

201128166A

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 23 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 佳宏

平成 24 (2012) 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 23 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 佳宏

平成 24 (2012) 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
	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科糖尿病・内分泌・代謝内科 小川佳宏	
II.	研究者名簿	5
III.	分担研究報告書	
1.	飢餓適応におけるレプチンの病態生理的意義	6
	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科糖尿病・内分泌・代謝内科 小川 佳宏	
2.	低栄養母体出生児の推測される神経内分泌学的異常：ラットモデルでみられた食餌 パターンの変化とストレス負荷後の HPA 軸の活性化の延長	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.	中枢性摂食異常症に関する臨床研究	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.	低エネルギー条件下におけるグレリン遺伝子欠損マウスの体温変動	18
	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.	エネルギー情報と神経ヒスタミンの応答系	22
	大分大学医学部総合内科学第一 正木 孝幸	
6.	神経性食欲不振症（制限型）に対するグレリン投与による脳血流変化の研究と末梢 からの摂食調節シグナルの解析—カヘキシアモデル動物作成の試み—	25
	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野 中里 雅光	
7.	近赤外線分光鏡を用いた神経性食思不振症の中枢神経機能障害探索	27
	名古屋大学大学院医学系研究科精神医学・親と子どもの心療学分野 尾崎 紀夫	
8.	神経性食欲不振症患者の骨質マーカーの検討	33
	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低栄養からの回復過程での、基礎代謝・体組成・摂食 関連ペプチドの変動	36
	九州大学病院心療内科 久保 千春	
10.	小児思春期摂食障害の内分泌合併症 —成長ホルモン分泌不全症の合併例—	41
	国立成育医療研究センター内分泌代謝科 堀川 玲子	
11.	中枢性摂食異常症の病因・病態に関する臨床および疫学研究 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	43
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表	50

中枢性摂食異常症に関する調査研究

平成 23 年度

I. 総合研究報告書

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	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 糖尿病・内分泌・代謝内科 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
	正木 孝幸	大分大学医学部総合内科学第一 助教
	中里 雅光	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学 教授
	尾崎 紀夫	名古屋大学大学院医学系研究科精神医学・親と子どもの心療学分野 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	国立成育医療研究センター内分泌代謝科 医長
	遠藤 由香	東北大学病院心療内科 助教
	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
	横山 伸	長野赤十字病院精神科 部長

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・治療法の開発することである。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、絶食時の骨髄 B 細胞分化障害におけるレプチンの病態生理的意義、中枢性摂食異常症や関連病態における CRF や神経ヒスタミンあるいはグレリンの生理的・病態生理的意義を明らかにした。臨床研究では、f-MRI を用いた食欲異常と脳神経活動の解析、神経性食欲不振症患者の低栄養状態が心身へ及ぼす影響、神経性食欲不振症（制限型）に対するグレリン投与による脳血流変化の解析、近赤外線スペクトロスコーピーによる神経性食欲不振症の中枢神経機能障害の探索、神経性食欲不振症患者の骨質マーカーの検討、小児思春期摂食障害の内分泌合併症に関する検討を進めた。学校現場を対象とした全国疫学調査に向けて、パイロット研究として東京を中心とした首都圏における実態調査を進め、首都圏での神経性食欲不振症の実態把握と調査の妥当性を検討するとともに、全国ネットワーク拠点において実態調査の準備を進めた。

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推進することである。このため、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推進した。現在、確立しつつある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を活用して、東京都内

における本症の疫学調査を開始するとともに他の地域（宮城県、長野県、愛知県、広島県、福岡県、熊本県、宮崎県）における疫学調査の準備を進めることとした。本研究の推進により、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予防法と治療法に関する基盤データの集積とインフラの整備が推進し、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につなげたい。

研究方法

基礎研究では、摂食・エネルギー代謝調節関連分子あるいは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。臨床研究では、機能的磁気共鳴画像法 (functional MRI, fMRI) や近赤外線分光法 (NIRS) などの方法論も導入し、摂食障害の病態の解析を開始した。前年度までに設置した「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、小学生・中学生・高校生を対象とした全国疫学調査のパイロット研究を開始した。

(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進めた。全国疫学調査では分担研究者が所属する各施設の現状を踏まえて、倫理委員会の承認を得た上で、養護教諭、被験者と保護者から同意を得た。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。

研究結果と考察

< 飢餓適応におけるレプチンの病態生理的意義 >
飢餓適応におけるレプチンの病態生理的意義を解明する目的で、骨髄 B リンパ球分化に及ぼすレプチンの作用と分子機構を検討した。血中レプチン濃度の著しい低下が認められる絶食野生型マウスや遺伝的にレプチンを欠損する *ob/ob* マウスでは、骨髄 B リンパ球の分化障害が認められるが、レプチンの中枢 (脳室内) 投与により分化障害が阻害された。この作用機序として、絶食時や *ob/ob* マウスでは中枢レプチンシグナルの欠損により、視床下部-下垂体-副腎系が活性化され、血中コルチコステロン濃度が上昇することが明らかになった。以上より、レプチンは中枢神経系を介して骨髄 B リンパ球分化を制御することが明らかになり、個体の食欲やエネルギー代謝のみならず全身の炎症あるいは免疫機能が中枢神経系により制御されている可能性が示唆された。(小川)

< 神経性食欲不振症の病態における CRF の役割の解

析 > 中枢性摂食異常症発症への胎児期の低栄養の関与の有無を明らかにするため、低出生体重ラットの食行動、視床下部摂食調節遺伝子発現、ストレス負荷後の摂餌量と視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 軸の変化、CRF1 型受容体発現を負に制御する miRNA 発現を解析した。妊娠中の摂餌量を制限した母ラットからの出生仔では、自由摂餌下とストレス負荷後の食行動異常とストレス負荷後の HPA 軸活性化の延長が認められ、視床下部と下垂体における遺伝子発現調節異常が示唆された。以上より、胎児期の低栄養は成長後に本症の病態に類似した摂食行動、HPA 軸の異常をもたらし、妊娠中の良好な栄養状態の維持が重要であることが明らかになった。(芝崎)

< グレリンによる自律神経と体温の調節 > 低エネルギー環境への適応におけるグレリンの機能的意義を解明するために、グレリン欠損マウス (*ghrl^{-/-}*マウス) を用いて時間制限給餌 (restricted feeding, RF) 実験を行った。野生型マウスでは、RF の時間経過とともに胃の湿重量およびその体重比が著しく増加した。グレリンの血漿中含量も、RF の時間経過とともに増加した。一方、*Ghrl^{-/-}*マウスでは、空腹期体温が RF 実験前半で高く、逆に、RF 実験後半では低かった。RF 実験後半で摂餌に伴う *ghrl^{-/-}*マウスの体温上昇能も低下した。以上より、低エネルギー環境への適応に対して、グレリンによる体温の調節がその一端を担っていることが示唆された。(児島)

