

FSH-GnRHパルス療法による排卵障害の治療成績

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	苛原 稔	(同)
	松崎利也	(同)
	山田正代	(同)
	牛越賢治郎	(同)
	福持光男	(同)
	安井敏之	(同)

【緒言】

ゴナドトロピン療法は、FSH作用の強い閉経後婦人尿性ゴナドトロピン (human Menopausal Gonadotropin:hMG) を投与して卵胞の発育を促し、一定の大きさに達したら、LH作用のあるヒト絨毛性ゴナドトロピン (human Chorionic Gonadotropin、hCG) を投与して排卵を誘起させる現在最も強力な排卵誘発法であり、優れた臨床効果が報告されている。しかしhMG製剤は、副作用として多発排卵による多胎妊娠の増加や、卵巣過剰刺激症候群 (Ovarian hyperstimulation syndrome:OHSS) の発生頻度が高いことが報告され、安全性に問題があることが指摘されている。OHSSは重篤になれば生命を脅かし、また3胎以上の多胎妊娠は産科的合併症や未熟児出生の頻度が高まるなど、ゴナドトロピン療法の副作用は医療的、社会的に多くの問題を含んでおり、発生には十分注意する必要がある。

1995年、日本産科婦人科学会はゴナドトロピン療法の副作用の軽減を目的として、ゴナドトロピン療法の施行にあたって可能な限り周期当たりのhMG(FSH)製剤の使用量を減らし、投与方法を工夫することを勧告している。そこで、われわれはゴナドトロピン療法の有効性を保ったまま、多胎妊娠やOHSSの副作用を軽減する投与方法の工夫を行ったので報告する。

【研究方法】

1) 治療方法

FSH-GnRH律動投与方法 (FSH-GnRH療法) は、治療初期はFSHを投与して卵胞発育を促し、途中でGnRHの律動投与方法に切り替えて主席卵胞のみ選択的に発育させる方法である。すなわち、消退出血の5日目よりFSH製剤 150単位を連日投与し、発育卵胞径が11mmを超えた日に排卵誘発法をGnRH律動投与方法に切り替えた。GnRH (ヒポクライン) はマイクロポンプ (ニプロSP-3I) を用いて2時間毎に20 μ gを連日皮下投与した。主席卵胞平均径が18mmを超えるまでGnRHの律動投与を続けた。一方、FSH単独療法ではFSH製剤150単位を卵胞径が18mmに達するまで連日投与し続けた。両治療法とも、平均卵胞径が18mmに達したらhCG5000単位を投与して排卵を誘起した。また高温相の2-3日目より2-3日毎に

hCG3000単位を黄体機能賦活のため投与した。いずれの周期でも黄体期にOHSSが認められる場合はhCGの投与を中止した。

2) 対象

徳島大学医学部附属病院産科婦人科に通院中の視床下部性排卵障害患者を対象に、FSH-GnRH療法（20症例43周期）、FSH単独療法（24症例44周期）を行った。また、日本産科婦人科学会の診断基準に合致するPCOS患者についても、FSH-GnRH療法（23症例67周期）とFSH単独療法（20症例44周期）を比較した。

【結果】

1) 視床下部性排卵障害

視床下部性排卵障害患者における治療成績を表1に示した。治療日数はFSH-GnRH療法とFSH単独療法は差はなかった。平均発育卵胞数は、FSH-GnRH療法1.3個、FSH単独療法3.9個とFSH-GnRH療法で有意に少なく、FSH-GnRH療法では高率に単一卵胞発育が見られたのに対し、FSH単独療法では全く認められなかった。

FSH-GnRH療法、FSH単独療法の間で排卵率、妊娠率に有意差はなかった。しかし、FSH-GnRH療法による妊娠例5例はすべて単胎妊娠であったが、FSH単独療法による妊娠例3例中1例(33.3%)は多胎妊娠であった。また、卵巣径が70mm以上をOHSSとすると、OHSS発生率はFSH-GnRH療法で0%、FSH単独療法で38.6%と、FSH-GnRH療法は有意に低率であった。

2) PCOS

PCOS患者におけるFSH-GnRH療法、FSH単独療法の結果を表2に示した。治療日数、排卵率、妊娠率に有意差はなかった。しかし、発育卵胞数はFSH-GnRH療法2.4個とFSH単独療法6.3個に比べて有意に少数であった。視床下部性排卵障害患者での治療成績に比べるとPCOSでは発育卵胞数が多いため、FSH-GnRH療法でも単一卵胞発育率は50%程度であるが、FSH単独療法では全てが3個以上であり、PCOSでもFSH-GnRH療法は比較的高率に単一卵胞発育が起こることが認められた。FSH-GnRH療法では多胎妊娠はなくFSH単独療法による多胎妊娠30.3%に比較して有意に低率であった。また、OHSS発生率はFSH-GnRH療法で13.4%とFSH単独療法で43.2%比較して有意に低率であり、PCOSの治療においてもFSH-GnRH療法の安全性は高いことが示された。

【考察】

FSH単独療法は高い排卵率、妊娠率を示すが、多数の排卵が同時に起こりOHSSや多胎妊娠を高率に引き起こす事が知られている。ことにPCOSでは卵巣の反応性が多様で通常のゴナドトロピン投与量でも重篤なOHSSを起こす場合があり、多胎妊娠も他の無排卵症に比較して高率に認められ、治療に難渋する場合が多い。副作用を減少させるためには詳細な卵胞発育のモニターとゴナドトロピン投与量の調節が重要である。ゴナドトロピン投与量を調節して副作用を軽減する試みとしては、Low-dose法、Step-down法、hMG律動投与方法などが報告されている。

FSH-GnRH療法は、視床下部性排卵障害およびPCOSともに、FSH単独療法と同等の排卵率、妊娠率を保ったまま、発育卵胞数を減少させ、卵巢過剰刺激症候群の発生を軽減し、多胎妊娠を予防できることが示された。また治療日数も変わらず、患者のコンプライアンスも低下することはないと考えられる。さらに、OHSSや多胎妊娠を起こしやすいPCOSにおいて視床下部性無排卵症に対する成績に近い副作用軽減効果が認められることは、従来ゴナドトロピン療法による治療が逡巡されるようなPCOS患者にもFSH-GnRH療法を用いることで安全かつ有効な治療が可能になると考えられる。

以上、FSH-GnRH療法は患者のコンプライアンス、有効性を保ったまま、OHSSや多胎妊娠の副作用を大幅に低下させることが可能なゴナドトロピン投与方法であり、特にPCOSなどの副作用発生率の高いハイリスク症例に対して有用である。ただし、GnRH製剤の使用は現在のところ保険に適応されていないので、保険収載に向けて努力する必要がある。

【文献】

1. Kurachi, K. et al : Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 19:43-51, 1985.
2. Buvat, J. et al : Fertil Steril 52:553-559, 1989.
3. Mizunuma, H. et al : Fertil Steril 55:1195-1196, 1991.
4. 青野敏博他：臨婦産 46: 1045-1047, 1992.
5. Nabot, D. et al : Fertil. Steril., 58:249-261, 1992.
6. Kuwahara, A. et al : Fertil Steril 64:267-272, 1995.
7. 水口弘司他：日産婦誌 47: 1298-1303, 1995.
8. 青野敏博他：臨婦産 53: 145-147, 1999.

