

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 14～16 年度

総合研究報告書

主任研究者 芝 崎 保

平成 17 (2005) 年 3 月

目 次

I.	総合研究報告	1
II.	研究成果一覧表	11
	論文発表リスト	13
	学会発表リスト	27
III.	研究者名簿	47

I. 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合研究報告書

中枢性摂食異常症に関する調査研究

主任研究者名	芝崎 保	日本医科大学生理学第二 教授
分担研究者名	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 中枢性摂食異常症の病因、病態に関する因子を解明し、新しい予防法や治療法を開発するため、中枢性摂食調節機構の解明と本症の病態の解明および疫学的調査研究を行った。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、長鎖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され、それらの成果と病態に関する臨床的研究結果から、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た。中枢性摂食異常症の催不整脈性、神経性食欲不振症の後遺症の低身長に関しての調査研究を行った。後者の調査で、BMIが $16\text{kg}/\text{m}^2$ 以下の低体重期間が遷延化すると後遺症として低身長に留まることが明らかになった。本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を明らかにした。20年、10年前に比べ、女子中・高・大学生の痩せ願望、痩せ過ぎ、食行動異常、中枢性摂食異常症が増加していることを疫学調査で明らかにした。

研究目的

我が国の文化、社会構造の変化は中枢性摂食異常症の病像にも深刻な影響を与え、患者数の増加、発症の低年齢化をもたらしており、本症の有効な治療法や予防法の早急な開発が望まれる。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、有効な治療及び予防法を開発することであり、このために分子生物学的、発生工学的研究手法による中枢性摂食調節機構と本症の病因、病態に関する生物学的因子の解明と、本症患者の病像解析のための実態調査を行う。

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。臨床的研究として、神経性食欲不振症の重大な合併症である骨粗鬆症の病態の解析と低身長の実態の解明とそれらの効果的治療法の検討、摂食促進物質であるグレリンの神経性食欲不振症の治療薬としての応用開発を目指して本症の血中グレリンレベルの解析、健常者でのグレリン投与効果の検討を行った。本症の突然死の原因となりうる不整脈や無月経の病態の解析

も行った。さらに、女子中・高・大学生を対象とした疫学調査で、過去 20 年間の身体像、食行動、中枢性摂食異常症の変遷の解析を行った。

(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

芝崎

[グレリン受容体発現抑制ラット] tyrosine hydroxylase の発現部位にグレリン受容体遺伝子のアンチセンスを発現するトランスジェニックラットを作成した。同ラットでは視床下部弓状核でのグレリン受容体発現が抑制されており、その表現型を解析して、同受容体が、成長ホルモンの分泌に関与するのみならず、エネルギー(体脂肪)蓄積機構に促進的に関与することを明らかにした。これらの結果はグレリンが神経性食欲不振症の治療薬になりうる可能性を示唆する。

[神経性食欲不振症(AN)の殆どが女性である機序] 拘束、フットショックによる摂食抑制は雌雄ラット間で差が認められなかつたが、心理ストレスによる摂食抑制は雌ラットで有意に強く認められた。心理ストレスによる摂食抑制は、血中エストロジエン値が高値を示す発情前期雌ラットで最も強く認められ、この抑制は両側卵巢摘除により減弱し、エストラジオールの補充で回復した。これらの結果は心理ストレスがその病態に関与していると考えられているANが女性に多く発症する機序にエストロジエンが関与していることを示唆する。

[AN の病態に関する corticotropin releasing factor (CRF)受容体] CRF1 型受容体と CRF2 型受容体に対する拮抗薬を用いて、ラットのストレスによる摂食抑制には CRF1 型受容体と 2 型受容体が関与していることを明らかにした。ストレス伝達物質である CRF の過剰分泌が存在する AN の病態には両受容体が関与し、これら CRF 受容体拮抗薬が本症の治療薬になり得る可能性が示唆された。

桜井

[視床下部オレキシン神経の調節系及び機能] オレキシン神経に特異的に EGFP を発現するトランスジェニックマウスを作製し、同マウスから単離したオレキシン神経の電気生理学的な検討で、同神経はドーパミン、ノルアドレ

ナリン、セロトニンにより抑制され、アセチルコリンにより活性化されること、同神経はグルコース感受性神経であり、またレプチンやグレリンを感じし、液性情報としてこれらの末梢情報を受けている可能性を明らかにした。オレキシン神経変性マウスでは絶食負荷時の覚醒レベルの上昇が欠落していたことより、オレキシン神経はエネルギー摂取状態に応じ、摂食行動のみならず覚醒レベルの調節にも関与していると考えられた。レプチンによる過分極作用には K-ATP チャンネルの活性化が関与し、その上流には PI3 キナーゼの活性化が関わっていることを明らかにした。破傷風毒素の C 末端部分と GFP の融合蛋白質がオレキシン神経特異的に発現し、融合蛋白質が逆行性にオレキシン神経の入力系神経細胞に取り込まれるトランスジェニックマウスを解析し、オレキシン神経が、前脳基底部のコリン作動性神経による興奮性入力、視索前野からの GABA 作動性の抑制性入力、縫線核のセロトニン神経からの抑制性入力を受けていることを明らかにした。オレキシン神経は摂食調節に関与する視床下部の弓状核、脳幹の孤束核からの入力を受けており、情動・覚醒の制御系と、エネルギー制御系からの調節を受けていることが明らかになった。

小川

[アンジオテンシン II のエネルギー代謝調節作用の分子機構] アンジオテンシン II のエネルギー代謝調節作用の分子機構を明らかにするために、1 型アンジオテンシン受容体欠損マウス(AT1a-KO)を作成し、AT1a-KO マウスと対照マウスに高脂肪食を 8 週間負荷し肥満の誘導を試みた。AT1a-KO マウスでは高脂肪食負荷時に対照マウスと比較し摂食量に差はなかったが、体重と脂肪組織重量の増加の抑制が認められた。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 uncoupling protein (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つたが、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、エネルギー代謝調節機構においてアンジオテンシン II/AT1a がエネルギーを蓄積するように機能していることが明らかになった。

中尾

[レプチンのエネルギー代謝調節作用の分子機構] レプチン過剰発現トランスジェニックマウス(Lep Tg)と脂肪萎縮性糖尿病モデルマウス(A-ZIP Tg)を交配した。得られた Lep Tg/A-ZIP Tg は A-ZIP Tg に比較して耐糖能の改善が認められ、その耐糖能はβ交感神経遮断剤である

プロプラノロールにより悪化したが、 α 交感神経遮断剤であるブナゾシンでは影響されず、レプチンの糖脂質代謝改善作用の少なくとも一部は β 交感神経活動亢進作用を介していることが示唆された。また、A-ZIP Tg では尿中コルチコステロン排出量が多く、両側副腎摘出により耐糖能が改善したので、その病態には糖質コルチコイドが関与していると考えられた。

[長鎖脂肪酸の中樞性摂食抑制機序] 長鎖脂肪酸が中樞性に摂食抑制作用を示す可能性が示唆されており、長鎖脂肪酸の作用機序について検討した。C57BL/6マウス、遺伝的レプチン受容体欠損マウスであるdb/dbマウスの側脳室内への長鎖脂肪酸(オレイン酸)の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シンシグナルが遺伝的に阻害された KKA γ マウス、メラノコルチシン4型受容体アンタゴニストであるSHU9119 を前投与した野生型マウスにおいてもオレイン酸の摂食抑制効果は阻害されず、オレイン酸脳室内投与により POMC 遺伝子発現は変化しなかった。従って、長鎖脂肪酸はレプチン受容体・メラノコルチシン系を介さずに、Stat3 の活性化と摂食抑制効果を示す可能性が示唆された。

