

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：32676

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16359

研究課題名（和文）栄養不良による体重減少の改善を目的とした摂食調節機構の解明

研究課題名（英文）Investigation into mechanism of regulation of feeding behavior for improvement of weight loss due to malnutrition

研究代表者

米持 奈央美（Yonemochi, Naomi）

星薬科大学・薬学部・特任助教

研究者番号：50779824

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、オピオイド受容体の摂食調節機構を解明する一環で、オピオイド受容体作動薬の摂食促進作用について研究した。その結果、臨床で血液透析患者や慢性肝疾患患者の掻痒症に用いられるオピオイド受容体作動薬のナルフラフィンが側坐核のオピオイド受容体の刺激を介して摂食促進作用を示すことや、ナルフラフィンの摂食促進作用が抗がん薬による食欲不振に対して改善傾向を認めることが明らかになった。以上より、オピオイド受容体作動薬が食欲不振の治療に活用できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢に伴う身体機能の低下、抗がん薬による食欲不振や進行がんに伴う合併するがん悪液質では、いずれも体重減少や低栄養、消耗状態が認められる。これらが進行すると全身状態が悪化することから、有効な対策が求められる。本研究では、オピオイド受容体による摂食調節機構に着目し、オピオイド受容体作動薬が側坐核のオピオイド受容体の刺激を介して摂食促進作用を示すことを明らかにした。高齢者やがんの罹患数は増加していることから、摂食調節機構の解明は食欲不振の予防・治療に新たな知見をもたらす、社会的意義は高いと考える。

研究成果の概要（英文）：The present study investigated the role of opioid receptors in regulation of feeding behavior. Our results indicated that the opioid receptor agonist nalfurafine, clinically used as an anti-pruritic drug in patients receiving renal dialysis and patients with chronic liver disease, promoted feeding behavior through stimulation of opioid receptors in the nucleus accumbens. In addition, this promotion of feeding behavior induced by nalfurafine acutely ameliorated the decrease in food intake induced by an anti-cancer agent. These results suggest that central opioid receptors play an important role in regulation of feeding behavior and opioid receptor agonist may be a candidate for reducing anorexia.

研究分野：神経科学

キーワード：摂食調節 オピオイド 側坐核 食欲不振

1. 研究開始当初の背景

日本では高齢化が急激に進行している。加齢とともに骨格筋量や筋力が低下するサルコペニアや身体機能が低下し、体重減少・疲労感・身体の活動レベルの低下が認められるフレイルの有症率が増加することが知られる。食事摂取量が低下すると低栄養状態になり、体重減少とさらなる骨格筋量の減少につながる。この悪循環はフレイルサイクルと呼ばれ、要介護や寝たきりを招き、健康寿命を短縮させることから対策が急務である。また、我が国では2人に1人ががんを罹患するとされており、抗がん薬の服用による食欲不振も体重減少の引き金となる。さらに、がん患者の20~80%は栄養状態が著しく悪化するがん悪液質を合併する。がん悪液質による体重減少が進行することで、筋力・免疫力の低下に加え、心血管疾患、骨代謝異常や消化管障害などの様々な合併症をきたし、死を招く恐れもある。いずれの病態も低栄養が悪化要因のひとつであることから、サルコペニアやフレイル、抗がん薬による食欲不振、がん悪液質に共通の課題である体重減少を改善するためには、摂取量を増加させることが重要である。

これまでに申請者は中枢のオピオイド受容体による摂食調節機構に着目して研究してきた。近年では、 μ 、およびオピオイド受容体の拮抗が摂食行動を抑制的に調節することを報告した (Neuroscience 311, 9-21, 2015; Neuroscience 320, 183-193, 2016)。このことから、オピオイド受容体は摂食行動を正に調節する可能性がある。

サルコペニアやフレイル、抗がん薬の使用、がん悪液質では体重減少が懸念される。したがって、これら病態下でオピオイド受容体作動薬は食欲不振状態を改善し、体重減少を抑制する可能性がある。

2. 研究の目的

オピオイド受容体の摂食調節に関する研究の多くは、中枢の μ およびオピオイド受容体の役割について検討したものであり、中枢のオピオイド受容体による摂食調節機構に着目した報告は少ない。そこで本研究では、オピオイド受容体がどのようにして摂食行動を調節するか明らかにすることを目的とした。さらに、オピオイド受容体作動薬が食欲不振を改善し、体重減少が認められる病態の治療に活用できるか明らかにすることで、新規の摂食促進薬としてのオピオイド受容体作動薬の有用性を探索した。