表1 視床下部性排卵障害患者におけるFSH-GnRH療法、FSH単独療法およびFSH低用量維持療法の臨床成績の比較

治療法	FSH-GnRH療法	FSH単独療法
症例数 (周期数)	20 (43)	24 (44)
治療日数 (日)	7.4±2.4	7.3±1.4
平均発育卵胞数 (個)	1.3±2.4*	3.9±1.4*
周期別排卵率 (%)	88.3	88.6
周期別妊娠率 (%)	11.6	18.2
多胎率 (%)	0*	12.5*
OHSS発生率 (%)	0*	38.6*

(* p<0.01)

表2 PCOS患者におけるFSH-GnRH療法とFSH単独療法の臨床成績の比較

治療法	FSH-GnRH療法	FSH単独療法
症例数 (周期数)	23 (67)	20 (44)
治療日数 (日)	7.6±1.1	7.5±1.3
平均発育卵胞数 (個)	2.4±1.5*	6.3±3.8*
周期別排卵率 (%)	91.0	88.6
周期別妊娠率 (%)	20.9	29.5
多胎率 (%)	0*	30.3*
OHSS発生率 (%)	13.4*	43.2*

* p<0.01

Pituitary Incidentaloma の臨床・組織学的特徴—症候性非機能性腺腫との対比—

分担研究者	寺本 明	(日本医科大学脳神経外科)
研究協力者	山王なほ子	(同)
	大山健一	(同)
	田原重志	(同)
	長村義之	(東海大学病態診断系病理)

【背景】

近年画像診断の進歩に伴い、CT/MRI で偶然発見される下垂体の腫瘍性病変いわゆる incidentaloma に接する機会が増加し、その治療方針が議論されている。しかしながらその臨床・病理学的検討は十分にされていない。今回 incidentaloma の臨床症候・内分泌所見・組織所見・増殖能を症候性非機能性腺腫 (NF 群) と対比した。

【対象と方法】

1995年5月から1999年4月の4年間に日本医科大学脳神経外科で手術を行った症例は293例で、なんらホルモン過剰による症状を呈さず、内分泌学的にも軽度プロラクチンの上昇 (100ng/dl 未満) 以外に血清ホルモン値の上昇を認めなかった非機能性腺腫は138例であった。そのうち偶然発見された incidentaloma (I 群) は20例であった。それ以外の何らかの症候で発見された腺腫118例を今回は症候性非機能性腺腫群 = NF 群とし、臨床症候・内分泌所見・組織所見・増殖能を比較検討した。

臨床症候は初診時の問診と神経学的所見ならびに眼科医による視力視野障害により診断した。内分泌所見は入院時に各下垂体前葉ホルモンの基礎値ならびに free T₃、free T₄、IGF-1、E₂ (女性)、Testosterone (男性) を測定した。さらに下垂体機能負荷試験として GHRH 100 μ g、CRH 100 μ g、LHRH 100 μ g、TRH 500 μ g を4剤同時に静脈内投与し、投与前、30分、60分後にそれぞれ採血し、GH、PRL、ACTH、FSH、LH、TSH 値を測定した。それぞれについて判定は3段階とした。すなわち機能低下 = 基礎値が低値、予備力低下 = 負荷テストにて基礎値の2倍以上の上昇が見られない。正常 = 負荷テストにて基礎値の2倍以上の上昇とした。PRL に関しては上昇を機能低下群と判断した。

組織学的検査は摘出組織のホルマリン固定パラフィン切片を用い、酵素抗体間接法にて抗ヒトGH、PRL、ACTH、FSH β 、LH β 、TSH β 、 α subunit を用いて免疫組織化学染色を行った。増殖能の指標として Ki-67 monoclonal 抗体 (MIB-1, Immunotech 社) を用いて ABC 法にて染色し、核染色を行って、x400の顕微鏡下で500個の細胞中の陽性核数をカウントし、%で示した (MIB-1 index)。1症例につき3視野にて測定を行った。一部の症例において、

電顕による観察を加えた。

【結果】

I 群は男：女 = 10：10 例、年齢29～71歳、平均54.5歳であり、NF 群は男：女 = 55：63 例、年齢16～81歳、平均53.6 歳であった。年齢・性別に明らかな差はなかった。MRI 上の腫瘍の大きさはI 群は平均最大径 18.3 mm、NF群は25.5 mm であった。

臨床症候は NF 群は104例（88%）が視力視野障害で、女性では月経不順14例（22%）が多かった。以下性機能低下、頭痛、全身倦怠各8例、耐寒性の低下、食欲不振の順であった。一方、I 群の発見の契機となった CT/MRI が施行された理由は、頭痛6例30%、めまい5例、脳ドック5例、高血圧、外傷、意識消失発作、耳鳴各2例、痴呆の精査、高脂血症、しびれ、聴力低下各1例であった。

内分泌機能を検討すると、NF 群では予備力低下も含めると81%で障害がみられ、以下 LH 65%、FSH53%、PRL43%、ACTH59%、TSH30%で分泌機能低下が認められた。I 群でも GH は75%で分泌が低下していた。LH 60%、FSH 65%、PRL 45%、ACTH 40%、TSH 30%の症例においてそれぞれ低下していた。

腫瘍組織の免疫組織染色の結果、NF群では α subunit陽性61例（52%）、FSH β 陽性49例（42%）、I 群では α subunit陽性13例（65%）、FSH β 陽性11例（55%）であった。すなわちNF 群で gonadotropin subunit 陽性例は57.6%、I 群では65%であった。

MIB-1 抗体を用いた増殖能の検討では I 群は0.1～1.7%、平均0.65%、NF 群は<0.1～1.9%、平均0.78%で差はなかった。

電子顕微鏡で微細構造を観察すると、個々の腫瘍により細胞内に分泌顆粒が認められる例と認められないものがあったが、両群で特に一定の傾向はなかった。

【考察】

画像診断の進歩に伴い、偶然発見される下垂体の腫瘍性病変いわゆる incidentaloma に接する機会が増加している。incidentaloma の定義はいまだ明らかにされていないが、一般的には下垂体病変と無関係な理由で撮影された CT あるいは MRI で偶然発見された下垂体腫瘍で、腫瘍に起因する症状をもたないもの¹⁾と定義される。ここではホルモン測定で機能を示す症例は除外し、臨床的非機能性腺腫のうちの偶然発見のものとした。

