

表 1

	Factors	Dose (uM)	Number	Response
Neuropeptide	NPY	1	0/6	Activate
	MCH	0.1	0/3	
	alpha-MSH	0.1	0/3	
	Vasopressin	0.1	0/3	
	Ghrelin	0.01	5/8	
	Galanin	0.1	0/7	
	Dynorphine	0.1	0/3	
Classical Neurotransmitters	Noradrenaline	1	0/3	Activate Inhibit
	Acetylcholine	1	0/3	
	Dopamine	1	0/3	
	Serotonin	1	0/3	
	Glutamate	10	10/10	
	GABA	10	10/10	
	Adenosine	1	0/3	
Hormone	Melatonin	10	0/3	Inhibit
	Leptin	0.01	6/9	
Metabolite	Glucose	0 mM	8/10	Activate
		30 mM	8/10	Inhibit

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血中グレリンの検討

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	東京女子医科大学第二病院小児科
	伊藤 けい子	東京女子医科大学第二病院小児科
	岩間 彩香	東京女子医科大学第二病院小児科
	池崎 綾子	東京女子医科大学第二病院小児科
	松岡 尚史	東京女子医科大学第二病院小児科
	細田 洋司	国立循環器病センター生化学部
	見島 将康	国立循環器病センター生化学部
	寒川 賢治	国立循環器病センター生化学部

【研究要旨】

グレリンは強力な摂食亢進作用をもち、摂食抑制作用を有するレプチンと拮抗することが動物実験で示されている。今回、グレリンに特異的な RIA を用い肥満児において血中濃度の検討を行なった。対象は単純性肥満児 49 例（年齢 5-19 歳、肥満度 22.0-127.2%）。早朝空腹時に採血し、血糖、IRI、レプチン、PAI-1、およびグレリン等を測定した。レプチンは肥満度、BMI、体脂肪率、腹囲と有意な正の相関を示したが、グレリンは BMI と腹囲とのみ負の相関を示した。グレリンはレプチンと有意な相関を示さず、PAI-1 と負の相関を示した。グレリンは血糖値と関連がなく、IRI、インスリン抵抗性の指標と負の相関を示した。これらの結果より、インスリン抵抗性が強い状態でグレリンの産生が抑制されることが示唆された。

【研究目的】

グレリン (Ghrelin) は、成長ホルモン (GH) 分泌促進物質受容体 (GHS-R) に対する内在性リガンドとしてラットの胃から発見されたペプチドで、末梢および中枢投与により下垂体からの GH 分泌を特異的に促進する。さらにグレリンは強力な摂食促進因子であり、摂食抑制作用を有するレプチンと拮抗することも動物実験で示されている。今回、グレリンに特異的な RIA を用い単純性肥満児において血中濃度の検討をおこなった。

【研究方法】

対象は単純性肥満児 49 例。肥満度は 22.0-127.2% (56.0±20.7%)。男子 38 例、女子 11 例。年齢は 5-19

歳 (10.2 ± 2.8 歳)。早朝空腹時に採血し、血糖、インスリン (IRI)、グレリン、レプチン (Linco 社 RIA キット)、PAI-1 (Biopool 社キット)、等を測定した。グレリンの測定は血漿を Sep-Pak にて抽出後、特異的 RIA 法 (C-RIA) によって行った。体脂肪率は生体電気インピーダンス (BI) 法 (セキスイインピメーター III) により測定した。

【結果】

レプチン値は肥満度、BMI、体脂肪率、および腹囲と有意な正の相関を示したが、グレリン値は肥満度、体脂肪率とは有意な相関を示さず、BMI と腹囲とのみ負の相関を示した (表 1)。PAI-1 もグレリンと同様の傾向を示した。

グレリン、レプチン、PAI-1ともに身長SDスコアとは関連がなかった。

レプチン、PAI-1は、IRIと正の相関を示し、グレリンはIRIと負の相関を示した(表2)。インスリン抵抗性の指標(HOMA-R、QUICKI)については、レプチンは有意な相関を示さないのに対し、グレリンはインスリン抵抗性が高いほど低値となり、PAI-1とは逆の相関を示した(表2)。グレリン値は空腹時血糖と有意な関連を示さなかった。

さらに、グレリンはレプチンとの間には有意な相関を示さなかったが、PAI-1と負の相関を示した。

【考察】

Tschop Mらは、肥満成人(CaucasiansとPima Indian)の検討で、空腹時の血漿グレリン値が、DEXAによる体脂肪率、レプチン値および空腹時インスリン値と負の相関を示すこと、このグレリンの低下は正のエネルギーバランスに対する生理的適応と考えられることを報告した。今回の日本人肥満小児についての我々の検討では、空腹時の血漿グレリン値は、肥満度、体脂肪率、レプチン値と有意な相関を示さなかった。しかし、インスリン値およびインスリン抵抗性の指標と負の相関を示し、PAI-1とも負の相関を示した。これらの結果よりインスリン抵抗性が強い状態ではグレリンの産生が抑制されることが示唆された。さらに症例を増して検討する必要があるが、今回の結果が、肥満成人での結果と異なった要因として、年齢、肥満に伴うインスリン抵抗性の程度の差などが考えられる。

Cummings DEらは、血漿グレリン値が食事摂取に伴い日内変動すること、早朝空腹時のグレリン値は1日の総分泌量と相関することを報告している。グレリンの分泌調節について、食事摂取による急性の変動と体脂肪率の増加やBMI増加という体格に伴う1日総分泌量の調節が推測される。今回検討した単純性肥満児における早朝空腹時の血中グレリン値は、血糖値とは関連せず、インスリン抵抗性の強さと負の相関を示した。この結果は、血中グレリンの1日総分泌量の調節に、単に体脂肪率やBMIという体格指標よりもインスリン抵抗性(高インスリン血症)が関与している可能性を示唆する。

【結論】

肥満小児において早朝空腹時の血中グレリンは血糖値と関連がなく、IRI、インスリン抵抗性の指標と負の相関を示した。この結果より、インスリン抵抗性が強い状態でグレリンの産生が抑制されることが示唆された。

【研究発表】

1. 論文発表

1. Matsuoka, H., S. Sugihara, M. Murata. et. al. Changes in leptin and testosterone levels in a girl with congenital adrenal hyperplasia during hydrocortisone therapy. *Pediatrics International*, 43: 185-187, 2001.
2. Ikezaki, A., M. Murata, S. Sugihara. et. al. Clinical characteristics of obese Japanese children with acanthosis nigricans. *Clin Pediatr Endocrinol*, 10: 47-52, 2001.

