

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18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 千 原 和 夫

平成19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 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. AVP escape現象の機序解明 ーアクアポリン-2 (AQP-2)転写調節からの検討ー	21
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	
2. 「多嚢胞性卵巣症候群の診断基準の問題点に関する検討」 に関する研究	25
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 女性医学分野 苛原 稔	
3. 中枢神経系脱髄発症を回避するSIADH治療の確立に関する研究	31
名古屋大学大学院医学系研究科糖尿病・内分泌内科学 大磯ユタカ	
4. 下垂体腫瘍形質転換遺伝子 (PTTG) による腫瘍形成機構の解明に 関する研究	35
東海大学医学部 基盤診療学系病理診断学 長村 義之	
5. 日本人成人の血中インスリン様成長因子-1濃度の基準範囲設定に 関する研究	39
独立行政法人国立病院機構京都医療センター 臨床研究センター 島津 章	

6. Pre(sub)-clinical Cushing病の診断基準に関する検討
 –dexamethasone 0.5mg抑制試験と深夜血中コルチゾール値の比較検討– …… 44
 弘前大学医学部内分泌・代謝・感染症内科 須田 俊 宏
7. 家族性の先天性下垂体ホルモン複合欠損症での全ゲノムSNP解析 …… 50
 大阪大学大学院医学系研究科 臨床検査診断学 巽 圭 太
8. 小児成長ホルモン分泌不全症の新規診断法に関する研究
 小児におけるGHRP2負荷試験の有用性 …………… 54
 国立成育医療センター臨床検査部 田 中 敏 章
9. 下垂体偶発腫における増殖マーカーの発現 …………… 57
 日本医科大学脳神経外科 寺 本 明
10. GH産生腫瘍に対するオクトレオチド徐放化製剤の慢性効果と
 その分子機序 …………… 63
 高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科学 橋 本 浩 三
11. 成人成長ホルモン分泌不全症（GHD）における非アルコール性脂
 肪肝障害（NAFLD）に関する検討 …………… 70
 東京女子医科大学第二内科 肥 塚 直 美
12. ヒトACTH産生下垂体腫瘍におけるACTH発現調節異常の解析 …………… 73
 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. TSH産生腺腫のソマトスタチン受容体、TRH受容体及び甲状腺
 ホルモン受容体 β mRNAの発現：各種下垂体腺腫との比較 …………… 76
 群馬大学大学院病態制御内科 森 昌 朋
14. 間脳下垂体機能障害の長期予後追跡調査の解析計画 …………… 80
 国立保健医療科学院技術評価部研究動向分析室 横 山 徹 爾

15. 手術後にGH底値が1ng/mL以下となった先端巨大症例における
成長ホルモン分泌能 84

鹿児島大学医歯学総合研究科
脳神経病態制御外科学(脳神経外科) 有田和徳

16. 北海道における過去10年間の間脳下垂体疾患の臨床的解析
—下垂体ホルモン分泌低下症を中心に— 90

北海道大学病院検査部 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(第二報) 96

東北大学病院総合診療部 菅原明

18. ソマトスタチンアナログによるヒトGH産生下垂体腺腫の
縮小機構に関する研究 106

東京大学医学部腎臓・内分泌内科 高野幸路

19. 下垂体疾患におけるメタボリックシンドロームの頻度 112

九州大学大学院医学研究院病態制御内科学 柳瀬敏彦

20. 間脳下垂体疾患データベース 117

神戸大学医学部保健学科 置村康彦

V. 間脳下垂体機能異常症の診断と治療の手引き(平成18年度)

- 先端巨大症および下垂体性巨人症の診断と治療の手引き
(平成18年度改訂) 123

- 成長ホルモン分泌不全性低身長症の診断の手引き(平成18年度改訂) 127

- クッシング病の診断と治療の手引き(平成18年度改訂) 130

- バゾプレシン分泌過剰症(SIADH)の治療の手引き
(平成18年度改訂) 133

VI. 会議記録

平成18年度研究会議プログラム 137

VII. 研究成果の刊行に関する一覧表 143

I. 序 文

昭和48年度に厚生省特定疾患対策研究事業として立ち上がった「間脳下垂体機能障害に関する調査研究」は、30数余年に渡って各種間脳下垂体疾患の診断と治療、疫学、病因や病態について多くの研究成果を報告してきました。平成14年度から小職が厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究)「間脳下垂体機能障害に関する調査研究」の主任研究者となり本研究班を引き継ぎ、平成17年度より2期目に入りました。今年度は2期目の2年目、延べでは5年目になります。この間、厚生労働科学研究難治性疾患克服研究事業(特定疾患調査研究分野)の対象疾患として私達の班に課せられているPRL分泌異常症、ゴナドトロピン分泌異常症、ADH分泌異常症の3つのみではなく、下垂体腫瘍、先端巨大症、クッシング病、さらに成長ホルモン分泌不全性低身長症や成人成長ホルモン分泌不全症を含めた下垂体機能低下症などGH、ACTH、TSH関係の疾患も対象に加え5年間に渡って研究してきました。

