

【文献】

1. Flear CTG, Gill GV : Hyponatremia : mechanisms and management. *Lancet* ii : 26-31, 1981.
2. 齊藤寿一：低ナトリウム血症の臨床、日本内科学会雑誌80: 1514-1520, 1991.
3. Kimura T, Yamamoto T, Ota K, et al: Central effects of Interleukin-1 on blood pressure, thermogenesis, and the release of vasopressin, ACTH, and atrial natriuretic peptide. *Ann NY Acad Sci* 689: 330-345, 1993.
4. Mastorakos G, Weber JS, Magiakou MA, et al: Hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation and stimulation of systemic vasopressin secretion by recombinant interleukin-6 in humans: potential implications for the syndrome of inappropriate vasopressin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 934-939, 1994.
5. Donald RA, Bailey RR, Hart D, et al: The plasma interleukin-6 and stress hormone responses to acute pyelonephritis. *J Endocrinol Invest* 17: 263-268, 1994.

SIADHモデルにおける水代謝異常の検討と生体の適応機構の解析

分担研究者 大機ユタカ (名古屋大学第一内科)

研究協力者 村瀬孝司 (同)

長崎 弘 (同)

【背景】

ADH分泌異常症 (SIADH) の患者では持続的なバズプレシン (AVP) の分泌亢進にも拘らず利尿が保持される AVP 不応現象 (AVP escape) が認められ、水貯留及び低 Na 血症の増悪に対し抑制的に寄与すると考えられるが、その詳細な機序は未だ明らかではない^{1, 2)}。我々は従来 AVP escape における水チャネルaquaporin - 2 (AQP2) の down - regulation の重要性を報告してきた^{3, 4)}。AQP2は腎尿細管において、AVPによりV2受容体 (V2R) を介して発現及び細胞内移動が増強される^{5, 6)}。そこで今回、我々は AVP escape における V2R の役割を明らかにするため、SIADH動物モデルを用いて AVP escape において V2R が down - regulationを受けるかどうかを検討した。

【方法】

雄性 Sprague - Dawley ラット (体重 300g) に、浸透圧ミニポンプを用いてAVP V2 agonist である dDAVP を持続皮下投与した (5ng/hr)。dDAVP投与開始4日後に、実験群に対し液体食投与により水負荷をした。対照群は固体食を続行した。断頭屠殺後、腎を摘出し髄質を得た。V2R 結合能の解析には¹²⁵I 標識 V2R antagonist である d (CH₂)₅[D - Ile², Ile⁴, Tyr - NH₂⁹] AVP ([¹²⁵I]-V2RA) を用いた。AQP2 蛋白の発現量はwestern blottingで、またV2R mRNA は northern blotting で解析した。

【結果】

高濃度の血中 dDAVP レベルにも拘らず水負荷群 (water - loaded) では水負荷2日後には対照群 (control) に比べ尿量の増大と尿浸透圧の低下が始まり、AVP escape の出現が認められた (Fig. 1A, B)。水負荷群の血漿 Na は水負荷1日後で既に113.5 mEq/l と著明に低下しており、2日後、3日後にはさらに低下していた。western blotting の結果、AVP escape が発症した水負荷2日後には対照群に比べ、AQP2蛋白発現の有意な減少が認められ、3日後にはさらに減少していた (Fig. 2)。V2R binding study の結果、無処置群に比べ dDAVP 投与により V2R 結合能は約30%低下し、水負荷によりさらなる減少が認められた。Scatchard plot 解析の結果、受容体数は減少していたが親和性に変化はみられなかった。経時的変化では、水負荷2日後には対照群に比べ水負荷群の V2R 結合能の有意な低下が認められ、3日後にはさらに減少していた (Fig. 3)。この時間的变化は AQP2 蛋白の減少と同様であった。northern blotting の結果、水負荷群では、AQP2 及び V2R 結合能の場合と同様に、水負荷2日後に、対照群に比べ、V2R mRNA 発現量の有意な減少が認められた

(Fig. 4)。

【考察】

今回我々は初めて SIADH ラットモデルにおいて腎髄質 V2R の down - regulation を明らかにした。この変化は AQP2 の down - regulation 及び AVP escape の発症と同様の時間経過で認められた。以上より、AVP escape の発症機序として V2R down - regulation の重要性が推察され、SIADHの体液貯留に対する生理的適応機構として機能している可能性が示唆された。また従来から高濃度 AVP により V2R の down - regulation が起きることは報告されているが⁷⁾、本実験で dDAVP 投与ラットにおいて水負荷によりさらなる V2R の減少が認められたことから V2R の発現調節機序として、体液量増加など AVP 以外の因子による down - regulation の可能性が指摘された。

【文献】

1. Davis JO, Howell DS, Hyatt RE: Effect of chronic pitressin administration on electrolyte excretion in normal dogs and in dogs with experimental ascites. *Endocrinology* 55: 409-416, 1954.
2. Verbalis JG, Drutarosky MD: Adaptation to chronic hyposmolality in rats. *Kidney Int* 34: 351-360, 1988.
3. Ecelbarger CA, Nielsen S, Olson BR, Murase T, Baker EA, Knepper MA, Verbalis JG: Role of renal aquaporins in escape from vasopressin - induced antidiuresis in rat. *J Clin Invest* 99: 1852-1863, 1997.
4. Murase T, Ecelbarger CA, Baker EA, Tian Y, Knepper MA, Verbalis JG: Kidney aquaporin - 2 expression during escape from antidiuresis is not related to plasma or tissue osmolality. *J Am Soc Nephrol* 10: 2067-2075, 1999.
5. Knepper MA, Inoue T: Regulation of aquaporin - 2 water channel trafficking by vasopressin. *Curr Opin Cell Biol* 9: 560-564, 1997.
6. Matsumura Y, Uchida S, Rai T, Sasaki S, Marumo F: Transcriptional regulation of aquaporin - 2 water channel gene by cAMP. *J Am Soc Nephrol* 8: 861-867, 1997.
7. Terashima Y, Kondo K, Mizuno Y, Iwasaki Y, Oiso Y: Influence of acute elevation of plasma AVP level on rat vasopressin V2 receptor and aquaporin - 2 mRNA expression. *J Mol Endocrinol* 20: 281-285, 1998.