具体的には

- (1) オピオイド受容体の摂食調節における役割
- (2) オピオイド受容体の血糖調節における役割
- (3) 中枢および末梢のオピオイド受容体の摂食調節における役割
- (4) 視床下部外側野のオピオイド受容体の摂食調節における役割
- (5) 側坐核のオピオイド受容体の摂食調節における役割
- (6) 5-FUの食欲不振に対するオピオイド受容体作動薬の効果について検討した。

3. 研究の方法

[使用薬物] ナルフラフィン[®]はオピオイド受容体作動薬であり、血液透析患者の掻痒症に使用される。一般的にオピオイド受容体作動薬は嫌悪作用が問題視されるが、ナルフラフィンには嫌悪作用がほとんど認められず、依存性もないことから (Jpn J Pharm Palliat Care Sci 3, 115-122, 2010)、臨床応用を鑑みて本研究の検討に用いた。また、作用を比較するためオピオイド受容体作動薬の研究用試薬であるU-50,488Hを用いて同様の検討を行った。

実験動物

実験にはICR系雄性マウスを用いた。なお、本実験は星薬科大学動物実験指針に従い、星薬科大学動物実験委員会の承認を受けたうえで、動物に対する倫理面を十分に考慮して行った。

1時間ごとの摂餌量の測定

マウスを16時間絶食後または非絶食下で個別に測定ケージに入れ、1時間馴化させた。薬物投与直後から通常飼料を与え、摂餌量を1時間ごとに6時間測定した。実験動物用自発運動センサー (ニューロサイエンス) をケージの上に設置し、行動解析システムAct-1 system (ニューロサイエンス) を用いて自発運動量を計測した。

1日ごとの摂餌量の測定

マウスをマルチフィーダー（シンファクトリー）から摂餌するよう馴化させた後、3日間測定ケージに馴化させてから実験を行った。ナルフラフィン¹は5-FU投与前日から6日間投与した。薬物投与3時間後および1日後の摂餌量を測定した。

薬物の脳室内投与

脳室内投与には、Hamilton microsyringe (Hamilton) に取り付けた針先3 mmの二段針（夏目製作所）を用いた。投与部位は頭蓋骨中線より1 mm側方にずらした位置とし、マウス当たり4 μ Lの容量で投与した。

薬物の脳局所への微量注入

麻酔下でマウスの両側の視床下部外側野または側坐核にガイドカニューレを植立し、3日間の回復期間を経た後、実験を行った。

血糖値の測定

実験は非絶食条件下または16時間の絶食後に行った。マウスを1時間ケージに馴化させた後、薬物投与前および投与後15、30、60、90、120および180分に尾側静脈から採血し、採取した血液を4、1,200 \times gで遠心分離し、上清中のグルコース量をグルコースC テストワコー（和光純薬工業）を用いたムタロターゼ・GOD法により測定した。

糖負荷試験では、16時間絶食後にグルコースを投与し血糖値を測定した。薬物はグルコース投与30分前に投与した。

Real-time RT-PCR

薬物を投与した後にマウスの視床下部を分画し、NucleoSpin RNA kit (Macherey-Nagel) を用いてtotal RNAを抽出した。cDNAの作製には、PrimeScript RT Master Mix（タカラバイオ）を使用した。得られたcDNAを用いて、神経ペプチドneuropeptide Y (NPY)、agouti-related peptide (AgRP)、 α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH)の前駆体であるproopiomelanocortin (POMC)、orexinの前駆体であるpreproorexinおよびmelanin-concentrating hormone (MCH)の前駆体であるpro-MCHのmRNA発現量をPCR法により測定した。

4. 研究成果

(1) オピオイド受容体の摂食調節における役割

オピオイド受容体の摂食調節における役割を明らかにするため、摂餌量に対するオピオイド受容体作動薬の効果について検討した。ナルフラフィンの末梢投与により、非絶食条件下でマウスの摂餌量は対照群と比較して有意に増加した。この増加は、オピオイド受容体拮抗薬であるnorbinaltorphimine (nor-BNI)の併用により抑制された。同様に、U-50,488Hの末梢投与によっても、非絶食条件下で摂餌量の増加が認められ、この増加はnor-BNIの前処置によって抑制された。一方、ナルフラフィンの末梢投与により、絶食後の摂餌量は対照群と比較して変化しなかった。このことから、オピオイド受容体の刺激により、摂食行動が促進することが示された。

(2) オピオイド受容体の血糖調節における役割

血糖値の変化は摂食行動に影響を与えることから、次にオピオイド受容体が血糖調節に関与するか検討した。その結果、ナルフラフィンの末梢投与により、非絶食条件下および絶食後の血糖値はいずれも変化しなかった。さらに、糖負荷試験においてナルフラフィンを末梢投与しても、グルコースによる血糖上昇作用は変化しなかった。これらの結果から、オピオイド受容体は血糖調節に関与しないことが示唆された。

