

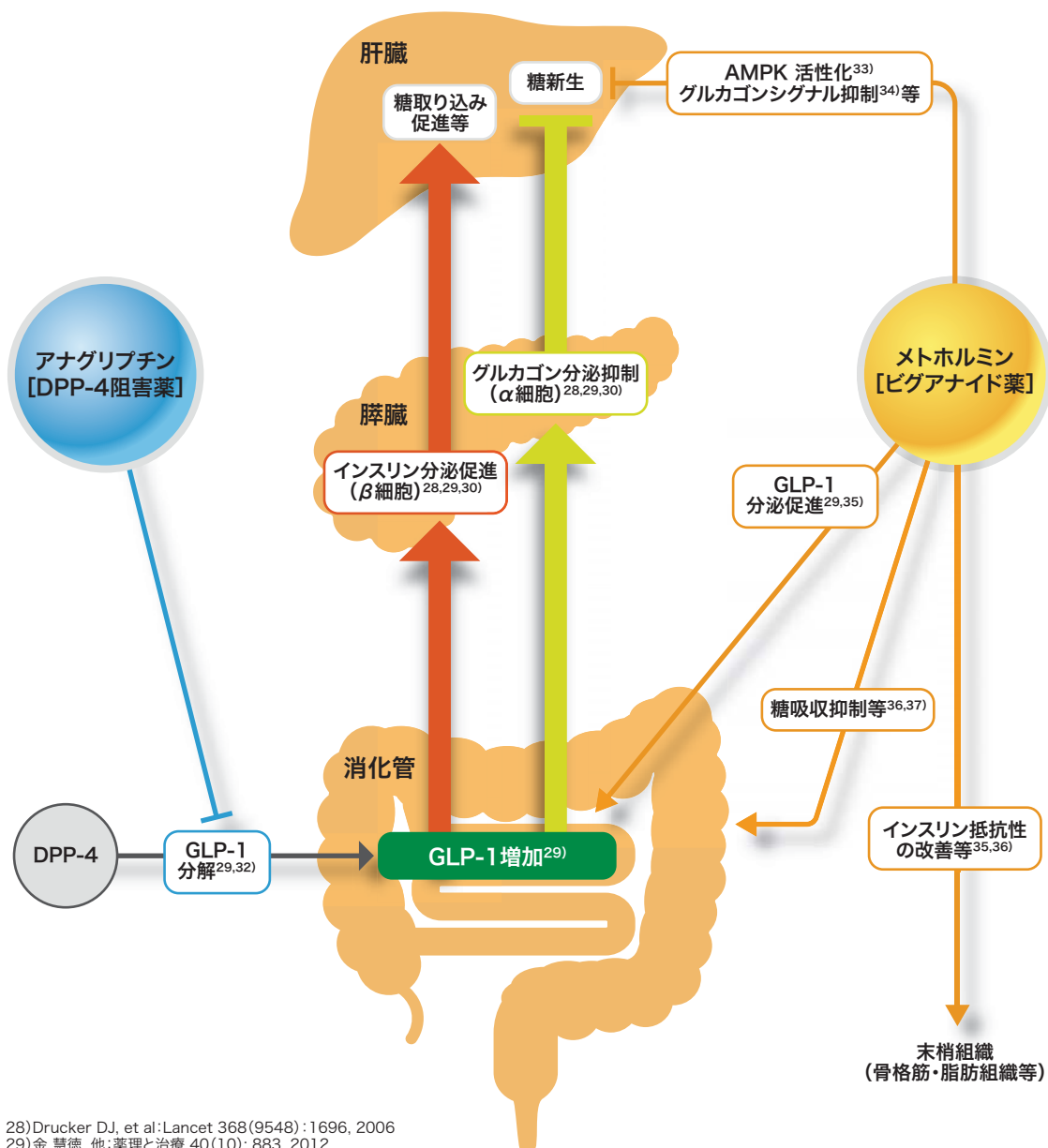
## 1.作用機序

### ■ アナグリプチン

アナグリプチンはジペプチジルペプチダーゼ-4 (DPP-4)の競合的かつ可逆的な選択的阻害薬である。インクレチンであるグルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1)は、グルコース依存的なインスリン分泌促進作用やグルカゴン分泌抑制作用等を有するが<sup>28, 29, 30)</sup>、DPP-4により分解されて活性を失う<sup>31)</sup>。アナグリプチンはDPP-4の阻害によって内因性のGLP-1の分解を抑制し<sup>29, 32)</sup>、その作用を高めることで血糖降下作用を示す。