Fig. 1 Urine volume and osmolality after water-loading

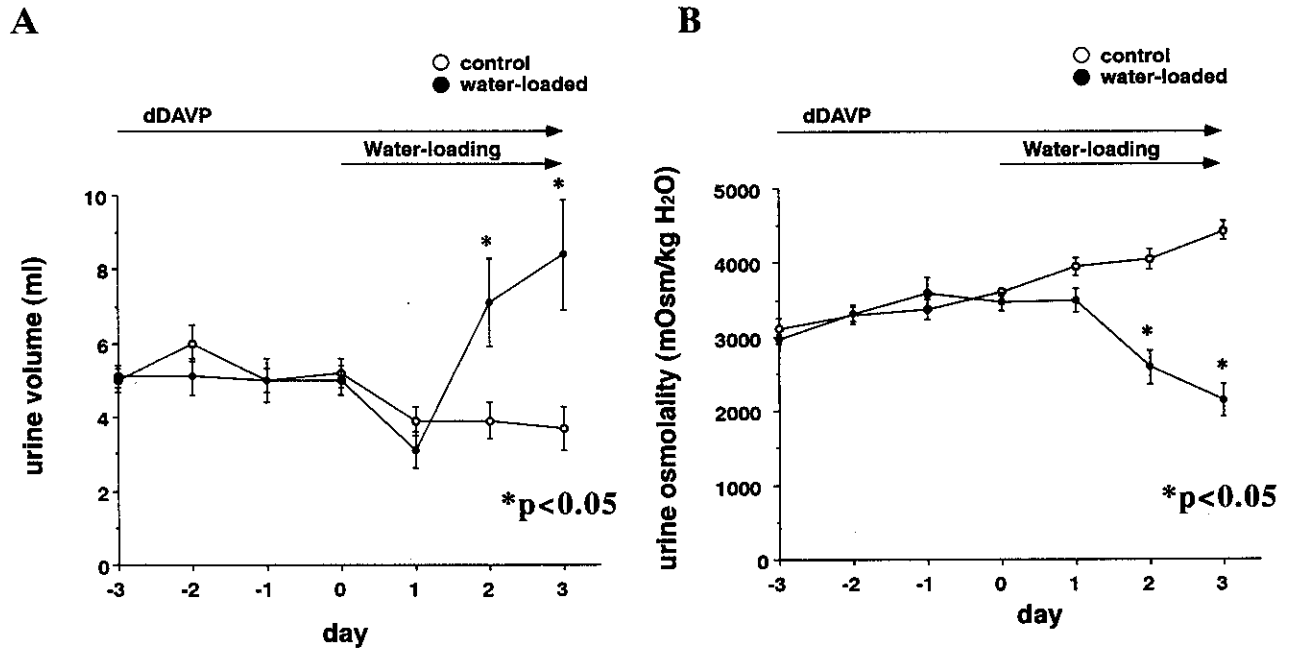


Fig. 2 Kidney AQP2 protein after water-loading

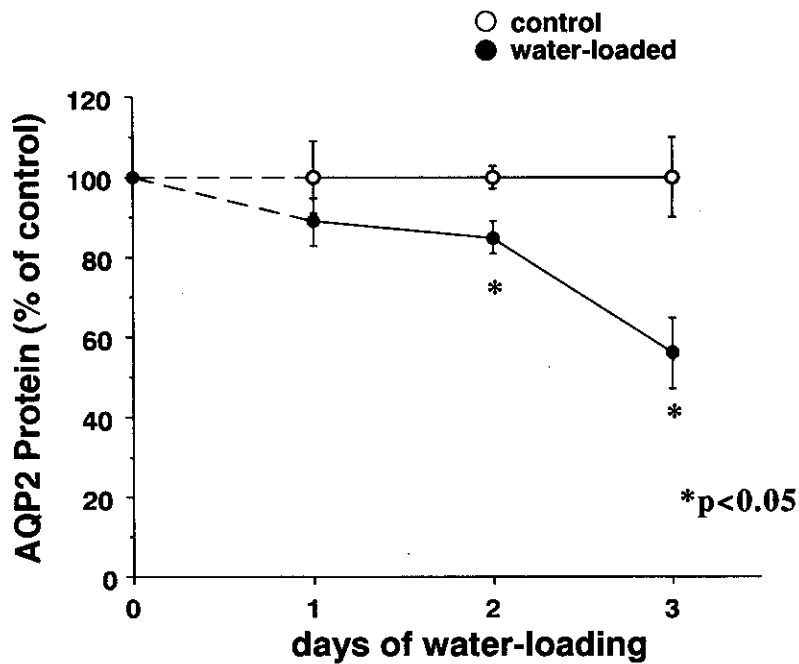


Fig. 3 V2 binding after water-loading

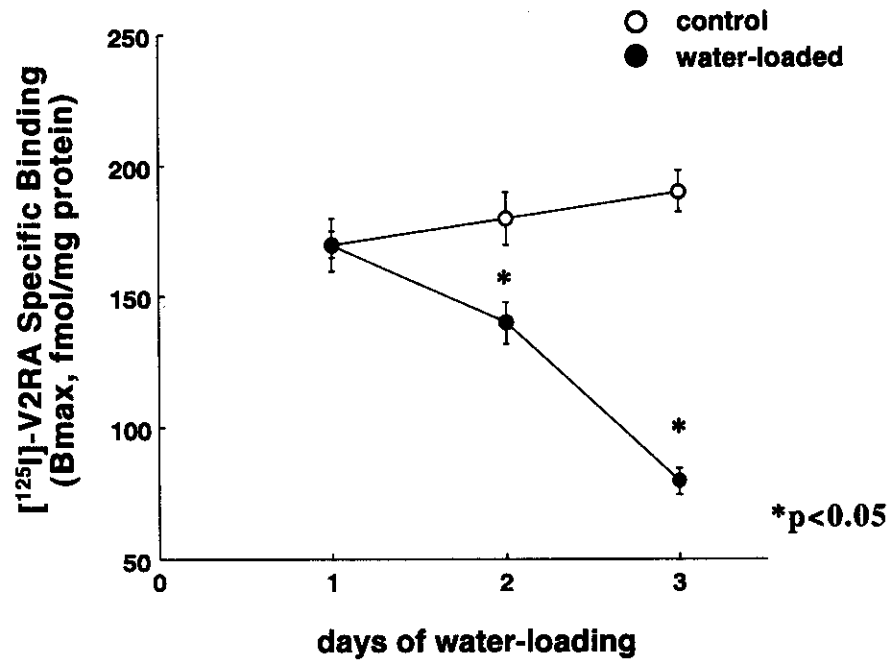
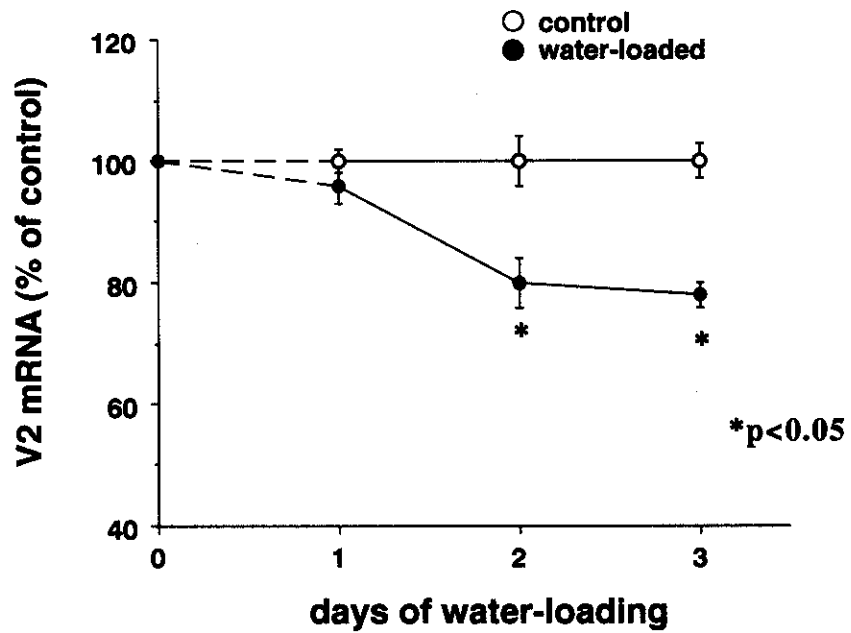