平成18年度の成果のうち特筆すべきは、本班の念願であった間脳下垂体機能障害の長期予後追跡調査を目的とした間脳下垂体疾患(先端巨大症、クッシング病、プロラクチノーマ、下垂体機能低下症、尿崩症)のデータベース作成の準備が整い、実際に患者登録が開始されたことです。また、3年間をかけて取り組んだ成人下垂体機能低下症QOL尺度(Japanese Adult Hypopituitarism Questionnaire; JAHQ)の開発についても関係研究者のご尽力により第1版が完成するところまでこぎ着ける事ができました。関係各位に深く感謝いたします。更に、長年の懸案事項であった日本人成人におけるIGF-1濃度の基準範囲が性別に分けて再設定できました。先端巨大症や成人GH分泌不全症の診断や治療に大きく貢献するものと期待できます。今年度も、最新の情報に基づき幾つかの間脳下垂体疾患の診断と治療に関するガイドラインを作成しました。活発に研究をしていただいた分担研究者の方々に、そして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19年2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 内分泌代謝・神経・血液腫瘍内科	教 授
分担研究者	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
	苛原 稔	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 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 糖尿病・内分泌内科学	教 授
	長村義之	東海大学医学部基盤診療学系病理診断学	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
	須田俊宏	弘前大学医学部内分泌・代謝・感染症内科	教 授
	巽 圭太	大阪大学大学院医学系研究科臨床検査診断学	講 師
	田中敏章	国立成育医療センター臨床検査部	部 長
	寺本 明	日本医科大学脳神経外科学教室	教 授
	橋本浩三	高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科学	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分子内分泌内科学分野	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
	横山徹爾	国立保健医療科学院技術評価部研究動向分析室	室 長
	有田和徳	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 先進治療科学専攻神経病学脳神経病態制御外科学	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
	清水 力	北海道大学病院検査部	副 部 長
	菅原 明	東北大学医学部附属病院総合診療部	講 師
高野幸路	東京大学医学部腎臓・内分泌内科	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	
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	北垣優子	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 〒650-0017 神戸市中央区楠町7-5-1 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、本年度は下記の成果が得られた。

[疫学] 間脳下垂体機能障害の長期予後追跡調査の解析計画が作成された。間脳下垂体疾患データベースが構築され、患者登録が開始された。北海道庁における下垂体機能障害に関する調査票（平成8年から同17年10年分）が解析された。東北大学の症例解析から、副腎腺腫によるクッシング症候群では術後にほぼ全例で症状の改善が認められた一方、クッシング病や副腎癌によるクッシング症候群では治療の困難な症例が未だに少なくないことが再認識された。

[臨床病態研究] 多嚢胞性卵巣症候群の診断基準の問題点が検討された。Pre(sub)-clinical Cushing病診断の手引にある深夜睡眠時血中コルチゾール値の基準の妥当性について再検討が行われた。GH分泌異常症の診断と治療には、IGF-1基準値が不可欠である。多数例の日本人成人を対象としてIGF-1濃度の基準範囲が性別に分けて再設定され、1歳刻みでSDスコア（Zスコア）表示が可能となった。成人と同様、小児においてもGHRP2負荷試験の成長ホルモン分泌不全症(GHD)診断法としての有用性が確認された。成人GHDではNAFLD発症リスクが高いことが示唆された。本症の生命予後に影響を及ぼす病態として注意が必要である。GH分泌異常症ではメタボリックシンドローム類似病態の発症頻度が高く、動脈硬化発症要因の一因となることを示唆する成績が得られた。下垂体偶発腫の増殖活性について免疫組織学的手法(IHC)を用いて評価された。MIB-1 indexにおいて、小さなサイズの腫瘍群(1.5cm以下)にて下垂体偶発腫群が症候性非機能性腺腫群より有意に低値で、浸潤度が低い偶発腫群ではMRIで経過を追うべきであるという見解が適当であるということが示唆された。手術後にGH底値が1ng/mL以下に低下した先端巨大症例における術後3-6ヶ月目の総GH分泌能は下垂体のみならず微小残存腫瘍からのGH分泌を反映している可能性が推察された。

[病因解明・治療法の確立をめざした基礎研究] SIADH(バゾプレシン分泌過剰症)の治療で最も重要なのは橋中心髄鞘崩壊 (CPM)などの中枢神経系脱髄病変を回避することである。脱髄病変部に集積したmicroglia (MG)が炎症性cytokineを産生して脱髄病変を助長し、lovastatinはMGの集積を抑制することでCPMの発症予防に有効であることが示された。アクアポリン-2 遺伝子-1.1kbまでの上流には低浸透圧によりcAMPによる転写活性が減弱する領域が存在し、これはJNKを介することが示唆された。ACTH産生下垂体腺腫では、PC1/3によるプロセッシングの亢進に加えて、CRHR、V1bR、11β-HSD2発現の亢進がACTH分泌異常の一因である可能性が示唆された。ソマトスタチン徐放化製剤の慢性効

