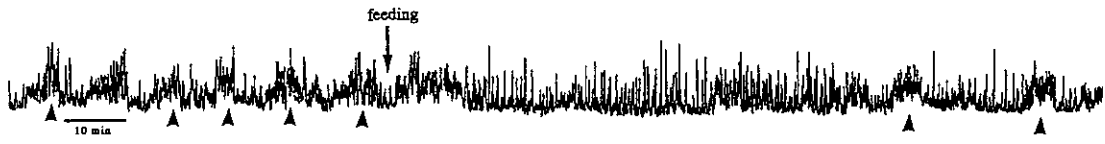
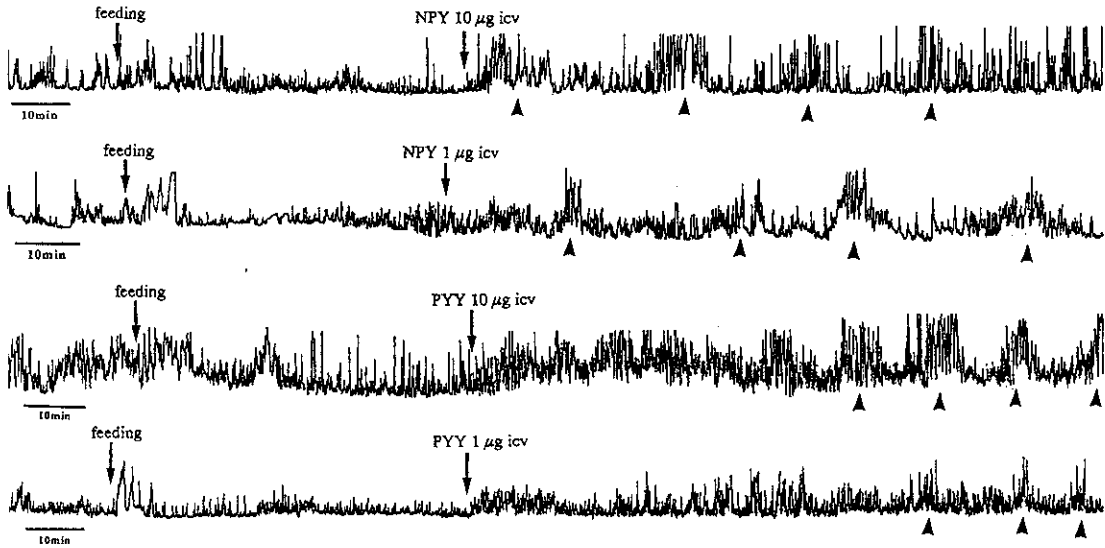


- 4) A. Inui. (1999) Neuropeptide Y feeding receptors—are multiple subtype involved?. *Trends Pharmacol. Sci* ; 20 : 43-46.
- 5) E. Itoh, M. Fujimiya, A. Inui. (1999) Thioperamide, a histamine H3 receptor antagonist, powerfully suppress PYY-induced food intake in rats. *Biol.Psychiatry* ; 45 : 475-481.
- 6) E. Itoh, M. Fujimiya, A. Inui. (1998) Thioperamide, a histamine H3 receptor antagonist, suppresses NPY—but not dynorphin A-induced feeding in rats. *Regul. Pept.* ; 75-76 : 373-376.
- 7) A. Inui, T. Inoue, S. Baba et al. (1990) Brain neuropeptide Y in the control of adrenocosticotropic hormone secretion in the dog. *Brain Res.* ; 510 : 211-215.

