

200400809A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

中枢性摂食異常症に関する調査研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 芝 崎 保

平成 17 (2005) 年 3 月

目 次

I.	総括研究報告書	
	中枢性摂食異常症に関する調査研究	1
	日本医科大学 生理学第二 芝崎 保	
II.	分担研究報告書	
1.	視床下部オレキシン産生神経の制御系に関する研究	7
	筑波大学基礎医学系 薬理学 桜井 武	
2.	視床下部における脂肪酸とレプチンの摂食調節シグナル伝達経路の比較検討	10
	京都大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科学 中尾 一和	
3.	摂食障害における睡眠・覚醒異常と神経ヒスタミンに関する研究	15
	大分大学医学部 生体分子構造機能制御講座・第一内科 吉松 博信	
4.	ノックアウト・マウスを使った摂食調節ペプチドの機能解析	22
	久留米大学分子生命科学研究所 遺伝情報研究部門 児島 将康	
5.	肥満発症におけるアンジオテンシン受容体の病態生理的意義に関する研究	26
	東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子代謝医学分野 小川 佳宏	
6.	神経性食欲不振症の摂食行動異常におけるCRFファミリーペプチドの役割	30
	日本医科大学 生理学第二 芝崎 保	
7.	神経性食欲不振症の死因と心機能について	35
	京都大学医学部 保健学科 中井 義勝	
8.	摂食障害患者におけるQT variability	41
	東京大学大学院医学系研究科 ストレス防御・心身医学 久保木 富房	
9.	神経性食欲不振症患者に対する経口および経鼻経管糖負荷試験におけるグレリン反応 —治療前後での検討—	43
	九州大学大学院医学研究院 心身医学 久保 千春	
10.	グレリン臨床第II相試験と血中グレリン濃度測定	51
	国立循環器病センター研究所 生化学部 寒川 賢治	
11.	神経性食欲不振症(AN)患者に対する骨治療の試み	55
	志學館大学人間関係学部 心理臨床学科 野添 新一	
12.	神経性食欲不振症に伴う骨粗鬆症の治療	58
	政策研究大学院大学 保健管理センター 鈴木(堀田) 眞理	

III.	研究成果の刊行に関する一覧表	61
IV.	平成16年度 研究者名簿	71

中枢性摂食異常症に関する調査研究

平成 16 年度

I. 総括研究報告書

中枢性摂食異常症に関する調査研究

主任研究者	芝崎 保	日本医科大学生理学第二 教授
分担研究者	桜井 武	筑波大学基礎医学系薬理学 助教授
	久保木 富房	東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学 教授
	鈴木 真理	政策研究大学院大学保健管理センター 教授
	小川 佳宏	東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野 教授
	中尾 一和	京都大学大学院医学研究科内分泌・代謝内科学 教授
	中井 義勝	京都大学医学部保健学科 教授
	寒川 賢治	国立循環器病センター研究所生化学部 部長
	久保 千春	九州大学大学院医学研究院心身医学 教授
	児島 将康	久留米大学分子生命科学研究所遺伝情報研究部門 教授
	吉松 博信	大分大学医学部生体分子構造機能制御講座・第一内科 教授
	野添 新一	志學館大学人間関係学部心理臨床学科 教授

研究要旨 我が国の中枢性摂食異常症の患者数は増加すると共に発症の低年齢化が進んでいる。このような背景をもとに本研究の目的は中枢性摂食異常症の病因、病態を解明することにより、本症の有効な治療および予防法を開発することである。この目的のため、分子生物学的、発生工学的基礎研究による中枢性摂食・エネルギー代謝調節機構と本症の病因、病態の解明を試み、さらに神経性食欲不振症の重大な合併症である骨粗鬆症の治療を行った。遺伝子改変動物等を用いた中枢性摂食・エネルギー代謝調節機構に関する基礎的研究では、視床下部オレキシン神経への入力機構、ニューロメジンUのエネルギー消費促進作用、1型アンジオテンシン受容体のエネルギー蓄積作用、脂肪酸の視床下部における摂食抑制機序等を明らかにした。中枢性摂食異常症の病態に関する基礎的研究では本症の病態における corticotropin releasing factor 受容体と神経ヒスタミンの関与様式について解析し、臨床的研究では中枢性摂食異常症患者の不整脈死の危険性、神経性食欲不振症の治療前後での糖負荷時の血中グレリンの反応性を解析した。治療法の開発に関する研究では、神経性食欲不振症の合併症である骨粗鬆症の治療を試み、活性型ビタミン D3、ビタミン K2、ビスフォスフォネートが骨密度の低下を抑制することを明らかにした。さらに食欲不振症患者へのグレリン投与の臨床試験を開始した。

研究目的

本研究の目的は中枢性摂食調節機構や中枢性摂食異常症の病因や病態を解明し、その成果に基づいて新しい治療法や予防法を開発を行うことである。この目的のため、分子生物学的、発生工学的基礎研究による中枢性摂食調節機構と本症の病因、病態の解明を行う。

研究方法

基礎的研究として、摂食調節物質およびその受容体の遺伝子改変動物の作成等を行い、中枢性摂食・エネルギー

代謝調節機構の解析と中枢性摂食異常症の病態に関する解析を行った。病態に関する臨床的研究として、神経性食欲不振症患者の血中グレリンレベルの解析、不整脈に関する解析等を行い、治療法の開発に関して、神経性食欲不振症の重大な合併症である骨粗鬆症の効果的治療法の検討、グレリンの食欲不振症患者での臨床試験を行った。

（倫理面への配慮）

患者を対象とした臨床的、疫学的研究は、患者にその意義を十分に説明し、同意を得た上で、各研究施設で定められた臨床研究の規定に従って慎重かつ注意深く行っ

た。実験動物を用いた研究は、実験動物飼育及び保管に関する基準、各研究施設における実験動物委員会の指針に基づき、実験動物愛護を配慮して行った。

研究結果および考察

〈オレキシン産生神経の制御系に関する研究〉オレキシン神経の電気生理学的解析と、トランスジーンを用いた逆行性のトレース実験を組み合わせるこれらの神経の制御系を明らかにした。オレキシン神経は、視索前野のGABA作動性神経、縫線核の5HT作動性神経から抑制性の投射を、前脳基底部のコリン作動性神経から興奮性の投射を受けていた。レプチンや、TNF α 等のサイトカインによるオレキシン神経の抑制機構を解析し、K-ATPチャネルの活性化が関与することを明らかにした。(NPB、NPWの摂食行動への作用に対するストレスの影響)NPB、NPWの脳室内投与による摂食行動への影響はストレスにより変化することを明らかにした。(桜井)

〈神経性食欲不振症の摂食行動異常におけるCRFファミリーペプチドの役割〉CRF脳室内投与による摂食抑制作用はCRF1受容体拮抗薬では阻止されなかったが、CRF2受容体拮抗薬によって阻止され、同作用にはCRF2受容体が関与していることが明らかになった。CRF2受容体作動薬であるurocortin 2やurocortin 3の摂食抑制作用は24時間絶食後では認められず、自由摂食下の暗期で明らかに認められた。一方、拘束ストレス、電撃ショック、心理ストレスによる摂食抑制はいずれもCRF1受容体拮抗薬あるいはCRF2受容体拮抗薬により阻止された。従って、心理ストレスがその発症に関与している神経性食欲不振症の不食にはCRF1受容体とCRF2受容体の両者が関与している可能性が示唆される。(芝崎)

〈中枢エネルギー代謝調節における1型アンジオテンシン受容体の機能的意義〉昨年度に見出した1型アンジオテンシン受容体欠損マウス(AT1a KOマウス)における高脂肪食誘導性肥満に対する抵抗性の分子機構を検討した。AT1a KOマウスと対照マウスの間に明らかな摂食量の差はなかったが、AT1a KOマウスでは、直腸温の上昇と尿中カテコラミン排泄の増加、酸素消費量の増加、褐色脂肪組織におけるUCP-1遺伝子発現の亢進などエネルギー代謝の亢進が認められた。培養条件下で、アンジオテンシンIIは脂肪細胞分化に直接影響を及ぼさなかったが、IL-6やMCP-1など炎症性サイトカイン産生を誘導した。以上より、レプチン抵抗性肥満のエネルギー代謝調節におけるアンジオテンシンIIの関与様式が明らかになった。(小川)

