

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

f-MRI を用いた食欲異常と脳神経活動の解析—脂肪萎縮症における検討—

分担研究者

中尾 一和

京都大学大学院医学研究科内分泌・代謝内科

教授

研究要旨 中枢性摂食異常症において脳の摂食関連領域における神経活動を評価することは、病態解明や治療法および診断法の開発に結びつくものと期待される。近年、機能的磁気共鳴画像法(f-MRI)を用いた脳神経活動の解析が報告されている。今回、低レプチン血症と過食を呈する脂肪萎縮症を対象にf-MRIを用いて食欲刺激に対する脳神経活動を解析した。空腹時には健常者、脂肪萎縮症ともに多くの摂食関連領域で反応が認められた。これらの反応は、健常者では食後に消失したが、脂肪萎縮症では残存が認められた。脂肪萎縮症と健常者の食後の神経活動の差は扁桃体、島、尾状核、被殻、淡蒼球などにあることが明らかとなった。f-MRIを用いた脳神経活動の解析は、ヒトの食欲制御機構の解明に有用であると考えられた。

研究目的

ヒトにおける摂食行動制御には摂食中枢である視床下部のみならず、視床下部と他の脳機能中枢の密接な関わりが重要であると考えられている。中枢性摂食異常症において脳の摂食関連領域における神経活動を評価することは、病態メカニズムの解明だけではなく、中枢性摂食異常症の新しい治療法や診断法の開発に結びつくものと期待される。これまで、ヒトの食欲制御機構を非侵襲的に解析する事は困難であった。近年、ヒトの食欲制御機構に関する解析手法の一つとして、機能的磁気共鳴画像法(functional MRI; f-MRI)を用いた脳神経活動の測定が報告されている。これまで京都大学内分泌代謝内科では脂肪萎縮症に対しレプチン補充療法を施行してきた。脂肪萎縮症では、脂肪組織の減少・消失に伴い、低レプチン血症および過食が認められる。今回、脂肪萎縮症における過食のメカニズムを解明することを目的に、機能的磁気共鳴画像法(f-MRI)を用いて、脂肪萎縮症を対象とした脳神経活動の解析を行った。

研究方法

脂肪萎縮症患者 8 人（先天性全身性 5 人、後天性全身性 2 人、家族性部分性 1 人）および非肥満健常者 10 人を対象に、Visual Analogue Scale (VAS) と食物画像刺激に対する食欲スコア化を用いて空腹時および食後の食欲を評価した。また、

食欲の評価と同時に f-MRI を用いて食物画像刺激下での脳神経活動を解析した。f-MRI では、食物画像刺激に対する神経活動と非食物画像刺激に対する神経活動を測定し、両者の差を食欲刺激特異的な神経活動とした。今回は解析領域を絞った ROI (region of interest) 解析を行い、t-value $p < 0.005$ (uncorrected) を統計的に有意とした。また今回は、複数の先行研究において食行動との関連が報告されている、視床下部、前頭前野眼窩部、扁桃体、海馬、島、側坐核、尾状核、被殻、淡蒼球を ROI 領域とした。

研究結果

脂肪萎縮症と健常者の食欲を VAS および食物画像に対する食欲スコアで評価した結果、食前の空腹感に両者で大きな差は認められなかったが、食後の満足感については健常者と比較し脂肪萎縮症で有意な低下が認められた。食欲刺激に対する脳神経活動を f-MRI により解析した結果、空腹時には健常者、脂肪萎縮症ともに前頭前野眼窩部、扁桃体、島、尾状核、被殻、淡蒼球などの多くの摂食関連領域で共通して反応が認められた。これらの領域の多くは、食後に、健常者では反応が消失したが、脂肪萎縮症ではこれらの領域の多くで反応の残存が確認された。脂肪萎縮症と健常者を直接比較した解析においても、両者の差は空腹時

よりも食後に扁桃体、島、尾状核、被殻、淡蒼球などの領域で認められた。

考察

マウスやラットを用いた検討では、レプチンは主に視床下部に作用することにより食欲を抑制することが証明されている。今回対象とした脂肪萎縮症では血中レプチン濃度が低下していること、高頻度に過食を認めることが知られている。我々はこれまでに脂肪萎縮症を対象にレプチン補充療法を行い、脂肪萎縮症患者の食欲がレプチンにより抑えられることを経験してきた。これらのことから脂肪萎縮症における過食の主な原因は血中レプチン濃度の低下であると考えられる。今回の検討で、空腹時の食欲は脂肪萎縮症と健常者で明らかな差が無く、食後の満足感に差が認められたが、このことはレプチンの食欲抑制作用は空腹感の軽減よりも食後の満足感に強く作用することを示唆している。f-MRI の解析においては食後に脂肪萎縮症で、扁桃体、島、尾状核、被殻、淡蒼球において神経活動の亢進が認められ、視床下部における有意な神経活動の変化は検出されなかった。レプチンの視床下部以外での作用は不明な点が多いが、今回の検討により、レプチン作用において扁桃体、島、尾状核、被殻、淡蒼球が何らかの役割を有していることが示唆された。今後、脂肪萎縮症患者におけるレプチン治療前後での検討を進めていく予定である。

結論

機能的磁気共鳴画像法(f-MRI) を用いた脳神経活動の解析は、ヒトの食欲制御機構を解析する手法として

有用であると考えられた。

研究発表

論文発表

該当なし

学会発表

1. 11th International Congress on Obesity, Stockholm in Sweden, 2010.7.11- 15. N. Yamada, G. Katsuura, Y. Ochi, K. Ebihara, T. Kusakabe, N. Satoh, K. Hosoda, K. Nakao. Depression in obesity: implication for pathophysiological role of endogenous leptin.
2. D. Aotani. Leptin modulates brain activity associated with feeding behavior in patients with lipodystrophy.
3. 第31回 日本肥満学会 群馬 2010.10.1-25 山田伸子、勝浦五郎、越智ゆかり、海老原健、日下部徹、細田公則、中尾一和。高脂肪食誘発肥満モデルマウス脳内の神経可塑性に関わる因子の発現変化
4. 青谷大介、海老原健、澤本伸克、日下部徹、山本祐二、阿部 恵、片岡祥子、酒井 建、藤倉純二、細田公則、福山秀直、中尾一和。脂肪萎縮症における食欲異常および fMRI を用いた脳の神経活動の解析
5. 山田伸子、勝浦五郎、越智ゆかり、海老原健、日下部徹、細田公則、中尾一和。レプチンの抗うつ作用と肥満に合併するうつ状態における意義

知的財産権の出願・登録状況

なし

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

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
佐藤 貴弘 久留米大学分子生命科学研究所遺伝情報研究部門

研究要旨 中枢性摂食異常症の患者さんではしばしば自律神経機能の異常が認められる。それは循環器機能(血圧・心拍の異常)、消化管の運動障害、体温調節機能の異常などである。われわれはこれまでの研究で、グレリンが自律神経機能の恒常性維持に必要なホルモンであり、その欠損は血圧・心拍数の日内リズム消失や不安定化、消化管運動不全、体温調節不全などの自律神経機能異常をもたらすことを明らかにしてきた。昨年度の研究では、グレリンは体温を低下させて、エネルギーの消費を抑制することを明らかにした。今年度はそのメカニズムを調べた。グレリンは褐色脂肪組織(brown adipose tissue: BAT)に作用して、BATにおけるcAMP産生を抑制し、熱産生に関与する転写因子や転写補助因子の発現を抑制する。これによってUCP1の発現を抑制し、結果として熱産生を抑制することがメカニズムの一つであることが明らかになった。

研究目的

生体にとって最も基本的な循環、呼吸、消化、代謝、分泌、体温維持、排泄、生殖などの機能は自律機能と呼ばれ、自律神経は平滑筋、心筋および腺を支配し、自律機能を協調的に調節している。自律神経は生体の恒常性(ホメオスタシス)の維持に重要な役割を果たすが、われわれのこれまでの研究でグレリンが自律神経の恒常性維持に必要なホルモンであることを明らかにした。グレリンの欠損マウスの解析から、このマウスでは血圧・心拍数の日内リズムが消失し、また不安定になっていることを見いだした。また消化管の運動機能も低下しており、消化物の腸管内輸送に障害を受けている。このようにグレリンには生体の自律神経機能をコントロールする役割があり、グレリン投与によって自律神経の機能維持、そして低ストレス状態をもたらすことができると考えられる。

昨年度の研究によって、われわれはグレリンには体温調節作用、特に体温低下作用を示すことを見つけた。本年度はこのグレリンの体温低下作用について、その分子メカニズムの一端を明らかにした。

研究方法

①グレリンによる体温の恒常性維持

(方法) グレリンが体温の恒常性維持に必要であることを調べるために、グレリンKOマウスを高温環境下

に置いてグレリン発現・分泌を調べた。また高温環境下での体温上昇の変化、死亡率などをグレリンKOマウスと野生型マウスで比較した。

②グレリンの体温低下作用機序の解明

(方法) マウスの体温が変化する条件でグレリンKOマウスと野生型マウスの組織(視床下部、肝臓、心臓、白色脂肪細胞、褐色脂肪細胞)での遺伝子発現変化をDNAマイクロアレイを用いて調べ、候補遺伝子をピックアップした。その遺伝子について、グレリンがどのような仕組みで体温を低下させるのか、マウスの褐色脂肪細胞の培養系を用いて調べた。褐色脂肪細胞の培養系でグレリン投与による細胞内の変化や熱産生関連の転写因子の動きを調べた。またマウスにグレリンを投与したときの熱産生関連の転写因子の動きを調べた。