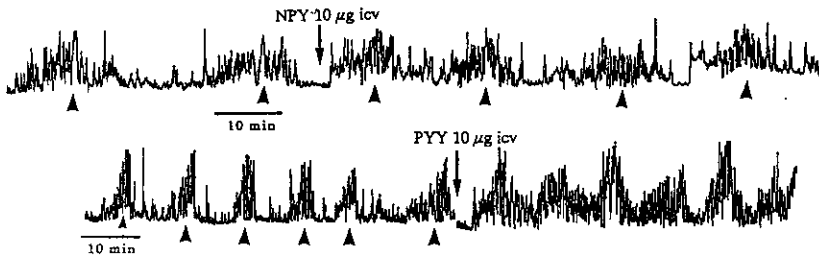
A



B



C



D

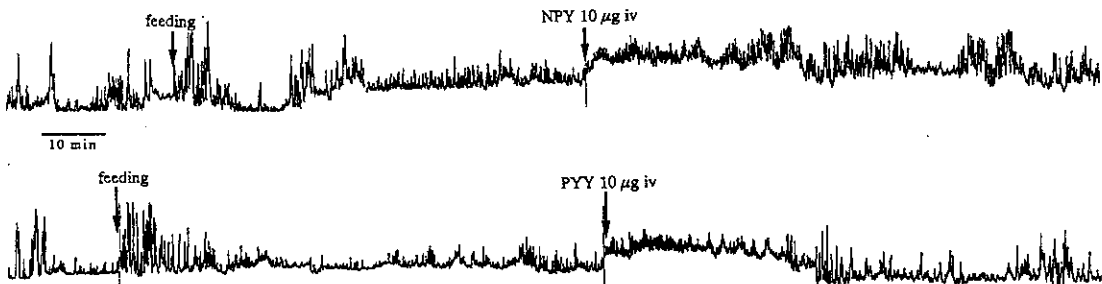


Figure 1. Manometric measurements of duodenal motility in conscious freely-moving rats. A : Basic pattern of motility in fasted and fed states. The fasted(interdigestive) pattern, which consists of the cyclic change of phase I -like and phase III -like(shown by arrows) contractions, is changed by feeding into the fed(digestive) pattern, which consists of the irregular contractions with high frequency, and then returns to the interdigestive pattern. B : Effects of icv injection of NPY and PYY on postprandial motility. The fed pattern is changed into the fasted pattern immediately after NPY injection, while a different pattern of high frequency and amplitude is observed after PYY injection. C : Effects of icv injection of NPY and PYY on the interdigestive pattern of motility. The pattern is not affected by NPY, while PYY induces pressure waves of high frequency and amplitude with the basic pattern being kept as an interdigestive one. D : Effects of iv injection of NPY and PYY on postprandial motility. Both NPY and PYY induce elevation of the baseline pressure waves.

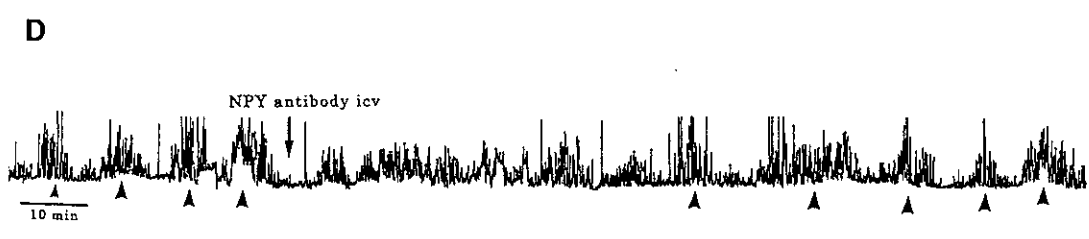
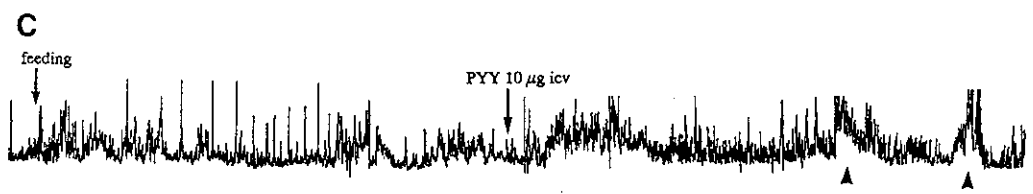
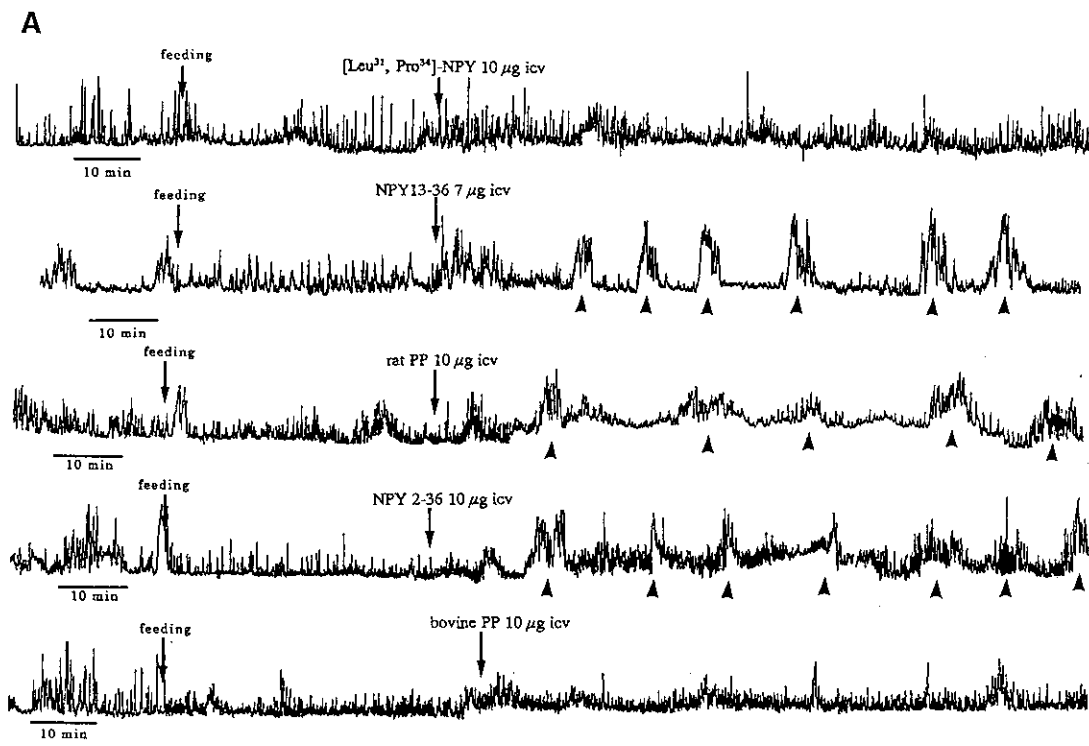