著者らはこれまで臨床的非機能性腺腫のほとんどは gonadotropin の分泌能を有し、gonadotropin 産生細胞への機能分化を示す細胞から発生したものであることを、高感度免疫組織化学法である catalyzed signal amplification 法²⁾や、gonadotropin releasing hormone, receptor mRNA の発現の証明³⁾によって示してきた。今回 incidentaloma も非機能性腺腫と同じく潜在的に gonadotropin 分泌能を呈する腫瘍群であることが明らかになった。

今回の検討で incidentaloma でも NF 群と同様に内分泌機能の予備力低下がみられた点は注目すべき点である。この事は、正常下垂体に対する圧迫による機能不全を早期に予防する目的で早期に治療することに意義を与える所見と考えられる。

Molicht ら⁴⁾は incidentaloma の治療方針としてなんらかの症状の出現や増大傾向が認められれば手術を行うとしている。著者らは現時点では、今回の結果を踏まえ、直径10mm 以上の macroadenoma で特に若年者では原則的に手術を行うべきと考えている。

【結論】

偶然発見された pituitary incidentaloma において、内分泌機能低下は75%に認められた。免疫組織化学では gonadotropin subunit 陽性が67%と高率に認められた。増殖能や電子顕微鏡的所見は incidentaloma と非機能性腺腫の間で差はなかった。pituitary incidentaloma は非機能性腺腫と同様、潜在的 gonadotropin 分泌能を有する腫瘍群であることが明らかとなった。

【文献】

1. Reuncke M, Allolio B, Saeger W et al: The incidentaloma of the pituitary gland. Is neurosurgery required? JAMA 263: 2772, 1990.
2. Sanno N, Teramoto A, Sugiyama M, Itoh Y, Osamura RY: Application of CSA in immunodetection of gonadotropin subunits in clinically non-functioning pituitary adenomas. Am J Clin Pathol 106: 16-21, 1996.
3. Sanno N, Jin L, Qian, X, osamura RY, Scheithauer BW, Kovacs K, Lloyd RV: Gonadotropin releasing hormone mRNA and Gonadotropin releasing hormone receptor mRNA expression in pituitaries and pituitary adenomas. J Clin Endocrinol Metab 82: 1974-1982, 1997.
4. Molicht ME: Clinical review 65: Evaluation and treatment of the patient with a pituitary incidentaloma. J Clin Endocrinol Metab 80: 3, 1995.

非機能性腺腫における転写因子 Ptx 1 及び Neuro D1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

分担研究者	長村義之	(東海大学病態診断系病理学)
研究協力者	黒谷玲子	(同)
	梶原 宏	(同)
	伊東良子	(同)
	大山健一	(日本医科大学脳神経外科)
	田原重志	(同)
	山王なほ子	(同)
	寺本 明	(同)

【背景】

下垂体はラトケ囊から発生し、その後種々の前葉ホルモン産生細胞へと分化していく¹⁾。その分化のkey factorとして転写因子の存在がクローズアップされ、これまでにいくつかの転写因子の存在およびその機能が明らかにされてきた。その先駆けとして1988年に下垂体特異的転写因子であるPit-1が同定され^{2) 3)}、GH、PRLおよびTSH-b遺伝子の転写を活性化し⁴⁾、これらの細胞の機能分化、細胞維持・増殖に関与することが明らかにされた⁵⁾。また下垂体腺腫においても同様にPit-1の発現が認められ、Sannoらはcombined immunohistochemistry and in situ hybridization (ISH-IHC)法を用いてPit-1 mRNAとGH、PRL、TSH-bの共存を報告した⁶⁾。その後次々と下垂体における他の転写因子の存在・機能が明らかにされてきた。Ptx 1及び Neuro D1は当初共にproopiomelanocortin (POMC) 遺伝子の転写に関与しているとして注目された転写因子である⁷⁾。Ptx 1はその後の検索によって他の前葉ホルモンの転写活性への関与も示されてきた⁸⁾。また下垂体腺腫においてもPtx 1の発現が認められ、我々のグループの研究報告として昨年の班会議にてPRL産生腺腫における局在について報告した。一方Neuro D1は basic helix-loop-helix構造の転写因子で、胎生期に発現し神経の分化に関与していること等が示されている。また、正常下垂体においてはcorticotroph cellに特異的に発現が認められ、Ptx 1との協調作用によってPOMCの転写活性を促進する作用があることが報告されているが⁹⁾、下垂体腺腫での発現に関しては未だ明らかにされていない。当初、我々の下垂体研究グループでは下垂体腺腫、特にACTH産生腺腫における Neuro D1の発現について検索をすすめていたが、その結果ACTH産生腺腫での発現に加えgonadotropin陽性非機能性腺腫でも高い頻度で発現が認められたので、これまでのPtx 1の研究成果とともに報告する。

【対象と方法】

剖検によって得られた正常ヒト下垂体と経蝶形骨洞手術にて摘出した下垂体腺腫症例を用いて免疫組織学的手法及びRT-PCR法によって検討を加えた。摘出標本は4%パラホルムアルデヒドにて固定し、パラフィン切片を作成した。使用した抗体は抗murine Ptx 1 polyclonal抗体（抗原murine Ptx 1；31-50、dilution 1:4000）及びsanta-cruz社のNeuro D（N-19） polyclonal抗体（dilution 1:200）であり、ABC法にて発色をおこなった。一部症例に関してはそれぞれWestern blotting法により蛋白の発現を確認した。対象症例はPtx 1が73例（GH産生腺腫14例、PRL産生腺腫12例、ACTH産生腺腫20例、TSH産生腺腫7例、gonadotropin陽性例10例を含む非機能腺腫20例）、Neuro D1が50例（GH産生腺腫10例、PRL産生腺腫10例、ACTH産生腺腫10例、gonadotropin陽性例10例を含む非機能腺腫20例）である。

また凍結組織標本をそれぞれ19症例用いてRT-PCR法によってPtx 1 mRNA及びNeuro D1 mRNAの発現を検討した。

【結果】

Ptx 1 は下垂体腺腫73例中63例（86.3 %）に陽性を示し、ゴナドトロピン陽性下垂体腺腫においても10例中9例（90%）が陽性所見を呈していた。また、正常下垂体1例および下垂体腺腫18例（ゴナドトロピン陽性下垂体腺腫4例を含む）にたいして施行したRT-PCR法では、全症例においてPtx 1 mRNAの発現が確認された。

