

aP2 プロモーターを用いて脂肪組織特異的に遺伝子 X を過剰発現するトランスジェニックマウスを作製した。導入遺伝子を有する産仔がなかなか得られなかったが、最近、導入遺伝子数の異なる 2 系統が得られた(1 コピー/10 コピー)。今後、標準食あるいは高脂肪食負荷による体重の推移、脂肪組織の代謝変化、糖脂質代謝を検討する予定である。

2. 骨格筋萎縮モデルマウスにおける高脂肪食負荷の影響

標準食では高発現群と低発現群のいずれにおいても FOXO1 マウスは野生型マウスと比較して筋萎縮によると考えられる体重減少が認められた。高脂肪食負荷により体重差は減少して負荷後約 10 日で体重有意差が消失し、解剖時には FOXO1 マウスと野生型マウスはほぼ同程度となった(図 2)。この時 FOXO1 マウスの骨格筋は野生型と比較して著しく萎縮しており、筋重量は有意に減少していた。脂肪組織重量は野生型マウスと比較して逆に有意に増加していた(高発現群; $P < 0.05$ 、低発現群; $P < 0.01$)。

考察

カロリー制限により脂肪組織において遺伝子 X の発現は著しく誘導され、脂肪細胞肥大化抑制するため生体の脂質代謝において重要な役割を果たす可能性がある。本研究により得られたトランスジェニックマウスはダイエットによりもたらされる脂肪組織の代謝変化の分子機構の解明につながることを期待される。一方、骨格筋萎縮モデルマウスである FOXO1 マウスでは、骨格筋量の減少あるいはミトコンドリアを豊富に有する I 型筋線維(赤筋)の減少による骨格筋の質的な変化により、高脂肪食負荷による体脂肪量は野生型マウスと比較してより増加する可能性が示唆された。

結論

極端なダイエットと過食により脂肪組織あるいは骨格筋は著しい代謝変化をきたしており、その中でも我々は脂肪細胞肥大化抑制作用を有する遺伝子 X および絶食やカロリー制限により骨格筋において遺伝子発現が誘導されるフォークヘッド型転写因子 FOXO1 に着目した。この分子機構の解明は中枢性摂食異常症の病態生理の理解につながるものと思われる。

研究危険情報

なし

研究発表

論文発表

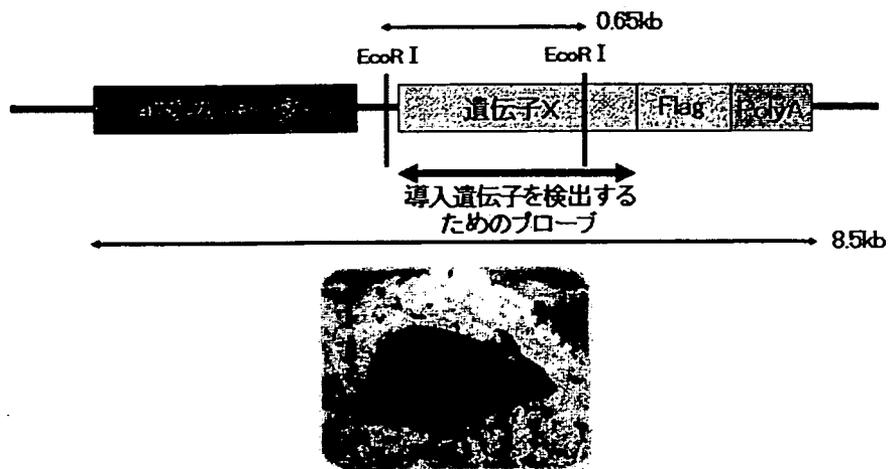
1. K. Ebihara, T. Kusakabe, M. Hirata, H. Masuzaki, F. Miyanaga, N. Kobayashi, T. Tanaka, H. Chusho, T. Miyazawa, T. Hayashi, K. Hosoda, Y. Ogawa, A.M. Depaoli, M. Fukushima, and K. Nakao. Efficacy and safety of leptin-replacement therapy and possible mechanisms of leptin actions in patients with generalized lipodystrophy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 92:532-541, 2007.
2. L. Miyamoto, T. Toyoda, T. Hayashi, S. Yonemitsu, M. Nakano, S. Tanaka, K. Ebihara, H. Masuzaki, K. Hosoda, Y. Ogawa, G. Inoue, T. Fushiki, and K. Nakao. Effect of acute activation of 5'-AMP-activated protein kinase on glycogen regulation in isolated rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 102:1007-1013, 2007.
3. A. Yasui, H. Nishizawa, Y. Okuno, K. Morita, H. Kobayashi, K. Kawai, M. Matsuda, K. Kishida, S. Kihara, Y. Kamei, Y. Ogawa, T. Funahashi, and I. Shimomura. Foxo1 represses expression of musclin, a skeletal muscle-derived secretory factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 364:358-365, 2007.

学会発表

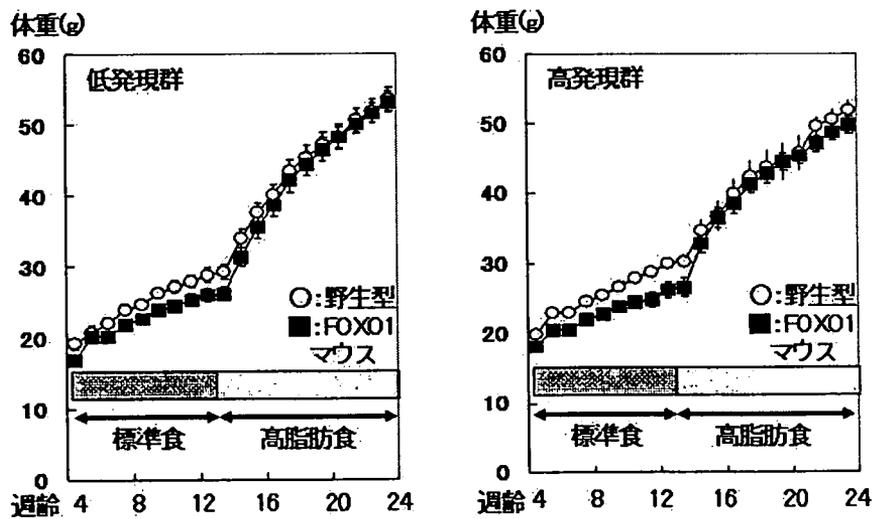
1. 小川佳宏 脂肪細胞リモデリング 第 50 回日本糖尿病学会 2007.5.24-26, 仙台
2. 小川佳宏 レプチンと炎症・臓器線維化 第 44 回日本臨床分子医学会 2007.7.20-21, 和歌山
3. 亀井康富、菅波孝祥、赤池史子、金井紗綾香、岡淳一郎、三浦進司、江崎治、小川佳宏 骨格筋で転写因子 FOXO1 を過剰発現させ筋萎縮が生じたマウスでは体脂肪量の増加をきたす 第 28 回日本肥満学会 2007.10.19-20, 東京

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし



(図1)トランスジェニックマウスの作製に用いた導入遺伝子の構造



(図2)骨格筋萎縮モデルマウスにおける高脂肪食負荷後の体重変化
高脂肪食負荷によりFOXO1マウスと野生型マウスの体重差は減少し、負荷約10日後には体重有意差が消失した。

グレリン・ノックアウトマウスの解析

分担研究者 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

研究要旨 グレリンは、摂食亢進や脂肪蓄積などの作用を持つエネルギー代謝調節ホルモンである。我々は、糖尿病や肥満症の発症におけるグレリンの作用機構を明らかにするために、グレリン欠損マウスを作出した。野生型マウスとグレリン欠損マウスの比較において、体重と積算摂食量に差は認められず、摂食行動の日内リズムや、制限給餌による摂食量、餌探し課題による学習記憶能にも差は認められなかった。一方、グルコース寛容試験において野生型マウスとグレリン欠損マウスの間に血糖値の差は認められなかった。絶食を行ない、肝臓のアセチル CoA カルボキシラーゼ、脂肪酸合成酵素、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼの遺伝子発現量を検討したが差は認められなかった。しかしグレリン欠損マウスは血圧不安定、体温維持機構の異常、消化管運動の低下、血圧・体温の日内リズム異常など、自律神経系の異常を示す。この自律神経系の異常は視床下部や延髄を中心とした中枢性のものである。

研究目的

研究分担者らは 1999 年に胃組織から、オーファン受容体 GHS-R (growth hormone secretagogue receptor: 成長ホルモン放出促進因子受容体) の内因性リガンドであるグレリン (ghrelin) の発見、構造決定に成功した。グレリンは強力な成長ホルモン (GH) 分泌促進活性をもつアミノ酸 28 個からなるペプチドであり、3 番目の Ser 残基の側鎖が脂肪酸である n-オクタン酸 (C8:0) によってアシル化修飾を受けており、さらにこの脂肪酸修飾が活性発現に必須であるという極めてユニークな構造をしている。申請者らはこれまでの研究で、胃がグレリンの主な産生臓器であり、胃から分泌されたグレリンが血流を介して下垂体に作用し、GH 分泌を刺激するという、新しい GH 分泌調節経路を示した。またグレリンが強力な摂食亢進作用を有し、慢性投与によって肥満を誘発することを見出した。このような研究からグレリンは摂食抑制ホルモンであるレプチンと作用の点で拮抗するホルモンであり、中枢における食欲の調節や摂食障害の病態と密接な関連がある。さらにグレリンは全身のエネルギー消費・代謝の調節、肥満との関連、循環調節系における心血管の保護作用など、幅広い生理的役割が示唆されており、摂食障害や心不全などでグレリンの補充による治療応用が期待されている。