(倫理面への配慮)

グレリン欠損マウスは、「久留米大学遺伝子組換え実験安全委員会」の承認を得て使用した。また、本研究で行うすべての実験動物は、本学規定の拡散防止措置(PIA)を遵守して行い、倫理面においては年度毎に更新が必要な「久留米大学動物実験委員会」の承認を得て実施した。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グレリンによる体温の恒常性維持

マウスにグレリンを投与すると体温が下がる。投与後数分して体温は下がり始め、投与2時間でもとの体温よりも2度以上の低下を認めた。もちろんこの体温低下は室温よりも下がることはないことから、言い換えれば体温低下は「熱産生の抑制」のためと考えられる。予備的な実験ではこの体温低下はヒトにおいても認められる。

グレリンKOマウスを高温環境および低温環境においた時の状態を調べた。われわれが作出したグレリン欠損マウスを使った実験からは、グレリンが欠損すると高温環境下にマウスを置いたときに、体温上昇が野生型に比べて大きく、またその結果、野生型では死亡率が5%くらいであるのに対して、グレリン欠損マウスでは死亡率が30%以上と高率になる(図1)。

高温環境下においた野生型マウスの血中および胃内のグレリンを調べてみると、血中グレリン濃度は高温環境下では上昇し、また胃内のグレリンmRNA発現レベルも上昇する。このことから、高温環境下ではグレリンの発現・分泌が増加することがわかった。おそらくは高温状態に反応して、体温を下げるためにグレリン合成・分泌が盛んになるのではないだろうか？

逆にグレリンKOマウスを低温環境(4度)においたときの体温変化を野生型マウスと比較した。低温環境においたグレリンKOマウスの体温変化は野生型マウスのものと優位な差がなかった。

②グレリンの体温低下作用機序の解明

このグレリンによる体温低下のメカニズムを探るために、まずわれわれはターゲットとなる組織の検討をDNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析で検討した。マウスを絶食させるとエネルギー産生を抑制するため、この状態でグレリンKOマウスと野生型マウスの組織を抽出してmRNAを単離、DNAマイクロアレイを行った。その結果、コントロールの10倍以上上昇したものは褐色脂肪組織(以下、BAT: brown adipose tissue)で2種類あった。逆にコントロールから10倍以下に減少したものは視床下部と白色脂肪組織で9種類あった。このなかで、熱産生に重要だと考えられるものはBATにおける2種類の転写因子が考えられた。

BATは生体内での熱産生の主要組織でもあり、この結果からターゲット組織をBATに絞って検討を進めた。

(BATへの間接作用)

BATに入力する交感神経の電気活動をモニターすると、グレリン投与によってBAT入力神経は抑制される。このことはグレリンが交感神経抑制作用を持つことから裏付けられる。

また、血中カテコールアミン濃度を測定すると、グレリン欠損マウスでは36時間の絶食によってアドレナリンとノルアドレナリン濃度の上昇が認められた(図2)。野生型マウスでは上昇は見られない。このことはグレリンがないと、交感神経の抑制機能が失われ、生体内のエネルギー消費を抑制すべき絶食時でも、交感神経活動が活発になって、エネルギーの消費が持続することを示している。

さらにカテコールアミン産生の酵素系を調べてみると、チロシンヒドロキシラーゼとドーパミンβヒドロキシラーゼが絶食時のグレリン欠損マウスで上昇していることがわかった。このことはグレリン欠損状態では、生体内エネルギー消費を抑えるべき絶食状態でも、カテコールアミン合成が活発に行われ、無駄なエネルギー消費の傾向があることを示している。すなわち、ここでも、グレリンが交感神経のレベルを適切な状態にコントロールしていて、グレリン欠損状態ではそのコントロール機能が失われていることを示している。

(BATへの直接作用)

グレリンのBATへの直接作用を明らかにするために、われわれはBATの分化培養細胞系を用いて解析を行った。BATにおいてグレリン受容体が発現していることを確認したのち、グレリン投与によってBAT内でのcAMP産生量を調べた。その結果グレリン投与によって容量依存的にBAT内cAMP産生量は低下した(図3)。BATをあらかじめPTX(百日咳毒素)で24時間処理して、Giタンパク質を抑制しておくこと、グレリンのcAMP産生抑制は消失する。すなわち、グレリンはBATに直接作用して、cAMP産生を抑制することが確かめられた。

BATにおけるcAMPは交感神経活動が活発になった(それはグレリンの作用に拮抗する)ときに増加し、PKA(プロテインキナーゼA)を活性化し、それが転写因子のCREBをリン酸化してさまざまな熱産生タンパク質の増加をもたらす。

われわれは次に、グレリンを投与したBATにおけるCREBのリン酸化レベルを検討した。その結果、グレリン投与によってリン酸化CREBのレベルが低下することがわかった。時間経過とともにこのリン酸化CREBの減少はもとのレベルに回復する。このグレリンによるリン酸化CREBの減少は、ミトコンドリアでの熱産生遺伝子をコントロールする転写因子と転写補助因子のレベルを低下させる。グレリン投与によって、PPAR α 、PPAR γ 、RXRなどの転写因子、PGC1 α 、PGC1 β などの転写補助因子の発現レベルが低下する。

このように交感神経抑制の間接的な作用として、またBATへの直接的な作用の相乗効果によって、BAT内のcAMP低下、それに引き続く熱産生タンパク質制御の転写因子と転写補助因子のレベル低下が起こる。そして、結果として、BATにおける熱産生の中心的なタンパク質であるUCP1の発現が低下し体温低下（熱産生抑制）が起こると考えられる（図4）。

以上の結果としてBATでの酸素消費（それはすなわちエネルギー消費である）を調べてみると、グレリン投与によってBAT培養液中の放出酸素濃度の低下がコントロールに比べて抑制され、それはBAT細胞内での酸素消費量が抑制されることを示している（図5）。つまりグレリンはBATにおいてエネルギー消費を抑制している。

このグレリンの作用はBATの分化培養細胞系だけではなく、個体のマウスを使った実験でも裏付けられる。グレリン欠損マウスと野生型マウスを36時間絶食の状態におくと、グレリン欠損マウスではPPAR α 、PGC1 α 、PGC1 β などの発現が抑制されず、結果としてUCP1発現が野生型よりも上昇する。

さらにマウスにグレリンを投与したのちに、BATでの遺伝子発現を調べてみると、PPAR α 、PGC1 α 、PGC1 β の発現抑制が認められ、UCP1の発現も抑制された。

グレリン欠損マウスの絶食実験とグレリン投与マウスでの結果を考えると、グレリンはミトコンドリアでの熱産生に重要な転写因子や転写補助因子の発現を抑制して、熱産生タンパク質のUCP1機能を低下させ、その結果、熱産生抑制、体温低下につながると考えられる。

考察

グレリンKOマウスは高温環境に置いたときには影響が大きい、低温状態では野生型マウスと変わらない

い。グレリンは高温環境下という過酷なストレス状態にあるときに多量に合成・分泌され、体温を下げ、ストレス作用を低減するのではないかと考えられた。グレリンが体温を低下させることから考えると、合致した結果だと思われた。

グレリンによる体温調節作用を模式的に示したのが図6である。グレリンは下垂体やCHOなどの培養細胞においては主にGqタンパク質とカップリングしてカルシウム濃度の上昇をもたらすセカンドメッセンジャー経路を動かすのだが、BATにおいては主にGiタンパク質にカップリングして、細胞内のcAMP産生を抑制する。また同時にグレリンはBATに入力する交感神経活動を抑制して、こちらも結果としてcAMPを抑制する。そのあとの細胞内因子の変化によって、最終的にはUCP1の発現や機能を抑制して体温低下をもたらすと考えられる。さらにPPAR α 、PPAR γ 、RXRなどの転写因子は脂質代謝や糖代謝に関与していることが示されていることから、グレリンは単にBATの熱産生を抑制するだけでなく、全身的に代謝活動を抑制することで、さらに熱産生を抑制するものと考えられるが、これらは今後の検討課題である。

生体内にエネルギーを蓄えて飢餓のときに備えることは、動物にとって非常に重要なことである。体内のエネルギーの蓄えを増やすには①摂食量を増やすことと、②エネルギー消費を抑えること、の2つがある。グレリンは強力な摂食亢進ホルモンであることが、これまでの多くの研究で明らかにされてきたが、今回われわれの研究によって摂食亢進以外に、グレリンはBATに作用してエネルギー消費を抑制することで、体内に貯蔵するエネルギー量をキープすることがわかった。このようなグレリンの2つの作用が補い合って、総合的に体内にエネルギーを蓄え飢餓状態に備えるのだと思われる。

