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 17 年度　総括・分担研究報告書

主任研究者　　芝　崎　保

平成 18（2006）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
日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学　芝崎　保

II.　分担研究報告書
1. グレリン臨床第II相試験及び新規摂食調節ペプチドの発見 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 7
国立循環器病センター研究所　寒川　賢治

2. 摂食異常症に関与する視床下部と高次中枢との機能連関に関する研究 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 10
大分大学医学部　生体分子構造機能制御講座・内科学第一　吉松　博信

3. オレキシン産生神経に対するレプチンとTNFαの作用について ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15
筑波大学基礎医学系　薬理学　桜井　武

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 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 20
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. カロリー制限とリバウンドにおける生体反応の網羅的解析 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 25
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. 中枢性摂食異常症が女性に多いことの神経内分泌学的基盤の解明 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 28
日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学　芝崎　保

7. デスアシルグレリンの食欲・体重調節に及ぼす影響に関する研究 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 33
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科　社会・行動医学講座行動医学分野　乾　明夫

8. 脂肪萎縮症におけるレプチン治療の摂食、体重、体組成に及ぼす影響 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 38
京都大学大学院医学研究科　内分泌・代謝内科学　中尾　一和

9. 神経性食欲不振症患者(AN)の食事量・空腹感・満腹感に影響を与える身体的・心理的因子に関する研究
－ANの食欲モデルの構築－ ・・ 41
九州大学大学院医学研究院　心身医学　久保　千春

10. 24時間心電図による摂食障害患者の循環器機能の評価 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 48
東京大学大学院医学系研究科　ストレス防御・心身医学　熊野　宏昭

11. 神経性食欲不振症におけるRANKL/RANK/OPGの動態 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 51
政策研究大学院大学　保健管理センター　鈴木(堀田)　眞理

12. 神経性食欲不振症の家族心理教育プログラムの確立 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 54
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 ･･････････････････････････････････････ 57

IV.　平成 17 年度 研究者名簿 ･･ 67

中枢性摂食異常症に関する調査研究

平成17年度

Ⅰ．総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
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　芝﨑　保　日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学　教授
分担研究者　乾　明夫　鹿児島大学大学院医歯学総合研究科社会・行動医学講座行動医学分野　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
寒川　賢治　国立循環器病センター研究所　副所長
久保　千春　九州大学大学院医学研究院心身医学　教授
熊野　宏昭　東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学　助教授
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
桜井　武　筑波大学基礎医学系薬理学　助教授
鈴木　眞理　政策研究大学院大学保健管理センター　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
吉松　博信　大分大学医学部生体分子構造機能制御講座・内科学第一　教授

研究要旨　本研究の目的は、患者数が増加している中枢性摂食異常症の病因、病態の解析を行い、その成果に基づいた本症の治療法および予防法を開発することである。この目的のため、摂食･エネルギー代謝調節機構の解明、本症の病因･病態の基礎的、臨床的解明、グレリンの治療への応用を進めている。基礎的研究では新たな摂食調節ペプチドとしてニューロメジン S の同定とその作用の解明、オレキシン神経活動の調節機序、視床下部グレリンの発現調節機構、デスアシルグレリンの作用の検討、エネルギー調節に関与する新たな分子機構の解析、CRF 受容体拮抗薬を本症の治療薬として開発するための脳内 CRF 受容体サブタイプの機能の解析、中枢性摂食異常症の病態への関与が考えられている前頭前野の食行動等の調節機能の解析を行い、摂食･エネルギー代謝調節機構の解明が進んだ。臨床的研究として、神経性食欲不振症の心理的因子や催不整脈性の解析、レプチンの食欲、体重調節作用の解析、合併症である骨粗鬆症のより有効的治療法を開発するための病態解析を行い、本症の病態の詳細がさらに明らかになった。神経性食欲振症患者を対象としたグレリンの臨床試験の実施のための準備が完了し、同試験が実施されつつある。家族を対象に本症の理解と患者への適切な対応を短期間で教育するための家族心理教育プログラムを実践し、その有効性が認められた。

研究目的

本研究の目的は摂食･エネルギー代謝調節機構の解明と中枢性摂食異常症の病因、病態の基礎的･臨床的解析の成果に基づいた中枢性摂食異常症の新たな治療法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、発生工学的手法を主として用いた基礎的研究と中枢性摂食異常症の病因･病態解明のための臨床的研究を進める。

研究方法

基礎的研究として、摂食･エネルギー代謝調節物質およびそれらの受容体の遺伝子改変動物の作成等を行い、末梢および中枢の摂食･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。病態解析に関する臨床的研究として、中枢性摂食異常症の食欲に与える心理的因子や催不整脈性の解析、神経性食欲不振症の合併症である骨粗鬆症の病態解析を行った。治療開発の一環として、家族を対象とした心理教育プログラムの実践、グレリンの神経性食欲不振症の治療への応用のための準備を行った。

（倫理面への配慮）

中枢性摂食異常症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。

研究成果および考察

＜新規摂食調節ペプチド＞ 摂食抑制ペプチドであるニューロメジンU(NMU)の受容体の新たな内因性リガンドとしてニューロメジンS(NMS)を同定した。脳室内投与によりNMSはNMUに比べ強力な摂食抑制活性を示し、摂食抑制はα-MSH及びCRHを介した機序によることを明らかにした。(寒川)

＜infralimbic cortexの機能と摂食異常症＞ 摂食異常症の発症および進展には視床下部に加え大脳皮質連合野の機能異常が関与している。前頭前野、特に内側部のinfralimbic cortexは視床下部および自律神経系を介して摂食行動、内臓機能調節や摂食異常症患者の認知機能異常に関与する可能性も報告されている。摂食異常症発症におけるinfralimbic cortexの病態生理学的意義を明らかにしていくため、ラットの同部を破壊した結果、1)食行動、一般活動量の日内リズムの変動、2) 活動量および体温の低下、3) 長期的な体重増加が生じ、摂食異常症の病態へのinfralimbic cortexの関与が示唆された。(吉松)

＜オレキシン神経の活動制御機構＞ 摂食制御に重要な視床下部オレキシン産生神経の活動制御機構をスライスパッチクランプ法を用いて電気生理学的に解析した。レプチンは、オレキシン神経にJAK2-PI3K経路を介してK-ATPチャネルを活性化することにより抑制的に働いていること、同様のシグナル経路を活性化すると考えられるIL-6、CNTF、TNFαもオレキシン神経の活動を抑制することを明らかにした。(桜井)

＜視床下部グレリン＞ 強力な摂食亢進作用を示すグレリンは胃・腸管以外に視床下部での存在が免疫組織学的に示されており、その視床下部グレリンの脂肪酸修飾の有無や合成・分泌調節を明らかにした。視床下部グレリンは、胃と同じくオクタン酸で修飾されたものが活性型で、その他に脂肪酸の修飾のないデスアシルグレリンが存在した。視床下部グレリンのmRNA発現は絶食や2-DG投与によって減少し、胃のグレリンmRNA発現は絶食により増加することから、末梢とは異なる調節を受けていることが明らかになった。(児島)

＜摂取エネルギーの変化と脂肪組織＞ カロリー制限による体重減少とリバウンドにおける脂肪組織の分子機構の変化を明らかにするために、DNAマイクロアレイ法にてマウスの腸間膜脂肪組織の遺伝子発現プロフィールを検討した。カロリー制限により体重は減少した後にプラトーに達し、自由摂食後に回復した。脂肪組織の脂肪合成と脂肪燃焼に関与する遺伝子発現がカロリー制限後にいずれも亢進し、自由摂食後に前値に復した。カロリー制限により脂肪の合成と燃焼が変化することが明らかになった。(小川)

＜中枢性摂食異常症が女性に多い生物学的機序＞ corticotropin-releasing factor (CRF) の過剰分泌が存在する中枢性摂食異常症が女性に多く発症する生物学的機序を解析するため、雌ラットでのストレス反応に対する性周期の影響の有無を検討した。非ストレス、フットショック、心理ストレス下での視床下部室傍核と扁桃体中心核におけるCRF mRNA発現量は発情後期よりもエストロジェン分泌の亢進している発情前期で増し、両ストレスよる血漿ACTH/コルチコステロンの増加は雄より雌で強く且つ速やかに出現したことから、ストレス反応の出現機構をエストロジェンが修飾することが明らかになった。(芝﨑)

