

学位論文内容要旨

氏名：平宅 史朗 印

題目：

11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 β -HSD1) を標的とした新規 2 型糖尿病治療薬の開発：JTT-654 の作用機序解析と有効性評価

要旨：

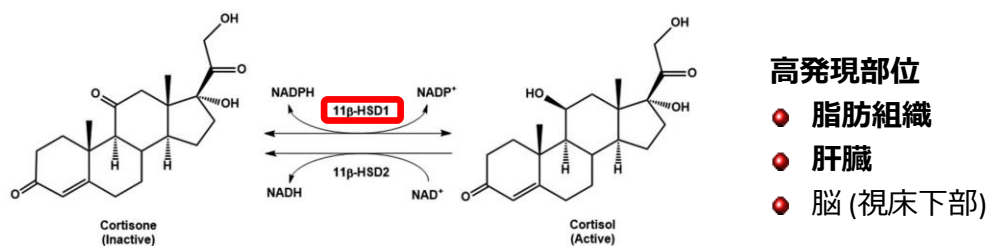
2 型糖尿病はインスリン分泌能の低下、インスリン感受性の低下、またはこれらの双方が種々の程度に加わることで生じるインスリン作用不足をきたした結果、慢性の高血糖状態に至る代謝性疾患である¹⁾。

2 型糖尿病においては糖代謝異常のみならず、肥満、脂質代謝異常、高血圧などを併発している症例が多く存在する²⁾。これらの合併症を伴う 2 型糖尿病患者に対して、血糖に加えて脂質や血圧などの危険因子を総合的に是正すると大血管イベントの発症がより低下することが、多くの大規模臨床試験から明らかになっている^{3, 4)}。

また、2023 年 11 月、日本糖尿病学会は「2 型糖尿病の薬物療法のアルゴリズム」を発表した。このアルゴリズム設定の背景の一つとして、日本人 2 型糖尿病は欧米人と異なり肥満と非肥満とが半々で、インスリン分泌低下と抵抗性の程度が個人ごとに異なっていることが挙げられている⁵⁾。

したがって、非肥満型の 2 型糖尿病患者に対して、インスリン抵抗性改善作用を発揮する薬剤や、血糖コントロールのみならず、最小血管合併症や大血管イベントに対しての additional benefit を発揮する薬剤は、有用な治療オプションとなりうると考えられる。

11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 β -HSD1) は、肝臓、脂肪組織などで広く発現しており、細胞中で不活性型のグルココルチコイドを活性型へ変換する唯一の酵素であり、グルココルチコイドの標的組織中での作用の発現調節に重要な役割を担っている。脂肪組織、または肝臓特異的 11 β -HSD1 過剰発現マウスでは、インスリン抵抗性、耐糖能異常、肥満、脂質代謝異常、高血圧など、さまざまな代謝障害が生じる (Fig. 1)⁶⁻¹⁰⁾。



☑ 生理作用

- 細胞内で不活性型の Cortisone を活性型の Cortisol へ変換し、グルコルチコイド作用の発現を促す

☑ 過剰なグルコルチコイド作用

- 典型的な症例：クッシング症候群
 - ➡ 中心性肥満/脂肪肝 (インスリン抵抗性), 高血圧
- 脂肪 or 肝臓でのトランスジェニック (過剰発現) マウスの表現型
 - ➡ インスリン抵抗性, 耐糖能異常, 肥満, 脂質異常症, 高血圧症状を呈する

Fig.1 11β-HSD1 の機能

11β-HSD1 は細胞内で cortisone から cortisol への変換を触媒する酵素で、主に脂肪組織、肝臓、及び視床下部で高発現が認められる。

脂肪組織、または肝臓において本酵素を過剰発現するマウスでは、代謝性疾患に関わる種々の病態を発症する。

したがって、11β-HSD1 を阻害する化合物は、2 型糖尿病の高血糖状態を是正するだけでなく、脂質異常症や高血圧などのさまざまな代謝障害を是正する有望な新規抗糖尿病薬となりうると期待されてきた。実際、これまでに多くの 11β-HSD1 阻害薬に関する報告がなされている。しかしながら、これらのほぼ全てが肥満モデルを用いた有効性に関するものである上に、同一の化合物で additional benefit まで示したものはない¹¹⁻¹⁴⁾。そこで本研究では、日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所にて創出された選択的 11β-HSD1 阻害薬である JTT-654 ([1-({4-[5-cyclopropyl-4-({(3S)-3-[2-(trifluoromethyl) phenyl] pyrrolidin-1-yl} carbonyl)-1H-pyrazol-1-yl] piperidin-1-yl} carbonyl) cyclopropyl] methanol) の ① インスリン抵抗性改善に関するメカニズムを詳細に解析するとともに、非肥満型の 2 型糖尿病モデルに対する有効性を評価し、さらに、② 高血圧や糖尿病性腎症に対する効果について検討を行った。