果の機序の1つとして、血管新生因子の発現抑制を介した腫瘍増生阻害作用が部分的に
関与している可能性を示唆する結果が得られた。ソマトスタチンアナログの作用機構に、
細胞の興奮性抑制機構とは独立した未知の機構の存在が明らかにされた。この機構は、
開口分泌機構に対する薬剤の直接の抑制作用で、創薬の標的にもなりうるものである。
オクトレオチドにより下垂体腫瘍が著明に縮小した症例では、他の腺腫と比較してsstr2
mRNAが最も高発現であったが、sstr5mRNAも特徴的な高発現を示していた。ソマトス
タチンアナログの腫瘍縮小効果にはsstr 2,5 mRNAの高発現が重要であると考えられた。
家族性の先天性下垂体ホルモン複合欠損症における全ゲノムSNP解析が行われた。

分担研究者氏名

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

苛原 稔 徳島大学大学院
ヘルスバイオサイエンス研究部
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
病態内科学講座糖尿病
・内分泌内科学 教授

長村義之 東海大学医学部基盤診療学系
病理診断学 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

須田俊宏 弘前大学医学部内分泌・代謝
・感染症内科 教授

巽 圭太 大阪大学大学院医学系研究科
臨床検査診断学 講師

田中敏章 国立成育医療センター
臨床検査部 部長

寺本 明 日本医科大学脳神経外科学教室
教授

橋本浩三 高知大学医学部内分泌代謝
・腎臓内科学 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
分子内分泌内科学分野 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

横山徹爾 国立保健医療科学院技術評価部
研究動向分析室 室長

有田和徳 鹿児島大学大学院医歯学
総合研究科先進治療科学専攻
神経病学脳神経病態制御外科学
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

清水 力 北海道大学病院検査部 副部長

菅原 明 東北大学医学部附属病院
総合診療部 講師

高野幸路 東京大学医学部
腎臓・内分泌内科 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

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、内分泌の中核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) AVP escape現象の機序解明—アクアポリン-2 (AQP-2)転写調節からの検討
- 2) 「多嚢胞性卵巣症候群の診断基準の問題点に関する検討」に関する研究
- 3) 中枢神経系脱髄発症を回避するSIADH治療の確立に関する研究
- 4) 下垂体腫瘍形質転換遺伝子 (PTTG) による腫瘍形成機構の解明に関する研究
- 5) 日本人成人の血中インスリン様成長因子-1濃度の基準範囲設定に関する研究
- 6) Pre(sub)-clinical Cushing病の診断基準に関する検討
- 7) 家族性の先天性下垂体ホルモン複合欠損症での全ゲノムSNP解析
- 8) 小児成長ホルモン分泌不全症の新規診断法に関する研究 小児におけるGHRP2負荷試験の有用性
- 9) 下垂体偶発腫における増殖マーカーの発現
- 10) GH 産生腫瘍に対するオクトレオチド徐放化製剤の慢性効果とその分子機序
- 11) 成人成長ホルモン分泌不全症 (GHD) における非アルコール性脂肪肝障害 (NAFLD) に関する検討
- 12) ヒトACTH産生下垂体腫瘍におけるACTH発現調節異常の解析

13) TSH産生腺腫のソマトスタチン受容体、TRH受容体及び甲状腺ホルモン受容体 β mRNAの発現：各種下垂体腺腫との比較

14) 間脳下垂体機能障害の長期予後追跡調査の解析計画

15) 手術後にGH底値が1ng/mL以下となった先端巨大症における成長ホルモン分泌能

16) 北海道における過去10年間の間脳下垂体疾患の臨床的解析

—下垂体ホルモン分泌低下症を中心に—

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 (第二報)

18) ソマトスタチンアナログによるヒトGH産生下垂体腺腫の縮小機構に関する研究

19) 下垂体疾患におけるメタボリックシンドロームの頻度

20) 間脳下垂体疾患データベース

C 研究結果、およびD考察

1) AVP escape現象の機序解明—アクアポリン-2 (AQP-2)転写調節からの検討

マウスアクアポリン-2(AQP-2) 5'上流域 { -1.1kbまでの遺伝子 (-1.1AQP2)および-6.1kbまでの遺伝子 (-6.1AQP2)} をクローニング後、これらをAQP-2遺伝子とともにIMCD₃細胞に導入して、AQP-2遺伝子転写活性への低浸透圧の影響を検討した。-1.1AQP2もしくは-6.1AQP2をAQP-2遺伝子と共発現させたところ、低浸透圧培地 (225mOsm/kg) 孵置下でのLuc活性は対照群(300 mOsm/kg)と差違がなかった。いずれも5 μ M Dibutyryl cAMP刺激後のLuc活性増加が、低浸透圧培地下では対照群と比較して有意に抑制された。この抑制作用はJNK阻害薬1 μ M SP600125の前処置にて解除された。マウスAQP-2遺伝子-1.1kbまでの上流には低浸透圧によりcAMPによる転写活性が減弱する領

