

総蛋白 6.3g/dl, アルブミン 4.4g/dl, AST 35mU/ml, ALT 16mU/ml, LDH 248 mU/ml, ALP 165mU/ml, Na 116mmol/l, K 4.5mmol/l, Cl 84mmol/l, BUN 7mg/dl, クレアチニン 0.56mg/dl, 尿酸 2.1mg/dl, 総コレステロール 152mg/dl, 中性脂肪 83mg/dl, 血糖 106mg/dl, Posm 238mmol/kg。尿定性 (比重1.011, 蛋白(-), 糖(-)), Uosm 417mmol/kg, クレアチニンクリアランス 111.0ml/min, 尿中Na 115mmol/day, 尿中K 34.4mmol/day, 尿中Cl 167mmol/day。

内分泌学的検査所見：血漿AVP 0.5pg/ml, レニン活性 0.1ng/ml/h, アルドステロン 100 pg/ml, コルチゾール24.5  $\mu$ g/dl, ACTH 56.2pg/ml, TSH 1.800IU/ml, フリーT4 0.42ng/dl, フリーT3 2.21pg/ml, プロラクチン 304 ng/ml。GRH・TRH・LH-RH・CRH負荷試験ではいずれも明らかな異常反応は認めなかった。水負荷試験では尿排泄率30%、最小尿浸透圧642 mmol/kgと水利尿不全を認めた。

画像検査所見：頭部MRI検査では、トルコ鞍内に径20mm大の下垂体腫瘍を認め、下垂体後葉及び下垂体茎は上方に圧排されていた (図1)。

治療経過：以上の所見より、SIADHの診断基準 (6) と合致することから、SIADH及び下垂体プロラクチノーマと診断した。入院後すぐに高張食塩水の投与を行い、血清Na値を125 mmol/l以上まで回復させた。その後は500 ml/dayの飲水制限のみにて血清Na値はすみやかに正常値に復した。待機的に腫瘍摘出術が施行された。病理所見では、密に腺管様に増生する腫瘍組織を認め、プロラクチンの免疫染色にて胞体部分的陽性所見を認めた (図2)。術後は飲水制限を解除したが血清Na値は基準値内を維持でき、水負荷試験では尿排泄率91%、最小尿浸透圧78 mmol/kgと水利尿は改善を認めた。

### C. 症例2：68歳男性

主訴：食思不振、意識障害

既往歴：特記事項なし

生活歴：特記事項なし

現病歴：2002年5月初旬より食思不振が顕著となり、次第に意識障害が顕在化した。近医にて血清Na 110mmol/lを指摘され、6月初旬当科に紹介入院となった。

入院時現症：身長161cm、体重60.9kg、体温36.5℃、脈拍50/分、血圧120/64mmHg、意識JCS I-2、明らかな視野・視力障害なく、その他の神経学的所見に異常はみられない。口腔内乾燥所見なし、頭頸部、胸部、腹部、四肢に異常所見を認めない。

一般検査所見：白血球 4290/ $\mu$ l, 赤血球 347万/ $\mu$ l, ヘモグロビン 10.9g/dl, 血小板 31.1万/ $\mu$ l, 総蛋白 6.2g/dl, アルブミン 4.0g/dl, AST 29mU/ml, ALT 17mU/ml, LDH 146 mU/ml, ALP 165mU/ml, Na 112mmol/l, K 4.9mmol/l, Cl 78mmol/l, BUN 15mg/dl, クレアチニン 0.75mg/dl, 尿酸 3.9mg/dl, 総コレステロール 134mg/dl, 中性脂肪 87mg/dl, 血糖 90mg/dl, Posm 219mmol/kg。尿定性 (比重1.018, 蛋白(-), 糖(-)), Uosm 581mmol/kg, クレアチニンクリアランス 57.2ml/min, 尿中Na 151mmol/day, 尿中K 20.3mmol/day, 尿中Cl 161mmol/day。

内分泌学的検査所見：血漿AVP 1.7pg/ml, レニン活性 0.8ng/ml/h, アルドステロン 60 pg/ml, コルチゾール9.4  $\mu$ g/dl, ACTH 24.7pg/ml, TSH 1.110IU/ml, フリーT4 0.44ng/dl, フリーT3 1.90pg/ml, プロラクチン 10.6ng/ml, GRH・TRH・LH-RH・CRH負荷試験ではいずれも明らかな異常反応は認めなかった。水負荷試験では尿排泄率16%、最小尿浸透圧600mmol/kgと明らかな水利尿不全を認めた。

画像検査所見：頭部MRI検査では、トルコ

鞍内から鞍上部に径20mm大の下垂体腫瘍を認め、下垂体後葉及び下垂体茎は左後上方に圧排されていた(図3)。

治療経過：以上の所見より、SIADHの診断基準(6)と合致することから、SIADH及び下垂体腺腫と診断した。入院後すぐに高張食塩水の投与を行い、血清Na値は125 mmol/l以上まで回復したが、意識障害は改善せず、入院4日目に痙攣発作を生じた。しかし、その後は750 ml/dayの飲水制限と利尿剤・抗痙攣剤投与にて、血清Na値及び意識障害は徐々に改善した。血清Na値は130~135mmol/l程度の回復にとどまった。入院33日目に経蝶形骨洞的腫瘍摘出術が施行された。病理所見では、好塩基性の豊富な胞体を有する腫瘍細胞がfibrovascular stomaを伴いシート状に増生していた(図4)。免疫組織化学染色でホルモン陽性反応を認めず、非機能性下垂体腺腫と診断された。術後は経過観察のみで血清Na値は正常化した。術後MRIでは下垂体茎の圧排像は消失し、下垂体後葉は正常位に復しており、下垂体茎の高信号も消失した。また、術後の水負荷試験では尿排泄率39%、最小尿浸透圧200 mmol/kgと水利尿は改善を認めた。

#### D. 考察

本症例における下垂体腫瘍はいずれも20mm以上と大きく、トルコ鞍内を占拠していたが、下垂体前葉機能は保たれており、副腎皮質機能低下も生じていない。下垂体-副腎系の機能低下は本症例の病態には関与していないと考えられる。一般にAVPは視床下部で合成されるため、下垂体腫瘍ではSIADHは生じないといわれている。しかし、本症例では下垂体後葉及び下垂体茎は腫瘍により強く圧排されていた。術後、下垂体腫瘍摘出により下垂体後葉及び下垂体茎の圧排が解除され、SIADH

が消失した。下垂体腫瘍は、SIADHを惹起する中枢性神経疾患の1つと考えられ、腫瘍による下垂体後葉の圧迫による物理的刺激がAVPの分泌亢進に深く関与することが示唆される。

今回の2症例は、急激に発症した低Na血症と考えられる。症例2は低Na血症の進行が速やかで、下垂体腫瘍摘出術後に血清Na値の正常化が得られた。症例1では低Na血症の進行は速やかなものの、その後の低Na血症は水制限のみで管理が可能であり、手術は待機的に行われた。下垂体腺腫による圧排刺激は下垂体後葉、茎に対してのものであり、AVP合成自身につながる視床下部の細胞体への刺激でないことから、AVP分泌亢進は比較的短期間である可能性も考えられる。このため、著しい低Na血症を招来する期間は決して長くないことも想定される。下垂体腺腫の長い臨床経過の中で、SIADHにもとづく低Na血症に関連する臨床徴候が下垂体腫瘍の発見の契機となった点はきわめて興味深い。

#### E. 結論

1. SIADHによる低Na血症によって発見された下垂体マクロアデノーマの症例を2例経験した。

2. 下垂体腫瘍は、腫瘍による下垂体後葉及び下垂体茎への圧迫によりSIADHを生じることが示唆される。

文献：1.Ishikawa S, Okada K, Saito T (1994) Vasopressin secretion in health and disease. In: Imura H(ed) The Pituitary Gland, Second Edition, Raven Press, New York, pp.331-350.

2.Slessor A (1951) Studies concerning the mechanism of water retention in Addison's disease and in hypopituitarism. J Clin Endocrinol 11:700-723.

3.Oelkers W (1989) Hyponatremia and inappropriate secretion of vasopressin(antidiuretic hormone)in patients with hypopituitarism. N Engl J Med 321:492-496.

