

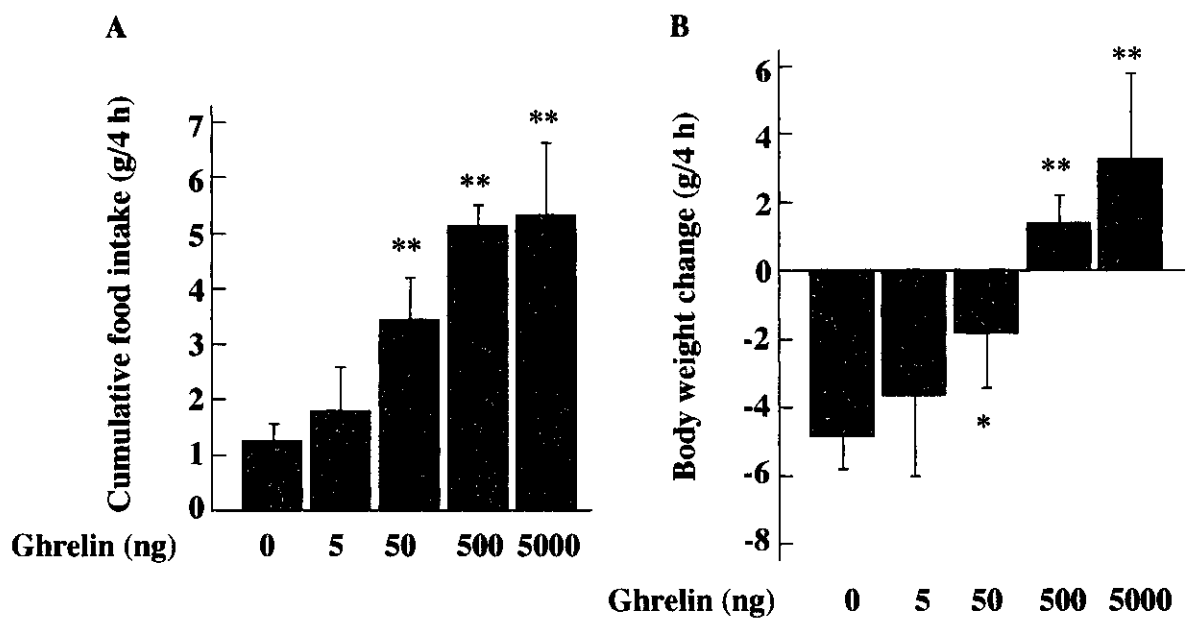


図1. ラットにおけるグレリンの摂食量及び体重変化に及ぼす影響

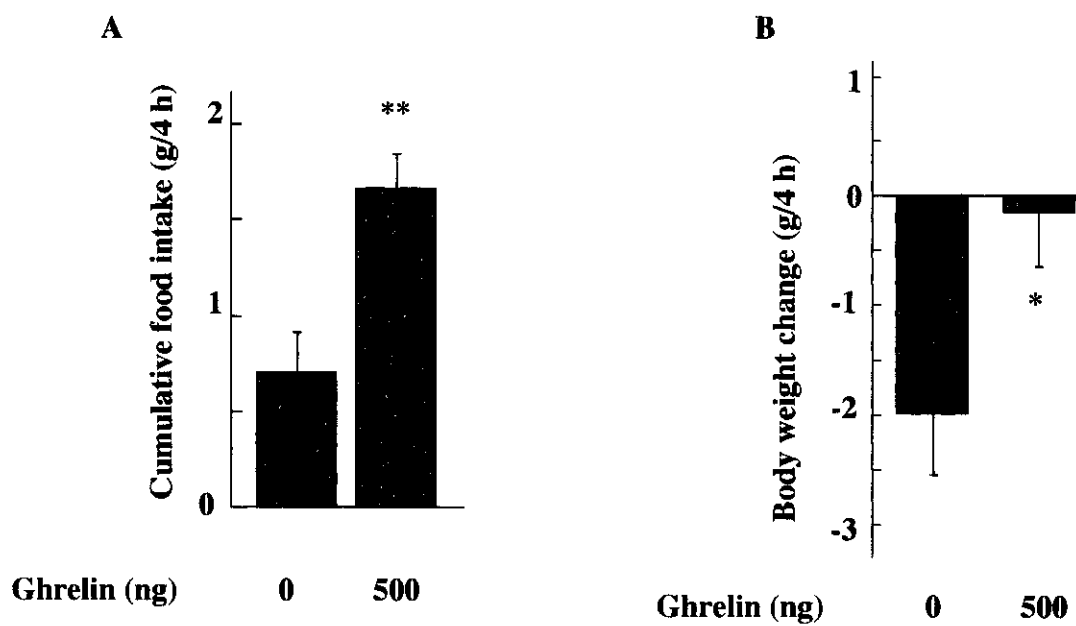


図2. Spontaneous dwarf rats (SDR) におけるグレリンの摂食量及び体重変化に及ぼす影響

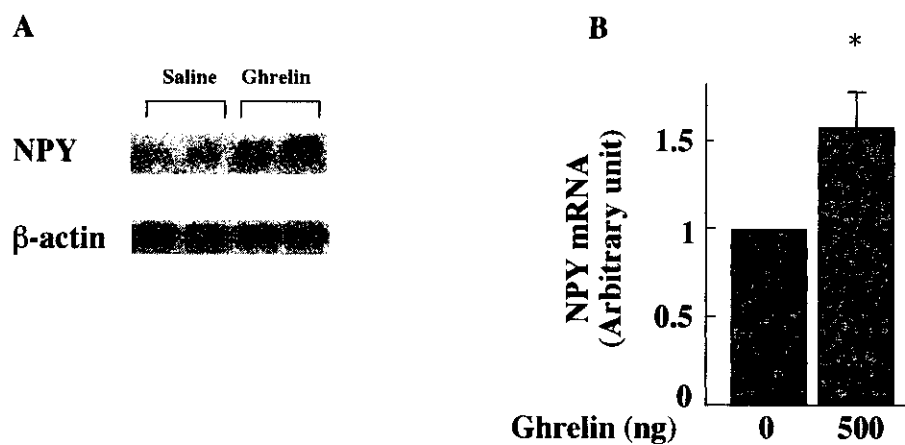


図3. ラットにおけるグレリンの視床下部NPY遺伝子発現に及ぼす影響

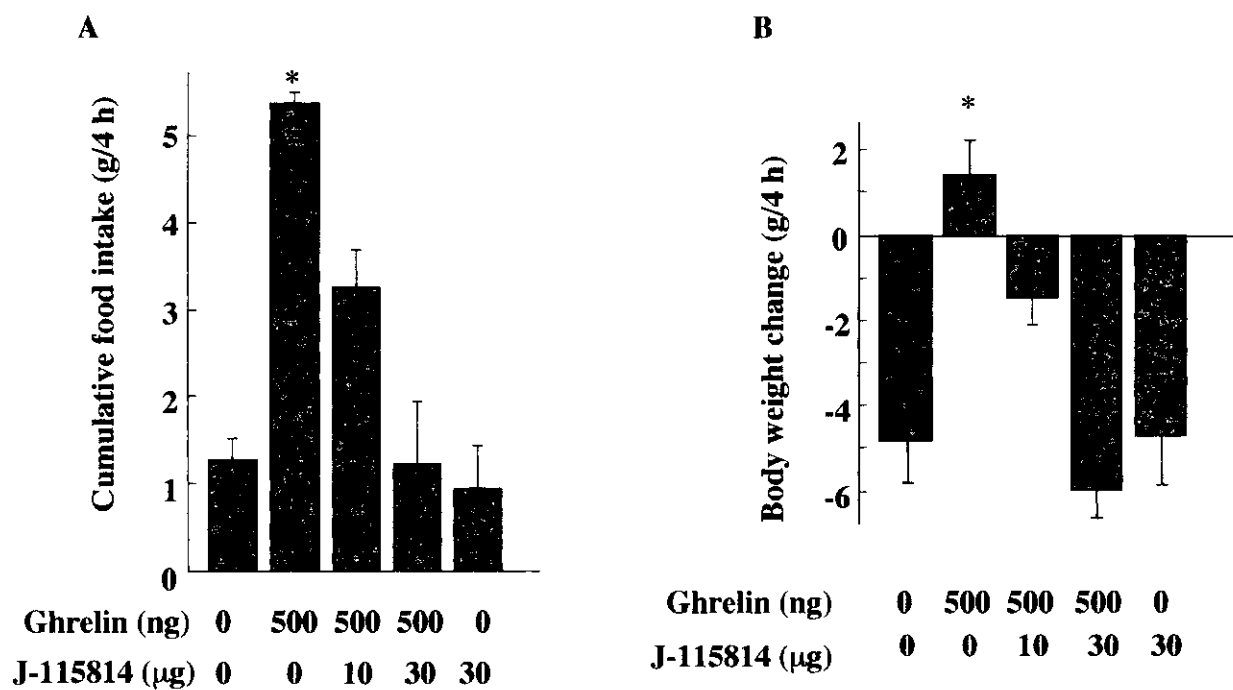


図4. グレリンの摂食促進及び体重増加作用に及ぼすNPY/Y1受容体拮抗薬 J-115814の影響

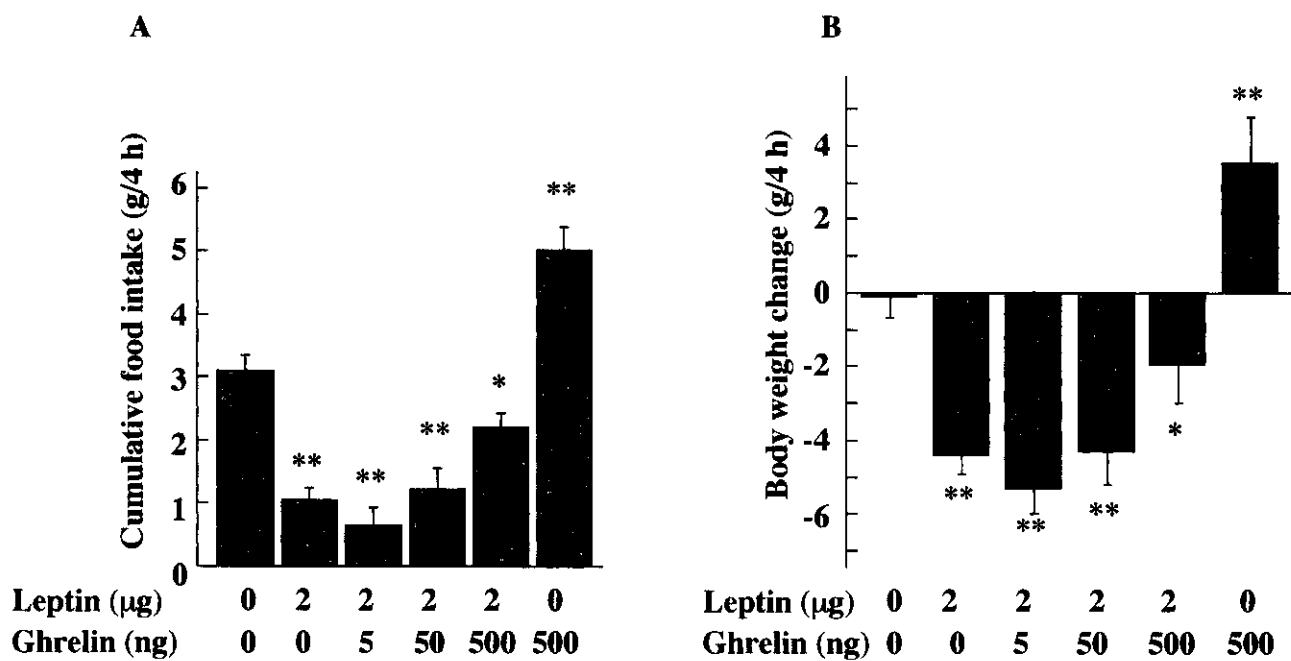


図5. レプチンの摂食抑制及び体重減少作用に及ぼすグレリンの影響



図6. 視床下部NPY遺伝子発現に及ぼすレプチンとグレリンの影響

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

中枢性摂食異常症における エネルギー消費調節に関する研究

分担研究者 細田 公則 京都大学大学院・人間・環境学研究科 助手

【研究要旨】

エネルギー代謝調節系は中枢性摂食異常症の病態において重要である。エネルギー代謝調節系は摂食調節系とエネルギー消費調節系から成る。我々はエネルギー消費調節に関与する分子のUCP3の生理的および治療的な意義について、骨格筋特異的にUCP3を、生理的刺激による発現誘導と同程度に過剰発現するトランスジェニックマウス（Tgマウス）を作製し、検討した。通常食の条件でTgマウスは対照マウスに比較して、体重の減少傾向を示したが、有意ではなく、酸素消費量、摂食量にも特に有意差を認めなかった。高脂肪食の条件でTgマウスは対照マウスに比較して、有意な体重の増加と有意な酸素消費量の減少と摂食量の増加傾向を認めた。本研究はUCP3の生理的および治療的意義を示唆した。本研究によりUCP3がエネルギー消費調節に関与していることが明らかになった。

【研究目的】

エネルギー代謝調節系は中枢性摂食異常症の病態において重要である。エネルギー代謝調節系は摂食調節系とエネルギー消費調節系から成る。中枢性摂食異常症におけるエネルギー消費調節系の意義を検討することは重要である。骨格筋は全身のエネルギー消費の約4割に相当するが、その分子機構の研究は遅れていた。従来から褐色脂肪におけるエネルギー消費調節に関与する分子として脱共役蛋白質1（UCP1）が知られていたが、我々は骨格筋に高濃度に発現するUCPファミリーの分子としてUCP3を同定した。本研究ではUCP3の機能的意義を明らかにする目的で、骨格筋特異的UCP3過剰発現Tgマウスを作製し、解析した。

【研究方法】

mouse muscle creatinine kinaseのプロモーターの下流にマウスUCP3cDNAを発現するベクターを用いて、骨格筋特異的UCP3過剰発現Tgマウスを作製した。骨格筋におけるUCP3の過剰発現の程度に関しては、

