

201024008A

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22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大 磯 ュタカ

平成23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22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大 磯 ユタカ

平成23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. 分担研究報告書	
1. プロテオミクスによるリンパ球性漏斗下垂体後葉炎の 診断マーカー開発 第2報	21
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	
2. 家族性中枢性尿崩症の発症機序の解明および治療法の確立	26
名古屋大学医学部附属病院 糖尿病・内分泌内科 有馬 寛	
3. 嚢胞の占拠部位により特異な下垂体前葉障害、 尿崩症を呈したラトケ嚢胞の解析	32
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	
4. コルチゾール測定値標準化と測定誤差を考慮した Dex抑制試験によるクッシング病診断の検討	36
弘前大学大学院医学研究科内分泌代謝内科学 須田 俊宏	
5. レプチン・CRHダブルノックアウトマウスの表現型解析	41
高知大学医学部 内分泌代謝・腎臓内科 岩崎 泰正	

6. レチノイン酸受容体 (RAR) による POMC 遺伝子発現における 転写因子 NeuroD1 および Tpit の役割	46
東北大学大学院医学系研究科医化学分野 東北大学大学院医学系研究科生物化学 菅原 明	
7. Corticotroph hyperplasia による高齢 Cushing 症候群の一例	52
福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科学 柳瀬 敏彦	
8. 小児の GHRP2 負荷試験 —HPA 系の評価における有用性—	59
国立成育医療研究センター第一専門診療部 横谷 進	
9. 自己免疫機序による間脳下垂体機能障害の病態の解明	63
神戸大学大学院医学研究科内科学講座糖尿病・内分泌・腎臓内科学分野 糖尿病・内分泌内科学 高橋 裕	
10. 成長ホルモン産生腺腫におけるプロレニン受容体の意義	68
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. 手術後治癒と判定された成長ホルモン産生腺腫患者に おける成長ホルモン分泌能	74
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科脳神経外科学 有田 和徳	
12. 成人 GH 分泌不全症 (GHD) における肝機能障害と GH の治療効果に関する検討	83
東京女子医科大学医学部第二内科 肥塚 直美	
13. GH 産生腺腫の自発開口分泌と病理像の関連	86
東京大学大学院医学系研究科腎臓・内分泌内科学 高野 幸路	
14. gsp 変異と MLL/p27 ^{Kip1} 経路	93
群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科 森 昌朋	

15. 非浸潤性プロラクチン産生下垂体腺腫に対する
内視鏡単独経鼻的手術による被膜外摘出の治療成績…………… 99
日本医科大学大学院医学研究科神経病態解析学分野 寺本 明
16. マクロプロラクチン血症の頻度と病態に関する研究…………… 105
(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
17. 下垂体で高発現する遺伝子の機能解析…………… 113
大阪大学大学院医学系研究科臨床検査診断学 巽 圭太
18. 小児がん経験者における subclinical hypothyroidism と
TRH 負荷試験…………… 118
浜松医科大学小児科 大関 武彦
19. ヒト下垂体ゴナドトロピン産生腺腫におけるホルモン産生の
エピジェネティクス制御機構…………… 122
東海大学医学部基盤診療学系病理診断学 竹腰 進
20. 中枢性第2度無月経患者に対して遺伝子組換え型ヒトFSH製剤
による排卵誘発が奏効する条件の検討…………… 130
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. 北海道における間脳下垂体特定疾患患者の臨床像について…………… 136
北海道大学病院検査・輸血部 清水 力
22. 間脳下垂体疾患データベースの基本集計…………… 143
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22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	155
バゾプレシン分泌過剰症(SIADH)の診断と治療の手引き	158
ゴナドトロピン分泌低下症の診断と治療の手引き	160
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	164
プロラクチン(PRL)分泌低下症の診断と治療の手引き	170
プロラクチン(PRL)分泌過剰症の診断と治療の手引き	171
TSH産生下垂体腫瘍の診断の手引き	174
ACTH分泌低下症の診断と治療の手引き	175
下垂体ゴナドトロピン産生腫瘍の診断の手引き	177

VI. 会議記録

平成22年度研究会議プログラム	181
間脳下垂体機能障害に関する調査研究班2010年度公開セミナー	186

VII. 研究成果の刊行に関する一覧表

189

I. 序 文

今年度、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」は私が班長を担当してから3年目を迎え3年計画の最終年度となりました。難治性疾患克服研究事業に加え、その後認定された特定疾患治療研究事業をもその研究対象とすることになったため、現在当班の研究領域はきわめて広範囲の疾患群におよび、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、先端巨大症、クッシング病、下垂体機能低下症、下垂体性TSH分泌異常症と、7病態で10疾患以上を網羅しています。それだけに他の研究班とは研究の進め方や具体的な到達目標の設定などについてある意味異なった運営方法を取らざるを得ない立場となり、班員全体が共有すべき課題の選択と実施、および個々の領域・疾患に関する専門性を持った課題研究の深化を同時進行させることが非常に重要であると認識しました。そこで、班研究の進め方として横系となる横断的重要課題を設定するとともに、領域別の個別研究を併せ推進する方法により効率的で意義のある難病疾患研究を進めることとしました。重要課題研究には、新規間脳下垂体疾患の探索、自己免疫の関与する可能性がある各種間脳下垂体疾患の病態解析と診断マーカーの開発、それに基づく疾患概念の再構築といった具体的な課題を設定した他、横断的班研究活動の一環として間脳下垂体機能障害に関する社会連携活動の性格を持つ未承認薬の臨床導入、研究成果公表のための公開セミナーの開催などについても推進・実践してきました。その結果、本報告書に詳細が記載されているように、間脳下垂体の新規病態の発見や、新規診断・治療法の臨床導入、さらには未承認薬の承認に向けた治験の開始などの成果を得ることができました。また、個別領域の研究もそれぞれ間脳下垂体疾患の病態形成、診断、治療、長期予後などに関する多くの良質な研究成果をあげることができ、この領域の医学と医療に貢献できたのではないかと考えております。