Neuro D1を下垂体腺腫19症例（ゴナドトロピン陽性下垂体腺腫4例を含む）を対象としたRT-PCR法で検討した結果、ACTH産生腺腫3例中3例、および非機能性腺腫8例中6例（うちゴナドトロピン陽性例で4例中3例）でNeuro D1 mRNAの発現が認められたが、GH産生腺腫およびPRL産生腺腫ではNeuro D1 mRNAの発現は認められなかった。

次に、ゴナドトロピン陽性腺腫10症例を含む下垂体腺腫50症例をもちいて免疫組織学的手法にてNeuro D1 のタンパクの発現を検討したところ、ACTH産生腺腫およびゴナドトロピン陽性例を含む非機能性腺腫症例において高い発現率を示しており、RT-PCRの結果と同様な所見を呈していた。また抗体の特異性を確認するためにACTH産生腺腫を用いてWestern blottingを行ったところ、Neuro D1蛋白に一致する50kDa付近に単一のバンドが認められた。

【考案・結論】

Ptx 1 は典型的なホメオドメイン構造をもつ315のアミノ酸からなる転写因子であり、当初POMC の転写活性に重要な役割を果たしているとして注目された⁷⁾。また、その後の検索によって他の前葉ホルモンの転写活性への関与も示されてきた。下垂体腺腫においても今回示したようにすべての腺腫での発現が認められ、gonadotropin陽性非機能性腺腫でも高い頻度で発現が認められた。近年、正常下垂体ゴナドトロピン陽性細胞においてPtx 1 とGnRHおよびPtx 1と他の転写因子（SF-1、Egr-1、GATA-2 etc）との協調作用による機能発現への関与が諸家によって報告されている⁸⁾。我々の示した結果は、Ptx 1のゴナドトロピン陽性下垂体腺腫の機能発現への関与を示唆するものであり、他の転写因子との協調

作用についてさらなる検索をすすめる必要がある。

Neuro D1は basic helix-loop-helix (bHLH) 構造の転写因子で、胎生期に発現が認められ、他のbHLH構造の転写因子であるHes-1、Mash-1等との相互作用によって神経の分化を制御することが示されている。また、膵臓の内分泌細胞でも発現があり、インスリン遺伝子の転写活性への関与が示されている(10)。一方、正常下垂体においてはcorticotroph cellに特異的に発現が認められ、POMC遺伝子の転写に関与していることがDrouinらによって報告された(9)。この報告によると、Neuro D1は他のbHLH因子とheterodimerを形成し、POMC遺伝子のプロモーター領域のE box (CANNTG) と呼ばれるbinding siteに特異的に結合し、Ptx 1との協調作用によってPOMCの転写活性を促進するとされている。しかし、下垂体腺腫での発現に関しては未だ明らかにされていない。今回、我々は下垂体腺腫組織標本を用いて免疫組織化学的手法によってNeuro D1蛋白の発現を検討し、また凍結下垂体腺腫標本を用いたRT-PCR法によってNeuro D1 mRNAの発現を検討した。その結果、Neuro D1はACTH産生腺腫において特異的に発現が認められたが、我々がすでに示したようにACTH産生腺腫においてPtx-1の発現も同様に認められ、正常下垂体前葉corticotroph cellで見られるようなPtx-1とNeuro D1との相互作用がACTH産生腺腫の機能発現へ関与していることが示唆された。さらに、Neuro D1はゴナドトロピン陽性例を含む非機能性腺腫症例でも高い発現率を示したが、これはNeuro D1の同腺腫の機能発現への関与の可能性を示唆するものであり、現在さらに解析を続けている。

また、Neuro D1の下垂体腺腫機能分化への関与を考察する上で、非常に興味深い実験結果が報告されている(11)_12)。In vitro での筋肉の分化を分析中、bHLH転写因子のひとつであるMyo Dと呼ばれる転写因子の発現が、マウス胚繊維芽細胞 (10T/2) を筋芽細胞に転換するのに十分であることが見い出された。トランスフェクションで導入されたMyo DのcDNAの発現だけで、筋肉クレアチンリン酸化酵素遺伝子のような筋肉特異性遺伝子の発現が最終的にもたらされるカスケード反応が開始され、トランスフェクションされた細胞が機能する筋繊維へ融合した。すなわち、bHLH因子は細胞の発生段階において、その細胞の運命を直接プログラムするマスター調節因子として機能するのである。そのような観点からは、腺腫発生過程におけるNeuro D1の発現がACTH産生腺腫およびゴナドトロピン陽性下垂体腺腫の機能分化へ関与しているという可能性が考えられた。

以上、ACTH産生腺腫に加え、非機能腺腫特にゴナドトロピン陽性例における転写因子Ptx 1 及び Neuro D1の局在について我々のこれまでの研究成果を報告した。今後さらなる解析を行い他の転写因子との協調作用等を徐々に明らかにして行きたい。

【文献】

1. Voss JW, Rosenfeld MG: Anterior pituitary development: Short tales from dwarf mice. Cell 70: 527-530, 1992.
2. Bonder M, Castrillo JL, Theill LE, et al: The pituitary-specific transcription factor GHF-1 is a homeobox-containing protein. Cell 55: 505-518, 1988.

3. Ingraham HA, Chen R, Mangalam HJ, et al: A tissue specific transcription factor containing a homeodomain specifies a pituitary phenotype. *Cell* 55:519-529, 1988.
4. Mangalam HJ, Albert VR, Ingraham HA, et al: A pituitary POU domain protein, Pit-1 activates both growth hormones and prolactin promoters transcriptionally. *Genes Dev* 3: 946-958, 1989.
5. Steinfelder HJ, Rodovick S, Mroczynski MA, et al: Role of a pituitary specific transcription factor (Pit-1/GHF-1) or a closely related protein in cAMP regulation of human thyrotropin-b subunit gene expression. *J Clin Invest* 89:409-419, 1992.
6. Sanno N, Teramoto A, Osamura RY, et al: In situ hybridization analysis of Pit 1 mRNA and hormonal production in human pituitary adenomas. *Acta Neuropathol* 91:263-268, 1996.
7. Lamonerie T, Trembly JJ, Drouin J, et al: Ptx 1, a bicoid related homeo box transcription factor involved in transcription of the proopimelanocortin gene. *Genes Dev* 10:1284-1295, 1996.
8. Trembly JJ, Lanctot C, Drouin J: The pan-pituitary activator of transcription, Ptx 1, acts in synergy with SF-1 and Pit-1 and is an upstream regulator of the Lim-Homeodomain gene *Lim3/Lhx3*. *Mol Endocrinol* 1998;12:428-441, 1998.
9. Poulin G, Turgeon B, Drouin J: Neuro D1/b2 contributes to cell-specific transcription of the POMC gene. *Mol Cell Biol* 17: 6673-6682, 1997.
10. Naja FJ, Stellrecht CMM, Tsai MJ: Tissue-specific regulation of the insulin gene by a novel basic helix-loop-helix transcription factor. *Genes Dev* 9: 1009-1019, 1995.
11. Philip GC, Peter AJ, Wieland G: Functional striated muscle cells from non-myoblast precursors following 5-azacytidine treatment. *Nature* 267:364-366, 1977.
12. Woodring EW, David AS, Victor KL: Myogenin, a factor regulating myogenesis, has a domain homologous to Myo D. *Cell* 56:607-617, 1989.