〈視床下部における脂肪酸とレプチンの摂食調節機構

の比較検討〉中枢性摂食調節機構のレプチンシグナル伝達経路における長鎖脂肪酸の関与について検討した。C57BL/6マウスおよび遺伝的レプチン受容体欠損マウスである db/db マウスへの長鎖脂肪酸(オレイン酸)の側脳室内投与により摂食抑制と視床下部Stat3活性化が認められた。視床下部メラノコルチンシグナルが遺伝的に障害されたKKA y マウス、メラノコルチン4型受容体アンタゴニスト、SHU9119の野生型マウス側脳室内共投与においてもオレイン酸の摂食抑制効果は障害されなかった。オレイン酸脳室内投与により、視床下部NPY、AGRP遺伝子発現は明らかな低下を認めたがPOMC遺伝子発現は変化しなかった。以上より、長鎖脂肪酸はレプチン受容体・メラノコルチンシグナルとは異なる信号伝達経路を介してStat3の活性化と摂食抑制効果を発揮する可能性が示唆された。(中尾)

〈ニューロメジンUによる摂食抑制機構の解明〉摂食抑制ペプチドであるニューロメジンUのノックアウト・マウス(NMU-KO)を作成し、その内分泌代謝・エネルギー消費を調べた。NMU-KOは過食、運動量低下、代謝活動低下、不規則な摂食行動、肥満、高脂血症、脂肪肝、高血糖、高インスリン血症を呈した。NMU-KOの視床下部のCRHやPOMCなどの摂食抑制性の神経ペプチドの発現が低下していたが、NPYやAGRPなどの摂食亢進性の神経ペプチドの発現に変化はなかった。NMU-KOではレプチンによる摂食抑制と体重減少がみられ、レプチンやレプチン受容体欠損のマウスやラットでNMUは摂食を抑制する。この結果からNMUの摂食抑制メカニズムはレプチンとは別の経路を介したものであることが確認された。(児島)

〈摂食障害における睡眠・覚醒異常と神経ヒスタミン〉視床下部神経ヒスタミンはエネルギー欠乏下で活性化され、摂食抑制や覚醒レベル亢進作用を介して摂食異常症の病態に関わっている。神経ヒスタミンの睡眠・覚醒調節作用についてH $_1$ 受容体欠損(H1KO)マウスを用いて解析した。1) 絶食条件下では神経ヒスタミンの増加にともないラットの活動性が著明に亢進する。H1KOマウスでは絶食に伴う活動性亢進が減弱される。2) H1KOマウスは加齢に伴い肥満を呈し、摂食量増加とエネルギー消費減少を認めるが、これらの変化は肥満発症後期に出現し、肥満発症早期には認められない。3) H1KOマウスでは摂食行動の概日リズム異常が肥満発症早期から認められる。4) H1KOマウスのリズム異常は生体時計である視交叉上核へのヒスタミン入力欠如によることなどが明らかになった。(吉松)

〈摂食障害患者におけるQT間隔不均一性の検討〉摂食障害患者における不整脈性の評価を目的に、51

名の摂食障害患者(神経性食欲不振症 23名, 神経性大食症 28名)を対象に QT variability index (QTVI)を解析した。結果、神経性食欲不振症患者群、神経性大食症患者群ともに健常群と比較して有意に QTVIが増大していた。摂食障害患者では空間的な再分極のばらつきだけでなく、時間的な再分極のばらつきがみられることから、摂食障害患者における不整脈基質の存在が示唆された。(久保木)

〈神経性食欲不振症に伴う骨粗鬆症の治療〉 低体重で骨密度の低下を伴った神経性食欲不振症において、ビタミン K2 と活性型ビタミン D3 の骨代謝マーカーと骨密度に及ぼす治療効果を検討した。対照群(乳酸カルシウム 2g/日)の2年間の腰椎骨密度はさらに 12.3%低下したが、ビタミン K2 群(乳酸カルシウム+メナテレン 30~45mg/日)、活性型ビタミン D3 群(乳酸カルシウム+活性型ビタミン D3 0.5 µg/日)、併用群(カルシウム+メナテレン+活性型ビタミン D3)の2年間の腰椎骨密度の変化率はそれぞれ+3.9%、+1.2%、+2.3%であった。ビタミン K2、活性型ビタミン D3、および両者の併用療法は骨密度の低下を阻止した。(鈴木)

〈神経性食欲不振症の死因と心機能〉 神経性食欲不振症(AN)患者と健常女性を対象に心室細動成立の危険因子である心室細動基質、心室性不整脈、心自律神経機能を検討した。AN 群は健常群に比し QT 時間は有意に長かった。一方、心室性期外収縮の頻度は AN 群と健常群で有意差はなかった。心自律神経機能を検討したところ AN 群の心拍数は健常群と異なり、自律神経以外の調節を受けていた。AN 群では罹病期間と副交感神経機能の指標 HF が負の相関、交感神経機能の指標 LF/HF が正の相関にあった。また QTc と LF/HF が正の相関にあった。以上の結果から AN の罹病期間が長期になると、交感神経機能が亢進し、結果として QTc 時間が延長する。これが心臓死につながると推測される。(中井)

〈グレリンの臨床第 II 相試験と血中グレリン濃度測定〉 グレリンの食欲亢進作用を利用して食欲不振症患者に対する治療薬としての臨床応用を図る目的で、昨年度は、グレリンの安全性を確認する臨床第 I 相試験を施行し、グレリンの臨床効果と安全性を確認した。現在、臨床第 II 相試験「食欲不振患者への投与試験」の1例目を終了し、2例目を試験中である。今後症例を積み重ねて行き、神経性食欲不振症を対象とした臨床試験も計画している。新規に開発された ELISA キットを用いてヒト血中グレリン濃度を測定し、性差の存在、BMI・インスリン抵抗性などとの相関を認めた。(寒川)

〈神経性食欲不振症(AN)患者の経口および経鼻経管糖負荷試験におけるグレリンの反応〉 女性 AN 患者 8 名の低体重時および体重回復時に、50g 経口糖負荷試験(OGTT)および 50g 経鼻経管栄養負荷試験(NGTT)を行いグレリンを測定した。健常成人女性 13 名の NGTT のグレリン反応は、OGTT と比較し 0-60 分間の低下がより大きかった。治療前 AN 群では NGTT と OGTT 間に差はなかったが、治療後ではグレリンの 0-60 分間の低下が NGTT で有意に大きかった。治療前後の OGTT 間ではグレリンの 0-60 分間の低下には差はなかったが、NGTT では治療後が治療前より有意に大きかった。経鼻経管栄養で有意にグレリンが低下したことから胃を介さないグレリン分泌の機序が考えられた。治療後の経鼻経管栄養でグレリン低下の変化は空腹感を修飾している可能性がある。(久保)

〈神経性食欲不振症患者(AN)の骨量低下に対する治療〉 制限型(AN-R)41 名の AN 患者の骨量低下に対するダイドロネル内服の有効性を検討した。ダイドロネル(Etidronate)群、Ca+vitD 群、プラセボ(対照)群の3群に無作為対照試験を行った。骨塩量(BMD)を頸骨超音波法 speed of sound(SOS)で評価し、服薬前と3ヶ月後に骨代謝マーカー(NTx)等を測定した。3群共に平均年齢・体重増加に差はなかった。体重増加にもかかわらず対照群では3ヶ月後に SOS は低下していたが(-0.02%)、Etidronate 群(+1.24%)と Ca+vitD 群(+0.96%)では有意に改善した。また尿中 NTx は、Ca+vitD 群(-13.9%)、対照群(+0.43%)に対し、Etidronate 群で有意に低下(-54.9%)し改善効果を認めた。AN 患者の骨量低下の治療の有用性が示された。(野添)

結論

今年度の主な研究成果は以下の如くである。①中枢性摂食調節機構の解明で、グレリン、オレキシン、ニューロメジン U、CRF、レプチン、ヒスタミン、脂肪酸等の摂食調節物質の作用機序の詳細がさらに明らかになり、その成果および病態に関する臨床的研究結果から、②グレリンが神経性食欲不振症の治療薬になり得る可能性が示され、それに向けた準備が現在進行中である。③神経性食欲不振症の重大な合併症である骨粗鬆症の治療を試み、ビタミン K2、活性型ビタミン D3、ビスフォスフォネートが骨密度の低下を阻止することが明らかにされた。

平成 16 年度

Ⅱ. 分担研究報告書

視床下部オレキシン産生神経の制御系に関する研究

分担研究者 桜井 武 筑波大学基礎医学系薬理学 助教授

研究要旨 オレキシンは摂食中枢として知られる視床下部外側野に散在する神経細胞群により産生される神経ペプチドである。オレキシンは当初、摂食行動を制御するペプチドとして報告された。オレキシン産生神経は弓状核のニューロペプチドY作動性神経の活性化などを介して摂食行動を亢進させる。一方、オレキシン神経は、睡眠・覚醒状態の調節系を構成しており睡眠・覚醒状態を適切に維持するという重要な機能を持っている。オレキシン神経は、絶食時など、エネルギーバランスが負に傾いたときにレプチンレベルの低下やグレリンレベルの上昇により活性化されると考えられている。これらの機能からオレキシンは睡眠・覚醒状態を適切に保つことにより摂食行動などの行動を支える機能を持っていると考えられる。本研究では、オレキシン産生神経の活動を制御する機構を解明するために、神経性の入力系とオレキシン神経に対する種々の生理活性物質の影響とそのメカニズムを明らかにした。