＜デスアシルグレリンの作用＞ グレリンはSer^{3}がアシル化を受けているが、非アシル化型も存する。マウスでは非アシル化型の腹腔内及び脳室内投与が摂食行動や胃排泄能を抑制し、ラットへの静脈内及び脳室内投与は摂食行動を抑制した。グレリンが空腹期運動パターンを胃及び十二指腸に出現もしくは増強させたのに対し、非アシル化型はその発現を抑制した。非アシル化型過剰発現マウスは胃排泄能の低下及び痩せを示した。非アシル化型は摂食、消化管運動調節においてグレリンに拮抗している可能性が示唆された。(乾)

＜レプチンのヒトにおける役割＞レプチン補償治療を施行した全身性脂肪萎縮症患者を対象に、食欲、体重および体組成に対するレプチンの影響について検討した。レプチン治療により食後の満足感、食欲の抑制、体重減少が認められた。体重減少は主に除脂肪重量の減少であり、脂肪重量変化の影響は軽度であった。レプチン治療によりインスリン感受性の改善および空腹時インスリン値の低下が認められた。以上から、レプチンはヒトにおいても食欲および体重の制御に関与していることが脂肪萎縮症症例において確認された。(中尾)

＜神経性食欲不振症患者(AN)における食欲モデルの検討＞ 入院したAN患者14例について、食事量・空腹感・満腹感スコア、入院前の食行動を得点化し、これらの得点とBMI、血中レプチン、コルチゾール、グレリン、血糖、遊離脂肪酸値、心理因子(SDS、STAI、EDI、MMPI)の関連について解析した。AN患者の摂取カロリーは、完全主義・やせ願望などの心理的因子に左右され、血中グレリン、レプチンによる影響を受けていなかった。食事量、空

腹感・満腹感、食行動はそれぞれ異なる因子による影響を受けていた。(久保)

＜神経性食欲不振症の心機能の日内変動＞摂食障害患者では心電図検査で不整脈基質の存在が指摘されている。日常生活下における循環器機能を評価するための予備調査として、DSM-IV により診断された神経性食欲不振症(AN)入院患者 20 名を対象に、24 時間ホルター心電図を測定し、心拍数、QT 間隔、QT variability index の日内変動を検討した。AN 患者(n=17)において心拍数、QT 間隔は健常者と同様の日内変動がみられたが、QT variability index での日内変動が認められなかった。AN 患者における心臓電気生理学的指標の日内リズムの変化が示唆された。(熊野)

＜神経性食欲不振症の骨粗鬆症の病態＞神経性食欲不振症(AN)に高頻度に合併する骨粗鬆症の病態に基づいた治療法を検討する目的で、破骨細胞機能の調節系である receptor activator of NF-κB ligand（RANKL）/RANK/osteoprotegerin(OPG)系の検討を行った。AN 患者では同年齢の健常女性と比べて、血清 RANKL および OPG 値は上昇していた。血清 RANKL 値は他の因子との有意な相関を示さなかったが、血清 OPG 値は body mass index、血清 IGF-I、レプチン、エストラジオール(E2)値と有意な負の相関を示した。血清 OPG は、E2 欠乏や低栄養状態による骨吸収に対して代償性に骨芽細胞での産生が高まった結果、上昇している可能性が示唆された。(鈴木)

＜神経性食欲不振症の家族心理教育プログラムの確立＞神経性食欲不振症(AN)を理解した家族という資源を治療に生かすことを目的として、家族心理教育プログラムの確立を試みた。患者の受診開始早期に5～6家族を対象とした1回3時間×2回の短期集中型勉強会を開き、ANについての知識や適切な家族のサポート法などの情報提供と直面している問題についてグループ討論を行った。脱落率は4%(3/74 家族)と低かった。終了後も希望者を対象に講演会やテーマ別の勉強会を定期的に行い情報提供と対処技法の指導を継続した。短期集中型心理教育は負担が少なく、治療早期から家族の理解と協力が得られた。短期＋長期の心理教育の組み合わせで基本的な知識を共有した上での話し合いができ、複数回参加者から新参加者への適切な対処技能の伝達が可能になった。(鈴木)

＜グレリンの神経性食欲不振症治療への応用＞　京都大学医学部附属病院・探索医療センターで実施中の機能性摂食不振患者（機能性胃腸症とその他の摂食障害）を対象としたグレリンの臨床試験は4例まで進行した。神経性食欲不振症患者を対象としたグレリンの臨床試験のためのプロトコルとグレリン製剤作成を本研究班班員（鈴木、芝﨑）と共に行い、倫理委員会で承認されたので、臨床試験を実施しつつある。(寒川)

結論

中枢性摂食調節機構の基盤研究、中枢性摂食異常症の病因･病態に関する基礎的、臨床的研究が引き続きなされた。グレリンの神経性食欲不振症における臨床試験が実施されつつある。中枢性摂食異常症患者の家族を対象に、本症に対する理解と患者への適切な対応を短期間で得るための家族心理教育プログラムが実践された。

健康危険情報

特になし。

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願　1件

平成 17 年度

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

グレリン臨床第II相試験及び新規摂食調節ペプチドの発見

分担研究者　寒川賢治　国立循環器病センター研究所　副所長

研究要旨　我々はグレリンの食欲亢進作用を利用して、摂食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。そこで昨年度から、臨床第II相試験「摂食不振患者への投与試験」を開始した。現在、4例終了し、今後症例を積み重ねて行く。また、神経性食思不振症（いわゆる拒食症）を対象とした臨床試験の準備を本年度行った。一方、さらに本研究では、摂食抑制ペプチドであるニューロメジンU（NMU）の受容体の新たな内因性リガンドとして36アミノ酸残基からなる新規ペプチドをラット脳から発見し、本ペプチドが脳内の視交叉上核で特異的に発現していたことからニューロメジンS（neuromedin S: NMS）と命名した。ニューロメジンSは脳室内投与によりNMSはNMUに比べ強力な摂食抑制活性を示した。

研究目的

I）摂食不振は種々の疾患で見られ、体重減少、体力や気力の低下を招来し、ひいては原疾患の悪化、生命力や活動性の消失にまでつながる。その治療には、原疾患の改善が原則であるが困難または不可能な場合が少なくない。特に、Functional dyspepsiaやその他の機能性摂食不振を呈する疾患において観察される食欲不振に関してはその原因が不明で治療に難渋する場合が多い。グレリンは食欲促進や正のエネルギーバランスをもたらす生物作用を有することが報告されており、末梢投与によって食欲亢進をもたらす唯一のホルモンである。そこで、上記「Functional dyspepsia」や神経性無食欲症患者以外の機能性摂食不振症における摂食量低下や体重減少に対してグレリンが有効な臨床効果を示すかどうかを検討するために、臨床第II相試験を施行した。さらに、神経性食思不振症（いわゆる拒食症）を対象とした臨床試験の計画と準備を行った。

II）一方、我々はこれまでにオーファンG蛋白質共役型受容体（GPCR）であるFM-3/GPR66、FM-4/TGR-1の内因性リガンドとしてニューロメジンU（neuromedin U: NMU）をラット小腸抽出物より単離・同定し手いる。NMUの生理機能は発見以来20年間不明であったが、受容体の同定によって摂食・エネルギー代謝調節において重要な役割を担うことが明らかとなり、生活習慣病の危険因子である肥満の成因に密接に関係していることを示した。

今回、本研究では、FM-4/TGR-1に対するさらに新たな内因性リガンド探索の過程で、NMUとは異なる新たな生理活性ペプチドに由来する活性をラット脳抽出物中に見出し、強力な摂食抑制活性を有する新規生理活性ペプチド、ニューロメジンS（neuromedin S: NMS）を同定した。