結論

グレリンには体温調節作用、特に体温低下作用を示す。このグレリンの体温低下作用について、その分子メカニズムの一端を明らかにした。

*健康危険情報

なし

研究発表

論文発表
なし

学会発表

1. 児島将康：成長ホルモン分泌と食欲を刺激するホルモン“グレリン”の多彩な生理作用. 第52回日本小児神経科学学会総会、福岡、2010.5.20
2. 児島将康：Ten years after the discovery of ghrelin: novel functions and processing 18th International

Symposium of Regulatory Peptides, Belfast (North Ireland)、2010.9.8

3. 児島将康：グレリンと体温調節・肥満. 第31回日本肥満学会、前橋、2010.10.1
4. 児島将康：グレリンと体温調節. 第63回日本薬理学会西南部会「新薬理学セミナー」、鹿児島、2010.11.25

知的財産権の出願・登録状況

なし

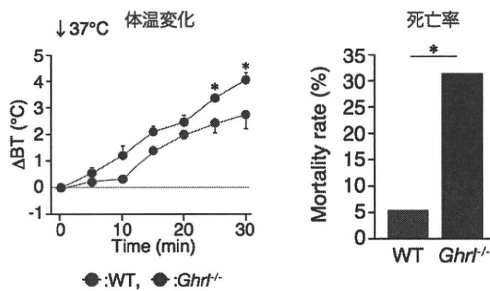


図1 高温環境下に置いた時の、グレリン欠損マウスの体温変化と死亡率

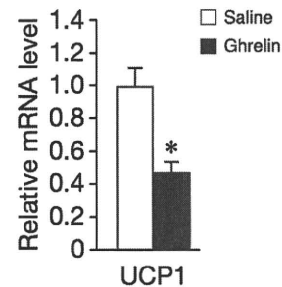


図4 褐色脂肪組織でのUCP1発現レベルの変化。グレリン投与でBATのUCP1発現レベルは抑制される。

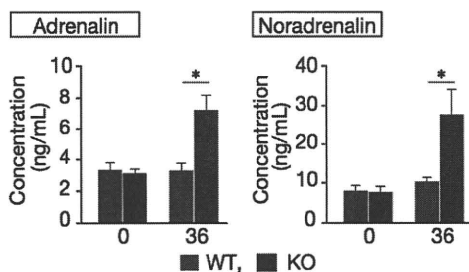


図2 絶食時の褐色脂肪組織におけるカテコールアミン濃度。KO：グレリン欠損マウス、WT：野生型マウス

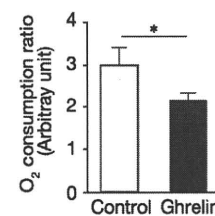


図5 褐色脂肪細胞の酸素消費量。グレリン投与によってBATでの酸素消費量が減少する。

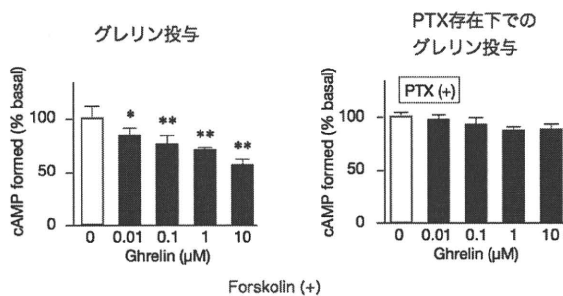


図3 グレリン投与によってBATのcAMP濃度が抑制される。この抑制はPTX存在下では起こらない。

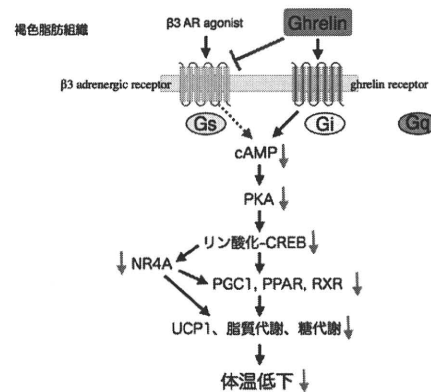


図6 BATにおけるグレリンの熱産生抑制メカニズム

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

摂食異常症におけるエネルギー欠乏と大脳辺縁系機能

分担研究者 吉松 博信 大分大学医学部総合内科学第一 教授
千葉 政一 大分大学医学部総合内科学第一 助教

研究要旨 摂食異常症の患者ではストレス応答としての食行動調節機構に何らかの機能異常が生じている可能性が示唆される。我々はこれまでの研究で、前頭前野辺縁下皮質(infralimbic cortex:IL)が、視床下部神経ヒスタミンと神経性に直接連携し、物理的ストレスや情動ストレスなどにもなる記憶学習能および反応性食行動の調節に深く関与していること、ILはストレスによる食行動抑制メカニズムにおいて情報入力の部位として機能し、神経ヒスタミンに情報を伝達することで摂食抑制作用を発揮していること、またその神経ヒスタミンの作用部位は、摂食抑制作用に関してはILではなく視床下部を含む他の部位であることなどを報告してきた。また、視床下部神経ヒスタミンが扁桃体(amygdala; AMY)に神経繊維を密に投射しており、AMYの食行動抑制作用、情動反応促進作用の制御に深く関与することを報告した。平成22年度の研究では、エネルギー欠乏状態の食行動調節メカニズムの解明を目的として、1)AMPKと神経ヒスタミンの機能連関、2) 絶食後再摂食時の神経ヒスタミンによる扁桃体機能制御機構について、ウィスター系雄性10週齢ラットを用いて検討した。その結果、中枢性AMPK活性化は食行動を有意に促進する一方で神経ヒスタミン機能を活性化することが判明した。さらに、扁桃体内ヒスタミン直接投与は、ラットの絶食後の再摂食を有意に抑制した。以上より、1)エネルギー欠乏状態ではAMPKを介し食行動促進系と神経ヒスタミン機構等の食行動抑制系が同時に駆動されること、2)扁桃体へのヒスタミン投与はエネルギー欠乏状態における食行動促進反応を有意に抑制することが、明らかとなった。

研究目的

神経性食欲不振症では、摂食量および体重の減少が認められるが、日常生活での活動性や覚醒レベルは亢進していることが多い。また、神経性食欲不振症患者の脳脊髄液中では、ヒスタミン含有量の増加が観察される。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る。神経ヒスタミンには H1 受容体を介する食行動抑制作用や覚醒レベル亢進作用がある。また交感神経活性化を介して、白色脂肪組織での脂肪分解を促進し、褐色脂肪組織での uncoupling protein (UCP) 1 誘導にともなう熱産生を促進する。これらのことから、神経性食欲不振症の病態生理には、視床下部神経ヒスタミンの動態が深く関与することが示唆される。一方、ヒスタミンニューロンの起始細胞が密に存在する結節乳頭核(TMN)へは、ストレス情報処理や情動行動調節に関与する前頭前野辺縁下皮質(infralimbic cortex; IL)からの直接的な神経投射がある。また、IL や扁桃体(amygdala; AMY)に対し TMN から神経投射があり、これらの神経核群は何らかの機能

連関を有することが示唆される。事実、ヒスタミン H1 受容体(H1R)結合性の[(11)C]ラベル doxepin を用いた Positron emission tomography (PET)検査により、神経性食欲不振症患者のAMYではH1Rが非常に密に発現することが報告され、神経性食欲不振症の病態形成において、神経ヒスタミンと扁桃体等の辺縁系が寄与する可能性が示唆されている。また近年、視床下部 AMPK がエネルギー調節機構に深く関与し、視床下部 AMPK の活性化が食行動促進反応を惹起すること、飢餓や細胞内糖欠乏状態が視床下部 AMPK を活性化し、活性化された AMPK が食行動を有意に促進することなどが知られている。一方で、このようなエネルギー欠乏条件は視床下部神経ヒスタミン機能を活性化することを我々は既に報告している。我々はこれまでの研究により、IL と TMN の直接的な繊維連絡、IL 破壊ラット (IL-lesion)におけるストレス応答の減弱および視床下部ヒスタミン代謝回転の低下、IL におけるオレキシンの食行動誘発作用およびヒスタミンの行動変容促進作用、さらに視床下部神経ヒスタミンが扁桃体

(amygdala; AMY)に神経繊維を密に投射しており、AMY の食行動抑制作用、情動反応促進作用の制御に深く関与することを、それぞれ報告してきた。本年度の研究ではエネルギー欠乏状態での食行動調節メカニズムの解明を目的として、1)AMPK と神経ヒスタミンの機能連関、2) 絶食後再摂食時の神経ヒスタミンによる扁桃体機能制御機構について検討した。

研究方法

(実験動物)

動物は雄性 10 週齢 22-25g の c57bl6n mouse および雄性 10 週齢雌性 10 週齢 280-320g の Wistar rat を用いた。各実験群の使用した個体数は 5 匹とし、1 個体を 1 実験にのみ使用した。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 \pm 1 度、湿度 55 \pm 5% の恒温恒湿防音環境下で実験を行った。飼料はクレア社製通常飼料を用い自由摂食下で飼育した。

(実験方法)