域が存在し、これはJNKを介することが示唆される。

2) 「多嚢胞性卵巣症候群の診断基準の問題点に関する検討」に関する研究

多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)はゴナドトロピン分泌異常、高アンドロゲン血症、インスリン抵抗性等を来たす症候群である。日本の診断基準では月経異常、LH高値、多嚢胞卵巣が必須項目とされているが、診断基準の見直しが議論されている。今回、日本の診断基準の問題点を検討した。全国の主な不妊治療施設650施設に対して、PCOSを含む排卵障害患者に関するアンケート調査を行い、94施設(回収率14.5%)から、2304症例について回答を得た。PCOS、PCOS疑診例のLH高値率はそれぞれ68.2%、37.7%であった。LHと各種男性ホルモンを同時に測定した症例のうち、LH高値率はPCOSで40~60%、PCOS疑診例で20~30%、LHまたはアンドロゲン(テストステロン、アンドロステンジオン、遊離テストステロン)高値率はPCOSで70~90%、PCOS疑診例で40~70%であった。PCOS疑い症例の多くは、LH値が正常であるため診断に至っていないこと、このうちの52.8%で男性ホルモン(テストステロンまたはアンドロステンジオン)高値を認めることが判明した。LH高値と男性ホルモン高値を相補的に用いる診断基準を作成する必要があると考えられた

3) 中枢神経系脱髄発症を回避するSIADH治療の確立に関する研究

SIADH(バゾプレシン分泌過剰症)の治療で最も重要なのは橋中心髄鞘崩壊(CPM)などの中枢神経系脱髄病変を回避することであるが、その確実な発症予防法は存在しない。SIADHモデルを用いてCPMの予防的治療法を開発する目的で、発症機序におけるmicroglia(MG)の役割について検討した。モデルラットに

dDAVPと液体食を投与して低Na血症を誘導した後、高張食塩水で急速補正しCPMを惹起した。補正後の脳では脱髄病変部にTNF- α 、IFN- γ を発現するMGの著明な集積が認められた。補正時にHMG-CoA還元酵素阻害剤であるlovastatin(LVS)を投与すると、MGの集積とcytokineの発現が減弱し、脱髄病変の軽減がみられた。以上の結果、急速補正後、脱髄病変部に集積したMGが炎症性cytokineを産生して脱髄病変を助長し、LVSはMGの集積を抑制することでCPMの発症予防に有効であることが示された。

4) 下垂体腫瘍形質転換遺伝子(PTTG)による腫瘍形成機構の解明に関する研究

ヒト下垂体腺腫(51例)におけるPTTG発現とホルモン、血管形成因子との関連性を解析し、下垂体腫瘍形成および機能分化へのPTTGの関与について検討を行った。免疫組織化学および定量的RT-PCR法にて、下垂体腺腫におけるPTTG、血管形成因子(VEGF)の発現解析を行った。また、下垂体由来の腫瘍(ACTH)細胞株であるAtT-20を用いて、PTTGの細胞内局在を免疫電顕法により検討した。正常下垂体に比較してヒト下垂体腺腫では、PTTGの発現が有意に高いことが判明した。更に、GHomaでは腺腫中のPTTG発現とVEGF発現、血管数との間に有意な相関関係が認められ、PTTGが血管新生を誘導し腫瘍の進展を促進することが示唆された。一方、免疫電顕法による観察によりマウス下垂体培養細胞AtT-20ではPTTGはゴルジ装置および分泌顆粒内に局在することが判明した。下垂体腫瘍中のPTTGが分泌蛋白としてパラクライン・オートクライン的に機能する可能性が強く示唆された。

5) 日本人成人の血中インスリン様成長因子-1濃度の基準範囲設定に関する研究

インスリン様成長因子-1(IGF-1)の血中濃度の測定はGH分泌異常症の診断と治療に欠かせ

ない。10年前に定めた日本人成人の年齢別性別IGF-1基準値を再設定するため、18歳から83歳まで総数1118例を対象にIGF-1濃度をIGF-1 IRMA「第一」キットを用いて測定した。血中IGF-1濃度は正規分布せず、Box-Cox変換により現量値曲線のセントイル値をもとめるLMS法を使用して基準範囲を求めた。平均IGF-1濃度は、20歳の男女でそれぞれ243ng/ml, 259ng/mlであり、年齢と共に減少し70歳の男女ではそれぞれ124ng/ml, 101ng/mlであった。35歳以上において男性の方が女性より高値であった。多数例の日本人成人を対象としてIGF-1濃度の基準範囲を性別に分けて再設定し、1歳刻みでSDスコア（Zスコア）表示が可能となった。

6) Pre(sub)-clinical Cushing病の診断基準に関する検討

平成17年度Pre(sub)-clinical Cushing病 (pre-CD) 診断のてびきにある深夜睡眠時血中コルチゾール値（深夜F）の基準は、前年度全国調査の結果に基づいて決定された。しかしその後、健常者の一部はこの基準を上回る可能性が指摘された。そこで今回は深夜Fの妥当性について再検討を行った。平成17年10月から18年12月までの当科糖尿病教育入院症例をコントロール群として深夜Fを測定したところ、 $2.5\mu\text{g/dl}$ 以上を示すものが55.9%にのぼり、病的意義を判断することは困難と考えられた。一方overnight 0.5 mg デキサメサゾン抑制試験での血中コルチゾール値 $3\mu\text{g/dl}$ 以上をカットオフとして14例のpreCD症例と対比したところ、感度100%、特異度98.5%という良好な数値が得られた。今後スクリーニング検査として、深夜Fに代わる有効な基準を模索する必要がある。

