

氏名	こが もんじ 古賀 文二		
学位の種類	博士（医学）		
報告番号	乙第1634号		
学位授与の日付	平成28年9月27日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当（論文博士）		
学位論文題目	Nutritional, muscular and metabolic characteristics in patients with neurofibromatosis type 1 (神経線維腫症1型患者の栄養、筋量、代謝における特異性についての検討)		
論文審査委員	(主査) 福岡大学	教授	柳瀬 敏彦
	(副査) 福岡大学	教授	松永 彰
	福岡大学	准教授	喜多 紗斗美

## 内容の要旨

【目的】以前に我々はNeurofibromatosis 1(NF1)は他の皮膚疾患患者より、Body mass index (BMI)が低い傾向があることを報告した<sup>1)</sup>。この結果は、NF1患者には肥満になりにくい特殊な機序が存在する可能性を示唆する。今回我々は、BMIと関連がある可能性のある各種血液検査項目について、NF1症例と同じ条件で設定した対照群を用い、後ろ向きに患者対照研究を行い、その特異性について検討する。

【対象と方法】対象は福岡大学病院と鳥取大学病院を受診した20歳以上のNF1患者で、皮膚良性腫瘍切除を目的とし術前に血液検査を施行された98例を抽出した。対照群は、当院を受診した非NF1患者で、同じく皮膚良性腫瘍切除を目的とし術前採血を施行した173例とした。対照群はNF1群と性別、年齢を一致させ無作為に抽出した。検討項目はBMI、術前の血液検査項目として測定された総コレステロール、中性脂肪(TG)、尿酸、クレアチンキナーゼ(CK)、クレアチニン(Cr)、総タンパク(TP)、アルブミン(Alb)、ヘモグロビン(Hb)、AST、ALT、LDHとし、得られた結果は統計学的に処理を行い評価した。2群(NF1群、非NF1群)の平均値の比較にはt-検定を用い、 $p<0.05$ をもって有意と判断した。更に有意差が見られた項目については、BMIとの相関をピアソンの積率相関係数を用いて検討し、significant probability  $P<0.05$ かつcorrelation coefficient( $r$ ) $>0.2$ は相関関係があると判断した。

【結果】以前に行った研究結果同様に、BMIは全体的にNF1群（中央値で男性21.7、女性21.1）では対照群（中央値で男性23.7、女性21.4）と比べ低く、男性においては有意差をもって低値であった（ $p=0.014$ ）。

測定した血液生化学項目の内、有意差がみられたのは、TG(男性のみ)、CK(男女ともに)、Cr(男性のみ)、AST(女性のみ)、ALT(女性のみ)、LDH(男女ともに)であり、これら全ての項目において、NF1群は対照群と比べて低値であった。さらにこれら6項目についてBMIとの相関をそれぞれ検定したところ、CKとCrについてはNF1群、対照群ともに相関はみられなかったが、TGとALTについては対照群でのみ相関がみられた。

【結論】NF1患者におけるBMIが低値となる原因について、栄養、代謝、筋量に関連のある血液生化学項目について検討を行った。結果、栄養に関連する項目は、TGを除き対照群と有意差はみられなかった。有意差のあった6項目の中でCr、CKは筋力、筋量を反映していると考えられ、過去にNF1患者は筋力および筋量が少ないという報告があり、この結果は矛盾しない。しかしながらCr、CKは、ピアソンの積率相関係数において、NF1群、対照群ともにBMIとの相関はみられず、一般的にBMIと筋量は相関関係がなく、NF1において筋量が少ないことは、BMIと関連しないと考えた。