< 摂食異常症におけるエネルギー欠乏と大脳辺縁系機能 > 糖欠乏情報により中枢性 AMPK を介して活性化された視床下部神経ヒスタミン (HA) が、前頭前野および扁桃体のストレス情報処理に関連した食行動調節機構に深く関与している可能性を報告してきた。今年度は、1) エネルギー欠乏情報処理におけるマウス視床下部神経ヒスタミン H1 受容体 (H1R) 機能、2) ラット背側海馬のストレス情報処理に関連した食行動調節機構への関与を検討した。本研究により、1) 神経 HA の H1R はエネルギー欠乏情報による食行動促進および体温低下に抑制性に関与すること、2) 背側海馬は行動変容を促進するがストレス誘導性食行動調節には関与しないことが明らかになった。(正木)

< fMRI 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— > 食欲評価における fMRI の

有用性を明らかにするために、脂肪萎縮症を対象にして検討した。脂肪萎縮症 10 人および健常者 10 人を対象にスコアを用いて食欲を定量化し、食欲刺激下 fMRI により摂食関連領域における神経活動を解析した。食欲スコア、fMRI とともに空腹時と食後に検討した。脂肪萎縮症患者のレプチン治療時も同様に検討した。健常者と患者では、空腹時スコアと fMRI の結果に有意差はなかったが、健常者で認められる食後スコアの低下が患者では減弱しており、患者の神経活動が健常者に比較して亢進していた。患者ではレプチン治療により、食後スコアの低下と fMRI での神経活動の抑制が認められた。以上より、食欲評価系として fMRI は有用性が示唆された。(中尾)

＜神経性食欲不振症患者の低栄養状態が心身へ及ぼす影響＞ 神経性食欲不振症患者 (AN) 14 名の入院 2 週、6 週、10 週後に体組成・安静時代謝量 (RMR)、摂食関連ペプチド (レプチン、グレリン、NPY など) を測定した。BMI の中央値 (12.5 kg/m²) で 2 群に分類し、低体重群に限定して検討した。栄養療法は経鼻経管栄養を併用して 30-40 kcal/kg/day より開始して定期的に増量した。全症例の検討では、体重・脂肪量は 10 週後から有意に増加したが、RMR・除脂肪量は有意な増加に至らなかった。低体重群では、体重・除脂肪量は 6 週目、脂肪量は 10 週目から有意に増加した。RMR は経過中 25-30 kcal/kg/day であった。全症例の検討で、摂食関連ペプチドに有意な変化が認められたのは、入院 10 週後のレプチンのみであった。AN ではやせの程度により体組成の回復のパターンが異なることが示唆された。(久保)

＜神経性食欲不振症 (制限型) に対するグレリン投与による脳血流変化の解析＞ 神経性食欲不振症 (制限型: ANR) 患者に対して行動療法を施行し、体重や摂食量が増加すると前部帯状皮質など特定の脳血流増加部位がある。一方、グレリンは胃で産生されるが、末梢投与により摂食亢進作用を示し、ANR 患者においても摂食亢進作用が確認されている。ANR 患者のグレリン投与による早期治療効果の判定、脳血流の変化の検討のために、15 から 30 歳の ANR 患者を対象として合成ヒトグレリン (2 µg/kg) を 1 日 2 回、経静脈的に 2 週間投与予定であり、投与前後の脳血流の変化、食事摂取量、体重、生化学、Hunger-VAS score, EAT26 を行う。現在、宮崎大学医学部の医の倫理委員会に申請

中である。(中里)

＜近赤外線スペクトロスコピーによる神経性食欲不振症の中枢神経機能障害の探索＞ 神経性食欲不振症患者の中枢神経系病態を探索するために、言語流暢性 (VF) 課題を実施中の前頭前野における oxy- & deoxy-Hb の変化を近赤外線スペクトロスコピー (NIRS) にて測定し、健常コントロールと比較した。各種認知機能検査、心理検査・質問紙検査を平行して施行し、NIRS との関連を検討した。認知機能検査のうち WCST、CPT では有意差がなかったが、患者群において stroop test (simon task) ではエラー率が有意に高かった。患者群では抑うつ、父母の過干渉の因子が高く、損害回避・固執・自己志向性の人格傾向が認められた。一方、父母のケア因子、ソーシャルサポートの満足度は低かった。VF 課題中の NIRS により患者群の両側前頭葉眼窩皮質で有意に反応低下が認められた。(尾崎)

＜神経性食欲不振症患者の骨質マーカーの検討＞ 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の病態を明らかにするために、骨質マーカーを測定した。平均年齢 26.1 歳の骨密度の低下している本症患者では、骨質マーカーである血中ホモシステインとペントシジンの平均値は年齢を一致させた健常女性と統計学的有意差はなかった。しかしながら、患者群では、両者は年齢と中等度の正の相関を有し、30 歳以上では両者とも上昇しており骨質の劣化があると判断された。以上より、本症では、20 歳台から骨密度のみの判定で骨粗鬆症と診断されるが、骨質も併せて評価して治療方針を決定する必要があると考えられた。(鈴木)

＜小児思春期摂食障害の内分泌合併症に関する検討＞ 小児思春期における神経性食欲不振症 (AN) の実態把握と予後改善を目的として、内分泌合併症を検討した。AN に合併した無月経・成長障害をフォローしている女子 15 名全例で性腺機能の低下を認め、1 例を除き骨密度の低下を認めた。これらの症例では、性腺機能回復にも時間を要し、体重がある程度回復しても性腺機能が回復しない限り、骨密度の上昇は認められなかった。9 歳発症の AN 症例では、著しいやせにもかかわらず、骨密度の低下はなかった。体重回復後に成長ホルモン分泌不全による成長率回復の遅延が認められたため、成長ホルモン治療を施行した。体重

の回復は著しかったが、性腺機能の自然回復は緩徐であり、少量の性腺補充療法を補助的に行い、骨密度は標準範囲内で上昇した。以上より、小児思春期 AN では骨密度の回復は体重のみならず性腺機能の回復に一致すること、積極的な性腺補充療法が有用である場合があることが示唆された。一方、体重回復後も成長ホルモン分泌不全が遷延する場合、成長ホルモン補充療法も必要な症例があることが示唆された。(堀川)

