

201324013A

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25年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 佳宏

平成26(2014)年4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 25 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小川 佳宏

平成 26 (2014) 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.	飢餓適応における骨格筋代謝の分子機序解明	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内分泌学的異常 ～追いつき成長を示さない出生時低体重ラット仔の GH-IGF-1 軸の変化～	9
	日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学 根本 崇宏	
3.	末梢栄養情報に応答した中枢神経系機能調節の生理と病態	12
	京都大学大学院医学研究科内分泌・代謝内科 中尾 一和	
4.	誘導された褐色脂肪細胞様組織での FABP3 の役割	15
	久留米大学分子生命科学研究所遺伝情報研究部門 児島 将康	
5.	飢餓を伴う中枢性摂食異常症病態生理モデル動物の検討	20
	大分大学医学部総合内科学第一講座 正木 孝幸	
6.	健常者と糖尿病患者に対する GLP-1 投与による摂食行動変化	24
	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.	神経画像を用いた神経性無食欲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.	神経性食欲不振症に合併した骨粗鬆症に対するエルデカルシトールの 治療効果の検討	31
	政策研究大学院大学保健管理センター 鈴木（堀田） 眞理	
9.	飢餓状態における脂肪酸代謝 —神経性食欲不振症における検討—	34
	九州大学病院 久保 千春	
10.	小児・思春期中枢性摂食異常症の内分泌障害予後	37
	国立成育医療研究センター内分泌代謝科 堀川 玲子	
11.	摂食障害の疫学調査 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	39
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表	45

---

中枢性摂食異常症に関する調査研究

平成 25 年度

I. 総括研究報告書

---

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
総括研究報告書

中枢性摂食異常症に関する調査研究

研究代表者	小川 佳宏	東京医科歯科大学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	根本 崇宏	日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学 准教授
	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
	中尾 一和	京都大学大学院医学研究科内分泌・代謝内科 教授
	久保 千春	九州大学病院 病院長
	中里 雅光	宮崎大学医学部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科 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
	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、飢餓適応における骨格筋代謝の分子機序解明、低栄養母体出生児の推測される神経内分泌学的異常、神経ヒスタミン、褐色脂肪細胞様組織とあるいは消化管ペプチド GLP-1 の生理的・病態生理的意義を明らかにした。臨床研究では、末梢栄養情報に応答した中枢神経系機能調節の生理と病態、近赤外線スペクトロスコピーによる神経性食思不振症の神経画像解析、飢餓状態における脂肪酸代謝、神経性食思不振症に合併した骨粗鬆症の治療に関する研究、小児・思春期摂食障害における内分泌障害の回復に関する研究を実施した。学校現場を対象とした全国疫学調査に向けて、全国ネットワーク拠点（宮城県、長野県、愛知県、広島県、福岡県、宮崎県、熊本県）に加えて北海道、長野県、山口県、広島県、宮崎県における実態調査を実施し、発症の若年化と増加傾向が明らかになった。

**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する。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）における疫学調査を実施し、全国における本症の発症頻度を把握する。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を推進し、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）や近赤外線スペクトロスコピー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。「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を実施した。

（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

＜飢餓適応における骨格筋代謝の分子機序解明＞  
従来、絶食・飢餓などのエネルギー欠乏状態には転写因子 FOXO1 の遺伝子発現がマウス骨格筋において著しく増加することを見出した。本年度は、FOXO1 過剰発現遺伝子改変マウスの骨格筋においてグルタミン合成酵素（GS）遺伝子の発現とグルタミン含有量が増加することを明らかにした。活性型 FOXO1 (3A) は C2C12 筋芽細胞において GS 遺伝子発現を増加させること、Luciferase assay 法と ChIP assay 法により FOXO1 が直接 GS 遺伝子プロモータに結合して活性化することが明らかになった。以上により、FOXO1 によるグルタミン合成とアンモニア除去は生体の重要な飢餓適応の一つとなる可能性がある。（小川）

＜低栄養母体出生児の推測される内分泌学的異常＞  
本年度は、妊娠中の母親のカロリー摂取制限により生じる出生時低体重児の胎児期の栄養状態の関与の有無を明らかにするために妊娠中にカロリー摂取制限した母ラットからの出生時低体重ラット仔の解析を

行った。出生時低体重ラットの一部では DNA のメチル化の変化により GH 受容体発現を負に制御する miR-322 の発現が亢進し、肝や心での IGF-1 の産生量や血中 IGF-1 濃度の低下により短体長低体重を呈した。IGF-1 の低下や短体長は一部の次世代にも遺伝した。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、母体の栄養状態を良好に維持することが重要であると考えられる。（根本）  
＜誘導された褐色脂肪細胞様組織での FABP3 の役割＞  
近年、白色脂肪組織に出現する Beige 細胞でも熱産生が行われていることや、成人のヒトにも熱産生能を有する Beige 細胞が存在することが明らかとなった。しかしながら、Beige 細胞における熱産生は、神経性食欲不振症における低体温、グレリンによる体温調節にも関与していると考えられるが役割は明らかでない。本年度は、中枢からの交感神経刺激により Beige 細胞における熱産生、脂肪酸代謝がどのように変化するか検討した。寒冷刺激や交感神経系の活性化により末梢の白色脂肪組織中の Beige 細胞では、熱産生蛋白質である UCP1 の上昇とともにそのエネルギー源を供給する脂肪酸酸化に関連する蛋白質 FABP3 の発現が上昇することが明らかとなり、末梢脂肪組織における熱産生に重要な役割を果たしていることが示唆された。（児島）

