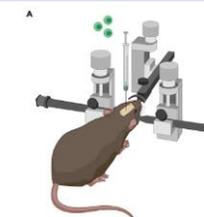


# 肥満症創薬研究にアクセリドが貢献できること（一覧）

肥満モデル動物		
Diet induced obese (DIO) mice/rats	ob/ob mice	db/db mice
MC4R KO mice	Zucker fatty ラット	遺伝子組み換え KO/Tg 動物

評価項目		
体重	摂食量・飲水量	血液パラメータ測定 (Hitachi 7180)
遺伝子・オミクス解析	体組成, Fat/Lean mass	エネルギー・酸素消費・呼吸商
血圧測定・体温測定	胃内容物排出遅延測定	糞中脂質解析
味覚嫌悪試験	病理解析・染色 (c-fosなど)	イヌを用いた嘔吐評価
腸内細菌叢解析 (16SrRNA解析、PCoA解析), 腸内細菌代謝物解析 (メタボローム解析)		

特殊投与	内容
脳室内投与	マウス・ラットに成功率高く投与が可能

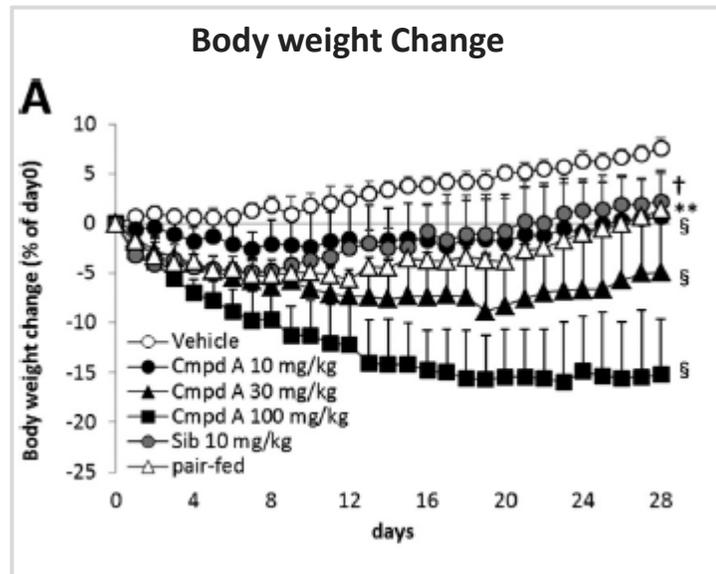


引用: STAR  
Protocols 2,  
100725,  
September 17,  
2021

# 肥満症モデル動物のご紹介

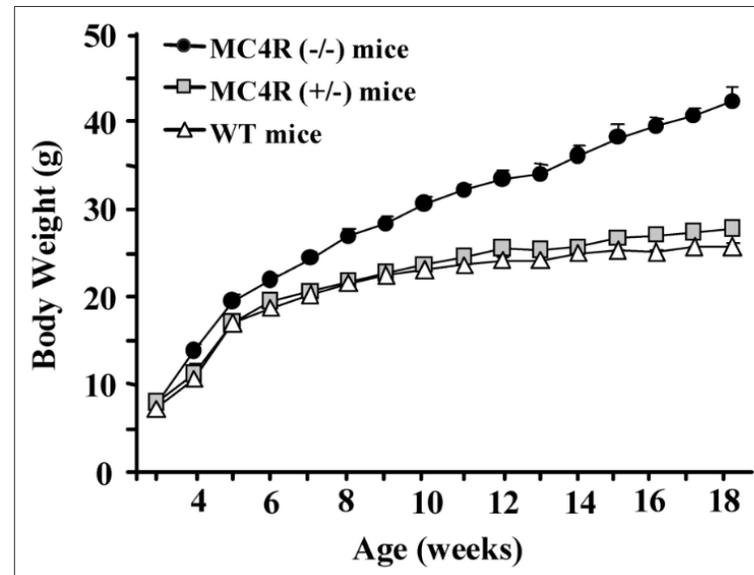
Animal		
Diet induced obese (DIO) mice/rats	ob/ob mice	db/db mice
MC4R KO mice <small>MC4R; melanocortin type 4 receptor</small>	Zucker fatty rat	KO/Tg rodents

