

(表 1)

No	Age	Sex	Type	mPOU Stain
1	61	F	Non-F	-
2	35	F	Non-F	-
3	54	F	Non-F	-
4	45	M	Non-F	-
5	50	M	Non-F	-
6	59	M	Non-F	-
7	67	M	Non-F	-
8	67	M	FSH	-
9	22	F	PRL	+
10	23	F	PRL	+
11	37	F	PRL	+
12	20	F	PRL	+
13	41	M	PRL	+
14	39	F	GH	+
15	36	M	GH	+
16	52	M	GH	+
17	50	M	GH	+

Non-F : 非機能性腺腫

FSH : FSH 產生腫瘍

PRL : PRL 產生腫瘍

GH : GH 產生腫瘍

# プロラクチン、成長ホルモン遺伝子発現におけるcAMP-MAPキナーゼ系の意義

分担研究者	宮崎康二（島根医科大学産婦人科）
研究協力者	米原利栄（同）
	金崎春彦（同）
	山本秀幸（熊本大学医学部第一薬理）
	福永浩司（同）
	宮本英七（同）

## 【目的】

細胞膜受容体刺激からホルモン合成・分泌に至る細胞内情報伝達機構には、様々な経路が存在することが知られている。これまでに我々はモデル細胞としてラット下垂体腺腫細胞であるGH3細胞を用い、thyrotropin-releasing hormone (TRH)刺激により、ホルモン合成においては、protein kinase Cを介してMAPキナーゼが活性化され、プロラクチン (PRL)合成が増加し、成長ホルモン (GH)合成が減少することを報告した。またTRH刺激によるホルモン分泌においては、MAPキナーゼ系を介さず、Ca<sup>2+</sup>系経路を介することも報告した。そこで今回は、細胞内cAMPレベルの上昇がPRLとGHの合成・分泌へ及ぼす効果を検討するため、CPT-cAMPと、細胞内cAMPレベルを上昇させることで知られるpituitary adenylate cyclase-activating polypeptide 27 (PACAP27)を用い、細胞内cAMPがPRL、GHの合成・分泌に及ぼす影響と、その反応機構へのMAPキナーゼ系の関与について検討した。

## 【対象と方法】

GH3細胞を培養し、CPT-cAMP (1 mM)、PACAP27(100 nM)で細胞を処理した。細胞抽出物からは、MAPキナーゼ活性をゲル内燐酸化法で、細胞内PRL、GHをRIAで、PRL、GHプロモーター活性はルシフェラーゼリポーター遺伝子法で測定した。Total RNAからはRT-PCR法でPRL、GH mRNAを定量した。また、培養液からは分泌されたPRL、GHをRIAで測定した。

## 【結果】

CPT-cAMP 1mM, PACAP27 100 nMでGH3細胞を刺激すると、いずれもMAPキナーゼ活性は増加した。これらの活性化は、H89(cAMPキナーゼ(PKA)阻害剤)や、PD098059(PD) (MAPキナーゼキナーゼ(MEK)阻害剤) によって完全に阻害された。CPT-cAMP24時間刺激によりPRLの細胞内蛋白量、mRNA発現量は増加した。反対にGHの細胞内蛋白量、mRNA発現量は減少した。プロモーター活性化反応は6時間刺激でPRL、GH共に上昇した。また

PACAP27刺激によっても、24時間刺激でPRL細胞内ホルモン量、mRNA発現量、プロモーター活性は増加し、GHについては減少した。CPT-cAMP及びPACAP27によるPRLプロモーター活性の増加は、H89及びPDにより完全に阻害された。PKAの恒常活性型をGH3細胞に導入し、PKAを過剰発現させると、MAPキナーゼ活性は上昇し、細胞内PRL量、PRLmRNA発現量、PRLプロモーター活性のいずれも増加した。反対に細胞内GH量、mRNA発現量は減少した。PKA過剰発現による細胞内PRL量の増加は、H89、PD098059により抑制された。一方、CPT-cAMP、PACAP27の60分刺激により、PRL及びGH分泌量は増加した。この増加はPDにより抑制されず、H89、KN93 (Ca<sup>2+</sup>/calmodulin依存性キナーゼII(CaMKII)阻害剤)や、wortmannin (ミオシン軽鎖キナーゼ(MLCK)阻害剤)により抑制された。

#### 【考察】

これまでに、TRH刺激によりMAPキナーゼが活性化し、PRLの遺伝子発現が上昇しGHの遺伝子発現が減少することを報告してきた<sup>1)</sup>。その場合と同様に、細胞内cAMP上昇によっても、PRLの遺伝子発現が増加し、GHの遺伝子発現が減少し、その伝達経路にはMAPキナーゼ活性化反応が関与することが示唆された。PKAをGH3細胞に過剰発現すると、MAPキナーゼ活性が増加し、その増加がPD098059で抑制されることから、cAMPからPKAを介し、少なくともMEK及びその上流を介してMAPキナーゼが活性化され、ホルモン分泌に影響を与えていると考えられた。一方、細胞内cAMPレベルの上昇によるホルモン分泌は、CaMKIIやMLCKを介することが示唆された。従って、cAMP刺激によるPRL、GHの分泌においても、その合成経路とは異なり、Ca<sup>2+</sup>系経路を介して促進され、MAPキナーゼ系を介さないという前回のTRH刺激による報告<sup>1)</sup>を支持する結果となった。

#### 【結論】

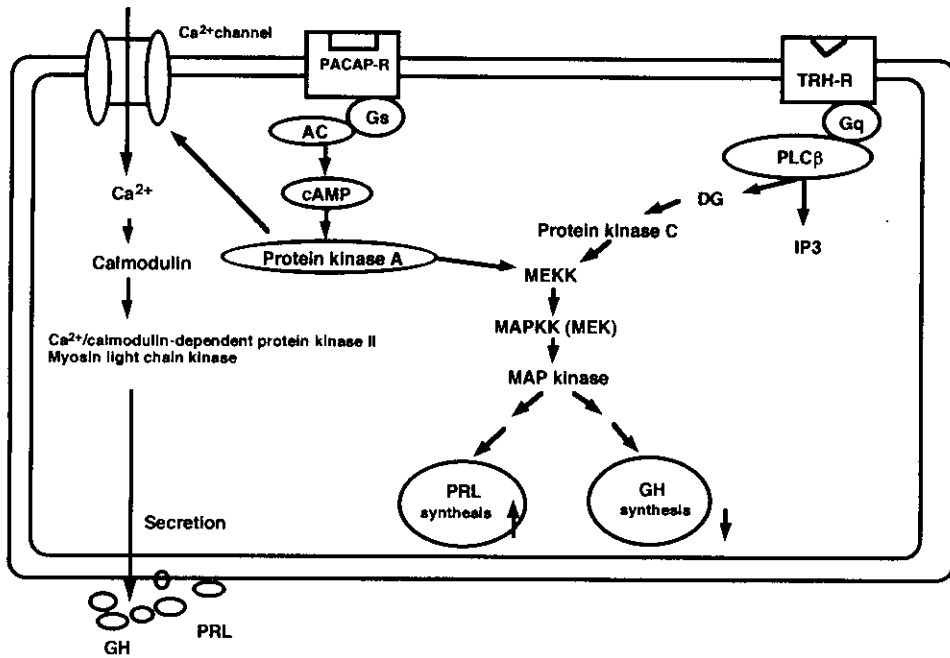
GH3細胞において、cAMP系の活性化は、MAPキナーゼを活性化することでPRL、GHの遺伝子発現に影響を与え、一方で、cAMPによるPRL、GHの分泌刺激は、MAPキナーゼ系を介さず、CaMKIIやMLCKを介して行われると考えられた。

#### 【参考文献】

1. Kanasaki H, et al : Mitogen-activated protein kinase activation by stimulation with thyrotropin-releasing hormone in rat pituitary GH3 cells. Biol Reprod 61: 319-325, 1999.