このような多くの生理作用を持つグレリンの機能を解明するためにノックアウト・マウスの作成・解析は欠かせない。我々はグレリン欠損マウスを作成し、グレリン欠損が生体どのような影響を及ぼすのかを詳細に検討した。

研究方法

・グレリン欠損マウスの作製

グレリン欠損マウスを作成し、グレリン欠損の影響を詳細に検討した。欠損マウスは通常の作製法によって行った。すなわち、マウスのグレリン cDNA 全長部分を完全に欠損させるためのプラスミド・ベクターから欠損 ES 細胞をピックアップし、キメラ・マウスを得た。交配によってグレリンのホモ欠損マウスを誕生させた。遺伝的背景を整えるために、野生型の C57BJ/6J との交配を重ね、9 世代以上バッククロスを繰り返した。

・グレリン欠損マウスの解析

遺伝的背景を C57BJ/6J にしたグレリン欠損マウスを使って、成長障害の有無、摂食障害の有無、身体・臓器の奇形の有無等を調べた。欠損マウスでの血中成長ホルモン濃度、他の血中ホルモン濃度を測定した。身長・体重の増加、摂食量などを測定し、グレリン欠損の影響を調べた。欠損マウスにおいて摂食と飲水の生体リズムを調べた。一日の決まった時間 (9時から13時まで) だけ摂食を可能にした制限給餌を行って、摂食量を調べた。グレリン受容体が海馬にも存在することから、グレリンの記憶形成における役割が示唆されるので、欠損マウスにおいて記憶障害の有無を調べた。グルコース負荷による血糖値の変化や、肝臓における脂質代謝酵素の変動、視床下部におけるグレリン以外の摂食調節ペプチドの発現について調べた。

さらに非侵襲的な解析を行うために、埋め込み式の血圧測定器・体温測定器を用いて、1 週間以上の長期間にわたって、血圧・心拍数・体温を連続測定した。

また消化管機能を調べるために、色素を含んだ餌を用

いて胃排出能試験を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験に際してはその愛護に留意し、投与実験や屠殺の際に苦痛を最小限にとどめるように十分配慮した。

研究結果

1. グレリン欠損マウスにおける代謝・エネルギー調節関連の検討

摂食促進ホルモンのグレリンについて、グレリン欠損マウスを作成し、その遺伝的背景を C57BL/6J に整えた上で摂食行動などの解析を行った。

グレリン欠損マウスは致死性でなく、形態的な異常は見られない。野生型マウスとグレリン欠損マウスの比較において、体重と積算摂食量に差は認められず、摂食行動の日内リズムや、制限給餌による摂食量、餌探し課題による学習記憶能にも差は認められなかった。

一方、グルコース寛容試験においても野生型マウスとグレリン欠損マウスの間に血糖値の差は認められなかった。絶食を行ない、肝臓のアセチル CoA カルボキシラーゼ、脂肪酸合成酵素、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼの遺伝子発現量を検討したが差は認められなかった。

このように、現在までに解析を進めた項目において、野生型マウスとグレリン欠損マウスに明確な差は認められなかった。一般にノックアウトマウスでは他の因子によって代償機構が働くことが考えられることから、現在さらなる検討を進めている。

2. グレリン欠損マウスにおける自律神経機能の検討

非侵襲的な解析を行うために、埋め込み式の血圧測定器・体温測定器を用いて、1 週間以上の長期間にわたり、血圧・心拍数・体温を連続測定した。また胃排出能試験を行って消化管機能を調べた。

グレリン欠損マウスは血圧不安定、体温維持機構の異常、消化管運動の低下、血圧・体温の日内リズム異常など、自律神経系の異常を示す。予備的な研究からこの異常は視床下部や延髄を中心とした中枢性のものであることを確かめている。

中枢性摂食異常症の患者においては単に摂食障害だけでなく、その他の様々な異常を訴える。これらは血圧・体温・消化管機能などの自律神経系の異常が多く、今回のグレリン欠損マウスの表現型との関連が興味深い。

考察

グレリン欠損マウスに関してはすでに米国のグループが欠損マウスの作製と表現型の解析を行っており、いくつかの論文も発表されている。しかし、いずれのグループも目

立った表現型を観察していない。今回、われわれはグレリン欠損マウスの遺伝的背景を C57BL/6J に整えた上で、詳細な表現型の解析を行った。その結果われわれの検討でも、欠損マウスの体重、摂食量、行動に目立った変化はなかった。これはグレリンの摂食亢進作用の欠落を補うような機構が、生体内にあることを示している。つまり食欲の刺激はグレリンが単独で行っているのではなく、複数の因子が関与したものと考えられる。そのためグレリンが欠損しても、バックアップの因子がうまく食欲・摂食行動を調節して食欲の低下・消失を防止し、それによる栄養不良や死ぬことがないようにしていると考えられる。

一方、非侵襲的に血圧・心拍数・体温などの自律神経機能を調べた結果、グレリン欠損マウスは血圧不安定、体温維持機構の異常、消化管運動の低下、血圧・体温の日内リズム異常など、自律神経系の異常を示すことが明らかになった。

中枢性摂食異常症の患者においては単に摂食障害だけでなく、その他の様々な異常を訴える。これらは血圧・体温・消化管機能などの自律神経系の異常が多く、今回のグレリン欠損マウスの表現型との関連が興味深い。

結論

グレリン欠損マウスの表現型を詳細に解析したところ、血圧・脈拍数・体温・消化管運動などの自律神経系の異常を見いだした。

研究発表

論文発表

1. Kojima M, Ida T, Sato T. Structure of Mammalian and nonmammalian ghrelins. *Vitam Horm.* 2007;77:31-46.
2. Kojima M. The discovery of ghrelin - A personal memory. *Regul Pept.* 2007 Sep 21; [Epub ahead of print]
3. Sato T, Kurokawa M, Nakashima Y, Ida T, Takahashi T, Fukue Y, Ikawa M, Okabe M, Kangawa K, Kojima M. Ghrelin deficiency does not influence feeding performance. *Regul Pept.* 2007 Sep 18; [Epub ahead of print]
4. Takahashi H, Kurose Y, Sakaida M, Suzuki Y, Kobayashi S, Sugino T, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y. Ghrelin differentially modulates glucose-induced insulin secretion according to feeding status in sheep. *J Endocrinol.* 2007 Sep;194(3):621-5.
5. Sato S, Hanada R, Kimura A, Abe T, Matsumoto T,

- Iwasaki M, Inose H, Ida T, Mieda M, Takeuchi Y, Fukumoto S, Fujita T, Kato S, Kangawa K, Kojima M, Shinomiya K, Takeda S. Central control of bone remodeling by neuromedin U. *Nat Med.* 2007 Oct;13(10):1234-40. 2:
6. Miyazato M, Mori K, Ida T, Kojima M, Murakami N, Kangawa K. Identification and functional analysis of a novel ligand for G protein-coupled receptor, Neuromedin S. *Regul Pept.* 2007 Aug 24; [Epub ahead of print]

学会発表

1. 児島将康 摂食調節ペプチド、グレリンの生理作用と臨床応用 日本生化学会・中国四国支部会 2007 (高

知)

2. 児島 摂食調節ペプチド、グレリンの生理作用と臨床応用 第5回肝臓病研究会 (東京)
3. 児島将康 Neuromedin Uと摂食・肥満・炎症 第34回日本神経内分泌学会 (前橋)
4. 児島将康 脂肪酸摂取によるグレリン産生の調節機構 第12回アディポサイエンス研究会 (大阪)
5. 児島将康、グレリンによる摂食調節の分子機構、北里大学獣医畜産学部ハイテク・リサーチ・センター報告会、2006.9.30

知的財産権の出願・登録状況

なし

レプチンによる視床下部ニューロンの制御機構に関する研究

分担研究者 櫻井 武 金沢大学大学院医学系研究科 分子神経科学・統合生理学 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ニューロンにより産生される神経ペプチドである。オレキシンの投与によりニューロペプチドY産生ニューロンの活性化などを介して摂食行動を亢進させることが知られている。また、オレキシンニューロンは覚醒の維持、報酬予期の行動に重要な役割をしている。一方、オレキシンニューロンは、絶食時などエネルギーバランスが負に傾いたときに血糖値やレプチンレベルの低下、グレリンレベルの上昇により活性化されることから、これら、全身の代謝状態を反映するシグナルを感知して摂食行動を支配していると考えられる。我々はすでにレプチンによりオレキシンニューロンが抑制を受けることを見出している。また、その細胞内情報伝達機構として PI3 キナーゼおよび ATP 感受性 K チャネルの活性化が関与することを見出している。さらに db/db マウスや STAT3 コンディショナル KO マウスのオレキシン神経を用いた解析から、レプチンによるこの作用にはレプチン受容体の STAT3 認識部位、また STAT3 が必要ではないということが明らかになった。つまり、db/db マウスや STAT3 欠損マウスのオレキシンニューロンでもレプチンによる抑制が観察された。これらの機構は NPY ニューロンでも同様であった。この *in vitro* で認められた反応が *in vivo* で db/db マウスにおいてどのような影響があるかについて解析を行った。