## DIO-C57BL/6J mice



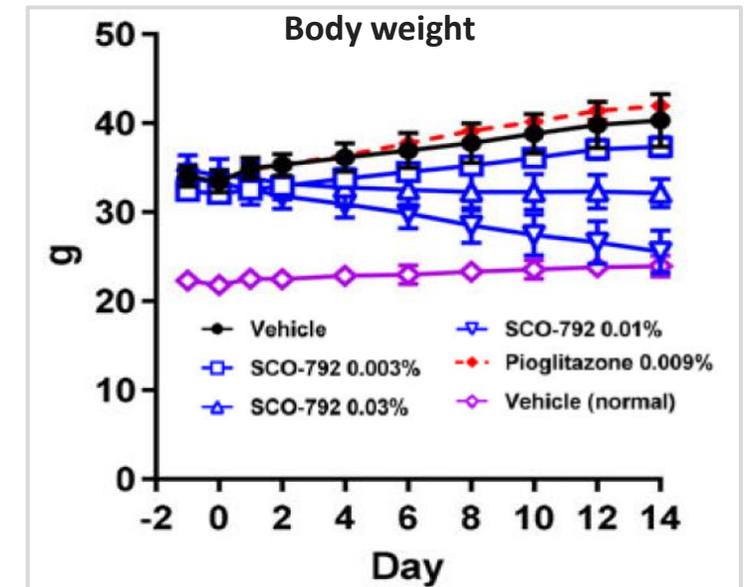
DOI:10.1016/j.ejphar.2016.12.018

## MC4R KO mice



doi: 10.1507/endocrj.EJ21-0002.

## ob/ob, db/db mice



DOI: 10.1111/dom.13799

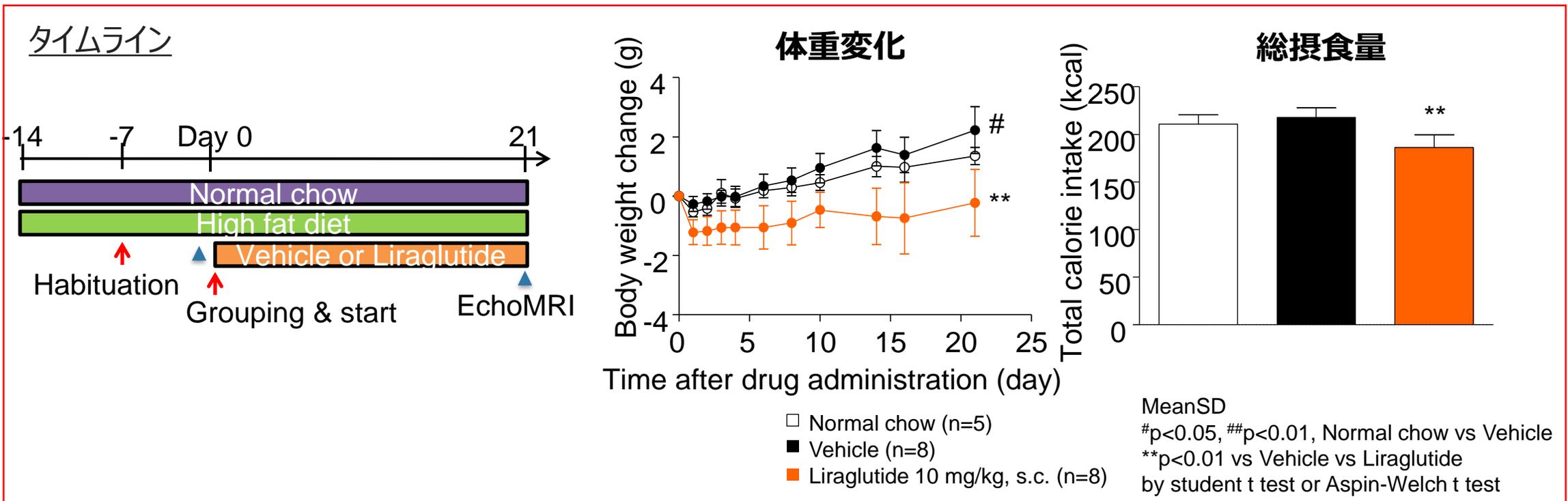
# 抗肥満薬の薬効評価 (マウス/ラット)

測定項目		
体重	摂食量	血液パラメータ測定 (Hitachi 7180)

