

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

誘導された褐色脂肪細胞様組織でのFABP3の役割

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
中村 祐樹 久留米大学分子生命科学研究所遺伝情報研究部門

要旨 近年、褐色脂肪細胞以外に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。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その役割は未だ明らかでない。そこで本研究では、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を行うこととした。その結果、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。しかし、初代培養細胞を用いた実験ではこれらの脂肪酸酸化関連蛋白質の遺伝子発現は $\beta 3$ アドレナリン受容体アゴニスト、cAMP 増強剤投与により上昇しなかった。このことから、Beige 細胞における脂肪酸酸化関連蛋白質の遺伝子発現は UCP1 とは異なる機序によって制御されている可能性、培養細胞作成過程で細胞の性質が変化した可能性などが考えられた。中枢からの自律神経制御により、末梢の白色脂肪組織における熱産生、脂肪酸酸化がどのように制御されているのかを解明することは、中枢性食欲不振症における低体温の病態解明、治療開発に応用されることが期待される。

研究目的

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1つとして、低体温が知られているがその原因は明らかでない。

我々はこれまで、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できると期待し、検討を行ってきた。結果、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では絶食時に見られる体温低下が認められないことなど、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きた。また、グレリンにより中枢からの交感神経系を介した刺激が抑制されることや、褐色脂肪組織への交感神経刺激が抑制されることが体温低下の一因であることを明らかにした。

近年、褐色脂肪細胞以外に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。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その役割は未だ明らかでない。そこで本研究では、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を行うこととした。

研究方法

1) 寒冷時、 $\beta 3$ アゴニスト投与時の白色脂肪組織における遺伝子、蛋白発現変動の解析

8週齢の野生型C56BL6Jマウスを使用し、5日間の寒冷刺激（4℃）を行った群もしくは $\beta 3$ アゴニスト投与（CL:CL316, 243, 1mg/kg）を行った群と同週齢のコントロール群とを比較し、腰部皮下脂肪組織における遺伝子発現、蛋白発現を解析した。遺伝子発現解析はリアルタイム定量PCRを用いて行い、蛋白質発現解析にはウェスタンブロット法、ELISA法を使用した。

2) 脂肪組織中の成熟脂肪細胞の分離

8週齢の野生型C56BL6Jマウスを使用し、5日間の寒

冷刺激 (4°C) を行った群もしくはβ3アゴニスト投与 (CL, 1mg/kg) を行った群と同週齢のコントロール群とを比較した。腰部皮下脂肪組織を採取し、コラゲナーゼ処理後、遠心、洗浄により成熟脂肪細胞群 (adipo) と間質血管細胞群 (SV) とを分離し、それぞれの遺伝子発現、蛋白発現を解析した。遺伝子発現解析はリアルタイム定量PCR法を用い、蛋白質発現解析にはウェスタンブロット法、ELISA法を使用した。

3) 初代培養細胞の作製方法

8週齢の野生型C56BL6Jマウスの腰部皮下脂肪組織から、コラゲナーゼ処置、遠心によりを分離した脂肪前駆細胞を用い初代培養を行った。分化誘導のためIBMX,Dexamethasoneを2日間添加し、脂肪細胞へと分化を誘導。その後、維持培地にて8日間培養した成熟脂肪細胞を用い実験を行った。

4) 初代培養細胞における遺伝子発現変動の解析

4週齢の野生型C56BL6Jマウス腰部皮下脂肪組織から作製した初代培養細胞を用い、β3アゴニスト (CL316, 243)、cAMP増強剤 (IBMX, Forskolin, Bt2cAMP) 投与を行った。コントロールと比較し試薬投与6時間後の脂肪酸酸化関連蛋白質の遺伝子発現の解析を行った。遺伝子発現解析にはリアルタイム定量PCRを使用した。

(倫理面への配慮)

動物実験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際は、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) 寒冷時、β3アゴニスト投与時の白色脂肪組織における遺伝子、蛋白発現変動の解析

まず、腰部皮下脂肪組織における熱産生蛋白質UCP1発現の検討を行った。その結果、寒冷刺激群、β3アゴニスト投与ともにコントロール群と比較し、UCP1mRNAの発現が顕著に増加していた (図1)。次に褐色脂肪細胞において熱産生へのエネルギー供給に大きく寄与していると考えられている脂肪酸酸化関連蛋白質 (FABP3, ACSS1, ACSL5, CPT1b, ACADL, ACADM, ACADS, ACAA2) のmRNA発現を検討した。結果、寒冷刺激群、β3アゴニスト投与ともにコントロ

ール群と比較し、これら脂肪酸酸化関連蛋白質のmRNA発現が顕著に増加していた (図2, 3)。FABPは脂肪細胞以外での発現も報告されている。脂肪組織は脂肪細胞以外に血管やマクロファージといった間質血管細胞群 (SV) により構成されている。そこでFABP3が成熟脂肪細胞群 (adipo) とSVのどちらの細胞群に主に発現しているかどうか検討するため、adipoとSVとを分離しFABP3発現の検討を行った。結果、成熟脂肪細胞においてFABP3が顕著に増加していることを確認した (図2)。以上の結果から、C56BL6Jマウスの腰部皮下脂肪組織における脂肪細胞では、寒冷刺激、β3アゴニスト投与により熱産生蛋白質であるUCP1や脂肪酸酸化に関連する蛋白質の遺伝子発現が顕著に増加していることが明らかとなった。

2) 初代培養細胞における遺伝子発現変動の解析

4週齢の野生型C56BL6Jマウス腰部皮下脂肪組織から作製した初代培養細胞を用い実験を行った。まず、β3アゴニスト (CL:CL316, 243)、cAMP増強剤 (Forskolin) 投与によるUCP1発現動態の検討を行った。結果、CL、Forskolin投与群では、コントロール群と比較し、投与後6時間においてUCP1mRNA発現は顕著に増加していた (図4)。この結果から、今回作製した初代培養細胞は、マウスの腰部白色脂肪組織におけるBeige細胞の反応を反映していると考え、次に脂肪酸酸化関連蛋白質 (FABP3, ACSS1, ACSL5, CPT1b, ACADL, ACADM, ACADS, ACAA2) のmRNA発現の検討を行った。結果、CL、Forskolin投与群では、コントロール群と比較し、投与後6時間においてこれら脂肪酸酸化関連蛋白質mRNA発現の増加は認められなかった (図5, 6)。

考察

今回の検討では、in vivoにおける結果と初代培養細胞を用いた実験では異なる結果が観察された。原因は不明であるがいくつかの原因が推定される。第一に、Beige細胞における脂肪酸酸化関連蛋白質の遺伝子発現はUCP1とは異なる機序によって制御されている可能性である。予備的な検討では、脂肪酸、糖濃度変化、インスリン、レプチン添加では脂肪酸酸化関連蛋白質の遺伝子発現は変化せず、現在のこれらの遺伝子発現を上昇させ因子は同定できていない。

次にUCP1発現細胞と、脂肪酸酸化関連蛋白質発現細胞とが異なる可能性が考えられる。今後は脂肪組織中の脂肪前駆細胞、幹細胞における影響を検討する必要がある。最後に、培養細胞作成過程で細胞の性質が変化した可能性が考えられる。今回の実験結果から、初代培養細胞における結果が必ずしもvivoの結果を反映していない可能性が示唆され、今後も初代培養細胞の結果を解釈する際には、in vivoにおける作用と比較し十分に検討する必要があると考えられる。

本研究の成果は、中枢性食欲不振症における低体温の病態解明、治療開発に応用されることが期待される。

結論

本研究では、中枢性食欲不振症において認められる低体温の病態生理解明、治療法開発のため、末梢脂肪組織における熱産生蛋白質UCP1の発現や脂肪酸化代謝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、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。

しかし、初代培養細胞を用いた実験ではこれらの脂肪酸酸化関連蛋白質の遺伝子発現はβ3アドレナリン受容体アゴニスト、cAMP増強剤投与により上昇しなかった。このことから、Beige細胞における脂肪酸酸化関連蛋白質の遺伝子発現はUCP1とは異なる機序によって制御されている可能性、培養細胞作成過程で細胞の性質が変化した可能性などが考えられた。

中枢からの自律神経制御により、末梢の白色脂肪組織における熱産生、脂肪酸酸化がどのように制御されているのかを解明することは、中枢性食欲不振症における低体温の病態解明、治療開発に応用されることが期待される。

研究発表

論文発表

1. Nakamura Y, Sato T, Shiimura Y, Miura Y, Kojima M. FABP3 and brown adipocyte-characteristic mitochondrial fatty acid oxidation enzymes are induced in beige cells in

a different pathway from UCP1. *Biochem Biophys Res Commun* 2013 441 (1) 42-46.