① JTT-654 のインスリン抵抗性改善作用、及び非肥満型 2 型糖尿病モデルに対する有効性評価

JTT-654 の in vitro 薬理プロファイルの解析を目的として、JTT-654 のヒト、ラット、及びマウスの 11β-HSD1 に対する阻害作用及び細胞内で 11β-HSD1 と逆反応 (活性型グルコルチコイドを不活性型に変換する) を触媒する 11β-HSD2 への影響について検討を行った。その結果、JTT-654 はヒト 11

β -HSD1 に対して強力且つ選択的な阻害作用を示し、その阻害様式は基質であるコルチゾンに対して競合阻害様式であること、また、JTT-654 の 11β -HSD1 阻害強度はヒト、ラット、及びマウス間で同程度であることが明らかになった (Fig. 2)。

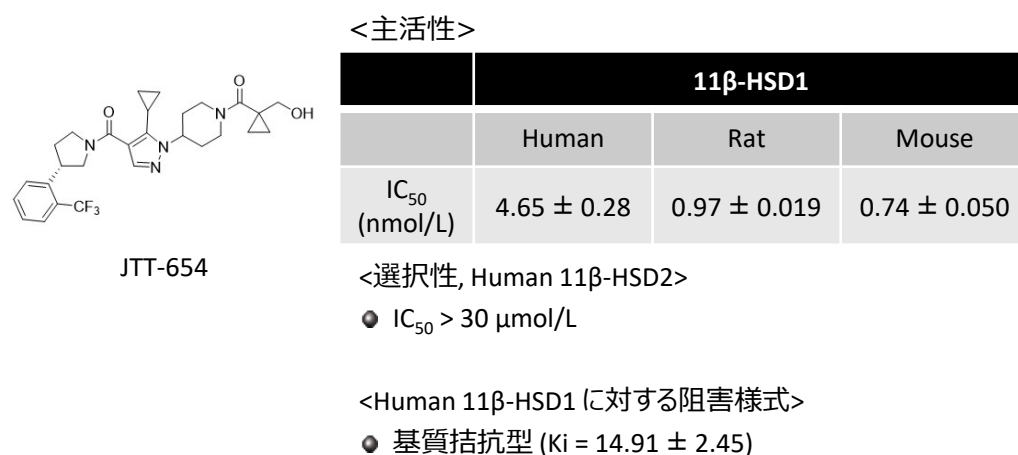


Fig.2 JTT-654 の構造, 及び in vitro 薬理プロファイル

11β -HSD1 は特に肝臓, 及び脂肪組織において高発現し、これらの臓器は 2 型糖尿病においてインスリン抵抗性, 及び血糖値の恒常性維持のため重要な臓器である。そこで、JTT-654 をラットに経口投与した際の両臓器における 11β -HSD1 の阻害様式について、ex vivo による検討を行った。その結果、JTT-654 は肝臓, 及び脂肪組織の両方において用量依存的な 11β -HSD1 阻害作用を示し、10 mg/kg の用量では、両臓器において 8 時間までほぼ 100%, 24 時間後においても 70%程度の阻害作用を持続することが明らかになった (Fig. 3)。

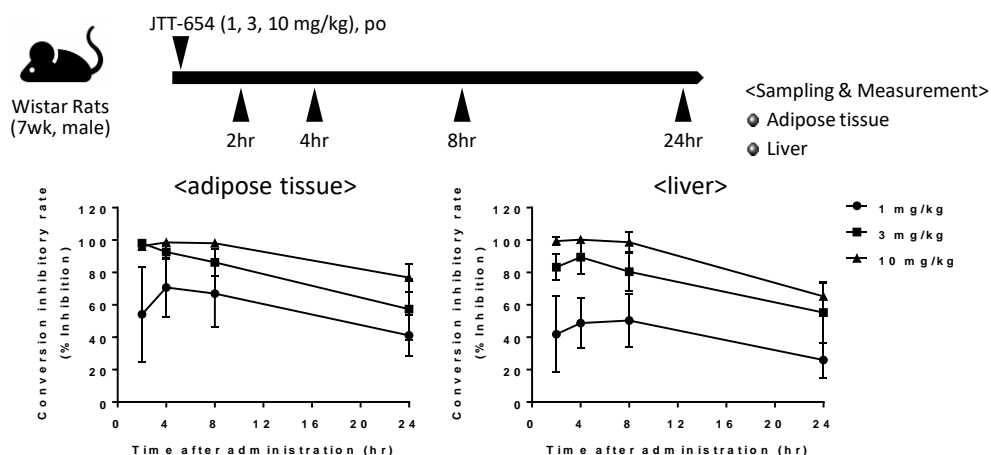
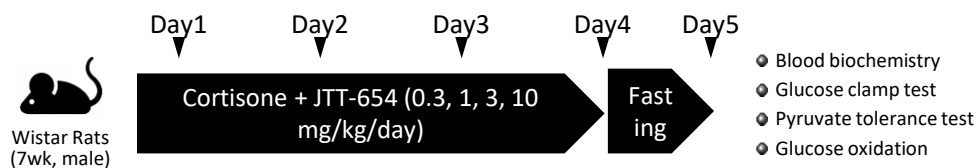