研究目的

レプチンは視床下部のニューロンに作用して摂食行動の制御に重要な役割をしている。視床下部には NPY、POMC、MCH、オレキシン、CRH など摂食行動の制御に非常に重要な役割を果たしている神経ペプチドを産生するニューロン群が存在している。レプチンはこれらのニューロンを介して摂食行動を制御していると考えられており、これらのニューロンのレプチンによる制御機構を解明することは摂食行動を理解するうえで重要である。本研究では、レプチンがこれらの視床下部ペプチド作動性ニューロンを制御するメカニズムを細胞レベルおよび個体レベルで検討することを目的とした。

研究方法

レプチン受容体変異マウスである db/db マウス及びコントロールマウスを麻酔下に脳固定装置に固定し、側脳室へのカニューレ留置を行った。マウスが十分回復した後、前夜から絶食をかけ、当日朝にこれらマウスの脳へ合成レプチン(3 μ g/匹)投与を行った。投与後に再び餌を与え、その後の体重変化、食餌量を測定した。

また、db/db マウスにおけるレプチン効果の体重への影響を検討するため、db/db マウスとレプチン変異体マウスである ob/ob マウスとの掛け合わせ交配を行い、ダブルミュー

タントマウスを作製し、シングルミュータント、コントロールマウスとともに離乳後の体重変化を観察した。

(倫理面への配慮)

外科手術に伴う苦痛を最小限に抑えるため、十分な麻酔(ペントバルビタール)、熟達した手技のもと手術を行った。また、術後は、1週間以上をおき、充分回復した後に試験に用いた。

研究結果

絶食した後、レプチン脳室内投与を行い明期における再食応答を検討したところ、db/db マウスにおいても急性期にレプチンによる摂食抑制効果が観察された(図1)。しかしながら、慢性的には db/db マウスにはレプチンによる摂食抑制、体重低下作用が現れず、ob/ob マウスと同様の表現系を呈することが明らかとなった(図2)。

ob/ob マウスと db/db マウスの掛け合わせ交配より得られるダブルミュータントマウスと、それぞれのシングルミュータントマウス、及びどちらの遺伝子もホモ変異を持たないコントロールマウスの離乳後体重成長を比較したところ、コントロールに比べ ob/ob マウス、db/db マウス、ob/ob & db/db ダブルミュータントマウスは肥満を示したが、これらのミュータント間には有意な差が認められなかった(図3)。

以上のことから、①神経細胞への直接作用としてレプチ

ンは視床下部摂食制御に関わるオレキシン産生神経やその他の視床下部神経に対して、PI3KとATP感受性Kチャネルの活性化を介して電気生理学的な影響を与えるが、この系にはSTAT3の活性化は必要ではない。②この作用は急性期におけるレプチンの摂食量低下作用に一部関与しているが、慢性的な体重変化には影響を持たない。③長期的な体重制御にはレプチンによるSTAT3活性化の経路が必須である、ということが明らかになり、レプチン作用の急性・慢性作用の作用機序に違いがあることが示唆された。

考察

レプチンによる視床下部神経の活動に、オレキシン、NPY神経ではJAK2, PI3キナーゼとK-ATPチャネルが、POMC神経ではJAK2, MAPKKと非選択的カチオンチャネルが関与していることを明らかにしている。しかし、これらの系は、作用が急性であることやSTAT3非依存性の応答であることからin vivoへの影響がほとんど解明されていなかった。また、db/dbマウスにおいてレプチン効果が現れることは殆ど知られていないため、本研究の着眼点で行われた研究は行われてこなかった。本研究によって、結果としては慢性的な体重成長への影響が無いことが明らかになったが、一方で、急性期のみでの作用ではあるが、db/dbマウスでもレプチン作用があることがin vivo/in vitroで明らかになり、レプチンのSTAT3の活性化と遺伝子の転写を介さない作用機序が短期の摂食行動を司る視床下部神経調節機構として働いている可能性がある。

結論

レプチンはいわゆる“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、レプチンによる視床下部神経への作用機構として、STAT3非依存的に急性の摂食抑制に関与することを明らかにした。一方、STAT3を介した慢性的なレプチン作用が体重成長への影響をあることが示され、これらの機構は、短期の摂食調節におけるレプチンの作用とその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. Sakurai T. Neural Circuit of Orexin (Hypocretin): Mainaining Sleep and Wakefulness. Nat. Rev. Neurosci. 8, 171-181, 2007.

2. Sakurai, T. Input and Output of Orexin/Hypocretin Neurons: Link Between Arousal Pthways and Feeding Behavior. Bassetti, C.L., Billard, M., and Mignot, E. Lung Biology in Health and Disease Vol.22: Narcolepsy and Hypersomnia Informa Healthcare, USA, Inc. USA 2007 399-410
3. 桜井 武 オレキシン 精神 KEY WORD 第4版 先端医学社 2007 154-156

学会発表

1. 桜井 武 情動反応におけるNPB/NPWシステムの役割 (シンポジウム) Neuro2007 (第30回日本神経科学大会、第50回日本神経化学学会大会、第17回日本神経回路学会大会合同大会) 2007 横浜
2. 桜井 武 エネルギー恒常性と睡眠・覚醒を結ぶオレキシン神経の役割 (シンポジウム) 日本薬学会関東支部会 2007 東京
3. 桜井 武 新規神経ペプチドによる食行動と生活リズムの制御機構 第17回体力・栄養・免疫学会 2007 東京
4. Taizo Matsuki, Mika Nomiyama, Hitomi Takahira, Noriko Hirashima, Masashi Yanagisawa, Takeshi Sakurai Expression of GABAB receptor in orexin neurons is highly important for proper regulation of wakefulness. 第80回日本薬理学会 2007 名古屋
5. Junko Hara, Taizo Matsuki, Katsutoshi Goto, Masashi Yanagisawa, Takeshi Sakurai Effects of inflammatory cytokines on orexin neurons 第29回日本神経科学大会 2007 京都
6. 桜井 武 reverse pharmacologyによる新規神経ペプチドの研究 第13回秋田疼痛研究会 2007 秋田
7. 桜井 武 オレキシンによる睡眠・覚醒状態の安定化機構 阪大蛋白研セミナー 2007 大阪永田ルビー、石井誠、北村洋二、原 淳子、後藤勝年、桜井 武 GPR7ノックアウトマウスにおける不安関連の行動異常 第79回日本薬理学会年会 パシフィコ横浜 2006年3月5