## SCHEMATIC SUMMARY

### SYNTHESIS AND SECRETION OF PRL AND GH VIA cAMP PATHWAY



# 下垂体腫瘍における高プロラクチン血症の成因について

## －不顕性ACTH細胞腺腫の症例から－

分担研究者 島津 章 (国立京都病院臨床研究部)  
研究協力者 臼井 健 ( 同 )  
田上哲也 (国立京都病院内分泌代謝疾患センター)  
葛谷英嗣 ( 同 )  
佐野壽昭 (徳島大学医学部 第一病理)

### 【背景】

下垂体に腫瘍性病変が存在し同時に高プロラクチン(PRL)血症を呈する場合、プロラクチノーマ(PRL産生腺腫)とそれ以外の下垂体病変を鑑別することは治療の面から重要である。下垂体腫瘍における高PRL血症の成因の機序には、1.下垂体腺腫による腫瘍性PRLの産生、2.下垂体腫瘍による下垂体柄圧迫または下垂体門脈血流障害によるPRL分泌抑制因子(PIF)の運搬障害、3.視床下部障害によるPIF産生分泌障害、4.下垂体腺腫から分泌される生理活性物質による非腫瘍性のPRL産生(傍分泌による)、などが考えられる。今回、高PRL血症を主徴とし、クッシング徴候に乏しい不顕性ACTH細胞腺腫の女性例を経験し(1)、その臨床経過および病理組織所見から4の機序が考えられたので報告する。

### 【症例】

患者：47歳、女性。

現病歴および現症：37歳時、乳汁分泌と高PRL血症(150-200ng/ml)があり、鞍上部進展する下垂体腫瘍を指摘された(図1)。ブロモクリプチン投与により、血中PRL値は1ng/ml以下に抑制され乳汁分泌は消失したが、腫瘍は縮小しなかった。38歳時、経蝶形骨洞的下垂体腺腫摘出術をうけ、PRL値は21ng/mlとなった。手術前後で血漿ACTH値は66-69pg/ml、血清コルチゾール値12.9-13.0 $\mu$ g/dlと変化せず、インスリン低血糖刺激に対する増加反応が欠如していた。TRH試験でPRLは頂値50ng/mlと良好な増加反応を示した。40歳時、PRL高値が続くためブロモクリプチン治療が再開された。しかし、下垂体腫瘍は徐々に増大し、44歳時 $\gamma$ -ナイフによるradiosurgeryを受けた。その後、血漿ACTH高値をきたし46歳時に精査した。

理学的所見では、身長159.7cm、体重74.2kg、BMI 29.1kg/m<sup>2</sup>、血圧130/80mmHg、乳汁漏出、び慢性肥満と丸顔を認めた。しかし、皮膚線条や水牛様肩、顔面紅潮などの典型的なクッシング徴候は欠如していた。一般検査で異常所見はなかった。経口糖負荷試験において耐糖能は正常であり、インスリンの過剰分泌もみられなかった。

内分泌検査成績では、血漿ACTH値は120pg/mlにもかかわらず、血清コルチゾール、尿

中遊離コルチゾール排泄はそれぞれ12.3 $\mu$ g/dl、90.2 $\mu$ g/dayと基準範囲内であった。1mgデキサメサゾン投与で血清コルチゾールは3.7 $\mu$ g/dlと不完全な抑制にとどまった。8mgデキサメサゾン抑制試験では尿中遊離コルチゾール、17-OHCS排泄はともに明らかに抑制された。CRH負荷に対して血漿ACTHの過剰増加反応（頂値445pg/ml）がみられた。プロモクリプチン中断8週後の血中PRL値は24.7ng/mlで無月経となった。ACTH、PRL以外の下垂体前葉ホルモンの分泌異常はみられなかった。

病理組織所見：38歳時の手術標本を再検討した。図2に示すように、HE染色ではやや赤紫色の胞体を持つ細胞が血管周囲性に増殖し、PAS陽性をしめした。免疫染色ではACTH陽性、PRL陰性、サイトケラチン(CAM5.2)は細胞質に強く陽性であった。神経ペプチドガラニンは技術的な問題で染色できなかった。腫瘍周辺の正常下垂体組織ではPRL陽性細胞が比較的多数みとめられた。

血漿ACTHおよび $\beta$ -エンドルフィン免疫活性の分子多様性：患者血漿をゲルろ過で解析した。ACTH免疫活性は大部分ACTH(1-39)の分子型で、大分子ACTH(ACTH 前駆体)は少量であった。 $\beta$ -エンドルフィン免疫活性では $\beta$ -LPHのほか複数の分子型がみられた(図3)。

#### 【考察】

高PRL血症をともなう下垂体腫瘍のうち、プロラクチノーマにおいては下垂体腺腫径と血中PRL濃度はおおそ相関しプロモクリプチン治療によく反応して腫瘍縮小効果が認められる。本症例は、当初プロラクチノーマとして加療された。しかし、腫瘍径の割にPRL値の増加は比較的軽度にとどまり、プロモクリプチンによりPRL値は感度以下に抑制されても腫瘍は縮小せずむしろ増大し、典型的なプロラクチノーマとは明らかに異なっていた。同様の症例は、Serriら(2)およびGheriらにより報告されている。内分泌学的検査成績では血漿ACTH値が高く血清コルチゾールは基準範囲内にとどまるものの低用量デキサメサゾンで抑制不十分であり、CRH試験でACTHの過剰増加反応を示した。さらに、手術前後においてインスリン低血糖刺激に対するACTHおよびコルチゾールの増加反応が欠如していたことから、ACTH分泌異常の存在は明らかである。下垂体腫瘍の組織学的検索から、臨床症状に乏しい不顕性ACTH細胞腫と診断した。

Jaapら(3)は、組織学的診断のついた不顕性ACTH細胞腫18例をまとめ、その臨床的特徴として、①臨床的クッシング徴候の欠如、②腫瘍による圧迫症状（頭痛、視野障害、外眼筋麻痺、下垂体機能低下など）が主体、③マクロアデノーマ（鞍上部進展、出血や梗塞による嚢胞状変化が多い）、④蝶形骨洞・海綿静脈洞浸潤、⑤血中ACTH正常、血中尿中コルチゾール正常、下垂体機能低下症がみられること、を報告している。本例では、血中ACTHが高値であること、下垂体機能低下症を伴っていないことを除けば、よく一致していた。本例でゲルろ過による血漿ACTHの分子多様性の検索では、ACTH免疫活性の主なピークはACTH(1-39)に一致しており、いわゆる浸潤性ACTH産生大型腺腫や不顕性ACTH細胞腫の一部にみられる不活性型大分子ACTHとは異なっていた。またCRH試験でACTH