Figure 2. A : Effects of icv injection of different analogs on postprandial motility. After injection of NPY13-36, rat PP and NPY2-36, the fed pattern is replaced by the fasted pattern, however [Leu31, Pro34]-NPY and bovine PP did not alter the pattern. B : Effects of vagotomy on the PYY induced change in the interdigestive motor activity. PYY induced hyperactivity seen in Fig. 1C is blocked by the vagotomy. C : Effect of sympathectomy on the PYY induced hyperactivity in the fed state. Sympathectomy does not alter the effect of PYY. D : Effect of icv injection of NPY antibody on the interdigestive pattern of motility. The fasted pattern ceased and was replaced by a fed-like pattern for more than 30 min after injection of NPY antibody.

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

日本医科大学第二生理¹⁾、東京女子医科大学内科二²⁾

しばざき たもつ¹⁾、あらいけいこ¹⁾、おおはたひさゆき¹⁾、ほったまり²⁾
芝崎 保¹⁾、新井桂子¹⁾、大畠久幸¹⁾、堀田眞理²⁾

《KEY WORDS 神経性食欲不振症、CRF、CRF受容体、
CRF受容体拮抗薬、ストレス》

[目的]神経性食欲不振症(AN)の病因・病態にCRF(corticotropin-releasing factor)受容体CRFRサブタイプをラットを用いて関与した実験結果より解析する。

[方法]ラットにCRFタイプ1受容体選択的拮抗薬ないし対照として溶解液を腹腔内投与後90分間の拘束ストレスを負荷し、その後にペントバルビタールによる麻酔時間を比較した。ラットに非選択的CRF受容体拮抗薬ないし対照として溶解液を脳室内投与、あるいはCRFタイプ1受容体選択的拮抗薬ないし対照として溶解液を腹腔内投与した後に、心理ストレスをかけ行動と摂食量を比較した。

[結果]拘束ストレスによるペントバルビタール麻酔時間の短縮はCRFタイプ1受容体拮抗薬により阻止された。心理ストレスによる活動性の増加と摂食抑制は非選択的CRF受容体拮抗薬である α -helicalCRF(9-41)とCRFタイプ1受容体選択的拮抗薬によりそれぞれ阻止された。

[総括]ストレスによる摂食抑制、活動性の増加および覚醒亢進がCRFタイプ1受容体拮抗薬により阻止されたことから、ANにおける不食や身体的および精神的活動性亢進や睡眠障害等の病態にはCRFがCRFタイプ1受容体を介して関与していると考えられる。

Evidence that CRF type 1 receptor is involved in the pathophysiology of anorexia nervosa.

