

イド補充量は下垂体機能回復群で少なかった。
(倫理面への配慮)

本研究は高知大学倫理委員会の承認を受けた上で実施した。

C. 研究結果

過去の報告と同様に、健常者におけるGHRP-2負荷試験の際のGHの反応は、GHRH負荷と比較すると明らかに大きかった。原発性下垂体機能低下症ではGHは無反応であったが、ACTH単独欠損症では良好な反応を示した。視床下部障害型では低反応であり、ACTH系の回復群でもGHはなお低反応であった(図1, 2)。

GHRP-2の健常者への投与により、個体差は大きいものの、血中ACTHの有意な上昇(基礎値 15.9 ± 6.4 , 頂値 65.1 ± 42.9 pg/ml, $p < 0.05$)が見られ、Cortisolの上昇(基礎値 12.1 ± 3.6 , 頂値 19.3 ± 4.9 μ g/dl, $p < 0.05$)も認められた(図2)。

下垂体機能低下症患者におけるCRH負荷試験の際のACTHの反応は、ACTH単独欠損症では無反応、原発性下垂体機能低下症では低反応であった。視床下部障害型ではACTHは過剰遅延反応を示した(頂値 83.0 ± 21.3 pg/ml)。Cortisolの反応はACTH単独欠損症と原発性下垂体機能低下症では無反応、視床下部障害型では低反応であった。下垂体機能回復群ではACTHの反応は健常者と同等であったが、Cortisolはなお低反応を示した(図3)。

一方、GHRP-2に対するACTHの反応はACTH単独欠損症や原発性下垂体機能低下症ではCRH負荷の場合と同様に無反応ないし低反応であった。しかし視床下部障害型では過剰遅延反応ではなく、健常者と有意差のない反応を示した(頂値 46.4 ± 29.6 pg/ml)。Cortisolの反応はこれらの患者群ではCRHの場合と同様の傾向であった。下垂体機能回復群ではACTHは健常者と有意差のない良好な反応を示したが、

Cortisolは健常者に比べて低反応であった(図4)。

(なお今回は健常者に対してCRH+GHRH負荷は施行していないが、対照として当科で過去に行った別の健常者群に対するCRH+GHRH負荷試験の結果を用いた。)

D. 考察

健常者へのGHRP-2投与により、血中ACTHおよびCortisol濃度の有意な上昇が認められた。ACTHの上昇はGHRP-2投与15分後と比較的すみやかに発現しており、これは下垂体への直接作用によるものと推察された。またACTHの頂値はCRH負荷時と比較して有意差は見られなかった。しかしながら、ACTHの反応には個体差が大きく、ACTHの上昇がごく軽度の者も認められた。ACTHの反応になぜ大きな個体差があるのか不明であり、今後の検討が必要と考えられる。

CRHまたはGHRP-2の患者群への投与では、原発性下垂体機能低下症とACTH単独欠損症においては、ACTHは低反応ないし無反応であった。一方、視床下部障害による下垂体機能低下症では、CRH負荷とGHRP-2負荷とでACTHの反応が異なっており、前者では過剰遅延反応であったのに対して、後者では健常者と有意差は見られなかった。これらの結果は、GHRP-2によるACTH分泌刺激作用の少なくとも一部は視床下部を介することを示唆している。GHRP-2の中枢での作用部位については、今後さらなる検討が必要と考えられる。

また視床下部障害型ではGHRP-2によるACTHの反応がCRH負荷時ほど大きくはないことより、下垂体機能低下症患者の障害部位の特定、すなわち視床下部障害型と原発性下垂体障害との鑑別には、GHRP-2負荷はCRH負荷に勝るものではないことが示された。しかしながらCRH負荷試験も両者の鑑別に絶対的な

ものではない。従来、視床下部機能評価に用いられてきたインスリン負荷試験は重症低血糖を惹起する危険性もあり、今後、副作用のない新たな負荷試験の開発は重要と考えられる。

E. 結論

GHRP-2負荷試験はACTH分泌刺激試験としても有用であることが示されたが、反応に個人差が大きく、この点の解明や対応策が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会発表

1. 西山 充, 岩崎泰正, 次田 誠, 中山修一, 岡崎瑞穂, 谷口義典, 品原正幸, 丸山 博, 田口崇文, 山中茂雄, 杉浦哲郎, 橋本浩三. ACTH 分泌能評価における GHRP-2 負荷試験の有用性. 第81回日本内分泌学会学術総会 (2008年5月, 弘前)

2. Nishiyama M, Iwasaki Y, Tsugita M, Nakayama S, Okazaki M, Taniguchi Y, Shinahara M, Maruyama H, Taguchi T, Yamanaka S, Sugiura T, Hashimoto K. Evaluation of Growth Hormone Releasing Peptide (GHRP) -2 as A Provocative Test of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Patients with Hypopituitarism. The Endocrine Society's 90th Annual Meeting, San Francisco, USA (2008年6月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1. 対象者の背景

	健常者 (n=9)	視床下部障害 (n=4)	下垂体障害 (n=5)	ACTH単独 (n=5)	下垂体回復 (n=5)
年齢	39±13	60±9	50±22	50±21	51±8
性別 (男/女)	8/1	2/2	2/3	5/0	2/3
コトリル 補充量 (mg/日)		19±14	12±3	18±3	4±4

図1. GHRP-2およびGHRH負荷試験におけるGHの反応性

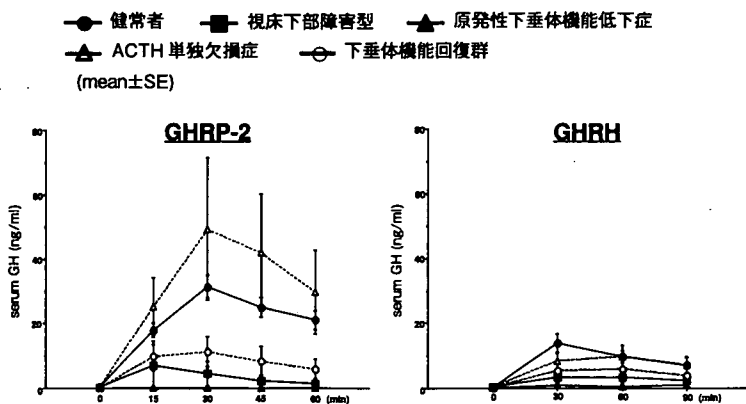


図2. 健常者における GHRP-2 負荷試験の結果
(GH, ACTH, Cortisol)

