

学 位 論 文 題 名

妖精症 (Leprechaunism) における成長障害機構の
解析と IGF- 1 治療の基礎的、臨床的検討

学位論文内容の要旨

妖精症は、子宮内及び生後の発育不全、インスリン抵抗性糖尿病、皮下脂肪の減少、特徴的な妖精様顔貌を呈する疾患であり、インスリン抵抗性の成因としてインスリン受容体遺伝子などの異常が同定されている。近年本症の治療において遺伝子工学手法で作られたインスリン様成長因子-1(rhIGF-1)が使用できるようになったことから、それによる治療が試みられている。しかし、その治療効果は一様ではなく、本症における障害部位の異質性が示唆されている。それゆえ症例ごとにrhIGF-1治療効果を評価することは、IGF-1治療の有用性、さらにはインスリン/IGF-1の情報伝達機構の理解に示唆を与えることになる。本研究では、妖精症の一女兒例を対象として、患児の皮膚線維芽細胞を用いたIGF-1の生物学的作用の検討、IGF-1の生体内動態、IGF-1投与による糖代謝、成長に及ぼす短期的、長期的効果を検討し、さらには患児の成長障害機構についても検討を加えた。

対象と方法

対象は7歳4ヵ月の女兒で、インスリン受容体遺伝子異常が認められ、その異常は母由来のアリルに、エクソン4から6の間に1.3kBの欠失、父由来のアリルには87番目のアミノ酸がロイシンからプロリンに置換するミスセンス変異である。IGF-1の生物学的作用は、患児の上腕部皮膚から確立した皮膚線維芽細胞を用い、インスリン受容体結合能、IGF-1受容体結合能、IGF-1受容体 β -サブユニットの自己リン酸化能、IGF-1によるチミジンの取り込みを検討した。IGF-1の生体内動態及び治療効果は種々の濃度のrhIGF-1を単回及び持続皮下投与にて検討した。患児の成長障害機構の解析は、成長ホルモン分泌能、IGF-1産生能、IGFBP-3値、ALS値を検討した。

結果

- 1) 患児皮膚線維芽細胞におけるIGF-1受容体結合能、IGF-1受容体 β -サブユニットの自己リン酸化能、IGF-1によるチミジンの取り込みは正常であった。
- 2) IGF-1の生体内半減期は約90分と短かく、有効血中濃度を保つためにはIGF-1を

持続皮下投与と単回投与の組み合わせで1.6mg/kg/日を投与することが必要であった。

3) 糖代謝、成長に及ぼすIGF-1の治療効果には用量依存性が認められた。

4) IGF-1治療に伴う網膜症の発症、腎肥大を含めた臓器肥大などの副作用は6年に及ぶ長期投与にても認められなかった。

5) 成長障害機構の検討において、成長ホルモン分泌は正常に保たれていたが、IGF-1産生能の低下、IGFBP-3、ALSの低値が認められた。

考察

rhIGF-1が入手できるようになり、インスリン抵抗性糖尿病へのIGF-1治療が試みられている。しかし、報告されている治療効果は一様ではない。その原因として、低栄養状態、細胞レベルでの変異インスリン受容体によるdominant negative効果によるIGF-1抵抗性、結合蛋白であるIGFBP-3の低下などが示唆されている。今回の解析から、患児皮膚線維芽細胞におけるIGF-1受容体結合能、IGF-1受容体 β -サブユニットの自己リン酸化能、IGF-1による細胞増殖作用は正常であったことから、細胞レベルにおいては変異インスリン受容体の内因性IGF-1受容体に対するdominant negative効果は存在しないと考えられた。しかし、本患児において血中IGF-1濃度の低値、IGFBP-3の低値を認め、さらにIGF-1の生体内動態の検討から、患児生体内におけるIGF-1の半減期は非常に短かく、有効血中濃度を維持するには大量のIGF-1投与が必要であった。またIGF-1 generation試験にてもIGF-1、IGFBP-3の分泌は低値であった。これらの結果から、本症において、主に肝臓における成長ホルモン(GH)受容体及びGH受容体以降でのGH抵抗性が存在し、GH作用発現の一部にインスリンの作用が必要であることが示唆された。本疾患においてIGF-1の低値とともにIGFBP-3、ALSの低値があることから、遊離型IGF-1が増加し、尿中の排泄が増加しIGF-1の半減期が短くなったものと推察できる。さらにこのIGF-1欠乏状態が、子宮内および生後の成長障害をもたらしたと考えることができる。従って、治療効果を期待するためには、比較的大量にIGF-1を投与することで血中IGF-1濃度を正常範囲内に維持することが必要であった。IGF-1の糖代謝、成長に対する効果には用量依存性の関係も認められた。