2. 学会発表

杉原茂孝, 伊藤けい子, 寒川賢治, 他. ミニシンポジウムI. 肥満臨床-3. 単純性肥満児における血中グレリンの検討. 第22回日本肥満学会, 2001年, 10月, 前橋

表1. グレリン, レプチン, PAI-1と体格指数との相関関係
(Spearmanの順位相関係数) (n=49)

	グレリン	レプチン	PAI-1
肥満度 (%)	-0.224	0.587 ***	0.287 *
BMI	-0.317 *	0.548 **	0.382 *
体脂肪率 (%)	-0.231	0.604 ***	0.128
腹囲 (cm)	-0.301 *	0.542 ***	0.385 *
身長 SDS	0.013	-0.048	-0.067

* p<0.05, ** p<0.005, *** p<0.0005

表2. グレリン, レプチン, PAI-1とインスリン抵抗性の指標との相関関係
(Spearmanの順位相関係数) (n=49)

	グレリン	レプチン	PAI-1
血中インスリン (IRI)	-0.317 * (p=0.028)	0.324 * (p=0.025)	0.481 * * (p=0.0009)
HOMA-R	-0.300 * (p=0.038)	0.257 (p=0.075)	0.450 * * (p=0.0018)
QUICKI	0.302 * (p=0.037)	-0.251 (p=0.081)	-0.451 * * (p=0.0017)
BG	0.015 (p=0.930)	-0.332 * (p=0.020)	-0.069 (p=0.620)

HOMA-R = (FBS/18) X (IRI)/22.5, QUICKI = 1/[log (IRI) + log (FBS)]

* p<0.05, ** p<0.005

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

甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンによる 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され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 corticotropin releasing hormone (CRH) を介する系があり、前年度の研究報告で、レプチンは CRH を介して神経ヒスタミンを活性化させ、食欲を抑制していることを明らかにした。レプチンは CRH だけでなく室傍核の甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン：Thyrotropin releasing hormone (TRH) も活性化させること、TRH には摂食抑制作用があり、TRH 神経がヒスタミン神経の局在する結節乳頭核に投射していること、神経性食思不振症の患者では TRH に対する Thyroid stimulating hormone (TSH) の反応が低下していることがこれまで報告されている。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 TRH 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、TRH (10 μ M, 10 μ l) 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 TRH (10 μ M, 10 μ l) を第3脳室内に投与し、H1KO マウスでの TRH による摂食抑制作用を検討した。3) レプチン及び TRH 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 *tele*-methyl-histamine (*t*-MH) の含有量に及ぼす効果について検討した。4) tri-iodothyronin (T3) 腹腔内投与による甲状腺機能亢進ラットで、TRH が抑制された状態でのレプチンによる摂食抑制効果と視床下部諸核の *t*-MH の含有量に及ぼす効果について検討した。5) 抗ヒスタミン抗体と、抗 TRH 受容体 (TRH-R1、TRH-R2) 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 TRH-R1、TRH-R2 の有無について検討した。その結果、TRH 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。H1KO マウスでの TRH 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 μ g/10 μ l) 第3脳室内投与により、投与後1時間の摂食量は低下し、T3 投与による甲状腺機能亢進状態で TRH が抑制された状態では、レプチンによる摂食抑制作用は減弱した。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、T3 投与による甲状腺機能亢進状態で TRH が抑制された状態では、レプチンによる *t*-MH 含有量の増加は減弱した。TRH 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 TRH 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。2重免疫染色の結果、結節乳頭核のヒスタミン神経上に TRH-R2 の存在が確認されたが、TRH-R1 は存在しなかった。レプチンは TRH 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樞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 corticotropin releasing hormone (CRH) を介する系があり、前年度の研究報告で、レプチンは CRH を介して神経ヒスタミンを活性化させ、食欲を抑制していることを明らかにした。レプチンは CRH だけでなく室傍核の甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン: Thyrotropin releasing hormone (TRH) も活性化させること、TRH には摂食抑制作用があり、TRH 神経がヒスタミン神経の局在する結節乳頭核に投射していること、神経性食思不振症の患者では TRH に対する Thyroid stimulating hormone (TSH) の反応が低下していることがこれまで報告されている。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 TRH 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±1℃、湿度 55±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シス (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 μg/μl)、TRH (10 nmol/μl)、tri-iodothyronin (T3) (40 μg/ml)、α-fluoromethyl histidine (FMH) (67mM)、pargyline hydrochloride (99 μM) は Sigma 社製を用いた。

〔実験方法〕

- 1) 体重を揃えた 24 匹の SD ラットに、TRH (10 nmol/μl, 10 μl) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6)、FMH (50mg/kg) を試薬を投与する 2 時間前に腹腔内に前処置し TRH を第 3 脳室内に投与する群 (n=6)、Phosphate buffer saline (PBS) 前処置後 FMH (10 μM, 10 μl) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6)、PBS 前処置後 PBS を第 3 脳室内に投与する群 (n=6) 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 μl 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、TRH の摂食抑制作用と TRH 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) 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、TRH (10 nmol/μl, 1 μl) を第 3 脳室内に 1 分間 1 μl の速度で 1 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 TRH による摂食抑制作用を検討した。
- 3) 体重を揃えた 12 匹の SD ラットに、T3 (40 μg/ml, 0.5ml) を 7 日間腹腔内投与し甲状腺機能亢進状態にした群 (n=6)、同量の PBS を 7 日間腹腔内投与し甲状腺機能正常の状態にした群 (n=6) の 2 群に分け、24 時間摂食量と体重を 7 日間測定した。

4) 体重を揃えた 24 匹の SD ラットを、甲状腺機能正常ラットに PBS (10 μ l) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6)、甲状腺機能亢進ラットに PBS (10 μ l) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6)、甲状腺機能正常ラットにレプチン (0.1 μ g/ μ l、10 μ l) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6)、甲状腺機能亢進ラットにレプチン (0.1 μ g/ μ l、10 μ l) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6) 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 μ 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、甲状腺機能亢進ラットでのレプチンの摂食抑制作用について検討した。

