

報の保護を図る。なお質問表等により患者から直接新規の情報を得ることはないため、患者や家族に対して本調査の説明や同意を得ることは行わない。

### C 研究結果

結果は平成16年度の班会議までに取りまとめ、解析を行って報告する。現時点で考えられる診断基準案を表3に示すが、調査の結果により再評価を行う。大量dexamethasone抑制試験および選択的静脈血サンプリングを、この中でとう位置つけるかについても、今後検討を要する。

### D 考察

この調査を通してsub- (pre-) clinical Cushing病という新しい疾患概念が確立され、その診断基準、治療指針、予後が明らかにされることか期待される。

この調査によって得られる情報は、疾患頻度の把握や診断基準策定の基礎資料となるのみならず、疾患の自然史や病態の詳細を窺い知るための基礎資料となる貴重なものである。特に

(1) sub- (pre-) clinical Cushing病の何パーセント程度か顕性Cushing病に移行するのか

(2) ACTH産生腫瘍のsilentな腫瘍細胞が分泌機能を獲得して顕性Cushing病に移行するにはどのような段階を経るのか

などの点は病態把握の上で非常に興味もたれることであり、今回の調査で手かかりとなる情報が得られることか期待される。

### E 結論

Sub- (pre-) clinical Cushing病とsilent corticotroph adenomaの全国調査により、新しい疾患概念を確立し、その頻度の把握、病態に関する

検討、および診断基準や治療指針の策定を行う。

### G 研究発表

K Kageyama, T Nigawara, Y Kamata, K Terui, J Anzai, S Sakihara, T Suda

A multihormonal pituitary adenoma with growth hormone and adrenocorticotrophic hormone production, causing acromegaly and Cushing's disease

The American Journal of the Medical Sciences  
324 326-330  
2002

K Kageyama, T Nigawara, Y Kamata, T Takahashi, J Anzai, S Suzuki, Y R Osamura, T Suda

A case of macroprolactinoma with subclinical growth hormone production

Endocrine Journal  
49 41-47  
2002

K Kageyama, T Moriyama, S Sakihara, S Kawashima, T Suda

A case of preclinical Cushing's disease, accompanied with thyroid papillary carcinoma and adrenal incidentaloma

Endocrine Journal  
50 325-331  
2003

K Kageyama, T Moriyama, N Hizuka, S Sakihara, S Takayasu, N Tamasawa, T Suda

Hypoglycemia associated with big insulin-like growth factor II produced during development of malignant fibrous histiocytoma

Endocrine Journal

50 753-758

2003

K Kageyama, G E Gaudriault, T Suda, W W Vale  
Regulation of corticotropin-releasing factor  
receptor type 2β mRNA via cyclic AMP pathway  
in A7r5 aortic smooth muscle cells

Cellular Signalling

15 17-25

2003

T Nigawara, N Horiba, F Tozawa, Y Kasagi,  
K Uchida, Y Iwasaki, T Suda  
Regulation of corticotropin releasing hormone  
receptor (CRH-R) in the rat anterior pituitary as  
assessed by radioimmunoassay

Pituitary

6 67-73

2003

K Kageyama, C Li, W W Vale

Corticotropin-releasing factor receptor type 2  
messenger ribonucleic acid in rat pituitary  
localization and regulation by immune challenge,  
restraint stress, and glucocorticoids

Endocrinology

144 1524-1532

2003

K Kageyama, K Furukawa, I Miki, K Terui,  
S Motomura, T Suda

Vasodilative effects of Urocortin II via protein  
kinase A and a mitogen-activated protein kinase in  
rat thoracic aorta

Journal of Cardiovascular Pharmacology

42 561-565

2003

K Kageyama, T Suda

Urocortin-related peptides increase interleukin-6  
output via cyclic adenosine 5'-monophosphate-  
dependent pathways in A7r5 aortic smooth muscle  
cells

Endocrinology

144 2234-2241

2003

表1 ACTH産生ト垂体腫瘍に関する最近の知見

ACTH産生下垂体腫瘍 Cushing病	ACTH分化 過剰
sub- (pre-) clinical Cushing病 (潜在性または不顕性Cushing病)	正常ないし過剰
ACTHを分化しないACTH産生腫瘍 (silent corticotroph adenoma, subtype-3 adenoma)	正常

表2 2次調査票(抜粋)

\_\_\_\_\_には数値を、□には該当する項目番号(1 正常反応 2 異常反応 3 未実施)をご記入下さい。

ACTH-コルチゾール関連(つづき)		初診時	最終観察時
7) 血中コルチゾール日内変動( $\mu\text{g/dl}$ )			
朝 _____ 時		_____ □	_____ □
夜 _____ 時		_____ □	_____ □
8) デキサメサゾン抑制試験(overnight法)			
DEX ____ mg 投与翌朝の	血中ACTH (pg/ml)	_____ □	_____ □
	血中コルチゾール( $\mu\text{g/dl}$ )	_____ □	_____ □
DEX ____ mg 投与翌朝の	血中ACTH (pg/ml)	_____ □	_____ □
	血中コルチゾール( $\mu\text{g/dl}$ )	_____ □	_____ □
DEX ____ mg 投与翌朝の	血中ACTH (pg/ml)	_____ □	_____ □
	血中コルチゾール( $\mu\text{g/dl}$ )	_____ □	_____ □
9) CRH試験			
前値	血中ACTH (pg/ml)	_____ □	_____ □
	血中コルチゾール( $\mu\text{g/dl}$ )	_____ □	_____ □
頂値	血中ACTH (pg/ml)	_____ □	_____ □ ( 分)
	血中コルチゾール( $\mu\text{g/dl}$ )	_____ □	_____ □ ( 分)
10) DDAVP試験			
前値	血中ACTH (pg/ml)	_____ □	_____ □
	血中コルチゾール( $\mu\text{g/dl}$ )	_____ □	_____ □
頂値	血中ACTH (pg/ml)	_____ □	_____ □ ( 分)
	血中コルチゾール( $\mu\text{g/dl}$ )	_____ □	_____ □ ( 分)
11) 静脈血サンプリング			
腫瘍部位	部位(海綿静脈洞 下錐体静脈洞 内頸静脈 その他) CRH負荷併用(あり なし)	_____ □	_____ □
コントロール	血中ACTH (pg/ml)	_____ □	_____ □

表3 今考えられる診断基準案(スクリーニング+確定診断用)

- 1 下垂体腺腫の存在が証明されている、または強く疑われる。(MRI)
  - 2 Cushing病に特徴的な身体所見の欠如。
  - 3 ACTH コルチゾールの分泌異常。
    - (1) 早朝の血中ACTH濃度は正常ないし高値だが、コルチゾール濃度は正常域。
    - (2) 血中ACTHの日内リズムが不良または深夜の血中コルチゾール値が $2.5\mu\text{g/dl}$ 以上。
    - (3) Overnight 0.5mg dexamethasone抑制試験で翌朝の血中コルチゾール値が $5\mu\text{g/dl}$ 以上、または1mg dexamethasone抑制試験で翌朝の血中コルチゾール値が $3\mu\text{g/dl}$ 以上。
    - (4) ヒトCRH試験でACTHが前値の1.5倍以上に反応。
    - (5) DDAVP試験でACTHの奇異反応(前値の1.5倍以上)がみられる。
    - (6) 血中にbig ACTHの比率が多い。
  - 4 病理検査で下垂体腺腫にACTH関連蛋白またはPOMC遺伝子の証明。
- 判定
- 1と2があり それに3の細項目のうち2項目以上を満たす場合をsub- (pre-) clinical Cushing病と呼ぶ。
- 1 2、4を満たし3が欠如している場合をsilent corticotroph adenomaと呼ぶ。

## 先端巨大症の合併症に関する検討

分担研究者	肥塚直美	東京女子医科大学第二内科
研究協力者	福田いずみ	同
	塚田順子	同
	栗本真紀子	同
	村上祐子	同
	佐田晶	同
	大久保由美子	同
	高野加寿恵	同