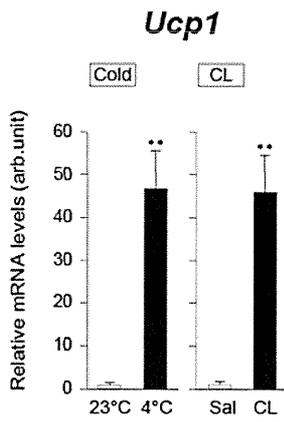
学会発表

1. 中村祐樹、佐藤貴弘、三浦芳樹、椎村祐樹、大楠英子、佐野浩子 児島将康:寒冷刺激時、皮下脂肪における脂肪酸酸化関連分子の変動について:第31回内分泌代謝学サマーセミナー2013.7.11-13 湯布院

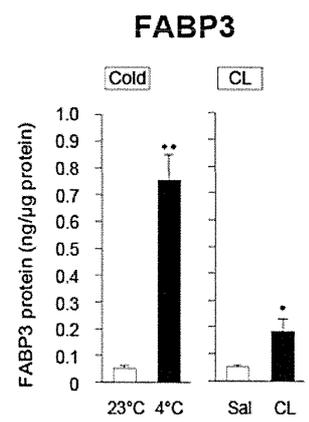
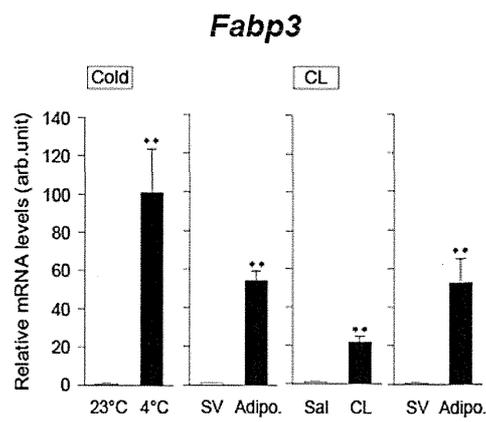
知的財産権の出願・登録状況

なし

☒ 1

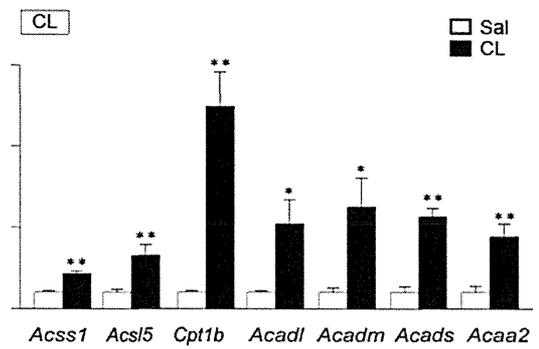
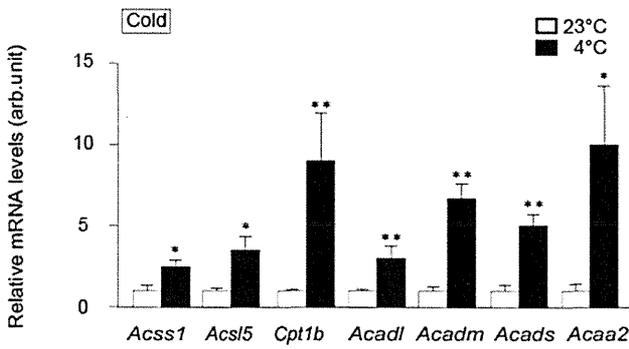


☒ 2

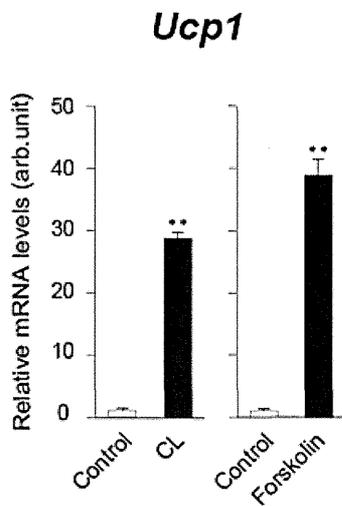


☒ 3

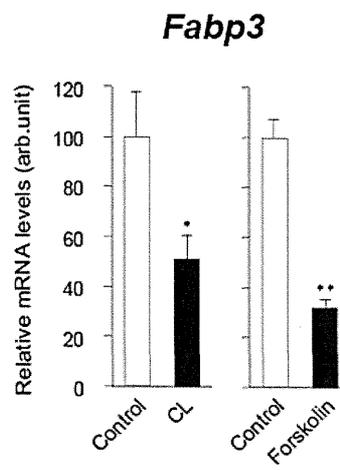
Mitochondrial FAO enzymes



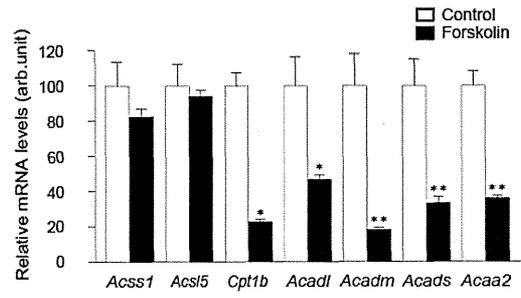
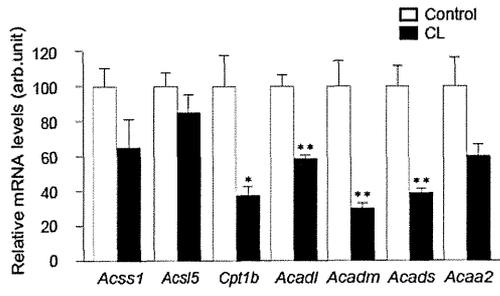
☒ 4



☒ 5



Mitochondrial FAO enzymes



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

飢餓を伴う中枢性摂食異常症病態生理モデル動物の検討

分担研究者 正木 孝幸 大分大学医学部内分泌代謝・膠原病・腎臓内科
千葉 政一 大分大学医学部内分泌代謝・膠原病・腎臓内科
野口 仁志 医療法人財団野口記念会野口病院内科

研究要旨 我々はこれまでに、飢餓条件で活性化される神経ヒスタミン（HA）が、視床下部で飢餓による体温低下を抑制し、扁桃体で情動反応を伴う強い食行動抑制反応に深く関与すること、前頭前野、背側海馬などの視床下部神経 HA と密に連携する神経核は飢餓時の食行動を調節性に制御することを報告してきた。今回我々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 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 慢性作動は有意にラット体重、食行動を抑制し、一般活動量と視床下部 NPY 蛋白発現量を増加させることが判明した。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し、飢餓への適応を促進性に制御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 活性が亢進する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を促進する。末梢性には、交感神経活動を活性化し、白色脂肪組織での脂肪分解促進作用、褐色脂肪組織（Brown adipose tissue: BAT）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、特に扁桃体の高次脳機能と視床下部神経ヒスタミンとの間に有意な機能連関が認められる。