5) SD ラット 30 匹を pargyline hydrochloride (0.33 mmol/kg) で処理し、甲状腺機能正常ラットに TRH (10 nmol/ μ l、10 μ l) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6)、甲状腺機能正常ラットに PBS (10 μ l) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6)、甲状腺機能亢進ラットに PBS (10 μ l) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6)、甲状腺機能正常ラットにレプチン (0.1 μ g/ μ l、10 μ l) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6)、甲状腺機能亢進ラットにレプチン (0.1 μ g/ μ l、10 μ l) を第 3 脳室内に投与する群 (n=6) の 5 群に分けた。試薬は第 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 100 ml 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 (LH)、室傍核 (PVN)、腹内側核 (VMH)、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、レプチン及び TRH 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 TRH 受容体 (TRH-R1、TRH-R2) 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 TRH 受容体 (TRH-R1、TRH-R2) 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 Insitutes 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) TRH の摂食抑制作用に及ぼすヒスタミン神経枯渇の効果

TRH 第 3 脳室内投与群で、給餌開始 1 時間の摂食量は PBS 群と比較して 68% 減と約 3 分の 1 まで抑制されていた ($p < 0.01$) (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 TRH を第 3 脳室内に投与した群では、PBS 群と比較して、給餌開始 1 時間の摂食量は 43% 減と抑制されていた ($p < 0.01$) が、TRH 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、TRH による摂食抑制作用が減弱したことから、TRH 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) H1KO マウスでの TRH による摂食抑制作用

野生マウスでは、TRH 第 3 脳室内投与群で、給餌開始 2 時間の摂食量は PBS 群と比較して 52% 減と抑制されていた ($p < 0.01$) (図 2)。H1KO マウスでも、TRH 第 3 脳室投与群では、PBS 群と比べて 24% 減と摂食量は抑制されていた ($p < 0.01$) が、野生マウスの TRH 第 3 脳室内投与群と比べると、TRH による摂食抑制作用が減弱していた ($p < 0.01$) (図 2)。ヒスタミン H1 受容体欠損マウスである H1KO マウスで、TRH による摂食抑制作用が減弱したことから、TRH 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。

3) TRH 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。

TRH (10 nmol/ μ l、10 μ 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

2.2 倍に増加していた ($p < 0.01$) (図 3)。ヒスタミンの代謝産物である *t*-MH の含有量も、TRH (10 nmol/ μ l, 10 μ 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)、腹内側核 (VMH) で、*t*-MH 含有量は増加していた ($p < 0.01$) (図 4)。

4) 甲状腺機能亢進状態での 1 日摂食量と体重の変動
甲状腺機能亢進群では、甲状腺機能正常群と比べて、T3 腹腔内投与 7 日目 (post 7) で 1 日摂食量は有意に増加し (図 5-A)、体重は減少した (図 5-B)。

5) 甲状腺機能亢進ラットでのレプチンによる摂食抑制効果

甲状腺機能正常ラットでは、PBS 投与群 ($n=6$) に比べ、レプチン (0.1 μ g/ μ l, 10 μ l) 第 3 脳室内投与群 ($n=6$) では、投与後 1 時間の摂食量は 48% 減と約半分に減少した (図 6)。一方、甲状腺機能亢進ラットでは、PBS (10 μ l) 第 3 脳室内投与群 ($n=6$)、に比べ、レプチン (0.1 μ g/ μ l, 10 μ l) 第 3 脳室内投与群 ($n=6$) では、投与後 1 時間の摂食量は 23% 減であり、甲状腺機能正常ラットと比べて甲状腺機能亢進ラットではレプチンによる摂食抑制効果は減弱した (図 6)。

6) レプチンによる甲状腺機能亢進ラット視床下部諸核の *t*-MH 含有量に及ぼす効果。

甲状腺機能正常ラットでは、レプチン (0.1 μ g/ μ l, 10 μ l) 第 3 脳室内投与群 ($n=6$) は PBS 群と比べて、PVN および TMN で *t*-MH 含有量は有意に増加した (図 7)。甲状腺機能亢進ラットでも、レプチン (0.1 μ g/ μ l, 10 μ l) 第 3 脳室内投与群 ($n=6$) は PBS 群と比べて、PVN および TMN で *t*-MH 含有量は有意に増加した (図 7) が、甲状腺機能正常ラットに比べると、*t*-MH 含有量の増加は減弱した (図 7)。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、TRH を介していることが示唆された。

TRH 投与後のヒスタミンや *t*-MH の含有量増加の結果からも、TRH 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。

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 μ g/10 μ 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 7)。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、TRH を介していることが示唆された。

7) 2 重免疫染色によるヒスタミン神経と TRH 受容体 (TRH-R1、TRH-R2) 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 TRH-R2 抗体による 2 重免疫染色でヒスタミン神経上に TRH-R2 の存在が確認された (図 8-B)。抗 TRH-R1 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 TRH-R1 の存在は確認されなかった。このことから、TRH は TRH-R2 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、TRH 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 TRH を介していること、更に TRH 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 TRH-R2 が存在することから、TRH は TRH-R2 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。

TRH 神経は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、TRH の摂食抑制作用の一部は TRH-R2 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。

TRH により、視床下部諸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、TRH 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) TRH 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 TRH 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 TRH 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、TRH 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 TRH 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 TRH 神経の一部であり、そのため、TRH 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、TRH 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 TRH 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) TRH は TRH-R2 を介してヒスタミン神経を活性化させること、3) TRH の摂食抑制作用の一部は TRH-R2 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 TRH-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. 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.
2. 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.
3. Akehi Y, Yoshimatsu H, Kurokawa M, Sakata T, Eto H, Ito S, Ono J. VLCD-induced weight loss improves heart rate variability in moderately obese Japanese. *Exp. Biol. Med.* 2001; 226:440-445.
4. Yoshimichi G, Yoshimatsu H, Masaki T, Sakata T. Orexin-A regulates body temperature in coordination with arousal status. *Exp. Biol. Med.* 2001; 226:468-476.
5. Katsuragi I, Okeda T, Yoshimatsu H, Utsunomiya N, Ina K, Sakata T. Transplantation of normal islets into the portal vein of otsuka long evans tokushima fatty rats prevents diabetic progression. *Exp. Biol. Med.* 2001; 226:681-685.
6. Masaki T, Yoshimatsu H, Chiba S, Tajima D, Yoshimichi G, Watanabe T, Sakata T. Effects of leptin on feeding, adiposity and UCP family of histamine H1-receptor knockout mice. *Histamine Research in the New Millennium*. eds. by Watanabe T, Timmerman H, Yanai K. pp203-204, Elsevier Science B.V. Amsterdam, 2001.
7. Yoshimatsu H, Tajima D, Masaki T, Chiba S,

