

200936016A

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21年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 大 磯 ユタカ

平成22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21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大 磯 ユタカ

平成22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 研究代表者 大磯ユタカ

## IV. 分担計画報告書

1. 高齢者の下垂体前葉機能低下症と低ナトリウム血症の診断応用	19
---------------------------------	----

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. プロテオーム解析を用いたリンパ球性漏斗下垂体後葉炎の 診断マーカー開発	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. 下垂体腫瘍術後に認められた下垂体後葉機能異常	27
---------------------------	----

福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科 柳瀬 敏彦

4. 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	38
-------------------------------	----

名古屋大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌内科 有馬 寛

5. クッシング病モデルマウスにおける摂食行動異常の解析	44
------------------------------	----

高知大学医学部 内分泌代謝・腎臓内科 岩崎 泰正

6. レチノイドX受容体(RXR)がACTH分泌・POMC 遺伝子発現に及ぼす影響に関する検討 .....	48
東北大学大学院医学系研究科 先端再生生命科学 菅原 明	
7. クッシング病およびサブクリニカルクッシング病診断基準 の改訂について .....	55
弘前大学内分泌代謝感染症内科 須田 俊宏	
8. 下垂体腺腫の機能分化に関する研究 .....	62
東海大学基盤診療学系病理診断学 長村 義之	
9. 下垂体及び非下垂体ACTH産生腫瘍における 転写因子と受容体遺伝子発現の違い .....	69
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	
10. DAX1 遺伝子の新規変異を有する可能性をもつ副腎低形成の 1兄弟例における 間脳下垂体—副腎系の検討.....	74
浜松医科大学小児科 大関 武彦	
11. 下垂体腺腫における被膜外摘出の臨床病理学的検討 .....	80
日本医科大学脳神経外科 寺本 明	
12. 下垂体腫瘍の新たな分子標的MLL-p27 <sup>Kip1</sup> 経路からの治療戦略.....	88
群馬大学大学院病態制御内科 森 昌朋	
13. 視床下部・下垂体炎の再整理に関する研究： 最近2～3年間に経験した下垂体炎が疑われる5症例 およびIgG4関連漏斗下垂体病変の報告例のまとめ .....	93
(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	

14. 小児頭蓋内器質性疾患による間脳下垂体晩期障害に関する研究  
 小児頭蓋内器質性疾患における間脳下垂体晩期障害の実態調査 …… 102  
 国立成育医療センター第一専門診療部 横谷 進
15. 自己免疫的機序による後天性間脳下垂体機能障害の病態の解明 …… 107  
 神戸大学大学院保健学研究科病態解析学 置村 康彦
16. 先端巨大症の手術効果判定に及ぼすGHならびに  
 IGF-1分泌動態の経時的変化に関する検討 …… 112  
 鹿児島大学医歯学総合研究科脳神経外科 有田 和徳
17. 成人GH分泌不全症におけるGH投与量に関する検討 …… 118  
 東京女子医科大学第二内科 肥塚 直美
18. 血中遊離GH測定系の開発 …… 121  
 北海道大学病院検査・輸血部／第二内科 清水 力
19. 下垂体で高発現する機能未知の遺伝子の  
 プロラクチン分泌に及ぼす影響 …… 126  
 大阪大学大学院医学系研究科臨床検査診断学 巽 圭太
20. プロラクチン分泌異常症の病態生理に関する研究 …… 131  
 東京大学腎臓内分泌内科 高野 幸路
21. CLIA法を用いた多嚢胞性卵巣症候群における  
 高LHの判定基準の設定 …… 137  
 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
22. 間脳下垂体疾患データベースの基本集計 …… 142  
 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21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	153
バゾプレシン分泌過剰症(SIADH)の診断と治療の手引き	156
クッシング病の診断の手引き	158
サブクリニカルクッシング病の診断と治療の手引き	160
自己免疫性視床下部下垂体炎の診断と治療の手引き	162
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	166
成人成長ホルモン分泌不全症の診断と治療の手引き	172
プロラクチン(PRL)分泌過剰症の診断と治療の手引き	176
TSH産生下垂体腫瘍の診断の手引き	179
TSH分泌低下症の診断と治療の手引き	180

## VI. 会議記録

平成21年度研究会議プログラム	185
間脳下垂体機能障害に関する調査研究会2009年度公開セミナー	190

## VII. 研究成果の刊行に関する一覧表

193

# I. 序 文

今年度は私が新しく班長として出発した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班」の第二年度の活動の年となります。今年度は当班にとって研究面はもちろんのこと、特に行政面において大きな進展を迎えることになりました。昨年度途中で当班の研究対象疾患が従来の3病態（ADH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）から6病態（先端巨大症、Cushing病、下垂体機能低下症が追加）に拡大することが内定され、今年度初めからこれが正式に実施されました。さらに、今年度半ばには当班の関与する間脳下垂体疾患の7病態（前記6病態に下垂体性TSH分泌異常症を追加）が特定疾患治療研究事業（難病医療費支援制度）の対象疾患に指定され、診療費が軽減・免除されることになりました。この治療研究事業への指定に向けては、歴代の当班班長が班活動の一環として取り組んで来た長い経緯があり、また関連する患者会をはじめとする広い範囲からの社会的要請も強く、今年ようやく実現できたことを心から喜ぶとともに、一方で今後の認定作業などにおいて当班が果たす役割の大きさに身が引き締まる思いでもあります。また今回の認定にあたり、認定基準の策定、臨床調査個人票の作成などをご指導・ご協力いただきました厚生労働省健康局疾病対策課の担当者の方々および班員の皆さんに紙面をお借りして御礼申し上げます。