(3) 中枢および末梢のオピオイド受容体の摂食調節における役割

オピオイド受容体は中枢神経系および末梢臓器に広く分布していることから、続いて中枢および末梢のオピオイド受容体のどちらがナルフラフィンによる摂食促進作用に関与するか検討した。非絶食条件下においてナルフラフィンの脳室内投与により、摂餌量の増加が認められた。一方、血液脳関門を通過しないナルフラフィンメチオダイドの末梢投与は、非絶食条件下の摂餌量に影響を与えなかった。このことから、中枢神経系のオピオイド受容体の刺激により、摂食行動が促進することが示された。

(4) 視床下部外側野のオピオイド受容体の摂食調節における役割

これまでに当研究室では、nor-BNIがエネルギー調節の中枢である視床下部において、摂食促進作用を示すorexinの前駆体であるpreproorexinのmRNA発現量を減少させることを報告している。このことから、オピオイド受容体の刺激により、視床下部のorexinの機能が亢進することで摂食行動が促進する可能性がある。そこで、非絶食条件下でナルフラフィンを末梢投与した後に視床下部のペプチドのmRNA発現量を測定したところ、preproorexinのmRNA発現量は増

加傾向を示したが、摂食促進作用を示す NPY、AgRP、MCH の前駆体の pro-MCH および摂食抑制作用を示す α -MSH の前駆体の POMC の mRNA 発現量はいずれも変化しなかった。しかし、ナルフラフィンの末梢投与による摂食促進作用は、orexin OX1 受容体拮抗薬の YNT-1310 または非選択的 orexin 受容体拮抗薬の suvorexant の前処置によりいずれも変化が認められなかった。これらの結果より、視床下部の orexin は オピオイド受容体による摂食調節機構に関与しないことが示唆された。

続いて、摂食中枢として知られる視床下部外側野の オピオイド受容体が摂食調節に関与するか検討した。非絶食条件下でナルフラフィンを視床下部外側野に投与しても摂餌量は変化しなかったことから、視床下部外側野の オピオイド受容体は摂食調節に関与しないことが示唆された。

(5) 側坐核の オピオイド受容体の摂食調節における役割

次に、食の嗜好性を司る側坐核の オピオイド受容体が摂食調節に関与するか検討した。非絶食条件下においてナルフラフィンの側坐核への投与により摂餌量は増加し、この増加は nor-BNI の前処置により抑制された。さらに、非絶食条件下でナルフラフィンを末梢投与することで認められる摂食促進作用は nor-BNI を側坐核に投与することで抑制された。このことから、側坐核の オピオイド受容体の刺激により、摂食行動は促進されることが示された。

なお、運動量が低下することで摂食行動が妨げられることから、摂餌量の測定中に運動量を測定した。その結果、対照群と比較して運動量を増加させた薬物群はあったものの、運動量を低下させた薬物群はなかった。

(6) 5-FU の食欲不振に対する オピオイド受容体作動薬の効果

最後に、ナルフラフィンによる摂食促進作用が抗がん薬の 5-FU による食欲不振を改善するか検討した。5-FU の単独投与により投与 2-4 日後の 1 日摂餌量は低下したが、この低下はナルフラフィンの併用により変化しなかった。一方、ナルフラフィンの併用により、5-FU による投与直後 3 時間の摂餌量の低下は抑制された。このことから、ナルフラフィンは 5-FU による食欲不振に対して急性の改善効果を認めることが示された。

以上の本研究の結果より、側坐核の オピオイド受容体の刺激により摂食行動が促進することが明らかとなった。また、 オピオイド受容体は血糖調節には関与しないことや、 オピオイド受容体の刺激による摂食行動の促進に視床下部の神経ペプチドは関与しないことが示唆された。さらに、 オピオイド受容体作動薬であるナルフラフィンの投与により 5-FU の食欲不振を部分的に改善することが示唆された。

これまでのオピオイド受容体の摂食調節に関する研究の多くは、中枢の μ および δ オピオイド受容体の役割について検討したものであり、中枢の κ オピオイド受容体による摂食調節機構に着目した研究はほとんど行われていなかったが、本研究により側坐核の オピオイド受容体が摂食調節において重要な役割を果たすことが明らかとなった。本研究の発展は、中枢神経による摂食調節機構の解明につながり、食欲不振の予防・治療に新たな知見をもたらすものと期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 米持奈央美、長瀬博、池田弘子
2. 発表標題 Nalfurafineの摂食促進作用に対する側坐核および視床下部の関与
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菊田真利、宇津木陸雄、古谷洋人、松山友翼、米持奈央美、長瀬博、池田弘子
2. 発表標題 Nalfurafineによる摂食促進作用と抗がん薬の食欲不振に対する効果
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------