**研究要旨** 先端巨大症ではGHの過剰分泌が種々の合併症をもたらす。今回、本症の合併症および本症治療前後の耐糖能の変化を検討した。過去5年間に当科に入院した先端巨大症82例(男/女 30/52, 年齢19~82歳)を対象に病歴調査を行った。糖尿病, 耐糖能障害を各々45%, 33%, 高血圧症32%, 高脂血症37%, 悪性腫瘍9%, 大腸ポリープ45%, 腺腫様甲状腺腫を46%に認めた。手術前後で耐糖能を検討し得た58例において術前のDM/IGTの比率はControl良好群(G, 33例), 不十分群(I, 6例), 不良群(P, 19例)で各々12/10, 0/5, 10/5例であり術後4/10, 0/1, 4/8例といずれも改善した。一方HOMA-RはG群, I群, P群で $2.50 \pm 0.33$ ,  $2.75 \pm 0.69$ ,  $3.52 \pm 0.76$ であり術後, 前2者では有意に低下したか非寛解群では明らかな低下には至らなかった。本症の合併症については治療基準に照らした各群の, より長期の予後を検討する必要がある。

### A 研究目的

先端巨大症ではGHの過剰分泌により種々の合併症をもたらす。今回、本症にみられた各種合併症の発生頻度を調査した。また、GH産生腺腫摘出術を受けた症例に対し、その治療結果を本研究班により2003年度に提言された“先端巨大症の治療効果判定基準”に基づいて3群に分け、各群における治療前後の糖代謝異常の変化についても解析した。

### B 研究方法

過去5年間に当科に入院した先端巨大症82例(男/女 30/52, 年齢19~82歳)を対象に病歴調査を行い、糖, 脂質代謝異常, 肥満症, 高血圧症, 腫瘍性疾患など各種合併症の頻度を

検討した。また、82例中、手術前後の耐糖能を検討し得た58例を本症の治療効果判定基準に基づいて3群に分け、各群における耐糖能およびHOMA-Rの変化を解析した。

### C 研究成果

先端巨大症82例における血中GH, IGF-I, IGF-I SDを図1に示す。血中GH値は2~3回の負荷試験時のGH基礎値の平均値を用いた。82例の平均GH値を低い順から並べ、各症例に対応するIGF-I値, IGF-I SDスコアを上段に示した。ミクロアデノーマ15例の平均GH値は $2.3 \sim 29.4$  ng/mlに分布する一方、マクロアデノーマ67例の平均GH値は $2.6 \sim 297$  ng/mlに分布した。平均GH値と血中IGF-I値, IGF-I SD値との間に

明らかな相関は認められなかった。

先端巨大症にみられた合併症を表1に示す。DM, IGTを各々45, 33%に, 腺腫様甲状腺腫を46%, 大腸ポリープ45%, 高血圧症32%, 悪性腫瘍を9%に認めた。悪性腫瘍を7例(9%)に認め, その内甲状腺癌3例, 大腸癌2例であった。

先端巨大症におけるBMIの分布を図2に示すか, BMI 25kg/m<sup>2</sup>以上の肥満を38%に認めた。

本研究班により2003年度に提言された先端巨大症の治療効果判定基準に従い, 手術前後の耐糖能を検討し得た58例をコントロール良好なG (good) 群, コントロール不十分なI (incomplete) 群, コントロール不良のP (poor) 群に分類した。治療効果判定基準別にみた手術前後のHOMA-Rを図3に示す。G群33例, I群6例, P群19例の術前のHOMA-Rは各々2.50±0.33, 2.75±0.69, 3.52±0.76と高値を示し, 術後, 前者ではHOMA-Rは有意に低下したか, P群では低下しなかった。一方, 治療前後の耐糖能についてはDMの占める比率はG群で12から4例に, P群で10から4例へといずれも改善し, NGT群の比率かとのグループにおいても増加した(図4)。

## E 考察

本症では, 耐糖能障害の他, 腺腫様甲状腺腫, 大腸ポリープ, 高血圧症などの合併が多く認められた。GHは脂肪分解を促進するので脂肪量の減少をきたすと考えられるか, BMI25以上を呈する症例も多く認めた。脂肪量でなく筋肉量などの除脂肪量の増加か考えられるか, インピーダンス法で検討すると体脂肪の増加する症例も多く認め, 本症では肥満を呈する症例も多いと考えられた。

2003年度に本研究班により提唱された先端巨大症の治療効果判定基準の有用性を検討するため, 手術前後の耐糖能の変化を検討した。

術後はどの群でも多くの改善例が認められたが, コントロール良好なG群のみならずコントロール不十分なI群(OGTTのGHの底値が1 ng/ml以上2.5未満)でもインスリン抵抗性指数(HOMA-R)は有意に低下した。この所見は治療基準としてGHの底値が1 ng/ml未満という基準か, 今後, 長期予後を考える上で適切な基準かという検討が必要と考えられた。

## F 結論

本症の合併症については治療基準に照らした各群の, より長期の予後を検討する必要があると考えられた。

## G 研究発表

### 1 論文発表

1) Fukuda I, Hizuka N, Takano K Oral DDAVP is a good alternative therapy for patients with central diabetes insipidus experience of five-year treatment Endocr J 50 437-443, 2003

2) 肥塚直美, 伊東絵美奈, 福田いずみ, 佐田晶, 塚田順子, 安本久美子, 村上祐子, 大久保由美子, 栗本真紀子, 高野加寿恵 成人GH分泌不全症における代謝異常。日本内分泌学会誌 76 (Suppl) 96-98, 2003

3) 塚田順子, 肥塚直美, 福田いずみ, 佐田晶, 田中聡, 村上祐子, 小野昌美, 三木伸泰, 高野加寿恵 末端肥大症におけるコルチノール代謝に関する検討。日本内分泌学会誌 76 (Suppl) 45-47, 2003

### 2 学会発表

1) Hizuka N, Fukuda I, Ishikawa Y, Itoh E, Murakami Y, Sata A, Tsukada J, Yasumoto K, Okubo Y, Takano K Serum Adiponectin levels in patients with growth hormone deficiency and acromegaly 85th Annual Meeting of the Endocrine Society, Philadelphia, June, 2003

2) 栗本真紀子, 福田いずみ, 肥塚直美, 塚田順子, 佐田晶, 伊東絵美奈, 大久保由美子, 村上祐子, 安本久美子, 高野加寿恵 末端肥大症における甲状腺腫瘍性疾患の合併頻度。第76回日本内分泌学会総会, 2003