<中枢性摂食異常症の全国疫学調査> 神経性食欲不振症 (AN) 実数と AN の若年化傾向の有無把握のために、学校現場を対象とした全国疫学調査を開始した。パイロット研究として東京を中心とした首都圏における実態調査を進め、首都圏での AN の実態把握と調査の妥当性を検討し、全国ネットワーク拠点では実態調査の準備を進めた。対象は、首都圏小中学校と東京都下高等学校の養護教諭と小学校 5 年から中学 3 年までの生徒本人。養護教諭には体重減少があり AN と診断あるいは疑われた症例数の質問紙調査、同意の得られた小学校には生徒本人に対する EAT26 質問紙調査を施行した。調査に参加した小中学校生徒は 24727 名、養護教諭は 110 名。高校生は、308 校中 150 校 (49%) から有効回答が得られた。対象となった公立/私立の女子生徒数は 1 年生 : 6679/15526 人、2 年生 : 6544/15785 人、3 年生 : 6279/15271 人で、3 学年で 66084 人であ

った。男子生徒の総数は 44156 人であった。東京を中心とする首都圏の小・中学生、高校生の AN の有病率は 0.209%、0.674%、0.245%であった。発病は小学生でも認められ、中学に入ると女子で増加し、中 3 女子では著増していた。男子にも有病者は一定頻度認められ、女子では小 5 から確実に存在し、中 2、中 3 と学年が進むとともに増加することが明らかになった。20 年ぶりの全国各地域での疫学調査は、最近の患者数の動向を把握し、予防と早期発見体制の確立を目指す点で医学的意義は大きいと考えられる。(鈴木、堀川、遠藤、横山、尾崎、岡本、久保、間部、中里)

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異常症に関連する病態と中枢性摂食調節の分子機構が明らかになり、臨床研究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を活用して、本症の実態把握に向けた学校現場を対象とした全国疫学調査を開始した。

健康危険情報

特になし

平成 23 年度

II. 研究者名簿

中枢性摂食異常症に関する調査研究

区分	氏名	所属	職名
主任研究者	小川 佳宏	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 糖尿病・内分泌・代謝内科	教授
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
	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 総合内科学第一講座	教授
	中里 雅光	宮崎大学医学部 内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	教授
	尾崎 紀夫	名古屋大学大学院医学系研究科 精神医学・親と子どもの心療学分野	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	九州大学大学病院	病院長
	堀川 玲子	国立成育医療研究センター 内分泌・代謝科	医長
	遠藤 由香	東北大学病院 心療内科心身医学	助教
	岡本 百合	広島大学保健管理センター 精神医学	准教授
	間部 裕代	熊本大学医学部附属病院 小児発達学	助教
横山 伸	長野赤十字病院 精神科精神医学	部長	
事務局	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	准教授

平成 23 年度

III. 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

飢餓適応におけるレプチンの病態生理的意義

分担研究者	小川 佳宏	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 糖尿病・内分泌・代謝内科 教授
	田中 都	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
	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
	西條 美佐	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 レプチンは代表的なアディポサイトカインであり、体脂肪量に比例して脂肪細胞より産生され、中枢神経系を介してエネルギー代謝調節に働く。本研究では、飢餓適応におけるレプチンの病態生理的意義を解明する目的で、骨髄Bリンパ球分化に及ぼすレプチンの作用機序を検討した。野生型マウスを絶食させると、経時的に骨髄Bリンパ球の分化障害が認められたが、レプチンを末梢（腹腔内）および中枢（脳室内）投与することにより骨髄Bリンパ球の分化障害はほぼ完全に抑制された。遺伝的にレプチンを欠損する*ob/ob*マウスは、絶食野生型マウスと同様の骨髄Bリンパ球分化障害を認めたが、レプチン脳室内投与により分化障害は抑制された。絶食野生型マウスに、グルココルチコイド受容体拮抗薬を経口投与すると、骨髄Bリンパ球の分化障害はほぼ完全に抑制された。また、絶食野生型マウスに、摂食亢進ペプチドNeuropeptide Y (NPY)-Y1受容体拮抗薬を中枢投与すると、血中コルチコステロン濃度上昇の抑制ならびに骨髄Bリンパ球の分化障害の抑制が認められた。以上より、絶食や飢餓による中枢レプチンシグナルの欠損により、視床下部-下垂体-副腎系が活性化され、コルチコステロン産生増加を介して、骨髄Bリンパ球の分化障害が生じることが明らかとなった。また、個体の食欲やエネルギー代謝のみならず全身の炎症あるいは免疫機能が中枢神経系により制御されている可能性が示唆された。

研究目的

レプチンは脂肪細胞から分泌される代表的なアディポサイトカインであり、体脂肪量に比例して産生が増加して食欲やエネルギー代謝調節に働く。一方、神経性食欲不振症では、体脂肪量の減少を反映し、血中レプチン濃度が著しく低下している。そのため、神経性食欲不振症で認められる性腺ホルモンの低下、コルチゾールの増加などを始めとする種々の代謝異常にレプチンの関与が示唆される。実際、実験動物を用いた検討において、絶食の際には内分泌・代謝系や免疫系が大きく変化し、ヒトの神経性食欲不振症と類似の変化が生じるが、レプチンの補充によりその一部が抑制されることが報告されている。即ち、絶食時に生じる身体機能の変化は、エネルギー状態の悪化により生じる変化とレプチンの低下により生じる変化がある

と考えられる。

本研究では、飢餓時におけるレプチンの病態生理的意義を明らかにする目的で、免疫系、特に骨髄におけるBリンパ球分化に対する作用および作用機序を検討した。

研究方法

1. 骨髄Bリンパ球分化に及ぼす絶食の影響
野生型マウスを、24時間、48時間絶食させた状態で骨髄細胞を採取し、フローサイトメトリーで解析した。Bリンパ球の分化状態を、pro B細胞、pre B細胞、immature B細胞、mature B細胞の4分面の比率で検討した。
2. 絶食時の骨髄Bリンパ球分化障害に及ぼす末梢および中枢レプチン投与の影響

野生型マウスを 48 時間絶食させ、絶食期間中 12 時間おきに、レプチンを腹腔内あるいは脳室内投与した。48 時間後に骨髄細胞を採取して、B リンパ球の分化状態をフローサイトメトリーで解析した。

