

- expression in renal cell carcinoma. The American Urological Association's Annual Meeting. Atlanta 5/21/2006
2. Suzuki T, Miki Y, Moriya T, Sugawara A, Hayashi S, Sasano H. Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) in human breast carcinoma: a modulator of estrogenic actions. The Endocrine Society 88th Annual Meeting. Boston 6/24~6/27/2006
 3. Uruno A, Sugawara A, Saito A, Kudo M, Ito S. Effects of hepatocyte growth factor and fluvastatin co-administration on in vitro angiogenesis and endothelial cell proliferation. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. 福岡 10/18/2006
 4. Kudo M, Sugawara A, Saito A, Uruno A, Ito S. Effects of pioglitazone, belaprost, and fluvastatin on gene expression in vascular endothelial cells revealed by DNA microarray analyses. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. 福岡 10/16/2006
 5. Sugawara A, Kudo M, Saito A, Hongo M, Uruno A, Ito S. Differential effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor and angiotensin II receptor blocker on gene expression in vascular endothelial cells revealed by DNA microarray analyses. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. 福岡10/16/2006
 6. Saito A, Sugawara A, Uruno A, Kudo M, Imaizumi M, Tsuchiya S, Ito S. Effects of all-trans retinoic acid on in vitro angiogenesis. The 21st Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. 福岡10/19/2006
 7. Uruno A, Sugawara A, Saito A, Kudo M, Ito S. Biphasic effects of fluvastatin on hepatocyte growth factor-induced in vitro angiogenesis and endothelial cell proliferation. International Symposium The Kidney and Hypertension. 仙台 10/21/2006
 8. Kudo M, Sugawara A, Saito A, Uruno A, Ito S. Differential effects of thiazolidinedione, prostacyclin, and statin on gene expression profiles in vascular endothelial cells. International Symposium The Kidney and Hypertension. 仙台 10/21/2006
 9. Sugawara A, Kudo M, Saito A, Hongo M, Uruno A, Ito S. Angiotensin-converting enzyme inhibitor and angiotensin II receptor blocker demonstrate differential gene expression profiles in vascular endothelial cells. International Symposium The Kidney and Hypertension. 仙台 10/21/2006
 10. Saito A, Sugawara A, Uruno A, Kudo M, Imaizumi M, Tsuchiya S, Ito S. All-trans retinoic acid induces in vitro angiogenesis possibly via vascular endothelial growth factor signaling. International Symposium The Kidney and Hypertension. 仙台 10/21/2006
- 国内学会
1. 菅原 明、齊藤明子、宇留野晃、工藤正孝、伊藤貞嘉：グレリンの血管内皮細胞における遺伝子発現に及ぼす影響—マイクロアレイを用いた解析—。厚生労働省難治性疾患克服研究事業間脳下垂体機能障害調査研究班平成17年度班会議 2006年1月13日東京
 2. 菅原 明：生活習慣病の対策。県北内科医小グループ研究会 2006年1月26日古川

3. 菅原 明、工藤正孝、斉藤明子、宇留野晃、伊藤貞嘉：ACE阻害剤およびアンジオテンシンII受容体拮抗薬の血管内皮細胞における遺伝子発現に及ぼす影響の検討。第11回アンジオテンシンカンファランス 2006年2月4日東京
4. 菅原 明、斉藤明子、宇留野晃、工藤正孝、伊藤貞嘉「グレリンの血管内皮細胞における遺伝子発現に及ぼす影響—マイクロアレイを用いた解析—」第21回東北成長障害・成長因子研究会 2006年3月11日仙台
5. 菅原 明、伊藤貞嘉：糖尿病を有しない低機能性副腎皮質腺腫患者におけるインスリン分泌能・抵抗性の動態。第17回CRH・ACTH研究会 2006年3月18日東京
6. 斉藤明子、菅原 明、工藤正孝、宇留野晃、今泉益栄、伊藤貞嘉：レチノイン酸の血管新生に対する効果。第12回日本内分泌学会東北地方会（第57回東北内分泌研究会） 2006年4月8日仙台
7. 菅原 明：RAA系抑制の意義および展望。登米市医師会学術講演会 2006年4月25日登米
8. 佐藤眞友美、清水本武、宮地弘幸、影近弘之、菅原 明：PPAR α γ デュアルリガンドによる血管新生の制御。第79回日本内分泌学会学術総会 2006年5月19～21日神戸
9. 鈴木 貴、三木康宏、森谷卓也、石田孝宣、菅原 明、林 慎一、大内憲明、笹野公伸：乳癌組織における核内受容体peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ の発現意義。第79回日本内分泌学会学術総会 2006年5月19～21日神戸
10. 菅原 明、本郷道夫、伊藤貞嘉：ピタバスタチンが有効であった下垂体機能低下症に伴う二次性高脂血症の2例。第79回日本内分泌学会学術総会 2006年5月19～21日神戸
11. 菅原 明、斉藤明子、工藤正孝、宇留野晃、本郷道夫、伊藤貞嘉：グレリンの血管内皮細胞における遺伝子発現に及ぼす影響—マイクロアレイを用いた検討—。第79回日本内分泌学会学術総会 2006年5月19～21日神戸
12. 宇留野晃、菅原 明、斉藤明子、工藤正孝、伊藤貞嘉：肝細胞増殖因子とスタチン系製剤の併用による血管新生作用の検討。第79回日本内分泌学会学術総会 2006年5月19～21日神戸
13. 斉藤明子、菅原 明、宇留野晃、工藤正孝、今泉益栄、飯沼一字、伊藤貞嘉：レチノイン酸の血管新生に対する効果。第79回日本内分泌学会学術総会 2006年5月19～21日神戸
14. 菅原 明：ホルモン核内受容体の活性化を介した脈管系調節機構の解明。第79回日本内分泌学会学術総会「研究奨励賞受賞講演」 2006年5月19～21日神戸
15. 菅原 明、五味瑠美子、金塚 完、長崎 裕、小川 晋、檜尾 好徳、鈴木 進、片桐 秀樹、伊藤貞嘉、岡 芳知、本郷道夫：東北大学病院総合診療部を受診した糖尿病患者の解析。第49回日本糖尿病学会年次学術集会 2006年5月25～27日東京
16. 工藤正孝、菅原 明、宇留野晃、伊藤貞嘉：血管内皮細胞におけるプロスタサイクリンによるeNOSリン酸化機構の解明。第6回日本NO学会学術集会 2006年5月25～26日東京
17. 菅原 明、工藤正孝、斉藤明子、宇留野晃、本郷道夫、伊藤貞嘉：プロスタサイクリンの血管新生および血管内皮細胞にお