図1 先端巨大症82例における血中GH, IGF-I, IGF-I SD

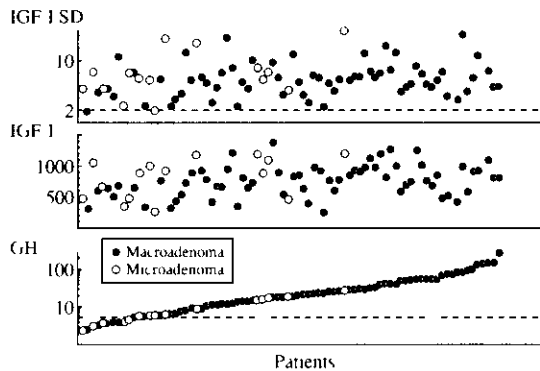


図2 先端巨大症におけるBMIの分布

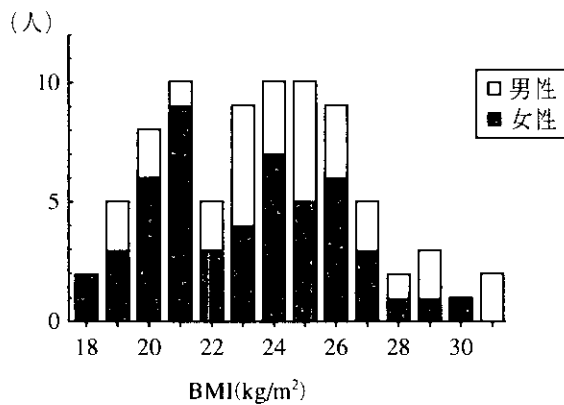


図3 治療効果判定基準別に見た手術前後HOMA-R

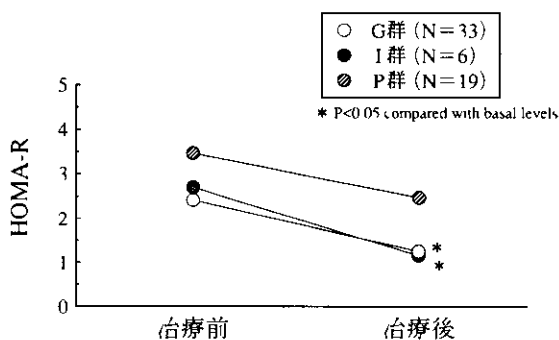


図4 治療前後の耐糖能の変化

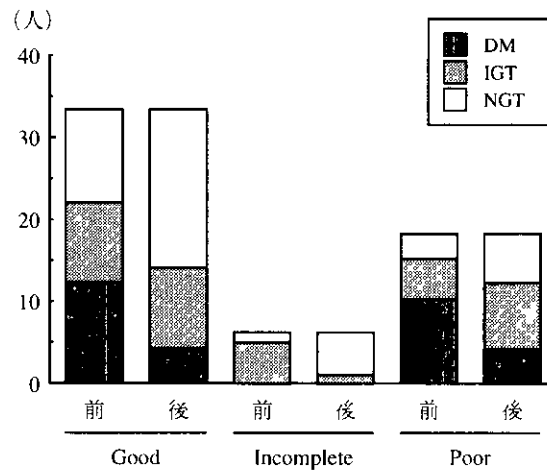


表1 先端巨大症にみられた合併症

糖代謝異常 (%)		併発合併症	
DM	45% (35/78)	大腸polyp	45% (26/58)
IGT	33% (26/78)	しんじょう状腺腫	
脂血症		しんじょう腺腫	32% (26/82)
↑T chol	25% (20/81)	しんじょう腺腫	(3/82)
↑TG	19% (15/81)	狭心症	(1/82)
甲状腺疾患		嚢胞腫瘍	9% (7/82)
腺腫様甲状腺腫	46% (27/59)	甲状腺癌	(3例)
濾胞腺腫	(3/59)	大腸癌	(2例)
AFTN	(2/59)	乳癌	(1例)
		胃肉腫	(1例)

## Silent corticotroph adenomaに関する内分泌学的検討(第2報)

分担研究者 平田 結喜緒 東京医科歯科大学大学院 体内分子制御学  
研究協力者 泉山 肇 同上

**研究要旨** 前回の班会議で我々は非機能性巨大下垂体腺腫27例中6例(21%)で腫瘍組織中のACTHの存在を免疫染色で証明し、silent corticotroph adenoma(SCA)の頻度が比較的多いことを報告した。今回これら6症例のSCAの組織中にPOMC前駆体のプロセッシング酵素であるprohormone convertase(PC)1/3の発現の有無を免疫組織化学的に検討した。また一部の症例の血漿抽出物をSephadex G-50を用いたゲルろ過を行い、血中ACTHの存在様式を検討した。【結果】腫瘍組織中のPC1/3様免疫活性はSCAの6症例いずれも陰性であったが、Cushing病の下垂体腺腫では陽性であった。SCAの患者血漿のACTH様免疫活性はACTH(1-39)の溶出部位以外にも大分子分画にも出現した。【考察】SCAでは腫瘍中にACTHの存在が証明できるのにもかかわらず、臨床症状が欠如している機序として、腫瘍でのPC1/3の発現低下のためにACTHへのプロセッシングが障害される結果、活性の低い大分子ACTHが分泌されている可能性が示唆される。

### 【背景・目的】

Kovacsらは、臨床的にCushing徴候を呈さないか免疫組織学的にACTH及びACTH関連ペプチド陽性の腺腫細胞を持つ下垂体腺腫をSilent corticotroph adenoma(SCA)と命名した<sup>(1)(2)</sup>。しかし、その成因ならびにpreclinical Cushing病との関連性は不明であり、我々は前回の本班会議で、下垂体腫瘍におけるSCAの頻度ならびにその内分泌学的特徴を検討した。今回、我々は30症例での追加検討を行うと共に、臨床的にCushing徴候を呈さないメカニズムとして、POMCプロセッシングの異常により活性の低いACTHが生成される可能性を考え、POMCのプロセッシング酵素であるprohormone convertases(PC)1/3の腫瘍での発現と血中ACTHの存在様式を検討した。

### 【対象と方法】

1997年から2002年の6年間に頭部MRIにてmacroadenomaを指摘され、経蝶形骨洞手術

(TSS)を行った非機能性下垂体腺腫30例(男性17、女性13、平均年齢 $53.3 \pm 15.5$ 歳)を対象とし、TSSで得られた腫瘍組織のACTHとPC1/3の免疫染色を行った。また、SCAの3症例(case 4, 5, 6)について血漿をSep-Pak Cartridge C18で抽出しSephadex G-50(fine,  $1 \times 50$ cm)のカラムを用いてゲル濾過を行い、1mlずつ分画採取を行った。各分画のACTH測定は、異なるACTH-IRMAキノン(Mitsubishi, Allegro)を用いた。

### 【結果】

#### 〔臨床的検討〕

対象の30例中、SCAは前回と同様で6例(20%)で、臨床症状では性別以外、年齢、症状、ならびに再発、腫瘍径では両群とも明らかな差は認められず、術前の早朝採血による血中のACTHとコルチゾールの基礎値でも両者に有意差はなかった。CRH投与後のACTHの頂値を基礎値で割ったものを増加率としたとき、SCAでは術前より術後の増加率は術後か低下し、

逆に、NFAでは術前より術後に増加した(表1)。

#### [免疫組織学的検討]

ACTHおよびPC1/3の免疫染色では、Cushing病の腺腫ではACTH、PC1/3いずれも陽性であった(図1)。しかし、SCAでは6症例すべてがACTH陽性で、PC1/3陰性であった(図2)。

#### [ゲル濾過]

3症例の血漿のゲル濾過で得られた各分画中のACTHは、Mitsubishi-IRMAではACTH(1-39)に一致するピークを認めたか、Allegro-IRMAでは同部位以外に大分子画にもピークが認められた。

### 【考察】

下垂体腺腫のうち約25~30%が臨床・生化学的にホルモンの過剰分泌を認めない非機能性下垂体腺腫とされる<sup>(3)(4)</sup>。その大半は超微形態像に基づきnull cell adenomaあるいはoncocytomaと呼ばれる腺腫である。当初これらはホルモン産生能を持たない腫瘍と考えられていたが最近になってホルモン産生能を有する腫瘍もあることが明らかにされてきた。Kovacsらは、免疫組織学的にACTHとACTH関連ペプチドが陽性であるにも関わらず臨床的にCushing症候群を示さない非機能性下垂体腺腫を病理学的にSilent corticotroph adenoma(SCA)と命名した。彼らの報告では臨床的に非機能性下垂体腺腫のうち約6%にSCAが認められたとしている<sup>(5)</sup>。しかし、非機能性下垂体嫌色素性腺腫を対象とした今回の我々の検討からはSCAの頻度は比較的多い(20%)と考えられた。

ACTHはPOMCのPCによるプロセシングの過程で生成される。PCはCa<sup>2+</sup>依存性serine proteaseでありPC1/3とPC2の2種類がある。PC1/3とPC2のmRNAの発現量は組織により異なり下垂体前葉のACTH産生細胞ではPC1の発

現が多い(PC1/PC2比3~5)のに対して、下垂体中葉のMSH産生細胞ではPC2の発現がきわめて多い(PC1/PC2比1/15)。免疫組織化学でもACTH産生細胞では主にPC1が、MSH産生細胞ではPC1とPC2が局在している<sup>(6)(7)</sup>。POMCはPC1により先ずACTH-biosynthetic intermediate(ABI)と $\beta$ -lipotropin(LPH)に分解されると、更にABIは16K-ACTHとACTHとに分解され、最後に16K-ACTHは大分子 $\gamma$ -MSHとjoint peptide(JP)に分解される(図3)。しかし、今回我々が検討したすべてのSCAでACTHが陽性にもかかわらずPC1/3が陰性であることから、POMCのプロセシング不十分なために腫瘍からの活性の低いACTHが産生、分泌されていた可能性が示唆された。一部症例の血漿抽出物を用いたゲル濾過による血中ACTHの存在様式を検討した結果、ACTH(1-39)のみを認識するMitsubishi-IRMAの測定系ではACTHに一致するピークを認めたか、Allegro-IRMAの測定系では同部位以外の大分子画にもACTHが認められ二峰性であった。仲らは、異所性ACTH産生腫瘍での両測定系の差異を指摘し、ゲル濾過の結果よりAllegroがACTH前駆体と交叉反応を示し<sup>(8)</sup>、MitsubishiではACTH前駆体やフラグメントとの交叉反応が極めて少ないことを報告している<sup>(9)</sup>。従ってSCAの血中ACTHはACTH(1-39)以外に大分子ACTHも存在する可能性が考えられた。