動物： C57BL/6J マウス (6週齢) 45% HFD給餌

測定項目： 体重, 摂食量, 血液パラメータ, 脂肪重量, 徐脂肪重量

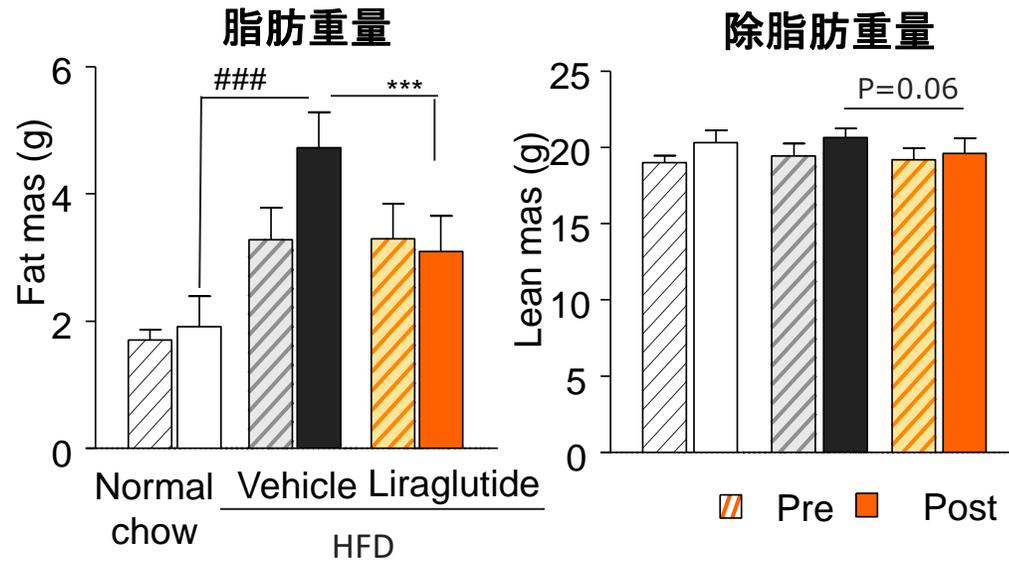
投与薬剤： リラグルチド (GLP-1 agonist) 10 mg/kg, q.d. 皮下投与



# 非侵襲的な体組成解析 (EchoMRI & X線CT)

測定項目		動物
体組成, Fat/Lean mass (Echo-MRI)	体組成, Fat/Lean mass (X線CT scan)	マウス、ラット

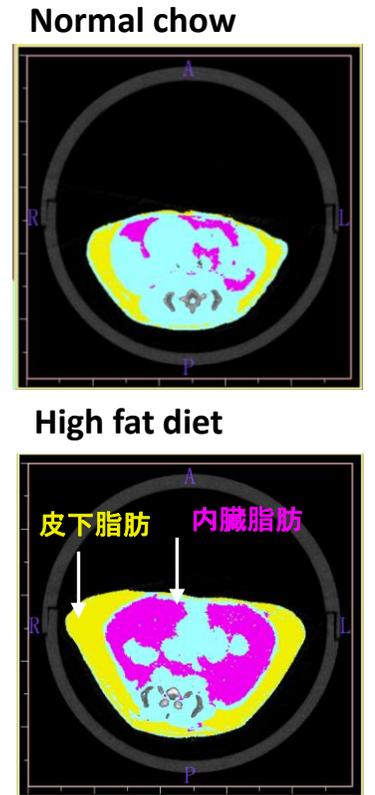
## EchoMRI-900を用いた非侵襲的な体組成測定(無麻酔)



- Normal chow (n=5)
- Vehicle (n=8)
- Liraglutide 10 mg/kg, s.c. (n=8)

MeanSD  
 #p<0.05, ###p<0.001, Normal chow vs Vehicle  
 \*\*\*p<0.001 vs Vehicle vs Liraglutide  
 by student t test or Aspin-Welch t test

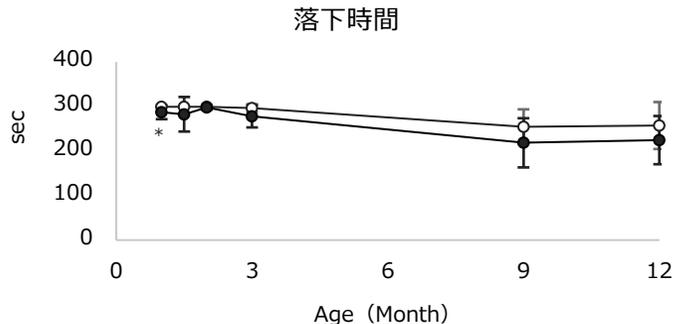
## 実験動物用X線CT装置 Latheta LCT-200



# 筋・心機能の評価

## ◆ロタロッド

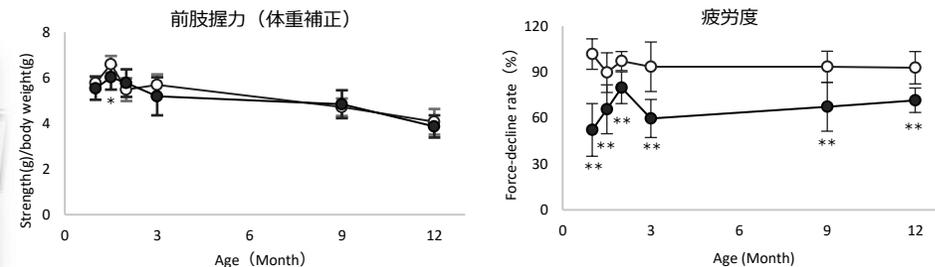
回転する棒に乗り続ける時間を測定。歩行による疲労耐性を評価



○ C57BL/10 Jic (Wildtype), n=8 ● B10 mdx, n=8 (1-3 months old), n=7 (9-12 months old)  
\*p<0.05vs wildtype group by Wilcoxon test