- る遺伝子発現に及ぼす影響の検討。第6回日本NO学会学術集会 2006年5月25～26日東京
18. 菅原 明：生活習慣病の対策。泉南地区ミニ勉強会 2006年5月23日仙台
19. 宇留野晃、菅原 明、斉藤明子、工藤正孝、伊藤貞嘉：肝細胞増殖因子とスタチン製剤の併用による血管新生および細胞増殖能の検討。第49回日本腎臓学会学術総会 2006年6月16日東京
20. 菅原 明：積極的脂質降下療法の意義。総合診療フォーラム 2006年6月20日仙台
21. 鈴木 栄、國井重男、菅原 明、小丸達也、田熊清継、山内 聡、力山敏樹、青木正志、賀来満夫、中村浩規、西條慶子、金澤悦子、小笠原喜美代、松田みち子、佐々木慶子、五十嵐ひとみ、佐藤裕子、西條久美子、嶺岸恵美、岡本智子、大竹 茜、町田雄一郎、八木卷一男、沖田康雄、斉藤嘉信、渡辺サチ子、日下俊和、山口さやか、盛合沙織、鈴木俊幸、阿部良枝、佐々木巖：東北大学病院地域医療連携センターの活動報告。医療マネジメント学会東北地方会宮城県支部第1回学術総会 2006年7月8日仙台
22. 五十嵐ひとみ、西條久美子、大竹 茜、町田雄一郎、渡辺サチ子、青木正志、菅原 明、佐々木巖：東北大学病院の歩み～取り組みと実績～。第四回国立大学医療連携・退院支援部門連絡協議会 2006年7月8日名古屋
23. 菅原 明：PPAR α Update。東北大学21世紀COE” CRESCENDO” MCSコース特別講義（第214回東北大学大学院薬学研究科セミナー） 2006年7月18日仙台
24. 金塚 完、菅原 明、長崎 裕、本郷道夫：医師の人間性形成に関する医学生の意識調査。第38回日本医学教育学会大会 2006年7月29日奈良
25. 金村政輝、本郷道夫、伊藤恒敏、溝口二郎、石井誠一、菅原 明、木村秀樹：東北大学における地域医療実習の開始とその評価－受入病院と実習学生に対するアンケート調査結果から－。第38回日本医学教育学会大会 2006年7月29日奈良
26. 石井誠一、本郷道夫、篠澤洋太郎、菅原 明：臨床実習における学生－教員間相互評価の導入とフィードバックの効果。第38回日本医学教育学会大会 2006年7月30日奈良
27. 長崎 裕、菅原 明、金塚 完、本郷道夫：医療面接教育実習効果の評価。第38回日本医学教育学会大会 2006年7月30日奈良
28. 菅原 明、金塚 完、長崎 裕、本郷道夫、川島孝一郎、石井誠一：東北大学医学部における在宅医療実習の現況。第38回日本医学教育学会大会「特色ある大学教育への挑戦」 2006年7月30日奈良
29. 菅原 明：インフォームド・コンセントと医療情報／医療倫理と患者の権利。第4回宮城県放射線技師会医療学セミナー 2006年8月20日仙台
30. 菅原 明：メタボリック症候群とその対策。太白区病診勉強会 2006年9月14日仙台
31. 菅原 明：レニン・アンジオテンシン系抑制の意義2006。仙台市医師会太白ブロック学術講演会 2006年10月25日仙台
32. 菅原 明、斉藤明子、工藤正孝、宇留野晃、伊藤貞嘉：血管内皮細胞の遺伝子発現に及ぼすグレリンの影響-マイクロアレイを用いた検討-。第33回日本神経内分泌学会学術集会 2006年10月27日横浜
33. 滝山由美、青木直子、菅原 明、伊藤公一、

- 羽田勝計：Proteasome inhibitorによる甲状腺未分化癌細胞のapoptosis誘導作用。第49回日本甲状腺学会 2006年11月2～4日高松
34. 角田宇衣子、檜尾好徳、鈴木 進、菅原明、山田高弘、平井完史、高橋和眞、萩原健英、片桐秀樹、岡 芳知：気腫性腎盂腎炎に糖尿病性ケトアシドーシス性昏睡を合併した1例。日本糖尿病学会第44回東北地方会 2006年11月4日仙台
35. 宇留野晃、菅原 明、斉藤明子、工藤正孝、伊藤貞嘉：肝細胞増殖因子とスタチン製剤の併用による血管新生および細胞増殖能の検討。第10回日本心血管内分泌代謝学会 2006年11月17～18日福井
36. 工藤正孝、菅原 明、斉藤明子、宇留野晃、伊藤貞嘉：プロスタサイクリンの血管内皮細胞における遺伝子発現に及ぼす影響－マイクロアレイを用いた検討－。第10回日本心血管内分泌代謝学会 2006年11月17～18日福井
37. 菅原 明、工藤正孝、斉藤明子、宇留野晃、伊藤貞嘉：ACE阻害薬およびアンジオテンシンII受容体拮抗薬の血管内皮細胞における遺伝子発現に及ぼす影響－マイクロアレイを用いた検討－。第10回日本心血管内分泌代謝学会 2006年11月17～18日福井
38. 斉藤明子、菅原 明、宇留野晃、工藤正孝、今泉益栄、土屋 滋、伊藤貞嘉：レチノイン酸による血管新生促進作用の検討。第10回日本心血管内分泌代謝学会 2006年11月17～18日福井
39. 菅原 明、伊藤貞嘉：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）。厚生労働省難治性疾患克服研究事業間脳下

表1 クッシング病一覧

	入院年	性別	年齢	クッシング徴候	術前高血圧歴(年)	術前糖尿病	心・血管病変	治療法
1	OK1996	女	47	あり(満月様顔貌)	なし	IGT	なし	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術
2	SM1996	女	41	あり(満月様顔貌、色素沈着、アクネ、Buffalo hump)	あり(0.2)	IGT	なし	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術
3	IF1996	女	35	あり(多毛、肥満、満月様顔貌)	なし	なし	なし	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術
4	IM1997	男	41	あり(肥満、浮腫)	なし(?)	IFG	心不全	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術
5	SH1997	男	36	あり(満月様顔貌、皮膚線条、浮腫、アクネ、Buffalo hump)	あり(2.0)	IGT	なし	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術
6	MY1998	女	30	あり(満月様顔貌、皮膚線条、浮腫)	あり	なし(?)		経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術(1993年)
7	MM1998	女	62	あり(中心性肥満)	あり(10)	あり(インスリン)	なし	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術
8	AC1998	女	29	あり(中心性肥満、色素沈着、多毛、満月様顔貌、アクネ)	なし	なし	なし	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術
9	HN1998	女	58	なし(体重増加のみ)	あり(10)	あり	陳旧性脳梗塞	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術
10	TK1999	男	69	なし(先端巨大症が前面)	あり(16)	あり(インスリン)	なし	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術
11	HS1999	女	49	あり(満月様顔貌、浮腫)	あり(10)	あり(インスリン)	脳出血(2001)	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術
12	TY2000	女	25	なし(乳汁分泌)	なし	なし	なし	経蝶形骨洞下垂体腫瘍摘出術