図1 レプチン脳室内投与によるdb/db マウスにおける摂食応答

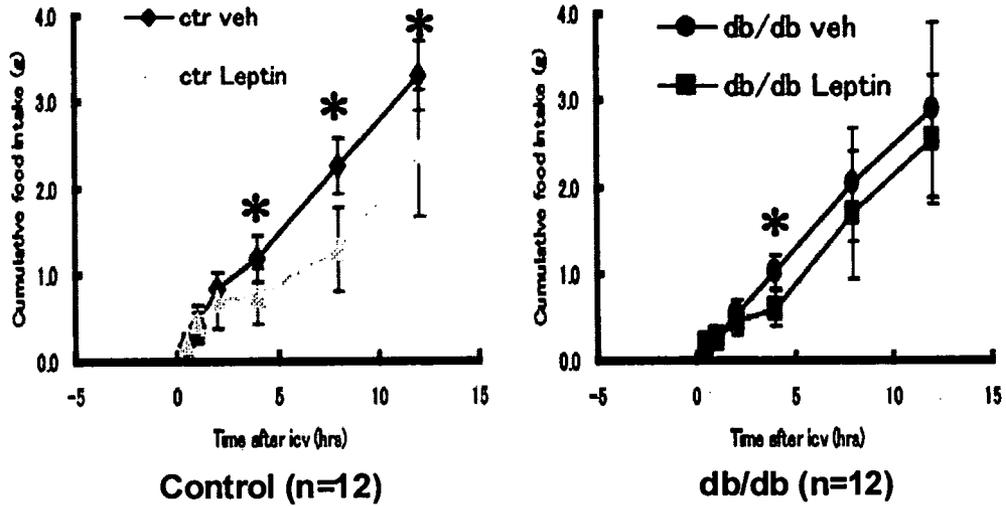


図2 レプチン脳室内投与によるdb/db マウスにおける体重変化

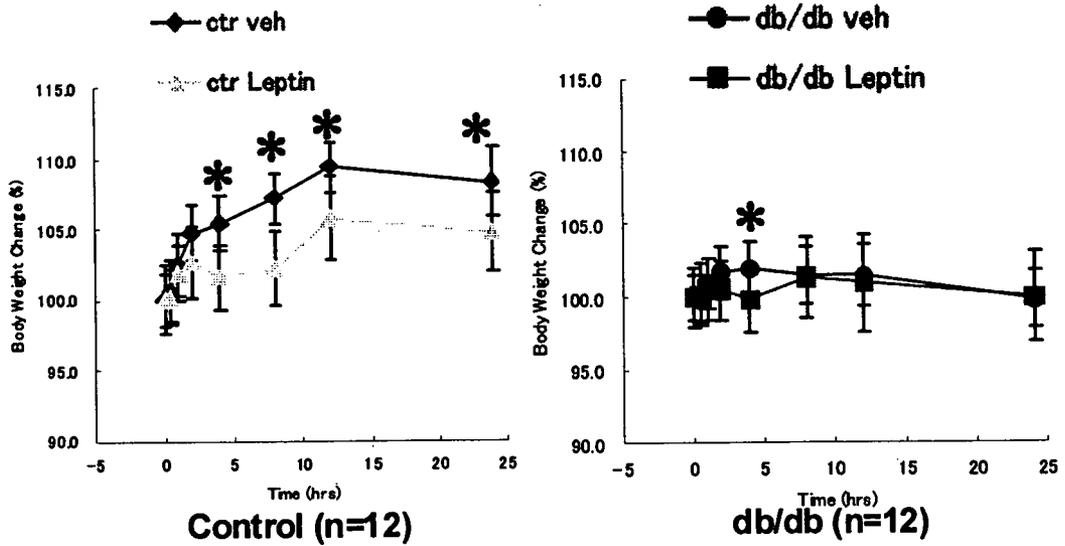
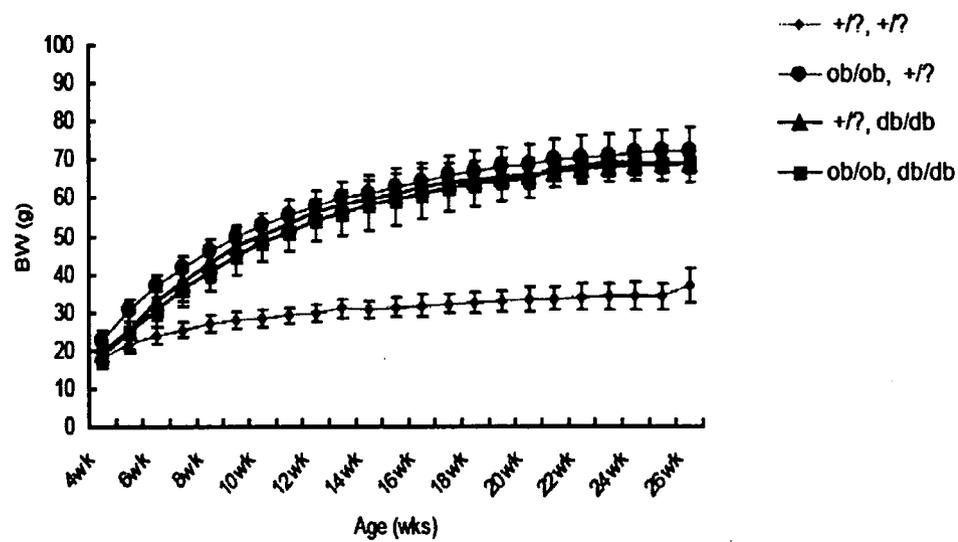


図3 ob/ob; db/dbダブル mutantの体重成長



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

視床下部メラノコルチン系の活性化によるレプチン抵抗性の改善と
骨格筋 AMP キナーゼ活性の回復に関する研究

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
田中 智洋 京都大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科学
日下部 徹 京都大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科学
平田 雅一 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
細田 公則 京都大学大学院医学研究科 内分泌・代謝内科学

研究要旨 中枢性摂食過剰症のメカニズム解明と新しい治療法の開発を目指して肥満における脂肪細胞由来ホルモン、レプチンの作用不全(レプチン抵抗性)に焦点を当てた基礎的な研究を進めてきた。本年度はレプチン過剰発現トランスジェニックマウス、高脂肪食負荷肥満マウス、アグーチマウスを用いて骨格筋 AMPK を指標とするレプチン抵抗性の分子機構の解析を継続した。種々の肥満モデルマウスに対する4型メラノコルチン受容体(MC4R)アゴニスト:MT-II、MC4R アンタゴニスト:SHU9119 の脳室内投与実験により、(1) 高脂肪食によって誘導される骨格筋 AMPK 活性化の減弱が視床下部のレプチン抵抗性を鋭敏に反映していること、(2)MC4R アゴニスト脳室内投与はレプチン抵抗性状態にも奏功し、レプチン過剰発現トランスジェニックマウスで観察される 骨格筋 AMPK 活性化の亢進 を回復し、過食や糖脂質代謝異常を是正することが明らかとなった。肥満に伴うレプチン抵抗性は MC4R より上流のシグナル伝達障害に起因することが示唆され、MC4R アゴニストの中枢性摂食過剰症に対する治療薬としての臨床的意義が注目される。

研究目的

脂肪細胞由来ホルモン、レプチンは強力な摂食抑制作用と体重調節とは独立したユニークな糖脂質代謝活性化作用を併せ持つ。本研究では中枢性摂食過剰症のメカニズム解明と新しい治療法の開発を目指し、肥満における脂肪細胞由来ホルモン、レプチンの作用不全(レプチン抵抗性)に焦点を当てた基礎的な研究を進めてきた。私達は脳室内カニューレーション留置手術を施したマウス肥満モデルを用い、非拘束下の状態で骨格筋における AMP キナーゼ活性を精密に測定する系を樹立することに成功し、骨格筋 AMP キナーゼ活性が視床下部におけるレプチン感受性を鋭敏に反映する生化学指標であることを報告した(Diabetes 54:2365-2374, 2005)。本方法を活用し、今年度はレプチン過剰発現トランスジェニックマウスや遺伝性肥満アグーチマウスに対する4型メラノコルチン受容体(MC4R)アゴニスト:MT-II、MC4R アンタゴニスト:SHU9119の脳室内投与実験により骨格筋AMPキナーゼ活性化に関わる視床下部経路を明らかにすることを試みた。

研究方法

すべての動物実験は動物の愛護および管理に関する法律および京都大学動物実験に関する指針、理化学研究所動物実験に関する指針を遵守して実行された。トランスジェニックマウス、アデノウイルスによる遺伝子導入など遺伝子改変マウスを用いる研究においてはカルタヘナ法に準拠して行い、適切な麻酔などで動物に与える苦痛を最小限に留め、動物愛護に関する最大限の配慮を払った。マウス脳室内カニューラ、皮下カニューラを留置・馴化させ、カニューラより以下に述べる薬剤を脳室内投与(一日2回、5日間)し、皮下カニューラからの過剰量抱水クロラル投与にて麻酔後、骨格筋を採取した(図1)。骨格筋 AMP キナーゼ活性化の評価には リン酸化AMPキナーゼ抗体、AMPキナーゼの直下流に位置する ACC(アセチル CoA カルボキシラーゼ)リン酸化抗体、サムスペプチドを用いた酵素活性の測定と骨格筋中性脂質含量測定を利用した。視床下部が制御する骨格筋 AMP キナーゼ活性化の経路におけるメラノコルチン系の関与を明らかにする目的で、骨格筋 AMP キナーゼ活性化が持続的に上昇しているレプチン高感受性遺伝子操作マウスに対する4型メラノコルチン受容体アンタ

ゴニスト(SHU9119)あるいは4型メラノコルチン受容体アゴニスト(MT-II)の脳室内投与を行い、骨格筋 AMP キナーゼ活性を評価した。内因性メラノコルチン拮抗物質、agouti 蛋白を視床下部で異所性に高発現する遺伝性肥満アグーチマウスを用いて同様の検討を行い、4型メラノコルチン受容体シグナルの遺伝的、薬理的阻害がレプチンによる骨格筋 AMP キナーゼ活性化に及ぼす影響を検討した。

研究結果

4型メラノコルチン受容体アゴニスト(MT-II)の脳室内投与は骨格筋 AMPK および ACC のリン酸化を亢進させ、4型メラノコルチン受容体アンタゴニスト(SHU9119)の脳室内共投与あるいはアグーチマウスにおいてはレプチンによる骨格筋 AMP キナーゼ活性化が完全に遮断された。アグーチマウスにおけるこのような効果が肥満に伴う二次的なものである可能性を除外するため、肥満が完成する前の段階である6週齢アグーチマウスを用いて同様の検討を行なったが同様の結果を得た(図2)。高脂肪食により骨格筋 AMPK および ACC のリン酸化が低下したレプチン過剰発現トランスジェニックマウスに対するレプチン脳室内投与は骨格筋 AMPK 活性化をもたらさず、過食や糖脂質代謝異常も是正されなかった。一方、このレプチン抵抗性状態における4型メラノコルチン受容体アゴニスト(MT-II)の脳室内投与は骨格筋 AMPK および ACC のリン酸化の亢進を回復させ(図3)、過食の正常化、糖脂質代謝の正常化をもたらした。

考察

中枢性摂食過剰症の病態解明と新規治療法の開発はメタボリックシンドロームが増加する我が国の保険・医療・厚生労働行政の今後極めて重要な課題であると言える。本研究の結果から、高脂肪食性肥満に伴うレプチン抵抗性は MC4R より上流のシグナル伝達障害に起因することが示唆され、MC4R アゴニストの中枢性摂食過剰症に対する治療薬としての臨床的意義が注目された。最近の報告では高脂肪食性肥満を来したマウス視床下部 室傍核 で

は MC4R 遺伝子発現レベルが著明に上昇しており、このような状態は本来的に MC4R アゴニストの効果が発揮されやすい状態にプライミングされている可能性が示唆される(*Cell Metabolism* 5:181-194, 2007)。ヒトにおいても同様のメカニズムが働いていると仮定すると安全に応用できる MC4R アゴニストは中枢性摂食過剰症に対する極めて優れた治療法となることが期待される。

結論

高脂肪食性肥満に伴うレプチン抵抗性は MC4R より上流のシグナル伝達障害に起因することが示唆され、MC4R アゴニストの中枢性摂食過剰症に対する治療薬としての臨床的意義が注目される。

研究発表

論文発表

1. T.Tanaka, H. Masuzaki, S. Yasue, K. Ebihara, T. Shiuchi, T. Ishii, N. Arai, M. Hirata, H. Yamamoto, T. Hayashi, K. Hosoda, Y. Minokoshi, K. Nakao. Central melanocortin signaling restores skeletal muscle AMP-activated protein kinase phosphorylation in mice fed a high fat diet. *Cell Metabolism* 5:395-402, 2007
2. Ebihara K, Kusakabe T, Hirata M, Masuzaki H, Miyanaga F, Kobayashi N, Tanaka T, Chusho H, Miyazawa T, Hayashi T, Hosoda K, Ogawa Y, DePaoli AM, Fukushima M, Nakao K. Efficacy and safety of leptin-replacement therapy and possible mechanisms of leptin actions in patients with generalized lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 92(2):532-541.