3. レプチン欠損マウスの骨髄 B リンパ球分化異常に及ぼす中枢レプチン投与の影響

レプチン欠損 *ob/ob* マウスに対し、レプチンを持続脳室内投与した。1 週間後に骨髄細胞を採取して、B リンパ球の分化状態をフローサイトメトリーで解析した。

4. 絶食時の骨髄 B リンパ球分化障害に及ぼすグルココルチコイド拮抗薬の影響

野生型マウスを 48 時間絶食させ、絶食期間中 12 時間おきに、グルココルチコイド拮抗薬である RU486 を経口投与した。48 時間後に骨髄細胞を採取して、B リンパ球の分化状態をフローサイトメトリーで解析した。

5. 絶食時の骨髄 B リンパ球分化障害に及ぼす NPY-Y1 受容体拮抗薬の影響

野生型マウスを 48 時間絶食させ、絶食期間中 12 時間おきに、NPY-Y1 受容体拮抗薬である BIBP3226 を脳室内投与した。48 時間後に骨髄細胞を採取して、B リンパ球の分化状態をフローサイトメトリーで解析した。

(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. 24 時間、48 時間の絶食により、経時的に骨髄 B リンパ球分化障害が認められた。即ち、pre B 細胞の低下、mature B 細胞の増加が顕著に認められた (図 1)。
2. 絶食期間中 12 時間おきにレプチンを腹腔内あるいは脳室内投与すると、絶食マウスの骨髄 B リンパ球の分化障害は、ほぼ完全に抑制された (図 2)。
3. レプチン欠損 *ob/ob* マウスに対し、レプチンを持続脳室内投与すると、*ob/ob* マウスで認めら

れる骨髄 B リンパ球分化異常が正常化された (図 3)。

4. 絶食期間中 12 時間おきにグルココルチコイド拮抗薬 RU486 を経口投与すると、血中コルチコステロン濃度には影響を及ぼさなかったが、骨髄 B リンパ球分化障害は、ほぼ完全に抑制された (図 4)。
5. 絶食期間中 12 時間おきに NPY-Y1 受容体拮抗薬 BIBP3226 を脳室内投与すると、血中コルチコステロン濃度上昇が抑制され、骨髄 B リンパ球分化障害は、ほぼ完全に抑制された (図 5)。

考察

これまでに、絶食負荷をした野生型マウスや *ob/ob* マウスでは、胸腺の萎縮や T リンパ球の減少が認められることが報告されていたが、本研究により、骨髄 B リンパ球分化も絶食負荷や *ob/ob* マウスにおいて障害されることが明らかとなった。また、骨髄 B リンパ球の分化障害はレプチンの補充により抑制され、さらに、そのレプチン作用が中枢神経系を介する作用であることが明らかとなった。作用機序については、グルココルチコイド受容体拮抗薬の投与により絶食による骨髄 B リンパ球分化障害が抑制されたこと、NPY-Y1 受容体拮抗薬の投与により絶食による血中コルチコステロン濃度上昇の抑制ならび骨髄 B リンパ球分化障害が抑制されたことから、絶食時における中枢レプチンシグナルの欠損により、視床下部-下垂体-副腎系が活性化され、産生増加するコルチコステロンが関与することが示唆された。以上より、レプチンは中枢神経系を介して、個体のエネルギー状態のみならず、免疫機能をも調節することが明らかとなった。

結論

本研究により、脂肪細胞由来ホルモンであるレプチンが、正常な骨髄 B リンパ球分化の維持に重要な役割を果たすことが明らかとなった。この分子機構として、中枢神経系のレプチンシグナルの関与が示唆された。

研究発表

論文発表

1. H. Nambu, M. Fukushima, H. Hikichi, T. Inoue, N. Nagano, Y. Tahara, T. Nambu, J. Ito, Y. Ogawa, S. Ozaki, H. Ohta. Characterization of metabolic phenotypes of mice lacking GPR61, an orphan G-protein coupled receptor. **Life Sci.** 89: 765-772,

2011.

- M. Itoh, T. Suganami, N. Nakagawa, M. Tanaka, Y. Yamamoto, Y. Kamei, S. Terai, I. Sakaida, Y. Ogawa. Melanocortin-4 receptor-deficient mice as a novel mouse model of non-alcoholic steatohepatitis. **Am. J. Pathol.** 179: 2454-2463, 2011.
- M. Itoh, T. Suganami, R. Hachiya, Y. Ogawa. Adipose tissue remodeling as homeostatic inflammation. **Int. J. Inflamm.** 2011:720926, 2011.
- L. Zhang, T. Sugiyama, N. Murabayashi, T. Umekawa, N. Ma, Y. Kamimoto, Y. Ogawa, N. Sagawa. The inflammatory changes of adipose tissue in late pregnant mice. **J. Mol. Endocrinol.** 47: 157-165, 2011.
- S. Sugita, Y. Kamei, F. Akaike, T. Suganami, S. Kanai, M. Hattori, Y. Manabe, N. Fujii, T. Takai-Igarashi, M. Tadaishi, J. Oka, H. Aburatani, T. Yamada, H. Katagiri, S. Kakehi, Y. Tamura, H. Kubo, K. Nishida, S. Miura, O. Ezaki, Y. Ogawa. Increased systemic glucose tolerance with increased muscle glucose uptake in transgenic mice overexpressing RXR γ in skeletal muscle. **PLoS ONE** 6: e20467, 2011.
- M. Tanaka, T. Suganami, M. Kim-Saijo, C. Toda, M. Tsuji, K. Ochi, Y. Kamei, Y. Minokoshi, Y. Ogawa. Role of central leptin signaling in the starvation-induced alteration of B cell development. **J. Neurosci.** 31: 8373-8380, 2011.
- M. Ichioka, T. Suganami, N. Tsuda, I. Shirakawa, Y. Hirata, N. Satoh-Asahara, Y. Shimoda, M. Tanaka, M. Kim-Saijo, Y. Miyamoto, Y. Kamei, M. Sata, Y. Ogawa. Increased expression of

macrophage-inducible C-type lectin in adipose tissue of obese mice and humans. **Diabetes** 60: 819-826, 2011.

- N. Satoh-Asahara, T. Suganami, T. Majima, K. Kotani, Y. Kato, R. Araki, K. Koyama, T. Okajima, M. Tanabe, M. Oishi, A. Himeno, S. Kono, A. Sugawara, M. Hattori, Y. Ogawa, A. Shimatsu; the Japan Obesity Metabolic Syndrome Study (JOMS) Group. Urinary cystatin C as a potential risk marker for cardiovascular disease and chronic kidney disease in patients with obesity and metabolic syndrome. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol.** 6: 265-273, 2011.