4.Ishikawa S, Fujisawa G, Tsuboi Y, Okada K, Kuzuya T, Saito T (1991) Role of antidiuretic hormone in hyponatremia in patients with isolated adrenocorticotrophic hormone deficiency. Endocrinol Japan 38:325-330.

5.Yatagai T, Kusaka I, Nakamura T, Nagasaka S, Honda K, Ishibashi S, Ishikawa S (2003) Close association of severe hyponatremia with exaggerated release of arginine vasopressin in elderly subjects with secondary adrenal insufficiency. Eur J Endocrinol 148:221-226.

6.Bartter FC, Schwartz WB (1967) The syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone. Am J Med 42:790-806.

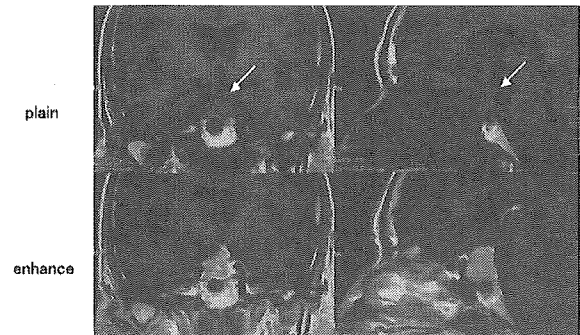


图 3 : 頭部MRI: 冠状断・矢状断 (症例2)

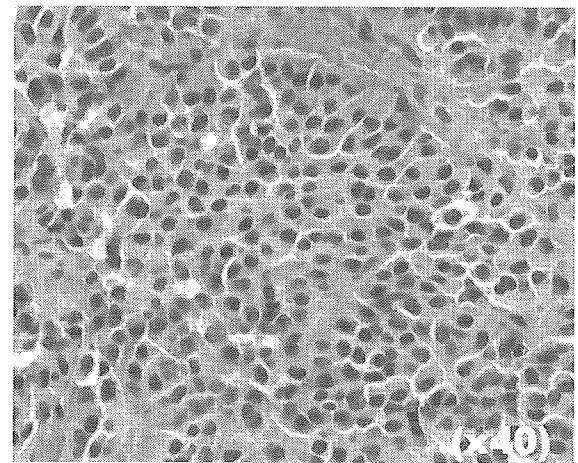


图 4 : 病理所見 (症例2)

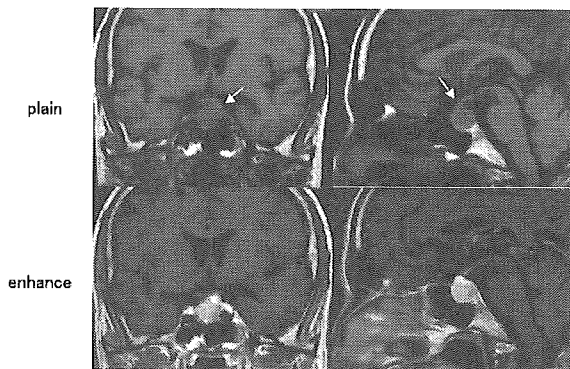


图 1 : 頭部MRI: 冠状断・矢状断 (症例1)

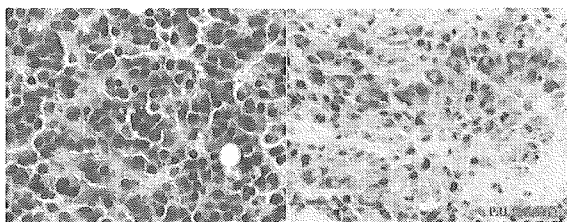


图 2 : 病理所見 (症例1)

## 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 第2報

分担研究者 大磯 ユタカ 名古屋大学大学院医学系研究科糖尿病・内分泌内科学  
林 正 幸 同上  
有馬 寛 同上

**研究要旨：**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、ニューロフィジン(NP)の変異遺伝子の一つであるCys67stopを導入したノックインマウスを作製し解析を行った。生後1ヶ月齢より、体重、尿量、飲水量、尿浸透圧、下垂体AVP含有量を測定、AVP産生核において免疫組織学的検討を行った。また雌においては卵巣摘除 (OVX)を、雄においては間歇的脱水負荷を行い尿崩症の発症、進行に対する影響を検討した。ヘテロ変異体は生後1ヶ月より経時的に尿崩症の進行を認め、異常NPの発現と初期より正常NPの軸索の染色低下が確認された。その表現型は雄に比べ雌の進行が顕著であった。雌にOVXを施行するとコントロールに比べ有意に多尿進行が遅延し、OVXにエストロゲン(E2)補充により尿量はコントロールと同様に増加した。一方、雄性ヘテロ変異体に間歇的脱水負荷を加えるとコントロールに比し多尿が進行した。以上より、FNDIの発症に異常蛋白の蓄積、E2および脱水負荷が関与しており、発症予防に脱水の回避が有効であることが示唆された。

### A. 研究目的

家族性中枢性尿崩症(FNDI)は生後数ヶ月から数年で進行性に多飲、多尿を呈する常染色体優性遺伝の疾患である。FNDIに関連して現在までに50以上の点突然変異が報告されているが、そのほとんどがバゾプレシン (AVP)のキャリアプロテインであるニューロフィジン (NP) 領域に存在している。我々はin vitroの検討により、異常AVP前駆体蛋白が細胞内輸送の障害をもたらす成績を報告し、AVP産生細胞に異常蛋白が蓄積し細胞死が発生することがFNDIの病態形成の一因である可能性を示した。

また、正常、変異遺伝子由来の前駆体がヘテロダイマーを形成し、正常蛋白の輸送が小胞体レベルで障害されるドミナントネガティブな機構が尿崩症の発症に関与する可能性も

同様にin vitroの成績から示唆されている。しかし、こうしたin vitroの検討には下垂体前葉系細胞系などヘテロな系を使用せざるをえないなど限界があるため、われわれはFNDIの変異遺伝子を導入したノックインマウスを作製し、in vivoの解析系を用いFNDIの発症機構の解明を現在進めている。

前年度に行った表現型の解析で、本ノックインマウスは生後1ヶ月齢より徐々に多飲多尿を呈することが明らかとなり、生後数ヶ月から数年で多飲多尿を呈するFNDIのモデル動物として、ヒトに極めて近い表現型を示すことが確認された。また、表現型に雌雄差を認めることが本ノックインマウスで確認され、今回はその解析を中心に行い発症予防への応用も視野に検討を行なった。

## B. 研究方法

### ノックインマウスの作製

我々が日本のFNDI家系において見出したNP領域のナンセンス変異であるCys67stopの点突然変異を有するノックインマウスを既報のごとくGene Targeting法により作製した。NPの67番目のアミノ酸であるCysteinをコードする塩基配列をstop codonに置換したTargeting vectorを構築し、マウスのES細胞に導入して相同組換えが行なわれたES細胞株を選択した。この相同組換えしたES細胞株にCre発現ベクターを一過性に導入・発現させてAVP遺伝子の発現に影響を及ぼす可能性のあるPGK-Neomycinセレクションマーカーを除去し、変異型AVP遺伝子のノックイン-ES細胞株を樹立した。これらのノックインES細胞株をマウスの胚盤胞に注入して、キメラマウスを作製後、野生型マウスと交配させてF1、続いてF2マウスを作製した。また同時にノックインマウスの背景をC57BL6/Jマウスへ統一するためにバッククロスを5代行い純系化し、F2マウスと合わせてこれらを以下の実験に用いた。

### 表現型の解析

ノックインマウスを代謝ケージに入れ、体重、尿量、飲水量、摂食量、尿浸透圧を経時的に測定した。Radioimmunoassay法により下垂体中のAVP含有量を経時的に測定した。免疫組織化学法により、異常NP、正常NP、およびAVPに対するそれぞれのポリクローナル抗体を用い、AVP産生核である視索上核(SON)、室傍核(PVN)におけるNPの発現および染色細胞数を検討した。