7) 家族性の先天性下垂体ホルモン複合欠損症での全ゲノムSNP解析

本邦で報告されたAVPを含む先天性下垂

体ホルモン複合欠損症の男子同胞例2家系の病因候補として5遺伝子を検討してきたが、蛋白コード領域には患者に特異的な塩基置換を認めず、一番可能性の強い伴性劣性遺伝の病因遺伝子のあるX染色体では両家系でXq25-26に遺伝子多型を1つずつ認めた。病因遺伝子がXq26以外のX染色体や常染色体のどのような領域に存在する可能性があるかを詳細にゲノム全体について家系内連鎖で検討するために、AVPを含む先天性下垂体ホルモン複合欠損症の男子同胞例1家系に於いてMapping Array (MicroArray) を用いたSNP解析を行った。その結果、X染色体では153Mb余りの内、135Mbpから138Mbpにかけてにのみ同胞間でSNPの多型を認め、X染色体の大部分の残る領域ではSNPの多型を認めず母の同一のアリル由来であり、伴性劣性遺伝の病因遺伝子が存在する可能性が残存することを明らかにした。ゲノム全体のSNP解析は、病因遺伝子が存在する可能性のある染色体領域を詳細に絞り込むのに極めて有効であった。

8) 小児成長ホルモン分泌不全症の新規診断法に関する研究 小児におけるGHRP2負荷試験の有用性

低身長小児においてGHRP2負荷試験を行い、他のGH分泌刺激試験と比較し、カットオフ値を求めた。対象は低身長を主訴とする小児74名。年齢は1歳から14歳。2種類以上のすべての負荷試験でGH頂値が 6ng/ml 以下のGHDは31名。GHDのうち、GH頂値がすべて 3ng/ml 以下の重症GHDは15名。早朝空腹時にGHRP2 $2\mu\text{g/kg}$ (max $100\mu\text{g}$)を静脈内投与し、0. 15. 30. 60分に採血を行い血中GHを測定した。同じ症例にアルギニン、グルカゴン、クロニジン負荷試験を2つ以上の組み合わせで、また全例にGHRH負荷試験を行い、GHの反応頂値 (pGH) を比較した。GHRP2負荷におけるpGHは、ク

ロニジン負荷 ($r=0.58$, $P<0.01$) とアルギニン負荷 ($r=0.36$, $P<0.01$) のpGHと有意な正の相関を認めたが、その他の負荷試験とは相関しなかった。GHD診断のための感度、特異度を検討し、ROC曲線からカットオフ値を求めたところ15ng/mlで、この値での感度・特異度は0.72であった。GHRP2負荷試験は有意な副反応もなく短時間で済むこと、GHD診断の感度・特異度からも小児における他のGH分泌刺激試験と差はないと考えられることから、小児におけるGHD診断法として有用と考える。

9) 下垂体偶発腫における増殖マーカーの発現

下垂体偶発腫の増殖活性について免疫組織学的手法(IHC)を用いて評価した。対象は下垂体偶発腫52症例。内訳はgonadotroph cell adenoma 22例、null cell adenoma 21例、潜在性機能性腺腫9例であった。また、視力視野障害にて発生した症候性非機能性腺腫43例と下垂体偶発腫43例(潜在性機能性腺腫9例を除く)について、各々の増殖マーカーの発現を比較検討した。細胞増殖マーカーとしてはKi-67 (MIB-1) とTopoisomerase II α (Topo II α) を用いた。MIB-1 indexの平均は0.61%であった。年齢、性別、前葉ホルモンのIHCによる分類など、各パラメーターごとに分類したMIB-1 indexでは明らかな有意差は認めなかった。症候性非機能性腺腫との比較では年齢によるパラメーターでは有意差は認めず、サイズによるパラメーターではMIB-1 indexにおいて、小さなサイズの腫瘍群(1.5cm以下)にて下垂体偶発腫群が症候性非機能性腺腫群より有意に低値を示した。Topo II α indexでは海綿静脈洞への浸潤度が低い腫瘍群にて下垂体偶発腫群が有意に低値を示した。小さく、浸潤度が低い偶発腫群ではMRIで経過を追うべきであるという見解を持っているが、今回の検討で増殖活性と