## ◆グリップテスト

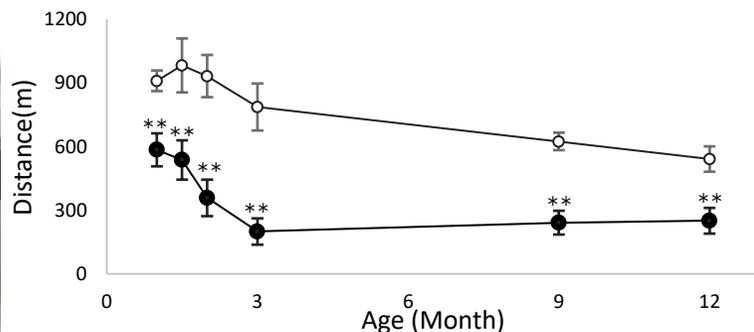
前肢または四肢で金網を掴む力を測定し、握力(筋力)を評価



Fatigue : The formula last pull / first pull \* 100 (%) gives a measure of fatigue.  
○ C57BL/10 Jic (Wildtype), n=8 ● B10 mdx, n=8 \*p<0.05, \*\*p<0.01 vs Wild type group by student's t-test

## ◆トレッドミル

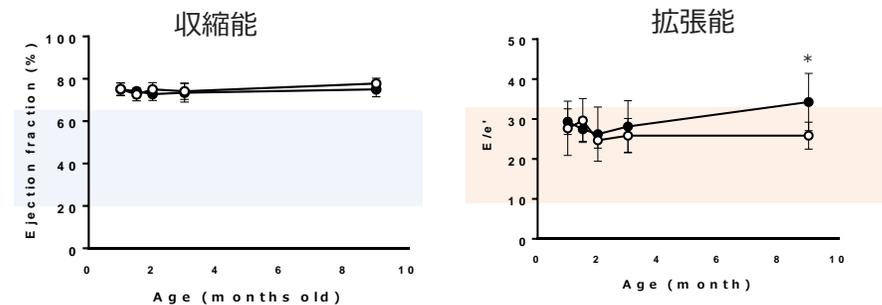
歩行耐久力を評価



○ C57BL/10 Jic (Wildtype), n=8 ● B10 mdx, n=8  
\*\*p<0.01vs Wild type group by student's t-test

## ◆エコー評価

- ①心機能評価：収縮能、拡張能、形態を評価
- ②横隔膜評価：横隔膜の動き(振幅)を測定し、呼吸機能を評価



○ C57BL/10 Jic (Wildtype), n=8 ● B10 mdx, n=8 (1-3 months old), n=7 (9 months old)  
\*p<0.05vs wildtype group by student's t-test