### 卵巣摘除術およびエストロゲン補充の検討

表現型の雌雄差の原因を検討する目的で、雌性ヘテロ変異体に卵巣摘除術(OVX)を施行し、

Sham手術を施行したコントロール群、OVX後にエストロゲン補充したOVX+E2群との間で尿量、尿浸透圧およびAVP染色細胞数の比較検討を行った。

### 間歇的脱水負荷による表現型に及ぼす影響の検討

雌に比べ進行が遅い雄性ヘテロ変異体に、1週間のうち2日間絶水を繰り返す間歇的脱水負荷を1年間施行し、自由飲水のコントロール群と尿量、尿浸透圧およびAVP染色細胞数の比較検討を行った。

## C. 研究結果

### 1. 表現型の解析結果

野生型、ヘテロ変異体ともに同様の体重増加を認めたが、尿量は生後1ヶ月齢時点において、ヘテロ変異体は野生型に比べ3倍程度の多尿を示し以後経時的に増加した。雌性ヘテロ変異体における尿量の増加は雄性に比べ顕著であり、生後18ヶ月齢での検討において、野生型に比べ約10倍、雄性ヘテロ変異体に比べても約2~3倍程度の多尿を示した。また、尿浸透圧も生後1ヶ月時点においてヘテロ変異体は野生型に比べ有意に低値を認め、その後も経時的に低下傾向を認めた。同様に雌性ヘテロ変異体は雄性に比べ尿浸透圧も低値傾向を認めた。

AVPに対するポリクローナル抗体を用いた免疫組織学的検討において、SON, PVNともに1ヶ月齢においてヘテロ変異体は野生型と比し陽性細胞数に有意差は認めなかった。しかしながら、ヘテロ変異体のAVP陽性細胞数は野生型に比べ、雌が3ヶ月齢より雄が6ヶ月齢より減少し、以後12ヶ月齢まで経時的に減少傾向を認めた。

### 2. 異常蛋白によるドミナントネガティブ効果

の存在

異常NPのtruncateされた断端部のみを認識するポリクローナル抗体を作製し、免疫組織学的検討を行った結果、野生型の視床下部AVP産生核では染色されず、ヘテロ変異体のAVP産生核特異的に異常蛋白が発現していることが確認された。

生後1ヶ月齢における正常NPに対するポリクローナル抗体を用いた免疫組織学的検討より、ヘテロ変異体の染色は野生型に比べ細胞体優位であり軸索の染色が低下していることが確認された。

下垂体AVP含有量は生後1ヶ月時点において、ヘテロ変異体は野生型に比べ1/4～1/5程度と有意に低値を認めた。野生型の下垂体AVP含有量は生後1ヶ月齢から経時的に増加したが、ヘテロ変異体では生後12ヶ月齢までの検討において、経時的に減少した。また生後3ヶ月齢以降において、雌性ヘテロ変異体の下垂体AVP含有量は雄性に比べ有意に低値を示した。以上の結果より、ヘテロ変異体では異常NPの発現が正常NPによるAVPの軸索輸送を障害するドミナントネガティブな機構が存在することが確認された。

### 3. 雌性ヘテロ変異体における卵巣摘除の検討

雌性ヘテロ変異体に卵巣摘除による表現型に及ぼす影響を検討したところ、生後12ヶ月齢までの検討に於いてOVX群はコントロール群に比べ有意に尿量増加の遅延が認められた(図1)。一方、OVX後にエストロゲン補充したOVX+E<sub>2</sub>群では、生後3ヶ月までの検討において、コントロール群同様に尿量の増加および尿浸透圧の低下を認めた。また、AVPに対するポリクローナル抗体を用いた免疫組織学的検討に於いて、陽性細胞数はOVX群ではコントロール群に比べ有意に増加していた。

### 4. 雄性ヘテロ変異体における間歇的脱水負荷による検討

雄性ヘテロ変異体に1週間のうち2日間絶水に曝す間歇的脱水負荷を行ったところ、自由飲水としたコントロール群に比べ経時的に尿量の増加および尿浸透圧の低下を認めた(図2)。またAVP陽性細胞数は間歇的脱水負荷群で有意に減少していた。

## D. 考察

ヘテロ変異体が多尿を呈した生後1ヶ月齢における免疫組織学的検討において、AVP染色細胞数は野生型との間に有意差を認めない一方で、正常NPおよび異常NPの軸索の染色がヘテロ変異体で低下しており、下垂体AVP含有量がヘテロ変異体で有意に低値を認めた。これらより、細胞死は多尿の発症に必須ではなく、異常NPの存在によりAVPの軸索への輸送も障害されるというドミナントネガティブ機構の存在を示唆する結果であるといえる。またヘテロ変異体はAVPに対する抗体により染色される細胞数が経時的に減少した。しかしながら、これはタンパク発現レベルの低下に起因する可能性もあり、必ずしも細胞脱落を意味するものではないと考えられ、この点については現在検討を進めている。

本ノックインマウスの雌雄差の原因として、性ホルモン、特にエストロゲンの存在に注目し、卵巣摘除術とエストロゲン補充による表現型への影響を検討した。エストロゲンはAVP分泌に促進的に作用するとする報告と、抑制的に作用するという相反する報告がある。卵巣摘除群はSham手術をしたコントロール群に比べ有意に病状の進行の遅延が認められた(図1)。ヒトのFNDIは一般的に生後数ヶ月から数年で多飲多尿を呈するとされるが、男女差の報告

は現時点ではない。マウスの性周期は生後数週より発生するため、尿崩症が完成する以前に性ホルモンの分泌が活性化されることが雌雄差の原因の一つと推測される。一方、ヒトでは思春期までには概ね尿崩症を発症していることが多いため、性ホルモンによる影響が顕在化しないのではないかと考えられる。本マウスの検討において、雄性も雌性に比べ緩徐ながら進行することから女性ホルモンの存在が主因とは考えにくい、少なくとも修飾的に作用していると推定される。

一方、雄は雌に比べ多尿の進行が遅いが、間歇的脱水負荷により雌と同様に多尿が進行することが確認された(図2)。これは2日間絶水という浸透圧上昇を介した強いAVP合成刺激が、ヘテロ変異体では異常蛋白の産生、蓄積を介し細胞機能障害を誘導したと推察される。臨床的に脱水が病状の進行を促進する可能性を示唆していると考えられ、脱水を予防し十分な飲水することで尿崩症の発症を遅延させることができると考えられる。FNDI家系において遺伝子診断がなされた場合には、発症予防の観点から飲水を十分に行なうことが重要であることを示唆している。

## E. 結論

1. 今回作製したノックインマウスは経時的に多飲多尿、浸透圧の低下を示し、ヒトのFNDIの常染色体優性遺伝で緩徐進行性という特徴に近いモデル動物であることが確認された。
2. 異常蛋白による正常NPに対するドミナントネガティブ効果が発症に重要な役割をすることが示された。
3. 雌雄差の原因の一つとして、雌の性周期の発現、特にエストロゲンの存在が多尿の進行に影響していることが示唆された。
4. 間歇的脱水負荷の検討より、進行の遅いと

雄性ヘテロ変異体において、多尿の促進が確認された。したがって、FNDIの発症予防という観点から幼少期に脱水にならないように留意することが重要であると示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Hayashi M, Arima H, Goto M, Banno R, Watanabe M, Sato I, Nagasaki H, Oiso Y.

Vasopressin gene transcription increases in response to decreases in plasma volume, but not to increases in plasma osmolality, in chronically dehydrated rats.

Am J Physiol Endocrinol Metab. 290(2):E213-7, 2006.

