

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 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591175

研究課題名（和文） レプチンを用いた新しいメタボリックシンドローム治療法の開発

研究課題名（英文） Development of new therapies with leptin for the treatment of metabolic syndrome

研究代表者

海老原 健 (EBIHARA KEN)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：70362514

研究成果の概要（和文）：脂肪萎縮症においてレプチン治療が糖尿病、高脂血症、脂肪肝などの代謝異常を改善することをヒトにおいて明らかにしてきた。そこで本研究では、脂肪萎縮症以外にもより一般的な1型および2型糖尿病、高脂血症、脂肪肝において、レプチンが治療薬として有用であることを明らかにした。また、アミリンおよびGLP-1製剤が糖脂質代謝改善作用におけるレプチン抵抗性改善作用を発揮することを明らかにし、レプチン抵抗性状態における併用療法の有用性を示した。

研究成果の概要（英文）：We previously reported that leptin treatment effectively improves hyperglycemia, hypertriglyceridemia and fatty liver in patients with lipodystrophy. In the present study, with animal models, we revealed the efficacy of leptin in the treatment of type 1 and 2 diabetes, hyperlipidemia and fatty liver. Furthermore, we revealed the usefulness of combination therapy of leptin with amylin or GLP-1 in insulin resistant models.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：脂肪・糖尿病・脂肪萎縮症・セイピン・レプチン

1. 研究開始当初の背景

レプチンは脂肪細胞より分泌され主に視床下部に作用することにより強力な摂食抑制とエネルギー消費亢進をもたらす抗肥満ホルモンとして知られているが、これ以外にもレプチンは末梢のエネルギー状態（脂肪組織の蓄積量）を中枢に伝達し個体のエネルギーバランスを保つために糖脂質代謝調節作用をはじめとする様々な生理作用を有していることが明らかとなっている。メタボリックシンドロームではエネルギー代謝調節の破綻により肥満や糖尿病、高脂血症などが引き起こされていると考えられる。これまでに

も糖尿病や高脂血症に対する治療薬は存在したが、メタボリックシンドロームの起点とも考えられるエネルギー代謝調節の破綻を根本的に解決する治療方法は存在しなかった。しかしながら申請者らは脂肪萎縮症患者におけるレプチン治療を通してレプチンが糖尿病、高脂血症、脂肪肝など多岐にわたる代謝異常を改善することをヒトにおいて明らかにしてきた(N Engl J Med 351: 615-616, 2004, J Clin Endocrinol Metab 92: 532-541, 2007)。レプチンの多岐にわたるエネルギー代謝調節作用を利用することによりメタボリックシンドロームの根本的な治療法の開

発が期待できる。

2. 研究の目的

申請者らは脂肪萎縮症患者におけるレプチン治療を通してレプチンが糖尿病、高脂血症、脂肪肝など多岐にわたる代謝異常を改善することをヒトにおいて明らかにしてきた。そこで本研究では、脂肪萎縮症のみならず、一般の糖尿病や高脂血症、脂肪肝など、メタボリックシンドローム関連疾患を標的とした、レプチンの臨床応用の拡大を目指す。また、肥満者では血中レプチン濃度が上昇しているにもかかわらず肥満が是正されない「レプチン抵抗性」の状態にあると考えられている。したがって、病態発症の上流に肥満を有するメタボリックシンドロームへの臨床応用にはレプチン抵抗性の解決が不可欠である。そこで本研究では、レプチン感受性改善作用を有する薬剤との併用療法の開発も目指す。

3. 研究の方法

レプチンを用いた臨床応用の拡大に関する検討

(1) 1型糖尿病における有用性の検討：STZを用いてインスリン分泌低下型糖尿病モデルマウスを作製し、レプチン投与による低血糖発作の軽減や体重増加の抑制、脂肪肝に対する改善効果などレプチン治療の有用性について検討する。

(2) 体脂肪量の異なる2型糖尿病における有用性の検討：STZの用量を変えることによる残存インスリン分泌能の調節と、高脂肪食の脂肪含有量の調節により複数の体脂肪量の異なる2型糖尿病モデルマウスを作製し、レプチンの糖脂質代謝改善作用を比較解析する。