研究方法

I）

1）Functional dyspepsiaやその他の機能性摂食不振を呈する患者を対象としたグレリン反復投与試験（臨床試験第II相）は京都大学医学部附属病院・探索医療センターで実施した。適格規準は、FDまたはその他の機能性摂食不振と診断された者で、かつ摂食低下およびやせを呈する者とし、治療計画は、対象患者に一日2回（毎朝夕食前）、合成ヒトグレリンを2週間点滴静注（約30分かけて）とした。投与量を3 μg/kg、目標登録症例数を10例、主要エンドポイントを1日摂食量（カロリー）とした。

神経性食欲不振症に関しては、制限型患者を対象とし、その他の実施内容は上記とほぼ同様である。目標症例数6例を予定している。

2）グレリン測定

健常高齢者の血中グレリン濃度および各種内分泌・代謝パラメーターを測定した。

II）

1）新規ペプチドの精製：ヒトFM-4/TGR-1をCHO細胞でさせ、この細胞にサンプルを添加することにより引き起こされる細胞内Caイオン濃度の変化をFLIPRシステムにより測定した。ラット脳420匹分（510g）からペプチドを抽出し、ゲル濾過、イオン交換HPLC、逆相HPLCにより分離、精製した。

2）構造解析：精製したペプチドの構造は、プロテインシ

ークエンサーおよび MALDI TOF/MS により解析した。また、ペプチド構造解析から得られたアミノ酸配列より完全長 cDNA を RACE 法によりクローニングした。

3) 発現分布解析：ペプチドの組織分布はリアルタイム PCR により解析した。また、ラット脳内での詳細な分布は *in situ* ハイブリダイゼーション法にて観察した。

（倫理面への配慮）

臨床試験に関してはプロトコルを作成し、当該施設における倫理委員会の承認を得る。被験者には説明文書作成して十分理解を得、文書による同意確認の上試験を実施する。

研究結果

I) Functional dyspepsia やその他の機能性摂食不振を呈する患者を対象としたグレリン反復投与試験（臨床試験第 II 相）は京都大学医学部附属病院・探索医療センターで目標症例数 10 例のうち、4例終了した。神経性食欲不振症患者を対象とした臨床試験を東京女子医大病院で実施する準備を行った。プロトコル作成、倫理委員会での承認、グレリン製剤作成まで終了した。

健常高齢者ボランティアにおけるグレリン濃度の検討では、健常高齢者の定義として、65 歳以上かつ、SENIEUR protocol を満たすもの、上部消化管の手術既往がなく、ホルモン治療を受けていないものとした。条件を満たす 105 人の健常高齢者ボランティア（男性 49 人、女性 56 人、平均年齢 73.4±6.3 歳）を対象として検討を行った。高齢女性において、血漿アシル化グレリン濃度は若年女性よりも低い傾向を示し、血清 IGF-1 濃度および排便回数と正の相関を、また、収縮期血圧とは負の相関関係を示した。高齢男性では、デスアシルグレリン濃度が、排便回数と弱い相関を示したのみであった。

II) ラット脳から抽出したペプチド画分をゲルろ過展開したサンプルを用いて FM-4/TGR-1 発現細胞に対するアッセイを行った結果、NMU とは異なる新たな内因性リガンドがラット脳内に存在していることが判明した。この新たな内因性リガンドを単一に精製した結果、約 2.5pmol のペプチドが得られた。プロテインシークエンサーによる N 末端部分配列分析の結果及び前駆体の cDNA クローニングにより、新たな内因性リガンドは C 末端がアミド化された 36 アミノ酸残基からなるペプチド(LPRLLHTDSRMATIDFPKKDPTTSLGRPFFLFRPRN-NH2)であることが明らかになった。本ペプチドの N 末端 29 アミノ酸残基は既知のペプチド・蛋白質と相同性を示さないため、このリガンドは新規生理活性ペプチドであることが判明した。また、興味深いことにアミド化された C 末7アミノ酸残基は NMU と完全に一致していた。

この新規ペプチドの組織分布をリアルタイム PCR で解析した結果、中枢神経系、脾臓、精巣で強い mRNA の発現が認められた。中枢神経系のなかでも視床下部での発現が顕著に高かったことから、脳内分布を *in situ* ハイブリダイゼーション法にて解析した結果、視交叉上核(Suprachiasmatic nucleus)で特異的な発現が認められたため、今回同定した新規生理活性ペプチドを NMS と命名した。

考察

I) Functional dyspepsia やその他の機能性摂食不振を呈する患者を対象にした臨床試験におけるグレリンの臨床効果に関しては、目標症例数の 10 例に達した後のデータ解析を待つ必要がある。安全性に関しては、今のところ特記すべきものはなく、問題はない。神経性食思不振症（いわゆる拒食症）を対象とした臨床試験は来年度実施予定である。

健常高齢者の血中グレリン濃度に関しては、血中アシル化グレリン濃度が、加齢に伴う GH/IGF-1 系の調節や血圧、排便回数の変化に影響を与える可能性が示唆された。

II) 一方、本研究により、新規生理活性ペプチドである NMS を同定した。NMS の C 末端構造（7 アミノ酸残基）は NMU と全く同一であった。この構造は NMU の活性発現・受容体への結合に必須であることから、NMS と NMU は受容体を共有していると推測される。実際、FM-3/GPR66、FM-4/TGR-1 の両方に対して同程度のアゴニスト活性、アフィニティーを示した。

ヒト NMS 遺伝子は 2 番染色体 q11.2 に位置し、この遺伝子座は肥満に関連する量的形質遺伝子座の 1 つと一致する。NMS は NMU と同一の活性部位を有すること、NMU は中枢性に摂食活動を抑制しエネルギー代謝調節に関与していることから、NMS も摂食調節に関与している可能性が示唆された。実際、NMS をラットへ脳室内投与したのち暗期の摂餌量を測定した結果、NMS は NMU に比べて強力に摂食活動を抑制することが明らかになった。

E. 結論

I) Functional dyspepsia などの摂食不振患者を対象とした第 II 相臨床試験を実施した。また、神経性食欲不振症患者を対象とした臨床試験の準備を行った。さらに、健常高齢者の血中グレリン濃度測定によって、高齢者におけるグレリンの新たな生理学的意義が示めされた。

