

2009 360/8 A

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21年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 佳宏

平成22(2010)年3月

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 21 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 佳宏

平成 22 (2010) 年 3 月

## <目 次>

### I. 総括研究報告書

1. 中枢性摂食異常症に関する調査研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・1  
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

### II. 分担研究報告書

1. 絶食時の骨格筋萎縮における FOXO1 の標的遺伝子の探索：  
カテプシン L に注目して・・・・・・・・・・・・・・・・・・5  
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
2. ストレスによる性腺刺激ホルモン分泌低下への下垂体 Urocortin 2 の関与：  
神経性食欲不振症における性腺機能低下機序の解明・・・・・・・・・・10  
日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学 芝崎 保
3. 食事性肥満モデルマウスのうつ病態におけるレプチン抵抗性の意義・・・・・・・・14  
京都大学大学院医学研究科内分泌・代謝内科 中尾 一和
4. グレリンによる食欲調節およびエネルギー代謝のメカニズムについて・・・・・・・・16  
久留米大学分子生命科学研究科遺伝情報研究部門 児島 将康
5. 摂食異常症における大脳辺縁系と神経ヒスタミン機能・・・・・・・・・・21  
大分大学医学部総合内科学第一 吉松 博信
6. 摂食障害患者の日常生活下における過活動・排出行為などの代償行動の検討・・・・28  
東京大学医学系研究科ストレス防御心身医学 赤林 朗
7. グレリンの消化管運動増進と摂食亢進の作用を利用した新たな臨床試験の探索・・・・31  
京都大学医学部附属病院探索医療センター 赤水 尚史
8. 神経性食欲不振症患者の血中低カルボキシ化オステオカルシン値の検討・・・・・・・・34  
政策研究大学院大学保健管理センター 鈴木（堀田） 眞理
9. 神経性食欲不振症患者における体重変動の経時的解析・・・・・・・・・・37  
九州大学病院心療内科 久保 千春
10. 思春期神経性食欲不振症の性腺補充療法・・・・・・・・・・・・・・・・・・42  
国立成育医療センター内分泌代謝科 堀川 玲子

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・・・・45

### IV. 平成 21 年度 研究者名簿・・・・・・・・・・・・・・・・・・47

---

中枢性摂食異常症に関する調査研究

平成 21 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

研究代表者	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
研究分担者	芝崎 保	日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学 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 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	大分大学医学部総合内科学第一 教授
	赤林 朗	東京大学医学系研究科ストレス防御心身医学 教授
	赤水 尚史	京都大学医学部附属病院探索医療センター 教授
	鈴木 (堀田) 眞理	政策研究大学院大学保健管理センター 教授
	久保 千春	九州大学病院 病院長
	堀川 玲子	国立成育医療センター内分泌代謝科 医長
研究協力者	遠藤 由香	東北大学病院心療内科 助教
	横山 伸	長野赤十字病院精神科 部長
	岡本 百合	広島大学保健管理センター 准教授
	間部 裕代	熊本大学大学院医学薬学研究部小児発達学 助教

**研究要旨** 本調査研究の目的は、中枢性摂食異常症の成因・病態に関する基礎研究と臨床研究を組み合わせ、本症の新しい対処法・治療法の開発を進めることである。このため、分子生物学あるいは発生工学的手法を駆使した中枢性摂食調節機構に関する基礎研究、中枢性摂食異常症の病因・病態解明のための基礎研究と臨床研究、臨床現場に有効な対処法・治療法に関する臨床研究を遂行した。基礎研究では、絶食時の骨格筋萎縮における FOXO1/カテプシン L 経路の病態生理的意義、中枢性摂食異常症における CRF や神経ヒスタミンあるいはグレリンの病態生理的意義、レプチン作用とうつの発症の関係を明らかにした。臨床研究では、神経性食欲不振症患者における体重変動の経時的解析、摂食障害患者の日常生活下における過活動・排出行為などの代償行動の検討、グレリンの消化管運動増進と摂食亢進の作用を利用した新たな臨床試験の探索、思春期神経性食欲不振症の性腺補充療法あるいは神経性食欲不振症患者の骨粗鬆症治療におけるビタミン K の有用性の検討を進めた。昨年度企画した摂食障害のプライマリケアを援助する基幹医療施設のネットワーク形成を目指したワーキンググループにより、各施設の現状の報告と意見交換を通じて、次年度に計画している臨床疫学研究の進め方を議論した。

**研究目的**

本調査研究の目的は、中枢性摂食異常症の成因・病態に関する基礎研究と臨床研究を組み合わせ、本症の新しい治療法と予防法の開発を進めることである。このため、分子生物学あるいは発生工学的手法を駆使した中枢性摂食調節機構に関する基礎研究、中枢性摂食異常症の病因・病態解明のための基礎研究と臨床研究、臨床現場に有効な対処法・治療法の開発のための臨床研究を行った。

本研究を推進することにより、難治性疾患としての中枢性摂食異常症の克服に向けて有効な治療法と予防法に関する基盤データの集積とインフラの整備が進み、患者自身の QOL の向上のみならず、本症患者と予備軍の減少により医療福祉行政における経済損失の抑制が期待される。

**研究方法**

基礎研究として、摂食・エネルギー代謝調節関

連分子あるいはそれらの受容体の遺伝子改変動物を用いて、中枢性摂食異常症の成因と病態に関する摂食・エネルギー代謝調節の分子機構と中枢性摂食異常症における主要な中枢性神経伝達分子の病態生理的意義を検討した。臨床研究として、新しい方法論による中枢性摂食異常症の病態の解析とともに思春期神経性食欲不振の性腺補充療法あるいは神経性食欲不振患者の骨粗鬆症治療におけるビタミンKの有用性の検討を進めた。本症の有効な治療薬としてのグレリンの臨床的意義を明らかにするためにグレリンの消化管運動増進と摂食亢進の作用を利用した新たな臨床試験を探索した。昨年度企画した摂食障害のプライマリケアを援助する基幹医療施設のネットワーク形成を目指したワーキンググループ(WG)では、次年度に計画している臨床疫学研究の進め方を議論した。

(倫理面への配慮)

健常者及び中枢性摂食異常症患者を対象とした臨床研究は、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。実験動物を用いた基礎研究は、実験動物飼育及び保管に関する基準、各研究施設における実験動物委員会の指針に基づき、実験動物愛護を配慮して行った。

### 研究結果および考察

＜絶食時の骨格筋萎縮における FOXO1 の標的遺伝子の探索：カテプシンLに注目して＞ 極端なカロリー制限により、エネルギー代謝や骨格筋萎縮の鍵分子である FOXO1 の骨格筋における遺伝子発現は増加し、これと並行してリソソームタンパク質分解酵素カテプシンLの遺伝子発現も増加する。本研究により、野生型マウス、優位抑制型 FOXO1 (DN-FOXO1) 発現マウスおよび骨格筋特異的 FOXO1 遺伝子欠損マウスを用いた絶食負荷実験と C2C12 筋芽細胞を用いた細胞実験により、骨格筋においてカテプシンLが FOXO1 の直接の標的遺伝子であることを証明した。以上より、絶食により誘導される骨格筋の萎縮や代謝変化における FOXO1/カテプシンL 経路の病態生理的意義が示唆され、拒食や極端なダイエットによる骨格

筋萎縮を呈する中枢性摂食異常症の新しい創薬ターゲットの可能性が示唆された。(小川)

