

された割合は、G1で9/10人(90.0%)、G2で4/8人(50.0%)であった。

現在までの一般不妊100症例程におけるFSHレセプターのアミノ酸680番の多型の頻度はAsn/Asn:Asn/Ser:Ser/Serは51:42:7でありSer/Serの症例が欧米の報告に比較して明らかに少ない傾向にある。又Ser/Serの症例では基礎FSHが高く、FSH製剤に対する反応性が低いと考えられる。

画像的に多嚢胞性卵巣所見を認め、さらに排卵障害を認めた人のうち、G1ではほぼ全員がPCOSと診断されたが、G2ではPCOSと診断されたのは半数であった。これはFSHレセプターの遺伝的多型により、G2では有意差は認めなかったが基礎FSH値が高値になりやすい傾向にあるため、日本におけるPCOSの診断基準を満たさない症例が含まれる可能性が示唆された。

細胞レベルでの機能解析として、293細胞を用いての発現実験として、ヒトFSHレセプターのそれぞれの多型をPCRで組成した。それぞれを発現ベクターに導入して、プラスミドを増幅して、cDNAトランスフィクションに使用した細胞を用いて実験を行った。いずれの多型のレセプターにおいてもFSHに対する用量反応においては同様であり、他の研究室からの報告と同様にcAMP産生能におけるFSHに対するレセプターの機能に相違は見られなかった。

このため、FSHレセプターが二量体を形成して機能する可能性を重視して、ワイルドタイプのレセプターを恒常的に導入した細胞を用いて、それぞれのレセプターをcDNAを追加で細胞に導入することでFSHに対する反応性をcAMP産生能に関して観察したが、有意差を認めることができなかった。

レセプターの脱感化に関する実験として、各レセプターを導入した細胞にFSHを時間間隔をとって複数回添加することにより、レセプター機能の回復に要する時間を観察すると、各レセプター間での若干の相違がみられる実験結果となったが、再現性を検討すべき段階である。

D. 考察

女性不妊症患者では680Ser/SerはFSH製剤に対する反応性が不良と報告されている(JCEM 90:4866-4872,2005)が、男性の成績では680Serの存在する方が、FSH製剤に反応して精子数が増加する(Int J Androl.2010Jun 20)とされ、FSHレセプター多型の機能についての成績に不一致がある。又、多型の分布についても地域差があり、たとえば680Ser/Serの分布は欧米では24%と報告されているが、我々の日本人100例ほどの検討では10%に満たない。これらレセプターの機能解析については、アミノ酸配列の異なったFSHレセプターに相応するcDNAの発現系で検討されているが、ホルモン結合能とcAMP産生を指標にする検討では、FSHに対する反応性に相違はみられていない(JCEM 92:2321-2317, 2007)、このためin vivoにおけるFSH製剤に対する反応性の相違を説明できるin vitroの実験結果が存在しないのが現状である。

今回の検討は、本邦のPCOSの患者におけるFSHレセプターの遺伝子多型を調査し、アミノ酸配列とゴナドトロピン製剤に対する反応性の相関を明らかにすることが可能と考えられた。このことにより、排卵誘発における個別化を可能にし、多胎妊娠や卵巣過剰症候群などの合併症を予防することで安全性の高い医療を提供することにつな

げられると予想される。さらに、FSHレセプターの機能解析には我々が確立している恒常的FSHレセプター発現細胞を用いて、アミノ酸の変異がレセプターの二量体化またはDown regulationに影響する可能性について検討する必要がある。

FSHレセプターからのシグナルはレセプターのリン酸化やInternalizationによりFSHレセプターからのシグナルがオフとなり(termination)、さらなるシグナルに対しレセプターが不応となりいわゆる脱感作(desensitization)の状態になる。

リガンドであるFSHがラットFSHレセプター結合するとラットFSHが活性化し、第1、第3細胞内ループのセリン/スレオリン残基がリン酸化される。このリン酸化はGRK(G-protein coupled receptor kinase)により行われ、レセプターが活性化されると β -arrestinと呼ばれるタンパクと結合しレセプター/ β -arrestin complexを形成する。これによって、レセプターとGタンパクとの連絡が阻害(uncoupling)されレセプターの脱感作(desensitization)が起きる。さらにこのレセプター/ β -arrestin complexはclathrin-coated pitに作用しレセプターのinternalizationを促進する。膜表面のレセプターはendocytosisにより膜表面より排除され、さらなるホルモンの刺激に対してレセプターは不応となるため、internalizationはGPCRの脱感作(desensitization)のための一つの様式といえる。FSHレセプターのSNPs680アミノ酸部位は細胞内にあるため、これらのレセプターの修飾に関与する可能性があり、脱感作の関連についても検討する予

定である。

E. 結論

FSHレセプターのSNPsの発現には人種間で相違があり、608Ser/Serは欧米に比較してアジア人では少ない傾向にある。このことは、日本人の場合はFSHに反応性の低いFSHレセプターの分布が少ないことになり、FSHには反応性の良いレセプターがより多数を占めていることになる。この傾向と欧米でのPCOSにおいてアンドロゲンが高値であり、アジア人でこの傾向が少ないことを考え併せると、FSHが有効に作用する環境下ではアンドロゲンは容易にE2に芳香化を受けるので、アジア人のアンドロゲンが低いのはFSHレセプターの機能の相違に関連性があるかもしれない。しかし、これらSNPsのもつFSHレセプターの機能に対するin vitroの機能解析は不十分であり、今後の研究の進展が必要である。一方、今回の結果は日本のPCOSの評価基準のLHとFSHのそれぞれの絶対値を用いて比較することを含んでいるため、欧米の基準より厳しいものとなり症例の範囲が狭められている可能性を示すものである。同一疾患を世界的レベルで検討する際には、この診断基準の不一致は是正されるべきものであると考える。

一方で、疾患の世界的分布の相違と何らかの有意な因果関係をもつ遺伝子的相違が明らかになれば、病態の不明である疾患であるがゆえに、有益な病態解明のためのヒントを与える可能性があり検討の必要性があると考えた。

プロラクチン(PRL)産生腺腫における ドパミン作動薬抵抗性の機序

研究分担者	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
研究協力者	島津 智子	国立がん研究センター研究所家族性腫瘍研究分野
	山田 正三	虎の門病院間脳下垂体外科
	白井 健	国立病院機構京都医療センター臨床研究センター
	井下 尚子	虎の門病院病理部
	塚田 俊彦	国立がん研究センター研究所家族性腫瘍研究分野

