

# HORMONET LEPTIN MINSKAR KROPPSVIKTEN

Muterad gen gör mus fet

**Nyligen har man identifierat en gen som är inblandad i regleringen av kroppsvikten. Ob-genen, som är defekt hos feta möss, kodar för ett protein som kallas leptin. Hormonet leptin produceras av fettceller och ger minskad aptit och ökad energiförbrukning via bindning till receptorer i hypothalamus. Nu försöker man identifiera leptin-receptorerna.**

Fysiologer har sedan länge föreslagit att när man äter för mycket så signalerar den överflödiga fettvävnaden till hjärnan att kroppen har för mycket fett. För att korrigera tillståndet med en ökad mängd kroppsfett svarar hjärnan med att minska födointaget och öka energiförbrukningen. Efter åtta års forskningsarbete kunde professor Jeffrey M Friedman och medarbetare vid Rockefeller University och Howard Hughes, Medical Institute, New York, nyligen rapportera om kloningen av en gen som är defekt hos obesa (ob/ob)-möss [1]. Proteinprodukten från ob-genen är ett hormon som normalt secernerar av fettceller och som synes reglera kroppsvikten via en verkan på centrala nervsystemet.

## Ob/ob-möss saknar funktionellt leptin

I början av 1950-talet identifierades en mutation hos möss som leder till obesitas och diabetes typ II [2]. Homozygota Ob/ob-möss äter kontinuerligt och väger cirka tre gånger mer än normala möss (se omslaget). Ob-genen har nu alltså klonats och komplementärt DNA (cDNA) isolerats [1]. Dess budbärar-

## Författare

BJÖRN MEISTER  
docent, leg läkare

ULF ARVIDSSON  
dr med, leg läkare; båda vid institutionen för neurovetenskap, Karolinska institutet, Stockholm.

RNA (mRNA) har huvudsakligen påvisats i vita och bruna fettceller [1]. Gensekvensen kodar för ett protein med 167 aminosyror som har karakteristika för ett secernerat protein och som återfinns i plasma. Den humana homologen, vars gen är lokaliserad till kromosom 7, visar 84 procents likhet med mussekvensen. Homologer har också identifierats hos flera andra djurarter, dock inte i bananflugan (*Drosophila*) [1]. Ob-genprodukten har tilldelats namnet leptin, från grekiskans leptos som betyder tunn. Obesa homozygota ob/ob-möss har två muterade kopior av ob-genen, vilket antingen leder till avsaknad av leptin mRNA eller till produktion av en trunkerad (förkortad) inaktiv form av leptin [1].

Förekomsten av ett cirkulerande hormon som signalerar mättnad har tidigare föreslagits baserat på experiment där olika möss fått dela samma blodflöde, vilket åstadkommit genom kirurgiskt ingrepp (så kallad parabios) [3]. Om en ob/ob-mus sammankopplas med en normal mus börjar den obesa ob/ob-musen äta mindre och minskar successivt i vikt, beroende på överförandet av en blodburen faktor som finns hos den normala musen. Avsaknaden av funktionellt leptin hos ob/ob-musen leder till obesitas eftersom leptin är en cirkulerande »mättnadsfaktor».

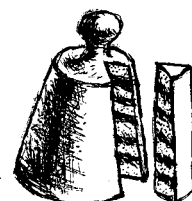
## Leptin ger viktminskning via fettförlost

Bara några månader efter det att man rapporterat om identifieringen och kloningen av ob-genen, kunde man visa att behandling med hormonet inducerar viktminskning [4-6]. I en studie gavs dagliga leptininjektioner (4 mg per kg kroppsvikt) i fyra veckor [5]. Efter två veckors behandling med leptin såg man en cirka trettioprocentig minskning av vikten och efter fyra veckors behandling en fyrtioprocentig viktreduktion utan andra påvisbara sidoeffekter. Viktminskningen erhöles uteslutande genom reduktion av fettvävnaden. Vid slutet av studien hade behandlade ob/ob-möss 9,1 gram fett, medan obehandlade ob/ob-möss hade 38,3 gram fett [5]. Normalt har en frisk, vuxen mus cirka 2-5 gram fett. Även normala möss

SERIE

## Övervikt

Tidigare artiklar i serien har publicerats i Läkartidningen nr 1-2/96 och nr 3/96.



som behandlades med leptin minskade cirka 12 procent i vikt och förlorade nästan allt kroppsfett (från 12,2 till 0,7 procent). Efter fyra dagars behandling med leptin konsumerade ob/ob-mössen cirka 60 procent mindre föda jämfört med obehandlade ob/ob-möss. Leptin förbättrade också diabetestillståndet hos ob/ob-möss genom att sänka både insulin- och blodsockernivåerna.