いう点においてもそれらが適当であるということが示唆された。

10) GH 産生腫瘍に対するオクトレオチド徐放化製剤の慢性効果とその分子機序

先端巨大症患者におけるソマトスタチン徐放化製剤(オクトレオチドLAR)の治療効果を、臨床的・基礎的両面から検討した。同製剤を長期的に使用し、かつ投与量の変更を行っていない同疾患患者5例における血清IGF-I値の推移を検討したところ、全ての症例において緩徐ながら確実なIGF-I値の改善を認め、治療開始2年を経た現時点で、ほぼ完全な疾患活動性の抑制が可能となった。また耐糖能異常を含め特記すべき副作用の出現も認めなかった。上記の慢性効果は単なるGH分泌の抑制作用では説明が困難であり、また腫瘍自体の退縮効果も報告されている。そこで腫瘍の増生に関連が深く下垂体腫瘍での発現が報告されているvascular endothelial growth factor (VEGF)に着目し、同遺伝子の発現に対するソマトスタチンおよびそのアナログの効果を、GH産生腫瘍細胞株MtT/Sを用いて検討した。その結果、同腫瘍細胞が内因性にVEGF mRNAを発現し、ソマトスタチン製剤はその発現に抑制的に作用すること、またオクトレオチドがVEGF遺伝子の転写に対し抑制傾向を示すことを見出した。以上の結果より、ソマトスタチン徐放化製剤の慢性効果の機序の1つとして、血管新生因子の発現抑制を介した腫瘍増生阻害作用が部分的に関与している可能性が推察される。

11) 成人成長ホルモン分泌不全症(GHD)における非アルコール性脂肪肝障害(NAFLD)に関する検討

成人GH分泌不全症(GHD)はメタボリック症候群(MS)様症状を呈することが知られている。一方、非アルコール性脂肪肝障害(NAFLD)、とりわけ非アルコール性脂肪肝炎(

NASH)でもしばしばMSを合併することが知られている。そこで成人GHDにおける肝機能について検討し、MSとの関係について検討した。成人GHD76例(男/女:42/34)を対象とし、肝障害とBMI、耐糖能異常、脂質代謝異常との関係について検討した。耐糖能異常、高コレステロール血症、高中性脂肪(TG)血症を夫々20%、55%、66%に、肝酵素異常を40%に認めた。肝機能障害(肝酵素異常)例では肝機能正常(肝酵素正常)例に比べ血中TG値は高く、男性ではBMIおよび血糖値は高値であった。肝機能正常15例、異常24例に腹部エコーを施行し、各々6例、18例に脂肪肝を認めた。肝機能異常例の5例に肝生検を行ったところ全例がNASHであった。成人GHDでは耐糖能異常、脂質代謝異常とともに肝障害を高頻度に合併し、この原因はNAFLDと考えられた。生検をし得た症例では全例が予後不良のNASHであり、成人GHDでのNAFLD発症リスクが高いことが示唆され、本症の生命予後に影響を及ぼす病態として注意が必要である。

1 2) ヒトACTH産生下垂体腫瘍におけるACTH発現調節異常の解析

顕性ACTH産生下垂体腫瘍(CD)におけるACTHの発現・分泌機序には不明な点が多い。今回、CD及び非機能性下垂体腫瘍(NFT)の間でACTHの発現・分泌に関わる各種遺伝子群発現の差異の有無を検討した。CD(12例)、NFT(15例)の腫瘍組織における各種遺伝子(POMC, PC1/3, PC2, CRHR, V1bR, GR, 11 β -HSD1, 2, ANXA1, Rab3, Syntaxin6, MARCH2)の発現をRT-PCR法で解析した。NFTに比べてCDの腫瘍は有意にPOMC, PC1/3, CRHR, V1bR, 11 β -HSD2の発現が亢進し、PC2の発現が減少していた。GR, 11 β -HSD1, ANXA1, Rab3, Syntaxin6, MARCH2の発現は両者の間で有意差を認めなかった。ACTH産生下垂体腺腫では、

PC1/3によるプロセッシングの亢進に加えて、CRHR、V1bR、11 β -HSD2発現の亢進がACTH分泌異常の一因である可能性が示唆された。

1 3) TSH産生腺腫のソマトスタチン受容体、TRH受容体及び甲状腺ホルモン受容体 β mRNAの発現：各種下垂体腺腫との比較

TSH産生腺腫ではソマトスタチン受容体(sstr)が腫瘍に発現していることからオクトレオチドが甲状腺機能の正常化と縮小効果を目的に使用される。しかし、ssstrサブタイプの発現の系統的解析は少なく、さらに治療効果との関連も不明である。治療により腫瘍が著明に縮小した症例、他の種類の下垂体腺腫も含めssstr 1-5、TRH受容体並びに甲状腺ホルモン受容体のmRNAの発現を測定し治療効果などと比較検討した。その結果、TSH産生腺腫ではssstr1, 2A, 3, 5 mRNAが発現し、ssstr2 mRNAが正常下垂体、他の下垂体腺腫と比較して高発現していた。腫瘍が著明に縮小した症例では、他の腺腫と比較してssstr2 mRNAが最も高発現であったが、ssstr5mRNAが特徴的に高発現を示していた。そのため、オクトレオチドの腫瘍縮小効果にはssstr 2,5 mRNAの高発現が重要であると考えられた。さらに、TSH産生腺腫では甲状腺ホルモン受容体は発現は正常に近いが、TRH受容体mRNAは低発現であることなどが判明した。

