

37

助成番号 0037

肥満遺伝子産物(レプチン)の血圧・水電解質代謝調節作用
—レプチン過剰発現トランスジェニックマウスを用いて—

助成研究者：小川 佳宏 (京都大学大学院医学研究科)
 共同研究者：海老原 健 (日本学術振興会特別研究員)
 新谷 光世 (京都大学大学院医学研究科)
 阿部 恵 (京都大学大学院医学研究科)
 宮永 史子 (京都大学大学院医学研究科)

肥満にはしばしば高血圧が合併すること、減量により降圧が認められることがよく知られており、肥満は高血圧の主要なリスクファクターと考えられている。肥満では、インスリン抵抗性あるいはそれに伴う高インスリン血症により、交感神経活動の亢進あるいは腎尿細管におけるナトリウム再吸収の促進がもたらされることなどが血圧の上昇に寄与すると考えられているが、その分子機構には不明な点が多い。

レプチンは、脂肪組織より分泌され、主に視床下部を介して強力な摂食抑制やエネルギー消費亢進をもたらすホルモンであり、肥満や体重増加の制御に関与すると考えられている。血中レプチン濃度は、肥満者において体脂肪量に比例して上昇することが知られており、臨床的には体脂肪量の優れた化学的指標になるが、高レプチン血症が肥満や関連疾患の病態に関与することが示唆される。

我々は既に、重症肥満者と同程度に血中濃度が上昇するレプチン過剰発現トランスジェニックマウスの作製に成功し、全身の脂肪組織が消失するほどの著しい痩せを呈することを報告している (transgenic skinny mice) (Diabetes 48: 1822, 1999)。このマウスでは、インスリン感受性亢進を伴う糖代謝亢進と交感神経活動亢進を伴う血圧上昇が認められる (Diabetes 48: 1822, 1999; J. Clin. Invest. 105: 1243, 2000)。又、レプチン過剰発現トランスジェニックマウス (Tg/+)と遺伝的肥満・糖尿病 KKA^y マウス (A^y/+)を交配することにより得られる Tg/+; A^y/+マウス (Diabetes 48: 1615, 1999) や A^y/+マウスでは、高レプチン血症とともに血圧の上昇が認められる。カロリー制限により A^y/+マウスでは体重及び血中レプチン濃度の著しい低下とともに明らかな血圧の低下が認められた。一方、Tg/+; A^y/+マウスではカロリー制限後にも高レプチン血症が持続し、血圧低下は認められなかった (J. Clin. Invest. 105: 1243, 2000)。以上より、持続的な高レプチン血症は、インスリン抵抗性や高インスリン血症を伴わずに交感神経活動亢進により血圧を上昇させること、又、持続的に高レプチン血症を維持することにより、減量時の血圧低下が認められなくなることが明らかになり、肥満に合併する高血圧におけるレプチンの病態生理的意義が示唆された。

2

助成番号 0037

肥満遺伝子産物 (レプチン) の血圧・水電解質代謝調節作用
—レプチン過剰発現トランスジェニックマウスを用いて—

助成研究者：小川 佳宏 (京都大学大学院医学研究科臨床病態医科学)

共同研究者：海老原 健 (日本学術振興会特別研究員)

新谷 光世 (京都大学大学院医学研究科臨床病態医科学)

阿部 恵 (京都大学大学院医学研究科臨床病態医科学)

宮永 史子 (京都大学大学院医学研究科臨床病態医科学)

1. 研究目的

肥満遺伝子産物であるレプチンは、脂肪組織から分泌される新しい飽食因子であり、視床下部に存在するレプチン受容体を介して強力な摂食抑制と交感神経活動亢進によるエネルギー消費亢進をもたらす。肥満や体重増加の抑制に関与すると考えられている。脂肪組織におけるレプチン産生は、肥満者において著しく亢進し、肥満や肥満の合併症における高レプチン血症の病態生理的意義が注目されている。本研究は我々が作製したレプチン過剰発現トランスジェニックマウスを用いて、肥満に合併する高血圧におけるレプチンの病態生理的意義を検討するものである。

