

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

間脳下垂体機能障害に関する調査研究

# 平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 千 原 和 夫

平成17年3月

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

間脳下垂体機能障害に関する調査研究

# 平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 千 原 和 夫

平成 17 年 3 月

# 目 次

|   |      |
|---|------|
| I. 序 文 .....  | 5    |
| II. 班員名簿 .....  | 6    |
| III. 総括研究報告書 .....  | 9    |
| 神戸大学大学院医学系研究科応用分子医学講座<br>内分泌代謝・神経・血液腫瘍内科 主任研究者  | 千原和夫 |
| IV. 分担研究報告書   |      |
| 1. 成長ホルモン分泌不全症の診断におけるGrowth Hormone-Releasing<br>Peptide-2負荷試験の有用性 .....              | 21   |
| 神戸大学大学院医学系研究科応用分子医学講座<br>内分泌代謝・神経・血液腫瘍内科学教室教授   | 千原和夫 |
| 2. 成人下垂体機能低下症の高コレステロール血症と肥満に關与する<br>因子に關する研究 .....                                    | 26   |
| 島根大学医学部附属病院長  | 加藤 讓 |
| 3. 先端巨大症の長期予後に關する研究 .....   | 29   |
| 国立病院機構京都医療センター臨床研究センター長   | 島津 章 |
| 4. マウス下垂体腫瘍細胞(ArT20)におけるDHEAとparthenolideの腫瘍<br>増生及びACTH・Corticosterone分泌に及ぼす影響 ..... | 33   |
| 高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科学教授  | 橋本浩三 |
| 5. MENINのプロラクチン抑制機構 .....   | 40   |
| 群馬大学大学院病態制御内科教授   | 森 昌朋 |

6. 「多嚢胞性卵巣症候群に対するゴナドトロピン療法の最適化の試み」  
に関する研究 ..... 44  
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 苛原 稔  
女性医学分野教授
7. 遺伝子組換えマウスを用いた家族性中枢性尿崩症(FNDI)の病態  
解析とその発症予防に向けた検討 ..... 50  
名古屋大学大学院代謝病態内科 大磯 ユタカ
8. 本邦における先端巨大症のheel pad thicknessの基準値に関する考察 ..... 54  
日本医科大学脳神経外科主任教授 寺本 明
9. in silico での下垂体特異的遺伝子の解明 ..... 59  
大阪大学大学院医学系研究科生体情報医学講師 巽 圭太
10. Sub (pre)-clinical Cushing病とsilent corticotroph adenomaの全国調査  
結果 ..... 63  
弘前大学医学部第三内科 須田 俊宏
11. 成長ホルモン (GH) 分泌異常症におけるインスリン抵抗性と  
血中アディポサイトカインに関する検討 ..... 70  
東京女子医科大学第二内科 肥塚 直美
12. Silent corticotroph adenomaに関する内分泌学的検討 ..... 72  
東京医科歯科大学大学院分子内分泌内科学  
(内分泌・代謝内科) 平田 結喜緒
13. 健常女児および低身長女児の思春期の成長 ..... 75  
国立成育医療センター臨床検査部 田中 敏章
14. Prop-1 Tg マウスにおける下垂体腫瘍の解析とヒト下垂体腺腫に ..... 82  
おけるProp-1の発現について  
東海大学医学部教授 長村 義之

|   |     |
|---|-----|
| 15. 間脳下垂体機能障害の予後調査法に関する研究 .....   | 85  |
| 国立保健医療科学院技術評価部主任研究官 横山 徹 爾  |     |
| 16. 先端巨大症56例における心機能の評価 .....  | 90  |
| 北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座・第二内科 清 水 力   |     |
| 17. 東北大学医学部附属病院第二内科を受診したクッシング病・クッシング症候群の解析 .....                        | 97  |
| 東北大学病院講師(総合診療部) 菅 原 明   |     |
| 18. 下垂体出血による続発性副腎不全および低ナトリウム血症補正後の橋外髄鞘崩壊症を併発したGH・PRL複合欠損症と考えられる一例 ..... | 105 |
| 九州大学大学院医学研究院病態制御内科学 柳 瀬 敏 彦   |     |
| 19. 高浸透圧によるアクアポリン-2水チャネルの遺伝子制御 .....                                    | 111 |
| 自治医科大学附属大宮医療センター総合医学第一 石 川 三 衛  |     |
| 20. cDNAマイクロアレイを用いた成長ホルモン欠損モデルラットの肝臓における遺伝子発現の解析 .....                  | 113 |
| 神戸大学医学部保健学科 置 村 康 彦   |     |
| <br>  |     |
| V. 間脳下垂体機能異常症の診断と治療の手引き(2004年)  |     |
| 成長ホルモン分泌不全性低身長症の診断の手引き(平成16年度改訂) .....                                  | 119 |
| 成人GH分泌不全症の診断の手引き(平成16年度改訂) .....  | 122 |
| <br>  |     |
| VI. 会議記録  |     |
| 平成16年度研究班会議プログラム .....  | 127 |
| <br>  |     |
| VII. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....   | 133 |

