

研究結果

1. 空腹時は患者群と健常者群で食欲スコアに有意差を認めなかったが、食後は健常者群よりも患者群で食欲スコアが有意に高値であった(図1)。食欲刺激に対する神経活動は、空腹時には尾状核(左側)の反応が患者群で上昇しており、島(左側)の反応が患者群で低下を認めた(図2)。一方食後には、扁桃核(右側)、島(左側)、側坐核(左側)、尾状核(両側)、被殻(左側)、淡蒼球(左側)での反応が患者群で上昇しており、眼窩前頭前野(右側)での反応が患者群で低下を認めた(図3)。
2. 空腹時はレプチンによって食欲スコアの有意な変化を認めなかったが、食後はレプチンによって食欲スコアが有意に低下を認めた(図4)。食欲刺激に対する神経活動は、空腹時には尾状核(左側)の反応がレプチンによって低下を認めた(図5)。一方食後には、扁桃核(左側)、海馬(左側)、島(左側)、尾状核(両側)、被殻(左側)での反応がレプチンによって低下を認めた(図6)。

考察

これらの結果より、脂肪萎縮症では食後の満腹感が低下しており、食後の摂食関連領域の神経活動の亢進が関与している事が示唆された。また、患者に対してレプチン補充療法を行う事によって食後の満腹感上昇し、摂食関連領域の神経活動が抑制される事も示された。脂肪萎縮症に認められる食行動異常の大部分は、低レプチン血症によって説明されうると考えられた。

今回のスタディにおいて、スコアで評価した食欲の結果とfMRIによる摂食関連領域の神経活動の結果は矛盾しないものであり、食欲刺激下fMRIはヒトの食欲を評価するうえで有用である事が示唆された。

結論

本研究により、食欲刺激下fMRIはヒトの食欲を評価するうえで有用である事が示唆された。今後は肥満症など摂食異常を来す他疾患にもfMRIの適応を拡大し、本研究を更に発展させていきたい。

研究発表

論文発表

1. M. Naito, J. Fujikura, K. Ebihara, F. Miyanaga, H.

Yokoi, T. Kusakabe, Y. Yamamoto, C. Son, M. Mukoyama, K. Hosoda, K. Nakao. Therapeutic impact of leptin on diabetes, diabetic complications, and longevity in insulin-deficient diabetic mice. **Diabetes**. 9: 2265-2273, 2011.

2. M. Zhao, Y. Li, J. Wang, K. Ebihara, X. Rong, K. Hosoda, T. Tomita, K. Nakao. Azilsartan treatment improves insulin sensitivity in obese spontaneously hypertensive Koletsky rats. **Diabetes Obes Metab**. 12: 1123-1129, 2011.
3. N. Yamada, G. Katsuura, Y. Ochi, K. Ebihara, T. Kusakabe, K. Hosoda, K. Nakao. Impaired CNS Leptin Action Is Implicated in Depression Associated with Obesity. **Endocrinology**. 152: 2634-2643, 2011.

学会発表

1. 青谷大介、海老原健、澤本伸克、日下部徹、阿部恵、山本祐二、片岡祥子、酒井建、五百川仁見、海老原千尋、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脳神経活動に対するレプチン治療の効果の解析」：第84回日本内分泌学会学術総会 2011.4.21-23 神戸
2. 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、五百川仁見、海老原千尋、細田公則、福山秀直、中尾一和：「脂肪萎縮性糖尿病における食欲異常および脳神経活動に対するレプチン治療の効果の解析」：第54回日本糖尿病学会年次学術集会 2011.5.19-21 札幌
3. 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、五百川仁見、海老原千尋、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脳神経活動に対するレプチン治療の効果」：第13回日本ヒト脳機能マッピング学会 2011.9.1-2 京都
4. 青谷大介、海老原健、澤本伸克、日下部徹、阿部恵、片岡祥子、酒井建、五百川仁見、海老原千尋、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摂食関連脳領域の神経活動に対するレプチン補充療法の効果」：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

	脂肪萎縮症 (n=10)	健常者 (n=10)	p-value
年齢(歳)	23.1±1.8	25.1±1.2	NS
女性(%)	70	70	NS
BMI (Kg/m ²)	16.2±0.8	20.0±0.3 ^A	< 0.01
体脂肪率(%)	7.0±1.3	NA	
	レプチン治療(-) レプチン治療(+)		
レプチン (ng/ml)	1.6±0.4	5.6±1.6 ^B	< 0.01
空腹時血糖 (mg/dl)	101.6±12.1	98.9±12.0	NS
空腹時インスリン (uU/ml)	6.6±1.1	6.2±0.9	NS

^Ap < 0.01, Student's t test, 脂肪萎縮症vs. 健常者. ^Bp < 0.01, paired Student's t test, レプチン治療(-)vs(+). NA : not available NS : not significant

Table1. 被験者背景

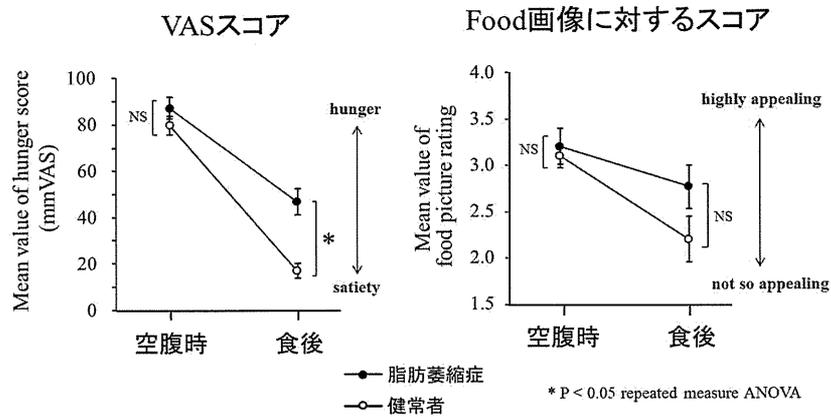


図1. 脂肪萎縮症と健常者の食欲スコア

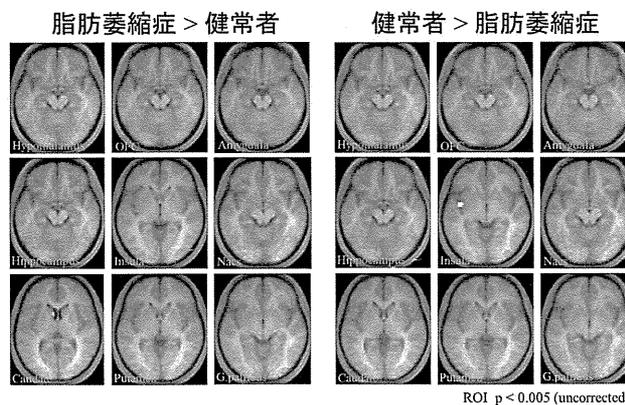


図2. 脂肪萎縮症と健常者の比較 (空腹時)

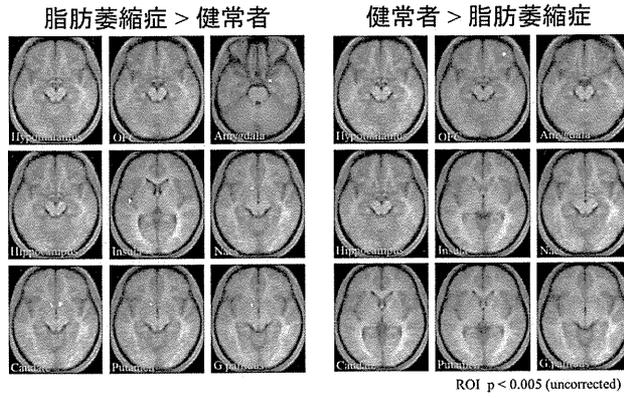


図3. 脂肪萎縮症と健常者の比較 (食後)

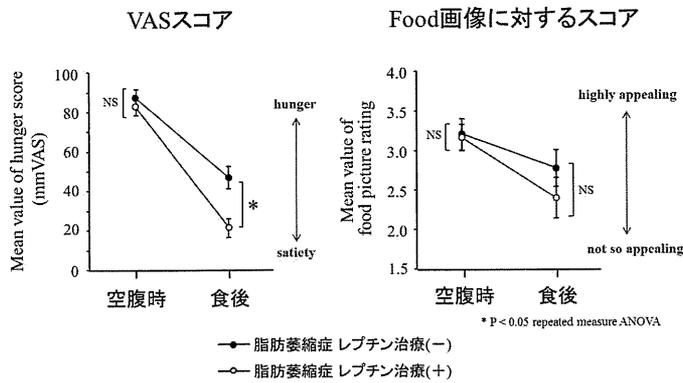


図4. レプチン治療による食欲スコアの変化

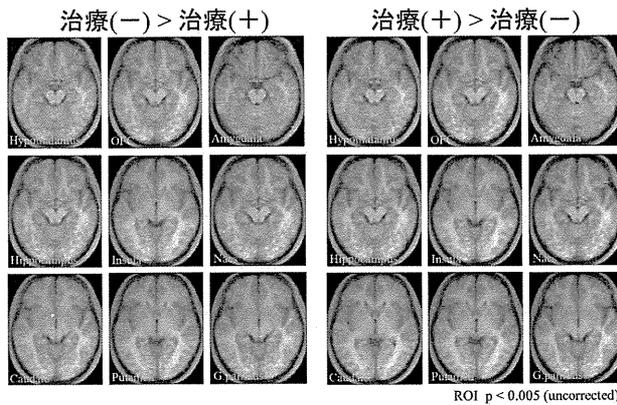


図5. レプチン治療による変化(空腹時)