＜飢餓を伴う中枢性摂食異常症病態生理モデル動物の検討＞  
本年度は、中枢性摂食異常症モデル動物作成を目標として、1) 12 時間絶食におけるエネルギー調節における中枢性神経ヒスタミン（HA）機能、2) 飢餓シグナル AMPK 賦活化剤中枢性投与の食行動誘発応答におけるヒスタミン H1 受容体の役割、3) 扁桃体への慢性 HA 負荷による影響について検討した。その結果、1) 12 時間絶食負荷は中枢性 HA を介して低体温を抑制すること、2) 飢餓時の食行動促進反応を中枢性ヒスタミン H1 受容体が抑制的に調節すること、3) 扁桃体への HA 慢性投与により体重、食行動の有意な抑制が認められた。以上より、飢餓時の食行動促進反応に対し、神経 HA が視床下部および扁桃体において食行動を抑制的に制御する可能性が示唆された。（正木）

＜末梢栄養情報に応答した中枢神経系機能調節の生理と病態＞  
末梢のエネルギー過剰や枯渇の情報を脳に伝えるホルモン（レプチン、GLP-1）が、中枢性

摂食異常症の病態に関与すると考えられる大脳辺縁系や新皮質等の高次摂食中枢の神経活動に及ぼす影響を明らかにするため、ヒトに対するレプチンあるいは GLP-1 を投与して機能的磁気共鳴画像法 fMRI により解析した。ホルモン特異的応答性脳領域の検出に成功した。レプチンと GLP-1 作用のクロストークの可能性を考え、摂食異常を呈する高脂肪食・低用量ストレプトゾトシンマウスにホルモンを単独ないし併用投与した。その結果、本モデルの摂食量、体重の増加はいずれもレプチン、GLP-1 の単独と比べ併用でより強く抑制され、呼吸商は併用によってのみ抑制された。

(中尾)

**< 飢餓状態における脂肪酸代謝 >** 本年度は神経性食欲不振症 (AN) の脂肪酸代謝を検討した。入院 AN 患者 39 名を食行動により制限型 (AN-R) とむちゃ食い排出型 (AN-BP) に分類して体脂肪量や脂肪酸濃度を測定し、経時的に健常群 (15 名) と比較した。AN-R 群と AN-BP 群の体脂肪量に有意差は認められなかった。AN-R 群では入院時、生体の脳機能維持に関与している極長鎖飽和脂肪酸を含む C (炭素数):20~24 の飽和脂肪酸が上昇、必須脂肪酸は正常範囲であった。AN-BP 群では、糖から合成可能な C:12~24 までの飽和脂肪酸と一部の必須脂肪が上昇していた。入院 3 ヶ月後 (退院時) には、2 群とも、C:14~24 までの広範囲に渡って脂肪酸が上昇していた。以上より、AN-R 群では極長鎖脂肪酸の高値が認められ、AN-BP では糖質から合成可能な脂肪酸濃度が上昇することが明らかになった。(久保)

**< 健常者と糖尿病患者に対する GLP-1 投与による摂食行動変化 >** 摂食抑制ペプチド GLP-1 は糖尿病患者に使用され、インスリン分泌亢進作用以外に循環器系、消化器系にも作用し、多面性を持ち合わせている。本年度は、テストミール摂取後に糖尿病患者と健常者に対して GLP-1 と生食の皮下投与を 1 週間間隔で同一対象者に施行し、経時的に満腹感と空腹感の VAS (visual analogue scale)、血圧調節、消化管ホルモンの変動を検討した。糖尿病患者と健常者ともに単回投与では GLP-1 による摂食行動には影響を及ぼさなかった。糖尿病患者、健常者ともに食事後にかかわらず GLP-1 投与により収縮期、拡張期血圧がともに上昇し、血中アドレナリンの上昇が認められた。糖尿病患者、健常者ともにインスリンの初期分泌増強を確認し、活

性型 GIP の初期分泌抑制とグルカゴンとグレリンの後期分泌亢進が認められた。(中里)

**< 神経画像を用いた神経性無食欲症の中枢神経機能障害探索 >** 本年度は、神経性食思不振症患者 (AN) の中枢神経系病態を明確化するために近赤外線スペクトロスコピー (NIRS) および MRI を用いて検討した。1) 摂食障害 (ED) 群と健常被験者 (CTL) 群で NIRS を用いて測定した課題下前頭葉血流変化と Eating Disorder Inventory-2 得点との関係性を検討した。ED 群では CTL 群に比較して有意に血流変化が小さく、対人不安定尺度 (SIS) 得点が高かった。両側眼窩前頭皮質 (OFC) における血流変化と SIS 得点は ED 群では正に相関し、CTL 群では負に相関した。ED 群では OFC 活性が低いほど対人不安定の自覚が乏しくなると考えられた。2) MRI 構造画像の VBM 解析の結果、ED 群では CTL 群に比較して年齢による補正後に前頭前野、頭頂連合野、帯状回で、年齢に加えて BMI による補正後も左側視床枕で、体積が小さかった。視床枕の病態による視覚情報の処理の障害が元来あり、やせによる連合野、帯状回の病態による認知・実行機能や視空間認知の障害が加わり ED の病態が形成されたと考えられた。(尾崎)

**< 神経性食欲不振症に合併した骨粗鬆症に対するエルデカルシトールの治療効果の検討 >** 本年度は、新しい活性型ビタミン D3 製剤であるエルデカルシトールの骨代謝に対する効果を前向きに検討した。低体重で骨密度の低下があり、血中 25hydroxy VD が 20mg/dl 未満のビタミン D 欠乏を有する女性患者 12 名にエルデカルシトール 0.75 $\mu$ g/日を内服させた。1 名は高カルシウム血症を併発し、2 名は内服のコンプライアンスが不良であった。内服 1 ヶ月後から骨吸収マーカである I 尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) と骨形成マーカである血清オステオカルシン (OC) の低下傾向を認め、投与後 6 カ月目に NTx は前値の 58 $\pm$ 18%、血清 OC は前値の 58 $\pm$ 14% に低下し、1 年後も維持していた。有意な体重増加はなかったが、1 年後の腰椎骨密度は 9.0 $\pm$ 4.1% 増加した。ビタミン D 不足を伴う神経性食欲不振症患者では、エルデカルシトールは亢進した骨吸収を改善して腰椎骨密度の増加作用を示したので、本症に合併した骨粗鬆症の治療法として有用であると考えられた。(鈴木)