ノザン法およびウエスタン法により検討した。通常食、及び、高脂肪食の条件で飼育し、摂食量、体重を測定し、また、indirect calorimetryにより酸素消費量を測定した。

（倫理面への配慮）

動物実験の動物愛護上の配慮については、京都大学の動物委員会で定められた規定に従った。

【研究結果】

得られたTgマウスの系統の骨格筋におけるUCP3発現は遺伝子発現レベルおよび蛋白レベルで、対照マウスに比較して約18倍であった。通常食ではTgマウスの体重は対照マウスに比較して、低下傾向を示したが、その低下は有意ではなかった。摂食量、酸素消費量は対照マウスに比較して有意差を示さなかった。糖負荷試験の検討では、Tgマウスの耐糖能は対照マウスに比較して有意差を示さなかった。高脂肪食ではTgマウスの体重は対照マウスに比較して約15%の有意な減少を示し、一方、Tgマウスの摂食量は増加傾向

であったが、その増加は有意ではなかった。Tgマウスの酸素消費量は約10%の有意な増加を示した。糖負荷試験の検討では、Tgマウスの耐糖能は対照マウスに比較して有意な改善を示した。

通常食の飼育の条件で、24時間の絶食による血中の糖、脂肪酸の濃度を、Tgマウスと対照マウスで比較検討したが、特に有意差を認めなかった。

通常食の条件のTgマウスで、骨格筋、心筋を含む全身臓器で、組織学的検討を行ったが、特に異常を認めなかった。

【考察】

骨格筋においてUCP3の約18倍の過剰発現を示すTgマウスを作製したが、高脂肪食でTgマウスの摂食量は対照マウスより増加傾向にあるので、有意な体重低下は有意なエネルギー消費の増加によると推定される。有意なエネルギー消費の増加は、骨格筋特異的なUCP3遺伝子発現の増加によるものと考えられる。通常食ではTgマウスは体重の低下傾向を示したが、有意な変化を示さず、また、それ以外の項目でも有意な変化を示さなかった。

グラキソのグループにより、骨格筋のUCP3遺伝子発現の約66倍の過剰発現のTgマウスで、通常食および肥満誘導食の両方の条件で、摂食量とエネルギー消費の有意な増加、有意なエネルギー消費の増加、耐糖能の有意な改善が認められている。生理的刺激による骨格筋のUCP3の遺伝子発現の亢進は既報では最大で約10-20倍程度であるので、生理的な刺激ではグラキソのグループのTgマウスのようなUCP3の約66倍の過剰発現は期待されず、これで、UCP3の生理的意義を推定するのは難しい。しかし、我々のTgマウスのデータより、生理的刺激によるUCP3の発現誘導でも、肥満の条件では、エネルギー消費増加、体重減少の作用

が認められることが示唆された。我々のTgマウスと同程度のUCP3の発現誘導は薬剤でも可能と考えられるので、本研究の結果から、薬剤によりUCP3の活性を増強することの、肥満・糖尿病治療への応用の可能性が示唆された。

UCP3遺伝子発現が絶食により増加し、また、UCP3が脂肪酸の消費に関与する可能性があるので、絶食後の血中の糖と中性脂肪と総コレステロールと脂肪酸の濃度をTgマウスと対照マウスで比較検討したが、有意差は認められず、UCP3が絶食時の血中の脂肪酸濃度の増加を抑制している可能性は考えにくい。

本研究によりUCP3がエネルギー消費調節に関与していることが明らかになった。中枢性摂食異常症でのエネルギー消費調節におけるUCP3の意義については、今後の検討を必要とする。