これまでに当班では千原前班長の時代から関連疾患の長期予後調査の目的で班会議と協力関係を持つ登録システムを立ち上げ、数年間にわたり日本全国で症例登録を行ってきましたが、今回特定疾患治療研究事業の対象事業となり都道府県を窓口としてデータ登録が開始されることとなったため、疾患の長期予後調査、有効な治療法の検証などを目的とし、今後厚生労働省、各自治体などと協力しながらその解析に向けたシステム作りを推進する予定にしています。

以上のように当班に関係する疾患が特定疾患治療研究事業対象疾患としてメディア等で紹介されるにつれ、制度面あるいは疾患情報に対する関心が高まってきたため、当班では初めて当班の研究事業を社会に向けて発信する目的で2010年2月に公開セミナー「難病対策事業としての間脳・下垂体疾患」を開催し、多数の医師、患者さん、一般市民の方々の参加を得ることができました。今後も難治性疾患の研究活動のみならず、研究を通し集積されてきた成果を広く社会へ還元できるよう定期的にセミナーを開催する予定としております。

今後も当班の班員全員が協力し、新たな研究成果を積み上げ良質な医療へと応用して行くよう全力をあげ努力して参ります。

2010年2月

間脳下垂体機能障害に関する調査研究班

研究代表者 大磯ユタカ

## Ⅱ. 班員名簿

	氏名	所属	職名
研究代表者	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
研究分担者	石川 三衛	自治医科大学附属さいたま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女性医学分野	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	弘前大学大学院医学研究科内分泌代謝内科学	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
	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
	岩崎 泰正	高知大学教育研究部医療学系医学部門	教授
	肥塚 直美	東京女子医科大学医学部第二内科	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
	横山 徹爾	国立保健医療科学院人材育成部	部長
	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
	置村 康彦	神戸大学大学院保健学研究科病態解析学／医学研究科糖尿病代謝内分泌学	准教授
	清水 力	北海道大学病院検査・輸血部	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	客員教授
	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
	柳瀬 敏彦	福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科学	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
	大関 武彦	浜松医科大学医学部小児科学	教授
	横谷 進	国立成育医療センター第一専門診療部	部長
研究協力者	千原 和夫	兵庫県立加古川医療センター	院長
事務局	橋本 育未	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. 総括研究報告書

## 間脳下垂体機能障害に関する調査研究

研究代表者 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：**今年度の研究は、本年度から新しく難治性疾患克服研究事業の対象疾患として正式に追加された先端巨大症、クッシング病、下垂体機能低下症の3病態と、従来からの対象疾患である抗利尿ホルモン、プロラクチンおよびゴナドトロピン分泌異常症について各々の病態生理、発症・増悪機転、診断、治療の各面から検討を進めた。さらに間脳下垂体疾患の生命予後・健康余命・QOLの調査目的で構築しているデータベースの活用を行い、診断・治療法の有効性評価の実現を目指した。また疾患の早期発見、高水準治療の実践などをわが国において有効にそして安全に遂行できるよう当該疾患の診断・治療にかかわる指針について大幅改訂を行った。今年度に行われた当班の代表的な研究の概要を以下に示す。

ADH(バゾプレシン)分泌異常症の領域のうち中枢性尿崩症に関する分野では、特異的診断法がなくそれにより治療法の標準化が進んでいないリンパ球性漏斗下垂体後葉炎の診断マーカーの開発に着手しプロテオーム解析を用いた先進的方法により疾患の候補となる抗原を探索し、今後具体的な責任抗原を同定する基礎的成績を得た。また、高ナトリウム食負荷により家族性中枢性尿崩症モデル動物のバゾプレシンニューロン内における封入体が増加すること、一方、バゾプレシンのアナログであるdDAVPの投与は多尿の進行を遅延させ封入体を減少させることを認め、バゾプレシンニューロンの刺激が中枢性尿崩症の発症・進展を早めることが明らかとなり今後の発症予防・進展抑制の参考となる成績を得た。また、SIADHの分野では、SIADHの最も基本的所見である低ナトリウム血症に関し、特に高齢者における病態形成の面から検討を加え、高齢者の下垂体前葉機能低下症においては低ナトリウム血症で発見される例が多く、この原因にはAVPの分泌亢進が深く関与する成績から、高齢者の低ナトリウム血症ではSIADHの診断上で下垂体前葉機能低下症との関連を特に重視する必要性が示された。

ACTH分泌異常症の領域では、クッシング病と臨床上鑑別がきわめて困難である異所性ACTH産生腫瘍の病態の相違を明らかにする目的で検討を行いIKZF1の発現亢進を認め、転写因子の発現の違いが病態形成に重要な意味を持つ可能性を明らかにした。また、レチノイドX受容体(RXR)によるPOMC発現調節を検討し、RXR $\alpha$ の持続性活性体であるRXR $\alpha$  F318A変異体の過剰発現がリガンド非依存性にPOMC遺伝子転写活性およびACTH分泌を強力に抑制することを認め、同変異体の検討によりクッシング病の新規治療法開発につながる可能性が示された。さらにより科学的な診断基準の策定を目的として新しいエビデンスの基づき、クッシング病/サブクリニカルクッシング病の診断の手引きの大幅な改訂を行った。

