

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 1 日現在

機関番号：33916  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2010～2012  
 課題番号：22500331  
 研究課題名（和文）メラニン凝集ホルモン受容体拮抗薬の末梢臓器における食欲抑制機序の解明  
 研究課題名（英文）The mechanism of anorectic effect from MCH1R antagonism in the peripheral tissue  
 研究代表者  
 長崎 弘（Nagasaki, Hiroshi）  
 藤田保健衛生大学・医学部・准教授  
 研究者番号：30420384

研究成果の概要（和文）：我々の開発したメラニン凝集ホルモンレセプター特異的阻害剤、TPI1361-17（以下 TPI）は血液脳関門を通過せず、マウス腹腔内投与により著明な摂食抑制作用を示す。38名の経口糖負荷において、末梢血 MCH 濃度は半分程度に減少した。また食餌誘発肥満マウスにおいて TPI は体重減少、摂食抑制、インスリン抵抗性改善等の効果を示した。以上より、MCH 系は末梢組織に存在し、エネルギー代謝調節に関与することが示唆された。

メラニン凝集ホルモン（MCH）の末梢作用

研究成果の概要（英文）：We have developed a non-peptide antagonist for melanin-concentrating hormone receptor 1 (MCH1R), TPI1361-17 (TPI). TPI does not cross blood brain barrier, and the intra-peritoneal administration cause prominent anorexic effect in mice, which suggest MCH system localize in peripheral tissues, as well as in central nervous systems. Oral glucose load reduced MCH level in circulation. In the diet-induced obese mice, TPI reduced body weight, food intake, and improved insulin resistance. These results suggest that MCH system localize in peripheral tissues and it may regulate energy homeostasis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	100,000	30,000	130,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：神経内分泌学

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経化学、神経薬理学

キーワード：メラニン凝集ホルモン

## 1. 研究開始当初の背景

摂食行動制御においては視床下部に存在する摂食中枢の1次及び2次神経核群が中心的な役割を果たす。液性及び神経性の入力、弓状核のNPY/AGRPニューロンおよび $\alpha$ MSH/POMCニューロンに集約され、1次中枢からの神経性の出力は抑制性2次中枢である室傍核、および促進性2次中枢である外側野(LHA)を動員して摂食行動を制御するという定説が認知されている。中枢性摂食亢進ペプチドであるMCHニューロン系による摂食調節機構を明らかにするための研究の過程で、我々は非ペプチド性MCH1R選択的阻害剤TPI1361-17を同定した。その中枢(脳室内)投与は、予想通りMCHに由来する摂食亢進作用を抑制するが、予想外にも、末梢(腹腔内)投与により更に強力な摂食抑制作用を示すことを見出した。これは、MCHの作用点が従来の中枢神経系だけでなく、末梢組織にも存在することを示唆する。しかし、それを裏付ける末梢性MCH系の候補として、迷走神経求心路、白色脂肪組織、膵臓ランゲルハンス島、腸管神経などにMCHレセプターが存在することが知られており、TPI1361-17の作用点である可能性が示唆される。

## 2. 研究の目的

われわれはこれまでに摂食亢進性神経ペプチドの一つであるメラニン凝集ホルモン(MCH)のレセプター(MCH1R)に対する特異的阻害剤レセプター、TPI1361-17を同定した。この化合物はマウス腹腔内投与で、中枢神経系に移行することなく、著明な摂食抑制作用及び脂肪燃焼の促進作用を示す。この特性は向精神作用などの副作用の無い、安全な肥満症治療薬としての可能性を示す。本研究において、この化合物の迷走神経を始めとする末梢臓器における作用点を明らかにすることで、抗肥満作用の薬理的な裏付けを

