

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 5 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791054

研究課題名（和文）

レプチン抵抗性の発症および改善メカニズムの解明

研究課題名（英文）

Elucidation of development and improvement of leptin resistance

研究代表者

日下部 徹（KUSAKABE TORU）

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：60452356

研究成果の概要（和文）：肥満 2 型糖尿病モデルマウスを用いて、脂肪細胞由来ホルモンであるレプチンと GLP-1 受容体作動薬であるエキセナチドの共投与は、各単独投与と比較してより強い摂食抑制作用、体重減少作用を示し、かつレプチンが持つ異所性脂肪蓄積の減少作用の増強、GLP-1 受容体作動薬が持つインスリン初期分泌促進作用の増強など、互いの作用を増強することが示された。今回得られた結果は、レプチン/エキセナチドの共投与が肥満 2 型糖尿病に対する有用な治療薬になり得ることを意味する。

研究成果の概要（英文）：Coadministration of leptin and exenatide significantly reduced food intake and body weight in obese type2 diabetic mice, compared with either monotherapy alone. Moreover, coadministration of leptin and exenatide normalized blood glucose levels accompanied by improvement of insulin sensitivity, restoration of glucose stimulated insulin secretion, normalization of triglyceride contents in non-adipose tissues, improvement of plasma glucagon levels and restoration of pancreatic insulin contents, while not each monotherapy. Pair-feeding experiments indicated that exenatide enhanced the leptin's effects through independent mechanism of caloric restriction. These findings suggest that coadministration of leptin and exenatide could be a beneficial treatment for obese type2 diabetes by eliciting leptin's effects.

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	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内分泌学

キーワード：レプチン・レプチン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

脂肪細胞由来ホルモンであるレプチンは、抗肥満作用、抗糖尿病作用を有しており、肥満とともに糖尿病、脂質異常症を合併するメタボリックシンドロームを包括的に治療できる可能性を有している。実際、レプチン欠損症、脂肪萎縮症のように著しい低レプチン血症を呈する疾患においては、低レプチン血

症自体が病態発症に関与しており、申請者らは、脂肪萎縮症で認められる代謝異常に対してレプチン補充療法が著効することを報告した（*J Clin Endocrinol Metab* 92:532-541, 2007）。

さらに申請者らは、1 型糖尿病のようなインスリン分泌低下型糖尿病、肥満 1 度程度の軽度肥満 2 型糖尿病においてレプチン投与が

有効な治療法になる得ることを報告してきた (*Diabetologia* 46:1329, 2003; *Diabetologia* 52:675-683, 2009)。しかしながら、肥満度の進行とともにレプチン作用の減弱が観察され、肥満を伴うメタボリックシンドロームにおいては、レプチン単独での臨床応用には限界があると考えられた。

近年、膵β細胞由来ホルモン、アミリンがレプチンの抗肥満作用を回復させることが報告された。申請者らも、高脂肪食負荷により作製した肥満マウスを用いて、レプチン/アミリンの共投与がレプチンの抗肥満作用だけではなく抗糖尿病作用も回復・増強させることを示した (*Am J Physiol Endocrinol Metab* 302:E924-E931, 2012)。しかしながら、アミリンによるレプチン抵抗性の改善メカニズムは十分には明らかにされておらず、またその他のレプチン抵抗性改善薬の可能性についての報告はない。レプチン抵抗性の発症および改善メカニズムを明らかにすることは、今後、メタボリックシンドロームの包括的治療を考えるにあたり重要な知見をもたらすと考えられる。

2. 研究の目的

消化管由来ホルモンである Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) も、中枢神経系を介した摂食抑制、体重減少作用を有しており、中枢神経系でレプチンと相互作用を示す可能性が考えられる。また GLP-1 の血糖依存的インスリン分泌 (GSIS) 促進作用は、膵臓の脂肪蓄積 (lipotoxicity) により減弱することが報告されているが、レプチンによる lipotoxicity の改善が、GLP-1 による GSIS 促進作用を改善する可能性があり、両者が互いの作用を増強することが想定される。