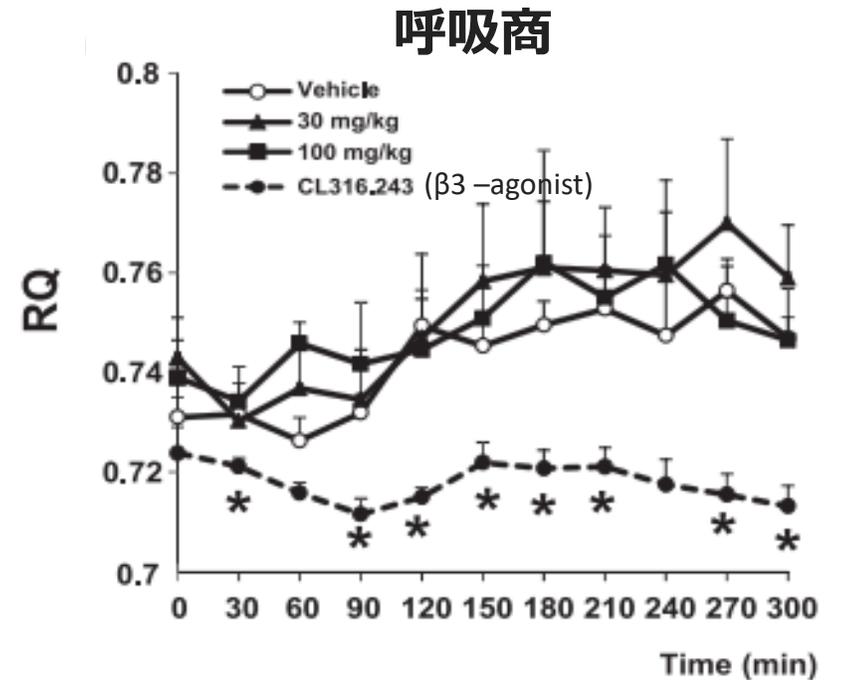
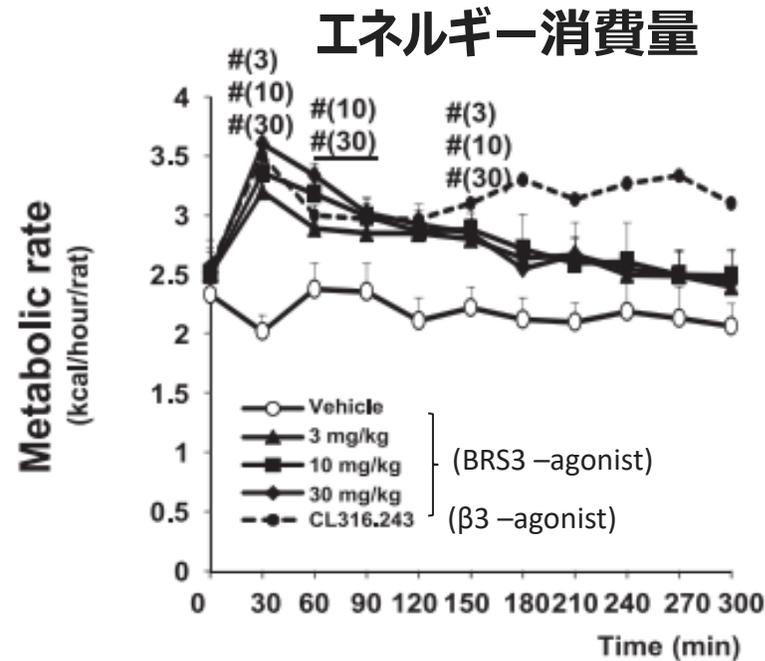
# 非侵襲的なエネルギー消費・酸素消費・呼吸商の測定 (Oxymax system)