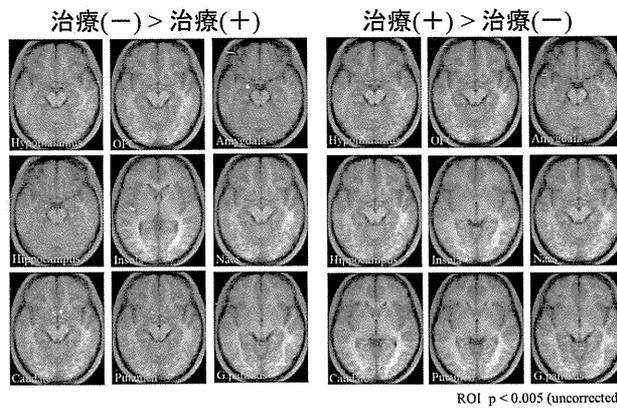


図6. レプチン治療による変化(食後)

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

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 グレリンは、負のエネルギー条件下で胃から分泌されるホルモンで、成長ホルモン(growth hormone, GH)の放出や、摂食亢進、脂肪蓄積などの生理作用を持つ。本研究では、繰り返し生じる低エネルギー環境への適応に対してグレリンがどのような役割をもつのかを明らかにする目的で、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。さらに、胃を主たる産生部位とする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。エネルギー摂取を調節する摂餌にグレリン欠損の影響が見られなかったことから、エネルギー保持を調節する体温について検討した。*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。さらに、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。これらの結果から、繰り返し生じる低エネルギー環境への適応に対し、胃から分泌されるグレリンによる体温の調節がその一端を担っている可能性が示唆された。

研究目的

胃から分泌されるグレリンは、成長ホルモン(growth hormone, GH)の放出や、摂食亢進、脂肪蓄積などの生理作用をもち、恒常性の維持に働くホルモンである。このため、グレリンの分泌異常は様々な代謝異常や内分泌学的な変化をもたらす。

近年、神経性食欲不振症では、性腺ホルモンの低下やコルチゾールの増加などに加え、グレリン高値を示すことが報告されている。また、神経性食欲不振症に見られる症状のひとつとして、低体温が知られているがその原因は明らかではない。

我々は、野生型マウスにグレリンを投与すると著しく体温が低下することや、グレリン遺伝子欠損マウス(*ghrl*^{-/-})では絶食時に見られる体温低下が認められないなど、グレリンによる体温の調節を介した恒常性維持について示して来た。このことから、グレリンによる体温の調節機構が明らかになれば、神経性食欲不振症に見られる低体温などの病態生理学的意義を明らかにすることが期待できる。

そこで本研究では、繰り返し生じる低エネルギー環境への適応においてグレリンのもつ役割を明らかにする目的で、時間制限給餌(restricted feeding, RF)条件下でグレリンの分泌と体温の変動について検討した。

研究方法

1. RF 実験の条件

C57BL/6J (野生型) および *ghrl*^{-/-}の各雄マウス (体重 26.8-36.7g) を使用した。明暗周期は 12 時間 (明期, 7:00-19:00; 暗期, 19:00-7:00) とし、10:00-14:00 の 4 時間を給餌時間とした。飼料は標準飼料 (CE-2、日本クレア) を使用した。RF の開始は 19:00 とし、翌日 19:00 までの 24 時間を DAY0 と定義した。

2. 体温の測定

慢性実験テレメトリー自動計測解析システム (DSI) を用い、体温を 5 分ごとに測定した。送信器は腹腔内への埋め込み手術によりマウス体内に設置し、術後 2 週間以上経過してから実験に供した。

3. グレリン濃度の測定

グレリン濃度を測定するため、予め EDTA とアプロチニンを入れたチューブに血液を採取した。血漿を分離後、1/10 量の 1N HCl を添加した。Sep-Pak Plus C18 cartridge (Waters) で抽出後、凍結乾燥後にサンプルとし、Active Ghrelin ELISA Kit および Desacyl-ghrelin ELISA Kit (Sceti) にてグレリン濃度を測定した。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え実験に関しては、久留米大学遺伝子組換え実験安全委員会の承認のもと行った。動物実験に関しては、久留米大学動物実験委員会の承認のもと行った。具体的には、苦痛をもたらす方法を適用する時に、動物愛護上の配慮として、しかるべき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. WT マウスにおいて、DAY0 から体重が減少し、実験期間を通して開始前体重の約 80%という一定の値で推移した。これに対して、胃の湿重量は DAY0 に減少したが、その後 DAY9 まで急激に増加した。胃の湿重量を体重比で計算すると、実験開始時より著しく増加した。このことは、RF 環境への適応に胃が重要な役割を担っていることを示唆している (図 1)。
2. 野生型マウスでは、RF 条件において、4 時間摂餌量が RF の時間経過とともに増加し、DAY9 では通常時の 1 日摂取量の約 80%まで摂取することが可能となった。一方、*ghrl*^{-/-}マウスの摂餌量も同様の变化を示し、両群間の差は認められなかった (図 2)。
3. RF 条件において、エネルギー摂取を調節する食欲にグレリン欠損が影響しなかったことから、エネルギー保持を調節する体温について検討した。RF に伴う空腹期の体温は、実験期間前半は *ghrl*^{-/-}で高かったのに対し、実験期間後半は逆に *ghrl*^{-/-}で低くなった (図 3)。
4. RF に伴う空腹期において、血漿中の活性型グレリン含量は DAY0 から高くなり、DAY9 で最高値を示した (図 4)。一方、血漿中のデスアシルグレリン含量は実験期間後半に高い傾向を示し、DAY9 で最高値を示した (図 4)。胃内のデスアシルグレリン含量も DAY9 で増加していた。このことから、RF によってはじめはグレリンの活性化が促進され、時間経過とともにグレリンの合成活性も高まることで、繰り返し生じる低エネルギー環境にグレリン分泌が適応していくものと推察される。
5. RF に伴って最も体温が低くなる時間帯 (5:30-6:30) で観察すると、実験期間前半は *ghrl*^{-/-}の体温が高かったが、実験期間後半では

逆に低かった (図 5)。一方、最も体温が高くなる摂餌後の時間帯 (10:15-11:15) において、実験期間前半に両群の差は認められなかったのに対し、実験期間後半では *ghrl*^{-/-}で体温が低くなった (図 5)。

考察

本研究では、繰り返し生じる低エネルギー環境への適応に対するグレリンの役割を明らかにするため、RF 実験を行った。胃湿重量の体重比が RF の時間経過とともに著しく増加したことは、RF の適応に胃が早い段階から適応する可能性を示している。また、胃を主要な産生組織とするグレリンも、RF の時間経過とともに分泌が亢進した。一方で、グレリンが欠損していると、実験期間前半において、体温が低下すべき空腹期において体温低下が抑えられるのに対し、逆に、実験期間後半では、摂餌をしても体温の上昇が小さい。さらに我々は、グレリン投与が体温低下作用を持つことや、*ghrl*^{-/-}マウスでは絶食時の体温低下が小さいことなどもすでに明らかにしている。これらのことから、低エネルギー状態では、グレリンが体温を低下させることでエネルギーの保持に作用しているものと考えられる。今後、本研究成果で観察された現象を分子レベルで明らかにし、食欲の調節との関係を明らかにすることで、神経性食欲不振症に見られる低体温の病態生理学的意義の解明に繋がることが期待される。

以上より、繰り返し生じる低エネルギー環境への適応に対し、グレリンは、体温の調節によって恒常性の維持を保っていると考えられる。

結論

本研究から、グレリン遺伝子が欠損すると繰り返し生じる低エネルギー環境への適応に支障を来すことが明らかとなった。これは体温の低下作用を持つグレリンが欠損することで、低エネルギー状態でのエネルギー保持が困難になるためである可能性が考えられる。

研究発表

論文発表

1. T. Sato, Y. Nakamura, Y. Shiimura, H. Ohgusu, K. Kangawa, M. Kojima. Structure, regulation and function of ghrelin. *J. Biochem.* 151: 119-128, 2012.

学会発表

1. 佐藤貴弘, 中村祐樹, 椎村祐樹, 児島将康:制限給

餌条件下におけるグレリン遺伝子欠損マウスの体温変動:
 第29回内分泌代謝学サマーセミナー 2011.7.7-9
 仙台.

温変動: 第32回日本肥満学会 2011.9.23-24 淡路.