そこで本研究では、新規のレプチン抵抗性改善薬としての GLP-1 受容体作動薬 (エキセナチド) の可能性を検討し、レプチン抵抗性の発症および改善メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

低用量のストレプトゾトシン (STZ) 投与により膵β細胞を部分的に障害し、かつ高脂肪食 (HFD) 負荷により肥満、インスリン抵抗性を誘導して作成した肥満2型糖尿病モデルマウス (STZ/HFD) (*Diabetologia* 52:675-683, 2009) を用いて、レプチン (L, 500μg/kg/日)、GLP-1 受容体作動薬であるエキセナチド (EX, 20μg/kg/日) を2週間持続皮下投与し、摂食、体重、糖脂質代謝への影響およびそのメカニズムを検討した。

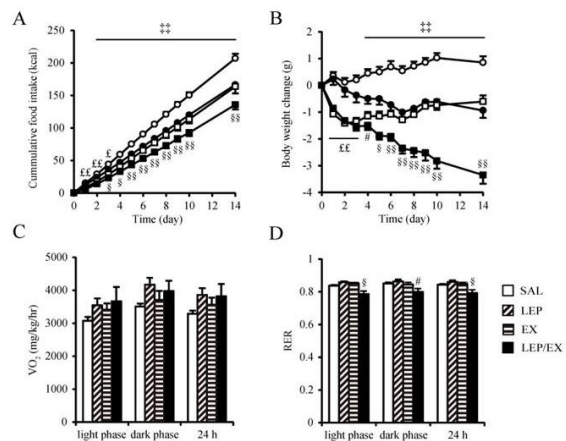
また肝臓でレプチンを過剰発現するトランスジェニックマウスに高脂肪食を負荷し

てレプチン抵抗性を誘導したマウス (LepTg/HFD) に対する GLP-1 受容体作動薬の効果も検討した。

4. 研究成果

【レプチン/エキセナチド共投与の摂食およびエネルギー消費、体重に対する効果】

レプチン/エキセナチド共投与 (L+E) 群では、2週間の持続投与後、生理食塩水 (S) 群および L、E 単独群と比較して、有意な摂食抑制 (L: -19.5 ± 2.8 , E: -21.0 ± 2.9 , L+E: -34.4 ± 2.1 [%: S 群に対する減少率])、体重減少 (S: $+0.85 \pm 0.23$, L: -0.94 ± 0.28 , E: -0.61 ± 0.23 , L+E: -3.4 ± 0.32 [g]) が認められた。また、L+E 群では、呼吸商の低下が認められ、脂質利用の促進が示された。(データは平均±SE で示している。)



【レプチン/エキセナチド共投与の糖代謝に対する効果】

L+E 群でのみ随時血糖値の正常化が認められた (S: 501.4 ± 29.1 , L: 337.5 ± 36.1 , E: 299.1 ± 33.7 , L+E: 171.1 ± 8.2 [mg/dl])。詳細に糖代謝に対する効果を検討する目的で、インスリン負荷試験、糖負荷試験を施行したところ、他群と比較して L+E 群では、インスリン負荷試験でのより強い血糖値の低下や、ブドウ糖負荷試験での血糖上昇の有意な抑制が観察された。さらに、STZ/HFD マウスで認められた GSIS の障害は、L、E 各単独群においては、有意な改善が認められなかったが、L+E 群では、他群と比較しても有意な GSIS の改善が認められた。

【レプチン/エキセナチド共投与の異所性脂肪蓄積、膵臓内インスリン含量に対する効果】

L+E 群でのみ、肝臓、骨格筋、膵臓内の中性脂肪含量の正常化 (異所性脂肪蓄積の改善)、血中グルカゴン値の有意な改善、膵臓内インスリン含量の有意な増加が認められた。