児島

[グレリン、ニューロメジンU欠損マウス] 摂食調節に重要な2種類の生理活性ペプチド、グレリン(摂食亢進)とニューロメジン U(摂食抑制)についてその欠損マウスを作成し、表現型を解析した。グレリンの欠損マウスの作成を進め、グレリンのホモ欠損マウスを得た。グレリン欠損マウスの摂食行動、代謝・内分泌機能などは野生型と差がなかった。ニューロメジン U 欠損マウスが肥満になることを明らかにした。欠損マウスでは、摂食量増加、脂肪組織増大、脂肪肝を呈し、運動量減少、代謝活動の低下、低体温などエネルギー代謝が低くなっている、これらの変化が総合的に肥満症の発生機序になると考えられた。摂食亢進性ペプチドの合成・分泌は低下していた。

[グレリン合成への摂取脂肪酸の影響] 脂肪酸の摂取が生体内で内因性の活性型グレリン産生を増加させることを明らかにした。脂肪酸としては炭素数6~10の中鎖脂肪酸が有効で、トリグリセリド体はさらに活性型グレリン産生に有効であった。脂肪酸によるグレリンを介した摂食調節機序が示唆された。

吉松

[神経ヒスタミンとアデイポネクチンの抗肥満作用] 神経性食欲不振症では、視床下部に存在する神経ヒスタミンや脂肪組織から分泌されるアデイポネクチンが変動して

いる。そこでヒスタミンとアデイポネクチンのエネルギー代謝調節作用を肥満モデル動物を用いて解析した。1) ヒスタミンを Ay/a obese mice に慢性中枢性投与した結果、摂食抑制、体重増加抑制、内臓脂肪の有意な低下を認めた。また褐色脂肪組織 UCP1 発現の有意な上昇を認めた。2) アデイポネクチンを Ay/a obese mice に慢性末梢性投与した結果、摂食量に変化はなかったが、体重増加の抑制、内臓脂肪の有意な低下、褐色脂肪組織 UCP1 の発現上昇、直腸温の有意な上昇を認めた。上記効果はアデイポネクチンの中樞性投与では認められなかった。以上よりヒスタミンは中樞性に摂食行動とエネルギー消費系を、アデイポネクチンは末梢性にエネルギー消費系を調節することで脂肪蓄積を制御していることが明らかになった。

[視床下部神経ヒスタミンとオレキシンの機能連関] 視床下部神経ヒスタミンは飢餓などエネルギー欠乏状態で活性化され、神経性食欲不振症患者の脳脊髄液中でも、ヒスタミン量が増加している。エネルギー欠乏状態が神経ヒスタミンを活性化する機序を明らかにする目的で、低血糖などによって駆動されるオレキシン神経系との機能連関について解析した。1) 神経ヒスタミンは、オレキシン 2 型受容体を介して、主にオレキシン B によって活性化される。2) オレキシン神経変性マウスでは神経ヒスタミンの代謝回転の基礎値が低下し、24 時間絶食による神経ヒスタミンの代謝回転增加反応が有意に減弱している。3) 褐色脂肪組織交感神経活動に対して、オレキシン A は抑制性に、オレキシン B は促進性に作用し、神経ヒスタミンはオレキシン B の介在物質として機能していることが明らかになった。以上より、飢餓状態などエネルギー欠乏下ではオレキシン-神経ヒスタミン系の神経ネットワークが駆動され、摂食行動、体重、体温、覚醒レベルなどに影響することが示唆された。

[摂食障害における睡眠・覚醒異常と神経ヒスタミン] 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 H₁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伴い正常ラットの活動性が著明に亢進するが、H1KO マウスではこの反応が減弱する。2) H1KO マウスは加齢に伴い肥満となり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。

久保木

[摂食関連ペプチドの認知機能への影響] 摂食行動調節に関係している多くの視床下部性ペプチドが摂食行動の認知的側面にも関係している可能性が考えられる。そこでメラニン凝集ホルモン(MCH)をラット側脳室内投与し、記憶・学習に対する影響を恐怖条件づけ法にて測定した。MCHの投与により移動活動量が低下し反応潜時が延長したことから、強い運動抑制作用と、不安誘発作用を有すると考えられた。また、恐怖条件づけ法において実験場面に対する freezing 反応が低下していたことから海馬由来の記憶を障害する作用が考えられた。MCHを投与した際、自発運動や記憶・学習など高次脳機能への影響が見られ、過食状態における心理状態との関連も考えられた。

[摂食障害患者における催不整脈性] 摂食障害患者、特に神経性食欲不振症(AN)の突然死の原因として不整脈が考えられている。摂食障害患者の催不整脈性を評価するため、加算平均心電図を用いた遅延電位の測定と、10分間の心電図データを用いた QT 間隔変異性の測定を行った。AN (n=27)では健常者と比較して遅延電位陽性の割合 (56%) が有意に多く、神経性大食症患者(BN)のなかでも AN 歴のあるもの (n=16) で遅延電位陽性が有意に多くみられた。また、AN 患者(n=23)、BN 患者(n=28)の両群で QT 間隔変異性が増大していた。AN 患者には不整脈基質があると考えられ、さらにこれまで危険群として考えられていなかった BN 患者においても不整脈基質が存在している可能性が考えられた。

鈴木

[神経性食欲不振症(AN)患者における血漿グレリン値とその動態] AN30名(全例女性)と健常女性16名を対象とし、血漿グレリンとその代謝産物の基礎値および糖負荷による変化を検討した。本症患者の血漿インタクトグレリン値は健常人と比較し低値～同等であった。脱アシル化グレリン、N端フラグメントやC端フラグメント等の代謝産物は健常人より有意に高く、body mass index (BMI)と負の相関を認めた。本症患者ではグレリンの分泌は低下ないし正常で、グレリン代謝産物の腎排泄が遅延していると推測された。血漿インタクトグレリンは糖負荷によって健常人と同様に迅速に抑制され、糖代謝による分泌調節は温存されていた。

[AN 患者における低身長の実態と予防] AN の発症年齢の低年齢化および罹病の遷延化により低身長が後遺症になり患者の QOL に影響を及ぼすため、その実態と危険因子を検討した。14 歳未満で発病して 18 歳までに治癒した患者について検討し、推定最終身長の-0.5SD より高かった正常身長群(156.0 ± 1.9 cm)と低身長群間(151.6 ± 2.1 cm)には、発病年齢や初潮年齢、発病時の身長と体重、罹病期間の最低体重、最終体重に有意差はなかったが、BMI が 16 kg/m^2 以下の平均低体重期間は低身長群(24.9 ヶ月、正常身長群:9.8 ヶ月)で有意に長かった。低身長の危険因子は、成長因子の血清 insulin-like growth factor (IGF)-I が低下をきたす BMI が 16 kg/m^2 以下の低体重期間であり、この期間の 1 年以内への短縮が予防になり得ることが明らかになった。

[AN 患者における骨粗鬆症の予防と治療の開発] 本症の骨粗鬆症には骨形成因子の血清 IGF-I と骨吸収抑制因子の血清エストラジオールの低下が関与している。骨粗鬆症の危険因子は骨代謝異常をきたす BMI が 16 kg/m^2 以下の低体重期間であり、BMI が $16.4 \pm 0.3 \text{ kg/m}^2$ 以上で更なる骨密度の低下を阻止でき、最も有効な予防・治療は体重増加であることを明らかにしている。しかし本症患者は体重増加を受け入れ難く骨密度の更なる減少を阻止する治療法の確立が必要であるため、ビタミン K2 や活性型ビタミン D3 服用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。BMI が 16 kg/m^2 以下の低体重の AN 患者において、対照群(乳酸 Ca 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 Ca +メナテレノン 30~45mg/日)、活性型ビタミン D3 群(乳酸 Ca +活性型ビタミン D 3 0.5 $\mu\text{g}/\text{日}$)、併用群(乳酸 Ca +メナテレノン+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% であり正に転じた。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。

