



Acute intracerebroventricular administration of either carboxyl-terminal or amino-terminal fragments of agoutirelated peptide produces a long-term decrease in energy expenditure in...

後藤, 恭子

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2003-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2882

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002882>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 1 3 2 】

氏 名 ・(本 籍) 後藤 恭子 (広島県)

博士の専攻分野の名称 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博い第1527号

学位授与の 要 件 学位規則第4条第1項該当

学位授与の 日 付 平成15年3月31日

【 学位論文題目 】

Acute intracerebroventricular administration of either
carboxyl-terminal or amino-terminal fragments of
agouti-related peptide produces a long-term decrease
in energy expenditure in rats.

(ラットにおけるアグーチ関連ペプチドのN及びC
末端フラグメントの脳室内投与によるエネルギー代謝の低下)

審 査 委 員

主 査 教 授 春日 雅人

教 授 千原 和夫

教 授 久野 高義

〔 緒 言 〕

アグーチ関連ペプチド agouti-related peptide (AgRP) は強力な摂食促進作用をもつ視床下部神経ペプチドである。AgRP はメラノコルチン受容体 (メラノコルチン 3 及び 4 受容体) の内因性アンタゴニストであり、メラノコルチン受容体を介して摂食促進、体重増加作用を及ぼすと言われている。AgRP とメラノコルチン受容体との作用部位は C 末端部分に存在しており、N 末端はメラノコルチン受容体には結合しないことが判明している。

今回我々は、メラノコルチン受容体との結合部位を含む AgRP の C 末端フラグメント AgRP (83-132) と、結合部位を含まない 2 種類の N 末フラグメント AgRP (25-51)、AgRP (54-82)、及び対照として生理食塩水をラットの脳室内に単回投与し、AgRP の摂食及びエネルギー代謝に及ぼす影響を検討した。

〔 方 法 〕

動物: 生後 8 週齢の雄の Sprague-Dawley ラット (Japan CLEA、東京) を用いた。ラットは室温 22±2 度、12 時間毎の明暗サイクルのもとに、標準食 (100 グラム当たり 2,352 キロカロリー; JapanCLEA) で飼育された。

側脳室内投与: 実験の 5 日前に、麻酔下にラットの頭蓋骨に外径 1.09 ミリメートルのステンレススチールのカニューレを固定した (正中から 1.4 ミリメートル外側、冠状線より 6.5 ミリメートル前方、頭蓋骨表面から 4.5 ミリメートルの位置に固定した)。各ペプチドは注入の直前に生理食塩水 10 マイクロリットルに溶解し、対照の生理食塩水とともに側脳室内に投与した。ヒト AgRP (83-132)、AgRP (25-51)、AgRP (54-82) は Phoenix Pharmaceutical (Belmont, CA) より、ブタ NPY は Peninsula Laboratories (San Carlos, CA) より入手した。側脳室内投与は明期 (午前 10 時) に行った。

摂食量・体重変化: 体重と摂食量は側脳室内投与前及び投与 5、24 時間後に測定した。

脂肪重量: 脳室内投与 24 時間後に、精巣周囲脂肪組織と腸間膜脂肪組織の重量を測定した。

酸素消費量: 酸素消費量はラット用の酸素・二酸化炭素代謝測定装置 (室町機械株式会社、京都) を用いて、室温 22 度で、明期に餌・水なしの条件で測定した。サンプルは 5 分ごとに測定され、投与前 2 時間と、投与 30 分後から 3 時間の平均値を計算した。

直腸温: 脳室内投与の 2 時間前に、腹腔より 1.2 グラム/キログラムのウレタン麻酔を行った。麻酔下にラット用の直腸温度計を肛門より 6 センチメートル挿入した。測定は脳室内投与前 30 分及び、投与後 030 分、1、1.5、2、3、4、5、24 時間に行った。

経口ブドウ糖負荷テスト: 脳室内投与後 24 時間ラットを絶食とした後、意識下に口腔より胃にステンレスカテーテルを挿入し、d-グルコースを一定量 (5 グラム/キログラム体重) 経口投与した。糖負荷前と負荷後 30、60、120 分に、エーテル麻酔下に、腹部大静脈から 26 ゲージのシリンジで採血し、血糖と血中インスリン濃度を測定した。血糖はグルコースオキシダーゼ法 (和光、大阪)、血中インスリン濃度は ラットインスリン酵素免疫法キット (和光、大阪) にて測定した。