IGF-1治療において問題になるのは、IGF-1の細胞増殖作用である。しかし、本症のような重症型インスリン抵抗性糖尿病においては、IGF-1欠乏状態にあり、IGF-1投与量が大量であっても、その血中濃度をモニターした限りでは生理的範囲を超えるものではなく、IGF-1治療は生理的補充療法と考えられた。事実6年間に及ぶ治療にて臓器肥大、網膜症などの副作用は認めていない。

以上、対象とした妖精症において、インスリン受容体の異常によるインスリン作用の欠如、さらにそれによるIGF-1欠乏状態および部分的なGH抵抗性が存在し、この二つが本症の臨床的特徴である糖代謝異常と成長障害に大きく関与していると考えられた。IGF-1治療は、インスリン受容体と細胞内シグナル伝達経路をある程度共有するIGF-1受容体を介し、インスリン様の糖代謝に対し効果をもたらすとともに、IGF-1欠乏状態を是正し、成長促進効果をもたらすことから有効かつ合理的な治療法と考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 林 邦 彦

副 査 教 授 小 池 隆 夫

副 査 教 授 藤 本 征 一 郎

学 位 論 文 題 名

妖精症 (Leprechaunism) における成長障害機構の 解析と IGF- 1 治療の基礎的, 臨床的検討

妖精症は, 子宮内及び生後の発育不全、インスリン抵抗性糖尿病、皮下脂肪の減少、特徴的な妖精様顔貌を呈する疾患で、インスリン受容体遺伝子などの異常が同定されている。近年本症の治療にリコンビナントのインスリン様成長因子-1(rhIGF-1)が使用できるようになったことから、それによる治療が試みられている。しかし、その治療効果は一様ではなく、本症における障害部位の異質性が示唆されている。それゆえ症例ごとにrhIGF-1治療効果を評価することは、IGF-1治療の有用性さらにはインスリン/IGF-1の情報伝達機構の理解に示唆を与えることになる。本研究では、妖精症の一女兒例を対象として、患児の皮膚繊維芽細胞を用いたIGF-1の生物学的作用の検討、IGF-1の生体内動態、IGF-1投与の糖代謝・成長に及ぼす短期的、長期的効果を検討し、さらには患児の成長障害機構について検討を加えた。【対象と方法】対象は7歳4カ月の女兒で、インスリン受容体遺伝子異常が認められ、その異常は母由来のアリルでは、エクソン4から6の間に1.3Kbpの欠失、父由来のアリルには87番目のアミノ酸のロイシンがプロリンに置換するミスセンス変異である。IGF-1の生物学的作用は、患児の上腕部皮膚から確立した皮膚繊維芽細胞を用い、インスリン受容体結合能、IGF-1受容体結合能、IGF-1受容体 β サブユニットの自己リン酸化能、rhIGF-1によるチミジンの取り込みを検討した。IGF-1の生体内動態及び治療効果は種々の濃度のrhIGF-1を単回及び持続皮下投与にて検討した。患児の成長障害機構の解析は、成長ホルモン分泌能、IGF-1産生能、IGF結合蛋白-3(IGFBP-3)値を検討した。【結果】1)患児皮膚繊維芽細胞におけるIGF-1受容体結合能、IGF-1受容体 β -サブユニットの自己リン酸化能、IGF-1によるチミジンの取り込みは正常であった。2)IGF-1の生体内半減期は約90分と短かく、有効血中濃度を保つためにはrhIGF-1を持続皮下投与と単回投与の組み合わせで1.6 mg/kg/日を投与することが必要であった。3)糖代謝と成長に及ぼすrhIGF-1の治療効果には用量依存性が認められた。4)IGF-1治療に伴う網膜症の発症、腎肥大を含めた臓器肥大などの副作用は6年に及ぶ長期投与にても認められなかった。5)成長障害機構の検討にお

