

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：207904 71

研究課題名(和文)

神経性食思不振症における消化管機能評価法の確立

研究課題名(英文)

Biomarker of gastrointestinal function in anorexia nervosa patients

研究代表者

瀧本 禎之 (TAKIMOTO YOSHIYUKI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00396699

研究成果の概要(和文)：

神経性食思不振症患者における、消化管機能を反映する血清バイオマーカーとして、血清diaminoxodase(DAO)活性の測定を行った。対象は、神経性食思不振症患者33名(制限型(AN-R)18名、過食/排出型(AN-BP)15名)、健常女性20名とした。血清DAO活性の測定方法は、Takagiらの提唱したsensitive colorimetric assay法に基づいて行われた。入院時ベースラインの血清DAO活性の値は、AN-R 11.5 ± 4.7 u/ml、AN-BP 11.3 ± 2.7 u/ml、健常者 12.8 ± 2.4 u/mlであり、AN-R、AN-BPにおいて、血清DAO活性の平均値は健常者と比較して低値であるものの、統計学上の有意差は認められなかった。入院前後の神経性食思不振症患者の血清DAOの変化を検討したところ、入院前の血清DAO活性が 11.7 ± 3.7 u/ml であるのに対して、入院後の血清DAO活性は 9.9 ± 3.2 u/ml と有意に低下している結果が得られた。栄養状態の改善に伴って、血清DAO活性が低下することから、血清DAO活性が再栄養状態を反映するバイオマーカーとして機能する可能性が確認された。

研究成果の概要(英文)：

Plasma diaminoxidase (DAO) activities as the biomarker of gastrointestinal function were investigated in anorexia nervosa (AN) patients. Subjects were 33 female AN patients (18 AN-R and 15 AN-BP patients) and 20 healthy women. Plasma DAO activities were measured using Takagi's sensitive colorimetric assay method. The baseline plasma DAO activities in AN-R, AN-BP and healthy women were 11.5 ± 4.7 , 11.3 ± 2.7 and 12.8 ± 2.4 u/ml, respectively. There were no significant difference in plasma DAO activities between AN patients and controls. On the other hand, the plasma DAO activity at the time of discharge were significantly more decreased than at the time of admission (admission 11.7 ± 3.7 u/ml, discharge 9.9 ± 3.2 u/ml). There may be possibility of plasma DAO activity as one of biomarkers reflecting refeeding in AN patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2009年度	300,000	90,000	390,000
2010年度	200,000	60,000	260,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 内科学一般(含心身医学)

キーワード：摂食障害，神経性食思不振症，消化管機能，diaminoxidase

1. 研究開始当初の背景

神経性食思不振症の若年女性における有病率は0.4-1%ともいわれており社会的問題となっている。神経性食思不振症では、低栄養に伴って様々な身体的合併症を呈し、死亡率も数%に及ぶと報告されている。低栄養に関しては、一般身体疾患の領域においても予後に関係することが指摘され、病院においても Nutritional Support Team が組織され包括的に栄養管理を行うことの重要性が認められている。NST の分野において、長期の低栄養状態に伴う問題の一つとして消化管機能の低下と translocation による重症感染症のリスクがあげられている。実際、神経性食思不振症の臨床場面において、患者が消化器症状を訴えることが多く見られる。また、栄養摂取にもかかわらず、それに見合った栄養状態の改善が見られないなど消化管機能の低下を示唆する現象もみられる。そこで、神経性食思不振症患者の消化管機能の評価することは臨床的に有意義であると考えられるが、直接的に評価する方法は現在のところ確立されていない。しかしながら、臨床病態栄養学の領域では、血清バイオマーカーである diamineoxidase (DAO) 活性を測定することによって、消化管機能特に腸管機能の評価できることが報告されていることから、DAO 活性が神経性食思不振症患者の消化管機能の評価指標になる可能性が考えられた。