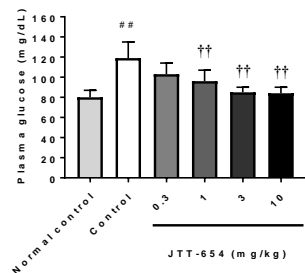
Fig.3 JTT-654 の脂肪組織, 及び肝臓における 11β -HSD1 阻害作用 (Rat ex vivo study)

JTT-654 のインスリン抵抗性改善作用を評価する目的で、コルチゾン負荷モデルラットを用いた検討を行った。コルチゾンを 100 mg/kg の用量で 4 日間反復投与することで、血漿中グルコース、及び血漿中インスリン濃度が上昇した。高インスリン正常血糖クランプ試験の結果、コルチゾン負荷モデルラットでは、全身の糖利用率の低下、脂肪組織を含む末梢組織への糖取り込み率の低下、及び肝臓からの糖放出の上昇が認められた。また、コルチゾン投与により脂肪組織のグルコース酸化能の低下、及び糖新生能の亢進も認められた。JTT-654 の投与によりコルチゾン負荷モデルラットにおいて認められるこれらの病態は全て軽減した。またその病態改善の程度は、JTT-654 の用量依存的であり、11 β -HSD1 阻害作用に基づくものであると考えられた (Fig. 4)。

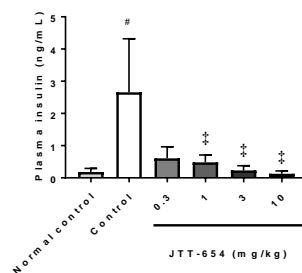


● (A) 血液生化学パラメータ

<血漿中グルコース濃度>

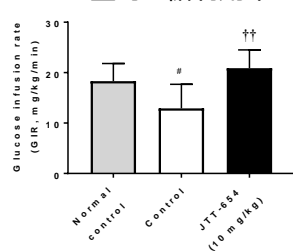


<血漿中インスリン濃度>

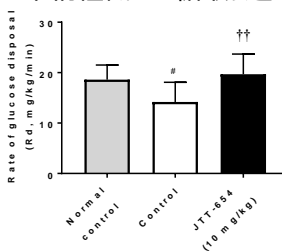


● (B) 高インスリン-正常血糖クランプ試験

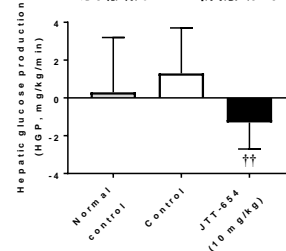
<全身の糖利用率>



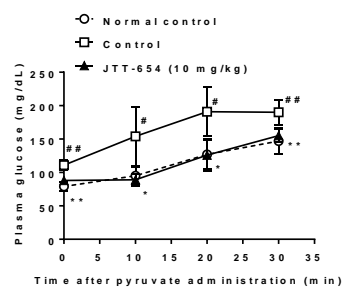
<末梢組織への糖取り込み率>



<肝臓からの糖放出>



● (C) ピルビン酸負荷 (肝糖新生) 試験



● (D) 脂肪組織グルコース酸化試験

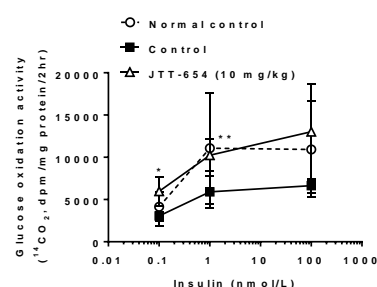


Fig.4 JTT-654 の過剰なグルコルチコイドに基づく病態の改善作用

コルチゾン負荷モデルラットの試験最終日 (Day5) における, (A): 血液生化学パラメータ, (B): 高インスリン-正常血糖クランプ試験, (C): ピルビン酸負荷試験, 及び (D): 脂肪組織グルコース酸化試験の結果

*p<0.05, **p<0.01 vs Control (Student's *t* test), ††p<0.01 vs Control (Dunnett test),

‡p<0.05 vs Control (Steel test)

##p<0.01 vs Normal Control (Student's *t* test)

JTT-654 が非肥満 2 型糖尿病モデル動物においても有効性を示すか否かについて, Goto-Kakizaki (GK) ラットに対する 19 日間の反復経口投与試験 (3, 10, 及び 30 mg/kg/day) を行うことにより検討した。GK ラットでは, コルチ