II) オーファン GPCR である FM-3/GPR66 、

FM-4/TGR-1の内因性リガンドとしてNMUの他に36アミノ酸残基からなり、強力な摂食抑制作用を有する新規生理活性ペプチドNMSを単離・同定した。

健康危険情報

特になし。

研究発表

論文発表

1. Mori K, Miyazato M, Ida T, Murakami N, Serino R, Ueta Y, Kojima M, Kangawa K. Identification of neuromedin S and its possible role in the mammalian circadian oscillator system. EMBO J, 24: 325- 335, 2005.
2. Akamizu T, Shinomiya T, Irako T, Fukunaga M, Nakai Y, Kangawa K: Separate measurement of plasma levels of acylated and desacyl ghrelin in healthy subjects using a new direct ELISA assay. J Clin Endocrinol Metab, 90: 6-9, 2005.
3. Nagaya N, Itoh T, Murakami S, Oya H, Uematsu M, Miyatake K, Kangawa K: Treatment of cachexia with ghrelin in patients with COPD. Chest, 128: 1187-1193, 2005.
4. Date Y, Toshinai K, Koda S, Miyazato M, Shimbara T, Tsuruta T, Niijima A, Kangawa K, Nakazato M: Peripheral interaction of ghrelin with cholecystokinin on feeding regulation. Endocrinology, 146: 3518-3525, 2005.
5. Mondal M S, Date Y, Yamaguchi H, Toshinai K, Tsuruta T, Kangawa K, Nakazato M: Identification of ghrelin and its receptor in neurons of the rat arcuate nucleus. Regul Pept, 126: 55-59, 2005.
6. Shinomiya T, Fukunaga M, Akamizu T, Irako T, Yokode M, Kangawa K, Nakai Y: Plasma acylated ghrelin levels correlate with subjective symptoms of functional dyspepsia in female patients. Scand J Gastroenterol, 40: 648-653, 2005.
7. Ariyasu H, Takaya K, Iwakura H, Hosoda H, Akamizu T, Arai Y, Kangawa K, Nakao K: Transgenic mice overexpressing des-acyl ghrelin show small phenotype. Endocrinology, 146: 355-364, 2005.
8. Iwakura H, Hosoda K, Son C, Fujikura J, Tomita T, Noguchi M, Ariyasu H, Takaya K, Masuzaki H, Ogawa Y, Hayashi T, Inoue G, Akamizu T, Hosoda H, Kojima M, Itoh H, Toyokuni S, Kangawa K, Nakao K: Analysis of rat insulin II promoter-ghrelin transgenic mice and rat glucagon promoter-ghrelin transgenic mice. J Biol Chem, 280: 15247-15256, 2005.
9. Ida T, Mori K, Miyazato M, Egi Y, Abe S, Nakahara K, Nishihara M, Kangawa K, Murakami N: Neuromedin S is a novel anorexigenic hormone. Endocrinology, 146: 4217-4223, 2005.
10. Shousha S, Nakahara K, Sato M, Mori K, Miyazato M, Kangawa K, Murakami N: Effect of neuromedin S on feeding regulation in the Japanese quail. Neurosci Lett, 10: 10, 2005.
11. Yokoyama M, Nakahara K, Kojima M, Hosoda H, Kangawa K, Murakami N: Influencing the between-feeding and endocrine responses of plasma ghrelin in healthy dogs. Eur J Endocrinol, 152: 155-160, 2005.
12. Shousha S, Nakahara K, Kojima M, Miyazato M, Hosoda H, Kangawa K, Murakami N: Different effects of peripheral and central ghrelin on regulation of food intake in the Japanese quail. Gen Comp Endocrinol, 141: 178-183, 2005.
13. Shousha S, Nakahara K, Miyazato M, Kangawa K, Murakami N: Endogenous neuromedin U has anorectic effects in the Japanese quail. Gen Comp Endocrinol, 140: 156-163, 2005.
14. Takachi K, Doki Y, Ishikawa O, Miyashiro I, Sasaki Y, Ohigashi H, Murata K, Nakajima H, Hosoda H, Kangawa K, Sasakuma F, Imaoka S: Postoperative Ghrelin Levels and Delayed Recovery from Body Weight Loss after Distal or Total Gastrectomy. J Surg Res, 20: 20, 2005.
15. Murashita M, Kusumi I, Inoue T, Takahashi Y, Hosoda H, Kangawa K, Koyama T: Olanzapine increases plasma ghrelin level in patients with schizophrenia. Psychoneuroendocrinology, 30: 106-110, 2005.

知的財産権の出願・登録状況

1, 特許出願　なし
2. 実用新案登録　なし
3. その他　なし

研究協力者

赤水 尚史　(京都大学医学部・探索医療センター)
岩倉 浩　(京都大学医学部・探索医療センター)
有安 宏之　(京都大学医学部・探索医療センター)
森 健二　(国立循環器病センター研究所)
宮里 幹也　(国立循環器病センター研究所)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

摂食異常症に関与する視床下部と高次中枢との機能連関に関する研究

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・内科学第一　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・内科学第一
正木 孝幸　大分大学医学部生体分子構造機能制御講座・内科学第一
後藤 孔郎　大分大学医学部生体分子構造機能制御講座・内科学第一

研究要旨　摂食異常症の発症および進展には摂食調節系としての視床下部機能に加え、大脳皮質連合野の機能異常が関与している。前頭前野、特に内側部のinfralimbic cortexはvisceral cortexともよばれ、視床下部および自律神経系を介して摂食行動および末梢内臓機能に関与していることが示唆されている。本研究では、摂食異常症発症におけるinfralimbic cortexの機能的意義を明らかにすることを目的として、同部の破壊による摂食行動変化、体重変動、リズム異常、体温変動について解析した。その結果、同部の化学的破壊により、1）食行動、一般活動量の日内リズムが変動すること、2)活動量が低下すること、3）体温低下を生じること、4）長期的には体重増加をきたすことなどが明らかになった。

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比較的保たれていることが多い。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三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から血中への遊離脂肪酸の動員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、飢餓条件下では視床下部神経ヒスタミンの合成および放出が亢進する[1-4]。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収支および睡眠・覚醒等の概日リズム調節機構連関の詳細は不明である。一方、前頭前野辺縁下皮質(infralimbic cortex; IL)のニューロンはヒスタミン神経が存在する結節乳頭核(TMN)等の視床下部に神経線維を直接投射し、視床下部と何らかの機能連関を有することが示唆されている[5]。また、摂食異常症患者の前頭前野が、体形に対する嫌悪感形成に関与することが機能的 MRI 検査によって観察されている[6]。今回、前頭前野辺縁下皮質と視床下部の機能的連携を調べる目的で、両部位の神経連絡を明らかにすることとともに、前頭前野辺縁下皮質破壊(IL-lesion)ラットを用いて、体重変化、食行動、活動性、体温調節機能について検討した。

研究方法

（実験動物）

動物は雄性 10 週齢の Wistar rat 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±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。

（実験方法）

試薬は、順行性神経標識色素としてフナコシ社製品の Biotinylated Dextran Amines (BDA)を、Sigma 社製品の iboteinic acid (1 $\mu g/\mu l$)、phosphate bufferd saline (PBS)を用いた。辺縁下皮質への BDA 投与は、脳定位固定下で Bregma より前方 3.0mm、両側方 0.6mm、大脳表面より腹側 4.0mm の位置に行ない、さらに同部位の破壊は iboteinic acid を微量投与して作成した(IL-lesion)。また、sham operation として同容量の PBS を投与した群を設けた(control)。実験進行は、食行動および一般活動量は遠隔自動連続行動定量装置(東洋産業社)を用いて解析した。体温は直腸内温度を BAT-10(Physitemp 社)を用い測定した。脳破壊の確認はヘマトキシリン－エオジン(HE)染色法にて行なった。脳破壊群(IL-lesion)と sham operation 群(control)との間の差の検定は分散分析を用い、$p < 0.05$ を

有意と判定した。またすべての実験は National Insutitute 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) 後部視床下部結節乳頭核において前頭前野辺縁下皮質(infralimbic cortex)に投与された順行性神経線維標識色素の染色が確認された。同色素の染色はこの他、視床下部室傍核、扁桃体中心核においても確認された(図1)。

2) 体重変化について、IL-lesion 群では脳破壊後3週から増加傾向となり、4週で有意な体重増加を認めた(図2)。

3) 食行動について、一日摂食量では IL-lesion 群と control 群との間に有意な差を認めなかった。しかし、暗期摂食量および明期摂食量の一日摂食量に対する割合について、IL-lesion 群では明期摂食量の有意な増加が認められた(図 3)。

4) 一般活動量について、IL-lesion 群では control 群に比べて一般活動量の有意な低下が認められた。また、暗期活動量および明期活動量の一日活動量に対する割合について、IL-lesion 群では明期活動量の有意な増加が認められた(図 4)。

5) 体温変化について、IL-lesion 群では control 群に比べて暗期直前(18:00)の直腸温に有意な低下が認められた(図 5)。

考察

本研究により、前頭前野辺縁下皮質(infralimbic cortex)が後部視床下部に直接神経線維を投射することが判明した。さらに、前頭前野辺縁下皮質(infralimbic cortex)による脱支配は、食行動、活動量および体温調節における概日リズムを平坦化し、エネルギー収支を正に導く可能性が示唆された。この前頭前野辺縁下皮質(infralimbic cortex)によるエネルギー収支調節修飾作用は、視床下部の主に後部視床下部(結節乳頭核)、視床下部室傍核および扁桃体中心核等と関連が深いことが示唆された。

結論

今回の研究の結果より、高次中枢である前頭前野辺縁下皮質に存在する神経細胞は、後部視床下部結節乳頭核、室傍核、扁桃体中心核等へ直接神経線維を投射し、食行動、覚醒度、体温調節およびエネルギー収支調節機能を修飾する機能を持つ可能性が示唆された。

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。

引用文献

1. Masaki T, et al.: Targeted disruption of histamine H1-receptor attenuates regulatory effects of leptin on feeding, adiposity, and UCP family in mice. Diabetes. 2001;50:385-91.
2. Masaki T, et al.: Involvement of hypothalamic histamine H1 receptor in the regulation of feeding rhythm and obesity. Diabetes. 2004;53:2250-60.
3. Yasuda T, et al.: Hypothalamic neuronal histamine regulates sympathetic nerve activity and expression of uncoupling protein 1 mRNA in brown adipose tissue in rats. Neuroscience. 2004;125:535-40.
4. Yoshimatsu H, et al.: Hypothalamic neuronal histamine as a target of leptin in feeding behavior. Diabetes. 1999;48:2286-91.
5. Ericson H, et al.: Origin of neuronal inputs to the region of the tuberomammillary nucleus of the rat brain. J Comp Neurol. 1991;311:45-64.
6. Uher R, et al.: Functional Neuroanatomy of Body Shape Perception in Healthy and Eating-Disordered Women. Biol Psychiatry. 2005.