〔 結 果 〕

摂食量: AgRP の C 末端フラグメント投与群では、各濃度 (0.125、0.25、0.5、1、2 nmol/ラット) において、投与直後から著しい摂食量の増加を認め、作用は投与後 24 時間以上継続した。また、その摂食増加作用は容量依存性であった。N 末端フラグメント投与群では、対照群と比較して、有意な摂食への影響は認めなかった。

体重変化: AgRP の C 末端フラグメント投与群では、各濃度 (0.125、0.25、0.5、1、2 nmol/ラット) において、投与 5 時間後には有意な体重増加を認め、その作用は投与後 24 時間以上持続した。また、その体重増加作用は容量依存性であった。N 末端フラグメント投与群では、投与 5 時間後には有意な体重変化を認めなかったが、投与 24 時間後には対照群と比較して有意な体重増加を認めた。

脂肪重量: AgRP の C 末端フラグメント投与群 (2 nmol /ラット) 及び、N 末端フラグメント投与群 (2 nmol /ラット) とともに、対照群と比較して投与 24 時間後に有意な脂肪重量の増加を認めた。

酸素消費量・直腸温: AgRP の C 末端フラグメント投与群 (2 nmol /ラット) 及び N 末端フラグメント投与群 (2 nmol /ラット) とともに、対照群と比較して、投与後有意な酸素消費量の減少と直腸温の低下を認めた。その作用は、C 末フラグメント投与群の方が、N 末フラグメント投与群と比較して強力であった。

経口ブドウ糖負荷テスト: AgRP の C 末端フラグメント (2 nmol /ラット)

の側脳室内投与は血糖、血中インスリン濃度に有意な変化を認めなかった。

〔 考 察 〕

今回の実験で、AgRP の C 末端フラグメントには強力な、長時間にわたる摂食促進、体重増加作用があることが改めて確認された。また、AgRP の C 末端フラグメントは、長時間に及ぶ直腸温低下作用及び、酸素消費量減少作用を示し、エネルギー代謝に強力な影響を認めた。従って、AgRP は摂食促進作用以外に、エネルギー代謝抑制作用を持つことが示唆された。この結果は、AgRP が著しい脂肪重量の増加作用を示したこと、また、AgRP がラットにおいて褐色細胞腫の uncoupling protein-1(UCP-1)を抑制し、血中 TSH 濃度を低下させたという報告と合致する。

AgRP はメラノコルチン受容体の競合的アンタゴニストであり、 α -メラノサイト刺激ホルモン (α -MSH) などのメラノコルチン受容体のアゴニストの作用を阻害することが報告されている。AgRP の C 末端フラグメントはメラノコルチン 3 及び 4 受容体のアンタゴニストであり、AgRP と同程度のアンタゴニスト作用を示すことが報告されている。しかし、今回の実験では、メラノコルチン受容体と結合しない AgRP の N 末端フラグメントがエネルギー代謝抑制作用を示し、体重及び脂肪重量増加作用を持つことが示された。これらの結果から、AgRP は α -MSH との拮抗的作用以外の機序で、摂食・エネルギー代謝調節に関わることが推測された。

AgRP の摂食促進作用は、メラノコルチン 4 受容体のアゴニストである MT-II で阻害されることが報告されている。しかし、MT-II を AgRP 投与 24 時間後に注入しても、AgRP の摂食促進作用は影響されない。また、AgRP の早期の摂食促進作用にはオピオイド受容体が関与し、長期の作用においては視床下部外側野のオレキシンニューロンが関与しているとの報告がある。しかし、AgRP の長期の摂食促進作用が生じる機序や、AgRP 分子のどの部位が摂食調節や神経内分泌に関わっているのかは不明である。

AgRP 投与後 24 時間に経口ブドウ糖負荷を行っても、インスリン分泌の増加や高インスリン血症は生じない。これは、メラノコルチン 3 及び 4 受容体のアンタゴニストである HS014 を用いて行われた、AgRP は脂肪増加に伴うインスリン分泌には影響しないという実験報告と一致する。