### ■ メトホルミン

メトホルミンは、AMPK活性化<sup>33)</sup>及びグルカゴンシグナル抑制<sup>34)</sup>等による肝臓での糖新生抑制、GLP-1分泌促進<sup>29, 35)</sup>、消化管からの糖吸収抑制等<sup>36, 37)</sup>、末梢組織でのインスリン抵抗性の改善等<sup>35, 36)</sup>の作用により、血糖降下作用を示す。



28)Drucker DJ, et al.:Lancet 368(9548):1696, 2006

29)金 慧徳, 他:薬理と治療 40(10): 883, 2012

30)Ahre'n B:Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 21(4): 517, 2007

31)Vilsbøll T, et al.:J Clin Endocrinol Metab 88(1):220, 2003

32)角南由紀子, 他:薬理と治療 40(10): 847, 2012

33)Rena G, et al.: Diabetologia 56(9):1898, 2013

34)Miller RA, et al.:Nature 494(7436): 256, 2013

35)Cho YM, et al.:Diabetologia 54(2): 219, 2011

36)Lee AJ : Pharmacotherapy 16(3) : 327, 1996

37)McCreight LJ, et al.:Diabetologia 59(3):426, 2016

より作成

## 2.非臨床試験

### アナグリプチン

#### (1)DPP-4阻害作用 (*in vitro*)<sup>38)</sup>

アナグリプチンのDPP-4阻害作用について評価したところ、アナグリプチンはラット血漿DPP-4、イヌ血漿DPP-4及びヒトDPP-4(血漿、Caco-2細胞分画及び組換え)活性を濃度に依存して阻害した。

また、アナグリプチンのDPP-4に対する阻害様式について、ヒト組換えDPP-4を用いて検討したところ、slow-binding inhibitorであることが示された。

#### ■ DPP-4に対する阻害作用

酵素源	IC <sub>50</sub> (nmol/L)
ラット血漿	5.8±0.4
イヌ血漿	6.4±0.1
ヒト血漿	5.4±0.2
ヒト腸管上皮細胞株Caco-2細胞	3.5±0.3
ヒト組換え	3.3±0.3

平均値±標準偏差 n=3

方 法：DPP-4活性は、合成基質であるGly-Pro-MCAを用い、DPP-4により切断され遊離した蛍光物質AMCの濃度を定量することにより測定した。

#### (2)酵素選択性 (*in vitro*)<sup>38)</sup>

DPP-4と類似した基質特異性を有するプロリン特異性ペプチダーゼに対するアナグリプチンの阻害作用を評価したところ、DPP-4類縁酵素に対するアナグリプチンのIC<sub>50</sub>値はいずれも50μmol/L以上であった。各酵素に対するIC<sub>50</sub>値をヒト組換えDPP-4に対するIC<sub>50</sub>値(0.0033μmol/L)を1として比較すると、最も低い値を示したDPP-9に対するIC<sub>50</sub>値でも17,000倍であり、アナグリプチンはDPP-4に対して高い選択性を有していることが示された。

#### ■ DPP-4類縁酵素に対する阻害作用

酵素	IC <sub>50</sub> (μmol/L)
DPP-8	84.7±9.8[25,700]
DPP-9	56.1±5.3[17,000]
FAP	72.7±1.2[22,000]
DPP-2	176.7±16.1[53,500]
POP	229.2±31.8[69,500]
APP	>500
Prolidase	>500
ACE	>500
LAP	>500
参考 ヒト組換えDPP-4 IC <sub>50</sub> (μmol/L)	0.0033±0.0003