研究発表

論文発表

1. Tajima D, Masaki T, Hidaka S, Kakuma T, Sakata T, Yoshimatsu H. Acute central infusion of leptin modulates fatty acid mobilization by affecting lipolysis and mRNA expression for uncoupling proteins. Exp Biol Med (Maywood). 230:200-206, 2005
2. Yasuda T, Masaki T, Kakuma T, Hara M, Nawata T, Katsuragi I, Yoshimatsu H. Dual regulatory effects of orexins on sympathetic nerve activity innervating brown adipose tissue in rats. Endocrinology. 146:2744-2748, 2005
3. Chiba S, Itateyama E, Oka K, Masaki T, Sakata T, Yoshimatsu H. Hypothalamic neuronal histamine modulates febrile response but not anorexia induced by lipopolysaccharide.Exp Biol Med (Maywood). 230:334-342, 2005
4. Gotoh K, Fukagawa K, Fukagawa T, Noguchi H, Kakuma T, Sakata T, Yoshimatsu H. Glucagon-like

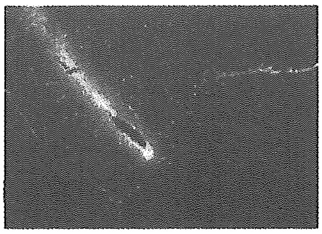
peptide-1, corticotropin-releasing hormone, and hypothalamic neuronal histamine interact in the leptin-signaling pathway to regulate feeding behavior. FASEB J. 19:1131-1133, 2005

5. Tsubone T, Masaki T, Katsuragi I, Tanaka K, Kakuma T, Yoshimatsu H. Ghrelin regulates adiposity in white adipose tissue and UCP1 mRNA expression in brown adipose tissue in mice. Regul Pept. 130:97-103, 2005
6. Tanaka T, Hidaka S, Masuzaki H, Yasue S, Minokoshi Y, Ebihara K, Chusho H, OgawaY, Toyoda T, Sato K, Miyanaga F, Fujimoto M, Tomita T, Kusakabe T, Kobayashi N, Tanioka H, Hayashi T, Hosoda K, Yoshimatsu H, Sakata T, Nakao K. Skeletal Muscle AMP-Activated Protein Kinase Phosphorylation Parallels Metabolic Phenotype in Leptin Transgenic Mice Under Dietary Modification. Diabetes. 54:2365-74, 2005.
7. Fujimoto N, Matsuo N, Sumiyoshi H, Yamaguchi K, Saikawa T, Yoshimatsu H, Yoshioka H. Adiponectin is expressed in the brown adipose tissue and surrounding immature tissues in mouse embryos. Biochim Biophys Acta. 1731:1-12, 2005
8. Tsubone T, Masaki T, Katuragi I, Tanaka K, Kakuma T, Yoshimatsu H. Leptin downregulates ghrelin levels in streptozotocin-induced diabetic mice. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 289 :R1703-6, 2005
9. Masaki T, Chiba S, Tatsukawa H, Noguchi H, Kakuma T, Endo M, Seike M, Watanabe T, Yoshimatsu H. The role of histamine H1 receptor and H2 receptor in LPS-induced liver injury.FASEB J. 19:1245-52, 2005

学会発表

1. 後藤 孔郎 深川 光司 加隈 哲也 吉松 博信：GIP-1の中枢性摂食抑制作用におけるCRHと神経ヒスタミンの関与 第78回日本内分泌学会学術総会 7.1-3,2005 東京
2. 亀井 望 戸辺 一之 井上 篤 鈴木 亮 大杉 満 坂本健太郎 根本 成之 窪田 直人吉松 博信 上田 陽一 橋本 弘史 門脇 孝：βアドレナリン受容体作動薬はIrs2欠損マウス視床下部のレプチンシグナルを改善する 第48回日本糖尿病学会 5.12-14,2005 神戸
3. 原中 美環 加隈 哲也 織部 淳哉 千葉 政一 葛城 功 正木 孝幸 吉松 博信：STZマウスの過食に対する視床下部神経ヒスタミンの影響 第48回日本糖尿病学会 5.12-14,2005 神戸
4. Hironobu Yoshimasu : Role of histaminergic system on psychosomatic problems:Disruption of diurnal feeding rhythm in histamine H1 receptor knockout mice induces mature-onset obesity. 18th world congress on Psychosomatic Medicine. Aug 22-26,2005. Kobe.
5. 荒木 佳奈 正木 孝幸 千葉 政一 後藤 孔郎 葛城 功 田中 克宏 加隈 哲也 吉松 博信：アンジオテンシン受容体拮抗薬投与による肥満症およびそれに基づく代謝障害の予防効果について 第26回日本肥満学会 10.13,2005 札幌
6. 後藤 孔郎 深川 光司 加隈 哲也 吉松 博信：ガラニンの摂食促進作用と神経ヒスタミンとの関連 第26回日本肥満学会 10.13,2005 札幌
7. 穴井 学 千葉 政一 正木 孝幸 本田 純子 吉村日出子 湯浅 玲子 矢野 真味 坂口 優子 加隈 哲也 坂田 利家 吉松 博信 ：食行動質問紙表による減量効果と食行動関連因子の検討 第26回日本肥満学会 10.13,2005 札幌
8. 千葉 政一 野口 仁志 正木 孝幸 穴井 学浜口 和之 加隈 哲也 坂田 利家 吉松 博信：栄養行動(食品選択性)の変容は肥満治療を促進する 第26回日本肥満学会 10.13,2005 札幌