表2 クッシング症候群(副腎腺腫)一覧

	入院年	性別	年齢	局在	クッシング徴候	術前高血圧歴(年)	術前糖尿病	心・血管病変	治療法
1	HH1996	男	37	左	あり(満月様顔貌)	なし	あり(A1c 6.7%)	なし	左副腎摘出術(開腹)
2	OJ1996	女	30	右	あり(肥満、満月様顔貌)	あり(0.8)	IGT	なし	右副腎摘出術(開腹)
3	EH1996	女	45	左	あり(肥満、満月様顔貌、アクネ、Buffalo hump)	あり(1.4)	DM型	なし	左副腎摘出術(開腹)
4	IH1997	女	49	右	あり(肥満、浮腫)	あり(19)	DM型	なし?	右副腎摘出術
5	SM1997	女	54	左	あり(中心性肥満)	あり(0.2)	あり(インスリン)	なし?	腹腔鏡下左副腎摘出術
6	OR1997	女	26	左	あり(多毛、浮腫)	なし	IGT	なし	腹腔鏡下左副腎摘出術
7	SY1997	女	48	右	あり(満月様顔貌、浮腫)	あり(28)	なし	陳旧性脳梗塞	右副腎摘出術(開腹)
8	SK1997	女	34	右	あり(肥満、浮腫、生理不順)	あり(0.1)	IGT	なし	腹腔鏡下右副腎摘出術
9	AK1997	女	39	右	あり(肥満、満月様顔貌)	あり(0.1)	なし	なし	腹腔鏡下右副腎摘出術
10	KM1998	女	32	右	あり(皮膚線条、満月様顔貌、発汗過多)	あり(1)	IGT	なし?	腹腔鏡下右副腎摘出術
11	KS1998	女	39	両側	あり(満月様顔貌、肥満、浮腫)	あり(2)	なし	なし?	腹腔鏡下両側副腎腫瘍摘出術
12	SK1999	女	71	左	あり(満月様顔貌、浮腫)	あり(20)	なし	肥大型心筋症	腹腔鏡下左副腎摘出術
13	NA1999	女	57	右	なし(?)	あり(6)	IGT	解離性大動脈瘤	腹腔鏡下右副腎摘出術
14	SM1999	女	35	右	あり(肥満)	あり(入院時発見)	DM型	なし	腹腔鏡下右副腎摘出術
15	FK1999	女	55	左	なし(?)	あり(2)	不明	なし	腹腔鏡下左副腎摘出術
16	MY2000	女	53	両側	なし	あり(7)	なし	脳梗塞・脳出血	腹腔鏡下両側副腎腫瘍摘出術
17	SE2000	女	47	右	あり(肥満、満月様顔貌)	あり(0.5)	DM型	心筋梗塞	腹腔鏡下右副腎摘出術
18	FS2000	女	37	左	あり(肥満、満月様顔貌)	あり(1)	DM型	なし	腹腔鏡下左副腎(部分)摘除

表3 クッシング症候群(副腎癌)一覧

	入院年	性別	年齢	局在	クッシング徴候	術前高血圧歴(年)	術前糖尿病	心・血管病変	治療法	腫瘍の大きさ
1	MM1998	女	37	右	あり(多毛、満月様顔貌、アクネ)	なし(?)	なし	なし	右副腎腫瘍摘出術	12X13cm(538g)
2	TN2000	女	65	右	あり(肥満、満月様顔貌、浮腫)	あり	あり(A1c 6.6%)	なし	腹腔鏡下右副腎摘出術	36x24x30mm
3	WK2000	女	58	右	あり(肥満、満月様顔貌、多汗)	あり(18)	あり	心不全	右副腎腫瘍摘出術	72x65x35mm

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

分担研究者 高野 幸路 東京大学医学部腎臓・内分泌内科 特任講師

研究要旨：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。

A. 研究目的

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。

B. 研究方法

顆粒放出の可視化

内分泌細胞からの分泌を測定するには細胞

外液中に放出されたホルモン濃度を測定したり、分泌顆粒の細胞膜への融合を細胞膜の膜容量の変化で測定する方法がとられている。ホルモン濃度測定は例えばperfusion法などのように時間分解能が低い。また、膜容量の測定は単一細胞でしか観察できず、実験の難易度も高い。本研究では分泌顆粒を可視化することで時間、空間分解能を高くし、簡便に解析できる方法の確立を行った。生細胞での分泌顆粒のreal-timeの観察のために、タンパク質そのものの性質は変化させずに可視化する方法として蛍光蛋白質のYFPをGHに結合して可視化することとした。また細胞としては、先端巨大症の治療薬であるソマトスタチンの受容体を有する下垂体前葉細胞のcell lineであるAtT-20細胞を用いた。

観察にはconfocal microscope と全反射顕微鏡の二つを用いた。

全反射顕微鏡は、ガラスと水溶液の間の屈折率の違いを利用して全反射を起こし、その際に生じるエバネッセント光を用いて細胞接着面のごく近傍の蛍光物質を励起し観察する装置である。レーザー光を全反射させると、量子光学的機序により非反射側の水溶液側に染み出し光（エバネッセント光）が生じる。エバネッセント光は反射面のごく近傍にしか生じず、このため反射面の奥のごく近傍のみを励起することができる。対物レンズからのレーザー出射角度（試料への入射角）の最大値は対物レンズの開口数によって決まり、以下の式が成り立つ（Axelrod, D. 2001）。

$$\text{滲み出し光の深さ } d = \lambda / 4\pi \sqrt{n_1^2 \cdot \sin^2 \theta - n_2^2}$$

（ n_1 = カバーガラスおよびイマージョンオイルの屈折率1.52、 n_2 = 細胞の屈折率1.38、 θ = 入射角。）

よって、励起される範囲はカバーガラスの100nm程度のごく近傍に限られ背景が暗黒となるため、SN比の高い画像を得ることができる。落射蛍光では蛍光強度の変化が15%程度の場合でも全反射型顕微鏡では変化が150%になるなど感度が非常に高い（Mogami H et al., 2003）。共焦点顕微鏡は細胞全体を観察することができる利点があるが、時間分解能がやや劣る点もあり、一方全反射顕微鏡は膜直下しか観察できないが時間分解能は高い。各種の方法を組み合わせ下下垂体の生細胞を検討すれば、開口分泌の機構をより明らかにできると考えられる。

AtT-20細胞の培養液には同様に非働化処理した10%FBS、100U/mlペニシリン、100 μ g/mlアンピシリンをふくむダルベッコ変法イーグル培地 / nutrient mixture F-12 HAM (DMEM / F12) (Sigma-Aldorich) を使用し、観察2日前に低濃度培地1%FBS / DMEMに変更した。37 $^{\circ}$ C、5%の二酸化炭素を含む湿潤な空气中で培養した。

