

200834023A

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20年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大 磯 ュタカ

平成21年3月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

間脳下垂体機能障害に関する調査研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大 磯 ュタカ

平成21年3月

目 次

I. 序 文	1
II. 班員名簿	2
III. 総括研究報告書	5
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 主任研究者 大磯ユタカ	
IV. 分担計画報告書	
1. 視床下部障害にもとづく高ナトリウム(Na)血症の病態解析	17
自治医科大学附属さいたま医療センター内分泌代謝科 石川 三衛	
2. SIADHの標準治療法の設定に向けた検討 第2報 一橋中心髄鞘崩壊(CPM)回避におけるミノサイクリンの有効性	22
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	
3. 家族性中枢性尿崩症における食事療法の確立に関する研究	27
名古屋大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌内科 有馬 寛	
4. クッシング病モデルマウスにおけるインスリン抵抗性発症機序の解析	33
高知大学医学部 内分泌代謝・腎臓内科 岩崎 泰正	
5. レチノイン酸受容体 α がACTH分泌・POMC遺伝子発現に及ぼす 影響に関する検討	38
東北大学大学院医学系研究科 先端再生生命科学 菅原 明	

6. Crooke cell adenomaと診断されたCushing病患者の臨床病理学的検討	43
日本医科大学脳神経外科 寺本 明	
7. Cushing病関連診断基準の再評価について	47
弘前大学内分泌代謝感染症内科 須田 俊宏	
8. オクトレオチドの下垂体腫瘍menin/MLL-p27Kip1 mRNA発現への影響	52
群馬大学大学院病態制御内科 森 昌朋	
9. 下垂体細胞・腺腫におけるWnt・Notchシグナルの意義について	56
東海大学基盤診療学系病理診断学 長村 義之	
10. ACTH産生下垂体腫瘍と非機能性腫瘍における細胞周期関連遺伝子の 発現プロファイルの解析	61
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	
11. ACTH産生およびプロラクチン産生下垂体異型腺腫の2例： 病態に関する考察	65
(独)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	
12. 成長ホルモン産生腺腫におけるサイトケラチン染色パターンと 臨床・病理像	69
鹿児島大学医歯学総合研究科脳神経外科 有田 和徳	
13. 下垂体機能障害における代謝異常・メタボリックシンドロームの発症機序 —成長ホルモンの糖質コルチコイド代謝に対する作用を中心として—	74
浜松医科大学小児科 大関 武彦	
14. GH測定の標準化が先端巨大症の治癒基準に及ぼす影響 —41例における検討—	80
東京女子医科大学第二内科 肥塚 直美	

15. 当科における先端巨大症に対するオクトレオチドLARの治療成績 ……	83
北海道大学病院検査・輸血部 清水 力	
16. 先端巨大症における内頸動脈IMTと脈派伝導速度PWVによる 動脈硬化度評価 ……	89
九州大学大学院医学研究院病態制御内科学 柳瀬 敏彦	
17. JHAQを使用した成人成長ホルモン分泌不全症QOL調査 ……	93
神戸大学大学院保健学研究科病態解析領域 医学研究科糖尿病・代謝・内分泌内科 置村 康彦	
18. 国内外での高プロラクチン血症を来す薬剤の比較検討 ……	99
大阪大学大学院医学系研究科臨床検査診断学 巽 圭太	
19. プロラクチン産生下垂体腺腫からのホルモン過剰分泌の可視化 ……	103
東京大学腎臓内分泌内科 高野 幸路	
20. 多嚢胞性卵巣症候群の診断における血中LHとLH/FSH比の 基準値の検討 ……	108
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 産科婦人科学分野 苛原 稔	
21. 間脳下垂体疾患データベースの基本集計 ……	113
国立保健医療科学院人材育成部 横山 徹爾	

V. 間脳下垂体機能異常症の診断と治療の手引き(平成20年度改訂分)

バゾプレシン分泌低下症(中枢性尿崩症)の診断と治療の手引き ……	121
バゾプレシン分泌過剰症(SIADH)の診断と治療の手引き ……	124
成人成長ホルモン分泌不全症の診断と治療の手引き ……	126
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 ……	130

VI. 会議記録

平成20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 145

I. 序 文

「間脳下垂体機能障害に関する調査研究」は厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服事業であり、1973年度にその研究が開始されて以来、継続した積極的な研究活動が進められてきました。この事業の研究を推進するグループは慣例的に研究班と呼ばれ、その主任研究者は班長とも呼ばれていますが、今年度から従来の千原和夫班長に代わり私が新たな班を組織し間脳下垂体疾患に対す網羅的な研究を進めることになりました。