下垂体腺腫の発生・増殖機構等に関する領域では、ソマトスタチンアナログ製剤で

あるオクトレオチドがPI3KとMAPK経路を介しMLL遺伝子の転写を促進し下流にあるp27<sup>Kip1</sup>の発現を増加させることを明らかとし、p27<sup>Kip1</sup>が下垂体腫瘍治療の新たな分子標的となる可能性が示された。一方、下垂体腺腫におけるnestinの発現をヒト下垂体腺腫と正常下垂体において免疫組織学的に検討し、nestinがACTH産生細胞の一部に特異的に発現するという結果を得、今後診断上新たなBiomarkerとなり得る可能性が示された。また、下垂体腺腫の仮性被膜外摘出が治療成績の向上に果たす役割を検討する目的で仮性被膜の特徴および内分泌学的所見を検討し、病理学的に被膜内への腺腫細胞の浸潤が証明され、被膜外摘出が治療成績を向上させることが示された。

成長ホルモン分泌異常症の領域に関しては、成人GH分泌不全症(GHD)22例を対象としGHの投与維持量、補充中の血中IGF-I値および臨床所見について解析した結果、GH投与維持量の中央値は4 µg/kg/日であり性差を認めなかった。実地臨床では成人GHD症例が比較的少量のGH投与量で治療され少量の維持量であっても臨床症状が改善する例が認められることが明らかになり、今後多数例で至適投与量の検討が必要と考えられた。また、先端巨大症の術後の改善を評価する目的で高精度な治療基準を策定するため、術後のGTTによるGH底値、IGF-I値を検討したところ、その値が経時的に変化していることが明らかとなり、術後早期の内分泌学的評価では患者の長期的な予後との相違が出現する可能性があることが示された。

プロラクチン分泌異常症の領域では、プロラクチン産生腺腫からのプロラクチン過剰分泌機構について解析する目的で二光子励起法を用い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、ま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動態を明らかにし、今後の治療戦略の基礎的成績を得ることができた。また、下垂体で高発現する遺伝子の機能的役割を検討する目的でKIAA1324/mab1 (Pi-a/EIG121)による下垂体細胞株でのプロラクチンの産生・分泌に及ぼす影響についてまず解析し、今後下垂体で高発現しているが機能が未知な他の遺伝子についても網羅的に機能解析を進める。

下垂体機能低下症の領域では、下垂体炎に関連しその疾患概念が未だ明らかでないIgG4関連硬化性疾患に伴う下垂体病変についてその特徴を検討し、今後自己免疫性視床下部下垂体炎などの類似病態との間で概念の再構築を行う必要があることが示された。また、後天性に間脳下垂体機能障害をきたし、自己免疫的な機序が疑われる症例を対象に解析を行い、GH、PRL、TSH欠損症をきたした3例において転写因子PIT-1に対する自己抗体を認め病因との関連が示唆され、今後自己抗体のスクリーニングが診断上有効であることが示された。

ゴナドトロピン分泌異常症の領域では、化学発光免疫測定法(CLIA法)を用い、高LH血症の基準を検討し、国内の各施設での判定基準値が同一になるよう検討を行った。

下垂体疾患の疫学領域については、先端巨大症89例、プロラクチノーマ58例、クッシング病12例、下垂体機能低下症123例、バゾプレシン分泌低下症38例、計320例の登録症例を解析し、主観的健康観ではバゾプレシン分泌低下症で、「よい」の割合が低

いことなど疾患特異性があることが示された。

今回の研究をこれまでの研究成果に積み上げていくことにより、わが国の当該領域疾患の基礎的、臨床的解明が着実に進展し、また当班が責任の一端を担ってその実施への努力を行ってきた特定疾患治療研究事業(医療費助成制度)対象疾患への今年度追加の実現など、当班の活動の結果が難病患者の健康余命の延長、QOL向上などの面へも少なからず貢献することができたのではないかと考える。

## 研究分担者氏名

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 自治医科大学附属さいたま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 高知大学教育研究部医療学系医学部門 教授

大関 武彦 浜松医科大学医学部小児科学教授

置村 康彦 神戸大学大学院保健学研究科病態解析学・医学研究科糖尿病代謝内分泌学 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検査・輸血部 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 客員教授

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臨床検査診断学 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 福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科学 教授

横谷 進 国立成育医療センター第一専門診療部 部長

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

今年度から難治性疾患克服研究事業の対象が拡大され、当研究班の研究対象疾患は従来の1)抗利尿ホルモン(バゾプレシン)分泌異常症、2)プロラクチン(PRL)分泌異常症、3)ゴナドトロピン分泌異常症に加え、4)先端巨大症、5)クッシング病、6)下垂体機能低下症が追加され、合計6病態について網羅的な研究を正式に施行することとなった。間

脳下垂体機能障害の特徴は、1) 生体の制御・調節作用に関する多数のホルモン分泌部位の障害であるために、多くの異なった疾患が発生し、またそれらが種々の組み合わせ、種々の重症度で発症するため非常に複雑な病態を示すこと、2) 疾患の治療経過が生涯にわたるなど長期経過を示す場合が多く、患者のQOL維持を身体的、精神的両面からサポートし、負担の少ない継続的な治療を行うことが重要となる。

こうした背景の中で、当班の関係する各々の疾患について病態生理、発症・増悪機転、診断、治療などの各面について解明しその成果を応用進展させることを目的に研究を進めた。さらに間脳下垂体疾患の生命予後・健康余命・QOLの調査目的で構築しているデータベースを活用し、診断・治療法の有効性の評価の確立を行うことをめざした。また疾患の早期発見、高レベルの医療の実践などをわが国において有効にそして安全に遂行できるよう当該疾患の診断・治療にかかわる指針について大幅改訂を行うこととした。

