

論 文 要 旨

Obestatin, Acyl Ghrelin, and Des-acyl Ghrelin Responses to an Oral Glucose Tolerance Test in the Restricting Type of Anorexia Nervosa

〔神経性無食欲症（制限型）の患者におけるオベスタチン、アシルグレリン、デスアシルグレリンの経口糖負荷試験に対する反応〕

原田 敏郎

【序論および目的】

近年、グレリンと同じ遺伝子から産生されるオベスタチンという新しいペプチドが発見された。オベスタチンは摂食抑制作用、胃蠕動運動抑制作用など、グレリンとは反対の作用をもつと報告されている。今回、我々は神経性無食欲症（制限型）の患者において、オベスタチン、アシルグレリン、デスアシルグレリンを同時に測定した。

【材料および方法】

加療目的で当科に入院した神経性無食欲症（制限型）の患者10名、健康な女性10名に対し、書面によるインフォームド・コンセントを行い、同意が得られた方をそれぞれ患者群、コントロール群とした。被検者に対し、一晩の絶食後、経口糖負荷試験を施行し、負荷前、負荷後30、60、90、120分後に採血し、オベスタチン、アシルグレリン、デスアシルグレリンの反応を調査した。

【結 果】

血漿オベスタチン、デスアシルグレリン値に関しては、糖負荷前、負荷後共にコントロール群に比して患者群で有意に高く、また糖負荷後は両群共に有意に抑制された。血漿アシルグレリン値に関しては、負荷前、負荷後90、120分は患者群とコントロール群で有意差はなかったが、負荷後30、60分では患者群において有意に高かった。また、3つのホルモンのAUCの比較においては、いずれも患者群で有意に高かった。

【結論及び考察】

今回の研究で、神経性無食欲症（制限型）の患者において、血漿中のオベスタチン、アシルグレリン、デスアシルグレリン値が、経口糖負荷試験全体を通して健常群より有意に高く、糖負荷によって有意に分泌が抑制されるということがわかった。これらのホルモンのグループ間の差異は、オベスタチンにおいて最も統計的に有意であったことから、オベスタチンは神経性無食欲症（制限型）の患者において、栄養状態の急性及び慢性の変化を反映する指標となり得ることが示唆された。

論文審査の要旨

報告番号	総研第 54 号	学位申請者	原田 敏郎
審査委員	主査	佐野 輝	学位 博士 (医学)
	副査	堂地 勉	副査 宮田 篤郎
	副査	久保田 龍二	副査 浅川 明弘

Obestatin, Acyl Ghrelin, and Des-acyl Ghrelin Responses to an Oral Glucose Tolerance Test in the Restricting Type of Anorexia Nervosa

(神経性食欲不振症(制限型)の患者におけるオベスタチン、アシルグレリン、デスアシルグレリンの経口糖負荷試験に対する反応)

1999年に児島、寒川らによってヒトとラットの胃からグレリンが発見された。グレリンには、アシル化を受けたアシルグレリンとアシル化を受けない、もしくは脱アシル化されたデスアシルグレリンが存在し、アシルグレリンは食欲や消化管運動に対して促進作用を示すが、デスアシルグレリンは抑制作用を示すと報告されている。グレリンは食欲・体重調節の根幹に位置するペプチドとして注目されている。

神経性食欲不振症—制限型—(AN-R)の患者では様々な代謝の変化を認め、血漿グレリン値も高かったと報告されているが、アシルグレリン、デスアシルグレリンを個々に測定した報告は少ない。近年、同じグレリン遺伝子から産生されるオベスタチンという新しいペプチドが発見され、アシルグレリンとは反対に、摂食抑制作用、胃空腹期運動の抑制作用をもつと報告された。

そこで、学位申請者らはAN-R患者10名、健常女性コントロール群10名を対象に、経口糖負荷試験を行い、グレリン遺伝子から産生されるアシルグレリン、デスアシルグレリン、オベスタチンを同時に測定する研究を行った。

その結果、本研究では以下の知見が明らかにされた。

- 1) オベスタチンに関しては、空腹時、糖負荷後のいずれもコントロール群と比較して、AN-R群で有意に高かった。また、糖負荷後は両群共にオベスタチン分泌が抑制された。
- 2) デスアシルグレリンに関しても、空腹時、糖負荷後のいずれもコントロール群と比較して、AN-R群で有意に高かった。また、糖負荷後は両群共にデスアシルグレリン分泌が抑制された。
- 3) アシルグレリンに関しては、空腹時の値は両群で有意差を認めなかったが、糖負荷後30、60分値ではAN群において有意に高い結果であったことから、糖負荷によるアシルグレリン分泌の抑制が弱い事が示唆された。