研究要旨: ドパミン作動薬は感受性のあるプロラクチン(PRL)産生腺腫でPRL値の正常化と腫瘍の縮小をきたすが、当初から抵抗性を示したり、治療継続中に新たに抵抗性が出現する(二次無効)場合がある。外科手術を行った12例を対象に、D₂受容体の遺伝子発現、蛋白膜発現および遺伝子メチル化についてドパミン作動薬抵抗性機序を検討した。ドパミン作動薬によるPRL値減少と腫瘍縮小効果から著効群(5例)、抵抗群(5例)、二次無効群(2例)に分類した。D₂受容体サブタイプにはD₂ロング(D₂L)とD₂ショートがあり、D₂L mRNA発現量は、著効群と比し抵抗群で明らかに低下し、二次無効群でより一層の低下がみられた。免疫組織化学による細胞膜のD₂R蛋白発現は腺腫により大きく異なっていた。D₂受容体遺伝子のプロモーターから第1エクソンにある36個のCpG部位はいずれもメチル化されていなかった。

以上の結果から、PRL産生腺腫におけるドパミン作動薬抵抗性は、D₂L mRNA発現の低下と密接に関連し、D₂受容体遺伝子のメチル化による発現低下の関与は少ないと考えられた。

A. 研究目的

プロラクチン(PRL)産生腺腫(プロラクチノーマ)の治療の第一選択はドパミン作動薬による薬物療法であり、多くの腺腫が薬剤感受性である。しかしその感受性は腺腫により異なることが知られている。ドパミン作動薬に対して十分な反応性を示さず、治療に難渋する場合がある。ドパミン作動薬抵抗性機序はまだ十分明らかでなく、腫瘍の縮小効果と血中PRL値の低下から評価したドパミン作動薬感受性と腫瘍におけるドパミンD₂受容体の発現との関係について検討を加えた。副作用のためドパミン作動薬の継続が困難で十

分な治療効果が得られない不耐性は、抵抗性と明確に区別する必要がある。

B. 研究方法

1. 対象

虎の門病院間脳下垂体外科にて外科手術を行ったPRL産生腺腫12例を対象とした。ドパミン作動薬に対するPRL値および腫瘍縮小の反応性から、著効群、抵抗群および二次無効群の3群に分類した。手術を選択した理由は、薬剤無効、薬剤不耐、患者の希望、髄液鼻漏、妊娠などであった。組織検査ではいずれもPRL免疫染色がほとんどの細胞で陽

性であった。表1に、臨床データおよび組織におけるMIB-1係数とp53免疫染色の結果を提示した。

2. 方法

PRL産生腺腫の手術摘出組織におけるドパミンD₂受容体mRNAと蛋白の発現を解析し、さらにドパミンD₂受容体の発現を規定する遺伝子変化を明らかにするため、ドパミンD₂受容体遺伝子のプロモーター領域の変異とメチル化の状態を検索した。

ドパミンD₂受容体のshortとlongの2種類のアイソフォームmRNA量の測定は、それぞれ特異的プライマーを設定し、定量的RT-PCR法により行った。*DRD2*遺伝子プロモーター領域をDNAシークエンスし、変異の有無を検索した。同部位のメチル化解析にはバイサルファイト法を用いた。D₂R蛋白の発現は、特異的抗体による免疫組織化学により検索した。

(倫理面への配慮)

患者の診療情報を用いるため、「個人情報の保護に関する法律」、「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」などを遵守し、個人を特定できる情報を削除した診療情報のみを解析し、個人情報の保護を図るとともに、所属施設の倫理規程を遵守した。遺伝子変異の解析には、研究機関における倫理審査の承認を受け、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守して行った。

C. 研究結果

1. D₂受容体mRNA発現

PRL産生腺腫におけるD₂受容体mRNA発現量は、著効群に比し抵抗群および当初ドパミン作動薬感受性があったものの長期使用の後に二次無効となった群において明らかに低

下していた。

2. D₂受容体アイソフォームのmRNA発現(図1)

D₂受容体のlongおよびshortのアイソフォームmRNAの発現の検討で、正常下垂体およびPRL産生腺腫においていずれもlongアイソフォームが優位であった。PRL産生腺腫において著効群に比し抵抗群および二次無効群でlongアイソフォームが明らかに低下していたが、shortアイソフォームでは有意な差を認めなかった。

3. D₂受容体蛋白の発現(図2)

D₂受容体蛋白の免疫組織化学では、D₂受容体は細胞質のみならず細胞質や核にも染色された。D₂受容体蛋白の細胞膜における染色性を半定量化し、ドパミン作動薬に対する反応性との関係を検索したが、明確な関連性を認めなかった(表1)。

4. *DRD2*遺伝子のプロモーター領域における変異およびメチル化

D₂受容体の遺伝子発現規定要因として、D₂受容体遺伝子プロモーター領域(転写開始点から-103bpと+133bpの領域)の変異とシトシンメチル化の程度を比較検討した。PRL産生腫瘍ではドパミン作動薬感受性の有無にかかわらず、プロモーター領域の変異はなく、メチル化もほとんど認めなかった。正常下垂体でも同様の結果であった。

D. 考察

今回、PRL産生腺腫のドパミン作動薬感受性とD₂受容体の発現との関連について検討した。

1. ドパミン作動薬抵抗性の定義

PRL産生腺腫の薬剤反応性を論じる場合、臨床症状の改善(女性における排卵性月経周期の回復や妊孕性の獲得など)、血中PRL値の正常化および腫瘍の縮小効果の3点を考慮

する必要がある¹⁾。薬剤反応性には、用いるドパミン作動薬の種類、用量、投与期間に大きく影響される。また、PRL産生腺腫自身の反応性も、全く効果を認めない完全無効例から、PRL値は正常化するも腫瘍が縮小しない例、逆に腫瘍は縮小するがPRL値は正常化しない例、またPRL値の正常化と腫瘍の縮小・消失が得られる寛解例まで多種多様であり、抵抗性(感受性)は恐らく連続したスペクトラム上にあると考えられる。

このためドパミン作動薬抵抗性の定義およびカットオフに用いるドパミン作動薬の用量はいまだ一致した見解がない。米国内分泌学会の診療ガイドライン²⁾では「耐えられる最大投与量でPRL値の正常化または50%以上の腫瘍縮小効果を認めない場合」と定義している。これまでプロモクリプチン(BC)の場合15mg/日以上で3か月以上の投与が基準とされてきた。現在、標準治療薬であるカベルゴリン(CAB)では3か月間3.5 mg/週以上の投与が治療抵抗性の一応の目安となっているが、CAB 1.5 ~ 3 mg/週以下の投与量でもPRLの正常化を認めない、あるいは腫瘍が縮小しないものは反応不良群と捉えることができよう。

2. ドパミン作動薬抵抗性腺腫の特徴

臨床用量でPRL値の正常化を認めない例はBC 25%、CAB 5~10%、50%以上の腫瘍縮小効果を認めない例はBC 30%、CAB 5%である³⁾。CAB 1.5 mg/週の投与でPRL産生腺腫の83%⁴⁾、3 mg/週以上の投与では全例がコントロールできたとする報告⁵⁾、CAB 7 mg/週まで投与してもPRL産生腺腫の18%、微小腺腫の10%はPRL値の正常化を得られなかったとする報告⁶⁾があり、対象とするPRL産生腺腫の性格に依存すると考えられる。CABに部分的抵抗性を示す症例では