中井

[中学生、高校生、大学生の身体像と食行動および摂食障害の過去 20 年間の変遷] 京都府下の中学生、高校生、大学生を対象に、1982 年、1992 年、2002 年の 3 回にわたって身体的背景、体重や体型に関する自己意識、食行動の実態を調査した。さらに、その結果から神経性食欲不振症(AN)、神経性大食症(BN)および特定不能の摂食障害(EDNOS)の頻度を推定した。現在、女子中・高・大学生の 1/3~1/2 に食行動の異常が見られる。痩せ過ぎでかつ痩せ志向の人の頻度が、20 年間で約 4 倍に著増していた。摂食障害の推定頻度は 2002 年までの 20 年間で著増し、2002 年に女子中学生で AN は 0.5%、

BN は 0.3%、EDNOS は 17.1%、女子高校生で AN は 0.2%、BN は 2.2%、EDNOS は 9.1%、男子高校生で AN は 0%、BN は 0.3%、EDNOS は 3.2%、女子大学生で AN は 0.3%、BN は 1.9%、EDNOS は 10.5% と推定された。女子中・高・大学生の 200~600 人に 1 人が AN、50~350 人に 1 人が BN と推定される。

[AN の死因と心機能] 心臓死は AN の死因中最も頻度が高い。そこで、AN 患者と健常瘦せ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。心室細動基質について AN 群は健常群に比し QT 時間は有意に長かった。一方、心室性不整脈については、心室性期外収縮の頻度は AN 群と健常群で有意の差はなかった。心自律神経機能を検討したところ、副交感神経機能の指標とされる HF と交感神経機能の指標とされる LF/HF はいずれも AN 群と健常群で有意差がなかった。しかし、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 HF が負の相関、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 時間が延長し、これが心臓死につながると思われる。

寒川

[グレリンによる治療法の開発のための準備] グレリンの食欲亢進作用を利用して食欲不振患者に対する治療薬としての臨床応用を図っている。平成 15 年度のグレリンの安全性を確認する臨床第 1 相試験では、18 人の健常人ボランティアに対してグレリンまたはプラセボを投与するランダム化二重盲検試験を施行し、グレリンの種々ホルモンや空腹度への影響を検討した。その結果、グレリンの空腹効果と安全性が確認された。次いで、平成 16 年度は、臨床第 II 相試験「食欲不振患者への投与試験」の臨床試験を開始し、現在進行中である。今後症例を積み重ねて行き、近い将来に神経性食欲不振症を対象とした臨床試験を予定している。

久保

[神経性食欲不振症患者(AN)における成長ホルモン(GH)分泌とグレリンとの関連] 女性 AN 患者 20 名(制限型 11 名、むちや食い/排出型 9 名)の低体重時および体重増加後の血中 GH、IGF-1、ACTH、コルチゾールおよび活性型グレリンを測定した結果、GH 分泌に最も独立して影響を与える因子はグレリンであり、AN の低体重で上昇したグレリンは GH 分泌に寄与した可能性が推測される。GH とグレリンの相関は制限型で強く、むちや食い/排出型

で見られず、過食嘔吐がグレリン分泌に影響を与える可能性が示唆された。

[AN における月経の再開に関する因子] AN 患者の月経再開群(9 名)と無月経遷延群(13 名)を対象にレプチン等のホルモンを比較検討した。月経再開群の月経再開時レプチンと TSH は無月経群に比べて各々有意に高値および低値であった。無月経群の入院時コルチゾールは月経再開群より有意に高値であった。ロジスティック回帰分析で月経再開に最も有意に関連した因子は月経再開時のレプチンであり、AN の月経再開にはレプチンの関与の可能性が示唆された。

[AN 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-治療前後の検討] 経鼻経管栄養下のグレリン動態を理解するため、女性 AN 患者に治療前後で経口糖負荷試験(50 g OGTT)及び経鼻経管糖負荷試験(50 g NGTT)を行った。治療前 AN 群では OGTT と NGTT によるグレリンの 0~60 分間の低下に差はなかった。AN 治療前後での比較では、OGTT ではグレリンの変化には差はなかったが、NGTT でのグレリンの 0~60 分間の低下は治療後で治療前より有意に大きかった。経鼻経管栄養で有意なグレリンの低下がみられたことから、胃を介さないグレリン分泌の機序の存在が考えられた。

野添

[摂食障害とグレリンとの関連の解析] 摂食障害患者における血漿グレリンと栄養状態、食行動との関連について検討した。血漿グレリンは BMI、体脂肪、血清コリンエステラーゼと有意な負の相関を示し、過食嘔吐の指標とされる血清アミラーゼと有意な正の相関を示した。神経性大食症排出型の平均グレリン値は神経性大食症非排出型や対照群に対し有意な高値を示し、習慣性の過食嘔吐行動を認める神経性食欲不振症むちや食い/排出型(AN-BP)でもグレリン値は高かった。また 75gOGTT、テストミールによる食事負荷時のグレリンの反応様式は神経性食欲不振症制限型(AN-R)と AN-BP 群で異なっていた。AN 患者の食行動はグレリンやインスリン分泌に影響を与えている可能性が示唆された。

[AN の骨密度低下に対する治療の試み] AN 患者の骨量低下に対し薬物治療を試み、有効性を検討した。対象は外来で骨量低下を指摘された AN-R41 名で、ビスフォスフォネート(Etidronate)群、Ca+VitD 群、プラセボ群の 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プラセボ群では 3 ヶ月後 SOS は低下していたが(-0.02%)、ビス

フォスフォネート群(+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%)、プロセボ群(+0.43%)に対しビスフォスフォネート群で有意に低下(-54.9%)しており改善効果を認め、AN 患者の骨量低下に対し治療の有用性が示された。

考察

1) 達成度について

[中枢性摂食調節機構及び中枢性摂食異常症の病因・病態に関する基礎的研究]

この3年間各分担研究者が掲げてきた研究目標はほぼ達成されたと考えられる。摂食調節ペプチド及びそれらのレセプターの中枢性摂食調節機構における機能に関する研究は、ペプチド及びレセプターの遺伝子改変動物等を用いた研究により大きく展開した。中枢性摂食異常症の病態とグレリン、corticotropin releasing factor(CRF)、ヒスタミン、オレキシン、レプチン、ニューロメジン U、アンジオテンシン II 等の関連が検討された。集積した知見からグレリンが神経性食欲不振症の治療薬の一候補になり得るという可能性が示されたことは、中枢性摂食異常症の病因病態に関する生物学的因子の解明から本症の新しい治療法の開発を目指すという本研究班の目的に一步近づくものであり、評価に値すると考えられる。

[中枢性摂食異常症の病因・病態に関する調査及び臨床的研究]

神経性食欲不振症の合併症である催不整脈性、本症発症の低年齢化に伴う合併症であり後遺症でもある低身長の実態の解析ができた。さらに本症の重大な合併症である骨粗鬆症のより良い治療法の確立を目的に、活性型ビタミン D3、ビタミン K2、両者の併用、ビスフォスフォネート投与を試み、それぞれが非投与群に比べ骨密度の低下を阻止し得ることを明らかにした。女子中・高・大学生を対象とした身体的背景、体重や体型に関する自己意識、食行動の実態調査も行われた。この解析により痩せ志向、痩せ過ぎ、食行動異常、中枢性摂食異常症患者が増加の一途を辿っている実態が明らかにされた。研究計画はほぼ達成された。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

[中枢性摂食調節機構の解明]

本調査研究班の分担研究者らにより複数の摂食調節ペプチドが発見されていることから、中枢性摂食調節機構解明の基盤研究は、学術的にも優れ、国際的にも最先端を行く研究成果が得られていると理解している。分担研究者らの研究成果により、末梢からの情報が視床下部に作

用して食欲、摂食行動が規定される機構の解明が大きく進展した。

[神経性食欲不振症の病態に関する研究]

