



Chronic effects of AJ-9677 on energy expenditure and energysource utilization in rats

杉本, 忠則

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2005-11-09

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙2843

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002843>

※ 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 5 9 】

氏 名・（本 籍）	杉本 忠則	（ 富山県 ）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）	
学 位 記 番 号	博ろ第1958号	
学位授与の 要 件	学位規則第 5 条第 1 項該当	
学位授与の 日 付	平成17年11月9日	

【 学位論文題目 】

Chronic effects of AJ-9677 on energy expenditure and energy
source utilization in rats
(ラットにおけるエネルギー消費量と利用されるエネルギー源に対する
AJ-9677 の慢性的効果)

審 査 委 員

主 査	教 授	千原 和夫
	教 授	中村 俊一
	教 授	横野 浩一

β_3 アドレナリン受容体は脂肪細胞に多く存在する。脂肪細胞には、白色脂肪細胞と褐色脂肪細胞の二つの種類があり、白色脂肪細胞は脂肪蓄積に、褐色脂肪細胞は脂肪燃焼に関与している。 β_3 アドレナリン受容体刺激により、白色脂肪細胞で脂肪分解が活性化され、これに伴い褐色細胞で熱産生が起きる。このため、 β_3 アドレナリン受容体作動薬は肥満や肥満に関連した疾病への治療薬としての可能性が期待されている。ところで、薬物はその急性投与と慢性投与とでは作用が必ずしも一致しないことが知られている。しかし、 β_3 アドレナリン受容体作動薬における急性投与と慢性投与による違いについては明確にはされていない。そこで、今回、ラットに β_3 アドレナリン受容体作動薬を慢性投与した後に起きる変化を調べた。

AJ-9677 は β_3 アドレナリン受容体作動薬として開発された化合物であり、ヒトの β_3 アドレナリン受容体に対し選択的にかつ強力に作用することが知られている。ラット β_3 アドレナリン受容体を過剰発現させた Chinese hamster ovary 細胞において、AJ-9677 (10^{-12} - 10^{-8} M) は濃度依存的に細胞内 cAMP 量を増加させた。 β_3 アドレナリン受容体拮抗薬 SR59230A (10^{-8} - 10^{-6} M) はこの濃度反応曲線を右にシフトさせ、濃度依存的に最大反応を低下させた。一方、 β_1 アドレナリン受容体拮抗薬 atenolol (10^{-6} M) はこの濃度反応曲線に対し影響を及ぼさなかった。この結果は、AJ-9677 はラットにおいても選択的な β_3 アドレナリン受容体完全作動薬であることを示す。そこで、 β_3 アドレナリン受容体を慢性的に活性化することによるエネルギー代謝への影響を調べるために、ラットに AJ-9677 を慢性的に投与し vehicle の慢性投与を対照群として比較検討した。ラットに AJ-9677 (1 mg/kg/day p.o.) を連日投与すると、投与初日の摂餌量は減少するが、2 日目からは回復し対照群に比べ摂餌量は増加した。摂水量は初日から増加した。6 日間の連日投与後の白色脂肪組織（副睾丸周囲、腎周囲、後腹膜周囲）の総量は対照群の 78% となり、有意に減少していた。特に、腎周囲と後腹膜周囲における白色脂肪組織の量が大きく低下していた。覚醒ラットの血漿中のパラメータにおいて、AJ-9677 (0.1 μ g/kg i.a.) の投与により、グルコース濃度の上昇、遊離脂肪酸濃度の上昇、インスリン濃度の上昇が認められた。AJ-9677 (0.1, 1 mg/kg/day p.o.) が慢性投与されたラットでは、これらの作用のうち、遊離脂肪酸濃度上昇とインスリン濃度上昇は減弱していた。脊髄穿刺ラットにおいて、AJ-9677 (0.1 μ g/kg i.v.) の投与により、肩甲骨間の褐色脂肪組織胞付近の温度は上昇する。この作用も AJ-9677 (0.1, 1 mg/kg/day p.o.) が慢性投与されたラットでは減弱していた。すなわち、AJ-9677 の作用は慢性投与により減弱していくことがわかった。

