

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 14 日現在

機関番号：24701  
 研究種目：若手研究 B  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23791042  
 研究課題名（和文）レプチンにより誘導される新規遺伝子の肥満・レプチン抵抗性に対する役割の検討  
 研究課題名（英文）Roles of a novel lepin-induced transcript in the regulation of obesity and leptin resistance.  
 研究代表者  
 小森 忠祐（KOMORI TADASUKE）  
 和歌山県立医科大学・医学部・助教  
 研究者番号：90433359

研究成果の概要（和文）：LIT2 遺伝子欠損マウスは、普通食給餌下において野生型と比較して痩せを認めたが、摂食量には差が認められなかった。また、高脂肪食給餌下においても、野生型マウスで認められる肥満が LIT2 遺伝子欠損マウスでは軽減していたにもかかわらず、摂食量に野生型との間で有意差は認められなかった。また、LIT2 遺伝子欠損マウスでは耐糖能とインスリン感受性が上昇していた。これらのことより、LIT2 は視床下部においてレプチンの摂食抑制機能以外の機能（エネルギー代謝調節や糖代謝調節など）に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In both normal and high-fat diet conditions, the body weights were decreased in LIT2-deficient mice compared to those in WT mice, although there were no changes in food intake between WT and LIT2-deficient mice. In addition, glucose tolerance and insulin sensitivity were increased in LIT2-deficient mice compared to those in WT mice. These results suggest that LIT2 regulates the actions of leptin such as energy expenditure and glucose metabolism rather than food intake in the hypothalamus.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：レプチン、視床下部、摂食調節、肥満、糖尿病

## 1. 研究開始当初の背景

動脈硬化性疾患（心筋梗塞や脳梗塞など）の危険因子として重要であるメタボリックシンドロームは、肥満（特に内臓脂肪の蓄積による腹部肥満）が原因で発症すると考えられているため、肥満を是正することが動脈硬化性疾患の予防につながると考えられている。肥満に対する治療は、食事療法や運動療法が中心に行われるが、重篤な肥満の治療には適切な治療薬の使用が必須とされており、世界的にも肥満症治療薬の開発が広く行わ

れている。肥満治療薬には、中枢性食欲抑制薬（マジンドールやジブトラミン）や脂肪吸収抑制薬（オルリスタット）などがあるが、我が国で認可されているものはマジンドールのみで、BMI35 以上の高度肥満に対して適応があるが、肺高血圧症や依存性の副作用が問題となっている。このような背景から現在、新たな肥満の治療薬の開発が急務である。

## 2. 研究の目的

レプチンは、視床下部において、摂食抑制・

エネルギー代謝亢進作用を有することより、肥満の治療薬として期待されていたが、肥満患者の大部分が「レプチン抵抗性」の状態にあるため、著効しないことが報告されている。申請者は、レプチン抵抗性の原因を解明すべく、レプチンにより誘導される未知の遺伝子 Leptin-Induced Transcript (LIT)2 をサブトラクティブ PCR 法により単離した。本研究は LIT2 の肥満に対する役割を解明し、肥満の予防、治療へとつなげることを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 野生型マウスの視床下部や種々の末梢組織における LIT2 の発現をリアルタイム PCR 法やウエスタンブロット法を用いて検討する。

(2) 普通食給餌下における LIT2 遺伝子欠損マウスの体重、組織重量、摂食量を測定し、腹腔内糖負荷試験、及びインスリン負荷試験により糖代謝異常の有無を検討する。

(3) 高脂肪食給餌下における LIT2 遺伝子欠損マウスの体重、組織重量、摂食量を測定する。

### 4. 研究成果

#### (1) LIT2 の発現の検討

①野生型マウスの視床下部における LIT2 の発現の検討

LIT2 は、視床下部においてレプチンにより誘導される分子としてサブトラクティブ PCR 法により単離された。そこで、LIT2 遺伝子のレプチンによる発現誘導をリアルタイム PCR 法を用いて検討したところ、視床下部においてレプチンにより LIT2 の発現誘導が認められた (図 1)。