とともに血清コルチゾールの増加もみられたため、ACTH生物活性の低下は考えにくい。

不顕性ACTH細胞腫において乳汁分泌が女性で43%に、高PRL血症は22%にみられたと報告されている(3)。クッシング病でも高PRL血症を伴う(4)が、おおむね軽度である。高PRL血症の機序として、1.腫瘍性ACTH、PRL同時産生、2.下垂体柄の圧迫、3.視床下部障害、4.傍分泌による非腫瘍性PRL産生などが考えられる。本例において、手術前にみられた中等度の高PRL血症は下垂体柄の圧迫で説明可能であろう。しかし、術後に下垂体柄圧迫は解除されても軽度の高PRL血症は続いていたことから他の機序も考えられる。免疫組織化学で腫瘍細胞のPRL染色が陰性であった。ACTH産生腺腫にともなうPRL産生はごく少数の細胞でしか認められないことが多く(4)、腫瘍性PRL産生の可能性は完全には否定できない。Vrontakisら(5)は、ヒトACTH細胞においてPRL分泌を促進する神経ペプチド・ガラニンの免疫活性を報告し、最近、ACTH腺腫細胞を用いてACTHとガラニンが同時に分泌されることが報告された(6)。今回ガラニン産生の直接証明は技術的な問題からできなかった。しかしACTH産生腺腫の海綿静脈洞サンプリングにおいて腺腫存在側ではPRLが高値であること(7)が知られており、 $\beta$ -エンドルフィンやガラニンなどACTH産生腺腫から分泌されるPRL分泌促進因子により周囲の正常組織からPRL産生が亢進している可能性が示唆される。

#### 【結語】

不顕性ACTH細胞腫による高PRL血症を経験した。高PRL血症は腺腫周囲からの非腫瘍性PRL産生・分泌亢進によると考えられた。腫瘍径とPRL上昇の程度が見合わない場合やプロモクリプチン治療で腫瘍縮小を認めない症例においてはACTH細胞腫の可能性も考慮する必要がある。

#### 文献

1. 島津 章、他: 日本内分泌学会雑誌 77増刊号: 日本間脳下垂体腫瘍学会Proceeding: 158-160, 2001.
2. Serri O, et al.: Fertil Steril 47: 792-796, 1987.
3. Jaap AJ, et al.: Proceedings of the 7th meeting of the International Pituitary Pathologist's club (Abstract). Endocrine Pathol 9: 393-394, 1998.
4. Yamaji T, et al.: J Clin Endocrinol Metab 58: 790-795, 1984.
5. Vrontakis ME, et al.: J Clin Endocrinol Metab 70: 747-751, 1990.
6. Invitti C, et al.: J Clin Endocrinol Metab 84: 1351-1356, 1999.
7. Yoshida Y, et al.: Acta Neurochir (Wien) 142: 1339-1344, 2000.

とともに血清コルチゾールの増加もみられたため、ACTH生物活性の低下は考えにくい。

不顕性ACTH細胞腫において乳汁分泌 が女性で43%に、高PRL血症は22%にみられたと報告されている(3)。クッシング病でも高PRL血症を伴う(4)が、おおむね軽度である。高PRL血症の機序として、1.腫瘍性ACTH、PRL同時産生、2.下垂体柄の圧迫、3.視床下部障害、4.傍分泌による非腫瘍性PRL産生などが考えられる。本例において、手術前にみられた中等度の高PRL血症は下垂体柄の圧迫で説明可能であろう。しかし、術後に下垂体柄圧迫は解除されても軽度の高PRL血症は続いていたことから他の機序も考えられる。免疫組織化学で腫瘍細胞のPRL染色が陰性であった。ACTH産生腺腫にともなうPRL産生はごく少数の細胞でしか認められないことが多く(4)、腫瘍性PRL産生の可能性は完全には否定できない。Vrontakisら(5)は、ヒトACTH細胞においてPRL分泌を促進する神経ペプチド・ガラニンの免疫活性を報告し、最近、ACTH腺腫細胞を用いてACTHとガラニンが同時に分泌されることが報告された(6)。今回ガラニン産生の直接証明は技術的な問題からできなかった。しかしACTH産生腺腫の海綿静脈洞サンプリングにおいて腺腫存在側ではPRLが高値であること(7)が知られており、 $\beta$ -エンドルフィンやガラニンなどACTH産生腺腫から分泌されるPRL分泌促進因子により周囲の正常組織からPRL産生が亢進している可能性が示唆される。

#### 【結語】

不顕性ACTH細胞腫による高PRL血症を経験した。高PRL血症は腺腫周囲からの非腫瘍性PRL産生・分泌亢進によると考えられた。腫瘍径とPRL上昇の程度が見合わない場合やプロモクリプチン治療で腫瘍縮小を認めない症例においてはACTH細胞腫の可能性も考慮する必要がある。

#### 文献

1. 島津 章、他: 日本内分泌学会雑誌 77増刊号: 日本間脳下垂体腫瘍学会Proceeding: 158-160, 2001.
2. Serri O, et al.: Fertil Steril 47: 792-796, 1987.
3. Jaap AJ, et al.: Proceedings of the 7th meeting of the International Pituitary Pathologist's club (Abstract). Endocrine Pathol 9: 393-394, 1998.
4. Yamaji T, et al.: J Clin Endocrinol Metab 58: 790-795, 1984.
5. Vrontakis ME, et al.: J Clin Endocrinol Metab 70: 747-751, 1990.
6. Invitti C, et al.: J Clin Endocrinol Metab 84: 1351-1356, 1999.
7. Yoshida Y, et al.: Acta Neurochir (Wien) 142: 1339-1344, 2000.



図1. 初診時（37歳）のMRI画像。上段は前額断面、下段は矢状断面像をしめす。T1-WI : T1強調画像、T1-WI Gd-DTPA : ガドリニウム造影T1強調画像、T2WI : T2強調画像。