＜ストレスによる性腺刺激ホルモン分泌低下への下垂体 Urocortin 2 の関与：神経性食欲不振における性腺機能低下機序の解明＞ ラットへの拘束ストレス負荷により分泌される視床下部 CRF (corticotropin releasing factor) が下垂体の POMC 細胞で産生される Ucn (urocortin) 2 の分泌を促進し、これが傍分泌的に LH (黄体形成ホルモン) の分泌と発現を抑制することを明らかにした。以上より、心理ストレスが発症に強く関与していると考えられ、CRF の過剰分泌が存在する神経性食欲不振症において無月経が出現する機序の一つに視床下部 CRF-下垂体 Ucn 2-下垂体 LH 軸が関与している可能性が示された。(芝崎)

＜摂食異常症における大脳辺縁系と神経ヒスタミン機能＞ 大脳皮質連合野が視床下部神経ヒスタミンと神経性に連携し、ストレス関連-食行動調節機構に深く関与する可能性がある。本研究では、神経ヒスタミンのラット扁桃体投射の部位と程度の評価、ラット扁桃体にヒスタミンを直接投与した際の食行動および情動行動の応答、ラット扁桃体の神経ヒスタミン枯渇条件下でのストレス応答の変化について検討した。神経ヒスタミンは扁桃体中心核を主に支配し、情動反応、食行動抑制反応およびストレス応答に深く関与することが判明した。以上より、摂食異常症における、ストレス-食行動応答連関に、神経ヒスタミン-扁桃体軸が深く関与する可能性が示唆された。(吉松)

＜グレリンによる食欲調節およびエネルギー代謝のメカニズムについて＞ グレリンは体温低下作用を有することが明らかになり、グレリン投与により、野生型マウスの体温は1-2時間にわたって低下した。これは褐色脂肪組織における熱産生抑制によるものであり、同時に酸素消費量も減少した。又、絶食により血中グレリン濃度が上昇するが、逆相関してマウスの体温は低下した。24-36時間の絶食により、野生型マウスの体温は27度前後に低下し、自発運動が減少した。これは飢餓時にエネルギー消費を最小限に抑制して生存するための適応反応として「トーパー(日内休眠)」と呼ばれる現象である。以上より、グレリンは摂

食亢進作用のみならず、エネルギー消費抑制作用を有しており、体内にエネルギーを貯蔵すると考えられる。(児島)

＜食事性肥満モデルマウスのうつ病態におけるレプチン抵抗性の意義＞ 摂食障害に伴ううつ発症におけるレプチンの意義を検討した。レプチン欠損 *ob/ob* マウスではうつの増強が、レプチントランスジェニックマウスではうつの抑制が認められ、うつ発症における内因性レプチンの関与が示唆された。食事性肥満マウスでは抗うつ作用においてもレプチン抵抗性が認められ、過食、肥満に伴ううつにおけるレプチン抵抗性の関与が示唆された。又、レプチンは海馬 BDNF の発現亢進を介して抗うつ作用を発揮することが明らかになり、食事性肥満マウスではレプチンによる海馬 BDNF の発現亢進が観察されず、レプチン抵抗性は海馬においても存在することが示唆された。以上より、摂食障害におけるうつへの低レプチン血症あるいはレプチン抵抗性の関与が示唆され、その治療標的としてレプチン-BDNF 系が期待される。(中尾)

＜神経性食欲不振症患者における体重変動の経時的解析＞ 外来において神経性食欲不振症 (AN) の身体的に重篤な病態 (意識障害と歩行困難) の発生を予測するために、外来 AN 患者 291 名の病歴や初診日の 1 年前からの BMI (Body mass index) 変動を経時的に調査し、緊急入院群と通常治療群 (予定入院群と外来のみ群) の 2 群間で BMI 変動を検討した。更に、1 ヶ月先の緊急入院の発症予測式を作成した。本研究により、①緊急入院群では罹病期間が有意差に長かった。②緊急入院群の BMI 値の変動は通常治療群に比較して有意に急速に低下していた (反復測定分散分析)。③ 1 ヶ月後の緊急入院を予測する回帰式は、予測確率を  $p$  とすると  $\log(p/1-p) = -1.69x$  (受診時 BMI)  $+ 0.593x$  (受診 5 カ月前 BMI)  $+ 0.101x$  (罹病期間 (y))  $+ 9.716$  で表された (ロジスティック回帰分析)。(久保)

＜摂食障害患者の日常生活下における過活動・排出行為などの代償行動の検討＞ 摂食障害における特徴的な症候として、過剰な運動、排出行動などの不適切な代償行動が認められるが、先行研究では、診察時の報告や紙ベースの記録による評

価が用いられていた。しかしながら、これらの評価法には信頼性に関する問題が指摘されている。近年、より信頼性の高い方法として Ecological Momentary Assessment が開発されてきた。本研究では、摂食障害患者を対象として、アクチグラフおよびライフコーダによる客観的評価を用いて、代償行動などの日常生活下における病態の把握を行う。本年度は、健常女性 8 名、摂食障害患者 20 名においてアクチグラフおよびライフコーダの記録を施行し、次年度も健常者、摂食障害患者の対象数を増やし、病態評価解析を行う。(赤林)

＜グレリンの消化管運動増進と摂食亢進の作用を利用した新たな臨床試験の探索＞ 全身性強皮症の多くは胃腸障害が出現し、食欲低下や体重減少が問題となる。前者は QOL 上重要であり、後者は同症の重症度を規定している。しかしながら、これらに対する治療薬は胃腸運動改善薬や栄養補給しかないのが現状である。一方、グレリンは中枢神経を介した食欲増進と胃腸運動亢進の作用を有しており、全身性強皮症の胃腸障害や体重減少に対する臨床効果が期待される。本研究では、グレリンの臨床応用を図る試験として、臨床第 II 相試験「全身性強皮症患者の胃腸機能障害に対するグレリンの臨床効果についてプラセボ対照比較クロスオーバー試験による検討」の実施計画を策定した。来年度に実施予定である。(赤水)

＜思春期神経性食欲不振症の性腺補充療法＞ 思春期年齢の神経性食欲不振症における性腺機能低下症に対する性腺補充療法の有効性を検証する目的で、積極的同意の得られた患者に対し性腺補充療法を導入し、その効果を検討した。対象は 14~18 歳の神経性食欲不振症女子 6 例。原発性および続発性無月経に対しカウフマン療法を施行、6 例全例で月経を誘発した。うち 2 例は治療中断後自然月経発来。全例で体重の回復とともに心理的な改善も認めた。体重増加は心理的許容範囲内だった。腰椎 DXA で測定した骨塩量は全例で増加した。病期が短い、回復期、無月経に対する不安が強い、という症例においては、積極的な性腺補充療法は身体的にも心理的にも改善を促進し、有用な治療であると考えられた。(堀川)

＜神経性食欲不振症患者の血中低カルボキシ化

オステオカルシン値の検討> 神経性食欲不振症における主要な合併症・後遺症である骨粗鬆症に対するビタミンKによる薬物治療を確立するために、本症患者におけるビタミンK2の動態を検討した。本症患者と年齢をマッチさせた健常人において、血中カルボキシル化オステオカルシン (ucOC) を指標として、骨におけるビタミンK充足状態を評価した。本症患者では、血中 ucOC 値は健常群と比較して有意に低下していた。患者群では血中の活性型ビタミンDが低下し、骨形成マーカーの低下と骨吸収マーカーの亢進が認められた。我々は既に、ビタミンK2の投与により本症患者の骨密度の低下を阻止できることを報告しているが、オステオカルシンのカルボキシル化促進作用が治療効果の一因であることが示唆された。