【結論】

生理的な刺激でも認められる程度のものに対応するUCP3の過剰発現により、エネルギー消費の有意な増加と体重の有意な低下が認められた。

【健康危険情報】

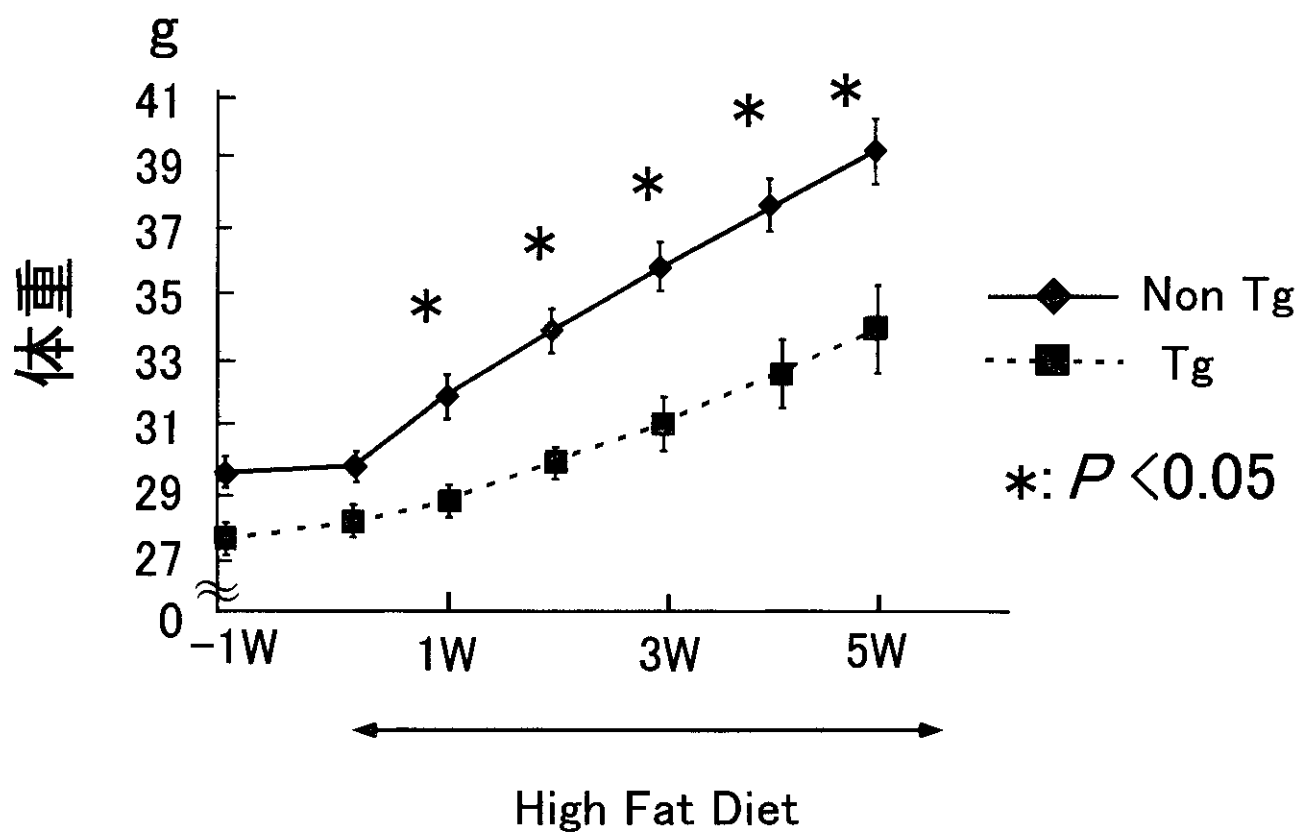
生理的な範囲のUCP3の発現誘導では、エネルギー消費の有意な上昇と体重の有意な低下は認められたが、特に危険な程度ではない。また、それにより、骨格筋、心筋を含む全身臓器に特に異常を認めなかった。

【研究発表】

以上の研究成果については、現在、投稿準備中である。

【知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）】

特になし。



厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

摂食行動におけるオレキシン産生神経の役割の解明

分担研究者 桜井 武 筑波大学基礎医学系 助教授

【研究要旨】

オレキシン-Aと-Bは、われわれのグループが1998年に発見した神経ペプチドであり、動物の脳室内にオレキシンAまたはBを投与すると、摂食量の増加が認められる。最近では、睡眠障害の一つであるナルコレプシーとオレキシンとの関係が明らかにされつつある。昨年度は、オレキシン神経の摂食行動における役割を解析するために、オレキシン神経を特異的に除去したマウスを作成した。

オレキシン含有神経は、摂食中枢として知られる視床下部外側野に局在し、脳内の広範な領域に投射している。近年、われわれは、ヒトオレキシンプロモーターの性質をトランスジェニックマウスを用いて解析した結果、転写開始点から5'上流3.2-kbの断片にはオレキシン神経にきわめて特異的に外来の遺伝子を発現させる能力があることを突きとめた。

この転写制御領域を用いて、Machado-Joseph病の原因遺伝子ataxin-3に含まれるポリグルタミン・リピートの部分を発現させるトランスジーンを構築し、トランスジェニックマウスを作成した。このマウスではオレキシン神経特異的にアポトーシスが誘導され、オレキシン神経を特異的に脱落したマウスを作成することが出来た。このマウスではナルコレプシー様の症状を呈するとともに、摂食量の著明な減少がみられた。本年度はこのマウスの表現系の解析を行った。

さらに、同じ転写制御領域をもちいて、オレキシン神経に特異的にGreen Fluorescent Protein(GFP)を発現するトランスジェニックマウスを作成し、このマウスの視床下部から、蛍光を発生するニューロンを単離し、オレキシン産生ニューロンの性質をパッチクランプ法によって明らかにした。

【研究目的】

オレキシン-Aと-Bは、33アミノ酸残基および、28アミノ酸残基の神経ペプチドであり、動物の脳室内にオレキシンAまたはBを投与すると、摂食量の著明な増加が認められる。さらに、最近では、オレキシン遺伝子欠損マウスが作成され、摂食量が20%減少するとともに、ナルコレプシー様の睡眠障害を呈することが示され、オレキシンが、摂食行動だけでなく、睡眠の制御にも関与していることが示されている。オレキシン神経は、摂食中枢として知られる視床下部外側野に存在し、脳内の広範な領域に投射している。

われわれは、トランスジーンを用いて、オレキシン神経を特異的に脱落するマウスを作成し、摂食行動を

中心とした表現系の変化を検討した。

一方、このオレキシン神経の電気生理学的な役割を明らかにするために、オレキシン神経特異的にGFPを発現するマウスを作成した。このマウスからGFP陽性細胞を単離して、電気生理学的な性質を明らかにすることを目的とした。

【研究方法】

われわれは、*lacZ*をレポーター遺伝子として、ヒトオレキシン遺伝子プロモーターの性質を検討したところ、ヒトオレキシン遺伝子の転写開始点の上流3.2-kbの断片をプロモーターとして用いると外来の遺伝子を特異的にオレキシン神経に発現させることが出来るこ

とをつきとめている。そこでこのプロモーターを用いて、Machado-Joseph病の原因遺伝子、ataxin-3のcDNAに含まれるポリグルタミン・リピートをコードする部分を発現させるトランスジェン(orexin/ataxin-3)を構築し、トランスジェニックマウスを作成した。Ataxin-3は、N末端側の286残基を削除した構築を用いた。組織学的解析のためC末端にはMycのエピトープを付加した。

ポリグルタミン・リピートを神経細胞に発現させると、アポトーシスを誘導し、神経細胞死を引き起こすことがわかっている。このマウスを用いて、摂食行動についての表現系を調べた。

また同じプロモーターを用いて、GFPを発現するトランスジェン(orexin/EGFP)を構築し、マウスを作成した。

【結果】

orexin/ataxin-3トランスジェニックマウスでは視床下部外側野のオレキシン・ニューロンの核内に特異的にポリグルタミン・リピートを含む(抗Myc抗体で染色される)核内封入体が観察された。また、これらのマウスでは、顕著にオレキシン・ニューロンの脱落が認められ、12週齢でほぼすべてのオレキシン・ニューロンが消失していた(図1)。また、MSH、NPY、 α MSH神経には全く異常が認められず、ヘマトキシリン-エオシン染色でも異常は認められなかった。ノーザン解析、RIAによっても、オレキシンの発現が検出限界以下に下がっていることが確かめられた。夜間の活動を赤外線ビデオで撮影することにより、カタプレキシー様の発作が観察され、オレキシン神経は、摂食と睡眠の制御に重要な働きをしていることが示された。さらに、脳波/筋電図の同時測定により、覚醒・睡眠をしらべたところ、覚醒・睡眠リズムの分断化がみられ、また時々覚醒相から直接逆説睡眠に移行する異常がみられた。

これらのマウスでは、9-10週齢において、夜間摂食量が30%ほど減少していた(図2B)しかしながら、体重の変化を経時的に追ってみると、10週齢以降トランスジェン(-)のマウスと比べ、有意に体重が重くなり、肥満傾向が見られた(図2A,C)。したがって、代謝は減少していると考えられた。そこで、自発運動量を赤外線モニタリングシステムで測定したところ、夜間の自発運動量が有意に減少していた(図2D)。

視床下部外側野では、特定の神経伝達物質をもった神経細胞は明確な核をつくらず、少数のオレキシン神経とMCH神経が散在している。さらに、無数の介在神経が存在するため、オレキシン神経だけをマーカーなしに同定するのは困難である。そこで、ヒト・オレキシンプロモーターによって、GFPを発現させるトランスジェンを構築し、トランスジェニックマウスを作成した。このマウスでは、オレキシン神経にきわめて特異的にGFPを発現していた。したがって、このマウスの視床下部から、GFPの蛍光を指標にオレキシンを産生する神経細胞を同定することが可能になった。この系を用いて、オレキシン神経の性質をパッチクランプ法で調べたところ、静止膜電位が-52mVほど、自発発火頻度が21.2Hz、膜キャパシタンスが5pFほどの神経細胞であった(N=5)。また、発火頻度は、レプチンによって強力に抑制され、高血糖時に抑制されることがわかった。またグレリン(ghrelin)によって活性化された。

