Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Cholecystokinin octapeptide analogues suppress food intake via central CCK-A receptors in mice

廣末，好昭

(Degree)
博士（医学）

(Date of Degree)
1996-03-07

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
乙1999

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2001999

※ 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。

氏名・(本籍)　廣末好昭　(大阪府)

博士の専攻分野の名称　博士(医学)

学位記番号　博ろ第1499号

学位授与の要件　学位規則第4条第2項該当

学位授与の日付　平成8年3月7日

学位論文題目　Cholecystokinin octapeptide analogues suppress food intake via central CCK-A receptors in mice
(Cholecystokinin octapeptideの中枢性摂食抑制作用に関する研究－特にマウス脳室内投与による構造活性相関－)

審査委員　主査　教授　春日雅人
教授　岡田安弘　教授　千原和夫

論文内容の要旨

緒言

Cholecystokinin(CCK)は，膵外分泌促進，胆嚢収縮，胃排泄抑制作用を有する消化管ホルモンであるが，大脳皮質，基底核，尾状核，視床下部などの中枢組織に存在し，その受容体も中枢神経系に存在するBrain-Gut Peptideである。CCK-8の末梢投与によりRatの摂食抑制作用が報告されて以来，ヒトを含む多くの種において摂食抑制作用が報告され，また中枢作用として鎮静，摂食抑制作用，自発運動抑制作用が報告されている。それらの作用は，腸管内に分泌されたCCKが，迷走神経を介し，延髄孤束核，最後野，視床下部を経て作用するとされているが，脳内に広く分布するCCK，CCK-受容体との関連については，なお明らかでない。CCK-受容体は，その薬理学的特性から主として末梢に存在するCCK-A(Alimentary)受容体と，脳内に存在するCCK-B(Brain)受容体と，2種類のサブタイプに分類されている。近年それらの受容体に特異的な拮抗剤が開発され，種々の中枢作用に関与する受容体サブタイプが決定されつつある。しかしながら摂食抑制作用については，CCK-A受容体，CCK-B受容体の関与がそれぞれ示唆されているものの，未だ明らかでない。今回，CCK-A及びCCK-B受容体拮抗剤を用いてCCKの末梢あるいは中枢投与における摂食抑制作用に関与するCCK受容体について検討し，また各種CCK-8アナログを用いた構造活性相関についても検討を加えた。

実験材料と方法

7週令雄性ddYマウスを用い，少なくとも1週間，一定温度，湿度の環境に順応させ，餌食と水分は自由に与えた。脳室内投与マウスは第Ⅲ脳室にカニューラ（24ゲージ）を留置し術後1週間目以降に実験を行なった。

約16時間の絶食後，午前10時より12時までにCCK-8およびそのアナログを無麻酔下に腹腔内または脳室内に投与し，その直後より4時間にわたり摂食量を測定した。用いたペプチドはCCK-8，desulfated CCK-8，CCK-4，Suc-CCK-7，($Nle^{28,31}$)-CCK-8，Suc-(Thr^{28}, Leu^{29}, $MePhe^{33}$)-CCK-7である。腹腔内には生理食塩水に溶解し（10μℓ／g），脳室内には人工脳髄液に溶解し

(4μℓ／brain) 投与した。CCK-A受容体拮抗剤 (MK 329) とCCK-B受容体拮抗剤 (L-365,260) は0.5%carboxymethylcelluloseに溶解 (10μℓ／g) し，ペプチド投与30分前に皮下投与した。