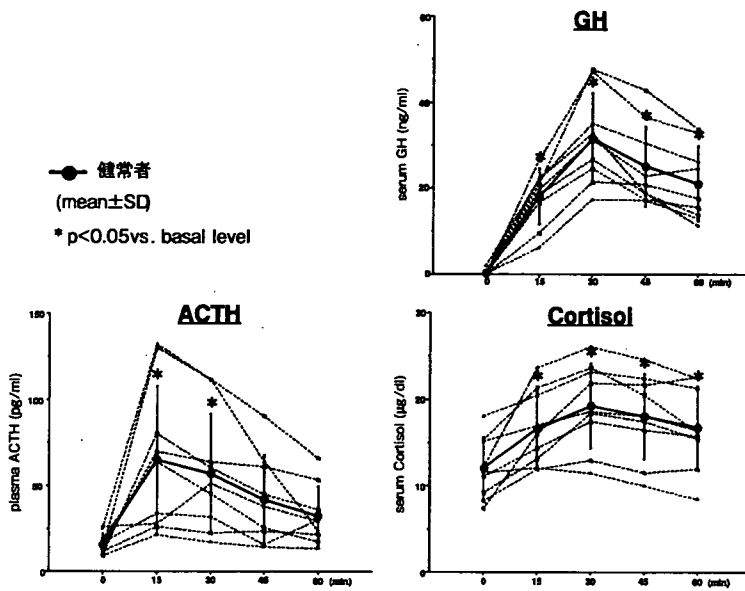


図3. CRH 負荷試験における ACTH, Cortisol の反応性

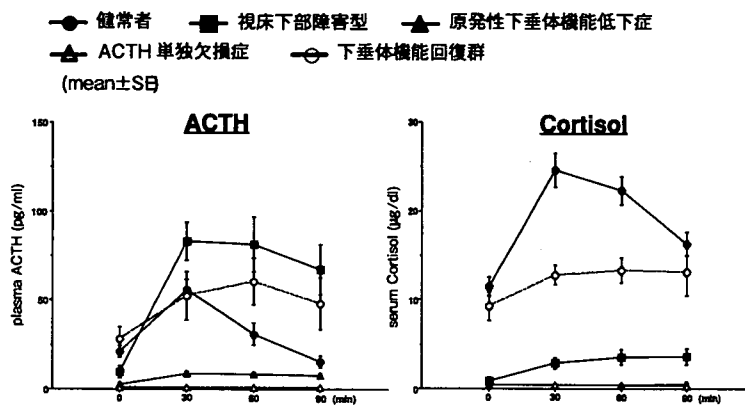
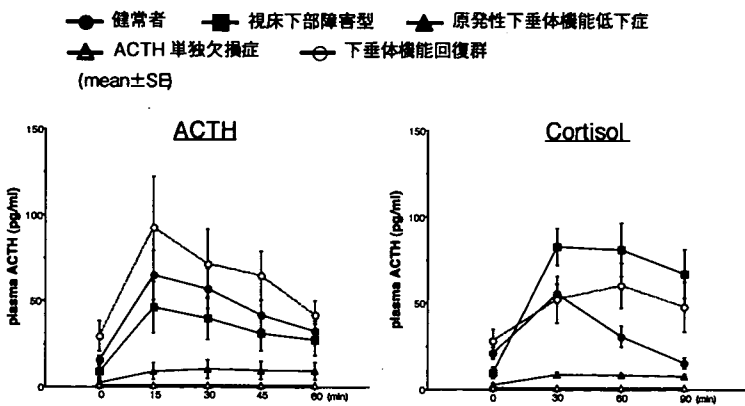


図4. GHRP-2 負荷試験における ACTH, Cortisol の反応性



GHRP-2負荷でGHが1.8 ng/ml以上に反応する重症成人GH分泌不全症の臨床像に関する検討

分担研究者	肥塚直美	東京女子医科大学第二内科
研究協力者	山門佑有	東京女子医科大学第二内科
	谷本啓爾	東京女子医科大学第二内科
	福田いずみ	東京女子医科大学第二内科
	栗本真紀子	東京女子医科大学第二内科
	高野加寿恵	東京女子医科大学第二内科

研究要旨：重症成人GH分泌不全症(GHD)の診断基準の1つにGHRP-2負荷試験後のGH頂値が9 ng/ml以下という項目があるが、各症例のGHRP-2に対するGHの反応性は無反応から9 ng/mlと様々である。GHDの治療はGHの補充であるがGHRP-2にある程度反応する症例ではGHRP-2の点鼻製剤での治療の可能性も考えられる。そこでGHRP-2にある程度反応する(本研究では1.8 ng/ml以上と設定)症例の頻度と臨床像について検討した。GHRP-2負荷試験でGHが重症成人GHDの基準(9ng/ml以下)を満たした視床下部・下垂体に器質性病変を有する50症例を対象とした。50%の症例でGHRP-2に対してGHがある程度(1.8 ng/ml以上)の増加反応を示した。低反応の群(L群)ではある程度反応した群(M群)に比べてIGF-Iは低値であり、GH以外の下垂体ホルモンの障害数は多く、高血圧、脂質異常症、糖尿病の合併症を2つ以上有する症例が多く認められた。これらGHRP-2にある程度反応する成人GHD症例では今後GHRP-2の点鼻製剤による治療の可能性も示唆された。

A. 研究目的

重症成人GH分泌不全症(GHD)の診断基準の1つにGHRP-2負荷試験後のGH頂値が9ng/ml以下という項目があるが、各症例のGHRP-2に対するGHの反応性は無反応から9ng/mlと様々である。GHDの治療はGHの補充であるがGHRP-2にある程度反応する症例ではGHRP-2の点鼻製剤での治療の可能性も考えられる。そこでGHRP-2にある程度反応する(本研究では1.8ng/ml以上と設定)症例の頻度と臨床像について検討した。

B. 研究方法

2005年8月以降に当科に入院しGHRP-2負荷試験でGHが重症AGHDの基準を満たした視床

下部・下垂体に器質性病変を有する50症例(男/女:29/21名、23~72歳)を対象とした。基礎疾患は非機能性下垂体腺腫26例(男/女:17/9、28~69歳)、頭蓋咽頭腫10例(5/5、23~62歳)、ラトケ嚢胞9例(2/0、30~46歳)、その他3例(1/2、44~54歳)であった。GHが1.8ng/ml以上に反応する群(中等度反応:M群)と1.8ng/ml未満群(低反応群:L群)に分け、その頻度と臨床的特徴を検討した。本研究で用いた1.8ng/mlという値はGHRP-2以外GH分泌刺激試験において重症GHDの診断基準を満たす1.8ng/mlという値から低反応の基準として設定した。

C. 研究成果

50例におけるGHRP-2のGH頂値は<0.07~8.83ng/mlであり、M群、L群を各々25名(男/女:15/10、14/11)に認め、そのGH頂値(中央値)は各々4.6、0.6 ng/mlであった(表1、図1)。

BMIはM群でやや低い傾向を認めたが有意差は認めなかった(22.9 vs 23.3 kg/m²)。M群、L群のIGF-I値・SD scoreは各々143、97 ng/ml、0.1、-0.7 SDであり、L群で有意に低値を示した(表1、図1)。

非機能性下垂体腺腫ではM群/L群を11/15例に認め、頭蓋咽頭腫、ラトケ嚢胞、プロラクチノーマでは各々5/5例、6/3、1/1例に認めた。ラトケ嚢胞では他の基礎疾患に比べM群を多く認めた。

GH以外の下垂体ホルモン分泌不全の合併頻度について検討した。GH以外の下垂体ホルモン(Gn (FSH/LH)、TSH、ACTH、AVP)の欠乏が1、2、3または4つ認められる割合はM群では各々24、12、16、12%、L群では8、28、36、24%であり、GH単独欠損症をM群では36%、L群では4%に認めた。GH以外の下垂体ホルモン障害数はM群で少なく、L群は1例を除き全例が複合型下垂体機能低下症であった。

高血圧、脂質異常症、糖尿病の合併についてはM群で各々12、24、12%、L群で24、32、16%に認め、両群とも脂質異常症が最も多く認められた。2つ以上の合併症を有する率はL群において高率であった(24 vs 12%)。

D. 結論

GHRP-2によりGHが重症成人GHDの基準を満たした症例のうち50%の症例ではGHがある程度(1.8 μg/L以上)の増加反応を示した。低反応の群(L群)ではある程度反応した群(M群)に比べてIGF-IIは低値であり、GH以外の下垂体ホルモンの障害数は多く、高血圧、脂質異常症、糖尿病の合併症を2つ以上有する症例

が多く認められた。

近年、GHSの臨床応用が考慮されており、GHRP-2についても小児において点鼻製剤の治療が行われている。GHRP-2にある程度反応する成人GHD症例では今後GHRP-2の点鼻製剤による治療の可能性も示唆された。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chihara K, Shimatsu A, Hizuka N, Tanaka T, Seino Y, Katofor Y; KP-102 Study Group: A simple diagnostic test using GH-releasing peptide-2 in adult GH deficiency. *Eur J Endocrinol* 157:19-27, 2007.
- 2) 肥塚直美: 診療指針と活用の実際: 内分泌疾患 成人成長ホルモン分泌不全症の診断と治療 *日本内科学会雑誌* 96:1230-1234, 2007.
- 3) 栗本真紀子, 福田いずみ, 西川亮, 高橋裕, 肥塚直美, 高野加寿恵: Germinomaによる下垂体機能低下症 *日本内分泌学会雑誌* 83 (Suppl):11-13, 2007.