基礎的研究では、CRF、ヒスタミン、オレキシン、レプチン、ニューロメジン U、グレリン等との関連が検討された。臨床的研究では、まず発症の低年齢化に伴った合併症であり後遺症の1つでもある低身長の病態を解析し、正常身長群に比べ低身長群は BMI が $16\text{kg}/\text{m}^2$ 以下の低体重期間が有意に長かったという実態を明らかにすることができた。この具体的な数値は、本後遺症を防止する上で治療指針としても有用なものになると評価できる。さらに、疫学調査で明らかにされた、痩せ過ぎ、痩せ願望、食行動異常が女子中・高・大学生で 20 年、10 年前に比べ増加しているという実態は、今後の啓蒙・教育活動に用いられるべき情報であり、社会的意義のある調査結果である。中枢性摂食異常症の心臓死の危険性に関しての解析も行った。

[治療法の開発]

神経性食欲不振症の重大な合併症である骨粗鬆症のより良い治療法の確立を目指し、活性型ビタミン D3、ビタミン K2、両者の併用、ビスフォスフォネート服用が試みられ、それぞれが非投与群に比べ骨密度の低下を阻止し得ることを明らかにした。中枢性摂食調節物質の機能解析の基盤研究の成果として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、臨床試験が開始されている。これらは治療法の開発に繋がる成果であり、社会的意義があると考えられる。

3) 今後の展望について

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、臨床試験が行われている。数年内には、慎重に選ばれ、臨床試験の意義に同意された症例にグレリンの臨床試験が試みられる可能性が高いと考えられる。本症の重大な合併症かつ後遺症でもある骨粗鬆症のより有効的治療法を開発するために、エストロジェンとビタミン K2 等との組み合わせ投与が予定されている。今後の中枢性摂食調節機構解明のための基盤的研究の成果から、グレリンに次ぐ新しい治療薬の開発が生まれる可能性はあると考えられる。

4) 研究内容の効率性について

本調査研究班は基礎的研究の分担研究者と臨床的研究の分担研究者のバランスが取れており、両研究は効率よく進行したと考えられる。

結論

本調査研究班の3年間の主な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、ニューロメシジン U、CRF、レプチニン、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を明らかにした。④発症の低年齢化に伴って、BMI が $16\text{kg}/\text{m}^2$ 以下の低体重期間が遷延化すると後遺症として低身長に留まることを明らかにした。⑤20 年、10 年前に比べ、女子中・高・大学生の痩せ過ぎ、痩せ願望、食行動異常、中枢性摂食異常症が増加していることを疫学調査で明らかにした。この3年間の研究計画はほぼ遂行された。

研究発表

以下は主なものに限り、詳細は次章の研究成果一覧表に掲載した。

1) 国内

学会発表	248 件
論文発表	40 件
それ以外(著書など)	24 件

そのうち主なもの

論文発表

- 安原大輔、鷺山健一郎、筒井順子、建部佳記、長井信篤、成尾鉄朗、野添新一 神経性食欲不振症患者における入院適応を規定するための重症度スコア作成の試み 心身医学 42、653-660. 2002
- 中井義勝、佐藤益子、田村和子、杉浦まり子、林純子 中学生、高校生、大学生を対象とした身体像と食行動および摂食障害の実態調査 精神医学 46(12)、1269-1273. 2004

学会発表

- 桜井武 「摂食行動の制御におけるオレキシンの役割」 第23回日本肥満学会 2002 京都
- 堀田真理 神経性食欲不振症の病態と治療 第 36 回日本小児内分泌学会 ランチョンセミナー 2002 広島
- 芝崎保、大畠久幸、関野あづさ、眞野あすか、根本崇宏 CRF ファミリーペプチドから見た中枢性摂食異

常症の神経内分泌学的病態 シンポジウム「間脳下垂体機能異常症」 第31回日本神経内分泌学会 2004 弘前

- 赤水尚史、五十子大雅、細田洋司、高屋和彦、寒川賢治 グレリンの臨床応用 第 77 回日本内分泌学会学術総会 2004 京都

2) 海外

学会発表	72 件
論文発表	176 件
それ以外(著書など)	2 件

そのうち主なもの

論文発表

- Shuto Y, Shibasaki T, Otagiri A, Kuriyama H, Ohata H, Tamura H, Kamegai J, Sugihara H, Oikawa S, Wakabayashi I Hypothalamic growth hormone secretagogue receptor regulates growth hormone secretion, feeding, and adiposity. *J Clin Invest* 109, 1429-1436. 2002
- Kuriyama H, Shibasaki T Sexual differentiation of the effects of emotional stress on food intake in rats. *Neuroscience* 124(2), 459-465. 2004
- Sekino A, Ohata H, Mano-Otagiri A, Arai K, Shibasaki T. Both corticotropin-releasing factor receptor type 1 and type 2 are involved in stress-induced inhibition of food intake in rats. *Psychopharmacology* 176(1), 30-38. 2004
- Sakurai T Orexin-mediated feeding behavior involves both leptin-sensitive and -insensitive pathways. *Physiol Behav.* 77(2-3), 251-257. 2002
- Yamanaka A, Beuckmann CT, Willie JT, Hara J, Tsujino N, Mieda M, Tominaga M, Yagami K, Sugiyama F, Goto K, Yanagisawa M, and Sakurai T Hypothalamic orexin neurons regulate arousal according to energy balance in mice. *Neuron* 38, 701-713. 2003
- Takimoto Y, Yoshiuchi K, Kumano H, Yamanaka G, Sasaki T, Suematsu H, Nagakawa Y, Kuboki T. QT interval and QT dispersion in eating disorders. *Psychother Psychosom.* 73(5), 324-328. 2004
- Hotta M, Ohwada R, Katakami H, Shibasaki T,

- Hizuka N, Takano K Plasma levels of intact and degraded ghrelin and their responses to glucose infusion in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 89(11), 5707–5712. 2004
8. Nakagawa T, Ogawa Y, Ebihara K, Yamanaka M, Tsuchida A, Taiji M, Noguchi H, Nakao K Anti-obesity and anti-diabetic effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent models of leptin resistance. *Int. J. Obes.* 27, 557–565. 2003
9. Ogawa Y, Masuzaki H, Ebihara K, Shintani M, Aizawa-Abe M, Miyanaga F, Nakao K Pathophysiological role of leptin in lifestyle-related diseases: studies with transgenic skinny mice overexpressing leptin. *J. Diabetes Complications* 16, 119–122. 2002
10. Ariyasu H, Takaya K, Hosoda H, Iwakura H, Ebihara K, Mori K, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K Delayed short-term secretory regulation of ghrelin in obese animals: Evidenced by a specific radioimmunoassay for active form of ghrelin. *Endocrinology* 143, 3341–3350. 2002
11. Nakai Y, Hosoda H, Nin K, Ooya C, Hayashi H, Akamizu T, Kangawa K Short-term secretory regulation of active form of ghrelin and total ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 150(6), 913–914. 2004
12. Toshinai K, Date Y, Murakami N, Shimada M, Mondal MS, Shimbara T, Guan JL, Wang QP, Funahashi H, Sakurai T, Shioda S, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway. *Endocrinology* 144, 1506–1512. 2003
13. Akamizu T, Takaya K, Irako T, Hosoda H, Teramukai S, Matsuyama A, Tada H, Miura H, Shimizu A, Fukushima M, Yokode M, Tanaka K, Kangawa K Pharmacokinetics, safety, and endocrine and appetite effects of ghrelin administration in young healthy subjects. *Eur J Endocrinol.* 150, 447–455. 2004
14. Takii M, Uchigata Y, Nozaki T, Nishikata H, Kawai K, Komaki G, Iwamoto Y, Kubo C Classification of type 1 diabetic females with bulimia nervosa into subgroups according to purging behavior. *Diabetes Care* 25, 1571–1575. 2002
15. Murakami N, Hayashida T, Kuroiwa T, Nakahara K, Ida T, Mondal MS, Nakazato M, Kojima M, Kangawa K Role for central ghrelin in food intake and secretion profile of stomach ghrelin in rats. *J Endocrinol* 174, 283–8. 2002
16. 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(10), 1067–73. 2004
17. Nakahara K, Kojima M, Hanada R, Egi Y, Ida T, Miyazato M, Kangawa K, Murakami N. Neuromedin U is involved in nociceptive reflexes and adaptation to environmental stimuli in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 323(2), 615–20. 2004
18. Tuda K, Yoshimatsu H, Nijima A, Chiba S, Sakata T Hypothalamic histamine neurons activate lipolysis in rat adipose tissue *Exp. Biol. Med.* 227, 208–213. 2002
19. Masaki T, Chiba S, Yoshimichi G, Yasuda T, Noguchi H, Kakuma T, Sakata T, Yoshimatsu H Neuronal histamine regulates food intake, adiposity and uncoupling protein expression in agouti yellow (Ay/a) obese mice. *Endocrinology* 144, 2741–2748. 2003
20. Yasuda T, Masaki T, Sakata T, Yoshimatsu H Hypothalamic neuronal histamine regulates sympathetic nerve activity and expression of uncoupling protein 1 mRNA In brown adipose tissue in rats. *Neuroscience*. 125, 535–540. 2004
21. Tanaka M, Naruo T, Yasuhara D, Tatebe Y, Nagai N, Shiyya T, Nakazato M, Matsukura S, Nozoe S. Fasting plasma ghrelin levels in subtypes of anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology* 28(7), 829–835. 2003

