

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500863

研究課題名(和文)ペプチドの点鼻投与と運動療法を用いた肥満解消の新戦略

研究課題名(英文) A new strategy to conquer obesity by use of a newly discovered intranasal infusion of anorexigenic peptide and exercise

研究代表者

竹ノ谷 文子 (TAKENOYA, FUMIKO)

星薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：30234412

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円、(間接経費) 1,140,000円

研究成果の概要(和文)：抗肥満ペプチドは摂食やエネルギー代謝亢進があるが、このペプチドと運動を活用して肥満動物に抗肥満作用を活用した報告はない。本研究では、抗肥満ペプチドの点鼻投与法を動物実験で確立した。さらに抗肥満ペプチド点鼻投与と走行運動により、摂食抑制とエネルギー代謝亢進作用を詳細に検討した結果、摂食量や体重減少を得られた。この抗肥満ペプチドと運動療法をヒトへ臨床応用すれば、画期的な抗肥満療法の開発ができると示唆される。

研究成果の概要(英文)：Anorexigenic peptide, which regulates feeding and energy metabolism but there is no reports to use of this peptide and exercise for obese animals efficiently. In this study, we have established the intranasal infusion method of anorexigenic peptide for animals. We have studied obese animals and we got the data that intranasal infusion of anorexigenic peptide and voluntary exercise were effective on these animals to loose body weight and food intake. Suggested that intranasal infusion of anorexigenic peptide and voluntary exercise are useful for obese people to conquer obesity and life-style related diseases in future.

研究分野：健康・スポーツ科学

科研費の分科・細目：応用健康科学

キーワード：抗肥満ペプチド 運動療法 点鼻投与 マウス エネルギー代謝 摂食調節 ストレス 視床下部

1. 研究開始当初の背景

(1) 新規の抗肥満ペプチドであるガラニン様ペプチド (GALP) やニューロペプチド W (NPW) はエネルギー代謝亢進や体重減少があり、生活習慣病予防に有効活用が期待される。

(2)ところが、その抗肥満作用については、脳室内投与や静脈投与の実験によるものであり、ヒトへの応用は難しいのが現状である。しかし、抗肥満ペプチドの抗肥満効果を肥満症やメタボリックシンドローム解消の為に運動療法に活用できれば、より効果的な成果がえられると考える。

2. 研究の目的

(1) 我々は、これらの抗肥満ペプチドの強力な抗肥満作用をヒトに応用するため、非侵襲的で、さらに運動時にも簡易的なペプチドの点鼻投与法の確立を目指す為、まず動物を用いてその効果を検討する。

(2)さらに、ペプチドの点鼻投与と肥満解消には不可欠な運動を組み合わせることにより、効率的でより効果のあるエネルギー代謝亢進や体重減少を目指し、画期的で新規性のある新規の運動療法を目指す。

3. 研究の方法

(1)抗肥満ペプチド (GALP や NPW) の抗肥満作用を中枢および末梢より明らかにする。

1) 抗肥満ペプチド投与における摂食および体重抑制作用を、摂食行動装置を用い、体重、摂食量行動等を 24 時間測定する。

2) NPW および GALP 投与による抗肥満効果が運動添加によりどのように変化するかを明らかにする。

3) 明らかにされていない NPW 投与による脳内のニューロンネットワークを解析するため、NPW と様々な摂食調節物質と 2 重免疫染色を行い、脳内の NPW ニューロンとの神経相関を光顕および電顕的に観察し、投与方法の違いにおけるニューロンネットワークを解析する。

