

厚生省特定疾患  
内分泌系疾患調査研究班  
中枢性摂食異常症

平成10年度研究報告書

班長 中 尾 一 和

厚生省特定疾患

内分泌系疾患調査研究班  
中枢性摂食異常症

平成10年度研究報告書

# 平成10年度研究報告書

## 目次

I. 序文	1
II. 班員名簿	3
III. 総合研究報告	5
IV. 総括研究報告	13
V. 分担研究報告	19
レプチンの摂食調節機構における視床下部メラノコルチン系の意義について	19
京都大学大学院医学研究科臨床病態医科学	中尾 一和
摂食行動を制御する新規神経ペプチド、オレキシンの同定	30
筑波大学基礎医学系薬理学	桜井 武
中枢性摂食異常症の疫学調査	40
鹿児島大学医学部心身医療科	野添 新一
Neuropeptide Yの食欲及び消化管運動に及ぼす影響	49
神戸大学医学部第2内科	春日 雅人
神経性食欲不振症の病態におけるCRF受容体サブタイプに関する考察	58
日本医科大学第二生理学	芝崎 保
免疫サイトカインの摂食・体温調節機構 ：視床下部ヒスタミン神経系の役割とその生理的意義	69
大分医科大学医学部第一内科	坂田 利家
摂食障害患者におけるNeuropeptide Yの検討	79
国立京都病院	葛谷 英嗣
ストレス応答の分子機構：NGFI-B/nur77によるPOMC遺伝子転写調節	83
九州大学医学部第三内科	名和田 新
超肥満 (Massive Obesity)の成因と病態の分子機構に関する研究	92
大阪大学大学院医学研究科分子制御内科学	松沢 佑次

中枢性摂食異常症におけるエネルギー代謝調節の分子機構 . . . . .	106
京都大学大学院・人間・環境学研究科	細田 公則
神経性食欲不振症患者の白血球パターンと自律神経機能 . . . . .	116
九州大学医学部心療内科	久保 千春
日本人Prader-Willi症候群患者の成長曲線に関する研究-第3報- . . . . .	127
慶應義塾大学小児科	松尾 宣武
VI. 研究成果の刊行に関する一覧表 . . . . .	145

# I. 序 文

厚生省特定疾患内分泌系疾患調査研究班中枢性摂食異常症は、平成8年度の厚生省特定疾患研究班の大幅な改組の下で、私を班長として研究の継続が承認され、本年が最終年度にあたる。本研究班は、中枢性摂食異常症の本体が心療内科、精神神経科的側面と摂食障害や無月経等の視床下部機能異常に代表される内分泌学的側面の両面より構成されており、内分泌系疾患調査研究班の中でも特殊な研究班であり、また調査研究班全体の中でも唯一の精神神経科、心療内科的アプローチの不可欠な研究班である。それ故に、本研究班の班員の構成は、最近の摂食調節の分子機構研究のめざましい成果を本症の成因、病態の解明、新しい治療法の開発へ応用することを目指す内科系班員と、主に認知行動療法の精神療法等を実施する心療内科、精神科系班員に二分される、その結果、班活動における役割も、成因や病態を解明する内科系と、疫学・精神療法を実施する精神科系に分かれ、両者の良好なバランスが本班の成果をあげるために必須である。平成8年～10年の3年間は班構成で基礎系および内科系研究者を増やして、急速に進歩している摂食調節分野の研究成果を本症の成因と病態の解明に向けることに努力し、生物学的側面の研究では一定の成果を達成することが出来た。一方、中枢性摂食異常症の患者数の増加、臨床像の多様化、重症化は、本研究班の臨床的必要性を示すものであり、それに対応するため、本症の本格的な疫学調査を行い、それに基づいて我国の実情に即した診断基準を作製することが出来た。3年間の本研究班の研究成果は本研究報告書の総合研究報告に集約できる。

今後、この研究成果を踏まえて、以下のことが課題になると考えられる。

- 1) 中枢性摂食異常症に関する総合的な臨床的研究、すなわち、疫学的調査をさらに全国的規模に拡大し、我国における本症の頻度、臨床像をより明確にすることが必要である。
- 2) 本症の成因、病態に関する基礎的研究を一層進展させ、本症の成因解明、病態把握、新しい治療法の開発を促進することが不可欠である。