測定項目		動物
エネルギー・酸素消費・呼吸商		マウス・ラット

## Oxymax system (無麻酔)

56週齢D I O-F344 rat, 高脂肪食負荷  
朝9時に体重測定。

午前中のVO<sub>2</sub>、EE、RQを測定、体重、  
群分け11時に単回投与、継続してモニター



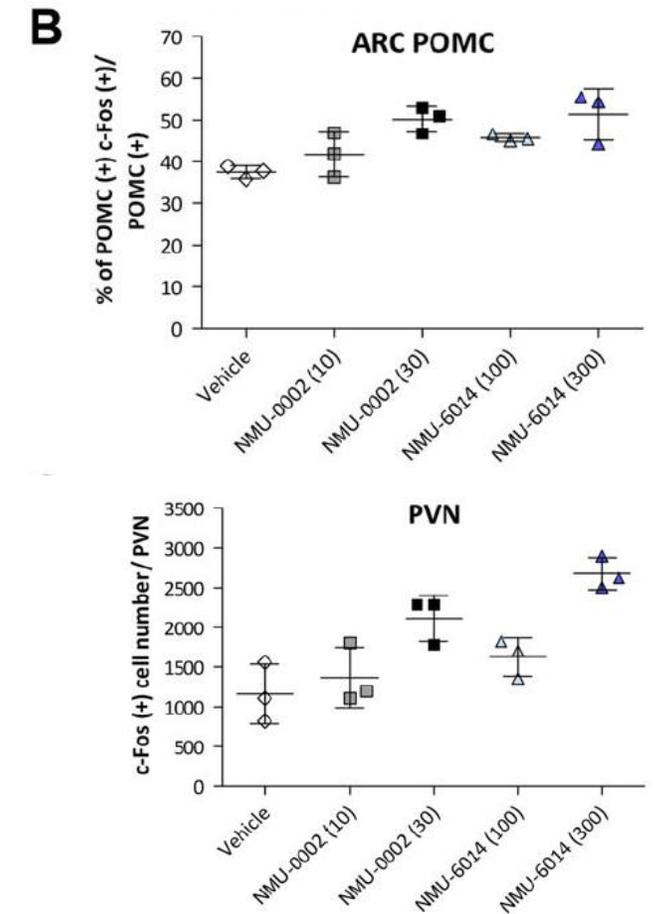
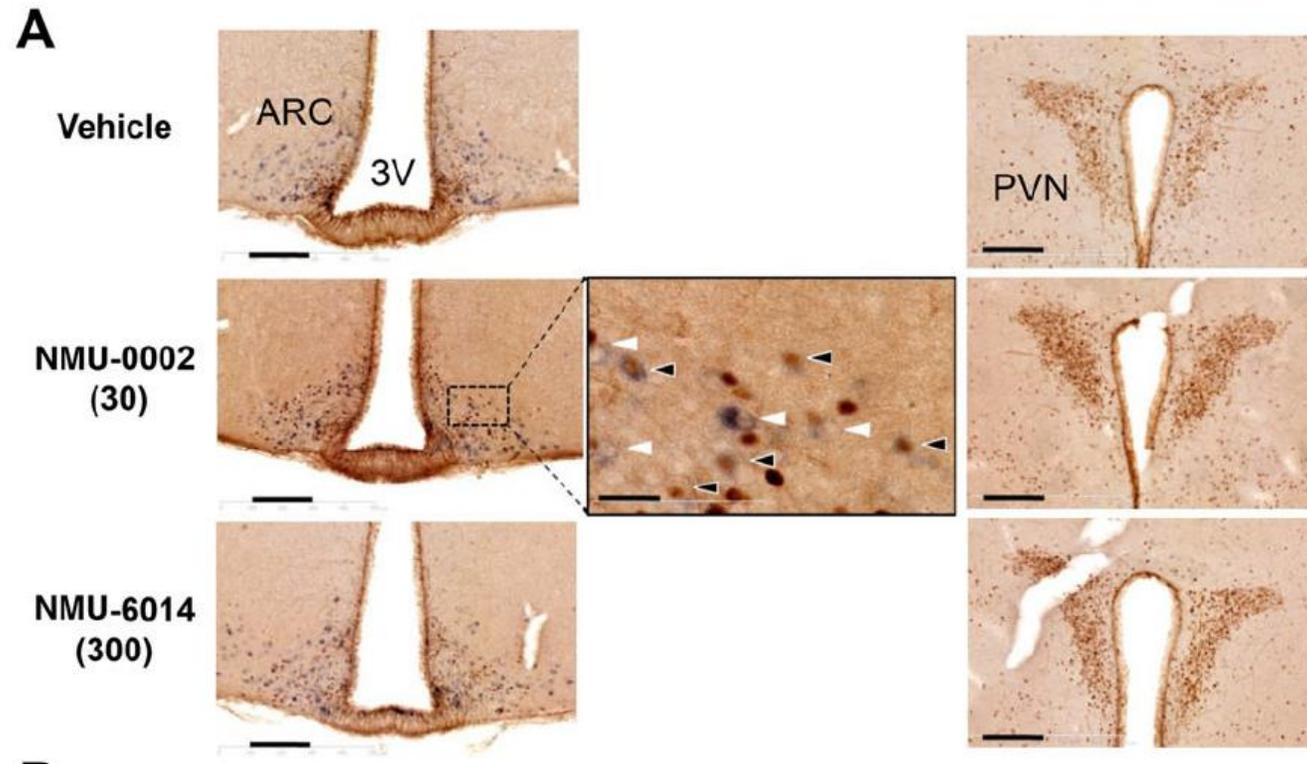
Endocrinology, May 2017, 158(5):1298-1313

# 脳の病理解析

測定項目	対象動物
c-fos染色 (定量)	マウス、ラット

中枢性の摂食抑制薬のMOA解析 (摂食に関連する神経の活性測定)