AN-Rの患者においては、様々な代謝の変化が報告されているが、今回の研究でアシルグレリン、デスアシルグレリン、オベスタチンの血中レベルが高く、糖負荷によりいずれも分泌が抑制されることが明らかとなった。特にオベスタチンにおいては、健常群と比較して明らかに高い数値を認めており、AN-R患者の治療において栄養状態を把握する上で、有用なマーカーと成りうる事が示唆された。治療経過において、これらのペプチドがどのように推移していくか等、より詳細な検討が必要であるが、AN-R患者において3つのペプチドを同時に測定し、比較検討した初めての成績である。著しい低体重にも関わらず、食欲促進アシルグレリンの不十分な活性化と食欲抑制デスアシルグレリン、オベスタチンの不釣り合いな活性化が認められ、悪液質に共通したMixed signalの存在を裏付ける成績であった。AN-R患者における食行動異常の生物学的機序の一因をなすものと考えられ、今後アシルグレリンとデスアシルグレリン、オベスタチンの割合を合わせ評価することが重要と考えられた。よって本研究は、学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 54 号		学位申請者	原田 敏郎	
審査委員	主査	佐野 輝		学位	博士 (医学)
	副査	堂地 勉		副査	宮田 篤郎
	副査	久保田 龍二		副査	浅川 明弘

主査および副査の5名は、平成21年2月9日、学位申請者 原田敏郎 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) Anorexia Nervosa (AN)の日本語訳が神経性食欲不振症、神経性食思不振症、神経性無食欲症とあるのはなぜか？

(回答) 定義が変わってきているのではなく、訳語の問題ではないかと考える。

質問2) ANが日本で増加している理由は？

(回答) 物質的豊かさ、やせていることへの高い価値、メディアによるやせの宣伝といった文化社会的背景が関与していると考ええる。

質問3) アメリカ等ではANの増加が頭打ちになっているようだが、なぜか？

(回答) 欧米では増加傾向にあるとする報告と増加傾向はないとする報告があり、頭打ちといえるかは、必ずしも断定的ではない。

質問4) BaselineのオベスタチンはANで高かったが、これを測るだけでANの病状がわかるのか？OGTTをした方が良いのか？

(回答) オベスタチンのOGTTに対する反応は、健常コントロール群と比較して大きな差は認められなかったが、OGTTなど負荷後の分泌抑制の程度を合わせ評価する方が、より正確であると考ええる。

質問5) ANの病状の推移を見るのに、体重を毎日測定するよりは、グレリン、オベスタチンを測定する方がいいのか？

(回答) グレリン、オベスタチンの測定には採血が必要であり、侵襲的なため、体重は簡便な良い指標と考える。しかし、同じ体重でも栄養状態が異なる場合があり、その際にはグレリン、オベスタチン測定が有用な指標になると考える。

質問6) ラットの報告とオベスタチンの動態が異なるのはなぜか？種特異性があるのか？

(回答) 今回の研究では糖負荷後にグレリン、オベスタチンが低下したが、他にも食事負荷でヒトにおいて同様の結果が報告されている。また、最近、ラットにおいても絶食状態と自由摂食状態では、絶食状態の方がグレリン、オベスタチンが高かったという報告があり、Scienceの報告では、測定法や実験条件等の違いがあったのかもしれない。

質問7) AN入院患者の一人で、オベスタチンがどう推移したかを検討したことはあるか？

(回答) 現在検討中だが、数例の結果を見ると、入院時と比べて退院時はオベスタチンが低下していた。

質問8) 性差による反応性の違いは考えられるか？

(回答) 肥満の子供を対象とした研究報告では、OGITによるグレリン分泌抑制は性によって影響を受けたと報告されている。オベスタチンにおいても性差によって反応性が異なる可能性はあるかもしれない。

質問9) AN患者の罹病期間は？

(回答) 最短4ヶ月～最長5年6ヶ月で、他の症例は1～3年であった。

質問10) %変化での検討は？ANの方が変化率が大きいように思えるが？

(回答) オベスタチンでは、コントロール群が60分値の88.25%を最下点とし、その後上昇傾向を認めたのに対し、AN群では120分値の85.25%に向けて低下していく反応を認めた。変化率はAN群においてわずかに大きいといえるかもしれない。