今後も当班の班研究者が総力を挙げてこの領域の研究・診療の発展に向けて継続し努力していく所存であります。

2011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	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
	大関 武彦	浜松医科大学医学部小児科学	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	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
	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	東京女子医科大学医学部第二内科	教 授
	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
	横谷 進	独立行政法人国立成育医療研究センター内科系専門診療部	部 長
	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
	苛原 稔	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	教 授
	柳瀬 敏彦	福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科学	教 授
	有田 和徳	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科脳神経外科学	教 授
	岩崎 泰正	高知大学教育研究部医療学系臨床医学部門	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
	竹腰 進	東海大学医学部基盤診療学系病理診断学	准 教 授
	清水 力	北海道大学病院検査・輸血部	講 師
	巽 圭太	大阪大学大学院医学系研究科内科学講座(臨床検査診断学)	講 師
	菅原 明	東北大学大学院医学系研究科生物化学分野	客員教授
	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
	高橋 裕	神戸大学大学院医学研究科内科学講座糖尿病・内分泌内科学部門	講 師
	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	兵庫県立加古川医療センター	院 長
	置村 康彦	神戸女子大学家政学部管理栄養士養成課程病理病態学	教 授
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：当班が担当する間脳下垂体疾患には、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、先端巨大症、クッシング病、下垂体機能低下症、下垂体性TSH分泌異常症と7疾患があり、さらにこれらの関連病態が多数存在するため研究は広範な領域にわたる。そのため、間脳下垂体疾患の網羅的研究の重要性をあらためて認識し、班研究として横系となる横断的重要課題を設定し、領域別個別研究と併せ推進することにより効率的で意義のある難病疾患研究を遂行することを基本目的とした。重要課題研究には、1)新規間脳下垂体疾患の探索、2)自己免疫が関与する可能性のある各種間脳下垂体疾患の病態解析と診断マーカーの開発、それに基づく疾患概念の再構築、3)下垂体疾患の新規診断・治療法の開発などを中心とし、さらに各種疾患の治療法別長期予後評価のための独自疾患データベースの維持と解析、診断・治療の手引きの更新、社会連携活動として未承認薬の臨床導入、研究成果公表のための公開セミナーの開催などを企画した。一方、個別領域研究としては各対象疾患の病態解析、発症予防、早期発見による重症化・遷延化の防止、低負担の治療法開発によるQOL改善などを目的に研究を実施した。具体的研究課題はバゾプレシン関連ではプロテオミクスによるリンパ球性漏斗下垂体後葉炎の診断マーカー開発、家族性中枢性尿崩症の発症機序の解明および治療法の確立、嚢胞の占拠部位により特異な下垂体前葉障害、尿崩症を呈するラトケ嚢胞の解析、成長ホルモン(GH)関連では、GH産生腺腫の自発開口分泌と病理像の関連、gsp変異とMLL/p27Kip1経路、成人GH分泌不全症(GHD)における肝機能障害とGHの治療効果に関する検討、GH産生腺腫におけるプロレニン受容体の意義、手術後治癒と判定されたGH産生腺腫患者におけるGH分泌能、ACTH関連では、レプチン・CRHダブルノックアウトマウスの表現型解析、コルチゾール測定値標準化と測定誤差を考慮したデキサメサゾン抑制試験によるクッシング病診断の検討、レチノイン酸受容体によるPOMC遺伝子発現における転写因子NeuroD1およびTpitの役割、Corticotroph hyperplasiaによるCushing症候群の解析、小児におけるGHRP2負荷試験の有用性とHPA axisの評価、プロラクチン関連では、非浸潤性プロラクチン産生下垂体腺腫に対する内視鏡単独経鼻的手術による被膜外摘出の治療成績、下垂体で高発現する遺伝子の機能解析、マクロプロラクチン血症の頻度と病態に関する研究、ゴナドトロピン関連では、ヒト下垂体ゴナドトロピン産生腺腫におけるホルモン産生のエピジェネティクス制御機構、中枢性第2度無月経患者に対するLH活性を持つゴナドトロピン製剤の必要性の検討、下垂体機能低下症関連では、自己免疫機序による間脳下垂体機能障害の病態の解明、長期予後等関連では、間脳下垂体特定疾患患者の臨床像について、間脳下垂体疾患デー

データベースによる長期予後調査など重要研究課題と個別領域を対象にした研究を進めてきた。

以上の研究を通し、世界初となる新規病態の発見、有効で特異的な下垂体疾患の診断法の開発などを含め医学、医療および社会に還元できる数多くの成果を得た。

研究分担者氏名

平田結喜緒 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 教授
大関 武彦 浜松医科大学医学部 教授
須田 俊宏 弘前大学大学院医学研究科 教授
森 昌朋 群馬大学大学院医学系研究科 教授
寺本 明 日本医科大学大学院医学研究科 教授
肥塚 直美 東京女子医科大学医学部 教授
石川 三衛 自治医科大学附属さいたま医療センター 教授
横谷 進 国立成育医療研究センター 部長
島津 章 京都医療センター 臨床研究センター長
苛原 稔 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授
柳瀬 敏彦 福岡大学医学部 教授
有田 和徳 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授
岩崎 泰正 高知大学教育研究部 教授
高野 幸路 東京大学大学院医学系研究科 特任講師
竹腰 進 東海大学医学部 准教授
清水 力 北海道大学病院 講師
巽 圭太 大阪大学大学院医学系研究科 講師
菅原 明 東北大学大学院医学系研究科 客員教授