【4】下垂体ホルモン複合欠損症

「下垂体ホルモン複合欠損症」座長のまとめ

橋本浩三 (高知医科大学第二内科)

昨年に引き続き、自己免疫性視床下部・下垂体炎における抗下垂体抗体についての検討が行われた。

橋本ら(高知医大)は、自己免疫性視床下部下垂体炎における抗GH及び抗ACTH抗体の存在につき検討した。抗GH抗体については、ラットやヒト下垂体のサイトゾール分画やヒトGHを抗原としたウエスタンブローティング法により検討された。ラット下垂体サイトゾールを抗原とすると、リンパ球性下垂体炎(前葉炎+漏斗神経葉炎)において11例中2例が22kDa抗原に対し陽性であったが、シーハン症候群44%、橋本病25%、バセドウ病8%、産前婦人15%、産後の婦人7.3%、健常人5%とリンパ球性下垂体炎における特異性は低かった。ヒト下垂体サイトゾールを抗原とした場合は、リンパ球性下垂体炎では、22kDa抗原に対し11例中8例が陽性と高い陽性率を示し、甲状腺疾患では陽性者はなく、産後の婦人で僅かに陽性者を認める程度であった。また、49kDa抗原に対する陽性バンドも5例に認められた。GHの分子量が22kDaであることより、下垂体の22kDaの抗原としてGHが考えられたため、ヒトGHを抗原としてウエスタンブローティングを行ったところ、リンパ球性下垂体炎では全例陽性であり、橋本病の血清では陰性であった。

22kDa抗原がGHであることを確認するため、先端巨大症患者の下垂体腺腫組織やマウスのACTH産生下垂体腺腫(AtT-20)細胞のサイトゾールを抗原として、ウエスタンブローティングを行うと、先端巨大症のサイトゾールでは22kDaに陽性バンドを認めたが、AtT-20細胞のサイトゾールでは陽性バンドを認めなかった。

抗GH抗体陽性と下垂体機能低下の関係を検討したところ、抗体陽性者で下垂体機能が低下している例や下垂体機能が正常な例、抗体陰性者で下垂体機能が低下している例などと様々であり一定の傾向は認められず、この抗体の病因的意義は明らかでなかった。

抗ACTH活性は患者血清(10倍希釈)の ^{125}I ACTH(1-39)結合活性を20%ポリエチレングリコール法により測定するスクリーニング法により検討された。リンパ球性下垂体炎では11例中1例のみが陽性、その他の下垂体機能低下症では14例中1例が陽性、多腺性自己免疫性内分泌疾患では8例中2例が陽性と陽性率は低く、疾患特異性も低かった。

加藤ら(島根医大)も同様にウエスタンブローティング法によりリンパ球性下垂体炎13例、リンパ球性漏斗神経葉炎12例及びACTH単独欠損症患者4名において抗下垂体抗体について検討した。ヒト下垂体膜分画を用いた場合、リンパ球性下垂体炎13例中5例で68、49、43kDaの陽性バンドが認められた。リンパ球性漏斗神経葉炎患者では12例中1例で49kDaの陽性バンドを認めた。ACTH単独欠損症では陰性であった。

これらの抗体は、蛍光抗体法による抗下垂体抗体の結果と必ずしも一致していなかった。

プレドニゾロン投与を受けたリンパ球性下垂体炎患者2例の治療前後や、長期経過観察された例の病初期と最近の検体で治療後に抗体価の低下を認めた。また、13例の患者のうち、抗下垂体抗体が陽性であった5例はいずれも発症後4年以内に血清が採取された症例であり、5年以上経過した例では抗体は全例陰性であった。以上より、ヒト下垂体膜分画に対する抗体は、リンパ球性下垂体炎に特異性が高く、発病初期に陽性となり、治療経過とともに抗体価が下がる可能性が示された。

以上、2つのグループの抗下垂体抗体の検討から、これらの抗体の病因的意義はなお明らかではないが、自己免疫性視床下部・下垂体炎の診断的意義はある程度あるものと考えられた。

次に島津ら（京都大学）は、Prophet of Pit-1 (Prop-1) の遺伝子変異がヒトの家族性複合性下垂体ホルモン欠損症の原因となることが明らかにされていることより、ヒトの Prop-1 cDNA のクローニングを行い、その転写活性化能と正常下垂体での発現を検討した。その結果、ヒト Prop-1 は226個のアミノ酸から成り、その N 端、ホメオドメイン、C 端はマウス Prop-1 とそれぞれ48.5%、93.3%、77.6%と相同性を示し、既報の配列とは142番目のアミノ酸のアラニンがスレオニンである点以外は同一であった。この変異は多型性と考えられた。転写活性は C 端にのみ認められた。ノーザンブロット法では、ヒト成人組織では下垂体のみ Prop-1 遺伝子発現が認められた。また、RT-PCR 法を用いた検討では、Pit-1 遺伝子の発現が GH、PRL、TSH 産生腺腫のみに認められたのに対して、Prop-1 遺伝子の発現は ACTH 産生腺腫や非機能腺腫においても認められた。Prop-1 遺伝子変異をもつ複合性下垂体ホルモン欠損症患者の中には GH、PRL、TSH の欠損のみでなく、ゴナドトロピン系の障害や ACTH 系の障害を示す例もあることより、Prop-1 は Pit-1 遺伝子のエンハンサーとしての機能以外にも、直接または他の転写因子を介して ACTH、LH、FSH 遺伝子の発現調節にも関与している可能性が推定された。また、各種下垂体腫瘍から得られた Prop-1 cDNA には、14例中7例で、のべ10カ所の mutation を認めたがいずれも silent mutation であったことより、ヒト Prop-1 遺伝子の変異が下垂体腫瘍発生に関わっている可能性は低いことが報告された。

最後に、田中（国立小児病院）からは Growth Hormone Research Society (GRS) の要請で、1999年10月に世界の小児内分泌医、内分泌内科医44名が検討しコンセンサスに達した「小児の GHD における診断と治療のコンセンサスガイドライン」の案につき紹介があった。この案は現在日本小児内分泌学会で承認につき検討中である。この案によると、以前当班会議で作成された成長ホルモン分泌不全性低身長症の診断の手引きも改訂する必要がある、その改定案が紹介され意見が求められた。