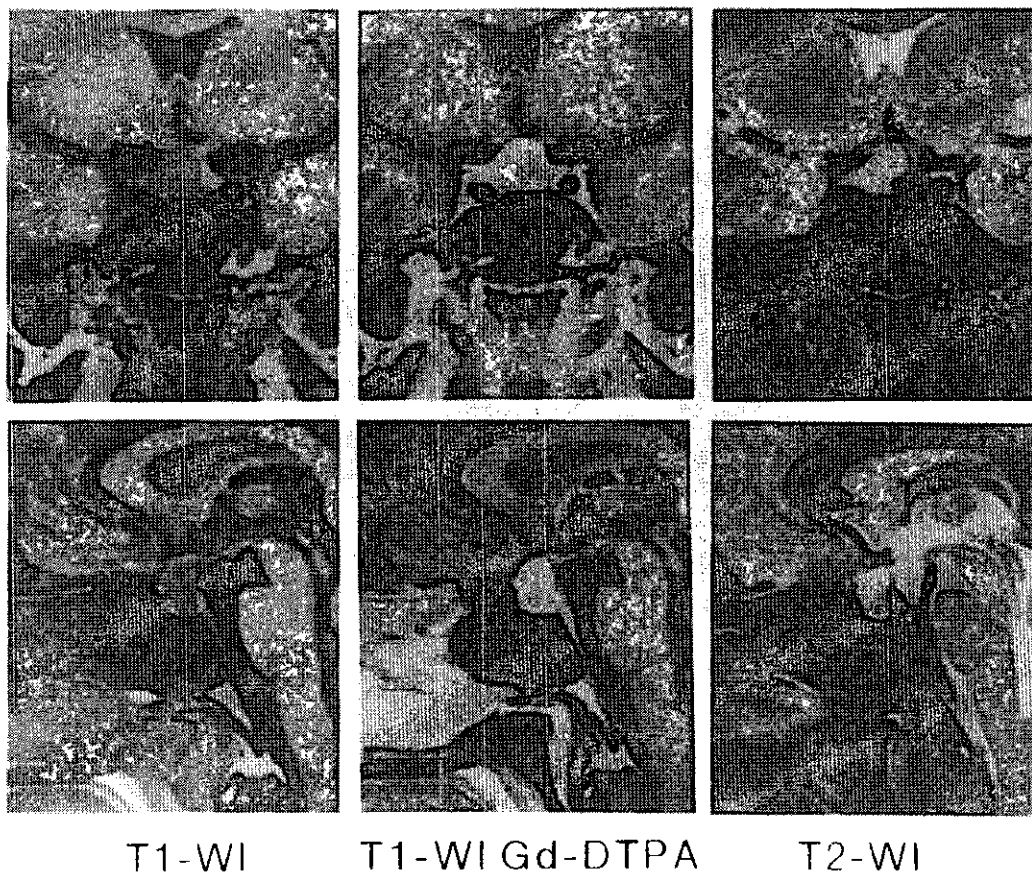


図2. 38歳時の下垂体腺腫の病理組織 (×100)。腫瘍部のHE染色(A)、ACTH免疫染色(B)、PRL免疫染色(C)、非腫瘍部のPRL免疫染色(D)をしめす。

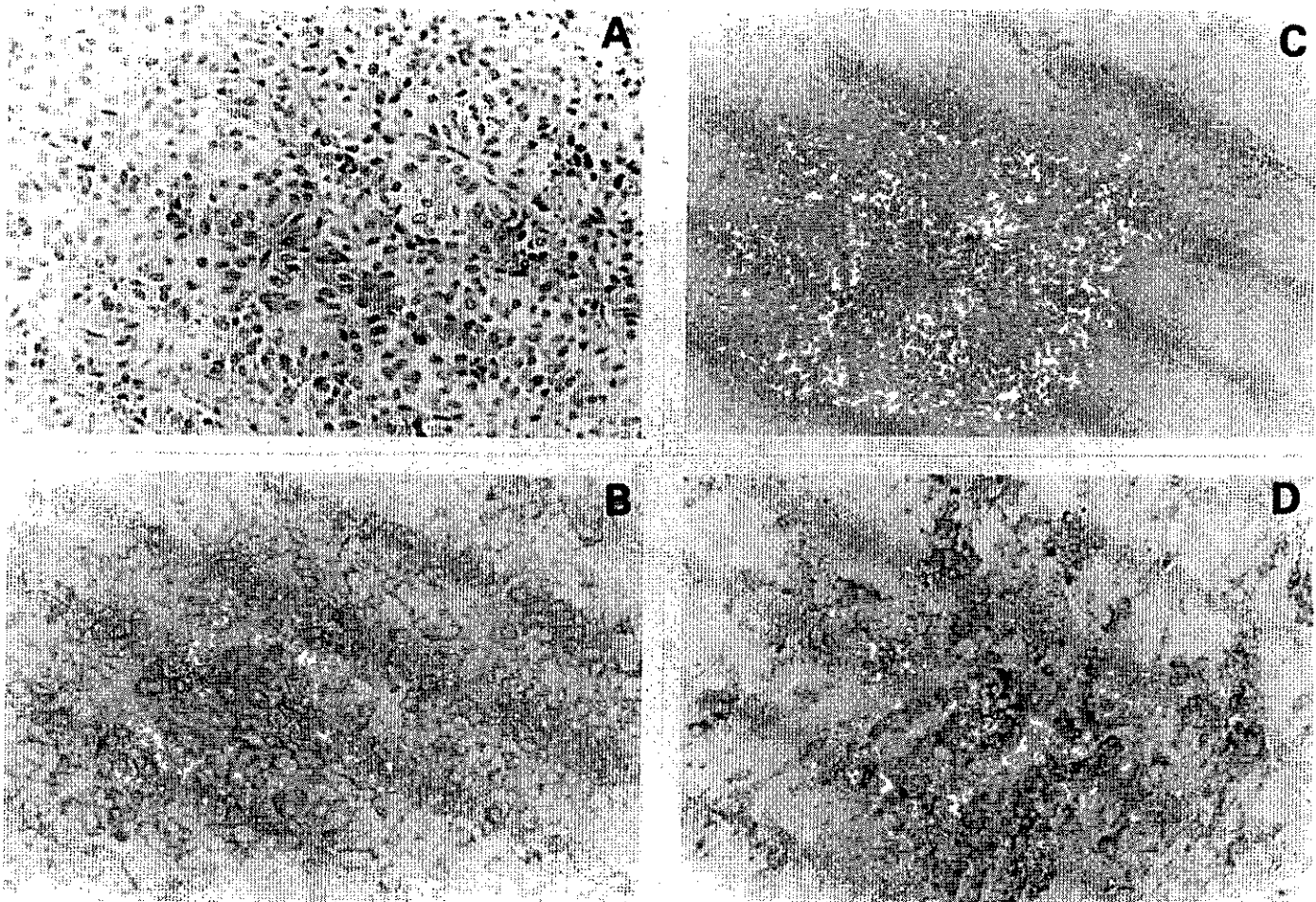
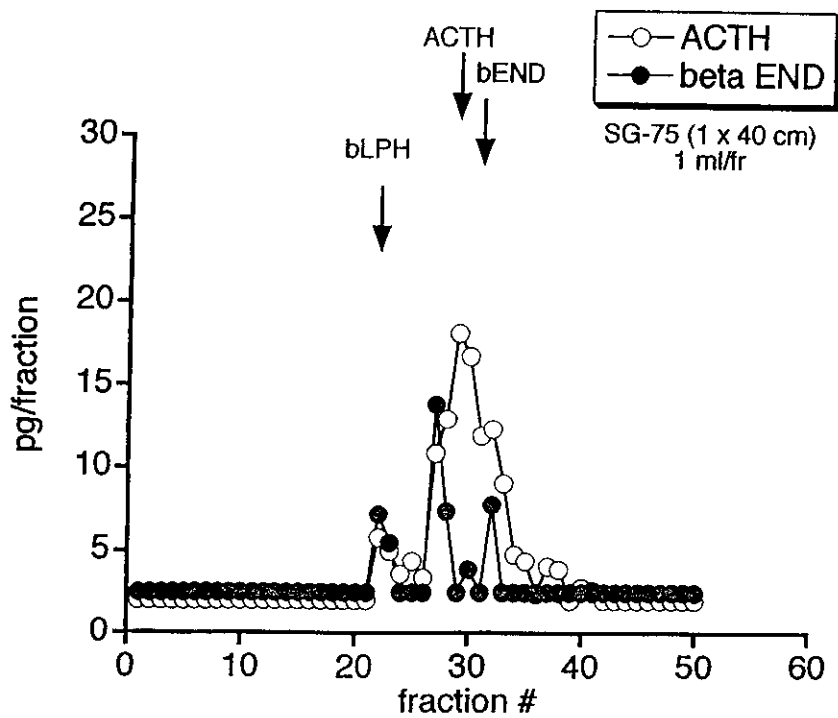