質問 1 1) ANで上がるということだが、嘔吐は影響ないのか？

(回答) グレリンに関しては、当初は AN-R より AN-BP の方が高いと報告されたが、その後 AN-R と AN-BP では有意差はない、逆に AN-BP よりも AN-R の方が高いとする報告も認めており、嘔吐との関連は現時点では明らかではない。

質問 1 2) オベスタチンの臨床応用の可能性はどうか？

(回答) オベスタチンの摂食に関する作用は抑制的であるが軽度であり、摂食障害、特に過食症への応用は直ちには難しいと考える。ただ、アシルグレリンは AN-R 患者への臨床治験が開始されている。

質問 1 3) 生体内ではアシルグレリンがすぐに分解されてデスアシルグレリンになるのか？

(回答) 脱アシル化されるものと、はじめからアシル化を受けないものがあると考えられる。

質問 1 4) デスアシルグレリンが AN で高いという事だが、グレリンの総分泌が高いという事を反映しているということか？

(回答) グレリンの総分泌能はトータルグレリンとして測定している。デスアシルグレリンもグレリンの総分泌を反映する可能性もあるが、病態における修飾が臨床的に重要である。

質問 1 5) オベスタチンは同じ遺伝子からできるようだが、転写のレベルで別々になっていくのか？

(回答) プレプログレリンからグレリン、オベスタチンができるが、転写のレベルではなく翻訳のレベル、プロセッシングのレベルで多様性が生じると考えられている。

質問 1 6) 同じ前駆体からできているのであれば、オベスタチンが高いというのはそれを反映しているのか？それとも何か意味があって特別に調節されて高くなっていると考えた方が良いのか？

(回答) アシルグレリン、デスアシルグレリン、オベスタチンはその比、割合が重要であると考えられ、例えば肥満、悪液質で異なった分泌反応を示す。合成、分泌、代謝のプロセスで多様性が生じると考えられるが、詳細は不明である。

質問 1 7) Regulatory Peptides のラットの報告では、アシルグレリン、デスアシルグレリン、オベスタチンの作用と意義が推測されているが、AN の患者では、こういったグレリンファミリーとしてのバランスが障害をされていると考えて良いのか？

(回答) アシルグレリンが相対的に低く、一方デスアシルグレリン、オベスタチンが相対的に高く、障害を受けていると考える。

質問 1 8) 今回の研究以外で、関与した研究は？

(回答) AN におけるグレリンと PYY の研究(Nakahara et al., *J Psychiatr Res* 2006)、オランザピンによる高血糖の研究(Yasuhara et al., *Am J Psychiatry* 2007)、オベスタチンの研究(Nakahara et al., *Biol Psychiatry* 2008)、健康食品の研究、過敏性腸症候群の研究等に参加した。

質問 1 9) アシルグレリンを測定する際の INHCl は、強酸性にするとむしろエステルははずれやすいと思うが？むしろ除蛋白の意味でいれているのでは？

(回答) INHCl を検体の 1/10 量入れるが、その量では強酸性にはならない。アシル基の安定化のためだが、除蛋白による効果と考えられる。

質問 2 0) グレリンはアシル化によって活性が制御されているということだが、デスアシル化される方が制御を握っているのか、それともアシル化される方が制御のキーとなっているのか？

(回答) 最近、マウスの胃からグレリンのアシル化に関わる酵素 GOAT(Ghrelin O-Acyltransferase)が見つかり、アシル化が制御のキーになっている可能性が考えられる。

質問 2 1) オベスタチンとグレリンがプレプログレリンからできてるが、他の部分も活性ペプチドが切り出されている可能性は？

(回答) プレプログレリンがプログレリンになり、プログレリンからグレリンとオベスタチンができる。グレリンにはアミノ酸 27 個から成るものや、アシル化のタイプが異なるものがあるが、主な活性型は 28 個のアミノ酸から成り、オクタン酸によってアシル化されたグレリンであると報告されている。その他にも、フラグメントが血中に存在し、何らかの活性を持つ可能性も否定できないが、グレリン、オベスタチン以外の活性ペプチドの存在は否定的である。

質問 2 2) 対象となった AN 患者の comorbidity は？

(回答) 入院時にうつのエピソードは認めなかった。不安・緊張に関しては、肥満恐怖や高い強迫性は認めていた。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。