Fig. 4 V2R mRNA after water-loading



【3】ゴナドトロピン分泌異常症

「ゴナドトロピン分泌異常症」座長のまとめ

青野敏博（徳島大学産科婦人科）

平成11年度のゴナドトロピン分泌異常症の研究事業では、平成10年度に引き続いて下垂体腺腫および中枢性性腺機能異常（Kallmann症候群、排卵障害）に関連した研究報告が行われた。

まず、Kallmann症候群は視床下部性の性腺機能低下症と嗅覚障害を2大主徴とする先天性疾患で、発生率は男性で1万人に1人、女性はその6分の1程度と報告されている疾患である。最近、その病因のひとつとして、GnRH、嗅覚神経の軸索の伸張と細胞の分化、細胞の接着を含む細胞外マトリックス構成蛋白に関連しているKAL遺伝子の異常が考えられている。そこで、巽らはKallmann症候群の家族例および孤発例を対象に、本邦におけるKAL遺伝子の変異の頻度と臨床像を検討した。その結果、男性家族例1家系でイントロン6のスプライス変異を、また孤発例でコドン419から始まる欠失を発見した。これらの症例では腎奇形はなかった。本邦のKallmann症候群でのKAL1遺伝子異常の頻度は13%で、外国の症例とほぼ同頻度であった。また、コドン48の多型症は100%に、コドン534と611の多型症は38%に認められた。

次に田中らは、小児期における男子中枢性性腺機能低下症の診断におけるHCGテストとLHRHテストの有用性について検討した成績を報告した。その結果、HCGテストでテストステロンの頂値が50ng/dl以下の低反応は中枢性性腺機能低下症の可能性が高いこと、またLHRHテストでは中枢性性腺機能低下症はLH値が全例で低反応を示す一方、思春期遅発症は5例中4例は正常反応であったことを明らかにした。すなわち、男子中枢性性腺機能低下症の診断においては、LHRHテストにおけるLH頂値が診断的価値が高く、またHCGテストでのテストステロンの低反応もLHRHテストのLH頂値と組み合わせればさらに診断の精度が上がると考えられた。

青野らは、摂食障害と性機能障害の関連を検討する一環として、最近発見された摂食促進物質オレキシンのGnRH分泌に対する作用をラットを用いた動物実験により検討した。両側卵巣摘出後の成熟雌ラットの第3脳室内にオレキシンAとオレキシンBを投与し、同時にβ-エンドルフィン拮抗剤であるナロキソンを静脈内投与して、投与後2時間におけるLHのパルス状分泌の変化を検討した。その結果、平均LH値、パルス頻度はオレキシン投与群で有意に減少し、その程度はオレキシンAがオレキシンBよりも強かった。この減少はオレキシンAではナロキシソンの併用により回復したが、オレキシンBでは回復しなかった。以上のことから、摂食調節物質オレキシンはGnRH分泌を抑制し、その作用はオレキシンAがオレキシンBよりも強いこと、またその作用経路はオレキシンAではβ-エンドルフィンが関与するが、オレキシンBでは関与が少ないことが示唆され、オレキシンには性

機能を障害する可能性があることを明らかにした。

さらに臨床研究では、排卵誘発療法として広く用いられているゴナドトロピン療法は第1度無月経や多嚢胞卵巣症候群（PCOS）の排卵率90%以上、第2度無月経60%、妊娠率も全体で20%と高い臨床効果が得られるが、卵巣過剰刺激症候群（OHSS）の発生率30%、多胎妊娠20%と副作用の発生率も高いことが医学的にも社会的にも問題視されている。これまで、副作用の少ないゴナドトロピンの投与方法の工夫が望まれていたが、青野らは発育する卵胞数を少なくする工夫を行い、FSH-GnRHパルス療法を開発した。本療法は初めは一定量のFSH製剤を連日投与し、主席卵胞径が11mmを越えたら、GnRHのパルス状投与に切り替え、自然のフィードバック機構を利用して、適切なFSH濃度を維持させる治療法である。FSH-GnRHパルス療法を通常のゴナドトロピン療法と比較すると、視床下部性排卵障害およびPCOSの症例とも、排卵率、妊娠率は差がなく、副作用であるOHSSと多胎妊娠が有意に抑制され（単一卵胞発育率80%）、かつ治療日数も変わらず、患者のコンプライアンスの低下は少ないと考えられた。以上から、FSH-GnRH療法は、患者のコンプライアンスを保ちながら、ゴナドトロピン療法の副作用を軽減する投与方法として、有用な治療法と考えられると報告した。

下垂体腺腫に関する検討では、まず寺本は、手術症例を対象にして、画像診断の進歩に従ってCT/MRIで偶然発見される機会が増加したpituitary incidentaloma（I群；20例）の臨床・組織学的特徴を、症候性非機能性腺腫（NF群；118例）と比較しながら成績を検討した。その結果、両者に年齢と性別の分布に差がないこと、臨床症状では、群は頭痛、めまい、脳ドックなど、またNF群では88%が視野狭窄であったこと、内分泌機能の検討では、予備能低下を含めた内分泌機能の障害の発生頻度は、I群で75%、NF群で81%であり、両者ともLH、FSH、ACTH、TSHの分泌低下が認められたこと、腫瘍組織のゴナドトロピン関連サブユニットの発現率はI群では65.0%とNF群では57.6%、MIB-1抗体を用いた増殖能の検討でも認められたことから、pituitary incidentalomaは非機能性腺腫と同様、潜在的にゴナドトロピン分泌能を有する腫瘍であることが明らかになった。このことは、下垂体腺腫の性状や機能を考える上で示唆に富む知見である。

一方、長村らは、非機能性下垂体腺腫における転写因子Ptx1およびNeuroD1の局在について、特にゴナドトロピン陽性例における検討結果を報告した。Ptx1は典型的なホメオドメイン構造を持つ315アミノ酸からなる転写因子で、一方NeuroD1はbasic helix-loop-helix構造の転写因子である。Ptx1はすべての下垂体腺腫で発現が認められ、ゴナドトロピンのみならず他の前葉ホルモンの産生に関与することが示唆されているが、NeuroD1については不明であった。そこで、NeuroD1について検索を行ったところ、RT-PCRを用いたNeuroDIRNAの検討では、ACTH産生腫瘍と非機能性腺腫で発現が認められたが、GHおよびPRL産生腺腫では認められなかった。腫瘍の免疫染色による検討でもACTH産生細胞や非機能性腺腫に特異的にNeuroD1蛋白の存在を認めた。以上より、Ptxはゴナドトロピン産生腺腫の機能発現に、またNeuroD1はACTH産生腺腫やゴナドトロピン産生腺腫の機能分

化に関与する可能性が示唆された。

本邦の Kallmann 症候群における KAL1 遺伝子解析

分担研究者	巽 圭太 (大阪大学臨床検査診断学)
研究協力者	泉 由紀子 (同)
	網野信行 (同)
	細川彰子 (奈良県立医科大学第三内科)
	岡本新悟 (同)
	小川 徹 (高山赤十字病院内科)