以下に代表的な研究課題を示す。1) ADH (バゾプレシン) 分泌異常症：プロテオーム解析を用いたリンパ球性漏斗下垂体後葉炎の診断マーカー開発、2) ACTH分泌異常症：レチノイドX受容体(RXR)がACTH分泌・POMC遺伝子発現に及ぼす影響に関する検討、3) 下垂体腺腫の発生、増殖機構：下垂体腫瘍の新たな分子標的MLL-p27経路からの治療戦略、4) 下垂体機能低下症：APS-IIの新たな亜型：PIT1に対する自己抗体と関連した後天性GH, PRL, TSH欠損症、5) 成長ホルモン分泌異常症：成人GH分泌不全症におけるGH投与量に関する検討、6) PRL分泌異常症：プロラクチン分泌の生理

と病態生理、7) ゴナドトロピン分泌異常症：CLIA法を用いた多嚢胞性卵巣症候群における高LH血症の判定基準の設定、8) 下垂体疾患の疫学調査：間脳下垂体疾患データベースの基本集計。

## B. 研究方法

- i) ADH(バゾプレシン)分泌異常症の領域では以下の研究を行った。1) 高齢者の下垂体前葉機能低下症と低ナトリウム血症の診断応用、2) プロテオーム解析を用いたリンパ球性漏斗下垂体後葉炎の診断マーカー開発、3) 下垂体腫瘍術後に認められた下垂体後葉機能異常、4) 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分泌異常症(クッシング病関連)の領域では以下の研究を進めた。5) クッシング病モデルマウスにおける摂食関連遺伝子の解析、6) レチノイドX受容体がACTH分泌・POMC遺伝子発現に及ぼす影響に関する検討、7) クッシング病およびサブクリニカルクッシング病診断基準の改訂について、8) 下垂体腺腫の機能分化に関する検討、9) 下垂体及び非下垂体ACTH産生腫瘍における転写因子遺伝子発現の違い、10) DAX1遺伝子の新規変異を有する可能性をもつ副腎低形成の1兄弟例におけるACTH-副腎系の検討。
- 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。11) 下垂体腺腫における被膜外摘出の臨床病理学的検討、12) 下垂体腫瘍の新たな分子標的MLL-p27経路からの治療戦略。
- iv) 下垂体機能低下症の領域に関しては以下の研究を進めた。13) 最近2-3年間に経験した下垂体炎が疑われる5例ーリン

パ球性下垂体炎の再整理に向けて、14) 小児がん経験者における晩期内分泌障害、15) APS-IIの新たな亜型：PIT1に対する自己抗体と関連した後天性GH, PRL, TSH欠損症。

v) 成長ホルモン分泌異常症(先端巨大症など)の領域に関しては以下の研究を進めた。16) 先端巨大症の手術効果判定に及ぼすGHならびにIGF-1分泌動態の経時的変化に関する検討、17) 成人GH分泌不全症におけるGH投与量に関する検討、18) 血中遊離GH測定系の開発。

vi) PRL分泌異常症については以下の研究を行った。19) 下垂体で高発現する機能未知の遺伝子のプロラクチン分泌に及ぼす影響、20) プロラクチン分泌の生理と病態生理。

vii) ゴナドトロピン分泌異常の領域については、21) CLIA法を用いた多嚢胞性卵巣症候群における高LHの判定基準の設定の検討を行った。

viii) 下垂体疾患の疫学調査については、22) 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) 高齢者の下垂体前葉機能低下症と低ナトリウム血症の診断応用

高齢者の下垂体前葉機能低下症の特徴を明らかにするため、過去12年間に新たに発見された高齢の下垂体前葉機能低下症25例を全年齢に分布する同症の集計と症状、所見、検査成績、病因、欠損ホルモンについて比較検討した。高齢で発見の契機は感染症などストレス負荷後の低ナトリウム(Na)血症が多く、発見時の血清Naは112~142 mmol/l(平均127.8 mmol/l、12例)に分布し、低Na血症

自体は計20例(80%)に認められた。全年齢での低Na血症は1.1%であり高齢者できわめて高頻度であった。欠損ホルモンの分布は両者の間に大きな差異はみられず80%以上でACTH分泌不全がみられた。これまでの続発性副腎機能低下症41例の解析では、低Na血症発現の高齢者においてバゾプレシン分泌亢進を認め、発症年齢と血清Na濃度の間には負の相関が得られた。高齢者で感染症、ストレス後にみられる低Na血症では、下垂体前葉機能低下症の鑑別が肝要であることが明らかとなった。

### 2) プロテオーム解析を用いたリンパ球性漏斗下垂体後葉炎の診断マーカー開発

リンパ球性漏斗下垂体後葉炎(LINH)は中枢性尿崩症を特異な症候とする疾患である。LINHは自己免疫疾患と考えられているが未だ診断マーカーは確立されていない。そこでLINHの診断マーカーの開発を目的とし、高い解析能を有する診断方法の確立のため、ハイスループットな蛋白質分離同定が可能である液体クロマトグラフィー(LC)とタンデム質量分析計(tandem mass spectrometry: MS/MS)が結合したLC-MS/MS装置を用いたプロテオーム解析手法の開発について検討した。下垂体ライセートを調整し、血清から精製されたIgGで免疫沈降後、抗原分子を溶出し、LC-MS/MS装置を用いるプロテオーム解析を行った。この方法を用いてLINH患者で特異的に認められる下垂体由来タンパク(特異的抗原候補)をいくつか見出しており、本法がLINHの自己抗原解析に非常に有効な方法であると考えられ、今後さらに同定を進める予定である。