学会発表

- 田中 都, 菅波孝祥, 西條美佐, 築地信, 越智梢, 亀井康富, 小川佳宏: 「骨髄 B リンパ球分化に及ぼす中枢レプチンシグナルの作用機序の解明」: 第 32 回日本肥満学会学術大会 2011.9.23-24 淡路
- 亀井康富, 杉田聡, 赤池史子, 菅波孝祥, 金井紗綾香, 服部真季, 眞鍋康子, 藤井宣晴, 三浦進司, 江崎治, 小川佳宏: 「骨格筋における核内受容体 RXR γ の糖代謝促進作用」: 第 32 回日本肥満学会学術大会 2011.9.23-24 淡路
- 伊藤美智子, 菅波孝祥, 田中都, 亀井康富, 寺井崇二, 坂井田功, 小川佳宏: 「NASH の発症・進展と脂肪組織炎症—新しい NASH モデル・MC4R 欠損マウスを用いて—」: 第 32 回日本肥満学会学術大会 2011.9.23-24 淡路

知的財産権の出願・登録状況

なし

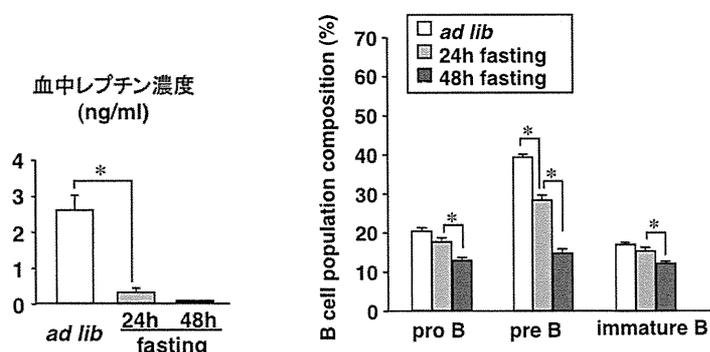


図 1. 絶食時の血中レプチン濃度と骨髄 B リンパ球分化

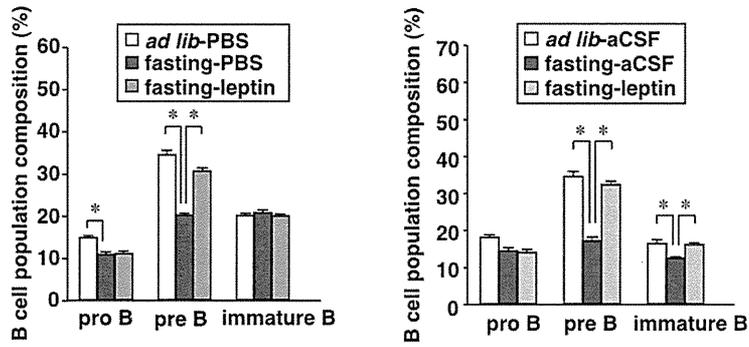


図 2. 絶食時のレプチン末梢（左）および中枢（右）投与時の骨髄 B リンパ球分化

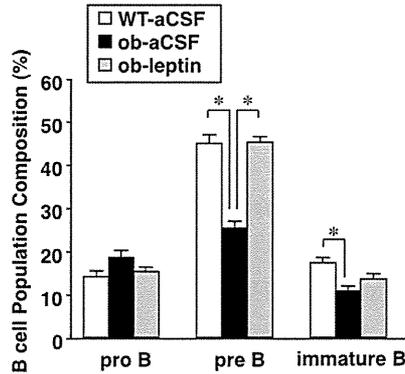


図 3. *ob/ob* マウスに対する中枢レプチン投与と骨髄 B リンパ球分化

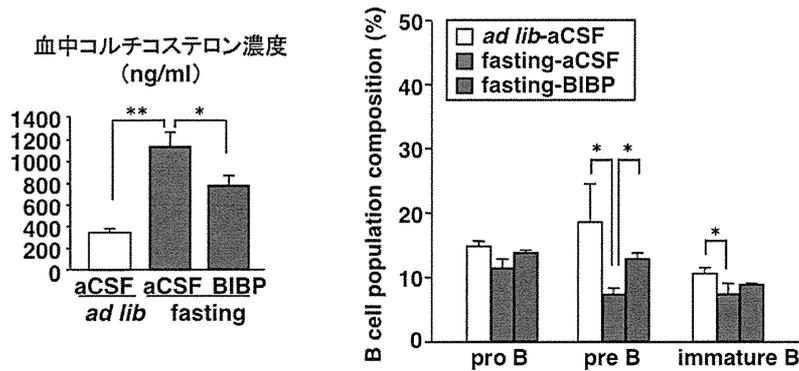


図 4. 絶食時におけるグルココルチコイド受容体拮抗薬投与と血中コルチコステロン濃度、骨髄 B リンパ球分化

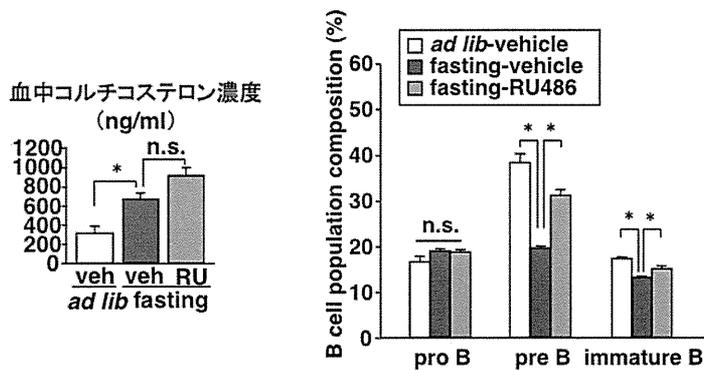


図 5. 絶食時における NPY-Y1 受容体拮抗薬投与と血中コルチコステロン濃度、骨髄 B リンパ球分化

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

低栄養母体出生児の推測される神経内分泌学的異常：ラットモデルでみられた
食餌パターンの変化とストレス負荷後の HPA 軸の活性化の延長

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 日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学
大島 久幸 日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学