(鈴木)

<摂食障害のプライマリケアを援助する基幹医療施設のネットワーク形成ワーキンググループ (WG) > 昨年度企画した「摂食障害のプライマリケアを援助する基幹医療施設のネットワーク形成を目指したWG」により、平成21年12月4日開催の「平成21年度研究発表会」において各施設の現状の報告と意見交換した。来年度の実施予定の臨床疫学研究の概要を議論した。(研究代表者・研究分担者・研究協力者)

<本調査研究の研究活動の紹介> 研究代表者が企画した「特集: やせの医学」(Pharma Medica 10

月号) においてやせ・中枢性摂食異常症を取り上げ、「やせとストレス反応」(芝崎)、「やせ・ダイエットと飢餓反応」(吉松)、「わが国の現状と問題点」(鈴木)、「小児期の実態と病態(低身長・骨粗鬆症など)」(堀川)、「心理内科的アプローチ」(久保)、「薬物治療の現状; グレリンを中心に」(赤水) を本調査研究の基礎研究・臨床研究の成果の一端を紹介した。(小川、芝崎、吉松、鈴木、堀川、赤水)

## 結論

臨床現場において有効な中枢性摂食異常症に関する対処法・治療法の開発を目指して、本症の成因・病態に関する基礎研究と臨床研究を推進した。基礎研究により、中枢性摂食調節の分子機構、中枢性摂食異常症の病因・病態の分子レベルの解析により、中枢性摂食異常症の病因・病態の臨床的理解が進んだ。摂食障害のプライマリケアを援助する基幹医療施設のネットワーク形成を目指したWGを活用して、わが国における本症の実態把握に向けた将来の大規模疫学調査のためのパイロットスタディーを計画した。本調査研究の研究成果は、一般市民の啓発活動やWGを通して普及していきたい。

## 健康危険情報

特になし



---

平成 21 年度

**II. 分担研究報告書**

---

絶食時の骨格筋萎縮における FOXO1 の標的遺伝子の探索：カテプシン L に注目して

分担研究者	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
	山崎 芳浩	東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野	
	菅波 孝祥	東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野	
	亀井 康富	東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野	
	樋口 恵子	東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野	
	杉田 聡	東京医科歯科大学難治疾患研究所分子代謝医学分野	

**研究要旨** 本研究は、中枢性摂食異常症においてしばしば認められる極端なダイエットに対する生体反応の分子機構を明らかにするものである。極端なカロリー制限により、エネルギー代謝や骨格筋萎縮の鍵分子であるフォークヘッド型転写因子 FOXO1（Forkhead-O1 transcription factor）の骨格筋における遺伝子発現は増加し、これと並行してリソソームタンパク質分解酵素カテプシン L の遺伝子発現も増加する。本研究では、昨年度に引き続きマウス骨格筋と C2C12 筋芽細胞における FOXO1 によるカテプシン L の遺伝子発現制御を検討した。マウス骨格筋における FOXO1 とカテプシン L の遺伝子発現は、絶食により増加し、再摂食により減少した。骨格筋特異的に優位阻害型 FOXO1 を発現するマウス（DN-FOXO1 マウス）あるいは骨格筋特異的 FOXO1 遺伝子欠損マウスの骨格筋では、絶食によるカテプシン L の遺伝子発現の増加が減弱した。一方、恒常活性化型 FOXO1 を安定発現する C2C12 筋芽細胞においてカテプシン L の遺伝子発現は増加した。マウスとヒトのカテプシン L 遺伝子プロモーターに FOXO1 コンセンサス結合領域が認められ、ルシフェラーゼレポーター解析により、FOXO1 はいずれのプロモーターも活性化すること、FOXO1 結合領域の変異により活性化が減弱することを明らかにした。ゲルシフト法およびクロマチン免疫沈降法により、カテプシン L プロモーターの FOXO1 結合領域に FOXO1 タンパク質が結合することを証明した。以上より、骨格筋においてカテプシン L が FOXO1 の直接の標的遺伝子であることが証明され、絶食により誘導される骨格筋の萎縮や代謝変化における FOXO1/カテプシン L 経路の病態生理的意義が示唆された（*Biochem. J.* 427: 171-178, 2010）。本研究のようなカテプシン L を含む FOXO1 の新しい標的遺伝子の同定は、絶食による骨格筋タンパク質の分解をもたらす筋萎縮や代謝変化の分子機構の解明、ひいては拒食や極端なダイエットによる骨格筋萎縮を呈する中枢性摂食異常症の病態生理の解明につながると考えられる。

**研究目的**

中枢性摂食異常症においてしばしば認められる極端なカロリー制限（ダイエット）は骨格筋代謝の変化や筋萎縮をもたらすことが知られている。この時生体は、少量のエネルギーにより身体活動を維持するために生存に必要なエネルギー消費を減少させ（飢餓適応反応）、基礎代謝の低下ひいては筋力低下、QOL の低下をもたらす。最近の研究により、カロリー制限により、エネルギー代謝や骨格筋萎縮の鍵分子であるフォークヘッド型転写因子 FOXO1 およびリソソームタンパク質分解酵素カテプシン L の骨格筋における遺伝子発現が増

加することが報告されている。一方、骨格筋特異的に FOXO1 を過剰発現するトランスジェニックマウス（FOXO1 マウス）は、骨格筋におけるカテプシン L の遺伝子発現が増加し筋萎縮を呈すること、およびリソソームにおけるタンパク質分解が骨格筋萎縮時に活性化されることが知られており、カテプシン L は骨格筋萎縮に関与する可能性がある。しかしながら、骨格筋における FOXO1 によるカテプシン L の遺伝子発現調節に関する報告はない。本研究では、絶食時の骨格筋萎縮においてカテプシン L が FOXO1 の標的遺伝子になるか否かを検討した。

## 研究方法

### 1. マウス骨格筋における遺伝子発現の解析

ノーザンブロット法により、摂食あるいは24時間絶食後の野生型マウスの骨格筋におけるFOXO1とカテプシンLの遺伝子発現を解析した。

リアルタイムPCR法により、①24時間絶食あるいは再摂食後に採取した野生型マウスあるいはDN-FOXO1マウス、②摂食あるいは24時間絶食後に採取した骨格筋特異的FOXO1遺伝子欠損マウス（群馬大学生体調節研究所北村忠弘教授より分与）の腓腹筋におけるFOXO1、Gadd45 $\alpha$ およびカテプシンLの遺伝子発現を解析した。

### 2. C2C12筋芽細胞における遺伝子発現の解析

リアルタイムPCR法により、恒常活性型FOXO1を安定発現するC2C12筋芽細胞におけるFOXO1、Gadd45 $\alpha$ およびカテプシンLの遺伝子発現を解析した。

### 3. カテプシンLプロモーターの活性制御の解析

ゲルシフト法により、ヒトのカテプシンLプロモーターのFOXO1結合領域に対するFOXO1タンパク質の結合を解析した。

クロマチン免疫沈降法により、マウスのカテプシンLプロモーターのFOXO1結合領域に対するFOXO1タンパク質の結合を解析した。

ルシフェラーゼレポーター解析により、ヒトとマウスのカテプシンLプロモーターのFOXO1による活性化を解析した。

（倫理面への配慮）

実験に用いた動物に対しては、動物愛護上の配慮として、長時間にわたり強い苦痛をもたらす方法を適用する時には、しかるべき鎮痛、鎮痛剤、または麻酔剤を獣医学的に認められた方法を用い、あるいは適切な麻酔剤を用いて安楽死させた。