試薬は、マウス視床下部ヒスタミン代謝回転を測定する目的で、試薬溶解液および対照液として dimethyl sulfoxide (DMSO) 2 μ L/mice を、AMPK 活性化剤として 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside (AICAR) 5 μ g/2 μ L/mice を、AMPK 抑制剤として CC(Compound C) 5 μ g/2 μ L/mice を、MAOB 阻害剤として Pargyline hydrochloride (65mg/kg, 腹腔内投与)を、それぞれ用いた。また、ラット AMY へのヒスタミン作用を検討する目的で、人工脳脊髄液(aCSF)としてアートセレブ(大塚製薬) 1 μ L/rat を、外因性ヒスタミン負荷としてヒスタミン(HA)(Sigma 社製) 30 μ g/1 μ L/rat を、それぞれ用いた。マウス側脳室へのステンレスカテーテル慢性留置は、脳定位固定下で Bregma より後方 0.5mm、右側方 1.0mm、大脳表面より腹側 1.8mm の位置に 29G のガイドカテーテルを留置し、術後 1 週間の回復期間を経て同ガイドカテーテルより、薬液投与用ポリエチレンチカテーテルを無麻酔下で装着し、同カテーテルより試薬を微量投与した。ラット AMY へのステンレスカテーテル慢性留置は、脳定位固定下で Bregma より後方 3.0mm、右側方 4.2mm、大脳表面より腹側 7.0mm の位置に 23G のガイドカテーテルを留置し、術後 1 週間の回復期間を経て同ガイドカテーテルより、29G の注入用ステンレスカテーテルを無麻酔下で装着し、同カテーテルより試薬を微量投与した。実験終了後に脳切片を作成し、マウス側脳室およびラット AMY への注入を確認した。視床下部神経ヒスタミン代謝回転測定は高速液クロマトグラフィー(HPLC)を用いて解析

した。食行動、飲水行動および一般活動量は、遠隔自動行動測定装置を用いて解析した。実験進行は、まず、側脳室ステンレスカテーテル慢性留置マウスを用いて、明期である午前 9 時に、マウス側脳室に DMSO、AICAR または CC をそれぞれ中枢性に投与(icv)し、その後の食行動変化を観察した。次に同様のプロトコールで、午前 8 時 50 分に腹腔内に pargyline 投与したマウスの側脳室へ DMSO、AICAR または CC をそれぞれ中枢性に投与(icv)し、icv 後 60 分で視床下部を回収し HPLC にて視床下部テメチルヒスタミン(tMH)含有量を測定し、神経ヒスタミン代謝回転の変化を検討した。さらに、AMY 中心核ステンレスカテーテル慢性留置ラットに対して、前日暗期直後より over night fasting を負荷し、午前 9 時に aCSF または HA をカテーテルより微量投与した直後より再摂食を開始させ、その後の食行動変化を観察した。群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。

(倫理面への配慮)

すべての実験は National Insitute 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) AMPK 機能修飾薬によるマウス食行動変化(図 1)

AMPK 活性化薬である AICAR の側脳室内投与により、投与後 1 時間および 2 時間の摂食量が有意に増加した($p < 0.05$)。同処置はマウスの 24 時間摂食量には影響しなかった。AMPK 抑制薬である CC の側脳室内投与は食行動に有意な変化を与えなかった。

2) AMPK 機能修飾薬によるマウス視床下部 HA 代謝回転の変化(図 2)

AMPK 活性化薬である AICAR の側脳室内投与 1 時間後において、マウス視床下部の tMH 含有量および tMH/HA 比の有意な増加が認められた($p < 0.05$)。AMPK 抑制薬である CC の側脳室内投与は、tMH 含有量および tMH/HA 比に影響しなかった。

3) AMY への HA 微量投与による絶食後再摂食行動の変化(図 3)

AMY への HA 微量投与は絶食後の再摂食量を 1-3 時間および 24 時間にわたり有意に抑制した(各 $p < 0.05$)。飲水行動については、再摂食開始後 3 時間までは有意な増加が認められた($p < 0.05$)が、24 時間飲水量には変

化がなかった。

考察

本研究により、中枢性 AMPK 活性化は食行動を有意に促進する一方で神経ヒスタミン機能を活性化すること、さらに、扁桃体内ヒスタミン直接投与は、ラットの絶食後再摂食を有意に抑制することが、それぞれ判明した。これらの実験結果より、1)エネルギー欠乏状態では AMPK を介して食行動促進系と神経ヒスタミン機構等の食行動抑制系が同時に駆動されること、2)扁桃体へのヒスタミン負荷はエネルギー欠乏状態における食行動促進反応を有意に抑制することが明らかとなった。エネルギー欠乏条件下における視床下部神経ヒスタミン代謝回転の活性化には、オレキシンなどが介在する可能性や AMPK リン酸化による直接的な神経活動促進の可能性などが示唆されるが、その詳細は不明である。

神経ヒスタミンは IL からの神経投射を受けるとともに、逆に AMY や IL へ投射する。このことから、ストレス負荷によって活性化された神経ヒスタミンが AMY や IL など大脳皮質-辺縁系に作用し、食行動や情動の制御に深く寄与する可能性が示唆される。また、エネルギー欠乏条件下で活性化される神経ヒスタミンが扁桃体に作用して摂食行動を抑制するという今回の実験結果は、神経性食欲不振症におけるヒスタミンのターゲットが扁桃体である可能性を示唆している。

結論

今回の研究結果から、扁桃体中心核は視床下部ヒスタミン神経系と連動し、両者で構成される神経ネットワークがストレスやエネルギー欠乏条件下での食行動や情動反応の調節・統合に深く関与する可能性が示唆された(図4)。本調節系がヒト摂食異常症の病態生理にどのように関わっているのか、さらに解析が必要である。

*健康危険情報

今回の研究で特に人体の健康に有害な事象は発生しなかった。

研究発表

論文発表

1. Masaki T, Yoshimatsu H. Neuronal Histamine and its Receptors: Implication of the Pharmacological Treatment of Obesity. *Curr Med Chem*. 17: 4587-92, 2010.
 2. Anan F, Masaki T, Shimomura T, Fujiki M, Umeno Y, Eshima N, Saikawa T, Yoshimatsu H. Abdominal visceral fat accumulation is associated with hippocampus volume in non-dementia patients with type 2 diabetes mellitus. *Neuroimage*. 49:57-62, 2010.
 3. Anan F, Masaki T, Shimomura T, Fujiki M, Umeno Y, Eshima N, Saikawa T, Yoshimatsu H. High-sensitivity C-reactive protein is associated with hippocampus volume in nondementia patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. in press, 2010.
 4. Nishimura J, Masaki T, Arakawa M, Seike M, Yoshimatsu H. Isoleucine prevents the accumulation of tissue triglycerides and upregulates the expression of PPARalpha and uncoupling protein in diet-induced obese mice. *J Nutr*. 140:496-500, 2010.
- #### 学会発表
1. 後藤孔郎, 千葉政一, 正木孝幸, 藤原貫為, 井上恵, 葛城功, 加隈哲也, 吉松博信. 肥満におけるガストリンと視床下部神経ヒスタミンとの関連. 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会. 岡山. 糖尿病. 53 巻 Suppl.1 PageS-291, 2010.
 2. 加隈哲也, 織部淳哉, 原中美環, 岡本健二郎, 清家正隆, 吉松博信. チアゾリジン誘導体による脂肪肝の改善増悪は肝臓 PPAR γ の基礎発現量と脂肪組織での作用が規定する. 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会. 岡山. 糖尿病. 53 巻 Suppl.1 PageS-161, 2010.
 3. 吉村充弘, 千葉政一, 加隈哲也, 嶋田知生, 瀬口正志, 吉松博信. 超低カロリー食療法への高度抵抗性を示した subclinical cushing 病の一例. 第 31 回日本肥満学会. 前橋. 肥満研究.16 巻 Suppl Page175, 2010.
 4. 加島尋, 千葉政一, 正木孝幸, 葛城功, 加隈哲也, 宮崎英士, 吉松博信. レスベラトロール脳室内投与によるマウス食行動の変容. 第 31 回日本肥満学会. 前橋. 肥満研究. 16 巻 Suppl. Page155, 2010.
 5. 青佐泰志, 石川真奈美, 湯浅玲子, 千葉政一, 嶋田知生, 吉松博信. 特定保健指導におけるランチャイキングを用いた行動療法の実践. 第 31 回日本肥満学会. 前橋. 肥満研究.16 巻 Suppl. Page154, 2010.
 6. 森脇千夏, 千葉政一, 吉松博信. 高コレステロール食慢性投与がマウスに高コレステロール血

- 症を発症させ脳機能に影響を与える. 第 31 回日本肥満学会. 前橋. 肥満研究. 16 卷 Suppl. Page143, 2010.
7. 魏会興, 千葉政一, 吉松博信, 島田達生. 加齢に伴うヒト褐色脂肪組織の形態学的変化. 第 31 回日本肥満学会. 前橋. 肥満研究. 16 卷 Suppl. Page140, 2010.
8. 後藤孔郎, 千葉政一, 井上恵, 藤原貫為, 正木孝幸, 葛城功, 加隈哲也, 吉松博信. 摂食行動調節におけるガストリンと視床下部神経ヒスタミンの機能連関. 第 31 回日本肥満学会. 前橋. 肥満研究.16 卷 Suppl. Page135, 2010.
9. 正木孝幸, 吉松博信. 新規 Brain-Gut ホルモンの摂食調節基盤 GLP-1. 第 31 回日本肥満学会. 前橋. 肥満研究.16 卷 Suppl. Page85, 2010.
10. 魏会興, 島田達生, 千葉政一, 吉松博信. 加齢に伴うヒト褐色脂肪組織の形態学的変化. 第 60 回日本体質医学会総会. 熊本. 日本体質医学会雑誌. 72 卷 3 号 Page44, 2010.