研究目的

視床下部のオレキシン産生神経への神経性入力と種々の生理活性物質のオレキシン産生神経への作用および作用機構を明らかにする。このことにより、オレキシン神経の活性を制御する機構を明らかにし、摂食行動の制御系におけるオレキシン神経の役割を解明するための一助にする。

研究方法

ヒトオレキシンプロモーターを用いて、破傷風毒素のC末端部分とGFPの融合蛋白質をオレキシン神経特異的に発現するトランスジェニックマウスを作製した。このマウスの脳では、融合蛋白質が逆行性にオレキシン神経の入力系の神経細胞に取り込まれ、オレキシン神経の入力系が明らかになった。また、オレキシン神経にGFPを発現するマウスをもちいて、視床下部のスライス標本を用い、神経伝達物質がオレキシン神経の活動に与える影響を調べ、薬理的な手法をもちいて、それらの作用機構について考察した。

研究結果

作製したトランスジェニックマウスにおいて、トランスジェンンはオレキシン神経特異的に発現していた。GFPの免疫染色により逆行性のトレースを行った結果、オレキシン神経は扁桃体や分界条床核など情動に関与する部分、前脳基底部のコリン作動性神経、視索前野のGABA作動性神経、縫線核のセロトニン作動性神経によってイナベーションされていることが明らかになった(図1)。

Orexin/EGFP マウスの視床下部スライス標本を用いたパッチクランプ実験により、オレキシン神経の27%(n=152)はアセチルコリンによって活性化され、100%(n=81)がGABAやセロトニンによって抑制されることが明らかになった(図2)。セロトニンによる抑制にはGIRKチャネルの活性化が関与していた。また、オレキシン産生神経は、レプチンやTNF α によって過分極し抑制された。この作用はトルブタミドやPI3K阻害剤(Ly294002)によって阻害された。このことから、レプチンやTNF α によるオレキシン神経の抑制にはPI3キナーゼとK-ATPチャネルの活性化が関与することが明らかになった。

考察

これらのことから、オレキシン神経は、覚醒時には情動の影響や前脳基底部のコリン作動性神経によって活性化され、睡眠時には視索前野のGABA作動性神経による抑制を受けていることが推測された(図1)。また、セロトニンはオレキシン神経を抑制し、覚醒レベルや摂食を抑制すると考えられる。また、レプチンやTNF α はオレキシン神経をK-ATPチャネルの活性化を介して抑制する。この機構はこれらの分子による覚醒レベルの低下や食欲の抑制に関与していると思われる。

結論

本研究により、オレキシン神経への入力系が明らかになった。縫線核のセロトニン神経との関連は、セロトニンによる摂食抑制のメカニズムと関わっている可能性がある。

また、レプチンや TNF α はオレキシン神経を K-ATP チャネルの活性化を介して抑制する。この機構はこれらの分子による覚醒レベルの低下や食欲の抑制に関与していると思われる。

研究発表

論文発表

1. Akiyama M, Yuasa T, Hayasaka N, Horikawa K, Sakurai T, Shibata S. Reduced food anticipatory activity in genetically orexin (hypocretin) neuron-ablated mice. *Eur J Neurosci.* 2004 Dec;20(11):3054-62.
2. Mieda M, Williams SC, Sinton CM, Richardson JA, Sakurai T, Yanagisawa M. Orexin neurons function in an efferent pathway of a food-entrainable circadian oscillator in eliciting food-anticipatory activity and wakefulness. *J Neurosci.* 2004 Nov 17;24(46):10493-501.
3. Muraki Y, Yamanaka A, Tsujino N, Kilduff TS, Goto K, Sakurai T. Serotonergic regulation of the orexin/hypocretin neurons through the 5-HT1A receptor. *J Neurosci.* 2004 Aug 11;24(32):7159-66.
4. Thompson MD, Comings DE, Abu-Ghazalah R, Jerebeh Y, Lin L, Wade J, Sakurai T, Tokita S, Yoshida T, Tanaka H, Yanagisawa M, Burnham WM, Moldofsky H. Variants of the orexin2/hcrt2 receptor gene identified in patients with excessive daytime sleepiness and patients with Tourette's syndrome comorbidity. *Am J Med Genet.* 2004 Aug 15;129B(1):69-75.
5. Mochizuki T, Crocker A, McCormack S, Yanagisawa M, Sakurai T, Scammell TE. Behavioral state instability in orexin knock-out mice. *J Neurosci.* 2004 Jul 14;24(28):6291-300.
6. Beuckmann CT, Sinton CM, Williams SC, Richardson JA, Hammer RE, Sakurai T, Yanagisawa M. Expression of a poly-glutamine-ataxin-3 transgene in orexin neurons induces narcolepsy-cataplexy in the rat. *J Neurosci.* 2004 May 5;24(18):4469-77.
7. Mieda M, Willie JT, Hara J, Sinton CM, Sakurai T, Yanagisawa M. Orexin peptides prevent cataplexy and improve wakefulness in an orexin neuron-ablated model of narcolepsy in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Mar 16.
8. Muroya S, Funahashi H, Yamanaka A, Kohno D, Uramura K, Nambu T, Shibahara M, Kuramochi M,

Takigawa M, Yanagisawa M, Sakurai T, Shioda S, Yada T. Orexins (hypocretins) directly interact with neuropeptide Y, POMC and glucose-responsive neurons to regulate Ca²⁺ signaling in a reciprocal manner to leptin: orexigenic neuronal pathways in the mediobasal hypothalamus. *Eur J Neurosci.* 2004 Mar;19(6):1524-34.

学会発表

1. 桜井 武 オープン GPCR から統合生理学へ 高峰 謙吉カンファレンス 2004年2月28日、29日
2. 桜井 武 ポストゲノム時代における reverse pharmacology の役割 2004年12月9日 日本分子生物学会年会 ランチョンセミナー 神戸
3. T.Sakurai Role of Orexins in Regulation of Sleep and Energy Homeostasis S-8-4 Molecular Clock Tokyo2004 (2nd International Symposium on Molecular Clock) 2004/2/26-28
4. T.Sakurai "Input and Output Systems of Orexin neurons: Implication in the Regulation of Energy Homeostasis and Behavioral States" Symposium 36 "Central orexin system: a link between arousal and body weight homeostasis" 16th International Congress of the IFAA (International Federation of Association of Anatomists) August 22-27, 2004, Kyoto, Japan
5. T.Sakurai, Input and output systems of orexin/hypocretin producing neurons: Implications in the regulation of energy homeostasis/behavioral states. 5th International Symposium on Narcolepsy. Monte Verita, Ascona, Centro Stefano Franscini, Swiss Federal Institute of Technology (ETG), Switzerland, October 10-15, 2004
6. Yoshida, Y., Mishima, K., Taheri, S., Sakurai, T., Yanagisawa, M., Mignot, E., Nishino, S. Hypocretin Immunoreactivity in the Blood of Genetically Engineered Narcoleptic Mice Models. 5th International Symposium on Narcolepsy. Monte Verita, Ascona, Centro Stefano Franscini, Swiss Federal Institute of Technology (ETG), Switzerland, October 10-15, 2004
7. T. Mochizuki, E.B.Klerman, A.J.Crocker, K.Yoshida, M.Yanagisawa, T.Sakurai, T.E.Scammell Altered regulation of body temperature in orexin knockout mice at the behavioral state transition. Neuroscience Meeting 2004, San Diego, USA
8. Xinmin Xie, Akihiro Yamanaka, Takeshi Sakurai,

Thomas S. Kilduff, Modulation of hypocretin/orexin neurons in mouse hypothalamic slices by GABAB receptor activation. Neuroscience Meeting 2004, San Diego, USA

9. 桜井 武、永田ルビー、村上紗織、原 淳子、柳沢正史、後藤勝年、視床下部オレキシン産生神経の入力系の解析 第77回日本薬理学会年回 平成16年3月8日-10日 大阪国際会議場
10. 平島範子、山中章弘、田中宏一、桜井 武、後藤勝年 新規神経ペプチド Neuropeptide B のマウス摂食行動への作用について 第77回日本薬理学会年回