CAB増量により治療効果が期待できる。

一方、当初は効果がみられるものの数年の経過で効果が消失する二次無効例⁷⁾は非常に稀であり、今まで10例に満たない。自験例では、BC 10-15 mg/日やCAB 1 mg/週で数年間有効であったが、急速にPRL値の著増と腫瘍増大をきたし、CAB 9 mg/週でも全くコントロールできず再手術と放射線療法を行った⁸⁾。

ドパミン作動薬抵抗性PRL産生腺腫の臨床的特徴⁹⁾として、男性に多い(57%)、海綿静脈洞浸潤がある(71%)、大型腺腫が比較的多く(63%)、組織学的変化として、血管新生の増加、細胞異型、増殖能および浸潤性の増大、が挙げられている。WHO分類(2004)における異型腺腫(atypical adenoma)¹⁰⁾は、核分裂像を認め、MIB-1(Ki-67)係数が3%以上、多数の細胞でp53が陽性と定義され、二次無効を示した自験例はこれに該当する。転移を認めるPRL産生下垂体癌¹¹⁾も治療抵抗性を示すが、異型腺腫を経過して悪性化するかどうかは明らかでない。ドパミン作動薬抵抗性PRL産生腺腫で異型腺腫がどれくらいを占めるのかも未だ不明である。

3. ドパミン作動薬抵抗性の機序

ドパミン作動薬はPRL産生細胞のドパミンD2受容体(D2R)に結合し、PRL合成を抑制する。D2Rは7回膜貫通型のG蛋白共役型受容体で、shortとlongの2つのアイソフォームが存在する。エクソン6の選択的スプライシングにより第3番目の細胞内ループに存在する29個のアミノ酸が異なる。D2Rと共役するG_{q/12}はアデニルシクラーゼ(AC)やフォスホリパーゼC(PLC)を抑え、PRLの転写を抑制する。G_oも結合しカルシウムチャネルの流入を抑制し、細胞増殖を抑える。shortとlongアイソフォームは細胞内機構の

効率や共役するG_{α12}のタイプが異なり¹²⁾、in vivoにおける作用にも相違があると報告¹³⁾されている。

PRL産生腺腫のドパミン作動薬抵抗性機序はまだ十分明らかでないが、D2R自身から細胞内情報伝達、PRL遺伝子の転写調節、PRL分泌調節、細胞増殖機構など様々なステップにおける障害が想定されている。これまでにD2R遺伝子に体細胞変異の報告はない。D2Rと細胞内情報伝達に関する重要な知見として、Pellegriniらの研究成果¹⁴⁾を紹介する。培養細胞からのPRL分泌はBCにより対照群で基礎分泌の70%以上に抑制されたが、BC抵抗性腺腫では軽度の抑制にとどまった。また細胞膜を用いたspiroperidolによるD2Rへの結合はBC抵抗性腺腫では対照群の約1/2に、治療中に腫瘍増大を認めた5例では約1/10に減っていた。細胞質AC活性は、ドパミン添加により対照群で平均30%、抵抗性腺腫で平均16%の抑制効果がみられたが、腫瘍増大の5例では逆に平均26%の増大が観察された。抵抗性腺腫におけるD2Rの減少と細胞内機構の質的異常が示された。

抵抗性腺腫におけるD2R遺伝子発現を調べた成績¹⁵⁾¹⁶⁾では、D2R mRNAは感受性腺腫と比較して明らかに低下していた。今回の検討¹⁷⁾でも、CABに対する反応が不良な群では著効群に比べD2R mRNAは約1/2に低下し、二次無効群においても1/9に低下していた。免疫組織化学によるD2R蛋白の発現¹⁷⁾では、mRNA発現との間に明らかな相関関係を認めなかったが、二次無効の1例で蛋白発現は完全に消失していた。

ドパミン作動薬抵抗性とD2Rアイソフォームとの関連では、shortとlongの比は抵抗性腺腫で低下していると報告¹⁵⁾¹⁶⁾された。今回、shortとlongそれぞれに特異的な

プライマーを設定しRT-PCRにて検討したところ、D2Rにおけるlongの割合がPRL産生腺腫では高く、D2R mRNAの低下はlongの低下に関連し、short / long比は抵抗性と関係しなかった。

D2Rに共役するG_{α12}の異常が報告¹⁸⁾されているが、腫瘍増大との関連は明らかでない。ごく最近、D2Rの細胞膜発現に重要な分子であるFilamin Aの発現がドパミン作動薬抵抗性腺腫において低下していたと報告¹⁹⁾されている。動物実験ではD2R遺伝子のプロモーター領域のメチル化が遺伝子発現のサイレンシングに重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。今回、ヒトD2R遺伝子のプロモーター領域においてメチル化の程度を検索し、PRL産生腺腫や正常下垂体では脱メチル化状態であることを明らかにした。

E. 結論

PRL産生腺腫について、ドパミン作動薬による腫瘍の縮小効果と血中PRL値の改善から評価したドパミン作動薬感受性と腫瘍におけるドパミンD2受容体の発現との相関を検討した。PRL産生腺腫におけるドパミン作動薬への抵抗性は、D2L mRNA発現の低下と密接に関連し、D₂受容体遺伝子のメチル化による発現低下の関与は少ないと考えられた。

参考文献

- 1) Gillam MP, Molitch ME, Lombardi G, Colao A. Advances in the treatment of prolactinomas. *Endocr Rev* 2006; 27: 485.
- 2) Melmed S, Casanueva FF, Hoffman AR, et al. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an Endocrine Society

- clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 273.
- 3) Molitch ME. Pharmacologic resistance in prolactinoma patients. *Pituitary* 2005; 8: 43.
 - 4) Delgrange E, Daems T, Verhelst J, et al. Characterization of resistance to the prolactin-lowering effects of cabergoline in macroprolactinomas: a study in 122 patients. *Eur J Endocrinol* 2009; 160: 747.
 - 5) Ono M, Miki N, Kawamata T, et al. Prospective study of high-dose cabergoline treatment of prolactinomas in 150 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 4721.
 - 6) Di Sarno AD, Landi ML, Cappabianca P, et al. Resistance to cabergoline as compared with bromocriptine in hyperprolactinemia: prevalence, clinical definition, and therapeutic strategy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5256.
 - 7) Behan LA, Draman MS, Moran C, et al. Secondary resistance to cabergoline therapy in a macroprolactinoma: a case report and literature review. *Pituitary* 2011; 14: 362.
 - 8) 島津智子, 山田正三, 島津 章, ほか. サイバーナイフが著効したドパミン作動薬抵抗性プロラクチン産生下垂体異型腺腫の一例 日内分泌会誌 2009; 85 Suppl 119.
 - 9) Oh MC, Aghi MK. Dopamine agonist-resistant prolactinomas. *J Neurosurg* 2011; 114: 1369.
 - 10) DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. Tumours of the pituitary. In *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs*. Lyon: IARC Press, 2004. p.10.
 - 11) Kars M, Roelfsema F, Romijn JA, Pereira AM. Malignant prolactinoma: case report and review of the literature. *Eur J Endocrinol* 2006 ;155: 523.
 - 12) Senogles SE, Heimert TL, Odife ER, Quasney MW. A region of the third intracellular loop of the short form of the D2 dopamine receptor dictates Gi coupling specificity. *J Biol Chem* 2004; 279: 1601.
 - 13) Iaccarino C, Samad TA, Mathis C, et al. Control of lactotroph proliferation by dopamine: Essential role of signaling through D2 receptors and ERKs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 14530.
 - 14) Pellegrini I, Rasolonjanahary R, Gunz G, et al. Resistance to bromocriptine in prolactinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 500.
 - 15) Caccavelli L, Feron F, Morange I, et al. Decreased expression of the two D2 dopamine receptor isoforms in bromocriptine-resistant prolactinomas. *Neuroendocrinology* 1994; 60: 314.
 - 16) Wu ZB, Zheng WM, Su ZP, Chen Y, Wu JS, Wang CD, Lin C, Zeng YJ, Zhuge QC. Expression of D2RmRNA isoforms and ER mRNA isoforms in prolactinomas: correlation with the response to bromocriptine and with tumor biological behavior. *J Neurooncol* 2010; 99: 25.
 - 17) Shimazu S, Shimatsu A, Yamada S, Tsukada T, et al. Resistance to dopamine agonists in prolactinoma is correlated with reduction of dopamine D2 receptor long isoform mRNA levels. *Eur J Endocrinol* 2012 (in press).
 - 18) Caccavelli L, Morange-Ramos I, Kordon

C, et al. Alteration of G alpha subunits mRNA levels in bromocriptine resistant prolactinomas. J Neuroendocrinol 1996; 8: 737.

- 19) Mantovani G, Peverelli E, Vitali E, et al. Filamin A is essential for the regulation of dopamine D2 receptor expression and signaling in tumoral lactotroph cells [abstract]. The 93rd Annual Meeting of the Endocrine Society, Washington, DC, June 4, 2011

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimazu S, Shimatsu A, Yamada S, Inoshita N, Nagamura Y, Usui T, Tsukada T. Resistance to dopamine agonists in prolactinoma is correlated with reduction of dopamine D2 receptor long isoform mRNA levels. Eur J Endocrinol, in press, 2012

- 2) 島津智子, 島津 章, 山田正三, 塚田俊彦. ドパミン作動薬抵抗性プロラクチン産生下垂体腺腫. 特集「高プロラクチン血症とプロラクチン産生下垂体腫瘍」, 内分泌・糖尿病・代謝内科, 54: 印刷中, 2012

2. 学会発表

- 1) 島津智子, 山田正三, 福原紀章, 西岡 宏, 佐野壽昭, 塚田俊彦, 臼井 健, 島津 章.

プロラクチン産生下垂体腺腫の薬剤抵抗性について. 第37回日本神経内分泌学会学術集会, 京都, 2010年10月23日

- 2) 島津智子, 山田正三, 福原紀章, 西岡 宏, 井下尚子, 佐野壽昭, 臼井 健, 島津 章, 塚田俊彦. プロラクチン産生下垂体腺腫におけるドパミン作動薬への耐性機序について. 第84回日本内分泌学会学術総会, 神戸市, 2011年4月22日 (O2-8-19)

- 3) Shimazu S, Nagamura Y, Yamada S, Usui T, Shimatsu A, Tsukada T. Possible mechanisms of resistance to dopamine agonists in prolactinoma. 93rd Annual Meeting of the Endocrine Society, ENDO 2011, Boston, June 4, 2011 (P1-407)

- 4) Shimazu S, Tsukada T, Nagamura Y, Yamada S, Fukuhara N, Nishioka H, Inoshita N, Usui T, Shimatsu A. The resistance to dopamine agonists in prolactinoma is correlated with the reduction of D2L receptor mRNA. 70th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Nagoya, Oct.5, 2011 (P-2440).

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

表1. 今回検討したPRL産生腺腫12例の臨床データ

症例	年齢/性別	PRL (ng/ml)		腫瘍径(mm)		最大治療量, 投与期間	副作用	MIB-1	P53	D ₂ R ^c	分類	
		前	後	前	後(縮小率(%))							
1	45/M	3000	54	25	10 (-60%)	20 ^b	Cab 1 mg/w, 9年	-	> 3%	+	0	二次無効群
2	58/F	240	29	20	7 (-65%)	17 ^b	Cab 9 mg/w, 6年	-	> 3%	+	1+	二次無効群
3	20/F	267	41	7	7 (0%)		Cab 1 mg/w, 2年	-	> 3%	-	1+	抵抗群
4	23/F	225	99	15	15 (0%)		Cab 1 mg/w, 3年	悪心	> 3%	-	3+	抵抗群
5	34/F	108	72	13	13 (0%)		Cab 1 mg/w, 3年	-	> 3%	+	2+	抵抗群
6	23/F	262	55	11	13 (+18%)		Cab 1 mg/w, 2.5年	-	> 3%	-	2+	抵抗群
7	59/M	2577	475	25	25 (0%)		Cab 9 mg/w, 15年	-	> 3%	+	1+	抵抗群
8	26/M	13 ^a	0.6	N.D.	N.D.		Cab 0.5 mg/w, 1年	-	> 3%	-	2+	著効群
9	32/M	15 ^a	0.7	N.D.	N.D.		Cab 0.5 mg/w, 1年	-	> 3%	+	1+	著効群
10	52/M	1700	36	20	N.D.		Cab 0.5 mg/w, 4年	髄液漏	< 3%	-	1+	著効群
11	32/F	116	16	5	N.D.		Ter 1.5 mg/d, 3か月	悪心	< 3%	-	2+	著効群
12	24/M	58	4	18	14 (-22%)		Cab 0.25 mg/w, 6か月	動悸	> 3%	+	1+	著効群

^a TSS後 ^b 4年間ドパミン作動薬に効果があり、その後耐性となった

^c D₂R 免疫組織化学スコア: 0 = 陰性, 1+ = 細胞質に陽性, 2+ = 50%以下の細胞で膜に陽性, 3+ = 50%異常の細胞で膜に陽性
N.D. = MRI上見えず Cab = カベルゴリン, Ter = テルグリド.