### 3) 下垂体腫瘍術後に認められた下垂体後葉機能異常

下垂体腫瘍術後に尿崩症(DI)、SIADH

(バゾプレシン分泌過剰症)を経験する。その多くは一過性であるが、適切な治療が必要であるのは言うまでもない。以下に代表的な症例を示す。「症例1」48歳、女性。頭痛にてMRIを施行。出血を伴う下垂体腫瘍を指摘され、Hardy手術を施行後に一過性DIと術後7日目を底値に低Na血症を認めた。「症例2」73歳、男性。結腸癌の手術前から低Na血症を認められていたが、術後に頭痛、複視が出現しMRIにて下垂体腫瘍を指摘された。Hardy術後に一過性DIと術後8日目を底値に低Na血症の増悪を認めた。「症例3」60歳、女性。頭痛、歩行障害にてMRIを施行し下垂体腫瘍と水頭症を指摘された。Hardy術後に一過性DIと術後9日目を底値に低Na血症を認めた。術後14日目には再度DIが出現、DDAVPによる加療継続を必要とした。以上のように、下垂体腫瘍術後にDI、SIADHをしばしば経験するが、DIは術後2日目に、SIADHは術後7日目をpeakに認め一過性であるが一部では持続的なDIとなる。比較的若年者の症例、機能性腺腫であることなどが術後の下垂体後葉機能異常の発生頻度と相関すると報告されており、下垂体腫瘍術後は前葉機能とともに後葉機能異常の出現に注意し、特に外科・内科治療移行期に起こりやすいため、相互の連携が必要である。

#### 4) 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 (FNDI) においては生後数ヶ月から数年で緩徐進行性に尿崩症が発症するが、その詳細な進展機序は未だ明らかではない。これまでの研究で作成したバゾプレシン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Cys98stopを導入した

ノックインマウス (FNDIマウス) は、尿崩症の進展とともに視床下部バゾプレシンニューロンの小胞体内に封入体が出現する特徴を有する。本マウスに高塩分 (2% Na) 食を6ヶ月間投与したところ、尿量が増加し、バゾプレシンニューロン内の封入体の増加を認めた。一方、バゾプレシンのアナログであるdDAVPの投与は多尿の進行を遅延させ、封入体を減少させた。今回の検討より、FNDIにおいてバゾプレシンニューロンを刺激するような状態ではニューロフィジンの変異に起因する異常蛋白の蓄積が生じ、多尿の進行が早まることが示唆され、臨床上FNDIの発症前段階ではこの点に留意する必要があることが明らかとなった。

#### 5) クッシング病モデルマウスにおける摂食関連遺伝子の解析

クッシング症候群などグルココルチコイド過剰状態では過食を呈することが知られているが、その機序は明らかでない。今回の研究ではクッシング病モデルであるCorticotropin-releasing hormone (CRH) 過剰発現マウス (CRH-Tg) を用いて、摂食行動および視床下部摂食関連神経ペプチド発現量につき解析した。CRH-Tgでは野生型マウス (WT) と比較して血中コルチコステロン濃度は著明に上昇し、同時に摂餌量 (WT  $3.9 \pm 0.1$ , CRH-Tg  $5.1 \pm 0.1$  g/day,  $p < 0.05$ ) および体脂肪量の有意な増加を認めた。in situ hybridization法による解析では、CRH-TgはWTと比較して視床下部弓状核AgRP mRNA発現量が有意な増加を示した。NPY mRNA、POMC mRNAの発現には差を認めなかった。従ってグルココルチコイド過剰による過食には視床下部AgRPの増加が関与する可能性が示唆され、新薬開発による過剰摂食機能抑制への糸口が開かれた。

## 6) レチノイドX受容体(RXR)がACTH分泌・POMC遺伝子発現に及ぼす影響に関する検討

レチノイン酸(RA)はそのクッシング病治療に対する有効性が複数報告されているが、昨年度の研究においてRA受容体がPOMC遺伝子転写活性を増加させることを明らかにした。しかし、RAはレチノイドX受容体(RXR)も強力に活性化することから、今年度はRXRによるPOMC発現調節を検討した。マウス下垂体由来ACTH産生細胞であるAtT20細胞において、合成RXRアゴニストHX630はAtT20細胞のPOMC mRNA発現およびその遺伝子プロモーター活性を抑制し、AtT20細胞から培養液へのACTH分泌を抑制した。RXR  $\alpha$  過剰発現はHX630によるPOMCプロモーター活性抑制作用を増強した。RA非依存性の持続性活性作用を発揮するmRXR  $\alpha$  F318A変異体の過剰発現は、POMCプロモーター活性を強力に抑制した。以上から、RXR  $\alpha$  はPOMC遺伝子転写活性およびACTH分泌を抑制することが明らかとなった。

## 7) クッシング病およびサブクリニカルクッシング病診断基準の改訂について

平成17年度に新規および改訂した上記2疾患の診断基準について、その後のデータを蓄積することにより一部改訂を行う必要性を認めた。主な点は以下ようになるが、今年度の診断・治療手引きに結果の詳細が掲載されているため要参照。1. クッシング病：(1)スクリーニング検査として、①17OHCSの削除、②深夜唾液中コルチゾール値の追加。(2)その他：①エビデンスを追加した。2. サブクリニカルクッシング病(呼称を変更した)：深夜血中コルチゾール値を5  $\mu$  g/dl以上。(3)唾液中コルチゾール値の追加。これらの改訂により、より精度の高い診断を行うこと

が可能となった。

## 8) 下垂体腺腫の機能分化に関する研究

nestinは中枢神経の分化において発現が認められている中間径フィラメントであり、近年さまざまな臓器や腫瘍においてstem cell markerになると考えられている。今回の研究ではヒト下垂体腺腫におけるnestinの発現を下垂体腺腫のタイプ別に免疫組織学的に解析した。ヒト下垂体腺腫44例と正常下垂体5例に対しnestinの免疫染色を行なったところACTH産生腺腫の14/16(87.5%)例でネスチンの発現を認めた。しかしその他の腺腫においては発現を認めず、nestinがACTH産生腺腫に特異的に発現するマーカーとなる得る可能性が示唆された。また、正常下垂体においてもACTH産生細胞にのみnestinとの共存を認め、下垂体における分化との関与も推察された。今後さらに検討を進めることにより、nestinの病態的あるいは診断的意義について明らかにする。