図3. 患者血漿のゲルろ過によるACTHおよびβ-エンドルフィン免疫活性。矢印はそれぞれ、β-LPH、ACTH(1-39)、β-エンドルフィンの溶出部位をしめす。



# 高プロラクチン血症患者および産褥婦人における免疫能の検討

分担研究者	橋本浩三（高知医科大学第二内科）
研究協力者	西岡達矢（同）
	高尾俊弘（同）
	岡谷裕二（高知医科大学臨床看護学）
	服部輝彦（倉敷成人病センター）
	山崎史行（同）
	吉岡保（同）

## 【背景】

estrogen や prolactin は免疫機能に影響を与え自己免疫疾患の発症や病勢に影響を与えることが示唆されている (1-5)。一方、妊娠末期から産褥期に多く発症するリンパ球性下垂体炎の発症には自己免疫が関与していると考えられるが (6)、その病因に於ける内分泌環境の変化の意義は明らかにされていない。今回、妊娠における内分泌機能の変化と免疫能の関係を調べるため産褥早期婦人の免疫能を測定し、その内分泌環境変化の特徴の一つである高prolactin・高estrogen血症状態の及ぼす影響を検討し、prolactinoma患者(高prolactin血症)などとの比較をおこなった。

## 【対象】

対象は、女性のprolactinoma患者(以下、PRLomaと略す) 8人、分娩三日目の産褥婦人20人で、健常男性9人、健常女性14人をその対照とした。血中prolactin (PRL) (ng/ml)、血中estradiol (E2) (pg/ml) は女性3群で測定 (RIA法)。PRLはprolactinoma群、産褥婦人群とも健常女性に比し高値であり、E2は産褥婦人群で健常女性群より高値であった。またprolactinoma群と産褥婦人群の比較では、PRLは産褥婦人群に比しprolactinoma群で高値、E2は産褥婦人群がprolactinoma群より有意に高値であった。(表1)

## 【方法】

免疫能を調べるため末梢血において下記の項目を可能な範囲で検索した。

1. T細胞サブセットとして Tリンパ球の大部分であるCD3陽性細胞、ヘルパーT細胞であるCD4陽性細胞、ヘルパーT細胞の中の1型ヘルパーT細胞(Th1)、2型ヘルパーT細胞(Th2)、細胞障害性 T細胞であるCD8陽性細胞、以上の細胞の比率やCD4/CD8比、Th1/Th2比
2. Bリンパ球、Mφ、NK細胞のマーカーとされるCD19、CD14、CD16陽性細胞の比率、NK細胞活性
3. IL-2産生能、血清IL-2受容体 (sIL-2R)

#### 4. リンパ球幼若化検査 (Con-A, PWM 添加)

##### 【結果】

- ヘルパーT細胞であるCD4陽性細胞は、対照女性群および産褥婦人群で対照男性群に比し有意な増加を認めたが、対照女性、prolactinoma、産褥婦人の3群間には有意な差はみられなかった。細胞障害性T細胞であるCD8陽性細胞とCD4/CD8比は、いずれの群間にも有意な差はみられなかった。(図 1)
- NK細胞のマーカーであるCD16陽性細胞は、対照女性および産褥婦人群で対照男性群に比し有意な減少を認め、さらに産褥婦人群ではprolactinoma群に比べても有意な減少を示した。
- NK細胞活性は、対照女性、prolactinoma、産褥婦人群とも対照男性群に比し有意な低下を認め、産褥婦人群では対照女性群に比し低下傾向を示した。(図 2)
- 対照女性、prolactinoma、産褥婦人の3群において、CD4、CD8、CD4/CD8比、NK細胞活性、CD16と、PRLおよびE2との相関について検討したが、いずれにおいても有意な相関関係は認められなかった。(表 2)
- 対照女性、産褥婦人における Th1, Th2  
産褥婦人において Th1は低くTh2 は高い傾向を示し(有意差なし)、TH1/Th2比は有意に低値を示した。Th1は細胞性免疫、Th2は体液性免疫の調節を行うことから、産褥早期婦人では液性免疫活性の優位性が推定される。(図 3)  
次に、Th1, Th2,およびTh1/Th2 比とPRL または E2との相関関係について検討した。PRLとTh1とは負の相関の傾向, Th2 とは正相関の傾向が認められたが、有意ではなかった。しかし、Th1/Th2 比との間には有意の負の相関がみられた。(図 4)  
E2とTh1とのあいだには有意の相関関係はみられなかったが、Th2 との間には有意の正の相関がみられた。E2とTh1/Th2 比の間には、有意ではないものの 負の相関の傾向がみられた。(図 5)
- 対照男性、対照女性の一部、prolactinoma 患者においては、その他の免疫機能(CD3, CD14, CD19, IL-2 産生能, 血清IL-2受容体、リンパ球幼若化反応)についても検討おこなったが、いずれも3群間で有意な差はみられなかった。(表 3)

##### 【考察】

いくつかの疾患においては、妊娠、分娩がその病勢に影響を及ぼすことがよく知られている。全身性エリテマトーデス(SLE) では妊娠により症状の増悪がみられたり、逆に慢性関節リウマチ(RA)では症状が軽快する場合があります(2,3,7)、これらの変化は妊娠による免疫機能の変化にもとづくものと理解されている。現在 免疫異常の関与する疾患の多くはヘルパーT細胞である Th1 (細胞性免疫の調節を行う)とTh2 (体液性免疫の調節を行う)のバランスの失調により引き起こされると説明されており、SLEはTh1に比しTh2 が優位な状態