間脳下垂体機能障害とは視床下部と下垂体に発生する種々の病態を包含しますが、その中で最も代表的な病態はこの場所で産生される各種ホルモンの分泌異常に基づく疾患群であり、具体的には現在厚生労働省が難治性疾患克服研究事業の対象にしている123疾患のうち、プロラクチン分泌異常症、ゴナドトロピン分泌異常症、ADH分泌異常症の3病態が当班の研究対象疾患に該当していました。しかし、視床下部・下垂体機能異常としては、これら3病態のみではなく、これらと合併しあるいは何らかの関連を持って発症する可能性がある多数の重要な疾患が存在しており、従来から下垂体機能低下症、成長ホルモン分泌不全性低身長症、Cushing病などの視床下部・下垂体疾患についても幅広く研究してきました。これを裏打ちするように、厚生労働省は2008年6月の特定疾患対策懇談会において、難治性疾患克服研究事業の対象疾患に当班の関係する「先端巨大症」、「Cushing病」、「下垂体機能低下症」をはじめ新たに各疾患領域で合計7疾患を来年度から追加することを決定したため、当班の正式な研究対象疾患は6病態を含むことになりあらためてほとんど全ての視床下部・下垂体機能異常を対象にした取り組みを展開することになりました。

視床下部・下垂体疾患は長期的経過をとることが多いだけに、その発症抑止と早期診断、そしてQOLの高い効率的治療が強く求められていることは全ての班員があまねく認識するところであり、従来の当班の研究業績の蓄積に新たな研究成果を積み上げて行くことができるよう全力をあげ努力していく所存であります。

2009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 大磯ユタカ

Ⅱ. 班員名簿

	氏名	所属	職名
主任研究者	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	教授
分担研究者	有田 和徳	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態制御外科学	教授
	有馬 寛	名古屋大学医学部附属病院糖尿病・内分泌内科	講師
	石川 三衛	自治医科大学附属大宮医療センター内分泌代謝科	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
	岩崎 泰正	高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科学	講師
	大関 武彦	浜松医科大学医学部小児科学	教授
	置村 康彦	神戸大学医学部内分泌代謝学	准教授
	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
	清水 力	北海道大学附属病院内分泌内科学	講師
	菅原 明	東北大学大学院医学系研究科先端再生生命科学	教授
	須田 俊宏	弘前大学大学院医学研究科内分泌代謝内科学講座	教授
	高野 幸路	東京大学大学院医学系研究科腎臓内分泌内科学	特任講師
	巽 圭太	大阪大学大学院医学系研究科内分泌内科学	講師
	寺本 明	日本医科大学大学院医学研究科神経病態解析学分野	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	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
	柳瀬 敏彦	九州大学大学院医学研究院病態制御内科	准教授
	横山 徹爾	国立保健医療科学院人材育成部	部長
研究協力者	千原 和夫	兵庫県立加古川病院	院長
事務局	古川 涼子	名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学 〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65 TEL: 052-744-2181 / FAX: 052-744-2212	秘書

Ⅲ. 總括研究報告書

間脳下垂体機能障害に関する調査研究

主任研究者 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

研究要旨: 間脳下垂体機能障害調査研究班に属する21名の研究者により、抗利尿ホルモン(バゾプレシン)、プロラクチン、ゴナドトロピン、成長ホルモン(GH)、ACTHなど各種下垂体ホルモンの分泌異常と下垂体腺腫の分子発生メカニズムの解析をはじめ、間脳下垂体疾患のQOL調査、診断と治療の手引きの改訂を行った。

抗利尿ホルモン領域では、家族性中枢性尿崩症モデル動物でナトリウム負荷により、多尿の進行を認め、中枢性尿崩症進展予防に食塩コントロールが有用であることが示された。またSIADHの治療随伴性脱髄の発症・進展予防の標準治療法の検討および視床下部障害に基づく高ナトリウム血症の発症機構の解析を行い、これらの病態の新規治療開発への端緒となる成果を得た。さらに中枢性尿崩症とSIADHの診断と治療の手引きの改訂を行った。

ACTHの領域では、Pre/sub-clinical Cushing病の唾液中コルチゾール測定をはじめとした診断法を用いた診断基準の策定を準備し、またCrooke cell adenomaの臨床病理学的検討によりMIB-index、p53、ソマトスタチン受容体サブタイプなどの指標を組み合わせることにより治療抵抗性の腺腫に対する新しい治療導入へ展開する可能性を明らかとし、さらにCushing病患者の臨床病理学的検討に基づく治療法選択上の有用性の証明、Cushing病モデル動物におけるインスリン抵抗性発症機構の解明、レチノイン酸受容体がACTH分泌に与える役割の検討などを進め、生理的、病態生理的両面からその理解を深めた。

下垂体腺腫の発症・増殖などにかかわる分子メカニズムの検討では、Wnt・Notchシグナル伝達やp16^{INK4a}系が特異的な制御に関与すること、オクトレオチドがMLL-p27^{Kip1}経路を活性化し作用することなどを示し、今後腫瘍化抑制を念頭にした治療法開発の上で有用な成果となった。また下垂体異型腺腫で検討を行い、ACTH産生の1例ではp53遺伝子のミスセンス変異とそのヘテロ接合性の消失を世界に先駆け証明した。

GHの領域では、GH産生下垂体腺腫のサイトケラチン染色性によりオクトレオチドに対する反応性などが予測できる可能を示した。また、GH欠乏がメタボリック症候群を発症させる機序の詳細を明らかにした。さらにオクトレオチドLARの治療成績、GH測定の標準化が適正診断に与える影響の検討、先端巨大症における内頸動脈IMTなどを用いた動脈硬化進展の把握とその因子解析、GH欠乏患者におけるGH治療前後のQOL調査などを施行し、診断・治療指針の基礎を形作る成果を得た。一方、今年度もGH関連疾患の診断と治療の手引きの改訂を行った。