## 9) 下垂体及び非下垂体ACTH産生腫瘍における転写因子と受容体遺伝子発現の違い

従来の研究でACTH産生下垂体腫瘍であるCushing病(CD)、silent corticotroph adenoma(SCA)ならびに非機能性下垂体腫瘍(NFT)でのPOMCの発現調節に関わる様々な遺伝子発現プロフィールを明らかにしてきた。しかし、非下垂体ACTH産生腫瘍(EAS)での転写因子の遺伝子発現の違いは明らかでなく、今回は異所性ACTH産生気管支カルチノイド(EAS)でのPOMC転写因子の発現プロフィールを検討した。20例を対照とし、CD(9例)、SCA(11例)、EAS(4例)の腫瘍組織におけるPOMCの転写因子(T-pit, NeuroD1, IKZF1)の遺伝子発現を定量的RT-PCR法で解析し、比較検討した。その結果、POMC mRNAの発現はNFTと比べ、



CD (2400倍)、EAS (200倍) で著明な発現亢進を認めたが、SCAではほぼ同程度であった。T-pit mRNAの発現はNFTと比べ、CD(31倍)、SCA (24倍)、EAS (7倍) と亢進していた。NeuroD1 mRNAの発現はSCAやNFTよりもCDやEASで低下(14~61倍)していた。IKZF1 mRNAの発現はCDよりもEASで亢進(8倍)していたが、SCAやNFTではほぼ同程度であった。今後ACTH産生腫瘍の分子病態についての詳細をさらに検討する。

#### 10) DAX1 遺伝子の新規変異を有する可能性をもつ副腎低形成の1兄弟例におけるACTH-副腎系の検討

これまでに報告の見当たらないDAX1 遺伝子変異の兄弟例につきACTH-副腎系の機能を検討し、病態、治療との関連を検討した。症例1は18歳男児。4歳時に副腎不全を発症し、以後補充療法を継続して、明らかな副腎不全症状はないが、ACTHは600-5000pg/mlと常に高値であり、色素沈着を認めた。また2次性徴も欠如している。症例2は症例1の弟、15歳男児。臨床経過は症例1とほぼ同様であった。両患者につきゲノムよりのDirect sequencing法で遺伝子解析を行い、NR0B1, 1-RP INS, 568Gを認めた。これは、現在報告がされておらず、新規遺伝子変異の可能性を有しており、機能解析を今後計画している。両患者ともDEX 1mg投与により症例1はACTH 15.2pg/ml、症例2は19.2mg/mlまで抑制されたが、ハイドロコルチゾン20mg(症例1: 14mg/m<sup>2</sup>、症例2: 18mg/m<sup>2</sup> 8:00、20:00経口)の投与では22:00、1:00は18~183pg/ml、7:00~18:00では165~3730 pg/mlの間の値をとり、十分な抑制は得られなかった。本症に見合った投与量の設定と長期予後の確認が必要と考えられた。

#### 11) 下垂体腺腫における被膜外摘出の臨床病理学的検討

以前より、コラーゲン線維を主体とした下垂体腺腫固有の仮性被膜があることが示されていたが、近年これが再度注目され、手術時にも被膜外摘出が治療成績の向上に有用であると指摘されている。今回、下垂体腺腫において被膜外摘出を行った症例において、仮性被膜の特徴および内分泌学的所見を検討した。対象は当施設で経鼻的手術を行った下垂体腺腫64例。内訳は男性29、女性35名、年齢は16~81歳(平均50.9歳)で機能別分類はGHoma, PRLoma, ACTHoma, および臨床的非機能性腺腫(CNFA)がそれぞれ9, 7, 1, 47例であった。各症例で病理学的検索を行い、被膜が厚く存在する群をA、腺腫から薄い被膜を経て正常下垂体前葉に移行する群をB、被膜をほとんど認めない群をCとした。病理学的にA, B, C群はそれぞれ50, 41, 9%であった。機能別にはA群がCNFAで53%と最も多いのに対し、GH, PRLomaではB群がそれぞれ56, 58%と多かった。またGHomaにC群は見られなかった。下垂体腺腫の仮性被膜にはさまざまなパターンがあり、9%の症例で明確な被膜が認められなかった。被膜外摘出の意義につき今後も検討を進める。

#### 12) 下垂体腫瘍の新たな分子標的MLL-p27<sup>Kip1</sup>経路からの治療戦略

多発性内分泌腫瘍症(MEN)1型の原因遺伝子Men1の遺伝子産物Meninは、白血病発症に関与するMLLと複合体を形成し、p27<sup>Kip1</sup>やp18<sup>Ink4C</sup>遺伝子の発現を制御している。MEN1型では変異によりこれらの発現が低下し腫瘍発生に関与することが報告されている。これまでの研究では散発性GH産生腫瘍においてMLL-p27<sup>Kip1</sup>経路が低下し、オクトレオチド(oct)治療によりこれらが回復