平成 25 年度の研究では、飢餓などエネルギー欠乏情報処理における体温および食行動調節機構への神経ヒスタミンの関与および扁桃体へのヒスタミン慢性負荷による中枢性摂食異常症モデル動物の体重・行動変化および視床下部 NPY 発現量の変化について検討した。

研究方法

1. 12 時間絶食時の体重・血糖・体温・褐色脂肪組織 UCP1 蛋白発現量に及ぼす中枢性ヒスタミンの役割
c57bl6 雄性 10 週例マウスの側脳室に对照液／FMH（ヒスタミン合成酵素阻害剤）を急性投与した後に 12 時間絶食を負荷し、各群間の体重・血糖・体温・褐色脂肪組織 UCP1 蛋白発現量（ウェスタンブロット法）の変化について検討した。
2. 慢性留置カテーテルを介した無麻酔無拘束マウス側脳室への AMPK 活性急性操作による用量依存性の食行動変化
c57bl6 雄性 10 週例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部位より对照液／AICAR

(AMPK 活性化剤) または CC (AMPK 活性阻害剤) を急性投与しマウス食行動変化を解析した。

3. 慢性留置カテーテルを介した無麻酔無拘束マウス側脳室への AMPK 活性急性操作による用量依存性の視床下部ヒスタミン代謝回転変化

c57bl6 雄性 10 週例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部位より対照液/AICAR (AMPK 活性化剤) または CC (AMPK 活性阻害剤) を急性投与しマウス視床下部ヒスタミン代謝回転を HPLC を用いて解析した。

4. 慢性留置カテーテルを介した無麻酔無拘束マウス側脳室への AMPK 活性急性操作による用量依存性の食行動変化

c57bl6 雄性 10 週例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部位より対照液/AICAR (AMPK 活性化剤) を急性投与しマウス食行動変化を解析した。

5. 慢性留置カテーテルを介した無麻酔無拘束 H1 受容体欠損マウス側脳室への AICAR 急性投与による食行動変化

c57bl6 雄性 10 週例マウスおよび同種同性同週令 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部位より対照液/AICAR (AMPK 活性化剤) を急性投与しマウス食行動を解析した。

6. 慢性留置カテーテルを介した無麻酔無拘束ラット扁桃体へのヒスタミン慢性投与による食行動の変化

Wistar ラット扁桃体へヒスタミンを Alzet mini-osmic pump を用いて 1 週間慢性投与し、対照液投与群との間で体重変化を比較検討した。

7. 慢性留置カテーテルを介した無麻酔無拘束ラット扁桃体へのヒスタミン慢性投与による血清レプチン濃度および視床下部 NPY 蛋白発現量の変化

Wistar ラット扁桃体へ Alzet mini-osmic pump を用いてヒスタミンを 1 週間慢性投与し、血清レプチン濃度を ELISA 法を用いて、視床下部 NPY 蛋白発現量の変化をウェスタンブロット法を用いて、それぞれ対照液投与群との間で比較検討した。

(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

- 12 時間絶食負荷による顕著な体重減少は FMH 中枢性投与により有意に減弱した (図 1-1) が血糖降下反応には有意な影響を及ぼさなかった (図 1-2)。一方でマウスへの FMH 中枢性投与は 12 時間絶食負荷時の体温および褐色脂肪組織ウ CP 1 蛋白発現量を有意に低下させた (図 1-3) (図 1-4)。
- マウスへの AICAR 中枢性投与 (AMPK 活性化) は 3 時間食行動を有意に促進させ、CC の中枢性前投与 (AMPK 活性阻害) はこの反応を消失させた (図 2-1)。
- マウスへの AICAR 中枢性投与は視床下部ヒスタミン代謝回転を有意に促進させ、CC の中枢性前投与はこれを消失させた (図 2-2)。
- マウスへの AICAR 中枢性投与はマウス 3 時間食行動を用量依存性に有意に促進した (図 2-3)。
- マウスへの AICAR 中枢性投与はヒスタミン H1 受容体欠損マウス (HIKO) 3 時間食行動を有意に促進した (図 2-4)。
- 扁桃体にヒスタミンを 1 週間慢性投与したラットでは対照液投与ラットと比較して、体重および食行動に有意な抑制が認められた (図 3-1) (図 3-2)。この変化には一般活動量の有意な増加が共に観察された。
- 扁桃体にヒスタミンを 1 週間慢性投与したラットでは対照液投与ラットと比較して、血清レプチン濃度の有意な低下および視床下部 NPY 蛋白発現量の有意な増加がそれぞれ認められた (図 3-3) (図 3-4)。

考察

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、NYP 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。これまでの研究で、エネルギー欠乏情報で活性化された神経ヒスタミンが、前頭前野に作用して食行動選択を促進性に制御し、扁桃体に作用して恐怖の

情動反応を伴って食行動を強く抑制する一方で、ヒスタミン H1 受容体を介して体温産生を活性化させる機構を駆動することが既に判明した。本研究によって新たに、1) エネルギー欠乏時の体温産生にはヒスタミンが中枢性に作動し飢餓時の体温低下を抑制すること、2) 飢餓に伴う視床下部ヒスタミン活性化は中枢性 AMPK 活性が促進性に関与し、飢餓時の食行動を抑制的に制御すること、3) 中枢性ヒスタミンの扁桃体での役割はエネルギーバランスが異化に傾く状態でも、視床下部 NPY 蛋白増加による食行動促進反応に拮抗して食行動を抑制的に制御する事が判明した (図 4)。

結論

本研究により、飢餓で中枢性 AMPK を介して活性化された神経ヒスタミンが、H1 受容体を介して中枢性に褐色脂肪組織の UCP1 タンパク質を促進性に誘導し、飢餓による体温低下を抑制する一方、扁桃体では視床下部 NPY 誘導による食行動促進反応に拮抗して食行動を有意に抑制し、飢餓への生体の適応を更に促進させることが判明した (図 4)。特に、この扁桃体慢性ヒスタミン負荷は一般活動量の有意な増加を伴うことから、中枢性摂食異常症のモデル動物として有用である可能性が強く示唆された。

健康危険情報

なし

研究発表

論文発表

1. Mitsutomi K, Masaki T, Shimasaki T, Gotoh K, Chiba S, Kakuma T, Shibata H: Effects of a nonnutritive sweetener on body adiposity and energy metabolism in mice with diet-induced obesity. **Metabolism**;63:69-78, 2014.
2. Shimasaki T, Masaki T, Mitsutomi K, Ueno D, Gotoh K, Chiba S, Kakuma T, Yoshimatsu H: The dipeptidyl peptidase-4 inhibitor des-fluoro-sitagliptin regulates brown adipose tissue uncoupling protein levels in mice with diet-induced obesity. **PLoS ONE**;8: e63626, 2013.
3. Gotoh K, Masaki T, Chiba S, Ando H, Fujiwara K,

Shimasaki T, Mitsutomi K, Katsuragi I, Kakuma T, Sakata T, Yoshimatsu H: Brain-derived neurotrophic factor, corticotropin-releasing factor, and hypothalamic neuronal histamine interact to regulate feeding behavior. **Journal of neurochemistry**;125: 588-598, 2013.