【考察】

オレキシン神経を特異的に脱落させたマウスは、摂食量が減少していた。また、ナルコレプシー様の睡眠障害がみられた。以上のことより、オレキシン神経は摂食行動および、覚醒状態の制御に重要な役割をしていると考えられた。

覚醒と摂食には密接な関係があるが、オレキシン神経はその両者を制御していることがあきらかになった。また、このマウスでは、遅発性の肥満がみられ、代謝異常があることが示唆された。

Orexin/EGFPマウスの視床下部からオレキシン産生神経を単離して性質を調べたところ、オレキシン神経は、レプチン、グレリンによって、それぞれ抑制、活性化された。さらに高血糖時に活性は低下した。これらのことから、オレキシン神経の活性は、血中レプチン濃度が高くなり、血糖値が高くなる満腹時や肥満状況において低下し、摂食行動や、覚醒レベルに影響を与えていることがわかった。おそらく肥満者では、オレキシン神経の活性が低下し、低レプチン血症を伴うような拒食症患者では、オレキシン神経の活性が亢進していると考えられる。オレキシンは、覚醒レベル、情動、内分泌の制御に関わっているとされるため、摂食異常症において、オレキシン神経の活性の変動が病態の修飾に関わっている可能性が示唆された。

【研究発表】

1. Junko Hara, Carsten T. Beuckmann, Tadahiro Nambu, Jon T. Willie, Richard M. Chemelli, Christopher M. Sinton, Fumihiro Sugiyama, Ken-ichi Yanagi, Katsutoshi Goto, Masashi Yanagisawa, and Takeshi Sakurai. Genetic Ablation of Orexin Neurons in Mice Results in Narcolepsy, Hypophagia and Obesity. *Neuron*, in press.
2. Nakamura T, Uramura K, Nambu T, Yada T, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T. Orexin-induced hyperlocomotion and stereotypy are mediated by the dopaminergic system. *Brain Res.* 2000;873:181-7.
3. Nanmoku T, Isobe K, Sakurai T, Yamanaka A, Takekoshi K, Kawakami Y, Ishii K, Goto K, Nakai T. Orexins suppress catecholamine synthesis and secretion in cultured PC12 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;274:310-5.
4. Abe Y, Nakayama K, Yamanaka A, Sakurai T, Goto K. Subtype-specific trafficking of endogenous orexin receptors. *J Biol Chem.* 2000;275:8664-71.
5. Yamanaka A, Kunii K, Nambu T, Tsujino N, Sakai A, Matsuzaki I, Miwa Y, Goto K, Sakurai T. Orexin-induced food intake involves neuropeptide Y pathway. *Brain Res.* 2000;24:404-409.
6. Sakurai T. Orexins and orexin receptors: implication in feeding behavior. *Reg. Peptides.* 1999;85:25-30
7. Yamanaka, A, Sakurai, T, Katsumoto, T, Yanagisawa, M, Goto, K. Chronic intracerebroventricular administration of orexin-A to rats increases food intake in daytime, but has no effect on body weight. *Brain Res.* 1999;849:248-252.
8. Kunii K, Yamanaka A, Nambu T, Matsuzaki I, Goto K, Sakurai T. Orexins regulate drinking behaviour. *Brain Res.* 1999;842:256-261
9. Shibahara M, Sakurai T, Nambu T, Takenouchi T, Iwaasa H, Egashira S, Ihara M, Goto K. Structure, tissue distribution, pharmacological characterization of *Xenopus* orexins. *Peptides.* 1999;20:1169-76.
10. Sakurai T, Moriguchi T, Furuya K, Kajiwar N, Nakamura T, Yanagisawa M, Goto K. Structure and function of human prepro-orexin gene. *J. Biol. Chem.* 1999;274:17771-17776.
11. Nambu T, Sakurai T, Mizukami K, Hosoya Y, Yanagisawa M, Goto K. Distribution of Orexin Neurons in the Adult Rat Brain. *Brain Res.* 1999;827:243-260.
12. Moriguchi T, Sakurai T, Nambu T, Yanagisawa M, Goto K. Neurons containing orexin in the lateral hypothalamic area of the adult rat brain are activated by insulin-induced hypoglycemia. *Neurosci. lett.* 1999;264:101-104.
13. Elias CF, Saper CB, Maratos-Flier E, Tritos NA, Lee C, Kelly J, Tatro JB, Hoffmann GE, Ollmann MM, Barsh GS, Sakurai T, Yanagisawa M, Elmquist JK. Chemically defined projections linking the mediobasal hypothalamus and the lateral hypothalamic area. *J. Comp. Neurol.* 1998;402:442-459.
14. Date Y, Ueta Y, Yamashita H, Yamaguchi H, Matsukura S, Kangawa K, Sakurai T, Yanagisawa M, Nakazato M. Orexins, novel orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999;96:748-753
15. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chimerli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JRS, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, McNulty DE, Terrett JA, Holmes SD, Bergsma DJ, Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998; 92:573-585.

図1 : orexin/ataxin-3トランスジェニックマウスの視床下部外側野に見られたオレキシン神経の脱落を週齢(4週、8週、15週)ごとに示す。オレキシン神経を免疫染色したもの。

図2 : orexin/ataxin-3トランスジェニックマウスに見られたエネルギー恒常性の異常。(A) 18週齢のorexin/ataxin-3マウス(左)と同腹のコントロールマウス(右)。(B) orexin/ataxin-3マウス(n=8)と同腹のコントロールマウス(n=8)の成長曲線。* From 12 to 15weeks, $P<0.05$; from 16weeks onwards, $P<0.01$.

(C) orexin/ataxin-3マウス(n=8)と同腹のコントロールマウス(n=8)(ともに8-10週齢)の摂食量。 $P<0.002$
(D) orexin/ataxin-3マウス(n=8)と同腹のコントロールマウス(n=8)の自発運動量。インセットは、24時間のカウントの合計値。 $P<0.001$ (n=24). 統計処理はANOVA(two-way layout with repetition)で行った。

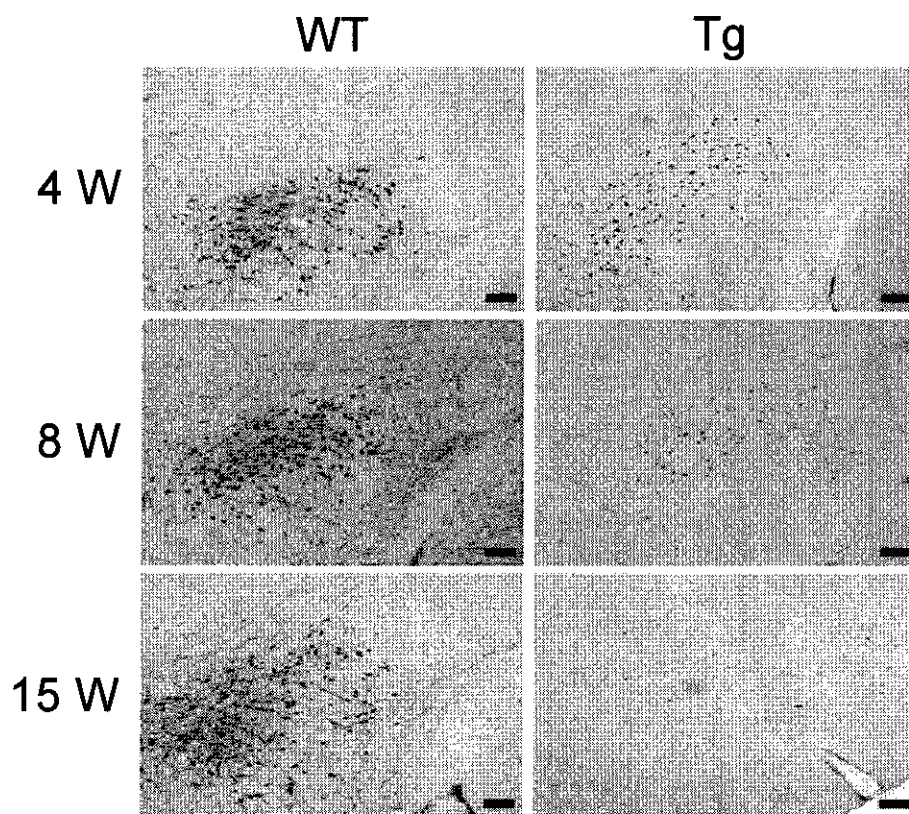
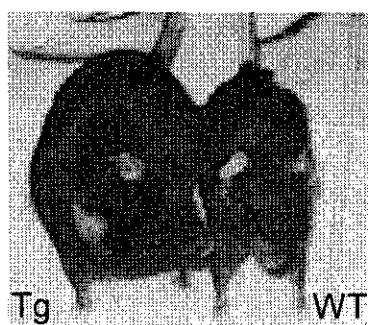
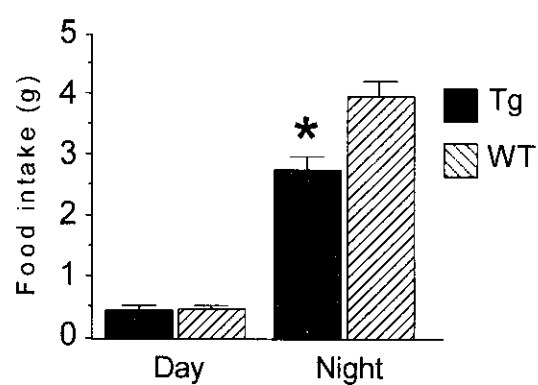