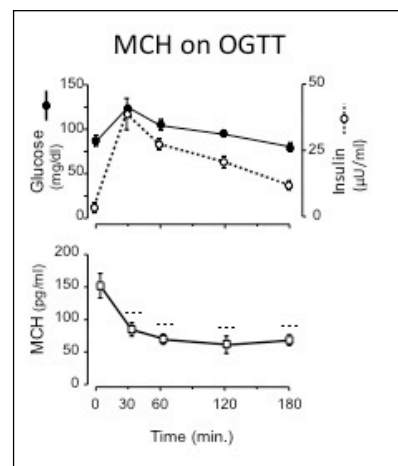
行ない、臨床応用への道を開く。

## 3. 研究の方法

- MCHの末梢臓器における作用点を解明するため、まず末梢でのエネルギー代謝とMCHの相関を検討する。ヒトの経口糖負荷試験におけるMCH濃度の動態を調べ、血糖値、インスリン濃度、レプチン、アディポネクチンなど各種の末梢性エネルギー調節因子との相関を調べる。
- TPI1361-1をマウスに腹腔内投与し、体重、摂食量、呼吸商、酸素消費量、血糖値、インスリン値などエネルギー代謝指標を計測、その効果を調べる。
- TPI1361-1をMCH1Rノックアウトマウスに投与し、その効果を調べる。
- TPIの動物実験のため、化合物の大量合成を外部委託する。
- その上で内臓からの情報を中枢に伝える迷走神経求心路はMCHの末梢の作用点である可能性が高いため、実験動物において迷走神経遮断術等の手法によりMCH系の摂食行動調節機構を検討する。

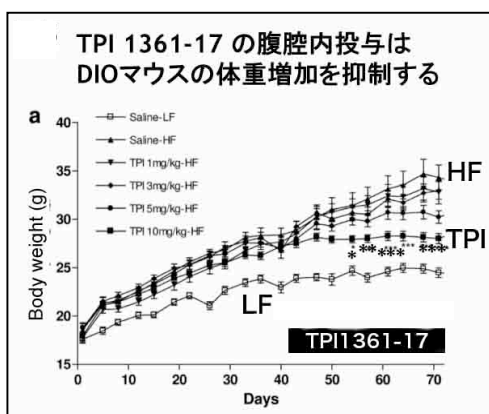
## 4. 研究成果

- 経口糖負荷試験：健常成人38名に75g経口糖負荷試験を施行したところ(下図)、MCH濃度は空腹時100pg/ml程度だ

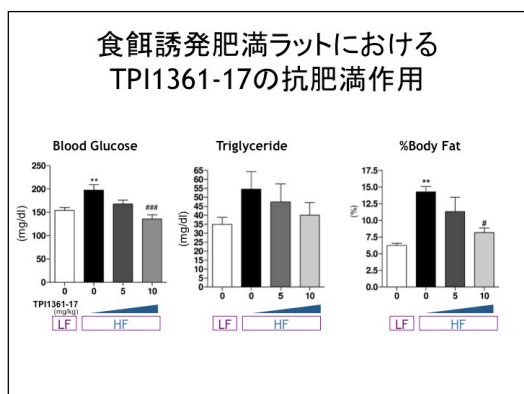


ったのが糖摂取後 30 分で 60、60 分後には 45 に低下した。同時に測定した末梢血インスリン、レプチン、アディポネクチン、レジスチン、AGRP,  $\alpha$  MSH のうちで、インスリンのみが MCH と有意の逆相関を示した。MCH は末梢において分泌されており摂食により低下する、即ち末梢エネルギーレベルにダイナミックに応答することを明らかにした。

- 食餌誘発肥満マウスへの効果：マウスにおける薬物動態試験を行い TPI1361-14 は血液脳関門を通過しないことを確認した。食事誘発肥満マウスに長期反復腹腔内投与を行ったところ、用量依存性に著明な体重抑制効果および摂食抑制効果を確認した（下図）。

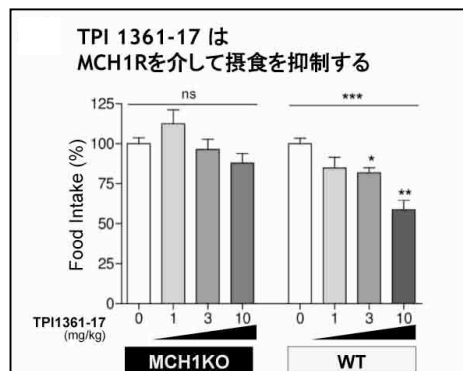


- また、血糖、血液脂質、および体脂肪率を改善効果が確認できた。（下図）



- TPI1361-14 を MCH1R ノックアウトマウス (MCH1KO) へ腹腔内投与した場合

は食欲抑制作用がみられないことから、この作用は MCH1R を介することが明らかである（下図）。



これらの事実から神経ペプチドと考えられている MCH は末梢血中にも存在し、その作用点が末梢臓器に存在することが示唆された。

- 更に TPI が必要になったため、有機化合物合成を、Radboud University Nijmegen の有機合成サービスユニットと共同研究を始めた。ところが半年後、先方より合成不可能という返答が来た為、改めてアプロサイエンス社（徳島県鳴門市）の有機化合物合成サービスに委託し、500mg の化合物を得た。純度は高く、MCH1R 発現 CHO 細胞株において、MCH による細胞内カルシウム濃度上昇をレセプター特異的に阻害した。合成で予想外の実験の遅れが出ており具体的な TPI1361-17 の末梢における標的臓器の同定には至っていない。しかし、本研究により MCH が末梢においてもエネルギー代謝に関連する生理活性物質であることを明らかにできた。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 10 件）