〔 結 論 〕

今回の実験で、AgRP の C 及び N 末端フラグメントがエネルギー代謝抑制作用を持つことが示唆された。その作用の少なくとも一部はメラノコルチン受容体を介さない機序で生じると推測される。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第 / 528 号	氏 名	後藤 恭子
論文題目	Acute intracerebroventricular administration of either carboxyl-terminal or amino-terminal fragments of agouti-related peptide produces a long-term decrease in energy expenditure in rats ラットにおけるアグーチ関連ペプチドの N 及び C 末端フラグメントの脳室内投与によるエネルギー代謝の低下		
審査委員	主 査 春日 雅人 副 査 千原和夫 副 査 久野高義		
審査終了日	平成 15 年 4 月 24 日		

(要旨は 1,000 字～2,000 字程度)

近年、我が国では、生活習慣の欧米化に伴い肥満が急増し、4人に1人が body mass index (BMI) 25以上の肥満を呈するに至った。肥満症は糖尿病、高血圧、高脂血症などの合併症を招来し、その成因解明と予防、治療法の確立は重要な課題になっている。

肥満の成因としては、食欲調節異常とエネルギー代謝異常の二つが重要視されている。視床下部で産生される神経ペプチドには、神経ペプチド Y (NPY) など摂食促進、エネルギー代謝抑制作用をもつものと、メラノコルチン (α -MSH) など摂食抑制、エネルギー代謝亢進作用をもつものとが存在する。これらはレプチンの下流に位置し、複雑なネットワークを形成し、個体の摂食行動とエネルギー代謝調節を行っている。

本研究では、新しい視床下部神経ペプチドの一つである Agouti-related peptide (AgRP) の作用について検討した。AgRP は 132 アミノ酸からなる蛋白で、メラノコルチン受容体 (MC3-R、MC4-R) の内因性のアンタゴニストであり、強力な摂食促進作用を示すことが知られている。AgRP のメラノコルチン受容体との結合部位は、C末端に存在し、 α -MSH の作用に拮抗すると考えられている。

AgRP の C 末端フラグメント：AgRP (83-132) と二種類の N 末端フラグメント：AgRP (25-51)、AgRP (54-82) をそれぞれラット脳室内に単回投与 (0.125-2nmol/rat) して、摂食、体重、脂肪重量に及ぼす影響を検討した。AgRP (83-132) 投与群では摂食促進作用を認め、体重・脂肪重量ともに有意の増加を認めた。一方、AgRP (25-51)、AgRP (54-82) 投与群では両者とも、摂食には影響を及ぼさなかったが、体重・脂肪重量の増加作用を認めた。このことより、AgRP の N 末端フラグメントがエネルギー代謝抑制作用を持つ可能性を考え、体温と酸素消費量を指標にして、AgRP のエネルギー代謝に及ぼす影響を検討した。その結果、AgRP (83-132)、AgRP (25-51)、AgRP (54-82) いずれの投与群においても、体温の低下、酸素消費量の減少を認め、その作用は AgRP (83-132) 投与群においてより強く認められた。なお、AgRP のいずれのフラグメントも、ブドウ糖経口負荷によるインスリン分泌反応には有意の影響を与えなかった。

以上より、AgRP の C 末端フラグメントは摂食促進作用だけでなく、エネルギー代謝抑制作用を持つこと、また、AgRP の N 末端フラグメントはエネルギー代謝抑制作用を持つことによって、体重・脂肪重量増加作用を示すことが明らかとなった。AgRP の C 末端フラグメントの作用はメラノコルチン受容体を介すると考えられるが、N 末端フラグメントは著者の検討からも、MC3-R、MC4-R との結合がみとめられないため、新たな作用機構の存在が示唆される。

本研究は、AgRP の N 末端フラグメントがエネルギー代謝抑制作用を持

ち、この作用がメラノコルチン受容体以外の機序にもとづくことを最初に示した研究である。現在この新しい受容体のクローニングを試みており、本研究は今後の肥満治療薬の開発につながる価値ある研究であると考えられる。よって、本研究者は博士（医学）の学位を取る資格があると認める。