プロラクチンの領域では、下垂体細胞からの顆粒分泌を可視化し種々の病態解析に今後広く応用できることを明らかにした。また、高プロラクチン血症を惹起する各種

薬剤の比較検討を行い、今後の臨床使用上での留意点を示した。

ゴナドトロピンの領域では、その異常を呈する多嚢胞性卵巣症候群診断におけるLH、LH/FSH比の基準値設定を行い診断の精度を高めることが出来た。

間脳下垂体疾患の長期予後調査としてはデータベースの構築とそれを利用した生命予後、健康余命などの評価を目的として、今年度までの基本集計を行った。

分担研究者氏名

有田 和徳 鹿児島大学大学院医歯学総合
研究科脳神経病態制御外科学
教授

有馬 寛 名古屋大学医学部附属病院
糖尿病・内分泌内科 講師

石川 三衛 自治医科大学附属大宮医療セ
ンター内分泌代謝科 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

岩崎 泰正 高知大学医学部内分泌代謝・
腎臓内科学 講師

大関 武彦 浜松医科大学医学部小児科学
教授

置村 康彦 神戸大学医学部内分泌代謝学
准教授

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

清水 力 北海道大学附属病院内分泌内
科学 講師

菅原 明 東北大学大学院医学系研究科
先端再生生命科学 教授

須田 俊宏 弘前大学大学院医学研究科内
分泌代謝内科学講座 教授

高野 幸路 東京大学大学院医学系研究科
腎臓内分泌内科学 特任講師

巽 圭太 大阪大学大学院医学系研究科
内分泌内科学 講師

寺本 明 日本医科大学大学院医学研究
科神経病態解析学分野 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
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

柳瀬 敏彦 九州大学大学院医学研究院病
態制御内科 准教授

横山 徹爾 国立保健医療科学院人材育成
部 部長

A. 研究目的

脳下垂体機能障害の特徴は、a) ホルモン分泌異常に加え、エネルギー調節など生体の統御中枢である視床下部の障害を引き起こすため、全身的にきわめて多様な病態を形成する点、b) 多くの場合、発生した疾患が何十年という経過を示し、短期的に第一義的病因に対する治療のみで対応することは臨床的に不可能であり、合併症の発生抑止あるいはQOL維持など長期にわたる視点から治療を行うことが重要となる。間脳下垂体機能障害調査研究班の対象病態としては、抗利尿ホルモン(バゾプレシン)分泌異常症、プロラクチン分泌異常症、ゴナドトロピン分泌異常症

があるが、これに加え来年度からは先端巨大症、クッシング病、下垂体機能低下症が追加されることが決まっている。さらに以上の疾患と密接な関係を持つ下垂体腺腫についても今回の重要な研究対象とし、各々の病態生理、発症・増悪機転、診断、治療の各面から検討を進め、また間脳下垂体疾患の生命予後・健康余命・QOL調査目的でデータベースの構築・維持、診断・治療法の有効性評価を行い、研究全体を通し患者の早期発見、有効な治療、質的に高レベルの医療の実践をわが国において有効にそして安全に遂行するための指針を策定することを目的とした。代表的な研究を以下に示す。

1) 抗利尿ホルモン分泌異常症ではSIADHを対象とした世界で初めてとなる標準治療法の設定、2) プロラクチン分泌異常症では高PRL血症の病態解明、3) ゴナドトロピン分泌異常症では新規測定法に対応した性腺機能異常症の診断基準の再設定、4) 下垂体腺腫の発生、増殖機構の検討では下垂体腺腫の細胞増殖に関する諸因子の役割の検討、5) 成長ホルモン分泌異常症ではわが国独自の先端巨大症の診断と治療アルゴリズムの策定に向けた検討、6) ACTH分泌異常症ではプレ/サブクッシング病の診断精度の高い診断基準の作成、7) 間脳下垂体疾患の予後疫学調査ではQOL質問紙(JAHQ)による下垂体機能低下症治療の適正性判定などである。

B. 研究方法

i) ADH(バゾプレシン)分泌異常の領域では以下の研究を行った。1) 視床下部障害にもとづく高ナトリウム血症の病態解析、2) SIADHの標準治療法の設定に向けた検討：橋中心髄鞘崩壊(CPM)回避におけるミノサイクリンの有効性、3) 家