### 【結論】

今回の検討で、SCAでは腫瘍中にACTHの存在が証明できるのにも関わらず、臨床症状が欠如している機序の一部に、腫瘍でのPC1/3の発現低下のためにACTHへのプロセシングが障害される結果、活性の低い大分子ACTHが分泌されている可能性が示唆された。



参考文献

- (1) Horvath, E & Kovacs, K The adenohypophysis In Kovacs, K & Asa, S L eds Functional Endocrine Pathology Volume 1 Boston Blackwell Scientific Publications pp 245, 1990
- (2) Horvath, E, et al Am J Pathol, 98 617, 1980
- (3) Katzenelson, L K, J M and Klibanski, A, Clinical Review 45 Clinically non-functioning pituitary adenomas J Clin Endocrinol Metab 76 1089, 1993
- (4) Horvath, E, Kovacs, K, Smyth, H S et al, A Novel type of pituitary adenoma, morphological features and clinical correlations J Clin Endocrinol Metab 66 1111, 1988
- (5) Bernd W Scheithauer, M D, et al Clinically silent corticotroph tumors of the pituitary gland Neurosurg, 47(3) 723, 2000
- (6) Zhou, A et al The prohormone convertases PC1 and PC2 mediate distinct endoproteolytic cleavages in a strict temporal order during proopiomelanocortin biosynthetic processing J Biol Chem, 268 1763, 1993
- (7) Marcinkiewicz, M et al, Ontogeny of the prohormone convertases PC1 and PC2 in the mouse hypophysis and their colocalization with corticotropin and  $\alpha$ -melanotropin Proc Natl Acad Sci USA, 90 4922, 1993
- (8) 沖 隆、森田 浩、吉見輝也他 ACTH RELATED PEPTIDES Vol 1 48-52, 1990
- (9) 沖 隆、山下美保、中村浩淑 ACTH RELATED PEPTIDES Vo 14 55-58, 2003

表 1

①SCAとNFAの臨床像

	年齢	性別(男/女)	視野障害	高血圧	糖尿病	肥満	再発	腫瘍径(mm)
SCA(6例)	48.2 ± 13.6	1/5	6	2	0	3	1	(25 ± 3.2) × (27.5 ± 4.2)
NFA(24例)	54.8 ± 16.0	16/8	21	8	3	6	4	(23.3 ± 3.8) × (27.7 ± 5.3)
計(30例)	53.3 ± 15.5	17/13	27	10	3	9	5	(25.7 ± 3.7) × (27.7 ± 5.2)

②術前のACTHとコルチノールの基礎値

	SCA(6)	NFA(24)
ACTH(pg/ml)	37.0 ± 23.3	35.8 ± 19.8
コルチノール( $\mu$ g/dl)	12.5 ± 5.0	11.2 ± 4.6

③術前 後でのCRH刺激後のACTHとコルチノールの増加率(頂値/前値)

	SCA(6)		NFA(24)	
	術前→後	術前→後	術前→後	術前→後
ACTH(pg/ml)	6.0 ± 4.1	→ 4.9 ± 2.8	3.4 ± 3.0	→ 4.9 ± 3.2
コルチノール( $\mu$ g/dl)	2.0 ± 0.7	→ 1.7 ± 0.4	2.2 ± 1.6	→ 2.4 ± 1.9

図1 ACTH産生下垂体腺腫(Cushing病)の免疫染色

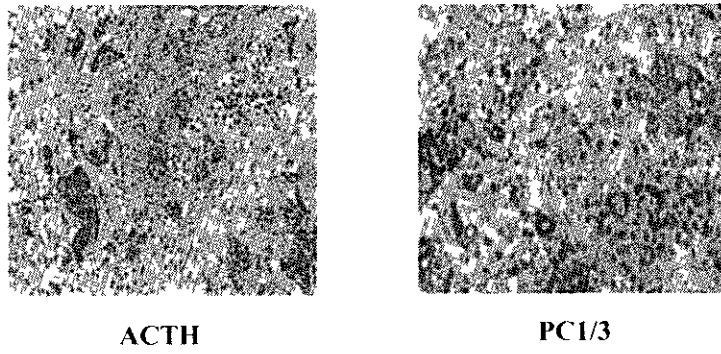


図2 SCAの免疫染色

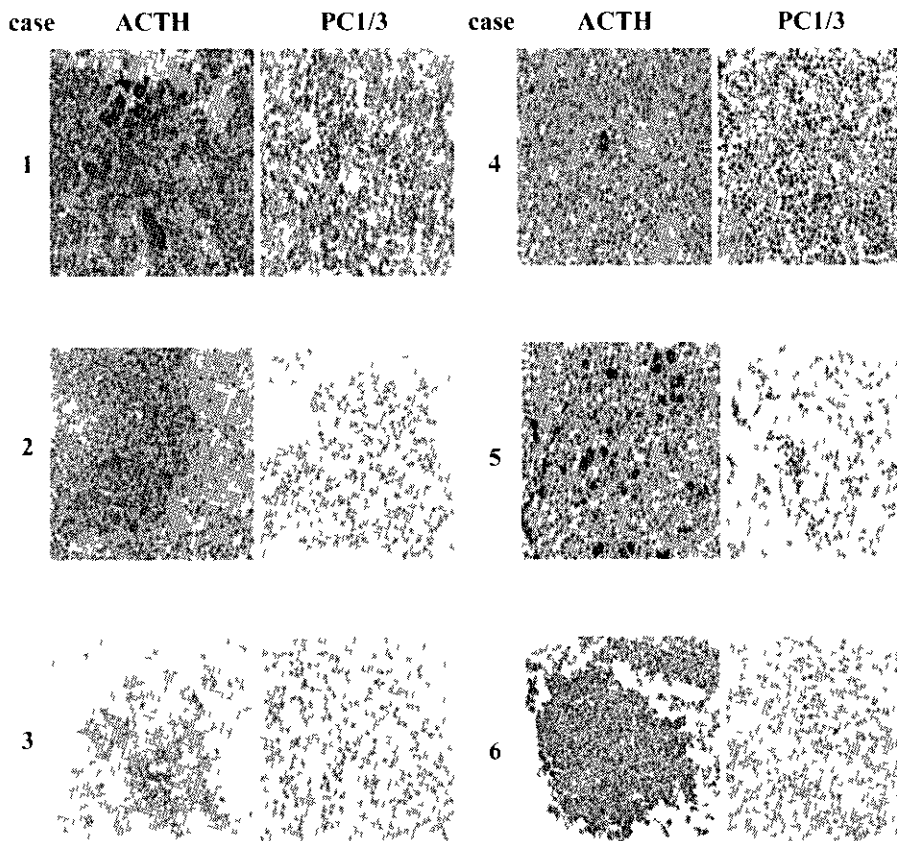
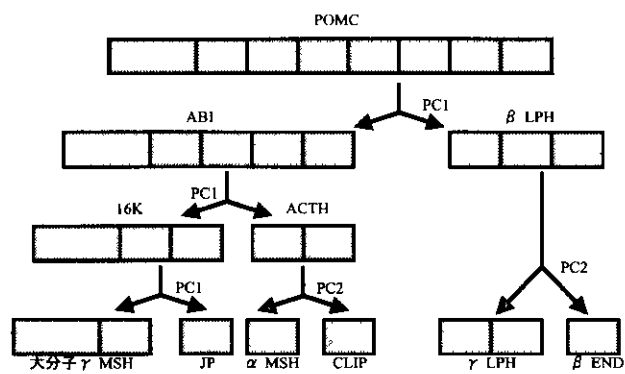