ゾン負荷モデルラットで確認されたものと同様に，血漿中グルコース，及びインスリンの上昇，脂肪組織におけるグルコース酸化能の低下，及び糖新生の亢進が認められた。JTT-654 は，これらの全ての変化に対して改善作用を示した (Fig. 5)。

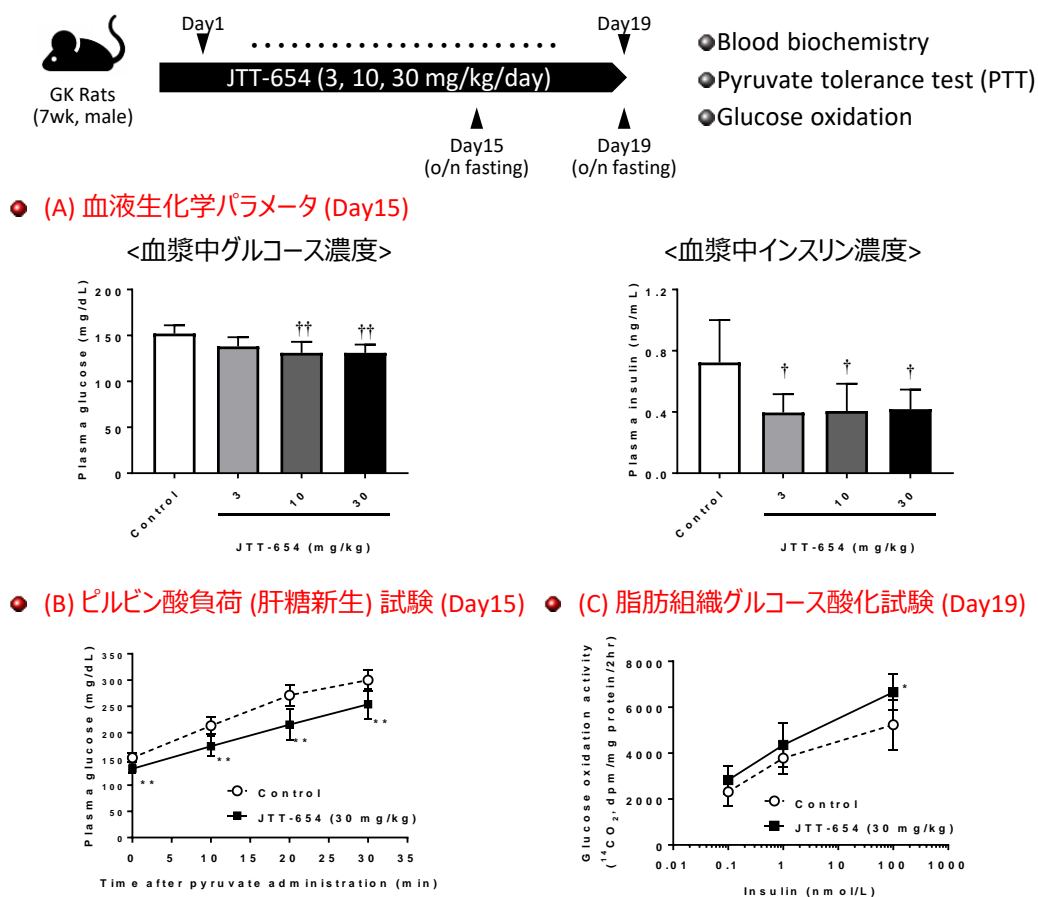


Fig.5 JTT-654 の非肥満型2型糖尿病モデル GK ラットに対する作用

(A) : 血液生化学パラメータ (Day15) , (B) : ビルビン酸負荷試験 (Day 15) , 及び (C) : 脂肪組織グルコース酸化試験 (Day19) の結果

*p<0.05, **p<0.01 vs Control (Student's t test), †p<0.05, ††p<0.01 vs Control (Dunnett test)

以上の結果より，JTT-654 は肝臓，及び脂肪組織でのインスリン抵抗性を改善することで，非肥満型 2 型糖尿病モデルに対する有効性を発揮することが明らかとなった。

② JTT-654 の高血圧，及び糖尿病性腎症に対する作用

次に，糖尿病治療薬に求められる additional benefit に関して，JTT-654 の高血圧，及び糖尿病性腎症に対する効果と機序について，病態モデル動物を用いて検討を行った。