### 2. 学会発表

第78回日本内分泌学会 一般演題

日本内分泌学会雑誌Vol.81 No.1, 2005

「変異遺伝子導入マウスを用いた家族性中枢性尿崩症の病因の検討」

林正幸、有馬寛、後藤資実、坂野僚一、佐藤郁子、大磯ユタカ

図1. 雌性ヘテロ変異体における卵巣摘除術が尿量に与える影響の検討

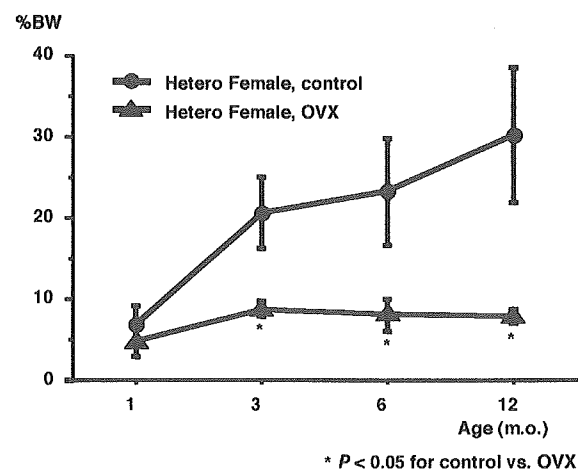
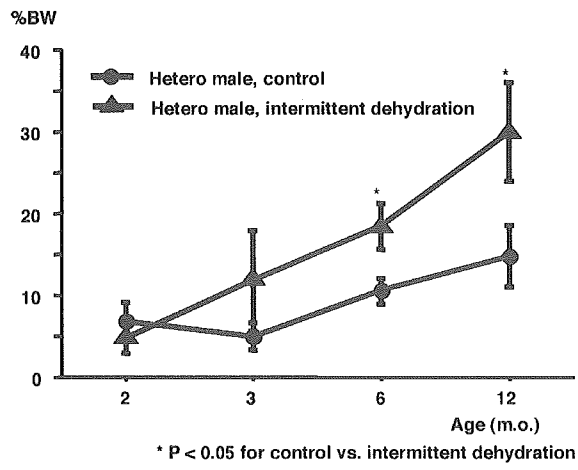


図 2. 雄性ヘテロ変異体における間歇的脱水負荷が尿量に与える影響の検討





## 非機能性下垂体腺腫における Somatostatin Receptor(SSTR)subtype発現に関する検討

分担研究者	長村 義之	東海大学基盤診療学系病理診断学教授
	鈴木 雅規	日本医科大学脳神経外科
	竹井 麻生	同上
	田原 重志	同上
	山王 なほ子	同上
	寺本 明	同上

**研究要旨：**非機能性下垂体腺腫 (clinically nonfunctioning adenoma:CNFA) における Somatostatin Receptor (SSTR) subtype 発現、その中で主にSSTR 2 Aに関して臨床病理学的検討を行った。免疫組織化学的検討およびリアルタイムRT-PCR による発現解析の結果、gonadotroph adenoma (Gn-oma) はnull cell adenomaに比較し、SSTR 2 Aの発現が高かった。Gn-omaの中にはSSSTR2A陽性細胞が50%以上である症例が認められ、さらにOctreotide高感受性GH産生腫瘍と同程度に発現している症例も存在した。内科学的治療法の乏しいとされるCNFAであるが、gonadotroph adenomaの中にはOctreotideなどの効果が期待できる症例が存在する可能性が示唆された。

### A.研究目的

Somatostatin Receptor(SSTR)には6つのsubtypeが存在するが、octreotideなどのソマトスタチンアナログのGH産生性、TSH産生性腫瘍などに対する臨床効果もあわせ、近年そのサブタイプに関する研究報告が散見される。今回我々は、内科学的治療法の乏しいとされる非機能性下垂体腺腫 (clinically nonfunctioning adenoma:CNFA) に対するソマトスタチンアナログの効果の可能性を明らかにするために、CNFAにおけるSSTR subtype 発現、その中でも主にSSTR 2 Aに関して臨床病理学的検討を行った。

### B.研究方法

日本医科大学で施行した下垂体手術症例のうち、CNFA (Gonadotroph adenoma:Gn-oma 7例、Null cell adenoma :NCA 3例)を対象とし、GH

oma 14症例と比較した。免疫組織化学的検討では、摘出検体を20%ホルマリン固定、パラフィン包埋し、2~4 μmで切片を作成した。抗原性の賦活化はオートクレーブ処理(121℃:10分間)を行い、bufferはCitra plus reagent(Baiogenetics: pH6.0)を使用、一次抗体はSSSTR2A (SS-800, Gramsch Laboratory) を500倍希釈で使用し、ABC法を用いて検出した。リアルタイムRT-PCRを用いた検討ではTaqman Probe (SSSTR2;Hs00265624\_\_s1) を使用、50 cycleで解析した。Octreotide に対する感受性を検討するため、比較に用いたGH産生腺腫のOctreotide負荷試験(100 μg:皮下注射)における血中GH基礎値に対する底値の割合で、分類した。

### C.研究結果

14例のGH産生腺腫を、術前のOctreotide負

荷試験のデータにおける、基礎値に対する底値の割合で3群に分類した。底値が10%以下まで抑制された症例が8例(57%)(High sensitive群)、10-50%が4例(29%)(Mid sensitive群)、50%以上が1例(7%)(Low sensitive群)であった(1症例は負荷試験を施行していなかった)(表1)。リアルタイムRT-PCRによるSSTR2の発現解析は、14例のGH産生腺腫における平均値を、1とした相対値で表した。GH産生腺腫におけるSSTR2発現量は、平均値の約100分の1から約8倍までとばらつきが大きく、また、発現量とOctoreotideに対する感受性との間には、相関は認められなかった。Gn-omaにおいても発現量は症例によりばらつきが大きいものの、平均値は0.236であり、GH産生腫瘍の約5分の1であった。発現量が多い症例では、GH産生腺腫の平均値と同等のものが存在し、低いものでは約50分の1の値であった。GH産生腫瘍で、Octoreotide感受性がMid sensitive群以上に属する症例のSSTR2の発現量より高い、Gn-oma症例は8症例中4症例存在した。NCAに関しては、検討した症例数が少ないものの症例間での発現量の差が少なかった。平均値は0.009とGH産生腺腫の約100分の1となり、発現量は低かったが統計学的有意差は認められなかった(表2)。

免疫組織学的検討では、染色性は、組織の固定状態に影響されやすいという印象があった。細胞膜が強く染色される細胞や、細胞質が染色される細胞が存在していたが、今回我々は細胞膜の染色性が良いものを陽性細胞と判断した(図1)。その細胞の割合で0%(-)、25%未満(1+)、25%以上50%未満(2+)、50%以上75%未満(3+)、75%以上(4+)として判定し、5段階に分類した(表3)。その結果、対照としたGH産生腫瘍では、14例中13例で(3+)以上の高い発現レベルを認めた。

(-)であった一例は術前にOctoreotideによる治療を行っていた症例であった。また、GH産生腺腫の中でOctoreotide Highsensitive群は57%の症例であったが、免疫組織化学で(4+)に分類された症例のうち、67%がHighsensitive群であった。Gn-omaでは、約半分が(2+)となり、このデータ分布は、GH産生腺腫との間に危険率5%で、有意差が認められた。また、NCAはすべて(1+)以下であった(表3)。

#### D.考察

SSTR2は、GH産生腺腫、Gn-oma、NCAの順に、多く発現していた。GH産生腺腫、Gn-omaでは症例によって発現量が異なり、統計学的有意差を認めなかった。しかし、Gn-omaの中には、Octoreotide高感受性GH産生腺腫と、同程度に発現している症例が存在しており、これらはOctoreotideへの反応性が期待される症例と考えられた。またNCAに関しては、検討した症例数が少ないもののすべての症例でSSTR2の発現量が少なく、免疫組織化学とリアルタイムRT-PCRの結果が一致しており、SSTR2をターゲットとするソマトスタチンアナログへの反応性は、低い可能性が示唆された。

これまでSSTR2が、GH分泌抑制、TSH分泌抑制に関与することが、種々の実験や、臨床成績から明らかになっているが、非機能性下垂体腺腫に対するソマトスタチンアナログの有効性に関しては、SSTR subtypeの発現と腫瘍縮小効果との関連を明らかにすることが必要と考える。そのためにはin vivoおよびin vitroの実験系をさらに検討することを予定している。

今後、silent adenomaを含めたCNFAにおけるSSTRのsubtypeの発現解析の検討を進めることで、各subtypeのより詳細な薬理的役割が明らかにされ、新たなソマトスタチンアナログの開