図1. D2R mRNAアイソフォームの発現量

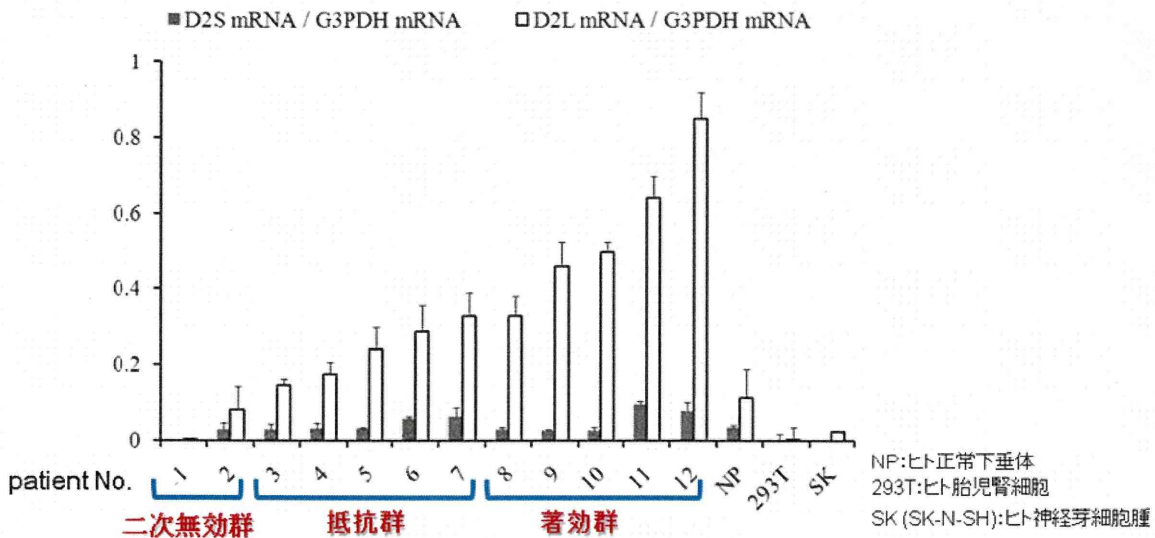
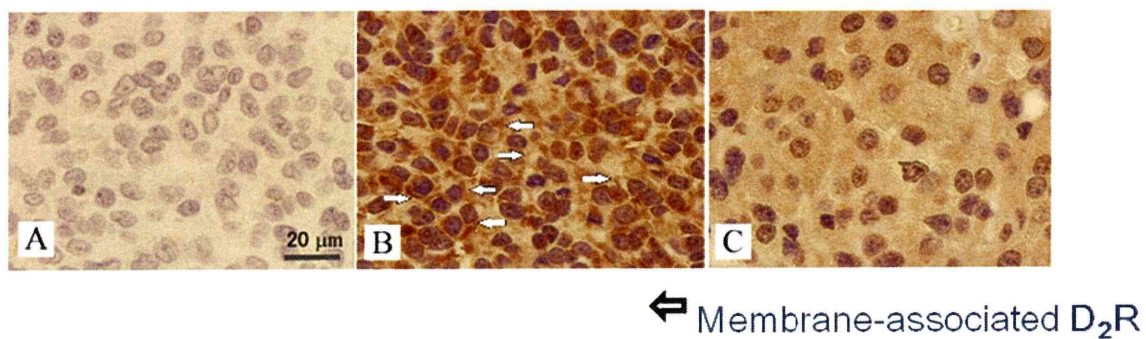
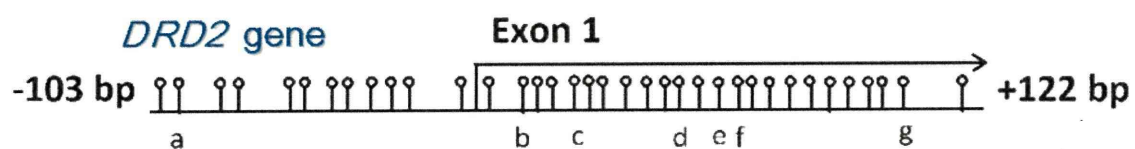


図2. D2R 蛋白の免疫組織化学



A: 症例 #1 蛋白発現の消失, B: 症例 #4 膜に発現, C: 症例 #12 細胞質に発現

図3. DRD2 遺伝子の 36 CpG sites におけるメチル化解析



間脳下垂体疾患データベースによる長期予後調査

研究分担者 横山 徹爾 国立保健医療科学院人材育成部
研究協力者 置村 康彦 神戸女子大学家政学部
千原 和夫 兵庫県立加古川医療センター

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、主観的健康観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、2012年1月までの約5年間で、先端巨大症97例、プロラクチノーマ68例、クッシング病16例、下垂体機能低下症149例、バソプレシン分泌低下症45例、計375例が登録され、診断時からの経過年数は 4.8 ± 2.6 年（平均 \pm SD）となった。登録時データの入力完了した症例についての基本集計と、一部の症例に対する短期的な縦断分析を試みた。

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、QOLや主観的健康観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。

間脳下垂体機能障害研究班では、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)}、2006年度より間脳下垂体疾患データベースの登録を行ってきている。本年度は、2012年1月までの登録データについての基本集計と、一部の症例に対する短期的な縦断分析を試みた。

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、(6)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(平成21年度まで)またはFAX(平成22年度以降)で調査票を事務局に送付し、データベースに登録する。連結のためのID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。登録後は、担当医に対して定期的に追跡調査の依頼を行う。また、毎月1度、症例の登録状況を「マンスリーレポート」として事務局より送付する。

(4) 解析計画

詳細は解析計画として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。

追跡期間がまだ短いことと追跡データの登録が未完了な症例が多いため十分な縦断的な解析はできないが、追跡状況について確認するとともに、登録時データの入力が完了した症例について①と③の解析を行い、また、短期的な縦断分析を試みた。

(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

2011年1月5日現在で、先端巨大症97例、プロラクチノーマ68例、クッシング病16例、下垂体機能低下症149例、バソプレシン分泌低下症45例、計375例が登録された(図1)。性年齢階級別人数は表1および図2の通りである。症例の診断年は2002年以降近年のものほど多いが、推定発症年は明確には分からないものも多い(図3)。

(2) 追跡状況

診断時からの経過年数は 4.8 ± 2.6 年(平均

±SD)である。診断年別にみた最大追跡年数の分布は表2の通りであり、平均(±SD)で1.3±2.4年であり、今後も定期的な確認が必要である。

(3) 診断時症候

診断時調査項目等が未入力のものを除き、それぞれの疾患の診断時症候を集計した結果を図4-1～4-5に示す。

(4) 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(図5)。「健康上の問題で日常生活に影響のある者の割合」は、「日常生活動作」、「外出」、「仕事・家事・学業」、「運動」のいずれも、一般集団よりも高い傾向があった。疾患別にみると、特にバゾプレシン分泌低下症で高い。