图 1

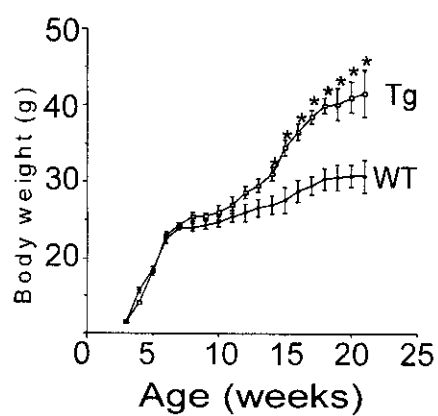
A



C



B



D

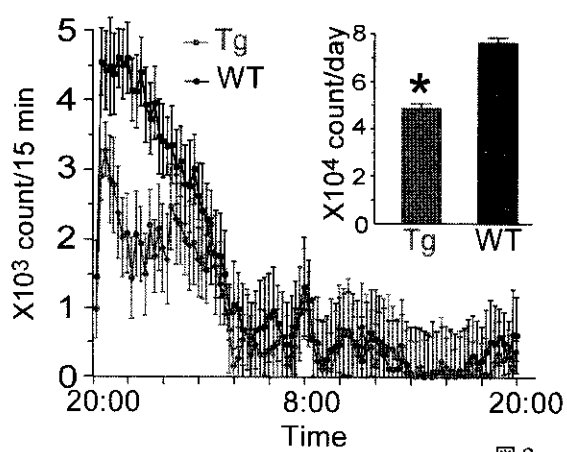


图 2

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

単純性肥満児における黒色表皮腫の検討 インスリン抵抗性およびadipocytokineとの関連

分担研究者	村田 光範	東京女子医科大学	名誉教授
	杉原 茂孝	東京女子医科大学附属第二病院	小児科
	岩間 彩香	東京女子医科大学附属第二病院	小児科
	池崎 綾子	東京女子医科大学附属第二病院	小児科
	三浦 直子	東京女子医科大学附属第二病院	小児科
	伊藤 けい子	東京女子医科大学附属第二病院	小児科

【研究要旨】

我々は、昨年度の研究課題として「黒色表皮腫（Acanthosis Nigricans、AN）をもつ単純性肥満児の臨床的特徴の検討」を行った。今年度はさらに症例を増して検討を加えると共に、HOMA指数やadipocytokine（レプチン、PAI-1）との関連について検討を行った。AN陽性群とAN陰性群で年齢、BI法による体脂肪率に差がなかったが、AN陽性群ではHOMA指数、空腹時IRI、肥満度、腹囲、血中レプチン値、PAI-1値が有意に高値であった。HOMA指数とレプチンの間には相関はなく、HOMA指数とPAI-1には正の相関がみられた。肥満児においてAN、インスリン抵抗性とPAI-1値との強い関連が示され、ANを伴う児では2型糖尿病や冠動脈疾患についての注意深いフォローが必要と考えられた。

【研究目的】

本邦においては、ここ25年程の間に肥満度20%以上の体重を示すいわゆる肥満児がおよそ3倍に増加し、最近では約10%の学童が肥満を示すといわれている。また、肥満を伴う2型糖尿病小児例が近年急激に増加しているという報告がある。肥満小児の食事や運動などの生活習慣の改善を支援、指導していくに当たり、将来糖尿病や動脈硬化症のリスクを持つ児にはより積極的な対応が必要と考えられる。我々は、昨年度本研究班の研究課題として、「黒色表皮腫（Acanthosis Nigricans、AN）をもつ単純性肥満児の臨床的特徴の検討」を行った。平成12年度はさらに症例を増して検討を加えると共に、HOMA指数やadipocytokineとの関連について検討を加えた。

【研究方法】

当科肥満外来を受診した105例(男児64例、女児41例、年齢は3歳から17歳)において、ANの有無と性別、肥満度、受診時年齢、肝機能、出生体重、糖尿病家族歴、血中レプチン値等の関連について検討した。ANは項部、腋窩においてその有無を同一験者によって判定した。さらにAN陽性群(12例)とAN陰性群(16例)で肥満度、腹囲、BI法による体脂肪率、空腹時IRI、HOMA指数、血中レプチン値、PAI-1値を測定し検討した。レプチンは、LINCO社のRIAキット、PAI-1はBiopool Imulysse PAI-1 (Biopool社)を用いて測定した。

【結果】

肥満児全体の39%、男児の47%、女児の30%にANが認められた。ANは男児に多い傾向がみられたが、有意な性差は認めなかった。肥満度が高い児で、AN

が多くみられ、肥満度50%以上の高度肥満の児では有意にANを多く認めた。ANの有無と受診時年齢の関係をみると、年齢が高い児にANが多くみられ、8歳で分けると8歳以上では有意にANが多かった。ANのある児ではALT値が高く、脂肪肝を有する可能性が高いことが示された。ANの有無で出生体重、糖尿病の家族歴に有意差を認めなかった。血中レプチン値については、性別、肥満度および二次性徴の影響を除くため、12歳未満の男児で肥満度50-80%の児に限定してANの有無との関連を検討したところ、AN有(12例、レプチン値 15.3-47.2ng/ml、中央値23.4)の方が、AN無(9例、レプチン値 11.8-27.4ng/ml、中央値20.4)よりもやや高値の傾向を示したが有意な差ではなかった。

AN陽性群(12例)とAN陰性群(16例)で年齢分布、BI法による体脂肪率に有意な差がなかったが、AN陽性群ではHOMA指数、空腹時IRI、肥満度、腹囲、血中レプチン値、PAI-1値が有意に高値であった(表1、2)。HOMA指数とレプチンの間には有意な相関はなく、HOMA指数とPAI-1には正の相関($r=0.702$ 、 $p<0.0005$)がみられた(表3)。レプチンとPAI-1の間には相関はなかった。

【考察】

ANをもつ単純性肥満児における臨床的特徴について検討したところ、肥満度および年齢が高いほどANの出現率が増加した。血中レプチン値については、ANをもつ児の方がやや高い傾向を示したが有意な差ではなかった。また、肥満児においてANとHOMA指数、PAI-1値との強い関連が示された。PAI-1は線溶系に影響を与え、冠動脈疾患の危険因子であるといわれている。ANはインスリン抵抗性による糖尿病のリスクのみでなく、冠動脈疾患のリスクを示唆する重要な所見である可能性が考えられ、肥満小児をみていく

上で留意すべきと考えられた。

【結論】

肥満小児においてANの存在が、インスリン抵抗性、内臓脂肪の増加、PAI-1高値等と強い関連を持つことが示唆された。

単純性肥満にも多様性があると考えられるが、ANを持つ肥満児では、積極的な生活習慣の改善への支援とともに、今後、2型糖尿病や冠動脈疾患についての注意深いフォローが必要と考えられた。

【研究発表】

1. 論文発表

Ikezaki A, Miura N, Kikuoka N, et al. Clinical characteristics of obese Japanese children with acanthosis nigricans. Clin Pediatr Endocrinol. 2001(in press)

2. 学会発表

杉原茂孝、ワークショップV. 小児肥満に今、問われているもの 2.2型糖尿病のリスクファクターとしての小児肥満、第21回日本肥満学会、2000年、10月、名古屋。

池崎綾子、杉原茂孝、菊岡規子、ら Acanthosis nigricans (黒色表皮腫)をもつ単純性肥満の臨床的特徴の検討、第103回日本小児科学会、2000年、4月、和歌山。

岩間彩香、三浦直子、伊藤けい子、ら 単純性肥満児におけるacanthosis nigricansとインスリン抵抗性及びPAI-1の関係について、第104回日本小児科学会、2001年、5月、発表予定

表 1. ANの有無と体格指数

	AN 陽性 (n=12)	AN 陰性 (n=16)	P
年齢 (歳)	11 (6-19)	10 (5-14)	NS
腹囲 (cm)	94.5 (73.5-109.8)	80.0 (64.5-99.0)	0.016
W/H	0.95 (0.76-1.06)	0.96 (0.80-1.04)	NS
肥満度 (%)	58.8 (42.7-127.2)	47.6 (22.0-70.3)	0.011
BMI	29.9 (24.1-40.8)	24.9 (22.2-33.4)	0.003
体脂肪率 (BI)	41.0 (32.2-52.3)	35.7 (25.6-50.6)	NS
腹壁Pmax (mm)	11.5 (8.9-18.4)	10.7 (6.6-13.2)	0.046

Median (range)