族性中枢性尿崩症における食事療法の確立に関する研究。

- ii) ACTH分泌異常の領域では以下の研究を進めた。4) クッシング病モデルマウスにおけるインスリン抵抗性発症機序の解析、5) レチノイン酸受容体 α がACTH分泌・POMC遺伝子発現に及ぼす影響に関する検討、6) Crooke cell adenomaと診断されたCushing病患者の臨床病理学的検討、7) Cushing病関連診断基準の再評価について。
- iii) 下垂体腺腫の発生、増殖機構等の検討に関しては以下の研究を行った。8) オクトレオチドの下垂体腫瘍menin/MLL-p27^{Kip1}mRNA発現への影響、9) 下垂体細胞・腺腫におけるWnt・Notchシグナルの意義について、10) ACTH産生下垂体腫瘍と非機能性腫瘍における細胞周期関連遺伝子の発現プロファイルの解析、11) ACTH産生およびプロラクチン産生下垂体異型腺腫の2例：病態に関する考察。
- iv) 成長ホルモン分泌異常の領域に関しては以下の研究を進めた。12) 成長ホルモン産生腺腫におけるサイトケラチン染色パターンと臨床・病理像、13) 下垂体機能障害における代謝異常・メタボリックシンドロームの発症機序：成長ホルモンの糖質コルチコイド代謝に対する作用を中心として、14) GH測定の標準化が先端巨大症の治療基準に及ぼす影響：41例における検討、15) 先端巨大症に対するオクトレオチドLARの治療成績、16) 先端巨大症における内頸動脈IMTと脈派伝導速度PWVによる動脈硬化度評価、17) JHAQを使用した成人成長ホルモン分泌不全症QOL調査。
- v) PRL分泌異常症については以下の研究を

行った。18)国内外での高プロラクチン血症を来す薬剤の比較検討、19)プロラクチン産生下垂体腺腫からのホルモン過剰分泌の可視化。

- vi)ゴナドトロピン分泌異常の領域については、20)多嚢胞性卵巣症候群の診断における血中LHとLH/FSH比の基準値の検討を行った。
- vii)下垂体疾患の疫学調査については、21)間脳下垂体疾患データベースの基本集計を進めた。

C. 研究成果およびD考察

1)視床下部障害にもとづく高ナトリウム(Na)血症の病態解析

著しい高Na血症を呈する視床下部障害8例について水代謝異常の特徴を解析した。対象8例の年齢は20~67歳、男性4例、女性4例。著しい脱水例5例と非脱水例3例の2群に分けて対比検討した。血清Naは156.4vs150.3mmol/l、尿浸透圧は246.8vs738.7mmol/Kgと非脱水群で尿濃縮力が保持されていた。随時血清Naとヘマトクリットの間、脱水群では2例で正相関を認めたが、非脱水群では両者に有意の関係がみられなかった。脱水群ではバゾプレシン(AVP)分泌が無反応で中枢性尿崩症に加え著しい渴障害を認めたが、非脱水群ではAVP分泌、渴中枢機能が部分的に残存し、sporadicなAVP分泌を示した。視床下部障害による高Na血症には、AVP分泌と渴中枢の障害程度により体液喪失と体液保持型の2病態を呈することが示唆される。

2)SIADHの標準治療法の設定に向けた検討 第2報：橋中心髄鞘崩壊(CPM)回避におけるミノサイクリンの有効性

SIADHの治療法の確立に向け、橋中心髄

鞘崩壊(CPM)を回避するより普遍的に臨床応用可能な治療法開発を目的とした検討をすすめ、急速補正早期に脱髄病変部に集積する活性化ミクログリア(MG)が脱髄に関与している可能性を見出し、MGの活性化を阻害することが知られているミノサイクリン(MINO)の効果を検討した。また従来報告したデキサメサゾン(DEX)の効果と比較した。SIADHラットモデルにおいて血清Naを急速補正する際にMINOを補正時、12時間後、24時間後の3回投与することで脱髄に伴う神経症状を著明に改善させた。MINOはMGの炎症性サイトカイン発現、活性化を阻害し、脱髄病変を著明に軽減させた。MINOはDEXより有効で、副作用も少ないと考えられたため、低Na血症の補正開始時、12時間後、24時間後にMINOをそれぞれ100mg静脈投与するプロトコルで臨床研究を開始した。

3)家族性中枢性尿崩症における食事療法の確立に関する研究

常染色体優性遺伝性疾患である家族性中枢性尿崩症においては生後数ヶ月から数年で緩徐進行性に尿崩症を発症するが、同じ変異を有する個体間においても発症時期に差異があることより環境因子が尿崩症の発症に影響を与えている可能性が考えられる。家族性中枢性尿崩症における多尿の発症および進展に塩分摂取量が影響を与えるか否かを明らかにする目的で以下の実験を行った。実験はバゾプレシン(AVP)のキャリアプロテインであるニューロフィジンの点突然変異の一つであるCys67stopを導入したノックインマウス(ヘテロ変異体)および野生型マウスの雄を用いて行った。生後1ヶ月齢からそれぞれ0.2%Na食または2%Na食を投与し、体重、摂食量、尿量、飲水量、尿中Na排泄量、尿中AVP排

泄量を7ヶ月齢まで測定した。野生型、ヘテロ変異体マウスともに0.2%Na食群と2%Na食群の間で摂食量および体重に有意な差を認めなかった。尿中Na排泄量は飼料のNa含有量を反映して野生型、ヘテロ変異体マウスともに2%Na食群において0.2%Na食群に比して有意に増加し、野生型マウスの2%Na食群で尿中AVP排泄量が0.2%Na食群に比して有意に増加していた。野生型マウスの2%Na食群は2ヶ月齢の時点で0.2%Na食群に比して有意に飲水量、尿量の増加を認めたが、以後経時的な増加を認めなかった。一方、ヘテロ変異体マウスの2%Na食群では2ヶ月齢の時点で野生型マウスと同様に飲水量、尿量の増加を認め、以後7ヶ月齢まで経時的な増加を認めた。今回の検討より、家族性中枢性尿崩症において塩分過剰摂取はAVP分泌刺激を介し尿崩症の進行を早める可能性が示唆された。