発につながることを期待される。

## E. 結論

非機能性下垂体腺腫における SSTR subtype 発現解析を行った。非機能性下垂体腺腫の中には SSTR 2 の発現が Octoreotide 高感受性 GH 産生腺腫と同程度に発現している症例が存在した。これらの症例はソマトスタチンアナログへの反応が期待される症例と考えられた。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kajiya H, Takekoshi S, Miyai S, Ikeda T, Kimura S, Osamura RY: Dietary Soybean Enhances Pit-1 Dependent Pituitary Hormone Production in Iodine Deficient Rats.. *J Mol Histol* 36:265-274 2005
2. Matsuno A, Mizutani A, Itoh J, Takekoshi S, Nagashima T, Okinaga H, Takano K, Osamura RY: Establishment of stable GH3 cell line expressing enhanced yellow fluorescein protein-growth hormone fusion protein.. *J Histochem Cytochem* 53:1177-1180 2005
3. Matsuno A, Itoh J, Takekoshi S, Nagashima T, Osamura RY: Three-dimensional imaging of the intracellular localization of growth hormone and prolactin and their mRNA using nanocrystal (Quantum dot) and confocal laser scanning microscopy techniques.. *J Histochem Cytochem* 53:833-838 2005
4. Miyai S, Yoshimura S, Iwasaki Y, Takekoshi S, Lloyd RV, Osamura RY: Induction of GH, PRL, and TSHbeta mRNA by transfection of Pit-1 in a human pituitary adenoma-derived cell line.. *Cell Tissue Res* 1-9 2005
5. Takumi I, Isayama K, Osamura RY, Kobayashi S, Teramoto A: Intracisternal neurinoma of the C1

posterior root.. *Acta Neurochir (Wien)* 147:1189-1192 2005

6. 長村 義之:下垂体前葉細胞および腫瘍細胞の機能分化における転写因子 Pit-1 の関与、*医学のあゆみ*, vol.213 no.5、306-310 2005年
7. Akira Matsuno, J.Itoh, S.Takekoshi, Tadashi Nagashima, Y.Osamura: Two- or Three-Dimensional Imagings of Simultaneous Visualization of Rat Pituitary Hormone and Its mRNA: Comparison between Electron Microscopy and Confocal Laser Scanning Microscopy with Semiconductor Nanocrystals (Quantum dots) , *Acta Histochemica et Cytochemica* 38(4) 253-256 2005年
8. Y.Osamura T.Minematsu S.Miyai M.Suzuki M.Yamazaki S.Takekoshi: Molecular and histological studies of pituitary tumorigenesis using experimental animal models , *Acta Histochemica Cytochemica* ,38 ,87-92 2005
9. Shunsuke Miyai, J.Itoh, Hanako Kajiya, S.Takekoshi, Osamura RY. : Pit-1 Gene Inhibition Using Small Interfering RNAs in Rat Pituitary GH Secreting Cell Line. *ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA*, une; 38(2):107-114.
10. S.Takekoshi H.Kajiya S.Miyai T.Ikeda S.Kimura Y.Osamura; Dietary soybean enhances Pit-1 dependent pituitary hormone production in iodine deficient rats , *Journal of Molecular Histology* 36 263-272 2005年
11. Akira Matsuno J.Itoh S.Takekoshi Tadashi Nagashima Y.Osamura; mRNA Using Nanocrystal (Quantum Dot) and Confocal Laser Scanning Microscopy Techniques ; *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* ,53(7) 833-838 2005年
12. Y.Osamura S.Miyai S.Yoshimura Y.Iwasaki S.Takekoshi R.V.Lloyd; Induction of GH, PRL, and TSHbeta mRNA by transfection of Pit-1 in a human pituitary adenoma-derived cell line , *Cell*

Tissue Research 2005年

13. 江頭 登 梶原 博 長村 義之；病理医  
のための組織学の基礎 下垂体、病理と臨床、  
23巻、59-65、2005年

14. Minematsu T, Miyai S, Kajiya H, Suzuki M,  
Sanno N, Takekoshi S, Teramoto A, Osamura RY.  
; Recent progress in studies of pituitary tumor  
pathogenesis., *Endocrine*. 28(1),37-41,2005

15. 峰松 健夫、長村 義之：下垂体前葉細胞  
および腫瘍細胞の機能分化における転写因子  
Pit-1の関与、*医学のあゆみ*、vol.213 no.5、  
306-310、2005年

## 2. 学会発表

1. 「下垂体非機能腺腫におけるSomatostatin  
receptor subtype2,subtype5 の発現・解析」

鈴木雅規、竹井麻生、田原重志、山王なほ子、  
寺本 明、長村義之：内分泌腫瘍学会

2. 「下垂体腺腫の分子病理学」

長村 義之 池川 秀敏：第23回日本脳腫瘍病  
理学会

3. 「The relationship between the expression of  
PTTG (Pituitary Tumors Transforming Gene) and  
mitotic index in the human pituitary adenomas.」

Takeo Minematsu, Michio Yamazaki, Shunsuke  
Miyai, S.Takekoshi, Naoko Sanno, Akira Teramo-  
to, R.Y.Osamura :ENDO2005

4. 「Pit-1遺伝子導入が下垂体細胞のホルモン  
産生に及ぼす影響」

峰松 健夫、梶谷 華子、江頭 登、鈴木  
雅則、竹腰 進、山王 なほこ、寺本 明、  
長村 義之：

第32回日本神経内分泌学会／第20回日本下垂  
体研究会 合同大会

5. 「分子病理学が内分泌学に与えるインパクト：  
下垂体腺腫をモデルとして」

長村 義之：第78回日本内分泌学会学術総会

6. 「ラット喫煙モデルにおける視床下部・下  
垂体CART peptideの検討」

栗山 源慎、東條 克能、田嶋 尚子、竹腰  
進、中井 義勝、柴田 和彦、五味田 裕、  
長村 義之：

第78回日本内分泌学会学術総会

7. 「Prop-1の過剰発現とPRL産生下垂体腺腫の  
形成について」

峰松 健夫、宮井 俊輔、江頭 登、鈴木  
雅規、山王 なほ子、寺本 明、長村 義之：  
第78回日本内分泌学会学術総会

8. 「GH産生腫瘍を伴ったCushing病の一例」

鈴木 雅規、田原 重志、大山 健一、吉田  
陽一、小南 修史、山王 なほ子、寺本 明、  
長村 義之：

第78回日本内分泌学会学術総会

9. 「喫煙による下垂体および視床下部におけ  
る神経ペプチドの発現変化」

宮澤 昌樹、竹腰 進、佐々木 祥子、栗山  
源慎、中井 義勝、五味田 裕、柴田 和彦、  
長村 義之：

第78回日本内分泌学会学術総会

10. 「op'-DDD投与によるイヌの下垂体ACTH  
産生細胞に対する影響」

埜田 高広、原 康、多川 政弘、山王 な  
ほ子、寺本 明、竹腰 進、長村 義之：  
第78回日本内分泌学会学術総会

11. 「下垂体におけるFOXL2の発現」

江頭 登、長村 義之、Buffy S. Ellsworth,  
Sally A. Camper：第78回日本内分泌学会学術  
総会

12. 「非機能性下垂体腺腫における転写因子の  
発現」

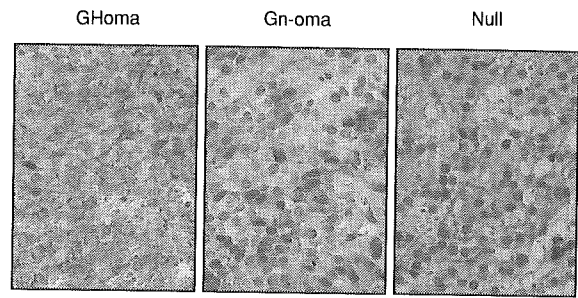
石井 雄道、山崎 道生、鈴木 雅規、田原  
重志、山王 なほ子、寺本 明、長村 義之：  
第78回日本内分泌学会学術総会