知的財産権の出願・登録状況(予定も含む。)

すべて準備段階であり、今後の申請予定である。

Establishment of the Experimental Protocol

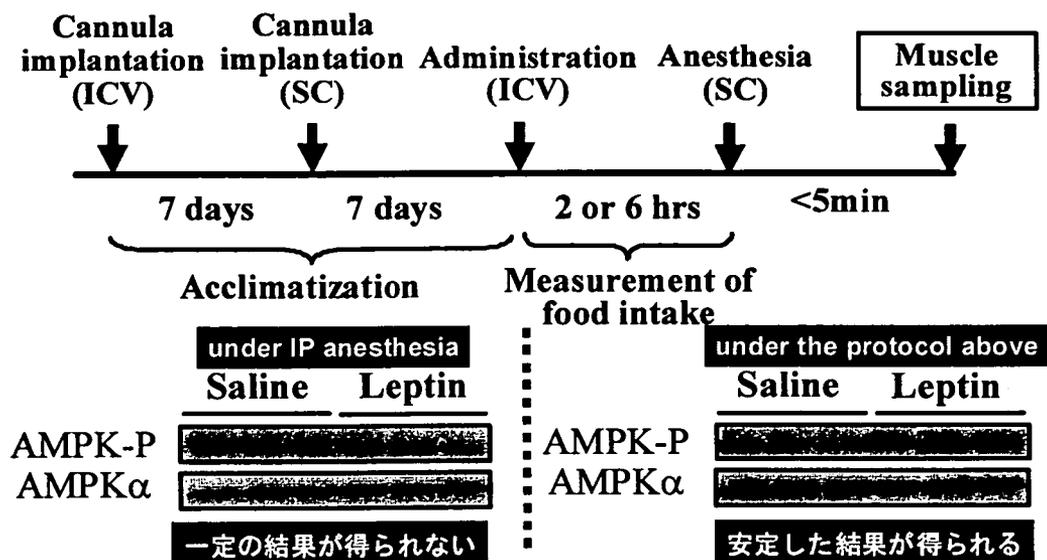


図1

Attenuation of Leptin-induced Skeletal Muscle AMPK and ACC Phosphorylation by Genetic Melanocortin Blockade

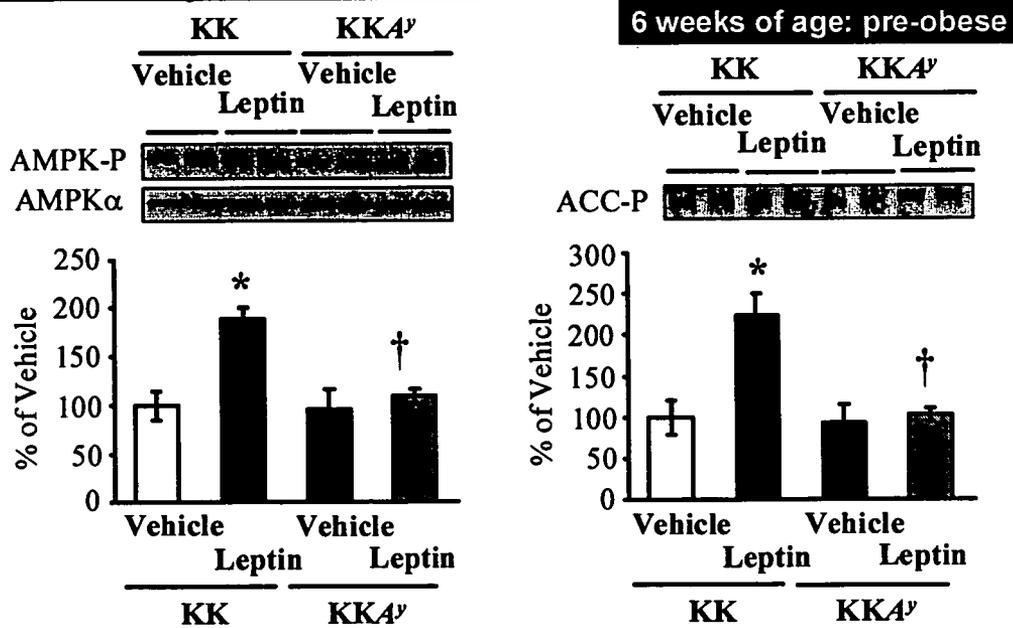


図2

高脂肪食で顕著に減弱したレプチンラシスジェニックマウスのAMPK、ACC活性はレプチン投与では回復せずMC4Rアゴニストの脳室内投与により回復する

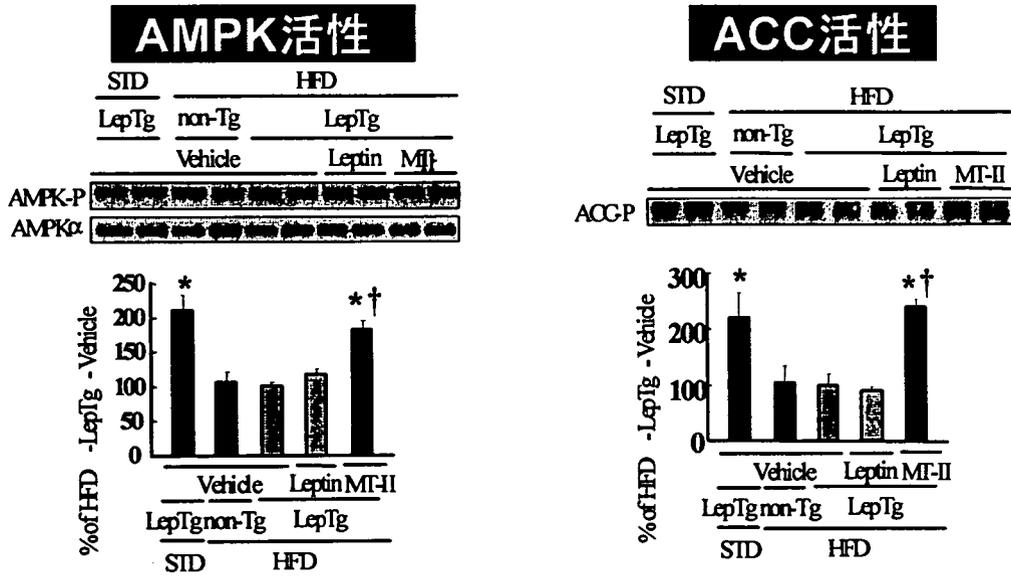


図3

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

グレリンファミリーペプチドの食欲・体重調節に及ぼす影響に関する研究

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(心身医療科) 教授

研究要旨 近年、グレリンと同じ遺伝子より生成されるオベスタチンが、ラットの胃より同定された。これまでに、オベスタチンの摂食、飲水、体重、腸管運動、記憶、学習、不安、インスリン分泌などへの影響が報告されている。我々は平成19年度において、神経性食欲不振症患者(AN)ならびに肥満者における血中オベスタチン濃度を測定した。また、ANにおいては、糖負荷試験における血中オベスタチン濃度の変化も併せて検討した。

AN群における血中オベスタチン濃度は健常コントロール群と比較して、有意に高値を示した。AN群における糖負荷後の血中オベスタチン濃度の低下は、グレリン濃度の低下と同様に遷延化した。肥満群における血中オベスタチン濃度は健常コントロール群と比較して、有意に低値を示した。

このように血中オベスタチン濃度が体重によって異なることは、オベスタチンが生体のエネルギー代謝に影響を及ぼしている可能性を示唆している。

研究目的

近年グレリンと同じ遺伝子より生成される、グレリンファミリーペプチドであるオベスタチンが胃より新たに発見された。これまでに、オベスタチンの摂食、飲水、体重、腸管運動、記憶、学習、不安、インスリン分泌などへの影響が報告されている。今回我々は、女性の神経性食欲不振症患者(AN)ならびに肥満者における血中オベスタチン濃度をアシルグレリン、デスアシルグレリン濃度とともに測定した。また、ANにおいては、糖負荷試験前後における血中オベスタチン濃度の経時的変化も併せて検討した。

研究方法

鹿児島大学病院臨床研究倫理委員会の承認および被験者の文書による同意の下、1)女性のAN10例、及び性、年齢を一致させた健常コントロール者10例の早朝空腹時の血中オベスタチン、アシルグレリン、デスアシルグレリン濃度、2)糖負荷前後における血中オベスタチン濃度、3)肥満者10例の空腹時血中オベスタチン濃度を測定した。オベスタチン濃度はPhoenixのRIA kit、アシルグレリン、デスアシルグレリン濃度は三菱のELISA kitを使用して測定した。

研究結果

1)AN群は、健常群に比べてオベスタチン濃度が有意に高かった($p<0.01$) (図1)。

2)AN群における糖負荷後の血中オベスタチン濃度の低下は、アシルグレリン濃度の低下と同様に遷延化した。(図2)。

3)肥満群では、オベスタチン濃度は健常群と比較して有意に低かった($p<0.05$)