残された課題は大きいですが、本症の医学的重要性を考えると、本研究班の研究の更なる進展を切に期待したい。

最後に本研究に多大な御援助をいただいている厚生省保険医療局疾病対策課の皆様に深く感謝を申し上げます。

平成11年4月

厚生省内分泌系疾患調査研究班  
中枢性摂食異常症分科会  
会 長 中 尾 一 和



## II . 班員名簿

【会長】

中尾 一和 京都大学大学院医学研究科臨床病態医科学 教授  
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町54 TEL: 075-751-3168

【会員】

桜井 武 筑波大学医学専門学群基礎医学系薬理学 講師  
〒305-0006 つくば市天王台1-1-1 TEL: 0298-53-3277

芝崎 保 日本医科大学生理学第二 教授  
〒113-8603 東京都文京区千駄木1-1-5 TEL: 03-3822-2131

野添 新一 鹿児島大学医学部心身医療科 教授  
〒890-8520 鹿児島市桜ヶ丘8-35-1 TEL: 099-275-5748

【研究協力者】

春日 雅人 神戸大学医学部第二内科 教授  
〒657-8501 神戸市中央区楠町7-5-2 TEL: 078-341-7451

葛谷 英嗣 国立京都病院 副院長  
〒612-8555 京都市伏見区深草向畑町1-1 TEL: 075-641-9161

久保 千春 九州大学医学部心療内科 教授  
〒802-8577 福岡市東区馬出3-1-1 TEL: 092-642-5316

坂田 利家 大分医科大学医学部第一内科 教授  
〒879-5593 大分郡挾間町医大ヶ丘1-1 TEL: 0975-86-5790

名和田 新 九州大学医学部内科学第三講座 教授  
〒802-8577 福岡市東区馬出3-1-1 TEL: 092-642-5275

松尾 宣武 慶應義塾大学医学部小児科 教授  
〒160-0016 東京都新宿区信濃町35 TEL: 03-3353-1211

松沢 佑次 大阪大学医学部第二内科 教授  
〒565-0871 吹田市山田丘2-2 TEL: 06-879-3732

【基礎班】

新川 詔夫 長崎大学医学部附属原研遺伝学 教授  
〒852-8523 長崎市坂本1-12-4 TEL: 0958-49-7118

【難病特別研究員】

細田 公則 京都大学大学院人間・環境学研究科 助手  
〒606-8501 京都市左京区吉田本町二本松町 TEL: 075-751-3172





## Ⅲ． 総合研究報告

【平成8～10年度における研究目的】近年の我国の文化、社会的環境の変化は、中枢性摂食異常症の病態、発症様式、予後を変貌させつつあり、本症の予防、診断、治療法の確立は重要な医学的課題である。また、摂食調節とエネルギー代謝調節機構に関する分子生物学的研究は、近年著しく進展し、それに関与する多くの新規関連分子が同定され、それらの生理的役割及び中枢性摂食異常症の成因と病態生理的意義の解明が期待されている。

中枢性摂食異常症分科会は、上述の背景を踏まえ、中枢性摂食異常症の病因、病態を解明し、本症の予防、診断、治療の有効な方法を開発することを目的として、1) 本症の成因となる中枢性の摂食調節機構を分子生物学的、発生工学的手法を用いて研究し、病態生理的意義を検討するとともに、2) 本症の臨床像を明確に把握するために、広域な臨床的、疫学的研究を実施した。

#### 【平成8～10年度における主な研究の概要及び成果】

##### I、中枢性摂食異常症の成因、病態生理に関する研究

###### 1) 基礎的研究

平成8年より平成10年の3年間で、特に中枢性摂食調節における意義が注目されている肥満遺伝子 (*ob*遺伝子) 産物であるレプチンと神経ペプチドであるオレキシンを中心に、中枢性摂食異常症の成因における意義及び病態生理的意義を検討した。また、これらに加えて、ニューロペプチドY (NPY)、CRF、脳内ヒスタミン、 $\alpha$ -MSH等の本症の成因における意義及び病態生理的意義を検討した。さらに、発生工学的手法を用いて、中枢性摂食異常症のモデル動物の開発を実施した。