【背景】

Kallmann 症候群は視床下部性の性腺機能低下症と嗅覚障害を2大主徴とする先天性疾患で発生率は男性で1万人に1人、女性ではその6分の1程度である。孤発例が多く7割程度を占め、家族例の中で伴性劣性遺伝のものは多く見積もっても3割程度で、残りは常染色体優性か劣性遺伝である。このうち伴性劣性遺伝の Kallmann 症候群では KAL1 遺伝子が病因遺伝子として同定された^{1,3)}。

日本人症例では昨年、Kallmann 症候群の病因となる KAL1 遺伝子として点変異が2種類、エクソンの欠失が1種類報告された^{4,6)}。

今回、本邦の Kallmann 症候群における KAL1 遺伝子変異の状況をみるために解析を進めた。

【対象および方法】

男性家族例1家系（一卵性双生児2例）、孤発例の男性11例、女性2例について検討した。末梢血よりゲノム DNA を抽出し、KAL1 遺伝子の14エクソンを PCR で増幅した後、KAL1 遺伝子の蛋白コード領域の全塩基配列を直接決定して健常人と比較した。

【結果】

男性家族例1家系に第9エクソンの Pro419 から14塩基欠失するフレームシフト変異 (Pro 419del14 変異) を認めた (図1)。母親の検索をしたところ変異は認められなかった。

孤発例の男性では1例に、イントロン6の splice donor site の常に保存されている AG から AA への変異 (IVS6 (-1) G→A 変異) を認めた (図2)。

この他、全ての症例で Pro48 Arg (CCG→CGC) を認めた。この塩基置換はこれまで報告が無く、本邦でのみ認めたものだが、本邦の健常人でも認められ、多型性と考えられた。

第9エクソンの Ile534Val (ATT→GTT) の多型性と、第12エクソンの Ile611(ATT→ATC) の多型性が6つの対立遺伝子で共存して認めた。

KAL1 遺伝子の蛋白コード領域にはこれら以外の塩基置換は認めなかった。

【考察】

Pro 419del14 変異はこれまで報告されていないフレームシフト変異で、図1のように680

アミノ酸の正常蛋白の第420アミノ酸より読み枠の変化した438アミノ酸が生ずると想定された。母親の検索をしたところ変異は認められず、本変異が双生児の配偶子形成時に生じた de novo 変異であることが明らかになった。

IVS6 (-1) G→A 変異もこれまで報告されていない塩基置換で、図2のようにエクソン7が skip されてフレームシフトが起こり、第286アミノ酸より読み枠の変化した299アミノ酸が生ずると想定された。

KAL1 遺伝子異常は X染色体上にあり、伴性劣性遺伝する。これまで報告された変異のうち、母親が検索されたものは本邦で3家族である。これらのうち本研究のPro419del14 変異と昨年報告した Gln66Ter 変異で de novo 変異を各々症例とその母親で認めた⁴⁶⁾。このように、3家族中2家族で de novo 変異を確認することができたので、KAL1 遺伝子は塩基置換を生じやすい遺伝子だと想定された。

本研究までのKAL1 遺伝子の全蛋白コード領域を塩基レベルで解析した症例をまとめると、本邦の Kallmann 症候群におけるKAL1 遺伝子の変異の頻度は男性孤発例では16例中2例 (13%) で男性の孤発例のKAL1 遺伝子自体の蛋白コード領域の変異は少ないことが明らかになった。これは外国の報告 (8%) ⁷⁾ と同程度である。ところで、男性家族例では蛋白コード領域に異常を認めたのが本邦の2家系では2家系とも、外国の男性家族例では52% (11/21家系) であることから、孤発性の蛋白コード領域以外を含めたKAL1 遺伝子の異常とX染色体の他の病因遺伝子の異常とを合わせた割合は、多く見積もっても孤発性出変異を認めた割合の2倍 (26%) 程度と想定される。従って残りの大多数の孤発例についてはKAL1 遺伝子の変異ではなく、胎生期のKAL1 遺伝子の発現の異常が示唆される。

随伴症状に関しては、本邦のKAL1 遺伝子異常の症例では片側腎の形成不全が外国例と同様、約半数の症例に認められたが、外国例で約半数の症例報告された両上肢の不随意共同運動は認められていない。

このほか、本邦に特徴的な多型性としては、Pro48Arg が全症例に認められた他、コドン534とコドン611の多型性が外国例では独立に認められたのに対し、本邦では共存して認められた。これら、随伴症状や多型性の差異は、人種・民族的な特徴と考えられる。

このように、KAL1 遺伝子の遺伝子検査が出来ることにより、家系内で変異を持つ可能性のある新生児に対して、早期診断、乳幼児期の早期治療が可能となってきた。

【結語】

本邦の Kallmann 症候群の多数例においてKAL1 遺伝子の全蛋白コード領域を塩基レベルで解析し、新たに2つの変異と1つの多型性を同定した。さらに、日本人における変異の頻度を明らかにした。

【文献】

1. Guioli S, Incerti B, Zanaria E, et al: Kallmann syndrome due to a translocation resulting in an X/Y fusion gene. Nat Genet, 1: 337-340, 1992.
2. Bick D, Franco B, Sherins RJ, et al: Brief report: intragenic deletion of the KALIG-1 gene in

- Kallmann's syndrome. *N Engl J Med*, 326: 1752-1775, 1992.
3. Hardelin JP, Levilliers, J, del Castillo I, et al: X chromosomelinked Kallmann syndrome: stop mutations validate the candidate gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89, 8190-8194, 1992.
 4. Izumi Y, Tatsumi K, Okamoto S, et al: A novel mutation of the KAL1 gene in Kallmann syndrome. *Endocr J*, 46: 651-658, 1999.
 5. 巽 圭太、網野信行、泉 由紀子、他. Kallmann 症候群の遺伝子異常. 厚生省特定疾患 間脳下垂体機能障害研究班 平成10年度総括研究事業報告書, 95-98, 1999.
 6. 田中敏章、勝又規行、佐藤直子、他. Kallmann 症候群と家族性男子思春期早発症の遺伝子解析. 厚生省特定疾患 間脳下垂体機能障害研究班 平成10年度総括研究事業報告書, 99-104, 1999.
 7. Georgopoulos NA, Pralong FP, Seidman CE, et al: Genetic heterogeneity evidenced by low incidence of KAL-1 gene mutations in sporadic cases of gonadotropin-releasing hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, 82: 213-217, 1997.