# I. 序 文

「間脳下垂体機能障害に関する調査研究」は、厚生省特定疾患の班として昭和48年に発足して以来、厚生労働省厚生科学研究補助金特定疾患対策研究事業、さらに厚生労働省厚生科学研究補助金難治性疾患克服研究事業と事業名は変わりましたが、鎮目和夫班長、熊原雄一班長、清水直容班長、入江実班長、加藤譲班長と歴代の班長の優れたリーダーシップのもと多くの班員あるいは研究者の地道な努力によって、各種間脳下垂体疾患の診断と治療、疫学、病因や病態の解析について多くの有用で価値ある成績を報告してきました。平成8年に厚生省特定疾患研究班が改組され、間脳下垂体機能障害調査研究班（加藤譲班長）が、内分泌・代謝系疾患研究班の分科会として活動を始める際に研究対象疾患として課せられたのが、ゴナドトロピン、プロラクチン、抗利尿ホルモン分泌異常症の三つでした。その後現在に至るまで研究班における研究対象としてこの3領域は根幹になっていますが、間脳下垂体疾患にはこれら以外にも問題を抱える多種類の疾病があり、それらの疾患もこの研究班では扱い研究を継続してきました。それらには複合下垂体ホルモン分泌異常症を含めた下垂体機能低下症、下垂体腫瘍、なかでも機能性下垂体腫瘍としての先端巨大症、クッシング病などがあります。特に、先進国ではもちろんのこと60カ国以上で使用が承認されている成人成長ホルモン分泌不全症に対する成長ホルモン補充療法が我が国では未だ認可されないままであることや経口DDAVP製剤の導入も遅々として進まないことなど、間脳下垂体疾患領域における臨床現場での問題を拾い上げればきりがありません。そのような状況にもかかわらず、成人成長ホルモン分泌不全症の診断薬としてGHRP-2が世界で初めて承認され、今年度の「成人GH分泌不全症の診断の手引き」に加えることができたことは特筆に値します。また、今年度は、特定疾患の疫学に関する研究班（主任研究者：稲葉 裕教授）の協力の下sub-またはpreclinical Cushing病についての全国調査結果の第一報が報告されています。また、平成15年度より取り組んでいる成人下垂体機能低下症患者を対象にしたQOL尺度開発も順調に進みつつあります。

本研究班は発足後3年目を迎え、この間に為された研究成果をまとめる年度に当たっています。精力的に活躍して下さった分担研究者や研究協力者のおかげで幾つかの注目すべき研究成果が得られました。また、課せられている3領域の分泌異常症のみならず、その他の代表的な間脳下垂体疾患について診断の手引き、治癒基準や治療に関するガイドラインを作成できたことは、次のステップとして計画されている疫学的研究の基礎になるものと期待される。ここに、ご協力頂いた関係者の方々に厚く御礼を申し上げますとともに、色々のご指導頂いた厚生省保健医療局疾病対策課の方々にも深謝致します。

平成17年3月

間脳下垂体機能障害に関する調査研究班

主任研究者 千 原 和 夫

## Ⅱ. 班 員 名 簿

|       | 氏 名                    | 所 属  | 職 名    |
|-------|------------------------|--|--------|
| 主任研究者 | 千原 和夫                  | 神戸大学大学院医学系研究科応用分子医学講座<br>内分泌代謝・神経・血液腫瘍内科   | 教 授    |
| 分担研究者 | 加藤 讓                   | 鳥根大学医学部附属病院  | 病院長・教授 |
|       | 島津 章                   | 国立病院機構京都医療センター 臨床研究センター  | センター長  |
|       | 橋本 浩三                  | 高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科学   | 教 授    |
|       | 森 昌朋                   | 群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学   | 教 授    |
|       | 苛原 稔                   | 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部<br>発生発達医学講座女性医学分野  | 教 授    |
|       | 大磯ユタカ                  | 名古屋大学大学院医学系研究科病態内科学講座代謝病態内科  | 教 授    |
|       | 寺本 明                   | 日本医科大学脳神経外科学教室   | 教 授    |
|       | 巽 圭太                   | 大阪大学大学院医学系研究科生体情報医学  | 講 師    |
|       | 須田 俊宏                  | 弘前大学医学部内科学第三講座   | 教 授    |
|       | 肥塚 直美                  | 東京女子医科大学第二内科   | 教 授    |
|       | 平田結喜緒                  | 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科体内分子制御学   | 教 授    |
|       | 田中 敏章                  | 国立成育医療センター臨床検査部  | 部 長    |
|       | 長村 義之                  | 東海大学医学部基盤診療学系病理診断学   | 教 授    |
|       | 横山 徹爾                  | 国立保健医療科学院技術評価部   | 主任研究官  |
|       | 清水 力                   | 北海道大学大学院医学研究科病態内科学講座・第二内科  | 助 手    |
|       | 菅原 明                   | 東北大学医学部附属病院総合診療部   | 講 師    |
| 柳瀬 敏彦 | 九州大学大学院医学研究院病態制御内科学講座  | 助 教 授  |        |
| 石川 三衛 | 自治医科大学附属大宮医療センター総合医学第一 | 教 授  |        |
| 置村 康彦 | 神戸大学医学部保健学科医療基礎学       | 助 教 授  |        |
| 研究協力者 | 高野加寿恵                  | 東京女子医科大学第二内科   | 教 授    |
|       | 岩崎 泰正                  | 高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科学   | 講 師    |
|       | 石井 均                   | 天理よろづ相談所病院内分泌内科  | 部 長    |
|       | 羽二生邦彦                  | 羽二生クリニック   | 院 長    |
|       | 沖 隆                    | 浜松医科大学第二内科   | 講 師    |
|       | 加治 秀介                  | 兵庫県立大学生体機能学  | 教 授    |
| 事務局   | 藤原 志穂                  | 神戸大学大学院医学系研究科応用分子医学講座<br>内分泌代謝・神経・血液腫瘍内科<br>〒650-0017 神戸市中央区楠町7-5-2<br>Tel : 078-382-5880 / Fax : 078-382-5898 | 秘 書    |