###### i) 肥満遺伝子 (*ob*遺伝子) 産物—レプチン—の中枢性摂食調節機構と中枢性摂食調節機構における病態生理的意義

レプチンは脂肪組織より分泌され、視床下部を介して強力な摂食抑制とエネルギー代謝亢進をもたらす新しいホルモンである。視床下部性肥満モデル動物である視床下部腹内側核 (VMH) 破壊ラットでは、脂肪組織におけるレプチン遺伝子発現と血中レプチ

ン濃度の増大が認められるものの、レプチンの摂食量と体重増加抑制作用は消失しており、レプチンの視床下部における作用点の一つはVMHであるが明らかにされた。同様の実験より、弓状核 (Arc) も重要であることが示された。また、 $\alpha$ -MSHの拮抗薬であるSHU9119とレプチンの側脳室内同時投与により、ラットにおけるレプチンの摂食量と体重増加抑制作用が用量依存性に減弱された。また、agouti蛋白質により視床下部メラノコルチン受容体シグナルが遮断されて過食と肥満を発症するKKAyマウスとTg/+の交配により得られたマウスでは、摂食量と体重増加の亢進が認められた。以上より、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明らかとなった。

また、レプチン遺伝子発現調節に関する研究を実施し、3T3L1脂肪細胞において、レプチン遺伝子の発現がノルエピネフリンやイソプロテノールのカテコールアミンにより抑制され、この抑制が $\beta$ -アドレナリン受容体-Gs蛋白-蛋白キナーゼA系の活性化を介していることを示した。またprotein kinaseCの活性化剤であるphorbol 12-myristate 13-acetateやPPAR $\gamma$ のリガンドである15-deoxy-D12, 14 prostaglandin J2によっても同様にレプチン遺伝子の発現が抑制されることを明らかにし、これらのレプチン遺伝子の発現調節に、転写因子の一つであるC/EBP $\alpha$ 蛋白が関与している可能性を示した。

遺伝性肥満Zucker fatty (*fa/fa*) ラットと肥満高血圧自然発症Koletsky (*fak/fak*) ラットにおけるレプチン受容体遺伝子変異を同定し、レプチン受容体遺伝子のヒト肥満の成因における意義を示唆した。

肝臓においてレプチンを過剰発現するトランスジェニックマウス (Tg/+) を作製した。このTg/+では、対照マウス (+/+) と比較して摂食量と体重増加の減少が認められ、肉眼的及び組織学的に全身の脂肪組織が消失していること及び性腺機能低下を伴うことが明らかになった。このTg/+マウスは、中枢性摂食異常症におけるレプチンの病態生理的意義を解明する上で有用なモデル動物と考えられた。

ii) 中枢性摂食調節に関与する新規神経ペプチド—オレキシン—とその受容体の発見及

## びオレキシン神経系の解析

ヒト大脳のESTデータベース中から、あるG蛋白質共役型受容体を見出し、その内因性のリガンドとして、生理活性ペプチド、オレキシン (Orexin) AおよびBを発見した。これらのペプチドは摂食行動の制御に深く関係すると考えられ、中枢性摂食異常症の成因と病態生理における意義を明らかにするため、オレキシン神経系の入力系及び出力系を研究した。

オレキシンAは33アミノ酸残基、オレキシンBは28残基のペプチドで、両者には全体で46% (13/28) の相同性が認められた。さらに、オレキシンには2つの受容体が存在することを明らかにし、それらのcDNA及び遺伝子をクローニングした。OX1受容体は、オレキシンAに対する親和性の方がオレキシンBに対する親和性より100倍程高く、OX2受容体は、オレキシンAとオレキシンBに対する親和性がほぼ同じであった。オレキシンAのOX1、OX2両受容体に対する親和性はほぼ同じで、 $K_d$ 値は数nMであった。