4)アシルグレリン濃度は、AN群は健常群と変わらなかったが、肥満群では有意に低かった($p<0.05$)。

5)デスアシルグレリン濃度は、AN群で有意に高く($p<0.01$)、肥満群で有意に低かった($p<0.01$) (図3)。

6)オベスタチン濃度は、BMIや血糖、インスリン濃度、HOMA-Rと有意な負の相関を示し、アシルグレリン、デスアシルグレリン濃度とは有意な正の相関を示した(図4)。

考察

今回、我々はグレリンファミリーペプチドであるオベスタチンに焦点をあて、アシルグレリン、デスアシルグレリンとともにANならびに肥満者の血中濃度を測定した。オベスタチン濃度はANでは高値を示し、糖負荷試験前後の変化においてもアシルグレリンと同様の反応であった。また、肥満者ではオベスタチン濃度は低値を示し、アシルグレリン、デスアシルグレリン濃度と正の相関を示した。血中オベスタチン濃度が体重によって異なることにより、オベスタチンが生体のエネルギー代謝に影響を及ぼす可能性が示唆されるが、オベスタチンの生理的、病態的役割に関しては、今後、複数の測定法による血中濃度の確認、薬理的投与

実験などを含め、さらなる検討が必要とされるものと考えられる。

結論

血中オベスタチン濃度が AN では高値を、肥満者では低値を示したことは、オベスタチンが生体のエネルギー代謝に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

研究発表

論文発表

1. Nakahara T, Kojima S, Tanaka M, Yasuhara D, Harada T, Sagiya K, Muranaga T, Nagai N, Nakazato M, Nozoe S, Naruo T, Inui A: Incomplete restoration of the secretion of ghrelin and PYY compared to insulin after food ingestion following weight gain in anorexia nervosa. *J Psychiatr Res*, 41(10): 814-820, 2007
2. Kojima S, Ueno N, Asakawa A, Sagiya K, Naruo T, Mizuno S, Inui A: A role for pancreatic polypeptide in feeding and body weight regulation. *Peptides*, 28(2): 459-463, 2007
3. Ueno N, Asakawa A, Satoh Y, Inui A: Increased circulating cholecystokinin contributes to anorexia and anxiety behavior in mice overexpressing pancreatic polypeptide. *Regul Pept*, 141(1-3): 8-11, 2007
4. Yasuhara D, Nakahara T, Harada T, Inui A: Olanzapin-induced hyperglycemia in anorexia nervosa. *Am J Psychiatry*, 164(3): 528-529, 2007
5. Deboer MD, Zhu XX, Levasseur P, Meguid MM, Suzuki S, Inui A, Taylor JE, Halem HA, Dong JZ, Datta R, Culler MD, Marks DL: Ghrelin Treatment Causes Increased Food Intake and Retention of Lean Body Mass in a Rat Model of Cancer Cachexia. *Endocrinology*, 148(6): 3004-3012, 2007
6. Yuzuriha H, Inui A, Asakawa A, Ueno N, Kasuga M, Meguid M, Miyazaki J, Ninomiya M, Herzog H, Fujimiya M: Gastrointestinal hormones (anorexigenic peptide YY and orexigenic ghrelin) influence neural tube development. *FASEB J*, 21(9): 2108-2112, 2007
7. Yasuhara D, Inui A: Pathogenesis and treatment of eating disorders associated with type 1 diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, in press, 2007
8. Guijarro A, Suzuki S, Chne C, Kirchner H, Middleton FA, Nadtochiy S, Brookes PS, Nijima A, Inui A, Meguid MM: Characterization of weight loss and weight regain mechanisms after

- Roux-en-Y gastric bypass in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 27(4): 360-365, 2007
9. Harada T, Nakahara T, Yasuhara D, Kojima S, Sagiya K, Amitani H, Laviano A, Naruo T, Inui A: Obestatin, acyl ghrelin, and des-acyl ghrelin responses to an oral glucose tolerance test in the restricting type of anorexia nervosa. *Biol Psychiatry*, in press, 2007
 10. Kamiji MM, Inui A: Neuropeptide Y Receptor Selective Ligands in the Treatment of Obesity. *Endocr Rev*, 28(6): 664-684, 2007
 11. Nakahara T, Harada T, Yasuhara D, Shimada N, Amitani H, Sakoguchi T, Kamiji MM, Asakawa A, Inui A: Plasma obestatin concentrations are negatively correlated with body mass index, insulin resistance index, and plasma leptin concentrations in obesity and anorexia nervosa. *Biol Psychiatry*, in press, 2007
 12. Yasuhara D, Hashiguchi T, Kawahara K, Nakahara T, Harada T, Taguchi H, Yamada S, Maruyama I, Inui A: High mobility group box 1 and refeeding-resistance in anorexia nervosa. *Mol Psychiatry*, 12(11):976-977, 2007

学会発表

1. 第48回日本心身医学会総会学術講演会 シンポジウム4 心身医学における研究と診療の最先端
乾 明夫
グレリンファミリーペプチドによる食欲・消化管運動調節
2. 第4回GPCR研究会
乾 明夫
神経ペプチド(NPY)の臨床応用—特に抗肥満薬として
3. 日本栄養・食糧学会シンポジウム6
乾 明夫
肥満研究のフロンティアと展望:消化管ホルモンによる食欲制御—肥満治療の切札か?
4. 第48回日本心身医学会総会シンポジウム
乾 明夫
心身医学における研究と診療の最先端:グレリンファミリーペプチドによる食欲・消化管運動調節
5. 第8回千葉消化管運動機能研究会
乾 明夫
グレリンファミリーペプチドによる食欲・消化管運動調節
6. 第12回日本緩和学会シンポジウム
乾 明夫
緩和医療のベーシックサイエンス・がん悪液質の免疫、栄養と疼痛癌性悪液質の成因と治療—特に食欲ペプチドの立場からグレリン研究の現状

図1. AN群と健常群のオベスタチン値の比較

Table 1. Clinical Characteristics and Comparison of Obestatin, Acyl and Des-Acyl Ghrelin in AN-R Patients and Control Subjects

	AN-R Patients (n = 10)	Control Subjects (n = 10)	p Value ^a
Age (years)	21.90 ± 1.79	23.50 ± .76	.42
Body Mass Index (BMI) (kg/m ²)	13.43 ± .29	21.60 ± 1.15	<.01
Body Fat (%)	6.41 ± .56	29.59 ± 2.57	<.01
HOMA-R	.63 ± .11	1.23 ± .23	<.05
Plasma Leptin (ng/mL)	1.58 ± .36	10.28 ± 1.95	<.01
Fasting Plasma Obestatin (pg/mL)	64.50 ± 2.24	49.20 ± 2.15	<.01
Fasting Plasma Acyl Ghrelin (pg/mL)	28.60 ± 2.10	22.30 ± 2.16	.05
Fasting Plasma Des-Acyl Ghrelin (pg/mL)	340.1 ± 38.76	230.8 ± 20.01	<.05
Area Under the Curve (AUC) (pg/mL·h)			
Obestatin	116.25 ± 3.87	89.03 ± 3.95	<.01
Acyl ghrelin	39.45 ± 3.59	26.05 ± 2.67	<.01
Des-acyl ghrelin	474.88 ± 38.20	321.58 ± 32.30	<.01

Mean ± SEM.

Control subjects were recruited by local advertisement and were paid for their participation. They had no history of psychiatric illness or metabolic disease, had a normal diet, and were within ± 10% of their ideal body weight. Data were analyzed by Student *t* test. There was no difference in age between groups. AN-R patients had significantly lower BMI, body fat, HOMA-R, and plasma leptin than control subjects.

AN-R, restricting type of anorexia nervosa; AUC, area under the curve; BMI, body mass index; HOMA-R, homeostasis model assessment for insulin resistance.

^aVersus control subjects, compared using Student *t* test.

図2. AN群と健常群のオベスタチン値の比較

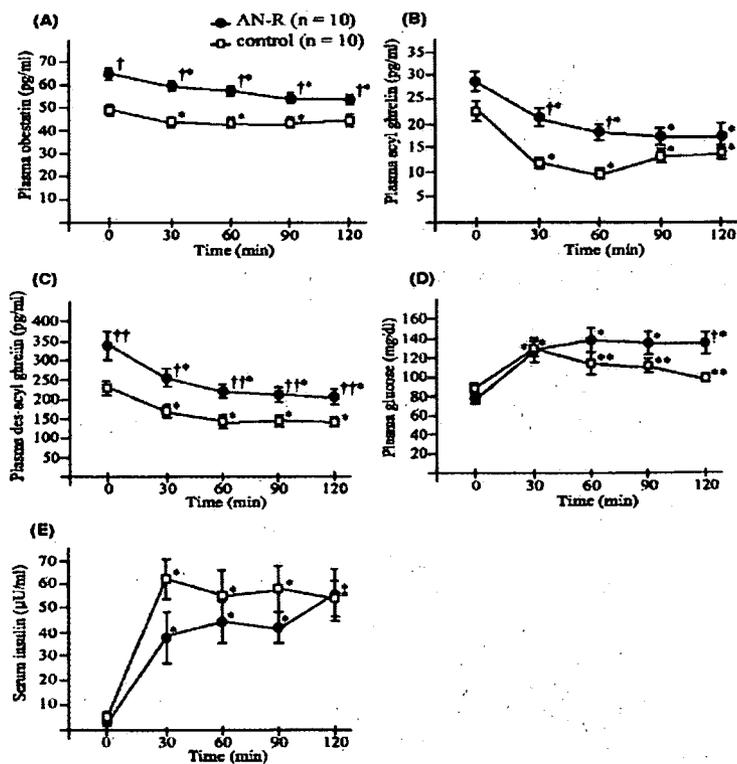


図3. 肥満群、AN群ならびに健常群の比較：

Table 1. Clinical Characteristics (Mean \pm SEM)