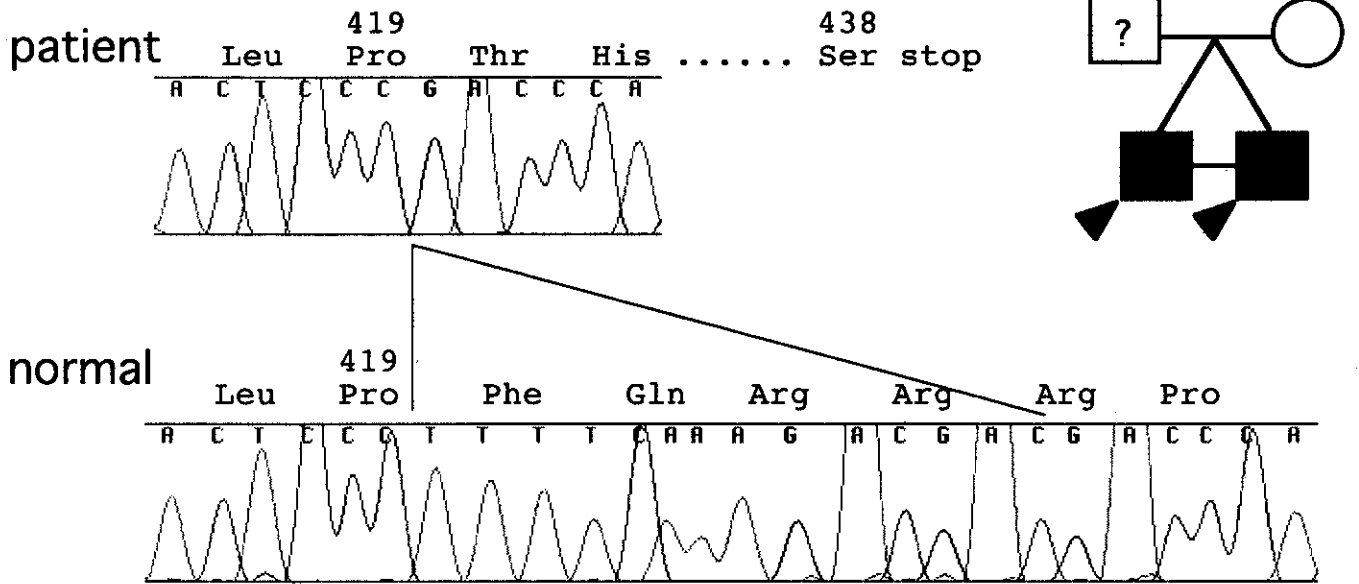


図 1. Pro419del14変異

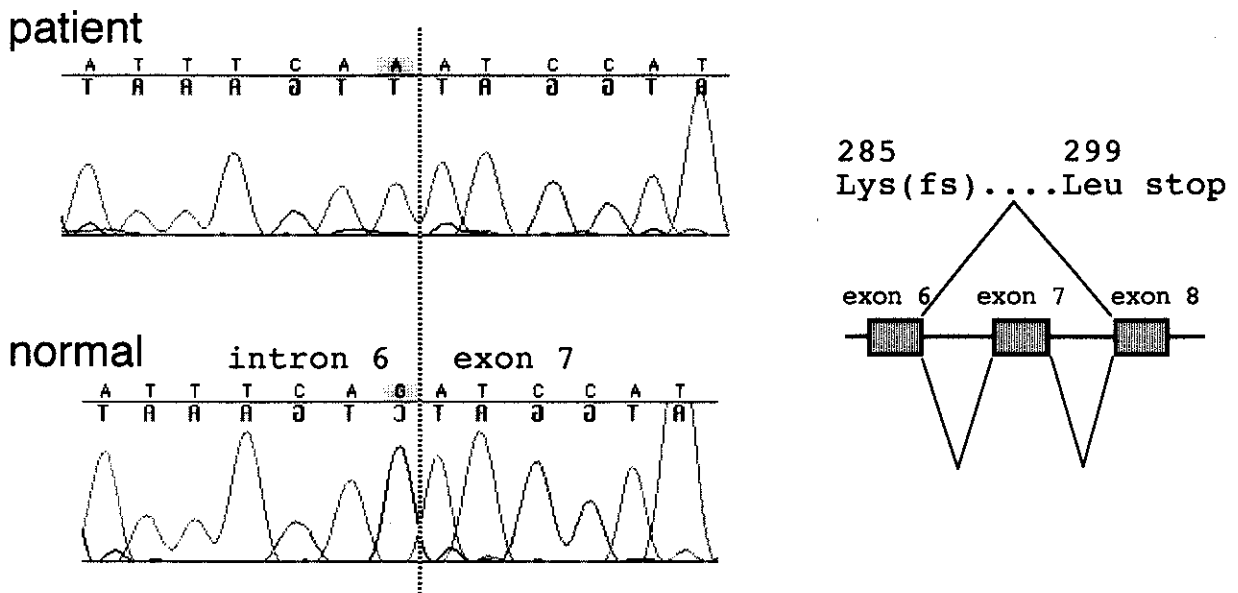


図 2. IVS6(-1)G→A変異

男性中枢性性腺機能低下症の診断

分担研究者	田中敏章（国立小児病院内分泌代謝研究部）
研究協力者	堀川玲子（国立小児病院内分泌代謝科）
	田苗綾子（同）
	佐藤直子（国立小児病院内分泌代謝研究部）

【背景】

男性中枢性性腺機能低下症の前思春期における診断は困難であるが、適切な診断と適切な時期に性腺補充療法を行うことによって、患者さんの QOL を保つことが必要である。我々は、すでに平成9年度に、RIA による LHRH テストのゴナドトロピン分泌低下症における診断の有用性を報告したが、今回、LH・FSH の測定をより感度の高い時間分解蛍光免疫法で行い、診断における有用性を検討した。また、HCG テストの有用性も併せて検討した。

【対象および方法】

対象は、国立小児病院で経験した性腺機能低下症またはその疑い症例のうち、最終的に中枢性性腺機能低下症と診断された11名と、思春期遅発症と診断された5名の計16名。中枢性性腺機能低下症の内訳は、Kallmann症候群6名、ゴナドトロピン分泌低下症3名（うち1名は DAX 1 異常）、汎下垂体機能低下症1名、CHARGE 症候群1名であった。

それぞれ臨床症状を、表1に示した。Kallmann症候群は1例を除いて無臭症または低臭症が認められているが、認められていない症例3は症例2と兄弟例で、2例とも KAL 1 遺伝子の13番目の exon の631番目のアルギニンが stop codon になる変異が認められている。また、症例3は片腎であるが、症例2には腎臓には異常がない。Kallmann症候群には、全例停留精巣や小精巣などが認められている。症例9は臨床症状は認められないが、全身色素沈着より副腎不全が診断され、その時に遺伝子診断で DAX 1 の異常が認められた。症例10の汎下垂体機能低下症は、出生時に骨盤位分娩、仮死が認められて、低身長より11歳時に成長ホルモン分泌不全性低身長と診断され、そのときの精査でゴナドトロピン分泌低下症も診断された。症例11は、難聴・角膜低形成・大動脈弁閉鎖不全症などの症状から診断され、その時にゴナドトロピン分泌低下症も診断された。

思春期遅発症は、最初の検査時には、中枢性性腺機能低下症が疑われた症例で、その後思春期の発来が認められ最終的に思春期遅発症の診断がついた例である。症例14を除いて、なんらかの臨床症状が認められた。症例14は臨床症状が認められなかったが、12歳4ヶ月時の LHRH テストで LH の低反応があり、中枢性性腺機能低下症と考えられていた。

HCGテストは、HCG 3000IU/m²を3日間筋注し、4日目に採血してテストステロンを測定した。テストステロンは RIA 法、LH、FSH は時間分解蛍光免疫法（デルフィア法）で測