TG、ALTについては、主に代謝を反映していると考えた。ともにNF1患者群においてはBMIとの相関は見られなかったが、一方で対照群では相関が見られた。TGはmetabolic syndrome (Mets)の指標となることが知られている。またALTについても、多くは脂肪肝により上昇するためMetsの指標となりうる。そのため一般的にBMIが高値となればTGもしくはALTも高値となり、対照群の結果は、この傾向に矛盾しない。しかしながらNF1患者では、この相関関係は成立しなかった。また全症例において、個々の症例のALTの値とBMIの値をプロットし二次元的に解析を行った。その結果、NF1患者群では対照群と比べBMI異常高値を示す症例数が少なく、また少数のBMI高値群においてもALTが上昇している症例がなかった。いわゆる外れ値を示す症例が対照群と比べほとんどなかった。本研究では、TGの測定が空腹時ではなく随時で行われていること、日本人のみを対象にしており人種間に差がある可能性があること、対象年齢が比較的若いことなどは偏り(Bias)になっているが、得られた結果から、NF1患者には抗炎症機序など何らかのanti-metabolic mechanismが存在する可能性は示唆された。

## 審査の結果の要旨

本論文は、神経皮膚症状群の1型である神経線維腫症1型(Neurofibromatosis 1: NF1)患者の病態を検討する目的で身体的および血液生化学的特徴について研究を行った。以前に著者らは、NF1患者は他の皮膚疾患患者と比べてBody Mass Index(BMI)が低いことを証明しているが、その理由については不明であった。そのためBMIと関連する可能性がある血液生化学項目(筋量、栄養、代謝)について後ろ向き患者対照研究を行った。測定した血液生化学項目の内、有意差がみられたのは、中性脂肪、クレアチンキナーゼ、クレアチニン、AST、ALT、LDHであり、これら全ての項目において、NF1群

は対照群と比べて低値であった。この理由の一部は、NF1患者には対照と比較して筋肉量が少ない可能性が考えられた。さらにこれらの項目についてBMIとの相関を統計学的に検討したところ、NF1患者では相関を示す項目はなかった。しかしながら、対照群ではBMIと正の相関を示された中性脂肪、ALTに関して、NF1群では相関を示さなかった。このことは、NF1患者にはこれらの項目を上昇させない特殊な機序がある可能性が示唆された。

### 1) 斬新さ

これまでNF1患者の身体的特徴、および筋量、栄養、代謝について血液生化学的データを用いた研究は検索する限りなく、初めての報告で、単純な観察に基づくが、極めて斬新な視点と言える。本論文の主たる目的はNF1患者のBMIに関連する病態の探究であるが、一方で以前よりNF1患者は筋量が少ない可能性が基礎実験から推測されており、そのことが血液生化学的に示唆される結果となった。BMIについては、結果的には正の相関を示す血液生化学データはなかったが、何らかの特殊な炎症に関わる機序が存在する可能性が観察結果より示唆された。

### 2) 重要性

NF1は、RAS/MAPK経路を抑制的に働きかける蛋白ニューロフィブロミン (neurofibromin) が十分に機能せず、同経路が亢進していることが分かっている。近年、他の神経皮膚症候群も病態解明が進み、同じRAS/MAPK経路の異常により引き起こされる疾患群はRASopathiesと一括して理解される。また2007年に新しく分類されたRASopathiesの1つであるSPRED1蛋白の機能喪失変異を示すLegius症候群では、多くのモデル動物で研究が行われている。これまでRAS/MAPK経路の亢進は腫瘍の増殖、維持に関わることが注目されていたが、この研究は新たにこの経路の亢進が、抗炎症作用や代謝にも関わる可能性をヒトにおいて始めて示した極めて重要な研究と言える。本研究結果は、将来的にこれらRASopathiesが腫瘍、免疫、代謝に関わる病態解明にも寄与できる可能性を示唆している。

### 3) 研究方法の正確性

2施設共同で98例という多くのNF1患者を対象とし、また対照群も年齢性別を一致させた173例を集積しており、比較的多数例を検討している。また本研究で対象とした血液生化学項目は、手術前にスクリーニング目的で施行された血液検査結果を用いており、疾病の評価目的の採血が含まれておらず、偏りが無く正確であったと考える。ただし中性脂肪については、食前に統一されていなかった。両群とも同じ条件ではあるが、信頼性が低い可能性があり、研究の限界で十分にその点については述べられている。群間の比較、BMIと生化学因子の相関の解析には適切な統計学的手法を選択しており、それによって客観的にNF1患者と対照との差について論述している。