平成16年3月8日-10日 大阪国際会議場

11. 山中章弘、村木 暢、桜井 武、後藤勝年 オレキシン神経はアセチルコリン神経から脱分極性入力を受ける 第77回日本薬理学会年回 平成16年3月8日-10日 大阪国際会議場
12. 村木 暢、山中章弘、辻野なつ子、平島範子、桜井 武、後藤勝年 セロトニンはセロトニン1A受容体を介してオレキシン神経細胞を過分極させる 第77回日本薬理学会年回 平成16年3月8日-10日 大阪国際会議場

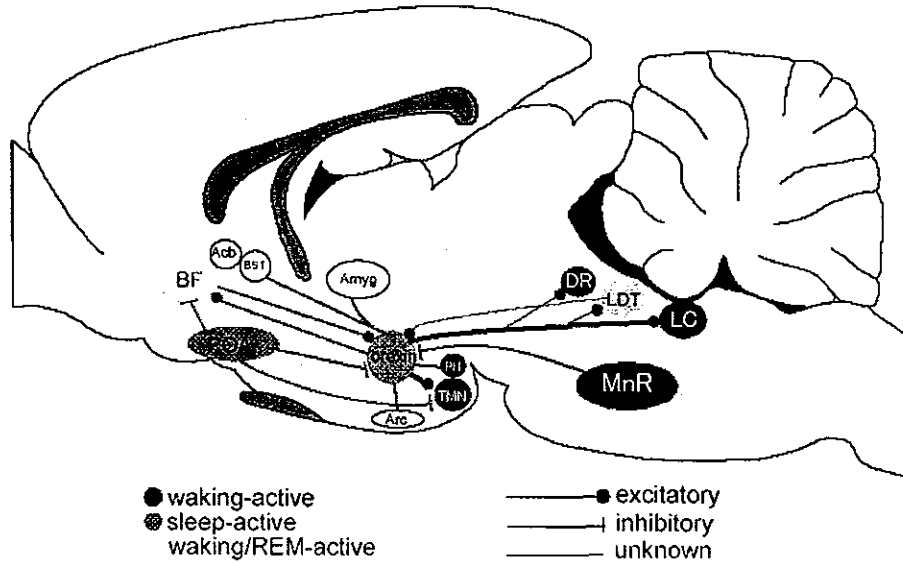


図1. オレキシン産生神経への主な神経性入力を示す模式図。Acb, nucleus accumbens; Amyg, amygdala; Arc, arcuate nucleus; BF, basal forebrain; BST, bed nucleus of the stria terminalis; PH, posterior hypothalamus; POA, preoptic area; TMN, tuberomammillary nucleus; LC, locus coeruleus; DR, dorsal raphe; MnR, median raphe; LDT, laterodorsal tegmental nucleus.

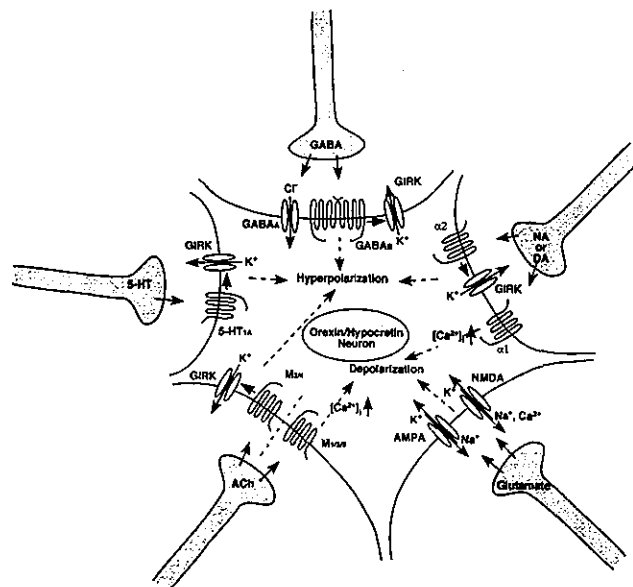


図2. オレキシン産生神経へ影響をあたえる神経伝達物質とその作用機構を示した模式図

視床下部における脂肪酸とレプチンの摂食調節シグナル伝達経路の比較検討

分担研究者 中尾 一和 京都大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科学 教授
益崎 裕章 京都大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科学
海老原 健 京都大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科学
中所 英樹 京都大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科学
日本学術振興会

研究要旨 脂肪細胞から分泌される種々の生理活性物質が視床下部に作用して摂食調節を行うことが知られてきている。本研究では、中枢性摂食調節機構を担うレプチンシグナル伝達経路における長鎖脂肪酸の関与について検討した。C57BL/6マウスおよび遺伝的レプチン受容体欠損マウスである*db/db*マウスに対する長鎖脂肪酸(オレイン酸)側脳室内投与により、摂食抑制と視床下部Stat3活性化が認められた。また、視床下部メラノコルチンシグナルが遺伝的に阻害されたKKA^yマウス、メラノコルチン4型受容体アンタゴニスト、SHU9119の野生型マウス側脳室内共投与においてもオレイン酸の摂食抑制効果は阻害されなかった。更に、オレイン酸脳室内投与により、視床下部NPY、AGRP遺伝子発現は明らかな低下を認めたがPOMC遺伝子発現は変化しなかった。以上の結果から 長鎖脂肪酸はレプチン受容体・メラノコルチンシグナルとは異なる信号伝達経路を介してStat3の活性化と摂食抑制効果を発揮する可能性が示唆された。

研究目的

中枢性摂食異常症における摂食調節機構の病態解明には、摂食中枢である視床下部への生理活性物質の作用機構の検討が必須である。我々は、脂肪細胞由来生理活性物質であるレプチンが中枢神経系を介して摂食・エネルギー代謝調節を行うことを報告してきた。一方、同じく脂肪細胞から分泌される脂肪酸が、中枢性に摂食・エネルギー代謝調節機構に関与する可能性を示唆することが最近報告されてきている。今回、我々は、長鎖脂肪酸の中枢性摂食調節機構におけるレプチンシグナル伝達経路の関与について検討を行った。

研究方法

C57BL/6 マウスおよび遺伝的レプチン受容体欠損マウスである*db/db* マウス、遺伝的にメラノコルチン系が阻害された KKA^y マウスに対して、オレイン酸を脳室内投与を行い、摂食量の変化、および視床下部Stat3活性化を検討した。また、オレイン酸およびレプチン脳室内投与による視床下部摂食調節因子遺伝子発現について比較検討を行った。

研究結果および考察

C57BL/6 マウスおよび遺伝的レプチン受容体欠損マウ

スである *db/db* マウスに対する長鎖脂肪酸(オレイン酸)側脳室内投与により、摂食抑制と視床下部 Stat3 活性化が認められた(図 1)。従って、長鎖脂肪酸はレプチン受容体を介さずに視床下部 Stat3 活性化と摂食抑制を惹起することが証明された。また、KKA^y マウス、メラノコルチン4型受容体アンタゴニスト、SHU9119の野生型マウス側脳室内共投与においてもオレイン酸の摂食抑制効果は阻害されなかった(図 2A, B)。更に、オレイン酸脳室内投与により、視床下部 NPY, AGRP 遺伝子発現は明らかな低下を認めたが POMC 遺伝子発現は変化しなかった(図 2C)。以上の結果より、長鎖脂肪酸は、メラノコルチン系とは異なる経路を介して摂食抑制効果を発揮することが示唆された。

結論

長鎖脂肪酸はレプチン受容体・メラノコルチンシグナルとは異なる信号伝達経路を介して Stat3 の活性化と摂食抑制効果を発揮する可能性が示唆された(図 3)。

健康危険情報

特記すべきものなし。

研究発表

論文発表

1. K. Ebihara, Y. Ogawa, H. Masuzaki, M. Shintani, F. Miyanaga, M. Aizawa-Abe, T. Hayashi, K. Hosoda, H. G. Inoue, Y. Yoshimasa, O. Gavrilova, M.L. Reitman, K. Nakao. Transgenic overexpression of leptin rescues insulin resistance and diabetes in a mouse model of lipotrophic diabetes. *Diabetes* 50, 1440-1448
2. T. Miyawaki, H. Masuzaki, Y. Ogawa, K. Hosoda, H. Nishimura, N. Azuma, A. Sugawara, I. Masuda, M. Murata, T. Matsuo, T. Hayashi, G. Inoue, Y. Yoshimasa, K. Nakao. Clinical implication of leptin and its potential humoral regulators in long-term low calorie diet therapy for obese humans. *Eur. J. Clin. Nutr.* 56, 593-600
3. A. Takahashi-Yasuno, H. Masuzaki, T. Miyawaki, Y. Ogawa, N. Matsuoka, T. Hayashi, K. Hosoda, G. Inoue, Y. Yoshimasa, K. Nakao. Leptin receptor (Ob-R) Arg223Gln polymorphism is associated with serum cholesterol elevation and impairment of cholesterol lowering effect by simvastatin in Japanese men. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 62, 169-175
4. F. Miyanaga, Y. Ogawa, K. Ebihara, S. Hidaka, T. Tanaka, S. Hayashi, H. Masuzaki, K. Nakao. Leptin as an adjunct of insulin therapy in insulin-deficient diabetes. *Diabetologia* 46, 1329-1337
5. A. Yasuno, H. Masuzaki, G. Inoue, T. Miyawaki, N. Matsuoka, Y. Ogawa, T. Hayashi, K. Hosoda, Y. Yoshimasa, K. Nakao. Association of Ob-R gene polymorphism and insulin resistance in Japanese men. *Metabolism* 53, 650-654
6. K. Ebihara, H. Masuzaki, K. Nakao. Efficacy of long-term leptin replacement therapy for lipotrophic diabetes in Japan. *N. Eng. J. Med.* 351, 615-616