Shibasaki Tamotsu¹⁾, Arai Keiko¹⁾, Ohata Hisayuki¹⁾, Hotta Mari²⁾

1)Nippon Medical School, Department of Physiology. 2)Tokyo Women's Medical University, Department of Medicine

[Purpose]The aim of this study was to clarify the subtype of corticotropin-releasing factor (CRF) receptor which is involved in the pathophysiology of anorexia nervosa.

[Method]The effect of the selective CRF receptor 1 antagonist on the shortening of pentobarbital-induced sleep time by restraint stress was examined in rats. The effect of non-selective CRF receptor antagonist or selective non-peptidic CRF receptor 1 antagonist on suppression of food intake by psychological stress was also examined in rats.

[Results]Restraint stress shortened pentobarbital-induced sleep time, and the shortening was inhibited by the CRF receptor 1 antagonist. Psychological stress decreased food intake and increased locomotor activity in rats, and these changes were inhibited by both the non-selective CRF receptor antagonist and the selective CRF receptor 1 antagonist.

[Conclusion]These results suggest that CRF receptor 1 is involved in the mechanism by which CRF induces anorexia, an increase in physical activity and sleep disturbance in anorexia nervosa.

[はじめに]

神経性食欲不振症(AN)の主症状は不食、肉体的および精神的活動性の亢進、無月経である。これらの変化はストレス下のヒトやラット、さらにラットへのCRF(corticotropin-releasing factor)の脳室内投与でも認められ、さらにそれらの変化の出現はCRF受容体拮抗物質で阻止されることから、ANの病因・病態にはCRFが強く関与していると考えられる。この推測はAN患者の脳脊髄液中のCRF濃度が増加していることから支持される¹⁾。最近、CRF受容体がクローニングされ、タイプ1とタイプ2のサブタイプの存在が明らかにされた^{2,3)}。これに伴い、非ペプチド性CRFタイプ1受容体選択的拮抗薬の開発が行われ、抗不安薬として臨床応用されようとしている。ANの発症形態は多岐にわたるが、明らかに心理ストレスがその発症に関与していると考えられる症例も多く認められる。そこで、不安惹起物質であるCRFが病態に強く関与していると考えられるANにおいてもその治療薬としてCRF受容体拮抗薬が用いられる可能性があると考えられる。このためには、ANの病態の成立機序に関与しているCRF受容体サブタイプの特定は必須である。そこで、本研究ではラットを用いた実験結果より、ANの病態に関与しているCRF受容体サブタイプの考察を試みた。

[対象および方法]

体重180 gのウイスター系雄ラットを用いた。脳室内サンプル投与が必要なラットには実験5日前に麻酔下で側脳室内にカニューレを留置した。拘束ストレスは拘束ケージを用い90分間、心理ストレスはコミュニケーションボックスを用いて60分間、それぞれ負荷した。ペントバルビタール(PbNa)麻酔時間は50 mg/kg体重のPbNaを腹腔内投与後、立ち上がり反射の消失からその回復までの時間とした。心理ストレス負荷後の行動は1分毎に60分間観察し、静止、身づくろい運動、後足立ち、移動の4つに分類しそれらの頻度を測定した。非選択的CRF受容体拮抗薬として α -helical CRF(9-41)を、

CRF受容体タイプ1の選択的拮抗薬としてCRA1000(大正製薬)4)をストレス負荷15分前に、それぞれ脳室内あるいは腹腔内投与した。

[結果]

90分間の拘束ストレスは有意にPbNa麻酔時間を短縮した。この短縮は1 mg/kg体重(図1)、3 mg/kg体重量のCRA1000では阻止されなかったが、10 mg/kg体重量のCRA1000で阻止された(図2)。60分間の心理ストレスによりホームケージ内での移動頻度は増加し、逆に静止頻度は減少し、これらの変化は α -helical CRF(9-41)(図無し)および10 mg/kg体重量のCRA1000により阻止された(図3)。摂食量は60分間の心理ストレスにより減少し、その減少は α -helical CRF(9-41)(表1)および10 mg/kg体重量のCRA1000(表2)により阻止された。

[考案・結論]