学会発表

- Sakurai T, Hara J, Watanabe D, Yanagisawa M Generation of orexin-A deficient mice. APSS 16th Annual Meeting 2002 Seattle, WA, USA

2. Hotta M, Ohwada R The critical duration of low body weight for short stature in early adolescence-onset anorexia nervosa patients. 12th International Conference on Eating Disorders 2004 Orlando FL USA
3. Hotta M, Ohwada R, Katakami H, Shibasaki T, Hizuka N, Takano K. Evaluation of plasma levels of intact ghrelin and its degraded forms in anorexia nervosa patients. 85th Annual Meeting of The Endocrine Society 2004 New Orleans USA
4. Nakai Y Epidemiology of eating disorders in Kyoto, Japan: Studies in 1982, 1992 and 2002. European Council of Eating Disorders Meeting 2003 Budapest Hungary
5. Nakai Y Outcome and prognostic factors of eating disorders in Japan. 2004 International Conference on Eating Disorders 2004 Orlando FL USA
6. Nakai Y Predictors of mortality for eating disorders in Japan. Eating Disorders Research Society 2004 Amsterdam The Netherlands
7. Kangawa K Novel peptide discovery. 12th International Congress of Endocrinology. 2004 Lisbon Portugal
8. Hanada R, Teranishi H, Ueta Y, Kangawa K, Kojima M Neuromedin U is required for the regulation of energy homeostasis independent of the leptin action. 12th International congress of Endocrinology, 2004 Lisbon Portugal
9. Nagai N, Naruo T, Tatebe Y, Yasuhara D, Kojima S, Sagiya K, Nakahara T, Nakamura T, Muranaga T, Masuda A, Sato M, Tominaga S Prognosis of the patients with eating disorders after the inpatient treatment program with behavioral therapy. The World Congress of Behavioral and Cognitive Therapies 2004 Kobe

知的所有権の出願・取得状況

1)特許取得

グレリンの生理学的機能のレギュレーター 平成16年
6月 特許申請 (児島将康)

2)実用新案登録

なし

3)その他

なし

II. 研究成果一覽表

論文発表リスト

平成14～16年度の本研究事業に当たり発表された研究業績を示す。

1. Shuto Y, Shibasaki T, Otagiri A, Kuriyama H, Ohata H, Tamura H, Kamegai J, Sugihara H, Oikawa S, Wakabayashi I Hypothalamic growth hormone secretagogue receptor regulates growth hormone secretion, feeding, and adiposity. *J Clin Invest* 109 1429–1436 2002
2. Ohata H, Arai K, Shibasaki T Effect of chronic administration of a CRF1 receptor antagonist, CRA1000, on locomotor activity and endocrine response to stress. *Eur J Pharmacol* 457 201–206 2002
3. Samarghandian S, Yamauchi N, Ohata H, Shibasaki T Corticotropin-releasing factor as well as opioid and dopamine are involved in tail pinch-induced food intake of rats. *Neuroscience* 116 519–524 2002
4. Ohata, H., Shibasaki, T. The CRF peptide family in appetite regulation and energy balance. *Curr. Med. Chem.* 3 243–255 2003
5. Arai, K., Soga, T., Ohata, H., Otagiri, A., Shibasaki, T. Effects of food restriction on peroxisome proliferators activated receptor- γ and glucocorticoid receptor signaling in adipose tissues of normal rats. *Metabolism* 53 28–36 2004
6. Kuriyama, H., Shibasaki, T. Sexual differentiation of the effects of emotional stress on food intake in rats. *Neuroscience* 124(2) 459–465 2004
7. Ohata H, Shibasaki T. Effects of urocortin 2 and 3 on motor activity and food intake in rats. *Peptides* 25(10) 1703–9 2004
8. Sekino A, Ohata H, Mano-Otagiri A, Arai K, Shibasaki T. Both corticotropin-releasing factor receptor type 1 and type 2 are involved in stress-induced inhibition of food intake in rats. *Psychopharmacology* 176(1) 30–8 2004
9. Sakurai T. Orexins activate histaminergic neurons via the orexin 2 receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 290(4) 1237–1245. 2002
10. Sakurai T. Involvement of the serotonergic system in orexin-induced behavioral alterations in rats. *Regul Pept.* 104(1–3) 119–123 2002
11. Sakurai T. Effects of orexin on cultured porcine adrenal medullary and cortex cells. *Regul Pept.* 104(1–3) 125–130 2002
12. Sakurai T. Plasma orexin-A is lower in patients with narcolepsy. *Neurosci Lett.* 318(2) 61–64 2002
13. Sakurai T. The human prepro-orexin gene regulatory region that activates gene expression in the lateral region and represses it in the medial regions of the hypothalamus. *J Biol Chem.* 277(19) 16985–16992 2002
14. Sakurai T. Roles of orexins in regulation of feeding and wakefulness. *Neuroreport.* 13(8) 987–995 2002
15. Sakurai T. Activation of orexin neurones after noxious but not conditioned fear stimuli in rats. *Neuroreport.* 13(10) 1351–1353 2002
16. Sakurai T. Orexin-mediated feeding behavior involves both leptin-sensitive and -insensitive pathways. *Physiol Behav.* 77(2–3) 251–257 2002
17. Sakurai T. Hypocretin/Orexin Excites Hypocretin Neurons via a Local Glutamate Neuron-A Potential Mechanism for Orchestrating the Hypothalamic Arousal System. *Neuron.* 36(6) 1169–1181 2002