有馬 寛 名古屋大学医学部附属病院 講師
高橋 裕 神戸大学大学院医学研究科 講師
横山 徹爾 国立保健医療科学院 部長

A. 研究目的

間脳下垂体系に発生する病態はきわめて多く、当班の指定研究対象は、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、先端巨大症、クッシング病、下垂体機能低下症、下垂体性TSH分泌異常症の合計7疾患と広範である。そのため、間脳下垂体疾患の網羅的研究の重要性をあらためて認識し、班研究として横糸となる横断的重要課題を設定し、領域別個別研究と併せ推進することにより、さらに効率的な難病疾患研究を遂行することを基本目的とした。

重要課題研究には、1)新規間脳下垂体疾患の探索、2)自己免疫が関与する可能性のある各種間脳下垂体疾患の分子病態解析と診断マーカーの解析、それに基づく疾患概念の再構築、3)下垂体疾患の新規診断・治療法の開発、以上を主要な柱とした。またその他の研究班横断的研究として各種疾患の治療法別長期予後を客観的に評価するための独自疾患データベースの維持と解析、診断・治療の手引きの継続的更新、社会連携活動として未承認薬の臨床導入、研究成果公表のための公開セミナーの開催などを企画・実施した。

一方、個別領域研究としては各々の疾患病

態の解析、発症予防、早期発見による重症化・遷延化の防止、低負担の治療法開発によるQOL改善などを目的に研究を進めた。

B. 研究方法

今年度の研究計画は間脳下垂体系疾患の重要課題を含む横断的重要研究と、各病態の個別研究を並行して進めた。主たる重要課題については、新規下垂体病変の発見に基づく疾患単位としての診断・治療法の確定のために研究班内でプロジェクトチームを組織し研究を進めた。また新規治療法については当研究班が既に着手している研究(SIADHの標準治療法の設定に向けた検討：橋中心髄鞘崩壊回避におけるミノサイクリンの有効性)を継続発展させ、班員の関連施設で開発治験を実施する体制を確立し、臨床評価のための活動を開始した。社会連携については未承認薬の導入のため、行政、製薬メーカー、患者会などの中で本研究班が推進調整機能を発揮し、デスマプレシン経口薬の開発治験が開始された。

以下に主要な研究成果を示すが、(重点)の記載は横断的重点課題であることを表す。

・自己免疫性下垂体疾患の研究

リンパ球性下垂体炎の特異的自己抗原蛋白をプロテオーム解析により検索し、IgG4関連疾患などとの鑑別診断、治療法策定を行うため下垂体炎患者の自己抗体検索を行う。リンパ球性漏斗下垂体後葉炎(LINH)は中枢性尿崩症を呈する自己免疫疾患と考えられているが診断マーカーは確立されていない。既に本研究でLINHに特異的な自己抗原の同定に向け、患者血清を用いた免疫沈降により得られる自己抗原をプロテオミクスで網羅的に解析する方法を開発し、本法により複数の自己抗原候補が得られたが、今回はLINH患者血

清中に見出した自己抗原候補の一つである76kDの蛋白に対する自己抗体の陽性頻度を検証し、マーカーとしての臨床応用を目指しその疾患特異性を評価する(重点)。

・下垂体疾患の診断標準化に向けたホルモン基準値の設定

クッシング病(CD)/サブクリニカルクッシング病(subCD)の診断において、デキサメサゾン(Dex) 0.5mg抑制試験(DST-0.5)はスクリーニングの検査として必須であるが、近年、血清コルチゾール(F)測定がnonRI法に切り替わり低濃度域における測定キット間での値のばらつきが問題になっている。そこで今回はコルチゾール標準物質を用いた標準血清を作成し、これによる較正と測定法の検定を行った(重点)。

・バゾプレシン(AVP)

家族性中枢性尿崩症(FNDI)は生後数か月から数年で緩徐進行性に尿崩症が発症する常染色体優性遺伝性疾患であるが、今回の研究では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)を用い、バゾプレシン遺伝子発現調節の検討を行った。

またラトケ嚢胞の占拠部位特異的に下垂体前葉障害、尿崩症を呈する可能性について症例に基づく解析を行った。

・成長ホルモン(GH)

成人GH分泌不全症(GHD)では肥満、脂質代謝異常とともに肝機能障害を高頻度に合併し、この肝機能障害は非アルコール性脂肪肝障害(NAFLD)と考えられ、GH治療により改善することが示唆されている。今回、GHDに対してGH治療を行った症例での肝機能障害の推移について、GH治療を1年以上受けている成人GHD49例(18~66歳;男