ラットにおいてCRFの脳室内投与が摂食抑制やPbNa麻酔時間の短縮をもたらし、これらの変化は非選択的CRF受容体拮抗薬である α -helical CRF(9-41)により阻止される。さらに、拘束ストレスによる摂食抑制やPbNa麻酔時間の短縮が非選択的CRF受容体拮抗薬である α -helical CRF(9-41)により阻止される5,6)。これらの事実はストレスによる摂食抑制、PbNaの短縮の生じる機序にCRFが関与していることを示唆するものである。本研究で心理ストレスによる行動の変化や摂食抑制が α -helical CRF(9-41)のみならず、CRFタイプ1受容体選択的拮抗薬であるCRA1000により阻止されたことから、これらの変化はCRFがCRFタイプ1受容体に結合することにより生じると考えられる。さらに、拘束ストレスによるPbNa麻酔時間の短縮もCRA1000により阻止されることから、ストレスによる覚醒亢進にもCRFタイプ1受容体が関与していると考えられる。CRFタイプ1受容体の機能に関しては、CRFタイプ1受容体選択的拮抗薬を用いた実験結果より、下垂体からのACTH分泌7)、驚愕反応8)、鬱状態9)、青斑核ニューロン刺激

誘発性痙攣¹⁰⁾、急性炎症⁷⁾等に関与しているとの報告がされている。さらに、本研究から、ストレス下の摂食抑制、覚醒亢進にもCRFタイプ1受容体に関与していることが新たに明らかにされた。以上より、ANではCRFの過剰分泌が存在し、それがANの病態に強く関与していると考えられていることから、ANの主症状である不食、身体的および精神的活動性の亢進、睡眠障害等にはCRFタイプ1受容体に関与していると推測される。したがって、CRFタイプ1受容体選択的拮抗薬がANの治療薬として利用され得る可能性が示唆される。

[参考文献]

- 1)Hotta M, Shibasaki T, Masuda A, et al : The response of plasma adrenocorticotropin and cortisol to corticotropin-releasing hormone (CRH) and cerebrospinal fluid immunoreactive CRH in anorexia nervosa patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;63:167-173.
- 2)Lovenberg TW, Liaw CW, Grigoriadis DE, et al : Cloning and characterization of a functionally distinct corticotropin-releasing factor receptor subtype from rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:836-840.
- 3)Grigoriadis DE, Lovenberg TW, Chalmers D, et al : Characterization of corticotropin-releasing factor receptor subtypes. *Ann N Y Acad Sci* 1996;780:60-80.
- 4)Okuyama S, Chaki S, Kawashima N, et al : Behavioral and electrophysiological profile of non-peptide CRF1 antagonists, CRA1000 and CRA1001. *Soc Neurosci Abst* 1998;24:589.
- 5)Shibasaki T, Yamauchi N, Kato Y, et al : Involvement of corticotropin-releasing factor in restraint stress-induced anorexia and reversion of the anorexia by

somatostatin in the rat. *Life Sci* 1988;43:1103-1110.

6) Shibasaki T, Yamauchi N, Hotta M, et al : Brain corticotropin-releasing hormone increases arousal in stress. *Brain Res* 1991;554:352-354.

7) Webster EL, Lewis DB, Torpy DJ, et al : In vivo and in vitro characterization of antalarmin, a nonpeptide corticotropin-releasing hormone (CRH) receptor antagonist; suppression of pituitary ACTH release and peripheral inflammation. *Endocrinology* 1996;137:5747-5750.

8) Schulz DW, Mansbach RS, Sprouse J, et al : CP-154,526: a potent and selective nonpeptide antagonist of corticotropin releasing factor receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:10477-10482.

9) Mansbach RS, Brooks EN, Chen YL: Antidepressant-like effects of CP-154,526, a selective CRF1 receptor antagonist. *Eur J Pharmacol* 1997;323:21-26.

10) Baram TZ, Chalmers DT, Chen C, et al : The CRF1 receptor mediates the excitatory actions of corticotropin releasing factor (CRF) in the developing rat brain: in vivo evidence using a novel selective, non-peptide CRF receptor antagonist. *Brain Res* 1997;770:89-95.