2. 学会発表

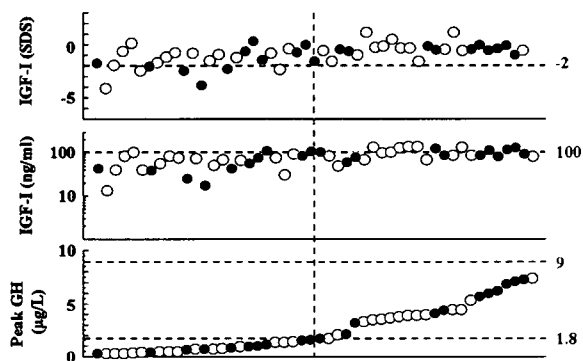
- 1) Yamakado Y, Tanimoto K, Hizuka N, Fukuda I, Kurimoto M, Yamamoto M, Takano K: Clinical features of severe adult growth hormone deficiency due to the degree of GH responsiveness to GHRP-2. 89th Annual Meeting of the Endocrine Society, Toronto, June, 2007.
- 2) 山門佑有, 谷本啓爾, 肥塚直美他 GHRP-2 負荷でGHが1.8ng/ml以上に反応する重症成人GH分泌不全症の臨床像に関する検討 第80回日本内分泌学会総会

表1. 重症GH分泌不全症でGHRP-2負荷でのGHがある程度反応する群 (M) と低反応群 (L群) の特徴

	Group L	Group M
Number (M/F)	25 (14/11)	25 (15/10)
Age	53.3 (24-68)	48.6 (23-72)
Peak GH (μg/L)	0.6 (0.07-1.72)	4.6 * (1.83-8.83)
IGF-I (ng/ml)	97 (16-169)	143 * (70-218)
IGF-I (SD)	-0.7 (-4.01-0.98)	0.1 * (-1.18-1.87)
BMI (kg/m ²)	23.3 (18.3~31.0)	22.9 (18.1~28.8)

* : M群 vs L群 : P<0.001

図1. 重症GH分泌不全症50例のGHRP-2負荷のGH頂値と血中IGF-I値



ヒトACTH産生下垂体腫瘍における各種遺伝子発現異常の解析

分担研究者 平田 結喜緒 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)

研究協力者 館野 透 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)

研究要旨: 我々は、前年度の本研究班にて顕性ACTH産生下垂体腫瘍(CD)及び非機能性下垂体腫瘍(NFT)におけるPOMC発現、ネガティブフィードバック機構、プロセッシング、細胞内輸送における種々の遺伝子発現の違いを明らかにした。本年度は、ACTH産生下垂体腫瘍(顕性Cushing病: CD, silent corticotroph adenoma: SCA)及び非機能性下垂体腫瘍(NFT)の間でPOMCの転写因子、ソマトスタチン受容体(SSTR)ならびにドパミン受容体(D2R)の遺伝子発現に差異があるか否かを検討した。CD(12例)、SCA(8例)、NFT(15例)の腫瘍組織における各種遺伝子(POMC, NeuroD1, Tpit, histone deacetylase 2 (HDAC2), BRM/SWI2-related gene 1 (Brg1), SSSTR(1-5), D2R)の発現をRT-PCR法で解析した。NFTに比べて顕性CDでは、有意にTpit、SSSTR5の発現亢進及びHDAC2、D2R発現低下が認められた。また、SCAでは、SSSTR1, 2の発現増加及びD2R発現低下が認められた。以上より、CDの薬物治療としてSSSTRサブタイプ(特に5)に選択性の高いSSTアナログが期待されるが、ドパミン作動薬の有用性は低いと考えられた。

A. 研究目的

我々は、前年度の本研究班にて顕性ACTH産生下垂体腫瘍(CD)及び非機能性下垂体腫瘍(NFT)におけるPOMC発現、ネガティブフィードバック機構、プロセッシング、細胞内輸送における種々の遺伝子発現の違いを明らかにした(Tateno et al: Eur J Endocrinol. 157: 717-724, 2007)。現在、ACTH産生下垂体腫瘍における薬物治療は未だ確立していない。そこで本年度は、ACTH産生下垂体腫瘍(顕性Cushing病: CD, silent corticotroph adenoma: SCA)及び非機能性下垂体腫瘍(NFT)の間でPOMCの転写因子、ソマトスタチン受容体(SSSTR)ならびにドパミン受容体(D2R)の遺伝子発現を解析して薬物治療の可能性を検証した。

B. 研究方法

対象は、虎の門病院内分泌センターにて経蝶形骨洞腫瘍切除術施行された下垂体マクロアデノーマ35例(CD(12例)、SCA(8例)、NFT(15例))の腫瘍組織におけるPOMC、POMC転写因子(NeuroD1, Tpit, HDAC2, Brg1)、SSSTR1-5、D2Rの発現をRT-PCR法で解析した。

C. 研究結果

NFTに比べて顕性CDでは、有意にTpit、SSSTR5の発現亢進及びHDAC2、D2R発現低下が認められた(図1, 2, 3)。また、SCAでは、SSSTR1, 2の発現増加及びD2R発現低下が認められた(図3)。

D. 考察

これまでにACTH産生下垂体腺腫における遺伝子発現の報告は散見するものの、多数例の

検体を用いて集約的に解析した研究はなされていない。今回の研究では、POMCの転写因子、SSTRならびにD2Rの遺伝子発現の差異を検討した結果、顕性ACTH産生下垂体腺腫では、非機能性下垂体腺腫と比較して、Tpitの発現が亢進し、HDAC2の発現が低下していることが明らかになった。POMCの転写において、NeuroD1よりもTpitの関与が大きく、グルココルチコイド受容体を介した転写調節では、Brg1よりもHDAC2発現低下の関与が大きいと考えられた。また、顕性ACTH産生下垂体腺腫では、SSTR5の発現が亢進し、D2Rの発現が低下していたことから、CDの薬物治療としてSSTRサブタイプ（特に5）に選択性の高いSSTアナログが期待されるが、ドパミン作動薬の有用性は低いと考えられる。一方、非顕性ACTH産生下垂体腫瘍(SCA)では、SSTR1, 2の発現が増加し、D2R発現が低下していたが、その意義は不明である。