- Noguchi H, Sakata T. Chronic histamine treatment improves impaired energy intake and hyperinsulinemia in diet-induced obese mice. *Histamine Research in the New Milleniam*. eds.by Watanabe T, Timmerman H, Yanai K. pp205-207, Elsevier Science B.V. Amsterdam, 2001.
8. Yoshimatsu H, Itateyama E, Himeno K, Sakata T. The difference of leptin-histamine signaling in the hypothalamus of obese animal models. *Histamine Research in the New Milleniam*. eds.by Watanabe T, Timmerman H, Yanai K. pp215-219, Elsevier Science B.V. Amsterdam, 2001.
 9. Yoshimatsu H, Hidaka S, Nijima A, Sakata T. Histamine neurons down-regulates ob gene expression in rat white adipose tissue. *Inflamm. Res.* 2001; 50:72-73.
 10. Takahashi N, Nakagawa M, Saikawa T, Ooie T, Yufu K, Shigematsu S, Hara M, Sakino H, Katsuragi I, Okeda T, Yoshimatsu H, Sakata T. Effect of essential hypertension on cardiac autonomic function in type 2 diabetic patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001; 38:232-237.
 11. Hidaka S, Yoshimatsu H, Kondou S, Oka K, Tsuruta Y, Sakino H, Itateyama E, Noguchi H, Himeno K, Okamoto K, Teshima Y, Okeda T, Sakata T. Hypoleptinemia, but not hypoinsulinemia, induces hyperphagia in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Neurochem.* 2001; 77:993-1000.
 12. Hanada R, Nakazato M, Murakami N, Sakhara S, Yoshimatsu H, Toshinai K, Hanada T, Suda T, Kangawa K, Matsukura S, Sakata T. A role for neuromedin U in stress response. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 289:225-228.
 13. 坂田利家, 千葉政一, 吉松博信. ストレス耐性獲得を促進する紅蔘の慢性経口投. *Ginseng Rev.* 2001; 29:58-61.
- 構: 輸液・栄養ジャーナル. 2001; 23: 201-210.
3. 吉松博信, 坂田利家. 肥満症 患者の気持ちを治療に向かわせるコツ. *Mebio.* 2001; 18: 107-111.
 4. 吉松博信, 葛城功. 食事、運動、禁煙、適正飲酒の指導法. *Medical Practice.* 2001; 18:241-259.
 5. 吉松博信, 坂田利家. インスリン抵抗性と肥満 肥満症の治療. *内科.* 2001; 87: 937-942.
 6. 吉松博信, 坂田利家. 肥満症の行動療法. *日本内科学会雑誌.* 2001; 90: 154-165.
 7. 吉松博信, 坂田利家. エネルギー代謝調節における神経ヒスタミン機能. *肥満研究.* 2001; 7: 166-171.
 8. 吉松博信, 坂田利家. 末梢代謝調節の異常による食行動の調節障害. *日本臨床.* 2001; 59: 456-465.
 9. 加隈哲也, 坂田利家. UCP3 と肥満. *内分泌・糖尿病科.* 2001; 13: 62-71.
 10. 加隈哲也, 坂田利家. 抗肥満症をめざした創薬、過去・現在・未来への展望: レプチンによる脂肪代謝と脂肪蓄積の制御. *日本薬理学会雑誌.* 2001; 118: 334-339.
 11. 加隈哲也, 坂田利家. 糖尿病の薬物治療の戦略: 食欲抑制薬の現状と将来の展望. *BIO Clinica.* 2001; 16: 53-57.

著書

1. 吉松博信. インスリン抵抗性と心臓. 坂田利家 監修, 犀川哲典編. 糖尿病と心機能障害. 医学書院, 2001: pp.77-93.

2. 学会発表

1. 吉道剛, 吉松博信, 正木孝幸, 坂田利家. オレキシンAの中枢性生理作用. 第11回日本病態生理学会, 2001, 1.27-28, 福岡
2. Yoshimichi G, Yoshimatsu H, Masaki T, Sakata T. Orexin-A regulates body temperature in coordination with arousal status. 第2回日中病態生理学会, 2001, 8.10-13, 中国・成都
3. Tsuruta Y, Yoshimatsu H, Hidaka S, Kondou S, Okamoto K, Sakata T. Effects of hyperleptinemia in Ay/a mice on arcuate cocaine- and amphetamine related transcript (CART) and agouti-related protein (AGRP) expression. 第2

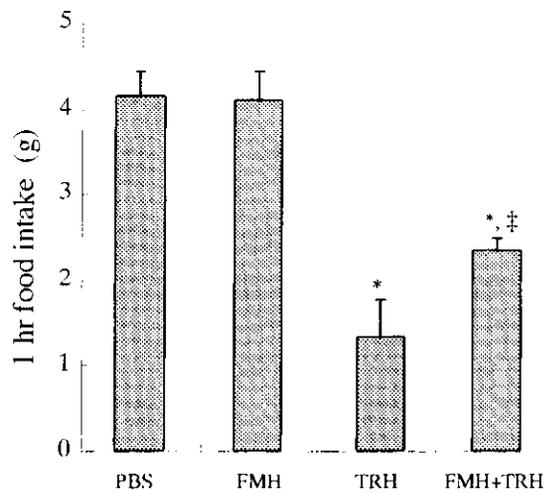
総説

1. 吉道剛, 坂田利家. 【新しい内分泌活性ペプチド】オレキシン: ホルモンと臨床. 2001; 49: 345-353.
2. 吉松博信. 肥満および摂食調節における分子機