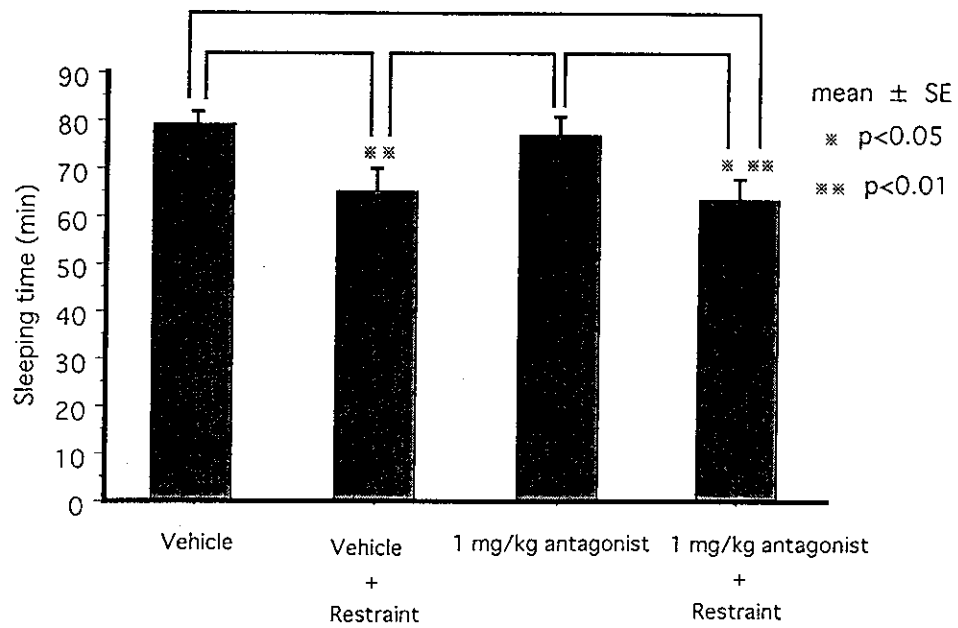


図1 拘束ストレスによるPbNa麻醉時間の短縮効果へのCRFタイプ1受容体拮抗薬 (1 mg/kg体重)の効果

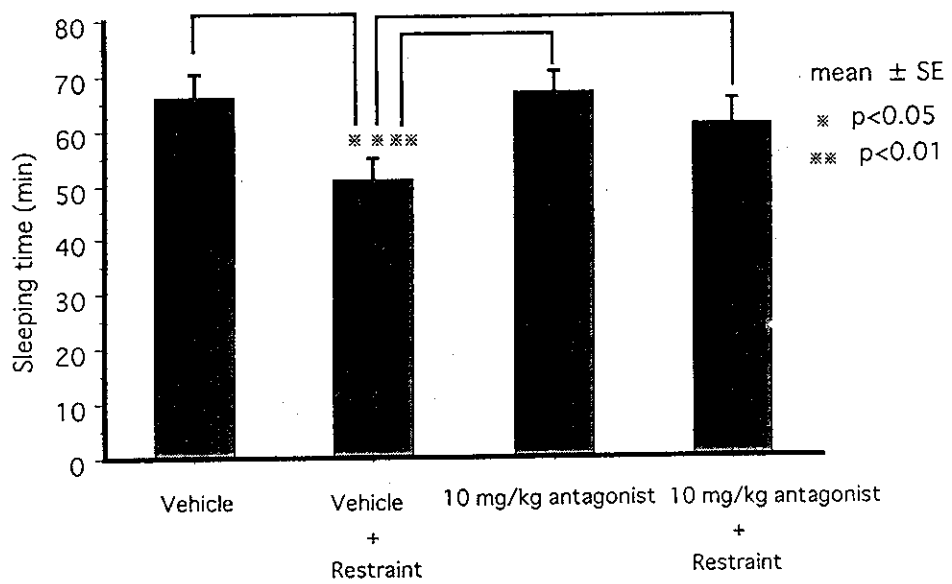


図 2 拘束ストレスによるPbNa麻醉時間の短縮効果へのCRFタイプ1受容体拮抗薬 (10 mg/kg体重)の効果

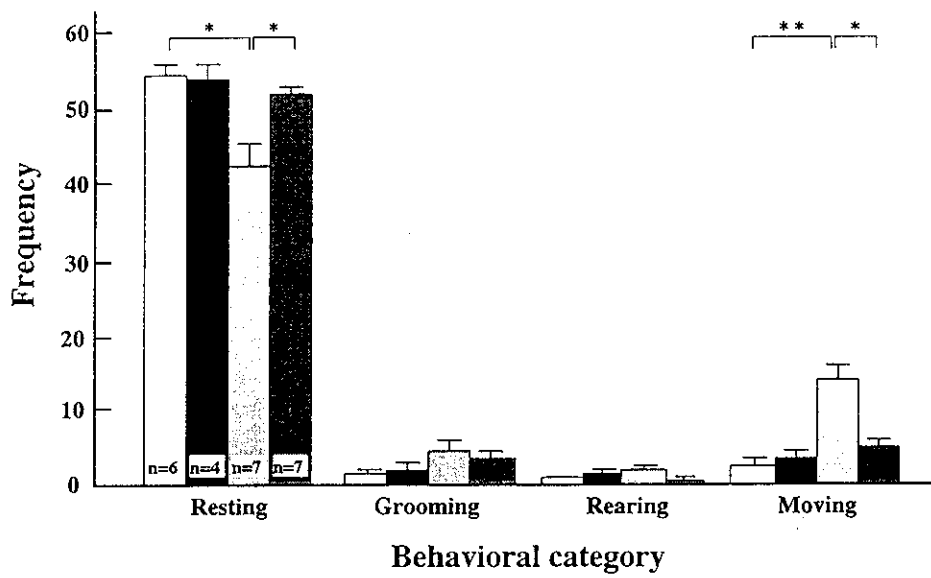


図3 心理ストレスによる行動変化へのCRFタイプ1受容体拮抗薬 (1 mg/kg体重)の効果

vehicle
 CRFR1拮抗薬
 vehicle+心理ストレス

 CRFR1拮抗薬+心理ストレス

Table 1 Effect of α -helical CRF on food intake of emotionally stressed rats

Treatment	n	Food intake (g) for 1hr
Vehicle	8	4.2 \pm 0.6
50 μ g α -hCRF	9	4.3 \pm 0.7
Vehicle +1 hr emotional stress	8	2.1 \pm 0.6 ^a
50 μ g α -hCRF + 1 hr emotional stress	8	3.6 \pm 0.5 ^b

Data are expressed as mean \pm SEM.

a p<0.01 vs. vehicle,

b p<0.01 vs. vehicle + emotional stress group.

Table 2 Effect of CRF receptor 1 antagonist on food intake of emotionally stressed rats

Treatment	n	Food intake (g) for 1 hr
Vehicle	5	4.8 ± 0.4
CRFR1 antagonist	4	4.6 ± 0.4
Vehicle +1 hr emotional stress	5	2.8 ± 0.4 ^a
CRFR1 antagonist + 1 hr emotional stress	5	4.2 ± 0.4 ^b

Data are expressed as mean ± SEM.

a p<0.01 vs. vehicle,

b p<0.05 vs. vehicle + emotinal stress group.

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

