

機関番号：15401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790079

研究課題名 (和文) 肥満の新機構解明と創薬～レプチン抵抗性の解析～

研究課題名 (英文) Elucidation of novel mechanisms of obesity and the therapeutic drug
-elucidation of leptin resistance-

研究代表者

細井 徹 (HOSOI TORU)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・講師

研究者番号：40379889

研究成果の概要 (和文)：

レプチンは、主に脂肪組織より循環血液中に分泌され、抗肥満作用を惹起する。一方で、多くの肥満者は、「レプチン抵抗性」の状態であることがわかり、肥満の原因として問題視されるようになった。現在までの研究の結果、私達は「小胞体ストレス」(不良品タンパク質が細胞内に蓄積することによって生じるストレス)がレプチン抵抗性の原因である可能性を突き止めている。そこで今回、小胞体ストレスを標的とした薬物の開発を試みた。検討の結果、小胞体ストレス改善効果を有する薬物を見出し、さらに本薬物は高脂肪食負荷肥満モデルマウスにおいて抗肥満効果を有することが明らかになった。

研究成果の概要 (英文)：

Leptin is mainly secreted from adipose tissue, which subsequently induces anti-obesity action. On the other hand, it has been reported that most of the obesity patients are in the state of “leptin resistance”, which cannot adequately respond to the circulating leptin. At these circumstances, we found the possibility that “endoplasmic reticulum (ER) stress” is involved in the development of leptin resistance. Accumulation of unfolded protein will result in ER stress and increasing evidence has been suggested that ER stress is involved in several types of diseases. In the present study, we found the novel drug, which can reduce ER stress. Moreover, subsequent analysis indicated that this drug could inhibit high-fat diet-induced obesity in mice model.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：中枢神経薬理学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：小胞体ストレス、肥満、レプチン

1. 研究開始当初の背景

レプチンは、脂肪細胞から分泌されるホルモンであり、主に脳に作用し、食欲の抑制とエネルギー消費の増大により体重を減少させる (Science 1995, 269:546-549)。従ってレプチン発見当時 (Nature 1994, 372:425-432)、レプチンは有効な抗肥満薬になると期待されていた。しかし、肥満患者にレプチンを投与しても効果が認められないことが明らかになり、最近ではレプチン抵抗性が肥満の原因 (レプチンが効かない→体重減少作用が惹起されない→肥満) として考えられている (Nature Neuroscience 2005, 8:566-570.)。以上から、レプチン抵抗性改善薬は、肥満の治療に有効であると考えられる。現在までにレプチン抵抗性の原因として、1) レプチンシグナルの負のフィードバック因子として機能する SOCS3 蛋白質 (Molecular Cell 1:619-625, 1998)、2) チロシンホスファターゼである PTP1B (Developmental Cell 2:489-495, 2002; Developmental Cell 2:497-503, 2002) などが明らかにされているが、これらの因子のみでは完全にはレプチン抵抗性に対して説明がつかず、不明な点が多く残されている。一方で最近私達は、小胞体ストレスがレプチン抵抗性の原因であることを突き止めた (Mol. Pharmacol. 2008, 74: 1610-1619)。小胞体ストレスとは、構造異常蛋白質が細胞内に蓄積することによって生じるストレスのことを言い、近年、神経変性疾患などの疾患との関わりが明らかになってきている (J. Clin. Invest. 2005, 115:2656-2664)。小胞体ストレスがレプチン抵抗性の原因であるならば、小胞体ストレスを標的とした薬物はレプチン抵抗性、ひいては生活習慣病の改善に有効な新しいタイプの治療薬となり得る。そこで本研究では、小胞体ストレスに着目し、レプチン抵抗性の原因 (メカニズム) を明らかにし、肥満に有効な薬物の探索を行うことを目的とした。

2. 研究の目的

肥満の病態に関して、どのような原因で小

胞体ストレスが誘発され、また小胞体ストレスがどのようなメカニズムでレプチン抵抗性を誘発するか、小胞体ストレスと肥満との関わりはどのようなになっているかなど不明な点が多い。そこで本研究では、今までの基礎的な研究成果をさらに発展させ、レプチン抵抗性と小胞体ストレスの関係を明らかにするとともに、小胞体ストレスを標的とした新規の薬物を同定したいと考えた。

3. 研究の方法

本研究では、ホモシステインが小胞体ストレス及びレプチン抵抗性を誘発していたことより (Mol. Pharmacol. 2008, 74: 1610-1619)、小胞体ストレスによるレプチン抵抗性の原因として活性化メチル化サイクルの異常が関与しているのではないかと考え検討を進めた。また、肥満モデルマウスを用いることで、レプチン抵抗性と小胞体ストレスとの関わりについて明らかにし、小胞体ストレスを標的とした創薬ターゲットを同定した。

1. 活性化メチル化サイクルに関わる因子 (S-Adenocylhomocysteine, adenosine, methionine ect.) を培養細胞に処理した時のレプチンによる STAT3 の活性化 (Eur J Pharmacol. 2006, 553:61-66.) に対する影響を Western blotting 法により検討した。