2. 佐藤貴弘, 中村祐樹, 椎村祐樹, 児島将康: 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

知的財産権の出願・登録状況

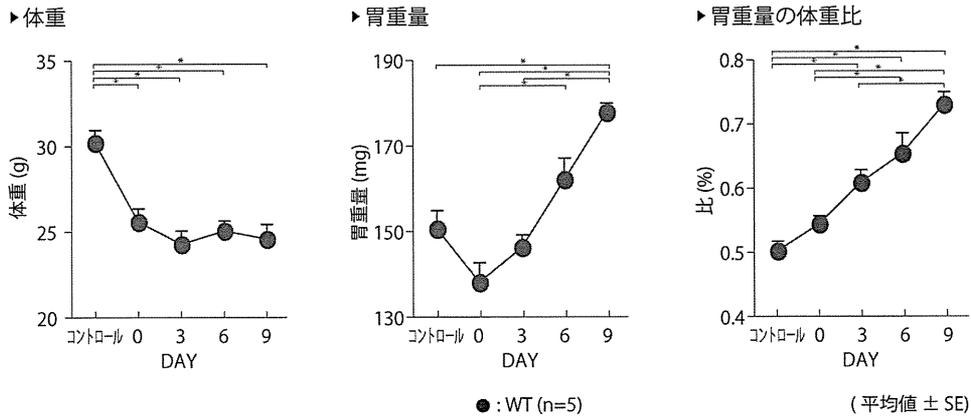


図 1. RF に伴う体重および胃組織重量の推移

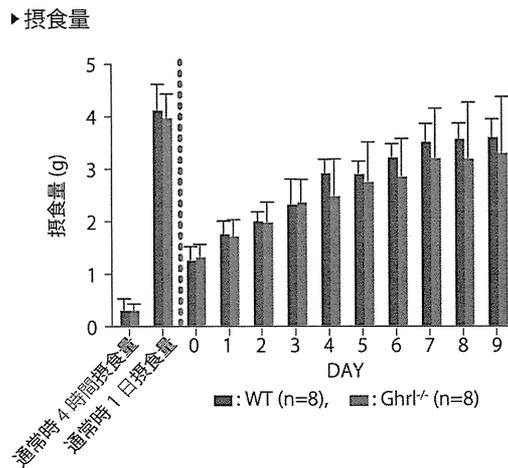


図 2. RF に伴う摂食量の推移

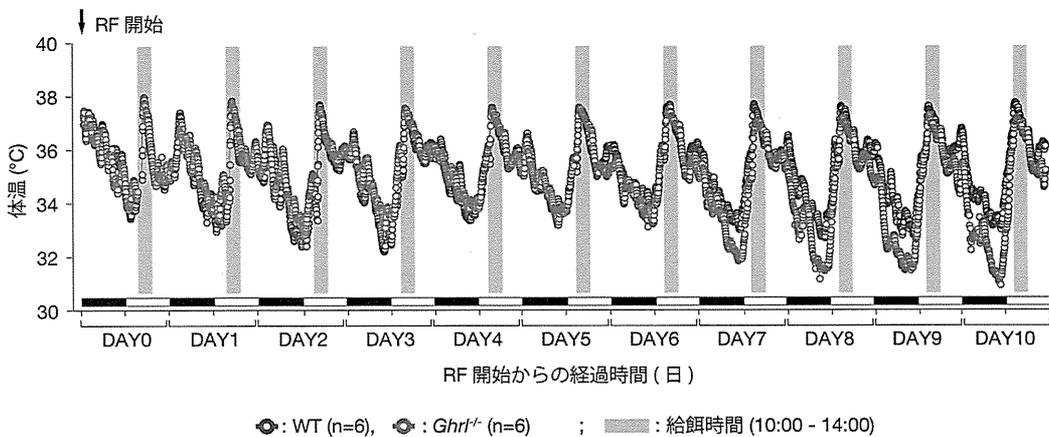


図 3. RF に伴う体温の推移

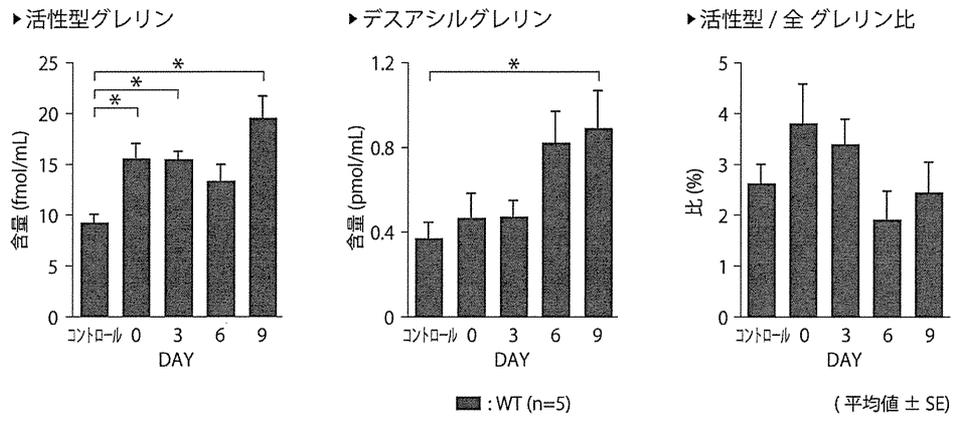


図 4. RF に伴う血漿中グレリン含量の推移

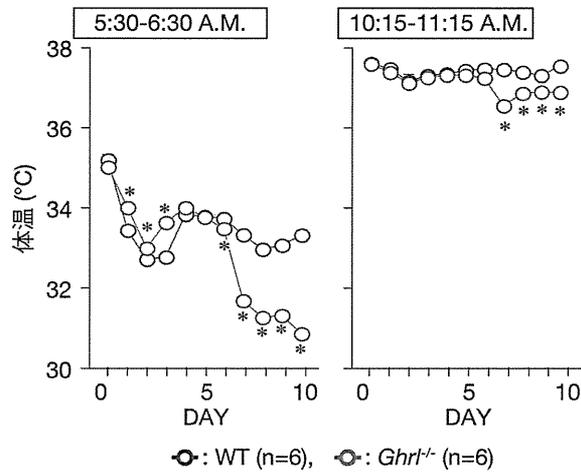


図 5. RF に伴う空腹期および摂餌後の体温推移

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

エネルギー情報と神経ヒスタミンの応答系

分担研究者	吉松 博信	大分大学医学部総合内科学第一講座	教授
	正木 孝幸	大分大学医学部総合内科学第一講座	
	千葉 政一	大分大学医学部総合内科学第一講座	
	後藤 孔郎	大分大学医学部総合内科学第一講座	

研究要旨 我々はこれまでにエネルギー欠乏情報によって中枢性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た。一方でエネルギー欠乏時の、神経HAの食行動および体温調節機構および大脳辺縁系の重要な神経核である海馬体が食行動を動的に調節する可能性について不明であった。本年度の研究では、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)の食行動および体温調節に果たす役割、2) ラット背側海馬破壊がストレス情報処理に関連した食行動調節機構に及ぼす影響について、それぞれ検討した。その結果、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をそれぞれ抑制すること、2) 背側海馬破壊はストレス誘導性食行動抑制反応には関与しないが食行動変容を阻害することが、それぞれ判明した。以上より、低栄養による神経ヒスタミン活性化が、H1受容体を介した食行動抑制および体温維持反応を惹起し、海馬の食行動変容機構を促進する可能性が示唆された。

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 AMPK 活性を亢進させる飢餓などエネルギー欠乏状態で活性化され、ヒスタミン H₁ 受容体を介して、食行動を抑制し覚醒レベルを亢進させる。末梢性には、交感神経活性化を介して、白色脂肪組織での脂肪分解促進作用、褐色脂肪組織での uncoupling protein (UCP) 1 誘導にともなう熱産生促進作用を示す。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、視床下部神経ヒスタミンは、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)、扁桃体 (amygdala; AMY)、海馬 (Hippocampus) および側坐核 (Nucleus accumbens ; NAcc) と密な神経線維連絡を有しており、これらの担う高次脳機能と視床下部神経ヒスタミンとの間に何らかの機能連関が

存在することが示唆される。

平成 23 年度の研究では、飢餓などのエネルギー情報処理の際の、食行動や体温調節等の神経ヒスタミンの応答系に対する大脳辺縁系背側海馬の役割について検討した。

研究方法

1. 中枢性 AMPK 活性化による食行動促進反応に及ぼすヒスタミン H₁ 受容体の役割
野生型マウスおよび HIKO マウスの側脳室にステンレスカテーテルを慢性留置し同カテーテルから AMPK 活性化剤である AICAR または対称液である DMSO を午前 9 時に急性投与し、食行動の変化を解析した。
2. 12 時間絶食時の直腸温変化に及ぼすヒスタミン H₁ 受容体の役割
野生型マウスおよび HIKO マウスに 12 時間絶食を負荷し、直腸温の変化について比較検討した。
3. ラット背側海馬破壊による食行動および体重

増加への影響

背側海馬を化学破壊した Wisar ラットについて、破壊 4 週間後のラット食行動および体重変化を sham operation 群との間で比較検討した。

4. ラット背側海馬破壊によるストレス誘導性食行動抑制反応への影響
背側海馬を化学破壊した Wisar ラットについて、破壊 4 週間後に 2 時間拘束ストレス負荷を行い、ストレス誘導性食行動抑制反応の変化について検討した。
5. ラット背側海馬破壊による記憶学習能への影響
背側海馬を化学破壊した Wisar ラットについて、破壊 4 週間後に受動回避試験を行い、電撃を回避する行動変容の獲得と維持について検討した。
6. ラット背側海馬破壊による食行動変容への影響
背側海馬を化学破壊した Wisar ラットについて、破壊 4 週間後に新しい給餌位置環境を課題として提示し、その新しい環境での食行動変容過程について検討した。

(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. ヒスタミン H1 受容体阻害により、中枢性 AMPK 活性化による食行動誘発反応が有意に増強された。即ち、エネルギー欠乏情報処理においてヒスタミン H1 受容体が食行動を抑制的に制御することが判明した (図 1)。
2. ヒスタミン H1 受容体阻害により、over night fasting 負荷に対する直腸温低下応答が有意に増強された。即ち、エネルギー欠乏情報処理においてヒスタミン H1 受容体が体温産生に促進的に作用することが判明した (図 2)。
3. 背側海馬破壊ラットでは sham ope.ラットと比較して、食行動および体重変化に有意な変化は認められなかった (図 3)。
4. 背側海馬破壊ラットでは sham ope.ラットと比較して、拘束ストレス誘導性食行動抑制反応に有意な変化は認められなかった (図 4)。