2. 研究方法

レプチン過剰発現トランスジェニックマウス(Tg/+)と対照マウス(+/)の収縮期血圧と心拍数を tail cuff 法にて測定した。更に交感神経遮断薬の効果を検討した。また、肥満2型糖尿病モデルマウスであるKKA^yマウス(A^y/+)及び Tg/+とA^y/+を交配して得られる4つの遺伝子型のマウス(Tg/+ : A^y/+)の血圧を測定し、カロリー制限前後の血圧変化を測定した。

3. 研究結果

12週齢雄性 Tg/+の収縮期血圧は 119 ± 2 mmHg であり、+/+ (102 ± 3 mmHg) と比較して有意の血圧上昇が観察された ($P < 0.001$) (図 1)。一方、心拍数は両者の間に有意差を認めなかった。Tg/+の1日尿中ノルエピネフリン、エピネフリン排泄量は+/+と比較して

それぞれ 2.2 倍、2.6 倍に増加しており、交感神経活動の亢進が示唆された。更に+/+の血圧を変化させない低容量の α 受容体遮断剤(塩酸ブナゾシン $5\mu\text{g/g}$) 交感神経節遮断剤(ヘキサメトニウム $3\mu\text{g/g}$) あるいは β 受容体遮断剤(プロプラノール $6\mu\text{g/g}$)により Tg+/の収縮期血圧は+/+と同程度にまで低下した(図 2)。 α -MSH 特異的拮抗剤である SHU9119 の側脳室内投与により Tg+/の摂食量は明らかに増加したが、血圧の変化は認められなかった(図 3)。

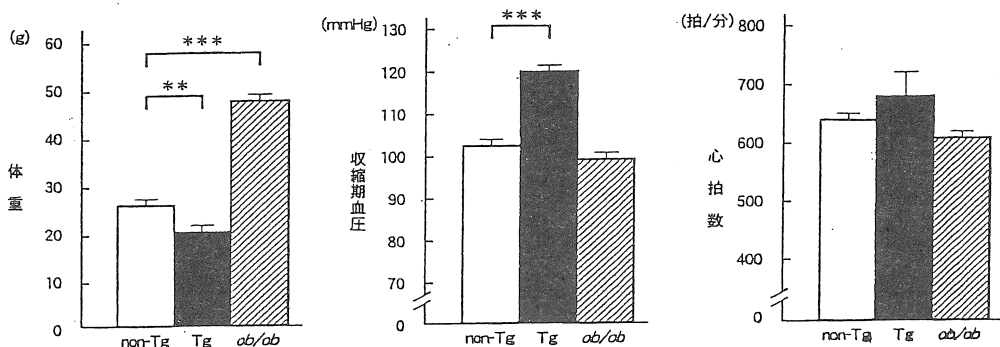


図 1 レプチン過剰発現トランスジェニックマウスおよび ob/ob マウスの体重, 収縮期血圧, 心拍数

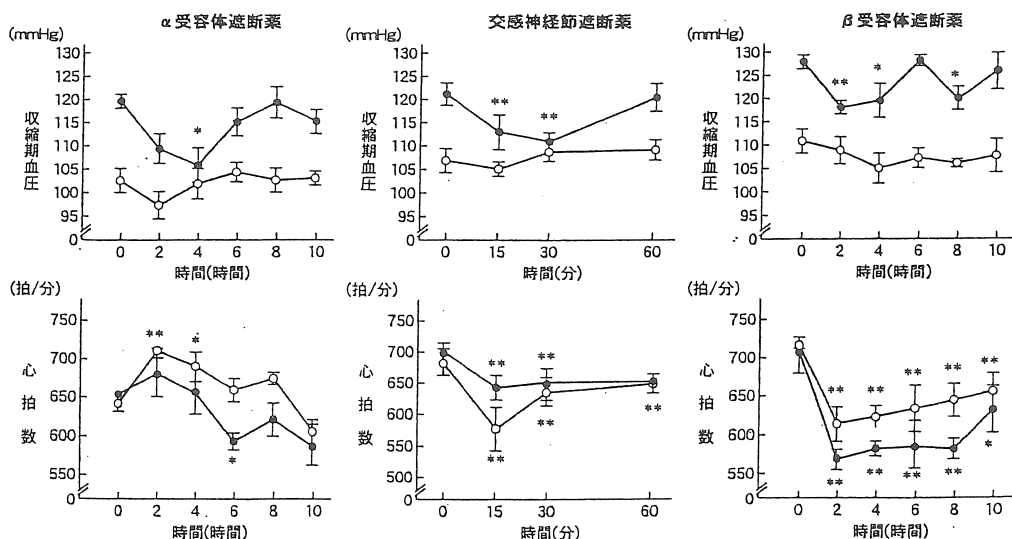


図 2 レプチン過剰発現トランスジェニックマウスにおける交感神経遮断薬投与時の収縮期血圧(上段)および心拍数(下段)