13. 「下垂体腺腫の分子病理学—機能・形態か

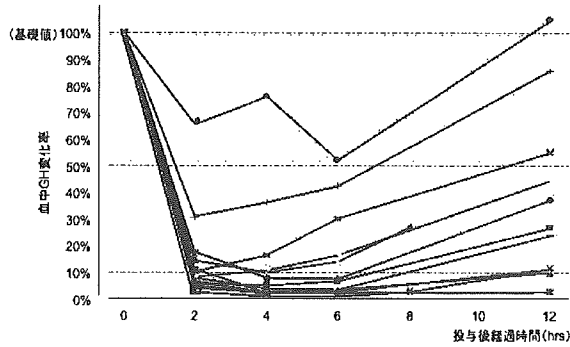
ら分子機構への展開」

長村 義之：第23回内分泌代謝学サマーセミナー

<図1> 免疫組織化学によるSSTR2の発現解析



<表1> GHomaにおけるOctoreotide負荷試験  
αMSH in Rat Pituitary



底値が<sup>†</sup> 50% < → Low Sensitive (1例)  
 10-50% → Mid Sensitive (4例)  
 <10% → High Sensitive (8例)

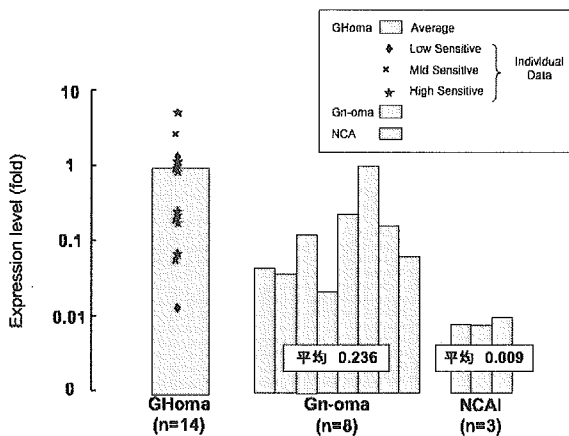
<表3> SSTR2A発現レベルの比較

SSTR2A陽性細胞の割合	症例数		
	GHoma <sup>1</sup>	GTGoma	Null
4+ (75%<)	6 (67%)	0	0
3+ (50-75%)	7 (50%)	1	0
2+ (25-50%)	0	4	0
1+ (<25%)	0	0	2
- (0%)	1 (0%)	3	1
Total	14 (57%)	8*	3

<sup>1</sup>( )内は、Octreotide高感受性症例の割合

\* GHomaとの間に有意差あり(P<0.05, X<sup>2</sup>検定)

<表2> リアルタイムRT-PCRによるSSTR2の発現解析



## 日本人の下垂体機能低下症患者を対象としたQOL尺度の開発(JAHQ)

分担研究者	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
主任研究者	千原 和夫	神戸大学大学院医学系研究科
研究協力者	石井 均	天理よろづ相談所病院内分泌内科
	山城小百合	天理よろづ相談所病院内分泌内科
	田中 敏章	国立成育医療センター
	肥塚 直美	東京女子医科大学第二内科
	羽二生 邦彦	羽二生クリニック
	沖 隆	浜松医科大学第二内科
	加治 秀介	兵庫県立大学

**研究要旨：**下垂体機能低下症が患者の心身機能や生活にどのような影響を与えているかを調査する疾患特異的QOL質問紙の開発を行った。下垂体機能低下症患者に病歴、治療歴、心身状態等に関する詳細なインタビューを行い、カテゴリー別にアイテムを分類し、専門家の意見を追加して内容妥当性を検討した。パイロットテストを行い、質問紙(案)を作成した。サブスケール別の項目は、A:社会的機能 外出の制約、対人関係の制約、活動面の制約、B:精神的機能 興味の減退、集中力減退、気分の易変動と低下、睡眠障害、陰性感情、C:身体機能 易疲労感、体温コントロール、性機能、体重と体型、尿症状、D:将来への不安 経済的不安や自立不安、などにまとめられた。これらの項目は、下垂体機能低下症患者の健康関連QOLを網羅しており、内容妥当性は十分である。多数例において計量心理学的評価によるバリデーションを行い、最終質問票を完成させる予定である。

### A. 研究目的

下垂体機能低下症患者の評価は、その症状や重症度などの臨床的な評価だけでなく、患者の日常生活における身体的、心理的あるいは社会的な影響も重要である。近年QOLを評価することの重要性が議論されるようになった。健康関連QOLは、疾患や治療が、患者の主観的健康感や、毎日行っている仕事、家事、社会活動にどのようなインパクトを与えているかについて定量化したものと定義される。患者の心身機能や生活への影響の実態を調査する下垂体機能低下症に特異的なQOL質問紙の開発は臨床的意義が大きい。現在使用できる

QOL尺度は欧米開発であり、疾患特異性や文化的背景の面で問題がある。本研究では、アウトカム評価に使える、日本人に立脚した成人下垂体機能低下症に特異的なQOL尺度（JAHQ:Japanese Adult Hypopituitarism Questionnaire）を独自に開発し、その妥当性の検証を目的とした。

### B. 研究方法

(1)質的研究：下垂体機能低下症患者への聞き取り調査

成人下垂体機能低下症患者12例、うち成長ホルモン治療経験者3例(表1)に病歴、治療歴、

心身状態等に関する詳細なインタビューを行い、カテゴリー別にアイテムの分類を行った。これに専門家の意見を追加し内容妥当性を検討し、仮質問表を作成した。

#### (2)パイロット研究：仮質問表に関する調査

GH以外の補充療法を受けている下垂体機能低下症患者27例を対象とした。JAHQ 仮質問表は79の質問から構成され、7段階のLikert方法で、自己記入により回答を得た。背景の医学情報を加味して統計的解析を行った。

(倫理面への配慮)本研究の実施について施設の倫理委員会における審査を経て承認を得た上で、聞き取り調査対象患者に十分説明し書面により同意を得た。

### C. 研究結果

#### (1)質的研究：下垂体機能低下症患者への聞き取り調査と質問表の作成

聞き取り調査から得られたアイテムの分類から、QOLサブスケール別の項目は、A：社会的機能（外出の制約、対人関係の制約、活動面の制約）、B：精神的機能（興味の減退、集中力減退、気分の易変動、睡眠障害、陰性感情）、C：身体症状／機能（易疲労感、体温コントロール、性機能と体毛、体重と体型、胃腸症状、易感染性、尿症状）、D：将来への不安（経済的不安や自立不安）、にまとめられた。これらの項目は、下垂体機能低下症患者の健康関連QOLを網羅しており、内容妥当性は十分であると考えられた。質問表のサンプルを表2に示した。

#### (2)パイロット研究：仮質問表に関する調査

QOL総スコアは最低50点から最高397点で、対象者間で大きいばらつきがみられた。サブスケール別のスコアは、体力低下や易疲労感等の身体機能低下、経済的不安や自立不安を含む将来への不安、ウエスト周囲径や体重の

増加、発汗障害などが高得点で困惑度が高く、従来から指摘されている成人GH分泌不全症状とよく合致していた（図1）。性差、年齢、原因疾患、罹病期間、治療法などの外的基準とQOLとの間に有意な関連は認められなかった。未治療例に副腎皮質ホルモンおよび甲状腺ホルモンの補充を行った例では、劇的なQOL改善が認められた。

### D. 考察

成人の下垂体機能低下症患者において、健常人と比較し、特に身体的、精神的活力や身体イメージに対する不満足、記憶障害など健康関連QOLの障害が報告されている。SF-36などの包括的QOL尺度は健常人との比較が可能であるが、QOL障害と治療による改善は必ずしも全報告でみられていない。成長ホルモン欠乏がQOLに及ぼす影響と成長ホルモン治療による効果を感度よく検出するために、欧米において疾患特異的QOL尺度が開発された。しかし国際的に使用されている尺度が文化的、社会的背景が異なる日本において適用できるかどうかについて明らかでない。実際、日本の成人成長ホルモン分泌不全症に対する成長ホルモン療法に関するいくつかの臨床試験において、QOL項目の明確な変動は検出困難であった。そこで、日本人の国民性を考慮した成人下垂体機能低下症の疾患特異的QOL尺度を独自に開発し、科学的検証を行うことを目的として、JAHQプロジェクト研究を立ち上げた。

QOL質問紙が備えるべき性質として、まず、信頼性がある。これには、①数日後に同じ結果が得られる再現性、②ひとつの概念を測定する内部一貫性、③いくつかの下位尺度のサブグループとしての因子構造が挙げられる。さらに、妥当性として、①疾患に関するQOL項目が網羅されている内容妥当性、②関連し