2. 高脂肪食負荷した肥満モデルマウスに同定した薬物/生理活性物質を投与した後、体重変化、レプチン濃度変化を測定することで本薬物の有効性を検討した。

4. 研究成果

S-Adenocylhomocysteine が酵素的に加水分解されると homocysteine と adenosine が生成されることが知られている。そこで、これらの物質とレプチン抵抗性との関わりについて検討した所、adenosine がレプチンシグナルを抑制することを見だし、また、活性化メチル化サイクルの異常がレプチン抵抗性と密接に関係している可能性を明ら

かにした。

小胞体ストレスを標的とした抗肥満効果を有する薬物の探索を試みた結果、新たな候補薬物を見出すことに成功した。本薬物は、小胞体ストレスによる細胞死に対して改善効果を示し、小胞体ストレスによるレプチン抵抗性に対しても改善作用を有していた。さらに、本薬物は高脂肪食負荷による肥満に対して改善効果を示し、血中レプチンレベルも正常化させた。従って、本薬物は、新しいタイプの生活習慣病の治療薬として有効である可能性が考えられた。

本研究成果は、小胞体ストレスを標的とした、今までにない新しいタイプの抗肥満薬の可能性を提示するものであり、今後さらなる解析を進めて行きたいと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

1. Hosoi T., Ogawa K. & Ozawa K. (2010) Homocysteine induces X-box binding protein 1 splicing in the mice brain. *Neurochemistry International* 56: 216-220. (査読有り)

2. Yamawaki Y., Kimura H., Hosoi T. & Ozawa K. (2010) MyD88 plays a key role in LPS-induced Stat3 activation in the hypothalamus. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 298 :R403-R410. (査読有り)

3. Hosoi T., Kume A., Otani K., Oba T. & Ozawa K. (2010) A unique modulator of endoplasmic reticulum stress-signalling pathways: the novel pharmacological properties of amiloride in glial cells. *British Journal of Pharmacology* 159:428-437. (査読有り)

4. Hosoi T., Yokoyama S, Matsuo S, Akira S, Ozawa K (2010) Myeloid Differentiation

Factor 88 (MyD88)-Deficiency Increases Risk of Diabetes in Mice. *PLoS ONE* 5(9): e12537. (査読有り)

5. Hosoi T., Tamubo T., Horie N., Okuma Y., Nomura Y., Ozawa K. (2010) TEK/Tie2 is a novel gene involved in endoplasmic reticulum stress. *Journal of Pharmacological Science* 114:230-233. (査読有り)

6. Hosoi T., Ozawa K. Endoplasmic reticulum stress in disease: mechanisms and therapeutic opportunities. (2010) *Clinical Science* (Lond). 118:19-29. (査読有り)

7. Hosoi T., Ozawa K. (2009) Possible involvement of endoplasmic reticulum stress in obesity associated with leptin resistance. *Journal of Medical Investigation* 56 Suppl:296-8. (査読有り)

[学会発表] (計9件)

1. 細井 徹、小澤 孝一郎 小胞体ストレスと免疫応答活性化による新規アルツハイマー病発症機構 日本薬学会第131年会 2011年3月28日-3月31日、静岡

2. 細井 徹 生活習慣病の新機構解明と次世代型治療薬の開発研究 日本薬学会第131年会 2011年3月28日-3月31日、静岡

3. 細井 徹、大庭達哉、本多美耶、大熊 康修、野村 靖幸、小澤孝一郎 アルツハイマー病発症に関わる小胞体ストレスと免疫応答の新規メカニズム 第37回日本脳科学会、2010年10月17-18日、天津医科大学 国際会議センター (中国)

4. 細井 徹、横山匠太、松尾 俊、小澤孝一郎 MyD88 遺伝子欠損による糖尿病誘発 日本薬学会 第130年会 (岡山) 2010年3月28~30日

5. Hosoi T. Endoplasmic reticulum stress induces leptin resistance. Experimental Biology2010, April 24-28, 2010, Anaheim, USA

6. Hosoi T., Sasaki M., Miyahara T., Hashimoto C., Matsuo S., Yoshii M. & Ozawa K. Leptin resistance associated with obesity would be mediated through endoplasmic reticulum stress. 4th Cell Stress Society International (CSSI) Congress on Stress Responses in Biology and Medicine, October 6-9, 2009 in Sapporo, Japan.

7. Hosoi T., Sasaki M., Miyahara T., Hashimoto C., Matsuo S., Yoshii M. & Ozawa K. Possible involvement of endoplasmic reticulum stress in obesity associated with leptin resistance. The 11th International Symposium on Exocrine Secretion, Tokushima 09, July 23-25, 2009, Tokushima, Japan

8. 細井 徹、大庭達哉、本多美耶、小澤孝一郎 グリア細胞における IL-6 産生調節への小胞体ストレスの関与の可能性 第14回グリア研究会、2009年11月14日、大阪市

9. 細井 徹、大熊康修、野村靖幸、小澤孝一郎 肥満の中枢機構：小胞体ストレスによる視床下部レプチン受容体応答活性低下の関与 第36回日本脳科学会、2009年6月12-13日、金沢市

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称：レプチン抵抗性を改善および／または予防するための薬学的組成物、並びにその使用

発明者：細井徹、小澤孝一郎

権利者：国立大学法人広島大学

種類：特許

番号：PCT/JP2010/002691

出願年月日：2010年4月14日

国内外の別：国外

〔その他〕

ホームページ等

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/tiryou/index.htm>

6. 研究組織

(1)研究代表者

細井 徹 (HOSOI TORU)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・講師

研究者番号：40379889

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：