血中CCK濃度の測定は，絶食下CCK-8投与20分後麻酔下に心腔より採血し，RIA法にて測定した。

統計学的検定には，摂食量は各時間についてANOVAで解析後Duncanの多重検定を用い，血中濃度はStudent's t testを用いた。

結　果

1) CCK-8及びそのアナログの摂食抑制作用

CCK-8は腹腔内投与で1-100nmol／kg (20分)，10-100nmol／kg (1時間)，10nmol／kg (2時間) の投与で有意に摂食を抑制した。脳室内投与では0.03-10nmol／brain (20分)，0.3-10nmol／brain (1時間)，10nmol／brain (2時間，4時間) の投与で抑制作用を示した。CCK-8の効果は腹腔内投与でも脳室内投与でもほぼ同様であった。desulfated CCK-8とCCK-4は，腹腔内投与で1,000 nmol／kgまた脳室内投与で10nmol／brainの高用量でも摂食を抑制しなかった。Suc- (Thr^{28}, Leu^{29}, MePhe^{33}) -CCK-7は腹腔内投与ではCCK-8とほぼ同等の効力であったが，脳室内投与では0.001nmol／brainの低用量でも明らかに摂食を抑制した。Suc-CCK-7は，腹腔内投与でも脳室内投与でも，CCK-8よりやや強い摂食抑制作用を示した。(Nle^{28,31}) -CCK-8はCCK-8とほぼ同程度の効力を示した。アナログの摂食抑制作用の強さは，腹腔内投与では，Suc-CCK-7 ≧ Suc- (Thr^{28}, Leu^{29}, MePhe^{33}) -CCK-7 ≧ CCK-8 ≧ (Nle^{28,31}) -CCK-8 ≫ desulfated CCK-8 = CCK-4= 0，脳室内投与では Suc- (Thr^{28}, Leu^{29}, MePhe^{33}) -CCK-7 ≫ Suc-CCK-7 ≧ CCK-8 ≧ (Nle^{28,31}) -CCK-8 ≫ desulfated CCK-8 = CCK-4=0であった。

2) 非絶食下マウスでのCCK拮抗剤の作用

MK 329は有意に摂食促進作用を示した。すなわち10-1,000μg／kgの投与で有意に摂食量の増加を認めた (4時間)。しかしながら，L-365,260においては1-1,000μg／kgの投与では摂食促進作用を示さなかった。

3) CCK-8, Suc- (Thr^{28}, Leu^{29}, MePhe^{33}) -CCK-7の摂食抑制作用に対するCCK拮抗剤の作用

10 nmol／kgの腹腔内投与によるCCK-8の摂食抑制作用も，0.3nmol／brainの脳室内投与によるCCK-8の作用も，100-1,000 μg／kgのMK 329の前投与により対照群より摂食量は増加し，CCK-8の抑制作用が解除された。一方，L-365,260の前投与ではその抑制作用は解除されなかった。

Suc- (Thr^{28}, Leu^{29}, MePhe^{33}) -CCK-7の摂食抑制作用も，その腹腔内及び脳室内投与ともにMK 329の前投与により解除されたがL-365,260は効果を示さなかった。

4) 血中CCK濃度

摂食抑制作用を示す最低濃度の10倍に相当する0.3nmol／brainのCCK-8を脳室内投与し，末梢血中のCCK濃度を測定したが，その上昇は認めなかった。

考　察

マウスにおいて，CCK-8およびそのアナログの脳室内投与で摂食抑制作用を認め，CCK受容体拮抗剤を用いた成績からはCCK-A受容体の関与が示唆された。またこの作用は，末梢血中CCK濃度の

上昇を伴わなかったことよりCCKは脳内CCK-A受容体を介し，摂食抑制作用を発現したものと考えられた。以前，この無麻酔下，非拘束下の脳室内投与モデルを用いて，極めて少量(3 pmol／brain)のCCK-8投与で自発運動量低下作用の発現とCCK-A受容体の関与を明らかにした。この実験モデルは，中枢神経系の行動薬理実験に極めて有用と思われる。

Suc-CCK-7とSuc-(Thr^{28}, Leu^{29}, MePhe^{33})-CCK-7の摂食抑制作用は，腹腔内投与ではほぼ同程度であったが，脳室内投与ではSuc-(Thr^{28}, Leu^{29}, MePhe^{33})-CCK-7は100倍以上強力な作用を示した。この解離は，脳内の蛋白分解酵素による両アナログの代謝の相違にもとずく可能性も存在するが，延髄孤束核や最後野などに存在する脳内のCCK-A受容体と，腸管に存在するCCK-A受容体の相違によるものかもしれない。JMV-170,JMV-180など，膵外分泌促進作用は認めるが摂食抑制作用を認めないアゴニストも報告されており，CCK-A受容体のheterogenityが示唆される。