研究要旨 中枢性摂食異常症発症への胎児期の栄養状態の関与の有無を明らかにするため、低出生体重ラット仔を用いて食行動、視床下部における摂食調節ペプチドおよびそれらの受容体の遺伝子発現、ストレス負荷後の摂餌量と視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 軸の活性化の変化、CRF 1型受容体の発現を負に制御するmiRNA発現量の解析を行った。妊娠中の摂取カロリーを対照群の60%に制限した母ラットからの出生仔 (FR仔) 群では、対照仔群に比べ明期の摂餌量が有意に多く、視床下部のMC4R mRNA発現量が有意に低下していた。拘束ストレス負荷後に対照仔群で見られた摂餌量の低下はFR仔群では認められず、負荷24時間後に摂餌量の増加の傾向が見られた。FR仔群では拘束ストレス負荷後の血漿ACTHおよびコルチコステロン値と下垂体でのPOMC mRNA発現量の高値持続とCRF 1型受容体の下方制御の異常が観察された。ストレス負荷後に、対照仔群ではCRF 1型受容体の発現に抑制的に作用するmiR-449aの下垂体での発現が増したが、FR仔群ではその発現増加は見られなかった。以上より、FR仔群で認められた摂食行動やHPA軸の異常の出現機序に視床下部及び下垂体での遺伝子発現調節の異常が関与することが示唆された。胎児期の低栄養が成長後に中枢性摂食異常症の病態に類似した摂食行動、HPA軸の異常をもたらすことが明らかになり、やせ女性や神経性食欲不振症患者の妊娠中は胎児を良好な栄養状態に維持することが重要であると考えられる。

研究目的

中枢性摂食異常症発症への遺伝学的因子に関する研究はいくつか報告されているが[1-8]、未だその原因遺伝子は不明である。中枢性摂食異常症患者からの出生児は成長期に食行動の異常が見られるが、そのほとんどは母親の食行動の異常による影響と考えられている[9-11]。神経性食欲不振症患者では低体重児出産のリスクが高くなる[12]ばかりでなく、その子が思春期に不食を呈するとの報告もある[13]。低出生体重児は注意欠陥多動性障害 (ADHD) や学習障害を呈する可能性が高い[14-16]。増加しているやせ女性や神経性食欲不振症患者の妊娠中の栄養状態は必ずしも良好であるとは限らない。そこで本研究では本症の発症機序への胎児期の低栄養状態の関与の可能性を検討することを目的に、妊娠中に摂取カロリー制限をした母ラットからの出生仔を用いて、それらの摂食行動パターン、視床下部における摂食調節ペプチドおよびそれらの受容体の遺伝子発現、ストレス負荷後の摂餌量、視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 軸の変化を解析した。我々のこれまでの研究で妊娠中に摂取カロリー制

限をした母ラットからの出生仔においても新規環境での多動が見られるなど、ADHD モデルマウス様の行動異常[17]が観察されている (未発表データ)。さらに、我々はこれまでにデータベース検索により corticotropin-releasing factor (CRF) 1 型受容体の発現を負に制御する miRNA を 3 つ見だし、そのうち miR-449a がラットの下垂体に発現し、ストレス負荷後にその発現が増加すること、*in vitro* で CRF には反応しないがデキサメタゾンにより発現が増すこと、過剰発現により CRF 1 型受容体の発現が減少し、ノックダウンによりデキサメタゾンによる発現の低下が阻止されること、CRF 1 型受容体の 3'非翻訳領域を挿入したルシフェラーゼ遺伝子と miR-449a を共発現させるとルシフェラーゼ活性が低下することを見いだしており (論文投稿準備中)、本研究では miR-449a の発現の解析も行った。

研究方法

9 週齢のウイスター系雌ラットを正常雄ラットと交配後、妊娠全期にわたり自由摂餌下で飼育した対照群

と、対照群の摂餌量の60%まで摂餌量を制限した(FR)群との2群に分けた。出生後はいずれの群も自由摂餌下で飼育し、出生仔は出産後21日目に離乳させた。離乳後はいずれの群も自由摂餌下で飼育し、両群の雄ラットを6週齢時に摂食行動、ストレス負荷実験に用いた。

摂餌量の解析には自動行動解析装置(PAW-2000, MELQUEST)を用い、1時間ごとの摂餌量を24時間にわたり計測した。2群の自由摂餌下のラットを断頭し、摘出した視床下部のRNAを抽出し、摂食調節ペプチドである proopiomelanocortin (POMC) および neuropeptide Y (NPY) とそれらの受容体である MC3R、MC4R、Y1R、Y2R、Y5R、さらにはレプチン受容体の mRNA 発現量をリアルタイム PCR で解析した。

前夜より18時間絶食したラットにワイヤーメッシュを用いた90分間の拘束ストレスを負荷し、その後の摂餌量を1時間ごとに24時間まで測定した。また30分、60分、90分、120分間の拘束ストレスを負荷したラットを断頭して採取した血漿及び摘出した下垂体を用い、血中ホルモンの定量と下垂体での mRNA および miRNA 発現量をリアルタイム PCR で測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は日本医科大学動物実験委員会の指針に従い、同委員会の承認を得た上で行った。

研究結果

100g 体重あたりの24時間摂餌量は対照仔群と FR 仔群の間に有意な差異は無かったが、明期の摂餌量は対照仔群が $10.5 \pm 0.9\text{g}/100\text{g bw}$ に対し、FR 仔群では $13.8 \pm 0.7\text{g}/100\text{g bw}$ と有意に増加していた。

視床下部における NPY、POMC、Y1R、Y2R、Y5R、レプチン受容体 mRNA 発現量は両群間で差がなかったが、FR 仔群の MC4R mRNA 発現量は対照仔群の $75.0 \pm 3.4\%$ に有意に減少し、MC3R mRNA 発現量も対照群の $80.3 \pm 7.0\%$ に減少の傾向を示した。

対照仔群では拘束ストレス負荷後1時間の摂餌量は $1.7 \pm 0.1\text{g}/100\text{g bw}$ と非負荷ラットの $2.3 \pm 0.1\text{g}/100\text{g bw}$ に比べ有意に減少していたが、FR 仔群ではストレス負荷後の摂餌量は $2.2 \pm 0.1\text{g}/100\text{g bw}$ で非負荷群の $2.3 \pm 0.1\text{g}/100\text{g bw}$ と比べ摂餌量の減少はみられなかった。また、負荷後24時間の総摂餌量は対照仔群ではストレス負荷群が $12.4 \pm 0.7\text{g}/100\text{g bw}$ で、非負荷群は $13.2 \pm 0.4\text{g}/100\text{g bw}$ と両群間に差はみられなかったが、FR 仔群では非負荷群の $12.8 \pm 0.8\text{g}/100\text{g bw}$ に対しストレス負荷群は $13.5 \pm 0.3\text{g}/100\text{g bw}$ と、摂餌量の増加の傾向 ($p=0.074, n=5$) がみられた。