## Syrgasförbrukning och kroppstemperatur ökar

Leptin verkar inte bara genom att minska födointaget utan också genom att öka energiförbrukningen. Behandling av ob/ob-möss med leptin höjer syrgasförbrukning, kroppstemperatur och lokomotoraktivitet [6].

Hormonet leptin secernerat från fettceller synes reglera vikten genom att signalera mängden av kroppsfett. Leptin är förknippat med mättnad, signalen som skall stoppa födointaget. När inget leptin produceras finns inga signaler som säger till när man skall sluta äta. Att det finns ett kausalsamband mellan födointag, insulinnivåer och ob-genexpression har bekräftats experimentellt [7].

Expression av ob-genen visar dygnsvariation hos råttor. Nivåerna av leptin-mRNA är högst på natten efter att djuren börjat äta. Under fasta ses minskade nivåer av leptin-mRNA och omvänt ökar leptin-mRNA igen när fastande djur får mat. Således synes födointaget vara intimt kopplat till nivåerna av leptin, där födointaget stimulerar ob-genexpression och där leptin verkar som mättnadssignal, vilket leder till minskat födointag och ökad energiförbrukning.

Vid massiv fetma hos människor ses ett ökat uttryck av leptin-mRNA i fett-

kvinnor än hos obesa män [9], vilket talar för att könshormoner också reglerar ob-genen.

### Verkan via hjärnans aptit- och mättnadscentrum

Intensiv forskning pågår för att klargöra verkningsmekanismen bakom leptinets viktreducerande effekt. Nyligen publicerade resultat visar att hypothalamus, den del av hjärnan som kontrollerar olika biologiska funktioner inkluderande födointag, är den sannolika verkningsplatsen för leptin [12].

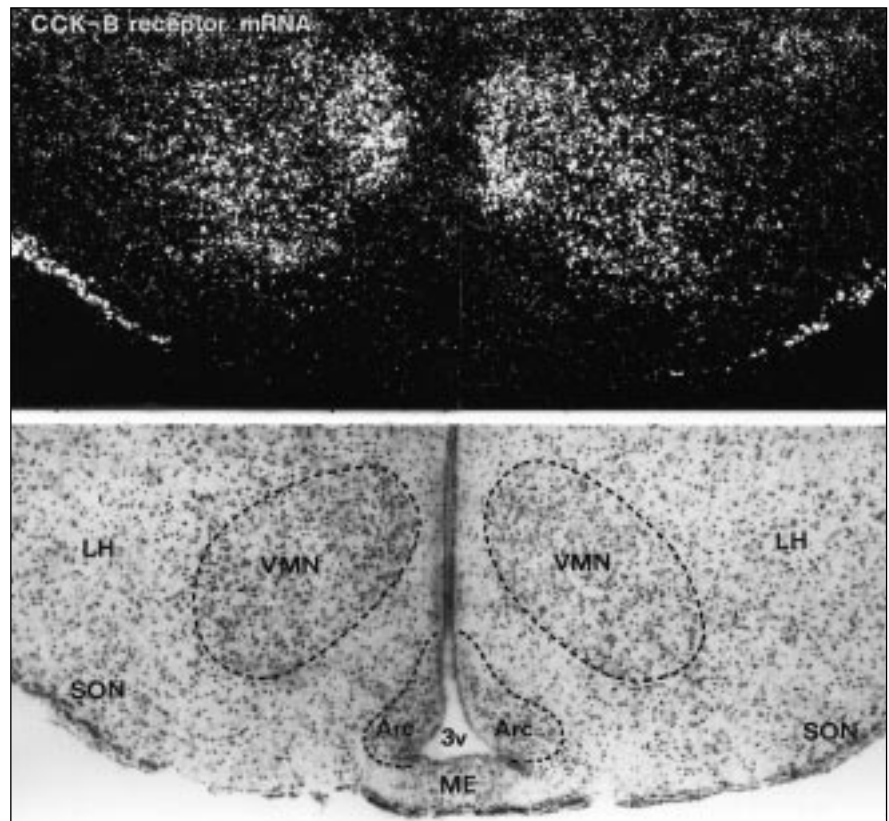
När fettcellerna ökar i antal och storlek börjar ob-genen producera ett eller flera proteiner, däribland leptin, som kommer in i blodbanan och därefter når hjärnan via områden lokaliserade utanför blod-hjärn-barriären, inkluderande vissa delar av hypothalamus. Höga nivåer av leptin leder till att hypothalamus svarar med att minska aptiten och öka metabolismen (Figur 1).