／女 23/26)を対象とし、GH治療前後の肝機能障害、脂質異常について検討した。

一方、先端巨大症治療後のGH分泌不全症が注目されている。手術例を対象に先端巨大症術後寛解例における成長ホルモン分泌能を評価し、非機能性下垂体腺腫術後症例と比較した。またQOLとの相関についても調査した。対象は手術後治癒と判定された先端巨大症患者のうち術後ITTが施行され、有効低血糖刺激が得られた67例。対照群は全摘出あるいは垂全摘出術が施行された非機能性下垂体腺腫患者のうち術後ITTが施行された99例。

また、GH産生下垂体腺腫には電顕像でdensely granulated (DG) adenomaとsparsely granulated (SG) adenomaの2つの組織型があり、これはサイトケラチンの免疫組織染色でperinuclear patternとdot patternの二つに相当する。SG adenomaはDG adenomaに比べ大きめで、治癒しにくいことが示唆されている。これまでDG adenomaは盛んに顆粒分泌を行っており、SG adenomaは顆粒分泌も乏しいと推測されてきたがこの点は証明されておらず、この問題は治療成績とも強く関連するため重要である。今回は51例のGH産生腺腫を術後5時間以内に2光子励起法で観察し、自発分泌とhigh Kによる脱分極刺激での顆粒分泌を記録し、各腺腫におけるホルモン染色性を調べた。fibrous body、*gsp*変異の有無、および臨床データとの関連についても解析した。

加えて、GH産生腫瘍においてMLLとp27^{Kip1} mRNA発現が低下し、オクトレオチド(oct)治療により回復することを本研究で明らかにしてきたが、多数例の解析から、このoctの効果に抵抗性を示す群があることが判明した。一方、*Gsp*変異がGH産生腫瘍で

報告されている。そこで、octのMLL/p27^{Kip1}経路への作用と*gsp*変異の関係について、1) GH産生腫瘍41例の*gsp*変異を検索し、2) MLL、p27^{Kip1} mRNA発現量と*gsp*変異の関係について検討した。

またプロレニン受容体(PRR)は組織RASで重要な役割を担うと共に、V-ATPaseやWnt受容体の結合蛋白として多彩な作用を持ち広範な組織での発現が報告されているが、ヒト下垂体での発現を検討した報告は乏しく、またその下垂体ホルモン分泌に対する意義は全く不明であるためその解明を行った。

・ACTH

糖質コルチコイド(GC)の過剰で肥満や過食を伴うCushing病症候を呈するが、病態の発生機序は未解明の点が多い。一方レプチン欠損により肥満をきたすob/obマウスではGCの上昇が認められる。そこでGC過剰に伴う肥満・過食の分子機序を解明するため、ob/obマウスとCRHの欠損によりGC低下をきたすCRH-KOマウスを交配したレプチン・CRHダブルノックアウト(DKO)マウスを作成し、ob/obマウスとの間で体重・摂食量の比較およびPCRアレイを用いた視床下部摂食関連遺伝子発現の解析を行った。

また、レチノイン酸がクッシング病に対する治療に有効であることが報告されている。これまでの研究でレチノイン酸受容体(RAR)はPOMC遺伝子発現をむしろ増加させることを見いだしたが、その機序は不明であったことから今回はその詳細の検討を行った。

一方、ACTH依存性のCushing症候群の病因のほとんどは、異所性ACTH産生腫瘍とACTH産生下垂体腺腫に大別される。しかし、極めて稀にcorticotroph hyperplasiaの報告があり、異所性CRF産生腫瘍を病因とする症例が多いが、病因不明の症例もあり

CRH過剰産生を介さない病態の可能性もあり、今回は72歳の女性でACTH依存性のCushing症候群と診断した症例の解析を行った。

・プロラクチン

高プロラクチン(PRL)血症の新たな病因であるマクロプロラクチン血症について、英国ではPRL測定を実施している全施設の82%がルーチンにスクリーニング検査を行っていることが報告されている。今回の研究では日本人におけるマクロプロラクチン血症の頻度とその病態について検討した。

また、プロラクチン産生下垂体腺腫(PRLoma)に対する治療の第一選択はドパミン作動薬を中心とした薬物療法であるが、近年の手術技術の進歩により、鞍内に限局する非浸潤性の腫瘍に対しては、手術単独での治療が期待できる。今回内視鏡単独経鼻的手術(eTSS)による治療成績について検討した。過去6年間にeTSSを施行したPRLomaは65例であり、その中で鞍内限局型は47例であった。さらにその中で被膜外摘出を施行した症例は31例であった。PRL測定は術後1,7日目および退院後行った。

さらに下垂体で高発現する新規遺伝子の単離と同定を行い、それらの機能について検討するため、下垂体で高発現する膜タンパクKIAA1324/mab1の細胞接着能について過剰発現系を用いて検討するとともにドキシサイクリン存在下でのみ発現して転写を抑制するRNAi用ベクターを各種細胞株に導入し細胞生物学的手法により接着活性を、生化学的手法により分子動態を解析した。

・ゴナドトロピン

ヒト下垂体ゴナドトロピン産生腺腫は大部分が臨床的に非機能性腺腫であるが、黄体形成ホルモン(LH)に比較して卵胞刺激ホルモ

ン(FSH)の産生が優位となることが知られている。この現象は転写因子によるホルモン産生制御だけでは説明ができない。今回の研究ではゴナドトロピン産生腺腫におけるLH産生低下に遺伝子プロモーター領域のDNAMethyl化が関与していると考え検討した。経蝶形骨洞下垂体腺腫摘出術によって採取されたFSH陽性LH陰性の下垂体腺腫28症例を用いて、LHβ遺伝子プロモーター領域に存在するCpGサイトを標的としたMethylation-specific PCR (MSP)法を行った。