オレキシンとその受容体は中枢神経系に特異的に発現していた。とくにオレキシンは摂食中枢として知られていた視床下部外側部 (LH) とその周辺の特定のニューロンに特異的に発現していた。合成したオレキシンAおよびBをラットに投与すると、4時間で摂食量が6倍程度に増加した。また、ラットを絶食させると、prepro-orexinのmRNAレベルが2.5倍に増加した。組織学的検討により、オレキシン含有神経はニューロペプチドY (NPY)、 $\alpha$ MSH、AgRPなどのニューロペプチドを持った神経終末によってinnervationされていることが示唆された。一方、免疫染色により、オレキシン含有神経を染色すると神経末端は、大脳皮質、視床、辺縁系、脳幹等、広範な領域に投射していた。また、これらの領域にはオレキシン受容体mRNAの発現が認められた。これらの結果から、オレキシン神経系は様々なニューロペプチドによる神経性の入力及び、血糖値や血中レプチン濃度などの末梢性の情報を最終的に脳の様々な領域へ伝える働きをしていると考えられた。さらに、オレキシン神経系が大脳皮質、辺縁系、脳幹など、広範な領域に投射していたことは、摂食行動の中で、特に認知、情動や感情のような側面に深く関与していることを示しており、このことから、ヒトの中枢性摂食異常症へのオレ

キシンの関与が強く示唆された。また、オレキシン遺伝子欠損マウス（ノックアウトマウス）を開発中である。

### iii) 脳内アミン、オレキシン以外の神経ペプチドの本症における病態生理的意義

神経性食欲不振症（AN）に認められる糖脂質代謝異常，免疫サイトカインの増加に、視床下部ヒスタミン系が関与していることを示すと共に、レプチンのシグナル伝達の一部は、ヒスタミン系を介していることを明らかにした。また、ANにおいてその病態生理的意義が推定されるCRFの心理ストレスに対する生体応答における意義を明らかにした。摂食調節に重要な生理的意義を有するニューロペプチドY (NPY) について、摂食障害における意義とその受容体の薬理学的研究を行うと共に、NPYトランスジェニックマウスを作製し、神経性過食症のモデル動物となる可能性を示した。また、ストレスによる過食，摂食抑制と内分泌環境の異常の関連性の分子機構の一端を解明した。

### iv) 脂肪細胞由来生理活性物質及びエネルギー消費調節に関与する脱共役蛋白質（UCP）の病態生理的意義

本症の成因となる中枢における摂食調節の分子機構の解明に加えて、肥満における心血管合併症の発症における脂肪細胞由来生理活性物質（アディポサイトカイン）の病態生理的意義の解明、脂肪細胞の分化因子（PPAR $\gamma$ ）の遺伝子発現と肥満症との関連、及び、摂食調節系に比べて研究の遅れているエネルギー消費調節系の分子機構の解明を行った。

脂肪組織発現遺伝子プロファイル解析により脂肪組織、特に内臓脂肪が多くの分泌蛋白遺伝子を発現しており、受動的なエネルギー貯蔵臓器のみでなく、巨大な内分泌臓器として捉えうることを示した。その中で血栓形成に関与するPAI-1は脂肪蓄積過程で内臓脂肪特異的に発現が増加し、血中レベルも内臓脂肪蓄積とともに増加し、内臓脂肪から直接合成・分泌されるPAI-1が肥満者の血栓症発症に関与することが示された。脂肪組織発現遺伝子の65%は未知の遺伝子であり、この中で脂肪組織に最も高頻度に発現していた遺伝子はコラーゲン様分泌蛋白をコードしていた。この蛋白は血管平滑筋の増殖抑制作用を持つが、脂肪組織特異的であるにもかかわらず肥満者では血中レベルが著

しく低下しており、分泌不全が血管病発症に関与する可能性が示唆された。また、新しい水チャネル分子、Aquaporin adiposeのクローニングに成功し、脂肪組織の未知の機能を明らかにしつつある。