摂食行動調節に関与するCCK受容体の解明とその創薬に関する研究が，摂食障害，肥満，糖尿病などの病因解明や新たな治療手段として寄与することが期待される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Cholecystokinin(CCK)は，膵外分泌促進，胆嚢収縮，胃排泄抑制作用を有する消化管ホルモンであるが，大脳皮質，基底核，尾状核，視床下部などの中枢組織に存在し，その受容体も中枢神経系に存在するBrain-Gut Peptideである。CCK-8の末梢投与によりRatの摂食抑制作用が報告されて以来，ヒトを含む多くの種において摂食抑制作用が報告され，また中枢作用として鎮静，摂食抑制作用，自発運動抑制作用が報告されている。それらの作用は，腸管内に分泌されたCCKが，迷走神経を介し，延髄孤束核，最後野，視床下部などを経て作用するとされているが，脳内に広く分布するCCK，CCK-受容体との関連については，なお明らかでない。CCK-受容体は，その薬理学的特性から主として末梢に存在するCCK-A(Alimentary)受容体と，脳内に存在するCCK-B(Brain)受容体と，2種類のサブタイプに分類されている。近年それらの受容体に特異的な拮抗剤が開発され，種々の中枢作用に関与する受容体サブタイプが決定されつつある。本研究は，CCKの末梢あるいは中枢投与における摂食抑制作用に関与するCCK受容体について，CCK-A及びCCK-B受容体拮抗剤を用いて検討し，また各種CCK-8アナログを用いた構造活性相関についても検討を加えた。

CCK-8は腹腔内投与で1nmol／kgの容量で有意に摂食を抑制した。脳室内投与では30pmol／brainで抑制作用を示した。CCK-8の効果は，腹腔内投与でも脳室内投与でもほぼ同等であった。CCK-B受容体アゴニストのdesulfated CCK-8とCCK-4は，腹腔内投与でも，脳室内投与でも摂食を抑制しなかった。Suc-（Thr^{28}, Leu^{29}, MePhe^{33}）-CCK-7は，腹腔内投与ではCCK-8とほぼ同程度であったが，脳室内投与では1pmol／brainの低用量でも明らかに摂食を抑制した。Suc-CCK-7及び(Nle^{28,31}）-CCK-8は，腹腔内投与でも脳室内投与でもほぼ同程度の効力を示した。

CCK-8の摂食抑制作用は，腹腔内投与及び脳室内投与とも，CCK-A受容体拮抗剤MK 329の前投与により解除された。一方，CCK-B受容体拮抗剤L-365,260の前投与ではその抑制作用は解除されなかった。

摂食抑制作用を示す最低濃度の10倍に相当する，300pmol／brainのCCK-8を脳室内投与し，末梢血管中のCCK濃度を測定したが，その上昇は認めなかった。

マウスにおいて，CCK-8及びそのアナログの脳室内投与で摂食抑制作用を認め，CCK受容体拮抗剤を用いた成績からは，CCK-A受容体の関与が示唆された。またこの作用は，末梢血中CCK濃度の

上昇を伴わなかったことより，CCKは脳内CCK-A受容体を介し，摂食抑制作用を発現したものと考えられた。以前，この無麻酔下，非拘束下の脳室内投与モデルを用いて，極めて少量(3 pmol／brain)のCCK-8投与で自発運動量低下作用の発現とCCK-A受容体の関与を明らかにした。この実験モデルは，中枢神経系の行動薬理実験に極めて有用と思われる。Suc-CCK-7とSuc-(Thr^{28}, Leu^{29}, MePhe^{33})-CCK-7の摂食抑制作用は，腹腔内投与ではほぼ同程度であったが，脳室内投与ではSuc-(Thr^{28}, Leu^{29}, MePhe^{33})-CCK-7は100倍以上強力な作用を示した。この解離は，延髄孤束核や最後野などに存在する脳内のCCK-A受容体と，腸管に存在するCCK-A受容体のheterogeneityを示唆しうるものと思われた。

本研究は，CCKの摂食抑制作用について，脳内CCK受容体の関与を検討したものである。従来ほとんど行われなかったマウス脳室内カニュレーションモデルを用い，意識下，無拘束下での薬物投与により，脳内CCK-A受容体の関与について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって，本研究者は，博士（医学）の学位を得る資格があると認める。