

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K11014

研究課題名(和文)オレキシン2型受容体作動薬による代謝リズム調節機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of metabolic rhythm regulation by orexin agonist

研究代表者

福住 昌司 (Fukusumi, Shoji)

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・准教授

研究者番号：10750002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：オレキシン2型受容体作動薬YNT185の末梢投与により、高脂肪食負荷マウスの代謝異常を抑制することを発見した。高脂肪食負荷による代謝リズム異常を示すマウスに明期にYNT185を投与すると体重増加の抑制作用が認められ、それに伴い摂食量の減少が観察された。皮下脂肪組織では減少傾向がみられ、精巢上体周囲脂肪組織では有意な減少が認められた。同様の実験を暗期ZT18の投与で行ったところ上記の薬理効果は認められなかった。YNT185の末梢投与は、摂食量の抑制を介して、末梢における脂肪蓄積を減少させることで高脂肪食負荷による体重増加を抑制すること、この薬理作用には投与時間依存性があることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メタボリックシンドローム、いわゆる肥満は多くの場合、合併症により健康寿命を短くし、QOLの低下を招くだけでなく、医療費を圧迫するなど大きな社会問題となっている。一方、代謝改善薬としてオレキシン系を標的にしたものは現在のところ存在しない。今回の結果から、オレキシン2型受容体作動薬は将来的に全く新しい機序の代謝改善薬として有望である。また、既存の治療法とは作用部位が異なるため、既知の治療法との併用により相加・相乗効果が期待できる。

研究成果の概要(英文)：We demonstrate the potential metabolic effects of a non-peptide OX2R selective agonist, YNT-185 by using high-fat fed mice. C57BL/6J mice was single-housed under high-fat diet for one week and daily intraperitoneal administration of YNT-185 or vehicle was performed during light period (ZT6). As a result, the body weight gain of the YNT-185-treated group was attenuated along with the decrease in the food intake compared to the control group. Moreover, the weights of epididymal adipose tissues in the YNT-185-treated group were significantly reduced compared to the control group. It is suggested that the YNT-185 attenuates diet-induced body weight gain by reducing the accumulation of peripheral fat at least via suppression of food intake. The pharmacological effects may depend on the clock time of the administration. To validate the effectiveness on metabolic abnormalities, the pharmacological mechanisms of YNT-185 against body weight gain need to be elucidated by further investigation.

研究分野：創薬

キーワード：睡眠 オレキシン

1. 研究開始当初の背景

肥満に代表される代謝異常の原因は、過栄養や運動不足だけではなく、睡眠不足や不規則な睡眠による生活リズムの破たんによるところが大きい。疫学的研究によると、短時間睡眠（5～6時間）の人が肥満になる確率は、通常睡眠（7～8時間）の1.55倍である（Cappuccio et al., Sleep, 2008）。この通常睡眠の間には、炭水化物分解、脂肪分解の増減が二相性の代謝リズムとして認められる（Kayaba et al., Metabolism, 2016）。短時間睡眠では、この代謝リズムが破たんしている可能性が考えられる。実際、夜型生活習慣や24時間営業などのシフトワークによる不規則な睡眠は、生体リズムを破たんさせ、代謝異常の原因になることが示されている（Satchidananda P. et al., Science, 2016）。オレキシンは視床下部外側野に局在する神経細胞が産生するペプチドであり、睡眠覚醒制御・動機行動・抗炎症・自律神経制御などのほか、エネルギー恒常性に対する作用を有する。オレキシンシグナリングは日内変動を示し、様々な生体リズムの発現・制御に関わっている（Sakurai, Nat Rev Neurosci, 2007）。我々のグループは世界に先駆けて血液脳関門通過可能な非ペプチド性低分子量化合物のオレキシン2型受容体選択的作動薬、YNT185を創出した。さらに生体リズムに則した脳内オレキシンシグナリングの活性化は代謝リズムを整える可能性が考えられた。本研究では高脂肪食負荷マウスを用いて、YNT-185の代謝系に対する薬理効果、さらに投与時間依存性について明らかにすることを目的とした。

2. 研究の目的

本研究は高脂肪食負荷による代謝リズム異常を示すマウスにオレキシン2型受容体作動薬YNT-185を異なる時間帯で末梢投与し、抗肥満効果とともに時間依存的な投与効果の違いを検討する。

3. 研究方法

1) 高脂肪食負荷マウスの体重に対するYNT-185の時間依存的投与効果の検討

体重・生化学的肥満マーカーの評価

C57BL/6Jマウスを使い、ZT0（暗期開始時）に高脂肪食負荷を開始し、7日間の体重変化を観察する。オレキシン神経の活動には日内変動がありZT3で一番低く、ZT21でピークに達する（Estabrooke et al. J. Neurosci, 2001）。これらの事実からオレキシン受容体作動薬の効果は投与時間依存的であると考えられることから、YNT-185の腹腔内投与時間をZT6, ZT18の2点に分けて評価する。それぞれZT0で体重、摂餌量測定を行う。血漿中性脂肪値、生化学的肥満マーカー、白色脂肪、褐色脂肪量、肝臓、骨格筋重量の変化を測定する。

2) YNT-185 の抗肥満効果がオレキシン 2 型受容体を介する効果であることの確認
YNT-185 の効果が認められた投与時間のプロトコールで、オレキシン 2 型受容体欠損マウスを用いて同様に評価し、YNT-185 の効果がないことを確かめる。

3) 摂食量、行動量に及ぼす YNT-185 効果の時系列的検討

YNT-185 の効果が認められた投与時間のプロトコールで、摂餌量、水平運動、輪回し運動量について時系列で観察し、摂餌時間、自発運動パターンに対する YNT-185 の効果を調べる。