一般に慢性疾患を治療する際には、患者の行動を変容していくことが必要になる。その際、例えば糖尿病患者においては、血糖やヘモグロビン A1c の値をフィードバックすることにより患者の治療動機付けを強化していく。神経性食思不振症患者の治療においては、その治療効果の判定に主に体重変化が用いられる。しかしながら、神経性食思不振症患者はその中核症状として体重増加に対する恐怖と拒否があるため、治療効果の現れである体重増加そのものは患者にとって否定的に受け取られることが多く、治療の動機維持が行いにくいという問題が生じる。神経性食思不振症患者は自分の身体状況に無関心ではなく、電解質異常や肝酵素上昇といったものには関心を払い、その改善には喜ぶ傾向が見られる。しかし、これらは実際の身体症状との関連は薄く、また急性の変化であることが多いため、長期わたって動機維持に用いることはできない。また、これまでに、神経性食思不振症におけるバイオマーカーとしては leptin や ghrelin に代表される末梢から中枢の摂食中枢へ作用する摂食関連ペプチドが検討されている。これらに関しては、栄養状態回復後には血清濃度が変化することが確認されているが、これら摂食関連ペプチ

ドは摂食に伴う栄養状態の改善を鋭敏に反映はしておらず、効果的なバイオマーカーとはなりにくいという限界が存在している。そのため、DAO 活性を利用した、消化管機能を含めた栄養状態の評価方法の確立が必要と考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、消化管機能と関係する血清バイオマーカーである DAO 活性を低栄養状態にある神経性食思不振症患者で測定し、さらに入院治療による栄養状態改善によりどのように変化するか、消化器症状との関連を検証することにより、DAO 活性が神経性食思不振症患者における消化管機能の指標となるかを明らかにすることを目的とした。

最終的には、DAO 活性を神経性食思不振症患者のバイオマーカーとして確立し、病態評価の指標として直接的に治療効果に結び付けることを目標としている。

3. 研究の方法

対象：東京大学医学部付属病院心療内科を受診した神経性食思不振症患者のうち過食や嘔吐行為を伴わない制限型患者 (AN-R) と過食や嘔吐を伴う患者 (AN-BP) の両群対象とした。健常者は年齢をマッチングさせた健常女性とした。

サンプリング：

神経性食思不振症患者については、入院前後にて採血を行った。入院期間中の食物摂取状況と体重増加量を合わせて評価した。

1. 入院後、1週間毎のエネルギー摂取状況と、体重の推移を記録する。
2. 入院時と退院時に、消化器症状を評価する質問紙 (GSRS)、EAT26 など摂食障害の度合い、摂食行動を把握する質問紙を記入してもらい、自覚症状の推移を評価する。
3. 入院時と退院時に採血を行い、分光光度計を用いた吸光度法によって diamineoxidase の測定を行い、その変化を評価する。
4. 入院時と退院時に間接カロメトリー (AE-300S, Minato) による呼気ガス分析法により基礎代謝量を測定し、変化を評価する。

DAO 測定方法：

Takagi らの提唱した sensitive colorimetric assay 法 (Takagi K et al. Sensitive colorimetric assay of serum diamine oxidase Clinica Chimica Acta 226:67-75. 1994) に従い、吸光度計を使用した測定を行った。また、測定結果を確認するために、ELISA 法による測定も併せて行った。

4. 研究成果

初年度は diamine oxidase (DAO) 活性の測定系の確立を目的に研究活動を行った。まず、測定に必要な機器(分光光度計、プレートリーダーなど)を購入し、測定のセットアップを行った。つづいて、1994年の Tkagi らが提唱した sensitive colorimetric assay 法に基づき、施設の機器に合う方法に変更を加えながら測定方法を検討した、結果、以下の手順による測定手法を決定した。

1. 試験管に、Cadaverine 溶液 1.5 ml 入れる。2. 37°C に保たれた恒温水槽の中で、5 分インキュベーションを行う。3. 試験管に、血清サンプル(または、DAO 標準溶液) 100 μ l を加えて、混ぜる。4. 37°C の恒温水槽で、正確に 30 分 インキュベーションを行う。4. 試験管に、さらに 発色溶液 1.5 ml を加えて、混ぜる。5. 37°C の恒温水槽で、60 分 インキュベーションを行う。6. 試験管に、停止液 50 μ l を加えて、混ぜる。668 nm で 吸光度を測定する。