知的財産権の出願・登録状況

なし

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

分担研究者 赤林 朗 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

研究要旨 摂食障害の病態把握・治療に重要な過活動と排出行為を、Ecological Momentary Assessment法に基づき、加速度計による客観的な指標を用いて解析を行う。今年度も、昨年度に引き続き、健常者、摂食障害患者のリクルートを行い、身体活動度に関するデータ収集を行った。最終的に、健常者12名に加え、神経性食欲不振症の制限型患者（AN-R）15名、むちゃ食い/排出型患者（AN-BP）13名のデータの測定を行った。集められた2種類の加速度計のデータを用いて、日常生活下における過活動および排出行為の病態評価を客観的に解析したところ、体重あたりの消費エネルギーに関して、AN-R群が、統計学的に有意に健常群よりも大きく（ $p = 0.01$ ）、AN-BP群が健常群よりも大きい傾向がある（ $p = 0.096$ ）という結果が認められた。この結果は、AN群が健常者よりも日常生活下において客観的な方法によって過活動を確認できたことを意味すると考えられる。

研究目的

摂食障害は主に、神経性食思不振症と神経性過食症、特定不能の摂食障害（むちゃ食い障害など）からなるが、最近の調査では生涯有病率は、神経性食欲不振症で0.9%、神経性過食症で1.5%、むちゃ食い障害で3.5%と報告されている¹⁾。摂食障害の病態理解・治療においては、過活動や排出行為などの不適切な代償行為が重要となるが、過活動や排出行為を正確に捉えることは難しく、これまで重要性が指摘されながらも実態が十分には明らかにされてこなかった。過去の研究の問題点としては、症状の記録が回顧的であったということと、身体活動が質問票に基づく主観的な方法であったことである。従って、本研究においては、日常生活下でリアルタイムに症状等を評価・記録するEcological Momentary Assessment²⁾、³⁾（EMA）（図1）に基づく評価方法を用い、さらに、アクチグラフやライフコーダなどの加速度計を用いて身体活動度を客観的な指標により評価することにより、信頼性の高い方法で過活動と排出行為の実態を明らかにすることを目的とする。

研究方法

(1) 対象

疾患群：東大病院心療内科外来に通院中の摂食障害患者で、15歳以上35歳未満の女性。除外規定は設けない。

健常群：15歳以上35歳未満の健常女性。通院や内服のある者は除外する。

(2) 手続き

60秒毎の測定が可能な腕時計型アクチグラフ（AMI社製）と4秒毎の強度測定可能なライフコーダの2種類の加速度計を装着する。微細な身体活動度の記録を行うために、アクチグラフは、利き腕でない方の腕に装着する。また、消費カロリーを記録するために、ライフコーダは、腰に装着する。また、行動を記録するためのブックレットを携帯する。上記を、2週間装着し、加速度による活動パターン、消費カロリー、排出行為の状況（頻度、時刻、時間）などのデータを採取する。

（倫理面への配慮）

研究参加者には事前に十分な説明を行い、同意を取得し、参加後の取り止めがしやすいように配慮した。また、本研究は東京大学医学系研究科倫理委員会の承認を得て行われた。

研究結果

今年度もリクルートを行い最終的に、神経性食欲不振症（AN）の制限型（AN-R）15名（ 24.2 ± 6.5 歳、 $BMI 15.2 \pm 1.4 \text{ kg/m}^2$ ）、むちゃ食い/排出型（AN-BP）13名（ 28.2 ± 6.3 歳、 $BMI 15.8 \pm 1.7 \text{ kg/m}^2$ ）、健常者12名

(22.4±1.9 歳、BMI19.7±1.4kg/m²)の記録が得られた。得られたデータの例として、AN-BP 患者における、むちゃ食いおよび自己誘発性嘔吐時のアクチグラフおよびライフコーダによるデータを示す(図2)。過食中は、ライフコーダの測定値が低値を示しているが、アクチグラフによる測定値は過食の前半でやや低値を示すのみであり、両者の測定値のパターンが乖離していることが読み取れる。

3 群間の比較においては、消費エネルギー(1日)、身体活動カウント数(1分)を算出し、マルチレベル解析を用いたところ、体重あたりの消費エネルギーにおいて3群間において統計学的に有意な違いを認めた。さらに、Scheffeの多重比較を用いて比較を行ったところ、AN-R群(40.0±0.65kcal/kg/day)が、統計学的に有意に健常群(37.0±0.72kcal/kg/day)よりも大きく(p=0.01)、AN-BP群(39.2±0.69kcal/kg/day)が健常群よりも大きい傾向がある(p=0.096)という結果が認められた。

考察

神経性食欲不振症患者群が健常者よりも日常生活下において活動量が多いことが確認された結果は、過活動という代償行動が実際に行われていることを示唆するものである。しかしながら、過活動の評価に関しては、十分な対象数と十分なデータ測定期間(14日間)が得られたと考えるものの、自己誘発性嘔吐による代償行動に関しては、対象者の嘔吐の頻度が低かったため、十分とは言えず、今後もデータ収集が必要である。

摂食障害の代償行動に関する過去の研究の多くは、質問票やインタビューなど、患者の記憶に頼る方法がほとんどであったが、本研究は世界でも初めて14日間という長期間の日常生活下での客観的な身体活動のデータ測定を行ったという点で、学術的な観点において国際的にもその貢献は大きいと思われる。また、従来、ブラックボックスであった摂食障害患者の日常生活下での身体活動状況を明らかにしたという点で、今後の治療介入への応用も期待でき、社会的貢献も大きいと考えられる。

結論

EMAに基づいた手法によって、摂食障害患者の過活動が確認された。神経性食欲不振症患者の病態理解にEMAを用いた評価方法は有意義であると思われる。

*健康危険情報

なし

参考文献

1. Hudson JI, Hiripi E, Pope HG Jr, Kessler RC. The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Biological Psychiatry* 61:348-358, 2007
2. Stone AA, Shiffman SS. Ecological momentary assessment (EMA) in behavioral medicine. *Ann Behav Med* 1994, 16:199-202
3. Yoshiuchi K, Yamamoto Y, Akabayashi A. Application of ecological momentary assessment in stress-related diseases. *BioPsychoSoc Med* 2008, 2:13
4. Kikuchi H, Yoshiuchi K, Ohashi K, Yamamoto Y, Akabayashi A. Tension-type headache and physical activity: an actigraphic study. *Cephalalgia* 2007, 27:1236-1243

研究発表

論文発表

1. Yoshiuchi K, Takimoto Y, Moriya J, Inada S, Akabayashi A. Thrombopoietin and thrombocytopenia in anorexia nervosa with severe liver dysfunction. *International Journal of Eating Disorders* 43:675-677, 2010

学会発表

1. 下平智史、大谷 真、瀧本禎之、森屋淳子、吉内一浩、赤林 朗：「神経性大食症患者における血中 FGF23 濃度」：第 15 回日本心療内科学会総会 2010.11.20-21, 岡山

知的財産権の出願・登録状況

なし

研究協力者

下平智史 東京大学大学院医学系研究科
ストレス防御・心身医学
瀧本禎之 東京大学大学院医学系研究科
ストレス防御・心身医学
吉内一浩 東京大学大学院医学系研究科
ストレス防御・心身医学