18. Sakurai T. Reciprocal synaptic relationships between orexin- and melanin-concentrating hormone-containing neurons in the rat lateral hypothalamus: a novel circuit implicated in feeding regulation Internat. J. Obesity 26 1523–1532 2002
19. Yamanaka A, Muraki Y, Tsujino N, Goto K, Sakurai T Regulation of orexin neurons by the monoaminergic and cholinergic systems. Biochem Biophys Res Commun 303(1) 120–129 2003
20. Toshinai K, Date Y, Murakami N, Shimada M, Mondal MS, Shimbara T, Guan JL, Wang QP induced, Funahashi H, Sakurai T, Shioda S, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway. Endocrinology 144(4) 1506–1512 2003
21. Tanaka H, Yoshida T, Miyamoto N, Motoike T, Kurosu H, Shibata K, Yamanaka A, Williams SC, Richardson JA, Tsujino N, Garry MG, Lerner MR, King DS, O'Dowd BF, Sakurai T, Yanagisawa M. Characterization of a family of endogenous neuropeptide ligands for the G protein-coupled receptors GPR7 and GPR8. Proc Natl Acad Sci U S A 100(10) 6251–6256 2003
22. Zyu Y, Miwa Y, Yamanaka A, Yada T, Shibahara M, Abe Y, Sakurai T, and Goto K. Orexin receptor type-1 couples exclusively to pertussis toxin insensitive G-proteins, while orexin receptor type-2 couples to both pertussis toxin-sensitive and -insensitive G-proteins. J. Pharmacol. Sci. 92 259–266 2003
23. Yamanaka A, Beuckmann CT, Willie JT, Hara J, Tsujino N, Mieda M, Tominaga M, Yagami K, Sugiyama F, Goto K, Yanagisawa M, and Sakurai T. Hypothalamic orexin neurons regulate arousal according to energy balance in mice. Neuron 38 701–713 2003
24. Sakurai, T, V. Orexin receptors. Part II, Björklund, A, Hokfelt, T (eds), Handbook of Chemical Neuroanatomy Vol.20 Peptide Receptors, Elsevier, Amsterdam, Netherlands 2003 245–320
25. Yanagita M, Oka M, Watabe T, Iguchi H, Niida A, Takahashi S, Akiyama T, Miyazono K, Yanagisawa M, Sakurai T. USAG-1: a bone morphogenetic protein antagonist abundantly expressed in the kidney. Biochem Biophys Res Commun. 316(2) 490–500. 2004
26. 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. 101 4649–4654. 2004
27. 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. 19(6) 1524–34. 2004
28. 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. 24(18) 4469–77. 2004
29. Mochizuki T, Crocker A, McCormack S, Yanagisawa M, Sakurai T, Scammell TE. Behavioral state instability in orexin knock-out mice. J Neurosci. 24(28) 6291–300. 2004
30. Thompson MD, Comings DE, Abu-Ghazalah R, Jeresee 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. 129B(1) 69–75. 2004
31. 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. 24(32) 7159–66. 2004
32. 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.

33. 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.* 20(11) 3054–62. 2004
34. Winsky-Sommerer R, Yamanaka A, Diano S, Borok E, Roberts AJ, Sakurai T, Kilduff TS, Horvath TL, de Lecea L. Interaction between the Corticotropin-Releasing Factor System and Hypocretins (Orexins): A Novel Circuit Mediating Stress Response. *J Neurosci.* 24(50) 11439–11448. 2004
35. Miyasaka, N., Yoshiuchi, K., Yamanaka, G., Sasaki, T., Kumano, H. and Kuboki, T. Relations among premorbid weight, referral weight, and psychological test scores for patients with anorexia nervosa. *Psychological Report* 92 67–74 2003
36. Takimoto Y, Inui A, Kumano H, Kuboki T Orexigenic/anorexigenic signals in bulimia nervosa. *Curr Mol Med.* 3(4) 349–360 2003
37. Takimoto Y, Yoshiuchi K, Kumano H, Yamanaka G, Sasaki T, Suematsu H, Nagakawa Y, Kuboki T. QT interval and QT dispersion in eating disorders. *Psychother Psychosom.* 73(5) 324–8. 2004
38. Mari Hotta et al. A young female patient with anorexia nervosa complicated by mycobacterium szulgai pulmonary infection. *Int J Eat Disord.* 35 115–119 2004
39. Mari Hotta, et al. Two young female patients with anorexia nervosa complicated by Mycobacterium tuberculosis infection. *Intern Med* 43(5) 440–444 2004
40. Mari Hotta, et al. Plasma levels of intact and degraded ghrelin and their responses to glucose infusion in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 89(11) 5707–5712 2004
41. 地曳和子他 高感度エストラジオール測定キットを用いた神経性食欲不振症における性腺機能の検討 *臨床病理* 50 824–829 2002
42. 堀田眞理 栄養と成長ホルモン/インスリン様成長因子 内分泌・糖尿病科 15(suppl.1) 144–151 2002
43. 堀田眞理他 神経性食欲不振症の骨代謝 内分泌・糖尿病科 14 599–607 2002
44. 堀田眞理他 神経性食欲不振症における骨粗鬆症の病態と治療 東京女子医科大学雑誌 72 1月 11日 2002
45. 堀田眞理 神経性食欲不振症、過食症 對馬敏夫 内分泌・代謝疾患の治療と看護 南江堂 東京 2002 243–256
46. 堀田眞理 回復期の過食と抑うつに SSRI が効果を示した神経性食欲不振症の1症例 久保木富房 症例に学ぶ 身体疾患と不安・抑うつ ヴァン メディカル 東京 2002 76–83
47. 堀田眞理 神経性食欲不振症、過食症 對馬敏夫、他 内分泌・代謝疾患の治療と看護 南江堂 東京都 2002 年 243–256
48. 堀田眞理 神経性食欲不振症 日本小児東洋医学会誌 19 61–68 2003
49. 堀田眞理 ストレスと神経性食欲不振症 Clinical Neuroscience 21 1053–1055 2003
50. 堀田眞理 神経性食欲不振症 日本小児東洋医学会誌 19(1) 61–68 2004
51. 堀田眞理 神経性食欲不振症 思春期学 22(1) 5–12 2004
52. 堀田眞理、他. 神経性食欲不振症の身体的合併症と後遺症 日本心療内科学会誌 8(3) 163–168 2004
53. 堀田眞理 摂食障害患者の身体的問題 精神科エゾンガイドライン 神経科治療学 19 295–301 2004
54. 鈴木(堀田)眞理 特集:摂食障害の臨床—プライマリケアにおける摂食障害の診断と治療 ストレスと臨床 21 2004