4) 自発運動時の抗肥満ペプチドによる抗肥満作用をエネルギー代謝 (呼吸代謝測定および代謝関連酵素の mRNA 発現量の測定) から明らかにする。

(2)NPW 点鼻投与による抗肥満効果の作用機序を明らかにする。

1) NPW 点鼻投与における脳内の c-Fos 発現部位を明らかにする。

2) NPW の抗肥満作用のシグナル伝達解析を Cellkey system を用いて解析する。

(3)NPW 点鼻投与の肥満マウスにおける抗肥満作用の有効性を明らかにする。

1) NPW 点鼻投与の肥満マウスにおける抗肥満作用を明らかにする。NPW 点鼻投与の肥満マウスにおける抗肥満作用を明らかにする。

2) NPW 点鼻投与と走行運動の相乗効果による抗肥満作用を明らかにする。

4. 研究成果

(1) マウスに NPW の脳室内投与法を行い、抗肥満作用を検討したところ、投与後 2 時間までの摂食増加がみられるものの、24 時間後では、摂食、飲水、体重の減少が確認された。また点鼻投与においても同様の傾向がみられた。これらの結果から NPW の抗肥満作用が明らかになった。(影山ら、実験医学、2012) (Kageya et al., J Mol Neurosci, 2013)

(2) NPW の肥満効果は運動により消失した。このことから NPW による抗肥満作用はストレスに關与した抗肥満作用であることが示唆された。一方、GALP の肥満効果は運動を添加することにより、更に高い抗肥満作用が見られた。

(3) NPW 投与による脳内のニューロンネットワークを解析したところ、NPW は弓状核の NPY ニューロンや POMC ニューロンの他に室傍核での NPW ニューロンとストレスなどに關与する CRH ニューロンの神経相関を光顕に明らかにし、さらに電顕的観察においても両者のシナプスを観察した (Takenoya F et al., Front Endocrinol (Lausanne), 2012)。さらに Cellkey system の解析により、NPW の摂食抑制のシグナル伝達を解析したところ、Gi 系を介す可能性が示唆された。

(4) NPW 投与における室傍核の c-Fos 発現を観察し、そのターゲットは CRH ニューロンであり、バソプレッシンやオキシトシンでないことが明らかになった。

さらに CRH アンタゴニストの前投与により、NPW 投与による摂食抑制作用はキャンセルされたことから、NPW 摂食抑制の経路に室傍核の CRH ニューロンを介した系も存在することが明らかになった。このことから NPW は摂食調節の他に、ストレスにも關与していることが示唆された。

(5) 非運動群で GALP 投与により、投与直後に脂質代謝が、暗期中に糖代謝が亢進した。また、自発運動群では、GALP 投与により、運動量に対応せず酸素消費量及び発熱量が上昇し、体重が減少した。さらに自発運動群では、GALP 群は vehicle 群に比し、肝臓、骨格筋の代謝関連酵素のうち、PEPCK 及び SREBP-1 の mRNA 発現量の減少を認めた。(Ito K, et al. Peptides. 2013)

(6) NPW 点鼻投与の抗肥満作用は食餌誘発性肥満マウスである D10 マウスにおいても確認することができた。また、NPW 点鼻投与による抗肥満効果を血液検査により調べたところ、血糖値等の低下が見られた。

まとめと考察

以上の観察結果から、GALP および NPW の抗肥満作用は、中枢および末梢で明らかにされた。(竹ノ谷ら、*Drug Delivery System*, 2013) またこれらのペプチドによる点鼻投与法が確立された。さらに GALP は運動を併用することにより、抗肥満効果が増加することから、新規の運動療法に GALP の点鼻投与の応用が期待できる。一方、NPW の抗肥満作用はストレス関与によるものと示唆されることから、今後、NPW のストレスの種類や時間等による抗肥満作用の詳細を調べることにより、NPW の肥満解消の為の応用も期待される。

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 12 件)

Shioda S, Kageyama H, Takenoya F, Shiba K. Galanin-like peptide: a key player in the homeostatic regulation of feeding and energy metabolism? *Int J Obes (Lond)*. 査読有, 35, 2011, pp 619-628.
DOI:10.1038/jio.2010.202

竹ノ谷文子, 影山晴秋, 柴加奈子, 塩田清二: ガラン様ペプチド(GALP)の抗肥満効果について、最新医学、査読有、66 巻 6 月増刊号 2011、pp. 1487-1497