一方、近年、第1度無月経、希発月経、無排卵周期症の患者に遺伝子組換えヒトFSH製剤(rFSH)の自己注射が認可された。中枢性第2度無月経患者にはLHを含有するhMG製剤を用い、連日の通院注射で治療が行われる。今回はrFSHの効果を評価するため国内臨床試験成績を解析した。

・下垂体機能低下症

後天性に発症したGH,PRL,TSH分泌が特異的に障害された自己免疫機序が疑われる間脳下垂体機能障害3症例において各種自己抗体のスクリーニングによりその病態を明らかにすることを目的として研究を行った(重点)。

また甲状腺を含む領域に放射線照射を受けた患者の甲状腺機能は詳細に検討されることは少ない。今回は甲状腺を含む領域に放射線治療を受けた小児患者の甲状腺機能評価を目的として放射線治療群のTSH基礎値高値の患者に対しTRH負荷試験を施行した。

・長期予後関連調査

間脳下垂体疾患の治療を施行する際、患者の生活状況や生活の質を把握することは、治療の妥当性や今後の治療方針決定に重要な意味を持つと考えられる。本報告では、北海道独自に施行されていた間脳下垂体疾患医療補

助制度認定患者510名に対して臨床個人調査票をもとにその臨床像を解析した。

(倫理面への配慮)

人を対象とする全ての研究は、研究に参加する各施設の倫理審査委員会またはそれに該当する委員会の許可を受けた上で実施した。プライバシー保護のため、守秘義務の徹底とすべての資料は施設下で管理するなど管理体制を整備した。担当医師は研究の実施に際し承認された説明文書に従って患者に説明し、文書を用い自由意志による同意を得た。また本研究を行うにあたっては、ヘルシンキ宣言の趣旨を尊重し、医の倫理的配慮をとるものとした。研究試料は住所、氏名を使用せず、個人を特定できない符号により管理した。参加、不参加ある

いは参加後の中止により患者が不利益をうけることが一切ないことを明示した。動物実験は、研究に参加する各施設の動物実験・遺伝子組み換え実験許可を受けた上で、その実施要綱に沿って実施した。

C. 研究結果 (表1)

班研究として横断的に行った研究結果を中心に別表1. にまとめた。代表的な研究については以下にその概要を示す。

・自己免疫性下垂体疾患

LINH患者7例中6例で76kD蛋白に対する自己抗体が認められた。一方、対照者で本自己抗体が認められたのは健常人で1例/9例、リンパ球性下垂体前葉炎0例/3例、腫瘍などに伴う中枢性尿崩症1例/10例であった。

表1. 2010年度間脳下垂体機能障害に関する調査研究研究成果

横断的重要課題

- 1)視床下部・下垂体疾患
新規疾患単位の検索とその診断基準・治療ガイドの確立
例:自己免疫性下垂体機能障害:抗PIT-1抗体、リンパ球性下垂体炎
- 2)間脳下垂体疾患の診断・治療ガイドラインの逐年的改訂

領域別研究課題

- 7病態10疾患をコアにした臨床的・基礎的研究(本文参照)

疾患データベース

- 1)独自運用のデータベースの運用
症例の経年的蓄積と解析研究
- 2)特定疾患治療研究事業のデータ収集作業の構築準備

社会連携・行政への反映

- 1)間脳下垂体疾患に関する未承認薬導入への活動
中枢性尿崩症治療薬であるDDAVP錠剤の認可と治験の開始
- 2)特定疾患治療研究事業対象7病態の認定基準・個人票改訂
- 3)班研究成果の公表
間脳下垂体機能障害に関する調査研究班主催公開セミナー開催

・下垂体疾患の診断標準化に向けたホルモン基準値の設定

コルチゾールの高純度標準品を利用して作成した検量線で低濃度のコルチゾール検体を測定し、血清標準物質とした。これを用いて従来使用されていた7つのコルチゾール測定キットの校正を行ったところ、各キット間のばらつきが $CV \leq 10\%$ に改善した(校正前は約15%)。この測定精度であれば、Dex 抑制試験のカットオフ値である1.8、3および5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 付近のばらつき($\pm 2SD$)は、それぞれ ± 0.36 、 ± 0.6 、 $\pm 1.0 \mu\text{g}/\text{dl}$ となった。

・バゾプレシン(AVP)

電子顕微鏡を用いた検討により3か月齢のFNDIマウスにおいて視床下部視索上核のニューロンの小胞体内腔に凝集体の蓄積が確認された。FNDIマウスでは野生型マウスと比較してバゾプレシンmRNA発現が基礎状態、刺激下のいずれにおいても有意に低下していたが、転写活性を示すバゾプレシンheteronuclear(hn)RNAの発現は野生型マウスと比較して有意な差を認めなかった。

またラトケ嚢胞4例に関する詳細を解析した結果、症例1-3はいずれの症例も多飲・多尿が出現し中枢性尿崩症と診断された。MRI画像上でトルコ鞍内、トルコ鞍内から鞍上部にかけて径10-16mmの嚢胞性腫瘍が見られラトケ嚢胞と診断された。画像上T1強調像では後葉高信号は消失しており、また下垂体前葉機能は正常であった。症例4は特異な下垂体機能障害を呈した。中枢性尿崩症と診断された後、全身状態不良、頭痛のため精査を施行し画像上下垂体柄から後葉にかけて腫大し同部位に辺縁明瞭に周囲が造影される腫瘍が見られた。T1強調像で後葉高信号は消失していた。下垂体機能では、視床下部障害パ