この手順に基づいて、5 名の健常者を対象に血清中の DAO 活性を試験的に測定を行った。その結果は、中央値が 6.2 (3.2-7.6) unit/L であった。これまでの報告では、健常者の DAO 活性は 2.8-9.0 unit/L が正常範囲内と考えられるため、我々の測定系が十分に DAO 測定に耐えうるものである結果が得られた。

2 年目は、患者群のサンプル採取と、健常者のサンプル収集を中心に行った。2 年目には、治療のために入院中の、低栄養状態にある神経性食思不振症患者の血清サンプルを、15 名収集し、ベースライン比較用の健常者の血清サンプルを 10 名分収集した。3 年目も引き続きサンプル収集を行い、最終的に低栄養状態の神経性食思不振症患者 (AN) 33 名 (神経性食思不振症制限型 (AN-R) : 18 名、神経性食思不振症過食排出型 (AN-BP) : 15 名) と健常者 20 名のサンプルを収集することができた。これは、当初の研究計画で予定していた、患者群 20 名以上、健常者 20 名を満たすものであった。

患者群のベースラインの body mass index (BMI) は、AN-R 13.0 \pm 1.5 kg/m²、AN-BP 14.1 \pm 1.4 kg/m² であり、健常者の BMI は 20.9 \pm 1.2 kg/m² であった。患者群では、健常者群と比較して、有意に BMI が低値であり、今回測定対象とした神経性食思不振症患者は低栄養状態にあることが確認された。

3 年目は採取したサンプルに対して、Takagi らが提唱した sensitive colorimetric assay 法に基づき diamine oxidase (DAO) 活性の測定を行った。

結果は、入院時ベースラインの血清 DAO の値は、AN-R 11.5 \pm 4.7 u/ml、AN-BP 11.3 \pm 2.7 u/ml、健常者 12.8 \pm 2.4 u/ml であり、AN-R、AN-BP において、血清 DAO の平均値は健常者と比較して低値であるものの、統計学上の有意差は認められなかった。BMI 上は低栄養を認める一方で、ベースラインの DAO 活性が有意に低下していなかったことは、今回対象とした神経性食思不振症患者の低栄養状態が中等度のものが多かったため長期の絶食が伴っておらず、消化管機能がある程度保たれていたこと反映しているかもしれない。対照患者が BMI 10 kg/m² 前後の極度の低栄養状態にあった場合は、異なった結果を得た可能性があると考えられた。

ベースラインの DAO 活性に患者群と健常者群で有意差を認めなかった一方で、入院前後の神経性食思不振症患者の血清 DAO の変化を検討したところ、入院前の血清 DAO が 11.7 \pm 3.7 u/ml であるのに対して、入院後の血清 DAO は 9.9 \pm 3.2 u/ml と有意に低下している結果が得られた。入院前後の BMI は、栄養療法の治療によって入院前 12.5 \pm 1.4 kg/m²、入院後 13.7 \pm 1.2 kg/m² と増加していた。栄養状態が改善にともなって、消化管機能も改善し、小腸絨毛から産生される DAO 活性も上昇すると予想されるにも関わらず、今回の結果では、神経性食思不振症患者において腸管機能を反映する DAO 活性の値は、栄養状態の改善によって低下する結果を得た。神経性食思不振症患者において、栄養状態の改善に伴い DAO 活性が低下する原因は不明だが、少なくとも再栄養によって DAO 活性が低下することが確認されたこと、それが比較的短期間の変化を反映していることから、神経性食思不振症患者の再栄養の一つのバイオマーカーとして DAO 活性の利用可能性が示されたものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瀧本 禎之 (TAKIMOTO YOSHIYUKI)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：00396699

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：