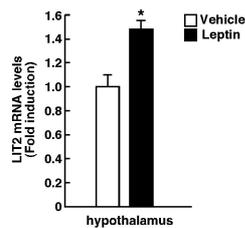


図 1 視床下部における LIT2 遺伝子のレプチンによる発現誘導

②野生型マウスの種々の組織における LIT2 の発現の検討

野生型マウスの腎臓、肝臓、骨格筋、脂肪、及び膵臓における LIT2 の発現強度を視床下部と比較したところ、腎臓や肝臓において非常に強い発現を認めたが、膵臓ではほとんど発現が認められなかった (図 2)。

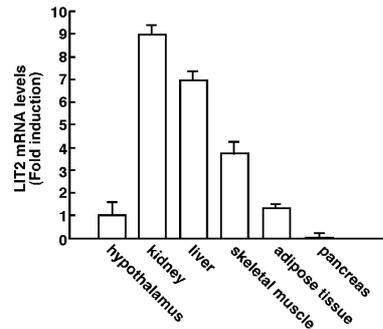


図 2 野生型マウスの種々の組織における LIT2 の発現の検討 (視床下部における LIT2 の発現量を 1 とした)

(2) 普通食給餌下における LIT2 遺伝子欠損マウスの解析

①LIT2 に対する抗体を作製し、ウエスタンブロット法を用いて LIT2 の発現を検討したところ、野生型マウスでは、腎臓、肝臓、及び視床下部において 29kDa の位置に LIT2 のバンドを認め、それらのバンドは LIT2 遺伝子欠損マウスでは認められなかった (図 3)。

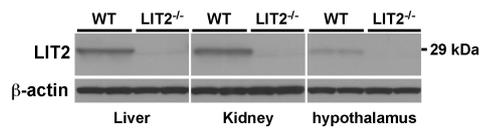


図 3 LIT2 遺伝子欠損マウスの腎臓、肝臓、及び視床下部における LIT2 の発現の欠損

②普通食給餌下において野生型マウスと LIT2 遺伝子欠損マウスの体重を測定した。LIT2 遺伝子欠損マウスは、普通食給餌下において野生型マウスと比較して体重が減少していた (図 4)。

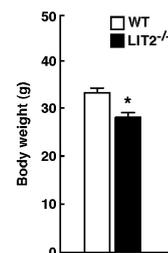


図 4 普通食給餌下における野生型マウスと LIT2 遺伝子欠損マウスの体重の検討

③体重減少の原因を検討するために LIT2 遺伝子欠損マウスの組織重量を測定したところ、皮下脂肪、内臓脂肪 (精巣上体脂肪)、肝臓の重量が野生型マウスと比較して減少していた (図 5)。

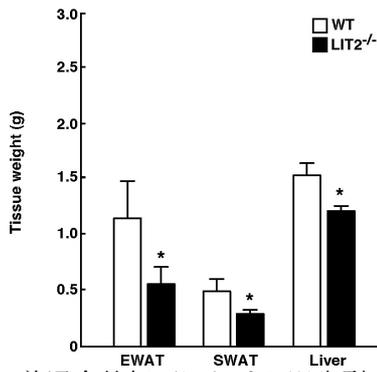


図 5 普通食給餌下における野生型マウスと LIT2 遺伝子欠損マウスの組織重量の検討

④レプチンは視床下部において摂食抑制作用を持つため、視床下部においてレプチンにより誘導される LIT2 も摂食調節作用を持つことが予想された。そこで、普通食給餌下における体重あたりの 1 日摂食量を測定したが、野生型と LIT2 遺伝子欠損マウスに間に差は認められなかった (図 6)。

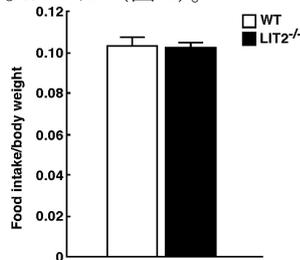


図 6 普通食給餌下における野生型マウスと LIT2 遺伝子欠損マウスの摂食量の検討

⑤レプチンは視床下部を介して糖代謝を制御することが知られている。LIT2 遺伝子欠損マウスにおける糖代謝異常の有無を検討するため、腹腔内糖負荷試験を行ったところ、糖負荷後の血糖値の上昇が LIT2 遺伝子欠損マウスでは野生型マウスと比較して抑制されており、耐糖能が上昇していた (図 7)。