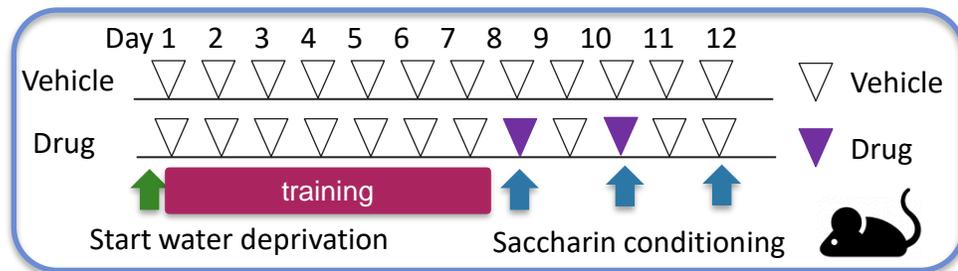
## POMCニューロン(ISH:青)とc-fos(IHC:茶色)の二重染色



# 味覚嫌悪試験

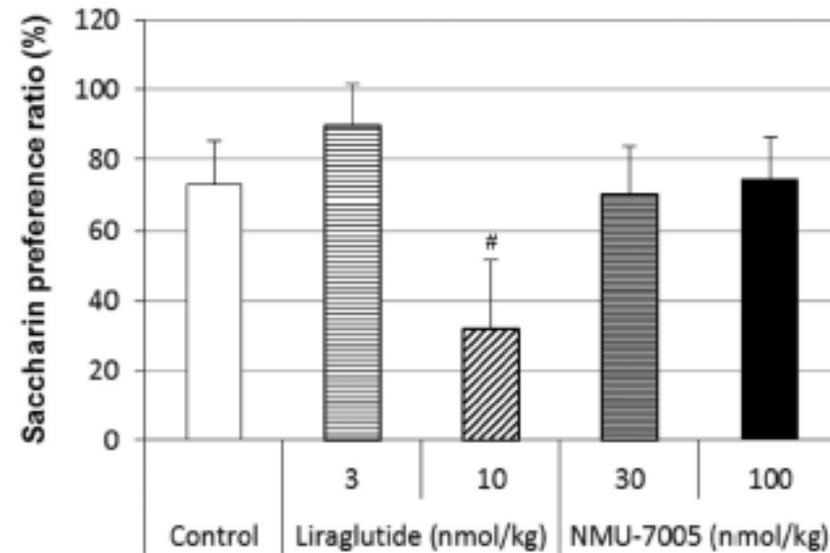
## ■CTA (Conditioned taste aversion) test

C57BL/6Jマウスに被験物質と共に  
サッカリン水を与える条件付け試験  
被験物質に悪心作用がある場合  
サッカリン水を飲まなくなる



Int J Obes (Lond). 2017;41(12):1790-1797.

## サッカリン水 摂取割合



- Liraglutide (GLP-1製剤)は味覚嫌悪作用を示した  
--> 抗肥満作用の一部には悪心作用が関与している可能性
- NMUR2活性化薬は味覚嫌悪作用を示さなかった  
--> 抗肥満作用には味覚嫌悪作用は関与していない

# 胃内容物排出遅延試験

## ■Gastric emptying test

C57BL/6Jマウス夜間絶食。

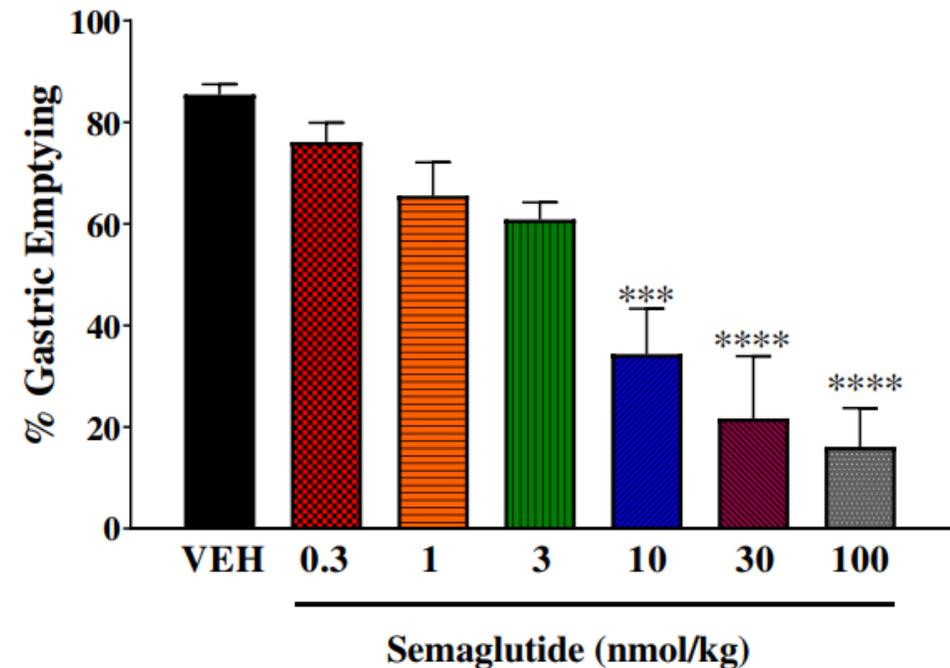
翌日 1 時間給餌を行い、餌を除くと共にセマグルチドを単回投与  
2 時間後に胃を摘出し、胃内容物重量を測定。

胃内容物排泄率は以下の計算式で算出。

胃内容物排泄率 =  $[1 - (\text{胃内容物重量} / \text{摂餌量})] \times 10$

The novel dual glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonist tirzepatide transiently delays gastric emptying similarly to selective long-acting GLP-1 receptor agonists

*Diabetes Obes Metab.* 2020;22:1886–1891.



