

論文の内容の要旨

論文題目 神経性食欲不振症女性患者における
血漿アグーチ関連蛋白の治療反応性

指導教官 赤林 朗 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 16 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

森屋 淳子

神経性食欲不振症（AN）の臨床において、患者と共有できる客観的指標を定めることは、治療を円滑に進めていく上で重要である。しかしながら、現在治療評価として使われている指標は、主観的なものが多く、客観的指標の一つである体重も、浮腫や測定前の水分摂取などにより評価判定が難しいケースも多い。また、この体重増加そのものが、AN 患者にとっては治療効果として受容しにくいものであるという問題も存在している。一方、摂食行動や体重調節に関して、近年 leptin をはじめとして摂食やエネルギー代謝調節にかかわる物質が数多く同定されてきており、体重以外の客観的な指標として摂食調節ペプチドが注目されている。

中枢のメラノコルチン-4受容体（MC4R）は中枢における leptin の作用部位として注目されており、MC 関連ペプチドとしては、摂食促進作用を持つアグーチ関連蛋白（AGRP）や、摂食抑制作用を持つ α -メラニン凝集色素刺激ホルモン（ α -MSH）が知られている。AGRP は主に視床下部弓

状核より産生され、MC3 ならびに MC4R の agonist である α -MSH と競合して作用する antagonist であり、MC4R の inverse agonist としても作用する。視床下部の AGRP はげっ歯類において食事摂取ならびに体重を調節することが知られており、げっ歯類ならびにヒトの血漿中にも存在することが報告されている。げっ歯類では、絶食や leptin 欠乏により血漿 AGRP の発現が促進する。また、ヒトにおいても、絶食により血漿 AGRP 値が上昇し、食事摂取にて低下すること、leptin 末梢投与で絶食による AGRP 上昇作用が抑制されることが報告されており、血漿 AGRP と摂食調節との関連が示唆されている。

また、肥満者において血漿 AGRP 値、血漿 α -MSH 値が非肥満者に比して上昇することから、代謝疾患の病態との関連も考えられている。AN においても、AGRP 遺伝子の SNPs (G760A) が、AN と関連しているとの報告や、AN の最低 BMI、重症度と関連しているとの報告もあり、AGRP が AN の病因に関連している可能性も示唆される。しかしながら、今までに AN において、血漿 AGRP 値や血漿 α -MSH 値を評価した報告はない。

そのため、本研究では、摂食関連ペプチドが摂食障害治療における治療評価判定マーカーとして使用できる可能性の検討を行うことを目的とし、まず AN 女性患者と健常女性を対象に、MC 関連ペプチドが AN において変化しているかどうかを横断的に検討し、次に、横断研究の結果を受けて、末梢にて測定可能であり治療判定のマーカーとして有益であると予想される摂食関連ペプチドを、縦断的に測定し、治療効果との関連を検討することを目的とした。

[横断研究]

AN 患者 (18 名) (年齢、 23.5 ± 7.1 歳; body mass index (BMI) $14.2 \pm 1.8 \text{ kg/m}^2$)、健常者 (17 名)

(年齢、 25.8 ± 3.9 歳; BMI $20.2 \pm 1.6 \text{ kg/m}^2$)を対象として、早朝空腹時採血を行い、MC 受容体に関連したホルモンである AGRP、 α -MSH と leptin の血中濃度を ELISA 法を用いて測定した。その結果、AN 群では、Control 群に比べ、血漿 AGRP 値は有意に上昇 (148.0 ± 41.9 vs. $112.2 \pm 19.6 \text{ pg/ml}$, $p < 0.01$)しており、血漿 leptin 値は有意に低下 (13.5 ± 7.3 vs. $92.1 \pm 61.1 \text{ ng/ml}$, $p < 0.001$) していた (表1)。また、血漿 AGRP 値と血漿 leptin 値 ($r = -0.41$, $p < 0.01$)、血漿 AGRP 値と BMI ($r = -0.40$, $p < 0.05$)は全体において有意な負の相関が認められた。 α -MSH 値との間には各群間の有意差や他のペプチドとの相関は認められなかった。AN における血漿 AGRP 値上昇のメカニズムは不明であるが、AN の低栄養状態からくる血漿 leptin の欠乏と関連があると推測された。また、血漿 AGRP 値と血漿 leptin 値に負の相関が認められており、中枢性もしくは末梢性に互いに関連している可能性が示唆された。