学会発表

1. 益崎裕章、中尾一和 脂肪細胞機能とメタボリック症候群第 77 回日本内分泌学会学術総会、2004 年、京都
2. 海老原健、日下部徹、益崎裕章、中尾一和 レプチンのトランスレショナルリサーチ 第 77 回日本内分泌学会学術総会、2004 年、京都
3. 宮永史子、益崎裕章、海老原健、中所英樹、宮澤崇、田中智洋、日下部徹、小林望美、谷岡秀樹、泰江伸太郎、林 達也、細田公則、小川佳宏、中尾一和 イ

ンスリン分泌低下型糖尿病におけるレプチンの有用性 第 77 回日本内分泌学会学術総会、2004 年、京都

4. 宮澤崇、益崎裕章、中所英樹、谷岡秀樹、海老原健、宮永史子、富田努、田中智洋、日下部徹、小林望美、泰江慎太郎、林達也、細田公則、中尾一和 視床下部におけるレプチン・インスリンシグナルのクロストーク機構 第 77 回日本内分泌学会学術総会、2004 年、京都
5. 谷岡秀樹、益崎裕章、中所英樹、宮澤崇、海老原健、宮永史子、富田努、田中智洋、日下部徹、小林望美、泰江慎太郎、林達也、細田公則、中尾一和 中枢神経系における脂肪酸・レプチンシグナルクロストークの可能性 第 77 回日本内分泌学会学術総会、2004 年、京都
6. 田中智洋、益崎裕章、泰江慎太郎、日高周次、海老原健、中所英樹、小川佳宏、宮永史子、宮澤 崇、日下部徹、小林望美、林 達也、細田公則、中尾一和 レプチンの代謝改善作用における骨格筋 AMP kinase (AMPK) の機能的意義-レプチン過剰発現トランスジェニックスキニーマウスの解析から- 第 77 回日本内分泌学会学術総会、2004 年、京都
7. 海老原健、日下部徹、益崎裕章、中所英樹、宮永史子、宮澤崇、藤本宗也、田中智洋、富田努、小林望美、泰江慎太郎、谷岡秀樹、林達也、細田公則、小川佳宏、中尾一和 脂肪萎縮性糖尿病におけるレプチンの長期治療効果 第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会、2004 年、東京
8. 宮永史子、益崎裕章、海老原健、中所英樹、宮澤崇、田中智洋、日下部徹、小林望美、谷岡秀樹、泰江伸太郎、林 達也、細田公則、小川佳宏、中尾一和 インスリン分泌低下型糖尿病におけるレプチンの有用性 第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会、2004 年、東京
9. 谷岡秀樹、益崎裕章、中所英樹、宮澤崇、海老原健、宮永史子、富田努、田中智洋、日下部徹、小林望美、泰江慎太郎、林達也、細田公則、中尾一和 中枢神経系における脂肪酸・レプチンシグナルクロストークの可能性 第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会、2004 年、東京
10. 宮澤崇、益崎裕章、中所英樹、谷岡秀樹、海老原健、宮永史子、富田努、田中智洋、日下部徹、小林望美、泰江慎太郎、林達也、細田公則、中尾一和 視床下部におけるレプチン・インスリンシグナルのクロストーク機構の検討 第 47 回日本糖尿病学会年次学術集

- 会、2004年、東京
11. 田中智洋、益崎裕章、泰江慎太郎、海老原健、中所英樹、宮永史子、宮澤 崇、日下部徹、小林望美、林 達也、細田公則、中尾一和 レプチン感受性および抵抗性モデルにおける骨格筋 AMP kinase の役割-レプチン過剰発現トランスジェニックマウスの解析から-第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会、2004年、東京
 12. 海老原健、日下部徹、益崎裕章、中所英樹、宮澤崇、宮永史子、田中智洋、小林望美、泰江慎太郎、林達也、細田公則、中尾一和 脂肪萎縮性糖尿病におけるレプチンのインスリン感受性およびインスリン分泌能改善効果 第 25 回日本肥満学会、2004年、大阪
 13. 宮永史子、益崎裕章、海老原健、谷岡秀樹、中所英樹、宮澤崇、田中智洋、日下部徹、林達也、細田公則、小川佳宏、中尾一和 インスリン治療時の体重増加に及ぼすレプチン治療の効果 第 25 回日本肥満学会、2004年、大阪
 14. 田中智洋、益崎裕章、泰江慎太郎、箕越靖彦、海老原健、中所英樹、林 達也、細田公則、中尾一和 高脂肪食性肥満におけるレプチン-骨格筋 AMPK Axis の機能的意義 第 25 回日本肥満学会 YIA、2004年、大阪
 15. 谷岡秀樹、益崎裕章、中所英樹、宮澤崇、海老原健、宮永史子、富田努、田中智洋、日下部徹、小林望美、泰江慎太郎、林達也、細田公則、中尾一和 中枢神経系における脂肪酸とレプチンのシグナルクロストークの可能性 第 25 回日本肥満学会、2004年、大阪
 16. 谷岡秀樹、益崎裕章、中所英樹、宮澤崇、海老原健、宮永史子、富田努、田中智洋、日下部徹、小林望美、泰江慎太郎、林達也、細田公則、中尾一和 中枢における脂肪酸とレプチンのシグナルクロストークの可能性 第 41 回日本臨床分子医学会学術総会、2004年、福岡
 17. 田中智洋、益崎裕章、泰江慎太郎、箕越靖彦、海老原健、中所英樹、小川佳宏、宮永史子、宮澤 崇、日下部徹、小林望美、林 達也、細田公則、中尾一和 高脂肪食性肥満における骨格筋 AMPK の意義-レプチン過剰発現トランスジェニックマウスの解析から 第 41 回日本臨床分子医学会学術総会、2004年、福岡
 18. 田中智洋、益崎裕章、泰江慎太郎、宮永史子、谷岡秀樹、海老原健、中所英樹、林 達也、細田公則、箕越靖彦、中尾一和 レプチンの新しいイフェクター分子、骨格筋 AMP カイネース(AMPK)の病態的意義 第 41 回日本糖尿病学会近畿地方会 シンポジウム、2004年、大阪
 19. 日下部徹、海老原健、益崎裕章、中所英樹、宮永史子、宮澤崇、田中智洋、小林望美、林達也、細田公則、中尾一和 レプチンの下垂体機能への影響-全身性脂肪萎縮症に対するレプチン補償治療の検討から-第 31 回日本神経内分泌学会、2004年、弘前
 20. 谷岡秀樹、益崎裕章、中所英樹、宮澤崇、海老原健、藤倉純二、林達也、細田公則、中尾一和 中枢神経系における脂肪酸とレプチンのシグナルクロストークの可能性 第 31 回日本神経内分泌学会、2004年、弘前
 21. 中所英樹、海老原健、益崎裕章、日下部徹、宮永史子、宮澤崇、田中智洋、小林望美、細田公則、中尾一和 脂肪萎縮症患者の下垂体機能に対するレプチンの影響 第 174 回日本内科学会近畿地方会、2004年、大阪
 22. Hiroaki Masuzaki Leptin treatment on various kind of diabetes mellitus International Congress of Endocrinology(ICE)、2004、Lisbon, Portugal
 23. Tomohiro Tanaka, Hiroaki Masuzaki, Shintaro Yasue, Ken Ebihara, Hideki Chusho, Yoshihiro Ogawa, Fumiko Miyanaga, Takashi Miyazawa, Toru Kusakabe, Nozomi Kobayashi, Tatsuya Hayashi, Kiminori Hosoda, Yasuhiko Minokoshi, Kazuwa Nakao Activated AMP Kinase in Skeletal Muscle from Transgenic Skinny Mouse Overexpressing Leptin 64th American Diabetes Association Scientific Sessions、2004、Orlando, FL
 24. Tomohiro Tanaka, Hiroaki Masuzaki, Shintaro Yasue, Shuji Hidaka, Ken Ebihara, Hideki Chusho, Yoshihiro Ogawa, Fumiko Miyanaga, Takashi Miyazawa, Toru Kusakabe, Nozomi Kobayashi, Tatsuya Hayashi, Kiminori Hosoda, Yasuhiko Minokoshi, Kazuwa Nakao Chronically Activated Skeletal Muscle AMP kinase (AMPK) in Transgenic Skinny Mouse Overexpressing Leptin 86th ENDO、2004、New Orleans, LA
 25. Tomohiro Tanaka, Hiroaki Masuzaki, Shintaro Yasue, Yasuhiko Minokoshi, Ken Ebihara, Hideki Chusho, Yoshihiro Ogawa, Fumiko Miyanaga, Takashi Miyazawa, Toru Kusakabe, Nozomi Kobayashi, Tatsuya Hayashi, Kiminori Hosoda, Kazuwa Nakao Role of leptin - skeletal muscle AMP-activated protein kinase (AMPK) axis in a murine model of