＜小児・思春期摂食障害における内分泌障害の回復過程＞ 10歳から16歳までに発症した中枢性摂食障害（AN）女子14名、男子2名を対象とした。いずれも発病前に二次性徴の進行を認めていた。各症例においてANの回復後から性腺機能回復までに要する時間を検討した。回復までの期間は中央値23ヶ月。二次性徴回復は、体重の回復と前後して同時期に認めたが、タンナーステージの進行には体重減少前の体重まで復することが必要であった。続発性無月経からの月経の自然再開は10名中4名で認め、体重の回復後さらに10ヶ月以上を要した。学童思春期発病のANでは、体重の回復後も性腺機能（視床下部-下垂体-性腺系）の障害が持続して正常な生殖能獲得に障害となるため、社会的な啓発が必要と考えられた。（堀川）

＜中枢性摂食異常症の全国疫学調査＞ 2013年度は、北海道、長野県、山口県、広島県、宮崎県で各道県の教育委員会の了解を得て、養護教諭へ質問紙法で摂食障害の疫学調査を行った。北海道、広島県、山口県では初めての疫学調査であった。神経性食欲不振症は小学校4年生の男女児に認められ、中学2～3年生から患者数が急増する傾向が確認された。女子高校生では、疑い例を含む有病率は0.17～0.56%であった。男子においても増加していることが示唆された。又、患者の半数が受診していなかった。患者が多い米国の有病率と同等か高いことが明らかになったので、本邦においても、摂食障害の予防、早期発見、早期受診、学校での対応について指針を作成して普及させる施策が急務であると考えられた。女子高校生では正常体重でも摂食行動調査票（EAT-26）における食事制限ややせ願望の得点が高いことが明らかになった。また、診断にはEAT-26と身長体重の実測値だけでなく面も必要であるが、EAT-26はハイリスクグループのスクリーニングには有用であった。又、EAT-26得点と自閉症スペクトラム指数総得点が相関することが明らかになった。（鈴木、堀川、遠藤、横山、尾崎、岡本、久保、間部、中里）

## E. 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全国疫学調査を実施した。

## F. 健康危険情報

特になし

---

平成 25 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	根本 崇宏	日本医科大学大学院医学研究科 生体統御科学	准教授
	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 総合内科学第一講座	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	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 臓器代謝ネットワーク講座	特任教授

---

平成 25 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

飢餓適応における骨格筋代謝の分子機序解明

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
	亀井 康富	京都府立大学生命環境科学研究科分子栄養学研究室
	田中 都	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
	菅波 孝祥	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科臓器代謝ネットワーク講座

**研究要旨** 中枢性摂食異常症の中でもやせを主体とする神経性食欲不振症（拒食症）では、身体的な栄養障害（飢餓状態）を呈することにより、重症例では体力や筋力の低下により転倒しやすくなり、運動や日常生活が困難となる。中枢性摂食異常症の病態は飢餓や低栄養と密接に関連しており、本研究では、中枢性摂食異常症において認められる全身の飢餓応答として、飢餓における骨格筋代謝と骨格筋萎縮に関連する遺伝子発現制御の分子機構を解析した。

飢餓や激しい運動、全身の代謝は大きく変動する。骨格筋においては、まずグリコーゲンが解糖系にて消費され、その後、筋タンパク質に由来するアミノ酸（特に分岐鎖アミノ酸(BCAA)）がTCA回路にて消費される。アミノ酸の分解に伴い、アミノ基由来のアンモニアが副産物として生成されるが、これは肝臓の尿素回路にて正しく処理される必要がある。一方、Forkhead protein-O1 (FOXO1) はフォークヘッド型の転写因子であり、生体代謝の同化ホルモンであるインスリンと拮抗することが知られている。我々はこれまでに、飢餓や激しい運動等のエネルギー欠乏状態において転写因子FOXO1遺伝子の発現が骨格筋で著しく増加することを見出した。また、骨格筋特異的FOXO1過剰発現マウス (FOXO1マウス) では、骨格筋の萎縮が生じることを示した。本研究では骨格筋アミノ酸代謝の主要制御因子としてFOXO1を想定し、検証を行なった。本研究の遂行による、絶食や極端なダイエットにより誘導される骨格筋の量的・質的な変化の分子機構の解明は、中枢性摂食異常症の病態の理解につながると考えられる。

**研究目的**

中枢性摂食異常症の中でもやせを主体とする神経性食欲不振症（拒食症）では、身体的な栄養障害（飢餓状態）を呈することにより、重症例では体力や筋力の低下により転倒しやすくなり、運動や日常生活が困難となる。すなわち中枢性摂食異常症の病態は飢餓や低栄養と密接に関連している。

飢餓や激しい運動によって、全身の代謝は大きく変動する。骨格筋においては、まずグリコーゲンが解糖系にて消費され、その後、筋タンパク質に由来するアミノ酸（特に分岐鎖アミノ酸(BCAA)）がTCA回路にて消費される。アミノ酸の分解に伴い、アミノ基由来のアンモニアが副産物として生成されるが、これは肝臓の尿素回路にて正しく処理される必要がある。