[Ca²⁺]_i測定には径6mmの円形カバーガラスに細胞を付着させ、カバーガラスごと35mm培養皿中で培養したものを使用した。共焦点顕微鏡、全反射顕微鏡による顆粒観察にはポリ-L-リジンで表面処理した径10mmの円形ガラスを底面に持つ35mm培養皿を使用した。

GH-EYFP導入AtT-20細胞株の樹立

ラットGHのcDNA cloneであるpRGH-1とenhanced yellow fluorescein protein (EYFP) EYFPを発現するpEYFP-N1を用い、GHとEYFPの融合タンパク質を哺乳類動物細胞で発現させた。ラットGHのN末端のシグナル配列の下流のアミノ酸残基26と27の間にEYFPのcDNAを挿入し、pCMV-sig-EYFP-GH-1を作成した。これをmouse ACTH産生細胞株であるAtT-20細胞に導入し安定発現株を得た。immunoblotting analysisにより、融合蛋白質が発現していることを確認した。

GH-EYFP導入AtT-20細胞の細胞内カルシウム濃度測定には1波長励起1波長蛍光のCa²⁺指示薬Rhod 2-AMを用いた。excitationは543nm、emissionは560~620nmで測定し共焦点顕微鏡 (Leica, Wetzlar, Germany) で撮影した。この励起光543nmではEYFPは蛍光を発しないことを確認している。実験中はペリスタポンプにより標準細胞外液を常に還流させ、この細胞外液を交換して種々の試薬を投与した。分泌刺激として、高K+濃度細胞外液 (KCl 30 mEq/L, high K)、CRH 10 μ mol/L、抑制薬として、nitrendipine 5 μ mol/L、SRIH 100nmol/Lを用いた。

共焦点レーザーสキャン顕微鏡

共焦点レーザーสキャン顕微鏡LSM 510 META (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) で観察した。画像を構成する全画素に波長情報を持たせるLambda-modeにより0.48 μ m厚で、各試薬投与前、投与2分後、5分後、10分後に撮

影した。Excitationは514nm、emissionは528～560nmで測定した。撮影した像を細胞の頂点から底面まで投影して蛍光量を測定して比較した。

まず観察前に35mm培養皿内の培養液を上述の標準細胞外液0.8mlに交換して投与前像を撮影し、続いて目的の倍濃度の試薬を同量追加投与して経時変化を観察した。分泌刺激として、high K (KCl 30mEq/L)、CRH10 μ mol/L、抑制薬として、nitrendipine 5 μ mol/l、SRIH 100 nmol/Lを用いた。

全反射顕微鏡

全反射型レーザー顕微鏡IX81、100 \times 対物レンズPlanApo 100 \times OTIRFMで撮影した。Excitationは515nm、emissionは528.5～555.5nmとした。300msec毎に撮像し、Z軸フォーカスドライバを用いて100枚撮影毎に焦点を自動調整した。撮影した像を解析ソフトMetamorph (Olympus, Tokyo, Japan)を用い以下の方法で解析した。背景の蛍光強度を全体から引き、径200～500nmで背景と300grayscale以上輝度が異なるspot数を顆粒とみなして計測した。

前述の標準細胞外液を使用し、実験中はペリスタポンプにより緩徐に細胞外液を交換することで試薬を投与した。分泌刺激として、high K (KCl 30mEq/L)、抑制性調節因子として、SRIH 100nmol/L、Gö6976 1 μ mol/L、bisindolylmaleimide 1 μ mol/Lを投与した。

GH測定

24穴培養皿に10⁴の細胞を撒き培養液中に2時間の間に分泌されたGHを測定した。GHはGH radioimmunoassayシステム (Daiichi Radioisotope Laboratories, Tokyo, Japan)を用いて測定した。

統計解析

実験で得られたデータが各群間で有意差があるかどうか、2群間についてはt検定 (unpaired) で検定した。3群以上のデータはま

ず分散分析ANOVAで群間差の有無を確認し、多重比較検定 (Tukey test) で対照群と各群との有意差を検定した。これらの解析には、統計解析ソフトSPSS (SPSS, IL, USA)を用いた。

C. 研究結果

GH-EYFP導入AtT20細胞株の樹立

後の実験で抑制性の因子によるGH分泌抑制反応を調べるために、SRIH受容体を有するmouse下垂体前葉細胞株のAtT-20細胞を用いた。AtT-20細胞ではSRIHにより過分極反応が生じることが報告されている。またGsと共約する受容体としてCRH受容体の存在が確認されている。

作成したGH-EYFP導入AtT-20細胞株において、ウエスタンブロット法で75-kDaのGH-EYFP融合タンパクのバンドを認めた。NativeのGHの分子量である25kDa付近にはバンドはみられず、AtT-20細胞にGH-EYFPを安定的に導入できたことを確認した。

共焦点レーザー顕微鏡、全反射型近接場レーザー顕微鏡下にこの細胞を励起すると、細胞質に円形の蛍光領域が分布していた。蛍光領域は径320 \pm 40nm (n=12)程度で、電子顕微鏡で観察されているこの細胞の顆粒径 (Gumbiner B et al., 1981, Tooze J et al., 1987) とほぼ一致しており、導入したGH-EYFPが分泌顆粒に存在することが示唆された。

これを共焦点顕微鏡の、画像を構成する全画素に波長情報を持たせるLambda-modeにより撮影 (0.48 μ m厚) し、細胞の頂点から底面まで投影して蛍光量を測定し比較した。蛍光は対照群では10分間の観察時間に変化しなかったが、high K投与後2分、5分、10分で蛍光は経時的に減弱し、脱分極刺激による顆粒放出を確認できた。分泌刺激作用を示すCRH (10 μ mol/L) 投与後も同様に蛍光が減弱した。

high K、CRHの反応は共にnitrendipine (5 μ mol/L) で阻害されたため、L型VGCCを介するCa²⁺流入の関与あると考えられた。SRIH (100nmol/L) を前投与するとCRHによる分泌、high Kによる分泌をともに完全に抑制した。

Rhod 2で [Ca²⁺]_iを測定したところ、high KやCRHの刺激では [Ca²⁺]_iが増加した、nitrendipineではCRH、high Kによるカルシウム上昇をともに消失させた、SRIHはCRHによるカルシウム上昇は消失させた。一方、high Kによるカルシウム上昇はわずかに減弱したものの同様に認められた。

CRHやhigh Kによる脱分極で生じる顆粒分泌はL型電位依存性カルシウムチャンネルを介するカルシウム流入によることが明らかになった。SRIHの前投与によりCRH反応が消失したのは、CRHによる脱分極反応をSRIHが抑制したためと考えることができたが、SRIH前投与後にhigh Kでの顆粒分泌が消失したのは、SRIHによる興奮性の抑制では説明がつかない。SRIH投与後にもhigh Kによるカルシウム上昇は残っている。このことから、SRIHには細胞膜の興奮性抑制作用とは独立して、カルシウム上昇で引き起こされる開口分泌現象に抑制的に作用する機序が存在することが示された。これは、これまでに報告されていない新たな作用機構である。ソマトスタチンアナログのオクトレオチドでも同様の結果を得た。