投与部位 infralimbic cortex



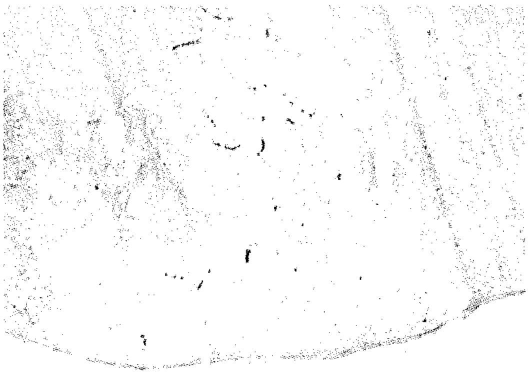


図1 前頭前野辺縁下皮質と後部視床下部との連絡

図2　　Infralimbic cortex (IL) lesion ラットの体重変化

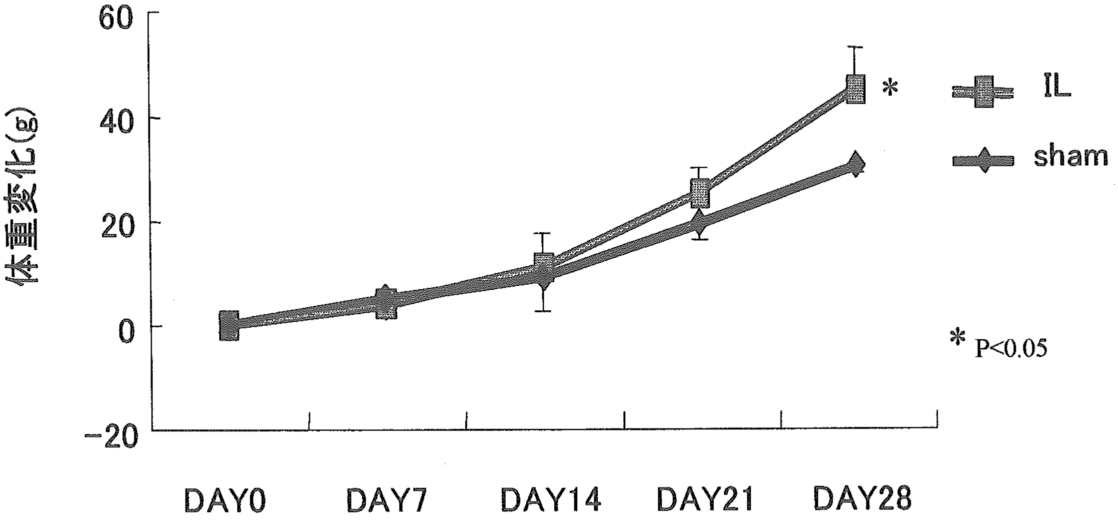


図3　　IL lesion ラットの食行動リズム

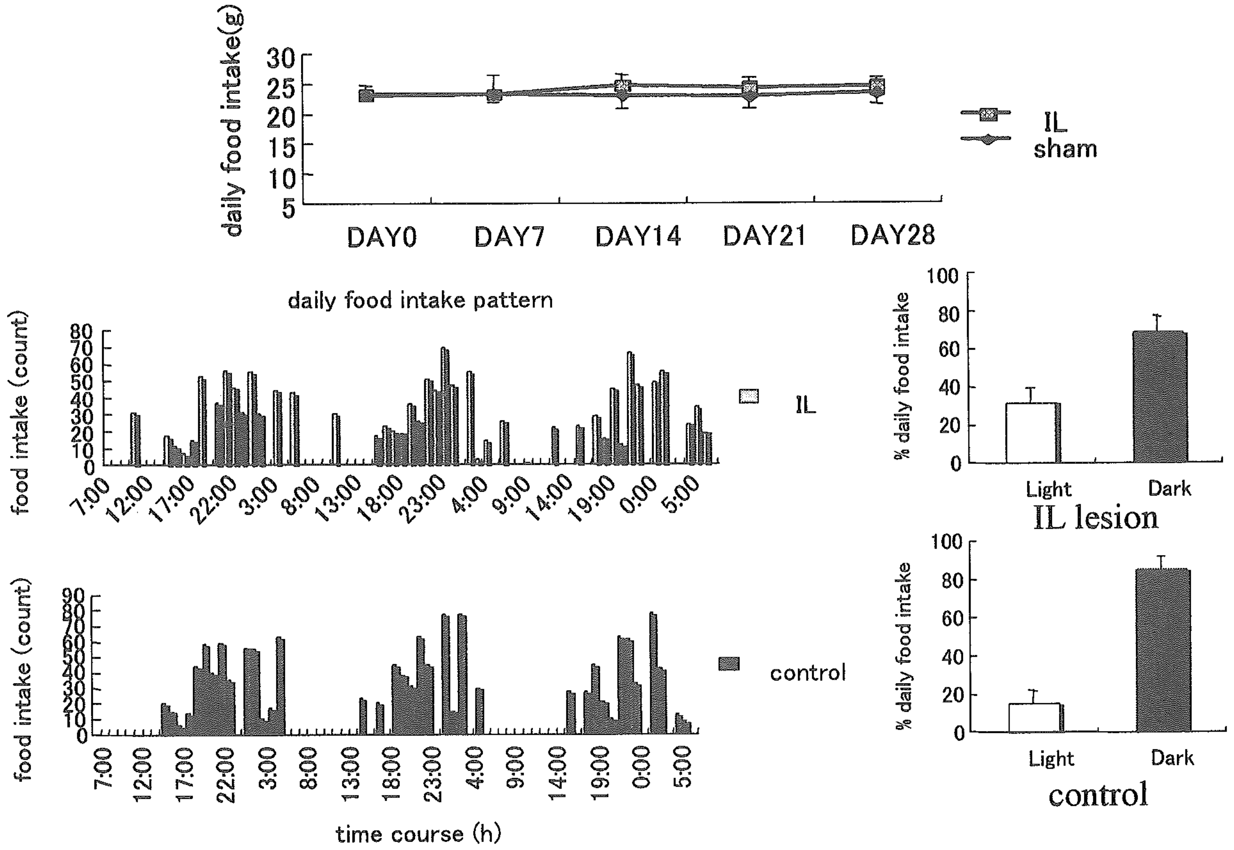


図４　　　IL lesion ラットの活動量リズム

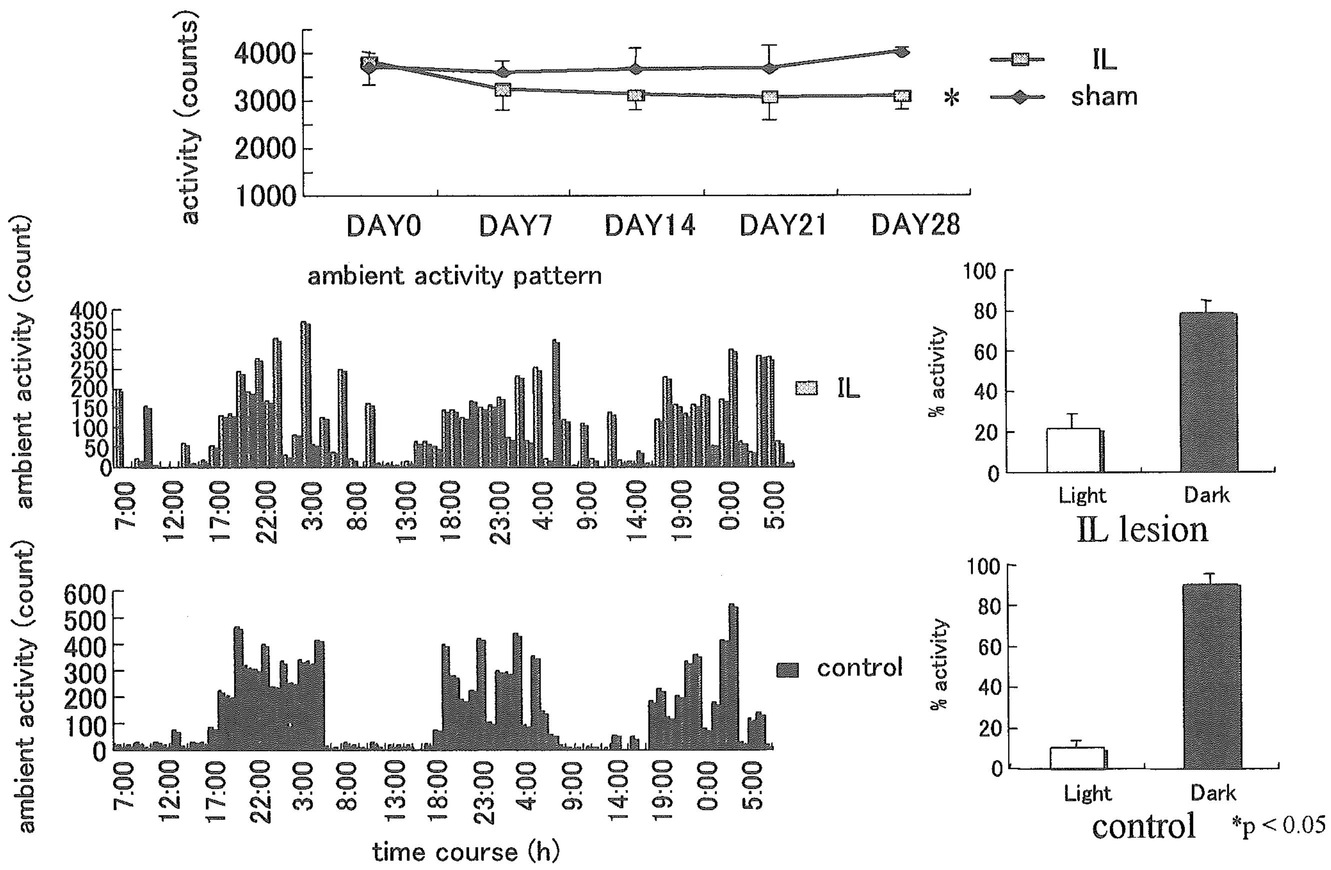
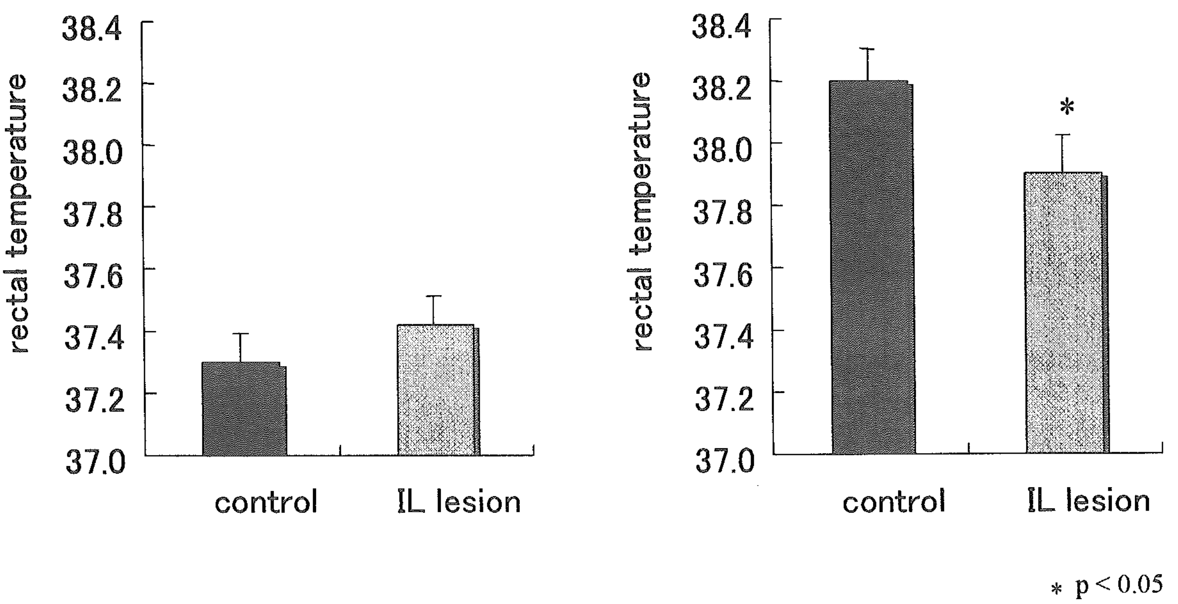