### Ⅲ. 総括研究報告書



## 間脳下垂体機能障害に関する調査研究

主任研究者 千原和夫 神戸大学大学院医学系研究科応用分子医学講座  
内分泌代謝・神経・血液腫瘍内科学教室教授

**研究要旨:** 間脳下垂体機能障害による視床下部ホルモン・下垂体ホルモンの分泌異常症の病因、病態を解明し、有用な診断治療法を確立することを目的に研究が行われ、本年度は次の成果が得られた。[疫学] 成人下垂体機能低下症患者では高コレステロール血症と肥満が高頻度にみられること、および両者の成因には異なる因子が関与することが示された。先端巨大症患者の死因に関連する合併症として悪性腫瘍は無視できず、寛解した先端巨大症でも注意深い観察が必要であることが明らかになった。Sub (pre)-clinical Cushing病の全国疫学調査が実施された。[臨床病態研究] 先端巨大症におけるインスリン抵抗性においてアディポサイトカインの直接の関与は少ないことが示唆された。silent corticotroph adenomaで臨床症状が欠如する機序として、ACTHのプロセッシングに関わる proconvertase1/3の発現低下が示唆された。低身長女兒の成人身長正常化には、思春期開始時の身長が重要であることが判明した。ヒトにおいても、ドーパミントランスポーターの異常によりGH・PRL複合欠損症の発症する可能性が示唆された。先端巨大症の心機能について検討され、年齢と%FSおよび罹病期間とLVMIとのあいだに正の相関が、またE/A比は男女とも年齢との間に負の相関が認められた。[病因解明をめざした基礎研究] DHEAは、転写活性NF $\kappa$ Bの抑制を介して、POMC遺伝子の発現抑制ならびにアポトーシスの誘導を生じ、NF $\kappa$ B 阻害剤であるparthenolideとの併用下においてACTH産生腫瘍の増殖を抑制する可能性が示された。MENINのプロラクチン転写抑制は、その一部にHDAC1を介したヒストンの脱アセチル化が関与していることが示唆された。Prop-1の異常発現は一部のPRLomaの形成・分化の一因であると考えられた。尿崩症の発症機構に、異常AVP前駆体蛋白によるドミナントネガティブ効果、AVP mRNA発現レベルの低下等の関与が明らかとなり、従来示唆されていた細胞死は発症に必須ではない可能性が考えられた。下垂体で高発現するが機能が全く解析されていない遺伝子の1つ(FLJ30058)が、下垂体ホルモン複合欠損症の病因候補遺伝子である可能性が示唆された。マウスアクアポリン-2の5'上流域に高浸透圧反応領域の存在が示された。DNAマイクロアレイで解析したところ、GH欠乏によって、肝において脂質代謝に関する種々の遺伝子発現の変動が観察された。これらの遺伝子発現の変動は、肝細胞内脂質蓄積を亢進させる方向に作用することが推測された。[新規診断法] 新規GH分泌刺激試験、KP-102負荷試験は、安全性、簡便性、再現性などすべてにおいて、従来の刺激試験に比べ優れていることが明らかとなった。本邦における先端巨大症診断におけるheel pad thickness(HPT)基準値が再検討された。

## 分担研究者氏名

|       |   |
|-------|---|
| 加藤 讓  | 島根大学医学部附属病院 病院長                                   |
| 島津 章  | 国立病院機構京都医療センター<br>臨床研究センターセンター長                   |
| 橋本浩三  | 高知大学医学部内分泌代謝・<br>腎臓内科学 教授                         |
| 森 昌朋  | 群馬大学大学院医学系研究科<br>病態制御内科学 教授                       |
| 苛原 稔  | 徳島大学大学院<br>ヘルスバイオサイエンス研究部<br>発生発達医学講座女性医学分野<br>教授 |
| 大磯ユタカ | 名古屋大学大学院医学系研究科<br>病態内科学講座代謝病態内科<br>教授             |
| 寺本 明  | 日本医科大学脳神経外科学教室<br>教授                              |
| 巽 圭太  | 大阪大学大学院医学系研究科<br>生体情報医学 講師                        |
| 須田俊宏  | 弘前大学医学部内科学第三講座<br>教授                              |
| 肥塚直美  | 東京女子医科大学第二内科 教授                                   |
| 平田結喜緒 | 東京医科歯科大学大学院<br>医歯学総合研究科<br>体内分子制御学 教授             |
| 田中敏章  | 国立成育医療センター<br>臨床研究部 部長                            |
| 長村義之  | 東海大学医学部基盤診療学系<br>病理診断学 教授                         |
| 横山徹爾  | 国立保健医療科学院技術評価部<br>主任研究官                           |
| 清水 力  | 北海道大学大学院医学研究科<br>病態内科学講座・第二内科 助手                  |
| 菅原 明  | 東北大学医学部附属病院<br>総合診療部 講師                           |
| 柳瀬敏彦  | 九州大学大学院医学研究院<br>病態制御内科学講座 助教授                     |
| 石川三衛  | 自治医科大学附属大宮<br>医療センター総合医学第一<br>教授                  |
| 置村康彦  | 神戸大学医学部保健学科<br>医療基礎学 助教授                          |

## A 研究目的

本研究の目的は、様々な間脳下垂体機能障害による視床下部ホルモン・下垂体ホルモンの分泌異常症の病因、病態を把握解明し、有用な診断治療法を確立することである。間脳下垂体系は、内分泌の中枢であるばかりでなく、神経系や免疫系など他の生体制御システムと密接に関連している。したがって、その障害は神経系や免疫系等を介して身体各所に様々な異常を引き起こし得るし、神経系や免疫系の障害によっても間脳下垂体機能に異常が出現しうる。また、間脳下垂体機能障害は、視床下部・下垂体系自身の制御システム障害と、その結果として生じる下垂体ホルモンにより調節されている標的臓器障害の2つに分けてとらえることも可能である。これらに対して、臨床で得られた問題をもとに、新たな視点で詳細に検討し、再び臨床の場にフィードバックすることが必要である。本研究では、この観点から、種々の方法を用いて研究が行なわれた。

## B 研究方法

(a) 疫学的研究方法、(b) 病態解明、診断法の確立をめざした臨床例の解析、(c) 病因解明・治療法の確立を目的としたin vivo、in vitro実験法を用いて、本年度は、次の研究が行われた。

- 1) 成長ホルモン分泌不全症の診断におけるGrowth Hormone-Releasing Peptide-2負荷試験の有用性
- 2) 成人下垂体機能低下症の高コレステロール血症と肥満に関与する因子に関する研究
- 3) 先端巨大症の長期予後に関する研究
- 4) マウス下垂体腫瘍細胞(A1T20)におけるDHEAとparthenolideの腫瘍増生、及びACTH・Corticosterone分泌に及ぼす影響
- 5) MENINのプロラクチン抑制機構