[縦断研究]

横断研究により、血漿 AGRP 値は血漿 leptin 値とともに AN における栄養状態を反映している可能性が考えられた。そこで、縦断研究として、AN 入院患者 11 名 (制限型 9 名; むちゃ食い/排出型 2 名) (年齢 22.3 ± 7.1 歳)を対象に、早朝空腹時採血、Bioelectrical Impedance Analysis 法による体脂肪率測定、呼気ガス分析法による安静時エネルギー消費量 (REE) 測定を一週間ごとに行った。AGRP、leptin の血中濃度を ELISA 法にて測定し、体重含めた体組成、REE の変化の関連を解析した。入院日数は $48.5 \text{ 日} \pm 19.9 \text{ 日}$ (25 日~83 日)であり、治療の前後で、BMI (kg/m^2)は 14.1 ± 1.7 から 15.4 ± 1.7 へ有意に上昇した ($p < 0.01$)。体脂肪量 (FM) (kg)は 3.4 ± 3.6 から 4.2 ± 3.5 へ有意に上昇し ($p < 0.05$)、除脂肪量 (kg)は 32.2 ± 3.8 から 33.7 ± 3.3 へ有意に上昇した

($p < 0.05$)。また、血漿 AGRP 値 (pg/ml)は 173.6 ± 94.0 から 133.6 ± 67.1 へと有意に低下し ($p < 0.01$)、血漿 leptin 値 (ng/ml)は 0.76 ± 0.98 から 1.77 ± 2.56 へと有意に上昇した ($p < 0.01$) (表 2)。

一方、BMIと血漿 AGRP 値の変化には有意な負の関連 ($F(1,53) = 30.1, p < 0.001$)があり、BMIと血漿 leptin 値の変化には有意な正の関連 ($F(1,53) = 10.2, p = 0.002$)が認められた。

また、血漿 AGRP 値の変化と血漿 leptin 値の変化には有意な負の関連が認められた ($F(1,53) = 20.2, p < 0.001$)。また、治療の前後で、FM あたりの leptin の分泌量の指標 (leptin/FM 比)は有意差が認められなかった ($p = 0.72$) が、FM あたりの AGRP の分泌量の指標 (AGRP/FM 比)は 1048.4 ± 1971.5 から 229.7 ± 434.9 へと有意に低下した ($p < 0.01$) (表 2)。過去の研究でも、leptin/FM 比は AN 患者、肥満者、健常者で有意差が認められなかったとの報告があり、血漿 leptin 値は栄養状態によって変化するものの、脂肪組織からの leptin の分泌量は病態に関係なく一定である可能性が示唆される。

また、治療の前後で REE (kcal/day)は 825.1 ± 151.8 から 948.7 ± 168.5 へと有意に増加 ($p < 0.05$)した (表 2)が、REE の増加には血漿 AGRP 値の低下 ($F(1,32) = 7.1, p < 0.05$)ならびに血漿 leptin 値の上昇 ($F(1,32) = 10.8, p < 0.01$)が有意に関連していることが明らかとなった。また、AGRPとleptinはREEに対して独立して関連がある、すなわち AGRP は leptin の下流にある と考えられているが、leptin の影響を除外しても REE と関連があることが示された。このことより、血漿中の AGRP は leptin とは異なった機序で変化している可能性があると考えられた。