#### 4) 表現の明確さ

本論文は、Impact Factorが2点以上（accept時）の雑誌に既に公表されており、研究背景、目的、方法、結果、考察を簡潔かつ明確に記載している。また研究の限界についても正確に明記されている。

#### 5) 主な質疑応答

この発表に対して、審査委員から主として次のような質問が示され、発表者より以下の様な回答があった。

Q:レジウス症候群での結果を示され、病態についてinnate lymphoid cell type 2の関与などの仮説を述べられたが、NF1ではモデルマウスを用いた同様の実験は行われていないのか。

A:まだNF1では、行われていない。

Q:BMIの低下は、SPRED1の欠損でみられるのか。NF1で体重が少なくなることも同じ機序だと考えているか。

A: SPRED1欠損マウスでは、野生型に比べて体重が低いことが分かっている。NF1でもRAS/ MAPK経路の亢進に伴うILC2の増殖、活性化に伴う変化であると考えている。

Q:得られた知見は将来的にどのように活かせるか。

A:今回の研究結果は、NF1の直接的な治療には結びつかないかも知れないが、NF1患者にanti-metabolicな機序が存在するとすれば、患者にとって良い情報の1つになるとは考えている。また今後は、NF1にanti-metabolicな機序が存在する追加実験として、metabolicの指標である血圧をみることや、また同じようにILC2が関与するIL5、IL13の上昇がないかを好酸球数を見ることでLegius症候群との相同性を確認していきたいと考えている。また将来的にはフローサイトを用いて、ILC2の定量なども行っていきたい。

Q:副論文はよく書けていると思うが、申請論文は結果に対する考察が曖昧な点がある。例えばBMIは、吸収障害など消化管の疾患があると影響を受けると思うがその点はどうか。

A:ご指摘の通り、BMIは多要因に影響を受けるので単一因子で考えることは難しいと考える。今回の論文では合併症については検討していなかったが、副論文では炎症性腸疾患などの合併が対照に比べて有意に多いと言うことはなかった。

Q:もしもNF1でanti-metabolismが確認されれば、neurofibrominを軽度抑制する薬剤などを用いれば一般にも有効と考えられるが、そのような薬剤はあるのか。

A:現段階ではない。

Q:NF1の予後はどうか。

A:悪性腫瘍が、非NF1と比較し3-5倍多く合併すると言われており、寿命は一般的に短い。

Q:NF1は、一定の頻度で褐色細胞腫を合併するが、合併するとカテコラミン産生が起こり、やせになる。どの程度、合併している患者はいたか。そのような患者は外しておいた方がよいと考える。

A:今回の対象では調べていないが、副論文では1-2名いたと思われる。

Q:NF2という疾患があるが、この疾患も同様にやせたりするのか。

A:以前はphenotypeでNF1~5と同じように分類されていたが、現在、NF2は遺伝子変異の部位ならびに機序が全く異なる別疾患であると考えられている。

Q:ニューロフィブロミンとSPRED1は、どのように働いているのか。例えば複合体を形成するなど。

A:おそらく知見はあるが、詳しくは知らない。

Q:やせには病的なやせと脂肪肝になりにくいやせがあるが、NF1では糖尿病など合併は少ないのか。

A:明確な疫学的根拠はないが、学会で同内容の発表をした時は、糖尿病がNF1患者には少ないと言う印象を持っているという同意は得られた。また副論文で検討した際は、糖尿病患者は1型で1名のみであり少ないと考えられる。

コメント：血清が残っていれば、レプチン、遊離脂肪酸などをみることで、NF1の特性が分かる可能性がある。またinbodyという機器で乗るだけで、腹囲なども測定可能なため今後の研究に有用かと考える。

以下の発表と質疑の後、主査および副査の審査結果より、発表および質疑に対する回答は適切であり、本論文は学位を授与するのに十分値する研究と判定された。