

# 学位論文内容要旨

氏名： 改正 知子

題目：「ニューロメジンU受容体をターゲットとした抗肥満薬開発における薬理学的研究」

要旨：

肥満は世界的に増加しており、様々な健康障害が問題となってきた。肥満は2型糖尿病、高脂血症、高血圧および冠動脈心疾患ならびに非アルコール性脂肪肝疾患などの主な危険因子であり、体重指数（BMI）の上昇によってこれらのリスクとともに死亡率も増加する。従って、これらの疾患予防としても肥満治療は有用である。近年、食欲抑制作用を有するいくつかの新しい抗肥満薬がアメリカ食品医薬品局より認可されたが、12ヶ月間の治療で10%未満の体重減少とその有効性は限られていることに加えて、安全性に対する懸念がある。現在日本で発売されている肥満症治療薬はマジンドールのみであり、保険診療においては厳しい制限がある。今日までに最も有効な重度肥満の治療法は肥満外科手術であるが、減量手術にはそれに伴うリスクがあり、肥満患者の全てが肥満外科手術の候補とされるわけではない。従って、肥満症治療薬にはアンメットニーズがあり、より有効性が高く、副作用の少ない新規薬剤を開発する必要がある。ペプチド医薬品は、強い薬効と低分子化合物と比較してターゲットに対する高い特異性が期待されることから、肥満症の治療薬として非常に有効であり、魅力的であると考えられている。また、腸管ホルモンペプチドは、有効性が高く安全であることが期待されるため、肥満症治療のための新規の薬物標的として注目されている。

ニューロメジンU(NMU)は、ブタの脊髄から単離された神経ペプチドであり、摂食抑制およびエネルギー代謝亢進による抗肥満作用を有する、すなわち1)NMU過剰発現マウスは摂食抑制および痩せのフェノタイプを示す、2)NMUノックアウトマウスは摂食亢進、体重増加および体脂肪蓄積を示す、3)ヒトにおけるNMU遺伝子突然変異は肥満を引き起こすことから、抗肥満薬の新規ターゲットとして注目されている。NMUとしては、同様の生理活性を有する3つのペプチド(ヒト・ブタ・イヌ：25アミノ酸からなるNMU-25、マウス・ラット：23アミノ酸からなるNMU-23、ブタ・イヌ：8アミノ酸からなるNMU-8)が同定されている。NMU-

8 はペプチダーゼ切断によって NMU-25 から産生されるが、このうち C 末端の 7 アミノ酸配列は脊椎動物で完全に保存されていることから、これらの 7 アミノ酸保存領域は進化上も機能的に重要であったと考えられている。また、NMU と C 末端 7 アミノ酸配列が共通であるニューロメジン S (NMS) も脳室内投与をすることによって NMU と同様に摂食抑制作用を示すことが報告されている。一方で NMU と NMS に対して高親和性を示す受容体として受容体 1 (NMUR1) と受容体 2 (NMUR2) が同定されており、NMUR1 は主に末梢組織に、NMUR2 は中枢組織に発現している。NMU の摂食抑制作用を介した抗肥満作用には、両方の受容体が寄与することが知られている。しかしながら、薬効および有害事象に関して、NMUR1/R2 非選択的作動薬、NMUR1 あるいは R2 選択的作動薬のうちどれが抗肥満薬の新薬開発を考える上で最適であるのかは不明であった。

そこで本研究では、まず (1) 新規抗肥満薬の研究開発に向けて最適な標的受容体を選定するための薬理学的研究を、次に (2) 標的受容体に対する新規ペプチド性作動薬の薬理学的研究を行い、抗肥満薬の開発候補化合物の創製を目指した。

#### (1) 新規抗肥満薬の開発に最適な標的受容体を選定するための薬理学的研究

保存領域である C 末端 7 アミノ酸を含む NMU-8 はヒトにおける存在は報告されてはいないが、いずれのヒト NMUR に対してもフルアゴニストとして働くことが知られている。そこで、NMUR1/R2 選択的作動薬の合成に際しては、NMU-8 のアミノ酸配列を基に網羅的アミノ酸置換を行った。加えて NMU の血中半減期の短さ (5 分以下) が治療薬を考える上で問題点であることから、血中での安定性を高めるためのペプチド修飾を行った。NMUR1 と NMUR2 をそれぞれ安定的に強制発現させたチャイニーズハムスター卵巣細胞株を用いた [<sup>125</sup>I]-NMU-8 に対する結合阻害活性および細胞内カルシウムイオン濃度上昇活性と正常マウスにおける摂食抑制作用を指標としたスクリーニングを実施した。その結果、NMUR1/R2 非選択的作動薬である NMU-0002 [分子量 20k ダルトンのポリエチレングリコール (PEG20k)-piperazin-1-ylacetyl (PipAc)-Tyr-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH<sub>2</sub>] および NMU-6014 [Stearyl- $\delta$ -aminovaleric acid (Ape)-Gly-Tyr-Phe-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH<sub>2</sub>]、NMUR1 選択的作動薬 NMU-6102 [Palmityl-Ape-Gly-Tyr-Phe-D-Ala-Trp-Arg-Pro-Arg-Asn-NH<sub>2</sub>]、NMUR2 選択的作動薬 NMU-2084 [PEG20k-PipAc-Phe-Trp-Leu-Phe-Arg-Ala-Arg-Asn-NH<sub>2</sub>] をツール化合物として同定した。これらを用いて、高脂肪高ショ糖食を与えて作製した食餌誘導性肥満モデルマウスにおける薬効薬理作用 (摂食抑制・体重低下作用) および消化管に対する有害事象を比較検討したところ、NMUR1/R2 非選択的作動薬および NMUR2 選択的作動薬が NMUR1 選択的作動薬よりも優れた抗肥満作用を示した一方で、