GH-EYFP導入AtT-20細胞の全反射顕微鏡観察

作成したGH-EYFP導入AtT-20細胞の生細胞を全反射型顕微鏡で観察したところ、細胞膜にdockした顆粒のみならず、細胞膜近傍の細胞質内を活発に移動する顆粒の様子が確認できた。膜直下の顆粒の総数は、CRH、high Kのいずれによっても減少した。この減少は、nitrendipineの前投与によってともに消失した。SRIHやオクトレオチドの前投与によって、

CRH、high Kによる顆粒の減少（顆粒放出）がともに消失した。共焦点顕微鏡で得られた結果と同様の結果を得た。

D. 考察

GH顆粒を可視化するために作成したGH-EYFP導入AtT-20細胞株を用いて解析した結果、分泌刺激因子である脱分極刺激、CRH投与、抑制因子であるnitrendipine、SRIH投与になど対する基本的性質は保たれており、ホルモン分泌に関する生理的な特性は変化していないと考えられた。また、SRIHやオクトレオチドに膜の興奮性の抑制作用とは独立して、細胞内カルシウム上昇による開口分泌を直接抑制する作用があることが明らかになった。この機構はこれまでに報告されておらず、その詳しい分子機構の解明が必要である。また、薬剤開発の標的になる機構であり創薬の面でも重要である。

Green fluorescent protein (GFP) が既にいくつかの内分泌細胞の研究でも用いられており、ペプチドホルモンに付与してもGFPの蛍光が変化せず、同時に細胞自身の生理学的性質を本質的に変化させないことが確認されている (Magoulas C et al., 2000)。GHに蛍光色素を付与して安定した下垂体cell lineの作成の報告は、今報告のほかには共同研究で平行して行っている一報告のみである (Matsuno A et al., 2005)。今回用いたAtT-20細胞株には開口分泌に関与するRab蛋白の中でも特に、Rab27bが多く発現している (Zhao S et al., 2002)。顆粒分泌のdockingやpriming、fusionを制御しているRab蛋白の中で、特に内分泌細胞ではRab3、Rab27の発現が認められる。Rab27の役割には未知の点が多いが、本モデルを検討することにより、開口分泌におけるRab27とgranuphilinの役割に

ついて新たな展開を持たさすことが期待できる。

E. 結論

マウス下垂体前葉細胞株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。さらに下垂体細胞生細胞で膜表面100 nmにある顆粒の動態を全反射型顕微鏡で初めて観察した。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、興奮性の抑制作用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、開口分泌に対する薬物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。

現在、2光子励起顕微鏡を用いてヒト下垂体腺腫細胞からの顆粒分泌現象を解析している。外来の蛍光蛋白質を導入することなく切除後直ちに顆粒分泌を観察することに成功しており、ヒト下垂体疾患特に機能性下垂体疾患の病態解明と治療法の開発にさらに役立つと考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yasufuku-Takano J, Takano K, Morita K, Takakura K, Teramoto A, and Fujita T. Does the prevalence of gsp mutations in GH-secreting adenomas differ geographically or racially? - Prevalence of gsp mutations in Japanese patients revisited. Clin. Endocrinology 64:91-96, 2006.

2. Sekine N, Takano K, Kimata-Hayashi N,

Kadowaki T, and Fujita T. Adrenomedullin inhibits insulin exocytosis via pertussis toxin-sensitive G-protein-coupled mechanism, Am. J. Physiol. 291:E9-E14, 2006.

3. Matsuno A, Mizutani A, Takekoshi S, Itoh J, Okinaga H, Nishina Y, Takano K, Nagashima T, Osamura RY, Teramoto A. Analysis of the mechanisms of intracellular transport and secretion of pituitary hormone, with an insight of subcellular localization of pituitary hormone and its mRNA Brain Tumor Pathology in press, 2006.

4. Osawa H, Ohnishi H, Takano K, Noguti T, Mashima H, Hoshino H, Kita H, Sato K, Matsui H, Sugano K. Sonic Hedgehog stimulates the proliferation of rat gastric mucosal cells through ERK activation by elevating intracellular calcium concentration. Biochem Biophys Res Commun 344:680-687, 2006

5. Matsuno A, Nakashima M, Tahara S, Teramoto A, Takano K, Fujita T. Correlation among Ki-67 staining index, expression of somatostatin receptor, growth hormone dynamics to growth hormone releasing hormone and bromocriptine. Growth Hormone & IGF Res. 16:39, 2006.

6 Takano K, Noguti T, Yasufuku-Takano J, Ishikawa T, Okinaga H, Fujita T. IGF-1-induced activation of a nonselective cation channel in human somatotroph cells. Growth Hormone & IGF Res. 16:44, 2006

2. 学会発表

2006年 内分泌病理学会 高野幸路 下垂体ホルモン分泌機構の可視化による抑制性因子

の作用機構の解明

2006年 内分泌病理学会 研究優秀賞
受賞

H. 知的財産権の出願・登録状況

予定はない

下垂体疾患におけるメタボリックシンドロームの頻度

分担研究者 柳 瀬 敏 彦 九州大学大学院医学研究院病態制御内科学
研究協力者 渡 邊 哲 博 九州大学大学院医学研究院病態制御内科学
高 柳 涼 一 九州大学大学院医学研究院病態制御内科学

研究要旨：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。当科を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。

A. 目的

メタボリックシンドローム(MS)は、内臓脂肪型肥満を基盤として、糖・脂質代謝異常、高血圧などのリスク集積を伴い、最終的には動脈硬化性疾患を発症する病態である。本来、過食、運動不足などの生活習慣を背景にした概念であるが、内分泌疾患の中には、ホルモンの過剰や欠落によりMS類似の病態を呈するものが少なくない。今回、下垂体疾患におけるその実態を調査した。

B. 方法

当科を受診中の内分泌疾患患者を対象とし、内訳は男性119人(平均年齢52.4歳)女性294名(平均年齢52.3歳、計413名)であった。うち今回は先端巨大症27例(男7、女20)、クッシング病男女併せて6例、下垂体前葉機能低下症28例(男14、女14)、原発性副腎皮質機能不全症11例(男5、女6)を解析対象とした。

下垂体前葉機能低下症の内訳は下垂体腫瘍術後16例(男10、女6)、下垂体卒中2例(男2)、シーハン症候群2例(女2)、その他4例(男2、女2)であった。下垂体前葉機能低下症のホルモン分泌不全は以下の基準で判定した。「ACTH分泌不全」は、CRH負荷試験でACTHの反応が1.5倍未満、もしくは副腎皮質不全症状を認めるなどの理由によりステロイド補充がなされているものとした。「TRH分泌不全」は、TRH負荷試験でTSHの頂値が10未満、もしくは頂値が60分以降のものとした。「LH・FSH分泌不全」は、LHRH負荷試験でFSHの反応が2倍未満、LHの反応が5倍未満、もしくは性腺機能低下症状を認め、それに対して治療が行われているものとした。「GH分泌不全」は、GRH負荷GHの頂値が6未満、もしくはIGF-1が年齢基準以下であるものとした。「ADH分泌不全」は、多尿によりDDAVPによる治療を行っているものとした。また下垂体前葉機能不