ラットにコルチゾンを 100 mg/kg の用量で 4 日間反復投与するコルチゾン

負荷モデルラットでは、血漿中アンジオテンシノーゲン濃度、及び収縮期血圧が上昇するが、JTT-654 は両反応を抑制した (Fig. 6)。

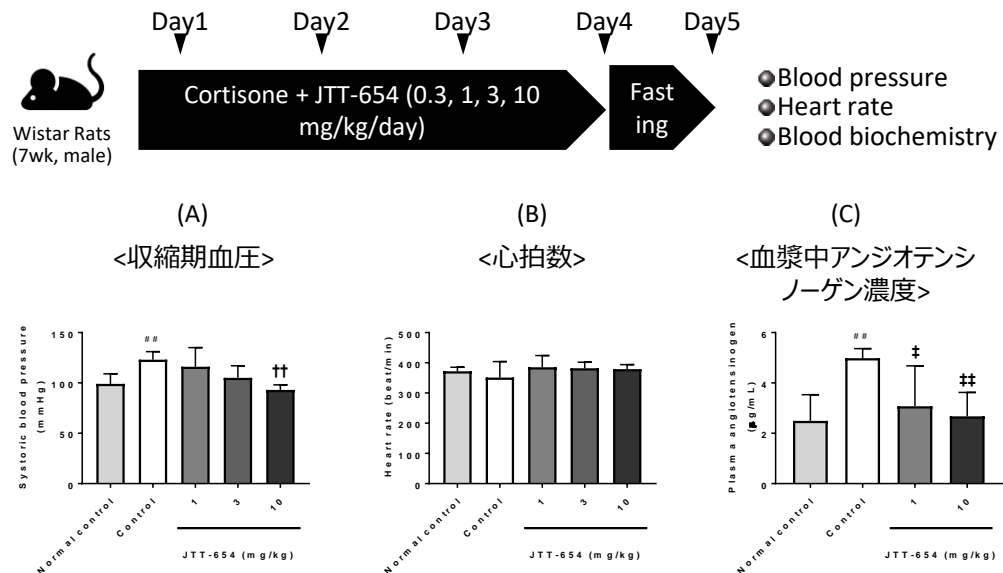


Fig.6 JTT-654 の過剰なグルコルチコイドに基づく病態の改善作用

コルチゾン負荷モデルラットの試験最終日 (Day5) における, (A) : 収縮期血圧, (B) : 心拍数, 及び (C) : 血漿中アンジオテンシノーゲン濃度の結果

††p<0.01 vs Control (Dunnett test), *p<0.05, ## p<0.01 vs Control (Steel test)

##p<0.01 vs Normal Control (Student's t test)

JTT-654 が自然発症高血圧モデル (spontaneously hypertensive rats: SHR) においても血圧低下作用を発揮するかについて、22 日間の反復経口投与試験 (30 mg/kg/day) を行うことにより検討を行った。本試験においては陽性対照としてアンジオテンシン受容体拮抗薬であるロサルタンを設定した。その結果、JTT-654 はロサルタンと同程度の収縮期血圧の低下作用を示すことが明らかになった (Fig. 7)。

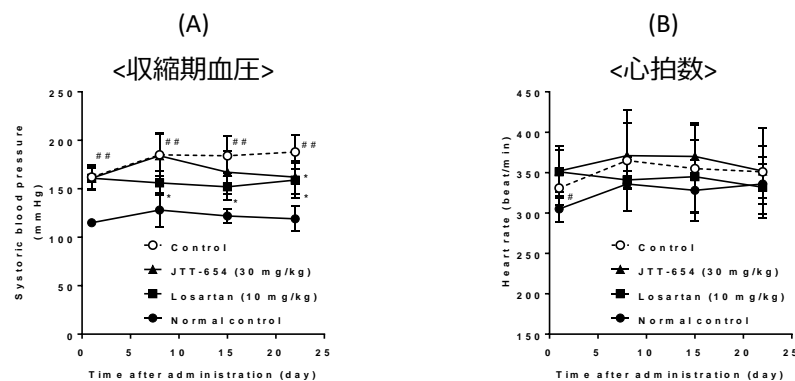
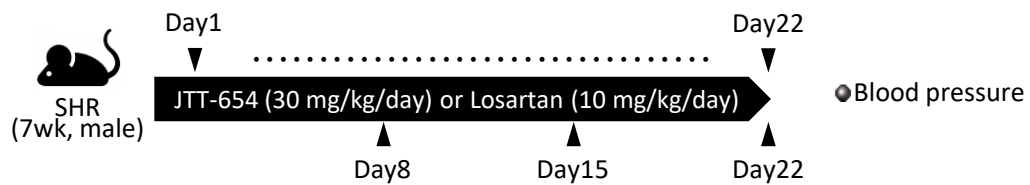


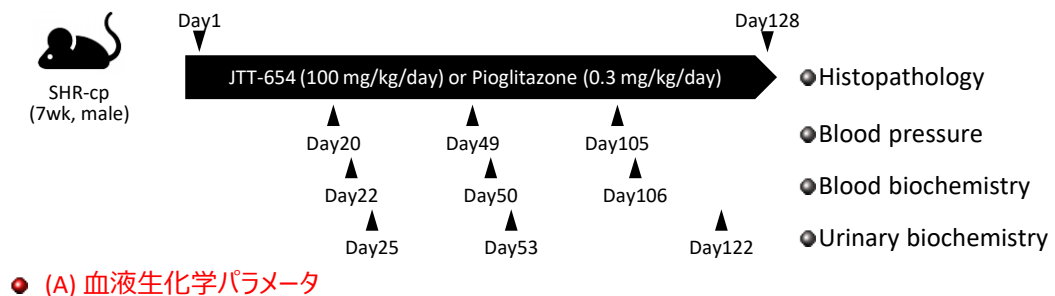
Fig.7 JTT-654 の自然発症高血圧モデル SHR に対する作用

(A) : 収縮期血圧, 及び (B) : 心拍数の経日変化の結果

* $p < 0.05$ vs Control (Student's t test)