することを明らかにした。今回はこのMLL-p27<sup>Kip1</sup>経路を介したoctの抗腫瘍効果の分子機構について検討した。1)GH4C1細胞でMLLのsiRNAやシグナル伝達経路の阻害剤を用いてMLL、p27<sup>Kip1</sup>、Men1の相互作用とoctの影響、2) p27<sup>Kip1</sup>・MLLプロモーターを用いoctの作用機構の各々について検討した。その結果、1)GH4C1細胞では、octによりMLL・p27 mRNA量、蛋白量ともに増加し、この効果はMLL発現をsiRNAにより低下させると消失した。2)octによりMLL並びにp27遺伝子プロモーター活性が増強した。3)octによるMLLの転写活性化は、PI3K、MAPKを阻害すると消失した。以上より、octはPI3K、MAPK経路を介してMLLの転写活性を増加し、p27発現量を増加させ細胞周期並びに増殖を制御していることが示された。下垂体ACTH産生腫瘍と比較して非下垂体ACTH産生腫瘍では、T-pitやIKZF1の遺伝子発現に違いを認められ、これら転写因子の発現の違いがPOMCの発現や細胞分化に関与している可能性が示唆される。

### 13) 視床下部・下垂体炎の再整理に関する研究

視床下部・下垂体の炎症性疾患はまれであるが、最近2-3年間で下垂体炎が疑われる以下の5症例を経験したので病態の特徴を解析した。いずれも中高年の男性で、種々の程度の前葉機能低下(5例)と尿崩症(3例)を呈した。画像では下垂体茎腫大(4例)と下垂体腫瘍(4例)を示し、補充量のステロイド(1例を除く)により下垂体腫大の軽減(3例)と前葉機能の一部改善(2例)がみられた。CRP陰性、IgG・IgG4の著増はなく、1例で皮膚生検によりサルコイドーシスと診断された以外、全身検索で異常なし。これらの症例で下垂体腫瘍生検はなされず確定診断は困難である。腺下垂体炎や漏斗神経葉炎の典型例で

あっても、臨床経過を注意深く観察し全身検索を進め二次性下垂体炎を引き起こす原因疾患を除外する必要がある。安易なステロイド治療を行わず、その適応を十分に考慮する必要がある。

### 14) 小児頭蓋内器質性疾患による間脳下垂体 晩期障害に関する研究

小児がんの生存率が向上し、小児がん経験者(CCS)における遅発性内分泌障害の適切な診療が求められている。今回の研究では1)CCS晩期内分泌障害発病率、2)晩期内分泌障害とがん治療法の関連を明らかにすることを目的し実施した。1990年から2006年までに当院にて診断・治療され、3年以上の長期フォローが可能であったCCS187名(男児105名、女児81名、脳腫瘍(B)46名、血液腫瘍(H)87名、固形腫瘍(S)54名)を対象とし、内分泌障害の有無、がん治療法との関連を後方視的に調査した。その結果、内分泌障害は、Bにおいて約60%に、全体として35.3%に認められた。成長ホルモン分泌不全症はB43.5%、H8.0%、S20.4%に認められ、がん治療終了後診断までの平均期間はB0.6年、H4.6年、S3.0年であった。全脳照射の他、Cytarabineの投与が下垂体機能障害と有意に関連した。原発性性腺機能低下症は性腺照射、Busulphan, Melphalan投与と有意な関連を認めた。CCSの内分泌障害は頻度が高く、発病までの期間が様々であるため、疾患と治療によるリスクに応じた早期からの検索と長期フォローが必要である。

### 15) 自己免疫的機序による後天性間脳下垂体 機能障害の病態の解明

今回、後天性にGH, PRL, TSH分泌を特異的に障害された3例を経験した。症例はいずれも男性で中枢性甲状腺機能低下症を契機に診断され、発症時44-78歳だった。ホルモ

ン障害のパターン(GH, PRL測定感度以下、TSH低値)は先天性のPIT1異常症と酷似していた。下垂体のMRIでは軽度の萎縮を認めた。3例とも血中に抗PIT1抗体を認め、本抗体はその他の自己免疫性下垂体炎、下垂体腫瘍、一般のAPS-IIなどでは認めなかったため、きわめて特異的と考えられた。一例の剖検所見ではPIT1発現細胞の特異的消失とともに甲状腺炎、副腎炎、膵島炎、胃炎、肝炎を認め、3例で多彩な自己抗体を認めた。これらのことから本症候群は新たな自己免疫性内分泌腺症候群(APS-II)の1亜型と考えられた。また原因不明の中枢性甲状腺機能低下症やPIT-1遺伝子異常が疑われたが検査上同定されなかった症例には、以上のような病態が潜在的に存在している可能性が示唆され、今後臨床上留意する必要がある。

#### 16) 先端巨大症の手術効果判定に及ぼすGHならびにIGF-1分泌動態の経時的変化に関する検討

従来 of 検討では手術後のIGF-1値の低下が緩徐であり、IGF-1の評価は手術後1ヵ月目以降、出来れば3ヵ月目以降に行うべきであることを明らかとしてきた。今回は、このIGF-1の変化に伴うGH分泌動態の変化を検討した。また、IGF-1値が手術後3ヵ月以上の経過でどのように変化するかを検討した。方法は、1)手術後1~2週目と手術後3~12ヵ月目の2度経口ブドウ糖負荷(GTT)が施行された35例(29例は3~6ヵ月目に実施)のGH底値を比較。2)手術後急性期から連続して2年以上IGF-1の測定が行われた33症例のIGF-1値ならびにそのSD値の推移の追跡である。その結果、1)GH底値は手術後1~2週目 $0.83 \pm 0.73$ ng/ml(SD、以下同)で3~12ヵ月目は $0.68 \pm 0.87$ ng/mlと軽度低下した。2)GTT底値が1.0ng/ml以下の症例