そんな他の指標と相関する概念妥当性、③生化学的指標や疾患鑑別に関する外部妥当性、④介入前後の変化の検出が可能な変化への感受性、⑤既存の質問紙との相関をみる併存妥当性、がある。今回、質的研究として下垂体機能低下症患者および専門医を対象に半構造的面接から特有な概念の抽出、整理を行い、概念モデル、下位尺度仮説、QOL質問項目プールを作成した。下位尺度として、社会的機能、精神的機能、身体症状/機能および将来への不安があげられた。これらの項目は、下垂体機能低下症患者の健康関連QOLを網羅しており、内容妥当性は十分と考えられた。

パイロット研究として質的・量的な検討、実施可能性などについて検討した結果、ホルモン補充療法を行っている患者においては、成長ホルモン不足症状への困惑度が高かった。一方、未治療者に補充療法を行った事例では、QOLに大きい改善を認め、変化感受性は十分であると考えられた。今後、中規模の臨床評価試験として300例程度の症例を対象に、信頼性と妥当性について計量心理学的評価を行い、最終的なQOL質問表として完成させる予定である。

### E. 結論

JAHQ開発のために必要十分な項目が作成できた。JAHQは下垂体機能低下症患者の心身機能や社会的機能の実態を明らかにするための重要な尺度になるものと考えられる。

### F. 健康危険情報

特になし

### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表1. 患者プロフィール

性別	年齢	発症	病名1	病名2	コントロール	T4	DDAVP	その他
F	32	14	胚細胞腫 op+rad			20	75 投与	ドオルトンプレマリ
M	57	46	リンパ球性汎下垂体炎	DM, HL		25	75 投与	
M	63	62	傍神経節腫 op+rad	IGT, HL		10	25	
M	32	15	下垂体腺腫 op+rad			10	75	テストステロン
F	28	17	頭蓋咽頭腫 op	HL		10	75 投与	
M	34	20	下垂体腺腫 op			20	50 投与	テストステロン
F	38	33	Sheehan	HL		20	50	
F	63	23	Sheehan	HL		15	50	
M	55	41	頭蓋咽頭腫 op	HL		20	50 投与	テストステロン
成長ホルモン治療経験者								
F	39	15	胚細胞腫 rad	緑内障		10	100 投与	ドオルトンプレマリ
M	58		下垂体卒中 op			20	50	テストステロン
M	22		胚細胞腫 rad			15	100 投与	HCG

表2. JAHQ質問項目のサンプル

#### 社会的機能 (14項目)

家以外のところに泊まるのがおっくうである  
外出することがおっくうである、など

#### 精神的機能 (15項目)

物事をやり通すのに苦勞する  
集中力を保つことが難しい、など

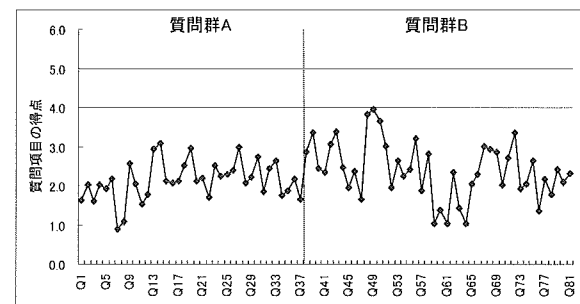
#### 身体機能や症状 (36項目)

疲れやすい  
ウェスト周りが太くなった、など

#### 将来への不安 (5項目)

自分の将来のことを考えると不安になる  
他人は自分の症状をわかってくれない、など

図1. JAHQパイロット調査の結果 (平均値)





## Pre(sub)-clinical Cushing病の診断基準案について

分担研究者	須田 俊 宏	弘前大学医学部内分泌・代謝・感染症内科
	平田 結喜緒	東京医科歯科大学体内分子制御学
	橋本 浩 三	高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科
研究協力者	二川原 健	弘前大学医学部内分泌・代謝・感染症内科
	崎原 哲	同上
	蔭山 和 則	同上

**研究要旨：**Cushing病に特徴的な臨床症候を示すに至らない状態であるpre(sub)clinical Cushing病の疾患概念、診断基準と治療指針を作成するため、昨年度集計したアンケートを解析し、低濃度ACTH研究会のデータと照らし合わせて、診断の特異性と感度をもとに診断基準を作成した。まずスクリーニングとして、一晩少量デキサメサゾン抑制試験、深夜睡眠時の血中コルチゾール濃度、さらにDDAVP試験を組み合わせ、自律的ACTH分泌によるACTH依存性のコルチゾール分泌異常を証明する。ついで下垂体性であることの証明（異所性ACTH症候群との鑑別）にはCRH試験、大量デキサメサゾン抑制試験、下垂体MRIの3点セットと選択的静脈血サンプリングを加えた。これでpre(sub)clinical Cushing病の疾患概念と診断基準が確立されたので、今後多くの症例が報告され、より詳細な病態が明らかになり、適切な取扱い方法が確立されることが期待される。

### A. 研究目的

平成15年度の本班会議において我々は、近年報告の見られている（1）ACTH産生下垂体腺腫を有するものの典型的なCushing病の症状を呈するには至らない状態（preclinicalまたはsubclinical Cushing病；以下preCushing病と略）および（2）ACTHを合成するが分泌はしない腫瘍（silent corticotroph adenoma; SCA）の二病態について、その詳細把握と取扱いを確立するため全国疫学調査の必要性を提案した。平成16年度にはこれに沿って全国調査が行われ、集計結果を報告した。本年度はそのデータを更に検討し、preCushing病およびSCAの診断基準を作成する。

### B. 研究方法

平成16年度の本班会議報告書に掲載した有

効症例26例のデータに基づき、診断基準として用いられる可能性を持つ種々検査のカットオフ値を検討した。平成14年度の本班会議で発表された顕性Cushing病の診断基準を参考に、また平成7年度厚生省副腎ホルモン異常症研究班から発表された副腎性preclinical Cushing症候群の診断基準との整合性をも念頭に置いて、preCushing病およびSCAの診断基準を作成した。

### C. 研究結果

巻末に「Pre(sub)-clinical Cushing病診断の手引き」を記した。以下にその背景および付帯事項を述べる。

#### 1. PreCushing病を疑う場合

##### （1）画像診断で下垂体腺腫の存在が疑われる。

PreCushing病は機能不明の下垂体腺腫として発見される場合が多いと推察される。このた

め第一に下垂体腺腫の存在を挙げた。ただし顕性Cushing病においては腫瘍検出率が60%程度であり、preCushing病においても画像上腫瘍が同定困難な場合があるかも知れない。実際に昨年度の全国調査では24例中1例で下垂体腫瘍が描出されていない。腫瘍の存在を義務づけると症例の取りこぼしにつながる可能性が考えられる。そこで腺腫の存在は必須とせず、「疑い」レベルでもよいものとした。

(2) 朝の血中ACTH濃度は正常～高値で、コルチゾール濃度は正常域にある。

PreCushing病の血中ACTHおよびコルチゾール濃度には幅があり、正常域と重複している。特に血中コルチゾール基礎値は、「不顕性」という疾患の概念上、正常域内にあることが必要と考えられた。分担研究者らの自験例でも血中コルチゾール基礎値が $25 \mu\text{g/dl}$ 以上では顕性Cushing病の場合がほとんどで、今回の疫学調査ではそのような症例は除外されている。また副腎性preclinical Cushing症候群の診断基準作成の際に、朝の基礎値は正常域にあるべき（夜間値が低下せず病的意義を持つにしても）と議論されたこととの整合性を保つ目的で、preCushing病に関してもこの項目を加えた。血中ACTH濃度については、低生物活性の大分子型ACTHが分泌されている可能性も考えて、正常域ないし高値でもよいこととした。

(3) Cushing病に特徴的な身体所見が欠如している。

平成14年度の顕性Cushing病診断基準で「特異的症候」と定義されている、満月様顔貌、中心性肥満または水牛様脂肪沈着、伸展性皮膚線条、皮膚の菲薄化と皮下溢血、近医筋萎縮による筋力低下、小児の肥満を伴った成長遅延、の六項目のうちいずれかを有するものは、preCushing病ではなく顕性Cushing病と見なされる。