一方、Forkhead protein-O1 (FOXO1) はフォークヘッド型の転写因子であり、生体代謝の同化ホルモンであるインスリンと拮抗することが知られている。我々はこれまでに、飢餓や激しい運動等のエネルギー欠乏状態において転写因子 FOXO1 遺伝子の発現が骨格筋で著しく増加することを見出した。また、骨格筋特異的 FOXO1 過剰発現マウス (FOXO1 マウス) では、骨格筋の萎縮が生じることを示した。本研究では骨格筋アミノ酸代謝の主要制御因子として FOXO1 を想定し、検証を行なった。そして、中枢性摂食異常症において認められる全身の飢餓応答として、飢餓における骨格筋代謝と骨格筋萎縮に関連する遺伝子発現制御の分子機構を解析した。

## 研究方法

### 1. 実験動物

野生型マウスとして C57BL/6J マウスを使用した。骨格筋特異的 FoxO1 ノックアウトマウス (myogenin-cre, FoxO1 flox/flox) は北村教授 (群馬大学) より供与された。コントロール群として flox/flox の同腹仔を使用した。

### 2. 遺伝子発現解析

細胞および組織からの Total RNA の抽出は、Trizol 1mL を使用した。cDNA の作製には QIAGEN Quanti test Reverse Transcription Kit を使用した。Fast SYBER Green Master Mix (Applied Biosystems) 5.0 $\mu$ L, primer forward (50 $\mu$ M) 0.1 $\mu$ L, primer reverse (50 $\mu$ M) 0.1 $\mu$ L cDNA (5.0ng/ $\mu$ L) 2.5 $\mu$ L 滅菌蒸留水 2.3 $\mu$ L の Total 10 $\mu$ L とした。Real-time PCR 反応は StepOnePlus (Applied Biosystems) を用いた。Internal control として 36B4 を使用した。

### 3. アミノ酸含有量解析

50mg 分取した組織にメタノール 0.6mL, 滅菌蒸留水 0.24mL を加え遠心分離した。窒素ガスを用いて揮発させた後、沈殿物を滅菌蒸留水 0.2mL に溶解し、アミノ酸含有量の測定は SRL 社に依頼した。

### 4. Luciferase assay

C2C12 筋芽細胞を 12well plate に培養した。ルシフェラーゼプラスミド (pSP-GS あるいは pGL3-ALT2) 0.8 $\mu$ g, 及び発現プラスミドの pCAG-FOXO1 (3A), pCMX-FOXO1, pCAG-PGC1 $\alpha$ , empty pCAG/ pCMX (total 0.8 $\mu$ g), を Lipofectamine 2000 (Invitrogen) を用いてトランスフェクションした。internal control には phRL-TK 25ng (Promega) を使用した。トランスフェクションから 24 時間後、細胞を溶解し Dual Luciferase kit (Promega) を用いてルシフェラーゼ活性を測定した。活性はウミシイタケルシフェラーゼ活性 (internal control) に対するホタルルシフェラーゼ活性の比により計算した。

### 5. ChIP assay (クロマチン免疫沈降法)

C2C12-pLXSN-FoxO1 (3A) -ER 細胞にタモキシフェン 1 $\mu$ M を添加し 10 時間インキュベートし

た。対照として DMSO を使用した。細胞を 1% ホルムアルデヒド、37 $^{\circ}$ C で 10 分間処置後、グリシン 625mM で 5 分間インキュベートした。PBS で洗浄後、protease inhibitor 入りの SDS lysis buffer で細胞を回収した。ソニケーションを 30 秒間隔で 30 回、冷却しながら行った。ProG (Dynabeads ProteinG (invitrogen)) に抗体を結合させるため、混合物を室温で 10 分置き、その後 4 $^{\circ}$ C で 1 時間置いた。使用した抗体は FKHR (H-128) (sc-11350; SantaCruz Biotechnology) と Normal rabid IgG (sc-11350; SantaCruz)。2 $\mu$ g の抗体と 10 倍量の ChIP dilution buffer で溶解した Lysate 6 $\mu$ g を 4 $^{\circ}$ C で 2 時間置き免疫沈降した。High salt wash buffer, low salt wash buffer, LiCl wash buffer, TE による洗浄後、1% SDS で溶出した。5M NaCl による脱クロスリンク、ProK、フェノール・クロロホルム抽出により DNA を精製した。ChIP DNA 量は定量的リアルタイム PCR により測定した。結果は Normal rabid IgG に対する ChIP DNA の比により算出した。

### 6. 頸静脈アンモニア投与実験

FoxO1-KO マウスおよび野生型同腹仔のマウスを頸静脈カニューレーションオペの 2 日後に 4 時間絶食を行い、ペントバルビタール麻酔下で実施した。アンモニア負荷を実施 (0, 50, 75, 100  $\mu$ mol/hr、各 80min、各前後に採血実施、control 群には生理食塩水を infusion した)。PocketChem BA PA-4140 (アークレイ社) を使用し全血から NH<sub>3</sub> を測定した。

(倫理面への配慮)

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

## 研究結果

1. 絶食により FOXO1 mRNA の発現が顕著に誘導された。またグルタミン合成酵素 (GS) の遺伝子発現が顕著に増加していた。分岐鎖アミノ酸代謝酵素 (BCKDH)、アラニンアミノ基転移酵素の遺伝子発現はわずかに増加した。