有害事象（下痢）の懸念に関しては NMUR2 選択的作動薬が最も小さいことが分かった。以上の結果から、有害事象懸念が小さく、且つ強い抗肥満作用が期待できるバランスの良い NMUR 作動薬としては、NMUR2 選択的作動薬が最も有望であると結論付け、NMUR2 を標的受容体とした。

## (2) 標的受容体：NMUR2 に対する新規ペプチド性作動薬の薬理学的研究

新規ペプチド性抗肥満薬の開発候補化合物を創製するために、NMUR2 選択的作動薬の最適化（アミノ酸置換、修飾基およびその付加部位、リンカーの検討）を実施し、血中での安定化のため分子量 20k ダルトンのポリエチレングリコールを付加したオクタペプチドである NMU-7005 を同定した<sup>1)</sup>。本ペプチドの構造式は [(PEG20k)-PipAc-Tyr-3-(2-Naphthyl)alanine[Nal(2)]-Leu-Phe-Arg-Pro-Arg-Asn-NH<sub>2</sub>]である。このうち Nal(2)が NMUR2 選択性に寄与していることが明らかとなった<sup>1)</sup>。NMU-7005 は、NMUR1 に対するアゴニスト活性をほぼ示さず、マウスにおける血中安定性も優れていた（皮下投与における最高血中濃度到達時間：4 時間）。正常マウスにおける摂食抑制効果は NMUR2 ノックアウトマウスにおいて完全に消失した。NMU-7005 の皮下への反復投与は、食餌誘発性肥満マウスにおいて摂食抑制を介した強力な抗肥満効果を示した（有意差  $p < 0.025$ ）。また、既存の抗肥満薬であるグルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）受容体アゴニストのリラグルチドとの併用により相加的な抗肥満効果を示した。このことは NMUR2 を介した摂食抑制作用が GLP-1 受容体アゴニストの作用機序とは異なることを示唆している。また、臨床における併用効果も期待できる結果である。一方で、リラグルチドは臨床における副作用として悪心や嘔吐が問題となっており、投与用量は抗糖尿病薬の 2 倍と上限がある。この消化管不快感をげっ歯類で評価する条件付け味覚嫌悪試験を実施したところ、リラグルチドは臨床用量から概算した用量で有意な味覚嫌悪誘導作用を示したが、NMU-7005 では味覚嫌悪誘導作用はほとんど認められなかった。このことから、臨床においても副作用が軽減していることが期待された。最後に NMU-7005 の作用メカニズムについての検討を実施した。NMUR2 は中枢組織に発現しているため、中枢組織の活性化を評価する必要がある。本評価は神経細胞の反応マーカーとして汎用されている即初期遺伝子の一種である c-Fos の免疫組織化学的検出を用いて行った。その結果、NMU-7005 を投与したマウスでは、c-Fos 発現誘導が視床下部弓状核および延髄の最後野および孤束核で観察され、NMU-7005 の薬理学的効果は中枢神経系の活性化を介していると考えられた。最後野の毛細血管は、血液脳関門を構成するアストロサイトおよび他のグリア細胞によって囲まれていないことが知られており、全身の血流中に循環する代謝産物が通過可能で、弓状核もまた血液脳関門を欠いている中枢神経系の基底に位置し、循環因子が

この領域にアクセスすることが可能であることが知られている。従って、末梢投与された NMU-7005 が、弓状核に発現している NMUR2 に全身血流を介して一部は直接的に活性化、あるいは延髄を介して間接的に食欲コントロール部位に作用して摂食抑制作用を示すと推察した。

結論として、本研究によって創製された新規 NMUR1 選択的作動薬 NMU-6102 および NMUR2 選択的アゴニスト NMU-7005 は、NMUR1 および NMUR2 を介した生理学的機能の解明のための有益なツールであり、NMU-7005 は肥満治療に対する有望な治療選択肢になり得ると考えられる。

#### 参考文献

1. Potent Body Weight-Lowering Effect of a Neuromedin U Receptor 2-selective PEGylated Peptide  
*Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, **60**; 6089-6097

以上