表 2. ANの有無とインスリン抵抗性, および adipocytokineとの関連

	AN 陽性	AN 陰性	P
IRI (μ U/ml)	23.0 (11.0-53.0)	11.5 (2.5-22.0)	<0.001
HOMA指数	5.2 (2.0-11.4)	2.2 (0.5-5.0)	<0.001
Leptin (ng/ml)	21.0 (8.9-35.7)	14.7 (3.8-27.1)	0.029
PAI-1 (ng/ml)	32.5 (16.3-55.2)	21.8 (5.7-34.8)	0.017

Median (range)

表 3. HOMA指数, Leptin, PAI-1と各指数との相関関係 (Spearmanの順位相関係数)

	腹囲 (cm)	肥満度 (%)	体脂肪率 BI (%)	Leptin	PAI-1
HOMA指数	0.633	0.451	0.174	0.234	0.702
Leptin	0.493	0.624	0.416	—	0.092
PAI-1	0.532	0.375	-0.086	0.092	—

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

レプチンによるヒスタミン神経活性化機構の解析

分担研究者	坂田 利家	大分医科大学医学部内科学第一講座 教授
	吉松 博信	大分医科大学医学部内科学第一講座
	深川 光司	大分医科大学医学部内科学第一講座
	後藤 孔郎	大分医科大学医学部内科学第一講座

【研究要旨】

神経性食思不振症の患者では血中のレプチン濃度は低く、また食欲抑制作用のあるヒスタミン神経は活性化していることが報告されており、神経性食思不振症ではレプチンによるヒスタミン神経活性化機構の異常が推察される。レプチンによるヒスタミン神経活性化機構を解明することは、神経性食思不振症にみられる脳内摂食調節物質の機能異常を解明するうえでも重要である。レプチンによる摂食抑制機構には主にcorticotropin releasing hormone (CRH)を介する系とpro-opiomelanocortin (POMC)を介する系がある。本研究ではレプチンによるヒスタミン神経活性化機構にCRH系及びPOMC系がどのように関わるのか解析を行った。Sprague Dawley (SD)ラットを用い、1) phosphate buffer saline (PBS)または α -fluoromethyl histidine (FMH)前処置後CRH ($10\mu\text{M}$, $10\mu\text{l}$)、 α -melanocyte stimulating hormone (MSH) ($18\mu\text{M}$, $10\mu\text{l}$)、melanocortin-4 receptor (MC4-R)受容体作動薬であるMT II ($5\mu\text{M}$, $10\mu\text{l}$)の各々について第3脳室内投与による摂食抑制作用を検討した。2) histamine H1 receptor knockout (H1KO)マウス及び野生マウスにCRH ($10\mu\text{M}$, $10\mu\text{l}$)を第3脳室内に投与し、H1KOマウスでのCRHによる摂食抑制作用を検討した。3) レプチン、CRH及びMSHが視床下部諸核のヒスタミン含有量、及びヒスタミンの代謝産物である t -methyl-histamine(t -MH)の含有量に及ぼす効果について検討した。4) 抗ヒスタミン抗体と、抗CRH受容体(CRF1、CRF2)抗体または抗MC4-R抗体による2重免疫染色をおこない、ヒスタミン神経でのCRF1、CRF2及びMC4-Rの有無について検討した。その結果、CRH第3脳室内投与による摂食抑制作用はFMH前処置で軽減した。MSHやMT IIの第3脳室内投与による摂食抑制作用は、FMH前処置で軽減しなかった。H1KOマウスでのCRHによる摂食抑制作用は、野生マウスより減弱していた。レプチン ($1\mu\text{g}/10\mu\text{l}$) 第3脳室内投与により、結節乳頭核のヒスタミン含有量は増加し、CRH受容体拮抗剤である α -helical CRH(α -hCRH)前処置でヒスタミン含有量の増加は減弱した。レプチン第3脳室内投与により、結節乳頭核や室傍核で t -MHの含有量は増加し、 α -hCRH前処置で t -MH含有量の増加は減弱した。CRH第3脳室内投与により結節乳頭核のヒスタミン含有量は増加し、 t -MHの含有量も結節乳頭核や室傍核、腹内側核で増加した。以上の結果からCRHにより結節乳頭核のヒスタミン神経が活性化されることが判明した。MSH第3脳室内投与では、結節乳頭核のヒスタミン含有量には変化がなく、MSHはヒスタミン神経を活性化しないことが判明した。2重免疫染色の結果、結節乳頭核のヒスタミン神経上にCRF1の存在が確認されたが、CRF2やMC4-Rは存在しなかった。レプチンはPOMC系ではなくCRHを介してヒスタミン神経を活性化することが判明した。

【研究目的】

1994年に肥満遺伝子 (ob遺伝子) のクローニングに成功して以来、ob遺伝子産物であるレプチンの中枢性摂食抑制機構について精力的に研究がすすめられている。近年レプチンによりヒスタミン神経が活性化されることが明らかになったが、これまでの研究では、ヒスタミン神経にはレプチン受容体は存在せず、レプチンによるヒスタミン神経の活性化機構については、まだ充分解明されていない。神経性食思不振症の患者では血中のレプチン濃度は低く、また食欲抑制作用のあるヒスタミン神経は活性化していることが報告されており、神経性食思不振症ではレプチンによるヒスタミン神経活性化機構の異常が推察される。レプチンによるヒスタミン神経活性化機構を解明することは、神経性食思不振症にみられる脳内摂食調節物質の機能異常を解明するうえでも重要である。レプチンによる摂食抑制機構には主にcorticotropin releasing hormone (CRH)を介する系とpro-opiomelanocortin (POMC)を介する系がある。本研究ではレプチンによるヒスタミン神経活性化機構にCRH系及びPOMC系がどのように関わるのか解析を行った。

【研究方法】

〔実験動物〕

Histamine H1 receptor knockout (H1KO)マウス (22~25週令)及びSprague Dawley (SD)ラット (体重250~280g) を、明暗24時間周期 (7時から19時が明期)、室温 $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の恒温恒湿の防音室で、飼料はクレアラット用飼料を用い、自由飲水で飼育した。

〔手術〕

ペントバルビタール(50mg/kg)腹腔内投与による麻酔下でステレオタキス (脳定位固定装置) (ナリシゲ)を用い、23Gのステンレス製カニューラを第3脳室 (ear barから6mm前方、中線上で、脳表面から7.8mmの深さ)に慢性に留置した。H1KOマウスは側脳室に慢性に30Gのステンレス製カニューラを留置した。実験は術後7日後、術前の体重の回復を待って行った。

〔試薬〕

レプチン ($0.1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$)、CRH ($10 \mu\text{M}$)、 α -helical CRH (α -hCRH) (0.26mM)、 α -fluoromethyl histidine (FMH) (67mM)、pargyline hydrochloride

($99 \mu\text{M}$)、 α -melanocyte stimulating hormone (MSH) ($18 \mu\text{M}$) はSigma社製を、melanocortin-4 receptor (MC4-R)受容体作動薬であるMT II ($5 \mu\text{M}$) はPeninsula社製を用いた。

〔実験方法〕

1) 体重を揃えた20匹のSDラットを、CRH($10 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{l}$)を第3脳室内に投与する群(n=5)、FMH (50mg/kg)を試薬を投与する2時間前に腹腔内に前処置しCRHを第3脳室内に投与する群(n=5)、Phosphate buffer saline(PBS)前処置後FMH($10 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{l}$)を第3脳室内に投与する群(n=5)、PBS前処置後PBSを第3脳室内に投与する群(n=5)の4群に分けた。ラットは前日より24時間絶食にし、試薬は1分間 $1 \mu\text{l}$ の速度で10分間投与した。投与終了後から1時間の摂食量を測定し、CRHの摂食抑制作用とCRHの摂食抑制作用に及ぼすヒスタミン神経枯渇の効果について検討した。

2) 体重を揃えた20匹のSDラットを、MSH($18 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{l}$)を第3脳室内に投与する群(n=5)、FMH(50mg/kg)を試薬を投与する2時間前に腹腔内に前処置しMSH($18 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{l}$)を第3脳室内に投与する群(n=5)、FMH前処置後PBSを第3脳室内に投与する群(n=5)、PBS前処置後PBSを第3脳室内に投与する群(n=5)の4群に分けた。ラットは前日より24時間絶食にし、試薬は1分間 $1 \mu\text{l}$ の速度で10分間投与した。投与終了後から1時間の摂食量を測定し、MSHの摂食抑制作用とMSHの摂食抑制作用に及ぼすヒスタミン神経枯渇の効果について検討した。

3) 体重を揃えた20匹のSDラットを、MT II ($5 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{l}$)を第3脳室内に投与する群(n=5)、FMH (50mg/kg)を試薬を投与する2時間前に腹腔内に前処置しPBSを第3脳室内に投与する群(n=5)、PBS前処置後MT II ($5 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{l}$)を第3脳室内に投与する群(n=5)、PBS前処置後PBSを第3脳室内に投与する群(n=5)の4群に分けた。ラットは前日より24時間絶食にし、試薬は1分間 $1 \mu\text{l}$ の速度で10分間投与した。投与終了後から1時間の摂食量を測定し、MT IIの摂食抑制作用とMT IIの摂食抑制作用に及ぼすヒスタミン神経枯渇の効果について検討した。

4) H1KOマウス(n=10)及び野生マウス (対象群、n=10) を前日より24時間絶食後、CRH($10 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{l}$)を第3脳室内に1分間 $1 \mu\text{l}$ の速度で10分間投与し、投与終了後から2時間の摂食量を測定し、H1KOマウ