- 回日中病態生理学会、2001、8.10-13、中国・成都
4. Tanaka K, Oda N, Abe M, Sakata T, Sato Y. Induction of Ets-1 in endothelial cells during reendothelialization and bFGF mediated angiogenesis. 第2回日中病態生理学会、2001、8.10-13、中国・成都
 5. 花田礼子、吉松博信、中里雅光、松倉茂、坂田利家. Neuromedin U の中枢における摂食調節作用について. 第44回日本糖尿病学会、2001、4.16-18、京都
 6. 鶴田芳男、吉松博信、日高周次、近藤誠哉、岡本健二郎、加隈哲也、坂田利家. Agouti(Ay/a) マウスの肥満発症における視床下部 cocaine-and amphetamine-regulated transcript(CART) の関与. 第44回日本糖尿病学会、2001、4.16-18、京都
 7. 日高周次、吉松博信、近藤誠哉、鶴田芳男、寄野浩、岡本健二郎、桶田俊光、坂田利家. 中枢性レプチン投与が、1型糖尿病モデル動物(ストレプトゾトシン糖尿病ラット; STZ-DM ラット) の血糖値に及ぼす影響の検討. 第44回日本糖尿病学会、2001、4.16-18、京都
 8. 加隈哲也、比嘉盛丈、下村伊一郎、吉松博信、坂田利家. 遺伝性肥満糖尿病モデルラットの肝臓およびラ氏島の脂肪蓄積と SREBP 遺伝子の発現-Leptin, troglitazone による SREBP の発現制御-. 第44回日本糖尿病学会、2001、4.16-18、京都
 9. 正木孝幸、吉松博信、千葉政一、但馬大介、吉道剛、猪立山恵美、近藤誠哉、日高周次、坂田利家. 神経ヒスタミンの糖尿病マウス (db/db obese mice) における糖代謝調節. 第44回日本糖尿病学会、2001、4.16-18、京都
 10. 足立和代、廣田優子、利根哲子、田邊美保子、石橋幸子、瀬口正志、葛城功、吉松博信、坂田利家、桶田俊光. ヤング1型糖尿病女性の食行動について. 第44回日本糖尿病学会、2001、4.16-18、京都
 11. 加隈哲也、比嘉盛丈、下村伊一郎、吉松博信、坂田利家. Unger RH. 遺伝性肥満糖尿病モデルラットの肝臓およびラ氏島の脂肪蓄積と SREBP 遺伝子の発現-Leptin, troglitazone による SREBP の発現制御-. 第44回日本糖尿病学会、2001、4.16-18、京都
 12. 野口仁志、深川光司、後藤孔郎、深川富美代、吉松博信、坂田利家. 摂食行動と摂食調節物質の検討. 第22回日本肥満学会、2001、10.11-12、群馬
 13. 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 TRH の摂食抑制作用とヒスタミン神経との関連. 第22回日本肥満学会、2001、10.11-12、群馬
 14. 正木孝幸、吉松博信、千葉政一、坂田利家. Agouti yellow obese(Ay/a) マウスにおける神経ヒスタミンの食行動、脂肪分解、エネルギー代謝調節. 第22回日本肥満学会、2001、10.11-12、群馬
 15. 鶴田芳男、日高周次、吉松博信、近藤誠哉、岡本健二郎、花田礼子、坂田利家. Agouti (Ay/a) マウスの肥満発症における視床下部 cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) の関与. 第22回日本肥満学会: ミニシンポジウム、2001、10.11-12、群馬
 16. 吉松博信、坂田利家. 摂食調節神経ネットワークにおける神経ヒスタミン機能. 第22回日本肥満学会: シンポジウム1、2001、10.11-12、群馬
 17. 安田透、吉松博信、正木孝幸、坂田利家、新島旭. 神経ヒスタミン第3脳室投与、ヒスチジン末梢投与による BAT 交感神経制御様式の検討. 第22回日本肥満学会: ミニシンポジウムIII、2001、10.11-12、群馬
 18. 吉松博信. 肥満糖尿病の行動療法的アプローチ. 第39回日本糖尿病学会九州地方会: 教育講演、2001、10.26-27、大分
 19. 加島尋、石田哲也、清家正隆、田中克宏、葛城功、吉松博信、坂田利家、桶田俊光. 高カロリー輸液中に著明な高インスリン血症を呈し低血糖を頻発した潰瘍性大腸炎の1例. 第39回日本糖尿病学会九州地方会、2001、10.26-27、大分
 20. 山布邦夫、高橋尚彦、原政英、重松作治、寄野浩、葛城功、田中克宏、吉松博信、坂田利家、中川幹子、岸川哲典、桶田俊光. 2型糖尿病患者の心臓自律神経機能におよぼす本態性高血圧合併症の影響. 第39回日本糖尿病学会九州地方会、2001、10.26-27、大分
 21. 本田浩一、清家正隆、有川淳子、木村茂、石田哲也、吉松博信、坂田利家、野中恵子、渡辺

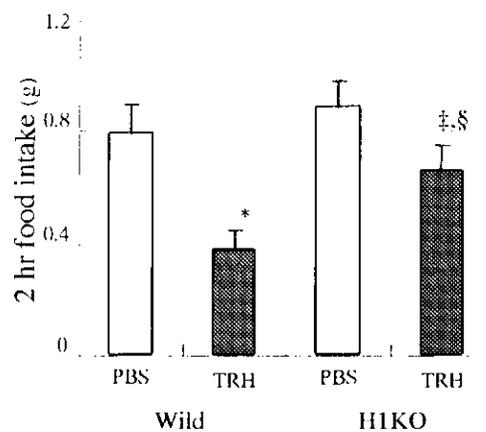
- 鈴子、阿部信行. 肥満症における肝障害の臨床的検討. 第39回日本糖尿病学会九州地方会、2001、10.26-27、大分
22. 千葉政一、吉松博信、葛城功、田中克宏、家原麻理、田中敦子、坂田利家、桶田俊光. 肥満外来通院下で大幅減量が認められた肥満糖尿病患者の行動特性の変化. 第39回日本糖尿病学会九州地方会、2001、10.26-27、大分
23. 花田礼子、吉松博信、中里雅光、松倉茂、児島将康、寒川賢治、坂田利家. neuromedin U の中枢における摂食調節作用について. 日本内分泌学会総会、2001、6.29、横浜