E. 結論

今回の遺伝子解析からは、CDの薬物治療としてSSTRサブタイプ（特に5）に選択性の高いSSTアナログが期待されるが、ドパミン作動薬の有用性は低いことが示唆される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tateno T, Izumiyama H, Doi M, Yoshimoto T, Shichiri M, Inosita M, Oyama K, Yamada S, Hirata Y. Differential gene expression in adrenocorticotropin (ACTH) -secreting and non-functioning pituitary tumors. *Eur J Endocrinol.* 157: 717-724. 2007
2. Tateno T, Izumiyama H, Doi M, Akashi T, Ohno K, Hirata Y. Defective expression of prohormone convertase 1/3 in silent corticotroph adenoma. *Endocrine J.* 54: 777-782. 2007
3. Tsuchiya K, Nakayama C, Iwashima F, Sakai H, Izumiyama H, Doi M, Hirata Y. Advanced endothelial dysfunction in diabetic patients with multiple risk factors; importance of insulin resistance. *J. Atheroscler. Thromb.* 14: 303-309. 2007
4. Iwashima F, Yoshimoto T, Minami I, Sakurada M, Hirono Y, Hirata Y. Aldosterone induces superoxide generation via Rac1 activation in endothelial cells. *Endocrinology.* (in press). 2007
5. Gotyo N, Doi M, Izumiyama H, Hirata Y. Secondary adrenal insufficiency caused by adult development of pituitary stalk transection. *Intern. Med.* 46:1711-1715. 2007
6. Ito T, Tanaka M, Sasano H, Osamura YR, Sasaki I, Kimura W, Takano K, Obara T, Ishibashi M, Nakao K, Doi R, Shimatsu A, Nishida T, Komoto I, Hirata Y, Imamura M, Kawabe K, Nakamura K; Neuroendocrine Tumor Workshop of Japan. Preliminary results of a Japanese nationwide survey of neuroendocrine gastrointestinal tumors. *J. Gastroenterol.* 42: 497-500. 2007
7. Kawamura M, Nakano T, Miki H, Tamura Y, Miyazaki S, Hirata Y. Bromocriptine-responsive Cushing's disease; clinical and biochemical remission accompanied by amelioration of impaired ocular movement. *Intern. Med.* 46: 1117-1122. 2007
8. Morokuma Y, Nakamura N, Kato A, Notoya M, Yamamoto Y, Sakai Y, Fukuda H, Yamashina S, Hirata Y, Hirose S. MARCH-XI, a novel transmembrane ubiquitin ligase implicated in

ubiquitin-dependent protein sorting in developing spermatids. *J. Biol. Chem.* 282: 24806-24815. 2007

9. Tsuchiya K, Sakai H, Suzuki N, Iwashima F, Yoshimoto T, Shichiri M, Hirata Y. Chronic blockade of nitric oxide synthesis reduces adiposity and improves insulin resistance in high fat-induced obese mice. *Endocrinology.* 148: 4548-4556. 2007
10. Hirono Y, Yoshimoto T, Suzuki N, Sugiyama T, Sakurada M, Takai S, Kobayashi N, Shichiri M, Hirata Y. Angiotensin II receptor type 1-mediated vascular oxidative stress and proinflammatory gene expression in aldosterone-induced hypertension: the possible role of local renin-angiotensin system. *Endocrinology.* 148: 1688-1696. 2007
11. Sekiguchi Y, Hara Y, Matsuoka H, Hayashi Y, Katsumata N, Hirata Y. Sibling cases of Addison's disease caused by DAX-1 gene mutations. *Intern. Med.* 46:35-39. 2007

2. 学会発表

1. 館野透, 関澤直子, 加藤真子, 神山隆治, 泉山肇, 土井賢, 吉本貴宣, 大山健一, 山田正三, 平田結喜緒. 下垂体ACTH産生腫瘍における各種遺伝子発現の異常. 第18回CRH・ACTH研究会 (2007.3発表)
2. T. Tateno, H. Izumiyama, M. Doi, T. Yoshimoto, K. Oyama, S. Yamada, and Y. Hirata. Differential gene expression in adrenocorticotropin (ACTH)-secreting and non-functioning pituitary tumors. The 89th Endocrine Society's Annual Meeting Toronto, Canada (2007.6発表)
3. 館野透, 関澤直子, 加藤真子, 神山隆治, 泉山肇, 土井賢, 吉本貴宣, 大山健一, 山田正三, 平田

結喜緒. ヒトACTH産生下垂体腫瘍におけるACTH発現調節異常の解析. 第80回日本内分泌学会学術集会 (2007.6発表)

4. 館野透, 関澤直子, 神山隆治, 泉山肇, 土井賢, 吉本貴宣, 大山健一, 山田正三, 平田結喜緒. 下垂体ACTH産生腫瘍における各種遺伝子発現の解析. 第34回日本神経内分泌学会学術集会 (2007.8発表)

H. 知的財産権の出願・登録情報

なし

図1. POMC及び転写因子の遺伝子発現

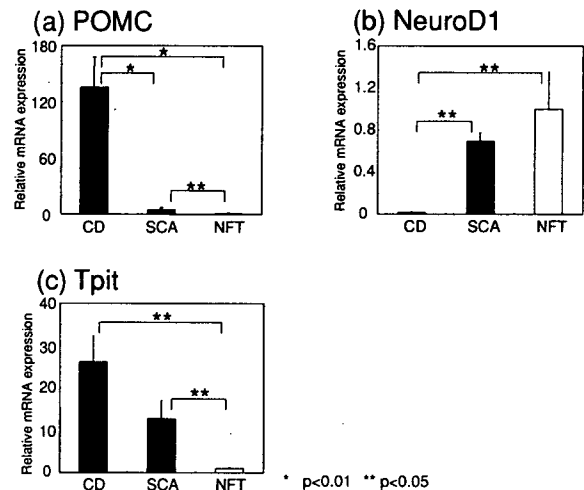


図2. HDACおよびBrg1の遺伝子発現

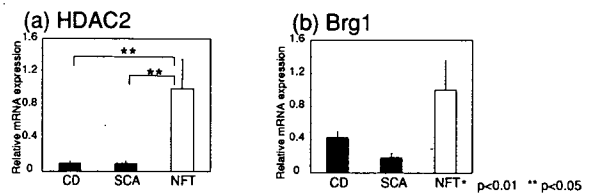
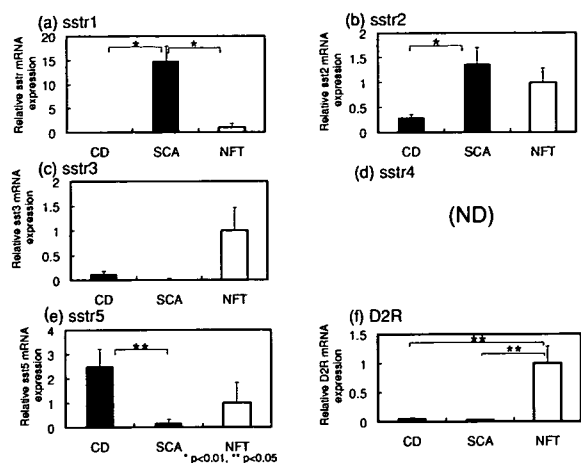


図3. SSTRサブタイプ(1-5)及びD2Rの遺伝子発現



散発性下垂体腺腫におけるmenin/MLL-p27mRNA発現

分担研究者 森 昌 朋 群馬大学大学院病態制御内科教授
研究協力者 山 田 正 信 群馬大学大学院病態制御内科講師

研究要旨：多発性内分泌腺腫症(MEN)1型の原因遺伝子であるMen1の遺伝子産物であるmeninはMLL(Mixed lineage Leukemia)と複合体を形成しヒストンのメチルトランスフェラーゼ活性を有しp27Kip1 やp18Ink4C遺伝子発現を制御している。MEN1型ではmeninの変異によりこれらの発現が低下し腫瘍が発生する。今回、私達は散発性下垂体腺腫におけるこれらの遺伝子発現について解析するため、正常下垂体を含む各種下垂体腺腫51症例のMLL、Men1、p27Kip1、p18Ink4C mRNA量を測定し臨床像と比較検討した。さらにMLL、meninのp27Kip1発現への影響を下垂体腺腫細胞株を用いて検討した。その結果、下垂体腺腫においてMLL、Men1、p27Kip1、p18Ink4C mRNAの発現量はいずれも低下し、MLLとp27 mRNA発現量に強い相関を認めた。さらに、GH4C1細胞では、MLLの過剰発現によりp27mRNA量並びにプロモーター活性が増加したが、meninは影響を及ぼさなかった。従って、MLL-p27経路の異常が散発性下垂体腺腫の発症に関与していることが示唆された。