6) 遺伝子組換えマウスを用いた家族性中枢性尿崩症の病態解析とその発症予防に向けた検討

7) 本邦における先端巨大症のheel pad thicknessの基準値に関する考察

8) in silico での下垂体特異的遺伝子の解明

9) Sub (pre)-clinical Cushing病とsilent corticotroph adenomaの全国調査結果

10) 成長ホルモン (GH) 分泌異常症におけるインスリン抵抗性と血中アディポサイトカインに関する検討  
血中アディポサイトカインに関する検討

11) Silent corticotroph adenomaに関する内分泌学的検討

12) 健常女児および低身長女児の思春期の成長

13) Prop-1 Tg マウスにおける下垂体腫瘍の解析とヒト下垂体腺腫におけるProp-1の発現について

14) 先端巨大症56例における心機能の評価

15) 東北大学医学部附属病院第二内科を受診したクッシング病・クッシング症候群の解析

16) 臨床例の検討 下垂体出血による続発性副腎不全および低ナトリウム血症補正後の橋外髄鞘崩壊症を併発したGH・PRL複合欠損症と考えられる一例

17) 高浸透圧によるアクアポリン-2水チャネルの遺伝子制御

18) cDNAマイクロアレイを用いた成長ホルモン欠損モデルラットの肝臓における遺伝子発現の解析

## C 研究結果、およびD考察

1) 成長ホルモン分泌不全症の診断におけるGrowth Hormone-Releasing Peptide-2負荷試

## 験の有用性

Growth Hormone Releasing Peptide-2 (GHRP-2, KP-102)は、アミノ酸6個からなるGH secretagogueの一つであり強力なGH分泌促進作用を持つ。今回、重症GH分泌不全症の診断に対するKP-102負荷試験の有用性を多施設共同で検討した。被験者は、過去に完全型GH分泌不全症と診断され、インスリン負荷試験による血中GH頂値が $3.0 \mu\text{g/L}$ 以下の60例、及び健常者89名で、空腹時にKP-102 ( $2.0 \mu\text{g/kgBW}$ 又は $100 \mu\text{g}$ )を静脈内投与し、経時的に120分まで採血、GHを測定した。GH頂値は健常者で平均 $84.60 \text{ ng/mL}$ 、患者で平均 $1.37 \text{ ng/mL}$ であった。また、GH増加反応の再現性は良好であり、また年齢、性差及び肥満の影響も軽微であった。Receiver-Operating Characteristics (ROC) curve解析の結果、インスリン負荷試験の基準値 $3.0 \text{ ng/mL}$ に対応したKP-102負荷試験での基準値は $15.0 \text{ ng/mL}$ であると判断された。また、KP-102投与後の血中GH濃度の頂値は60分以内に認められたことから、検査時間は60分間で可能と考えられた。また、KP-102投与後の副作用として熱感、腹鳴、発汗などがみられたが、いずれの症状も一過性のものであり、無処置にて回復した。インスリン負荷試験と比べて、安全性、簡便性、再現性などすべてにおいてKP-102負荷試験が優れていることより、KP-102負荷試験は重症GH分泌不全症の診断をする上で、インスリン負荷試験に取って代わる可能性をもつ有用な試験と考えられた。

## 2) 成人下垂体機能低下症の高コレステロール血症と肥満に関する因子に関する研究

2001年度施行の成人下垂体機能低下症全国疫学調査のデータを用いて成人下垂体機能低下症における高コレステロール血症と肥満に関する因子について解析した。成人下

垂体機能低下症患者の高コレステロール血症に寄与する因子は女性、年齢およびTSH分泌低下症であった。一方、肥満に寄与する因子は男性、TSH分泌低下症およびADH分泌低下症であった。高度の肥満は40歳未満の若年群で高頻度にみられた。成人下垂体機能低下症患者では高コレステロール血症と肥満が高頻度にみられること、および両者の成因には異なる因子が関与することが示唆された。

### 3) 先端巨大症の長期予後に関する研究

我が国の先端巨大症患者のGH/IGF-1値と合併症や長期予後の関連はまだ十分明らかではない。先端巨大症患者125例において平均8.9年間観察し、長期予後と最終観察時の合併症、GH/IGF-1値の関連について後方視的解析を行った。観察期間中の死亡は10例、死亡時年齢 $54 \pm 16$ (SD)歳、いずれも最終GH/IGF-1値は高値で活動性と考えられた。GH/IGF-1が高値の先端巨大症患者における標準化死亡比は4.38(95%信頼区間:2.96-5.79)であった。高血圧や顕性糖尿病の合併頻度は治療後のIGF-1正常化群で明らかに低率であった。悪性腫瘍は、経過中20例(16%)に発見され、活動期18例、寛解期2例で、5例が死亡した。死因に関連する合併症として悪性腫瘍は無視できず、寛解した先端巨大症でも注意深い観察が必要である。

### 4) マウス下垂体腫瘍細胞(AtT20)におけるDHEAとparthenolideの腫瘍増生、及びACTH・Corticosterone分泌に及ぼす影響

副腎性アンドロゲンであるdehydroepiandrosterone(DHEA)及びNF $\kappa$ B阻害剤であるparthenolide(PRT)が、マウス下垂体腫瘍細胞株AtT20細胞の増生及びproopiomelanocortin(POMC)遺伝子転写活性、ACTH・corticosterone分泌に及ぼす効果を、in vitro及びin vivoの系において検討した。In vitroの実験ではPOMC、NF $\kappa$ Bの各gene promoter-

luciferase fusion geneを導入したAtT-20細胞に、DHEA及びPRTを添加し、24時間後の遺伝子転写活性をluciferase assay systemを用いて検討した。さらにMTTアッセイ及びフローサイトメトリーによりDHEA添加時のアポトーシス誘導性を評価した。In vivoの実験ではヌードマウスにAtT20細胞を皮下移植し、腫瘍を形成させた上で、DHEA及びPRTを単独または同時に連日皮下投与(21days)後断頭し、腫瘍重量及び血中ACTH・corticosterone値を検討した。In vitroではDHEA及びPRTの単独添加はPOMC、NF $\kappa$ B各々の遺伝子転写活性を減弱させ、両剤の併用添加ではいずれも相加的な抑制が認められた。In vivoではDHEA/PRT併用群ではvehicle投与群、DHEA群、PRT群に比し、断頭後の腫瘍重量が有意に減少していた。また血中corticosterone値はDHEA群、DHEA/PRT併用群で有意な減弱を認めた。以上の結果よりDHEAは、少なくとも一部は転写活性NF $\kappa$ Bの抑制を介して、POMC遺伝子の発現抑制ならびにアポトーシスの誘導を生じ、PRTとの併用下において腫瘍の増殖に対し抑制的に作用した可能性が示唆された。