ターンの下垂体機能低下症を呈した。3か月後のMRIでは下垂体柄と後葉の腫脹が軽減した。

・成長ホルモン(GH)

成人GHDに対しGH治療を行った症例における肝機能の推移について検討した。成人GHDではGH治療開始前に約50%の症例で肝機能障害を合併し、GH治療後、肝機能障害は有意に減少した。GH治療前には腹部エコーで28例中20例で脂肪肝を認め、脂肪肝を呈していた20例中13例にGH治療後再検査を行ったところ、8例で脂肪肝が消失した。

また術後症例の検討では、先端巨大症患者におけるGH分泌不全症の発生頻度は、軽度なものを含めると25%程度であったが、重症GHDの頻度は6%と、非機能性下垂体腺腫群と比較すると有意に低く、LH分泌障害の頻度も同様であった。先端巨大症群ではGHD症例でもIGF-1-SD値は比較的保たれており、微量な腫瘍細胞の残存が示唆された。ITTでのGH頂値とQOLとの間には有意な相関は認めていないが、severe GHD患者では身体的健康度が低下している症例があった。

さらに自発開口分泌の検討では、51例中21例に自発分泌を認めた。自発分泌のなかった30例中high Kの効果を見た30例中24例で顆粒分泌があった。顆粒放出の時間経過でも差はなく、数秒以内の短いfull fusionであった。

一方、GH産生腫瘍において、41例中39%の16例(Arg201Cys変異9例、Gln227Leu変異4例、Gln227Arg変異3例)にgsp変異を認めた。gsp変異のない腫瘍群では、術前オクトレオチド治療群と未治療群でMLLとp27^{Kip1} mRNA発現量を比較すると治療群で有意に高値だった。一方、gsp変異を伴う腫瘍群では、両群間で有意差を認めなかった。

また、プロレニン受容体 (PRR) に関する研究では、PRP が下垂体で発現し、主に切断された可溶性受容体であり、成長ホルモン産生腺腫に高頻度に発現することを明らかにした。PRR の免疫染色強陽性群では GH の基礎値が高く、Octreotide の反応性が高い結果を得た。

• ACTH

DKO マウスは野生型マウスと比較すると明らかな肥満を呈するが、ob/ob マウスと比較すると肥満の軽減が認められ (WT 26.0 ± 0.5 , ob/ob 49.4 ± 0.3 , DKO 38.1 ± 1.6 g)、摂食量についても同様の变化が観察された。PCR アレイによる検討では、DKO マウスでは ob/ob マウスと比較して視床下部 AgRP mRNA の減少が認められた。さらに DKO マウスにコルチコステロンを補充することにより視床下部 AgRP mRNA の増加が見られた。

また、マウス下垂体由来 ACTH 産生細胞である AtT20 細胞において、RAR α は転写因子 NeuroD1 と相互作用を引き起こし、さらに RAR α アゴニスト Am80 は転写因子 Tpit の発現を増加させた。NeuroD1 ドミナントネガティブ変異体は Am80 による POMC 転写活性化を抑制した。Tpit 過剰発現は POMC 転写活性を増加させた。POMC プロモーターの NeuroD1 および Tpit 結合部位を変異させると Am80 による POMC 転写増加反応は消失した。

一方、corticotroph hyperplasia 疑いの症例解析では内分泌学的負荷試験および画像検査の結果、ACTH 産生下垂体腺腫と診断し、経鼻的下垂体腫瘍摘出術を施行したが、高コルチゾール血症は改善せず、剖検で下垂体前葉細胞の 40~50% に ACTH 陽性細胞を認め、下垂体全体にまだらだがび漫性に分布していた。

• プロラクチン

ポリエチレングリコール (PEG: 終濃度 12.5%) による血中 PRL の沈降率 60% 以上をマクロプロラクチン血症と定義した上で、マクロプロラクチン血症は、健常成人 1330 人のスクリーニングで 3.68%、高 PRL 血症 292 人のスクリーニングで 15.1% と高頻度に認められた。マクロプロラクチンの 87% が IgG 結合 PRL であり、67% が自己抗体結合 PRL であった。自己抗体はヒト PRL に特異的で low affinity、high capacity の性質を有していた。血中からのクリアランスの低下により高 PRL 血症を呈するが、マクロプロラクチン自身の生物活性は低く、臨床症状を欠く症例が多かった。

また、内視鏡単独経鼻的手術 (eTSS) による治療成績の検討では、被膜外摘出を施行した症例について、術後 1 週間目の PRL 値で、治療基準を 5ng/ml 未満とすると 80.6%、10ng/ml 未満で 90.3%、15ng/ml 未満では 100% の治療が得られた。合併症は鼻出血が 2 例、永続的尿崩症が 1 例、低ナトリウム血症が 11 例であった。また、手術前後で GH 分泌能の悪化は認められなかった。

さらに下垂体に発現する新規遺伝子の機能解析では、遺伝子導入したマウス由来の線維芽細胞株の細胞接着は認められなかったが、遺伝子導入した下垂体由来細胞株と異なり細胞増殖の抑制が示唆された。ウエスタンブロットで KIAA1324/mab1 の移動度を観察した結果、非還元 SDS-PAGE ではマウス由来の線維芽細胞株と下垂体由来細胞株では予想分子量の倍以上で両者が若干異なった分子量で検出された移動度が一方、通常の還元 SDS-PAGE では両者とも予想分子量で検出された。