2. FOXO1 マウスの骨格筋内のグルタミン含有量はコントロールマウスに比して有意に増加していた。さらに、骨格筋内で重要なアミノ酸代謝遺伝子の発現量を検討した。すると、分岐鎖アミノ酸代謝酵素 (BCAT, BCKDH)、アラニンアミノ基転移酵素などの遺伝子発現は増加していなかったが、グルタミン合成酵素 (GS) の遺伝子発現が顕著に増加していた。
3. TAM 処理により FOXO1 の標的遺伝子として既知である Gadd45 のみならず GS mRNA を増加させた。TAM の非存在下の FOXO1 (3A) 細胞、または空のベクター (モック) を安定的に発現させたコントロール C2C12 細胞では GS mRNA の発現の変化は観察されなかった。これらの結果により、筋細胞において FOXO1 を活性化により GS の発現がすることが示唆された。
4. GS 遺伝子を解析したところ FoxO1 が結合し得る配列 TTGTTTAC (以下、DBE (daf-16 family protein-binding element)) を発見した。また、この DBE と DBE に類似した配列 FoxO1 DBE motif (AAACAA/TTGTTT) に対する FoxO1 の作用を *in vitro* で検討した。Luciferase assay 法を用いて FoxO1 による GS の転写促進作用を検討した。DBE の存在下で、FoxO1 (3A) 用量依存的に GS プロモーターを転写活性化させた。GS 遺伝子の 5'プロモーターの遺伝子を欠損させたいくつかの欠損体では、転写活性化が抑制されなかった。一方、3'側に存在する FoxO1 結合配列を欠損させたコンストラクトでは、転写活性化が抑制された。ChIP assay により GS 遺伝子の FoxO1 結合配列 (DBE) 特異的に FoxO1 が結合した。GS 遺伝子の exon 内やプロモーター領域には FoxO1 が結合することはなかった。GS 遺伝子での 3'UTR の重要性も報告されており、この結果より、3'側に存在する FoxO1 結合配列が重要であることが示唆された。
5. FoxO1-KO マウスの頸静脈にアンモニアを投与したところ、FoxO1-KO マウスにおいて野生型と比較し血中アンモニア濃度が有意に増加した。すなわち、FoxO1-KO において欠損している GS が生体内でアンモニア除去の役割を果たしていると考えられる。

## 考察

FOXO1 が骨格筋で顕著に増加している飢餓状態においては、骨格筋は萎縮が生じ、構成タンパク質を分解し糖新生に利用される。グルタミンは、糖新生の基質として利用されると共に、アミノ酸分解時に生成されるアンモニアの消去にも役割を果たすことが知られる。すなわち FOXO1 によるグルタミン合成は生体の飢餓適応の一序である可能性がある。一方、FOXO1 は、骨格筋アミノ酸代謝に重要な分岐鎖アミノ酸代謝酵素 (BCAT, BCKDH)、アラニンアミノ基転移酵素などの遺伝子発現は活性化せず、骨格筋アミノ酸代謝においての他の転写因子との役割分担があることが示唆される。

## 結論

本研究では、中枢性摂食異常症において認められる全身の飢餓応答として、飢餓における骨格筋代謝と骨格筋萎縮に関連する遺伝子発現制御の分子機構を解析した。本研究により、FOXO1 が摂食時の骨格筋でグルタミン合成酵素の遺伝子発現調節を行なうことが判明し、飢餓時のアミノ酸代謝およびアンモニア消去に役割を果たすことが示唆された。

## 研究発表

### 論文発表

1. Potter, R. A., DeLong, A. D., Smith, S. M., Erb, B. M., Renwand, B., Kamei, Y., Ogawa, Y., and McLoughlin, T. J. (2013) FoxO1 Inhibits skeletal muscle hypertrophy through mTOR-independent mechanisms. **J. Exercise Physiol.** 16, 32- 50.

### 学会発表

1. 畑澤幸乃、亀井康富、笠原知美、金井紗綾香、狩野理延、菅波孝祥、北村忠弘、小川佳宏：「FOXO1 は骨格筋のアミノ酸代謝を調節する」 第33回 日本肥満学会大会 2013年10月 東京

## 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 低栄養母体出生児の推測される内分泌学的異常～追いつき成長を示さない出生時低体重ラット仔の GH-IGF-1 軸の変化～

分担研究者 根本 崇宏 日本医科大学大学院医学研究科生体統御科学 准教授

**研究要旨** 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。出生時低体重児の多くは思春期までに追いつき成長を示すが、一部には追いつき成長を示さず最終身長も低い児がみられる。まだ不明な点が多い追いつき成長を規定する内分泌的因子を明らかにするため、ラットを用いた解析を行った。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のうち、離乳時の 21 日齢までに対照ラットの平均体重-2SD 以内まで追いつき成長しなかった低体重ラット (SGA-NCG) 群では、肝 DNA のコード領域のメチル化の低下による miR-322 の発現量の亢進がみられた。その結果、GH 受容体発現量と IGF-1 産生量、血中 IGF-1 濃度の低下が生じ、短体長低体重を呈した可能性が示された。また、これら SGA-NCG ラットを父母に持つ出生仔は、母ラットを自由摂餌下で飼育しても出生時低体重ラット仔を出産し、それらの仔の中には同様の機序により追いつき成長を示さず短体長低体重となる仔がいることが明らかになった。以上より、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

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[9]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[10]。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[11-13]。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。そこで本研究では神経性食欲不振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を制限した母ラットからの出生仔のうち、離乳時までに対照ラットの平均体重の-2SD まで追いつき成長した群としなかった低体重ラット (SGA-NCG)を用いて、それらの血中 GH や IGF-1 濃度、肝臓での GH 受容体、IGF-1 発現量、GH 受容体の受容体の発現を負に制御する microRNA (miR-322)の発現、DNA のメチル化の比較を行った。さらに、雌雄の SGA-NCG ラットを交配し、出生した仔について、同様の解析も行った。

### 研究方法

1. 妊娠中の母ラットへのカロリー摂取制限からの短体長低体重仔  
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、対照群の摂取量の 60%まで摂取量を制限した (FR) 群との 2 群に分けた。出産後はいずれの群の母ラット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。離乳時に体重を測定し、FR 群からの出生仔のうち対照ラットの平均体重-2SD 以内まで追いつき成長した群を SGA-CG 群、追いつき成長しなかった群を SGA-NCG 群とし、6 週齢時まで自由摂餌下で飼育したそれらの雄ラットを用いて解析した。