### 5) MENINのプロラクチン抑制機構

多発性内分泌腫瘍症1型の原因遺伝子MEN1は、610個のアミノ酸からなる蛋白MENINをコードする。このMENINの機能についての詳細は不明である。今回、MENINのプロラクチン遺伝子の転写抑制機構について焦点をあて検討した。野生型MENINは、下垂体腫瘍細胞株GH4C1細胞においてプロラクチンプロモーター活性を約40%に抑制し、A176P、A242V変異体は野生型より強い抑制効果を示した。この抑制は、ヒストン脱アセチル化酵素と結合し核内受容体を介した転写抑制に関与しているNcoRにより拮抗され、HDAC1を強発現することにより回復した。また、この転写抑制効果は、ヒス

トン脱アセチル化阻害剤であるトリコスタチンAにより濃度依存性に抑制され、さらに、GST pull down法によりMENINとHDAC1との結合が認められた。以上より、MENINのプロラクチン転写抑制は、その一部にHDAC1を介したヒストンの脱アセチル化が関与していることが示唆された。

#### 6) 遺伝子組換えマウスを用いた家族性中枢性尿崩症(FNDI)の病態解析とその発症予防に向けた検討

家族性中枢性尿崩症(FNDI)の発症機構を明らかにする目的で、バゾプレシン(AVP)遺伝子のニューロフィジン(NP)領域の変異遺伝子を導入したノックインマウスを作製した。生後、経時的に、尿量、尿浸透圧、下垂体AVP含有量を測定し、免疫組織化学法により、AVP産生核および軸索におけるNPの発現および染色細胞数の検討を行い、またAVP mRNA発現レベルを観察した。ホモ変異体は生後早期に死亡したため、ヘテロ変異体を用い検討した。生後経時的に尿量は増加、尿浸透圧・下垂体AVP含有量は低下し、正常・異常NPの軸索染色とAVP陽性染色細胞数の減少を認めた。AVP mRNAの発現レベルは生後3ヶ月より低下した。以上から、多尿の発症段階に異常AVP前駆体蛋白によるドミナントネガティブ効果、AVP mRNA発現レベルの低下等の関与が明らかとなり、従来示唆されていた細胞死は発症に必須ではない可能性が考えられた。本モデルはFNDI発症機構解明、発症予防検討に有用であると考えられた。

#### 7) 本邦における先端巨大症のheel pad thicknessの基準値に関する考察

先端巨大症に対するheel pad thickness(HPT)は22mm以上という欧米の基準が採用されているが、本邦における基準値は不明である。今回、acromegalyのheel pad thickness (HPT)の

再評価を昨年の症例に加え行い、本邦における基準値につき考察した。当院で治療したacromegalyのうちHPTを測定しえた症例は112例(男性39例、女性73例)で、平均年齢は男性44.7±13.4、女性51.5±12.1であった。HPTの平均値は男性25.7±3.1mm、女性25.0±3.4mmで男女間に差は見られなかった。またHPTと体重、さらに女性において年齢にわずかな正の相関を認めた。内分泌学的に異常を認めない臨床的非機能性下垂体腺腫(NFA)に対しても同様の検討を行い、acromegalyにおける偽陰性率とNFAにおける偽陽性率をそれぞれ検討すると、男性で23mm、女性で22mmにおいてその和が最も小さくなった。以上の結果より、現時点ではHPTの基準値は男性23mm、女性22mmが望ましいと思われた。

#### 8) in silico での下垂体特異的遺伝子の解明

下垂体ホルモン複合欠損症の病因となりうる新規の下垂体特異的な遺伝子を単離するため、正常組織の大規模な遺伝子発現レベルの公開データベースを用いて、in silico での下垂体特異的遺伝子の解明を行った。その結果、下垂体特異的に高発現したのは下垂体前葉ホルモン遺伝子とPit1で、胎盤ホルモン、ガラニン、一部の視床下部ホルモン受容体、分泌顆粒蛋白、ホルモンプロセシング酵素、一部のシナプス蛋白のホルモン関連遺伝子は下垂体で高発現していた。新規の下垂体特異的遺伝子は見いだされなかったが、マウスとヒトで共に下垂体で高発現する遺伝子として、昨年度我々が報告したPi-a(Mab1)の他、6個の遺伝子を新たに認めた。この内、2つの配列情報が明らかになっているが機能が全く解析されていない遺伝子の1つ(FLJ30058)がX連鎖性の汎下垂体機能低下症の責任領域に位置し、病因候補遺伝子が得られた。

#### 9) Sub (pre)-clinical Cushing病とsilent corti-

## cotroph adenomaの全国調査結果

前年度に計画された全国疫学調査が実施された。Sub (pre)-clinical Cushing病は50症例の報告のうち、除外項目の吟味により26症例を調査対象とした。男女比1:2.3と女性に多く、腫瘍はmicro/macroadenomaがほぼ同数であった。夜間の血中コルチゾールは14/15例で $2.5 \mu\text{g/dl}$ 以下に低下しなかった。CRH負荷に対し22/23例で、DDAVP負荷に対しては3/4例で、ACTHが前値から150%以上の上昇を示した。Silent corticotroph adenoma (45症例)は男女比1:2.8とやはり女性に多く、過半数(65.9%)が3 cm以上の大きな腫瘍を有していた。免疫染色ではGHや $\alpha$ -subunitなど複数のホルモンを産生する例(26例)がACTH単独陽性例(19例)より多数であった。今後更に解析を進め、これらの疾患概念および診断基準の確立をめざす。