• ゴナドトロピン

LH β プロモーター領域には多数の CpG 配

列が存在し、そのメチル化が亢進していた。特に転写開始点近傍のメチル化がLH発現抑制に重要であると考えられた。また、ゴナドトロピン産生腺腫におけるDNMT3aの発現が亢進していた。

また、臨床治験の解析では、過去の2つの治験結果の集積から、開始量100IU/日のrFSH治療では中枢性第2度無月経の全患者の48.9% (23/46)に、体重60kg未満の症例に限ると54.2% (19/35)に排卵が起きていた。

・下垂体機能低下症

今回の解析対象症例はいずれも成人期以後に中枢性甲状腺機能低下症を契機に発見され、GH, PRLが測定感度以下でTSHは低値を示し、前葉ホルモンのプロファイルは先天性PIT-1遺伝子異常症と酷似していた。各種の自己抗体を検討し、今回の症例で検出された抗PIT-1抗体はコントロール、その他の内分泌、自己免疫疾患では認めず極めて特異的だった。下垂体におけるPIT-1陽性細胞、GH陽性細胞、PRL陽性細胞、TSH陽性細胞が特異的に消失しており、自己免疫性甲状腺

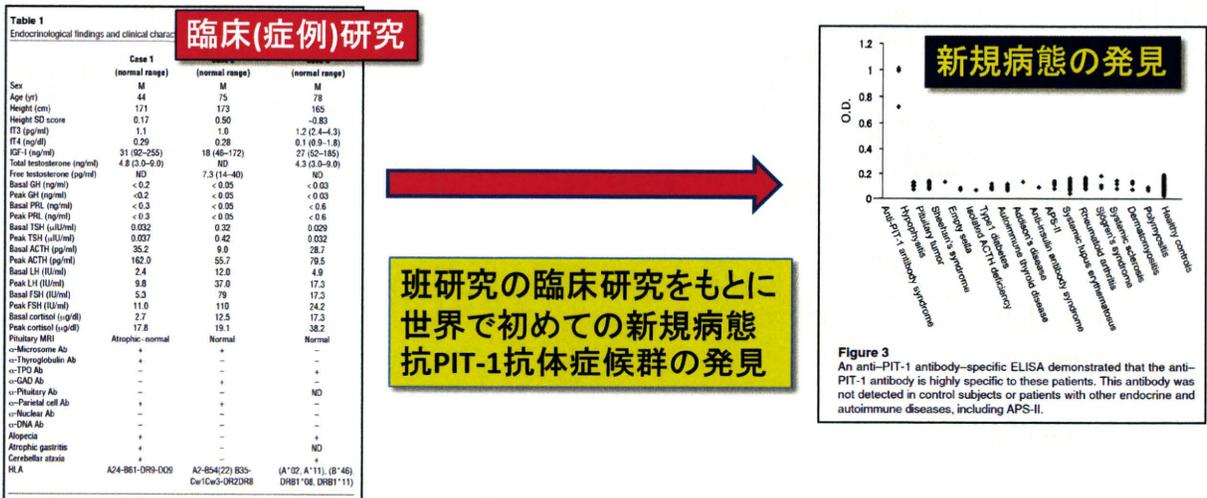
炎、1型糖尿病、副腎炎、胃炎、肝炎を合併していたことから自己免疫性内分泌腺症候群 (APS) 類縁疾患と考えられた (図1)。

一方がん治療のため甲状腺領域を含む放射線照射を受けた群：放射線治療群と化学療法のみ群：化学療法群に分けて評価した結果、両群のFT3、FT4の基礎値に差がないものの、放射線治療群のTSH基礎値は有意に高値であった。このTSH高値の患者に対しTRH負荷試験を施行したところTSHの過剰遅延反応を認めた。

・長期予後関連調査

対象患者の解析の結果、1) 発症から数十年を経過している患者や80歳を超える高齢者患者が存在すること、2) 性腺ホルモン補充が50%以下にとどまっているのに対し比較的新しい治療法である成人におけるGH補充療法が3割に達していたこと、3) 先端巨大症に対する治療について多様性を認めたこと、4) 糖尿病を含む耐糖能異常、高血圧症、脂質異常症といったいわゆる生活習慣病の合併が多いことが再確認されたこと、5) 今

図1. 2010年度間脳下垂体機能障害に関する調査研究研究成果例



回対象とした4疾患では下垂体機能低下症とクッシング病でQOLがより障害されていたこと、が明らかとなった。

D. 考察

・自己免疫性下垂体疾患

病因となる下垂体自己抗原の探索の方法として自己抗体を用いた免疫沈降-ショットガン LC-MS/MS法を開発した。本法を用いた解析は過去報告されておらず最も広範囲で網羅的なLINHの下垂体自己抗原のプロテオーム解析であると考えられ、LINHで既に報告されている蛋白質の他に新規自己抗原候補をいくつか同定することが出来た。この方法はLINHの自己抗原解析に非常に有用な方法だと考えられた。また、今後、自己抗原候補の中から有効な診断マーカー、また病態を反映するようなバイオマーカーを開発するためには、臨床検体を収集し大規模な検証が必要であると考えられた。

・下垂体疾患の診断標準化に向けたホルモン基準値の設定

今回の検討から、各種測定法の変動域を考慮する必要性が明らかとなり、この幅を考慮しこれまでに施行したDex抑制試験の結果を再検討したところ、CDの診断には影響なかったが、subCDの診断能力がやや低下した。