図1、TRH第3脳室内投与による摂食抑制作用とFMH前処置による神経ヒスタミン枯渇の効果



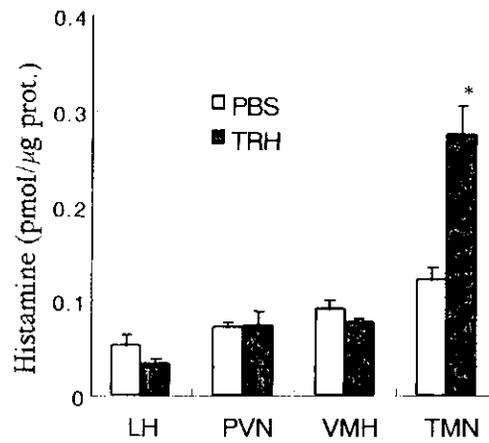
PBS: PBS第3脳室投与群 (n=6)
 FMH: FMH (50mg/kg)腹腔内投与群 (n=6)
 TRH: TRH (100nmol) 第3脳室投与群 (n=6)
 FMH+TRH: FMH (50mg/kg)腹腔内前処置後
 TRH (100nmol) 第3脳室投与群 (n=6)
 *= $p < 0.01$ vs PBS群及びFMH群、‡= $p < 0.05$ vs TRH群

図2、HIKOマウスでのTRH第3脳室内投与による摂食抑制効果



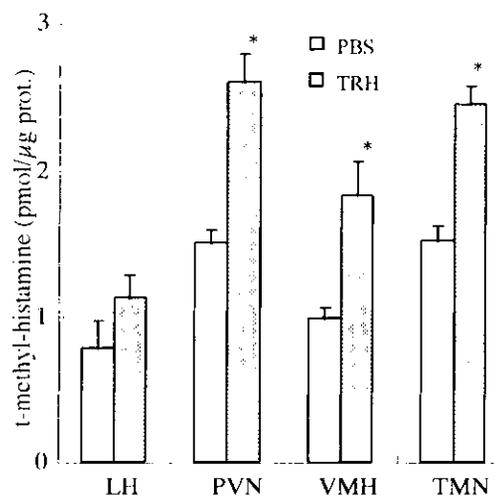
Wild:野生型マウス (対照群)
 HIKO: H1受容体ノックアウトマウス
 PBS: PBS第3脳室内投与群 (n=6)
 TRH: TRH第3脳室内投与群 (n=6)
 *= $p < 0.05$ vs PBS (Wild), (HIKO)
 ‡= $p < 0.05$ vs PBS (HIKO)
 §= $p < 0.05$ vs TRH (Wild)

図3、視床下部諸核のヒスタミン含有量に及ぼすTRHの作用



PBS: PBS第3脳室内投与群 (n=6)
 TRH: TRH第3脳室内投与群 (n=6)
 LH: 外側野、PVN: 室傍核、VMH: 腹内側核、
 TMN: 結節乳頭核
 *=p<0.05 vs PBS

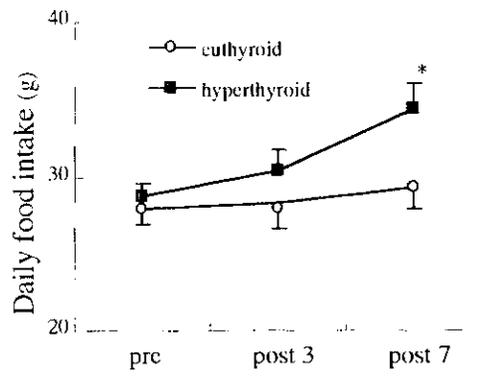
図4、視床下部諸核のテラメチルヒスタミン (t-MH) 含有量に及ぼすTRHの作用



PBS: PBS第3脳室内投与群 (n=6)
 TRH: TRH第3脳室内投与群 (n=6)
 LH: 外側野、PVN: 室傍核、VMH: 腹内側核、
 TMN: 結節乳頭核
 *=p<0.05 vs PBS

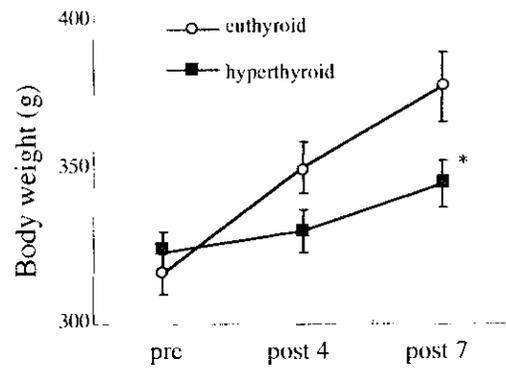
図5、甲状腺機能亢進ラットでの摂食量 (A) と体重 (B) の推移

A



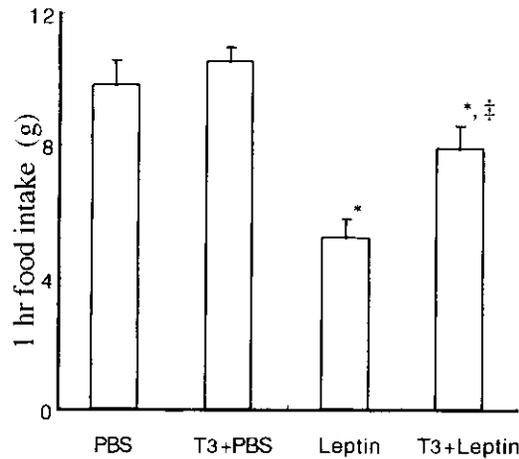
*p<0.05 vs 甲状腺機能正常群 (euthyroid)

B



*p<0.05 vs 甲状腺機能正常群 (euthyroid)