	AN Patients (n = 11)	Obese Patients (n = 10)	Control Subjects (n = 11)
Age (years)	24.6 \pm 6.0	27.7 \pm 8.2	25.7 \pm 6.7
Height (m)	1.57 \pm 4.0	1.60 \pm 1.9	1.62 \pm 2.7
BMI (kg/m ²)	12.4 \pm 1.7 ^b	28.4 \pm 2.7 ^b	21.8 \pm 3.1
Fat (%)	5.5 \pm .5 ^b	29.0 \pm 1.8 ^b	21.9 \pm .9
Plasma Obestatin (fmol/L)	78.3 \pm 2.8 ^b	48.8 \pm 2.3 ^a	58.7 \pm 3.1
Basal Plasma Glucose (mmol/L)	4.3 \pm .3 ^a	5.5 \pm .3	5.0 \pm .1
Basal Serum Insulin (pmol/L)	19.9 \pm 1.9 ^b	70.0 \pm 3.8 ^b	34.2 \pm 3.6
HOMA-R	.52 \pm .4 ^a	2.39 \pm .2 ^a	1.06 \pm .6
Basal Plasma Leptin (ng/mL)	178 \pm .3 ^a	14.2 \pm 3.4 ^a	5.57 \pm 1.2
Basal Serum Adiponectin (μ g/mL)	13.7 \pm 1.9 ^a	7.57 \pm .6	9.56 \pm .9
Basal Plasma Acyl-Ghrelin (fmol/L)	33.7 \pm 2.7	13.0 \pm 2.3 ^a	27.0 \pm 3.1
Basal Plasma Desacyl-Ghrelin (fmol/L)	421.1 \pm 42.7 ^b	145.1 \pm 13.1 ^b	261.7 \pm 35.9
Ratio of Desacyl-Ghrelin to Acyl-Ghrelin	12.7 \pm .8 ^a	9.8 \pm .7	10.1 \pm 1.3
Plasma Active Ghrelin (RIA) (pg/mL)	214.4 \pm 17.0	95.5 \pm 11.2 ^b	168.6 \pm 14.4

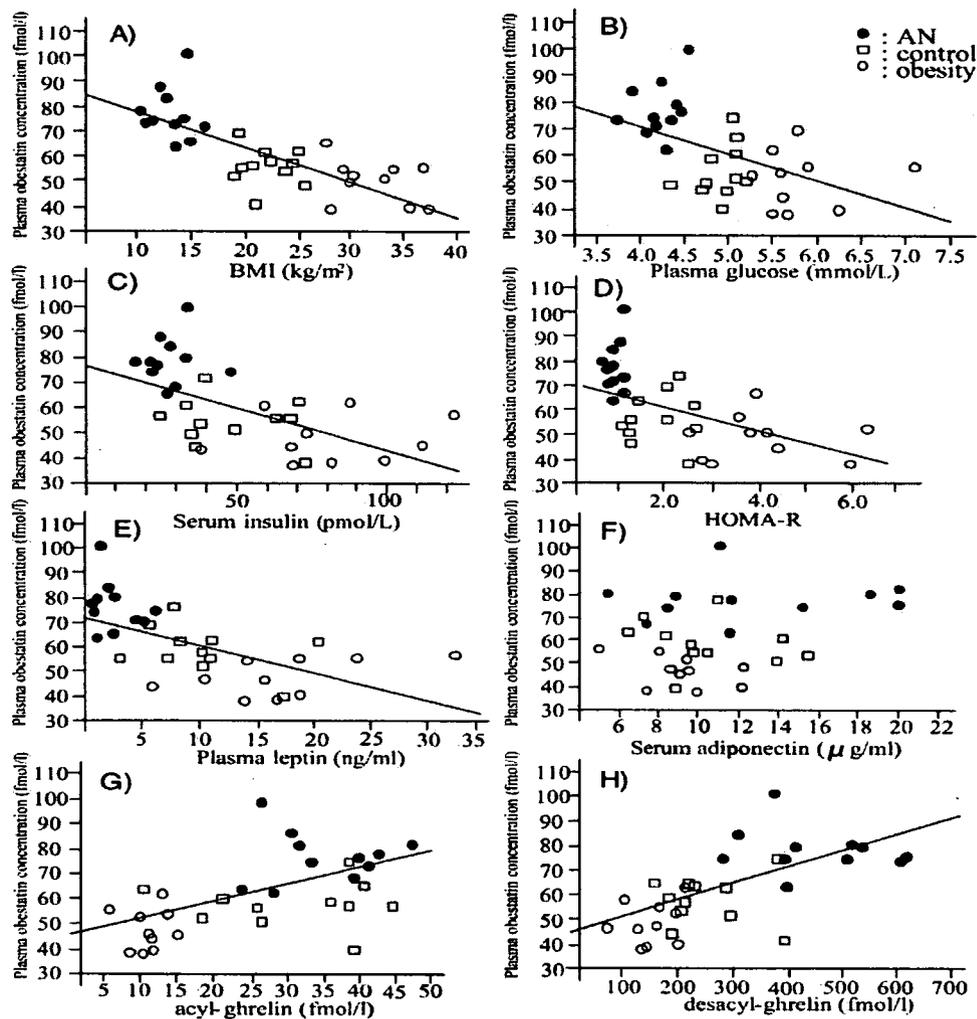
One-factor ANOVA and a post hoc Scheffe test.

AN, anorexia nervosa; ANOVA, analysis of variance; BMI, body mass index; HOMA-R, homeostasis model assessment for insulin resistance; RIA, radioimmuno assay.

^a*p* < .05.

^b*p* < .001 versus control subjects.

図4. オベスタチンと他の相関関係：



神経性食欲不振症患者の入院中のエネルギー摂取と 体重や体組成の変化に関する研究

分担研究者 久保 千春 九州大学大学院医学研究院心身医学 教授
河合 啓介 九州大学大学院医学研究院心身医学
森田 千尋 九州大学大学院医学研究院心身医学
山下 さきの 九州大学大学院医学研究院心身医学

研究要旨 入院中の神経性食欲不振症患者のエネルギー摂取量が体重増加と体組成変化に与える影響を実証的に検討した。体重はエネルギー摂取量に応じて増加していたが、極度の低栄養状態である治療初期と治療後期で体重が増加するパターンは異なっていた。体重増加に伴う除脂肪量の増加の割合は、入院時の Body Mass Index が低値であるほど高いことが示唆された。

研究目的

長期入院の神経性食欲不振症 (AN) 患者において、1) 正確なエネルギー摂取量と体重増加の関連、2) 体重増加前後の体組成の変化の関連を検討する。

研究方法

1) 体重増加の検討: 対象は、1999 年～2006 年に九州大学病院心療内科に治療目的で入院した AN 患者 (155 名) のうち、当科の AN の入院治療法である『行動制限を用いた認知行動療法』を入院後 20 日以内に開始し、4 ヶ月以上継続した女性患者。除外基準として、当研究に該当する期間中に①輸液管理を行った患者、②体重の変動が 1 週間に 2kg 以上の患者、③治療プログラム 4 週目以降に体重が減少した患者、を設けた。そのうち毎週規則正しい体重増加が認められ、明らかな食行動異常が認められず経過した患者 24 名 (平均年齢 22.7±8.7 歳) を採用した。体重は毎日測定し、1 週間の平均体重を求めた。治療プログラム中の食事量は 10 点満点で測定し、経口摂取と経管栄養を合わせた量を 1 日のエネルギー摂取量とした。1 週間ごとに 1 日の平均エネルギー摂取量 (kcal/day) を求め、その週の平均体重で除した値を体重あたりの平均エネルギー摂取量 (kcal/kg/day) とした。また、余剰エネルギー量はエネルギー摂取量からエネルギー消費量 (安静時代謝量 (Schebendach らの式を用いて算出) × 活動係数) を除いて推定した。

・Schebendach らの式¹⁾ (kcal/day)

$1.84 \times \text{Harris-Benedict で算出した値} - 1435$

・Harris-Benedict の式²⁾ (女性の場合) (kcal/day)

$655.1 + 9.563 \times \text{体重 (kg)} + 1.850 \times \text{身長 (cm)} - 4.676 \times \text{年齢 (歳)}$

2) 体組成の変化の検討: 対象は、1999 年～2006 年に九州大学病院心療内科に治療目的で入院した AN 患者 (155 名) のうち、入院期間が 3 ヶ月以上あり、入退院時に二重エネルギー X 線吸収法を用いて体組成の測定を行った女性患者 40 名 (平均年齢 22.1±7.9 歳)。入院治療前後の体重、脂肪量 (FM)、除脂肪量 (FFM) の変化量を測定した。

(統計処理)

SPSS を使用し、統計学的処理を行った。P<0.05 を有意であると定義した。治療前後の各因子の変化は ANOVA を用いて比較検討した。body mass index (BMI) が 14kg/m² 未満と 14kg/m² 以上の 2 群間の比較は、t 検定により分析した。

(倫理面への配慮)