4) クッシング病モデルマウスにおけるインスリン抵抗性発症機序の解析

グルココルチコイド(GC)過剰によるインスリン抵抗性の発症機序は明らかでない。今回はクッシング病モデルであるCorticotropin-releasing hormone過剰発現マウス(CRH-Tg)を用いて、アディポネクチン(AdN)がGC過剰によるインスリン抵抗性の発症に関与するか否かを検討した。CRH-Tgは体脂肪量増加、血中GC濃度の著明高値を呈し、ipGTTにて耐糖能障害、ITTにてインスリン抵抗性を示した。また野生型マウス(WT)と比較して脂肪組織におけるAdN発現量は減少したが、逆に血中AdN濃度は有意に増加していた。この増加は副腎摘除により消失した(AdN: WT 0.93 ± 0.04 , CRH-Tg 1.57 ± 0.20 , CRH-Tg/ADX 0.85 ± 0.04 mg/dl)。これらの結果より、GC過剰により惹起される

インスリン抵抗性にAdNの関与は少ない可能性が示唆された。

5) レチノイン酸受容体 α がACTH分泌・POMC遺伝子発現に及ぼす影響に関する検討

ビタミンA誘導体であるレチノイン酸(RA)は、クッシング病実験モデルおよびイヌのクッシング病に対してACTH分泌を抑制し治療的効果を持つ事が報告された。しかし、その受容体であるRARのACTH分泌およびPOMC遺伝子発現における作用は不明であったことから、以下の検討を行った。細胞はマウス下垂体由来ACTH産生細胞であるAtT20細胞を使用した。POMC mRNA発現はリアルタイムPCR法で解析した。培地中のACTH濃度はELISA法で測定した。ルシフェラーゼ遺伝子の上流にラットPOMCプロモーターを組み込んだレポータープラスミドを用いて、POMC遺伝子の転写活性を測定した。合成RAR α/β アゴニストであるAm80はAtT20細胞のPOMC mRNA発現を増加させ、AtT20細胞から培地へのACTH分泌を増加させた。Am80は単独でPOMCプロモーター活性を増加させたが、Am80とCRHの同時添加により相乗的なPOMCプロモーター活性の増加が認められた。RARアンタゴニストLE540およびRAR α siRNAはAm80によるPOMCプロモーター活性増加作用を完全に抑制したが、RAR α 過剰発現はそれを増強した。POMCプロモーター変異体を解析したところ、転写開始点より-376/-370塩基および-204/-199塩基がAm80によるPOMC遺伝子転写活性増加作用の責任領域であった。Am80はAtT20細胞においてRAR α を介してPOMC遺伝子発現を増加させ、ACTH分泌を増加させた。RAR α はACTH分泌およびPOMC遺伝子発現を正に調節す

る因子であると考えられた。

6) Crooke cell adenomaと診断されたCushing病患者の臨床病理学的検討

Crooke cell adenomaと診断された7症例の臨床病理学的検討を行った。症例は当院にて手術を施行した7症例(M:1,F:6)。年齢は28～73歳(平均51.1歳)microadenomaが1症例、それ以外はmacroadenomaで浸潤性を認めKnosp4の症例であった。免疫染色の結果では、すべての症例でACTHはびまん性に陽性であり、1症例でGHも陽性であった。MIB-1indexは0.1～2.0%であり、p53が陽性症例は認めず。SSTR2Aと5の検討を行った結果、subtype2Aでは5症例陽性であったがsubtype5は1症例のみで陽性。また、DNA修復酵素:0-6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT)の免疫染色による検討を行った結果2症例で陽性であった。今回の検討にてソマトスタチンアナログの効果やTemozolomideの効果期待できる症例もあり、治療抵抗性の腺腫に対する新しい治療の可能性が示唆された。

7) Cushing病関連診断基準の再評価について

Pre(sub)-clinical Cushing病(sub-CD)の診断について、以下の点について再評価を行った。(1)Pre/subの名称統一、(2)深夜血中コルチゾール値、(3)深夜唾液中コルチゾール値、(4)低濃度域血中コルチゾールの測定値標準化について。(1)健常人に対し、深夜コルチゾール測定を二回行ったところ、その再現性は不良で、多くの例で現行のsub-CDのスクリーニング・カットオフ値(2.5mg/dl)を超えていた。(2)深夜唾液中コルチゾール値は同血中コルチゾール値と良好な相関関係を示した。(3)これらの測定の組み合わせによりクッシング症候群の診断精度が高まることが示唆された。(4)コルチゾール測定値の標