Hypothalamus intar en central roll i reglering av hunger och mättnad [13]. De delar av hypothalamus som deltar i regleringen av födointag inkluderar framför allt ventromediala kärnan, laterala hypothalamus och arkuatuskärnan. Skador i den ventromediala kärnan ger hyperfagi (överätande) och minskad energiförbrukning med obesitas som

**Figur 1.** Schematisk figur som sammanfattar interaktionen mellan hjärnan och fettvävnaden. Hypothalamus innehåller olika kärnor, varav arkuatuskärnan, laterala hypothalamus och ventromediala kärnan har aptit-/mättnadsreglerande funktion. Ob-genprodukten leptin produceras av fettceller och insöndras till blodet för att därefter nå områden i hjärnan som är lokaliserade utanför blod-hjärn-barriären. Ett sådant område utgörs av arkuatuskärnan där nyligen receptorer för leptin kunnat påvisas [12]. Ökad mängd kroppsfett signaleras genom ökade nivåer av leptin i plasma. Aktivering av leptinreceptorn leder till minskat födointag och ökad energiförbrukning med minskad kroppsvikt som slutresultat.

vävnaden [8-10]. Detta överensstämmer med att obesa möss har kompensatoriskt 20 gånger högre nivåer av leptin-mRNA än normala möss. Det är möjligt att hos obesa personer är ob-proteinet och/eller den hypotalamiska receptorn defekt. Hormonresistens finns beskrivet för en rad olika endokrina sjukdomstillstånd.

Ob-genexpressionen regleras hormonellt. En enda insulininjektion i fastande djur ger en ökning av leptin-mRNA oberoende av glukosnivåerna i plasma, vilket visar att insulin har en direktreglerande effekt på leptin-mRNA. Glukokortikoider ökar leptin-mRNA [11] och ob-genexpressionen har funnits vara 75 procent högre hos obesa



**Figur 2.** Förekomst av mRNA för kolecystokinin (CCK) B-receptorn i den hypotalamiska ventromediala kärnan (VMN) visualiserat med in situ hybridisering. Ljusa silverkorn ligger över celler i den ventromediala kärnan, en

kärna associerad med mättnad. Arc = arkuatuskärnan, LH = laterala hypothalamus, ME = eminentia mediana, SON = supraoptiskärnan och 3v = tredje ventrikeln. Modifierad efter [16].

följd, medan bilaterala lesioner i laterala hypothalamus leder till afagi, det vill säga djuren upphör att äta och kommer slutligen att dö. Omvänt ses ökat födointag efter elektrisk stimulering i laterala hypothalamus och minskat födointag efter stimulering av den ventromediala kärnan.

Den ventromediala kärnan har visats vara det viktigaste centrat för mättnad. Om ett djur med lesioner i den ventromediala kärnan får gemensamt blodflöde via ett transplanterat blodkärl med ett obehandlat djur (parabios), resulterar det i ett minskat födointag i det intakta djuret. Dessa experiment visar än en gång att en blodburen faktor deltar i regleringen av födointaget. Att den ventromediala kärnan deltar i regleringen av ob-genen bekräftas av experiment som visar att leptin-mRNA ökar i fettvävnaden hos djur med lesioner i den ventromediala kärnan [14].