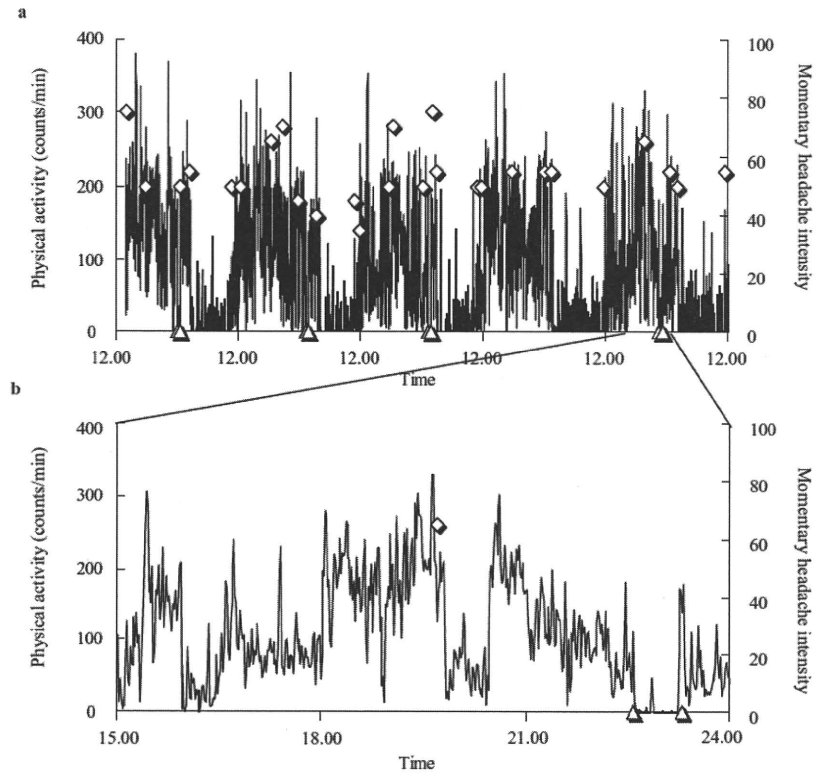


Figure 1 Example of data for momentary headache intensity and physical activity in a patient with tension-type headache: (a) for 5 days and (b) for 9 h, which are part of the data shown in (a). Line graph shows physical activity counts per minute. Open diamond shows momentary headache intensity and open triangle shows time of taking off and putting on the computers. (b) Headache was exacerbated and the patient added an event-contingent recording around 19.30 h (open diamond). It seems that physical activity was decreased after the headache exacerbation. —, Physical activity.

図1 研究分担者らのアクチグラフを併用した Ecological Momentary Assessment の例 (文献4)

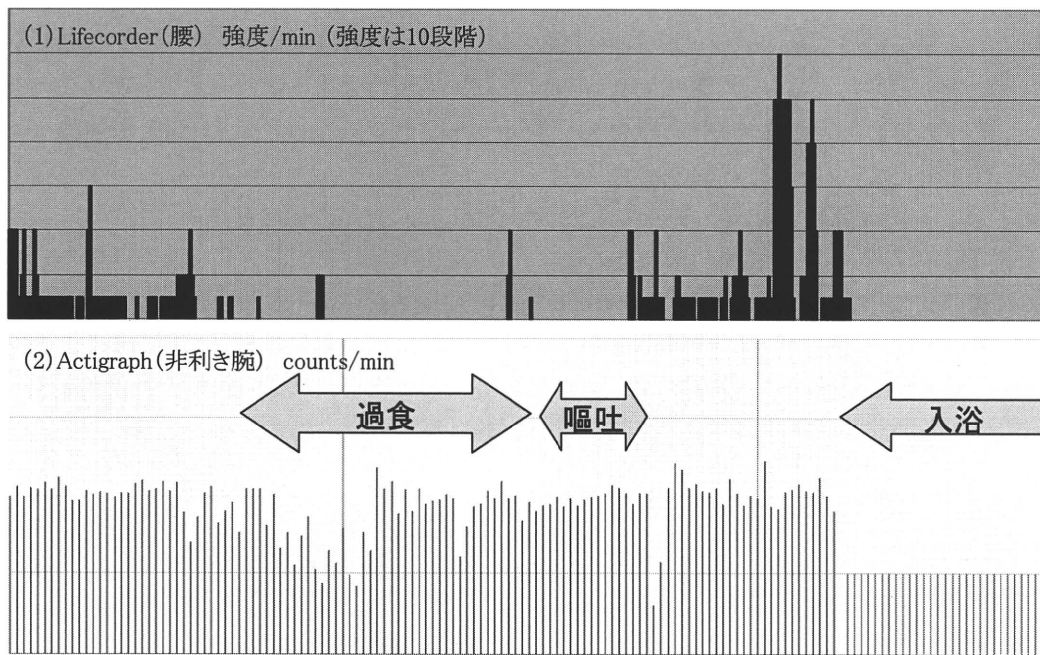


図2 神経性食欲不振症 (むちゃ食い/排出型) 患者の過食・嘔吐時の身体活動度の例

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開始

分担研究者 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
(現 和歌山県立医科大学 内科学第一講座 教授)

研究要旨 グレリンは中枢を介した食欲増進と胃腸運動亢進の作用を有している。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、グレリンは中枢投与のみならず末梢投与によっても食欲促進作用・胃腸運動亢進作用を発揮し、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。そこで、グレリンの臨床応用を図る試験として、「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関する検討」の実施計画を策定した。

研究目的

グレリンは食欲促進作用・GH 分泌促進作用を有するホルモンであり、その効果は中枢投与のみならず末梢投与によっても発揮される。これらの作用に加えて、グレリンは消化管の蠕動運動を亢進させる作用を有していることが明らかになっている。この蠕動運動亢進作用は、健常人のみならず、糖尿病性胃腸障害患者や特発性胃腸症患者においても発揮されることが報告されており、その報告によると、グレリン投与によって胃からの食物排出速度が約 30-40%早まり、腹部膨満感の改善も併せて認めたとされている。京都大学医学部附属病院探索医療センターにおける臨床第 I 相試験でも、健常人におけるグレリン投与試験により、グレリンが空腹度上昇や胃運動促進作用を有することが確認できている。一方、全身性強皮症（systemic sclerosis: SSc）は、自己免疫的機序によって全身の皮膚や血管、内臓の平滑筋組織がコラーゲン線維に置き換わり、多臓器に病変が及ぶ疾患であり、厚生労働省からは難病（特定疾患）に認定されている。全国に約 10,000 人以上の罹患者がいると推定されている。全身性強皮症患者には、(1) レイノー現象、(2) 皮膚症状（皮膚硬化・潰瘍・色素異常）、(3) 関節炎・変形、(4) 肺線維症、(5) 腎症状（強皮症腎）、(6) 消化管障害等の多彩な症状が出現する。特に消化管障害は、90%の患者が有しているといわれており、病変は食道から肛門まで広く及ぶ。強皮症患者の 43%は消化管症状に

より脂肪吸収障害を示し、その 50%の症例は栄養吸収不良を示す。特に再発を繰り返す偽性腸閉塞は患者の QOL を低下させ生命予後を悪化させる原因の一つである。我が国では、全身性強皮症の重症度は体重減少の程度で規定されているが、消化管障害の寄与するところは大きい。現在のところ、強皮症そのものを治療させる薬剤は存在せず、諸症状に対して(1)ステロイド少量内服（皮膚硬化に対して）、(2)シクロホスファミド（肺線維症に対して）、(3)プロトンポンプ阻害剤（逆流性食道炎に対して）、(4)プロスタサイクリン（血管病変に対して）、(5)ACE 阻害剤（強皮症腎クリーゼに対して）、(6)エンドセリン受容体拮抗剤（肺高血圧症に対して）などが用いられているのみである。しかしながら、その効果は限定的である。消化管障害に対しても、(1)メトクロプラミドやドンペリドンといった消化管運動促進剤 (2)抗菌薬による腸内細菌の制御、(3)栄養補給などの治療が行われているが、その効果は不十分であり、有効な治療の開発が待たれている。食欲亢進作用と消化管運動促進作用を併せ持つグレリンは、その候補となりうるのではないかと我々は考えている。全身性強皮症患者における消化管運動障害に対してグレリンの有効性を検討した報告は、現在のところ国内外とも未だない。そこで我々は、消化管運動障害を有する全身性強皮症患者にグレリンを投与して消化管運動機能が改善しうるか否かを検討することとした。

研究方法

対象集団

消化管運動障害を有する全身性強皮症患者

全身性強皮症は、強皮症新診断基準（厚生労働省竹原班、2003年）に基づいて診断し、消化管障害は、厚生労働省強皮症調査研究班による試案に従い判断する。

目標症例数

10例

試験期間

症例登録期間：2010年9月～2011年9月

試験期間：2010年9月～2012年1月（登録終了後16週）

試験デザイン

グレリン（5 μ g/Kg）単回静脈内投与（二重盲検・クロスオーバー試験）。

消化管運動機能の評価方法

13C 呼気試験にて評価する。

13C 呼気試験とは、12C の安定同位体である 13C が自然界に約 1.1% 存在することを利用し、13C 標識化合物を摂取させて、胃からの排出、小腸での吸収、肝臓で代謝された後、呼気中に現れ、呼気中 CO₂ に含まれる 13C が増加することを利用し胃排泄能・消化管運動能を評価することができる。

試験食（半消化態流動食 200ml：ラコール R（イーエヌ大塚）200ml/袋（200kcal））に 13C 標識化合物（13C-acetate 100mg）を混和したものを摂取し、摂取完了後速やかに試験薬（被験薬またはプラセボ対照薬）投与する。投与完了後 15 分ごと 210 分まで呼気採取を行い、各測定ポイントの呼気中 13CO₂ 存在率を赤外線分析装置で測定し、前値との差（ \square 値）を求める。呼気中 13CO₂ 存在率が最高になるまでの時間を T_{max} とし、この T_{max} 値にて胃排泄能・消化管運動能を評価する