26. Tomohiro Tanaka, Hiroaki Masuzaki, Ken Ebihara, Hideki Chusho, Fumiko Miyanaga, Yoshihiro Ogawa, and Kazuwa Nakao Transgenic Skinny Mice Overexpressing Leptin in Liver - A Unique Animal Model to Study Leptin's Metabolic Actions Annual

知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
特記すべきものなし。

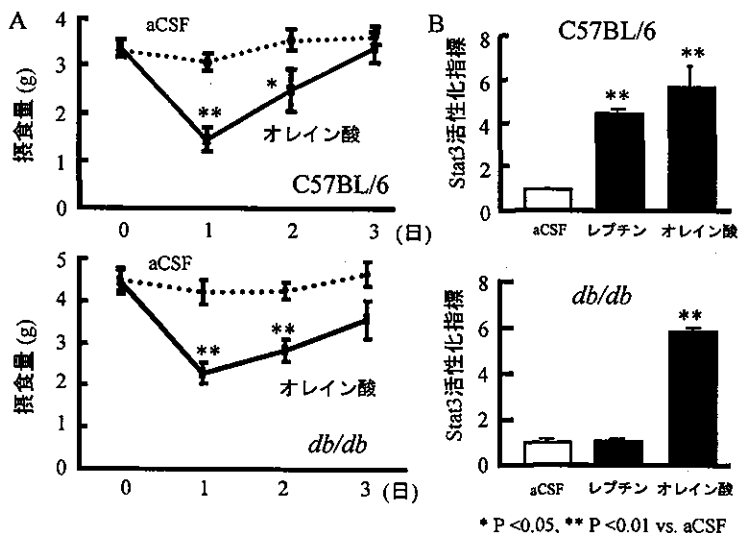


図1 オレイン酸による摂食抑制効果と視床下部 Stat3 活性化 A.人工脳脊髄液(aCSF)およびオレイン酸側脳室内投与による摂食量の変化。上段:C57BL/6マウス、下段: db/dbマウス B. 視床下部 Stat3 活性化の検討 (抗リン酸化 Stat3 抗体を用いたウエスタンブロット解析)。上段:C57BL/6 マウス、下段: db/db マウス

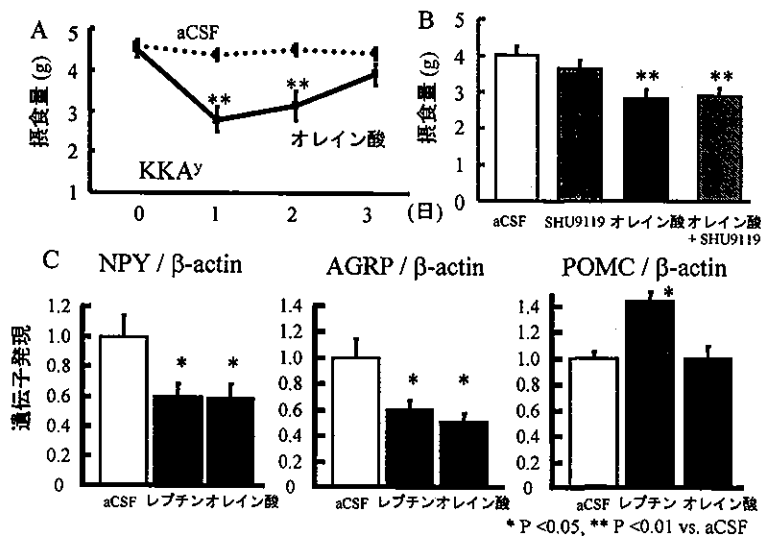


図2 オレイン酸の摂食抑制機構におけるメラノコルチン系の関与について

A.KKAY マウスにおける人工脳脊髄液(aCSF)およびオレイン酸側脳室内投与による摂食量の変化。

B. オレイン酸脳室内投与による摂食抑制効果に対するメラノコルチン受容体阻害剤 SHU9119 の影響。

C. レプチンおよびオレイン酸脳室内投与による視床下部摂食調節因子遺伝子発現の変化。NPY:

Neuropeptide Y, AGRP: Agouti-related protein, POMC: pro-opiomelanocortin

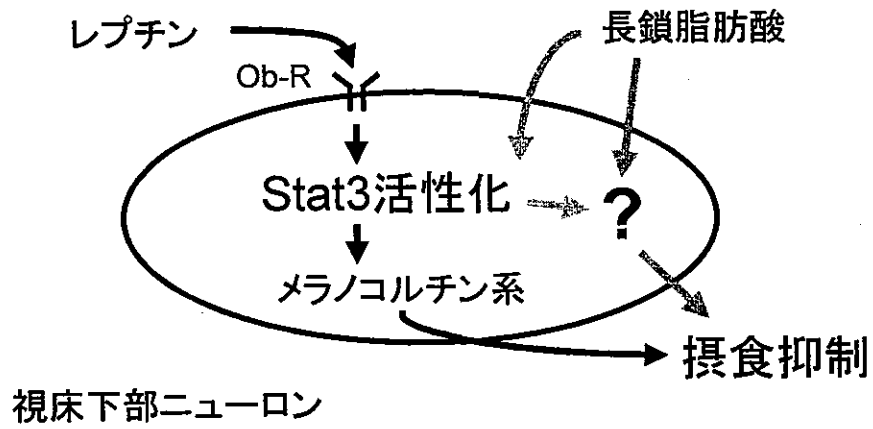


図3 視床下部における脂肪酸とレプチンの摂食調節シグナル伝達経路の比較検討
 長鎖脂肪酸はレプチン受容体・メラノコルチンシグナルとは異なる信号伝達経路を介して視床下部 Stat3 の活性化と摂食抑制効果を発揮する可能性が示唆された。

摂食障害における睡眠・覚醒異常と神経ヒスタミンに関する研究

分担研究者 吉松 博信 大分大学医学部生体分子構造機能制御講座 第一内科 教授
千葉 政一 大分大学医学部生体分子構造機能制御講座 第一内科
正木 孝幸 大分大学医学部生体分子構造機能制御講座 第一内科

研究要旨 視床下部神経ヒスタミンはエネルギー欠乏下で活性化され、摂食抑制や覚醒レベル亢進作用を介して摂食異常症の病態に関わっている。今回、この神経ヒスタミンの睡眠・覚醒調節作用について H_1 受容体欠損(HIKO)マウスを用いて解析した。1) 絶食条件下では神経ヒスタミンの増加にともないラットの活動性が著明に亢進する。HIKO マウスでは絶食にともなう活動性亢進が減弱される。2) HIKO マウスは aging とともに肥満し、摂食量増加とエネルギー消費減少をみとめるが、これらの変化は肥満発症後期に出現し、肥満発症早期にはみとめられない。3) HIKO マウスでは摂食行動の概日リズム異常が肥満発症早期からみとめられる。4) HIKO マウスのリズム異常は生体時計である視交叉上核へのヒスタミン入力の欠如によることなどが明らかになった。以上より神経ヒスタミンの機能異常はエネルギー代謝調節系の破綻だけではなく、睡眠覚醒調節系の破綻を介して摂食異常症の病態に関与する可能性が示唆された。