図3 Pro-hormone convertase(PC)によるPOMCのprocessing



## 初経年齢の標準化 —思春期早発症の診断基準の改定—

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 今井敏子 東洋英和女学院小学部

**研究要旨**．現在の思春期早発症の初経年齢の基準値が厳しいので、初経年齢の標準化を行なって、基準値を再検討した。東京の私立の女子校生の1977年4月から1987年3月までに生まれた女子で、初経発来年月日のわかっている226名を対象とした。

初経年齢の平均は12歳24±0.92歳、身長は151.4±5.9cm、体重の平均は41.0±5.2kgであった。このデータから初経開始年齢の平均は12歳3ヶ月で、標準値(平均±2SD)は、10歳5ヶ月～14歳1ヶ月と考えられた。思春期早発症の診断の基準値としては、10歳6ヶ月が妥当と考えられた。

### A 研究目的

我が国における女児の思春期早発症の診断の手引きにおいて、初経年齢は9歳未満となっている。しかしこの基準は、我々の臨床経験からみると厳しすぎ、また欧米でも初経年齢の-2SD値は、約10歳4歳である。本研究は、初経年齢の標準化を行って、思春期早発症の診断の基準値を再検討することである。また思春期発来、初経発来に影響を及ぼす臨床因子の検討および、思春期の伸びも検討を行った。

### B 研究方法

対象は、東京の私立の女子校生で1977年4月から1987年3月までに生まれた女子864名を中学まで経過観察し、そのうち初経発来年月日のわかっている226名を対象とした。4月の健診の時に1名の養護教諭が乳房のTanner段階をチェノクした。同時に身長、体重を測定した。縦断的成長の解析より、最大成長率年齢とその次に成長率が大きい年齢において、成長率の比例配分でピーク成長率年齢を算出した。また、前後の身長、体重の比例配分により、初経開始時の身長、体重を算出した。

また、種々の臨床因子のグループ別比較は、

+1SDを越える群、±1SD以内、-1SDを下回る群の3群に分けて検討した。

本解析に関しては、親及び本人より同意を得、データ解析者には氏名かわからない形で解析が行われた。

### C 研究結果

思春期の開始(乳房Tanner 2度)年齢とピーク成長率年齢、および初経年齢の累積頻度曲線を図1に示したか、シグモイド曲線描き、標準値の作成に用いられると考えられた。Tanner 2度の累積%が50%を超えた年齢は9歳10ヶ月、Tanner 3度は10歳7ヶ月、ピーク成長率は10歳10ヶ月、Tanner 4度は11歳9ヶ月、初経は12歳2ヶ月たった。初経年齢の平均は12歳24±0.92歳、身長は151.4±5.9cm、体重の平均は41.0±5.2kgであった。このデータから初経開始年齢の平均は12歳3ヶ月で、標準値(平均±2SD)は、10歳5ヶ月～14歳1ヶ月と考えられた。

思春期の発来に及ぼす臨床因子の影響を検討するために、Tanner 2の年齢(思春期開始年齢)と6歳時の臨床因子との相関を検討した。思春期開始年齢は6歳時の身長( $r=-0.266$ 、

p<0 0001)、身長SDS (r=-0 313、p<0 0001)、体重 (r=-0 364、p<0 0001)、肥満度 (r=-0 272、p<0 0001) と有意な負の相関が見られ、体重が大きいほど身長SDSが大きいほど、早く思春期に入る傾向が認められた。6歳時の体重別身長SDS別のグループに分けて検討すると、体重が重く身長SDSが大きいグループの平均思春期開始年齢は8 69歳、体重が軽く身長SDSが小さいグループは10 08歳であった(図2)。

初経の発来に及ぼす臨床因子の影響を検討するために、初経年齢と思春期開始年齢 6歳時の臨床因子との相関を検討した。初経年齢はピーク時年齢 (r=0 604、p<0 0001) 思春期開始年齢と強い相関を示し (r=0 387、p<0 0001)、6歳時体重とも有意な相関を示した (r=-0 244、p=0 0002)。また、初経年齢は初経時身長とは有意な相関が認められたか (r=0 493、p<0 0001)、初経時体重とは有意な相関は認められなかった (r=-0 054)。思春期開始年齢別 6歳時体重別のグループで比較すると、思春期開始年齢が若く入学時体重が重いグループは、平均初経年齢が11 8歳であるのに対して、思春期開始年齢が遅く6歳時体重が軽いグループは、13 0歳であった(図3)。

思春期開始から最終身長までの伸びは、平均25 3±5 7cmで思春期開始が早いほど大きく、遅いほど小さかった(図4)。また、初経より最終身長までの伸びは平均6 6±3 4cmで、初経開始が早いほど大きく、遅いほど小さかった(図5)。

#### D 考察

表1に、今までの主な初経年齢の調査を示した。1960年代は平均13歳台であったのか徐々に早まり、しかし1980年代以降は12歳3ヶ月~6ヶ月の間の報告で、思春期の成熟の secular trendもほぼ収束したと考えられる。今

回の東京の女子校女子における初経年齢の検討から、12歳3ヶ月で±2SD以内の正常範囲は10歳5ヶ月~14歳1ヶ月と考えられた。これは、1993年以降の報告、特に前坂らと産婦人科学会の調査とほぼ等しく、基準値として用いても妥当であると考えられた。

今までの思春期早発症の診断の手引きの初経年齢の基準は9歳であったか、今回の基準値からみると-3 52SDに相当し、基準値としては厳しすぎる値であると考えられた。-2SDの値は10歳5ヶ月となるか、「診断の基準」の値として用いるのは、あまり細かい値ではなくまた広くスクリーニングするという意味からも10歳6ヶ月を用いるのか良いと思われた。

思春期の開始や初経の開始に体格が影響を与えていることは、従来から言われていたか、今回の解析でもそのことを裏付けた。思春期開始に最も影響を与える因子は6歳時体重であった。3~4歳までの乳幼児期の身長 体重は、栄養によって大きく変化することか知られており、それ以降思春期が始まるまでの前思春期は、体格は大きく変化しない。6歳時の体重が思春期の開始に影響を与えるということは、乳幼児期の栄養が思春期の開始にも影響を与えていることか示唆される。初経年齢が初経時体重とは相関が無いということは一定の体重になることが初経発来には必要であるという説をうらすけ、6歳時体重が大きいほど早く初経になるもの、乳幼児期の栄養が初経発来にも関与していることを示唆する。

いままで我が国では、思春期の伸びや初経後の伸びも標準値がなく、標準成長曲線などから、思春期の伸びは約25 cm前後、初経後の伸びは5~6cmくらいと考えられていたか、今回初めて多数例での基準値が示された。我々は低身長女子における思春期の伸びは19 8±4 6cmと報告していたが、これは低身長児は一

般に思春期が遅く、その群の平均とよく一致した。

### E 結論

東京の女子校女子における初経年齢の検討から、12歳3ヶ月で $\pm 2SD$ 以内の正常範囲は10歳5ヶ月~14歳1ヶ月であった。思春期早発症の診断の基準値としては、10歳6ヶ月が妥当と考えられた。