## 研究結果

1. 絶食後には腓腹筋、ヒラメ筋、長趾伸筋、前脛骨筋のいずれにおいてもFOXO1およびカテプシンLの遺伝子発現が増加した。腓腹筋におけるカテプシンLあるいはFOXO1の標的遺伝子Gadd45 $\alpha$ の遺伝子発現は、FOXO1と同様に絶食により増加し、再摂食により減

少した。

2. DN-FOXO1マウスでは野生型マウスと比較して、絶食後の腓腹筋におけるFOXO1、Gadd45 $\alpha$ およびカテプシンLの遺伝子発現の増加が減弱した（図1）。
3. 骨格筋特異的FOXO1遺伝子欠損マウスでは野生型マウスと比較して、絶食後の腓腹筋におけるFOXO1、Gadd45 $\alpha$ 、カテプシンLおよびFOXO3aの遺伝子発現の増加は減弱した。（図2）。
4. FOXO1を安定発現するC2C12筋芽細胞において、Gadd45 $\alpha$ およびカテプシンLの遺伝子発現は著しく増加した。FOXO1タンパク質はカテプシンLプロモーターのFOXO1結合領域に結合した（図3）。
5. FOXO1は用量依存的にヒトとマウスのカテプシンLプロモーター活性を増加した。優位阻害型FOXO1はいずれのカテプシンLプロモーター活性も用量依存的に抑制した。

## 考察

従来、FOXO1マウスでは野生型マウスと比較して、骨格筋におけるカテプシンLの遺伝子発現が増加することが報告されている。本研究では、野生型マウスの骨格筋におけるFOXO1およびカテプシンLの遺伝子発現は絶食により増加し、再摂食により減少し、DN-FOXO1マウスおよび骨格筋特異的FOXO1遺伝子欠損マウスでは野生型マウスと比較して、絶食後の骨格筋におけるカテプシンLの遺伝子発現の増加が減弱した。以上より、個体レベルにおいて絶食における筋萎縮においてカテプシンLの遺伝子発現がFOXO1により制御されることが示唆された。

C2C12筋芽細胞において、FOXO1はカテプシンL遺伝子プロモーターのFOXO1結合領域に結合して用量依存性にプロモーターの活性が増加すること、優位阻害型FOXO1はこの活性を用量依存性に抑制することより、FOXO1がカテプシンLプロモーターを直接活性化することが明らかになった。以上より、骨格筋においてカテプシンLがFOXO1の直接の標的遺伝子であることが明らかになった。

カテプシンLはエンドサイトーシスやオートファジーに関与し、リソソームに運搬されたタンパク質の分解を担う重要な酵素である。また、薬理学的にカテプシンL活性を阻害することにより、

敗血症による骨格筋タンパク質の分解が抑制されるという。一方、カテプシンファミリーには20種類以上のリソソームタンパク質分解酵素が属するが、絶食により骨格筋における遺伝子発現が増加する酵素はカテプシンLのみである。更に、カテプシンL以外のカテプシンファミリーの遺伝子プロモーターに FOXO1コンセンサス結合領域が認められないため、骨格筋における FOXO1によるカテプシンLの遺伝子発現制御の特異性が示唆される。以上より、FOXO1により誘導されるカテプシンLが絶食による骨格筋タンパク質分解に重要な役割を果たす可能性が示唆される。

### 結論

本研究により、骨格筋においてカテプシンLが FOXO1の直接の標的遺伝子であることが明らかになり、FOXO1/カテプシンL経路は絶食により誘導される骨格筋の萎縮や代謝変化における病態生理的意義が示唆された。本研究のようなカテプシンLを含む FOXO1の新しい標的遺伝子の同定は、絶食による骨格筋タンパク質の分解をもたらす筋萎縮や代謝変化の分子機構の解明、ひいては拒食や極端なダイエットにより骨格筋萎縮を呈する中枢性摂食異常症の病態生理の解明につながると考えられる。

### 研究発表

#### 論文発表

1. T. Chiba\*, Y. Kamei\*, T. Shimizu, T. Shirasawa, A. Katsumata, L. Shiraiishi, S. Sugita, Y. Ogawa, S. Miura, O. Ezaki (\*These authors contributed equally to this work). Overexpression of FOXO1 in skeletal muscle does not alter longevity in mice. **Mech. Ageing Dev.** 130: 420-428, 2009.
2. T. Suganami, X. Yuan, Y. Shimoda, K. Uchio-Yamada, N. Nakagawa, I. Shirakawa, T. Usami, T. Tsukahara, K. Nakayama, Y. Miyamoto, K. Yasuda, J. Matsuda, Y. Kamei, S. Kitajima, Y. Ogawa. Activating transcription factor 3 constitutes a negative feedback mechanism that attenuates saturated fatty acid/Toll-like receptor 4 signaling and macrophage activation in obese adipose tissue. **Circ. Res.** 105: 25-32, 2009.
3. N. Satoh, A. Shimatsu, A. Himeno, Y. Sasaki, H. Yamakage, K. Yamada, T. Suganami, Y. Ogawa. Unbalanced M1/M2 phenotype of peripheral blood monocytes in obese diabetic patients: effect of pioglitazone. **Diabetes Care** 33: e7, 2010.
4. M. Tanaka, T. Suganami, S. Sugita, Y. Shimoda, M. Kasahara, S. Aoe, M. Takeya, S. Takeda, Y. Kamei, Y. Ogawa. Role of central leptin signaling in renal macrophage infiltration under unilateral ureteral obstruction. **Endocr. J.** 57: 61-72, 2010.
5. Y. Kamei, T. Suganami, T. Ehara, S. Kanai, K. Hayashi, Y. Yamamoto, S. Miura, O. Ezaki, M. Okano, Y. Ogawa. Increased expression of DNA methyltransferase 3a in obese adipose tissue: studies with transgenic mice. **Obesity** 18: 314-321, 2010.
6. Y. Yamazaki, Y. Kamei, S. Sugita, F. Akaike, S. Kanai, S. Miura, Y. Hirata, B.R. Troen, T. Kitamura, I. Nishino, T. Suganami, O. Ezaki, Y. Ogawa. The cathepsin L gene is a direct target of FOXO1 in the skeletal muscle. **Biochem. J.** 427: 171-178, 2010.