(5) 登録後2年間の変化

登録後1～2年目の追跡データが登録された一部の症例について、「健康上の理由で日常生活に影響のある者の割合」と「主観的健康観」の経年的変化を縦断的に分析した結果を図6～7に示す。いずれの割合も、有意に改善していることが確認できる。

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。登録開始から5年間で375例が登録されたが、今後も疾患別の分析のための追加登録と、縦断的な追跡の継続が必要である。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。本年度初めて、登録後1～2年目の追跡データが登録された一部の症例で縦断的な分析を試みたところ、「健康上の理由で日常生活に影響のある者の割合」と「主観的健康観」の改善傾向が確認された。今後、このような分析を治療法別に行うことにより、治療法とADLや症候等の改善との関係が明らかになることが期待される。そのためには、登録時情報を漏れなく収集することと、毎年の追跡調査を確実に行うことが重要である。追跡率を高めるための担当医への定期的な依頼法について、次年度以降、工夫を試みていく予定である。

E. 結論

間脳下垂体疾患データベースへの症例登録と追跡を継続している。今後、追跡調査を確実にを行い、追跡データがある程度蓄積した段階で、逐次、縦断的・横断的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

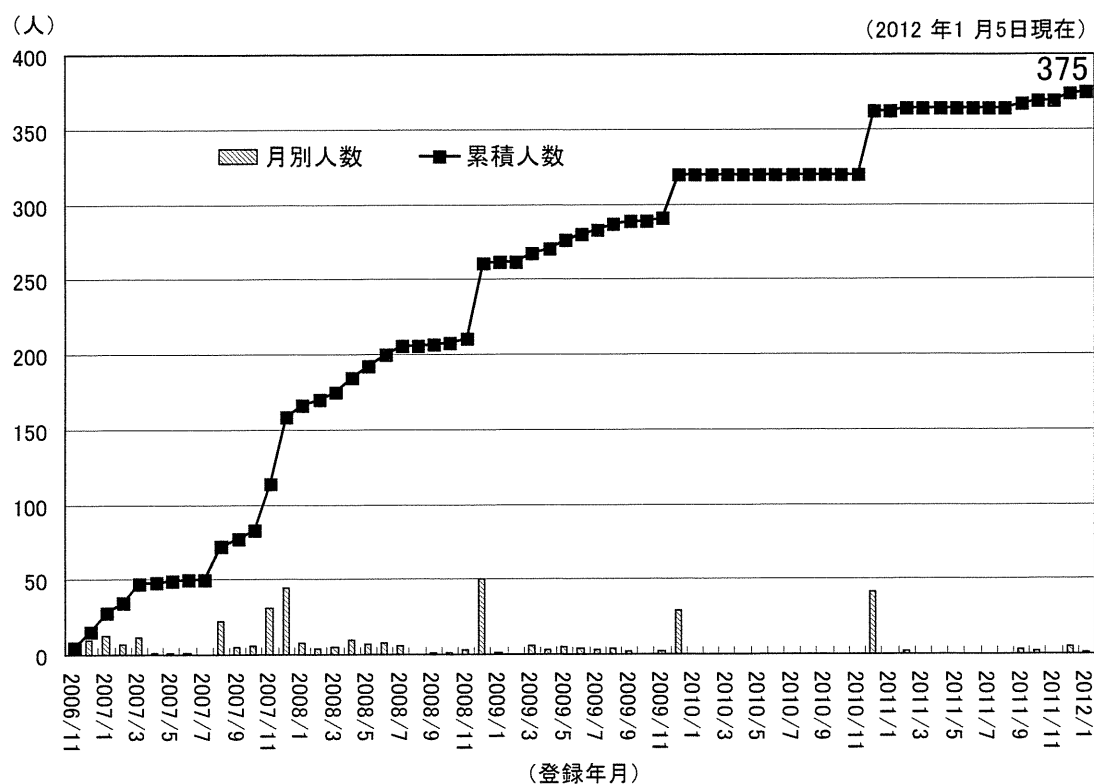


表1. 間脳下垂体疾患データベース疾患別登録数

2012/1/5現在

	計	年齢階級									
		0-	10-	20-	30-	40-	50-	60-	70-	80+	
1.先端巨大症	男	28	0	5	2	3	6	5	5	2	0
	女	69	0	1	0	6	14	25	15	8	0
	計	97	0	6	2	9	20	30	20	10	0
2.プロラクチノーマ	男	20	0	2	6	4	3	5	0	0	0
	女	48	0	7	20	11	7	2	1	0	0
	計	68	0	9	26	15	10	7	1	0	0
3.クッシング病	男	2	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	女	14	0	1	2	4	3	1	3	0	0
	計	16	0	1	3	4	4	1	3	0	0
4.下垂体機能低下症	男	75	1	5	5	11	7	12	23	9	2
	女	74	1	5	6	9	9	16	19	9	0
	計	149	2	10	11	20	16	28	42	18	2
5.パソプレシン分泌低下症	男	16	0	2	2	4	1	1	1	3	2
	女	29	0	2	5	6	7	4	3	1	1
	計	45	0	4	7	10	8	5	4	4	3
1~5計	男	141	1	14	16	22	18	23	29	14	4
	女	234	1	16	33	36	40	48	41	18	1
	計	375	2	30	49	58	58	71	70	32	5