全症において認められた分泌不全ホルモンの頻度は表1にまとめた。MSの診断は2005年にわが国の診断基準として提唱された基準によった¹⁾。すなわち男性では腹囲85cm以上、女性では腹囲90cm以上を「内臓肥満」とした。「高血圧」は、収縮期血圧が130mmHg以上、拡張期血圧が85mmHg以上、降圧剤の内服のいずれかに該当するものとした。「高血糖」は、空腹時血糖が110mg/dl以上、糖尿病の既往歴、糖尿病治療薬の使用のいずれかに該当するものとした。「脂質異常」は、中性脂肪が150mg/dl以上、HDLコレステロールが40mg/dl未満、高脂血症治療薬の内服のいずれかに該当するものとした。「先端巨大症コントロール不良」は、IGF-1値が年齢別IGF-1の基準値より高値のものとした。「Cushing病コントロール不良」は、低容量デキサメタゾン抑制試験にてコルチゾールの抑制が認められないものとした。一方、対照群としては端野壮瞥町研究²⁾を対照として、比較検討した。

C. 結果

先端巨大症ではコントロール不良群で男女ともMSの診断率が高かった(表2、3)。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。Cushing病コントロール不良群ではMS診断基準陽性率が高かった(表4)。下垂体機能低下症におけるMS診断基準陽性率は男性患者では端野・壮瞥町における頻度と同程度であったが(表5)、女性患者では、陽性率は約3倍高かった(表6)。また、同じ慢性副腎皮質機能不全症でも原発性に較べ、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、男女とも脂質代謝異常、MS診断率が高く、この

要因に二次性性腺機能低下症状並びにGH分泌不全症の関与が示唆された(表5、6)。

D. 考察

GHには脂肪分解作用が知られており、一般に先端巨大症患者では極端な肥満やBMI高値は少ない。しかしながら、先端巨大症コントロール不良患者群では、男女とも腹囲径の異常率が高く、かつMS診断基準陽性率が高かった。GH高値による脂肪分解作用よりも、インスリン抵抗性に由来する二次的な代謝異常の方が強く影響すると考えられた。糖質コルチコイド過剰症では従来から内臓脂肪型肥満やステロイド過剰症としての耐糖能異常、高脂血症、高血圧の発症が知られており、クッシング病のコントロール不良群では予想どおり、MS類似病態の発症が高率であった。一方、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、男女とも脂質代謝異常、MS診断率が高かった点は大変、興味深い。下垂体機能不全症におけるMS類似病態の高い頻度には、二次性の性腺機能不全症とGH分泌不全症の関与が示唆された。性腺機能不全症における補充療法の施行の実態に関して他科、他施設との関連も含めて、今回、完全に調査することができなかったが、内科フォローにおける投薬情報の限りにおいては性ホルモン補充施行例は極めて少数と考えられた。特に男性では、テストステロンのデポー型注射剤はあっても、有効な経口剤がないことが、障害になっていると考えられた。成人GH欠損症では内臓脂肪型肥満を呈すること、動脈硬化性疾患の発症率が高いことが知られている³⁾。わが国でも重症型成人GH欠損症に対してGH補充療法が昨年度より保険医療として認可され、GH補充は内臓脂肪型肥満の改善に極めて有効であること

が確認されている⁴⁾。MSは現在、国民的啓蒙も進み、動脈硬化発症危険因子としての認識は一般にも浸透しつつある。今後、下垂体疾患患者における重要な予後規定因子の一つとして、MS類似病態の合併率の高さを十分に認識することは、治療的動機付けの意味で、医師、患者双方にとって極めて重要と言える。

E. 結論

GH 異常症を含む下垂体疾患患者ででは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た。

参考文献

- 1) メタボリックシンドローム診断基準検討委員会：メタボリックシンドロームの定義と診断基準 日本内科学会雑誌94：794-809, 2005
- 2) 竹内 宏他：日本人男性におけるMetabolic syndromeとインスリン抵抗性の検討 糖尿病 46：739-744、2003
- 3) Rosen T, Bengtsson BA.: Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. Lancet 336：285-8, 1990
- 4) Begtsson BA et al.: Treatment of adults with growth hormone (GH) deficiency with recombinant human GH. J Clin Endocrinol Metab. 76:309-17, 1993

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. Fan S, Goto K, Chen G, Morinaga H, Nomura M, Okabe T, Nawata H, Yanase T : Identification of the functional domains of ANT-1, a novel coactivator of the androgen receptor. Biochem Biophys Res Commun 341:192-201,

2006

2. Liu W, Liu M, Fan W, Nawata H, Yanase T : The Gly 146Ala variation in human SF-1 gene: Its association with insulin resistance and type 2 diabetes in Chinese. Diabetes Research Clinical Practice 73: 322-328, 2006
3. Yanase T, Muta K, Nawata H : Serum concentrations of dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-S) in oldest old Japanese women correlate with cognitive activity rather than activities of daily living. Geriatrics and Gerontology International 6: 194-198, 2006
4. Yanase T, Nasu S, Mukuta Y, Shimizu Y, Nishihara T, Okabe T, Nomura M, Inoguchi T, Nawata H : Evaluation of a New Carotid Intimal Plus Medial Thickness (IMT) Measurement by B-mode Ultrasonography Using an Innovative Measurement Software, Intimascope. Am J Hypertension 19:1206-12,2006
5. Tanaka T, Okabe T, Gondo S, Fukuda M, Yamamoto M, Umemura T, Tani K, Nomura M, Goto K, Yanase T, Nawata H : Modification of glucocorticoid-sensitivity by MAP kinase signaling pathways in glucocorticoid-induced T-cell apoptosis. Experimental Hematology 34 : 1542-52, 2006
6. Yamada Y, Sekihara H, Omura M, Yanase T, Takayanagi R, Mune T, Yasuda K, Ishizuka T, Ueshiba H, Miyachi Y, Iwasaki T, Nakajima A, Nawata H : Changes in Serum Sex Hormone Profiles after Short-term Low-dose Administration of Dehydroepiandrosterone (DHEA) to Young and Elderly Persons. Endocr J. 2007 in press
7. Fan W, Yanase T, Morinaga H, Okabe T, Nomura M, Daitoku, H, Fukamizu A, Kato S, Takayanagi R, Nawata H : IGF1/insulin

signaling activates androgen signaling through direct interactions of Foxo1 with androgen receptor. J Biol Chem 2007 in press