55. Miyanaga F, Ogawa Y, Ebihara K, Hidaka S, Tanaka T, Hayashi S, Masuzaki H, Nakao K Leptin as an adjunct of insulin therapy in insulin-dependent diabetes. *Diabetologia* 46 1329–1337 2003
56. Satoh N, Ogawa Y, Usui T, Tagami T, Kohno S, Uesugi H, Sugiyama H, Sugawara A, Yamada K, Shimatsu A, Kuzuya H, Nakao K Antiatherogenic effect of pioglitazone in type 2 diabetic patients irrespective of the responsiveness to its antidiabetic effect. *Diabetes Care* 26 2493–2499 2003
57. Yamahara K, Itoh H, Chun T-H, Ogawa Y, Yamashita J, Sawada N, Fukunaga Y, Sone M, Yurugi-Kobayashi T, Miyashita K, Tsujimoto H, Kook H, Feil R, Garbers DL, Hofmann F, Nakao K Significance and therapeutic potential of the natriuretic peptides/cGMP/cGMP-dependent protein kinase pathway in vascular regeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100 3404–3409 2003
58. Nakagawa T, Ogawa Y, Ebihara K, Yamanaka M, Tsuchida A, Taiji M, Noguchi H, Nakao K Anti-obesity and anti-diabetic effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent models of leptin resistance. *Int. J. Obes.* 27 557–565 2003
59. F. Elefteriou, S. Takeda, K. Ebihara, J. Magre, N. Patano, C. Ae Kim, Y. Ogawa, X. Liu, S. M. Ware, W. J. Craigen, J. J. Robert, C. Vinson, K. Nakao, J. Capeau, and G. Karsenty Serum leptin level is a regulator of bone mass. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 3258–3263 2004
60. Takahashi-Yasuno, H. Masuzaki, T. Miyawaki, N. Matsuoka, Y. Ogawa, T. Hayashi, K. Hosoda, Y. Yoshimasa, G. Inoue, and K. Nakao. Association of Ob-R gene polymorphism and insulin resistance in Japanese men. *Metabolism* 53 650–654 2004
61. K. Ebihara, T. Kusakabe, H. Masuzaki, N. Kobayashi, T. Tanaka, H. Chusho, F. Miyanaga, T. Miyazawa, T. Hayashi, K. Hosoda, Y. Ogawa, and K. Nakao Gene and phenotype analysis of congenital generalized lipodystrophy in Japanese: a novel homozygous nonsense mutation in seipin gene. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 89 2360–2364 2004
62. E. Saganami, H. Takagi, H. Ohashi, K. Suzuma, I. Suzuma, H. Oh, D. Watanabe, T. Ojima, T. Saganami, Y. Fujio, K. Nakao, Y. Ogawa, and N. Yoshimura. Leptin stimulates ischemia-induced retinal neovascularization: possible role of vascular endothelial growth factor expressed in retinal endothelial cells. *Diabetes* 53 2443–2448 2004
63. N. Satoh, M. Naruse, T. Usui, T. Tagami, T. Saganami, K. Yamada, H. Kuzuya, A. Shimatsu, and Y. Ogawa. Leptin-to-adiponectin ratio as a potential atherogenic index in obese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 27 2488–2490 2004
64. H. Kobayashi, Y. Ogawa, M. Shintani, K. Ebihara, M. Shimodahira, T. Iwakura, M. Hino, T. Ishihara, K. Ike Kubo, H. Kurahachi, and K. Nakao A novel homozygous missense mutation of melanocortin-4 receptor (MC4R) in a Japanese woman with severe obesity. *Diabetes* 51 243–246 2002
65. Y. Ogawa, H. Masuzaki, K. Ebihara, M. Shintani, M. Aizawa-Abe, F. Miyanaga, and K. Nakao Pathophysiological role of leptin in lifestyle-related diseases: studies with transgenic skinny mice overexpressing leptin. *J. Diabetes Complications* 16 119–122 2002
66. K. Shimizu, K. Chin, T. Nakamura, H. Masuzaki, Y. Ogawa, R. Hosokawa, A. Niimi, N. Hattori, R. Nohara, S. Sasayama, K. Nakao, M. Mishima, T. Nakamura, M. Ohi Plasma leptin levels and cardiac sympathetic function in patients with obstructive sleep apnoea-hypopnoea syndrome. *Thorax* 57 429–434 2002
67. H. Ariyasu, K. Takaya, H. Hosoda, H. Iwakura, K. Ebihara, K. Mori, Y. Ogawa, K. Hosoda, T. Akamizu, M. Kojima, K. Kangawa, and K. Nakao Delayed short-term secretory regulation of ghrelin in obese animals: Evidenced by a specific radioimmunoassay for active form of ghrelin. *Endocrinology* 143 3341–3350 2002
68. 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, and K. Nakao Clinical implications of leptin and its potential humoral regulators in long-term low-calorie diet therapy for obese humans. *Eur. J. Clin. Nutr.* 56 593–600 2002

69. T. Nakagawa, Y. Ogawa, K. Ebihara, M. Yamanaka, A. Tsuchida, M. Taiji, H. Noguchi, and K. Nakao Antiobesity and antidiabetic effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent models of leptin resistance. *Int. J. Obes.* 27(5) 557–65 2003
70. 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 2003
71. K. Ebihara, T. Kusakabe, H. Masuzaki, N. Kobayashi, T. Tanaka, H. Chusho, F. Miyanaga, T. Miyazawa, T. Hayashi, K. Hosoda, Y. Ogawa, K. Nakao Gene and phenotype analysis of congenital generalized lipodystrophy in Japanese: a novel homozygous nonsense mutation in seipin gene. *J Clin Endocrinol Metab* 89(5) 2360–4 2004
72. C. Son, K. Hosoda, K. Ishihara, L. Bevilacqua, H. Masuzaki, T. Fushiki, ME. Harper, K. Nakao Reduction of diet-induced obesity in transgenic mice overexpressing uncoupling protein 3 in skeletal muscle. *Diabetologia* 47 47–54 2004
73. Takahashi-Yasuno, H. Masuzaki, T. Miyawaki, Y. Ogawa, N. Matsuoka, T. Hayashi, K. Hosoda, G. Inoue, Y. Yoshimasa, K. Nakao Leptin receptor polymorphism is associated with serum lipid levels and impairment of cholesterol lowering effect by simvastatin in Japanese men. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 62 169–175 2003
74. 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 2004
75. K. Ebihara, H. Masuzaki, K. Nakao. Long-term leptin replacement therapy for lipoatrophic diabetes. *N. Eng. J. Med.* 351 615–616 2004
76. H. Kishimoto, A. Taniguchi, Y. Nakai, et al Effect of short-term low-intensity exercise on insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose and lipid metabolism in non-obese Japanese type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res* 34 27–3 2002
77. Taniguchi, M. Fukushima, Y. Nakai, et al Insulin sensitivity indexes from a single sample in nonobese Japanese Type 2 diabetic patients; Comparison with minimal model analysis. *Diabetes Care* 25 626–627 2002
78. Y. Nakai, M. Fukushima, S. Nakaiishi, et al. The threshold value for insulin resistance on homeostasis model assessment of insulin sensitivity. *Diabetic Medicine* 19 346–347 2002
79. Taniguchi, Y. Nakai, M. Fukushima, et al. Ultrasonographically assessed carotid atherosclerosis in Japanese type 2 diabetic patients: Role of nonesterified fatty acids. *Metabolism* 51 539–543 2002
80. Taniguchi, Y. Nakai, M. Sakai, et al. Relationship of regional adiposity to insulin resistance and serum triglyceride levels in nonobese Japanese type 2 diabetic patients. *Metabolism* 51 544–548 2002
81. Y. Nakai, H. Hosoda, K. Nin, C. Ooya, H. Hayashi, T. Akamizu, K. Kangawa. Plasma levels of active form of ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol.* 149 R1–3 2003
82. Y. Nakai, H. Hosoda, K. Nin, C. Ooya, H. Hayashi, T. Akamizu, K. Kangawa Short-term secretory regulation of active form of ghrelin and total ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 150(6) 913–914 2004
83. Y. Nakai The epidemiology of eating disorders: data from Japan. M. Maj, K. Halmi, J. J. Lopez-Ibor, N. Sartorius WPA Series Evidence and experience in Psychiatry Volume 6 Eating Disorders John Wiley & Sons Ltd UK 126–128 2003
84. Y. Nakai Medical abnormalities in eating disorders M. Maj, K. Halmi, J. J. Lopez-Ibor, N. Sartorius WPA Series Evidence and experience in Psychiatry Volume 6 Eating Disorders John Wiley & Sons Ltd UK 207–209 2003
85. 中井義勝 精神・行動障害 摂食障害 日本臨床増刊号 8 本邦臨床統計集(2) 59 422–432 2001
86. 中井義勝 摂食障害 Animus 7 15–20 2002