図2. 登録症例の性・年齢分布

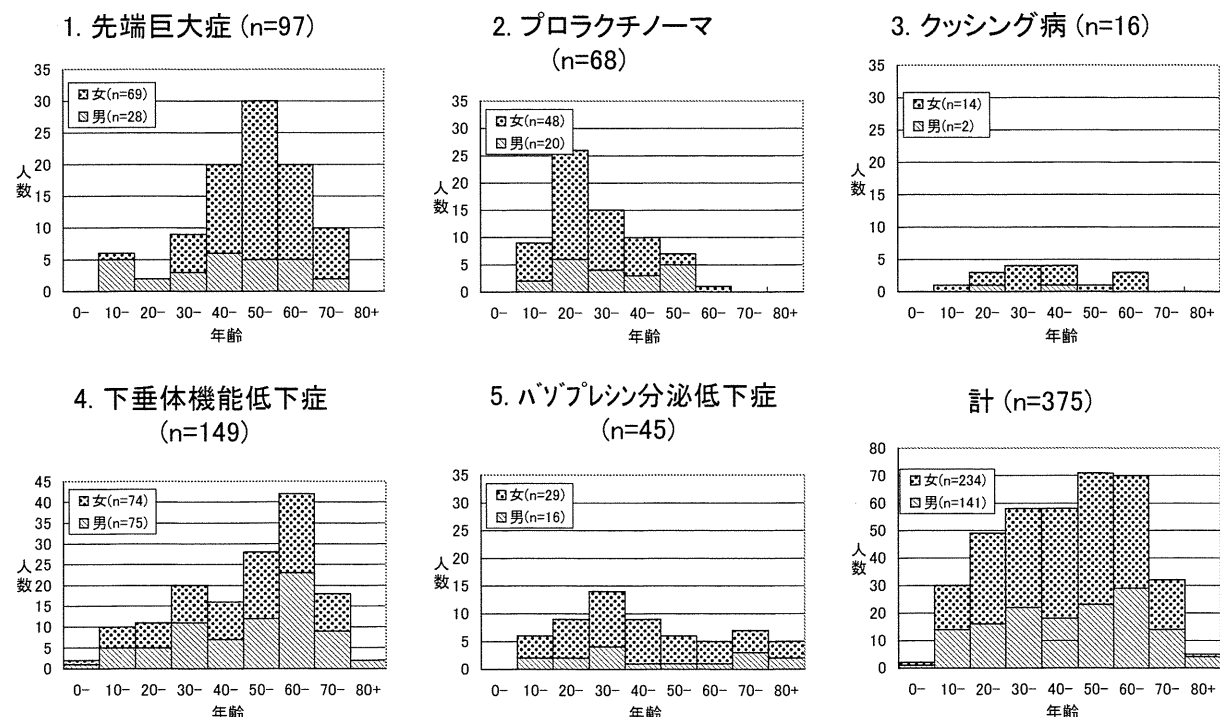


図3. 登録症例の診断年／推定発症年

(2012/1/5)

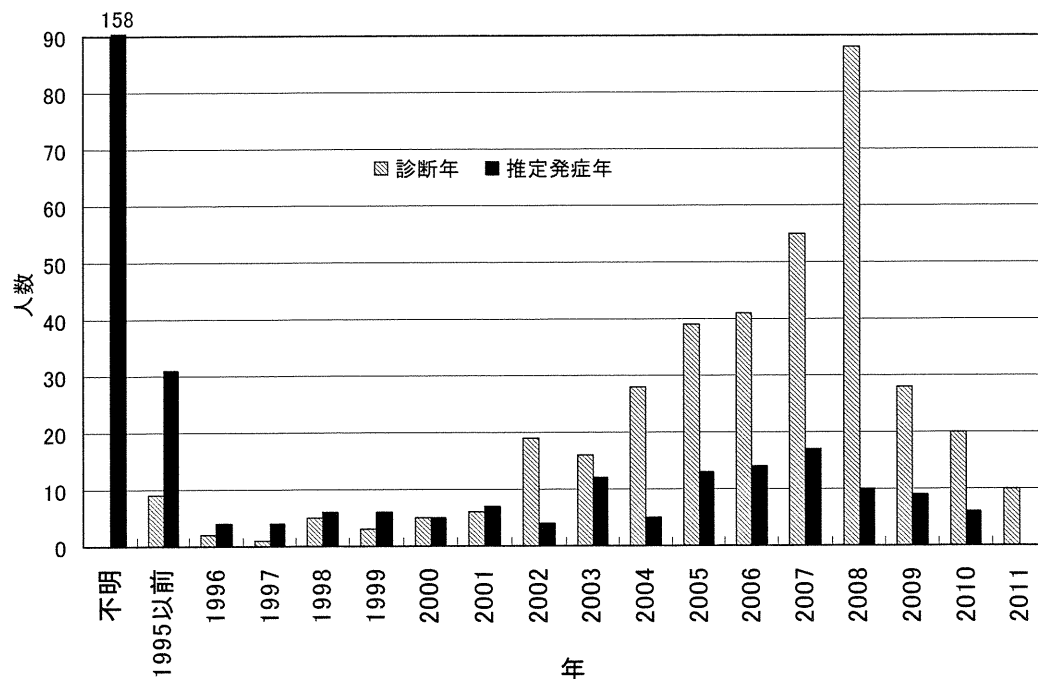


表2. 間脳下垂体データベース追跡状況

診断年	人数	最長追跡年数										
		0年	1年	2年	3年	4年	5年	6年	7年	8年	9年	10年
2001以前	31	61%	0%	0%	0%	0%	3%	0%	10%	0%	0%	26%
2002	19	58%	0%	0%	0%	5%	0%	21%	0%	11%	5%	-
2003	16	50%	0%	0%	19%	0%	13%	6%	13%	0%	-	-
2004	28	57%	0%	14%	7%	7%	0%	14%	0%	-	-	-
2005	39	46%	13%	3%	21%	10%	5%	3%	-	-	-	-
2006	41	63%	7%	12%	7%	5%	5%	-	-	-	-	-
2007	55	80%	4%	11%	5%	0%	-	-	-	-	-	-
2008	88	90%	0%	6%	5%	-	-	-	-	-	-	-
2009	28	96%	4%	0%	-	-	-	-	-	-	-	-
2010	20	100%	0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2011	10	100%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
合計	375	74%	3%	6%	6%	2%	2%	3%	1%	1%	0%	2%

図4-1. 先端巨大症：【診断時の症候】(n=97[男28, 女69])

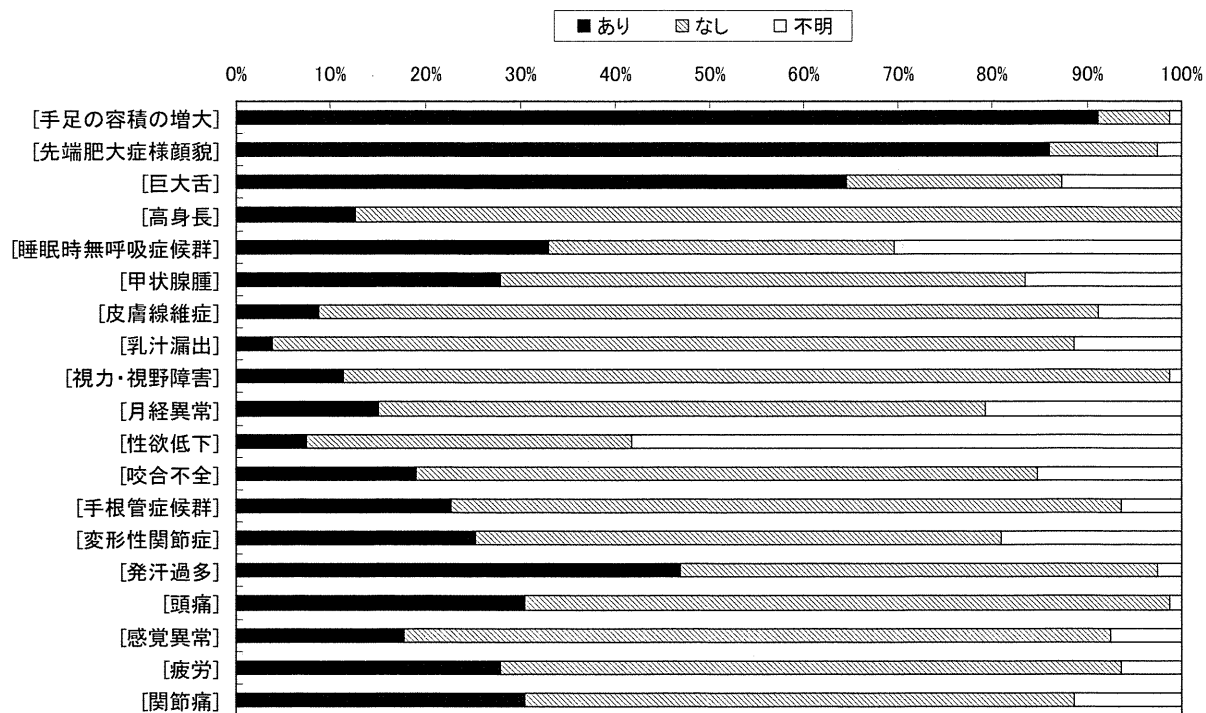


図4-2. プロラクチノーマ：【診断時の症候】(n=68[男20, 女48])