De av hjärnans signalsubstanser som tilldragit sig mest intresse med avseende på reglering av födointag är peptiderna kolecytokinin (CCK) och neuropeptid Y (NPY). CCK har föreslagits vara en endogen mättnadsfaktor och därigenom spela en roll i reglering av födointag [15]. CCK B-receptorer har påvisats i den ventromediala hypothalamiska kärnan [16] (Figur 2). Experiment med specifika icke-peptidgerga CCK A- och CCK B-receptorantagonister visar att båda receptorsubtyperna är inblandade i regleringen av födointag, men att CCK A-receptorer är av betydelse för de perifera effekterna och att CCK B-receptorer är av betydelse för de centrala effekterna. Sensorisk information som kommer från gastrointestinalkanalen efter ett stort födointag går via vagusnerven till nucleus tractus solitarius (NTS) i hjärnstammen, för att sedan via parabrachialiskärnan kopplas vidare till den ventromediala kärnan. Stimulering av CCK B-receptorerna i ventromediala kärnan inducerar mättnadskänsla, och genom att ge specifika CCK-antagonister kan man fördröja känslan av mättnad [15].

### Arkuatuskärnan spelar viktig roll

Den hypothalamiska arkuatuskärnan spelar också en viktig roll för reglering av födointag och för uppkomsten av obesitas. Om man ger den excitatoriska och neurotoxiska aminosyran glutamat i form av dess monosodiumsalt (monosodiumglutamat, MSG) subkutant under de första två postnatala veckorna ses ett syndrom som huvudsakligen karakteriseras av obesitas och kortvuxenhet (Figur 3) [17,18].

MSG inducerar en specifik lesion i den hypothalamiska arkuatuskärnan, varför man kan hänföra syndromet som



**Figur 3.** Monosodiumglutamat (MSG) ger neurotoxiska lesioner i den hypothalamiska arkuatuskärnan, vilket leder till ett speciellt syndrom som karakteriseras av obesitas och kortvuxenhet. Råttan till vänster är normal medan den till höger har blivit behandlad med MSG de två första postnatala veckorna. Genom denna typ av studier kan arkuatuskärnans roll i kontrollen av olika biologiska funktioner definieras. Modifierad efter [17].

uteslutande orsakat av ett 90-procentigt bortfall av neuron i denna kärna. I arkuatuskärnan finns en tät ansamling av nervceller som innehåller signalsubstansen NPY och dessa neuron försvinner fullständigt efter MSG-behandling (Figur 4) [18]. När NPY ges intraven-

trikulärt ses ökat födointag, framför allt av kolhydrater, och vid fastande ökar NPY-mRNA i arkuatuskärnan. Ob/ob-möss har förhöjda nivåer av NPY-mRNA i arkuatuskärnan. Av speciellt intresse är att man nyligen genom att märka leptin med <sup>125</sup>I kunnat visa att bindningstillen för leptin finns i arkuatuskärnan och att syntes och frisättning av NPY minskar i samma område efter behandling med leptin [12].

Väsentligt i sammanhanget är att notera att delar av arkuatuskärnan ligger utanför blod-hjärn-barriären, vilket är en grundförutsättning för att leptin skall nå hjärnan och kunna påverka hypothalamiska neuron. Hämmad biosyntes av

hypotalamiskt NPY överensstämmer väl med minskat födointag och minskade insulinnivåer i plasma. Ytterligare stöd för en centralnervös verkan för leptin är att hormonet har en mer potent anorektisk verkan om det ges intraventrikulärt jämfört med om det ges som parenteral injektion [12]. NPY-neuronen i arkuatuskärnan utgör således en viktig angreppspunkt för cirkulerande leptin, men däremot är de mekanismer genom vilka NPY påverkar födointaget mer oklara.

En annan typ av obesa och diabetiska möss som har en defekt gen som kallas diabetesgenen (db) har 10 gånger högre nivåer av leptin jämfört med normala möss [5]. Mössen har också mycket höga nivåer av NPY-mRNA i arkuatuskärnan [12]. Om en normal mus sammankopplas via blodkärl med en db/db mus kommer den normala musen att förlora aptiten och slutligen dö av svält på grund av de höga leptinnivåerna. Db/db-möss förmodas ha en defekt leptinreceptor eftersom behandling av db/db-möss med leptin inte förändrar vikten och därför måste djuren vara resistenta för leptinets effekter. För att ytterligare förstå leptinets verkningsmekanismer är det viktigt att identifiera, kлона och lokalisera leptinreceptorer.