でおこるTh2病、RAはTh2に比しTh1が優位な状態でおこるTh1病に分類される(2,3,8)。一方、妊娠においては今回の検討でも明らかになったようにTh2の優位性(Th1/Th2比の低下)が指摘されており(2,8,9)、これにより妊娠中のSLEの症状増悪、RAの症状軽快も理解される。内分泌疾患においても、リンパ球性下垂体炎は免疫異常の関与する自己免疫疾患の側面を有するがその病因の詳細は不明である(6)。しかしリンパ球性下垂体炎は女性においては、Th1/Th2比の低下する妊娠末期や、そのTh1/Th2比の低下が回復しむしろ上昇すると考えられる産褥期など、免疫機能がダイナミックに変化する時期での発症が多く、妊娠および分娩時の内分泌環境のダイナミックな変化によるTh1/Th2比のアンバランスがその成因に大きく関与していると推定される。今回の検討では分娩3日後の産褥早期婦人のPRL、E2分泌亢進のいずれもがTh1/Th2比の低下もしくはTh2の優位に関与することが推定された。今後、実際にリンパ球性下垂体炎を発症した妊婦および産褥婦人でのTh1、Th2を含む免疫能とPRL、E2との関係を検討する必要がある。

#### 【結論】

妊娠末期とほぼ同様の内分泌環境である分娩数日後の産褥婦人においてTh1/Th2比が低値を示したことより、この時期には液性免疫活性優位の状態が存在すると考えられ、これには妊娠末期から分娩直後の内分泌環境の変化の一つであるPRLおよびE2両者の上昇が関与していることが示唆された。

#### 【文献】

1. Grossman CJ, Roselle GA, Mendenhall CL: Sex steroid regulation of autoimmunity. *J Steroid Biochem Molec Biol* 40: 649, 1991.
2. Ostensen M: Sex hormones and pregnancy in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann NY Acad Sci* 876: 131, 1999.
3. Cutolo M: Sex hormone adjuvant therapy in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 26: 881, 2000.
4. Goetzl EJ, Sreedharan SP: Mediators of communication and adaptation in the neuroendocrine and immune systems. *FASEB J* 6: 2646, 1992.
5. Berczi I: Prolactin, pregnancy and autoimmune disease. *J Rheumatology* 20: 1095, 1993.
6. 橋本浩三: リンパ球性下垂体炎. *ホルモンと臨床* 47: 1001, 1999.
7. 石田 博: 慢性関節リウマチの病態形成に関与するサイトカイン. *炎症と免疫* 9: 100, 2001.
8. Wilder RL: Hormones, pregnancy, and autoimmune diseases. *Ann NY Acad Sci* 840: 45, 1998.
9. 早川 智、佐藤和雄: 妊娠とTh1/Th2. *炎症と免疫* 7: 251, 1999.

表1. 対象

	age	血中PRL値	血中E <sub>2</sub> 値
健常男性 (n=9)	38±9		
健常女性 (n=14)	29±5	5.8±3.8	91.4±64.0
女性PRLoma (n=8)	28±9	225.3±159.8 <sup>**</sup>	45.8±56.6
産褥婦人 (n=20)	30±4	106.0±39.8 <sup>**</sup>	213.7±153.9 <sup>*</sup>

Mean ± SD. \* p<0.05vs 健常女性. \*\*p<0.01 vs 健常女性  
(PRLoma: prolactinoma)

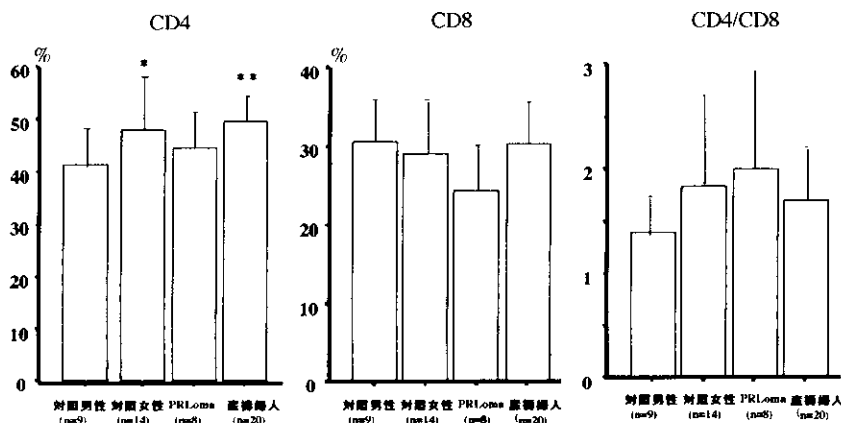
表2.

	PRLとの相関		E2との相関	
	相関係数	P値	相関係数	P値
CD4	0.078	0.6529	CD4	-0.041 0.8150
CD8	-0.169	0.3277	CD8	0.218 0.2031
CD4/CD8	0.105	0.5435	CD4/CD8	-0.226 0.1856
NK細胞活性	0.196	0.2532	NK細胞活性	-0.134 0.4384
CD16	-0.040	0.8191	CD16	-0.135 0.4353

表3. その他の免疫機能検査

	健常男性 (n=9)	健常女性 (n=4)	PRLoma (n=8)
CD3 (%)	67.5±5.6	74.7±7.5	67.7±7.0
CD14 (%)	0.68±0.57	0.18±0.05	0.53±0.43
CD19 (%)	11.3±4.0	10.3±4.5	16.6±10.9
IL-2産生能 (pg/ml)	5.5±6.9	9.9±9.3	8.5±8.3
sIL-2R (U/ml)	367.1±56.4	355.0±50.0	360.9±83.0
リンパ球幼若化検査			
control (cpm)	298±311	28±185	240±113
Con-A+ (cpm)	34095±12855	41288±9726	32818±15010
PWM+ (cpm)	10294±4591	12652±3431	11769±5902