【ペアフィーディング実験】

ペアフィーディング実験により、L+E による糖脂質代謝改善効果は単なる摂餌制限以上の効果であることが示された。また摂餌制限は、レプチン抵抗性を改善させることが知られているが、E 群と同程度に摂餌制限を加え、レプチンを投与した群と比較しても、L+E 群は有意な摂食抑制、体重減少作用を示したことから、エキセナチドは摂食抑制以外の何らかの直接的なメカニズムにより、レプチン作用を改善した可能性が示された。

【LepTg/HFD マウスに対するエキセナチドの効果】

LepTg/HFDマウスを用いて、レプチン抵抗性改善薬評価系を確立した。この評価系を用いて、以前に報告したアミリンによるレプチン抵抗性改善作用を評価することができた (*Am J Physiol Endocrinol Metab* 302:E924-E931, 2012)。今回同様に、LepTg/HFDマウスに、エキセナチドを投与したところ、野生型マウスと比較してより強い、摂食抑制作用が観察されたことから、エキセナチドによるレプチン抵抗性改善が示唆され、これまでの結果の妥当性を裏付けるものとなった。

以上より、肥満2型糖尿病モデルマウスにおいて、レプチン/エキセナチド共投与により、各単独投与よりも強い摂食抑制、体重減少、インスリン感受性亢進やGSIS促進を伴う耐糖能改善と血糖値の正常化、および異所性脂肪蓄積の正常化が認められた。また、主にレプチン投与により認められる呼吸商低下、異所性脂肪蓄積減少作用がより増強されていたことから、エキセナチドによりレプチン作用が改善されたこと、またレプチンにより膵臓におけるLipotoxicityが軽減され、エキセナチドのGSIS促進作用が改善されたことが示唆された。これらの結果より、レプチン/GLP-1受容体作動薬共投与による肥満2型糖尿病治療に対する有用性が示された。今後、これら作用増強のメカニズムの詳細を解明する予定である。

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5件)

- ① L. Miyamoto, K. Ebihara, T. Kusakabe, D. Aotani, S. Yamamoto-Kataoka, T. Sakai, M. Aizawa-Abe, Y. Yamamoto, J. Fujikura, T. Hayashi, K. Hosoda, K. Nakao, Leptin activates hepatic 5' AMP-Activated Protein Kinase through sympathetic nervous system

and $\alpha 1$ adrenergic receptor: A potential mechanism for improvement of fatty liver in lipodystrophy by leptin, *J Biol Chem*, 査読有、287 巻、2012、40441- 40447、DOI: 10.1074/jbc.M112.384545

- ② M. Iwanishi, K. Ebihara, T. Kusakabe, S. Harada, J. Ito-Kobayashi, A. Tsuji, K. Hosoda, K. Nakao K, Premature atherosclerosis in a Japanese diabetic patient with atypical familial partial lipodystrophy and hypertriglyceridemia, *Intern Med*, 査読有、51 巻、2012、2573-2579、DOI: 10.2169/internalmedicine.51.7461
- ③ D. Aotani, K. Ebihara, N. Sawamoto, T. Kusakabe, M. Aizawa-Abe, S. Kataoka, T. Sakai, H. Iogawa, C. Ebihara, J. Fujikura, K. Hosoda, H. Fukuyama, K. Nakao、Functional Magnetic Resonance Imaging Analysis of Food-Related Brain Activity in Patients with Lipodystrophy Undergoing Leptin Replacement Therapy, *J Clin Endocrinol Metab*, 査読有、97 巻、2012、3663- 3671、DOI: 10.1210/jc.2012-1872
- ④ N. Yamada-Goto, G. Katsuura, Y. Ochi, K. Ebihara, T. Kusakabe, K. Hosoda, K. Nakao, Impairment of fear-conditioning responses and changes of brain neurotrophic factors in diet-induced obese mice, *J Neuroendocrinol*, 査読有、24 巻、2012、1120-1125、DOI: 10.1111/j.1365-2826.2012.02327.x
- ⑤ T. Kusakabe, K. Ebihara, T. Sakai, L. Miyamoto, D. Aotani, Y. Yamamoto, S. Yamamoto-Kataoka, M. Aizawa-Abe, J. Fujikura, K. Hosoda, K. Nakao, Amylin improves the effect of leptin on insulin sensitivity in leptin-resistant diet-induced obese mice, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 査読有、302 巻、2012、E924-931、DOI:10.1152/ajpendo.00198.2011