#### 学会発表

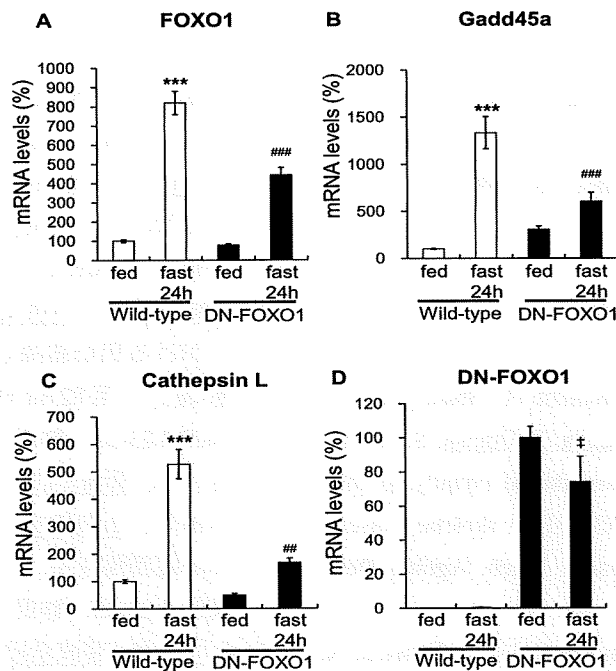
1. 小川佳宏:「TLR4の内因性リガンドとしての飽和脂肪酸」:日本薬学会第129年会, 2009.3.26-28, 京都
2. 伊藤綾香、菅波孝祥、山内明、山内三爵子、神山隆治、田中都、平田結喜緒、金ヶ寄史朗、亀井康富、小川佳宏:「肥満の脂肪組織におけるマクロファージ浸潤の分子機構」:第46回日本臨床分子医学会学術集会, 2009.4.12-13, 東京
3. 菅波孝祥、小川佳宏:「肥満細胞組織の炎症性変化における脂肪組織とマクロファージの相互作用の意義」:第82回日本内分泌学会学術総会, 2009.4.23-25, 群馬
4. 田中都、菅波孝祥、杉田聡、竹屋元裕、笠原正登、竹田秀、小川佳宏:「中枢神経系を介するレプチンの炎症調節作用」:第82回日本内分泌学会学術総会, 2009.4.23-25, 群馬
5. 小川佳宏、菅波孝祥:「脂肪細胞リモデリング」:第52回日本糖尿病学会年次学術集会, 2009.5.21-24, 大阪
6. 小川佳宏、亀井康富:「メタボリックシンドロームのエピジェネティクス制御」:第9回日本抗加齢医学会総会, 2009.5.28-29, 東京
7. 小川佳宏、菅波孝祥:「発生工学的手法によるメタボリックシンドローム関連遺伝子の機能解析」:第45回高血圧関連疾患モデル学会学術総会, 2009.9.4-5, 東京
8. 杉田聡、亀井康富、赤池史子、菅波孝祥、金井紗綾

- 香、三浦進司、江崎治、小川佳宏：「骨格筋特異的 RXR  $\gamma$  過剰発現マウスは糖代謝改善作用を示す」：第30回日本肥満学会，2009.10.9-10，静岡
9. 亀井康富、菅波孝祥、江原達弥、金井紗綾香、三浦進司、江崎治、小川佳宏：「肥満と DNA メチル化：DNA メチル化酵素遺伝子改変マウスとメチル化促進飼料による検討」：第30回日本肥満学会，2009.10.9-10，静岡
10. 山崎芳浩、亀井康富、三浦進司、杉田聡、赤池史子、金井紗綾香、平田結喜緒、江崎浩、菅波孝祥、小川佳宏：「骨格筋における FOXO1 によるタンパク分解酵素カテプシン L 遺伝子の転写調節」：第30回日本肥満学会，2009.10.9-10，静岡

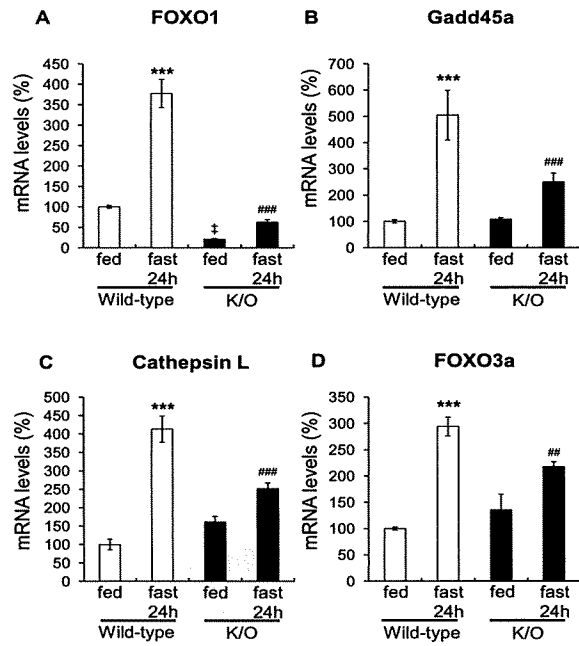
11. 小川佳宏：「メタボリックシンドロームと自然炎症」：第82回日本生化学会大会，2009.10.21-24，神戸
12. 小川佳宏：「メタボリックシンドロームの基盤病態としての慢性炎症：脂肪組織リモデリングに焦点を当てて」：第32回日本分子生物学会年会，2009.12.9-12，横浜

知的財産権の出願・登録状況

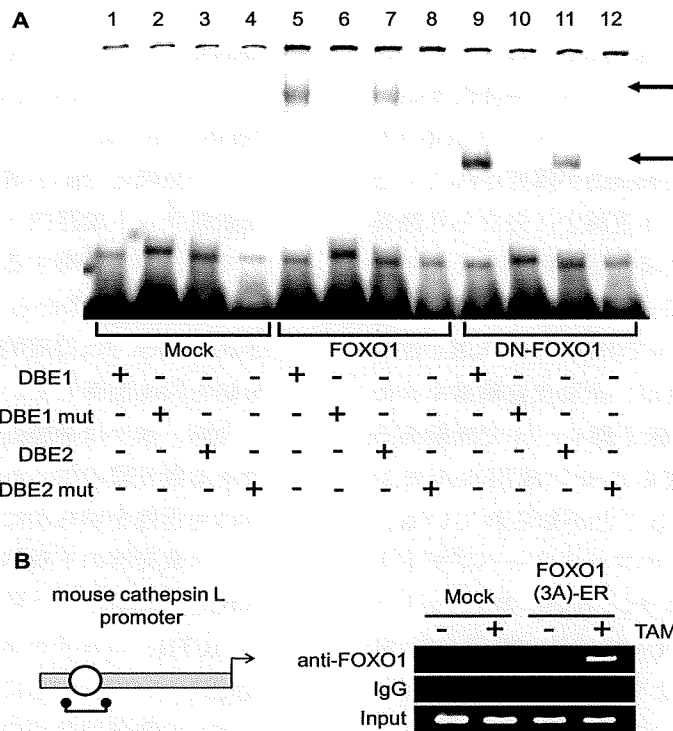
なし



(図 1) DN-FOXO1 マウスにおける絶食負荷の影響



(図2) 骨格筋特異的 FOXO1 遺伝子欠損マウスにおける絶食負荷の影響



(図3) マウスおよびヒトカテプシン L プロモーターに対する FOXO1 タンパク質の結合の解析

## ストレスによる性腺刺激ホルモン分泌低下への下垂体 Urocortin 2 の関与：神経性食欲不振症における性腺機能低下機序の解明

分担研究者 芝崎 保 日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学 教授  
根本 崇宏 日本医科大学生理学講座（生体統御学）

**研究要旨** ギナドトロピンの発現と分泌に対し抑制作用を有する下垂体ウロコルチン 2 (Ucn 2) は CRF（副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン）によりその発現と分泌が増加する。今回、我々は CRF の過剰分泌が病態に強く関与していると考えられている神経性食欲不振症の主症状の一つである無月経の生じる機序への下垂体 Ucn 2 の関与の可能性をラットを用いて検討した。ラットへの拘束ストレス負荷は血中 ACTH とコルチコステロン、下垂体前葉および中葉での POMC mRNA 発現量、中葉での Ucn 2 mRNA 発現量を有意に増加させ、血中 LH および下垂体での LH  $\beta$  サブユニット mRNA 発現量を低下させた。抗 CRF IgG による受動免疫はストレスによる血中 ACTH、下垂体前・中葉での POMC mRNA、中葉での Ucn 2 mRNA の発現量の増加、血中 LH と下垂体の LH  $\beta$  サブユニット mRNA の発現量の低下を阻止した。抗 Ucn 2 IgG による受動免疫はストレスによる血中 LH と下垂体の LH  $\beta$  サブユニット mRNA の発現量の低下を阻止した。下垂体 Ucn 2 は CRF により分泌が増すことから、ストレスにより分泌が増した下垂体の Ucn 2 がギナドトロピン産生細胞に作用し、LH の分泌と発現を抑制したと考えられる。以上の結果から、神経性食欲不振症の無月経が出現する機序として視床下部 CRF-下垂体 Ucn 2-下垂体 LH 軸が関与している可能性が示された。