1. Ozawa Y, Arima H, Banno R, Ito Y, Goto M, Morishita Y, Sugimura Y, Ozaki N,

- Nagasaki H, Oiso Y.  
Lesion of area postrema attenuated hyperphagic responses to glucoprivation, but not transcriptional activation of the neuropeptide Y gene in rats.  
**Neuroreport.** (査読有) 2012 Aug 1;23(11):673-5.
2. Nagasaki H, Kondo T, Fuchigami M, Hashimoto H, Sugimura Y, Ozaki N, Arima H, Ota A, Oiso Y, Hamada Y  
Inflammatory changes in adipose tissue enhance expression of GPR84, a medium-chain fatty acid receptor  
TNF $\alpha$  enhances GPR84 expression in adipocytes  
**FEBS Letters** (査読有) 586 (2012) 368-372
3. Mizutani N, Ozaki N, Seino Y, Fukami A, Sakamoto E, Fukuyama T, Sugimura Y, Nagasaki H, Arima H, Oiso Y.  
Reduction of Insulin Signaling Upregulates Angiopoietin-like Protein 4 Through Elevated Free Fatty Acids in Diabetic Mice.  
**Exp Clin Endocrinol Diabetes** (査読有) 2012; 120(03): 139-144
4. Suzuki J, Akahane K, Nakamura J, Naruse K, Kamiya H, Himeno T, Nakamura N, Shibata T, Kondo M, Nagasaki H, Fujiya A, Oiso Y, Hamada Y:  
Palmitate induces apoptosis in Schwann cells via both ceramide-dependent and independent pathways.  
**Neuroscience** (査読有) 176:188-198, 2011
5. Ozawa Y, Arima H, Watanabe M, Shimizu H, Ito Y, Banno R, Sugimura Y, Ozaki N, Nagasaki H, Oiso Y:  
Repeated glucodeprivation delayed hyperphagic responses while activating neuropeptide Y neurons in rats.  
**Peptides** (査読有) 32:763-769, 2011
6. Nagasaki H, Shang Q, Suzuki T, Hashimoto H, Yoshimura T, Kondo TA, Ozaki T, Maruyama S, Jomori T, Oiso Y, Hamada Y.  
Low-serum culture system improves the adipogenic ability of visceral adipose tissue-derived stromal cells.  
**Cell Biol Int** (査読有) 35:559-568, 2011
7. Shimizu H, Arima H, Ozawa Y, Watanabe M, Banno R, Sugimura Y, Ozaki N, Nagasaki H, Oiso Y:  
Glucocorticoids increase NPY gene expression in the arcuate nucleus by inhibiting mTOR signaling in rat hypothalamic organotypic cultures.  
**Peptides** (査読有) 31:145-149, 2010
8. Chung S, Wong T, Nagasaki H, Civelli O:  
Acute homeostatic responses to increased fat consumption in MCH1R knockout mice.  
**J Mol Neurosci** (査読有) 42:459-463, 2010
9. メラニン凝集ホルモン (MCH)  
長崎 弘、齋藤祐見子  
広範囲 血液・尿化学検査 免疫学的

検査 (4)

日本臨床 (査読なし) 68 巻増刊号 7  
2010, p 230-233

10. 特集 摂食制御の分子過程「メラニン  
凝集ホルモン-MCH」

長崎 弘、齋藤祐見子

生体の科学 (査読なし)

Vol. 62 No. 1 2011 p37-43

[学会発表] (計 3 件)

1. MCH1R 受容体阻害剤の同定とエネルギー  
調節研究への応用

長崎 弘

第 85 回日本内分泌学会学術総会 名  
古屋国際会議場、平成 24 年 4 月 19  
~21 日

2. マウス ES 細胞由来一視床下部培養系に  
おける視床下部ニューロンの発生

長崎 弘 他

第 85 回日本内分泌学会学術総会  
名古屋国際会議場、平成 24 年 4 月  
19~21 日

3. 脂肪酸 G 蛋白結合受容体 GPR40 に対する  
チアゾリジン誘導体の作用

長崎 弘 他

第 85 回日本内分泌学会学術総会  
名古屋国際会議場、平成 24 年 4 月  
19~21 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長崎 弘 (Nagasaki, Hiroshi)

研究者番号 : 30420384

(2) 研究分担者

濱田 洋司 (Hamada, Yoji)