・バゾプレシン(AVP)

家族性中枢性尿崩症モデルにおけるバゾプレシンmRNAの発現低下が遺伝子転写活性の低下ではなくmRNAの安定性に起因することが示唆された。同じく視床下部視索上核に発現するオキシトシンmRNAが同モデルマウスと野生型マウスとの間で発現レベルに有意な差を認めないことから、こうしたmRNAの変化はバゾプレシンニューロンが

小胞体ストレスにさらされていることに起因している可能性が示唆された。

またラトケ嚢胞の検討では、その部位は鞍内部に局限したものが1例、鞍内から鞍上部にかけて進展したものが2例、1例は鞍上部に首座を置くものであった。下垂体柄を圧排するラトケ嚢胞では、視床下部障害型の内分泌異常をきたし、下垂体機能低下症、中枢性尿崩症を示す特異例が認められることが示された。

・成長ホルモン(GH)

成人GHDでは高頻度に肝機能障害を合併していた。今回の検討ではGH治療後脂質異常症の明らかな改善は見られなかったが、肝機能障害は有意に改善を認めた。これは脂質代謝の改善を介さないGH/IGF-Iの作用によるものと考えられた。

また、GHomaでは手術単独での治癒例に関する限り、術後GHDの発生頻度は少なく、GHD群においてもIGF-I濃度は保たれていた。

また自発分泌の有無と病理所見、GH/IGF-I基礎値、*gsp*変異の有無には一定の関連はなく、予想よりも複雑な要因が関与していると考えられた。Hardy分類でgrade Iの腺腫はすべて自発分泌があり、腺腫が小さい場合は自発開口分泌が観察される可能性が考えられた。自発分泌の見られる腺腫はすべて高Kにより分泌が促進された。分泌が著明に促進される腺腫8例はすべてdensely granulated adenomaであった。分泌促進は*gsp*変異のある腺腫で有意に多く見られた。

さらに*gsp*変異がGsaの持続的活性化を引き起こすことにより、オクトレオチドのソマトスタチン受容体の下流のMAPKやPI3K経路を介するMLL/p27^{Kip1}経路の活性化も抑制されていることが示唆された。

一方、今回の検討でPRRが下垂体で発現

し、GH分泌に関連することを初めて明らかにした。PRRが細胞生命の維持や発達分化に重要なWntシグナルの機能を担っている可能性があり、Wntシグナルは癌や腫瘍増殖と関連することから、下垂体腺腫の腫瘍発生や増殖におけるPRRの役割の検討が必要である。

・ACTH

RAR α によるPOMC遺伝子発現増加作用は、NeuroD1とRAR α の相互作用およびTpit発現を増加させることが明らかになった。

またCushing様の特殊な症例の検討からは、下垂体前葉細胞の40～50%にACTH陽性細胞を認め、下垂体全体にまだらだがび慢性に分布し、さらに胞巣構造が保たれていたことより、corticotroph hyperplasiaと診断した。血中CRHは正常範囲で、下垂体からのCRF産生は免疫染色より否定され、明確な病因は不明であるが今後同様の病態を集積し検討する必要がある。

・プロラクチン

マクロプロラクチンは血中からのクリアランスの低下により高PRL血症を呈するが、それ自身の生物活性は低いため、臨床症状を欠く症例が多かった。本疾患が真に良性の病態かを明らかにし、日本での診断・治療指針を早期に定める必要がある。

一方、鞍内限局型の非浸潤性PRLomaの場合、被膜外摘出を行うことにより、報告されている薬物療法のコントロール率と同様の成績が得られ、また術前後で下垂体機能低下を示唆する所見は無かった。術後低ナトリウム血症の発現が多かったが、被膜内摘出群と比較し、統計学的有意差は認めなかった。

またKIAA1324/mab1はS-S結合を介して複合体を形成していると想定され、KIAA1324/mab1の結合因子を同定することにより機能

が解析の一助となる可能性が示唆された。

・ゴナドトロピン

今回の研究をもとに、Bisulfite sequence法を用いた検討とともに、DNAメチル化酵素および転写因子発現との関連性について今後検討を進める必要がある。

・下垂体機能低下症

今回新たに発見された病態においてはPIT-1発現細胞に対する特異的免疫反応が原因となった可能性が考えられた。その原因について解析を進めたところ、B細胞機能を調節し免疫寛容に重要な分子に同一の遺伝子変異を全例に認めた。この変異の意義についてさらに解析が必要である。

・長期予後関連調査

今回対象とした間脳下垂体機能障害としての4疾患では下垂体機能低下症とクッシング病でQOLがより障害されていた。間脳下垂体機能障害患者に対する最善の治療の選択決定にはこうした面からも検討が必要である。

E. 結論

本班の横断的課題については、新規疾患単位の診断基準・治療法の検討、基礎的研究に基づく新規診断・治療法の開発と臨床展開、間脳下垂体疾患の診断・治療ガイドラインの逐年的改訂、独自疾患データベースの運用、下垂体疾患に関する未承認薬導入、特定疾患治療研究事業対象7病態の認定基準・個人票改訂、間脳下垂体機能障害に関する調査研究班主催公開セミナー開催など各方面から幅広い研究活動を行った。

また代表的研究については以下に主要な結論を示す。

・自己免疫性下垂体疾患

LINHにおいて本76kD蛋白に対する自己抗体は疾患特異度・感度がともに優れてい