(3) 高中性脂肪血症モデルマウスを用いた基礎検討：マウスにイントラリピッドを投与し、レプチンによる中性脂肪をはじめとする脂質成分の生体における代謝に及ぼす影響を検討する。

(4) 非アルコール性脂肪肝モデルマウスを用いた基礎検討：近交系脂肪肝モデルマウス Fatty Liver Shionogi (FLS) マウスを用いてレプチンの非アルコール脂肪肝炎に対する治療効果を検討する。FLS マウスは肥満や糖尿病を来さずに脂肪肝を発症するモデルであり、より肝臓直接的なレプチンの治療効果を解析できるものと期待される。

レプチン感受性改善作用を有する薬剤の探索とその応用に関する検討

レプチンの体重減少作用において、レプチン感受性改善作用を有することが報告されているアミリンおよびGLP-1製剤について、レプチンの糖脂質代謝改善作用における併用療法の有用性を検討する。

4. 研究成果

レプチンを用いた臨床応用の拡大に関する検討

(1) 1型糖尿病における有用性の検討：STZを用いてインスリン分泌低下型糖尿病モデルマウスを作製し、レプチン投与を行った。レプチン投与により血糖コントロールの改善に必要なインスリン量を対照群の1/10以下にできることが明らかとな

(2) インスリン分泌低下とインスリン抵抗性を併せ持つ2型糖尿病における有用性の検討：低用量のSTZ投与と高脂肪食負荷によりインスリン分泌低下とインスリン抵抗性を併せ持つ2型糖尿病モデルマウスを作製した。このマウスは体脂肪量の増加とともに血中レプチン濃度の上昇も認められたが、レプチン投与により血糖コントロールの改善が認められた。

(3) 高中性脂肪血症モデルマウスを用いた基礎検討：レプチン過剰発現トランスジェニックマウスにイントラリピッドを投与し、中性脂肪をはじめとする脂質成分の代謝を検討したところ、対照マウスと比較し、LPL活性の上昇とともに中性脂肪代謝の亢進が認められた。

(4) 非アルコール性脂肪肝モデルマウスを用いた基礎検討：近交系脂肪肝モデルマウス Fatty Liver Shionogi (FLS) マウスに対しレプチン投与を行ったところ、脂肪肝の著明な改善が認められた。この効果は Pair-fed 群では観察されなかった。

以上より、1型糖尿病、2型糖尿病、高中性脂肪血症および脂肪肝の治療薬としてレプチンが有用である可能性が示された。今後、メタボリックシンドローム領域へのレプチンの臨床応用の拡大が期待される。

レプチン感受性改善作用を有する薬剤の探索とその応用に関する検討

レプチン抵抗性の食事誘導性 (DIO) マウスにおいてレプチンあるいはアミリンの単独投与では糖脂質代謝の改善は観察されなかった。一方、レプチンとアミリンの共投与において明らかな糖脂質代謝の改善が認められた。膵β細胞機能が保たれた状態ではアミリンは糖代謝改善作用を示さないことから、レプチンの糖脂質代謝改善作用をアミリンが増強したものと考えられた。また、同様の検討によりまたGLP-1製剤であるexendin-4にも摂食抑制作用や体重減少作用、糖脂質代謝改善作用におけるレプチン抵抗性改善作用あるいはレプチン作用増強作用があることが示された。レプチン抵抗性の肥満者においてもアミリンあるいはGLP-1製剤と併用することによりレプチンの糖脂質代謝改善薬としての有用性が期待される。

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 14 件)