4. Fukui A, Takahashi N, Nakada C, Masaki T, Kume O, Shinohara T, Teshima Y, Hara M, Saikawa T: Role of leptin signaling in the pathogenesis of angiotensin II-mediated atrial fibrosis and fibrillation. **Circulation Arrhythmia and electrophysiology**;6: 402-409, 2013.
5. Gotoh K, Inoue M, Masaki T, Chiba S, Shiraishi K, Shimasaki T, Matsuoka K, Ando H, Fujiwara K, Fukunaga N, Aoki K, Nawata T, Katsuragi I, Kakuma T, Seike M, Yoshimatsu H: Obesity-related chronic kidney disease is associated with spleen-derived IL-10. **Nephrology, dialysis, transplantation**;28: 1120-1130, 2013.
6. Gotoh K, Masaki T, Chiba S, Ando H, Fujiwara K, Shimasaki T, Mitsutomi K, Katsuragi I, Kakuma T, Sakata T, Yoshimatsu H: Hypothalamic brain-derived neurotrophic factor regulates glucagon secretion mediated by pancreatic efferent nerves. **Journal of neuroendocrinology**; 25:302-311, 2013.
7. Gotoh K, Masaki T, Chiba S, Ando H, Shimasaki T, Mitsutomi K, Fujiwara K, Katsuragi I, Kakuma T, Sakata T, Yoshimatsu H: Nesfatin-1, corticotropin-releasing hormone, thyrotropin-releasing hormone, and neuronal histamine interact in the hypothalamus to regulate feeding behavior. **Journal of neurochemistry**;124: 90-99, 2013.

学会発表

1. 千葉政一、魏会興、青佐泰志、重永雅美、北村裕和、伊奈啓輔、後藤孔郎、正木孝幸、加隈哲也、藤倉義久、柴田洋孝：「ヒト胸部大動脈周囲褐色脂肪組織の解剖学的・機能的特性」：第 109 回日本解剖学会 2014.3.27-29 栃木
2. 魏会興、千葉政一、青佐泰志、重永雅美、後藤孔郎、正木孝幸、加隈哲也、北村和裕、伊奈啓輔、

藤倉義久、柴田洋孝：「必須アミノ酸ヒスチジン
経口慢性摂取によりマウス肩甲骨間褐色脂肪組
織の UCP 蛋白量は増加する」：第 34 回日本肥満
学会 2013.10.11-12 東京

3. 青佐泰志、千葉政一、北村裕和、伊奈啓輔、魏 会
興、森脇千夏、後藤孔郎、正木孝幸、加隈哲也、
藤倉義久、柴田洋孝：「持続的な照明ストレスが
及ぼす生体応答と毛細血管構造の動態変化」：第
34 回日本肥満学会 2013.10.11-12 東京
4. 青佐泰志、千葉政一、魏会興、森脇千夏、北村和
裕、伊奈啓輔、後藤孔郎、正木孝幸、加隈哲也、
浜口和之、藤倉義久、柴田洋孝：「必須アミノ酸
ヒスチジンの経口慢性摂取による抗肥満糖尿病
効果」：第 56 回日本糖尿病学会 2013.5.16-18 熊
本

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

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

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
	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	
	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	
	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	
	土持 若葉	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野	

要旨 ヒトにおいて、摂食抑制ペプチドのGLP-1投与による食欲、循環器系、消化管ホルモンへの急性作用を検討した。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週間間隔にて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)を観察した。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、血中アドレナリン上昇を認めた。さらに糖尿病患者、健常者ともにインスリンの初期分泌増強を認め、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を認めた。GLP-1の急性投与では摂食行動に影響を及ぼさなかった。

研究目的

末梢からの消化管ホルモン投与に対する摂食調節作用には、血液脳関門の通過と末梢神経（迷走神経）からの求心路が主たる役割を呈する。昨年、我々はラットにおいて摂食亢進ペプチドのグレリンと摂食抑制ペプチドのGLP-1との相互作用を検討した。グレリンによる急性投与は、摂餌を増加させ、迷走神経求心線維の発火頻度を抑制した。一方、GLP-1の先行投与によりグレリンの摂餌増加作用と迷走神経求心線維の発火頻度の抑制は消失した。迷走神経の求心線維は摂食量を調節することが明らかとなり、今回、ヒトにおいて、食後のGLP-1急性投与による満腹感と空腹感の変化、血圧調節を含めた自律神経と消化管ホルモン変動を検討した。

研究方法

糖尿病患者と健常者（非糖尿病）に対して、テストミール（450kcal; 炭水化物 52%, タンパク質 15%, 脂質 33%）を摂取開始 20 分後に GLP-1 (7-36) amide 5µg/kg を皮下投与し、投与前、15,30,45,60,90,120,180 分後に以下の各項目について検査を施行した。同一対象者に対して、本試験 1 週間前にテストミール摂取後に生食の皮下投与を施行し、同一項目の検査を施行し、比較対照とした。

（倫理面への配慮）

本研究は宮崎大学倫理委員会（第 1074 号）で承諾を得た。

項目 1: テストミール摂取後の満腹感と空腹感の VAS (visual analogue scale) を経時的に観察した。

項目 2: 循環器系の検査として、経時的に血圧、脈拍、血中カテコールアミン、ヒト心房性 Na 利尿ペプチド (hANP)、脳性 Na 利尿ペプチド (BNP) 評価した。

項目 3. 消化管ホルモン関連検査として、経時的に血糖、インスリン、グルカゴン、活性型 GLP-1、活性型 GIP、グレリン、デスアシルグレリンを測定した。

測定方法: 既報の RIA 法として、血中ノルアドレナリン、アドレナリン、hANP、BNP、インスリンを測定し、EIA 法として、グルカゴン、活性型 GLP-1、活性型 GIP、グレリン、デスアシルグレリンを測定した。

解析方法: 同一対象者に対して、生食投与と GLP-1 投与間において、paired-T 検定を施行した。

対象者背景を表 1 に示す。

糖尿病患者

症例数 (男性)	年齢	HbA1c (NGSP,%)	BMI
10 (2)	62±6.7	7.3±1.4	25.2±4.4

健常者

症例数 (男性)	年齢	HbA1c (NGSP,%)	BMI
9 (2)	64±6.4	5.4±0.3	22.4±1.4

表 1: 対象者背景を示す。糖尿病患者の内服状況は、内服なし3名、メトホルミン 500-750mg/日7名。健常者(非糖尿病患者)の内服状況は内服なし5名、降圧剤内服4名、高脂血症薬1名。数値は mean±SEM を示す。

研究結果

1. 糖尿病患者、健常者ともに摂食後の GLP-1 投与による空腹感と満腹感の VAS 変化はなかった。(図 1)。

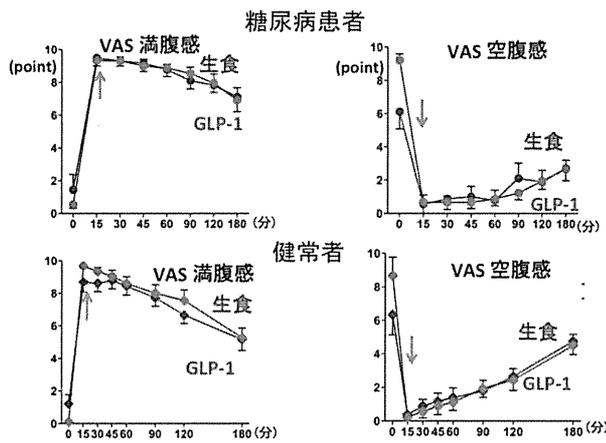


図1

図 1: 上段は糖尿病患者、下段は健常者の VAS 結果を示す。数値は mean±SEM を示す。↓は GLP-1 投与時を示す。

2. 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、拡張期血圧が上昇した。糖尿病患者でのみ 45 分後に血中アドレナリン上昇を認めた。一方、hANP、BNP においては経時的変化を認めなかった (図 2a,b,c)。