8. Saito Y, Yamada N, Shirai K, Sasaki J, Ebihara Y, Yanase T, Fox JC.: Effect of rosuvastatin 5-20mg on triglycerides and other lipid parameters in Japanese patients with hypertriglyceridemia. Atherosclerosis 2007 in press

H. 知的財産権の出願・登録情報

なし

表1 下垂体前葉機能低下症のホルモン分泌不全

	男性14例	女性14例
ACTH分泌不全	92.9% (13/14)	100.0% (14/14)
TSH分泌不全	85.7% (12/14)	91.7% (12/13)
LH・FSH分泌不全	90.9% (10/11)	62.5% (5/8)
GH分泌不全	90.9% (10/11)	88.9% (8/9)
ADH分泌不全	71.4% (10/14)	25.0% (3/12)

表2 男性先端巨大症患者の代謝異常

	コントロール良好例	コントロール不良例	端野社警町
患者数(人)	2	5	
平均年齢(歳)	54.5	52.2	
平均IGF-1 (ng/ml)	177	497	
内臓肥満(%)	50.0	100.0	59.7
高血圧(%)	50.0	60.0	68.5
高血糖(%)	0.0	40.0	19.2
脂質異常(%)	50.0	40.0	37.8
メタボリック症候群診断率(%)	0	40.0	26.4

表3 女性先端巨大症患者の代謝異常

	コントロール良好例	コントロール不良例	端野社警町
患者数(人)	8	12	
平均年齢(歳)	57.3	56.7	
平均IGF-1 (ng/ml)	159	402	
内臓肥満(%)	25.0	50.0	26.2
高血圧(%)	37.5	58.3	59.7
高血糖(%)	75.0	67.7	10.0
脂質異常(%)	62.5	33.3	18.2
メタボリック症候群診断率(%)	12.5	33.3	8.8

表4 Cushing病コントロール不良患者の代謝異常

	端野社警町	Cushing病コントロール不良
患者数(人)		6
平均年齢(歳)		45.5
Hydrocortisone 平均投与量 (mg/日)		
内臓肥満(%)	26.2	< 66.7
高血圧(%)	59.7	< 100.0
高血糖(%)	10.0	< 16.7
脂質異常(%)	18.2	< 66.7
メタボリック症候群診断率(%)	8.8	< 66.7

表5 男性下垂体前葉機能低下症患者の代謝異常

	下垂体前葉機能低下症	下垂体前葉機能低下症 (λプロト補充)	原発性副腎皮質機能不全症	端野社警町
患者数(人)	14	13	5	
平均年齢(歳)	53.8	53.8	43.6	
Hydrocortisone 平均投与量 (mg/日)		18.1	28.0	
内臓肥満(%)	57.1	53.8	40.0	59.7
高血圧(%)	35.7	30.8	40.0	68.5
高血糖(%)	35.7	30.8	40.0	19.2
脂質異常(%)	57.1	61.5	20.0	37.8
メタボリック症候群診断率(%)	28.3	23.1	> 0.0	26.4

表6 女性下垂体前葉機能低下症患者の代謝異常

	下垂体前葉 機能低下症	下垂体前葉 機能低下症 (テスト補充)	原発性副腎皮質 機能不全症	蝶野 社醫研
患者数(人)	14	12	6	
平均年齢(歳)	50.0	47.0	43.8	
Hydrocortisone 平均投与量(mg/日)		14.6	26.7	
内臓肥満(%)	35.7	41.7	33.3	26.2
高血圧(%)	28.6	33.3	26.7	59.7
高血糖(%)	21.4	25.0	33.3	10.0
脂質異常(%)	64.3	66.7	16.7	18.2
メタボリック症候群 診断率(%)	21.4	25.0	> 16.7	8.8

間脳下垂体疾患データベース

分担研究者	置村康彦	神戸大学医学部保健学科
	横山徹爾	国立保健医療科学院技術評価部
	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
	寺本明	日本医科大学脳神経外科学教室
	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

研究要旨：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。

A. 目的

間脳下垂体機能障害は、種々の機能的・器質的疾患によって生じた視床下部ホルモン・下垂体ホルモン分泌異常症であり、正確な診断及び適切な治療が施されなければ、健康寿命はもちろん生命予後も著しくそこなわれる病態である。間脳下垂体機能障害患者の現状を把握し、そこから新たな課題を抽出、その問題解決を図ることは重要である。この現状把握⇒課題抽出⇒問題解決をシステム化し、間脳下垂体機能障害患者の生命予後、長期予後をさらに改善する目的で、間脳下垂体疾患データベースを構築することを、間脳下垂体機能障害調査研究班では長年準備してきた。今年度、ようやくその準備が整い、倫理委員会の許可が得られた施設から順次患者データ入力開始された。間脳下垂体疾患データベースの現状について報告する。

B. 調査、登録方法

間脳下垂体機能障害調査研究班でのこれまでの論議に基づき、対象疾患を間脳下垂体疾

患のなかでは患者数が多い先端巨大症、プロラクチノーマ、クッシング病、下垂体機能低下症、中枢性尿崩症の5疾患とした。参加医療施設は主任および分担研究者の所属する医療施設及び、その関連医療施設とすることとした。2006年を起点とし、過去5年間に受診したこの5疾患の患者、および今後受診する新規患者を調査対象とした。少なくとも2011年までは、これらの登録患者を追跡し、年一度、患者データを登録することとした。データベース構築、維持管理については、イーピーエス社に依頼し、データ入力はデータベースの維持管理の点から、Web登録とした。

患者データ登録、管理のシステムは次のとおりである（図1）。1）分担研究者は本調査研究事業への参加に関して各施設の倫理委員会から承認を得る。2）倫理委員会から承認された場合、分担研究者はその旨事務局に連絡する。事務局からの指示により症例管理センターはその施設を登録する。また、分担研究者に対してID、パスワードを発行する。これを使用しデータベースにアクセス可能と

なる。3) 分担研究者が症例管理センターに依頼することにより、分担研究者のほか患者担当医にもID、パスワードを発行する。4) 患者担当医、分担研究者は該当患者に対し口頭、書面で本調査について説明し、十分に理解が得られた患者から同意を得る。5) 患者同意書を得た後、症例登録、データ登録をWebで行なう。

調査項目については一昨年、5疾患の登録事項原案を作成した。登録事項は、患者基本情報、症候、ホルモン値、画像情報、治療情報、生活状況からなり、登録事項原案を各研究者に送付し修正を求め、昨年度に登録事項改訂版の作成をおこなった。また、本年度にも一部改訂した。生存率、合併症の有無、増悪進展、QOLについて重点をおいて評価することとした。