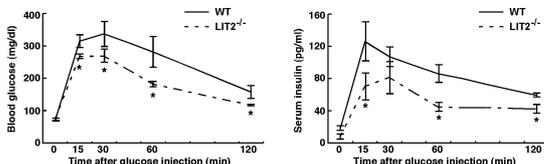


図 7 普通食給餌下における野生型マウスと LIT2 遺伝子欠損マウスの耐糖能の検討

⑥腹腔内糖負荷試験において、LIT2 遺伝子欠損マウスでは糖負荷後の血清インスリン値の上昇が抑制されていたことより、LIT2 遺伝子欠損マウスにおける耐糖能の上昇の原因としてインスリン感受性の上昇が想定された。インスリン負荷試験によりインスリン感受性を検討したところ、LIT2 遺伝子欠損マウス

スではインスリン負荷後の血糖値が野生型マウスと比較して低下しており、インスリン感受性が上昇していた (図 8)。

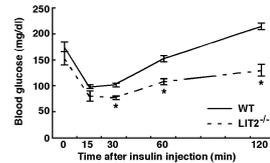


図 8 普通食給餌下における野生型マウスと LIT2 遺伝子欠損マウスのインスリン感受性の検討

(3) 高脂肪食給餌下における LIT2 遺伝子欠損マウスの解析

ヒトにおける肥満患者数の増加は、食事内容の脂質の増加が原因の一つであると考えられている。糖質、蛋白質、脂質の中でも脂質の割合が高い高脂肪食をマウスに給餌することにより実験的に肥満をおこさせることができる。野生型と LIT2 遺伝子欠損マウスに高脂肪食を給餌し、野生型で起こる肥満や過食が LIT2 遺伝子欠損マウスで起こるのかを検討した。

①高脂肪食給餌下において野生型マウスと LIT2 遺伝子欠損マウスの体重を測定した。LIT2 遺伝子欠損マウスは、高脂肪食給餌下において野生型マウスで起こる肥満が軽減していた (図 9)。

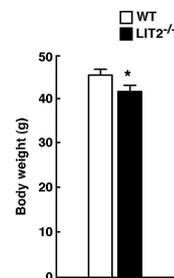


図 9 高脂肪食給餌下における野生型マウスと LIT2 遺伝子欠損マウスの体重の検討

②肥満が軽減していた原因を検討するために LIT2 遺伝子欠損マウスの組織重量を測定したところ、皮下脂肪や肝臓の重量が野生型マウスと比較して減少していた (図 10)。しかしながら、高脂肪食給餌下において、LIT2 遺伝子欠損マウスでは、内蔵脂肪 (精巣上体脂肪) 重量の増加が認められた (図 10)。

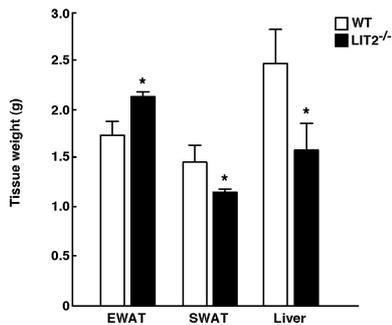


図 10 高脂肪食給餌下における野生型マウスと LIT2 遺伝子欠損マウスの組織重量の検討

③高脂肪食給餌下における摂食量を測定した。LIT2 遺伝子欠損マウスの体重あたりの摂食量は野生型と比較して増加する傾向にあったものの統計学的な有為差は認められなかった (図 11)。

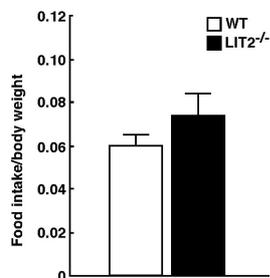


図 11 高脂肪食給餌下における野生型マウスと LIT2 遺伝子欠損マウスの摂食量の検討

## 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)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小森 忠祐 (KOMORI TADASUKE)  
和歌山県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号：90433359

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：