影山晴秋, 竹ノ谷文子, 柴加奈子, 塩田清二: ガラン様ペプチド(GALP)による摂食・代謝調節と肥満克服の新戦略、実験医学、29、2011、pp.67-72

塩田清二, 竹ノ谷文子, 柴加奈子, 姜奇成, 影山晴秋: 視床下部における摂食調節の神経回路と神経ペプチド、内分泌・糖尿病・代謝内科、査読有、31、2012、pp. 3-8

影山晴秋, 竹ノ谷文子, 塩田清二: ニューロペプチド総論～神経ペプチドの種類と分布～. *Clinical Neuroscienc*、査読有 30, 2012, pp.136-139

Kageyama H, Takenoya F, Shioda S. Morphological analysis of ghrelin neurons in the hypothalamus. *Methods Enzymol*, 査読有, 514, 2012, 91-99
DOI:10.1016/B978-0-12-381272-8.00006-4.

Takenoya F et al., Neuropeptide w, *Front Endocrinol (Lausanne)*, 査読有, 3, 2012, 1-5
DOI: 10.3389/fendo.2012.00171

Kageyama H, Takenoya F, Hirako S, Wada N, Kintaka Y, Inoue S, Ota E, Ogawa T, Shioda S. Neuronal circuits involving neuropeptide Y in hypothalamic arcuate nucleus-mediated

feeding regulation, *Neuropeptides*, 査読有, 有 46, 2012, 285-289
DIO: 10.1016/j.npep.2012.09.007.

塩田清二, 竹ノ谷文子, 影山晴秋, 視床下部弓状核、腹内側核の摂食調節ニューロンの機能形態、肥満研究、査読なし、19、2013、29-38

Kageyama H, Takenoya F, Shioda S et al., Galanin-Like Peptide (GALP) Facilitates Thermogenesis via Synthesis of Prostaglandin E(2) by Astrocytes in the Periventricular Zone of the Third Ventricle, *J Mol Neurosci*, 査読有, 50, 2013,443-452
DOI:10.1007/s12031-013-9952-4

Ito K, Kageyama H, Hirako S, Wang L, Takenoya F, Ogawa T, Shioda S. Interactive effect of galanin-like peptide (GALP) and spontaneous exercise on energy metabolism. *Peptides*. 査読有,49, 2013,109-116
DOI: 10.1016/j.peptides

竹ノ谷文子, 平子哲史, 影山晴秋, 野中直子, 塩田清二 GALP による抗肥満の臨床応用に向けた点鼻投与法の開発、*Drug Delivery System*, 査読 28,2013, pp.300-309
DOI:10.2745/dds.28.300

[学会発表](計 36 件)

- 1) Takenoya F, Kageyama H, Shioda S et al., Neuropeptide W (NPW) infusion on feeding action by voluntary exercise, 17th Annual Congress of the ECSS, 2012 年 7 月 4-7 日, Bruges
- 2) Takenoya F, Kageyama H, Shioda S et al., HYPOPHAGIA INDUCED BY NEUROPEPTIDE W (NPW) IS MEDIATED THROUGH STRESS RESPONSE, *Neuroscience 2012*, 2012 年 10 月 13-17 日, New Orleans
- 3) 竹ノ谷文子, 影山晴秋, 塩田清二, 他、ニューロペプチド W (NPW) の CRH を介した摂食抑制作用について、第 27 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会、2013 年 02 月 22-23 日、東京
- 4) 平子哲史, 影山晴秋, 竹ノ谷文子, 塩田清二 他、ガラン様ペプチド(GALP)投与が脂質代謝へ与える影響、第 27 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会、2013 年 2 月 22-23 日、東京
- 5) 竹ノ谷文子, 影山晴秋, 塩田清二 他、ニューロペプチド W(NPW)は CRH ニューロンを介して摂食抑制をする、118 回日本解