### 2. 追いつき成長を示さない短体長低体重ラット仔の成長ホルモン-IGF-1 軸の変化

血中 GH および IGF-1 濃度は随時断頭採血したラット仔の血漿を用い、ELISA 法で測定した。肝の GH 受容体および IGF-1 の mRNA 発現量、miR-322 の発現量はリアルタイム PCR を用いて測定した。

### 3. 肝 DNA のメチル化の変化

肝より DNA を抽出し、バイサルフェートシーケンス法を用いて、メチル化の程度を定量した。

### 4. 次世代への影響の検討

雌雄の SGA-NCG ラットを交配し、自由飲水自由摂餌下で飼育し、出生仔を得た。仔は引き続き自由飲水、自由摂餌下で飼育した母ラットから授乳させ、3 週齢時に上記 2 と同様に解析した。

(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

1. 妊娠中の摂取カロリー制限母ラットからの出生時低体重仔は、自由摂餌下で飼育した母ラットからの出生仔よりも有意に軽かった。在胎期間および出生仔数には差はみられなかった。また、出生仔のうち離乳時まで追いつき成長を示さない短体長低体重ラット仔がみられた。(図1)
2. SGA-NCG 群の血中 GH 濃度は対照群との間に差はみられなかったが、IGF-1 濃度は有意に低下していた。SGA-NCG 群の肝での GH 受容体および IGF-1 の mRNA 発現量は、対照群のそれらより有意に低下していた。SGA-NCG 群のそれらには差はみられなかった。SGA-NCG 群 GH 受容体の発現を負に制御する miR-322 の発現量は、対照群に比べ有意に高かった。(図2)
3. 肝 DNA の miR-322 コード領域には 9 箇所の CpG 領域が存在するが、SGA-NCG ラットでは miR-322 の 5 領域における 2 箇所のメチル化が有意に低下していた。
4. 雌雄の SGA-NCG ラットを交配し、得られた仔は対照群の仔よりも有意に軽く、その一部には 3 週齢時に追いつき成長を示さない短体長低体重仔がみられた。(図3) これら短体長低体重仔も肝での miR-322 の発現量の増加と GH 受容体と IGF-1 の mRNA 発現量の低下、血中 IGF-1 濃度の低下がみられた。(図4)

## 結論

妊娠中にカロリー摂取制限した母ラットからの出生時低体重ラット仔のうち追いつき成長しない低体重ラットは、肝 DNA のメチル化の低下による miR-322 の発現量の上昇、miR-322 による GH 受容体発現の抑制、GH 受容体シグナルの低下による IGF-1 産生の低下、血中 IGF-1 濃度の低下により、短体長低体重を呈したと考えられる。さらに、SGA-NCG ラットを父母に持つ仔は、母ラットが自由摂餌下で飼育したにも関わらず、その一部には出生時の低体重と離乳時まで追いつき成長を示さない短体長低体重ラットがみ

れること、これらの身体的変化は、miR-322 発現の上昇による GH 受容体発現の低下と血中 IGF-1 濃度の低下といった父母ラットと同様の機序により短体長低体重を呈した可能性が示されたことから、DNA のメチル化の変化は次世代にも遺伝する可能性が示された。以上より、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児の成長のみならず次世代の児の成長にも重要であると考えられる。

## 参考文献

1. Holland, A.J., et al., Anorexia nervosa: a study of 34 twin pairs and one set of triplets. *The British journal of psychiatry : The Journal of Mental Science*, 1984. 145: p. 414-9.
2. Kendler, K.S., et al., The genetic epidemiology of bulimia nervosa. *The American journal of psychiatry*, 1991. 148(12): p. 1627-37.
3. Bulik, C.M., P.F. Sullivan, and K.S. Kendler, Heritability of binge-eating and broadly defined bulimia nervosa. *Biological psychiatry*, 1998. 44(12): p. 1210-8.
4. Lilienfeld, 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. *Archives of general psychiatry*, 1998. 55(7): p. 603-10.
5. Strober, M., et al., Controlled family study of anorexia nervosa and bulimia nervosa: evidence of shared liability and transmission of partial syndromes. *The American journal of psychiatry*, 2000. 157(3): p. 393-401.
6. Wade, T.D., et al., Anorexia nervosa and major depression: shared genetic and environmental risk factors. *The American journal of psychiatry*, 2000. 157(3): p. 469-71.
7. Kortegeard, L.S., et al., A preliminary population-based twin study of self-reported eating disorder. *Psychological medicine*, 2001. 31(2): p. 361-5.
8. Grice, D.E., et al., Evidence for a susceptibility gene for anorexia nervosa on chromosome 1. *American journal of human genetics*, 2002. 70(3): p. 787-92.

9. Koubaa, S., et al., Pregnancy and neonatal outcomes in women with eating disorders. **Obstetrics and gynecology**, 2005. 105(2): p. 255-60.
10. Negrete, J.C., Cocaine problems in the coca-growing countries of South America. **Ciba Foundation symposium**, 1992. 166: p. 40-50; discussion 50-6.
11. 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 pediatrics**, 2010. 10: p. 91.
12. Groen-Blokhuis, M.M., et al., Evidence for a causal association of low birth weight and attention problems. **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry**, 2011. 50(12): p. 1247-54 e2.
13. Losh, M., et al., Lower birth weight indicates higher risk of autistic traits in discordant twin pairs. **Psychological medicine**, 2011: p. 1-12.

### 健康危険情報

なし

### 研究発表

#### 論文発表

1. 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.** 302: E781-E787, 2012
2. Nemoto T, Mano A, Shibasaki T. miR-449a contributes to glucocorticoid- induced CRF-R1 downregulation in the pituitary during stress. **Mol. Endocrinol.** 27: 1593-1602, 2013.