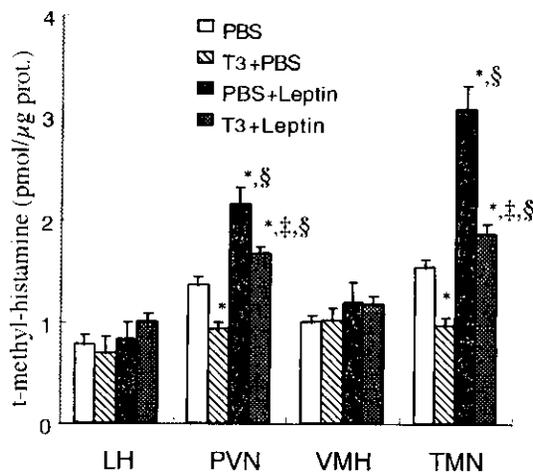
図6、甲状腺機能亢進ラットでのレプチンによる摂食抑制作用



PBS:甲状腺機能正常ラットにPBS第3脳室内投与群 (n=6)
 T3+PBS:甲状腺機能亢進ラットにPBS第3脳室内投与群 (n=6)
 Leptin: 甲状腺機能正常ラットにレプチン第3脳室内投与群 (n=6)
 T3+Leptin:甲状腺機能亢進ラットにレプチン第3脳室内投与群 (n=6)

*=p<0.05 vs PBS、‡=p<0.05 vs Leptin

図7、甲状腺機能亢進ラット視床下部緒核のテロメチルヒスタミン (t-MH) 含有量に及ぼすレプチンの作用

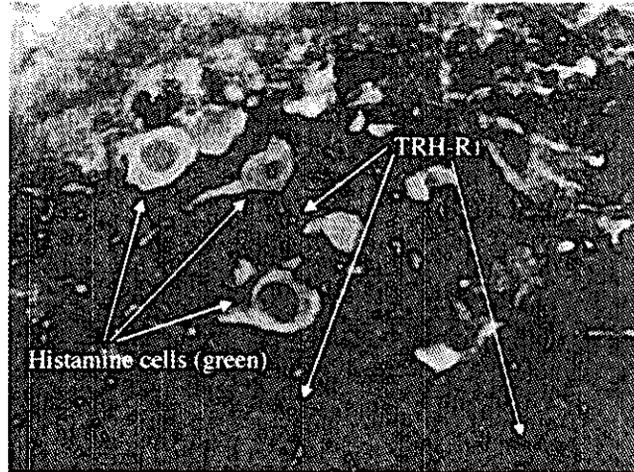


PBS:甲状腺機能正常ラットにPBS第3脳室内投与群 (n=6)
 T3+PBS:甲状腺機能亢進ラットにPBS第3脳室内投与群 (n=6)
 PBS+Leptin: 甲状腺機能正常ラットにレプチン第3脳室内投与群 (n=6)
 T3+Leptin:甲状腺機能亢進ラットにレプチン第3脳室内投与群 (n=6)
 LH: 外側野、PVN: 室傍核、VMH: 腹内側核、TMN: 結節乳頭核

*=p<0.05 vs PBS、‡=p<0.05 vs PBS+Leptin、§=p<0.05 vs T3+PBS

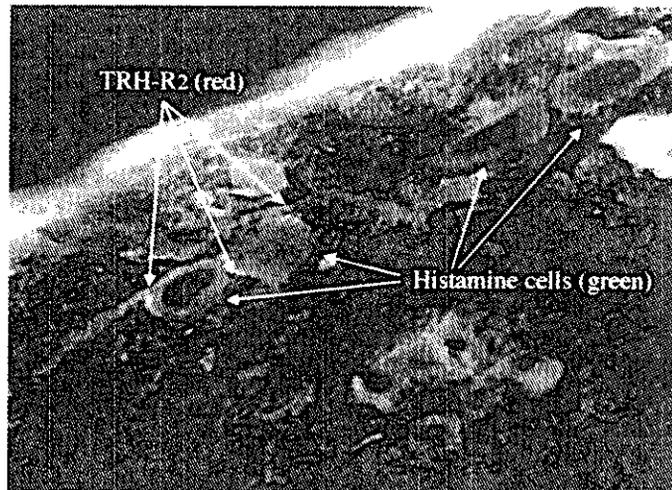
図8、ヒスタミン神経とTRH受容体 (TRH-R1, TRH-R2) の2重免疫染色

A: ヒスタミン神経 (緑) とTRH-R1 (赤) の2重免疫染色



ヒスタミン神経 (緑) 上にTRH-R1 (赤) は共存していない。

B: ヒスタミン神経 (緑) とTRH-R2 (赤) の2重免疫染色



ヒスタミン神経 (緑) 上にTRH-R2 (赤) は共存している。

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

神経性食欲不振症における Corticotropin-releasing hormone 1 受容体遺伝子の解析

分担研究者 芝崎 保 日本医科大学生理学第二 教授
堀田 眞理 東京女子医大内分泌疾患総合医療センター内科 講師
高野 加寿恵 東京女子医大内分泌疾患総合医療センター内科 教授

【研究要旨】

神経性食欲不振症の発症の素因に関与した遺伝子異常を解明することを目的として、家族内発症を有する本症患者の corticotropin-releasing hormone 受容体 (CRHR) 1 型遺伝子を制限酵素切断片長多型法を用いたサザンブロット法と、PCR を用いたシーケンス法で解析した。15 名の本症患者の CRHR1 遺伝子は、エクソンとその前後のイントロン 30 塩基には点変異を認めず、よく保存されていた。この検討の限りでは、神経性食欲不振症の発症の素因の一つとして CRHR1 の遺伝子多型の関与はないと考えられた。

【目的】

神経性食欲不振症は、主として若年女性に発症する心身症で、本邦でもこの 20 年間に患者数が激増している。単一遺伝子疾患ではないが、家族内に本症の発症や他の心身症の合併が多く、何らかの遺伝素因が推測されている¹⁾。本症は心理ストレスが発病と病態の維持に深く関与している²⁾。ストレスの主たるメディエーターである CRHR は、ヒトでは 1 型 (CRHR1) と 2 型 (CRHR2) の 2 種のサブタイプが既にクローニングされている³⁾⁴⁾。ラットにおいて、ストレス時に認められる ACTH 分泌や不安によって惹起される行動変化には主として CRHR1 が関与し⁵⁾⁶⁾、CRHR2 は逆に不安を軽減するように作用していると理解されている⁷⁾。そこで、家族内発症を有する神経性食欲不振症患者の末梢リンパ球からゲノム DNA を抽出して、CRHR1 遺伝子を制限酵素切断片長多型 (restriction fragment length polymorphism : RFLP) 法を用いたサザンブロット法と、PCR を用いたシーケンス法で解析し、疾患発症の素因に関与した遺伝子異常を解明することを目的とした。