Mean ± SD



Mean ± SD. \* p<0.05 vs 対照男性. \*\* p<0.01 vs 対照男性

図1. CD4, CD8 陽性率, CD4/CD8 比

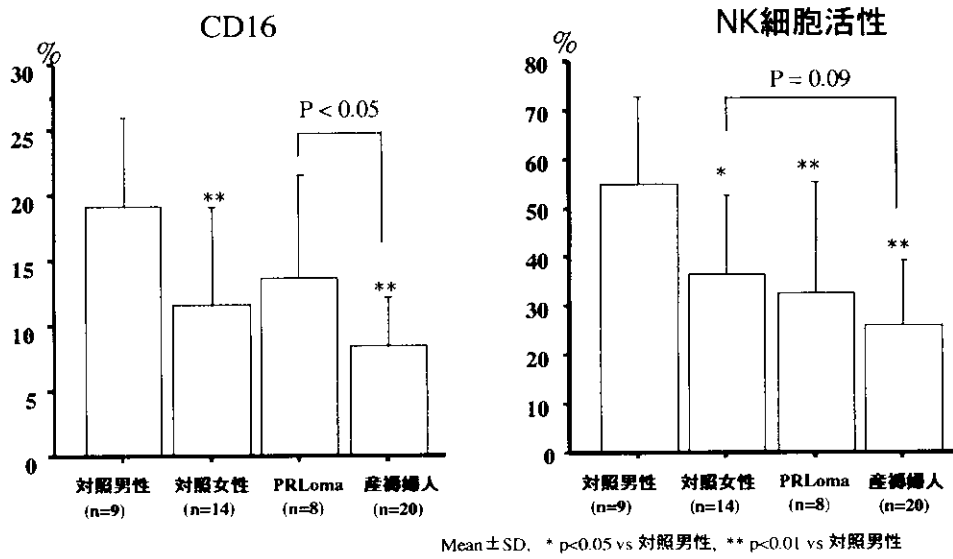


図2. CD16 陽性率, NK細胞活性

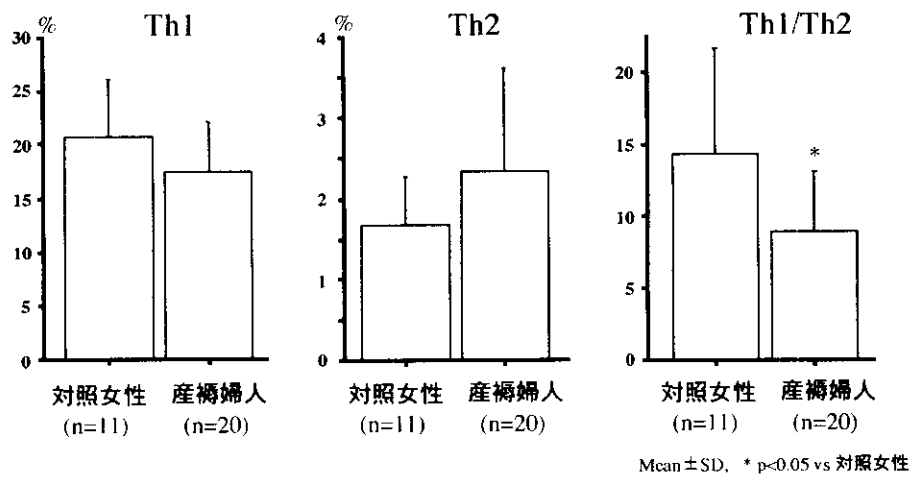


図3. Th1, Th2, Th1/Th2比

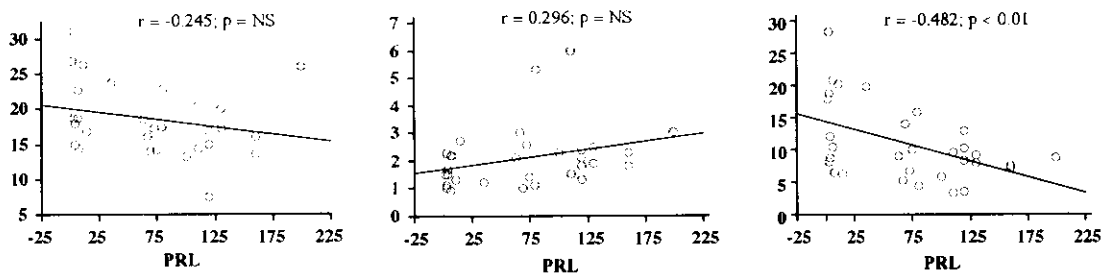


図4. PRLとTh1, Th2およびTh1/Th2との相関

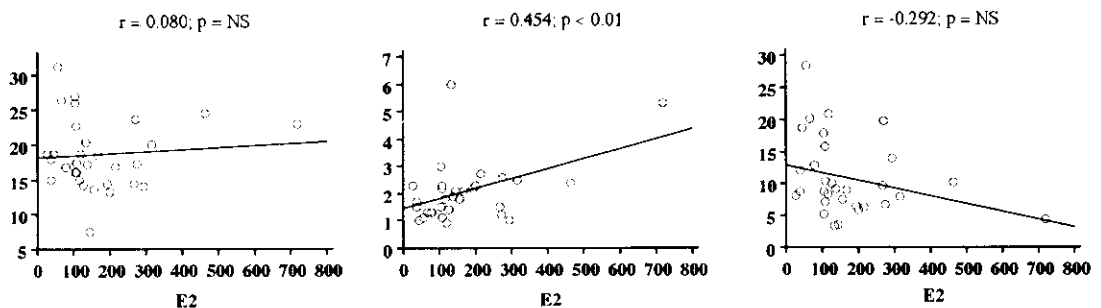


図5. E2とTh1, Th2およびTh1/Th2との相関

### 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

苛原 稔（徳島大学医学部産科婦人科）

今年度のゴナドトロピン分泌異常症のセッションでは、レプチンのゴナドトロピン分泌の促進作用と思春期の発来機構に関する報告、卵巣過剰刺激症候群を発症したハイリスク例に対する新しい排卵誘発法FSH-GnRHパルス療法に関する報告、下垂体非機能性腺腫が細胞内に産生するホルモンおよび転写因子に関する報告が行われた。

苛原らはラット下垂体細胞初代培養系を用いて思春期前、思春期、性成熟期のラット下垂体からのゴナドトロピン分泌に関するレプチンによる反応性の変化を検討した。その結果、4週齢という幼弱な思春期前の下垂体がレプチンに反応してゴナドトロピンを分泌し、すでにGnRHに反応することを示した。また4週齢におけるレプチンのゴナドトロピン分泌促進作用は、その週数のレプチンの血中濃度である12-11Mが至適濃度であり、この比較的低い濃度で強いLH放出作用があることを示した。さらに、思春期、性成熟期ではレプチンの至適濃度はそれらの時期の血中濃度の12-11Mへとシフトしていた。これらの所見から、GnRHが分泌されない思春期前には、その時期の血中濃度に一致する比較的 low 濃度のレプチンが下垂体のゴナドトロピン産生を刺激しており、GnRHが本格的に分泌される思春期に備えている可能性が示唆された。

田中らは、健常女児の乳房成熟を縦断的に検討し、そのデータを下に乳房成熟の標準値を作成した。1989年から1999年に小学校を卒業した832名の女児を対象とし、小学校在籍時の乳房発育の縦断的なデータを集計し、Tanner 2を主たるパラメーターとして検討した。その結果、6歳時にすでに10%の女児がTanner 2となっていること、また一部の女児では思春期がすみやかに進行しないことが明らかになった。また、女児がTanner2になる年齢は $9.74 \pm 1.09$  歳、その時の身長は $134.1 \pm 6.8$  cm、体重は $29.5 \pm 4.3$  kgで、女児の50%がTanner 2に達する年齢は8歳10ヵ月であった。Tanner 2になる年齢は入学時の身長、体重と有意な負の相関を認めた。今回の縦断的なデータの検討により、女児の乳房発育は今までいわれていたよりもやや早い傾向が見られ、また-2SDの値は現在の「診断の手引き」よりも約半年遅く、乳房成熟の標準値を見直す必要性が指摘された。

ゴナドトロピン療法は現在最も強力な排卵誘発法であり、優れた臨床成績を有するが、副作用としての卵巣過剰刺激症候群、多胎妊娠の発生が医学的、社会的問題となっていた。そこで苛原らは、新しい排卵誘発法FSH-GnRHパルス療法を独自に開発し、この方法が副作用を予防する優れた方法であることを明らかにしてきた。今回、彼らはゴナドトロピン療法により実際に卵巣過剰刺激症候群（OHSS）を過去におこしたハイリスクな多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）の患者を対象として、FSH-GnRHパルス療法が副作用の発生を防止できるか否かを検討した。その結果、FSH-GnRHパルス療法は、従来のゴナドトロピン療