九州大学倫理委員会承認。入院治療中のデータを発表・論文化する同意は、全被験者より得ている。

研究結果

1. 全治療期間の平均体重増加量は 501±120 g/週、体重あたりのエネルギー摂取量は平均 53±7 kcal/kg/day であった。
2. 治療プログラム中の体重あたりのエネルギー摂取量と体重増加量の間に関連のある正の相関がみられた (図 1: n=24, r=0.544, p<0.01)。

- 治療プログラム中の体重増加量と余剰エネルギー量には有意な正の相関がみられたが ($r=0.608$, $p<0.01$)、治療プログラムを 1 ヶ月単位に分けて検討を行うと、0-1, 3-4 ヶ月にのみ相関関係がみられた。ただし 0-1 ヶ月目と 3-4 ヶ月目で増加のパターンに違いが認められた (図 2)。
- 治療開始時の BMI が 14kg/m^2 未満の群は BMI が 14kg/m^2 以上の群に比べて、治療プログラム 0-1 ヶ月目の余剰 1 kcal で増える体重増加量が有意に多かった (図 3: $p<0.05$)。
- 入院時 BMI が 14kg/m^2 以下になると、BMI が減少しても FM は変化せず、FFM のみ減少する傾向にあった (図 4: $n=40$)。
- 1 週間の FFM 増加量は入院時 BMI と有意に逆相関した ($r=-0.597$, $p<0.001$)。一方で FM は入院時 BMI に関係なく増加した (図 5)。
- 入院時の BMI が 14kg/m^2 未満の群は BMI が 14kg/m^2 以上の群に比べて、入院中に増加する FFM の割合が有意に高かった (各々 $44.3\pm 7.4\%$, $25.1\pm 23.5\%$; $p<0.01$)。

考察

AN の体重はエネルギー摂取量に応じて増加し、1週間に 500g の体重増加を目標とする場合、体重当たり 50 kcal/kg 以上のエネルギー摂取が必要であることが示唆された。

生体内では、FM 1g の合成には 12kcal、FFM 1g の合成には 1.78 kcal 必要であることが報告されている⁽³⁾。BMI が極端に低下していると FM よりも FFM の合成が優先されるために、治療開始時の BMI が 14kg/m^2 未満の群は 14kg/m^2 以上の群に比べて余剰 1 kcal で増加する体重が有意に多かったのかもしれない。体組成の検討においても、入院時 BMI が 14kg/m^2 未満の群は 14kg/m^2 以上の群に比べて体重増加量に占める FFM の割合が有意に高く、BMI が低値であるほど FFM の合成が優先される可能性を支持していると考えられる。

これまでも AN の体重増加に伴う体組成の変化について報告されているが、FFM, FM の増加量は論文により大きく異なり一定の見解は得られていない。その原因のひとつとして AN に特徴的な過活動が考えられている⁽⁴⁾。実際に体重増加量に占める FM の増加した割合は外来患者では 56%⁽⁵⁾、入院患者では 71%⁽⁶⁾ 入院患者と外来患者において過活動を制限した場合は 79%⁽⁴⁾ と報告されている。つまり治療中の活動性の違いが脂肪の蓄積や FFM の増加に影響を与えている可能性がある。しかし、対象者が

治療プログラムを行った入院患者のみで活動量がほぼ一定と考えられる本研究においても、FM の増加した割合は 39.3~146.9 % と幅がみられた。入院時の BMI によって被験者を 14kg/m^2 未満と 14kg/m^2 以上に分けた検討で、二群間に増加した FM の割合に有意な差があったことから、体組成の増加量に影響する因子のひとつとして、入院時の BMI の違いが示唆された。前述の報告で、測定を開始したときの平均 BMI はそれぞれ $14.8\pm 1.3\text{kg/m}^2$ ⁽⁵⁾、 $15.5\pm 1.1\text{kg/m}^2$ ⁽⁶⁾、 $16.5\pm 1.9\text{kg/m}^2$ ⁽⁴⁾ であった。したがって、これまでの報告における FFM の増加量の違いは、活動性の違いだけではなく、治療開始時の BMI に影響を受けていたのかもしれない。

入院時 BMI が 14kg/m^2 以下では、BMI が減少しても FM は変化せず FFM のみ減少していたことから、BMI が極端に低下すると余剰の脂肪組織がなくなり、筋組織等が生命維持に利用され始めていると考えられる。初診時の BMI が 13kg/m^2 未満ではやせによる死亡率が高いことが報告されており⁽⁷⁾、これは我々が提唱する BMI が 14kg/m^2 未満では日常生活に不可欠な FFM がエネルギー源となっているという仮説を支持する報告である。

本研究により、BMI が極端に低下すると体タンパク質を主とする FFM が生命維持に利用され、体重が回復する際は FFM の合成が優先される、さらに、その FFM の増加量は入院時の BMI によって大きく影響されていることが示唆された。したがって、AN の治療においては FFM の減少が進んでいる入院初期と、FM の増加する割合の多い入院後期に分けて栄養療法を検討することが必要であると考えられる。

今後は、毎日のエネルギー摂取量と体重増加量の測定に加え、正確な安静時代謝量と定期的な体組成の測定を検討したい。

結論

神経性食欲不振症患者の体重はエネルギー摂取量に応じて増加する。入院時の BMI が極端に低下している症例は余剰エネルギーあたりの体重増加量が多く、体重増加量に占める除脂肪量の増加する割合が高い。

参考文献

- Schebendach J, Golden NH, Jacobson MS, Arden M, Pettei M, Hardoff D, Bauman N, Reichert P, Copperman N, Hertz S, Shenker IR. Indirect Calorimetry in the Nutritional Management of Eating Disorders. *Int J Eat Disord*. 1995; 17(1): 59-66.
- J. Arthur Harris, Francis G. Benedict. A

Biometric Study of Human Basal Metabolism. Proc Natl Acad Sci USA. 1918; 4(12): 370-3.

3. Forbes GB. Do obese individuals gain weight more easily than nonobese individuals? Am J Clin Nutr. 1990; 52(2): 224-7.
4. Orphanidou CI, McCargar LJ, Birmingham CL, Belzberg AS. Changes in body composition and fat distribution after short-term weight gain in patients with anorexia nervosa. Am J Clin Nutr. 1997; 65(4): 1034-41.
5. Scalfi L, Polito A, Bianchi L, Marra M, Caldara A, Nicolai E, Contaldo F. Body composition changes in patients with anorexia nervosa after complete weight recovery. Eur J Clin Nutr. 2002; 56(1): 15-20.
6. Mika C, Herpertz-Dahlmann B, Heer M, Holtkamp K. Improvement of nutritional status as assessed by multifrequency BIA during 15 weeks of refeeding in adolescent girls with anorexia nervosa. J Nutr. 2004; 134(11): 3026-30.
7. Hebebrand J, Himmelman GW, Herzog W, Herpertz-Dahlmann BM, Steinhausen HC, Amstein M, Seidel R, Deter HC, Remschmidt H, Schäfer H. Prediction of low body weight at long-term follow-up in acute anorexia nervosa by low body weight at referral. Am J Psychiatry. 1997; 154(4): 566-9.

研究発表

論文発表

1. 瀧井正人、野崎剛弘、河合啓介、石堂考一、有村千賀子、雨宮直子、久保千春 当科における神経性食欲不振症患者の入院治療一行動制限を用いた認知行動療法一 精神神経学雑誌 2006; 108: 724-729.
2. 河合啓介、久保千春 神経性食欲不振症への心療内科的アプローチ medicina. 2007; 44: 2086-2089.
3. 河合啓介 摂食量を規定する身体的・心理的因子 Medical Science Digest. 2007; 33: 1113-1115.
4. 久保千春 摂食障害に対する内科的治療: 総論 Medical Science Digest. 2007; 33: 4-5.
5. 雨宮直子、瀧井正人、久保千春 120. 神経性食思

不振症 総合臨床増刊 2007; 56: 865-872.

学会発表

1. 河合啓介、藤原裕矢、山田祐、石堂考一、権藤元治、雨宮直子、有村千賀子、松原慎、野崎剛弘、山中竹春、瀧井正人、久保千春「神経性食欲不振症患者の食事摂取に影響を与える心理的・身体的因子」第79回日本内分泌学術総会 2006年 於 兵庫県
2. 河合啓介、藤原裕矢、山田祐、石堂考一、権藤元治、雨宮直子、有村千賀子、松原慎、野崎剛弘、山中竹春、瀧井正人、久保千春「神経性食欲不振症患者(AN)の食欲モデルの構築・ANの食事に関与する高次中枢と末梢摂食調節因子の連関」第47回日本心身医学会総会 2006年 於 東京都
3. 河合啓介「摂食障害の身体管理と合併症」第2回日本摂食障害学会 2006年 於 東京都
4. K Kawai, T Yamanaka, Y Fujihara, Y Yamada, M Gondou, C Koreeda, T Nozaki, M Takii, C Kubo. Factors regulation of appetite in patients with anorexia nervosa-intervention of eating regulation molecules and the psychological factors. The 12th southeast asian-western pacific regional meeting of pharmacologists 2006 於 Melbourne Australia
5. Keisuke Kawai, Takeharu Yamanaka, Motoharu Gondo, Chihiro Morita, Chikako Arimura, Takehiro Nozaki, Masato Takii, Chiharu Kubo. Factors Regulation of BMI and Caloric Intake in Patients with Anorexia Nervosa-Intervention of the somatic and the psychological factors - 19th World Congress on Psychosomatic Medicine 2007 於 Quebec Canada

知的財産権の出願・登録状況

なし