### Leptin som framtida bantningsmedel?

Obesitas, ett tillstånd definierat som minst 20 procent över idealvikt, är en stor riskfaktor för uppkomst av sjukdomar som diabetes (typ II), hypertoni, hyperlipidemi och vissa typer av cancer. Även om obesitas delvis kan ses som ett psykologiskt problem så finns nu ytterligare bevis för att det existerar en fysiologisk reglering av kroppsvikten. Det är denna fysiologiska regleringsmekanism som eventuellt kan angripas farmakologiskt.

Både mus- och humanformen av leptin ger viktminskning hos ob-möss, vilket talar för att hormonet är väl konserverat mellan olika arter. Eftersom leptin reducerar vikten hos möss är det troligt att leptin också ger viktminskning hos människa. Humanförsök får än så länge vänta tills det är uteslutet att leptin har några negativa sideeffekter. Leptin är ett protein och kommer därigenom troligen inte att kunna intas i tablettform eftersom det nedbrytes i gastrointestinalkanalen, utan måste därför ges i injektionsform. I framtiden kan eventuellt icke-peptidgera leptinagonister komma att utvecklas som kan intas peroralt.

Om det visar sig att leptin spelar roll i regleringen av kroppsvikten hos människa kan en jättemarknad vänta. En av tre amerikaner, det vill säga nästan 60 miljoner människor, lider idag av obesitas. Övervikt är ett av de allvarligaste