準化については、関係施設の協力のもと現在進行中であり、今後、市販のnon-RIキットでも低濃度域コルチゾールを正確に測定することが可能になる。

8) オクトレオチドの下垂体腫瘍menin/MLL-p27Kip1 mRNA発現への影響

散発性下垂体腫瘍におけるMLL/menin-p27Kip1 mRNA発現を検討し、さらに、これらの発現とオクトレオチド治療との関係を明らかにすることを目的とした。正常下垂体を含む各種下垂体腺腫53症例のMLL、Men1、p27、p18のmRNA量を測定し臨床像や薬物治療の有無などと比較検討した。また、in vitroにおいてオクトレオチドの上記mRNA発現への影響のメカニズムを検討した。その結果、GH産生腺腫においてオクトレオチド未治療群ではMLL、p27Kip1発現量が正常と比較して低下していたが、オクトレオチド治療群ではこれらの遺伝子発現は回復していた。また、プロラクチノーマにおいてプロモクリプチンはこれらの遺伝子発現に影響を与えなかった。下垂体腺腫細胞株GH4C1細胞において、オクトレオチドはMLLの発現を増加させ下流にあるp27Kip1発現を増加させた。以上より、オクトレオチドはMLL-p27Kip1経路を活性化することが明らかとなった。

9) 下垂体細胞・腺腫におけるWnt・Notchシグナルの意義について

ヒト正常下垂体、下垂体腺腫においてNOTCHシグナル伝達経路(受容体NOTCH1, NOTCH3, リガンドJagged1, Jagged2)およびWNTシグナル伝達経路(WNT4, FZD6)の発現を解析した。正常下垂体でNOTCH1はGH細胞の、NOTCH3はACTH細胞の細胞質局在が確認されたが、GH産生腺腫ではNOTCH3が核内に検出され活性化型として

機能することが示唆された。ACTH産生腺腫においてはNOTCH1, NOTCH3共に各局在を示した。NOTCH受容体の活性化パターンおよびリガンド発現は各腺腫タイプで異なっていた。

一方、WNT4, FZD6は、下垂体腺腫においてGH産生腺腫、PRL産生腺腫、TSH産生腺腫に高頻度の発現が確認され、腫瘍化に伴いPIT1細胞系譜にcommitした細胞の生存・機能維持に関与することが示唆された。NOTCH, WNTシグナル伝達経路は、ヒト下垂体において細胞の分化、増殖、維持に関与していると考えられる。

10) ACTH産生下垂体腫瘍と非機能性腫瘍における細胞周期関連遺伝子の発現プロフィールの解析

Corticotroph adenomaはCushing徴候が診断契機となりミクログアドノーマが多い、一方で非機能性下垂体腺腫(NFA)は局所圧排症状が発見契機となるため、一般的に機能性腫瘍より腫瘍径が大きい。近年、RB pathwayの異常に伴う下垂体腫瘍化の報告はあるが、腫瘍径との関連の報告は少なく、今回はACTH産生下垂体腺腫(Cushing病: CD、silent corticotroph adenoma: SCA)とNFAの間で細胞周期関連遺伝子発現の差異を検討した。CD(10例)、SCA(11例)、NFA(22例)の腫瘍組織における細胞周期関連遺伝子(p16INK4a, cyclins (cyclin D1, E1, A2, B1), 転写因子(E2F1, ETS1, ETS2), BUB1, BUBR1)の発現を定量的RT-PCR法で解析した。SCA, NFAに比べCDでは有意にp16INK4aの発現が亢進し、cyclin D1の発現低下を認めた。またNFAに比べCDではcyclin E1, cyclin B1の発現低下を認めた。CDではp16INK4aの発現亢進がRBのリン酸化を抑制し細胞周期を停止させることで腫瘍

径増大の抑制に関与している可能性が示唆された。

11) ACTH産生およびプロラクチン産生下垂体異型腺腫の2例: 病態に関する考察

WHO新分類(2004)において下垂体異型腺腫(atypical adenoma)は、高浸潤性、MIB-1係数3%以上、p53免疫染色陽性を示し、転移があれば下垂体癌と診断される。今回、2例の異型腺腫を経験し、その病態を解析した。症例1, 63歳女性。骨折、高血圧、低K血症、クッシング徴候があり、蝶形骨洞へ浸潤する大型腺腫を認めた。病理像で核分裂像、ACTH免疫染色陽性、MIB-1係数8%、p53免疫染色は約10%の細胞に陽性であった。クッシング病は術後早期に再燃した。腫瘍におけるp53遺伝子にL145Rのミスセンス変異を同定し、ヘテロ接合体喪失を世界初で証明した。症例2, 58歳女性。複視で発症し5年間のドパミン作動薬治療に抵抗性を示し、2回目の手術後、カベルゴリン増量によりPRL分泌促進・急速な腫瘍増大をきたした。減量およびサイバーナイフ照射後、PRL値の低下と腫瘍縮小を認めた。病理像で細胞異型、PRL免疫染色陽性、MIB-1係数は5-10%であった。細胞内情報伝達のスイッチング機構の異常が示唆される。

12) 成長ホルモン産生腺腫におけるサイトケラチン染色パターンと臨床・病理像

成長ホルモン産生腺腫(GHoma)におけるサイトケラチン染色パターンと臨床・病理像との相関を検討した。GHoma 141例。CAM5.2抗体を用いたサイトケラチン染色パターンは、sparsely granulated adenomaに相当するdot pattern (DP) 30例(21.3%)、densely granulated adenomaに相当するperinuclear pattern (PP) 83例(58.9%)、両者が混在するmixed pattern (MP) 28例(19.9%)