5. 背側海馬破壊ラットでは sham ope.ラットと比較して、受動回避試験における行動変容の獲得・維持に顕著な障害が認められた (図 5)。
6. 背側海馬破壊ラットでは sham ope.ラットと比較して、新しい給餌位置環境負荷に対する食行動変容過程に有意な障害が認められた (図 6)。即ち、背側海馬は食行動変容の促進に、より重要な役割を持つことが判明した。

考察

従来より、飢餓などのエネルギー欠乏条件が中枢神経系の AMPK 活性化情報として処理され、NPY やグレリンなどの摂食促進神経ペプチドを介した食行動誘発反応を有意に促進する一方で、これらの摂食促進神経ペプチドらの多くは交感神経の活動を抑制し褐色脂肪組織による産熱反応を抑制することが広く知られている。本研究によって新たに、1) エネルギー欠乏情報によって活性化された神経ヒスタミンが HI 受容体を介して食行動を抑制し体温産生を促進させる機能を有することが判明した。また、背側海馬にはヒスタミン神経系が密に投射・分布し記憶学習能に促進性に関連し合うことが既に知られているが、本研究によって更に、2) 背側海馬はストレス誘導性食行動抑制反応を促進せず食行動変容を促進することが判明した。即ち、エネルギー欠乏情報処理において活性化された神経ヒスタミンは、背側海馬の食行動などにおける行動変容促進に関与すると考えられた。

結論

本研究により、エネルギー欠乏情報で活性化された神経ヒスタミンが、H1 受容体を介した食行動抑制および体温維持に深く関与しながら、海馬の食行動変容機構を促進する可能性が示唆された。

今後はエネルギー欠乏時の制御機構について、H1 受容体を介した食行動抑制および体温維持機構の詳細と、側坐核など高次脳による食行動調節機構に焦点をあて、更に検討を重ねたい。

研究発表

論文発表

1. Masaki T, Anan F, Yoshimatsu H. Decreased high molecular weight adiponectin in sera is associated with white matter lesions in Japanese men with type 2 diabetes. **Diabetes Care** 34(8): e132, 2011.
2. Masaki T, Anan F, Yoshimatsu H. Visceral fat

- accumulation is associated with circadian blood pressure in Japanese patients with impaired glucose tolerance. **Diabetes Care** 34(3): e32, 2011.
3. Noguchi H, Masaki T, Kakuma T, Nakazato M, Yoshimatsu H. Ghrelin in small intestine, its contribution to regulation of food intake and body weight in cross-intestinal parabiotic rats. **Endocr J** 58(8): 625-32, 2011.
 4. Ichimiya H, Arakawa S, Sato T, Shimada T, Chiba S, Soma Y, Mizoguchi M, Tomonari K, Iwasaka H, Hatano Y, Okamoto O, Fujiwara S. Involvement of Brown Adipose Tissue in Subcutaneous Fat Necrosis of the Newborn. **Dermatology** 223: 207-210, 2011.
 5. Gotoh K, Inoue M, Masaki T, Chiba S, Shimasaki T, Ando H, Fujiwara K, Katsuragi I, Kakuma T, Seike M, Sakata T, Yoshimatsu H. A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in obesity-induced hypothalamic inflammation. **J Neurochem**: 2011. *in press*.
 6. Fujiwara K, Gotoh K, Chiba S, Masaki T, Katsuragi I, Kakuma T, Yoshimatsu H. Intraportal administration of DPP-IV inhibitor regulates insulin secretion and food intake mediated by the hepatic vagal afferent nerve in rats. **J Neurochem**: 2011. *in press*.
 7. Kakuma T, Chiba S, Yoshimatsu H. [Behavioral therapy for patients with metabolic syndrome.] **Nihon Rinsho** Jan 69 Suppl 1: 556-60, 2011.
- 学会発表
1. Seiichi Chiba, Hui Xing Wei, Taishi Aosa, Tetsuya Kakuma, Tatsuo Shimada, Kenichiro Tomonari, Hironobu Yoshimatsu : 「Brown adipose tissue protects against age-related obesity in human」: シンポジウム「褐色脂肪研究の新展開」 2011.6.19 札幌
 2. Seiichi Chiba, Shimada Tatsuo, Kaneko Kenichirou, Tomonari Kenichirou, Shimada Tomoo, Hui Xing Wei, Taishi Aosa, Tetsuya Kakuma, Tatsuo Shimada, Kenichiro Tomonari, Hironobu Yoshimatsu : 「Evaluation of human brown adipose tissue using Positron Emission Tomography, Computerized Tomography and histochemical studies in association with glucose metabolism」: シンポジウム「褐色脂肪研究の新展開」 2011.6.20 札幌
 3. 千葉政一、魏会興、青佐泰志、北村裕和、伊奈啓輔、正木孝幸、後藤孔郎、穴井学、葛城功、加隈哲也、藤倉義久、吉松博信 : 「恒温動物における脱共役蛋白と褐色脂肪組織の役割」: 第 19 回 西日本肥満研究会 2011.7.16 福岡
 4. 魏会興、千葉政一、北村裕和、正木孝幸、後藤孔郎、穴井学、葛城功、加隈哲也、伊奈啓輔、藤倉義久、吉松博信 : 「ヒト褐色脂肪組織の形態学的変化に影響する因子について」: 第 19 回 西日本肥満研究会 2011.7.16 福岡
 5. 加島尋、千葉政一、正木孝幸、加隈哲也、吉松博信 : 「AMPK 活性化剤の脳室内投与によるマウス視床下部ヒスタミン機能の変容」: 第 32 回日本肥満学会 2011.9.23-24 淡路
 6. 千葉政一、魏会興、青佐泰志、島田達生、友成健一郎、加隈哲也、吉松博信 : 「ヒト褐色脂肪組織 (BAT) 機能の緩徐な調節系/急峻な調節系の差異」: 第 32 回日本肥満学会 2011.9.23-24 淡路
- 知的財産権の出願・登録状況
なし

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-

分担研究者	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
	山口 秀樹	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	
	米川 忠人	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	
	上野 浩晶	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	
	十枝内厚次	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	
	Waise TM Zaved	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	

研究要旨 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。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、脳血流の変化を検討するため、15から30歳のANR患者を対象とし、合成ヒトグレリン(2 μ g/kg)を1日2回、経静脈的に2週間投与する予定である。投与前後において、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、宮崎大学医学部医の倫理委員会に申請中である。

研究目的

神経性食欲不振症(制限型:ANR)患者における脳血流変化は、多くの報告があり、行動療法により体重回復したANR症例では、4ヶ月の経過において前部帯状皮質の血流回復が著しいことや、両側頭頂葉や右後帯状回の血流増加が確認されている。しかし、行動療法には、ANRの罹病期間による反応性の違いや長期治療を必要とする。成長ホルモン分泌促進と食欲増進作用を示すグレリンは28個のアミノ酸からなり3位にオクタン酸の修飾を受け、主として胃から分泌される。実際にANR患者にグレリンを経静脈的に2週間投与すると摂食量の増加や栄養状態の改善が証明されており、現在、本邦においてグレリンは医薬品医療機器総合機構の対象薬となっている。ANR患者に対するグレリン投与における摂食量改善の早期指標、メカニズムを解明することは今後の治療方針に必要である。

ANR患者に相当するモデル動物は存在せず、摂食行動は、摂食亢進物質と抑制物質の相互作用により、複雑かつ巧妙に調節されている。グレリンは迷走神経求心路を介して中枢性の摂食調節に機能するが、消化管内分泌細胞はコレシストキニン、ペプチドYY、GLP-1等の摂食抑制ペプチドも産生する。これら消化管由来の摂食調節ペプチドの受容体は、迷走神経節神経細胞

で合成されて、末梢方向に軸索輸送されている。そのペプチドは、受容体に結合後、迷走神経の電気活動を刺激もしくは抑制して孤束核に情報を伝えることが判明している。摂食亢進に機能するグレリンと摂食抑制に機能するGLP-1との迷走神経を介する摂食調節連関について解析を行い、カヘキシアモデル動物の作成を試みることにした。

研究方法

標準体重-20%以上のやせがあり、厚生労働省特定疾患 神経性食欲不振症調査研究班の定める診断基準を満たし、15から30歳の神経性食欲不振症(制限型)患者を対象とし、合成ヒトグレリンを2 μ g/kgにて1日2回、経静脈的に2週間投与する。目標症例を6例とし、全例投与観察試験とする。評価項目は、①有効性の評価として、主要項目：グレリン投与前後における脳血流シンチ。副次項目：食事摂取量、体重、血清蛋白、アルブミン、総コレステロール、中性脂肪、LDL-C、HDL-C、血中成長ホルモン、IGF-1、血漿ACTH、コルチゾール濃度、血中カテコールアミン、Hunger-VAS score, EAT26によるアンケートを施行する。②安全性の評価として、有害事象を検討する。

現在、宮崎大学医学部医の倫理委員会に申請中である。胃末梢からのグレリンとGLP-1の作用による迷走

神経求心路による摂食メカニズムとして、SD ラットに GLP-1 投与 30 分前にグレリンを静脈内投与する。逆に 12 時間絶食後ラットにグレリン投与 30 分前に GLP-1 を静脈内投与する。視床下部弓状核と孤束核の Fos 発現を検討した。