平均値±標準偏差 n=3、ただしIC<sub>50</sub>>500μmol/Lの場合はn=1

[ ]：各IC<sub>50</sub>値をヒト組換えDPP-4に対するIC<sub>50</sub>値を1として比較した相対強度。次式に従って算出。

相対強度=DPP-4類縁酵素に対するIC<sub>50</sub>/ヒト組換えDPP-4に対するIC<sub>50</sub>

DPP-8:ジペプチジルペプチダーゼ-8(ヒト組換え)、DPP-9:ジペプチジルペプチダーゼ-9(ヒト組換え)、FAP:線維芽細胞活性化タンパク質α(ヒト組換え)、DPP-2:ジペプチジルペプチダーゼ-2(Caco-2細胞分画)、POP:プロリルオリゴペプチダーゼ(微生物由来)、APP:アミノペプチダーゼP(ヒト血漿)、prolidase(ブタ腎臓由来)、ACE:アンジオテンシンI変換酵素(ブタ腎臓由来)、LAP:ロイシルアミノペプチダーゼ(ブタ腎臓由来)

方 法：アナグリプチンに各基質を加え混和して各酵素を添加し、生成した物質量を蛍光法又は吸光度法により測定した。

### (3) 肥満インスリン抵抗性モデルにおける血糖低下作用(ラット)<sup>39)</sup>

肥満インスリン抵抗性モデルであるZucker fattyラットを用いて、Lean対照群(n=7)、Fatty対照群(n=7)、アナグリプチン1、3、10mg/kg投与群(それぞれn=7、7、6)に、経口グルコース負荷試験を行った。

経口グルコース負荷0分(薬物投与後30分)において、アナグリプチンは血漿DPP-4活性を用量依存的に阻害し、アナグリプチン3、10mg/kg群ではFatty対照群と比較して有意な血漿DPP-4活性抑制作用を示した(それぞれ $p<0.01$ 、 $p<0.001$ 、Dunnett型多重比較)。

経口グルコース負荷後0分から120分までの血漿インスリン濃度のAUCでは、アナグリプチン投与群すべてにおいてFatty対照群と比較して有意にAUCが増加した(すべて $p<0.05$ 、Dunnett型多重比較)。

また経口グルコース負荷後0分から120分までの血漿グルコース濃度の $\Delta$ AUCは、アナグリプチン群で用量依存的に減少し、アナグリプチン10mg/kg投与群ではFatty対照群と比較して有意に減少した( $p<0.01$ 、Dunnett型多重比較)。

### (4) 自然発症糖尿病モデルにおける血糖低下作用(ラット)<sup>40)</sup>

自然発症糖尿病モデルであるGKラットを用いて、Wistar対照群(n=8)、GK対照群(n=8)、アナグリプチン1、3、10mg/kg投与群(すべてn=8)に、経口グルコース負荷試験を行った。

経口グルコース負荷後0分及び120分(薬物投与後30分及び150分)において、アナグリプチンはグルコース負荷時の血漿DPP-4活性を用量依存的に阻害し、アナグリプチン3mg/kg群ではGK対照群と比較して有意な抑制作用を示した( $p<0.01$ 、Dunnett型多重比較)。同様にアナグリプチン10mg/kg群で有意な抑制作用を示した( $p<0.001$ 、Dunnett型多重比較)。

経口グルコース負荷後0分から120分までの血漿インスリン濃度のAUCは、アナグリプチン投与群において用量依存的に増加し、GK対照群と比較してアナグリプチン10mg/kg投与群で有意に増加した( $p<0.05$ 、Dunnett型多重比較)。

また経口グルコース負荷後0分から120分までの血漿グルコース濃度の $\Delta$ AUCは、アナグリプチン3、10mg/kg投与群においてGK対照群と比較して有意に減少した(それぞれ $p<0.05$ 、Dunnett型多重比較)。