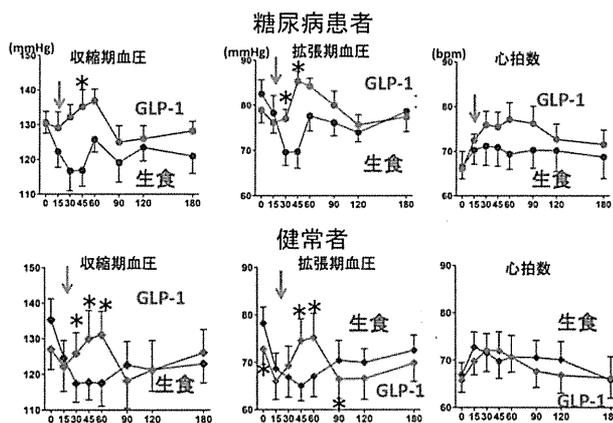


図2a

糖尿病患者

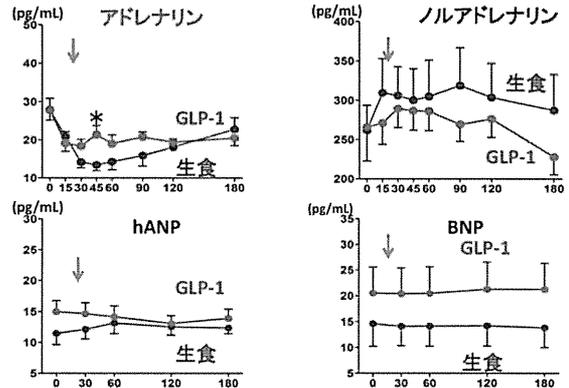


図2b

健常者

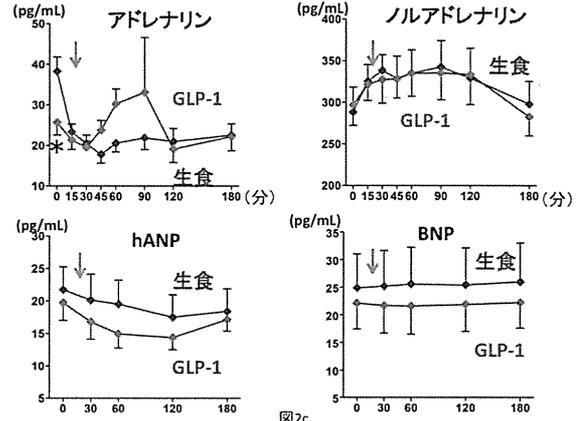


図2c

図 2a,b,c: 循環器系検査の結果を示す。赤印は GLP-1 投与、青印は生食投与を示す。*は p<0.05 を示す。

3. GLP-1 投与により糖尿病患者、健常者ともにインスリンの初期分泌増強を認めた。糖尿病患者、健常者ともに活性型 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を認めた。(図 3a,b)。

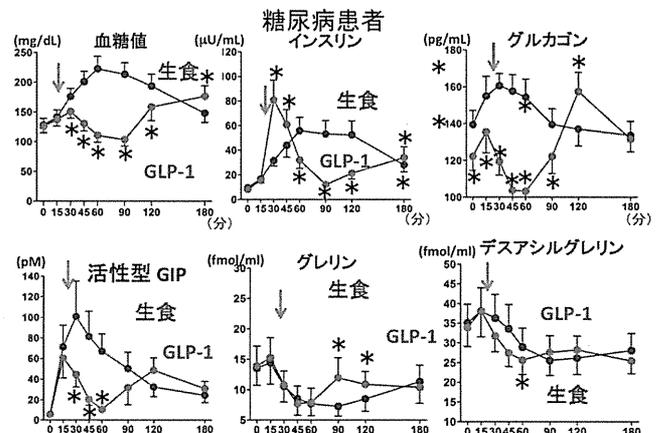


図3a

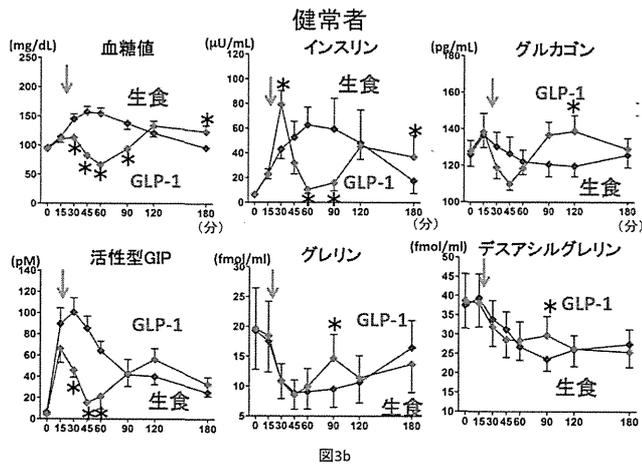


図3b

図 3a,b:消化管ホルモン変化を示す。

考察

GLP-1 アナログ製剤は、すでに多くの糖尿病患者に投与され、患者の摂食行動が抑制され体重減少を生じるが、今回の GLP-1 急性投与において、糖尿病患者と健常者ともに摂食後の空腹感と満腹感の VAS 変化はなかった。VAS による満腹感、空腹感の評価感度が低いことと、長期投与でしか摂食抑制を生じないことが示唆された。

ヒトにおいて GLP-1 投与は交感神経活性を亢進し、心拍数の増加を認めることが報告されている。本試験においても、食後にかかわらず GLP-1 投与により血圧上昇が確認された。心拍変動では心臓への副交感、交感神経への作用は証明されていないが、血中アドレナリン上昇を認め、副腎髄質への間接作用が示唆された。GLP-1 投与による血中活性型 GIP とグルカゴンの減少はそれぞれの産生細胞に対する直接作用と考えられるが、後期相におけるグレリンならびにデスアシルグレリンの上昇のメカニズムに関しては不明である。

結論

糖尿病患者と健常者ともに GLP-1 の急性投与では満腹感、空腹感に影響を及ぼさなかった。

研究発表

論文発表

1. 土持若葉, 上野浩晶, 中里雅光: グレリンによる神経求心作用. 血管医学 14: 17-21, 2013
2. 盛永裕太, 上野浩晶, 中里雅光: 肥満を伴う糖

尿病患者の管理の進めかた.

Medical Practice 30: 813-816, 2013

3. Ueno H, Mizuta M, Shiya T, Tshuchimochi W, Noma K, Nakashima N, Fujihara M, Nakazato M.: Exploratory trial of intranasal administration of glucagon-like peptide-1 in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, in press

学会発表

1. 柴田博絵, 盛永裕太, 山下英一郎, 土持若葉, 椎屋智美, 水田雅也, 上野浩晶, 中里雅光: リラグルチドの血糖改善作用と体重への影響について. 第 56 回日本糖尿病学会総会, 2013. 5.16, 熊本.
2. 柴田博絵, 上野浩晶, 石川枝美, 坪内千佳子, 清水浩一郎, 山下英一郎, 山口秀樹, 米川忠人, 中里雅光: GLP-1 製剤が著効した抗精神病薬内服中の肥満 2 型糖尿病患者の 2 例. 西日本肥満研究会, 2013.7.21, 沖縄.