1 4) 間脳下垂体機能障害の長期予後追跡調査の解析計画

間脳下垂体機能障害は、経過が長期に渡るものが多いため、経過を単に生命予後のみで把握するだけでなく、症候、合併症、日常生活状況等を指標とした健康余命に関しても評価することが望まれる。その結果は臨床医療および公衆衛生行政にとって重要な基礎資料となる。本研究班ではこれまで、国内外の予後調査の方法を参考にしつつ、間脳下垂体機

能障害の前向き長期予後調査の実施方法、解析方法についての研究計画をたて、本年度よりデータベースへの登録が開始された。次年度より毎年、①登録時の基本集計、②登録症例と一般集団との死亡率の比較、③登録症例と一般集団との生活状況の比較、④登録時の状態と予後（生命予後、合併症、生活状況）との関連分析、⑤治療法と症候等の変化との縦断解析、および必要に応じて探索的解析を行い報告する。

15) 手術後にGH底値が1ng/mL以下となった先端巨大症における成長ホルモン分泌能

成長ホルモン産生腺腫(GHoma)を対象として手術後の成長ホルモン分泌動態について検討した。1995年以降に手術を行ったGHomaのうち、OGTt中のGH底値が1 ng/mL(リコンビナント値では0.6ng/mL)以下で、術後3~6ヶ月目にITt、TRHt、LHRHt、IGF-1測定を行い内分泌学的評価が可能であった46例を対象とした。対象46例中、手術後のsevere GHD(ITtにおけるGH頂値<3ng/mL)は4例(8.7%)、mild GHD(3<GH頂値<5ng/mL)は2例(4.3%)であった。GHomaのsevere GHDの頻度は同サイズの非GH産生腺腫の30.5%と比較すると有意に少なかった。Severe GHD 4例におけるIGF-1値は157~198 ng/mLと、決して低値ではなかった。46例中手術後のTRHt、LHRHtに対し、GH頂値が負荷前値の100%以上、絶対値3ng/mL以上の増加を示したものは10例(21.7%)であった。以上の結果より、手術後にGH底値が1ng/mL以下に低下した先端巨大症例における術後3~6ヶ月目の総GH分泌能は下垂体のみならず微小残存腫瘍からのGH分泌を反映している可能性が推察される。

16) 北海道における過去10年間の間脳下垂体疾患の臨床的解析 —下垂体ホルモン分泌低下症を中心に—

最近の間脳下垂体疾患の動向および臨床像

を明らかにすることを目的に、北海道庁健康推進課特定疾患グループの協力を得て、特定疾患治療研究事業のうち北海道独自に施行されている下垂体機能障害に関する調査票(平成8年から同17年10年分)を入手し、下垂体ホルモン分泌低下症を中心に記載項目について解析した。平成13年度本研究班による全国疫学調査と比較して、性別比、発症年齢分布、原因疾患に違いが認められたことに加え、北海道では性腺系ホルモンの補充頻度が全国に比べ低頻度であることが明らかとなった。本制度は経年的疫学調査を行ううえで貴重な情報を供給すると同時に、予後調査の資料となりえる可能性があると考えられた。

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(第二報)

一昨年、1958年から2000年までに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患者群を解析して報告した。今回は、1996年から2000年にかけて受診した33例(男性4例、女性29例)に焦点を当て、更に詳細な解析を行った。33例中クッシング病は12例(うち1例は再燃)で、クッシング症候群は21例(うち副腎腺腫18例、副腎癌3例、異所性ACTH症候群0例)であった。受診時に33例中25例で高血圧症の、22例で糖尿病・耐糖能異常の合併が認められた。また、9例で心血管病変の既往・合併が認められた。副腎腺腫によるクッシング症候群では術後にほぼ全例で症状の改善が認められた一方で、クッシング病や副腎癌によるクッシング症候群では治療の困難な症例が未だに少なくないことが再認識された。薬物療法や下垂体腺腫に対する内視鏡手術の今後の進歩に期待したい。

18) ソマトスタチンアナログによるヒトGH産生下垂体腺腫の縮小機構に関する研究

ヒトGH産生腺腫やACTH産生腺腫などの機能性ヒト下垂体腺腫の治療においてはホルモン分泌を低下させることが予後改善にとって重要である。その治療の第一選択は外科手術であるが、手術によって寛解に至らない例も多く、その場合内科的治療が重要になる。下垂体細胞からのホルモン分泌機構は主に開口分泌で行われているがそれを生細胞でリアルタイムに観察した例は少ない。内科的治療薬の作用機構を明らかにし、新規の薬物の開発を行うためには開口分泌機構の解析が重要である。この目的で、下垂体細胞からの開口分泌を可視化し、治療薬の作用機構を研究した。下垂体前葉細胞株AtT-20にEYFP-GHを導入し、開口分泌のモデル細胞を作成し、この系が脱分極刺激、Gs共役型受容体刺激に反応して顆粒を分泌させ、L型VGCC阻害剤やSRIH投与で分泌が減少することを確認した。さらに全反射型顕微鏡で膜表面直下約100nmにある顆粒の動態を初めて観察した。これらの解析により、治療薬のソマトスタチンアナログの作用機構に、細胞の興奮性抑制機構とは独立した未知の機構の存在を明らかにできた。この機構は、開口分泌機構に対する薬剤の直接の抑制作用で、創薬の標的にもなりうるものである。