(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

ラットに GLP-1 投与 30 分前にグレリンを静脈内投与すると、GLP-1 の摂食抑制作用は消失し、グレリンの摂食亢進作用のみが観察された。また 12 時間絶食後のラットにグレリン投与 30 分前に GLP-1 を静脈内投与すると、グレリンの摂食亢進作用は消失し、GLP-1 の摂食抑制作用のみが観察された。グレリンと GLP-1 の受容体は、迷走神経節神経細胞で合成され、一部共存していた。神経活性化の指標である Fos 蛋白は、グレリン投与により、視床下部弓状核の Fos 発現を増大させたが、GLP-1 の前投与は、この Fos 発現を抑制した。一方 GLP-1 投与は、孤束核の Fos 発現を増大させるが、グレリンの前投与は、この Fos 発現を抑制した。

考察

グレリンと GLP-1 は、相互に関連して摂食の末梢情報を中枢に伝達していると考えられ、相反する作用を時間依存的に制御している可能性がある。今後、迷走神経を介した摂食調節システムについて、迷走神経節神経細胞の電気的特性とカルシウム応答等の細胞生理学的解析と迷走神経細胞の遺伝子発現解析を検討する予定である。迷走神経からの摂食抑制シグナルを利用することにより、カヘキシアモデル動物の作成も可能と考える。

結論

本研究により、神経食欲不振症（制限型）のグレリン投与による食欲回復過程での脳血流変化を捉えることが可能と考えられ、迷走神経からの摂食抑制シグナルを利用することにより、カヘキシアモデル動物の作成も可能と考える。

研究発表

論文発表

1. Shiiya T, Ueno H, Toshinai K, Kawagoe T, Naito S, Tobina T, Nishida Y, Shindo M, Kangawa K, Tanaka H, Nakazato M: Significant lowering of plasma ghrelin but not des-acyl ghrelin in response to acute exercise in men. **Endocr J**, 58: 335-342 (2011)
2. Noguchi H, Masaki T, Kakuma T, Nakazato M, Yoshimatsu H.: Ghrelin in small intestine, its contribution to regulation of food intake and body weight in cross-intestinal parabiotic rats. **Endocr J**, 58: 625-632 (2011)
3. Koshinaka K, Toshinai K, Mohammad A, Noma K, Oshikawa M, Ueno H, Yamaguchi H, Nakazato M: Therapeutic potential of ghrelin treatment for unloading-induced muscle atrophy in mice. **Biochem Biophys Res Commun**, 412: 296-301 (2011)
4. Imazu Y, Yanagi S, Miyoshi K, Tsubouchi H, Yamashita S, Matsumoto N, Ashitani J, Nakazato M: Ghrelin ameliorates bleomycin-induced acute lung injury by protecting alveolar epithelial cells and suppressing lung inflammation. **Eur J Pharmacol**, 672: 153-158 (2011)

学会発表

1. 中里雅光:「クリニカルアワー8」グレリンのトランスレーショナルリサーチ 第 84 回日本内分泌学会 学術総会 2011.4.21-23 神戸
2. ワイズティエムザベッド、山口秀樹、中里雅光: Interaction between ghrelin and GLP-1 in feeding regulation. 第 84 回日本内分泌学会学術総会 2011.4.21-23 神戸
3. 中里雅光:「シンポジウム」糖尿病治療の新時代～摂食調節機構を視野に入れて～ 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会 2011.5.19-21 札幌
4. 中里雅光:脳による摂食調節 第 29 回日本肥満症治療学会 2011.6.10 京都
5. Nakazato M: Prevention and Reversal of Diabetic Neuropathy by Treatment with Ghrelin. 47th EASD 2011.9.13 バルセロナ
6. 中里雅光:肥満症の内科的治療の展望 第 32 回日本肥満学会 2011.9.23-24 淡路

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

近赤外線スペクトロスコープを用いた神経性食思不振症の中枢神経機能障害探索

分担研究者 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
幸村 州洋 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
片山 寛人 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
矢野 円郁 中京大学 心理学部
田中 聡 名古屋大学医学部附属病院精神科

研究要旨 近赤外線スペクトロスコープ (NIRS) は、近赤外線光がヘモグロビンに吸収されることを利用して生体の血流量を非侵襲的に測定することが可能な機器である。本研究では、成人神経性食思不振症患者の中枢神経系病態を探索する目的で、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NIRSにて測定し、健常コントロールと比較するとともにBMIの変化に伴う経時的な変化を検討した。また、各種認知機能検査、心理検査・質問紙検査を平行して行い、NIRSとの関連を検討した。患者群ではStanford眠気尺度の点数が有意に高いにもかかわらず、VF課題の得点も有意に高かった。認知機能検査ではWCST、CPTでは有意差が見られなかったがstroop test (simon task) の干渉課題では、患者群で有意にエラー率が高かった。質問紙検査では患者群で抑うつ、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見られた。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にて患者群の両側前頭葉眼窩皮質で有意に反応低下が見られたが前頭前野背外側では有意差がみられなかった。4ヶ月間でBMI11.3→13.6と回復した患者は両側下前頭回にて著明な反応の改善がみられた。成人神経性食思不振症では両側前頭葉眼窩皮質の血流が低下するが、その変化は可逆的である可能性が示唆された。

研究目的

神経性食欲不振症はボディイメージの障害や病態の失認、やせ願望など、患者には治療の必要性が認識されないことも多く、治療導入には大きな配慮が必要である。しかしその背景となる脳の高次機能の変化、脳構造画像の変化については未だ十分な結論は得られていない。ただし、神経性食欲不振症の病態生理学的な基盤として前頭葉の機能障害があることを示唆する報告は散見される。

本研究では、成人神経性食思不振症患者の中枢神経系病態を探索する目的で、近赤外線スペクトロスコープ (NIRS) を用いて言語流暢性 (VF) 課題を実施中の前頭前野におけるoxy- & deoxy-Hbの変化を測定し健常コントロールと比較するとともに BMI の変化に伴う経時的な変化を検討した。また、認知機能検査、各種心理検査・質問紙検査を平行して行い、NIRS との関連を検討した。

研究方法

患者群として、SCID-I module H を用いて、アメリカ精神医学会の診断基準 DSM-IVTR による神経性食欲不振症と診断された名古屋大学医学部附属病院精神

科入院患者を対象とした。健常対照群として SCID-NP を用いて精神疾患の既往を認めなかった成人女性被験者を対象とした。研究参加について文書による本人の同意が得られない者、主治医の同意が得られない者、非自発的入院患者、未成年者は除外した。

1. NIRS の施行

島津製作所製 FOIRE-3000 を使用した。プローブ 15 個 (3×5) を専用のホルダに装着し 22ch の計測を行った。

i 前頭葉検査

プローブの最下列の中央が国際 10-20 法の Fpz に一致するようにホルダを前額部に取り付け、NIRS による測定をしながら VF 課題を行った。プレタスクとして被験者に「あいうえお」と 30 秒間繰り返し発声させた。次に、タスクとして「あ」「き」「は」「と」「せ」「い」「は」「か」「た」から試験者が選んだ頭文字より始まる言葉を 20 秒間でできるだけ多く言わせ、これを 3 回繰り返した。最後に再び「あいうえお」を 70 秒間繰り返し発声させた。その後、Stanford 眠気尺度を調査した。また、NIRS の測定前後

で血中酸素飽和度の測定も行った。

ii 後頭葉検査

プローブの最下列の中央が後頭極に一致するようにホルダを後頭部に取り付け、NIRSによる測定をしながらチェッカーボード課題を行った。反転するチェッカーボードを30秒、十字の固視点を30秒、順に凝視させる課題を5セット行った。その後、再びStanford 眠気尺度を調査した。

2. 認知機能検査

WCST (遂行機能)、CPT-IP (持続的注意)、Stroop Test:Simon task (習慣的に確立した行為の抑制処理能力)を行った。コンピューターで半自動化されており、試験者立会いの下検査が行われた。

NIRS、認知機能検査は3W後、回復後任意の時期に再測定し、患者、コントロール、期間ごとに比較検討を行った。

3. 顔認知試験

自己顔、既知顔、未知顔の画像のモーフィングを行い、-9%~+9%の間で顔の画像を伸縮し、どこからが「やせすぎ」「太りすぎ」と感じるかを選択させた。

4. 質問紙・心理検査

i 下記の質問紙を記入させた。

EDI2 (摂食障害評価)、BDI (抑うつ評価)、PBI (両親の養育)、SSQ (社会的扶養)、TCI (性格傾向)、BIS (衝動性)、Edinburgh 利き手調査

ii 下記の心理検査を試験者が行った

JART (全般知能)、患者群に SCID-I モジュール H、健常対照群に SCID-NP

(倫理面への配慮)

本研究は名古屋大学大学院医学系研究科及び医学部附属病院生命倫理審査委員会にて承認を得ている。NIRSによる測定は身体への侵襲性はないとされている。

研究結果

1. 患者群ではStanford 眠気尺度の点数が有意に高いにもかかわらず、VF課題の得点も有意に高かった(表1)。
2. 認知機能検査ではWCST、CPTでは有意差が見られなかったがStroop Test:Simon taskの干渉課題では、患者群において有意にエラー率が高かった(表1)。
3. 質問紙検査ではEDI2は全ての項目で患者群が有意に高得点だった(表2)。患者群で抑うつ、

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見られた。

4. 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。
5. VF課題中のNIRSにて患者群の両側前頭葉眼窩皮質で有意に反応低下が見られたが前頭前野背外側では有意差がみられなかった。
6. 4ヶ月間でBMI11.3→13.6と回復した患者は両側下前頭回にて著明な反応の改善がみられた。