87. 中井義勝、久保木富房、野添新一、他 摂食障害の臨床像についての全国調査 心身医学 42 729-737 2002
88. 中井義勝、濱垣誠司、石坂好樹、他 摂食障害の予後予測因子について 精神医学 44 1305-1309 2002
89. 中井義勝 Eating Attitudes Test (EAT)の妥当性について 精神医学 45(2) 161-165 2003
90. 中井義勝、佐藤益子、田村和子、杉浦まり子、林純子 大学と短大の女子学生を対象とした過去 20 年間における摂食障害の実態の推移 精神医学 45(12) 1319-1322 2003
91. 中井義勝、成尾鉄朗、鈴木健二、石川俊男、瀧井正人、西園マーハ文、高木洲一郎 摂食障害の転帰調査 精神医学 46(5) 481-486 2004
92. 中井義勝 摂食障害の予後評価に対する Eating Disorder Inventory (EDI)の有用性について 精神医学 46(9) 941-945 2004
93. 中井義勝 特定不能の摂食障害に関する研究 精神医学 46(11) 1177-1182 2004
94. 中井義勝、佐藤益子、田村和子、杉浦まり子、林純子 中学生、高校生、大学生を対象とした身体像と食行動および摂食障害の実態調査 精神医学 46(12) 1269-1273 2004
95. 中井義勝 神経性無食欲症 久保木富房、中村純、山脇成人 ストレス疾患ナビゲーター 株式会社メディカルレビュー社 東京 36-37 2004
96. H. Hosoda, M. Kojima, T. Mizushima, S. Shimizu, K. Kangawa. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. J Biol Chem. 278 64-70 2003
97. T. Hanada, K. Toshinai, N. Kajimura, N. Nara-Ashizawa, T. Tsukada, Y. Hayashi, K. Osuye, K. Kangawa, S. Matsukura, M. Nakazato. Anti-cachectic effect of ghrelin in nude mice bearing human melanoma cells. Biochem Biophys Res Commun. 301 275-279 2003
98. K. Toshinai, Y. Date, N. Murakami, M. Shimada, MS. Mondal, T. Shimbara, JL. Guan, QP. Wang, H. Funahashi, T. Sakurai, S. Shioda, Smatsukura, K. Kangawa, M. Nakazato. Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway. Endocrinology 144 1506-1512 2003
99. M. Shimada, Y Date, MS. Mondal, K. Toshinai, T. Shimbara, K. Fukunaga, N. Murakami, M. Miyazato, K. Kangawa, H. Yoshimatsu, H. Matsuo, M. Nakazato. Somatostatin suppresses ghrelin secretion from the rat stomach. Biochem Biophys Res Commun. 302 520-525 2003
100. H. Kaiya, M. Kojima, H. Hosoda, S. Moriyama, A. Takahashi, H. Kawauchi, K. Kangawa. Peptide purification, complementary deoxyribonucleic acid (DNA) and genomic DNA cloning, and functional characterization of ghrelin in rainbow trout. Endocrinology 144 5215-5226 2003
101. H. Kaiya, M. Kojima, H. Hosoda, LG. Riley , T. Hirano, EG. Grau, K. Kangawa. Identification of tilapia ghrelin and its effects on growth hormone and prolactin release in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 135 421-429 2003
102. H. Kaiya, M. Kojima, H. Hosoda, LG. Riley, T. Hirano, EG Grau, K. Kangawa. Amidated fish ghrelin: purification, cDNA cloning in the Japanese eel and its biological activity. J Endocrinol. 176 415-423 2003
103. Y. Nakai, H. Hosoda, K. Nin, C. Ooya, H. Hayashi, T. Akamizu and K. Kangawa Plasma levels of active form of ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa. Eur J Endocrinol 149(1) R1-R3 2003
104. Takashi Akamizu, Kazuhiko Takaya, Taiga Irako, Hiroshi Hosoda, Satoshi Teramukai, Akiko Matsuyama, Harue Tada, Kazumi Miura, Akira Shimizu, Masanori Fukushima, Masayuki Yokode, Koichi Tanaka and Kenji Kangawa Pharmacokinetics, safety, and endocrine and appetite effects of ghrelin administration in young healthy subjects. Eur J Endocrinol. 150 447-455 2004

105. Naotetsu Kanamoto, Takashi Akamizu, Tetsuya Tagami, Yuji Hataya, Kenji Moriyama, Kazuhiko Takaya, Hiroshi Hosoda, Masayasu Kojima, Kenji Kangawa and Kazuwa Nakao Genomic Structure and Characterization of the 5'-Flanking Region of the Human Ghrelin Gene. *Endocrinology* 145 4144–4153 2004
106. Nakai Y, Hosoda H, Nin K, Ooya C, Hayashi H, Akamizu T, Kangawa K Short-term secretory regulation of active form of ghrelin and total ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa *Eur J Endocrinol* 150 913–934 2004
107. Nagaya N, Moriya J, Yasumura Y, Uematsu M, Ono F, Shimizu W, Ueno K, Kitakaze M, Miyatake K, Kangawa K Effects of Ghrelin Administration on Left Ventricular Function, Exercise Capacity, and Muscle Wasting in Patients With Chronic Heart Failure. *Circulation* 29 29 2004
108. Dezaki K, Hosoda H, Kakei M, Hashiguchi S, Watanabe M, Kangawa K, Yada T Endogenous Ghrelin in Pancreatic Islets Restricts Insulin Release by Attenuating Ca²⁺ Signaling in beta-Cells: Implication in the Glycemic Control in Rodents. *Diabetes* 53 3142–3151 2004
109. Takeno R, Okimura Y, Iguchi G, Kishimoto M, Kudo T, Takahashi K, Takahashi Y, Kaji H, Ohno M, Ikuta H, Kuroda Y, Obara T, Hosoda H, Kangawa K Intravenous administration of ghrelin stimulates growth hormone secretion in vagotomized patients as well as normal subjects. *Eur J Endocrinol* 151 447–450 2004
110. Itoh T, Nagaya N, Yoshikawa M, Fukuoka A, Takenaka H, Shimizu Y, Haruta Y, Oya H, Yamagishi M, Hosoda H, Kangawa K, Kimura H Elevated plasma ghrelin level in underweight patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 170 879–882 2004
111. Hosoda H, Doi K, Nagaya N, Okumura H, Nakagawa E, Enomoto M, Ono F, Kangawa K Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples. *Clin Chem* 50 1077–1080 2004
112. Hanada T, Toshinai K, Date Y, Kajimura N, Tsukada T, Hayashi Y, Kangawa K, Nakazato M Upregulation of ghrelin expression in cachectic nude mice bearing human melanoma cells. *Metabolism* 53 84–88 2004
113. 金本巨哲、赤水尚史、田上哲也、森山賢治、中尾一和 III. グレリン. 基礎研究の進展. グレリン遺伝子発現調節 臨床分子内分泌学1:心血管内分泌代謝系(上) 日本臨床社 日本 2004 340– 343
114. 赤水尚史、五十子大雅、細田洋司、高屋和彦、寒川賢治 III. グレリン. 特論. グレリンのトランスレーショナルリサーチー内分泌代謝疾患— 臨床分子内分泌学2:心血管内分泌代謝系(上) 日本臨床社 日本 2004 424– 429
115. 瀧井正人 心理面の支援アップグレード 岩本安彦、内瀬安子 糖尿病外来アップグレード21原則—よりよい医療連携を求めて 医学書院 東京 2003 156–169
116. 瀧井正人 神経性過食症 久保千春、中井吉英、野添新一 現代心療内科学 永井書店 東京 2003 492–509
117. 野崎剛弘 軽症うつ病 久保千春、中井吉英、野添新一 現代心療内科学 永井書店 東京 2003 530–550
118. 河合宏美、瀧井正人 摂食障害 久保千春 心身医療実践マニュアル 文光堂 東京 2003 238–247
119. 野崎剛弘 各臓器別にみた心身症—⑥代謝疾患 糖尿病、心因性多飲症 久保千春 心身医療実践マニュアル 文光堂 東京 2003 277–290
120. 野崎剛弘 激やせをみたら—神経性食欲不振症— 名和田 新 内分泌疾患のとらえかた. 眼でみるベッドサイドの病態生理 文光堂 東京 2004 64–71
121. Takii M, Uchigata Y, Nozaki T, Nishikata H, Kawai K, Komaki G, Iwamoto Y, Kubo C Classification of type 1 diabetic females with bulimia nervosa into subgroups according to purging behavior. *Diabetes Care* 25 1571–1575 2002
122. Takii M, Uchigata Y, Komaki G, Nozaki T, Kawai K, Nishikata H, Kawai H, Morioka K, Iwamoto Y, Kubo C A cognitive/behavioral approach to type 1 diabetic females recurrent binge eating: a 3-year follow-up study.