いて、成長ホルモン分泌は正常に保たれていたが、IGF-1産生能の低下、IGFBP-3の低値が認められた。〔考察〕インスリン抵抗性糖尿病へのrhIGF-1の治療効果は症例により一様ではない。その原因として、低栄養状態、細胞レベルでの変異インスリン受容体によるIGF受容体へのdominant negative効果によるIGF-1抵抗性、結合蛋白であるIGFBP-3の低下などが示唆されている。今回の解析から、患児皮膚繊維芽細胞におけるIGF-1受容体結合能、IGF-1受容体 β -サブユニットの自己リン酸化能、IGF-1による細胞増殖作用は正常であったことから細胞レベルにおいては変異インスリン受容体の内因性IGF-1受容体に対するdominant negative効果は存在しないと考えられた。しかし、本患児では成長ホルモン(GH)の分泌が正常であるにも関わらず血中IGF-1濃度の低値、IGFBP-3の低値を認め、またIGF-1産生試験でもIGF-1、IGFBP-3の分泌は低値であった。以上から、本症では、主に肝臓におけるGH受容体及びGH受容体以降でのGH抵抗性が存在し、GH作用発現の一部においてインスリンの作用が必要であることが示唆された。さらにIGF-1の生体内動態の検討から、患児生体内におけるIGF-1の半減期は非常に短かく、有効血中濃度を維持するには大量のIGF-1投与を必要であった。本疾患においてIGF-1の低値とともにIGFBP-3の低値があることから、遊離型IGF-1が増加し、尿中の排泄が増加し、IGF-1の半減期が短くなったものと推察できる。さらにこのIGF-1欠乏状態が、子宮内および生後の成長障害をもたらしたと考えることができる。従って、治療効果を期待するためには比較的大量にIGF-1を投与することで血中IGF-1濃度を正常範囲内に維持することが必要であり、その効果は用量依存性と考えられる。IGF-1治療において問題になるのは、IGF-1の細胞増殖作用である。しかし、本症のようなIGF-1欠乏状態では、rhIGF-1投与量が大量であっても、その血中濃度は我々がモニターした限りでは生理的範囲を超えるものではなく、事実6年間に及ぶ治療にて臓器肥大、網膜症などの副作用は認めていない。

以上、対象とした妖精症において、インスリン受容体の異常によるインスリン作用の欠如、さらにそれによるIGF-1欠乏状態および部分的なGH抵抗性が存在し、この二つが本症の臨床的特徴である糖代謝異常と成長発育障害に大きく関与していると考えられた。rhIGF-I治療は、インスリン受容体と細胞内シグナル伝達経路をある程度共有するIGF-1受容体を介し、インスリン様の糖代謝に対し効果をもたらすとともに、IGF-1欠乏状態を是正し成長促進効果をもたらすことから有用かつ合理的な治療法と考えた。

公開発表に際し、副査の藤本教授から線維芽細胞培養に加えた牛胎児血清に含まれるIGF、IGFBPの結果への影響、女性患者における多毛や陰核肥大の機序、骨密度の検討の有無、rhIGF投与量の決定法、IGFBP-3の併用療法の効果、将来の生殖機能の問題点など、又副査の小池教授からGH抵抗性やIGF-1低値は一般的な現象か否か、IGF-1刺激でインスリン受容体とIGF受容体が共に磷酸化される機序について、長期的な点からの副作用について、また高HbA1cがあることから糖尿病性の併発症の有無について、主査の小林教授から高インスリン下でのin vivo試験の必要性について、ハイブリッド受容体の存在の検出法について、などの質問があった。申請者は何れに対してもほぼ妥当な回答をおこなった。

審査員一同は、本研究がインスリン受容体異常症の治療としてのrhIGF-1投与の妥当性を細胞レベル及び生体レベルで検討し、今後の本症における治療法に重要な示唆を与えた点を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。