- ① T. Kusakabe, K. Ebihara (11 人中 2 番目), Amylin improves the effect of leptin on insulin sensitivity in leptin-resistant diet-induced obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 302:E924-E931, 2012. 査読有. 10.1152/ajpendo.00198.2011
- ② M. Naito, K. Ebihara (11 人中 3 番目), Therapeutic impact of leptin on diabetes, diabetic complications, and longevity in insulin-deficient diabetic mice. *Diabetes.* 9:2265-2273, 2011. 査読有. 10.2337/db10-1795
- ③ M. Zhao, K. Ebihara (8 人中 4 番目), Azilsartan treatment improves insulin sensitivity in obese spontaneously hypertensive Koletsky rats. *Diabetes Obes Metab.* 12:1123-1129, 2011. 査読有. 10.1111/j.1463-1326.2011.01471.x
- ④ N. Yamada, K. Ebihara (8 人中 4 番目), Impaired CNS Leptin Action Is Implicated in Depression Associated with Obesity. *Endocrinology.* 152:2634-2643, 2011. 査読有. 10.1210/en.2011-0004
- ⑤ X. Rong, K. Ebihara (8 人中 3 番目), Irbesartan treatment up-regulates hepatic expression of PPAR α and its target genes in obese Koletsky (fak/fak) rats: a link to amelioration of hypertriglyceridaemia. *Br J Pharmacol.* 160:1796-1807, 2010. 査読有. 10.1111/j.1476-5381.2010.00835.x
- ⑥ X. Rong, K. Ebihara (9 人中 3 番目), Angiotensin II type 1 receptor-independent beneficial effects of telmisartan on dietary-induced obesity, insulin resistance and fatty liver in mice. *Diabetologia.* 53:1727-1731, 2010. 査読有. 10.1007/s00125-010-1744-6
- ⑦ S. Yasue, K. Ebihara (20 人中 8 番目), Adipose tissue-specific regulation of angiotensinogen in obese humans and mice: impact of nutritional status and adipocyte hypertrophy. *Am J Hypertens.* 23:425-431, 2010. 査読有. 10.1038/ajh.2009.263
- ⑧ S. Okada, K. Ebihara (20 人中 12 番目), Adipose tissue-specific dysregulation

of angiotensinogen by oxidative stress in obesity. *Metabolism.* 59:1241-1251, 2010. 査読有.

10.1016/j.metabol.2009.11.016

- ⑨ T. Ishii-Yonemoto, K. Ebihara (13 人中 11 番目), Glucocorticoid reamplification within cells intensifies NF κ B and MAPK signaling and reinforces inflammation in activated preadipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 298:E930-940, 2010. 査読有. 10.1152/ajpendo.00320.2009
- ⑩ M. Iwanishi, K. Ebihara (8 人中 2 番目), Clinical characteristics and efficacy of pioglitazone in a Japanese diabetic patient with an unusual type of familial partial lipodystrophy. *Metabolism.* 58:1681-1687, 2009. 査読有. 10.1016/j.metabol.2009.04.043
- ⑪ K. Nakao, K. Ebihara (5 人中 3 番目), Translational research of novel hormones: lessons from animal models and rare human diseases for common human diseases. *J Mol Med.* 87:1029-1039, 2009. 査読有. 10.1007/s00109-009-0515-7
- ⑫ H. Masuzaki, K. Ebihara (5 人中 3 番目), Hypothalamic melanocortin signaling and leptin resistance—perspective of therapeutic application for obesity-diabetes syndrome. *Peptides.* 30:1383-1386, 2009. 査読有. 10.1016/j.peptides.2009.04.008
- ⑬ T. Kusakabe, K. Ebihara (12 人中 3 番目), Beneficial effects of leptin on glycaemic and lipid control in a mouse model of type 2 diabetes with increased adiposity induced by streptozotocin and a high-fat diet. 査読有. 10.1007/s00125-009-1258-2
- ⑭ N. Yamada, K. Ebihara (7 人中 5 番目), Orexins increase mRNA expressions of neurotrophin-3 in rat primary cortical neuron cultures. *Neurosci Lett.* 30:132-135, 2009. 査読有. 10.1016/j.neulet.2008.11.028

[学会発表] (計 19 件)

- ① Daisuke Aotani, Leptin Modulates Brain Activity Associated With Feeding Behavior in Patients With Lipodystrophy, WORKSHOP ON RARE SYNDROMIC BODY FAT DISORDERS What Can They Teach Us?, 2012 年 3 月 1 日-2 日, Lister Hill Auditorium(USA)

