

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16225

研究課題名(和文) レプチンシグナルを介する新たなメカニズムを持つインスリン依存性糖尿病治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of therapeutic drugs for insulin-dependent diabetes mellitus with a new mechanism mediated by leptin signaling

研究代表者

伊藤 禎浩 (Ito, Yoshihiro)

名古屋大学・医学系研究科・特任助教

研究者番号：80637687

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：(1) IDDM PTP1B KOはWTと比較をして有意に血糖値の低下及び糖代謝の改善を認めた。(2) 末梢に高用量のレプチンを投与したIDDM KOはWTと比較をして有意に糖代謝の改善を認めた。(3) 中枢に末梢では糖代謝の改善を認めない少量のレプチンを投与したIDDM KOはWTと比較をして有意に糖代謝を改善した。(4) 末梢にレプチンとPTP1B阻害薬を投与したIDDM WTは正常マウスと同程度に糖代謝を改善した。このメカニズムには中枢でのSTAT3シグナルの増強が末梢の筋肉や褐色細胞組織での糖の取り込みを増強したことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臨床において、主に1型糖尿病で認められるインスリン依存性糖尿病(IDDM)患者に対する治療の選択肢はインスリンを除けば限られており、ほとんどの経口血糖降下薬に適応や有効性はない。しかしながら、インスリンによる治療を行うも様々な要因により低血糖や高血糖を繰り返し、血糖コントロールに難渋することがある。また、インスリンに対するアレルギー反応や長期使用に伴うインスリン抗体の発生などの問題点があり、臨床において代替の治療法が求められている。私たちの研究が、1型糖尿病患者の治療法において中枢のレプチン受容体シグナルに着目することで将来インスリンに代わる有用な治療法になる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We found that (1) while blood glucose levels of IDDM group were higher than those of non-IDDM group, glucose metabolism in IDDM PTP1B deficient (KO) mice was significantly improved compared to IDDM wild-type (WT) mice, (2) peripheral administration of a high dose of leptin significantly improved glucose metabolism in IDDM KO mice compared to IDDM WT, (3) central administration of a low dose of leptin significantly improved glucose metabolism in KO mice compared to WT mice, and (4) peripheral combination therapy of leptin and PTP1B inhibitor in IDDM WT mice improved glucose metabolism to the same levels as control mice. We also found that the phosphorylation of stat3 in the arcuate nucleus of hypothalamus following peripheral leptin administration was enhanced under PTP1B deficiency. In IDDM treatment with leptin, PTP1B deficiency and PTP1B inhibitor enhanced leptin action in the brain to improve glucose metabolism.

研究分野：糖尿病

キーワード：レプチン 1型糖尿病 PTP1B IDDM

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

臨床において、主に1型糖尿病で認められるインスリン依存性糖尿病 (IDDM) 患者に対する治療は、ほとんどの経口血糖降下薬に適応や有効性はない。しかしながら、インスリンによる治療を行うも、様々な要因により低血糖や高血糖を繰り返し、血糖コントロールに難渋することがある。また、インスリンに対してのアレルギー反応や長期使用によるインスリン抗体の発生などの問題点があり、臨床において代用の治療法が求められている。近年、レプチン投与による血糖値の改善効果が報告されている。臨床において、レプチンを欠損した脂肪萎縮症の患者は、2型糖尿病を呈し、治療のためにレプチンを投与した結果、血糖値を改善することが知られている。一方、げっ歯類の動物研究では、1型糖尿病及び2型糖尿病モデルに、レプチンを投与した結果、血糖値を改善した報告がされている。そのメカニズムとして、レプチンは視床下部での γ -aminobutyric acid (GABA) 作動性ニューロンと POMC ニューロンに作用する。その後、自律神経を介して肝臓での糖代謝を改善し、褐色脂肪組織や骨格筋での糖の取り込みを増強させることが報告されている。

そこで私たちは、IDDM 患者の治療法において内因性レプチンシグナルの亢進を利用することで、インスリンに代わる有用な治療法を発見できないだろうかという事を学術的「問い」とした。

2. 研究の目的

私たちは、この問題点を解決するために、Protein Tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) に着目をした。PTP1B はレプチン受容体下流の JAK2 を基質としてチロシンを脱リン酸化することによりレプチンシグナルを阻害する分子量 50KDa の酵素である。全身性に PTP1B を欠損させたマウス (PTP1B KO) は、内因性レプチンシグナルを亢進するため、肥満抵抗性を示した。このため、本研究の目的は、PTP1B の欠損もしくは抗 PTP1B 薬による内因性レプチンシグナルの亢進により、IDDM マウスにおいてインスリンシグナルとは独立して糖代謝を改善する可能性及びメカニズムを明らかにすることである。