スでのCRHによる摂食抑制作用を検討した。

5) SDラット30匹をpargyline hydrochloride (0.33mmol/kg)で処理し、第3脳室内にPBSを投与する群(n=6)、レプチン(1 μ g/10 μ l)を投与する群(n=6)、CRH(10 μ Mol, 10 μ l)を投与する群(n=6)、 α -hCRH(0.26mMol, 10 μ l)前処置後レプチン(1 μ g/10 μ l)を投与する群(n=6)、MSH(18 μ Mol, 10 μ l)を投与する群(n=6)に分け、試薬を第3脳室内に1分間1 μ lの速度で10分間投与し、投与終了後ペントバルビタール麻酔下でヘパリン200単位含有生理的食塩水100mlで経心臓的に環流瀉血後脳を取り出し、直ちに液体窒素で凍結した。その後クリオスタットで厚さ40 μ mの連続凍結切片を作成し、視床下部の外側野(LHA)、前視床下野(AH)、室傍核(PVN)、腹内側核(VMH)、背内側核(DMN)、結節乳頭核(TMN)を切り出し、核毎に集め、ホモゲナイザーを用い酢酸で抽出。視床下部諸核の抽出液中の総蛋白質量の定量と、ヒスタミン含有量、*tele-methyl-histamine* (*t*-MH)含有量をRIAで測定し、レプチン、CRH及びMSHが視床下部諸核のヒスタミン含有量、及び*t*-MHの含有量に及ぼす効果について検討した。

6) SDラットをペントバルビタール麻酔下で1-ethyl-3 carbodiimideと4%ホルマリンを用い環流固定を行い、固定した脳を摘出。浮遊法により、抗ヒスタミン抗体と、抗CRH受容体(CRF1、CRF2)抗体または抗MC4-R抗体による、2重免疫染色をおこない、2重免疫染色によるヒスタミン神経のCRH受容体(CRF1、CRF2)及びMC4-Rの有無について検討した。

資料の有意差検定には分散分析を用い、群間の有意差検定にはFisherのPLSDテストによる多重比較法を用いた。

(倫理面への配慮)

すべての実験は、National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animalsを元に作成したOita Medical University Guidelinesに沿って行われた。

【研究結果】

1) CRHの摂食抑制作用に及ぼすヒスタミン神経枯渇の効果

CRH第3脳室内投与群で、給飼開始1時間の摂食量はPBS群と比較して90%減と抑制されていた($p<0.01$)

(図1)。FMH第3脳室投与群では、PBS群と比べて有意な摂食量の変化はなかった(図1)。FMH前処置後にCRHを第3脳室内に投与した群では、PBS群と比較して、給飼開始1時間の摂食量は64%減と抑制されていた($p<0.01$)が、CRH第3脳室内投与群と比較すると、摂食抑制作用は軽減していた($p<0.01$) (図1)。FMHでヒスタミン神経を枯渇させると、CRHによる摂食抑制作用が減弱したことから、CRHによる摂食抑制作用の一部はヒスタミン神経を介したものであることが示唆された。

2) MSHの摂食抑制作用に及ぼすヒスタミン神経枯渇の効果

MSH第3脳室内投与群では、給飼開始1時間の摂食量はPBS群と比較して48%減と抑制されていた($p<0.01$) (図2)。FMH第3脳室投与群では、PBS群と比べて有意な摂食量の変化はなかった(図2)。FMH前処置後にMSHを第3脳室内に投与した群では、PBS群と比較して、給飼開始1時間の摂食量は25%減と抑制されていたが($p<0.01$)、MSH第3脳室内投与群と比較すると、摂食抑制作用には有意差はなかった(図2)。FMHでヒスタミン神経を枯渇させても、MSHによる摂食抑制作用が減弱しなかったことから、MSHによる摂食抑制作用はヒスタミン神経を介していないことが示唆された。

3) MT IIの摂食抑制作用に及ぼすヒスタミン神経枯渇の効果

MT II第3脳室内投与群では、給飼開始1時間の摂食量はPBS群と比較して62%減と抑制されていた($p>0.01$) (図3)。FMH第3脳室投与群では、PBS群と比べて有意な摂食量の変化はなかった(図3)。FMH前処置後にMT IIを第3脳室内に投与した群では、PBS群と比較して、給飼開始1時間の摂食量は65%減と抑制されていた($p<0.01$)が、MT II第3脳室内投与群と比較すると、摂食抑制作用には有意な差はなかった(図3)。FMHでヒスタミン神経を枯渇させても、MT IIによる摂食抑制作用が減弱しなかったことから、MT IIによる摂食抑制作用はヒスタミン神経を介していないことが示唆された。

4) H1KOマウスでのCRHによる摂食抑制作用

野生マウスでは、CRH第3脳室内投与群で、給飼開始2時間の摂食量はPBS群と比較して57%減と抑制されていた($p<0.01$) (図4)。H1KOマウスでも、CRH第3脳室投与群では、PBS群と比べて39%減と摂食量

は抑制されていた($p<0.01$)が、野生マウスのCRH第3脳室内投与群と比べると、CRHによる摂食抑制作用が減弱していた($p<0.01$) (図4)。ヒスタミンH1受容体欠損マウスであるH1KOマウスで、CRHによる摂食抑制作用が減弱したことから、CRHによる摂食抑制作用の一部はヒスタミン神経を介したものであることが示唆された。

5) レプチン、CRH及びMSHが視床下部諸核のヒスタミン含有量、及び t -MHの含有量に及ぼす効果。

レプチン ($1\mu\text{g}/10\mu\text{l}$) を第3脳室内に投与した群では、PBSを投与した群と比較して、結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン含有量は平均で3.6倍に増加していた($p<0.01$) (図5-A)。 α -hCRHで前処置後にレプチンを投与した群では、PBSを投与した群と比較して、結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン含有量は平均で1.7倍の増加($p<0.05$)にとどまり、レプチン ($1\mu\text{g}/10\mu\text{l}$) を第3脳室内に投与した群と比較してもヒスタミン含有量の増加は減弱していた($p<0.01$) (図5-A)。このことから、レプチンによる結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン神経活性化作用の一部は、CRHを介していることが示唆された。ヒスタミンの代謝産物である t -MHの含有量も、レプチン ($1\mu\text{g}/10\mu\text{l}$) を第3脳室内に投与した群では、PBSを投与した群と比較して、結節乳頭核 (TMN) や室傍核 (PVN) で、 t -MH含有量は増加していた($p<0.01$) (図5-B)。 α -hCRHで前処置後にレプチンを投与した群では、PBSを投与した群と比較して、結節乳頭核 (TMN) の t -MH含有量は有意に増加していたが($p<0.05$)、レプチン ($1\mu\text{g}/10\mu\text{l}$) を第3脳室内に投与した群と比較して有意に t -MHの含有量の増加は減弱していた($p<0.05$) (図5-B)。ヒスタミンの代謝産物である t -MHの含有量からも、レプチンによる結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン神経活性化作用の一部は、CRHを介していることが示唆された。

CRH第3脳室内投与群では、PBSを投与した群と比較して、結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン含有量は平均で約2倍に増加していた($p<0.05$) (図6-A)。ヒスタミンの代謝産物である t -MHの含有量も、CRH第3脳室内投与群では、PBSを投与した群と比較して、結節乳頭核 (TMN) や室傍核 (PVN)、腹内側核 (VMH) で、 t -MH含有量は増加していた($p<0.05$) (図6-B)。CRH投与後のヒスタミンや t -MHの含有量増加の結果からも、CRHにより結節乳頭核 (TMN) のヒ

スタミン神経が活性化されていることが確認された。

一方、MSH第3脳室内投与群では、PBSを投与した群と比較して、結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン含有量には有意差はみられなかった (図7)。この結果からもMSHはヒスタミン神経を活性化しないことが示唆された。

6) 2重免疫染色によるヒスタミン神経とCRH受容体 (CRF1、CRF2) 及びMC4-Rの解析

抗ヒスタミン抗体を用いた免疫染色により、結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン神経が抗ヒスタミン抗体で染色され (図8-A)、更に抗CRF1抗体による2重免疫染色でヒスタミン神経上にCRF1の存在が確認された (図8-B)。抗CRF2抗体や抗MC4-R抗体では、ヒスタミン神経は染色されず、結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン神経にはCRF2やMC4-Rの存在は確認されなかった。このことから、CRHはCRF1を介して結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン神経を活性化していることが示唆された。

【考察】

今回の研究で、レプチンによる食欲抑制作用のうち、CRHを介した摂食抑制作用は、一部ヒスタミン神経を活性化することで食欲を抑制していること、レプチンのヒスタミン神経活性化はCRHを介していること、更にCRHは結節乳頭核 (TMN) のヒスタミンや t -MH含有量を増加させること、免疫抗体を用いた2重染色で、結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン神経にCRF1が存在することから、CRHはCRF1を介してヒスタミン神経を活性化させることが新たに明らかになった。