- ② 海老原健, 脂肪委縮症を対象としたレプチン補充療法における fMRI を用いた摂食関連脳神経活動の解析, 第 54 回日本神経化学会, 2011 年 9 月 26 日-28 日, 加賀市
- ③ 海老原健, 遺伝子改変ラットの解析とトランスレーショナルサイエンス, 第 47 回高血圧関連疾患モデル学会学術総会, 2011 年 9 月 6 日-7 日, 札幌市
- ④ 海老原健, 脂肪細胞由来ホルモン、レプチンのトランスレーショナルリサーチ, 第 7 回宮崎サイエンスキャンプ, 2011 年 2 月 25 日-27 日, 宮崎市
- ⑤ 海老原健, The role of leptin in the energy metabolism-lessons from the treatment of lipodystrophy-, 第 31 回日本肥満学会, 2010 年 10 月 1 日-2 日, 前橋市
- ⑥ Ken Ebihara, Lipodystrophy and leptin-replacement therapy in Japan, 14th International Congress of Endocrinology, 2010 年 3 月 26 日-30 日, Kyoto(Japan)
- ⑦ Toru Kusakabe, Amylin potentiates the leptin-induced enhancement of glucose and lipid metabolism in diet-induced obese mice, 14th International Congress of Endocrinology, 2010 年 3 月 26 日-30 日, Kyoto(Japan)
- ⑧ Takeru Sakai, Amylin potentiates the leptin-induced enhancement of glucose and lipid metabolism in diet-induced obese mice, 14th International Congress of Endocrinology, 2010 年 3 月 26 日-30 日, Kyoto(Japan)
- ⑨ Daisuke Aotani, Leptin modulates brain activity associated with feeding behavior in patients with lipodystrophy, 14th International Congress of Endocrinology, 2010 年 3 月 26 日-30 日, Kyoto(Japan)
- ⑩ Hitomi Iogawa, Leptin improved glycemic control with a dramatic reduction of visceral fat in a patient with Dunnigan variety of familial partial lipodystrophy, 14th International Congress of Endocrinology, 2010 年 3 月 26 日-30 日, Kyoto(Japan)
- ⑪ Sachiko Yamamoto-Kataoka, The therapeutic possibility of leptin: The new remedy of fatty liver, 14th International Congress of Endocrinology, 2010 年 3 月 26 日-30 日, Kyoto(Japan)
- ⑫ Megumi Aizawa-Abe, A case of cholangiocarcinoma in congenital generalized lipodystrophy, 14th International Congress of Endocrinology, 2010 年 3 月 26 日-30 日, Kyoto(Japan)
- ⑬ Daisuke Aotani, Leptin modulates brain activity associated with feeding behavior in patients with lipodystrophy, Keystone Symposia, 2010 年 1 月 24 日-29 日, Colorado(USA)
- ⑭ Ken Ebihara, Lipodystrophy and leptin-replacement therapy in Japan, The 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides, 2009 年 10 月 5 日-8 日, Kagoshima(Japan)
- ⑮ Toru Kusakabe, Beneficial effects of leptin on glycemic and lipid control in a mouse model of type 2 diabetes with increased adiposity induced by streptozotocin and a high-fat diet, The Endocrine Society 91th Annual Meeting, 2009 年 6 月 10 日-13 日, Washington DC(USA)
- ⑯ 五百川仁見, 部分性脂肪萎縮症におけるレプチン補充療法, 第 30 回日本肥満学会, 2009 年 10 月 9 日-10 日, 静岡市
- ⑰ 海老原健, 食欲制御とインスリン感受性を基盤としたレプチンのトランスレーショナルリサーチ, 第 52 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2009 年 5 月 21 日-24 日, 大阪市
- ⑱ 日下部徹, レプチンの 2 型糖尿病治療薬としての有用性に関する検討, 第 82 回日本内分泌学会学術総会, 2009 年 4 月 23 日-25 日, 前橋市
- ⑲ 日下部徹, 2 型糖尿病におけるレプチンの抗糖尿病薬としての可能性に関する検討, 第 46 回日本臨床分子医学会学術集会, 2009 年 4 月 12 日-13 日, 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

海老原 健 (EBIHARA KEN)
 京都大学・医学研究科・准教授
 研究者番号：70362514

(2) 研究協力者

阿部 恵 (ABE MEGUMI)
 京都大学・医学研究科・助教
 研究者番号：20568688

日下部 徹 (KUSAKABE TORU)
 京都大学・医学研究科・助教
 研究者番号：60452356

青谷 大介 (AOTANI DAISUKE)
 京都大学・医学研究科・助教
 研究者番号：80600494