対照仔群では拘束ストレスは血中 ACTH およびコルチコステロン値を30分後を頂値として増加させ、

その後両者は減少したが、FR 仔群では負荷120分後の ACTH およびコルチコステロンは共に対照仔群に比べ有意に高値に留まっていた。対照仔群の下垂体における POMC mRNA 発現量は負荷60-90分後に頂値に達し、120分後には基礎値まで低下したが、FR 仔群での発現量は120分後も高値を示した。対照仔群の CRF 1型受容体 mRNA 発現量は負荷60分後から有意に低下し、FR 仔群でも負荷90分後から有意に低下したが、120分後の発現量は対照仔群よりも有意に高かった(図1)。

拘束ストレスは対照仔群の下垂体での miR-449a の発現を30分後から有意に増加させたが、FR 仔群では miR-449a 発現の増加は見られなかった(図2)。

結論

妊娠中にカロリー摂取制限した母ラットからの FR 仔群は明期の摂餌量の増加と拘束ストレス負荷後1時間の摂餌量の減少の消失、HPA 軸の活性化の延長を示した。FR 仔群では何らかの機序によりストレス後の miR-449a の発現誘導が障害され、その結果、CRF 1型受容体が下方制御されないことで HPA 軸の活性化の延長が生じたと考えられる。本研究で胎児期の低栄養が成長後に中枢性摂食異常症の病態に類似した摂食行動、HPA 軸の異常をもたらすことが明らかになったことから、やせ女性や神経性食欲不振患者の妊娠中は胎児を良好な栄養状態に維持することが重要であると考えられる。

参考文献

- Holland, A.J., et al., Anorexia nervosa: a study of 34 twin pairs and one set of triplets. *The British journal of psychiatry : J Mental Sci.* 145: 414-419, 1984
- Kendler, K.S., et al., The genetic epidemiology of bulimia nervosa. *Am J Psychiatry.* 148: 1627-1637, 1991.
- Bulik, C.M., et al., Heritability of binge-eating and broadly defined bulimia nervosa. *Biol Psychiatry.* 44: 1210-1218, 1998.
- Lilenfeld, L.R., et al., A controlled family study of anorexia nervosa and bulimia nervosa: psychiatric disorders in first-degree relatives and effects of proband comorbidity. *Arch Gen Psychiatry.* 55: 603-610, 1998
- Strober, M., et al., Controlled family study of anorexia nervosa and bulimia nervosa: evidence of shared liability and transmission of partial syndromes. *Am J Psychiatry.* 157: 393-3401, 2000.
- Wade, T.D., et al., Anorexia nervosa and major depression: shared genetic and environmental risk

- factors. **Am J Psychiatry.** 157: 469-471, 2000.
7. Kortegeard, L.S., et al., A preliminary population-based twin study of self-reported eating disorder. **Psychol Med.** 31: 361-365, 2001.
 8. Grice, D.E., et al., Evidence for a susceptibility gene for anorexia nervosa on chromosome 1. **Am J Hum Genet.** 70: 787-792, 2002.
 9. Eisele, J., et al., Factors related to eating disorders in young adolescent girls. **Adolescence.** 21: 283-290, 1986.
 10. Ammaniti, M., et al., Malnutrition and dysfunctional mother-child feeding interactions: clinical assessment and research implications. **J Am Coll Nutrition.** 23: 259-271, 2004.
 11. Back, E.A., Effects of parental relations and upbringing in troubled adolescent eating behaviors. **Eat Disorders.** 19: 403-424, 2011.
 12. Koubaa, S., et al., Pregnancy and neonatal outcomes in women with eating disorders. **Obstet Gynecol.** 105: 255-260, 2005.
 13. Negrete, J.C., Cocaine problems in the coca-growing countries of South America. **Ciba Found Symp.** 166: 40-50, 1992.
 14. Heinonen, K., et al., Behavioural symptoms of attention deficit/hyperactivity disorder in preterm and term children born small and appropriate for gestational age: a longitudinal study. **BMC pediatr.** 10: 91, 2010.
 15. Groen-Blokhuis, M.M., et al., Evidence for a causal association of low birth weight and attention problems. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.** 50: 1247-1254, 2011.
 16. Losh, M., et al., Lower birth weight indicates higher risk of autistic traits in discordant twin pairs. **Psychol Med,** in press, 2011.
 17. Sora, I., et al., Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and in serotonin-transporter knockout mice. **Proc Natl**

Acad Sci U S A. 95: 7699-7704, 1998.

研究発表

論文発表

1. Takahashi C, Ohata H, Shibasaki T. Corticotropin-releasing factor (CRF) receptor subtypes in mediating neuronal activation of brain areas involved in response to intracerebroventricular CRF and stress in rats. **Peptides** 32: 2384-2393, 2011.
2. Nemoto T, Mano A, Shibasaki T. Increased expression of miR-325-3p by urocortin 2 and its involvement in stress-induced suppression of LH secretion in rat pituitary. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** in press, 2012

学会発表

シンポジウム

1. 根本 崇宏, 芝崎 保 ストレスによる性腺機能低下への視床下部CRF-下垂体Ucn 2-LH軸の関与. 第22回 間脳・下垂体・副腎系研究会 2011年9月
2. 根本 崇宏, 山内 直子, 眞野 あすか, 芝崎 保 ストレスによる下垂体ホルモンの分泌調節機構とその異常. 第 84 回 日本内分泌学会総会 2011 年 4 月

一般演題

1. 根本 崇宏, 芝崎 保 出生児低体重ラット仔におけるストレスによる HPA 軸活性化の異常の解析 第 38 回 日本神経内分泌学会学術集会 2011 年 11 月
2. 根本 崇宏, 眞野 あすか, 芝崎 保 神経性食欲不振症でみられる性腺刺激ホルモン分泌低下への Ucn 2 の関与の可能性 第 15 回 日本摂食障害学会 2011 年 9 月