は手術後1~2週目が35例中25例(71.4%)に対して手術後3~12ヵ月目は35例中28例(80%)と僅かに改善した。3)IGF-1値は手術後3-12ヵ月: $232.4 \pm 89.9$ ng/ml、12-24ヵ月: $203.9 \pm 80.95$ ng/ml、24-36ヵ月: $200.3 \pm 100.2$ ng/mlと漸減した。4)IGF-1 SD値は、手術後3-12ヵ月: $1.74 \pm 1.52$ 、12-24ヵ月 $1.28 \pm 1.48$ 、24-36ヵ月: $1.18 \pm 1.75$ と漸減した。5)IGF-1が+2SD以下になる頻度は3-12ヵ月:33例中19例(57.6%)、12-24ヵ月:24例(72.7%)、24-36ヵ月:26例(78.8%)と漸増した。以上の結果から、既報の手術後約1ヵ月間にわたる緩やかなIGF-1の低下は、少なくとも一部はGH過剰分泌のゆるやかな改善を反映していると考えられる。長期経過観察例におけるIGF-1の漸減は加齢による変化を超えている可能性があり、更に多数例での検討が必要である。また、IGF-1正常化の判定時期をさらに遅らせることも考慮する必要がある。

#### 17) 成人GH分泌不全症におけるGH投与量に関する検討

わが国では2006年以降成人GH分泌不全症(GHD)を対象としたGH治療が認可された。GH投与は $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ を開始量とし、臨床症状と血中IGF-Iを指標に漸増することが推奨されている。今回の研究ではGH治療を行っている成人GHD症例のGH投与量について検討した。対象はGH治療を6ヶ月以上受けている成人GHD 22例(18~65歳; M/F 9/13)で、GH維持投与量及び補充中の血中IGF-I値について解析した。GHDの発症時期は小児期19例、成人期3例であった。小児期発症のうち16例が成長障害に対するGH治療歴を有していた。GHの維持投与量の中央値は $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ (範囲2~9)であり性差を認めなかった。女性では年齢とGH維持量に負の相関( $R_s = -0.6$ ,  $P = 0.03$ )を認めたが、男性

では認めなかった。22例中11例 (M/F 5/6) で治療後のIGF-Iが基準値内に達したが、正常化率は性差を認めなかった。これらの症例のGH維持量は男性4  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$  (3~7)、0.3mg/日 (0.3~0.4)、女性 3.5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$  (2~9)、0.19 mg/日 (0.1-0.5)であった。一方、残りの11例 (M/F 4/7) では治療後のIGF-Iは正常化に至っていないが(-3.2 SD)、臨床症状が軽快したためGHの増量は行われなかった。8例で脂肪肝(NASH 1例を含む)の合併を認めていたが、うち3例でGH治療中に腹部エコー上脂肪肝の消失ないし軽快を認めた。以上の結果から、実地臨床では比較的少量のGH投与量で治療され臨床症状の改善を認めたが、有効性をより詳細に検討するためには今後多数例での解析が必要である。

#### 18) 血中遊離GH測定系の開発

血中GHは、約50%がGH結合蛋白(GHBP)と結合しており、生理活性を示すのはGHBPと結合していない遊離GHである。Frystykらは、血清に抗GHBPモノクローナル抗体(MAB263)を添加し、それによる分子量の変化を利用して、GHBPと結合したGH(GH・GHBP複合体)をフィルター(YM-100)を用いて分離し、遊離GHを測定する方法を報告した(JCEM 2008)。今回の研究では遊離GHを自動測定機器を用いてより簡便に測定する方法を開発する目的の一環として、Frystykらの方法を用いてGH・GHBP複合体と遊離GHを分離できるかを検討した。リコンビナントGHとGHBPを混合したサンプルのMAB263処理濾過液を抗GH抗体でウエスタンブロットを行ったところ、Frystykらの方法ではGH・GHBP複合体と遊離GHを分離することができなかった。そのため、他の簡便法により測定することを目的として更なる検討を行っている。

#### 19) 下垂体で高発現する機能未知の遺伝子のプロラクチン分泌に及ぼす影響

これまでの研究で下垂体で高発現する新規遺伝子をBodyMap法や他のデータベースから同定し、明らかとしてきた。今回の研究では遺伝子の機能解析の一例として、KIAA1324/mabalによる下垂体細胞株でのプロラクチンの産生・分泌に及ぼす影響について解析した。方法としては、ドキシサイクリン(Dox)存在下でのみ発現するKIAA1324/mabalに対するRNAi用ベクター、あるいは、過剰発現ベクターをGH3細胞に安定に導入した、KIAA1324/mabal発現抑制株と過剰発現株を樹立し、これらにDoxを投与してKIAA1324/mabalの発現抑制、あるいは、過剰発現後の細胞株内と上清のPRL量をウエスタン法で比較した。今回は、KIAA1324/mabalの発現抑制・過剰発現で、プロラクチンの産生・分泌能に明かな影響は認めなかったが、今後、下垂体で高発現する機能が未知な他の遺伝子について、さらに機能解析をしていく予定である。

#### 20) プロラクチン分泌異常症の病態生理に関する研究

これまで、enriched rat lactotrophに蛍光蛋白と分泌ペプチドの融合蛋白を導入することにより、プロラクチン分泌の可視化を行った報告が数例報告された。しかしながら、そこで得られた結果は、相互に一致しなかった。2光子励起法では、細胞外に水溶性蛍光試薬を加え、顆粒分泌の際に顆粒内に蛍光試薬が流入し輝点を形成する現象を用いて顆粒分泌を可視化するため外来蛋白の導入が不要である。ラットの細胞集塊を用い、semi-intactの状態プロラクチン分泌を観察した。プロラクチン細胞のきわめて早い経過(<0.1 sec)の自発分泌、TRH、VIP、High K刺激による