その他のエンドポイント

VAS（Visual Analogue Scale）による空腹度スコア

（倫理面への配慮）

臨床試験の実施に際しては、京都大学医学研究科医の倫理委員会の承認を受ける。試験参加について自由意思による同意を患者本人より文書で得る。

研究結果

京都大学大学院医学研究科倫理審査委員会の承認

を得て、2010年9月21日から臨床試験を開始。目標症例数10例に対して、2010年12月末現在、4症例のクロスオーバー試験を完了。

考察

2010年12月末現在、4症例の試験を終了し、以降も順調に症例登録が進んでいる。予定している試験実施期間内に試験が完了できるものと思われる。

結論

グレリンの消化管運動増進と摂食亢進の作用を利用して、全身性強皮症の胃腸障害や体重減少に対する治療への応用を図っている。京都大学大学院医学研究科倫理審査委員会の承認を得て、2010年9月21日から臨床試験を開始。

目標症例数10例に対して、2010年12月末現在、4症例のクロスオーバー試験を完了。引き続き試験を実施していく。

*健康危険情報

4症例のクロスオーバー試験を完了時点では、特に有害事象は生じていない。

研究発表

論文発表

1. Akamizu T, Iwakura H, Ariyasu H, Kangawa K: Ghrelin and Functional Dyspepsia. *International Journal of Peptides*. 2010; 2010. pii: 548457. Epub 2010 Jan 12.
2. Yamada G, Ariyasu H, Iwakura H, Hosoda H, Akamizu T, Nakao K, Kangawa K: Generation of Transgenic Mice Overexpressing a Ghrelin Analog. *Endocrinology*. 151(12):5935-40, 2010.
3. Ariyasu H, Iwakura H, Yamada G, Kanamoto N, Bando M, Kohno K, Sato T, Kojima M, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. A post-weaning reduction in circulating ghrelin temporarily alters GH responsiveness to GHRH in male mice, but does not affect somatic growth. *Endocrinology*. 151(4):1743-50, 2010.
4. Iwakura H, Li Y, Ariyasu H, Hosoda H, Kanamoto N, Bando M, Yamada Go, Hosoda K, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. Establishment of a novel ghrelin-producing cell line. *Endocrinology*, 151(6):2940-5, 2010.

学会発表

1. 岩倉浩、有安宏之、坂東美佳、細田公則、中尾一和、寒川賢治、赤水尚史：グレリノーマモデルマウスの作製と解析. 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会. ホテルグランビア岡山ほか (岡山市), H22 年 5 月 27 日～29 日.
2. Yamada G, Ariyasu H, Iwakura H, Hosoda H, Akamizu T, Kangawa K, Nakao K: Generation of Transgenic Mice Over-expressing a Ghrelin Analog. *Endocrinology & Metabolism*, ハウステンボス・ユトレヒト会議室 (長崎県佐世保市), 2010 年 7 月 8 日～10 日.
3. 有安宏之、岩倉浩、赤水尚史、山田豪、中尾一和、寒川賢治：後天的グレリン分泌低下マウスにおける成長ホルモン分泌の検討. 第 37 回日本神経内分泌学会学術集会. 京都大学芝蘭会館. 2010 年 10 月 22・23 日.

知的財産権の出願・登録状況

なし

研究協力者

有安宏之 (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)
寒川賢治 (国立循環器病センター)

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

中枢性摂食異常症の全国疫学調査のためのパイロット研究

-東京都の高校生における疫学調査- 進捗状況の報告

分担研究者	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
	浦野 綾子	東京女子医科大学内分泌疾患総合医療センター内科	
	荒木 まり子	東京女子医科大学内分泌疾患総合医療センター内科	
	小原 千郷	東京女子医科大学 女性生涯健康センター 心理	

研究要旨 本研究は、東京都の高校生における摂食障害の有病率を検討する疫学調査で、今後、全国レベルの大規模疫学調査を行うためのパイロット研究であり、その進捗状況を報告する。都立高校の旧10学区からそれぞれ選択した都立、および、私立高校の校長宛に本研究への協力を文書で依頼し、各区1校以上の協力が得られた学校で実施する。養護教諭に質問紙による摂食障害実態調査を行い、高校2年生を対象に質問紙による調査(EAT26)を行い、同時に過去2年間の当該生徒の身長体重のデータを得て、摂食障害と有病率を算出して、最近の発症の動向を把握する。現在、都立高校1校で調査が完了しており、引き続き調査を行い、平成23年度に終了の予定である。

研究目的

東京都の公立、および、私立高校2年生を対象に、生徒に対する質問紙による調査を行い、同時に過去2年間の当該生徒の身長体重のデータを得て、摂食障害と有病率を算出して、最近の発症の動向を把握し、予防と早期の発見体制を確立することを目的とする。

本研究は、今後、大規模疫学調査を行うためのパイロット研究である。

研究対象

高校2年生を対象とする。東京都教育庁、都立学校教育課学校保健推進課の了解とアドバイスを得て、旧10学区内からそれぞれ1校の都立、および、私立高等学校を選び、学校長宛に本研究への協力を文書で依頼する。協力が得られた学校で実施する。実施前には父兄へ文書、必要なら口頭で情報提供と説明をする。

性別は男女同数を目標とするが、私学の協力校に女子高が多いため、女子数が優位になると考えられる。

身長体重に影響を及ぼす器質的疾患を有する生徒を除外する。

研究方法

1) 研究参加の依頼

文書で協力の了解を得られた高校に、養護教諭に対する質問表、生徒数分の質問紙（糊付き封筒添付）、身長体重データ入力用の USB フラッシュメモリーを送付する。

生徒への質問紙は、各学校の判断により授業時間中あるいは休憩時間などに配布して回答をしてもらう。不同意の場合は、白紙のまま回収する。質問紙の学校内での回収方法は各校に委ねる。回収された糊付け封筒内質問紙と USB フラッシュメモリーを指定の着払い宅急便にて返送していただく。

2) 調査内容

- ① 養護教諭に対する摂食障害実態調査（質問形式）
 - (ア) 各校の背景：公立・私立、所在地、一学年の生徒数等
 - (イ) 摂食障害経験数
 - (ウ) 学年ごとの発症数
 - (エ) 医療機関受診の実態

② 過去2年間の対象となる全生徒の身長体重データ
(生年月とイニシャルを記入)

③ 生徒に対する摂食障害に関する意識調査

摂食態度検査 (Eating Attitude Test:EAT26) の質問に
答え、自ら封筒に入れて封をする。この際、可能なら
ば生年月とイニシャルを記入。

3) 試料・データの解析

調査内容の②と③の照合を行う。摂食障害患者とそ
の予備軍の数を集計する。

4) 倫理的配慮

本研究は、東京女子医科大学倫理委員会で審査され、
平成22年10月7日に承認されている。養護教諭、およ
び、生徒より得るデータは生年月とイニシャルの記入
を依頼するが、照合後はデータを記号化する。データ
の対象は不特定多数であり個人を特定することはな
く、協力の学校名も希望により公表しないため、文書
同意は得ない

本研究で得られる成果は、学術誌や学術学会等での
発表により公開される。個人情報公表されることは
有り得ないが、成果の公表に際しては改めて個人情報
の遺漏のないよう細心の注意が払われる。質問紙と身
長体重データは、研究終了後、適切に破棄される。

研究参加の自由と撤回権本研究は学校長と養護教
諭の判断による自由参加で、かつ、撤回できる。また、
生徒に対する質問紙調査は不参加の権利を「白紙回
答」または「未提出」にて保証する。

研究結果

新宿区の共学都立高校1校で試験的に実施した。10
都立10校、及び、私立10校に依頼文書送付(参考資料
1)し、都立高校1校から協力可能な回答を得ている。

考察

これまで、厚生労働省調査研究班は300床以上の病
院を対象に、1980~1981年、1985年、1992年に受診
した患者についての医療機関宛のアンケート方式で
瑛学調査を行っている。回収率37.4%で、神経性食
欲不振症と神経性大食症の推定患者数、人口10万人
あたりの有病率、10~29歳女子10万人あたりの有病
率はそれぞれ、3094/1414名、2.5/4.9人 14.8/6.7人
であった。一方、1992年に行われた日本教職員組合「児
童生徒の健康診断実施状況調査」で、回答が得られた

全国の中学校325校、高等学校99校の養護教諭への
アンケートでは、神経性食欲不振症の有病率は29.2人
/中学生10万人 47.4人/高校生10万人で、病院を対
象にした調査より高率であった。以上より、医療機関
調査の有病率が過少統計になる可能性と学校や地域
での実態調査が必要であることが明らかになってい
る。

最近、心身医学5学会が心身症の診療報酬改正を厚
生労働省に要求した際に有病率の資料を要求され、全
国レベルの最近の疫学調査のニーズはとても高い。

これまでの検討で、神経性食欲不振症の平均年齢は
16.7歳である。そこで、高校2年生を対象とした。

結論

平成23年度に東京都のパイロット研究を終える予
定である。平成24年度以降、同様の調査を東北・北海
道、中部、中国・四国、九州それぞれの地方の1県で
実施し、地域差についても解析する。この調査結果を
基に、小児・思春期摂食障害の早期発見法の開発、早
期治療のための手引きを作成、メディアを通じた予防
キャンペーンを行う。