#### 学会発表 (シンポジウム)

1. 根本崇宏、芝崎保：「低出生体重ラット仔でみられる内分泌学的異常」：第 86 回日本内分泌学会，2013.4.25-27，仙台

### 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

末梢栄養情報に応答した中枢神経系機能調節の生理と病態

分担研究者	中尾 一和	京都大学大学院医学研究科メディカルイノベーションセンター	特任教授
	田中 智洋	京都大学大学院医学研究科メディカルイノベーションセンター	特定准教授
	孫 徹	京都大学大学院医学研究科メディカルイノベーションセンター	特定准教授
	日下部 徹	京都大学大学院医学研究科メディカルイノベーションセンター	特定准教授
	青谷 大介	京都大学大学院医学研究科メディカルイノベーションセンター	特定助教
	澤本 伸克	京都大学大学院医学研究科附属脳機能総合研究センター	講師
	福山 秀直	京都大学大学院医学研究科附属脳機能総合研究センター	教授

**研究要旨** ヒトの食欲は視床下部や延髄孤束核などの摂食の恒常性中枢だけでなく、報酬系や大脳皮質を含む高次脳機能によっても制御されていると考えられており、中枢性摂食異常症においてはこの高次の摂食制御、もしくは、末梢、恒常性中枢と高次摂食中枢との機能連関に異常をきたしているのではないかと考えることができる。ヒトにおいて、高次脳領域の活動と食欲との関係、末梢の栄養状態を中枢神経系に伝達する機能を有するレプチンや GLP-1 等のホルモンによる高次脳領域の活動制御の可能性を明らかにする目的で、機能的磁気共鳴画像法 (functional MRI : fMRI) による脳神経活動の測定を行った。①レプチン欠乏により過食を呈する脂肪委縮症患者 10 名と健常者 10 名の比較を行い、空腹時食欲スコア・fMRI シグナルに差は無いが健常者では食後に認められる食欲スコアの低下、fMRI シグナルの減少が患者では障害されていること、②レプチン補償療法によりこの障害が解除されることを示した。③2 型糖尿病に対する GLP-1 (リラグルチド) 治療が食後の満腹感を増強し、報酬・情動関連領域の脳神経活動を抑制することを示した。さらに、④インスリン分泌不全と抵抗性を併せ持つ 2 型糖尿病モデルマウスにレプチンと GLP-1 を共投与することにより、それぞれ単独よりも強力な摂食抑制がもたらされることを示した。

**研究目的**

ヒトの食欲・摂食は、①視床下部や延髄孤束核などからなる恒常性中枢 (homeostatic center)、②腹側被蓋や側坐核等からなる報酬系中枢 (hedonic center)、③大脳辺縁系・新皮質等の機能による情動・認知依存性の中枢 (emotional, external and restrained eating center) から構成される。中枢性摂食異常症では、大脳辺縁系・新皮質における高次の摂食調節機能の障害や、恒常性中枢と高次中枢との機能連関の障害がとりわけ重要であるが、げっ歯類を用いた研究ではこれらの実体に必ずしも充分迫れているとは言えない。

一方、近年のエネルギー代謝研究の進歩により、脂肪細胞や消化管から分泌されて恒常性中枢だけでなく報酬系中枢の機能をも調節するホルモンが多数同定されつつある。脂肪細胞に由来するレプチン、主に下部小腸で産生されるグルカゴン用ペプチド-1

(GLP-1) はいずれも食欲を抑制するホルモンであり、ヒトにおいても食欲抑制効果が実証されている。

そこで本研究では、①ヒト症例に対する末梢組織由来摂食調節ホルモンの投与が、中枢神経活動に及ぼす影響の機能的核磁気共鳴画像法 (functional MRI : fMRI) による解析、②ホルモンの作用機序に迫るためのマウスを用いた研究、の双方を実施した。これにより、恒常性中枢と報酬系中枢、さらには辺縁系や新皮質等の高次の中枢の間の機能的連関をヒトにおいて明らかにし、中枢性摂食異常症における高次中枢の機能破綻、脳内機能連関の破綻のメカニズムを解明するための基盤的情報の収集を目指した。

## 研究方法

1. レプチンによるヒト中枢神経活動変化の解析  
血中レプチン濃度の減少により過食をきたすと考えられる脂肪萎縮症患者 10 名、年齢と男女比を適合させた非肥満非糖尿病健常者 10 名に対し、空腹時および食後の食欲スコアのデータと fMRI を用いた ROI 解析（視床下部、眼窩前頭前野、扁桃体、海馬、島、側坐核、尾状核、被殻、淡蒼球）のデータを採取、その後レプチン補償療法を実施し、データの変化を解析した。
2. GLP-1 によるヒト中枢神経活動変化の解析  
60 歳女性の 2 型糖尿病患者に対し GLP-1（Liraglutide）による治療を開始し前後における食欲スコアの評価と fMRI による解析を行った。
3. レプチンと GLP-1 の相互作用に関する解析  
マウスに対し高脂肪食（HFD）負荷と低用量ストレプトゾトシン（STZ）投与を併用することでインスリン抵抗性とインスリン分泌障害を併せ持つ 2 型糖尿病モデル動物が誘導できることを以前報告した（Kusakabe T et al. Diabetologia, 2009）。この STZ/HFD モデルではコントロールマウスと比較して約 30%の摂取カロリーの増大を認め、また同用量の STZ マウスと比しても摂食量が有意に多いことから、過食のモデルと考えることができる。そこで本研究では、このモデルにレプチン（0.5mg/kg/day）と GLP-1（Exenatide）（20  $\mu$ g/kg/day）を浸透圧ミニポンプにより 14 日間、皮下にそれぞれ単独ないしは併用持続投与し、摂食量、呼気ガス濃度、体重の推移を検討した。