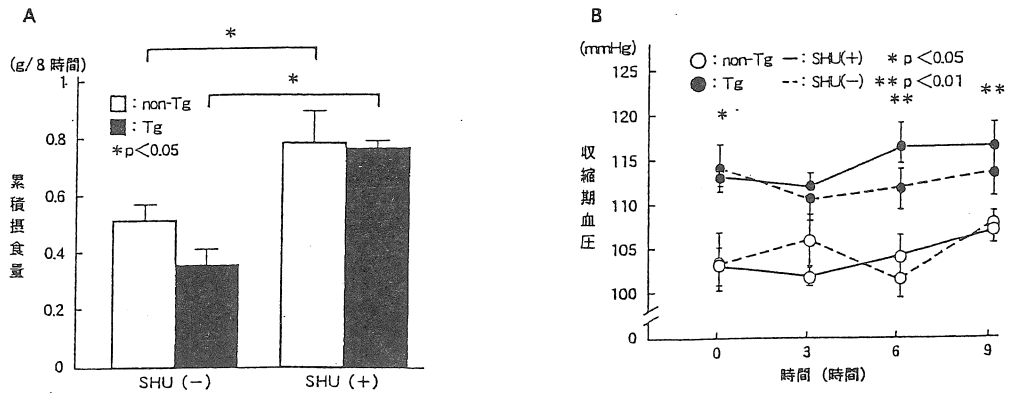


図3 レプチン過剰発現トランスジェニックマウスにおける SHU9119 投与時の累積摂食量(A)および収縮期血圧(B)

12週齢雄性 KKA^y マウス及び対照 KK マウスの体重、収縮期血圧、血中レプチン濃度、尿中カテコラミン排泄量を測定したところ、 KKA^y マウスの体重は、 KK マウスと比較して約30%増加しており、血中レプチン濃度は約3.3倍に上昇していた (28.6 ± 1.9 vs 8.7 ± 1.5 ng/ml, $n=5$, $P<0.01$)。 KKA^y マウスでは、 KK マウスと比較して尿中カテコラミン排泄量の増加を伴う収縮期血圧の有意な上昇が認められた (116.3 ± 1.6 vs. 103.1 ± 3.6 mmHg, $n=5$, $P<0.01$)。

16週齢雄性 $Tg^+;A^y/+$ では、 $A^y/+$ と同程度の肥満、血圧上昇、高レプチン血症が認められた。自由摂食時の60%の摂食制限を14日間施行したところ、 $A^y/+$ では体重および血中レプチン濃度の著しい低下とともに明らかな収縮期血圧、尿中カテコラミン排泄量の低下が認められた。一方、 $Tg^+;A^y/+$ では高レプチン血症と尿中カテコラミン排泄量の増加が持続して観察され、血圧低下は認められなかった(図4)。