A. 研究目的

下垂体腺腫の発症機構に関与する遺伝子として、人においては多発性内分泌腺腫症1型の原因遺伝子であるMen1遺伝子のみが明らかであった。また、細胞周期調節因子であるp27Kip1やp18Ink4C、Rb1そしてGs α などの関与も考えられ、実際、これらのノックアウトマウスでは下垂体腺腫が発症する。このことから、これらに共通の因子が下垂体腺腫発症に重要な働きをしていることが予想された。

近年、転座により融合蛋白質を形成し、急性白血病を発症するMLLがMen1の遺伝子産物であるmeninと共通の核内蛋白複合体に含まれ、ヒストンのメチルトランスフェラーゼ活性を有し、p27Kip1やp18Ink4C遺伝子発現を制御していることが報告された。そして、多発性内分泌腺腫症ではmeninに変異が起こり、これら遺伝子の発現量が低下し腫瘍が発症することが明らかとなった。さらに、人やラットにお

いてp27Kip1遺伝子の変異が多発性内分泌腺腫症1型と類似した表現型を示すことが報告された。従って、MLL/menin-p27Kip1という経路が下垂体腺腫の発生に関与していることが予想された。

そこで、今回我々はこの経路の散発性下垂体腺腫への関与を検討した。

B. 研究方法

- 1) インフォームドコンセントの得られた下垂体腫瘍症例の経蝶形骨洞腫瘍摘出術にて摘出された腫瘍の一部を試料とした。これらの試料を実験に供する際には、倫理面および個人情報の取り扱いに十分に配慮して行った。
- 2) 症例は、GH産生腺腫11例、PRL産生腺腫11例、ACTH産生腺腫5例、TSH産生腫瘍4例、非機能腺腫15例、正常下垂体5例である。

- 3) 得られた腫瘍あるいは正常下垂体から Isogenを用いてtotal RNA を抽出した。アガロースゲルにてリボゾームRNAを観察することによりRNAの質を確認した後、300 ngのtotal RNAからランダムプライマー、Oligo (dT)プライマーを用いてcDNAを作製した。
- 4) 上記cDNAとTaqMan probeを用いたリアルタイムPCRにてMLL、Men1、p27Kip1、p18Ink4CのmRNAを増幅し、正常下垂体から作成したコントロール用cDNAを希釈し標準曲線を作製後、それぞれの mRNA量をGAPDH mRNAの相対的比率で補正した。
- 5) ラット下垂体腺腫細胞株であるGH4C1細胞にMLL、Meninの強制発現系を用いて、p27発現量への影響を解析した。

C. 研究結果

- 1) 症例の平均年齢はGH産生腺腫で44.6±4.4歳、PRL産生腺腫が40.6±2.8歳、ACTH産生腺腫44.6±4.4歳、TSH産生腺腫49.3±5.8歳、非機能腺腫で50.7±2.1歳、正常下垂体75.2±3.4歳であった。男女比は女性比で、GH産生腺腫45.5%、PRL産生腺腫36.4%、ACTH産生腺腫40.0%、TSH産生腺腫25.0%、非機能腺腫46.7%であり、いずれも有意な差は認められなかった。
- 2) すべての下垂体腺腫においてMLL、Men1、p27Kip1、p18Ink4C mRNA発現が確認された。
- 3) p27Kip1 mRNA発現量は正常下垂体と比較して、全ての下垂体腺腫で発現が低下していたが、特にPRL産生腺腫、TSH産生腺腫で有意に低下していた。
- 4) p18Ink4C、Men1、並びにMLL mRNA発現量とも正常下垂体と比較し下垂体腺

腫で低下していた。特に、p18Ink4C、Men1 mRNAはPRL産生腺腫、ACTH産生腺腫、非機能腺腫で有意に低下していた。MLL mRNA発現量ではGH産生腺腫を除いた全ての下垂体腺腫で発現量が低下していた。

- 5) 下垂体腺腫におけるMLL、Men1、p27Kip1、p18Ink4C mRNA発現量の相関を検討したところ、PRL産生腺腫、GH産生腺腫において、p27Kip1 mRNA、MLL mRNA間で強い相関($r=0.93$ 、 $p<0.0001$)を認められた。しかし、両腺腫でMLL mRNA、p18Ink4C mRNA間では有意な相関($r=0.31$ 、 $p=0.34$)は認められなかった。
- 6) GH4C1細胞にMLLを強制発現するとp27 mRNAレベルで8倍に、蛋白レベル2.3倍の増加を認め、p27Kip1プロモーター活性も2.1倍に増加した。しかし、GH4C1細胞にmeninを強制発現してもこのプロモーター活性は増加せず、meninの発現量増加はp27Kip1遺伝子発現を制御しないことが明らかとなった。

D. 考察

今回、私達はMLL、Men1、p27Kip1、p18Ink4C mRNAが正常と比較して、種々の散発性下垂体腺腫において低下していることを示した。これまで、散発性下垂体腺腫におけるp27Kip1、p18Ink4C、Men1 mRNA発現量に関する報告は数報報告されているが、散発性下垂体腺腫におけるMLL mRNA発現量に関する報告は今までになく、散発性下垂体腺腫においてMLL mRNA発現量の低下を示したのは本研究が初めてである。また、Men1 mRNAは下垂体腺腫で上昇すると報告しているものや、正常と比較して変わらないと報告しているものがあり、一定の見解は得られていない。本

研究ではプロラクチン産生腺腫、ACTH産生腺腫、非機能性腺腫が正常下垂体と比較し有意に低下しており、この違いは、これまでの報告の多くが単純なRT-PCRで行われており、本研究ではより感度の高いリアルタイムPCRを用いており、この違いが結果の違いとなったものと考えられた。

散発性下垂体腺腫におけるp27Kip1発現量は、蛋白レベルでは低下しているが、mRNAレベルでは変化がないと報告されている。本研究ではPRL産生腺腫、TSH産生腺腫で正常下垂体と比較して有意に低下していた。この差は、mRNAレベルの評価はRT-PCRで行われており、さらにそれぞれの腺腫の症例数も少ないことによると考えられた。実際、正常の細胞周期を通して、p27Kip1 mRNA発現量は変化なく、ユビキチン-プロテオソームシステムにより蛋白レベルで調節されている。F-Box蛋白であるS-phase kinase interacting protein 2(Skp2)はp27Kip1のユビキチン化に重要な役割を果たしており、また、p27Kip1の187番のスレオニンをリン酸化するJun activation domain-binding protein1(Jab1)がSkp2によるp27Kip1の調節に重要な働きをすることが報告されている。そのため、このSkp2-Jab1が下垂体腺腫においてもp27Kip1の発現制御に重要な働きをしていると考えられる。しかし、散発性下垂体腺腫においてはp27Kip1とSkp2の発現量に相関は認められるものの、リン酸化されたp27Kip1の発現、Skp2発現量、Jab1発現量は正常下垂体と比較して変化がないと報告されており、散発性下垂体腺腫におけるp27Kip1発現の低下は他の機能により制御されている可能性が示唆された。さらに、ビタミンD3やダイオキシンなどがp27Kip1を転写レベルで制御していることが報告されたおり、本研究で明らかとなったp27Kip1 mRNA発現量の低下は、散発性下垂体