定した。

【結果および考案】

HCG テストの正常反応は、150ng/ml 以上であるが中枢性性腺機能低下症では、6ヶ月時に検査した Kallmann 症候群の1例（症例6）はテストステロンが 237.5 ng/ml と反応していたが、その例も6歳11ヶ月時には 50ng/ml 以下と低反応を示した。症例6を除いて中枢性性腺機能低下症は全例 50ng/ml 以下の低反応だった。思春期遅発症では、1例は 150ng/ml 以上の正常反応だったが、他の4例は150ng/ml 以下の低反応を示した。しかし 50ng/ml を下回ることはなかった。

思春期遅発症で、10歳7ヶ月でテストステロンが101ng/ml の低反応を示した症例12では、11歳4ヶ月時には 123ng/ml、12歳5ヶ月には 413ng/ml と正常反応を示した。1歳以上で HCG が 50ng/ml 以下の低反応の時は、LHRH テストの結果とも併せて、中枢性性腺機能低下症の診断的価値が高いと考えられた。

LHRH テストでは、LH の反応は中枢性性腺機能低下症では全例低反応であったが、思春期遅発症では1例は低反応、他の4例は正常反応であった。FSH 頂値は、中枢性性腺機能低下症では2例が正常反応を示し、他の9例は低反応を示した。思春期遅発症では1例が低反応を示したが、この例は LH 頂値は正常反応であった。

症例14は、12歳4ヶ月時の LHRH テストで LH が低反応だったが、13歳6ヶ月時には、LH 頂値8.2 μ U/ml、FSH 頂値7.9 μ U/ml と思春期の反応を示したので、蛋白同化ホルモンの Winstrol 2mg を13歳8ヶ月より投与し、13歳11ヶ月に精巣が 4ml と増大して思春期に入り、思春期のスパートもみられた。

中枢性性腺機能低下症の診断には、LHRH テストは LH 頂値のほうが FSH 頂値より診断的価値が高かった。

結論として、中枢性性腺機能低下症の診断には、LHRH テストの LH 頂値の低反応と HCG テスト 50ng/ml 以下の低反応が診断的価値が高かったが、最終的には思春期年齢で LHRH テストをくり返し、経過をみる必要がある。思春期遅発症には、蛋白同化ホルモンで思春期を誘発することが可能であった。

表1. 中枢性性腺機能低下症および思春期遅発症の臨床症状

症例	診断	検査時年齢	症 状				
			停留精巣	移動精巣	小陰茎	小精巣	無臭症
1	Kallmann 症候群	2歳1ヶ月	+		+	+	+
2	Kallmann 症候群	16歳	+	+	+	+	+
3	Kallmann 症候群	12歳5ヶ月	+		+	+	
4	Kallmann 症候群	10歳11ヶ月		+	+	+	+
5	Kallmann 症候群	12歳10ヶ月	+		+	+	±
6	Kallmann 症候群	12歳8ヶ月	+	+		+	+
7	ゴナドトロピン分泌不全症	10歳7ヶ月		+	+		
8	ゴナドトロピン分泌不全症	13歳8ヶ月	+	+	+	+	
9	ゴナドトロピン分泌不全症	3歳					
10	汎下垂体機能低下症	17歳				+	
11	CHARGE 症候群	8歳5ヶ月	+		+		
12	思春期遅発症	10歳7ヶ月		+		+	
13	思春期遅発症	11歳9ヶ月	+			+	
14	思春期遅発症	12歳4ヶ月					
15	思春期遅発症	13歳		+		+	
16	思春期遅発症	8歳3ヶ月			+	+	