【研究方法】

1) 対象

対象は 1990 年の厚生省調査研究班の診断基準を満たす女性患者 15 名で、同疾患の家族内発症を有する (表 1)。図 1 の家系図に示したように、両者が罹患した一卵性双生児 2 組 4 名、母親も罹患した 2 名、姉もしくは妹も罹患した 5 名、従姉妹もしくは叔母も罹患している 4 名である。対照は、心身症や精神疾患の既往がなく、調査の限りでは神経性食欲不振症の家族歴のない 30 才以上の健康女性 10 名とした。文書によって本検討に対するインフォームドコンセントを得た。

2) 方法

RFLP 法は、ヘパリン加末梢血液からシュクロース勾配法にて白血球を分離し、ゲノム DNA を抽出した。得られたゲノム DNA を、Apa I、Bcl I、Bgl II、BamH I、Dra I、EcoR I、EcoR V、Hpa I、Hind III、Kpn I、Nco I、Pst I、Pvu II、Sac I、Sca I、Sma I、Spe I、Sph I、Ssp I、Xba I、Xho I の 21 種類の制限酵素

で消化し、0.8%アガロースゲルで電気泳動後、ヒト CRHR1 cDNA 全長⁸⁾をプローブにしてサザンブロット法にて RFLP の検出を行った。シーケンス法では、ゲノム DNA は、既報のヒト CRHR1 のシーケンス^{9,10)}に従って、イントロン内に表 2 に示したようなプライマーを設定してエクソンごとに DNA 断端を PCR 法にて増幅後、その産物を dye terminator cycle sequencing (PE Biosystems, Foster City, CA) にてシーケンシングをした。

【研究結果】

- 1) 21 種類の制限酵素の消化後のサザンブロット法では、ヒト CRHR1 に本症患者と健康女性ともに RFLP を認めなかった。
- 2) 患者のゲノム DNA のシーケンス法では、ヒト CRHR1 はエクソン 1-5 および 7-14 とそれぞれのエクソン前後のイントロン 30 塩基には点変異を認めず、塩基配列はよく保存されていた。

【考察】

家系内発症を有する神経性食欲不振症患者 15 名の CRHR1 遺伝子は、エクソンとその前後のイントロン 30 塩基には点変異を認めず、よく保存されていた。この検討の限りでは、本症の発病の素因として CRHR1 の遺伝子多型の関与の可能性はないと考えられた。

本症の発症に関して種々の遺伝子解析の結果が報告されているが、レプチン、セロトニン受容体 (5-HT_{2A}、5-HT_{1D}β、5-HT₇)、ドパミン受容体 (D₃、D₄)、セロトニントランスポーター、トリプトファンハイドロキシラーゼ等の遺伝子多型と本症との間に関連は認められていない¹⁾。セロトニンは、食欲やエネルギー調節、情動とくに抑鬱に関係した脳内アミンである。最近、神経性過食症の過食と抑鬱や神経性食欲不振症の強迫性に対して、セロトニン再吸収阻害薬 (SSRI) が使用され、効果が認められている。セロトニン受容体 (5-HT_{2A}) のプロモーター領域の -1438G/A 多型に関して、A-allele と本症との相関が報告されているが、人種によって統一した見解が得られていない。

【結論】

今回の検討の限りでは家系内発症を有する神経性食欲不振症患者 15 名の CRHR1 遺伝子はよく保存され

ており、本症の発病の素因として CRHR1 の遺伝子異常の関与の可能性はないと考えられた

【参考文献】

1. Hinney A, Remschmidt H, Hebebrand J. Candidate gene polymorphisms in eating disorders. *Eur J Endocrinol* 410:147-159, 2000.
2. Hotta M, Shibasaki T, Masuda A, Imaki T, Demura H, Ling N, Shizume K. The responses of plasma adrenocorticotropin and cortisol to corticotropin-releasing hormone (CRH) and cerebrospinal fluid immunoreactive CRH in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 62:319-324, 1986.
3. Chen R, Lewis KA, Perrin MH, Vale WW. Expression cloning of a human corticotropin-releasing factor receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:8967-8971, 1993.
4. Liaw CW, Lovenberg TW, Barry G, Oltersdorf T, Grioriadis DE, DeSouza EB. Cloning and characterization of the human CRF2 receptor gene and cDNA. *Endocrinology* 137:72-77, 1996.
5. Heinrichs SC, Lapsansky J, Lovenberg TW, De Souza EB, Chalmers DT. Corticotropin-releasing factor CRF1, but not CRF2, receptors mediate anxiogenic-like behavior. *Regul Pept* 71:15-21, 1997.
6. Smith GW, Aubry J-M, Dellu F, Contarino A, Bilezikjian LM, Gold LH, Chen R, Marchuk Y, Hauser C, Bentley CA, Sawchenko PE, Koob GF, Vale W, Lee K-F. Corticotropin-releasing factor receptor 1-deficient mice display decreased anxiety, impaired stress response, and aberrant neuroendocrine development. *Neuron* 20:1093-1102, 1998.
7. Arai K, Ohata H, Shibasaki S. A non-peptidic corticotropin-releasing hormone (CRH) receptor type 1 antagonist reverses restraint stress-induced shortening of sodium pentobarbital-induced sleeping time of rats: evidence that an increase in arousal induced by stress is mediated through CRH receptor type 1. *Neurosci Lett* 255:103-106, 1998.

8. Hotta M, Shibasaki T, Arai K, Demura H. Corticotropin-releasing factor receptor type1 mediates emotional stress-induced inhibition of food intake and behavioral changes in rats. *Brain Res* 823:221-225, 1999.
9. Kishimoto T, Radulovic J, Radulovic M, Lin CR, Schrick C, Hooshmand F, Hermanson O, Rosenfeld MG, Spiess J. Deletion of crfr2 reveals an anxiolytic role for corticotropin-releasing hormone receptor-2. *Nature Gen* 24:415-419, 2000.
10. Sakai K, Yamada M, Horiba N, Wakui M, Demura H, Suda T. The genomic organization of the human corticotropin-releasing factor type-1 receptor. *Gene* 219:125-130, 1998.