図4 思春期開始時年齢と思春期の伸び

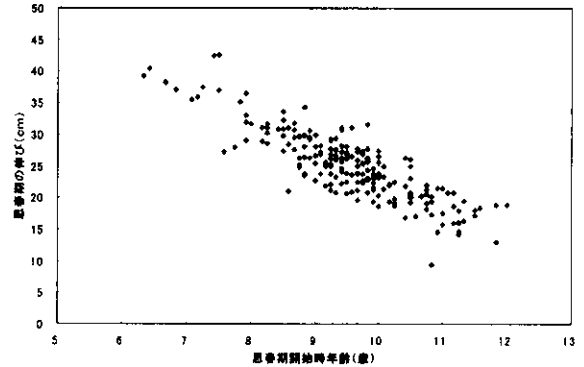


図1 思春期開始・ピーク成長率 初経年齢の累積頻度

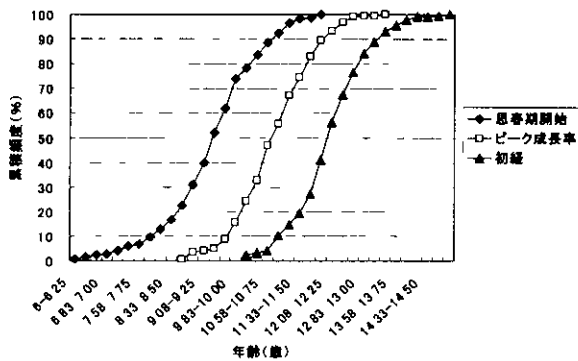


図5 初経年齢と初経からの伸び

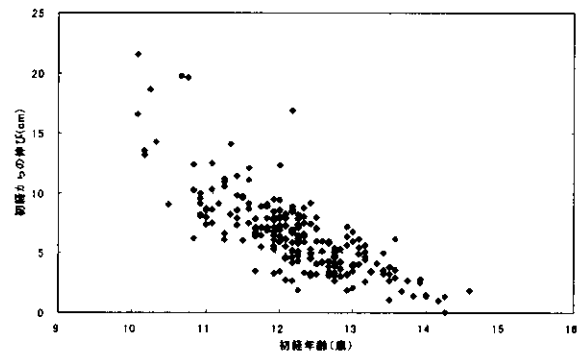


図2 6歳時の身長SDS 体重別グループと思春期開始時年齢

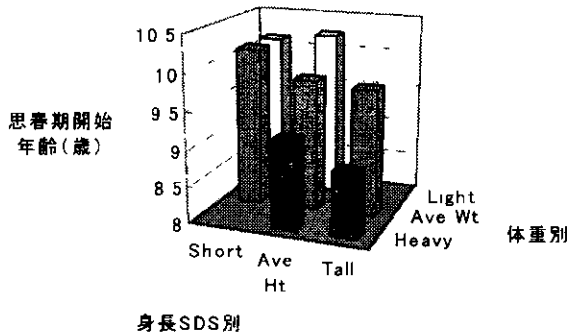


図3 思春期別・体重別グループの初経年齢

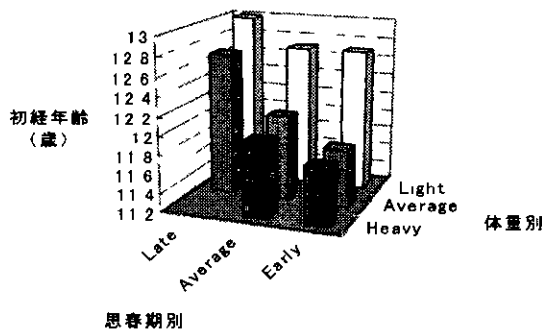


表1 初経年齢調査

発表者	発表年	対象	人数	初経年齢
日野林	1992	全国1961年調査	839,049	13.22 $\pm$ 1.18歳
		全国1964年調査	586,466	13.09 $\pm$ 1.13歳
		全国1967年調査	619,774	12.84 $\pm$ 1.13歳
		全国1972年調査	425,408	12.63 $\pm$ 1.13歳
		全国1977年調査	105,587	12.50 $\pm$ 1.13歳
		全国1982年調査	123,908	12.54 $\pm$ 1.08歳
		全国1987年調査	70,350	12.49 $\pm$ 1.09歳
菊地	1992	全国1971年生まれ	694	12.46 $\pm$ 1.00歳
		全国1972年生まれ	956	12.48 $\pm$ 0.99歳
		全国1973年生まれ	981	12.50 $\pm$ 1.01歳
		全国1974年生まれ	1017	12.49 $\pm$ 0.95歳
宮原	1993	長崎県 中学1-2年	104	12.62 $\pm$ 0.65歳
		神奈川県 高1~高3	3,511	12.2 $\pm$ 1.1歳
池田	1995	阪神高校 1974~1978年生まれ	849	12.47 $\pm$ 1.00歳
森西	1996	兵庫県高校生1974~1979年生まれ	1,161	12.46 $\pm$ 1.00歳
産婦人科学会 生 殖 内分泌委員会	1997	全国中学高校生	1,688	12.3 $\pm$ 1.0歳

## GH測定キット間の較差とその是正

分担研究者	田中敏章	国立成育医療センター内分泌代謝科
研究協力者	立花克彦	神奈川県立こども医療センター
	勝又規行	国立成育医療センター研究所
	島津章	国立京都病院
	肥塚直美	東京女子医科大学第二内科
	藤枝憲二	旭川医科大学小児科
	横谷進	虎の門病院小児科

**研究要旨**・成長ホルモン分泌不全性低身長症の診断の公正性のために、現在市販されている6種の成長ホルモン測定キットの補正式を作成した。また、rhGHを標準品として用いて測定した場合はその測定値はほぼ一致し、補正式を用いる必要はなかった。しかし今までの測定値よりも値が約60%なるので、rhGHを標準品として用いる時には、GHD診断のためのGH分泌刺激試験におけるGH頂値のカットオフ値は、6ng/mlとするのが妥当である。

### A 研究目的

成長ホルモン分泌不全（GHD）の診断は、現在のところ各種の成長ホルモン（GH）分泌刺激試験の際の血中GH濃度頂値のレベルによって行われている。血中GH濃度は、抗原抗体反応を利用して測定され、数種類の測定キットが市販されているか、その測定値は、用いる測定キットによってかなりの差がある。従って、同じ患者の同じ検体であっても、どの測定キットを用いて測定したかによってその測定値が異なり、その結果、診断が異なってしまう可能性がある。そのため、成長科学協会ではGH関連因子測定検討専門委員会が、平成3年度以降、市販されている各測定キットによる測定値の補正式を作成し、各キットにより診断に差がでないように努力してきた。

今回現在市販されている6種の測定キットについて検討し、補正式を作成することを目的とする。さらに標準品の違いが測定値の違いであることを検討し、リコンビナントヒト

成長ホルモン（rhGH）を用いたときの診断基準を検討することを目的とする。

### B 研究方法

健康成人10人を対象にGRH負荷を行い、血清を採取し-20℃で保存した。この同一の血清検体のGH濃度を、現在市販されている6種のGH測定キット、即ち栄研化学immunoradiometric assay（IRMA）キット（AbヒースHGH”栄研”、以下栄研IRMA）、第一アイノトープ研究所IRMAキット（GHキット「第一」、以下第一IRMA）、東ソーimmunoenzymometric assay（IEMA）キット（Eテスト「TOSOH」（HGH）、以下東ソーIEMA、日立化成chemiluminescence enzyme immunoassay（CLEIA）キット（ヒタサイムCL、以下日立化成CL、ヤトロンCLEIAキット（イムライスhGH、以下ヤトロンCL、協和メデイクスchemiluminescence immunoassay（CL

I A) キノト (アレグロライト HGH、以下協和 CL) を用いて測定した。同時に、日本ケミカルリサーチ社より入手したリコンビナント 22K ヒト成長ホルモンを希釈して標準品とし、それを用いた場合の各々の測定キノトによる測定値を求め比較した。なおこの検討は、キノト販売各社によって、リコンビナント GH 標準液の作成から測定まですべて独自に行われた。

### C 研究結果

各測定キノトによる測定値間の相関は非常に良かった。各検体の各キノトによる測定値の平均を X 軸に、各キノトの値を Y 軸にして示した。キノトにより、測定値が約倍の差が見られる。各キノトの平均値に合わせて、キノト毎の補正式を線形関係式にて作成した (表 1)。各キノトの値を補正した後に図 1 と同様に各検体の平均 GH 値を X 軸に、各キノトの値を Y 軸にして図 2 示した。各キノトともほぼ同一の値となった。JCR 社製リコンビナント GH を標準品として用いて測定した場合の測定値についての結果を、同様に図 3 に示した。各キノトによる測定値は共通のリコンビナント標準品を用いて測定するとその測定値はほぼ一致した。しかしながら、今までの測定値よりも値が低くなった。

### D 考察

GHD の場合、原則的にその診断によって GH 治療の適応が決定されるため、用いる測定キノトによって診断が変わることは望ましいことではない。そのため、成長科学協会では平成 3 年度以降、各測定キノトによる測定値の相関を検討し、補正式を作成して用いることとして、この問題を便宜的に解消するよう対処してきた。この補正により、用いる測定キノ