3. 研究の方法

先行研究として、高用量のストレプトゾトシン (STZ) を用いて作成をした IDDM マウスで PTP1B KO の糖代謝、体重を評価し、WT マウスと比較検討をした。IDDM 群において PTP1B KO マウスは、WT マウスと比較して、体重差を認めることなく、血糖値の有意な改善を認めた。また、糖負荷試験 (GTT) において体重とは独立して KO マウスで有意に耐糖能の改善を認めた。この結果より、内因性インスリンの枯渇している KO マウスにおいて、インスリンシグナルとは独立した内因性レプチンシグナルの亢進が血糖値の改善に関与していると考えられた。次に、浸透圧ポンプを用いて末梢よりレプチンを持続的に投与した IDDM WT と KO マウスで血糖値を比較検討した。KO マウスでは、WT マウスと比較して有意に血糖値の低下を認めた。また KO マウスは、正常マウスの血糖値にまで改善を認めた。しかしながら、使用したレプチンの投与量は脂肪萎縮症を治療するために必要とされる薬理量の約 10 倍と高用量である点が問題点となった。こうした問題を解決すべく以下の研究を計画した。(1)レプチン脳室内投与による血糖降下作用の検討 レプチンの主な作用部位は視床下部である。このため薬事量のレプチンを脳室内へ投与をした結果、IDDM マウスにおいて血糖値を低下させた報告がこれまでにされている。そこで私たちは、薬理量 (もしくはそれ以下の量) のレプチンを脳室内へ投与することで、IDDM WT と KO マウスにおいて血糖の改善効果を比較検討する。仮に、KO マウスにおいて WT と比較して有意な血糖値の改善を認めた場合は、中枢のレプチンシグナルの亢進が作用部位である事を証明できる。さらに、先行実験で問題点としてあげた使用するレプチンが高用量であった点を解決できる可能性を持つ。(2)視床下部 POMC ニューロン特異的 PTP1B 欠損マウスにおける血糖降下作用の検討 さらにメカニズムを解明していくために、視床下部の POMC ニューロンに着目をした。私たちは、Cre-lox システムを用いて POMC ニューロン特異的に PTP1B を欠損したマウス (POMC KO) を作成した結果、肥満抵抗性を来したことを報告した。このように、POMC ニューロンにおける PTP1B の役割は、レプチンシグナルに強い関与を持っていることが知られている。また、私たちは、POMC ニューロン特異的に γ -aminobutyric acid type B (GABAB) レセプターを KO したマウスを作成し、体重とは独立して、糖代謝を改善した報告をし、GABA 作動性ニューロンの知見を得ている。このため、IDDM POMC KO を作成し、糖代謝の改善効果を WT と比較検討することにより、POMC ニューロンにおける PTP1B が IDDM の血糖を改善する主な作用部位となる可能性を明らかにする。(3)抗 PTP1B 薬使用による血糖降下作用の検討 IDDM マウスに、抗 PTP1B 薬を投与して、非投与群との血糖降下作用を比較検討する。次に抗 PTP1B 薬による血糖降下作用が十分ではない場合は、レプチンを併用して検討する。これらのことから、抗 PTP1B 薬単独もしくはレプチン併用により IDDM を治療できる可能性を明らかにしていく。(4) PTP1B 欠損及び抗 PTP1B 薬による末梢臓器への糖の取り込みの評価 PTP1B 欠損及び抗 PTP1B 薬による IDDM マウス

スへの血糖値を改善するメカニズムは明らかになっていない。先行研究より IDDM KO マウスは、GTT にて耐糖能の改善を認めたことより、末梢臓器（褐色脂肪細胞、筋肉など）への糖の取り込みが改善したと考えられる。そこで私たちは、研究（1）（2）（3）で使用したマウスに 2DG を腹腔内投与し、速やかに臓器を摘出し測定キットを用いて末梢臓器へ糖の取り込みを比較検討することで、メカニズムを明らかにしていく。

4．研究成果

（1）IDDM PTP1B KO は WT と比較をして有意に血糖値の低下及び糖代謝の改善を認めた。（2）末梢に高用量のレプチンを投与した IDDM KO は WT と比較をして有意に糖代謝の改善を認めた。

（3）中枢に末梢では糖代謝の改善を認めない少量のレプチンを投与した IDDM KO は WT と比較をして有意に糖代謝を改善した。（4）末梢にレプチンと PTP1B 阻害薬を投与した IDDM WT は正常マウスと同程度に糖代謝を改善した。このメカニズムには中枢での STAT3 シグナルの増強が末梢の筋肉や褐色細胞組織での糖の取り込みを増強したことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 伊藤 禎浩、坂野 僚一、滝 啓吾、溝口 暁、杉山 摩利子、恒川 卓、高木 博史、有馬 寛
2. 発表標題 PTP1B欠損下においてレプチンの末梢投与はインスリン依存性糖尿病モデルマウスの糖代謝を改善する
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤禎浩、坂野僚一、柳沼裕史、滝啓吾、溝口暁、杉山摩利子、恒川卓、高木博史、有馬寛
2. 発表標題 レプチン脳室内投与はPTP1B欠損下においてインスリン依存性糖尿病モデルマウスの糖代謝を改善する
3. 学会等名 第45回神経内分泌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Y. ITO, R. BANNO, H. YAGINUMA, K. TAKI, A. MIZOGUCHI, M. SUGIYAMA, T. TSUNEKAWA, H. TAKAGI, H. ARIMA
2. 発表標題 PTP1B deficiency enhances leptin action to improve glucose homeostasis in IDDM
3. 学会等名 Neuroscience 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ito Y, Banno R, Sun R, Yaginuma H, Taki T, Sugiyama M, Takagi H, Ito Y, Arima H
2. 発表標題 Protein tyrosine phosphatase 1B deficiency enhances leptin action to improve glucose homeostasis in IDDM treatment with leptin
3. 学会等名 EASD 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------