### 研究目的

視床下部—下垂体—性腺 (HPG) 軸はレプチンや IGF-1 による制御も受けており、神経性食欲不振症にみられる低栄養下ではレプチンや IGF-1 の作用が低下する結果、性腺機能が障害されていると考えられる。しかし、体重減少に先立ち月経異常が出現する神経性食欲不振症の例も多く見られる。ストレスは視床下部—下垂体—副腎(HPA) 軸を活性化し、様々なレベルで HPG 軸に作用し性腺機能を低下させる。例えば、副腎皮質刺激ホルモン放出因子 (CRF) は視床下部レベルで直接あるいは間接的に性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の分泌を抑制することが知られている。我々はこれまでに CRF のファミリーペプチドとして発見されたウロコルチン (Ucn) 2 がラット下垂体前葉および中葉の POMC 細胞に発現<sup>1)</sup>、前葉及び中葉では CRF によりその mRNA 発現および分泌が促進され、さらに前葉ではグルココルチコイドにより mRNA 発現および分泌が抑制されること<sup>2)</sup>を明らかにしてきた。また、ラット下垂体単層培養細胞で Ucn 2 がギナドトロピンの分泌を

抑えること、CRF 2 型受容体の選択的拮抗薬や siRNA による CRF 2 型受容体の発現抑制がギナドトロピンの mRNA 発現と分泌を増すこと、抗 Ucn 2 抗体が *in vitro* および *in vivo* の実験でギナドトロピンの発現と分泌を増すこと、抗 Ucn 2 抗体の未成熟雌ラット腹腔内への連日投与が初回発情開始までの日数を短縮する傾向を示すことを明らかにし、これらの結果から下垂体 POMC 細胞から産生される Ucn 2 は持続的にギナドトロピンの発現と分泌を抑制制御している可能性を示した<sup>3)</sup>。

今回、我々は神経性食欲不振症の主症状の一つである無月経の生じる機序への下垂体 Ucn 2 の関与の可能性を明らかにする目的で、ラットへのストレス負荷時の下垂体前葉および中葉での Ucn 2、POMC、前葉のギナドトロピンの mRNA 発現、血中 ACTH、コルチコステロン、ギナドトロピンの変化について、さらにストレスで生じるギナドトロピンの発現と分泌の抑制への抗 CRF IgG あるいは抗 Ucn 2 IgG による受動免疫の影響について検討した。

## 研究方法

7週齢の雄のウィスター系ラットを用いた。ラットは自由摂餌・飲水とし、12時間毎の明暗調節下で飼育した。ストレス負荷はワイヤーメッシュを用い、30、60、90、120分間拘束した。負荷直後に断頭採血、下垂体摘出を行い、血漿分離とRNA抽出を行った。

受動免疫には、我々が以前作成した抗CRF抗血清<sup>4)</sup>および抗Ucn 2抗血清<sup>2)</sup>、正常家兎血清をIgG分画に精製して用いた。1mlの生理食塩水に溶解した抗体(5mg/kg)を腹腔内に投与し、2時間後に拘束ストレスを負荷した。

血漿ACTH値はACTH ELISA kit (MD bioscience)、コルチコステロン値はcorticosterone EIA kit (Cayman Chemical Company)、LH値はRodent LH ELISA test (Endocrine Technologies, Inc)、FSH値はRat FSH ELISA (Biocode)を用いて測定した。下垂体前葉および中葉のmRNA発現量はThermal cycler Dice real time PCR system (Takara)を用いて測定した。

### (倫理面への配慮)

動物実験は日本医科大学動物実験指針に従い、実験計画の申請・承諾を得た上で行った。

## 研究結果

拘束ストレスは血中ACTHを負荷30分(2.69 ± 0.19倍)および60分(1.85 ± 0.17倍、 $p < 0.05$ )で、血中コルチコステロンを負荷30分(3.95 ± 0.09倍)、60分(3.22 ± 0.02倍、 $P < 0.05$ )、90分(2.09 ± 0.17倍)で(結果図示せず)、下垂体前葉のPOMC mRNA発現量を負荷30、60、90分で、中葉のPOMC mRNA発現量を負荷30、60、90、120分で有意に増加させた(図1)。Ucn 2 mRNAは前葉ではストレス負荷のいずれの時間でも発現量に変化がなかったが、中葉では90分および120分で発現量が有意に増加した(図1)。同負荷により血中LHは負荷60、90、120分で、下垂体のLH  $\beta$ サブユニットmRNA発現量は負荷90分および120分で有意に低下した(図2)。一方、FSHは血中濃度および下垂体  $\beta$ サブユニットmRNA発現量共にいずれの時間でも変化しなかった。

抗CRF IgGによる受動免疫は拘束ストレスによる血中ACTH、下垂体前葉および中葉でのPOMC mRNA発現量、下垂体中葉でのUcn 2 mRNA発現量の増加を阻止し、さらに血中LHおよび下垂体でのLH  $\beta$ サブユニットmRNA発現量の低下も阻止した。

抗Ucn 2 IgGによる受動免疫は、下垂体前葉および中葉のPOMCと中葉のUcn 2 mRNA発現量の増加には変化を与えなかったが、拘束ストレスによる血中LHおよび下垂体でのLH  $\beta$ サブユニットmRNA発現量の低下を阻止した。

## 考察

我々はこれまでに、作用の不明であった下垂体のUcn 2がゴナドトロピンの合成と分泌を持続的に抑制していることを示してきた。本研究ではCRFにより増加するUcn 2のストレスによるゴナドトロピン分泌抑制への関与を明らかにする目的でストレス負荷ラットでの血中ゴナドトロピンと下垂体でのUcn 2、ゴナドトロピンのmRNA発現量を測定した。その結果、拘束ストレスにより血中ACTHおよびコルチコステロン、下垂体前葉および中葉のPOMC mRNA発現量、中葉でのUcn 2発現量が有意に増加し、血中LHと下垂体でのLH  $\beta$ サブユニットmRNA発現量は低下した。我々はこれまでに前葉のUcn 2はグルココルチコイドによりmRNA発現と分泌が抑制されることを示しており<sup>2)</sup>、ストレス負荷により増加したコルチコステロンがUcn 2の発現を抑制したためにUcn 2 mRNAの発現量の変化を捕らえることができなかったのではないかと考えた。一方、中葉にはグルココルチコイド受容体が発現していないことから、中葉のUcn 2 mRNA発現は増加したコルチコステロンによる影響を受けなかったと考えられる。