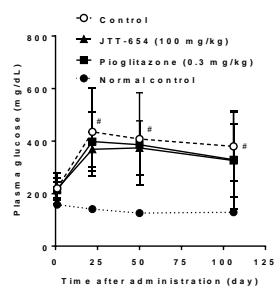
$p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs Normal Control (Student's t test)

JTT-654 が血糖と血圧の両方を低下させる可能性が示されたため、メタボリックシンドロームモデル動物である SHR/NDmcr-cp ラットに対する 128 日間の反復経口投与試験 (100 mg/kg/day, 混餌飼料による投与) を行った。本試験においては比較対照としてインスリン抵抗性改善薬であるピオグリタゾンを設定した。その結果, 想定以上の重度な病態を呈したため, JTT-654, 及びピオグリタゾンのいずれもが血漿中グルコース, 及びインスリン濃度の低下作用を示さなかったが, JTT-654 はピオグリタゾンとは異なり, 収縮期血圧, 尿中アンジオテンシノーゲン, 尿蛋白, 及び尿アルブミンの低下作用を示すことが明らかとなった (Fig. 8)。

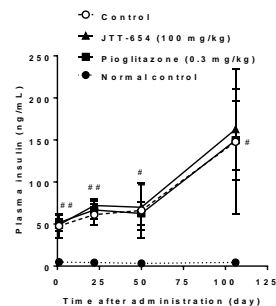


● (A) 血液生化学パラメータ

<血漿中グルコース濃度>

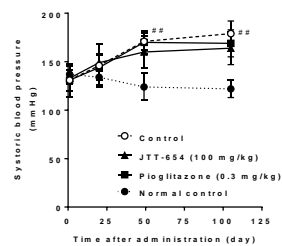


<血漿中インスリン濃度>

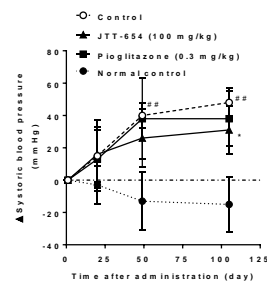


● (B) 収縮期血圧

<収縮期血圧>

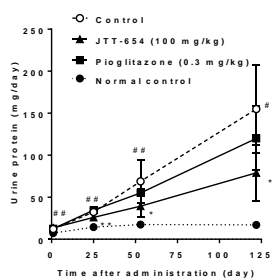


<収縮期血圧変化量>

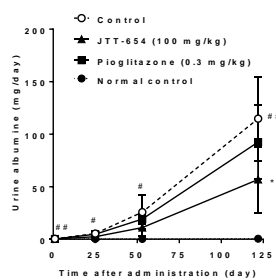


● (C) 尿パラメータ

<尿タンパク>



<尿アルブミン>



<尿アンジオテンシノーゲン>

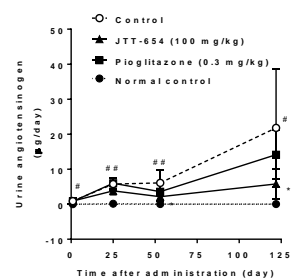


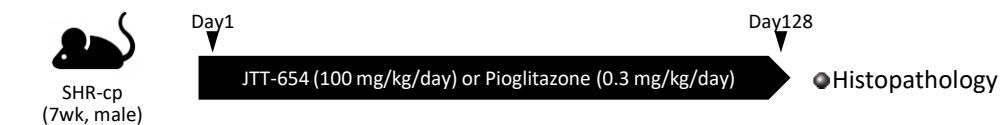
Fig.8 JTT-654 のメタボリックシンドロームモデル SHR-cp に対する作用

(A) : 血液生化学パラメータ, (B) : 収縮期血圧, 及び (C) : 尿パラメータの経日変化の結果

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs Control (Student's t or Welch's test)

$p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs Normal Control (Student's t or Welch's test)