知的財産権の出願・登録状況

なし

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

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
	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
	河野 直子	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
	今枝 美穂	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
	加藤 咲	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
	福田 奈菜	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	神戸女学院大学認知心理学研究室
	田中 聡	名古屋大学医学部附属病院精神科
	西岡 和郎	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
	飯高 哲也	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

研究要旨 神経性無食欲症（AN）は罹患率、死亡率ともに高く社会的に重大な疾患であるにもかかわらず、背景となる中枢神経系の高次機能ならびに構造の変化については未だ十分な知見は得られていない。そこで、本研究においては、近赤外線スペクトロスコピー（NIRS）および脳MRI構造画像を用いて成人AN患者の中枢神経系病態を探索した。NIRSを用いて、摂食障害（ED）群と健常被験者（CTL）群を対象として、測定された課題下前頭葉血流変化とEating Disorder Inventory-2との関係性を検討した。ED群ではCTL群に比べ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。この結果から、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。また、MRI構造画像のVBM解析により、ED群ではCTL群に比し、年齢による補正後に前頭前野、頭頂連合野、帯状回で、年齢およびBMIによる補正後に左側視床枕で体積低下を認めた。視床枕の構造異常に起因する視覚情報処理の障害が元来あり、やせによる連合野、帯状回の萎縮が引き起こす認知・実行機能や視空間認知の障害が加わり、EDの病態が形成されると考えられた。

研究目的

近年、我が国の若い女性はBMIが年々低下しているが、BMIが低くても自分をやせていると考えていない女性が多いことが報告されている（厚生労働省平成16年国民健康・栄養調査）。この一般女性が持つ「過剰なやせ願望」傾向と深く関わる摂食障害、特に神経性無食欲症（AN）は、女性における生涯罹患リスクが0.3-1.0%に及び、5.1/1000人年と他の精神疾患よりも高い死亡率を呈する社会的に重大な疾患である。

また、ANに伴うボディイメージの障害や病態の失認、やせ願望など、AN患者は治療の必要性を認識しないことも多く、治療導入には大きな配慮が必要である。しかしANの背景となる中枢神経系の高次機能な

らびに構造の変化については未だ十分な知見は得られていないが現状である。

以上を踏まえ、本研究では、成人AN患者の中枢神経系病態を探索する目的で、以下の二つの検討を実施した。1) 脳機能の検討のため、近赤外線スペクトロスコピー（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-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、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。2) 脳構造の検討のため、脳MRI画像を用いてvoxel-based morphometry（VBM）法により、全脳を対象として局所体積の差異の検討を行った。

研究方法

患者群は、構造化面接法である 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 AN 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。被験者は全員 Edinburgh 利き手調査にて 右利きであることを確認した。

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。

1-1. 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。

1-2. 質問紙・心理検査

i. 下記の質問紙を記入させた。

EDI-2 (摂食障害評価) 、Edinburgh 利き手調査

ii. 下記の心理検査を試験者が行った

患者群に SCID-I モジュール H 、健常対照群に SCID-NP、被験者全員に Stanford 眠気尺度、BDI

2. MRI

3T MRI T1 強調画像を全被験者から得た。VBM 法 (VBM8) により、患者群と対照群との大脳の局所体積の差異を検討した。解析は、VBM8 にて解析 (threshold 0.15 two sample t-test ; FWE ; $p < 0.05$) した。

(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、承認事項に則り、参加者全員から文書による説明と同意を

得て実施した。

研究結果

1. NIRS と質問紙・心理検査

- 1-1. ED 群は AN17 名、ED-NOS3 名 (3 名とも BMI < 14) であり神経性大食症は含まなかった。
- 1-2. ED 群は平均 BMI14.0 であり、これまでに行われた NIRS、fMRI、PET 等の研究と比較しても最も低かった。また、何度も入院を必要とした臨床、中核的な重症例が中心だった (表 1)。
- 1-3. ED 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)。

表 1. NIRS 解析の対象

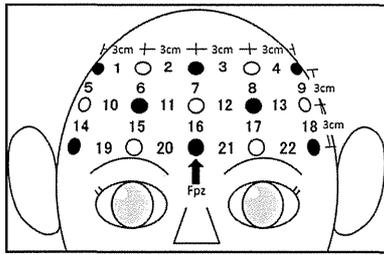
	AN [無茶食い排泄型:4 制限型:13 ED 特定不能: 3 (n = 20)]	CTL (n = 31)	P
年齢	28.7±7.5	29.2±7.8	0.824
教育年数	14.4±2.0	15.6±1.8	0.025
入院回数	3.6±4.8	N/A	N/A
累積入院日数	123.3±191.5	N/A	N/A
BMI (kg/m ²)	14.0±2.3	21.8±3.7	<0.001
言語流調整課題	15.5±5.2	12.6±3.5	0.024
対人不安定	11.3±4.3	4.9±3.2	<0.001

- 1-4. 質問紙検査では EDI-2 は全ての項目で患者群が有意に高得点であった (表 2)。

表 2. EDI-2 の結果

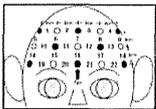
	ED (n = 20)	CTL (n = 31)	p	Cohen's d
Drive for thinness	9.0±5.7	3.7±4.0	< 0.001	1.09
Bulimia	5.7±6.5	1.1±1.7	0.006	1.06
Body dissatisfaction	13.8±5.3	8.9±6.5	0.007	0.81
Ineffectiveness	14.2±6.7	4.4±3.1	< 0.001	1.99
Perfectionism	5.8±3.8	1.1±1.7	< 0.001	1.72
Interpersonal distrust	8.3±4.6	3.4±2.9	< 0.001	1.31
Interceptive awareness	11.9±7.7	1.4±2.3	< 0.001	2.00
Maturity fears	10.4±5.0	3.5±2.8	< 0.001	1.78
Asceticism	7.6±5.3	3.6±2.2	0.008	1.05
Impulse regulation	10.3±7.5	1.3±2.3	< 0.001	1.74
Social insecurity	11.3±4.3	5.0±3.2	< 0.001	1.69

- 1-5. VF 課題中の NIRS にて患者群の両側前頭葉眼窩皮質 (OFC) (下図の 10,11,12,14,15,16,18,21,22) で有意に反応低下が見られた。



1-6. VF 課題中の NIRS にて患者群では両側 OFC の反応性と対人不安定に逆相関が BMI 補正後も見られ (表 3)、CTL 群では正の相関が見られた。

表3 : BMIを制御変数とした対人不安定得点と課題中Oxy-Hbの偏相関係数

	Ch20	Ch21	Ch22
偏相関係数	0.79	0.71	0.64
p	<0.01	<0.01	<0.01

2. MRI

年齢で補正して評価したところ、患者群で前頭前野、頭頂連合野、帯状回における体積低下が認められた。年齢および BMI にて補正を行ったところ、左側視床枕が体積低下した領域として同定された。

考察

これまでに、摂食障害群の NIRS では両側前頭葉眼窩皮質 (OFC) 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。一般に OFC は主観的評価に基づく意思決定や不測の事態における結果予測に関与していると言われており、OFC の機能が高い CTL 群は適応的に行動し対人不安定を生じず、OFC の機能がとりわけ低い ED 群では対人関係が不安定となるが自覚が乏しくなり、このことは病識の欠如と関連する可能性が示唆された。

MRI の結果からは、摂食障害において視覚情報の処理に関与する視床枕の障害が元来存在し、これにやせが加わることにより、認知・実行機能や視空間認知に関わる連合野および帯状回の障害が加わり、病態が形成されることが示唆された。