図５　　　IL lesion ラットの体温変化



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

オレキシン産生神経に対するレプチンとTNFαの作用について

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。われわれは、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、適切な覚醒レベルを保つために働くことを示してきた。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。今年度は、レプチンなどのサイトカインがオレキシン産生神経の活動を制御する細胞内機構を解明するために、電気生理学的な方法を用いて解析を行った。

研究目的

オレキシン産生神経細胞に対する、レプチンなどのサイトカイン類の作用および作用機構を明らかにする。このことにより、レプチン、TNFα等のサイトカインが神経細胞の活性を制御する機構を明らかにし、特に摂食行動の制御系におけるサイトカイン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、GFP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用いた。オレキシン神経特異的STAT-3欠損マウスは、オレキシン神経特異的Cre発現マウスとSTAT-3 floxマウスを交配させ、さらにorexin/EGFPマウスと交配させることによって作製した。これらのマウスの脳から作製した視床下部のスライス標本を用い、蛍光を指標にパッチクランプレコーディングを行い、レプチン、CNTF、IL-6、TNFαがそれぞれの神経の活動に与える影響を調べ、薬理学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

パッチクランプ実験により、オレキシン神経の100%(n=29)はレプチンによって抑制された。この作用はK-ATPチャネル開口剤（トルブタミド）、PI3K阻害剤（Ly294002）、JAK2の阻害剤（AG490）によってそれぞれ完全に阻害されることが明らかになった（図1、2）。また、current-clamp時(current-stepによるI-V曲線から)の逆転電位からもK^+チャネルの活性化を介していることが示唆された（図1）。さらに、STAT-3のconditional knockoutマウス（オレキシン神経特異的にCre recombinaseを発現するマウスと掛け合わせて、STAT-3をオレキシン神経特異的に欠損させたマウス）においても、レプチンによるオレキシン神経の抑制は観察された（図3）。したがって、レプチンはJAK2の活性化、PI3Kの活性化、K-ATPチャネルの開口を介してオレキシン神経を抑制し、この作用にはSTAT-3を必要としないということが明らかになった。

また、オレキシン神経はレプチンと似た情報伝達系をもつと考えられるCNTF、IL-6によっても抑制されることが明らかになった。これらの作用もトルブタミドによって完全に阻害された。さらに、オレキシン神経は、脂肪細胞から産生される別のサイトカインであるTNF-αによっても抑制されることが明らかになった（図2）。この作用もトルブタミドとLy294002によってそれぞれ完全に阻害された。

考察

これらのことから、レプチン、CNTF、IL-6やTNFαによるオレキシン神経の抑制に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。また、この系にはSTAT3は必要がないことがわかった。これまで、サイトカインによる神経細胞の調節機構はほとんど解明されていなかった。今回明らかになった機構がオレキシン神経だけではなく、他の神経細胞でも使われている機構であるならば、レプチンなどのサイトカインによる神経細胞の調節機構として大変重要である可能性がある。

結論

レプチンや、TNFαは脂肪細胞から分泌される、いわゆる"アディポサイトカイン"であるが、オレキシン神経に対する抑制作用は、末梢からの情報を視床下部に伝え、摂食行動や睡眠・覚醒を制御する機構の一部である可能性が高い。今回、レプチンや TNFα 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機構を明らかにした。この機構はレプチンなどの作用機序を考察する上で重要な知見であると思われる。

研究発表

論文発表

1. Tsujino N, Yamanaka A, Ichiki K, Muraki Y, Kilduff TS, Yagami KI, Takahashi S, Goto K, Sakurai T. Cholecystokinin Activates Orexin/Hypocretin Neurons through the Cholecystokinin A Receptor. J Neurosci. 25(32):7459-7469,2005
2. Meerabux J, Iwayama Y, Sakurai T, Ohba H, Toyota T, Yamada K, Nagata R, Irukayama-Tomobe Y, Shimizu H, Yoshitsugu K, Ohta K, Yoshikawa T. Association of An Orexin 1 Receptor 408(Val) Variant with Polydipsia-Hyponatremia in Schizophrenic Subjects. Biol Psychiatry. 58(5):401-7,2005
3. Sakurai T. Roles of orexin/hypocretin in regulation of sleep/wakefulness and energy homeostasis. Sleep Med Rev. 29(4):231-41,2005
4. Crocker A, Espana RA, Papadopoulou M, Saper CB, Faraco J, Sakurai T, Honda M, Mignot E, Scammell TE. Concomitant loss of dynorphin, NARP, and orexin in narcolepsy. Neurology. 2005 Oct 25;65(8):1184-8.
5. Sakurai T, Nagata R, Yamanaka A, Kawamura H, Tsujino N, Muraki Y, Kageyama H, Kunita S, Takahashi S, Goto K, Koyama Y, Shioda S, Yanagisawa M. Input of Orexin/Hypocretin Neurons Revealed by a Genetically Encoded Tracer in Mice. Neuron 46(2):297-308,2005
6. Hara J, Yanagisawa M, Sakurai T. Difference in obesity phenotype between orexin-knockout mice and orexin neuron-deficient mice with same genetic background and environmental conditions. Neurosci Lett. 380(3):239-42,2005
7. Sakurai T. Reverse pharmacology of orexin: from an orphan GPCR to integrative physiology. Regul Pept. 126(1-2):3-10, 2005