また、腎臓の病理組織学的検査の結果、JTT-654 は糸球体や尿細管で認められる糖尿病性腎症の各所見を改善することが示された (Fig 9)。



● 病理組織学的所見の典型例

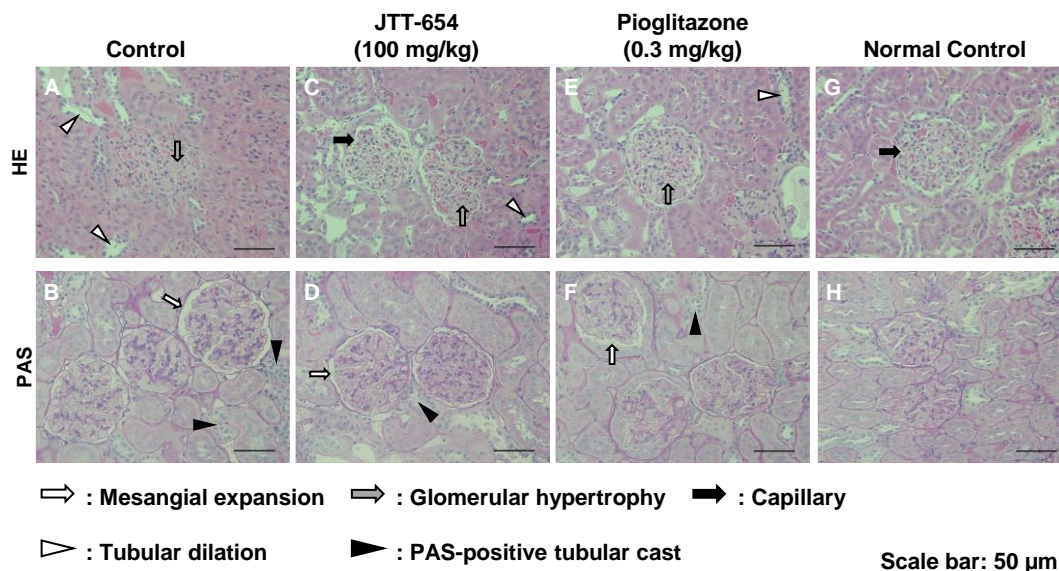


Fig.9 JTT-654 のメタボリックシンドロームモデル SHR-cp に対する作用
SHR-cp 反復投与試験の最終日 (Day128) に病理組織学的所見の典型例

JTT-654 は正常ラットの血圧や視床下部-下垂体-副腎系機能には影響を与えなかった。

以上の結果より、JTT-654 が脂肪組織、肝臓、及び腎臓における 11β -HSD1 を阻害することにより、additional benefit としての高血圧および糖尿病性腎症を改善する作用を有していることが明らかとなった。

総括

本研究により、新規 11β -HSD1 阻害薬 JTT-654 は、非肥満型病態モデルにおいて、主に肝臓、及び脂肪組織における 11β -HSD1 を阻害することで、インスリン感受性を改善し、血糖低下作用を発揮すること、及びグルココルチコイド受容体の標的遺伝子の一つであるアンジオテンシノーゲンの肝臓、脂肪組織、及び腎臓における産生・分泌を抑制することで、全身血圧、及び糖尿病性腎症の改善作用を発揮することが明らかになった (Fig. 10)。

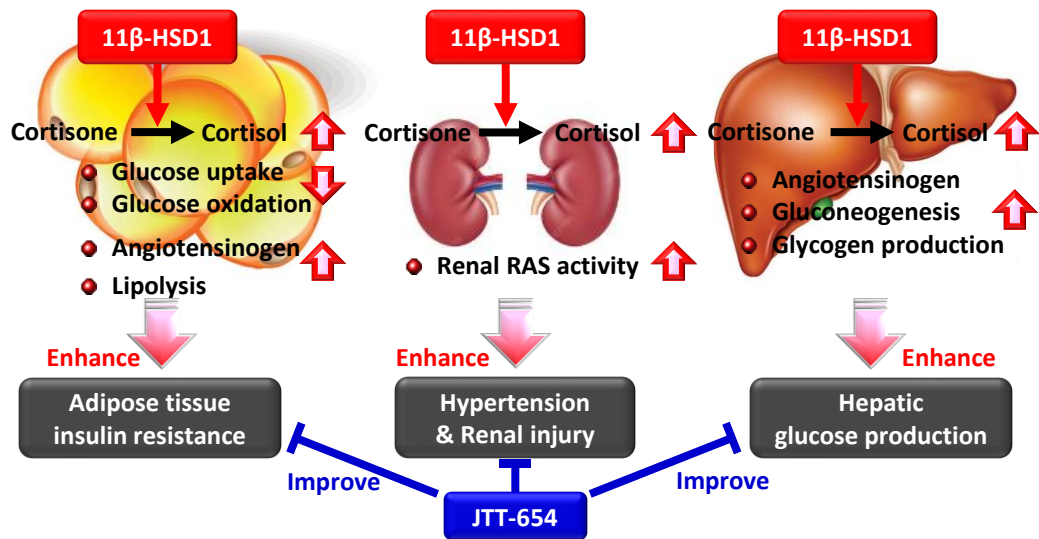


Fig.10 JTT-654 の想定作用機序

新規 11β-HSD1 阻害薬である JTT-654 は、当初想定されていた肝臓、及び脂肪組織における作用のみならず、腎臓における作用も有していることが明らかとなった。