評価方法は次のとおりである。[生存率] 外部比較：5つの対象疾患のそれぞれについて性・年齢で調整した標準化死亡比を計算し、観察期間中の死亡率が一般集団と比較して何倍程度異なるのかを明らかにする。内部比較：主要症候、ホルモン検査値、画像所見、治療方法、治癒状況、合併症、ADLを説明変数とする。これらによって複数カテゴリーに分け、各カテゴリーの累積生存率をKaplan-Meyer法にて推定し、Log-rank検定を行う。Cox比例ハザードモデルを用いて、調整ハザード比の推定、検定を行う。多変量解析により、各要因の独立な影響を評価する。[合併症] 新規発症：登録時に合併症を有する者は除く。上記説明変数によって複数カテゴリーに分け、Cox比例ハザードモデルを用いて、調整ハザード比の推定、検定を行う。縦断的解析：登録時の合併症の有無にかかわらず全てを対象とする。上記説明変数によって複数カテゴリーに分け、各年に合併症を有する者の割合を計算し、単純に記述する。各観察時刻における合併症の保有

率を統計モデルに当てはめて推定し、混合効果回帰分析等を用いて説明変数との関連を分析する。[QOL] 国民生活基礎調査と同一の質問項目を用い、健常人の生活状況との比較を行なう。

C. 現状

本調査研究は、2006年4月に初めて神戸大学医学部倫理委員会で承認された。引き続き、各施設の倫理委員会に研究申請がなされ、2007年2月現在11施設で承認されている(図2)。研究が承認された施設から、順次、患者登録が2006年10月から開始された。2007年2月時点で登録患者数は28名である。疾患別うち分けを図2に示す。

D. まとめ

平成14年度に、間脳下垂体機能障害調査研究班で間脳下垂体データベース作成が提唱された。同年度に、横山によって「間脳下垂体機能障害の予後調査に関する検討」が報告された¹⁾。今回のデータベース構築は、この検討、およびその後の研究班での討論に基づくものであり、既存資料の活用でなく、間脳下垂体機能障害調査研究班がデータベースを作成、患者登録管理を行ない、調査計画に基づいて定期的に追跡調査を行なうシステムの確立をめざした。

調査は、「疫学研究に関する倫理指針」に沿っておこない、参加医療機関で、登録患者に識別番号を付与し、匿名化した情報をデータベース化することとした。通常の医療により得られる検査成績等を利用するため、登録患者からのインフォームドコンセントを必要としないとも解されるが、生活状況等も一部登録するため、登録患者からインフォームドコンセントを得ることとした。

本年度、参加施設で本調査研究が承認され、患者登録が開始された。登録患者数はまだ少ないものの、今後、登録患者数が増加し、有用なデータベースとして機能することが期待される。

E. 結論

間脳下垂体疾患データベースが構築された。2006年度から実際に稼働しており、今後の運用が期待される。

参考文献

1) 横山徹爾 間脳下垂体機能障害の予後調査に関する検討 厚生労働科学研究費補助金特定疾患対策研究事業 間脳下垂体機能障害に関する調査研究 平成14年度総括・分担研究報告書 pp91-95、2003

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Neither intravenous nor intracerebroventricular administration of obestatin affects the secretion of GH, PRL, TSH and ACTH in rats. Yamamoto D Ikeshita N, Daito R, Herningtyas EH, Toda K, Takahashi K, Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K, Okimura Y. *Regulatory peptides* 138:141-4, 2007

The N131S Mutation in the von Hippel-Lindau Gene in a Japanese Family with Pheochromocytoma and Hemangioblastomas. Imanaka M, Iida K, Takahashi K, Tsuji K, Nishizawa H, Fukuoka H, Takeno R, Takahashi Y, Okimura Y, Kaji H, Chihara K. *Endocr J.* 53:819-27, 2006

A Novel Mutation in the von HippelLindau Tumor Suppressor Gene Identified in a Japanese Family with Pheochromocytoma and Hepatic Hemangioma. Takahashi K, Iida K, Okimura Y, Takahashi Y, Naito J, Nishikawa S, Kadowaki S, Iguchi G, Kaji H, Chihara K. *Internal Medicine* 45:265-269, 2006
Gene expression profile in the heart of spontaneous dwarf rat: In vivo effects of growth hormone. Yoshioka S, Takahashi Y, Okimura Y, Takahashi K, Iguchi G, Iida K, Kaji H, Chihara K. *Biochem Biophys Res Commun.* 341:88-93, 2006

2. 学会発表

竹野亮子ほか、GH,PRL,TSH欠乏を特徴とする後天性複合下垂体機能低下症：血中Pit-1自己抗体の検出、第79回日本内分泌学会学術総会（神戸）、2006年

吉岡嗣朗ほか、cDNAマイクロアレイを用いた骨格筋、骨における成長ホルモン標的遺伝子の解析、第79回日本内分泌学会学術総会（神戸）、2006年

本多久子ほか、GnRHスーパーアゴニスト治療中、視野障害と頭痛が出現したゴナドトロピン産生下垂体腫瘍の1例、第79回日本内分泌学会学術総会（神戸）、2006年

山本大輔ほか、グレリン、およびグレリン受容体作動薬GHRP-2は、デキサメサゾンによる筋特異的ユビキチンリガーゼAtrogin-1、MuRF1の発現亢進を抑制する、第79回日本内分泌学会学術総会（神戸）、2006年

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

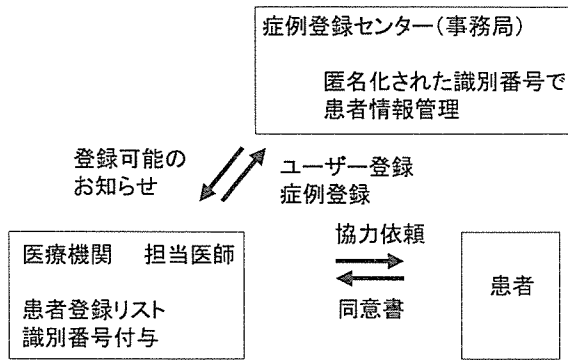


図1 症例登録の流れ

施設名	登録症例数					
	先程 巨大症	プロラクチ ノーマ	クッシング 病	下垂体腫瘍 症下症	パゾブレ ン分泌低下 症	5 疾患 合計
1 神戸大学医学部附属病院内分泌内科	4	3	0	5	2	14
2 北海道大学病院検査部	1	1	0	0	0	2
3 慶応義科大学大学院医学総合研究科 先端治療科学専攻神経病科学脳神経意創外科学	2	1	0	0	0	3
4 京大大学医学部附属病院内分泌内科	0	0	0	0	0	0
5 高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科学	0	0	0	0	0	0
6 群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科	0	0	0	0	0	0
7 国立病院機構茨城センター臨床研究センター	0	0	0	0	0	0
8 大阪大学大学院医学系研究科臨床検査診断学	0	1	0	0	0	1
9 九州大学大学院医学研究科病態制御内科	0	0	0	0	0	0
10 自治医科大学附属大岩医療センター総合医学第一	1	1	0	1	5	8
11 国立成育医療センター臨床検査部	0	0	0	0	0	0
合計	9	6	0	6	7	28

図2 2007年2月の時点で倫理委員会の承認が得られた施設名とその登録患者数