- 剖学会、2013年3月28日~30日、香川
- 6) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田 清二 他、肝臓脂質代謝に及ぼすガラニン様ペプチド(GALP)の影響、118回日本解剖学会、2013年3月28-30日、香川
 - 7) 塩田清二、竹ノ谷文子、ガラニン様ペプチド(GALP)点鼻投与による肥満克服の新戦略、日本薬学会第133年会、2013年3月27-30日、神奈川
 - 8) 竹ノ谷文子、平子哲史、影山晴秋、塩田清二他、ニューロペプチド W(NPW)は CRH ニューロンを介して摂食抑制をする、第10回GPCR研究会、2013年5月10-11日、東京
 - 9) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田 清二 他、ガラニン様ペプチド(GALP)の肝臓脂質代謝改善作用、第GPCR研究会、2013年5月10-11日、東京
 - 10) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二 他、ガラニン様ペプチド(GALP)による肝臓脂質代謝改善作用。第67回日本栄養・食糧学会大会、2013年5月24-26日、名古屋
 - 11) Takenoya F., Kageyama H., Shioda S et al., Neuropeptide W (NPW) modulated of food intake by stress response and voluntary exercise in mouse, 18th Annual Congress of the ECSS, 2013年6月26-29日, Spain
 - 12) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二 他、ガラニン様ペプチド(GALP)による脂質代謝改善メカニズムの解明。第45回日本動脈硬化学会総会・学術集会、2013年7月18-19日、東京
 - 13) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二 他、ガラニン様ペプチド(GALP)による交感神経を介した肝臓脂質代謝調節作用。第18回アディポサイエンスシンポジウム、2013年8月24日、大阪
 - 14) Ota E, Takenoya F., Kageyama H., Shioda S et al., Analysis of corticotropin-releasing hormone regulation of neuropeptide W in hypothalamic paraventricular nucleus, 36th Naito Conference Molecular Aspects and Feeding Behavior, 2013年9月10-13日, Sapporo, Japan
 - 15) 竹ノ谷文子、平子哲史、影山晴秋、塩田清二 他、ニューロペプチド W(NPW)の CRH ニューロンを介した抗肥満作用の機能的形態的研究、第10回日本神経内分泌学会、2013年10月25-26日、宮崎
 - 16) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二 他、ガラニン様ペプチド(GALP)投与による肥満症軽減メカニズムの解明、第34回日本肥満学会、2013年10月11-12日、東京
 - 17) 太田英二、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二 他、NPWによるCRHニューロンを介した摂食抑制の作用機、第34回日本肥満学会、2013年10月11-12日、東京
 - 18) Wada, N., Kageyama H., Takenoya F., Shioda S. et al., Neural input to GALP-containing neurons by use of a genetically encoded tracer in mice. Galanin SFN pre-meeting 2013, 2013年11月7-8日, San Diedo, CA
 - 19) Hirako, S., Kageyama H., Takenoya F., Shioda S et al., Galanin-like peptide (GALP): a key player in the regulation of feeding and energy metabolism. Galanin SFN pre-meeting 2013, 2013年11月7-8日, San Diedo, CA
 - 20) Takenoya F., Kageyama H., Shioda S et al., Neuropeptide W- (NPW) induced hypophagia is mediated via a CRH neurons, 43st Annual meeting Society for Neuroscience, 2013年11月9-11日, San Diedo, CA
 - 21) Hirako, S., Kageyama H., Takenoya F., Ota E, Wada N, Shioda S: Galanin-like peptide (GALP) ameliorates hepatic lipid metabolism via the sympathetic nervous system. 43st Annual meeting Society for Neuroscience, 2013年11月9-11日, San Diedo, CA
 - 22) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二 他、摂食調節ペプチド GALP による抗肥満・脂質代謝改善メカニズムの解明、日本解剖学会第101回関東支部学術集会、2013年11月30日、東京
 - 23) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二 他、ガラニン様ペプチド(GALP)投与による抗肥満作用とその機序、第28回日本糖尿病・肥満動物学会、2014年2月14-15日、宮崎
 - 24) 竹ノ谷文子、平子哲史、影山晴秋、塩田清二 他、神経ペプチド W による室傍核 CRH ニューロンを介した摂食抑制機構について、第119回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014年3月27-29日、栃木