トによる診断の差はなくすることはできると思われる。しかし、これは時代をおっての不変の基準とはばなりえず、過去と比較しての議論が不可能となる。また、測定キノトによって同じ検体を測定しても大幅にその結果が異なるという事態は続いている。また、本当の GH の量を計っているのかという、根本的な問題は解決できない。

現在、各測定キノトの標準品は WHO の基準品を一次標準品とし、それに対して各メーカーは二次標準品を作成し、キノト添付の標準品は二次標準品に対して検定されている。しかし、同じ WHO 基準品といっても、全く同一の WHO 基準品が用いられているわけではない。現在日本で市販されている GH 測定キノトで用いられている標準品は、2 種の WHO 標準品 (66/217、80/505) に準拠している。これら二種の基準品はいずれも下垂体抽出品であるか、GH 含有量に差がある。即ち、全く GH 含有量の基準を用いているのであるから測定値が異なるのは当然のことといえる。今回の検討で、リコンビナント GH を希釈したものを共通の標準品として用いると、同一検体の測定 1 直は各測定キノトによってほぼ一致した。即ち現在市販されている GH 測定キノト間の測定値の乖離の原因の (すべてではないにせよ) 大部分は、この標準品の実際の GH 含有量の違いに起因すると思われる。

これらの結果をもとに、成長科学協会 GH 関連因子測定値専門委員会では、今後、各キノトの一次標準品 二次標準品を、さらには実際のキノトに添付する標準品をもリコンビナント GH にするのか望ましいと考え、各キノトメーカーに対応を要請し、検討会を繰り返し行った。幸い、各キノトメーカーとも積極的に、一次、二次標準品、そして添付標準品もリコンビナント GH とする方向で一致を見た。今回

は集中測定ではなく、リコンビナントGHからの標準液の作成、測定すへて各キトメーカーにおいて独自に行われたが、その結果リコンビナントGHを用いての測定結果は、昨年度の中央測定の結果に比較すると若干の乖離を示したが、測定間変動を考慮すれば満足できる一致であると思われた。すなわち、各社とも技術的には新しいリコンビナントGHの標準品をキトに添付することか可能で、これか実現すれば使用するキトによって測定値か異なるという事態はほぼ解消される。しかし現実に標準品を変更するとなると、安定性の検討、認可の問題など、短時間では解決できない問題も多く、すく実現するには至っていない。今後、さらに各メーカーと協力して、測定値の乖離をなくす努力を続ける必要かある。又、今後の新規のGH測定キトについても、働きかけを行う必要かある。

しかしリコンビナントGHを標準品として用いると、図2と3を比較してもわかるように、測定値はこれまでの測定値に比べてかなり低下する。GHDの診断のためのGH分泌刺激試験におけるGH頂値の10ng/ml、5ng/mlといった現在用いられているカットオフ値は、二抗体法RIAによる測定が行われていた時代に経験的に設定されたものである。従って、リコンビナントGHを標準品として用いた測定値をこれにそのままあてはめることはできない。

多くの正常児で負荷テストを行い年齢別、性別、負荷試験の種類別に正常範囲を新たに設定できれば良いか事実上不可能である。とすれば、現在行われている判定（診断）と大きく異ならないようにするのか混乱を避ける意味からも現状としては最善と思われる。表2に最近3年間の補正式の作成の資料から、補正值とリコンビナントGHを標準にした場

合の測定値の相関式を示した。これを見ると、リコンビナントGHを用いての測定値は補正值の約0.6倍である。したかつて、リコンビナントGHを用いての測定の場合、現在のGHD診断の手引きなどに見られるGH頂値の10ng/ml、5ng/mlといったカットオフ値は6ng/ml、3ng/mlと読み替えるのか妥当かと思われる。

### E 結論

リコンビナント成長ホルモンを標準品として用いれば、補正式を用いることなく判定か可能である。その場合、GHD診断のためのGH分泌刺激試験におけるGH頂値のカットオフ値は、6ng/mlとする。

図1 各検体の平均GH値に対する各キトの測定値

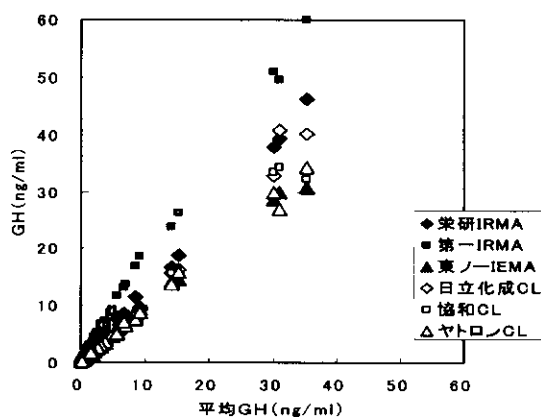


表1 成長科学協会によるGH測定値の補正

(平成14年度)

ABヒース HGH 栄研	$Y=0.97X+0.02$
GHキット 第一	$Y=0.65X-0.13$
Eテスト [TOSOH] III [HGH]	$Y=1.20X+0.07$
ヒタ イムCL	$Y=1.11X+0.32$
アレク ロライトHGH	$Y=1.12X+0.40$
イムライス hGH	$Y=1.20X-0.05$



図2 補正後の各検体の平均GH値に対する各キットの測定値

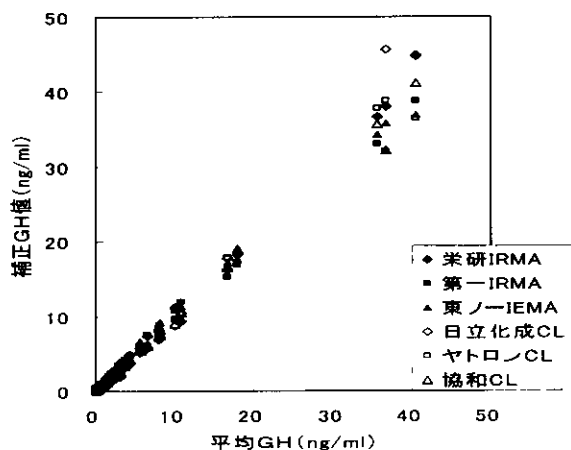


図3 リコンビナントhGH標準品を用いたときの各検体の平均GH値に対する各キットの測定値

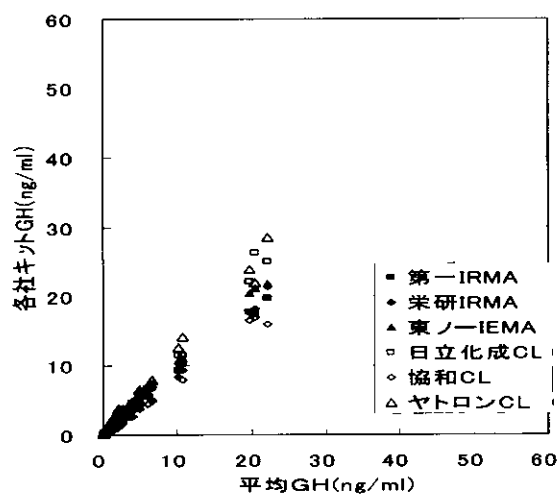


表2 補正值とリコンビナントGHを標準にしたときの相関式

	2000年6月測定	2001年12月測定	2002年12月測定
栄研	$Y=0.746X-0.085$	$Y=0.481X+0.143$	$Y=0.531X+0.104$
第一	$Y=0.672X+0.342$	$Y=0.535X+0.271$	$Y=0.722X-0.014$
東ノ一	$Y=0.728X+0.807$	$Y=0.594X+0.155$	$Y=0.554X+0.271$
日立	$Y=0.843X+0.204$	$Y=0.582X+0.079$	$Y=0.521X-0.357$
ヤトロノ	$Y=0.730X-0.009$	$Y=0.691X-0.245$	$Y=0.694X-0.201$
協和		$Y=0.562X-0.195$	$Y=0.673X+0.137$
平均	$Y=0.745X+0.240$	$Y=0.568X+0.033$	$Y=0.600X-0.017$

Y リコンビナント X 補正値

## 下垂体腺腫における $\alpha$ サブユニット(SU)の発現について

主任研究者	長村 義之	東海大学医学部基盤診療学系病理診断学
	江頭 登	東海大学医学部基盤診療学系病理診断学
	宮井 俊輔	東海大学医学部基盤診療学系病理診断学
	山崎 道生	日本医科大学脳神経外科
	山王 なほ子	日本医科大学脳神経外科
	寺本 明	日本医科大学脳神経外科