考察

これまでに、摂食障害群では両側前頭葉眼窩皮質と右前頭側頭葉で血流低下がみられることが報告されていたが、本研究でも同様の結果となった。また、体重が回復した患者は両側下前頭回にて著明な反応の改善がみられた。成人神経性食思不振症では両側前頭葉眼窩皮質の血流が低下するが、その変化は可逆的である可能性が示唆された。

今後の検討課題として、被験者数の拡大に加え、むちゃ食い排出型、制限型に下位分類した検討、NIRSと心理検査・質問紙の相関、顔イメージ課題との関連、MRI構造画像との比較検討、デジタイザーを用いた空間的一致の精度向上、血中物質との関連、f-MRIでの検討などが挙げられる。

結論

本研究により、成人神経性食思不振症では両側前頭葉眼窩皮質の血流が低下するが、その変化は可逆的である可能性が示唆された。今後更なるデータの集積と検討が必要である。

研究発表

論文発表

1. T. Yoshimura, H. Usui, N. Takahashi, A. Yoshimi, S. Saito, B. Aleksic, H. Ujike, T. Inada, M. Yamada, N. Uchimura, N. Iwata, I. Sora, M. Iyo, N. Ozaki: Association analysis of the GDNF gene with methamphetamine use disorder in a Japanese population. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** 35 (5):1268-72, 2011
2. E. Yokobayashi, H. Ujike, T. Kotaka, Y. Okahisa, M. Takaki, M. Kodama, T. Inada, N. Uchimura, M. Yamada, N. Iwata, M. Iyo, I. Sora, N. Ozaki, S. Kuroda: Association study of serine racemase gene with methamphetamine psychosis. **Curr**

- Neuropharmacol** 9 (1):169-75, 2011
3. H. Ujike, M. Kishimoto, Y. Okahisa, M. Kodama, M. Takaki, T. Inada, N. Uchimura, M. Yamada, N. Iwata, M. Iyo, I. Sora, N. Ozaki: Association Between 5HT1b Receptor Gene and Methamphetamine Dependence. **Curr Neuropharmacol** 9 (1):163-8, 2011
 4. T. Tsunoka, T. Kishi, M. Ikeda, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, K. Kawashima, T. Okochi, T. Okumura, T. Inada, H. Ujike, M. Yamada, N. Uchimura, I. Sora, M. Iyo, N. Ozaki, N. Iwata: No Association Between GRM3 and Japanese Methamphetamine-Induced Psychosis. **Curr Neuropharmacol** 9 (1):160-2, 2011
 5. A. Tsunoda, S. Iritani, N. Ozaki: Presenile dementia diagnosed as posterior cortical atrophy. **Psychogeriatrics** 11 (3):171-6, 2011
 6. A. Takata, S. H. Kim, N. Ozaki, N. Iwata, H. Kunugi, T. Inada, H. Ujike, K. Nakamura, N. Mori, Y. M. Ahn, E. J. Joo, J. Y. Song, S. Kanba, T. Yoshikawa, Y. S. Kim, T. Kato: Association of ANK3 with bipolar disorder confirmed in East Asia. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet** 156 (3):312-5, 2011
 7. N. Takahashi, K. S. Nielsen, B. Aleksic, S. Petersen, M. Ikeda, I. Kushima, N. Vacaressse, H. Ujike, N. Iwata, V. Dubreuil, N. Mirza, T. Sakurai, N. Ozaki, J. D. Buxbaum, J. Sap: Loss of Function Studies in Mice and Genetic Association Link Receptor Protein Tyrosine Phosphatase alpha to Schizophrenia. **Biol Psychiatry** 70 (7):626-35, 2011
 8. H. Sekiguchi, S. Iritani, C. Habuchi, Y. Torii, K. Kuroda, K. Kaibuchi, N. Ozaki: Impairment of the tyrosine hydroxylase neuronal network in the orbitofrontal cortex of a genetically modified mouse model of schizophrenia. **Brain Res** 1392 47-53, 2011
 9. T. Okumura, T. Okochi, T. Kishi, M. Ikeda, T. Kitajima, Y. Kinoshita, K. Kawashima, T. Tsunoka, Y. Fukuo, T. Inada, M. Yamada, N. Uchimura, M. Iyo, I. Sora, N. Ozaki, H. Ujike, N. Iwata: Genetic Association Analysis of NOS1 and Methamphetamine-Induced Psychosis Among Japanese. **Curr Neuropharmacol** 9 (1):155-9, 2011
 10. T. Okochi, T. Kishi, M. Ikeda, T. Kitajima, Y. Kinoshita, K. Kawashima, T. Okumura, T. Tsunoka, Y. Fukuo, T. Inada, M. Yamada, N. Uchimura, M. Iyo, I. Sora, N. Ozaki, H. Ujike, N. Iwata: Genetic Association Analysis of NOS3 and Methamphetamine-Induced Psychosis Among Japanese. **Curr Neuropharmacol** 9 (1):151-4, 2011
 11. Y. Okahisa, M. Kodama, M. Takaki, T. Inada, N. Uchimura, M. Yamada, N. Iwata, M. Iyo, I. Sora, N. Ozaki, H. Ujike: Association Study of Two Cannabinoid Receptor Genes, CNR1 and CNR2, with Methamphetamine Dependence. **Curr Neuropharmacol** 9 (1):183-9, 2011
 12. Y. Okahisa, M. Kodama, M. Takaki, T. Inada, N. Uchimura, M. Yamada, N. Iwata, M. Iyo, I. Sora, N. Ozaki, H. Ujike: Association between the Regulator of G-protein Signaling 9 Gene and Patients with Methamphetamine Use Disorder and Schizophrenia. **Curr Neuropharmacol** 9 (1):190-4, 2011
 13. K. Ogasawara, Y. Nakamura, B. Aleksic, K. Yoshida, K. Ando, N. Iwata, Y. Kayukawa, N. Ozaki: Depression associated with alcohol intake and younger age in Japanese office workers: a case-control and a cohort study. **J Affect Disord** 128 (1-2):33-40, 2011
 14. M. Niwa, Y. Matsumoto, A. Mouri, N. Ozaki, T. Nabeshima: Vulnerability in early life to changes in the rearing environment plays a crucial role in the aetiopathology of psychiatric disorders. **Int J Neuropsychopharmacol** 14 (4):459-77, 2011
 15. H. Miura, Y. Ando, Y. Noda, K. Isobe, N. Ozaki: Long-lasting effects of inescapable-predator stress on brain tryptophan metabolism and the behavior of juvenile mice. **Stress** 14 (3):262-72, 2011
 16. H. Kobayashi, H. Ujike, N. Iwata, T. Inada, M. Yamada, Y. Sekine, N. Uchimura, M. Iyo, N. Ozaki, M. Itokawa, I. Sora: Association analysis of the adenosine A1 receptor gene polymorphisms in patients with methamphetamine dependence/psychosis. **Curr Neuropharmacol** 9 (1):137-42, 2011
 17. H. Kobayashi, H. Ujike, N. Iwata, T. Inada, M.