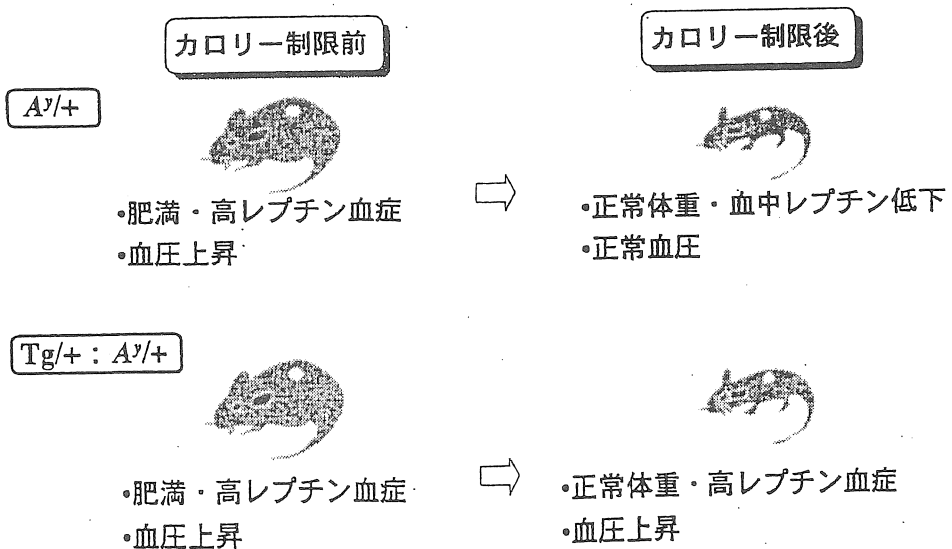


図4 カロリー制限前後における $A^y/+$ と $Tg^+;A^y/+$ の血圧の変化

4. 考察

Tg/+では α 交感神経活動の亢進により血圧が上昇することが明らかになった一方、レプチンの血圧上昇作用は、摂食抑制作用に関与する視床下部メラノコルチン系を介さないことが示唆された。高レプチン血症を有する KKA^y マウスでは交感神経活動亢進に伴う血圧上昇が認められ、減量により血中レプチン濃度の低下とともに血圧の低下が認められた。一方、減量時においても高レプチン血症が持続する Tg/+A^y/+では、交感神経活動と血圧の低下は認められなかった。以上より、肥満に合併する高血圧におけるレプチンの病態生理的意義が示唆された(図5)。

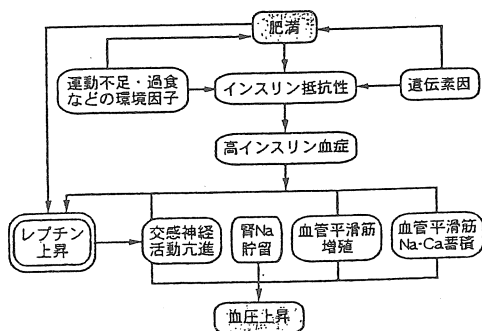


図5 肥満に合併する高血圧におけるレプチンの意義

5. 今後の課題

本研究により、レプチンが交感神経活動亢進をもたらし、血圧を上昇することが証明された。レプチンの摂食抑制作用は視床下部メラノコルチン系を介することが知られているが、レプチンの血圧上昇作用はこれとは異なる機序であることが示唆された。今後は、レプチンの血圧上昇作用の機序を明らかにする必要がある。

また、レプチンを欠損する重症小児肥満者や通常の肥満者にレプチンを投与しても血圧の上昇が認められないと報告されているが、実際のヒト肥満に合併する高血圧におけるレプチンの病態生理的意義に関する検討が必要である。更に、肥満に合併する高血圧は食塩感受性とされているので、レプチン過剰発現トランスジェニックマウスの血圧上昇の食塩感受性を検討することは興味深い。

文献

1. H. Masuzaki, Y. Ogawa, M. Aizawa-Abe, K. Hosoda, J. Suga, K. Ebihara, N. Satoh, H. Iwai, G. Inoue, H. Nishimura, Y. Yoshimasa, and K. Nakao.
Glucose metabolism and insulin sensitivity in transgenic mice overexpressing leptin with Lethal yellow agouti mutation: Usefulness of leptin for the treatment of obesity-associated diabetes.
Diabetes 48: 1615-1622, 1999.
2. N. Satoh, Y. Ogawa, G. Katsuura, Y. Numata, T. Tsuji, M. Hayase, K. Ebihara, H. Masuzaki, K. Hosoda, Y. Yoshimasa, and K. Nakao.
Sympathetic activation of leptin via the ventromedial hypothalamus: Leptin-induced increase in catecholamine secretion.
Diabetes 48: 1787-1793, 1999.
3. Y. Ogawa, H. Masuzaki, K. Hosoda, M. Aizawa-Abe, J. Suga, M. Suda, K. Ebihara, H. Iwai, N. Matsuoka, N. Satoh, H. Odaka, H. Kasuga, Y. Fujisawa, G. Inoue, H. Nishimura, Y. Yoshimasa, and K. Nakao.
Increased glucose metabolism and insulin sensitivity in transgenic skinny mice overexpressing leptin.
Diabetes 48: 1822-1829, 1999.
4. K. Ebihara, Y. Ogawa, G. Katsuura, Y. Numata, H. Masuzaki, N. Satoh, M. Tamaki, T. Yoshioka, M. Hayase, N. Matsuoka, M. Aizawa-Abe, Y. Yoshimasa, and K. Nakao.
Involvement of agouti-related protein, an endogenous antagonist of hypothalamic melanocortin receptor, in leptin action.
Diabetes 48: 2028-2033, 1999.
5. S. Yura, Y. Ogawa, N. Sagawa, H. Masuzaki, H. Itoh, K. Ebihara, M. Aizawa-Abe, S. Fujii, and K. Nakao.
Accelerated puberty and late-onset hypothalamic hypogonadism in female transgenic skinny mice overexpressing leptin.
J. Clin. Invest. 105: 749-755, 2000.
6. M. Aizawa-Abe, Y. Ogawa, H. Masuzaki, K. Ebihara, N. Satoh, H. Iwai, N. Matsuoka, T. Hayashi,