であった。腫瘍径はD型が有意に大きかった。TRHやLHRHテストに対する奇異反応はD型で有意に少なかった。E-cadherinに対する細胞膜の染色性はD型で有意に弱かった。その他、P型に比較してD型ではOctreotideに対する反応性が低い傾向、プロラクチン陽性率が低い傾向などが認められた。Gs蛋白の遺伝子変異については43例で検討した。GS蛋白の遺伝子変異(Arg201 or Gln227)は25例(58.1%)で認められた。GS蛋白の遺伝子変異はD型で少ない傾向であった(P=0.083)。サイトケラチン染色パターンに反映されるGHomaの2群(sparsely granulated adenoma & densely granulated adenoma)は臨床像、Gs蛋白の遺伝子異常の出現頻度、病理像、ホルモン産生性、負荷試験に対する反応性においても対照的な存在である。

13) 下垂体機能障害における代謝異常・メタボリックシンドロームの発症機序：成長ホルモンの糖質コルチコイド代謝に対する作用を中心として

成長ホルモン分泌不全と代謝異常の関連を明らかにする目的で、肝細胞において糖質コルチコイド代謝に対する成長ホルモンの作用を検討した。肝細胞(HepG2 cell)において成長ホルモン、IGF-IおよびH6PDHを添加し11 β 水酸化ステロイド脱水素酵素I型(11HSDI)のプロモーター活性を測定した。成長ホルモンないしIGF-I添加により11HSDIプロモーター活性は有意に減少した。生理的と考えられる濃度でもその反応は見られ、用量依存性も確認された。H6PDHによっても11HSDIプロモーター活性は低下したが濃度依存性は認められなかった。成長ホルモンはIGF-Iを介したは直接的に肝での11HSDIプロモーター活性を低下させることが示された。成長ホルモン欠乏は11HSDI

を介する活性型の糖質コルチコイドの低下が生じないことにより、メタボリックシンドロームなどを生じやすいことが示唆される。

14) GH測定の標準化が先端巨大症の治癒基準に及ぼす影響：41例における検討

先端巨大症の治療効果判定におけるOGTTでのGH底値のcut off値は治癒、Control不十分において1, 2.5ng/mlであり、GH測定の標準化後も60%の値に変更されていない。この妥当性について検討した。先端巨大症41例を術後OGTTのGH底値により、標準化を考慮した<0.6ng/ml(治癒(C)群)、0.6 \leq GH<1.5(不十分(I)群)、1.5ng/ml \leq (不良(P)群)に分類した。IGF-Iの正常化率、糖代謝異常の改善率を算出し、現行の据え置き基準(C', I', P'群)での判定結果と比較検討した。C, I, P群のIGF-Iの正常化率は86, 75, 0%、糖代謝異常の改善率は55, 86, 40%であった。C', I', P'群のIGF-Iの正常化率は88, 40, 0%、糖代謝異常の改善率は58, 75, 50%であり、両者に差を認めなかった。現行の治療効果判定基準はGH測定の標準化後も充分有用であると考えられたが、今後、多数例での検討が必要である。

15) 当科における先端巨大症に対するオクトレオチドLARの治療成績

先端巨大症治療薬オクトレオチド(OCT)LARが国内承認され4年が経過したが、本邦におけるOCT LARを用いた先端巨大症治療についての多数例での臨床的検討の報告は少ないため、32例のOCT LAR治療先端巨大症例について有効性および有害事象を解析したので報告する。OCT LARの投与量は10~40mgで、2年間の観察期間でOGTTにおけるGH底値およびIGF-Iの正常化率はおのおの53.6%、58.6%であった。有意な血圧の低下およびHDL-Cの上昇を認めたが、OCT

LARのもつインスリン分泌低下作用によると考えられるHbA1cの上昇が認められ、耐糖能の変化には注意を要すると考えられた。自覚症状(頭痛、発汗過多、感覚異常、易疲労感、関節痛)は多くの症例で早期に改善を認めたが、あらたに自覚症状の発現を認める様になった症例も存在した。また、症例によっては投与間隔を延長することが可能と考えられた。総じてOCT-LARは先端巨大症治療に有用な薬剤であるが、高薬価ゆえ、さらなる先端巨大症患者への適用を考えた際には、薬価の低減ないしは公的医療補助の整備の必要性があると考えられた。

16) 先端巨大症における内頸動脈IMTと脈派伝導速度PWVによる動脈硬化度評価

治療前もしくは治療後コントロール不良の先端巨大症(Acromegaly, Ac) 23例において、動脈硬化度を評価する目的で内頸動脈の内中膜複合体肥厚(IMT)と脈派伝導速度(PWV)を健常群(IMTは347名、PWVは492名)を比較対照として検討した。Ac患者群における平均IMT値及び平均PWV値は健常群に比較して有意に高値であり、Acが動脈硬化性疾患であることが確認された。Ac群において両値ともGH値やIGF-1値とは明瞭な相関性を認めなかった。一方、Ac群ではMS関連リスクの保有数の増加とともにIMT、PWV値の増加を認めたことから、その動脈硬化症の進展には、MS病態の関与と、多因子の複合的関与の重要性が示唆された。