知的財産権の出願・登録状況

なし

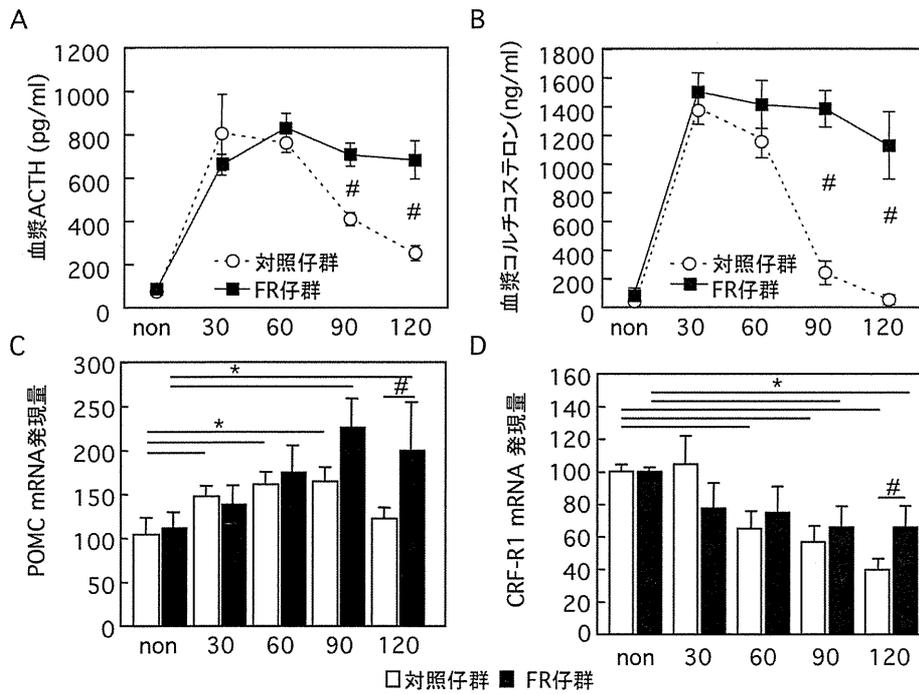


図1 FR仔群および対照仔群へのストレス負荷後の血漿ホルモン値と下垂体での mRNA 発現量の変化

6週齢雄ラットに拘束ストレスを30、60、90、120分間負荷し、直後に断頭採血および下垂体の摘出を行った。血液は血漿に分離後、ACTH (A) およびコルチコステロン (B) を測定し、下垂体のRNAは抽出後、POMC (C) およびCRF 1型受容体 (D) のmRNA発現量をリアルタイムPCRで測定した。N=8、*、ストレス非負荷群との間に有意差有り。#、対照仔群とFR仔群間に有意差有り。non、ストレス非負荷 CRF-R1、CRF 1型受容体

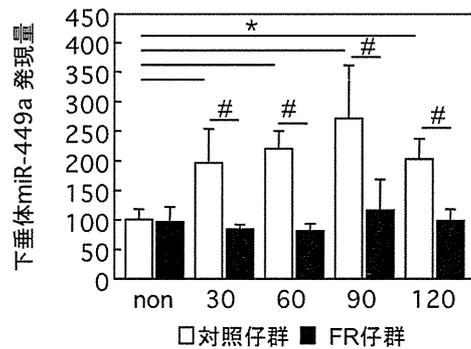


図2 FR仔群および対照仔群へのストレス負荷後の下垂体での miR-449a 発現量の変化

6週齢雄ラットに拘束ストレスを30、60、90、120分間負荷し、直後に下垂体の摘出を行った。下垂体から全RNAを抽出後、miR-449a発現量をリアルタイムPCRで測定した。N=8、*、ストレス非負荷群との間に有意差有り。#、対照仔群とFR仔群間に有意差有り。non、ストレス非負荷

中枢性摂食異常症に関する臨床研究

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 教授

研究要旨 近年、ヒトの食欲制御機構を解析する手法の一つとして機能的磁気共鳴画像法（functional MRI: fMRI）を用いた脳神経活動の測定が報告されている。本研究では、fMRIの食欲評価系としての有用性を検討する目的で、脂肪萎縮症を対象にしたスタディを行った。脂肪萎縮症10人および健常者10人を対象にスコアを用いて食欲を定量化し、次に食欲刺激下fMRIにより摂食関連領域における神経活動を解析した。食欲スコア、fMRIともに空腹時と食後に行った。また患者に関してはレプチン治療時にも行った。健常者と患者では、空腹時のスコアおよびfMRIの結果に明らかな差は認めなかった一方、食後に健常者で認められるスコアの低下が患者では減弱しており、fMRIでの神経活動が患者では健常者に比べて亢進していた。患者ではレプチン治療により、食後のスコアの低下およびfMRIでの神経活動の抑制が認められた。これらの結果より、食欲評価系としてfMRIは有用である事が示唆された。

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と他の脳機能中枢と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、摂食関連領域における神経活動を評価することは、病態の発症メカニズムの解明のみならず、新しい診断法や治療法の開発に結びつくものとして有用であると考えられる。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とされてきた。しかし近年、ヒトの食欲制御機構を解析する手法の一つとして機能的磁気共鳴画像法（functional MRI ; fMRI）を用いた脳神経活動の測定が報告されている。

本研究では、食欲異常（過食）を来す事が知られている脂肪萎縮症の患者を対象に、fMRIを用いて脳神経活動を解析し、脂肪萎縮症における過食のメカニズムおよびレプチン補充治療による過食改善作用のメカニズムを検討した。

脂肪萎縮症は、遺伝子異常や免疫異常により脂肪組織に異常を来す疾患であり、脂肪組織の萎縮に伴って血中レプチン濃度が著明に低下し、過常な食欲や糖脂質代謝異常が高頻度に認められる。

研究方法

1. 脂肪萎縮症における食欲および摂食関連領域の神経活動

対象は脂肪萎縮症患者 10 人、年齢および男女比を適合させた非肥満健常者 10 人とした。被験者の背景を（Table1）に示す。空腹時および食後の 2 ポイントにおいて、食欲のスコアと食欲刺激に対する神経活動の計測を行った。食欲のスコアは、Visual Analogue Scale および food 画像に対する評点を用いて行い、食欲刺激に対する神経活動は fMRI により計測した。fMRI では ROI 解析を行い、ROI の対象エリアは、摂食に関わる事が報告されている 9 つの脳領域（視床下部、眼窩前頭前野、扁桃核、海馬、島、側坐核、尾状核、被殻、淡蒼球）とした。空腹時と食後各々について、患者群と健常者群を比較する事により、患者の食行動異常の病態を検討した。

2. 脂肪萎縮症に対するレプチン治療が食欲および摂食関連領域の神経活動に及ぼす効果

脂肪萎縮症患者 10 人にレプチン補充療法を行った時についても、空腹時および食後の 2 ポイントにおいて、食欲のスコアと食欲刺激に対する神経活動の計測を行った。計測や解析は、1 と同様の手法を用いた。空腹時と食後各々について、レプチン治療を行ってない時と行った時を比較する事により、レプチン治療が食欲および摂食関連領域の神経活動に及ぼす効果について検討した。