K. Hosoda, G. Inoue, Y. Yoshimasa, and K. Nakao.

Pathophysiological role of leptin in obesity-related hypertension.

J. Clin. Invest. 105: 1243-1252, 2000.

7. N. Matsuoka, Y. Ogawa, H. Masuzaki, K. Ebihara, M. Aizawa-Abe, N. Satoh, E. Ishikawa, Y. Fujisawa, A. Kosaki, K. Yamada, H. Kuzuya, and K. Nakao.

Decreased triglyceride-rich lipoproteins in transgenic skinny mice overexpressing leptin.

Am. J. Physiol. 280: E334-E339, 2001.

8. M. Shintani, Y. Ogawa, K. Ebihara, M. Aizawa-Abe, F. Miyanaga, K. Takaya, T. Hayashi, G. Inoue, K. Hosoda, M. Kojima, K. Kangawa, and K. Nakao.

Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway.

Diabetes 50: 227-232, 2001.

9. K. Ebihara, Y. Ogawa, H. Masuzaki, M. Shintani, F. Miyanaga, M. Aizawa-Abe, T. Hayashi, K. Hosoda, G. Inoue, Y. Yoshimasa, O. Gavrilova, M. L. Reitman, and K. Nakao.

Transgenic overexpression of leptin rescues insulin resistance and diabetes in a mouse model of lipoatrophic diabetes.

Diabetes in press, 2001.

Role of leptin in body fluid homeostasis and blood pressure control:
Studies with transgenic skinny mice overexpressing leptin

Yoshihiro Ogawa, Ken Ebihara, Mitsuyo Shintani,
Megumi Aizawa-Abe, and Fumiko. Miyanaga

Department of Medicine and Clinical Science,
Kyoto University Graduate School of Medicine

Summary

Leptin is an adipocyte-derived hormone that plays an important role in energy homeostasis. To explore the pathophysiological role of leptin in obesity-related hypertension, we examined cardiovascular phenotypes of transgenic skinny mice with elevated plasma leptin concentrations comparable to those in obese subjects. We also studied genetically obese KKA^y mice with hyperleptinemia, in which hypothalamic melanocortin system is antagonized by ectopic expression of the agouti protein. The tail-cuff systolic blood pressure was significantly elevated, accompanied by an increase in urinary catecholamine excretion in transgenic skinny mice relative to nontransgenic littermates. The blood pressure elevation was abolished by an $\alpha 1$ -adrenergic, nonselective α -adrenergic, and ganglionic blockers at such doses that did not affect blood pressure in nontransgenic littermates. Central administration of an α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH) antagonist caused a marked increase in cumulative food intake in both genotypes, whereas no significant changes in blood pressure were noted. The obese KKA^y mice developed blood pressure elevation with increased urinary catecholamine excretion relative to control KK mice. After a 2-week caloric restriction, blood pressure was reversed in nontransgenic littermates with the A^y allele, in parallel with a reduction in plasma leptin concentrations, but were sustained in transgenic mice overexpressing leptin with the A^y allele, which remained to be hyperleptinemic. This study demonstrates blood pressure elevation in transgenic skinny mice and obese KKA^y mice, both of which are hyperleptinemic, thereby suggesting that leptin may represent a missing link between obesity and hypertension.