### 10) 成長ホルモン (GH) 分泌異常症におけるインスリン抵抗性と血中アディポサイトカインに関する検討

GH分泌過剰症ではインスリン抵抗性を呈するが、一方、GH分泌不全症でもインスリン抵抗性を呈することが示されている。本研究ではこれら病態でのインスリン抵抗性を調節する因子としてのアディポネクチンとレジスチンの関与について検討した。成人GHD44例、先端巨大症49例、健常人57例を対象とし、血中アディポネクチン(A)、レジスチン(R)をELISAにて測定し、HOMA-R、BMIなどとの関連を解析した。GHD、先端巨大症のHOMA-Rは $2.5 \pm 0.4$ 、 $3.4 \pm 0.6$ であり両疾患ともインスリン抵抗性を認めた。血中A値は両疾患と健常人との差はなかったが、GHDで先端巨大症に比較し有意に低値であった。A値はGHDではHOMA-R、BMIと負の相関を示したが、先端巨大症ではHOMA-Rとの相関はみられず、BMIとのみ負の相関を認めた。血中R値はGHD

において、先端巨大症、健常人より有意に高値であったが、両疾患においてHOMA-R、BMIとの相関は認めなかった。GHDでは先端巨大症に比較し血中Aの減少とRの増加がみられ、これらアディポサイトカインがインスリン抵抗性に関与する一方、先端巨大症におけるインスリン抵抗性においては直接の関与は少ないことが示唆された。

### 11) Silent corticotroph adenomaに関する内分泌学的検討

35例のマクロアデノーマを呈した非機能性下垂体腫瘍を対象に、ACTHの免疫組織化学法によりsilent corticotroph adenoma (SCA)を検索した結果、高頻度にみられ(23%)、また内分泌学的検討から軽度のACTH・コルチゾール分泌異常がみられた。SCAで臨床症状が欠如する機序の一部に腫瘍でのACTHのプロセッシングに関わるproconvertase1/3の発現低下が関与するために、活性の弱い大分子ACTHが分泌されている可能性が示唆される。

### 12) 健常女児および低身長女児の思春期の成長

いままで我が国には、健常女子の二次性徴の開始と思春期の成長を検討した多数例の報告はなかった。今回、それらのデータが得られたので、低身長女児の思春期の伸びと比較検討した。対象は、東京の私立女子校生で毎年身長・体重を測定し経過観察できた133名を対象とした。低身長女子は、国立小児病院・国立成育医療センター内分泌代謝科にて無治療で経過観察した28名。健常女子の成人身長の平均は、 $159.3 \pm 5.5\text{cm}$ ( $0.28 \pm 1.14\text{SD}$ )と全国平均よりやや高かった。思春期開始から成人身長までの伸びは、 $20.8 \pm 4.7 \text{ cm}$ であった。低身長女子の成人身長の平均は、 $146.1 \pm 4.4\text{cm}$ ( $-2.36 \pm 0.87\text{SD}$ )で、思春期の伸びは、 $17.9 \pm 4.0 \text{ cm}$ であった。低身長女児の成人身長

の正常化には、思春期開始時の身長が重要であった。

### 1 3) Prop-1 Tg マウスにおける下垂体腫瘍の解析とヒト下垂体腺腫におけるProp-1の発現について

下垂体の初期分化に関わる転写因子であるProp-1の、ヒト下垂体腺腫における発現解析、およびProp-1 Tg マウスの下垂体の解析を行うことで、下垂体腺腫の発生・分化におけるProp-1の関与について考察した。ヒト下垂体腺腫では、ほとんどの症例においてProp-1 mRNAの発現は認められない、あるいは極めて低いレベルであった。しかし、一部のPRL産生性腺腫において著しく高くなっていた。一方、Prop-1 Tg マウスでは、1年以上飼育した雌動物の下垂体において、中・後葉に浸潤する結節性のPRLomaの形成が観察された。これらの結果より、Prop-1の異常発現は一部のPRLomaの形成・分化の一因であると考えられる。

### 1 4) 先端巨大症56例における心機能の評価

先端巨大症の長期予後を解析する目的の一環として、心エコーによる心肥大、心機能に関する解析をおこなった。対象は当科通院中の未治療あるいは疾患活動性を有する先端巨大症例56例で、心エコーにより心肥大、収縮能、拡張能を評価し、男女別に、年齢・罹病期間・GH値・IGF-1値・高血圧および糖尿病の合併症の有無との関連性を検討した。また、一部の症例においては治療後の改善について解析した。男性において、年齢と%FSおよび罹病期間とLVMIとのあいだに正の相関が、またE/A比は男女とも年齢との間に負の相関を認めた。さらに、高血圧合併例では非合併例に比し左室肥大と拡張能に有意な差を認めた。治療による心肥大および心機能の改善は明らかでなかったが、今後は、健常人との比較な