- 25) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二 他、ガラニン様ペプチド(GALP)による肥満症軽減作用及びその作用機序の解明、第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014 年 3 月 27-29 日、栃木
- 26) 和田亘弘、竹ノ谷文子、平子哲史、影山晴秋、塩田清二、マウス自発運動は神経ペプチド W の摂食抑制作用を消失させる、第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014 年 3 月 27-29 日、栃木
- 27) Hirako, S., Kageyama, H., Takenoya, F., Shioda, S. et al., Galanin-like peptide (GALP) have anti-obesity effect via the activation of hepatic lipid metabolism, The 2014 obesity summit, 2014 年 4 月 1-3, London, UK
- 28) 和田亘弘、竹ノ谷文子、影山晴秋、塩田清二 他、神経ペプチド W の摂食抑制作用はマウス自発運動により消失する、第 68 回日本栄養・食糧学会大、2014 年 5 月 30 日-6 月 1 日、札幌
- 29) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二 他：ガラニン様ペプチド(GALP)によるメタボリックシンドロームの予防・治療法の研究、第 68 回日本栄養・食糧学会大、2014 年 5 月 30 日-6 月 1 日、札幌
- 30) Takenoya, F., Kageyama, H., Shioda, S. et al., INTERACTIVE EFFECT GALANIN-LIKE PEPTIDE(GALP) AND SPONTANEOUS EXERCISE ON ENERGY METABOLISM, 19th Annual Congress of the European College of Sport Science, 2014 年 7 月 2-5 日 Amsterdam
- 31) 平子哲史、影山晴秋、竹ノ谷文子、塩田清二 他、ガラニン様ペプチド(GALP)による肥満症・脂質異常症の予防効果及びその機序、第 46 回日本動脈硬化学会総会・学術集、2014 年 7 月 10-11 日、東京
- 32) Takenoya, F., Kageyama, H., Shioda, S. et al., 20th International Symposium on Regulatory Peptides, 2014 年 9 月 7-9 日、Kyoto, Japan
- 33) Hirako, S., Kageyama, H., Takaenoya, F., Shioda, S. et al., Energy metabolism regulation by intracerebroventricular and intranasal administration of GALP. 20th International Symposium on Regulatory Peptides, 2014 年 9 月 7-9 日、Kyoto, Japan
- 34) Hirako, S., Kageyama, H., Takaenoya, F., Shioda, S. et al., Effect of GALP on lipid metabolism and body weight regulation.

Obesity week 2014, 2014 年 11 月 2-7 日, Boston, MA

- 35) Takenoya, F., Kageyama, H., Shioda, S. et al., Galanin-like peptide (GALP) facilitates thermogenesis via synthesis of prostaglandin e2 by astrocytes, 44st Annual meeting Society for Neuroscience, 2014 年 11 月 15-19 日, Washington, DC
- 36) Hirako, S., Kageyama, H., Takenoya, F., Shioda, S. et al., Galanin-like peptide (GALP) have the anti-obesity effect and control of energy metabolism via the sympathetic nervous system. 44st Annual meeting Society for Neuroscience, 2014 年 11 月 15-19 日, Washington, DC

〔図書〕(計 3 件)

Takenoya, F. et al., Handbook of Biologically Active Peptides (Second Edition), Chapter 136 - Neuropeptide B/W, 2013, 515

Takenoya, F. et al., Handbook of Biologically Active Peptides (Second Edition), Chapter 115- Neuropeptide B/W, 2013 515

竹ノ谷文子、塩田清二 他、スポーツアナトミー、丸善、2014、2002

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹ノ谷 文子 (TAKENOYA, Fumiko)

星薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：30234412

(2) 研究分担者

塩田 清二 (SHIODA, Seiji)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：80102375

影山 晴秋 (KAGEYAMA, Haruaki)

桐生大学・医療保健学部・准教授

研究者番号：00433839

鈴木 勉 (SUZUKI, Tsutomu)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：90130757