次に、覚醒ラットの呼気中の酸素濃度と二酸化炭素濃度を測定し、呼吸商

とエネルギー消費量を経時的に算出する実験系を作製し、AJ-9677 の薬効評価を行った。呼吸商は排出される二酸化炭素量と吸収される酸素量の比であり、グルコースが燃焼される場合は 1.0 であるが、脂質が燃焼される場合は 1.0 未満となる。このため、呼吸商を算出することにより燃焼されているエネルギー源を推測することができる。AJ-9677 (0.01, 0.1, 1 mg/kg) 経口投与後 7 時間の呼吸商とエネルギー消費量を算出し、対照群と比較した。対照群では、測定中、呼吸商は 0.91 から 0.94 の間を維持していた。AJ-9677 投与の場合、0.01 mg/kg 投与群では対照群に比べ違いは認められなかったが、0.1, 1 mg/kg 投与群では対照群に比べ呼吸商の低下が認められた。エネルギー消費量に対しては、0.01 mg/kg 投与群では影響が認められなかったが、0.1, 1 mg/kg 投与群では著しく増加した。この時、対照群と AJ-9677 (1 mg/kg p.o.) 投与群との間で自発運動量に違いが認められなかったことより、AJ-9677 投与により、蓄積された脂質が燃焼されエネルギー消費が高まっていると考えられる。更に、AJ-9677 (1 mg/kg p.o.) 投与 5 時間後における副睾丸周囲の白色脂肪細胞の組織解剖学的評価と脱共役蛋白質 1 の mRNA 量の測定を行った。組織解剖学的には AJ-9677 の影響は認められなかったが、遺伝子レベルでは、AJ-9677 (1 mg/kg p.o.) 投与群の脱共役蛋白質 1 の mRNA の量は対照群に比べ 120 倍となり有意に増加していた。

最後に、AJ-9677 (1 mg/kg/day p.o.) を 6 日間連日投与し、7 日目にチャレンジ投与として AJ-9677 (1 mg/kg) を経口投与した場合の投与後 15 時間の呼吸商とエネルギー消費量を算出した。対照群には、vehicle を 6 日間連日投与し、7 日目にチャレンジ投与として AJ-9677 (1 mg/kg) を経口投与した。AJ-9677 のチャレンジ投与による呼吸商の低下は両群で認められた。しかし、呼吸商の低下が対照群で 15 時間以上継続したことに対し、慢性投与群では投与 4 時間後より回復が始まり、10 時間後には投与前のレベルまで回復した。エネルギー消費量は、両群とも AJ-9677 のチャレンジ投与により増加し、この作用は 15 時間以上継続した。なお、慢性投与群におけるチャレンジ投与 1 時間後から 6 時間後までの各時点のエネルギー消費量は対照群のそれよりも高値であった。投与開始から 7 時間目までの曲線下面積を統計学的に比較した場合、有意な増加が認められた。この時、両群間で自発運動量に違いが認められなかったことより、両群の違いは運動量に起因するエネルギー消費量の違いではないことがわかる。更に、チャレンジ投与 5 時間後における副睾丸周囲の白色脂肪細胞の組織解剖学的評価と脱共役蛋白質 1 の mRNA 量の測定を行った。慢性投与群では対照群に比べ、白色脂肪細胞の大きさが小さくなっていた。慢性投与群の脂肪細胞のなかには褐色脂肪細胞で認められるように多数の脂肪滴をもつ多房性の細胞へと変化しているものも認められた。

一方、脱共役蛋白質 1 の mRNA 量については、両群間に差は認められなかった。

慢性投与群では、チャレンジ投与による血漿中の遊離脂肪酸濃度上昇、インスリン濃度上昇と肩甲骨間の褐色脂肪組織付近の温度上昇は減弱したが、エネルギー消費量増加は反対に増強した。この時、呼吸商の低下は対照群と同じであったが、対照群より早く回復が始まった。これは、単なる脱感作ではない。なぜなら、慢性投与群では呼吸商が回復していたにもかかわらず、エネルギー消費の増加は継続していたからである。それゆえ、両群の違いは燃焼されるエネルギー源の違いであると考えられる。すなわち、対照群では脂質が継続的にエネルギー源として使用されていたが、慢性投与群ではエネルギー源が途中より脂質からグルコースへと変化したと考えられる。

今回、 β_3 アドレナリン受容体作動薬 AJ-9677 の慢性投与、非慢性投与ラットにおいて AJ-9677 のチャレンジ投与による各作用を調べた。その結果、AJ-9677 の長期曝露により、AJ-9677 による熱産生のエネルギー源として脂質のみならず、グルコースも利用されていることが明らかとなった。

神戸大学大学院医学系研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	乙 第 1960 号	氏 名	杉本 忠則
論文題目 Title of Dissertation	Chronic effects of AJ-9677 on energy expenditure and energy source utilization in rats ラットにおけるエネルギー消費量と利用されるエネルギー源に対する AJ-9677 の慢性的効果		
審査委員 Examiner	主 査 千原和夫 Chief Examiner 副 査 中村俊一 Vice-examiner 副 査 横野浩一 Vice-examiner		
審査終了日	平成 17 年 11 月 4 日		