図1. HCGテストの反応

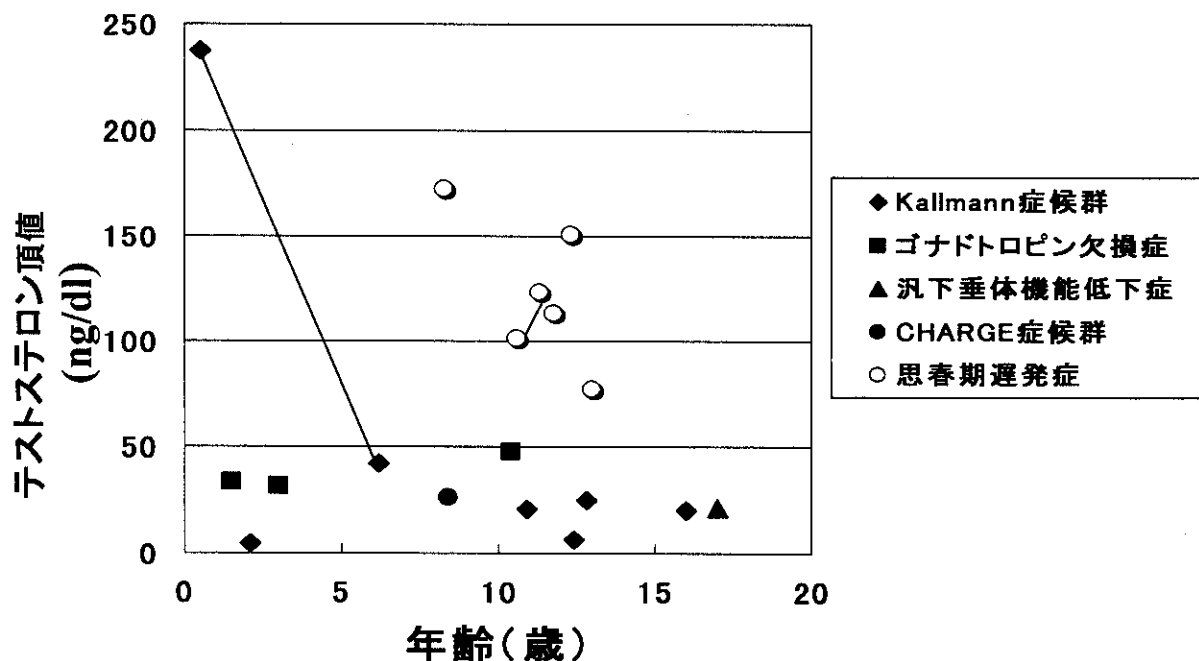


図2. LHRHテストのLHの反応

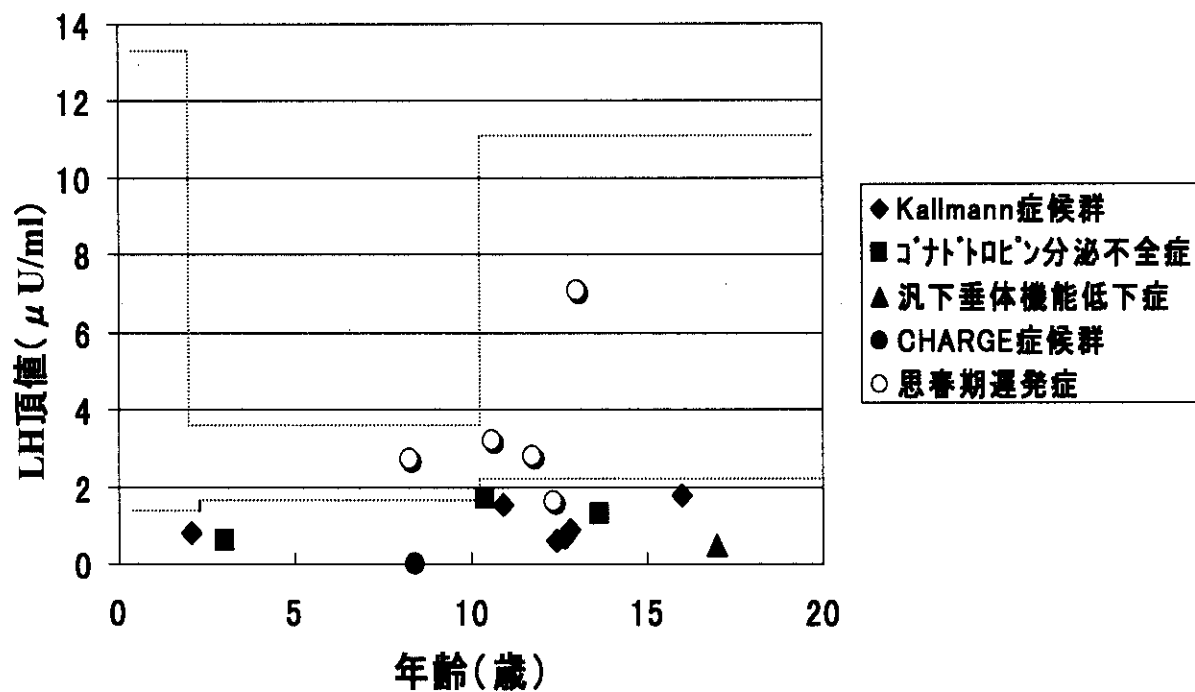
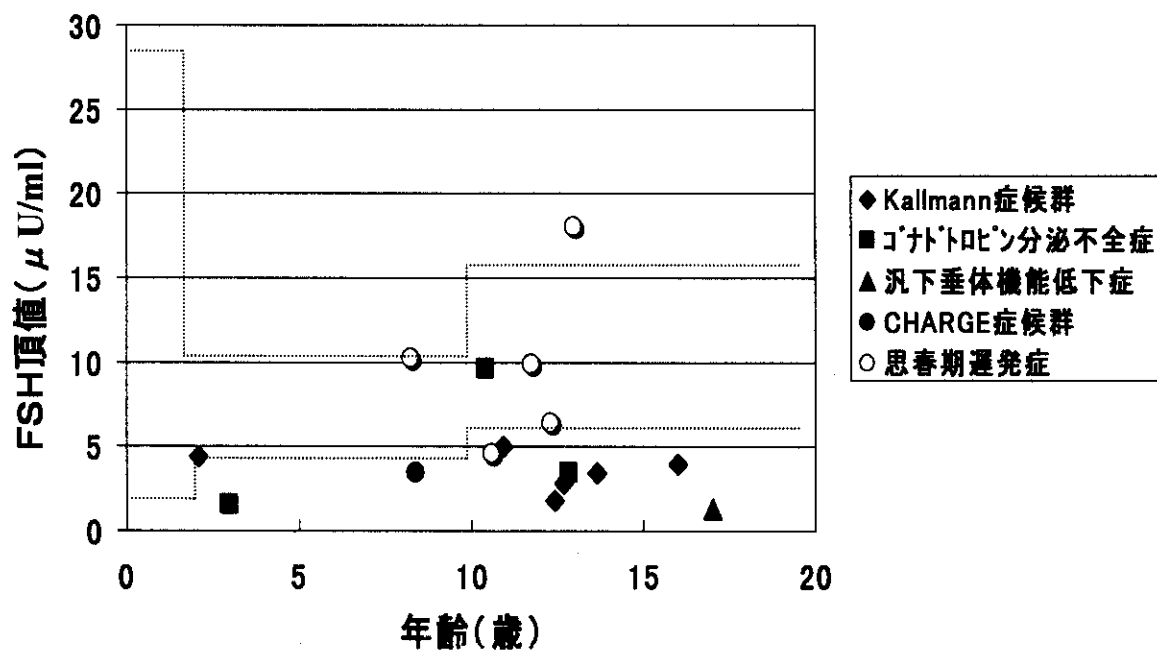


図3. LHRHテストのFSHの反応



摂食調節因子とゴナドトロピン分泌異常

分担研究者	青野敏博	(徳島大学医学部産科婦人科学)
研究協力者	田村貴央	(同)
	清川麻知子	(同)
	手束典子	(同)
	上村浩一	(同)
	漆川敬治	(同)
	苛原 稔	(同)

【背景】

肥満ややせが生殖機能障害を引き起こすことはよく知られた事実であり、摂食と生殖には密接な関わりがあることが推定されている。最近、視床下部において新たな摂食調節因子であるオレキシンが発見された。オレキシンは摂食中枢である視床下部外側野で産生される摂食促進物質で、絶食によってその産生が亢進される。オレキシンニューロンは脳内においてあらゆる領域に神経投射しており、自律神経系や神経内分泌系の調節因子としての作用も有していることが示唆されている。我々は、オレキシンが生殖機能に及ぼす影響を明らかにするため、下垂体からのLHパルス状分泌に対する作用について検討した。

【対象と方法】

Wistar系成熟雌ラットを用い、8週齢時に両側卵巣を摘出し、10週齢時に第3脳室内に投与針を留置し、11週齢時に右外頸静脈より右心房内にカテーテルを留置した。その翌日、第3脳室内にオレキシンA (A群)、オレキシンB (B群) をそれぞれ3nmol、対照として生理食塩水 (C群) を投与し、脳室内投与後6分ごとに2時間にわたって採血を行い、RIA法を用いて血清LH値を測定して、パルス状分泌の変化を検討した。

【結果】

脳室内投与前の3群のLH基礎値と体重には有意差を認めなかった (表1)。

脳室内投与後、対照群 (C群) ではコンスタントにLHのパルスが出現したのに対し、オレキシン投与群 (A群、B群) では投与後速やかにLH値が減少し続け、パルスの頻度が減少した (図1)。

投与後2時間における平均LH値 (A群; $5.04 \pm 0.19 \text{mg/l}$ 、B群; $6.57 \pm 0.22 \text{mg/l}$ 、C群; $8.15 \pm 0.26 \text{mg/l}$) は、オレキシン投与群で有意 ($p < 0.01$) に低下し、低下の程度はA群がB群に比して有意 ($p < 0.01$) に大きかった。パルス頻度 (A群; $2.75 \pm 0.37 \text{回/2h}$ 、B群; $3.75 \pm 0.56 \text{回/2h}$ 、C群; $5.38 \pm 0.32 \text{回/2h}$) はオレキシン投与群で有意 ($p < 0.01$) に減少し、その程度はA群がB群に比して大きい傾向にあった。一方、パルス振幅 (A群; $4.08 \pm 0.43 \text{mg/l}$ 、B群; $4.96 \pm 0.36 \text{mg/l}$ 、C群; $4.77 \pm 0.42 \text{mg/l}$) は3群間に有意差を認めなかった (図2)。

【考察】

これまでにいくつかの摂食調節因子がGnRH分泌を調節する作用を有していることが報告されている。中枢においては、摂食促進因子であるニューロペプチドY (NPY) と β -エンドルフィンが、また摂食抑制因子である副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH) が、GnRH分泌抑制作用を有している。しかし、新たに発見された摂食促進因子であるオレキシンが、GnRH分泌を調節する作用を有しているか否かは不明であった。