腺腫におけるp27Kip1発現量が、転写レベルでも制御されていると考えられた。さらに、GH4C1細胞を用いた私たちの検討では、MLLを強発現すると、p27Kip1は転写レベルや蛋白レベルで増加することが判明した。最近の報告では、menin がMLLと複合体を形成し、MLLの機能であるヒストンメチルトランスフェラーゼ活性により、p27Kip1、p18Ink4Cのプロモーターを制御していることが明らかとなっている。そこで、meninをGH4C1細胞に強発現してみたが、p27プロモーター活性は増加しなかった。そのため、散発性下垂体腺腫におけるp27Kip1の転写レベルでの制御にはMLLが関与していることが示唆された。

E. 結論

下垂体腺腫におけるp27Kip1発現制御にはMLLが関与している。さらに、散発性下垂体腺腫においては、このMLL-p27経路の異常があり、腫瘍発症の一因となっていることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Horiguchi K, Yamada M, Umezawa R, Satoh S, Hashimoto K, Tosaka M, Yamada S, Mori M. Somatostatin Receptor Subtypes mRNA in TSH-Secreting Pituitary Adenomas: A Case Showing a Dramatic Reduction in Tumor Size During Short Octreotide Treatment. *Endocrine J.* 54(3):371-8. 2007

2. 学会発表

1) Kazuhiko Horiguchi, Masanobu Yamada,

Tetsuro Satoh, Koshi Hashimoto, Masahiko Tosaka, Shozo Yamada, and Masatomo Mori. Somatostatin receptor subtypes mRNA in TSH-secreting pituitary adenomas: A case showing a dramatic reduction in tumor size during short octreotide treatment. 8th Asia and Oceania Thyroid Association Meeting(2007)

- 2) 堀口和彦、山田正信、梅沢良平、石塚高広、橋田哲、橋本貢士、佐藤哲郎、山田正三、登坂雅彦、森昌朋、TSH産生腺腫における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mRNAの発現、第34回日本神経内分泌学会(2007)
- 3) 堀口和彦、山田正信、橋本貢士、佐藤哲郎、登坂雅彦、山田正三、森昌朋、下垂体腺腫の新たな分子標的MLL-p27経路、第80回日本内分泌学会(2007)
- 4) 堀口和彦、山田正信、梅沢良平、中島康代、石塚高広、橋田哲、橋本貢士、佐藤哲郎、山田正三、登坂雅彦、森昌朋、下垂体腺腫に伴う中枢性甲状腺機能低下症の病態に関する検討、第50回日本甲状腺学会(2007)
- 5) 松本俊一、橋本貢士、石田恵美、堀口和彦、吉野聡、梅沢良平、中島康代、石塚高広、佐藤哲郎、山田正信、森昌朋、甲状腺ホルモン不応症(RTH)において、変異TR β はThyrotropin-releasing hormone(TRH)に拘わらずThyrotropin(TSH)不適切分泌を引き起こす、第50回日本甲状腺学会(2007)
- 6) 橋田哲、山田正信、橋本貢士、佐藤哲郎、森昌朋、異なる2つのRET遺伝子変異を認めた多発性内分泌腺腫症2型(MEN2A)の1家系、第50回日本甲状腺学会(2007)
- 7) 中島康代、山田正信、橋田哲、石塚高広、橋本貢士、佐藤哲郎、森昌朋、先端巨大症の合併症と長期予後—高血圧、糖尿病

を中心として一、第34回日本神経内分泌学会(2007)

- 8) 橋田哲、大井晋介、細井康博、橋本貢士、佐藤哲郎、山田正信、森昌朋、新規Men1変異を認めたpreclinical Cushing病を伴う多発性内分泌腺腫症1型の1例、第34回日本甲状腺学会(2007)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

間脳下垂体疾患データベースの登録状況

分担研究者 横山 徹 爾 国立保健医療科学院技術評価部
置村 康彦 神戸大学医学部保健学科
千原 和夫 神戸大学大学院医学系研究科内科学講座
糖尿病・代謝・内分泌内科学

研究要旨：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、解析方法について検討し、昨年度よりデータベースへの登録が開始された。2007年12月末現在で、先端巨大症45例、プロラクチノーマ24例、クッシング病9例、下垂体機能低下症54例、バソプレシン分泌低下症26例、計158例が登録された。これまでの入力状況を確認し、一部の基本集計を試みた。

A. 研究目的

間脳下垂体機能障害は、適切な管理が行われれば経過が長期に渡るものが多く、患者の生命予後のみならず健康余命やQOL等に影響する治療法・生活習慣・周囲の支援体制等の要因を明らかにすることは、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。

予後調査は長期間の追跡と多大な労力が必要であり、間脳下垂体疾患の長期予後については国内、国外ともにまだデータが乏しい。わが国では、間脳下垂体機能障害研究班において、末端肥大症および下垂体性巨人症、クッシング病、下垂体前葉機能低下症および前葉ホルモン単独欠損症、甲状腺ホルモン刺激ホルモン分泌異常症、プロラクチン分泌異常症、クッシング症候群、中枢性尿崩症等について後ろ向きの実態調査を行い¹⁾、予後に関連する要因についての検討を行った。しかし、多数の登録症例を、長期間に渡って定期的・継続的に高い追跡率で調査し、病態の変化や生命予後に及ぼす治療等の要因の影響を明らか

にした研究はない。前向きに追跡調査を行うことで、後ろ向き調査では得にくい病態等の経時的な変化を正確に把握することが可能になり、治療法や周囲の支援体制等に関する貴重な情報が得られることが期待される。

本研究班では、諸外国での追跡研究や過去にわが国で実施された難病に関する予後調査を参考にして、間脳下垂体機能障害の予後調査実施方法について検討を重ね^{2~6)}、昨年度（平成18年11月）より間脳下垂体疾患データベースの登録を開始した。この調査では予後関連要因を経時的に繰り返し調査して、生命予後・合併症・日常生活状況との関連を調べることから、統計解析手法がやや複雑になるため、解析計画についても検討してきた。本年度は、これまでの入力状況を確認し、一部の基本集計を試みた。

B. 研究方法

(1) 患者の登録方法

本調査は多施設共同の予後調査である。こ

れまでの参加施設は、間脳下垂体機能障害研究班の分担研究者・研究協力者の所属施設および関連施設が中心となっている。対象疾患は、①先端巨大症、②プロラクチノーマ、③クッシング病、④下垂体前葉機能低下症、⑤バソプレシン分泌低下症の5疾患で、登録する症例は、診断基準に該当する登録期間中の新規診断例と、過去5年間の診断例の全てである。

(2) 診断時調査

診断時点における調査内容は、疾患によって少しずつ異なるが、おおよそ以下の通りである。①患者背景：識別番号、年齢、性別、住所（市区町村）、診断年月、発症推定年月、②症候（有無と程度）、合併症（有無と発症日）、③検査：内分泌検査、画像検査所見など、④治療：外科療法、薬物療法（薬剤名、期間、量）、その他、⑤生活状況（国民生活基礎調査から選んだ5項目）。患者からインフォームド・コンセントを受けた後、識別番号で連結可能匿名化を図り、担当医がオンラインでデータベースに登録する。連結のための対応表は各医療機関に置いて厳重に管理する。

(3) 追跡調査

毎年の追跡調査の項目は、生存状況以外は診断時調査とはほぼ同じで、①症候（有無と程度）、合併症（有無と発症日）、②検査：内分泌検査、画像検査所見など、③治療：外科療法、薬物療法（薬剤名、期間、量）、その他、④生活状況（厚生労働省の国民生活基礎調査から選んだ5項目）、⑤生存状況（最終生存確認日または死亡日と死因）である。

(4) 解析計画

詳細は昨年度の報告書に整理した通りであり⁶⁾、以下の内容を予定している。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との関連分