法にほぼ匹敵する高い排卵率、妊娠率を保ち、しかもOHSSの発症は32.7%と低率で、多胎妊娠は発生せず副作用を予防することが可能であったと報告した。なおFSH-GnRHパルス療法はゴナドトロピン療法の副作用防止法として有用であることから、排卵誘発法として健康保険に適応されることが強く望まれる。

長村、寺本らは、下垂体腫瘍のうち非機能性腺腫が細胞内に産生するホルモンと転写因子を検討した。彼らは手術例下垂体腫瘍572例のうち、内分泌的に非機能性であった197例の組織を用い、下垂体前葉ホルモン、 $\alpha$ サブユニット、各種転写因子に対する抗体を用いて免疫組織染色による検討を行った。その結果、臨床的に非機能性下垂体腫瘍のうち約6割は何らかの下垂体前葉ホルモンを産生し、中でもFSH $\beta$ 、 $\alpha$ サブユニットの陽性例がそれぞれ約4割と多く、gonadotropin産生腺腫が大半を占めることを示した。また、細胞系譜をオーバーラップするものも見られ、機能分化機序の面からも興味深い。転写因子については、Pit-1、SF-1、DAX-1、GATA-2、NeuroD1を検討したが、どの転写因子も発現率が高く、今後さらに検討を要するものと思われる。

# 思春期前後の雌ラット下垂体のレプチンに対する感受性の検討

分担研究者	苛原 稔 (徳島大学医学部産科婦人科)
研究協力者	尾形理江 ( 同 )
	松崎利也 ( 同 )
	安井敏之 ( 同 )

## 【はじめに】

脂肪細胞から分泌されるホルモンであるレプチンは、体内のエネルギーの蓄積量を視床下部へ伝えるシグナルであり、摂食行動とエネルギー代謝を調節する作用がある。一方、レプチンは生殖機能にも影響を及ぼすことが報告されている。すなわち、レプチンは視床下部においてGnRH分泌を刺激し<sup>1,2)</sup>、また下垂体に直接作用してゴナドトロピンの分泌を促進する<sup>3,6)</sup>。

1963年Kennedy<sup>4)</sup>らは、摂食を制限された雌ラットは思春期の発来が遅延したが、摂食制限を解除すると短期間で体重が増加し思春期が発来したと報告した。また、1974年Frisch<sup>5)</sup>は、ヒトにおいて月経の発来・維持には身長に応じた最低体重が必要であると報告した。このように、やせにより性機能が障害されること、思春期の発来にある程度の体重または脂肪蓄積が必要であることは経験的に知られていた。

今回我々は、下垂体に対するレプチンの直接作用が、思春期発来にどのように関与しているかを明らかにするため、雌ラット下垂体初代細胞培養系を用いて検討した。

## 【対象と方法】

対象はWistar系雌ラットで、4週齢を思春期前、6週齢を思春期、8週齢を性成熟期のモデルとして用いた。ラットを断頭し、下垂体を摘出後トリプシン及びパンクレアチンにて処理し、10%ウシ胎仔血清を加えたDMEMに106cells/ml/dishに調整して下垂体前葉細胞初代培養系を作成した。37°C、湿度100%、5%CO<sub>2</sub>、95%airの環境下で48時間の前培養後、0~10<sup>-7</sup> Mの8段階のレプチン濃度の無血清DMEMにて20時間培養し上清を回収し、基礎分泌の指標とした。下垂体細胞を剥離後、20kHz、160Wで30毎に5分間超音波処理を行った上清を細胞内含有量の指標とした。また、レプチン存在下に20時間培養した後に、培養液を交換し、10<sup>-8</sup>MのGnRHを加え4時間培養した上清をゴナドトロピンのGnRH刺激下での分泌量の指標とした。LHとFSHはNHPPから供与されたRIAキットを用いて測定した。

## 【成績】

### 1. LH、FSHの基礎分泌に対するレプチンの影響

レプチンの濃度に対し、LHの分泌量はbell shape型をなし、このパターンはいずれの週数でも同様に認められた(図1)。しかし、6週齢(思春期)、8週齢(性成熟期)では、培養液中のレプチン濃度が $10^{-10}$ Mでそのピークを示し、その濃度はそれらの週数の血中レプチン濃度に一致していた。一方、4週齢(思春期前)ではそれより低いレプチン濃度 $10^{-11}$ Mでピークを示し、その濃度は4週齢の血中レプチン濃度にほぼ一致していた。FSHの基礎分泌に及ぼすレプチンの影響は、LHの場合と同様で、いずれの週数でもレプチンの濃度に対し、FSH分泌量はbell shape型の促進作用を示し、6、8週齢では、レプチン濃度が $10^{-10}$ Mでそのピークを示し、幼若な4週齢では $10^{-11}$ Mでピークを示した。(図2)

## 2. 4週齢ラットにおける細胞内のLH、FSH産生量

4週齢ラットの下垂体細胞培養系におけるLHおよびFSH産生量に対するレプチンの作用はbell shape型の促進作用を示し、思春期前ラットの血中レプチン濃度にほぼ一致する $10^{-11}$ Mという比較的低い濃度でピークを示した。(図3)

## 3. 4週齢ラットにおける GnRH刺激下のLH、FSH分泌に対するレプチンの影響

4週齢ラットの下垂体はGnRHの添加によりLH分泌、FSH分泌はそれぞれ約20倍、約15倍に増加し(表1)、種々の濃度のレプチン存在下でGnRH刺激下でのLH分泌量を検討すると、レプチン濃度に対してbell shape型の分泌促進作用を示し、その作用が最大であったレプチン濃度は、思春期前ラットの血中レプチン濃度にほぼ一致する $10^{-11}$ Mであった(図4)。

## 【考察】

個体の発育に伴って身体に栄養分が貯蔵され生殖活動に必要な量が準備されると、脂肪組織から分泌されるレプチンの量が一定のレベルに達し、視床下部のGnRHの分泌が始まって性機能が獲得される。レプチンは生殖活動を開始するのに必要な条件のひとつであるエネルギーの貯蔵量の情報を性中枢へ伝達することで性成熟の時期をコントロールしていると推察され、血中レプチンが思春期発来に何らかの関与をしている可能性が考えられるので、その機序を調べる一環として本研究を行った。

ラットの血清エストラジオール濃度は6週齢で増加し始めること6)、雌ラットの膣開口、卵胞発育は5、6週齢よりみられる7)ことから、ラットでは6週齢が思春期に相当すると考えられ、4週齢、8週齢はそれぞれ幼若期、性成熟期にあたる。ラットの血中レプチンレベルは週齢、体重と平行して増加することが明らかになっている。以前の検討から我々は、レプチンは雌ラット下垂体細胞の培養系においてLH、FSHの分泌を促進し、その効果はbell-shape型をなし、至適濃度が存在していることを明らかにした。さらに今回の検討至適レプチン濃度は、思春期前と、思春期、性成熟期のそれぞれの血清レプチン濃度に一致する事が示された。思春期の前後の時期に血清レプチン濃度の変化に一致して下垂体のレプチンに対する反応性が変化することは、思春期の発来に関して下垂体でのレプチンのゴナドトロピン分泌促進作用が深く関わっていることを反映していると思われる。