下垂体POMC細胞から分泌されるUcn 2はACTHの約40分の1と非常に少なく、様々な組織でUcn 2の産生があることから、末梢血中Ucn 2の測定により下垂体Ucn 2の分泌の変化を捕らえることはできないが、我々の以前の検討では下垂体前葉および中葉のUcn 2の分泌はCRFにより増したことから<sup>2)</sup>、ストレス負荷後に前葉および中葉でのUcn 2分泌は生じると考えられる。今回の抗CRF IgGを用いた受動免疫で、ストレスによる血中ACTHの増加とLHの低下が阻止されたこと、抗



Ucn 2 IgG を用いた受動免疫で血中 LH の低下が阻止されたことから、ストレスにより分泌が増した CRF が前葉および中葉の Ucn 2 分泌を増し、その Ucn 2 が性腺刺激ホルモン産生細胞に作用し、LH の分泌と合成を抑制すると考えられた。したがってストレスがその発症に強く関与していると考えられる神経性食欲不振症での無月経が生じる機序に下垂体 Ucn 2 が関与している可能性が考えられる。

### 結論

神経性食欲不振症患者の無月経が出現する機序に、CRF により下垂体の POMC 細胞から分泌される Ucn 2 が傍分泌的に性腺刺激ホルモン産生細胞に作用し、ゴナドトロピンの産生と分泌を抑制する視床下部 CRF-下垂体 Ucn 2-下垂体 LH 軸が関与している可能性が示された。

### 参考文献

1. Yamauchi N, et al: Distribution of urocortin 2 in various tissues of the rat. *J Neuroendocrinol* 17: 656-663, 2005
2. Nemoto T, et al: Regulation of the expression and secretion of urocortin 2 in rat pituitary. *J Endocrinol* 192: 443-452, 2007
3. Nemoto T, et al: Novel action of pituitary urocortin 2 in the regulation of expression and secretion of gonadotropins. *J Endocrinol* 201: 105-114, 2009
4. Shibasaki T, et al: Brain corticotropin-releasing factor acts as inhibitor of stress-induced gastric erosion in rats. *Life Sci* 47: 925-932, 1990

### 研究発表

#### 論文発表

1. A Iwasaki-Sekino, A Mano-Otagiri, H Ohata, N Yamauchi, T Shibasaki. Gender differences in corticotropin and corticosterone secretion and corticotropin-releasing factor mRNA expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and the central nucleus of the amygdala in response to footshock stress or psychological stress in rats.

*Psychoneuroendocrinology* 34:226-237, 2009

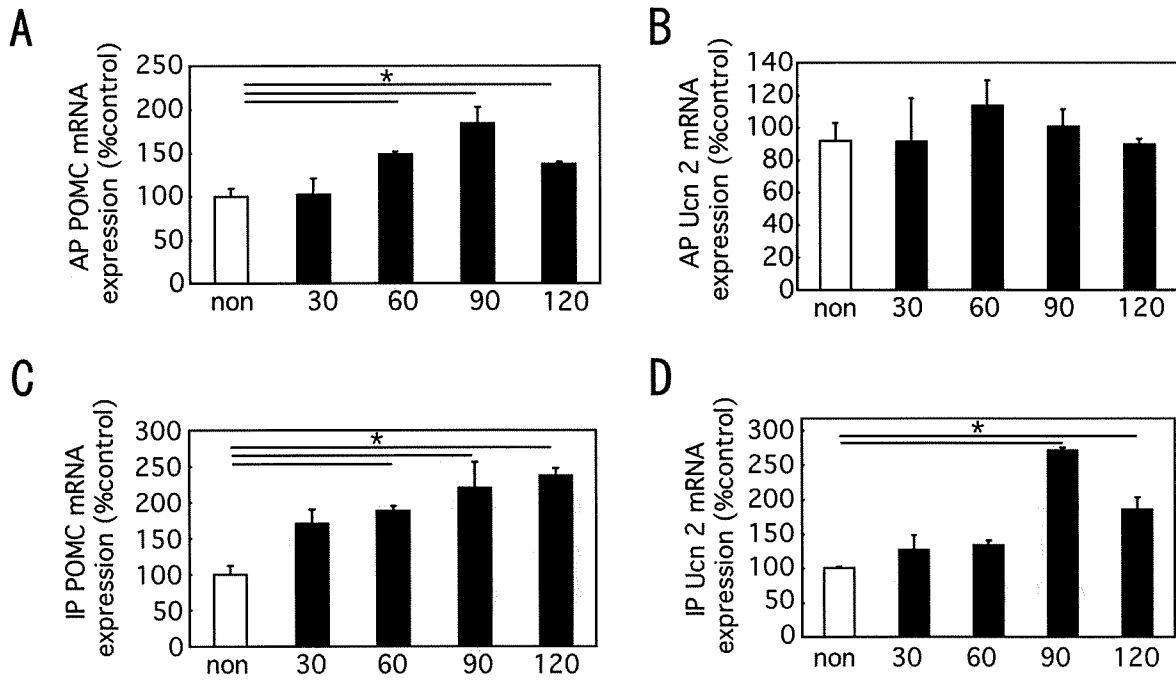
2. T Nemoto, N Yamauchi, T Shibasaki. Novel action of pituitary urocortin 2 in the regulation of expression and secretion of gonadotropins. *J Endocrinol* 201:104-114, 2009
3. M Hotta, R Ohwada, T Akamizu, T Shibasaki, K Takano, K Kangawa. Ghrelin increases hunger and food intake in patients with restricting-type anorexia nervosa: a pilot study. *Endocrin J* in press 2009
4. 新井桂子、芝崎 保 やせとストレス反応 *Pharma Medica* 27:13-17, 2009

#### 学会発表

1. 芝崎 保: CRF を中心としたストレス反応機構と神経性食欲不振症の病態 第24回日本整形外科学会基礎学術集会 教育講演 2009年11月 神奈川県横浜市
2. 根本 崇宏、大島 久幸、山内 直子、芝崎 保: ストレス性の性周期異常への下垂体中葉ウロコルチン2の関与の解明 第82回 日本内分泌学会 2009年5月 群馬県前橋市
3. Takahiro Nemoto, Hisayuki Ohata, Tamotsu Shibasaki: Possible role of urocortin 2 secreted by the intermediate lobe of the pituitary in stress-induced suppression of expression and secretion of gonadotropins in rats. ENDO09 (米国内分泌学会) 2009年6月 米国 (ワシントン DC)
4. 根本 崇宏、芝崎 保: 雌ラットにおける視床下部-下垂体-性腺系でのウロコルチン2の発現の変化、第27回 内分泌代謝学サマーセミナー 2009年7月 福井県坂井市
5. 根本 崇宏、大島 久幸、芝崎 保: 雌雄ラットにおけるストレス負荷による下垂体ウロコルチン2 mRNA 発現の変化 第36回 日本神経内分泌学会 2009年9月 福岡県北九州市