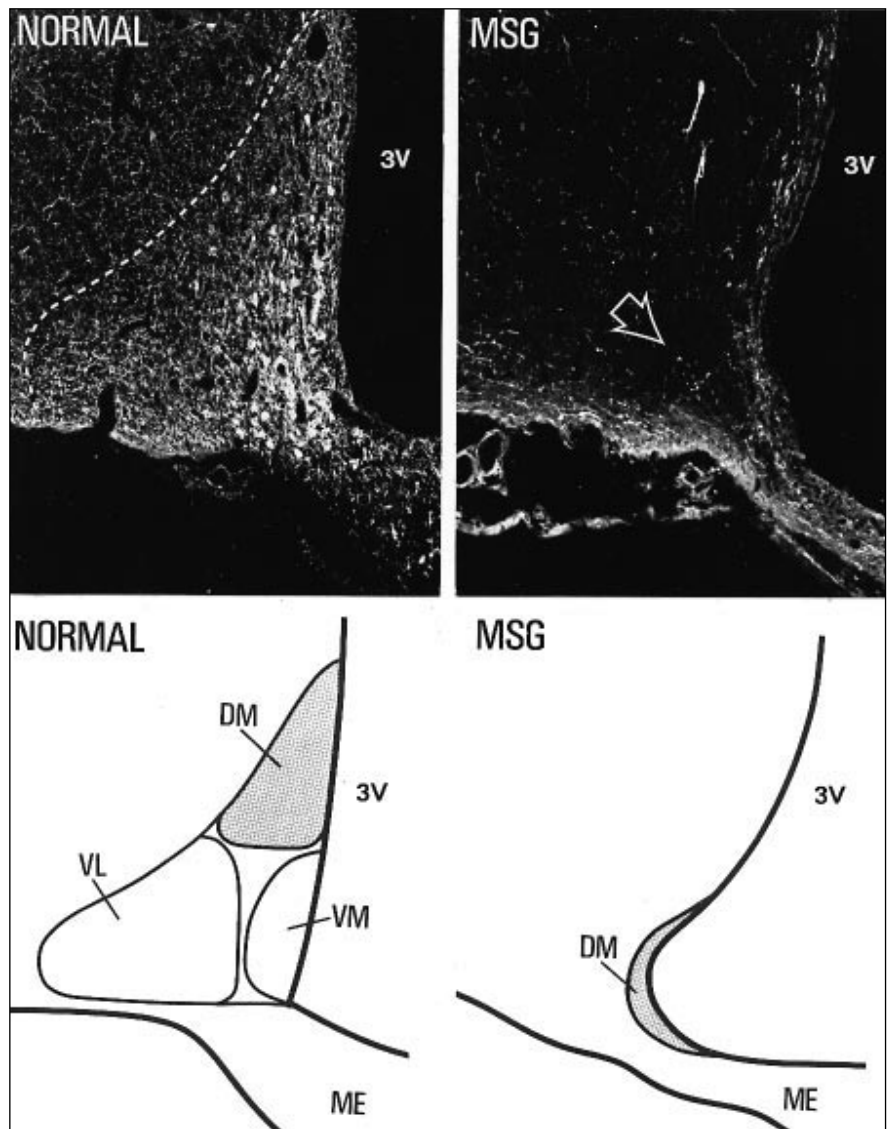


20 miljoner dollar kostade patentet på överviktsgenen. Det är troligen rekordpris för ensamrätten till en gen. Men många är tveksamma till att investeringen verkligen kommer att ge någon avkastning.

hälsoproblemen i USA, ett problem som bara synes växa. Antalet överviktiga är idag 25 procent högre än för cirka 10 år sedan. Idag utgör diet och motion de viktigaste faktorerna för att minska vikten. Om leptin kan komma att utvecklas som framtida viktreducerande farmaka öppnar sig emellertid flera etiska frågeställningar. Hur skall man använda en sådan drog och till vem skall den ges? Det finns uppenbart stora risker att ett sådant framtida farmaka kan komma att missbrukas.

### Patentet på genen kostade 20 miljoner dollar

I hård budgivning med andra läkemedelsbolag i världen köpte i år Amgen Inc, ett bioteknikföretag med huvudsäte i Thousand Oaks, Kalifornien, paten-



Figur 4. Effekt av neurotoxiskt monosodiumglutamat (MSG) på den hypothalamiska arkuatuskärnan. I de övre två bilderna ses neuropeptid Y (NPY)-neuron i kärnans ventromediala del visualiserade med immunhistokemi. Efter MSG-behandling försvinner NPY-neuronen i arkuatuskärnan (se pil). De

nedre två bilderna visar schematiskt att arkuatuskärnans ventrolaterala (VL) och ventromediala (VM) del helt elimineras, medan en mindre del av den dorsomediala (DM) finns kvar efter MSG-behandling. ME = eminentia mediana och 3V = tredje ventrikeln. Modifierad efter [17].

tet på »överviktsagen» för 20 miljoner dollar av Rockefeller University. Utöver dessa 20 miljoner dollar tillkommer även bland annat framtida så kallade royalties. Betalningen av detta stora belopp för licensen att utveckla produkter baserade på ob-genen torde vara ett rekordpris för ensamrätten till en gen. Om ob-genen och dess proteinprodukt visar sig vara användbar för utveckling av läkemedel mot övervikt så kan »hävstångseffekten» för en framtida ekonomisk vinst bli enorm, speciellt i USA. Detta är dock ett »om» med stort »O», och många uttrycker stor tveksamhet till hurvida denna rekordinvestering i en ny gen kommer att ge någon avkastning. Den framtida karakteriseringen av leptinreceptorer och utvecklandet av specifika leptinreceptoragonister kommer säkert att bli betydelsefull för läkemedelsindustrin.

Genom en kombination av genetik, molekylärbiologi och fysiologi har upptäckten av ob-genen öppnat nya dörrar som kommer att öka vår förståelse kring de basala molekylära och fysiologiska mekanismer som ligger bakom reglering av födointag och kroppsvikt. Kunskapen som vi därigenom erhåller kan leda till upptäckter kring de patofysiologiska mekanismer som leder till obesitas och anorexia nervosa/bulemi. Sannolikt är ob-genen endast en av flera gener som är inblandade i regleringen av vår kroppsvikt.