17) JHAQを使用した成人成長ホルモン分泌不全症QOL調査

下垂体機能低下症患者において、成長ホルモン(GH)欠乏の有無、およびGH補充療法の有無によりQOLに違いがあるか明らかにするため、成人下垂体機能低下症QOL尺度(Japan Adult Hypopituitarism Questionnaire,

JAHQ)を使用して、91名のAGHD患者のQOLを調査した。GH分泌不全者のうち、GH補充療法を受けている者のJAHQスコアは、GH補充療法を受けていないGH分泌不全患者に比べ全体的に高値(良好)である傾向を示し、性的関心に関わる領域では有意にJAHQスコアは高値であった。一方、全被験者を、GH分泌不全群と、非GH分泌不全群+GH分泌不全ではあるもののGH補充されている群(GH存在群)に分けて検討したところ、気力に関連する領域において、GH存在群で有意にJAHQスコアが高値であった。GHの不足では特に、性的関心、気力に関する領域でQOL低下が出現する可能性が示唆された。

18) 国内外での高プロラクチン血症を来す薬剤の比較検討

不顕性の高プロラクチン血症では、長期にわたると閉経前の女性や男性では骨塩量が減少して骨粗鬆症のリスクが高まり、薬剤性の副作用により患者のQOLを低下させる要因となることが報告されている。このような薬剤の副作用による高プロラクチン血症について、副作用の頻度・レベルに応じて注意喚起を可能にするために、医療用医薬品の添付文書情報の記述を確認・より適切にして、高プロラクチン血症による短期・長期の副作用の結果、患者のQOLの悪化を少しでも防げることが期待される。昨年度の研究で、日本の添付文書情報の副作用欄に「高プロラクチン血症」の記載がある医薬品はこれまでの本班の「プロラクチン分泌過剰症の診断の手引き」や成書に高プロラクチン血症を来す薬剤と記載されていた医療用医薬品よりかなり少なく、諸外国の添付文書の副作用欄でのこれらの記載状況を確認する為に、英国の医療用医薬品の添付文書情報の「副作用」の項目内に

「プロラクチン」を含む医薬品を主にリストアップして、日米と比較調査した。日本の添付文書の「副作用」「薬理作用」欄は、米英に比べ記載項目、内容が少ない傾向であることが明らかとなり、「禁忌」欄と併せて記載内容を再検討すればより臨床により有用な添付文書となると考えられた。

19) プロラクチン産生下垂体腺腫からのホルモン過剰分泌の可視化

GH産生下垂体腺腫においては腫瘍発生の原因とそれによるGH過剰分泌の機構が一部秋かかになっている。三量体Gタンパク質のGs α サブユニットの活性化変異やPKRIARIAの変異がこれまで報告されているが、プロラクチン産生腺腫からのプロラクチン過剰分泌の機構については未だにほとんど明らかになっていない。二光子励起法を用いて下垂体プロラクチン細胞からの顆粒分泌を可視化し解析した。ラット正常プロラクチン細胞からの自発性分泌を明らかにし、TRH刺激下の分泌を比較した。またヒトプロラクチン産生細胞からの自発分泌も明らかにし、これが正常細胞で刺激下の顆粒分泌の動態に一致することを明らかにした。ヒトプロラクチン産生細胞からのホルモンの過剰分泌の原因とその動態を明らかにできた。

20) 多嚢胞性卵巣症候群の診断における血中LHとLH/FSH比の基準値の検討

ゴナドトロピン分泌異常を来す、多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の診断に重要である高LH判定の基準は、スパック-SでLH \geq 7mIU/mlかつLH/FSH比 \geq 1と規定されているが、他の測定系を用いた場合の判定基準は明確でない。今回は現在国内で汎用されている測定系のひとつであるエクルーシス試薬を用いた場合の基準値を検討した。正常月経周期女性72例、PCOS症例128例、相関検討用

172検体の計372検体のLH、FSHをエクルーシスとスパックSで測定し、正常月経周期女性のLH、LH/FSH比の平均値+1SDを基準値候補とした。次に2測定系間の相関式を求め、スパック-Sでの基準値に相当するエクルーシスのLH値、LH/FSH比を算出し、基準値候補と比較して基準値を設定した。またこの基準を用いてPCOS症例における高LH率を検討した。その結果、正常女性の測定値からLH8.548mIU/ml、LH/FSH比1.253を基準値候補とした。相関式から、スパック-SのLH=7、LH/FSH比=1に相当するデータをLH=8.94、LH/FSH比=1.40と算出した。基準値候補は相関式算出データともほぼ一致し、LH値 \geq 8.55mIU/mLかつLH/FSH比 \geq 1.25を基準値とした。この基準でのPCOS患者の高LH陽性率は一般的なLH高値再現率と一致していた。以上より、エクルーシス試薬を用いた場合のPCOS診断のLH高値基準値は、LH値 \geq 8.55mIU/mLかつLH/FSH比 \geq 1.25が妥当である。

21) 間脳下垂体疾患データベースの基本集計

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。2006年度より登録が開始された間脳下垂体疾患データベースには、2008年12月末現在で、先端巨大症71例、プロラクチノーマ38例、クッシング病10例、下垂体機能低下症110例、パゾプレシン分泌低下症32例、計261例が登録された。その一部について登録時データの基本集計を行った。

IV. 分担研究報告書