析（生命予後、合併症、生活状況）、⑤治療法と症候等の変化との縦断解析。

(5) 倫理面での配慮

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針（文部科学省・厚生労働省）」⁷⁾に従って研究計画をたて、研究責任者の所属する機関での倫理審査委員会の承認をうけた。その後、各協力医療機関における倫理審査を経てデータベースへの登録が開始されている。研究結果に関しては統計解析の結果のみを示し、個々の研究対象者を特定できる情報が公表されることはない。

C. 研究結果

(1) 登録症例数

2007年12月末現在で、先端巨大症45例、プロラクチノーマ24例、クッシング病9例、下垂体機能低下症54例、バソプレシン分泌低下症26例、計158例が登録された（図1、表1）。症例の診断年は2002年以降が多いが、推定発症年は明確には分からないものも多い（図2）。

(2) 診断時症候・検査

診断時調査項目等がまだ未入力のものかなりあるため、早期に入力を完了するように依頼する必要があり、現段階では十分な集計ができないが、今回は先端巨大症を例として、一部の仮集計結果を示した（図3＝診断時の症候、表2＝診断時の検査、図4＝他のホルモン欠乏の割合）。

(3) 診断時の生活状況

国民生活基礎調査と同等の質問を用いて調べた生活状況を、性年齢調整を行ったうえで、一般集団（平成16年国民生活基礎調査）と比較した。疾患によってやや異なるが、「健康上の問題で日常生活に影響のある者の割合」（図5A～E）は、特に、「外出」、「仕事・家事・学業」、「運動」に関して一般集団よ

りも高い傾向があった。

D. 考察

間脳下垂体疾患の予後を前向きに長期間追跡する研究は、わが国では初めてである。追跡研究では、登録時情報を漏れなく収集することと、毎年追跡調査を確実に行うことが重要であり、研究の成否にかかってくる。現在までのところ、登録後間もない症例の症候・治療・検査所見の未入力はかなり残っており、今後、未入力を確認してリマインドのための連絡を徹底する必要があると思われる。

本研究では、患者の生活状況を一般集団と比較するために、厚生労働省の国民生活基礎調査と同等の5つの項目を調べている。これらを用いて、今後生命予後のみならず、健康余命やQOL等に関する評価が可能とな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への症例登録が進められている。今後、毎年追跡調査を確実にを行い、逐次、集計結果を報告する予定である。長期間の追跡により、治療法や周囲の支援体制等に関する貴重な情報が得られることが期待される。

【文献】

1. 間脳下垂体機能障害調査研究班. 間脳下垂体機能障害疫学調査報告. 厚生省特定疾患間脳下垂体機能障害調査研究班平成5年度総括研究事業報告書, 1994
2. 横山徹爾. 間脳下垂体機能障害の予後調査法に関する検討. 厚生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. pp.91-95.

3. 横山徹爾. 間脳下垂体機能障害の予後調査法に関する検討. 厚生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16年度総括・分担研究報告書. pp.85-89.
4. 横山徹爾. 間脳下垂体機能障害の長期予後追跡調査法に関する研究. 厚生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17年度総括・分担研究報告書. pp.72-74.
5. 置村康彦、他. 間脳下垂体データベースの構築. 厚生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17年度総括・分担研究報告書. pp.107-109.
6. 横山徹爾、他. 間脳下垂体機能障害の長期予後追跡調査の解析計画. 厚生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18年度総括・分担研究報告書. pp.80-83.
7. 文部科学省／厚生労働省. 疫学研究に関する倫理指針. 2002年6月17日(2004年12月28日全部改正).

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1. 間脳下垂体疾患データベース登録状況

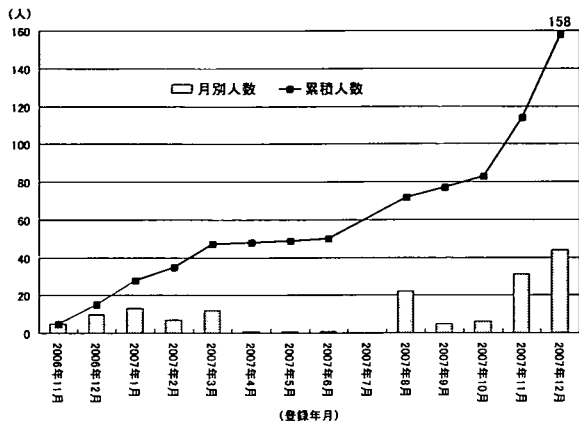


表1. 間脳下垂体疾患データベース疾患別登録数

疾患名	性別	計	年齢階級									
			0-	10-	20-	30-	40-	50-	60-	70-	80+	
1.先端巨大症	男	12	0	1	1	1	4	3	2	0	0	
	女	33	0	1	1	3	4	11	8	5	0	
	計	45	0	2	2	4	8	14	10	5	0	
2.プロラクチノーマ	男	3	0	0	1	1	0	1	0	0	0	
	女	21	0	2	11	5	2	1	0	0	0	
	計	24	0	2	12	6	2	2	0	0	0	
3.クッシング病	男	2	0	0	1	0	1	0	0	0	0	
	女	7	0	1	1	2	2	0	1	0	0	
	計	9	0	1	2	2	3	0	1	0	0	
4.下垂体機能低下症	男	22	1	2	1	3	1	2	7	4	1	
	女	32	1	5	4	4	5	3	7	3	0	
	計	54	2	7	5	7	6	5	14	7	1	
5.パロプレシン分泌低下症	男	11	0	2	2	2	1	1	1	1	1	
	女	15	0	0	3	4	2	1	3	1	1	
	計	26	0	2	5	6	3	2	4	2	2	
1~5計	男	50	1	5	6	7	7	7	10	5	2	
	女	108	1	9	20	18	15	16	19	9	1	
	計	158	2	14	26	25	22	23	29	14	3	

図2. 登録症例の診断年/推定発症年

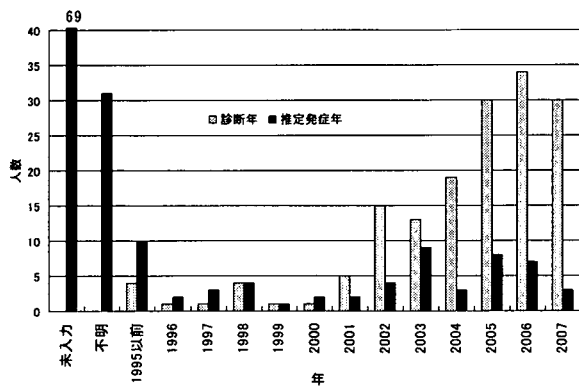


図3. 先端巨大症：【診断時の症候】

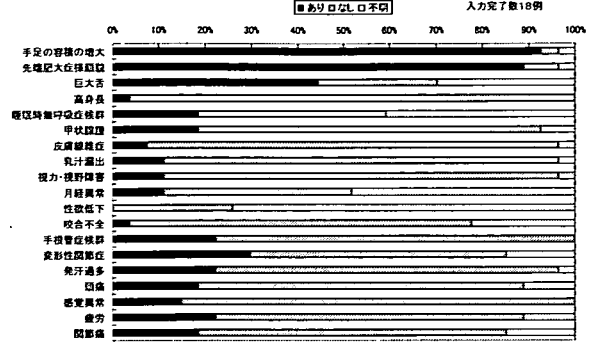


表2. 先端巨大症：診断時検査

	n	平均 ± SD	中央値 (25%点 , 75%点)	最小値	最大値
IGF-1 (ng/ml)	23	704.2 ± 355.4	600 (472 , 902)	198	1580
GH基礎値 (ng/ml)	23	19.7 ± 22.0	8.3 (5.9 , 31.0)	0.7	84.1
75g OGTT-GH抑制-GH濃度 (ng/ml)	18	13.9 ± 19.6	6.1 (3.6 , 9.8)	0.7	78.0
耐糖能検査-空腹時血糖	19	105.7 ± 32.8	95.0 (88.0 , 119.0)	74.0	219.0
耐糖能検査-HbA1c	16	5.6 ± 1.4	5.3 (5.0 , 6.0)	4.5	10.4
耐糖能検査-インスリン	15	10.3 ± 7.8	10.0 (4.7 , 12.0)	0.0	32.7
耐糖能検査-HOMA-R	15	2.8 ± 2.2	2.2 (1.0 , 3.8)	0.0	7.6