このことより、本研究における治療前後での REE の上昇の機序の一つとして、体重増加すなわち栄養状態の改善に伴って、摂食・エネルギー代謝調節因子の一つである AGRP ならびに leptin にフィードバックがかかり、血漿 AGRP 値が低下ならびに血漿 leptin 値が上昇し、その結果、自律

神経系、特に交感神経活動の亢進したことによる可能性が考えられた。

なお、本研究においては、AGRP の治療指標としての可能性や leptin や BMI との優劣を示すことはできなかった。しかしながら、leptin や BMI のみでなく AGRP を測定する意義として以下の二点を考えた。一つ目は、leptin が脂肪量を反映した指標と考えられるのに対し、AGRP はより総合的な栄養状態の指標となる可能性がある点である。すなわち、脳内の AGRP は leptin 以外にも膵臓から分泌される insulin や胃から分泌される ghrelin の影響も受けるため、血漿の AGRP 値が脳内の AGRP 値を反映している場合には、脂肪量以外にも血糖や消化管機能の状態も併せた総合的な栄養状態の指標となる可能性がある。二つ目は、leptin は摂食抑制作用があるのに対し、AGRP は摂食促進作用があるため、低栄養状態のため上昇していた食欲促進物質（AGRP）が治療によって低下していくことは、食欲抑制物質（leptin）が増加していくことよりも、AN 患者にフィードバックしやすく、また体重や体脂肪量の増加よりも受容しやすい指標となる可能性があることである。

横断研究ならびに縦断研究より、末梢の AGRP 値は AN において上昇しており、治療経過において BMI や leptin の変化とともに dynamic に変化していることを明らかにした。AN の客観的な治療指標としての可能性について検討するためには、今後、サンプル数を増やし、より長期間において調査を行うことにより、体重や体脂肪量以外の栄養状態の指標との関連や自律神経機能との関連、食行動や食欲との関連などを解析する必要があると考えた。

表 1: 横断研究結果

	AN (n = 18)	Control (n = 17)	p-value*
age (yrs)	23.5 ± 7.1	25.8 ± 3.9	0.143
BMI (kg/m ²)	14.5 ± 1.8	20.2 ± 1.6	< 0.001
FM (kg)	5.0 ± 2.9	14.9 ± 3.0	< 0.001
AGRP (pg/ml)	148.0 ± 41.9	112.2 ± 19.6	0.003
α-MSH (ng/ml)	1.09 ± 0.43	0.94 ± 0.34	0.306
leptin (ng/ml)	13.5 ± 7.3	92.1 ± 61.1	< 0.001

*By unpaired *t* test

Data are expressed as mean ± standard deviation

AN, anorexia nervosa; BMI, body mass index; FM, fat mass; AGRP, agouti-related protein; α-MSH, alpha-melanocyte stimulating hormone

表 2: 縦断研究結果

	AN 治療前 (n = 11)	AN 退院時 (n = 11)	p-value*
BMI (kg/m ²)	14.1 ± 1.7	15.4 ± 1.7	0.003
FM (kg)	3.4 ± 3.6	4.2 ± 3.5	0.010
AGRP (pg/ml)	173.6 ± 94.0	133.6 ± 67.1	0.008
leptin (ng/ml)	0.76 ± 0.98	1.77 ± 2.56	0.003
AGRP/BMI 比	11.5 ± 6.6	8.8 ± 4.6	0.008
AGRP/FM 比	1048.4 ± 1971.5	229.7 ± 434.9	0.003
leptin/BMI 比	0.05 ± 0.06	0.11 ± 0.16	0.003
leptin/FM 比	1.68 ± 3.25	1.03 ± 2.19	0.722
REE (kcal/day)	825.1 ± 151.8	948.7 ± 168.5	0.010

*By Wilcoxon's signed-ranks test

Data are expressed as mean ± standard deviation

AN, anorexia nervosa; BMI, body mass index; FM, fat mass; AGRP, agouti-related protein; REE, resting energy expenditure