学会発表

1. 張薇、桜井　武、桑木共之「防衛反応に及ぼすオレキシン神経破壊の効果」日本生理学会大会 第82回 仙台国際センター2005年5月18日
2. 桜井　武「オレキシン神経の入力系の解析」第2回 GPCR研究会　日本科学未来館 2005年5月13日
3. 相川志都、桜井武、山中章弘、田中宏一、後藤勝年 マウスにおける手術侵襲下の NPB 脳室内投与の効果　第78回日本薬理学会年会　パシフィコ横浜 平成17年3月22日-24日
4. T. Sakurai. Input of orexin neurons: Implication in the regulation of behavioral states. Symposium Orexins/hypocretins, Kardinal Schulte Haus, Bensburg, Germany, 20-24. July. 2005
5. Nobuhiro Fujiki, shengwen Zhang, Yasushi Yoshida, Takeshi Sakurai, Masashi Yanagisawa, Seiji Nishino. The sex difference in body weight gain and serum leptin levels in two hypocretin/orexin deficient mice models. Symposium Orexins/hypocretins, Kardinal Schulte Haus, Bensburg, Germany, 20-24. July. 2005
6. T.Sakurai, Transgenic Retrograde Tracing Of Orexin Cells APSS 19th Annual Meeting,Denver Convention Center, Denver, CO, USA, 6/18-23, 2005
7. Sakurai T, Roles of orexin-producing neurons in the mechanism that regulates sleep/wakefulness states. International Symposium on Instinctive Brain Mechanisms Underlying the Basics of Life. Sanjo Conference Hall, the University of Tokyo January 28-29, 2005

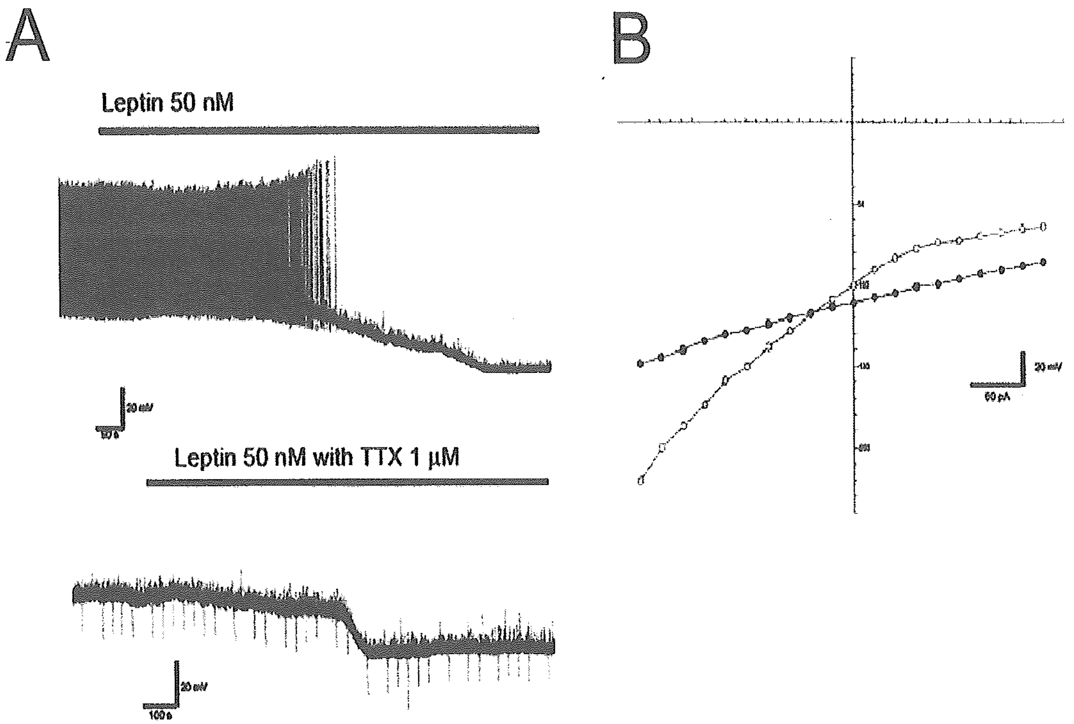


図１Aオレキシン神経のホールセルパッチクランプ後レプチン投与により、アクションポテンシャルの頻度低下、膜電位の過分極が起こった（上の図）。またその作用は直接的であることをテトロドトキシン存在下での実験から確認できた（下の図）。B. またその効果の電気生理学的解析（カレントステップによるIVカーブ）から、逆転電位がカリウム電流の理論値とほぼ一致することからKチャネルを修飾していることが示唆された。

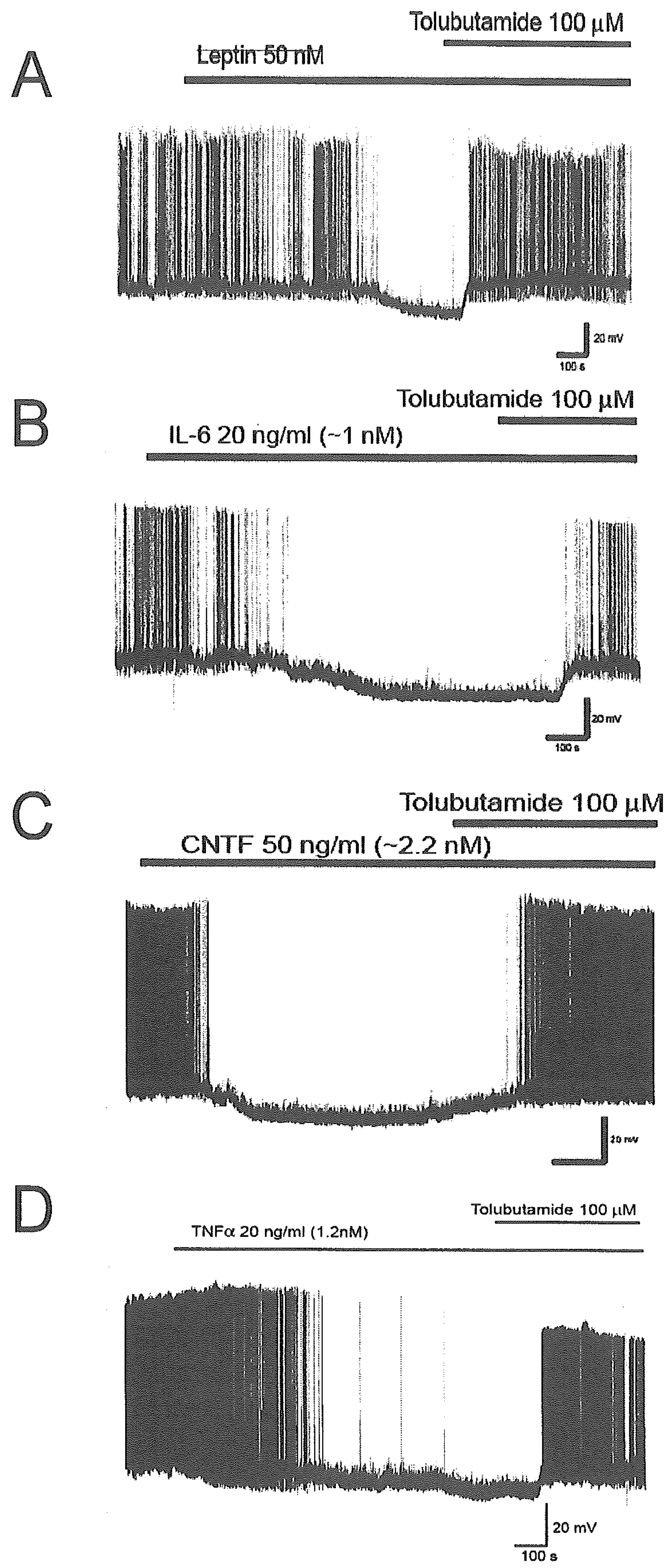


図2 レプチン(A)、IL-6(B)、CNTF(C)、TNF α (D)によって、オレキシン神経の抑制が観察された。これらの作用はトルブタミドによって阻害され、すべて K-ATP チャネルを介していることが示唆された。