〔学会発表〕(計16件)

- ① 酒井 建、インスリン抵抗性と異所性脂肪蓄積の関連が示唆された Werner 症候群の一例、第 49 回日本糖尿病学会近畿地方会、2012 年 11 月 17 日、京都市
- ② 海老原健、肥満症治療におけるレプチンの可能性、第 33 回日本肥満学会、2012 年 10 月 11 日-12 日、京都市
- ③ 酒井 建、レプチン/GLP-1 受容体作動薬共投与による肥満2型糖尿病治療の有用性、第 33 回日本肥満学会、2012 年 10 月 11 日-12 日、京都市
- ④ 酒井 建、Beneficial Effects of Combination Therapy With Leptin and Exenatide in a Mouse Model of Type2 Diabetes With Increased Adiposity、72nd scientific sessions American Diabetes

- Association、2012年6月8日-12日、フィラデルフィア（アメリカ）
- ⑤ 酒井 建、レプチン/GLP-1 受容体作動薬共投与による肥満2型糖尿病治療の有用性、第55回日本糖尿病学会年次学術集会、2012年5月17日-19日、横浜市
- ⑥ 青谷 大介、Leptin Modulates Brain Activity Associated With Feeding Behavior in Patients With Lipodystrophy、19th European Congress on Obesity、2012年5月9日-12日、リヨン（フランス）
- ⑦ 青谷大介、Leptin modulates brain neural activity associated with feeding behavior in patients with lipodystrophy、15th International & 14th European Congress of Endocrinology、2012年5月5日-9日、フィレンツェ（イタリア）
- ⑧ 日下部 徹、レプチン、アミリン共投与による糖脂質代謝改善に関する検討、第85回日本内分泌学会学術総会、2012年4月19日-21日、名古屋市
- ⑨ 日下部 徹、肥満2型糖尿病に対するレプチン、アミリン共投与の有用性に関する検討、第109回日本内科学会総会、2012年4月13日-15日、京都市
- ⑩ 青谷大介、fMRI を用いた、脂肪萎縮症の食欲異常およびレプチン治療による効果の検討、第109回日本内科学会総会、2012年4月13日-15日、京都市
- ⑪ 青谷大介、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、ベセスダ（アメリカ）
- ⑫ 日下部 徹、上半身のみ脂肪萎縮を呈し糖脂質代謝異常を伴わない後天性部分性脂肪萎縮症の一例、第32回日本肥満学会、2011年9月23日-24日、淡路市
- ⑬ 酒井 建、肥満2型糖尿病におけるレプチン/エキセンディン4共投与の有用性、第32回日本肥満学会、2011年9月23日-24日、淡路市
- ⑭ 青谷大介、脂肪萎縮症における食欲異常および摂食関連脳領域の神経活動に対するレプチン補充療法の効果、第32回日本肥満学会、2011年9月23日-24日、淡路市
- ⑮ 青谷大介、脂肪萎縮性糖尿病における食欲異常および脳神経活動に対するレプチン治療の効果の解析、第54回日本糖尿病学会年次学術集会、2011年5月19日-21日、札幌市
- ⑯ 青谷大介、脂肪萎縮症における食欲異常および脳神経活動に対するレプチン治療の効果の解析、第84回日本内分泌学

会学術総会、2011年4月21日-23日、神戸市

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

なし

○取得状況（計0件）

なし

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日下部 徹 (KUSAKABE TORU)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：60452356

(2) 研究分担者

なし