#### 知的財産権の出願・登録状況

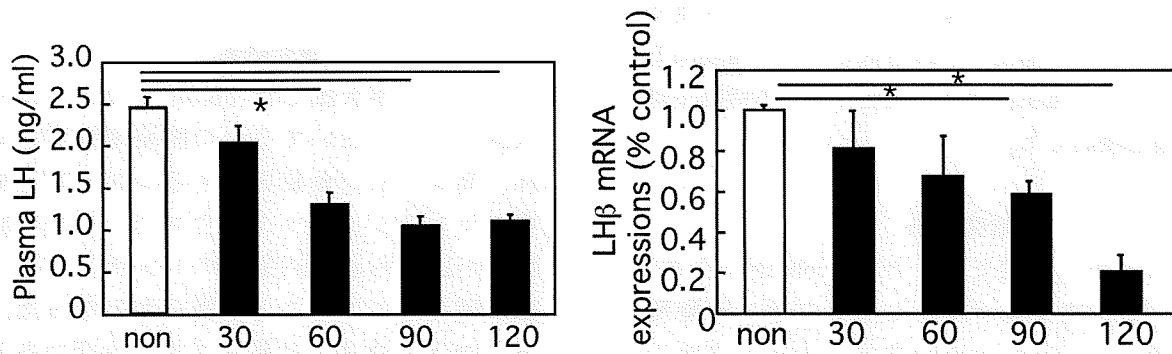
なし



(図1) 拘束ストレスによる下垂体前葉および中葉での POMC と Ucn 2 の mRNA 発現量の変化

A 下垂体前葉の POMC mRNA 発現、B 下垂体前葉の Ucn 2 mRNA 発現

C 下垂体中葉の POMC mRNA 発現、D 下垂体中葉の Ucn 2 mRNA 発現



(図2) 拘束ストレスによる血中 LH と下垂体での LHβ サブユニット mRNA 発現量の変化

## 食事性肥満モデルマウスのうつ病態におけるレプチン抵抗性の意義

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 教授

**研究要旨** 中枢性摂食異常症（拒食症、過食症）では高頻度にうつが認められ、うつは摂食障害の重要な増悪因子である。一方、摂食調節ホルモンであるレプチンの抗うつ作用が報告されている（PNAS 103: 1593-1598, 2006）。今回、拒食や過食によりもたらされる低レプチン血症あるいはレプチン抵抗性のうつ発症における病態生理的意義を検討した。レプチン欠損 ob/ob マウスおよびレプチントランスジェニックマウスの検討により、うつ発症における内因性レプチンの関与が示唆された。また食事性肥満マウスの検討により、レプチンの海馬 BDNF 発現亢進作用の減弱がうつ発症に関与する可能性が示唆された。摂食障害におけるうつには低レプチン血症あるいはレプチン抵抗性が関与している可能性があり、その治療標的として中枢におけるレプチン-BDNF 系が期待される。

### 研究目的

中枢性摂食異常症（拒食症、過食症）では高頻度にうつが認められ、うつは摂食障害の重要な増悪因子と考えられる。一方、摂食調節ホルモンであるレプチンには抗うつ作用があることが最近報告されている（PNAS 103: 1593-1598, 2006）。そこで本研究では摂食障害に伴う、うつの新しい治療法の開発を目指して、レプチンの抗うつ作用における中枢メカニズムを検討するとともに、拒食や過食などによりもたらされる低レプチン血症あるいはレプチン抵抗性のうつ発症における病態生理的意義を検討した。

### 研究方法

低レプチン血症モデルとして ob/ob マウス、高レプチン血症モデルとしてレプチン過剰発現トランスジェニックマウス、またレプチン抵抗性モデルとして食事性肥満（DIO）マウスを用い、強制水泳テスト（Nature 266: 730-731, 1977）にてうつ行動解析を行った。またうつの発症メカニズムとして海馬における BDNF の役割（Ron de Kloet E et al. Nat Rev Neurosci 6; 463-475, 2006）が注目されていることから、レプチン投与時の海馬での c-fos 発現変化、BDNF および受容体 TrkB の発現量を検討した。さらに、レプチンの抗うつ作用における BDNF の意義を検討するために TrkB 阻害薬 K252a とレプチンの共投与実験を行っ

た。

### （倫理面への配慮）

実験に用いた動物に対しては、動物愛護上の配慮として、長時間にわたり強い苦痛をもたらす方法を適用する時には、しかるべき鎮痛、鎮痛剤、または麻酔剤を獣医学的に認められた方法を用い、あるいは適切な麻酔剤を用いて安楽死させた。

### 研究結果

レプチンが欠損した ob/ob マウスでは強制水泳テストにおいてうつの誘発増強が認められ、高レプチン血症を呈するレプチン過剰発現トランスジェニックマウスではうつの誘発抑制が認められ、内因性のレプチンがうつ状態に関与していることが明らかとなった。一方、DIO マウスでは高レプチン血症であるにも関わらずうつの誘発増強が観察され、レプチン投与による抗うつ作用も消失しており、摂食抑制作用のみならず抗うつ作用においてもレプチン抵抗性が存在するものと考えられた。

レプチンの抗うつ作用における脳の反応部位を検討するために、レプチン投与時の c-fos 発現変化を検討したところ、視床下部弓状核と同様に海馬 CA1-3領域で c-fos 発現の上昇が観察された。そこでレプチン投与時の海馬における抗うつ因子、BDNF のタンパク含量

を検討したところ、増加が認められた。さらに BDNF の受容体 TrkB の阻害薬である K252a をレプチンと共投与したところ、レプチンによる抗うつ作用の消失が観察された。

抗うつ作用においてもレプチン抵抗性を示す DIO マウスでは、レプチン投与による海馬での c-fos 発現上昇や BDNF タンパク含量の増加は認められず、TrkB の発現量に変化は無いものの、BDNF の基礎値の低下も観察された。

### 考察

ob/ob マウスでうつの増強が認められ、レプチン過剰発現トランスジェニックマウスでうつの抑制が認められたことから、内因性のレプチンがうつ状態に関与していることが明らかとなった。さらに DIO マウスでは、抗うつ作用においてもレプチン抵抗性が認められ、過食や肥満によるレプチン抵抗性がうつの発症、増悪に関与している可能性が示唆された。また本研究により、レプチンは海馬 BDNF の発現亢進を介して抗うつ作用を発揮すること、DIO マウスではレプチン抵抗性による海馬 BDNF の発現低下がうつの発症に関与していることが明らかとなった。以上より、摂食障害で認められるうつの発症あるいは増悪に低レプチン血症やレプチン抵抗性が関与している可能性が考えられ、中枢におけるレプチン-BDNF 系を標的とした新しいうつ治療法の開発が期待される。

### 結論

拒食による低レプチン血症や過食、肥満によるレプチン抵抗性が摂食障害で認められるうつの増悪あるいは発症に関与しているものと考えられる。

今後、中枢におけるレプチン-BDNF 系を標的とした新しいうつ治療法の開発が期待される。

## 研究発表

### 論文発表

1. Translational research of novel hormones: lessons from animal models and rare human diseases for common human diseases. K. Nakao, A. Yasoda, K. Ebihara, K. Hosoda, M. Mukoyama. J Mol Med 87, 1029-39 (2009).
2. Orexins increase mRNA expressions of neurotrophin-3 in rat primary cortical neuron cultures. N. Yamada, G. Katsuura, I. Tatsuno, S. Kawahara, K. Ebihara, Y. Saito, K. Nakao. Neurosci Lett. 30, 132-135 (2009)

### 学会発表

1. The Endocrine Society 91st Annual Meeting, in Washington, 2009.6.10-13. N. Yamada, G. Katsuura, K. Ebihara, Y. Ochi, H. Masuzaki, K. Hosoda, I. Tatsumoto, Y. Saito, K. Nakao. Hippocampal Leptin Resistance Leads to Depressive Behavior in Diet-Induced Obese Mice.
2. 第82回日本内分泌学会 群馬 2009.4.23-25 山田伸子、勝浦五郎、越智ゆかり、海老原健、益崎裕章、細田公則、龍野一郎、齋藤康、中尾一和. 食事性肥満モデルマウスのうつ病態における海馬レプチン抵抗性の関与

### 知的財産権の出願・登録状況

なし