19) 下垂体疾患におけるメタボリックシンドロームの頻度

下垂体機能異常症の中には内臓脂肪型肥満を基盤とするメタボリックシンドローム(MS)類似の病態を呈するものが少なくないことが知られている。当科受診中の内分泌疾患患者を対象とし、MSの診断基準に照らして、その疾患別、病態別頻度を端野壮警町研究を対照として比較検討した。クッシング病のコントロール不良群及び先端巨大症コントロール不良群ではMSの診断率が高かった。先端巨大症コントロール不良群では、インスリン抵抗性

に伴う糖、脂質代謝異常がGHによる脂肪分解作用を凌駕し、MSを引き起こすと考えられる。また、同じ慢性副腎皮質機能不全症でも原発性に比べ、下垂体機能不全症に伴う慢性副腎皮質機能不全症の方がステロイド補充量は少ないにもかかわらず、MS診断率が高く、この要因に二次性性腺機能低下症並びにGH分泌不全症の関与が示唆された。GH分泌異常症ではMS類似病態の発症頻度が高く、動脈硬化発症要因の一因となっていると考えられる。

20) 間脳下垂体疾患データベース

間脳下垂体機能障害患者の現状を把握する目的で、間脳下垂体疾患データベースが構築された。本研究班関連施設のうち、倫理委員会の承認が得られた施設より順次患者登録が開始されている。今後、登録患者数が増加すれば有用なデータベースとなろう。そのデータベースから抽出した課題の解決を図り、間脳下垂体機能障害患者の生命予後、長期予後がさらに改善することが望まれる。

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 97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

AVP escape現象の機序解明 —アキアポリン-2 (AQP-2)転写調節からの検討—

分担研究者 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
研究協力者 齊藤 智 之 自治医科大学附属大宮医療センター 総合医学第一
斎藤 孝 子 自治医科大学附属大宮医療センター 総合医学第一
加園 恵 三 自治医科大学附属大宮医療センター 総合医学第一

研究要旨: 本研究ではマウスアキアポリン-2(AQP-2)5'上流域 [-1.1kbまでの遺伝子 (-1.1AQP2)および-6.1kbまでの遺伝子 (-6.1AQP2)] をクローニング後、これらをAQP-2遺伝子とともにIMCD₃細胞に導入して、AQP-2遺伝子転写活性への低浸透圧の影響を検討した。-1.1AQP2もしくは-6.1AQP2をAQP-2遺伝子と共発現させたところ、低浸透圧培地(225mOsm/kg) 孵置下でのLuc活性は対照群(300 mOsm/kg)と差違がなかった。いずれも5 μ M Dibutyryl cAMP刺激後のLuc活性増加が、低浸透圧培地では対照群と比較して有意に抑制された。この抑制作用はJNK阻害薬1 μ M SP600125の前処置にて解除された。マウスAQP-2遺伝子-1.1kbまでの上流には低浸透圧によりcAMPによる転写活性が減弱する領域が存在し、これはJNKを介することが示唆される。

A. 研究目的

AQP-2はAVP依存性の水チャネルである¹⁾。腎集合尿管細胞において、AVPは血管側細胞膜上に存在するV₂受容体に結合後、Gs蛋白を介してadenylate cyclaseを活性化する。産生されたcAMPはプロテインキナーゼAを介して小胞体上に存在するアキアポリン2 (AQP-2)水チャネルを管腔側細胞膜にtraffickingする(これをShort-term 調節と呼ぶ)とともにAQP-2転写活性を促進してAQP-2蛋白合成を引き起こす(これをlong-term調節と呼ぶ)。AVPはこのShort-term 調節およびlong-term調節を介してAQP-2を活性化して、尿管細胞における水再吸収を促す。そしてShort-term 調節において、AVPとは独立して高浸透圧がAQP-2遺伝子転写制御に関わることを以前私たちは報告した²⁾。

ADH不適切分泌症候群(SIADH)では、低血漿浸透圧にもかかわらず血漿アルギニンバゾプレシン(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は亢進して、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、抗利尿作用は減弱して、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³⁾。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はない。私たちは以前SIADHモデルラットを用いてAVP escape現象を解析し、低血漿浸透圧あるいは体液量増加がAQP-2発現の減弱に関与する可能性を示唆した⁴⁾。

今回の研究では、低浸透圧がAQP-2遺伝子転写活性に及ぼす影響についてin vitro系で検討した。

B. 研究方法

以前私たちが報告した方法にて、マウスAQP-2遺伝子5'上流-6.1kb遺伝子 (-6.1AQP2)および -1.1kb遺伝子 (-1.1AQP2)をPGL3 basic