らびにより厳格な疾患コントロールをおこなった上で、さらなる検討を加えていく予定である。

### 1 5) 東北大学医学部附属病院第二内科を受診したクッシング病・クッシング症候群の解析

これまで東北大学医学部附属病院第二内科を受診してクッシング病またはクッシング症候群と診断された患者群の解析を行った。1958年から2000年までに、当科においてクッシング病またはクッシング症候群と診断された症例は170名（うち男性37名、女性133名）であった。うち77症例がクッシング病、93症例がクッシング症候群と診断されている（ただし、1974年以前の症例は詳細不明例も多い）。クッシング病と診断された症例のうち、下垂体癌が1例、異所性ACTH症候群が完全には否定できない症例が3例であった。クッシング症候群と診断された症例のうち副腎腺腫が50例（うち両側性2例）、副腎癌が10例、結節性過形成が2例、さらに異所性ACTH症候群が2例（うち胸腺腫瘍1例、肺小細胞癌1例）認められた。各症例群の診療記録を検討した結果、1970年代～1980年初頭ではCTの導入とACTH測定キットの開発が、1980年代以降ではハーディ手術の普及とMRIの導入が、さらに1990年代以降ではγナイフと腹腔鏡手術の普及が、クッシング病・クッシング症候群の診断と治療の進歩に大きく貢献していることが改めて確認された。医学・医療全体における技術の進歩が、クッシング病・クッシング症候群の患者群のQOL向上に直接結びついていることを再認識する結果が得られ、非常に興味深い。

### 1 6) 下垂体出血による続発性副腎不全および低ナトリウム血症補正後の橋外髄鞘崩壊症を併発したGH・PRL複合欠損症と考えられる一例

症例は55才男性。近医にて低Na血症の補正後、パーキンソン症状が出現し、また低血糖発作が頻発するため当科へ紹介入院。精査の結果、下垂体出血による副腎不全のため低Na血症となり、その後血清Na値補正により橋外髄鞘崩壊症を来たしたと考えられた。ステロイドの補充により、低Na血症および低血糖は改善した。本例は身長が133cmと低身長。家族歴にて父親と長兄に低身長を認めた。内分泌学的諸検査の結果より本例は、遺伝性のGH・PRL複合欠損症の可能性が疑われた。ノックアウトマウスの解析から、ドーパミントランスポーター (DAT) の異常によりGH・PRL複合欠損症を呈することが報告されている。そこで本症例におけるDAT遺伝子のシーケンス解析を行い、第3イントロンのスプライシングアクセプターサイトのポリピリミジン配列にヘテロ接合性の変異を見出した。本変異によるスプライシング異常により premature termination codon が出現し、N末側のみの短いDAT蛋白ができる可能性が想定されることより、本変異がGH・PRL複合欠損症の原因である可能性が推定された。

#### 17) 高浸透圧によるアクアポリン-2水チャネルの遺伝子制御

SIADHでは、低血漿浸透圧にもかかわらず血漿アルギニンバソプレッシン(AVP) 値は持続的に高値をとる。このため、AVP 依存性に抗利尿作用が亢進して、希釈性低ナトリウム(Na) 血症を呈する。しかし、AVP 分泌過剰状態が慢性化すると、抗利尿作用が減弱して、水利尿が部分的に回復して、低Na血症のさらなる助長は回避される。これは、AVP escape 現象としてよく知られているが、その機序は明らかでない。私たちは、in vivoで SIADH モデルラットを用いて、AVP の過剰状態が持続するにもかかわらず腎内アクアポリン-2 (AQP-

2) 水チャネルの発現が減弱することを示した。この中で、低血漿浸透圧や循環血液量の増加が直接AQP-2 発現に関与する可能性が示唆された。さらに、マウスAQP-2 の5' 上流域 (-9.5 kb)をクローニングして、これをMDCK細胞にトランスフェクトし浸透圧反応領域の存在を検討した。

#### 18) cDNAマイクロアレイを用いた成長ホルモン欠損モデルラットの肝臓における遺伝子発現の解析

成長ホルモン(GH) の代謝作用の機序を明らかにすることを目的に、肝臓において、GHによって発現が制御されている遺伝子をcDNAマイクロアレイで調べた。慢性GH欠乏の影響を調べるために、生物活性を有さないGHを分泌するため成長不全をきたすspontaneous dwarf rat (SDR)、および対照のSDラットの肝臓からRNAを抽出した。DNAマイクロアレイで解析したところ、GH欠乏によって、脂質代謝に関する種々の遺伝子発現の変動が観察された。これらの遺伝子発現の変動は、肝細胞内脂質蓄積を亢進させる方向に作用することが推測された。一部の遺伝子発現変動は、non-alcoholic steatohepatitis (NASH)で観察される遺伝子発現変動と同一であり、NASHの病態の一部をGH作用不全により説明し得る可能性がある。

#### E 結論

間脳下垂体機能障害による視床下部ホルモン・下垂体ホルモンの分泌異常症の病因、病態を把握し、その有用な診断治療法を確立することを目的とし、様々な臨床研究、in vivo、in vitro実験が行なわれ、多くの成果が得られた。この成果は、新たな間脳下垂体機能障害の診断法、治療法を開発するうえで有用であると考える。



**F 健康危険情報**

なし

**G 研究発表**

論文発表

英文原著 91編

**H 知的財産権の出願・登録状況**

該当無し

## IV. 分担研究報告書

## 成長ホルモン分泌不全症の診断における Growth Hormone-Releasing Peptide-2負荷試験の有用性

主任研究者 千原和夫 神戸大学大学院医学系研究科応用分子医学講座  
内分泌代謝・神経・血液腫瘍内科学教室教授

**研究要旨：**Growth Hormone Releasing Peptide-2(GHRP-2,KP-102)は、アミノ酸6個からなるGH secretagogueの一つであり強力なGH分泌促進作用を持つ。今回、重症GH分泌不全症の診断に対するKP-102負荷試験の有用性を多施設共同で検討した。被験者は、過去に完全型GH分泌不全症と診断され、インスリン負荷試験による血中GH頂値が $3.0\mu\text{g/L}$ 以下の60例、及び健常者89名で、空腹時にKP-102( $2.0\mu\text{g/kgBW}$ 又は $100\mu\text{g}$ )を静脈内投与し、経時的に120分まで採血、GHを測定した。GH頂値は健常者で平均 $84.60\text{ng/mL}$ 、患者で平均 $1.37\text{ng/mL}$ であった。また、GH増加反応の再現性は良好であり、また年齢、性差及び肥満の影響も軽微であった。Receiver-Operating Characteristics(ROC) curve解析の結果、インスリン負荷試験の基準値 $3.0\text{ng/mL}$ に対応したKP-102負荷試験での基準値は $15.0\text{ng/mL}$ であると判断された。また、KP-102投与後の血中GH濃度の頂値は60分以内に認められたことから、検査時間は60分間で可能と考えられた。また、KP-102投与後の副作用として熱感、腹鳴、発汗などがみられたが、いずれの症状も一過性のものであり、無処置にて回復した。インスリン負荷試験と比べて、安全性、簡便性、再現性などすべてにおいてKP-102負荷試験が優れていることより、KP-102負荷試験は重症GH分泌不全症の診断をする上で、インスリン負荷試験に取って代わる可能性をもつ有用な試験と思われる。