4. 研究成果

野生型マウスに対し高脂肪食を 1 週間与え、同期間に一日一度 ZT6 に、YNT-185 40 mg/kg あるいは Vehicle を、マイクロインジェクターを用いて腹腔内投与し、体重および摂食量を測定した。その結果、YNT-185 投与群で高脂肪食による体重増加が抑制された。また、これに伴い摂食量の減少が観察された。この効果はオレキシン 2 型受容体欠損マウスでは見られなかった。投与期間終了後に組織を回収し、重量を測定したところ、肝臓、腓腹筋、褐色脂肪組織では両群に差は見られなかったものの、皮下脂肪組織では減少傾向がみられ、精巢上体周囲脂肪組織では有意な減少がみられた。さらに血漿トリグリセライドの減少傾向が観察され、肝臓トリグリセライドの有意な減少が見られた。同様の実験を暗期 ZT18 の投与で行ったところ、上記の薬理効果は認められなかった。したがって、YNT-185 の薬理作用には時間依存性が示唆された。それぞれの時間で YNT-185 を腹腔内投与し、血漿内、脳内の YNT-185 レベルを測定した結果、薬理効果と関連した YNT-185 レベルの増加傾向が見られたことから、YNT-185 の薬理効果の時間依存性は血管内、脳内への吸収が関与していることが示唆された。

以上より、YNT-185 の末梢投与は、少なくとも摂食量の抑制を介して末梢における脂肪蓄積を減少させることで、高脂肪食負荷による体重増加を抑制することが示唆された。また、こうした薬理作用には時間依存性があることも示唆された。さらに YNT185 投与後 3 時間で有意な自発行動量の増加が観察された。これらの作用も一部は体重減少に関わっている可能性がある。

代謝改善薬として、オレキシン系を標的にしたものは現在のところ存在しない。オレキシン 2 型受容体作動薬は将来的に全く新しい機序の代謝改善薬として有望である。YNT-185 の体重増加抑制効果の作用機構のさらなる検討を行い、その有用性を検証することが必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Saitoh T, Seki K, Nakajima R, Yamamoto N, Kutsumura N, Nagumo Y, Irukayama-Tomobe Y, Ogawa Y, Ishikawa Y, Tanimura R, Yanagisawa M, Nagase H. | 4. 巻 29 |
| 2. 論文標題 Essential structure of orexin 1 receptor antagonist YNT-707, Part IV: The role of D-ring in 4,5-epoxymorphinan on the orexin 1 receptor antagonistic activity. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem. Lett. | 6. 最初と最後の頁 2655 2658 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2019.126893 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Yamamoto N, Ohru S, Okada T, Saitoh T, Kutsumura N, Nagumo Y, Irukayama-Tomobe Y, Ogawa Y, Ishikawa Y, Watanabe Y, Hayakawa D, Gouda H, Yanagisawa M, Nagase H. | 4. 巻 27 |
| 2. 論文標題 Essential structure of orexin 1 receptor antagonist YNT-707, Part III: Role of the 14-hydroxy and the 3-methoxy groups in antagonistic activity toward the orexin 1 receptor in YNT-707 derivatives lacking the 4,5-epoxy ring. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem. | 6. 最初と最後の頁 1747 1758 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2019.03.010. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 4件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Namekawa Y, Irukayama-Tomobe Y, Ishikawa Y, Yamaguchi T, Ogawa Y, Nemoto T, Tanaka H, Yamamoto H, Tito Akindele, Saitoh T, Nagase H, Yanagisawa M |
| 2. 発表標題 In vitro and in vivo pharmacology of small-molecule orexin agonists for treatment of narcolepsy |
| 3. 学会等名 Tsukuba Global Science Week (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Ohru S, Yamamoto N, Okada T, Yata M, Saitoh T, Kutsumura N, Nagumo N, Irukayama-Tomobe Y, Ishikawa Y, Ogawa Y, Watanabe Y, Hayakawa D, Gouda H, Yanagisawa M, Nagase H. |
| 2. 発表標題 Essential structure of orexin 1 receptor antagonist YNT-707 |
| 3. 学会等名 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress ROHM Theatre Kyoto & Miyakomesse (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Amezawa M, Horiuchi J, Saitoh T, Ogawa Y, Ishikawa Y, Irukayama Y, Hasegawa E, Hayakawa D, Watanabe Y, Nagumo Y, Yamamoto N, Kutsumura N, Gouda H, Sakurai T, Yanagisawa M, Nagase H. |
| 2. 発表標題 Discovery of Novel Orexin Receptor Antagonist with 1,3,5-Trioxazatriquinane Skeleton |
| 3. 学会等名 The 27th French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry Hotel Leoplace Hakata (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Eriya Takahashi*, Kyoko Enomoto, Takuto Yamaguchi, Yasuhiro Ogawa, Shoji Fukusumi, Akari Kawai, Masaya Araki, Tsuyoshi Saitoh, Yoshimi Nakagawa, Yoko Irukayama-Tomobe, Hitoshi Shimano, Hiroshi Nagase, Masashi Yanagisawa |
| 2. 発表標題 Non-peptidic Orexin receptor type-2 agonist attenuates body weight gain of high-fat fed mice |
| 3. 学会等名 The 41st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (国際学会) |
| 4. 発表年 2018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 |
|-------|--|---|----|
| 研究分担者 | 櫻井 勝康 (Sakurai Katsuyasu) (70507920) | 筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・助教 (12102) | |
| 研究分担者 | 斉藤 毅 (Saito Tsuyoshi) (80609933) | 筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・助教 (12102) | |
| 研究分担者 | 入鹿山 容子 (Irukayama Yoko) (90312834) | 筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・研究員 (12102) | |

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|