自己免疫性視床下部下垂体炎における抗 GH 及び抗 ACTH 抗体の検討

分担研究者	橋本浩三	(高知医科大学第二内科)
研究協力者	高尾俊弘	(同)
	七宮和歌子	(同)
	浅羽宏一	(同)

【背景】

昨年の本会議において、リンパ球性下垂体炎や Sheehan 症候群の他、甲状腺疾患患者や産前産褥婦人において、Western blotting を使用して22kDa 抗体が認められたことを報告した。今回、自己免疫性視床下部下垂体炎や他の自己免疫性内分泌疾患などにおいて、抗 GH 及び抗 ACTH 抗体の検討を行い、それらの疾患特異性を検討した。

【方法】

抗GH 抗体検出法については、ラット又はヒト下垂体をホモジナイズし、超遠沈後、細胞質分画を抽出、これを粗抗原としたものをアクリルアミド電気泳動し、メンブレンにトランスファーした。メンブレンに患者血清 (x200) を一次抗体として反応させ、抗ヒトヤギ血清 (x2500) を二次抗体としてブロッキングを行い、抗下垂体抗体を検索した。またヒト GH や PRL を抗原として泳動し、これと患者血清との反応性を同様に検討した。

抗 ACTH 抗体活性は各種内分泌疾患患者、出産前後婦人の10倍希釈血清中ガンマグロブリンの ^{125}I -ACTH (1-39) 結合率を20%ポリエチレングリコール法により測定し、それと同血清に20ng の ACTH (1-39) を添加時の結合率との差を、その血清の抗 ACTH 抗体活性とするスクリーニング法により検討した。

先端巨大症及び Cushing 病患者の下垂体腺腫組織やマウス AtT-20 細胞の細胞質分画を抽出し、それぞれの抗原と上記患者の陽性血清との反応性を Western blotting 法にて検討した。

【結果】

図 1 にヒト下垂体サイトゾールを抗原として使った Western blotting の例を示す。リンパ球性下垂体前葉炎、漏斗神経葉炎、シーハン症候群、中枢性尿崩症、ACTH 単独欠損症、産後の婦人の血清で、22kDa 付近にバンドが認められたが、橋本病では認められなかった。またリンパ球性下垂体前葉炎、漏斗神経葉炎では 49kDa 付近にもバンドが認められた。

ラット下垂体サイトゾールを抗原として用いたものでは、リンパ球性下垂体炎において11例中2例が陽性であった。シーハン症候群44.4%、橋本病25.8%、バセドウ病8.3%、産前婦人15.4%、産後の婦人7.3%、健常人は5.3%陽性であった。一方、ヒト下垂体サイトゾールを抗原として使ったものでは、リンパ球性下垂体炎において11例中8例が陽性とラ

ット下垂体を使用したものより、陽性者が高率であった。甲状腺疾患では陽性者なし、産後の婦人で僅かに陽性者を認めた。

リンパ球性下垂体前葉炎の血清にヒト GH を抗原として反応させると 22kDa 付近にバンドが認められたが橋本病の血清ではバンドは認められなかった。一方、ヒト PRL とリンパ球性下垂体前葉炎及び橋本病患者血清を反応させたが、どちらにも陽性バンドは認められなかった (図 2)。

リンパ球性下垂体炎の症例における Western blotting を使用しての抗下垂体抗体のまとめを表-1に示した。LAHy は前葉炎を LINHy は漏斗神経葉炎を示す。11例中ラットサイトゾール及び GH を用い、22kDa 抗体陽性のものは2例であった。ヒトサイトゾールを用いたものでは 22kDa 抗体陽性8例、49kDa 抗体陽性5例であったが、ヒト GH を抗原とすると全例に 22kDa 抗体が陽性になった。

リンパ球性下垂体炎の症例における抗下垂体抗体と下垂体機能について検討したものが表-2である。22kDa 抗体が存在して下垂体機能が低下しているもの、22kDa 抗体が存在して下垂体機能が正常なもの、22kDa 抗体が存在しなくて下垂体機能が低下しているものと様々で一定の傾向を認めなかった。

各種疾患患者血清の ^{125}I -ACTH binding activity を表-3に示す。健常者血清の ^{125}I -ACTH 結合活性の Mean+2SD 以上を陽性とした。リンパ球性下垂体前葉炎11例中 LINHy の1例が陽性であった。下垂体機能低下症では14例中1例が陽性、多腺性自己免疫性内分泌疾患では8例中2例が陽性と少数ながら陽性者が認められた。橋本病、産前産後婦人には陽性者は認められなかった。

先端巨大症、Cushing 病の下垂体腺腫組織及びマウス AtT-20 細胞の細胞質分画を抽出し、それぞれを抗原としてリンパ球性下垂体炎患者血清との反応性を Western-blotting 法にて検討した。先端巨大症では 22kDa 付近にバンドが認められたが (図 3)、Cushing 病及びマウス AtT-20 細胞ではバンドは認められなかった。

【考案】

抗下垂体抗体は1965年 Engelberth と Jezkova によって Sheehan 症候群で初めて検出された¹⁾。我が国では従来、下垂体細胞質抗体 (PCA) の検出にはラット下垂体凍結切片が用いられ、下垂体細胞膜抗体 (PCSA) の検出にはマウス AtT-20 細胞やラットの GH3 細胞が用いられてきたが、これらの検出法の特異性には疑問がもたれている²⁾。近年、オーストラリアの Crock は免疫蛍光法に代わり免疫ブロット法を用いて、49及び 40kDa のサイトゾール蛋白に対する抗体をリンパ球性下垂体炎のみならず ACTH 単独欠損症で高率に認めたと報告している³⁾。今回我々の検討ではリンパ球性下垂体炎では11例中ラット抗原を用いたものでは2例、ヒト抗原では8例に22kDa 抗体がみられており、ヒト抗原を使用したものの方が感度が勝ると考えられた。また、ヒト抗原を用いたものでは11例中5例に 49kDa 抗体を認めており、Strömberg らの下垂体機能低下症の28%に 49kDa の下垂体サイトゾール蛋白がみられ、これはコントロールの6.8%より明らかに高いという報告と一致している³⁾。

しかし、我々の検討では 49kDa 抗体は ACTH 単独欠損症には認められておらず、今後の検討を要する。甲状腺疾患に関しては、矢部らがラット下垂体を使用した Western blotting にて 22kDa 陽性バンドがバセドウ病及び橋本病で22-26%にみられたと報告している^{6) 7)}。今回の結果においてはラット抗原を用いたものでは抗下垂体抗体はバセドウ病より橋本病に多く検出されているが、ヒト抗原では甲状腺疾患では22kDa 抗体は見られておらず、ヒト抗原を使用したものの方が特異性が高いと思われる。