*健康危険情報

なし

研究発表

論文発表

1. 鈴木(堀田) 眞理:「摂食障害の合併症と治療」(認
知行動療法)日本心療内科学会雑誌14巻 第1
号 23-28 2010
2. 鈴木(堀田) 眞理:「身体の病気としての摂食障
害」こころのりんしょう à-la-carte 29巻第3号
373-377 2010
3. 小原千郷、鈴木(堀田) 眞理:「神経性食欲不振
症患者家族に対する効率的な心理教育プログラ
ムの開発—短期集中・情報提供型の家族教室—」
家族療法研究27巻第1号 82-89 2010

学会発表

なし

知的財産権の出願・登録状況

なし

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

神経性食欲不振症患者における低栄養が心身に及ぼす影響

分担研究者	久保 千春	九州大学病院長
	河合 啓介	九州大学病院心療内科
	山下 さきの	九州大学病院心療内科
	瀧井 正人	九州大学病院心療内科
	須藤 信行	九州大学大学院医学研究院心身医学分野 教授

研究要旨 AN入院患者33名について、入院時と退院時に体重と身体各部位の体組成変化を測定した。入院時BMIが14kg/m²未満群は、BMI14kg/m²以上群と比較して、四肢や体幹の脂肪の増加量は同等で、除脂肪の増加量は有意に多かった。さらに、AN入院患者11名について、入院時、4週間後、8週間後に経時的に体組成や安静時代謝量測定を行った。摂取エネルギーや体重は、4週間後に増加していたが安静時代謝量は8週間後より増加した。脂肪は4週間後、8週間後には有意に増加していた。除脂肪の増加が有意であったのは8週間後であった。ただし、全11名中で除脂肪が極端に少ない(27.5kgより低値)4名は、4週間後に除脂肪体重が増加していた。4週間後の血清レプチン濃度は脂肪量の変化と相関せず、8週間後には血清レプチン濃度と脂肪量は相関した。痩せを呈する患者では、その程度により除脂肪の回復のパターンが異なること、また脂肪の増加パターンと血清レプチン濃度が相関しないことが示唆された。

研究目的

神経性食欲不振症(AN)では、体重が極度に低下すると、生命の危機となる。また、集中力や思考力が低下し、心理的アプローチを行うことが困難となる。ANの治療において低栄養状態の治療は基本であることはいままでもない¹⁾。従って、栄養状態の評価やその回復過程を科学的に理解することは治療上重要である。

我々は、H21年度報告において、身体的要因で緊急入院したAN患者の入院1年前のBMIの変動は、罹病期間や年齢を調節しても、外来あるいは治療目的で予定入院するAN患者と比べてBMI値は低く(緊急群の入院1年前の平均BMI値13.9kg/m²)、BMI値低下の程度も大きい(約3倍)こと、また入院時のBMIが14kg/m²未満に低下したAN患者は体脂肪よりも、除脂肪体重が極端に減少しており、入院時BMIが低値の患者ほど入院中に除脂肪体重が増加することなどを報告してきた²⁾。

今年度、我々は以前報告した患者群の入退院時の体組成の詳細を各部位ごとに改めて解析した。さらに、入院後のBMIの増加と体組成の変動を前向きに定期

的測定することにより、体重の回復に伴う体組成の変化の過程を正確に検討した。

研究方法

研究1 (入院治療前後の体組成の変化の検討—入院時のBMIが14kg/m²未満と以上で分類)

1-1. 対象は2000年以降に入院して、入院時と退院時に二重エネルギーX線吸収測定法(DXA)法により体組成を測定したAN患者33名(全例女性)。

1-2. DXA法で頭部、右上肢、左上肢、右下肢、左下肢、体幹部の重量、脂肪量(FM)、除脂肪量(FFM)を測定した。骨塩量は全身量を測定した。体脂肪量、除脂肪体重、骨塩量を入院時BMI14kg/m²以上と14kg/m²未満の2群に分けて比較した。入院中の各因子の変化量(退院時—入院時)は反復測定の分散分析を用いて比較した。

研究2 (体重・体組成変化の前向き研究)

2-1. 対象は2008年以降に入院した女性AN患者のうち入院期間が2ヶ月以上の患者11名。

2-2. 入院翌日より早朝排尿後の体重を毎日測定し

た。入院時、4週間後、8週間後にインピーダンス法（TANITA DC-320）で体重、体脂肪率、体脂肪量、除脂肪体重の測定を行った。さらに、同日に血清レプチン値や間接熱量計で安静時代謝量を測定した。

2-3. 各因子の経時的な変化は反復測定の分散分析を用いて検定を行った。・カイ検定を行った。

（倫理面への配慮）本研究は九州大学病院の倫理委員会の審査で承認を得ている。参加者には、全員紙面によるインフォームドコンセントを得た。

研究結果

研究1

1-1. 入院時 BMI14 kg/m² 未満と 14 kg/m² 以上の群に分類した患者群の基本データを示す（表-1）。2群間の罹病期間に有意な差はなかったが、病型の割合、年齢、入院期間、入院時 BMI、退院時 BMI、体重増加量は2群間に有意差があった。BMI14 kg/m² 未満群は、AN-R（制限型）が多く、年齢は若く、入院期間は長く、その間の体重増加量も多かった。

1-2. 入院時 BMI14 kg/m² 未満と 14 kg/m² 以上の群の入院時、退院時の各部位の重量を比較した結果、入院時 14kg/m² 未満群は 14 kg/m² 以上群に比べて有意に全身（頭部を除く）の入院時除脂肪量、入院時脂肪量は低下していた。一方、退院時の体組成は2群での有意差は消失していた。

1-3. さらに、入院時 BMI14 kg/m² 未満と 14 kg/m² 以上の群の入院中の各部位の変化量を示す（図-2）。入院時 BMI が 14kg/m² 未満群は、BMI14kg/m² 以上群と比較して、四肢や体幹の脂肪の増加量は有意差が見られないが、四肢と体幹部の除脂肪の増加量は有意に多かった。このことより入院時 BMI が 14kg/m² 未満の群は入院中に FFM がより多く増加していることが示唆された。

研究2

2-1. 入院時体重を基準とした入院後4週間の各患者の体重変動を示す（図-3）。AN-BP（むちゃ食い、排泄型）の患者は体重変動が大きいですが、1ヶ月後には激しい体重変動は安定した。

2-2. 入院時、4週間後、8週間後の摂取エネルギーと安静時代謝量の変化を示す（図-4）。摂取エネルギーは入院時に比べて1ヶ月目、2ヶ月目有意に増加、安静時代謝量は4週間後、8週間後に有意に増加した。

2-3. 入院時と4週間後、4週間後と8週間後の各

患者の体重変化、体脂肪率の変化を示す（図-5）。体重、体脂肪率は4週間後、8週間後で有意に増加した。入院後の脂肪と除脂肪体重の変化量を示す（図-6）。脂肪は4週間後、8週間後でいずれも有意に増加した。除脂肪は、予測に反して、4週間後では有意に増加せず、8週間後では有意に増加した。ただし、今回は症例数が少ないため、細分化した統計処理はできないが、11例のなかで除脂肪の重量が極端に少ない4例（入院時 FFM が 25.8~27.7kg）は4週間後で増加、それ以外の7例は減少あるいは不変であった。

2-4. 入院4週間後の血清レプチン濃度は脂肪量の増加のパターンと異なり、有意な増加は見られなかった。8週間後には血清レプチン濃度は有意に増加した（図-6,7）。

考察

AN 患者の入院治療前後の体組成変化の再解析と入院後の体組成変化を経時的に検討した。

1. BMI が 14 kg/m² 未満の群は入院中に FFM がより多く増加していることが示唆された。これは我々が以前より提言している、「入院時に BMI が低値の患者ほど入院中に増加する除脂肪の重量が多い」ことを裏付けるものである。さらに、除脂肪の増加は体幹や四肢の部位に関わらず一様に増加していることが明らかになった。今後、体幹部の脂肪の増加が皮下脂肪によるものか、内臓脂肪によるものかは明らかにする必要ある。

2. 経時的な体組成・代謝の検討では、入院4週間後は、摂取エネルギーが増加した場合、体重は増加するが安静時代謝量は増加しない。この期間は、生体が安静時代謝量を押さえ、脂肪合成、蛋白同化作用が優先されている可能性がある。さらに、脂肪は入院4週間後においても増加したが、除脂肪の増加は、入院時の除脂肪の少ない症例に限られた。これも「入院時に BMI が低値の患者ほど入院中に増加する除脂肪の重量が多い」ことをサポートする。この低栄養時からの脂肪増加の開始は、生体での脂肪組織の意義を考える上でも興味深い。研究1と2で除脂肪増加のパターンに違いがあるのは、研究1は入院時と十分体重の増加した退院時の比較であり、入院期間は一定ではなく、研究2は、入院から測定までの時間軸を一定期間に固定し、治療初期のデータの評価であるからと考える。

3. 入院4週間後より脂肪組織は増加するが、血清レプチン濃度はこれらと正相関しない。脂肪産生の初期は、レプチン分泌が抑えられている可能性がある。