新たなエネルギー消費調節の分子として、脱共役蛋白質3 (UCP3) cDNAを同定・構造決定し、骨格筋に高濃度、白色脂肪で低濃度、発現していることを明らかにした。UCP3、及び、他のエネルギー消費調節の分子であるUCP2の発現調節機構を検討した結果、高脂肪食肥満による骨格筋のUCP3の増加と白色脂肪のUCP2の増加を明らかにし、またPeroxisome proliferator-activated receptor (PPAR $\gamma$ ) アゴニストのチアゾリジンにより白色脂肪のUCP3の発現増加を示した。この知見はエネルギー消費調節に関与する分子が中枢性摂食異常症の病態生理において意義を有することを示唆するものと考えられる。PPAR $\gamma$ の2つのアイソフォームのcDNAクローニングに成功し、肥満モデル動物においてその遺伝子発現の変動を検討した。

## 2) 臨床的研究

本研究班では、ヒトのレプチンに対する抗血清を調整し、ヒトレプチンに特異的で高感度なラジオイムノアッセイを開発し、中枢性摂食異常症における病態生理的意義を検討した<sup>24)</sup>。内分泌代謝疾患をとまなわないヒト血漿レプチン濃度は男女でBMIおよび体脂肪率と良好な正の相関を示し、女性は男性の約2倍であった。神経性食欲不振症 (AN) の低体重群 (標準体重の85%以下) の血漿レプチン濃度は、非肥満非やせの健常者より著明に低く、ANの回復体重群 (標準体重の85%以上) の血漿レプチン濃度は低体重群より明らかに高値であり、ANにおけるレプチンの病態生理的意義が示唆された。また、本症において、血中NPYを測定し、神経性過食症 (BN) の食行動異常との関連性を示唆した。神経性食欲不振症 (AN) において病態生理的意義が推定される CRF I 型受容体遺伝子変異を検討するとともに、ANに認められる骨粗鬆症に関して臨床的研究を行った。また、中枢性摂食異常症に認められる自律神経機能異常に関して検討した。さらに、日本人Prader-Willi症候群患者の成長曲線を完成した。

## II、我国の中枢性摂食異常症の疫学調査及び診断基準の作製

中枢性摂食異常症患者の臨床疫学的な実態を把握し、新しい診断基準作成の基礎資料を収集することを目的として、本症の本格的な疫学調査を行った。

全国6県(福岡県、鹿児島県、兵庫県、大分県、新潟県、広島県)の主な摂食異常症治療施設を、摂食障害、及び著明なるい痩を主訴として受診した患者を対象とした。本研究班で作成した調査票を用いて調査を施行した。診断基準はDSM-IVに準拠したが神経性食欲不振症の体重の基準に関してはBMIが17.6未満とした。平成9年9月15日から12月14日までの3ヶ月間調査を行った。なお、鹿児島県においては平成9年9月15日から1年間調査を行った。

調査表の解析が可能であった患者は357人であった。神経性食欲不振症(AN)が178人(49.8%)、神経性過食症(BN)が111人(31.1%)、特定不能の摂食障害は68人(19.0%)を占めていた。男女比は1:38.7、平均年齢は22.8才、平均発症年齢は18.5才で青年期の女性に多かった。しかし30才以上の患者の割合は16.5%であり、1992年の全国調査の結果と比較すると、7倍になっており、罹患患者の年齢層の拡大がみられた。

平均罹病期間は51.7ヶ月と長期にわたっていた。AN患者及びBN患者を合わせ、罹病期間を嘔吐や下剤乱用を行う排出型群と非排出型群で比較した。前者の平均は64.9ヶ月、後者は29.5ヶ月で排出型群の方が非排出型群に比べ有意に罹病期間が長かった( $p<0.001$ )。摂食異常症患者の家族背景として、親の過保護、過干渉が35.2%、両親の不和が30.4%、3世代同居が15.1%の割合で認められ、家庭内問題を有する例が多かった。