22kDa のバンドの本体を検討するため、ヒト GH を抗原としてリンパ球性下垂体炎患者血清と反応させるとリンパ球性下垂体前葉炎の血清では同部位にバンドが認められた。Yabe らは Western blotting 法にてラット下垂体抗原に抗 GH 抗体や抗 PRL 抗体を反応させると 22kDa バンドが認められることにより、自己免疫性内分泌疾患患者血清には抗 GH 抗体や抗 PRL 抗体が存在することを報告した⁸⁾。今回の検討でもヒト GH を抗原としてリンパ球性下垂体炎患者血清と反応させると同部位にバンドが認められたことにより、リンパ球性下垂体炎の血清では GH に対する抗体が存在することが示唆された。先端巨大症の下垂体腺腫組織の細胞質分画を抗原として患者血清と反応させると、22kDa 付近にバンドが認められたことも GH に対する抗体の存在を示唆している。しかしながら、前葉炎を呈さない LINHy で GH に対する抗体が認められる理由は明らかでない。

抗 ACTH 抗体は数カ月に渡り ACTH 製剤を投与したときに認められるという報告がある⁹⁾。今回の検討では、抗 ACTH 抗体活性が、リンパ球性下垂体炎を含む内分泌患者血清において少数ながら認められた。しかしその抗体活性は比較的低いものが多かった。Mau らは empty sella 下垂体腫瘍患者の抗下垂体抗体を免疫ブロット法を用いて検討した¹⁰⁾。それによると、45%に抗下垂体抗体が認められ、抗GH抗体や抗TSH抗体に比し、抗ACTH抗体の頻度が最も高率であったという¹⁰⁾。出現頻度の差異に関しては対象疾患の違いの他に免疫ブロット法の差異などが考えられる。

抗下垂体抗体と下垂体機能に関しては、診断的に意義がある³⁾ というものから無いものまで報告によってまちまちである¹⁰⁾。今回の検討でも 22kDa 抗体、抗 ACTH 抗体の陽性患者の下垂体機能は様々で一定の傾向を認めなかった。今後症例を増やして、病因的意義について検討する必要がある。

【まとめ】

自己免疫性視床下部下垂体炎で抗下垂体抗体が認められ、ヒト下垂体を抗原としたものの方がラット下垂体を用いたものより陽性率と疾患特異性が高率であった。22kDa 抗体の少なくとも一部は抗 GH ホルモン抗体である可能性が示唆された。各種内分泌疾患の患者血清に低頻度ながら抗 ACTH 抗体を示唆する ACTH 結合活性を認めたが、疾患特異性は明らかではなかった。

【文献】

1. Engelberth O, Jezkova Z: Autoantibodies in Sheehan's syndrome. Lancet 1: 1075, 1965.
2. 橋本浩三：自己免疫性視床下部・下垂体疾患。日内会誌 86: 2320-2325, 1997.

3. Crock PA: Cytosolic autoantigens in lymphocytic hypophysitis. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 609-618, 1998.
4. Kobayashi T, Yabe S, Kikuchi T, Kanda T, Kobayashi I: Presence of anti-pituitary antibodies and GAD antibodies in NIDDM and IDDM. *Diabetic Care* 20: 864-866, 1997.
5. Strömberg S, Crock P, Lernmark Å, Hulting A-L: Pituitary autoantibodies in patients with hypopituitarism and their relatives. *J Endocrinol* 157: 475-480, 1998.
6. 矢部茂季、飯塚紀美代、早川昌基、小林良乃、福村幸仁、菊池 孝、栗原敦志、小林 功：血中抗下垂体抗体に関する臨床的検討。 *日本内分泌学会誌*70: 341, 1994.
7. 矢部茂季、小林良乃、早川昌基、福村幸仁、菊池 孝、栗原敦志、小林 功：甲状腺疾患における血中抗下垂体抗体に関する検討。 *日本内分泌学会誌*70: 886, 1994.
8. Yabe S, Murakami M, Maruyama K, Miwa H, Fukumura Y, Ishii S, Sugiura M, Kobayashi I: Western blot analysis of rat pituitary antigens recognized by human antipituitary antibodies. *Endocr J* 42: 115-119, 1995.
9. Hashimoto K, Takahara J, Takaya Y, Yunoki S, Ofuji T: Anaphylactic shock after synthetic adrenocorticotropin-(1-18) in a patient with isolated adrenocorticotropin and beta-lipotropin deficiency. *J Clin Endo Metab* 51: 1175-1179, 1980.
10. Mau M, Phillips TM, Ratner RE: Presence of anti-pituitary hormone antibodies in patients with empty sella syndrome and pituitary tumour. *Clin Endocrinol* 38: 495-500, 1993.

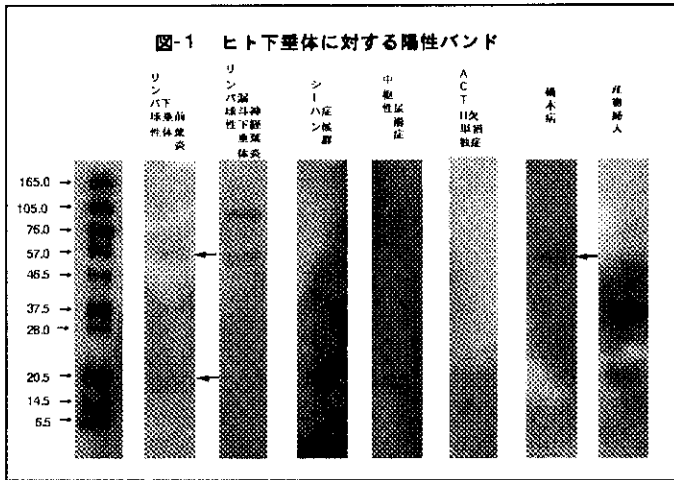


表-1 リンパ球性下垂体炎における抗下垂体抗体

症例	年齢	性別	病名	ラット沈殿		ヒト沈殿		
				Cytosol	ラットGH	22kDa	49kDa	ヒトGH
1	64	M	LAHy	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
2	55	F	LAHy	(+)	(+)	(+)	(+)	(=)
3	42	M	LAHy+LINHy	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
4	23	M	LAHy+LINHy	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
5	34	F	LINHy	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
6	68	F	LINHy	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
7	60	M	LINHy	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
8	54	M	LINHy	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
9	49	M	LINHy	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
10	43	M	LINHy	(-)	(-)	(+)	(+)	(=)
11	43	F	LINHy	(-)	(-)	(+)	(-)	(=)