オレキシンニューロンは、視床下部内では弓状核と室傍核に強い神経投射が認められている。弓状核ではNPYと、 β -エンドルフィンの前駆体であるプロオピオメラノコルチン (POMC) が、また室傍核ではCRHが産生される。一方、GnRHは齧歯類では主に視索前域で産生され、この領域にもオレキシンニューロンからの神経投射が認められている。これらの知見から、オレキシンが直接的に、あるいは β -エンドルフィン、NPY、CRHといった他の神経ペプチドを介して、間接的にGnRH分泌を調節する可能性が考えられた。

そこで我々は、オレキシンがGnRH分泌に与える作用を明らかにするため、下垂体からのLHパルス状分泌の変化を指標にして検討を行った。その結果、オレキシンがLHパルス状分泌を抑制すること、さらにその抑制作用はオレキシンAがオレキシンBよりも強いことを明らかにした。

以上の成績から、オレキシンが視床下部においてGnRH分泌を抑制し、生殖機能を抑制する可能性を有していることが示唆された。

【文献】

1. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, et al : Orexins and orexin receptors : A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 92, 573-585, 1998.
2. Tamura T, Irahara M, Aono T, et al : Orexins, orexigenic hypothalamic neuropeptides, suppress the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized female rats. *BBRC* 264, 759-762, 1999.
3. Peyron C, Tighe DK, Van den Pol AN, et al : Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci* 18, 9996-10015, 1998.
4. Date Y, Ueta Y, Yamashita H, et al : Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 748-753, 1999.
5. McDonald JK, Lumpkin MD, DePaolo LV: Neuropeptide-Y suppresses pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized rats : Possible site of action. *Endocrinology* 125, 186-191, 1989.
6. Gindoff PR, Ferin M: Endogenous opioid peptides modulate the effect of corticotropin-releasing factor on gonadotropin release in the primate. *Endocrinology* 121, 837-842, 1987.

表1 採血時のラットの基礎データ

	匹数	体重 (g)	*LH基礎値 (μg/l)
対照群	8	279.00 ± 7.33	7.95 ± 1.03
オレキシシンA投与群	8	277.83 ± 5.05	8.48 ± 0.97
オレキシシンB投与群	8	271.39 ± 6.86	10.10 ± 0.84

(mean ± S.E.M.)

*脳室内投与前の血清LH値

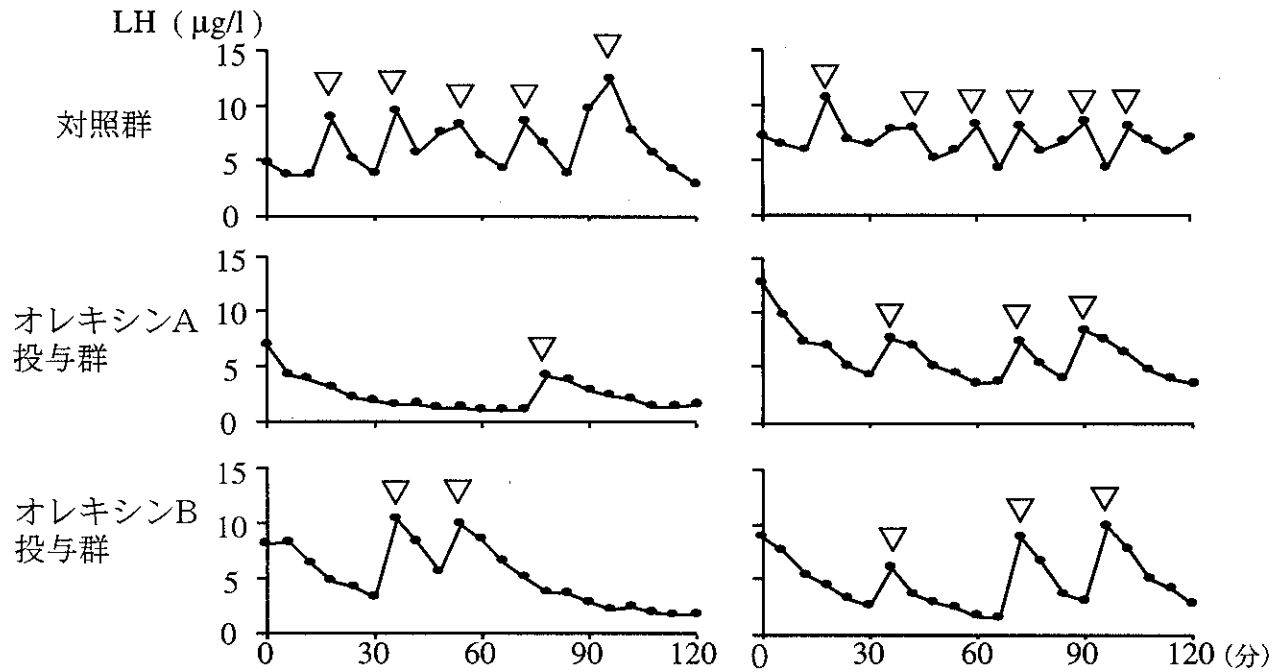
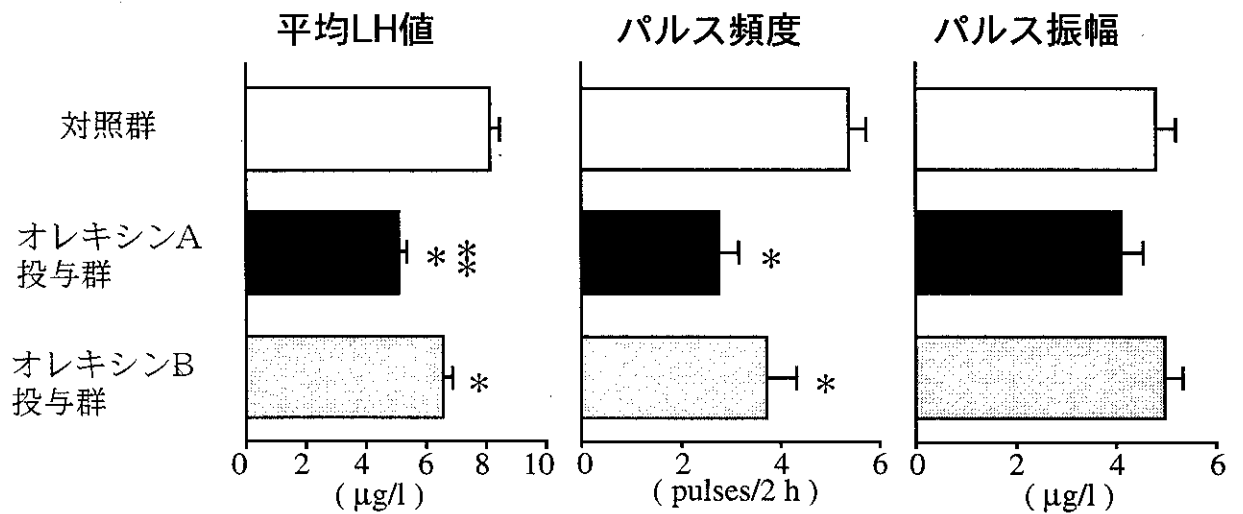


図1 血清LH値の変動



*p<0.01 vs 対照群

**p<0.01 vs オレキシシンB投与群

図2 LHパルス状分泌の変化