（倫理面への配慮）

ヒトを対象とした fMRI の検討については、京都大学医学研究科・医学部および医学部附属病院医の倫理委員会の承認の下、十分な説明に基づく患者本人からのインフォームドコンセントが得られた症例を対象に実施した。

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. 健常者群と患者群の食欲スコアには空腹時では差を認めなかったが食後には患者群で食欲スコアが有意に高かった。この患者群で亢進を認めた食欲スコアはレプチン治療により低下を認めた。食欲刺激に対する神経活動は、空腹時の左尾状核における応答がレプチンにより抑制された一方、食後の左扁桃体、左島、両側尾状核、左被殻での応答がレプチンで抑制された。
2. GLP-1 投与により食後の食欲スコアの低下が認められた。神経活動については、全脳解析では GLP-1 により食後の中心前回、中心後回などでの活動の増強と帯状回などでの抑制を認め、ROI 解析では全般に抑制が認められた。
3. レプチン、GLP-1 はいずれも単独で明らかな摂食抑制作用、体重減少作用（投与開始後 5 日目までは GLP-1 の方がレプチンよりも体重減少作用が顕著であったがそれ以降は同等であった）を示した。さらに両者の併用は相加的な摂食抑制作用・体重減少作用を示し、実に 14 日間の投与で STZ/HFD マウスの体重を約 3.5g も低下させた。VO<sub>2</sub> はレプチン投与群で高い傾向が認められたが差は有意ではなく、呼吸商は併用投与群においてのみ有意に減少したことから脂質利用の亢進が示唆された。

## 考察

ヒトの摂食活動は、恒常性維持のための食欲（視床下部・延髄孤束核）、食物の報酬的価値の追求としての食欲（腹側被蓋、側坐核）、情動や知覚刺激に基づく食欲（大脳辺縁系、大脳新皮質）などが重層的に寄与して規定される。本研究では食欲スコア（VAS: visual analog scale）と fMRI による food 画像に対する脳神経活動評価により、げっ歯類を中心とした研究から詳細が明らかとなりつつある恒常性食欲中枢の活動を超越したヒトの食欲の総合的評価法としての fMRI の有用性を実証した。さらに、ホルモンによる摂食関連脳領域の活動性変化とホルモンの相互作用について fMRI によるヒトでの解析とげっ歯類における検討を行い、中枢性摂食調節の内分泌性制御機構の一端を明らかにした。

## 結論

本研究では、中枢性摂食異常症で特に障害されると考えられる、高次の食欲調節中枢の神経活動について、末梢組織のエネルギー過剰や枯渇情報を脳に伝達するホルモンに対する応答性の観点から解析を行った。本研究により、ヒトにおける客観的食欲評価法としての fMRI の意義が示された。さらには食欲調節ホルモン間の中枢神経系内におけるクロストークの可能性をマウスの個体レベルにおいて明らかにし、これらが視床下部等、恒常性中枢だけではなく、大脳辺縁系や新皮質などのより高次の脳神経活動をも統合的に制御することでヒトの食欲を調節している可能性を明らかにした。

## 研究発表

### 論文発表

1. S. Masuda, T. Tanaka, H. Masuzaki, K. Nakao, S. Taguchi. Overexpression of leptin reduces the ratio of glycolytic to oxidative enzymatic activities without changing muscle fiber types in mouse skeletal muscle. **Biol. Pharm. Bull.** 37:169-173, 2014.
2. N. Yamada-Goto, G. Katsuura, K. Ebihara, M. Inuzuka, Y. Ochi, Y. Yamashita, T. Kusakabe, A. Yasoda, N. Satoh-Asahara, H. Ariyasu, K. Hosoda, K. Nakao. Intracerebroventricular administration of C-type natriuretic peptide suppresses food intake via activation of the melanocortin system in mice. **Diabetes.** 62:1500-1504, 2013
3. M. Aizawa-Abe, K. Ebihara, C. Ebihara, T. Mashimo, A. Takizawa, T. Tomita, T. Kusakabe, Y. Yamamoto, D. Aotani, S. Yamamoto-Kataoka, T. Sakai, K. Hosoda, T. Serikawa, K. Nakao. Generation of leptin-deficient Lepmkyo/Lepmkyo rats and identification of leptin-responsive genes in the liver. **Physiol Genomics** 45:786-793, 2013
4. M. Noguchi, K. Hosoda, M. Nakane, E. Mori, K. Nakao, D. Taura, Y. Yamamoto, T. Kusakabe, M. Sone, H. Sakurai, J. Fujikura, K. Ebihara, K. Nakao. In vitro characterization and engraftment of adipocytes derived from human induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells. **Stem Cells Dev.** 22:2895-2905, 2013

5. M. Ida, M. Hirata, S. Odori, E. Mori, E. Kondo, J. Fujikura, T. Kusakabe, K. Ebihara, K. Hosoda, K. Nakao. Early changes of abdominal adiposity detected with weekly dual bioelectrical impedance analysis during calorie restriction. **Obesity** (Silver Spring). 21:E350-353, 2013

### 学会発表

1. Toru Kusakabe, Ken Ebihara, Kiminori Hosoda, Kazuwa Nakao : 「Leptin replacement therapy for various types of lipodystrophy」 第18回アディポサイエンスシンポジウム 2013年8月 大阪
2. 酒井建、日下部徹、海老原健、青谷大介、片岡祥子、海老原千尋、阿部恵、藤倉純二、細田公則、中尾一和 : 「レプチンによる膵臓内脂肪蓄積の減少とインクレチン作用の増強」 第34回日本肥満学会 2013年10月 東京

## 知的財産権の出願・登録状況

なし