結論

本研究により、成人 AN では両側前頭葉眼窩皮質の

機能が低下しており、対人不安定との関連が考えられ、また視覚情報の処理の障害や視空間認知の異常が認められることが示唆された。

研究発表

論文発表

1. Shiino T, Koide T, Kushima I, Ikeda M, Kunimoto S, Nakamura Y, Yoshimi A, Aleksic B, Banno M, Kikuchi T, Kohmura K, Adachi Y, Kawano N, Okada T, Inada T, Ujike H, Iidaka T, Suzuki M, Iwata N, Ozaki N: Common variants in bcl9 gene and schizophrenia in a Japanese population: Association study, meta-analysis and cognitive function analysis. **J Med Biochem** 32 (4):351-357, 2013
2. Sasada K, Iwamoto K, Kawano N, Kohmura K, Yamamoto M, Aleksic B, Ebe K, Noda Y, Ozaki N: Effects of repeated dosing with mirtazapine, trazodone, or placebo on driving performance and cognitive function in healthy volunteers. **Hum Psychopharmacol** 28 (3):281-6, 2013
3. Kohmura K, Iwamoto K, Aleksic B, Sasada K, Kawano N, Katayama H, Noda Y, Noda A, Iidaka T, Ozaki N: Effects of sedative antidepressants on prefrontal cortex activity during verbal fluency task in healthy subjects: a near-infrared spectroscopy study. **Psychopharmacology (Berl)** 226 (1):75-81, 2013
4. Kawano N, Awata S, Ijuin M, Iwamoto K, Ozaki N: Necessity of normative data on the Japanese version of the Wechsler Memory Scale-Revised Logical Memory subtest for old-old people. **Geriatr Gerontol Int** 13 (3):726-30, 2013
5. Iwamoto K, Kawano N, Sasada K, Kohmura K, Yamamoto M, Ebe K, Noda Y, Ozaki N: Effects of low-dose mirtazapine on driving performance in healthy volunteers. **Hum Psychopharmacol** 28 (5):523-8, 2013
6. Aleksic B, Kushima I, Ohye T, Ikeda M, Kunimoto S, Nakamura Y, Yoshimi A, Koide T, Iritani S, Kurahashi H, Iwata N, Ozaki N: Definition and refinement of the 7q36.3 duplication region associated with schizophrenia. **Sci Rep** 3 2587, 2013
7. Aleksic B, Kushima I, Hashimoto R, Ohi K, Ikeda M,

Yoshimi A, Nakamura Y, Ito Y, Okochi T, Fukuo Y, Yasuda Y, Fukumoto M, Yamamori H, Ujike H, Suzuki M, Inada T, Takeda M, Kaibuchi K, Iwata N, Ozaki N: Analysis of the VAV3 as Candidate Gene for Schizophrenia: Evidences From Voxel-Based Morphometry and Mutation Screening. **Schizophr Bull** 39 (3):720-8, 2013

学会発表

1. Hiroto Katayama, Kunihiro Kohmura, Miho Imaeda, Satoshi Tanaka, Kazuo Nishioka, Naoko Kawano, Tetsuya Iidaka, Norio Ozaki : "Social insecurity associated with orbitofrontal function in eating disorder: A near-infrared spectroscopy (NIRS) study" : 11th World Congress of Biological Psychiatry (WFSBP), 2013
2. Kunihiro Kohmura, Hiroto Katayama, Satoshi Tanaka, Miho Imaeda, Naoko Kawano, Kazuo Nishioka, Branko Aleksic, Tetsuya Iidaka, Norio Ozaki : "Decrease of thalamic volume in anorexia nervosa: Voxel-based morphometric MRI study": 11th World Congress of Biological Psychiatry (WFSBP), 2013
3. 片山寛人、幸村州洋人、河野直子、矢野（松岡）円郁、今枝美穂、田中聡、西岡和郎、飯高哲也、尾崎紀夫 : 「近赤外線スペクトロスコピー (NIRS) を用いた神経性食思不振症の中樞神経機能障害探索」 : 第 25 回日本総合病院精神医学会総会, 2012

知的財産権の出願・登録状況

なし

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

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
	大和 田里奈	東京女子医科大学 女性生涯健康センター内科
	浦野 綾子	さいたま石心会病院 内科
	荒木 まり子	永井ひたちの森病院 内科

研究要旨 骨粗鬆症は神経性食欲不振症の主な合併症で、骨密度の回復は体重に相関する。慢性遷延化した低体重患者では骨密度の低下に対する薬物療法の確立が必要である。本症患者の約半数で、骨代謝に重要なビタミンDの不足と診断され、我々はすでに活性型ビタミンD3製剤であるアルファカルシドールの腰椎骨密度低下に対する阻止効果を報告している。今回、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 μ 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ーであるI尿中I型コラーゲン架橋N-テロペプチド（NTx）と骨形成マーカー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。

背景

骨粗鬆症は神経性食欲不振症の主な合併症で、かつ、後遺症である。低下した腰椎骨密度の回復は体重に相関し、低体重の慢性患者の骨密度はさらに低下する。日本人のビタミンD欠乏率は高く、本症でも約半数がビタミンD不足と診断され、我々は以前に、アルファカルシドールの腰椎骨密度の低下に対する阻止効果を報告している。新たな活性型ビタミンD3誘導体であるエルデカルシトールは既存の薬剤に比べて骨吸収と骨折抑制作用が高いので、本症に合併した骨粗鬆症に対する治療効果を検討し、薬物治療の一つとして確立したい。

目的

骨密度が低下し、ビタミンDが不足した神経性食欲不振症患者にエルデカルシトールを内服させ、骨代謝マーカーや骨マトリックスマーカーを測定し、1年後の腰椎骨密度の変化を前向きに検討した。

対象と方法

厚生労働省調査研究班の診断基準（1989年）を満たし、骨密度の低下を認める女性患者21名を対象とした。全員、無月経である。

骨代謝に影響を与える薬剤やサプリメントは使用していない。血中25hydroxy vitamin D（25OHVD）値が20mg/dl未満をVD不足と判断した。ビタミンD不足患者は12名で、病型は制限型4名とむちゃ食い/排出型8名で、年齢は31.2 \pm 4.3（Mean \pm SD）歳、発症年齢は19.7 \pm 1.4歳、病悩期間は11.6 \pm 4.2年、Body mass index（BMI）は14.2 \pm 0.9 kg/m²、標準体重の64.7 \pm 6.1%であった。ビタミンDが正常の9名の病型は制限型5名とむちゃ食い/排出型4名で、年齢は29.4 \pm 5.3歳、発症年齢は18.7 \pm 3.2歳、病悩期間は10.3 \pm 5.4年、BMIは12.6 \pm 1.3 kg/m²、標準体重の58.2 \pm 5.3%でビタミンD不足群と有意差を認めなかった。ビタミンD不足と正常群の腰椎骨密度とT-scoreはそれぞれ、0.68 \pm 0.09

g/cm²、 -3.1 ± 0.8 と 0.70 ± 0.11 g/cm²、 -2.9 ± 1.0 で有意差は認めず、骨粗鬆症と診断された。

ビタミンD正常患者を対照群として薬物投与は行わず、ビタミンD不足患者にはエルデカルシトール $0.75\mu\text{g}$ /日を内服させた(エルデカルシトール群)。エルデカルシトール群と対照群の患者はエントリー前、その後1か月、3か月、6か月、1年後に午前中の血液で骨型アルカリフォスファターゼ(BAP)、オステオカルシン(OC)、骨マトリックスマーカー、骨代謝に関わるホルモンを、起床後二番尿でI型コラーゲン架橋N-テロペプチド(NTx)を測定した。1年後に第2-4腰椎骨密度をDXA法で測定した。この臨床研究は東京女子医科大学倫理委員会の承認を得て行った。

結果

エントリー時の骨代謝マーカー、骨マトリックスマーカー、骨代謝に関わる生化学、および、内分泌データを表1に示した。骨形成マーカーのBAPは亢進しているが、成熟した骨芽細胞が生成するオステオカルシンは低下し、骨吸収マーカーである尿中NTxは亢進しており、低体重の本症患者の骨代謝と矛盾しない結果であった。ビタミンD欠乏群の血清intact PTH値は上昇し、対照群と統計学的有意差を認めた。これはビタミンD不足による変化と考えられた。エルデカルシトール群の血清低カルボキシ化オステオカルシン(ucOC)値が対照群より有意に上昇しており、ビタミンK不足と判断された。食物性ビタミンKの摂取を促した。

エルデカルシトール群では、1例が投与後1ヶ月目に血清カルシウム 11.7mg/dl の高カルシウム血症を併発し、投与を中止した。2例は内服のコンプライアンスが不良であり、解析から除外した。