現在、新規の 2 型糖尿病治療薬には、血糖低下作用のみならず additional benefit を有することが求められている。したがって、血糖低下作用に加え、高血圧及び糖尿病性腎症に対して改善作用を示す JTT-654 は非肥満型の 2 型糖尿病患者に対する有用な治療オプションとなり得ると期待される。

参考文献

- 1) Fonseca VA. (2009) Defining and characterizing the progression of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 32 Suppl 2:S151-S156.
- 2) Alexander CM, Landsman PB, Teutsch SM, Haffner SM. (2003) Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III); National Cholesterol Education Program (NCEP). NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. *Diabetes*. 52(5):1210-1214.
- 3) Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. (1993) Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care*. 16(2):434-444.
- 4) Nakamura T, Tsubono Y, Kameda-Takemura K, Funahashi T, Yamashita S, Hisamichi S, Kita T, Yamamura T, Matsuzawa Y; Group of the Research for the Association between Host Origin and Atherosclerotic Diseases under the Preventive Measure for Work-related Diseases of the Japanese Labor Ministry. (2001) Magnitude of sustained multiple risk factors for ischemic heart disease in Japanese

employees: a case-control study. *Jpn Circ J.* 65(1):11-17.

- 5) Ryotaro B, Kondo T, Ohta Y, Goto A, Tanaka D, Satoh H, Yabe D, Nishimura R, Harada N, Kamiya H, Suzuki R, Yamauchi T; JDS Committee on Consensus Statement Development (2023) A consensus statement from the Japan Diabetes Society: A proposed algorithm for pharmacotherapy in people with type 2 diabetes. *J Diabetes Investig.* 2023 Jan;14(1):151-164
- 6) Anagnostis P, Athyros VG, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP. (2009) Clinical review: The pathogenetic role of cortisol in the metabolic syndrome: a hypothesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 94(8):2692-2701.
- 7) Seckl JR, Walker BR. (2001) Minireview: 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1- a tissue-specific amplifier of glucocorticoid action. (2001) *Endocrinology.* 142(4):1371-1376.
- 8) Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, Morton NM, Mullins JJ, Seckl JR, Flier JS. (2001) A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science.* 294(5549):2166-2170.
- 9) Masuzaki H, Yamamoto H, Kenyon CJ, Elmquist JK, Morton NM, Paterson JM, Shinyama H, Sharp MG, Fleming S, Mullins JJ, Seckl JR, Flier JS. (2003) Transgenic amplification of glucocorticoid action in adipose tissue causes high blood pressure in mice. *J Clin Invest.* 112(1):83-90.
- 10) Paterson JM, Morton NM, Fievet C, Kenyon CJ, Holmes MC, Staels B, Seckl JR, Mullins JJ. (2004) Metabolic syndrome without obesity: Hepatic overexpression of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101(18):7088-7093.
- 11) Hong SP, Han D, Chang KH, Ahn SK. (2018) A novel highly potent and selective 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor, INU-101. *Eur. J. Pharmacol.*, 835, 169–178.
- 12) Li J, Kennedy LJ, Walker SJ, et al. (2018) Discovery of clinical candidate BMS-823778 as an inhibitor of human 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 β -HSD-1). *ACS Med. Chem. Lett.*, 9, 1170–1174.
- 13) Oh H, Jeong KH, Han HY, Son HJ, Kim SS, Lee HJ, Kim S, Sa JH, Jun HS, Ryu JH, Choi CS. (2015) A potent and selective 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor, SKI2852, ameliorates metabolic syndrome in diabetic mice models. *Eur. J. Pharmacol.*, 768, 139–148.
- 14) Okazaki S, Takahashi T, Iwamura T, Nakaki J, Sekiya Y, Yagi M, Kumagai H, Sato M, Sakami S, Nitta A, Kawai K, Kainoh M. (2014) HIS-388, a novel orally active and long-acting 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor,

ameliorates insulin sensitivity and glucose intolerance in diet-induced obesity and nongenetic type 2 diabetic murine models. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 351, 181–189.

研究業績

- 1) Heitaku S, Sasase T, Sotani T, Maki M, Katsumi S, Fukuda S, Goto H, Yamamoto H, Nishiu J. (2023) An 11-Beta Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Inhibitor, JTT-654 Ameliorates Insulin Resistance and Non-obese Type 2 Diabetes. *Biol Pharm Bull.* 46(7):969-978.
- 2) Heitaku S, Sasase T, Sotani T, Maki M, Kawai T, Morinaga H, Nishiu J. (2024) JTT-654, an 11-beta hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor, improves hypertension and diabetic kidney injury by suppressing angiotensinogen production. *J Pharmacol Sci.* 154(4):246-255.