### A. 研究目的

近年、成人GH分泌不全症が注目されている。成人GH分泌不全症では、血中脂質・内臓脂肪の増加や、骨塩量・筋力の低下が出現すること、さらにこれらの所見はGH投与によって改善することが明らかとなり、最近では、小児のGH分泌不全症と同様に、成人のGH分泌不全症も治療すべきであると考えられている。成人GH分泌不全症の診断についての国際的ガイドラインは、1997年に開催されたGrowth Hormone Research Societyのワークショップで作成されている。そのコンセンサスでは、インスリン負荷試験を第一選択の診断検査法と規定しており、インスリン刺激後血中GH頂値が $3\text{ng}/$

$\text{mL}$ 以下となる場合を重度のGH分泌不全症と診断している。しかし、心電図異常のある患者、虚血性心疾患の既往のある患者、あるいは痙攣性疾患に罹患している患者等では、インスリン負荷は禁忌である。一方、アルギニン、L-ドーパ等、他のGH分泌刺激は、GH反応における再現性、刺激の強さ、所要検査時間などに問題がある。以上の点を鑑み、インスリン負荷試験と同程度以上の精度で重度のGH分泌不全症を鑑別でき、再現性、安全性に優れ、使用上の制約や患者への負担が少ない負荷試験開発をめざし、GH分泌不全診断薬としてのKP-102の可能性を検討した。

## B. 研究方法

過去に完全型GH分泌不全症と診断され、インスリン負荷試験による血中GH頂値が $3.0 \mu\text{g/L}$ 以下であった患者60例（男38例、女22例；年齢7-64歳）及び健常者89名（男61名、女28名；年齢5-76歳）を対象に、KP-102を $100 \mu\text{g}$ （18歳以上）、又は $2.0 \mu\text{g/kg}$ （18歳以下）単回静脈内投与した。投与直前、投与後15、30、45、60、90、120分に採血、血漿GHを測定した。また、KP-102投与に伴う自覚症状の出現、血液学検査、生化学検査における変化を併せて検討した。なお、本研究は多施設共同研究として行い、事前に各施設の倫理委員会の許可を得た。

## C. 研究結果

GH頂値は健常者で平均 $84.60 \text{ ng/mL}$ 、患者で平均 $1.37 \text{ ng/mL}$ であった。健常者にKP-102を日を変えて2回投与しGH増加反応を比較したところ再現性は良好であり、また年齢、性差及び肥満の影響も軽微であった。

GH分泌不全の診断基準をGH頂値 $3 \text{ ng/mL}$ 以下とした場合、KP-102とインスリン負荷試験におけるGH分泌不全の診断一致率は $88.1\%$ （ $37/42$ ）であった（表1）。インスリン投与後に $C_{\text{max}}$ が $3 \text{ ng/mL}$ 以下であった症例のうちKP-102投与後には $3 \text{ ng/mL}$ を超えた症例は、インスリン投与後の $C_{\text{max}}$ が $0.53 \text{ ng/mL}$ 以上で、ややGH分泌の反応がある症例であった。

Receiver-Operating Characteristics (ROC) curve解析の結果、成人における完全型GH分泌不全症の診断において国際的コンセンサスが得られているインスリン負荷試験の基準値 $3.0 \mu\text{g/L}$ に対応したKP-102負荷試験での基準値は $15.0 \text{ ng/mL}$ であると判断された。KP-102投与後の $C_{\text{max}}$ 散布図（図1）からも、性別、年齢、肥満の有無に関わりなく、 $15 \text{ ng/mL}$ を基準とす

るとGH分泌不全の有無を区分し得ることが明らかとなった。

また、KP-102投与後の血漿GH濃度の $T_{\text{max}}$ は18.2分であり、インスリン投与後の血漿GH濃度の $T_{\text{max}}$ （38.2分）の約 $1/2$ であった。

KP-102投与後の副作用は、50例中23例に認められた。主な症状は腹鳴及び熱感であり、全ての症状が軽度、一過性で、無処置にて回復した。臨床検査値の異常変動は、1例に白血球数増加が認められたのみであった。

## D. 考察

近年、成人GH分泌不全症に対する関心が高まっている。成人GH分泌不全症の患者では高脂血症、内臓脂肪蓄積型肥満及び血管の動脈硬化性病変の進展及び筋力の低下に伴う運動能の低下や心機能の低下等が出現する。成人GH分泌不全症においては心血管系疾患による死亡率が健常成人に比べて高いとの報告もある。本邦ではまだ臨床試験中であるが、使用が承認されている欧米の成績によれば、GH分泌不全症患者にGH補充療法を行うことによりGH分泌不全症患者で認められる異常は改善されると報告されている。近い将来本邦でも成人GH分泌不全症に対してGH使用が可能になることを踏まえ、成人GH分泌不全症の診断方法についての問題点を掘り起こし改良を加えることは極めて重要な課題である。

成人GH分泌不全症の診断についての国際的ガイドラインは、1997年に開催されたGrowth Hormone Research Societyのワークショップで作成された。そのコンセンサスでは、インスリン負荷試験を第一選択の診断検査法と規定しており、インスリン刺激後血中GH頂値が $3 \text{ ng/mL}$ 以下となる場合を重度のGH分泌不全症と診断している。しかし、心電図異常のある患者、虚血性心疾患の既往のある患者、あ