エルデカルシトール内服1ヶ月目から骨吸収マーカーである尿中NTx値と骨形成マーカーである血清OCの低下傾向を認め、投与後6ヶ月目に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(図1)。

1年後の体重の変化は、対照群は $12.6\pm 1.3\text{kg/m}^2$ から $13.1\pm 1.5\text{kg/m}^2$ 、エルデカルシトール群は $14.2\pm 0.9\text{kg/m}^2$ から $14.4\pm 1.7\text{kg/m}^2$ で有意差はなかった。対照群の1年後の骨密度は $0.68\pm 0.09\text{mg/cm}^2$ でエントリー時と有

意差を認めなかったが、エルデカルシトール群は $0.73\pm 0.10\text{mg/cm}^2$ に増加し、エントリー時に比べて $9.0\pm 4.1\%$ 増加した。個々の患者の骨密度の変化を図2に示した。

考察

神経性食欲不振症に伴う骨密度の低下の予防と治療は、体重を増加させることである。著者らの検討では、BMIを $16.4\pm 0.3\text{kg/m}^2$ 以上に増加させれば、更なる骨密度の低下を阻止することができる。しかしながら、慢性患者では迅速な体重増加が困難である。そこで、骨密度の低下を最小限する治療が必要である。ビスフォスフォネートは骨軟化症などの副作用があるので20~30歳代の患者には使用しない。エストロゲンの補充療法は理想体重の70%以下の低体重患者でのみ骨密度の低下を阻止する。我々は活性型ビタミンD3、あるいはビタミンK2の投与は骨密度の増加作用は弱い、さらなる低下を有意に阻止できることを明らかにしている。しかし、骨密度を増加させる薬剤が望まれていた。

エルデカルシトールは活性型ビタミンD3誘導体で、既存の活性型ビタミンD3製剤に比べて骨吸収と骨折抑制作用が高いことが報告されている。アルファカルシドールを対照とした無作為二重盲検並行群間比較試験で、エルデカルシトール投与群がアルファカルシドール投与群に比べて、3年間の新規錐体骨折の発生頻度が統計学的に有意に低かった。

本症患者は一般に、薬によって体重を増加させられることを恐れて内服薬のコンプライアンスが悪いが、これらのビタミン剤に対しては抵抗が少ない。

副作用は既存の活性型ビタミンD3製剤と同様で、頻度も同程度と報告されている。本検討では、カルシウム製剤を併用しなかったが、1例に1ヶ月後に中等度以上の重症度の高カルシウム血症を併発し、脱水や食欲不振を呈した、使用後早期の血清カルシウムの検査は必須である。

結論

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、腰椎骨密度の低下の阻止ではなく増加作用を示した。

研究発表

論文発表

1. 鈴木（堀田）眞理：摂食障害の身体管理. 精神神経医学 42 : 537-545, 201.
2. 鈴木（堀田）眞理：摂食障害の身体的治療. 別冊・医学のあゆみ 62-67, 2013.
3. 鈴木（堀田）眞理、荒木まり子、浦野綾子、大和田里奈、市原淳弘：神経性食欲不振症患者への在宅中心静脈栄養法の導入の試み. 心身医学 53 : 841-847, 2013.
4. 鈴木（堀田）眞理、大和田里奈、浦野綾子、荒木まり子、市原淳弘：身体的視点からみた最近の動向. 心身医学 54 : 128-133, 2014.

学会発表

1. 鈴木（堀田）眞理、荒木まり子、浦野綾子、大和田里奈、市原淳弘：骨粗鬆症が主要な合併症である神経性食欲不振症患者における骨質マーカーの検討. 第 86 回日本内分泌学会学術総会 仙台, 2013.
2. 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ビタミンK摂取量と血清低カルボキシ化オステオカルシン (ucOC) の検討. 第 17 回日本摂食障害学会 神戸, 2013.

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

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 —

分担研究者	久保 千春	九州大学病院 病院長
	河合 啓介	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 神経性食欲不振症（Anorexia nervosa: AN）では、血中の必須脂肪酸は正常あるいは低下、飽和脂肪酸は、正常あるいは上昇するなど一定の結論が出ていない。本研究ではANの脂肪酸代謝の病態について詳細に検討するため、入院治療をおこなったAN患者39名（入院時Body mass index : BMI $12.93 \pm 1.83 \text{ kg/m}^2$ 、退院時BMI $15.86 \pm 1.82 \text{ kg/m}^2$ ）を食行動のパターンにより制限型（AN-R）とむちゃ食い排出型（AN-BP）に分類し、血漿中脂肪酸濃度（炭素数C:12～C:24）を入院時と入院3ヶ月時点で測定し、両群をそれぞれ健常コントロール群と比較した。

AN-R群とAN-BP群の入院時BMI、体脂肪量に有意差は見られなかった。AN-R群では入院時、極長鎖飽和脂肪酸を含むC（炭素数）:20～24までの脂肪酸濃度が上昇し、必須脂肪酸は正常範囲であった。AN-BP群では、C:14～24までの飽和脂肪酸の血中濃度の上昇と一部の必須脂肪酸の濃度の上昇が見られた。入院3か月後には、AN-R群AN-BP群とも、C:14～24までの広範囲にわたって脂肪酸濃度が上昇、 $\omega 3$ 系必須脂肪酸も上昇していた。

慢性の飢餓状態であるMarasmusなどの飢餓時に必須脂肪酸の代替として働く、5-8-11エイコサトリエン酸の上昇はAN-R、AN-BPともに見られなかった。両群とも、Marasmusと異なり必須脂肪酸濃度は保持されていた。野菜や大豆の選択的な摂取によるリノール酸や α -リノレン酸上昇の関与が推察された。AN-Rで認められた極長鎖脂肪酸の上昇は、ミエリンの安定化を介しての生体の脳機能維持に関与している可能性がある。AN-BPでは、過食嘔吐によって、短時間に糖質や脂質が吸収され、糖からの脂肪酸合成が亢進していることが示唆された。

研究目的

脂肪酸はエネルギー代謝に重要な役割を果たすだけでなく、ホルモンや細胞膜の材料にもなる。さらに、脳・神経組織や免疫の機能にも影響があることが知られている。大きく飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸に分けられる。不飽和脂肪酸の中には、体内で合成できない必須脂肪酸が含まれる。タンパク質、脂質、炭水化物が不足した状態であるMarasmusでは必須脂肪酸は低下する。一方、神経性食欲不振症（Anorexia nervosa: AN）では、血中の必須脂肪酸は低下、その他の不飽和脂肪酸や飽和脂肪酸は、正常あるいはむしろ上昇するなど一定の結論が出ていない。本研究ではANの脂肪酸代謝の病態について詳細に調査し、異常値の発生するメカニズムを検討した。

研究方法

対象：治療目的で九州大学病院に2011年以降に入院した女性のAN患者のうち入院期間が3ヶ月以上の患者39名（年齢 $29.5 \pm 9.3 \text{ yr}$ ）入院時Body mass index : BMI $12.93 \pm 1.83 \text{ kg/m}^2$ 、退院時BMI $15.86 \pm 1.82 \text{ kg/m}^2$ ）。全例に、AN患者への統合的入院治療である＜行動制限を用いた認知行動療法＞を行った。食事は30-40kcal/kg/dayより開始して、2週間ごとに200kcal/dayの増量を目安に治療した。いずれも経口摂取に加え、経鼻経管栄養を併用した。対照群は：健常女性15名（年齢 $25.75 \pm 5.1 \text{ yr}$ BMI $20.16 \pm 1.58 \text{ kg/m}^2$ ）。

方法：病型により制限型（Anorexia nervosa restricting type:AN-R）22名とむちゃ食い排出型（Anorexia nervosa binge eating/purging type:AN-BP）17名に分類。