IGF-1年齢・性別基準範囲内の割合=13.0%

図4. 先端巨大症：他のホルモン欠乏の割合

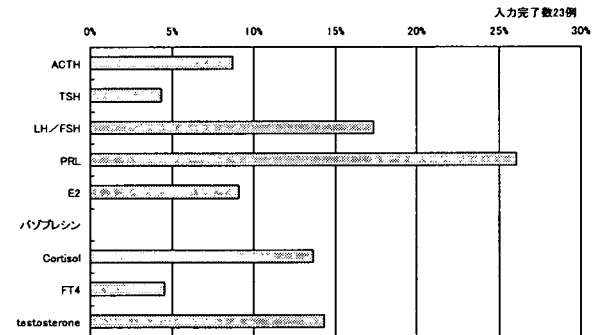
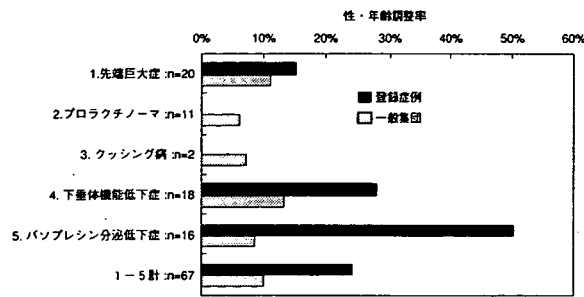


図5 A. 健康上の問題で日常生活に影響のある者の割合【総数】



一般集団は、平成16年国民生活基礎調査による。率は、一般集団の性・年齢調整構成を、症例のものに調整した。

図5 B. 健康上の問題で日常生活に影響のある者の割合【日常生活動作】

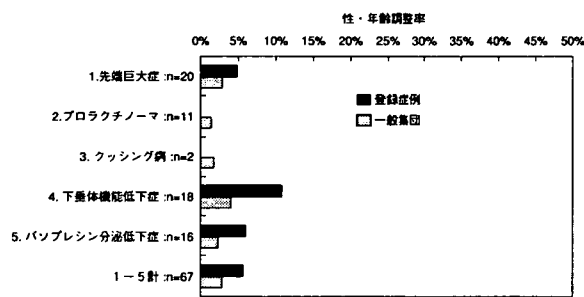


図5 C. 健康上の問題で日常生活に影響のある者の割合【外出】

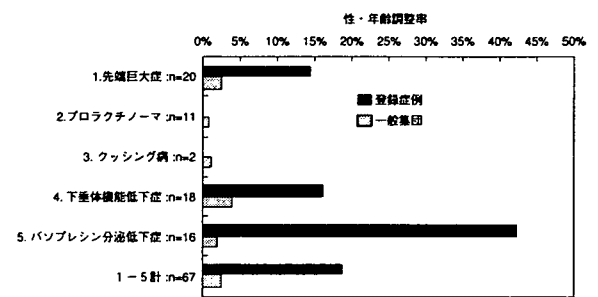


図5 D. 健康上の問題で日常生活に影響のある者の割合【仕事・家事・学業】

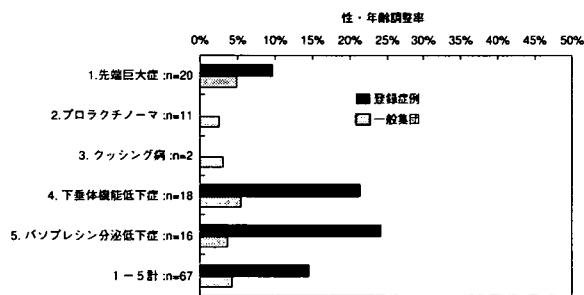
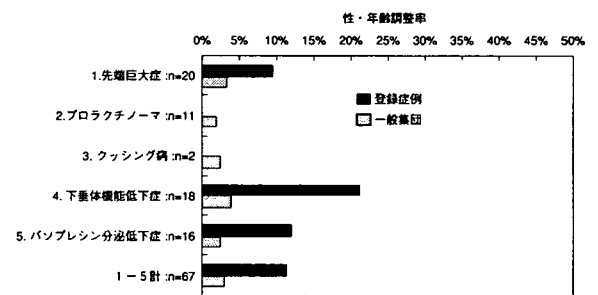


図5 E. 健康上の問題で日常生活に影響のある者の割合【運動】



下垂体部腫瘍手術前後におけるITTあるいはアルギニンテストとGHRPテストとの対比

分担研究者 有田和徳 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)

研究協力者 富永篤 広島大学医歯薬学総合研究科脳神経外科学
迫口哲彦 広島大学医歯薬学総合研究科脳神経外科学
湯之上俊二 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)

藤尾信吾 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)

研究要旨：従来のGH分泌能判定法であるインシュリン低血糖負荷試験（以下ITT）あるいはアルギニン負荷テストとGHRP負荷試験を比較検討した。下垂体部腫瘍68例を対象に治療前後で延べ113回、従来法GH負荷試験（ITTあるいはアルギニンテスト）とGHRPテストを行い同時にIGF-Iを測定した。従来法の結果により重症GHD（以下sGHD）、中等症GHD（以下moderate GHD）、GH分泌予備能低下（以下subnormal）、正常に分類しGHRPテストの結果と比較した。従来法とGHRPテストの相関は比較的良好であったが従来法とGHRPテストで異なる結果を示した症例が11例存在した。従来法でsGHDと診断される症例におけるGHRPテストの感度は90.9%、特異度は88.4%であった。GH分泌正常例と非正常例のGHRPテストにおけるカットオフポイントは感度、特異度曲線において18.3 ng/mlであった。GHRPテストは安全性、再現性に優れ、sGHDの診断には有用であるが従来法との結果の解離もあり軽症GHDや正常例のカットオフポイントを定めるには更なる症例の蓄積が必要である。

A. 研究目的

GHRPは強力なGH分泌刺激を有し、重症GH欠損症（以下GHD）の判定に用いられる。その刺激部位は視床下部と下垂体双方であるとされる。今回我々は従来のGH分泌能判定法であるインシュリン低血糖負荷試験（以下ITT）あるいはアルギニン負荷テスト（以下アルギニンテスト）とGHRP負荷試験（以下GHRPテスト）の比較を行い、GHRPテストによる重症GHD診断能の検証を行い、軽症GHDおよび正常例におけるGHRPテストの基準値について検討した。

B. 研究方法

【対象】

対象は2006年5月から2007年12月までの間に鹿児島大学附属病院及び広島大学附属病院にて治療を行った下垂体部腫瘍68例である。その内訳は下垂体腺腫53例（非機能性下垂体腺腫32例、PRL産生性下垂体腺腫17例、ACTH産生性下垂体腺腫4例）、ラトケ嚢胞8例、鞍結節部髄膜腫2例、頭蓋咽頭腫5例であった。男女比は男性23例、女性44例。年齢は14歳から84歳、 51 ± 1.7 歳（mean \pm SE）。