鹿児島県における1年間の今回の調査結果より、中枢性摂食障害患者は女性総人口10万人あたり16.2人であり、1992年の全国調査時の鹿児島のデータと比較して3.4倍に増えていた。また、1997年の鹿児島県の1年間のAN初回入院患者は15才から24才女性の人口10万人あたり12.52人であった。Moller-Madsen S.ら(1992年)によると1989年のデンマークの調査結果では8.97人であった。西欧で中枢性摂食異常症が増加していないことを考慮すると、鹿児島県におけるANの初回入院患者数は西欧の頻度に匹敵することが明らかになった。

また、上記の結果をもとにDSM-IV等との整合性を考慮しつつ、我国の現情に即した中



中枢性摂食異常症の新しい診断基準を作成することができた。

以上より、本研究班においては、中枢性摂食異常症の臨床像を全国的規模の疫学的調査を行うことにより明確にし、それに基づいて我国独自の診断基準を作製し、今後の本症の病型把握、病態の多様化と重症化に対応できる基礎を確立した。また、基礎的研究においては、中枢における摂食調節の分子機構を分子生物学的、発生工学的手法を用いて解明した。特筆すべき成果として、レプチン過剰発現トランスジェニックマウスを開発し、中枢性摂食障害の個体レベルでの病態生理の解析を可能とした。また、オレキシンとその受容体の発見、及び中枢におけるオレキシン神経系の研究は、中枢性摂食異常症の成因におけるオレキシンの意義の解明を期待させるものである。

【残された課題】 今後は本研究班の研究成果を踏まえて以下のことが課題になると考えられる。

- 1) 中枢性摂食異常症に関する総合的な臨床的研究、すなわち、疫学的調査をさらに全国的規模に拡大し、我国における本症の頻度、臨床像をより明確にすることが必要である。
- 2) 本症の成因、病態に関する基礎的研究を一層進展させ、本症の成因解明、病態把握、新しい治療法の開発を促進することが不可欠である。



## IV . 総括研究報告

【平成10年度における研究目標】近年の我国の文化、社会的環境の変化は、中枢性摂食異常症の病態、発症様式、予後を変貌させつつあり、本症の予防、診断、治療の確立は重要な医学的課題である。また、摂食調節を不可欠な構成要素とするエネルギー代謝調節の分子機構に関する研究は、近年著しく進展し、それに関与する多くの新規関連分子が同定され、それらの生理的役割及び中枢性摂食異常症の成因及び病態生理の解明が期待される。

中枢性摂食異常症分科会は、上述の背景を踏まえ、中枢性摂食異常症の病因、病態を解明し、本症の予防、診断、治療の有効な方法を開発することを目的とした。このため、平成10年度は以下のことを目標とした。

1) 中枢性摂食調節機構をレプチンと新しい神経ペプチドであるオレキシンを中心に分子生物学的、発生工学的研究を行い解明する（中尾、桜井）、2) 本症の臨床像を明確に把握するために、本格的な疫学的調査を継続するとともに、結果の集約を行い、それを基に我国の実情に即した本症の診断基準を作製する（野添）、3) 中枢性摂食調節に関与するニューロペプチドY(NPY)、CRF受容体、視床下部ヒスタミンの本症における病態生理的意義に関する研究を継続する（春日、芝崎、坂田、葛谷）、4) 飢餓、あるいは瘦等におけるストレスに対する内分泌学的変化の分子機構を検討する（名和田）、5) 脂肪細胞特異的生理活性物質（アディポサイトカイン）の中で、アディポネクチンの超肥満における病態生理的意義を検討する（松澤）、6) エネルギー代謝調節系の重要な構成要素であるエネルギー消費系の分子機構の解明を脱共役蛋白（UCP）に関する研究を介して行う（細田）、7) 臨床的研究として、本症の自律神経機能異常を検討し（久保）、Prader-Willi症候群患者の成長曲線を完成する（松尾）。

【概要及び成果】以下に平成10年度の研究成果を示す。

1) レプチンが主に視床下部弓状核（Arc）に作用することにより、摂食量と体重増加の抑制をもたらすことを示してきた。Arcに存在するproopiomelanocortin（POMC）ニューロンにはレプチン受容体が存在し、レプチンによりPOMC遺伝子発現が増加することが報告されている。平成10年度において、レプチンの中枢性摂食調節作用における