（要旨は 1, 0 0 0 字～2, 0 0 0 字程度）

脂肪細胞には $\beta 3$ アドレナリン受容体が発現し、その受容体の刺激は白色脂肪細胞では脂肪を分解し、褐色細胞では熱産生を促すことによってエネルギー消費を増大させる。飽食・肥満による幾多の合併症を未然に防ぐ目的で、多くの抗肥満薬が開発されつつあるが、 $\beta 3$ アドレナリン受容体アゴニストも抗肥満薬として有力な薬剤の一つである。申請者は、新しく開発された $\beta 3$ アドレナリン受容体アゴニストである AJ-9677 に注目し、臨床応用に向けて基礎研究を行った。まず、AJ-9677 の受容体特異性を調べる目的で、ラット $\beta 3$ アドレナリン受容体を過剰発現させた Chinese hamster ovary 細胞を用いて細胞内 cAMP 量を指標に AJ-9677 の受容体特異性を調べたところ、AJ-9677 の作用は $\beta 3$ アドレナリン受容体拮抗薬の SR59230A で阻害されたが、 $\beta 1$ アドレナリン受容体拮抗薬 atenolol では影響されず、AJ-9677 がラットにおいて選択的な $\beta 3$ アドレナリン受容体作動薬であることが明らかとなった。次に、エネルギー代謝への AJ-9677 の影響を調べるために、ラットに AJ-9677 を慢性的に投与したところ、投与初日の摂餌量は減少するが、2 日目からは回復し 6 日間の連日投与後の白色脂肪組織（副睾丸周囲、腎周囲、後腹膜周囲）の総量は対照群と比べ有意に減少していた。また、血漿グルコース濃度、遊離脂肪酸濃度、インスリン濃度はすべて上昇した。しかし、AJ-9677 を慢性投与されたラットでは、これらの作用のうち、遊離脂肪酸濃度上昇とインスリン濃度上昇は減弱しており、AJ-9677 の作用は慢性投与すると弱くなることが明らかとなった。次に、覚醒ラットの呼気中の酸素濃度と二酸化炭素濃度を測定し、呼吸商とエネルギー消費量を経時的に算出する実験系によってエネルギー消費を推測した。AJ-9677 投与後、呼吸商の低下とともにエネルギー消費量は著しく増加したが、対照群との間に自発運動量の違いがなかったことより、AJ-9677 投与により、蓄積された脂質が燃焼されエネルギー消費が高まったと考えられた。また、投与 5 時間後に副睾丸周囲の白色脂肪細胞における脱共役蛋白質 1 の mRNA の量は有意に増加していた。次に、AJ-9677 を 6 日間連日投与し、7 日目にチャレンジ投与として AJ-9677 を経口投与した場合の投与後 15 時間の呼吸商とエネルギー消費量を算出した。AJ-9677 のチャレンジ投与

による呼吸商の低下は両群で認められたが、呼吸商の低下が対照群で 15 時間以上継続したのに対し、慢性投与群では投与 4 時間後より回復が始まり、10 時間後には投与前のレベルまで回復した。エネルギー消費量は、両群とも AJ-9677 のチャレンジ投与により増加し、この作用は 15 時間以上継続した。また、慢性投与群におけるチャレンジ投与 1 時間後から 6 時間後までの各時点のエネルギー消費量は対照群のそれよりも高値であった。投与開始から 7 時間目までの曲線下面積を統計学的に比較した場合、有意な増加が認められた。この時、両群間で自発運動量に違いが認められなかったことより、両群の違いは運動量に起因するエネルギー消費量の違いではないと考えられた。副睾丸周囲の白色脂肪細胞の大きさは、慢性投与群では対照群に比べ小さくなり、慢性投与群の脂肪細胞のなかには褐色脂肪細胞で認められるような多数の脂肪滴をもつ多房性の細胞へと変化しているものも認められた。一方、脱共役蛋白質 1 の mRNA 量については、両群間に差は認められなかった。慢性投与群では、チャレンジ投与による血漿遊離脂肪酸濃度上昇、インスリン濃度上昇および肩甲骨間の褐色脂肪組織付近の温度上昇は減弱したが、エネルギー消費量増加は反対に増強した。この時、呼吸商の低下は対照群と同じであったが、対照群より早く回復が始まった。この両群の違いは燃焼されるエネルギー源の違いすなわち、対照群では脂質が継続的にエネルギー源として使用されていたが、慢性投与群ではエネルギー源が途中より脂質からグルコースへと変化したものと考えられる。従って、AJ-9677 の長期曝露は、脂質のみならず、グルコースもエネルギー源として利用して熱産生を促進することが明らかとなった。

以上、本研究は、新しく $\beta 3$ アドレナリン受容体作動薬として開発された AJ-9677 について、その作用の特異性や生物学的活性を in vitro およびラットを用いて研究したものであるが、従来知られていなかった AJ-9677 長期投与が、脂質のみならず、グルコースもエネルギー源として利用して熱産生を促進する事を見出し、 $\beta 3$ アドレナリン受容体作動薬の薬効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。