大分医科大学医学部第一内科

さかたとしいえ よしまつひろのぶ くるかわまもる おかきょうこ ちばせいいち まさきたかゆき
坂田利家、吉松博信、黒川 衛、岡 暁子、千葉政一、正木孝幸

《KEY WORDS 神経ヒスタミン、lipopolysaccharide、interleukin-1b、tumor necrosis factor-a、摂食行動、発熱、uncoupling proteins》

〔目的・方法〕 神経性食欲不振症などの慢性消耗性疾患で増加する interleukin-1b(IL-1b)や tumor necrosis factor-a(TNF-a)など、免疫サイトカインの中枢神経作用にヒスタミン神経系がどのように関与しているかを明らかにするため、lipopolysaccharide (LPS)投与による摂食行動抑制、発熱反応、uncoupling proteins (UCPs) mRNA発現量変化について解析した。

〔結果〕 LPS末梢投与により、摂食量の抑制と体温上昇反応、神経ヒスタミンの代謝回転の亢進が認められた。FMH前処置による神経ヒスタミン枯渇条件下では、LPSによる体温上昇作用はさらに増強されたが、摂食抑制作用には変化がなかった。LPS投与により脂肪組織UCP2mRNA、筋肉UCP3mRNAの発現が亢進したが、FMH前投与の影響はなかった。IL-1bの末梢投与によりLPSと同様に摂食抑制作用、発熱作用、神経ヒスタミン代謝回転亢進が観察された。FMH前処置により、IL-1bによる摂食抑制作用は減弱されたが体温上昇作用は増強された。TNF-aの末梢投与によっても摂食抑制作用と発熱作用が観察されたが、神経ヒスタミンの代謝回転には影響がなかった。

FMH前処置後も、TNF- α による摂食抑制作用および発熱作用には変化がなかった。

[考察] LPSによる発熱作用には神経ヒスタミンが関与し、過剰な体温上昇に抑制的に働いていることが判明した。しかし、LPSによる摂食抑制作用にはヒスタミン系の関与がなく、発熱作用と摂食抑制作用との間で解離が認められた。一方、神経ヒスタミンはLPSの中樞作用のmediatorであるIL-1 β の作用には強く関与しており、TNF- α のそれには関与していない。したがって、これら両サイトカインのヒスタミン系への機能連絡の違いがLPSの中樞神経作用メカニズムに関与していることが考えられる。

Hypothalamic neuronal histamine modulates
immunocytokine - induced feeding suppression and thermogenesis.