研究目的

神経性食欲不振症では、食思不振および体重減少が認められるが、日常生活での活動性や覚醒度は亢進していることが多い。また、神経性食欲不振症患者の脳脊髄液中では、ヒスタミン含有量の増加が観察される。ヒスタミンをラット第3脳室に投与すると食行動が抑制され、活動性が増加し、交感神経活性化を介して、白色脂肪組織での脂肪分解および褐色脂肪組織での uncoupling protein (UCP) 1 誘導に伴う熱産生が促進される。更に、飢餓状態では視床下部ヒスタミン生合成および放出が亢進する。これらのことから、神経性食欲不振症の病態生理には、視床下部神経ヒスタミンが深く関与することが示唆される。しかし、視床下部神経ヒスタミンのエネルギー代謝調節機構と睡眠・覚醒等の概日リズム調節機構の機能的連関の詳細は不明である。このため、ヒスタミン H_1 受容体欠損マウス(HIKO)を用いて飢餓状態における活動性変化、加齢にともなう体重、食行動、エネルギー消費の変化について解析した。

研究方法

(実験動物)

動物は雄性 10-48 週齢の C57BL6 マウスおよび同系統のヒスタミン H_1 受容体欠損マウスを用いた。照明条件を朝7時から19時とする12時間明暗周期および室温 21 ± 1

度、湿度 $55 \pm 5\%$ の恒温恒湿防音環境下で実験を行った。飼料はクレア飼料を用い自由飲水で飼育した。手術としてマウス側脳室内へ慢性に 29G 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。

(実験方法)

体重、条件を揃えたマウスを用いた。試薬は、Amgen 社製品の murine recombinant leptin ($0.5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$)、Sigma 社製品の histamine ($1 \mu\text{mol}/\mu\text{l}$)、phosphate buffered saline (PBS)を用いた。実験進行は、マウス側脳室への試薬は、1分間 $0.1 \mu\text{l}$ の速度で $1 \mu\text{l}$ を 10 分間かけて投与した。マウス摂食量および一般活動量は遠隔自動連続行動定量装置(シンテクノ社)を用いて解析した。マウス褐色脂肪組織(BAT)における脱共役蛋白1(UCP1)の mRNA 発現量は Real Time PCR (ABI 社)を用いて解析した。マウス褐色脂肪組織および白色脂肪組織の形態および視床下部諸核の神経活動について、ヘパリン加 PBS および 4%ホルマリンにて還流固定した後、各脂肪組織をヘマトキシリン-エオジン(HE)染色にて、マウス脳を c-fos 抗体を用いてそれぞれ染色し評価した。結果の有意差検定は分散分析を用い、群間の有意差検定には Fisher の PLSD による多重比較法を用い、 $p < 0.05$ を有意と判定した。またすべての実験は National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals を元に作成した Oita Medical

University Guideline に沿って行われた。

研究結果

1)自由給餌および絶食負荷時に伴う一般活動量の変化について、HIKO マウスと対照群間で比較すると、HIKO マウスでは自由給餌下において活動量の概日リズムが障害されていた。絶食負荷では、対照群で認められる一般活動量の有意な増加が HIKO マウスでは消失していた(図1)。

2) HIKO は、加齢にともなって対照群に比較して有意な体重増加を示した。48 週齢では体重増加にともなって、副睪丸周囲脂肪組織(e-fat)、腸間膜脂肪組織(m-fat)および後腹膜脂肪組織(r-fat)の重量が対照群に比較してそれぞれ有意な増加を示した(図2)。

3) HIKO マウスおよび対称マウスにレプチンを中枢性に投与し体重変化、1日摂食量および視床下部における c-fos 発現量を比較すると、若齢期(12 週齢)および高齢期(48 週齢)の HIKO マウスにおいて、レプチン投与による体重低下、摂食量低下および視床下部室傍核等における c-fos 発現量増加が対照マウスに比較して有意に減弱していた(図3)。

4)1日摂食量および褐色脂肪組織(BAT) UCP1 mRNA 発現量を比較すると、12 週齢では HIKO マウスと対照群間に差はなかったが、48 週齢では1日摂食量の増加および BAT UCP1 mRNA 発現量の低下がそれぞれ有意に認められた(図4)。

5)1日の摂食リズムについて HIKO マウスと対照群間で比較すると、12 週齢および48 週齢において HIKO マウス明期摂食量および明期/暗期の摂食量比の有意な増加が認められた(図5)。

6)48 週齢の HIKO マウスにおいて、自由給餌群と暗期のみ給餌する計画給餌群間で摂食量および体重変化を比較すると、摂食量では両群間に有意な差を認めなかったが、体重変化において計画給餌群で有意な低下が認められた(図6)。

7) HIKO マウスおよび対称マウスにヒスタミンを中枢性に投与し、視床下部における c-fos 発現量を比較すると、HIKO マウスにおいて、ヒスタミン投与による視交叉上核における c-fos 発現量が対照マウスに比較して有意に減弱していた(図7)。

考察

本研究により、ヒスタミン H₁ 受容体欠損 (HIKO) マウスでは、活動量の概日リズムが障害されており、絶食負荷による活動量の増大が消失していた。すなわち飢餓状態な

どエネルギー欠乏下における覚醒レベルの上昇や活動性の亢進には神経ヒスタミンおよび H₁ 受容体が関与していることが示唆された。また HIKO マウスは加齢にともなって副睪丸周囲脂肪組織、腸間膜脂肪組織および後腹膜脂肪組織等が増加して肥満となることが判明した。また、肥満発症前である 12 週齢の若齢期より、HIKO マウスにおいては、中枢性レプチン投与による体重減少および食行動抑制反応が減弱しており、視床下部室傍核および視交叉上核等への c-fos 発現量も低下していた。さらに摂食リズム異常も肥満発症前のこの時期に認められた。以上より HIKO マウスにおいては比較的早期より中枢神経系におけるレプチン抵抗性および摂食リズム障害が存在することが示唆された。一方で、48 週齢の高齢期では、HIKO マウスの 1 日摂食量が有意に増加し、褐色脂肪組織 UCP1 mRNA 発現量が有意に低下することが判明した。この食行動と BAT UCP1 mRNA 発現量の変化は 12 週齢では認められなかった。更に、48 週齢の高齢期 HIKO マウスにおいて、対照群の摂食リズムとほぼ同様な計画給餌飼育を行い、高齢期 HIKO マウス自由給餌群と比較すると、高齢期に認められた体重増加が有意に抑制された。以上より、ヒスタミン H₁ 受容体は若齢期より視床下部室傍核および視交叉上核等を活性化してレプチン感受性制御および摂食や活動性等のリズム調節等に深く関与していることが明らかになった。高齢期では、これに食行動調節およびエネルギー代謝調節の異常が加わり顕著な肥満を呈することが示唆された。また、摂食リズム障害を是正すると高齢期 HIKO マウスの体重増加が抑制されることから、視床下部視交叉上核等を中心とする生体リズム調節機構とエネルギー代謝調節機構との間に機能的連関が存在する可能性が示唆された(図8)。

結論

今回の研究の結果より、飢餓やエネルギー欠乏状態で活性化される視床下部神経ヒスタミンは、H₁ 受容体を介して、レプチン感受性、生体内リズム調節、食行動調節、エネルギー代謝調節などを制御していることが明らかになった。すなわち、神経性食思不振症等の摂食異常症では、エネルギー欠乏に伴う視床下部神経ヒスタミンの活性化が、夜間の不眠や昼間の活動性亢進などの睡眠・覚醒調節機構の破綻および摂食抑制やエネルギー消費増加等のエネルギー代謝調節機構の破綻をもたらし、摂食異常症の病態を増悪させる可能性が示唆された(図9)。