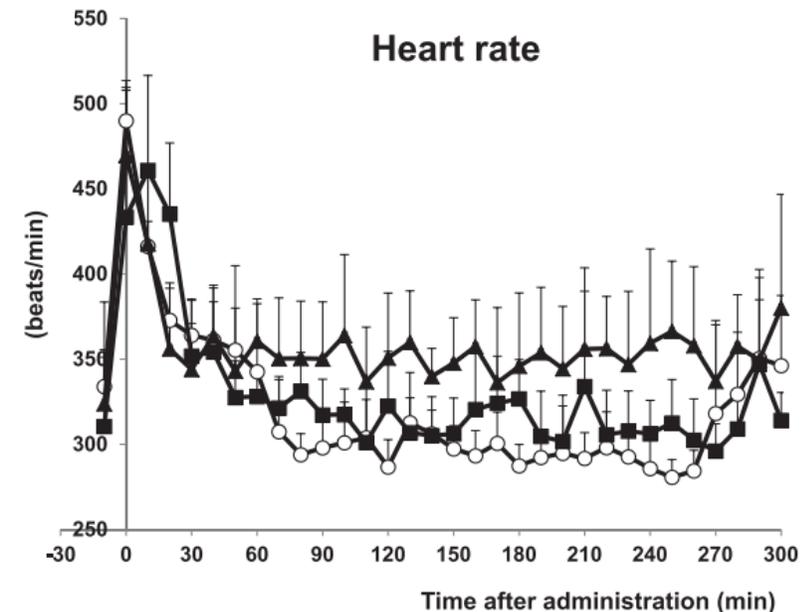
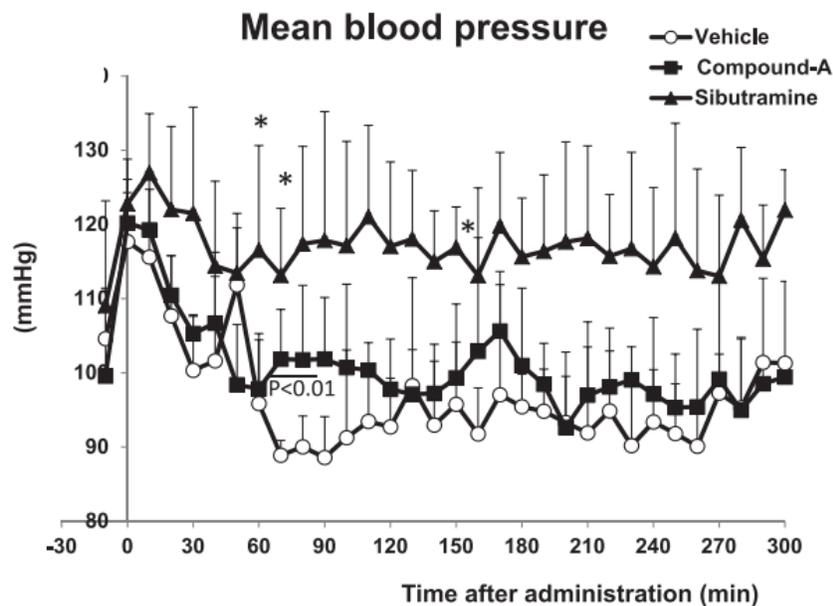
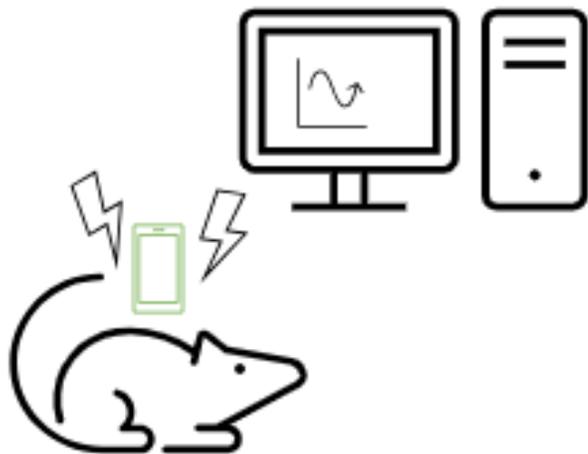
# 薬効か毒性か？（血圧・心拍の非侵襲的な測定）

測定項目

テレメトリー測定 (ラット)

## ■ Rat telemetry system (無麻酔)

ラットにテレメトリープローブ(Prime tech社)を埋設  
1-2週後、被験物質を投与し、5時間後まで測定



Endocrinology, May 2017, 158(5):1298–1313