- Yamada, Y. Sekine, N. Uchimura, M. Iyo, N. Ozaki, M. Itokawa, I. Sora: Association analysis of the tryptophan hydroxylase 2 gene polymorphisms in patients with methamphetamine dependence/psychosis. **Curr Neuropharmacol** 9 (1):176-82, 2011
18. T. Kishi, R. Yoshimura, Y. Fukuo, T. Kitajima, T. Okochi, S. Matsunaga, T. Inada, H. Kunugi, T. Kato, T. Yoshikawa, H. Ujike, W. Umene-Nakano, J. Nakamura, N. Ozaki, A. Serretti, C. U. Correll, N. Iwata: The CLOCK Gene and Mood Disorders: A Case-Control Study and Meta-analysis. **Chronobiol Int** 28 (9):825-33, 2011
 19. T. Kishi, T. Okochi, T. Tsunoka, T. Okumura, T. Kitajima, K. Kawashima, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, H. Naitoh, T. Inada, H. Kunugi, T. Kato, T. Yoshikawa, H. Ujike, N. Ozaki, N. Iwata: Serotonin 1A receptor gene, schizophrenia and bipolar disorder: An association study and meta-analysis. **Psychiatry Res** 185 (1-2):20-6, 2011
 20. T. Kishi, T. Okochi, T. Kitajima, H. Ujike, T. Inada, M. Yamada, N. Uchimura, I. Sora, M. Iyo, N. Ozaki, C. U. Correll, N. Iwata: Lack of association between translin-associated factor X gene (TSNAX) and methamphetamine dependence in the Japanese population. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry** 35 (7):1618-22, 2011
 21. T. Kishi, T. Kitajima, T. Tsunoka, T. Okumura, K. Kawashima, T. Okochi, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, H. Ujike, T. Inada, M. Yamada, N. Uchimura, I. Sora, M. Iyo, N. Ozaki, N. Iwata: Lack of association between prokineticin 2 gene and Japanese methamphetamine dependence. **Curr Neuropharmacol** 9 (1):133-6, 2011
 22. T. Kishi, T. Kitajima, K. Kawashima, T. Okochi, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, H. Ujike, T. Inada, M. Yamada, N. Uchimura, I. Sora, M. Iyo, N. Ozaki, N. Iwata: Association Analysis of Nuclear Receptor Rev-erb Alpha Gene (NR1D1) and Japanese Methamphetamine Dependence. **Curr Neuropharmacol** 9 (1):129-32, 2011
 23. T. Kishi, Y. Fukuo, T. Okochi, T. Kitajima, K. Kawashima, H. Naitoh, H. Ujike, T. Inada, M. Yamada, N. Uchimura, I. Sora, M. Iyo, N. Ozaki, N. Iwata: Serotonin 6 receptor gene is associated with methamphetamine-induced psychosis in a Japanese population. **Drug Alcohol Depend** 113 (1):1-7, 2011
 24. T. Kishi, Y. Fukuo, T. Kitajima, T. Okochi, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, K. Kawashima, T. Inada, H. Kunugi, T. Kato, T. Yoshikawa, H. Ujike, N. Ozaki, N. Iwata: SIRT1 gene, schizophrenia and bipolar disorder in the Japanese population: an association study. **Genes Brain Behav** 10 (3):257-263, 2011
 25. N. Ishikawa, S. Goto, S. Murase, A. Kanai, T. Masuda, B. Aleksic, H. Usui, N. Ozaki: Prospective study of maternal depressive symptomatology among Japanese women. **J Psychosom Res** 71 (4):264-9, 2011
 26. M. Ikeda, B. Aleksic, Y. Kinoshita, T. Okochi, K. Kawashima, I. Kushima, Y. Ito, Y. Nakamura, T. Kishi, T. Okumura, Y. Fukuo, H. J. Williams, M. L. Hamshere, D. Ivanov, T. Inada, M. Suzuki, R. Hashimoto, H. Ujike, M. Takeda, N. Craddock, K. Kaibuchi, M. J. Owen, N. Ozaki, M. C. O'Donovan, N. Iwata: Genome-wide association study of schizophrenia in a Japanese population. **Biol Psychiatry** 69 (5):472-8, 2011
 27. Y. Iijima, B. Aleksic, N. Ozaki: Necessity for ethical consideration of research in the aftermath of disaster. **Psychiatry Clin Neurosci** 65 (5):535-6, 2011
 28. M. Hironaka, T. Kotani, S. Sumigama, H. Tsuda, Y. Mano, H. Hayakawa, S. Tanaka, N. Ozaki, K. Tamakoshi, F. Kikkawa: Maternal mental disorders and pregnancy outcomes: A clinical study in a Japanese population. **J Obstet Gynaecol Res** 37 (10):1283-9, 2011
 29. R. Hashimoto, K. Ohi, Y. Yasuda, M. Fukumoto, H. Yamamori, H. Takahashi, M. Iwase, T. Okochi, H. Kazui, O. Saitoh, M. Tatsumi, N. Iwata, N. Ozaki, K. Kamijima, H. Kunugi, M. Takeda: Variants of the RELA gene are associated with schizophrenia and their startle responses. **Neuropsychopharmacology** 36 (9):1921-31, 2011
 30. R. Hashimoto, K. Ohi, Y. Yasuda, M. Fukumoto, H. Yamamori, K. Kamino, T. Morihara, M. Iwase, H.

- Kazui, S. Numata, M. Ikeda, S. Ueno, T. Ohmori, N. Iwata, N. Ozaki, M. Takeda: No association between the PCM1 gene and schizophrenia: A multi-center case-control study and a meta-analysis. **Schizophr Res** 129 (1):80-4, 2011
31. A. Habuchi, S. Iritani, H. Sekiguchi, Y. Torii, R. Ishihara, T. Arai, M. Hasegawa, K. Tsuchiya, H. Akiyama, H. Shibayama, N. Ozaki: Clinicopathological study of diffuse neurofibrillary tangles with calcification With special reference to TDP-43 proteinopathy and alpha-synucleinopathy. **J Neurol Sci** 301 (1-2):77-85, 2011
32. Y. Fukuo, T. Kishi, I. Kushima, R. Yoshimura, T. Okochi, T. Kitajima, S. Matsunaga, K. Kawashima, W. Umene-Nakano, H. Naitoh, T. Inada, J. Nakamura, N. Ozaki, N. Iwata: Possible association between ubiquitin-specific peptidase 46 gene and major depressive disorders in the Japanese population. **J Affect Disord** 2011
33. M. Fuchikami, S. Morinobu, M. Segawa, Y. Okamoto, S. Yamawaki, N. Ozaki, T. Inoue, I. Kusumi, T. Koyama, K. Tsuchiyama, T. Terao: DNA methylation profiles of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene as a potent diagnostic biomarker in major depression. **PLoS One** 6 (8):e23881, 2011
34. X. Deng, H. Takaki, L. Wang, T. Kuroki, T. Nakahara, K. Hashimoto, H. Ninomiya, T. Arinami, T. Inada, H. Ujike, M. Itokawa, M. Tochigi, Y. Watanabe, T. Someya, H. Kunugi, N. Iwata, N. Ozaki, H. Shibata, Y. Fukumaki: Positive association of Phencyclidine-responsive genes, PDE4A and PLAT, with schizophrenia. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet** 156 (7):850-8, 2011
- K. Takeda, H. Wakita, N. R. Kalaria, W. Maruyama, A. Watanabe: Development of mouse model for CADASIL using mutated Notch3 gene-chronic stress interaction. 第34回日本神経科学大会 横浜, 2011
3. T. K. Masahiro Banno, Branko Aleksic, Tsutomu Kikuchi, Kunihiro Kohmura, Yasunori Adachi, Naoko Kawano, Tetsuya Iidaka, Norio Ozaki: 統合失調症患者において Wisconsin Card Sorting Test score に関連する臨床因子の解析. 第33回日本生物学的精神医学会 Tokyo, 2011
4. N. Ozaki: Genome study of Japanese schizophrenia: GWAS, CNV and Rare variants: Symposium: Neuroscience and neurochemistry in Japan. WFSBP Congress 2011 Prague, 2011
5. 中村由嘉子, 國本正子, 尾崎紀夫: 妊産婦に生じるうつ病を対象としたゲノムコホート研究. 第33回日本生物学的精神医学会 東京, 2011
6. 古村香里, 小出隆義, 早川徳香, 村瀬聡美, 尾崎紀夫: 妊産婦の抑うつ状態と損害回避の関係性: 前向きコホート研究の結果から. 第8回日本うつ病学会 大阪国際交流センター, 2011
7. 尾崎紀夫: 「うつ病対策に関する共同宣言」が目指すもの: モーニングセミナー. 第8回日本うつ病学会 大阪国際交流センター, 2011
8. 尾崎紀夫: Protein tyrosine phosphatase alufa as novel candidate molecule for the etiopathology of schizophrenia: Genetic analysis and biological implications. 第34回日本神経科学大会: シンポジウムー精神・神経疾患における神経細胞機能不全の本態を明らかにする 横浜, 2011
9. 尾崎紀夫: 精神科日常臨床で必要な遺伝カウンセリング. 精神神経学会山陰地方会 2011
10. 尾崎紀夫: Protein tyrosine phosphatase alufa as novel candidate molecule for the etiopathology of schizophrenia: Genetic analysis and biological implications. Neuro2011 横浜, 2011
11. 尾崎紀夫: 多様化する「うつ病」へ適切に対応する. 日本外来精神医療学会 2011
12. 尾崎紀夫: うつ状態を訴える多様な職員への対応. 第51回近畿産業衛生学会特別講演 奈良, 2011
13. 尾崎紀夫: 痛みの精神医学的側面: The Decade of Painの最終年を迎えて. 総合病院精神医学会年会ランチョンセミナー 福岡, 2011
14. 幸村州洋, 片山寛人, 笹田和見, 河野直子, 岩本

学会発表

1. T. Koide, B. Aleksic, M. Ikeda, H. Ujike, M. Suzuki, T. Inada, R. Hashimoto, M. Takeda, N. Iwata, N. Ozaki: Association study and cognitive function analysis of MAGI2 as a candidate gene for schizophrenia. WFSBP 2011: world congress of biological psychiatry Prague, Czech Republic, 2011
2. S. Kunitomo, K. Takahashi, K. Adachi, M. Matsuzaki,

- 邦弘, 野田明子, 飯高哲也, 尾崎紀夫: 抗うつ薬が前頭葉活動性に与える影響: 近赤外分光法 (NIRS) を用いた検討. 第 21 回日本臨床精神神経薬理学会・第 41 回日本神経精神薬理学会 合同年会 東京, 2011
15. 早川徳香, 村瀬聡美, 尾崎紀夫: 妊産婦抑うつ状態と母親の被養育体験との関係: 前向きコホート研究から. 第 8 回 日本うつ病学会 大阪, 2011
16. 梅田健太郎, 木村大樹, 入谷修司, 尾崎紀夫: 数年来にわたるせん妄症状が前駆した DLB の一症例. 老年精神医学会 2011
17. 橋本亮太, 安田由華, 大井一高, 福本素由己, 山森英長, 梅田知美, 岡田武也, 高雄啓三, 小林克典, 楯林義孝, 宮川剛, 貝淵弘三, 岩田仲生, 尾崎紀夫, 武田雅俊: The latest frontiers of schizophrenia research: from gene to environment Neurobiology of candidate genes of schizophrenia. 神経化学会 2011
18. 笹田和見, 幸村州洋, 河野直子, 岩本邦弘, 江部和俊, 野田幸裕, 尾崎紀夫: 抗うつ薬が前頭葉活動性に与える影響: 近赤外分光法 (NIRS) を用いた検討. 第 21 回日本臨床精神神経薬理学会・第 41 回日本神経精神薬理学会 合同年会 東京, 2011
19. 羽瀧知可子, 入谷修司, 梅田健太郎, 岩田拓, 関口裕孝, 鳥居洋太, 柴山漠人, 尾崎紀夫, 木田夕美子: 石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病 (DNTEC) が疑われる長期臨床経過報告. 老年精神医学会 2011
20. 菊池勤, 岩本邦弘, B. Alecsic, 吉田契造, 笹田和巳, 尾崎紀夫: 抗精神病薬内服中の日本人の統合失調症患者における、新規性機能関連質問紙法 (Nagoya Sexual Function Questionnaire : NSFQ) を用いた性機能障害と高プロラクチン血症の実態調査. 第 21 回日本臨床精神神経薬理学会・第 41 回日本神経精神薬理学会 合同年会 東京, 2011
21. 菊池勤, 岩本邦弘, 尾崎紀夫: 抗精神病薬治療下の統合失調症における新規性機能関連質問紙法 : 名大版 (Nagoya Sexual Function Questionnaire*NSFQ) の作成と、同質問紙法を用いた性機能障害および高プロラクチン血症の実態調査. 第 6 回日本統合失調症学会 札幌, 2011