一方、レプチンによる食欲抑制作用のうち、POMC系に代表されるMSHを介した摂食抑制作用は、ヒスタミン神経を介していないことが判明した。このことは、MC4-Rの作動薬であるMTIIの摂食抑制作用にもFMHによるヒスタミン神経の枯渇の影響がなかったことから、POMC系はヒスタミン神経を介していないことが判明した。更にMSHが結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン含量に影響しないことや、免疫抗体を用いた2重染色でも、結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン神経にMC4-Rがないことから、POMC系はヒスタミン神経を活性化させないことが示唆された。

CRH神経は腹内側核 (VMH) に投射し、CRF2を介して摂食を抑制することがこれまで報告されていたが、今回の研究の結果、CRHの摂食抑制作用の一部

はCRF1を介して、結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン神経を活性化させることで、食欲を抑制していることが新たに判明した。

CRHにより、視床下部結核のうち結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン含有量のみ有意に増加した理由として、ヒスタミン神経の局在が後部視床下部の結節乳頭核 (TMN) に限られること、ヒスタミン神経は室傍核 (PVN) や腹内側核 (VMH) に投射しており、ヒスタミンを放出しているが、放出されたヒスタミンの代謝回転が急速で、1分以内に分解されるため、ヒスタミン神経細胞の細胞体のある結節乳頭核 (TMN) でのみヒスタミン含有量が増加し、ヒスタミンの放出される室傍核 (PVN) や腹内側核 (VMH) のヒスタミン含有量が増加しなかったものと考えられる。このことは、pargyline hydrochloride (0.33mmol/kg) で処理し、放出されたヒスタミンの分解を阻害したうえで、ヒスタミンの代謝産物であるt-MHの含有量を測定すると、CRHにより、結節乳頭核 (TMN) だけでなく室傍核 (PVN) や腹内側核 (VMH) のt-MH含有量も増加したこととも一致する。

レプチンによるヒスタミン神経の活性化で、t-MH含有量が、結節乳頭核 (TMN) と室傍核 (PVN) で増加し、腹内側核 (VMH) で増加しなかった理由としては、1) CRH投与によりヒスタミン神経を直接活性化させる方が、レプチンがCRHを介して間接的にヒスタミン神経を活性化させるよりも強力であった、2) レプチンによるヒスタミン神経の活性化作用には一部CRH以外のルートによる活性化があり、そのためCRH投与により活性化されるヒスタミン神経の投射先である室傍核 (PVN) や腹内側核 (VMH) と、CRH以外で活性化されるヒスタミン神経の投射先が異なるため、レプチン投与ではt-MH含有量が腹内側核 (VMH) で増加しなかった、3) レプチンで活性化されるCRH神経は、結節乳頭核 (TMN) に投射しヒスタミン神経を活性化するCRH神経の一部であり、そのため、CRH投与により活性化されるヒスタミン神経の投射先である室傍核 (PVN) や腹内側核 (VMH) のすべてではなく、一部のヒスタミン神経の活性化のため、投射先が異なり、レプチン投与ではt-MH含有量が腹内側核 (VMH) で増加しなかったなどの可能性がある。

【結論】

今回の研究の結果、1) レプチンによる食欲抑制作用のうち、CRHを介した摂食抑制作用の一部は、ヒスタミン神経を活性化することで食欲を抑制していること、すなわち、レプチンはCRHを介してヒスタミン神経を活性化し、食欲を抑制していること、2) CRHはCRF1を介してヒスタミン神経を活性化させること、3) レプチンによる食欲抑制作用のうち、POMC系に代表されるMSHを介した摂食抑制作用は、ヒスタミン神経を介していないこと4) MC4-Rの作動薬であるMT IIの摂食抑制作用も、ヒスタミン神経を介していないこと、5) CRHの摂食抑制作用の一部はCRF1を介して、結節乳頭核 (TMN) のヒスタミン神経を活性化させることで、食欲を抑制していることが今回明らかになった。神経性食思不振症の患者では血中のレプチン濃度が低いにもかかわらず、ヒスタミン神経は活性化していることから、神経性食思不振症では、レプチンを介さないCRH-ヒスタミン神経系の活性化異常が推察された。

【健康危険情報】

今回の研究で、特に人体の健康に有害な事象は発生しなかった。

【研究発表】

1. 論文発表

1. Hanada R, Nakazato M, Matsukura S, Murakami N, Yoshimatsu H, Sakata T. Differential regulation of melanin-concentrating hormone and orexin genes in the agouti-related protein/melanocortin-4 receptor system. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;268:88-91.
2. Hidaka S, Yoshimatsu H, Kakuma T, et al. Tissue-specific expression of the uncoupling protein family in streptozotocin-induced diabetic rats. *Proc Soc Exp Biol Med.* 2000; 224:172-177.
3. Kondou S, Hidaka S, Yoshimatsu H, Tsuruta Y, Itateyama E, Sakata T. Molecular cloning of rat brain mitochondrial carrier protein-1 cDNA and its up-regulation during postnatal development. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1457:182-189.

4. Masaki T, Yoshimatsu H, Chiba S, Sakata T. Impaired response of UCP family to cold exposure in diabetic (db/db) mice. *Am J Physiol (Regul Integr Comp Physiol.)* 2000; 279 :R1305-R1309.
5. Masaki T, Yoshimatsu H, Sakata T. Expression of rat uncoupling protein family mRNA levels by chronic treatment with thyroid hormone. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000 ; 24 Suppl 2:S162-S164.
6. Tatsukawa M, Kurokawa M, Tamari Y, Yoshimatsu H, Sakata T. Regional fat deposition in the legs is useful as a presumptive marker of antiatherogenesis in Japanese. *Proc Soc Exp Biol Med.* 2000 ; 223 :156-162.
7. Masaki T, Yoshimatsu H, Chiba S, Watanabe T, Sakata T. Targeted disruption of histamine H1-receptor attenuates regulatory effects of leptin on feeding, adiposity, and UCP family in mice. *Diabetes.* 2001; 50: 385-391.
8. Masaki T, Yoshimatsu H, Chiba S, Watanabe T, Sakata T. Central infusion of histamine reduces fat accumulation and upregulates UCP family in leptin-resistant obese mice. *Diabetes.* 2001; 50: 376-384, 2001.
9. Gotoh K, Fukagawa K, Fukagawa T, Noguchi N, Yoshimatsu H, Sakata T. Leptin activates hypothalamic neuronal histamine via corticotropin releasing hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* submitted.
- 2000; 7: 61-72.
6. 吉松博信、吉道剛、坂田利家 解明の進む中枢性エネルギー代謝調節「特集：肥満症の診療」 *The Lipid.* 2000; 11: 442-453.
7. 日高周次、近藤誠哉、坂田利家 食欲調節に関する視床下部ペプチド ホルモンと臨床 2000; 48: 1101-1108.

著書

1. 吉松博信、坂田利家 Ⅲ摂食障害の成因論、A. 生物学的成因 牛島定信、山内俊雄編 *Encyclopedia of Clinical Psychiatry 臨床精神医学講座 S4 摂食障害・性障害* 中山書店、2000: 23-27.
2. 吉松博信、坂田利家 紅夢の中枢性食欲修飾作用 熊谷朗 編 薬用人蔘2000 共立出版、2000: 97-104.
3. 千葉政一、吉松博信、後藤孔郎、深川光司、坂田利家 うつ病／適応障害モデル動物の高次脳機能に及ぼす紅夢の効果 熊谷朗 編 薬用人蔘2000 共立出版 2000: 105-109.
2. 学会発表
 1. 後藤孔郎、深川光司、深川富美代、野口仁志、吉松博信、坂田利家 視床下部CRH摂食抑制作用とヒスタミン神経との関連 第73回日本内分泌学会総会 2000 6.16-6.18 京都
 2. Gotoh K, Fukagawa K, Fukagawa T, Noguchi N, Yoshimatsu H, Sakata T. Corticotropin-releasing factor activates histaminergic neuron in the hypothalamus. 30th annual Neuroscience meeting 2000, Nov 4-9, New Orleans, Louisiana, U.S.A.,
 3. Masaki T, Yoshimatsu H, Chiba S, et al.. Effects of leptin on feeding, adiposity and UCP family of histamine H1-receptor knockout mice. *International Sendai Histamine Symposium.* 2000, Nov 22-25, Sendai, Japan.
 4. Tajima D, Masaki T, Yoshimatsu H, Watanabe T, Sakata T. Neuronal histamine decreases fat accumulation and up-regulates UCP family in db/db obese mice. *International Sendai Histamine Symposium.* 2000, Nov 22-25, Sendai, Japan.
 5. Itateyama E, Yoshimatsu H, Chiba S, Himeno K,

総説

1. 小川隆一、吉松博信、坂田利家 特集：摂食障害、食調節のメカニズム 心療内科 2000; 4: 10-15.
2. 坂田利家 中枢系におけるヒスタミン、ヒスタミンニューロン系とエネルギー代謝調節 医学のあゆみ 2000; Suppl: 84-88.
3. 坂田利家 ヒスタミン神経系による食欲調節 内分泌 糖尿病科 2000; 11: 388-396.
4. 坂田利家 水産物の健康性機能とその利用、食欲調節機能 日本水産学会誌 2000; 66: 125-126.
5. 吉松博信、坂田利家 神経ヒスタミンによる食行動およびエネルギー代謝調節 日本味と匂学会誌