### Litteratur

- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-32.
- Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. Obese, new mutation in house mouse. *J Hered* 1950; 41: 317-8.
- Coleman DL. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. *Diabetologia* 1973; 9: 294-8.
- Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 1995; 269: 546-9.
- Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269: 543-6.
- Pelleymounter AM, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269: 540-3.
- Saladin R, De Vos P, Guerre-Millo M, Le-turque A, Girard J, Staels B et al. Transient increase after obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 1995; 377: 527-9.
- Bonn D. Overexpression of ob gene in obesity. *Lancet* 1995; 346: 764.
- Lönnqvist F, Arner P, Nordfors L, Schalling M. Overexpression of the obese (ob) gene in adipose tissue of human obese subjects. *Nature Medicine* 1995; 1: 950-3.
- Hamilton BS, Paglia D, Kwan AYM, Deitel

M. Increased obese mRNA expression in omental fat cells from massively obese humans. *Nature Medicine* 1995; 1: 953-6.

- Devos P, Saladin R, Auwerx J, Staels B. Induction of ob gene expression by corticosteroids is accompanied by body weight loss and reduced food intake. *J Biol Chem* 1995; 270: 15958-61.
- Stephens TW, Basinski M, Bristow, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L et al. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 1995; 377: 530-2.
- Kupfermann I. Hypothalamus and limbic system: motivation, Chapter 48. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, eds. *Principles in Neuroscience*, third edition. Amsterdam: Elsevier, 1991:750-60.
- Funahashi T, Shimomura I, Hiraoka H, Arai T, Takahashi M, Nakamura T et al. Enhanced expression of rat obese (ob) gene in adipose tissues of ventromedial hypothalamus (VMH)-lesioned rats. *Biochem Biophys Res Comm* 1995; 211: 469-75.
- Dourish CT, Rycroft W, Iversen SD. Postponement of satiety by blockade of brain cholecystokinin (CCK-B) receptors. *Science* 1989; 245: 1509-11.
- Meister B, Broberger C, Villar MJ, Hökfelt T. Cholecystokinin B receptor gene expression in hypothalamic neurosecretory neurons after experimental manipulations. *Neuroendocrinology* 1994; 60: 458-69.
- Meister B. Monosodium glutamate (MSG) lesions. In: Conn PM, ed. *Methods in Neurosciences*, vol. 7. Transplantation, lesions, and surgical techniques, Orlando: Academic Press, 1991:70-89.
- Meister B. Gene expression and chemical diversity in hypothalamic neurosecretory neurons. *Mol Neurobiol* 1993; 7: 87-110.

### Summary

**The hormone leptin reduces body weight; mutant gene responsible for murine obesity.**

Björn Meister, MD, PhD, and Ulf Arvidsson, MD, PhD, Dept of Neuroscience, Karolinska Institute, 171 77 Stockholm, Sweden.

*Läkartidningen* 1995; 247-51

The existence of mice (ob/ob mice) with a genetic defect causing obesity and type II diabetes has been known since 1950. The mutated ob gene was recently identified and characterized. The gene encodes a 167 amino acid protein that has been given the name leptin, from the greek word leptos, meaning thin. The functionally active hormone, which is synthesised and secreted by adipocytes, is lacking in homozygote ob/ob mice, causing an increase in body fat. Injection of recombinant leptin in ob/ob mice induces loss of fat due to decreased appetite and increased energy expenditure. The ob gene product leptin acts via binding sites in the hypothalamus, where the centre for appetite and satiety is located. Research is now focused on the identification, characterization and cloning of leptin-receptors. Other mice, also with a genetic defect causing obesity and type II diabetes, do not respond to leptin treatment and are therefore suspected to have defective leptin receptors.

*Se även Medicinsk kommentar i detta nummer.*



## FAKTORER

### Särtryck av en serie i Läkartidningen 1995

Alla kroppens celler reagerar på olika signalämnen i omgivningen, ämnen som styr deras fundamentala livsprocesser.

Dessa ämnen kallas kollektivt tillväxtfaktorer. En serie i Läkartidningen 1995 om dem speglar tendenser i dagens medicinska forskning och pekar på några tillämpningsområden.

Området är i början av en snabb utveckling och många produkter är under utprovning för klinisk användning.

Häftet omfattar 12 artiklar på sammanlagt 56 sidor + färgomslag. Priset är 90 kronor. Vid köp av 11-50 ex 82 kronor, vid högre upplagor 77 kronor/exemplar.

Beställer härmed

..... ex Tillväxtfaktorer

.....  
Namn

.....  
Adress

.....  
Postnummer/Postadress

.....  
Insändes till Läkartidningen,  
Box 5603, 114 86 Stockholm

Märk gärna kuvertet  
»Tillväxtfaktorer»

Telefax: 08-20 76 19