった。
8. 腹水中の TGF-β1 は、リナグリプチン群で有意に低下を認めた。
9. 腹膜機能検査において、D/D0 glucose は、有意にリナグリプチン群で高く、限外ろ過能においてリナグリプチン群は、MGO 群に比べ腹膜機能保持を認めた。

(考察)

本研究において、DPP-4 阻害薬であるリナグリプチンを投与することにより血漿 GLP-1 濃度は、リナグリプチン群で有意に高値であったが、血清グルコース濃度に差を認めず、このことからグルコース濃度とは独立して、抗炎症作用と抗線維化作用があると考えられた。本研究において、MGO あるいは TGF-β1 で刺激した腹膜中皮細胞におけるリナグリプチンの直接的な腹膜線維化抑制効果は認めなかった。さらに、MGO マウスにおける GLP-1receptor 発現が、腹膜中皮細胞ではなく、炎症細胞に局在し、細胞実験においても THP-1 細胞上にその発現を確認した。これらの結果より、リナグリプチンの抑制効果は、抗炎症作用を介して腹膜の線維化を抑制したと考えられた。リナグリプチンは、血糖降下薬として、すでに安全性が確立している薬として市場にでているが、腹膜透析患者において、腹膜保護を目的とした使用としても有用性が高いと考えられた。