知的財産権の出願・登録状況

なし

	N	年齢	教育歴	身長	体重	BMI	Stanford 眠気	VF得点(letter)
AN	16	29±7	15±2	158.8±6.0	35.5±5.6	14.1±2.5	3.56	3.6±1.2
CTL	22	28±7	16±2	158.5±5.1	55.2±11.0	22.0±4.3	2.73	2.7±0.9
p値		P=0.85	P=0.08	P=0.864	P=0.000	P=0.000	P=0.007	P=0.037

	N	CPT-IP d'	WCST_	WCST_te	WCST_pem	WCST_pen	WCST_dms	stroop error
AN	16	2.49	3.53	19	2.79	4.2	1.53	0.11
CTL	22	2.12	4.09	16.5	2.73	3.27	1	0.04
p値		P=0.199	P=0.420	P=0.371	P=0.761	P=0.347	P=0.437	P=0.039

表 1. 対象の基本属性と認知機能検査

EDI	Drive for Thinness	Bulimia	Body Dissatisfaction	Ineffectiveness	Perfectionism	Interpersonal Distruct
AN	9.6±6.0	6.2±7.2	15.5±6.8	16±7.9	7.2±3.3	8.3±5.6
CTL	3.3±4.1	1.2±1.8	7.4±5.7	4.1±2.9	1.1±1.6	3.2±2.8
p値	P=0.002	P=0.021	P=0.001	P=0.000	P=0.000	P=0.002

EDI	Interoceptive Awareness	Maturity Fears	Ascetism Subscale	Impulse Regulation Subscale	Social Insecurity Subscale
AN	15.3±7.3	11.3±4.9	8.8±5.9	12±6.2	13.8±4.5
CTL	1.7±2.5	3.4±3.0	3.6±2.5	1.4±2.5	5.2±3.6
p値	P=0.000	P=0.000	P=0.041	P=0.000	P=0.000

表 2. EDI2 の結果

神経性食欲不振症患者の骨質マーカーの検討

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 高血圧・内分泌内科
荒木 まり子 東京女子医科大学 高血圧・内分泌内科
市原 淳弘 東京女子医科大学 高血圧・内分泌内科 教授

研究要旨 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詳しく検討するために、エビデンスが集積されつつある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マッチさせた健常女性と統計学的に有意差を認めなかった。しかし、患者群の中では、両マーカーは年齢と中等度の正の相関を有し、30 歳以上では両マーカーは上昇しており骨質の劣化があると判断された。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。

研究目的

骨密度の低下や骨粗鬆症は神経性食欲不振症における主要な合併症・後遺症である。本症患者は低体重、低栄養（三大栄養素、カルシウム、ビタミン D、ビタミン K）、低エストロゲン血症、高コルチゾール血症など骨密度の低下を引き起こす複数の要因を有する。本症における骨代謝マーカーの異常は体重に依存した骨形成の低下と骨吸収の亢進である。

骨粗鬆症は骨強度が低下する疾患であり、骨密度と骨基質の性状の変化、すなわち、骨質によって規定されるという概念が提唱されている。さらに、骨質の劣化に伴う骨折リスクの増大は骨質マーカーで評価されるようになった。

神経性食欲不振症患者の骨質マーカーの検討はこれまで報告がない。そこで、骨質マーカーを測定し、病歴、骨密度、骨代謝マーカーとの関連を検討することを目的とした。

研究方法

対象は、DSM-IV と厚生労働省研究班の診断基準を満たす女性の神経性食欲不振症患者 34 名（制限型 22 例、むちゃ食い／排出型 12 例）（年齢； 26.1 ± 5.6 (Mean \pm SD) 歳、BMI； 14.8 ± 2.6 kg/m²）と、年齢をマッチさせた 12 名の健常女性（年齢； 28.8 ± 3.3 歳、BMI； 21.1 ± 3.1 kg/m²）を対象とした。

方法は、午前中に採血した血液で、血清 Ca と P、インスリン様成長因子 - I (IGF-I)、エストラジオール (E2)、インタクト PTH (iPTH)、レプチン、アディポネクチン、骨型アルカリフォスファターゼ (BAP)、

オステオカルシン (OC)、低カルボキシル化オステオカルシン (ucOC)、25-ヒドロキシビタミン D、 $1,25$ -ジヒドロキシビタミン D、骨質マーカーであるホモシステインとペントシジン、起床後二番尿で I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) と C-テロペプチド (CTx) を測定した。第 2 - 4 腰椎骨密度は DXA 法で測定した。

各データの二群の平均値の有意差の検討は Mann-Whitney の U 検定を、因子間の相関係数は Spearman の順位相関法で検討した。

研究結果

患者群の第 2 - 4 腰椎骨密度は YAM の $75.7 \pm 13.8\%$ と低下を認めたが、病型による有意差はなかった。

健常群に比較して、血清 Ca と P 値や iPTH に有意差を認めなかった。患者群の 50% で 25OHD は 20pg/ml 以下でビタミン D 不足と判断され、 $1,25$ (OH)₂D も有意に低下していた。患者群の 43% で ucOC が上昇し、ビタミン K 不足と診断された。栄養状態のマーカーである血清 IGF-I や E2 は患者群で有意に低下していた。また、患者群で、脂肪組織由来のレプチンは低下し、アディポネクチンが増加していた。

血中骨形成マーカーでは、健常群と比べて、血中 OC が低下し、骨吸収マーカーの NTx と CTx は患者群で亢進していたが、NTx のみ統計学的に有意差を認めた。

健常女性と患者群の血中ホモシステインとペント

シジン値は統計学的に有意差を認めなかった(表1)。しかし、患者群における両マーカーは30歳以上で上昇する傾向を示し、血中ホモシステイン値は年齢と中等度の正の相関($r=0.478$ 、 $p=0.001$ 、 $r=0.421$ 、 $p=0.001$)を有した(図1)。これら骨質マーカーは栄養マーカーや骨代謝マーカーとは相関を認めなかった。

考察

骨粗鬆症の骨折のリスクは骨密度の低下と骨質の劣化で規定される。骨質とは隣り合う骨コラーゲン分子同士の安定した架橋により規定される。秩序正しく分子をつないで適度な弾力を保つ生理的架橋と、無秩序に分子をつなぐ不良な非生理的架橋があり、ペントシジンは後者の代表である。ホモシステインは必須アミノ酸メチオニンの代謝産物である。ペントシジンなどのコラーゲンの不良架橋は、ホモシステイン高値、ビタミンB6不足、酸化ストレス、高血糖によって生じる。血中ペントシジン高値やホモシステイン高値は原発性骨粗鬆症や糖尿病における独立した骨折リスクマーカーになることが示され、骨質マーカーとしてのエビデンスが集積されつつある。

本研究で、平均年齢26.1歳の骨密度の低下を伴う神経性食欲不振症患者の血中ホモシステインとペントシジンの平均値は年齢をマッチさせた健常女性と統計学的に有意差を認めなかった。しかし、患者群における両マーカーは年齢とともに上昇する傾向を示し、それぞれ年齢と中等度の正の相関を有した。患者の年齢は発病年齢と弱い負の、罹病期間と正の相関を有したので、30歳以上の年齢とは骨質に悪影響を与える罹病期間の長さを表していると考えられる。

閉経後女性では骨密度がYAMの80%以上の群に比べて、①骨密度70%以下で骨質マーカー正常群、②骨密度80%以上で骨質マーカー高値群、③骨密度70%以下で骨質マーカー高値群の骨折リスクはそれぞれ、3.6、1.5、7.2倍であると報告されている。神経性食欲不振症は早くも20歳代で骨密度の低下から骨粗鬆症と診断される。本研究で、骨質マーカーは年齢とともに上昇し、30歳以上では有意に骨質の劣化を多く伴った。以上より、他の骨粗鬆症と同様に、本症でも、骨密度と骨質の両者を評価して骨粗鬆症の治療が決定されるべきである。

既報のように、神経性食欲不振症患者におけるビタミンD、および、ビタミンK不足も確認された。

結論

神経性食欲不振症患者の骨質マーカーを検討し、30歳以下では骨密度は低下しているものの骨質は保たれていたが、骨質マーカーは年齢とともに上昇し、骨質の劣化があると判断された。本症の骨合併症は骨密度と骨質の両者を評価すべきである。

研究発表

学会発表

浦野綾子、鈴木(堀田)眞理、大和田里奈、荒木まり子、市原淳弘：「神経性食欲不振症患者における骨密度、骨質に関わる骨代謝マーカーの検討」：第15回 VitaminK&Aging 研究会 2012.2.18 東京

知的財産権の出願・登録状況

なし