ここまでの(1)から(3)まで全ての項目に該当する場合はpreCushing病の疑いがあるとして、「スクリーニング検査」に進む。

## 2. スクリーニング検査

(1) 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 $2.5 \mu\text{g/dl}$ 以上を示す。

ここで言う「スクリーニング」とは、ACTHの自律的分泌の存在に関するスクリーニングで、preclinicalなACTH依存性Cushing症候群の可能性を調べるために行われる。夜間血中ACTH値が朝の値と相対的に大きな差がない場合は日内リズム不良と見なす。また深夜のコルチゾール値は前回の全国調査でほとんどの症例で $2.5 \mu\text{g/dl}$ 以上を示した。外国の報告でもほぼ同様の値が示されているので、この値を採用した。

(2) 一晩0.5 mgデキサメサゾン抑制試験で、翌朝の血中コルチゾール値が $3 \mu\text{g/dl}$ 以上を示す。

顕性Cushing病の診断基準には、前夜11時にデキサメサゾン(DEX)0.5 mgを服用し、翌朝の血中コルチゾール値が $5 \mu\text{g/dl}$ 以上とある。しかしその後の検討（低濃度ACTH研究会によるデータ）では、正常者は $3 \mu\text{g/dl}$ 未満に抑制されることが示されている。このためpreCushing病の「スクリーニング」としては $3 \mu\text{g/dl}$ 以上を今回採用することとした。これで感度0.60、特異度1.00となる。

DEXの量について、副腎性preclinical Cushing症候群のスクリーニングには1mgが用いられている。副腎性と下垂体性でDEXの量を統一すべきという意見は以前からあり、統一した場合の利便性はたしかにあると思われる。しかし(i)副腎性の場合にコルチゾールの自律的分泌がある。DEXで抑制されるのはACTHに依存している正常部分で、自律的コルチゾール分泌は抑制されないで残る。一方下垂体性

の場合は、ACTH分泌は半自律的であり、コルチゾールはこのACTHに依存している。(ii) 低濃度ACTH研究会のデータではDEX 1mgと8mgのコルチゾール値にそれほどの差が見られない。このことから1mgでは、半自律的に分泌されているACTHに依存するコルチゾールレベルに影響を与える可能性が強い。感度を考えるとDEX 0.5mgを残す意味がある。以上の二点からpreCushing病のスクリーニングにはDEX 0.5mgを用いることとした。

(3) DDAVP試験でACTHの奇異反応(前値の1.5倍以上)がみられる。

偽性Cushing症候群との鑑別にDDAVP試験が有効であることについては、既に多くの報告がなされている。カットオフ値をDDAVP試験でACTHが1.5倍以上、CRH試験でACTHが1.5倍以上、夜間コルチゾール値が $2.5 \mu\text{g/dl}$ 以上とすると、感度が各々0.75, 0.96, 0.93であった。これらからDDAVP試験をここでの選択肢として採用した。

以上(1)～(3)のうち二つ以上を満たした場合はACTH依存性preCushing症候群と考え、異所性ACTH症候群との鑑別のため「確定診断」を行う。

### 3. 確定診断

異所性ACTH症候群との鑑別のため以下の試験を行う。これは顕性Cushing病の診断基準と同様である。

(1) 一晩8mg DEX抑制試験で、翌朝の血中コルチゾール値が前値の1/2以下を示す。

低濃度ACTH研究会の結果に正常者では翌朝血中コルチゾールが $2 \mu\text{g/dl}$ 以下になるというデータがあるが、ここでは顕性Cushing病の診断基準にあわせて、前値の1/2以下としておく。

(2) ヒトCRH試験でACTHが前値の1.5倍以上に反応する。

前述の経緯のとおりである。

(3) 下垂体腺腫の存在が証明される。

前記の「疑い」の記事と重複するが、腫瘍が明確に描出されている場合は確定診断の一つの材料となるという意味で、ここに記載した。

(4) 選択的静脈血サンプリングで、ACTHのC/P比が基礎値で2.0以上、CRH負荷併用の場合頂値で3.0以上となる。

以上のうち(1)～(3)を満たせばpreCushing病と診断できるが、一つ以上欠ける場合、または診断精度を上げたい場合には(4)が必要となる。この点は顕性Cushing病の基準と同様である。

(注1) DDAVPは検査薬として保険未承認である。

これは今までも問題とされてきた事項である。本年度班会議では、厚労省にDDAVPを検査薬として承認するよう積極的に働きかけていくの方針が出された。

(注2) 抑うつ状態やアルコール依存症における偽性Cushing症候群の鑑別には注意する必要がある。

偽性Cushing症候群を除外する作業として「スクリーニング検査」が本来は位置づけられるのであるが、これで全てが除外される訳ではない。病歴を詳細に聴取して、場合によっては時間を空けて検査を反復する必要も考えられる。

(注3) 2を満たさず、病理検査で下垂体腫瘍にACTH関連蛋白またはPOMC mRNAの存在が証明された場合、silent corticotroph adenomaと呼ぶ。

この定義は昨年度までの本班会議報告書の通りである。

(注4) 下垂体macroadenomaの場合や、血中にbig ACTHが多量に出ている場合は、CRHやdexamethasoneに反応しないことがある。

顕性Cushing病において、腫瘍サイズが大き

い場合やbig ACTH（前駆体のプロセッシング不良による低生物活性ACTH）が多量に分泌されている場合は、通常Cushing病に特徴的とされる「グルココルチコイドに対する部分的抵抗性」を喪失し、完全な抵抗性を示すことがある。この場合CRHに対する反応性も欠如していることが多く、異所性ACTH症候群に類似する。これは腫瘍細胞の性質として、より未成熟になっていることと関連するものと推察されている。PreCushing病においても同様の場合があるものと考えられる。

#### D. 考察

昨年度の全国調査結果に基づいたpreCushing病診断の手引き案を作成した。概ね顕性Cushing病の診断基準を基本として、「不顕性」であるpreCushing病の性質が加味され、新たなデータから再設定された負荷試験のカットオフ値が盛り込まれている。

これらは今後の知見の蓄積により、さらに改善されていくことも考えられる。特に偽性Cushing症候群の除外には、未だ感度特異度の高い検査法が確率されているとはいえない。さらにDEX抑制試験や夜間血中コルチゾール値などについても検討が継続されるものと思われる。

病態の詳細に関しても、更に解明されていくことが望まれる。PreCushing病の成り立ちとして (i) ACTH自律性過剰分泌の程度が軽いもの (ii) 低生物活性ACTHを分泌するもの (iii) コルチゾールの代謝亢進によりACTH過剰分泌の効果が相殺されるもの、などが知られている。しかしその実際の頻度や各々の詳細な分子的機序は不明のままである。診断基準の確立により報告の数が増加すれば、これらが解決されていく可能性が高まるものと期待される。

なおpreclinicalかsubclinicalかという呼称の問

題について、副腎ホルモン産生異常調査研究班から発表されている「副腎性preclinical Cushing症候群」と整合性がとれるよう、摺り合わせが必要である。

#### E. 結論

今回作成された診断基準をもとに多くのpreCushing病が発見・報告され、病態の詳細が更に明らかにされ、それによりpreCushing病の取扱い方法や治療にあたっての注意点などが蓄積されていくことが望まれる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(1) K. Kageyama, K. Hanada, T. Moriyama, T. Nigawara, S. Sakihara, T. Suda

G protein-coupled receptor kinase 2 involvement in desensitization of corticotropin-releasing factor (CRF) receptor type 1 by CRF in murine corticotrophs.

Endocrinology

147: 441-50

2006

(2) H. Sashinami, K. Kageyama, T. Suda, A. Nakane

Urocortin 2 suppresses host resistance to *Listeria monocytogenes* infection via up-regulation of interleukin-10.

Endocrinology

146: 5003-11

2005

(3) T. Nigawara, Y. Iwasaki, M. Asai, M. Yoshida, M. Kambayashi, H. Sashinami, K. Hashimoto, T. Suda