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

論文発表

1. Yasuda T, Masaki T, Sakata T, Yoshimatsu H. Hypothalamic neuronal histamine regulates sympathetic nerve activity and expression of uncoupling protein1 mRNA in brown adipose tissue in rats. *Neuroscience*.125: 535-540 2004.
2. Masaki T, Chiba S, Noguchi H, Yasuda T, Tobe K, Suzuki R, Kadowaki T, Yoshimatsu H. Obesity in insulin receptor substrate-2-deficient mice: disrupted control of arcuate nucleus neuropeptides. *Obesity res*. 12: 878-885 2004.
3. Fukuchi S, Hamaguchi K, Seike M, Himeno K, Sakata T, Yoshimatsu H. Role of fatty acid composition in the development of metabolic disorders in sucrose-induced obese rats. *EBM*. 229: 486-493 2004
4. Yasuda T, Masaki T, Chiba S, Kakuma T, Sakata T, Yoshimatsu H. L-histidine stimulate sympathetic nerve activity to brown adipose tissue in rats. *Neuroscience letters*. 362: 71-74 2004
5. Masaki T, Chiba S, Tastukawa H, Yasuda T, Noguchi H, Seike M, Yoshimatsu H. Adionectin protects LPS-Induced liver Injury through modulation of TNF- α in KKAy obese mice. *Hepatology*. 40: 177-184 2004
6. Masaki T, Chiba S, Yasuda T, Noguchi H, Kakuma T, Watanabe T, Sakata T, Yoshimatsu H. Involvement of hypothalamic histamine H1 receptor in the regulation of feeding rhythm and obesity. *Diabetes*. 53: 2250-2260 2004
7. Hanada R, Teranishi H, Pearson JT, Kurokawa M, Hosoda H, Fukushima N, Fukue Y, Serino R, Fujihara H, Ueta Y, Ikawa M, Okabe M, Murakami N, Shirai M, Yoshimatsu H, Kangawa K, Kojima M. Neuromedin U has a novel anorexigenic effect independent of the leptin signaling pathway. *Nat Med*. 10: 1067-1073 2004

学会発表

1. 浜口 和之 異常ヘモグロビン症2例:血糖コントロールの指標としてのHbA_{1c}の意義について 第47回日本糖尿病学会 5.13-15,2004. 東京
2. 家原 麻理 軽症糖尿病性神経障害に対するエパルレスタットの有用性の検討 第47回日本糖尿病学会 5.13-15,2004. 東京
3. 正木 孝幸 中枢性ヒスタミンは食餌誘導性肥満の肝脂質代謝異常を改善 第25回日本肥満学会 9.29-30,2004. 大阪
4. 局 哲夫 レプチンはSTZ糖尿病マウスのグレリン濃度をインスリン、摂食非依存性に低下させる 第25回日本肥満学会 9.29-30,2004. 大阪
5. 荒木 佳奈 オレキシン中枢投与における褐色脂肪組織交感神経活動に及ぼす影響 第25回日本肥満学会 9.29-30,2004. 大阪
6. 千葉 政一 体重日内変動と減量効果を指標とした肥満症病期分類とその治療応用 第25回日本肥満学会 9.29-30,2004. 大阪
7. 正木 孝幸 中枢性 melanocortin による肝脂質代謝調節 第25回日本肥満学会 9.29-30,2004. 大阪
8. 織部 淳哉 非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)において肥満度の違いによる臨床的相違について 第25回日本肥満学会 9.29-30,2004. 大阪
9. 浜口 和之 血糖とHbA_{1c}の乖離を示した橢円赤血球症合併2型糖尿病の一例 第42回日本糖尿病学会九州地方会 10.22-23,2004. 佐世保
10. 岡本健二郎 特効性インスリン製剤グラルジンにより血糖コントロールが改善した劇症1型糖尿病の2症例 第42回日本糖尿病学会九州地方会 10.22-23,2004. 佐世保
11. 正木 孝幸 抗精神病薬加療中に著明な高血糖を来した1例 第42回日本糖尿病学会九州地方会 10.22-23,2004. 佐世保
12. 吉松 博信 肥満症治療における行動療法の意義 第25回日本肥満学会 教育講演 9.29-30,2004. 大阪
13. 吉松 博信 肥満症と糖尿病 第42回日本糖尿病学会九州地方会 教育講演 10.22-23,2004. 佐世保

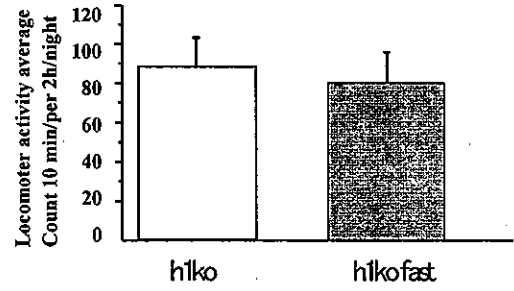
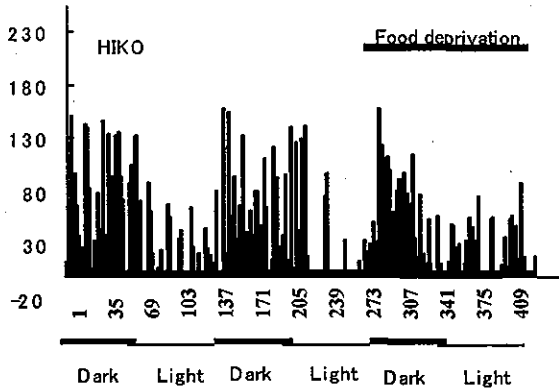
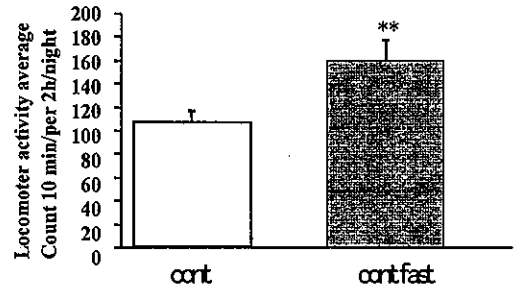
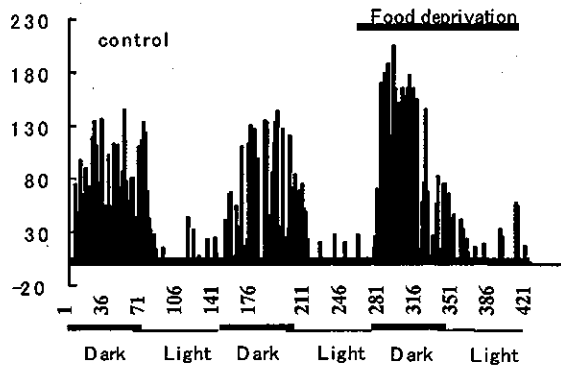


図1 絶食負荷による活動性亢進 H1 受容体機能

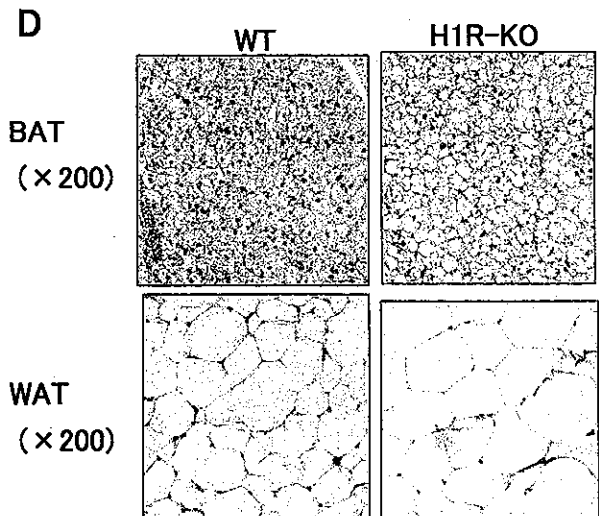
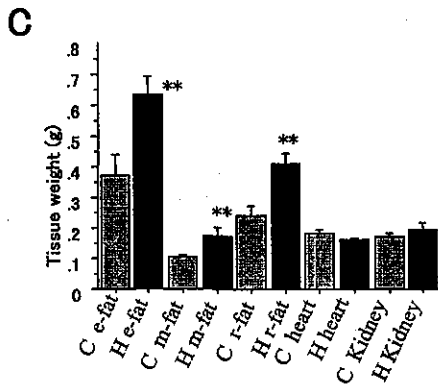
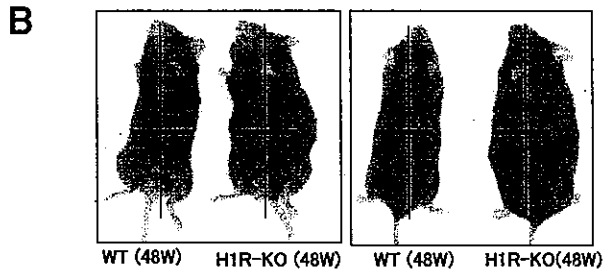
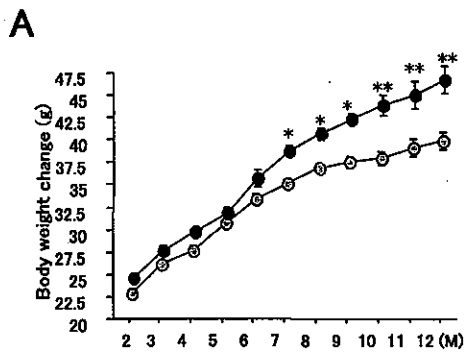


図2 ヒスタミン H1 receptor 欠損マウスは加齢性に肥満になる