**研究要旨**  $\alpha$ サブユニット(SU)はヒト下垂体腺腫において、最も出現頻度の高いホルモンであり、ヒトGH産生腺腫において $\alpha$ SUが高頻度に発現することは、ヒト下垂体細胞腺腫の大きな特徴といえる。今回我々は、GH- $\alpha$ SU細胞が $\alpha$ SU陽性細胞から分化することを示すことを目的とし、ヒト下垂体腺腫、培養細胞を用い、免疫組織学、RT-PCR、アデノウイルスベクターによるPit-1遺伝子導入実験を施行し、検討を行った。結果は、GH産生腺腫、非機能性腺腫において、 $\alpha$ SUの高率な発現を確認し、 $\alpha$ SU単独陽性症例におけるPit-1陽性症例と陰性症例の存在を確認した。また、 $\alpha$ T3-1細胞にAdeno-FLAG-Pit-1を感染させた結果、Pit-1融合タグの発現が確認され、さらに、GHの発現が認められた。これにより、ヒト下垂体腺腫における解析結果から、ヒト下垂体細胞の初期分化過程において、 $\alpha$ SU陽性細胞からPit-1を発現することによりGH- $\alpha$ SU陽性細胞を経由しGH細胞へ分化することか示唆された。

### A 研究目的

$\alpha$ サブユニット(SU)はヒト下垂体腺腫において、機能性腺腫、非機能性腺腫を総合的に見た場合、最も出現頻度の高いホルモンとして、ヒト下垂体腺腫の特性として注目されてきた。特に、ヒトGH産生腺腫において $\alpha$ SUが高頻度に出現する事実は、げっ歯類には見られずヒト下垂体細胞腺腫の大きな特徴といえる。また、 $\alpha$ SUは、他に先駆けて出現するホルモンとして、他ホルモン産生の機能分化への転写因子としての意義も報告されてきている。

これまで下垂体腺腫において、 $\alpha$ SUの「発現機序 その意義」を対象とした詳細な分子病理学的な解析はあまりされていない。また、近年開発されてきている遺伝子工学的手法が形態学を基盤とした解析にも応用することか

可能となり、我々の研究室でも「特定の細胞を選別し転写因子の解析をする」「特定の細胞に特定の遺伝子を導入すること」「特定の細胞の特定の遺伝子を抑制する」技術を用い、「細胞単位にターゲットを絞って」詳細な分子病理学的解析が可能となってきた。今回我々は、GH- $\alpha$ SU細胞が $\alpha$ SU陽性細胞から分化することを示すことを目的とし、ヒト下垂体腺腫、培養細胞を用い、免疫組織学、RT-PCR、アデノウイルスベクターを用いたPit-1導入実験を施行し、検討を行ったので報告する。

### B 研究方法

対象は日本医科大学において、手術にて腫瘍摘出を行った下垂体腺腫325例を用いた。ま

たGH産生腫瘍、非機能性腺腫、計88症例については、RT-PCRを含めた詳細な検討を行った。免疫組織学においては、10%ホルマリンに固定した後パラフィン包埋した組織を使用し、下垂体ホルモンとしてGH、PRL、TSH  $\beta$  subunit(SU)、ACTH、FSH  $\beta$  SU、LH  $\beta$  SU、 $\alpha$ -SU、転写因子としてPit-1、Lhx3、Pit-1、Prop-1、SF-1、DAX-1、GATA-2、Egr-1、ER、Neuro-D1、T-pit、GnRH、GnRH-R、GHRH-Rに対する抗体を使用した。染色法は、下垂体ホルモンについては酵素抗体間接法を、転写因子についてはABC法を用いた。また、RT-PCR法については、同症例における、凍結標本（摘出直後に液体窒素にて凍結）を使用した。TRIzolを用いmRNAを抽出、DNase I処理をし、各種プライマーを用いPCRを施行した。

遺伝子導入の対象として、 $\alpha$  T3-1細胞（ $\alpha$  SU陽性、GH陰性、Pit-1陰性）を用いた。細胞は10%ウシ胎仔血清を添加したDulbecco's Modified Essential Medium (DMEM)を用いて培養した。本研究ではアデノウイルスベクターを用いて、Pit-1遺伝子の導入を行った。FLAG標識されたPit-1をコートするFLAG-Pit-1融合遺伝子を作製し、アデノウイルスベクターに組み込んでAdeno-FLAG-Pit-1を作製した（CLONTECH）。Adeno-FLAG-Pit-1を培地に添加後2時間緩やかに攪拌し、培地交換して72～96時間培養を行った。遺伝子導入後の細胞からTrizol Reagent（Invitrogen）を用いてRNAを抽出し、DNase I（Promega）処理後、逆転写反応によりcDNAを作製した。作製したcDNAを鋳型としてPCRを行い、GHの発現を検討した。また遺伝子導入後の細胞においてWestern-blotting法により、FLAG-Pit-1タパクの発現を検討した。

## C 研究結果

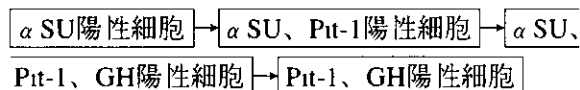
免疫染色では、GH産生腺腫において、 $\alpha$  SU

の陽性率は56.5%（39/69）非機能性腺腫において43.1%（85/197）であった。この結果は $\alpha$  SUはヒト下垂体ではTSH細胞、FSH/LH細胞のほかにGH細胞にも存在し、GH産生下垂体腺腫においても $\alpha$  SUの出現頻度が高いという報告を裏づけるものであった。GH、 $\alpha$  SUを同時に発現している腫瘍組織においては同一細胞においてGH、 $\alpha$  SUの両方を発現していることを二重染色法、免疫電子顕微鏡像で確認した。また、非機能性腺腫においては、 $\alpha$  SU単独陽性症例において詳細な解析を行い、Pit-1陽性症例と陰性症例の存在を確認した。転写因子についても、様々なものか高い確率で検出された、特にPit-1、NeuroD1、DAX1についてはほぼ100%に近い発現率であった。

また、Pit-1導入実験では、 $\alpha$  T3-1細胞にAdeno-FLAG-Pit-1を感染させた結果、Western blotting法によりFLAG-Pit-1融合タパクの発現が確認され、さらに、RT-PCR法により、Adeno-FLAG-Pit-1を感染させた群においてGHの発現が認められた。

## D 考察

今回、我々は $\alpha$  SU陽性細胞の機能分化の過程として以下のような仮説を設定し検討を行った。



非機能性腺腫における $\alpha$  SU(+), Pit-1(-)症例と $\alpha$  SU(+), Pit-1(+ )症例の存在は、 $\alpha$  SU陽性細胞から $\alpha$  SU、Pit-1陽性細胞への分化を示唆するものであり、GH産生腺腫において、GH単独発現の細胞とGH、 $\alpha$  SU同時発現細胞の混在は $\alpha$  SU(+), Pit-1(+), GH(+ )細胞からPit-1(+), GH(+ )細胞への分化を示唆するものであった。

また、 $\alpha$  T3-1細胞にAdeno-FLAG-Pit-1を感染させた結果、Pit-1融合タパクの発現が確認され、

さらに、GHの発現が認められたことにより、 $\alpha$ T3-1細胞におけるPit-1の強制発現がGH遺伝子転写を誘導する事を示した。これにより、 $\alpha$ SU陽性細胞でもPit-1の発現によりGH細胞へ分化しうると考えられ、ヒトにおける $\alpha$ SUとGHの共発現は、GH細胞の分化段階の初期において $\alpha$ SUが発現される事に起因することを裏付けるものと考えられた。

以上のヒト下垂体腺腫における解析結果から、ヒト下垂体細胞の初期分化過程において、 $\alpha$ SU陽性細胞からPit-1を発現することによりGH- $\alpha$ SU陽性細胞を経由しGH細胞へ分化することか示唆された。

## E まとめ

下垂体腺腫252例における $\alpha$ サブユニット( $\alpha$ SU)の発現およびその分化過程について、検討し報告した。