Toshiie Sakata, Hironobu Yoshimatsu, Mamoru Kurokawa, Kyoko Oka, Seichi Chiba, Takayuki Masaki.

Department of Internal Medicine 1, School of Medicine, Oita Medical University.

[Abstract] Immunocytokines including interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) which are born in peripheral blood under chronic emaciation of anorexia nervosa have been shown to affect feeding behavior and body temperature through the central nervous system (CNS). Present study aimed to clarify involvement of hypothalamic neuronal histamine in these cytokine -induced feeding suppression and thermogenesis. Peripheral administration of lipopolysaccharide (LPS), an inducer of immune cytokine, suppressed 24-hr cumulative food intake, elevated body temperature and histamine turnover in the hypothalamus assessed by accumulation of

tele-methylhistamine, a major metabolite of histamine in CNS, after treatment with prgyline, an inhibitor of monoamine oxidase B. Depletion of neuronal histamine using α -fluoromethylhistidine (FMH), a suicide inhibitor of a histamine synthesizing histidine decarboxylase enzyme, augmented LPS-induced thermogenesis, but did not affect feeding suppression. The results indicated a preventing role of neuronal histamine from excessive increase in body temperature. Administration of LPS increased mRNAs of uncoupling protein 2 (UCP2) in white adipose tissue and UCP3 in muscle. FMH *per se* did not affect these increased expression of UCPs induced by LPS. Thus, the up-regulation of UCPs is highly probable to be involved in LPS-induced thermogenesis, but not in histaminergic modulation of thermogenesis. Peripheral administration of IL-1b or TNF- α also suppressed food intake and increased body temperature. However, IL-1b, but not TNF- α , increased hypothalamic histamine turnover. FMH pretreatment attenuated IL-1b-induced feeding suppression and augmented thermogenesis, while FMH did not affect those changes induced by TNF- α . Taken together, LPS-induced thermogenesis is mainly mediated by IL-1b and is affected by histaminergic function, but LPS-induced feeding suppression is mediated by TNF- α independently on histamine action.

[研究目的]

慢性消耗性疾患ではIL-1bやTNF- α などの免疫サイトカインが血中に増加してくる。これらのサイトカインは標的臓器である中枢神経系に作用し、摂食抑制や発熱反応を引き起こすので、エネルギー消費量は亢進することが知られている。神経性食欲不振

症 (AN) でも、これらのサイトカインが血中に増えてくるが、その病態生理学的意義は不明である。視床下部神経ヒスタミンは飢餓状態などのエネルギー欠乏状態で賦活化され、摂食抑制、血糖上昇、脂肪分解の諸作用を示す¹⁾。つまり、ヒスタミン神経系は生体の恒常性維持に寄与している。しかし一方で、ヒスタミン神経系の過剰適応は、その摂食抑制、体温低下^{2,3)}、脂肪蓄積抑制といった作用からみて、ANの病態進展に関わる可能性がある。本年度研究の目的は、LPSによって賦活化される免疫サイトカインの中樞神経作用に、ヒスタミン神経系がどのように関与しているかを明らかにすることにある。

[方法]

LPS(10 μ g/rat) 腹腔内投与による摂食量、体温の変化を自動解析テレメトリーシステムで記録した。視床下部神経ヒスタミンの代謝回転をHPLC法により測定した。代謝回転の指標として、monoamine oxidase B阻害薬であるpargyline前処置後の、テレメチルヒスタミン(*tMH*)蓄積量を用いた。同時に、LPS投与による褐色脂肪組織(BAT)、白色脂肪組織(WAT)、筋肉のUCP1, UCP2, UCP3 mRNA発現変化を解析した^{4,5)}。IL-1b、TNF- α 末梢投与による神経ヒスタミン代謝回転を測定するとともに、摂食抑制と、体温上昇の作用について同様に検討した。LPSおよび各サイトカインの中樞作用に対する神経ヒスタミンの関与を明らかにするため、ヒスタミン合成酵素の阻害薬である α -fluoromethylhistidine (FMH) を用い神経ヒスタミンの枯渇による影響も解析した。

[結果および考察]

1. LPS末梢投与による摂食行動、体温変化に対する神経ヒスタミンの関与

LPS末梢投与により、24時間摂食量の抑制($p < 0.05$)と体温上昇反応が認められた