LAHy: リンパ球性下垂体炎
LINHy: リンパ球性下垂体神経芽腫

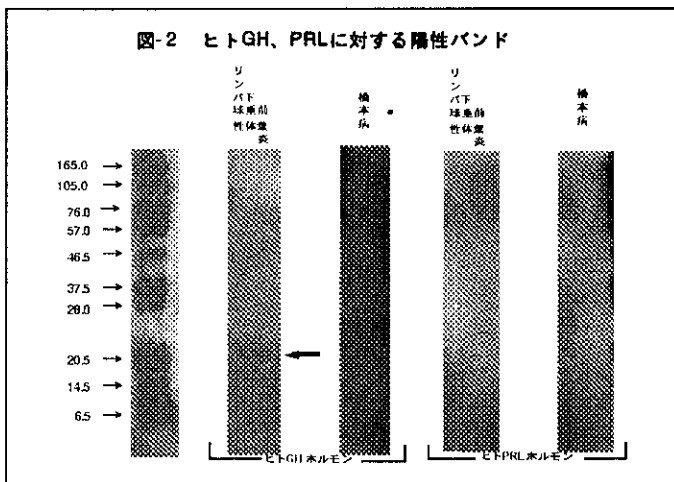


表-2 リンパ球性下垂体炎における抗下垂体抗体と下垂体機能

症例	病名	沈殿		下垂体前葉機能					
		22kDa	NGH	GH	ACTH	LH	FSH	TSH	PRL
1	LAHy	(+)	(+)	-	-	=	-	+	-
2	LAHy	(+)	(=)	-	-	+	-	++	++
3	LAHy+LINHy	(-)	(+)	-	-	-	-	-	-
4	LAHy+LINHy	(+)	(+)	+	+	-	-	+	++
5	LINHy	(-)	(+)	++	+	+	+	+	+
6	LINHy	(+)	(+)	-	N	+	+	+	+
7	LINHy	(+)	(+)	+	++	+	+	+	+
8	LINHy	(-)	(+)	N	N	N	N	N	N
9	LINHy	(+)	(+)	-	+	+	+	+	+
10	LINHy	(+)	(=)	=	+	++	+	+	+
11	LINHy	(+)	(=)	+	+	+	+	+	+

++: 負荷試験過剰反応 -: 負荷試験無反応
+: 負荷試験正常反応 N: 負荷試験施行せず
=: 負荷試験低下反応

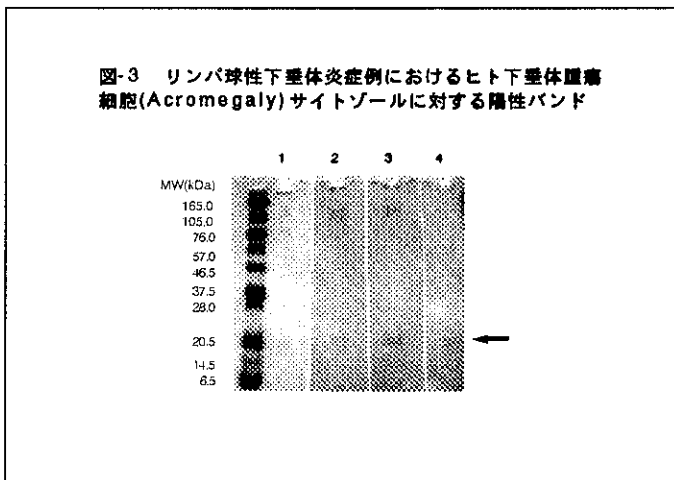


表-3 各種疾患患者血清の¹²⁵I-ACTH binding activity

疾患名	総数	陽性数	陽性率(%)
リンパ球性下垂体炎	11	1	9.1
下垂体機能低下症	14	1	7.1
ACTH単独欠損症	7	0	0
多腺性自己免疫性内分泌疾患	8	2	25.0
バセドウ病	26	1	3.8
橋本病	29	0	0
産前婦人	52	0	0
産褥婦人	25	0	0
健常人	38	0	0
高齢者	25	0	0
若年者	13	0	0

自己免疫性視床下部下垂体炎患者血清中の抗下垂体抗体に関する検討

分担研究者 加藤 讓 (島根医科大学第一内科)
研究協力者 村上宜男 (同)
西木正照 (同)

【背景】

われわれは、ウエスタンブロットィング法を用いて血清中抗下垂体抗体の検出法に関する基礎的検討を行い、抗原としてヒト下垂体膜分画を用いた場合には疾患、臓器および種特異性が高いことを報告した¹⁾。今回は、本研究班の疫学調査票に基づき、主治医の協力を得て集めた血清検体に自験例を加えてリンパ球性下垂体炎、リンパ球性漏斗神経葉炎およびACTH単独欠損症患者血清中の抗下垂体抗体について検討した。

【対象と方法】

病理組織学的あるいは臨床的に診断されたリンパ球性下垂体炎患者13例、リンパ球性漏斗神経葉炎患者12例、ACTH単独欠損症患者4例の血清を用いた。対象とした症例の臨床所見を表1に示す。リンパ球性下垂体炎患者13例では、全例に頭部MRI上ガドリニウム造影で陽性を示す下垂体腫大を認められた。この中には生検で病理組織学的に診断された4例と、頭部MRI所見に加えて複数の下垂体前葉ホルモンの分泌不全が証明されるか、または妊娠を契機に頭痛、視野障害などの症状が出現した9例を含む。13例中男性例3例、女性例10例で妊娠と関連した発症が6例で認められた。13例中3例は尿崩症を合併していた。リンパ球性漏斗神経葉炎患者12例は、全例尿崩症で発症し、生検で病理組織学的に診断された3例と頭部MRI所見から診断された9例を含む。このうち2例では下垂体前葉ホルモンの分泌障害を認めた。ヒト下垂体組織は、明らかな内分泌疾患のない患者から剖検時に得たものを用いた。組織をホモジナイズしたのち100,000gの超遠心分離で得られたヒト下垂体膜蛋白5 μ gをSDS-PAGE法で電気泳動し、ニトロセルロース膜に転写した。50倍希釈の患者血清と2時間反応させた後、1,000倍に希釈したビオチン化抗ヒトIgGヤギ血清と1時間インキュベートしたのち、可視化した。

【結果】

今回検討した抗ヒト下垂体膜分画抗体の成績を、本研究班の疫学調査票に記載された抗ラット下垂体抗体やその他の自己抗体と比較して示す(表2)。リンパ球性下垂体炎患者13例における検討では、病理組織学的に診断された4例中2例、臨床的に診断された9例中3例の計5例で68,49,43kDの陽性バンドを認めた。リンパ球性漏斗神経葉炎患者12例中1例のみ49kDの陽性バンドを認めた。ACTH単独欠損症患者4例は全て陰性であった。疫学調査