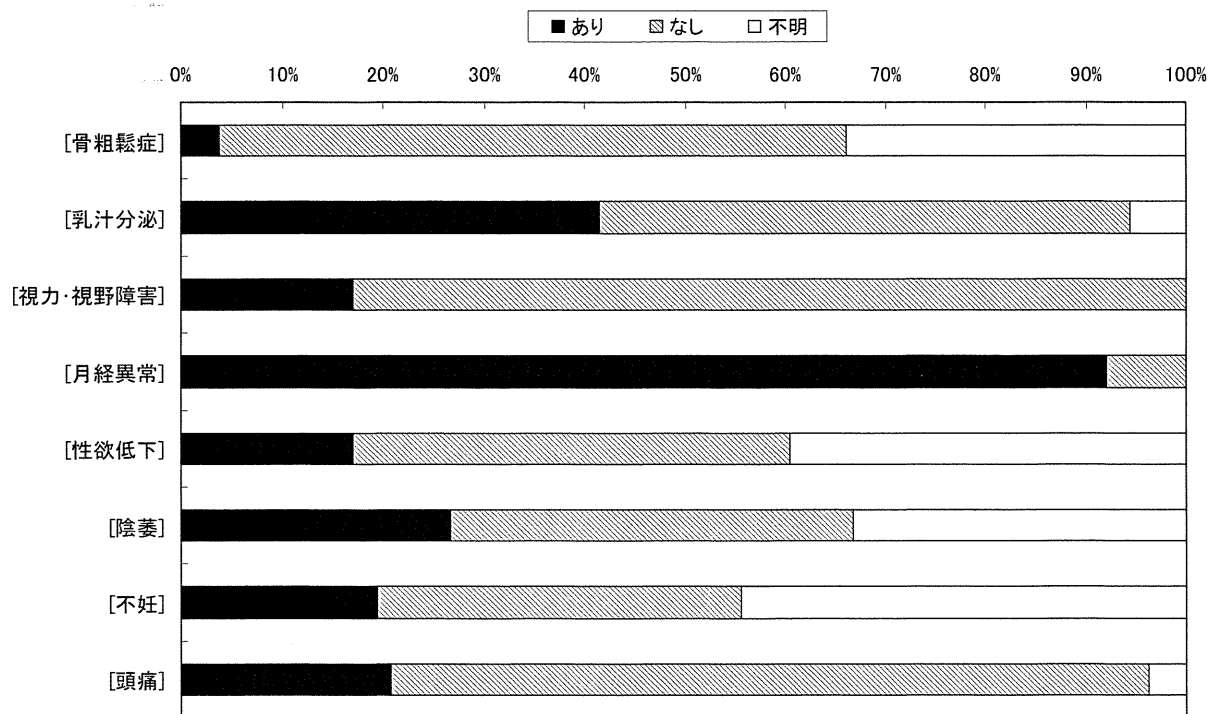


図4-3. クッシング病：【診断時の症候】(n=16[男2, 女14])

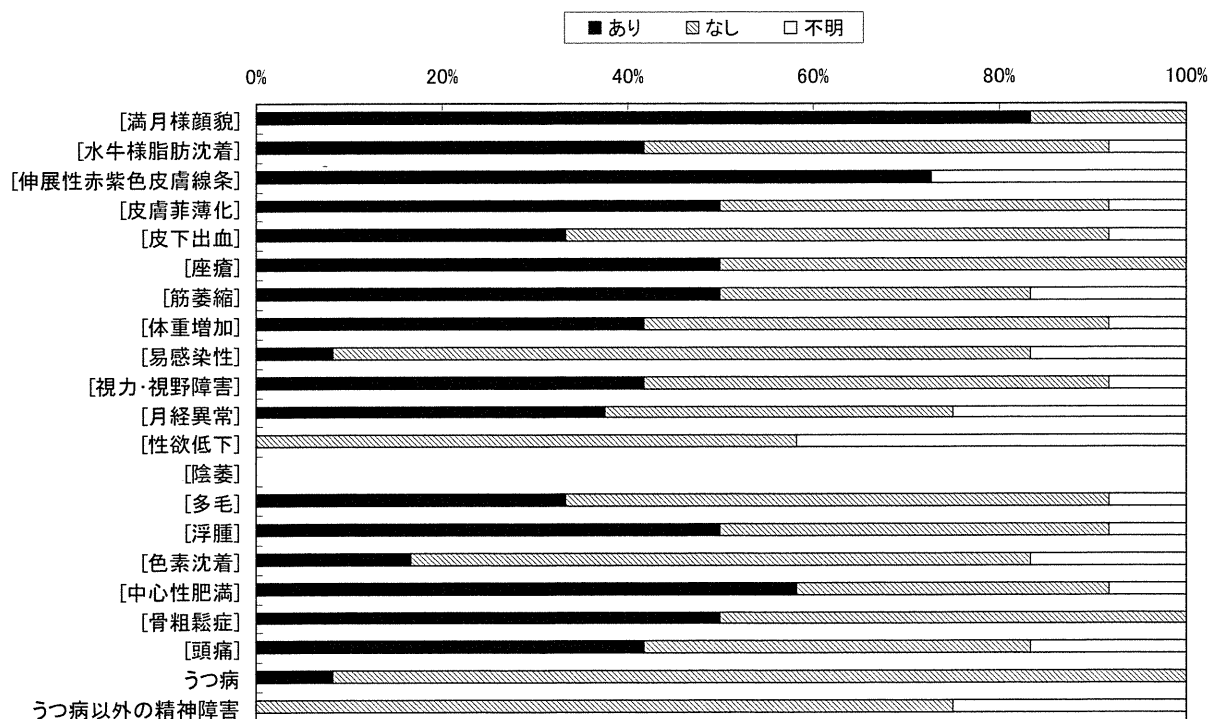


図4-4. 下垂体機能低下症：【診断時の症候】(n=149[男75, 女74])

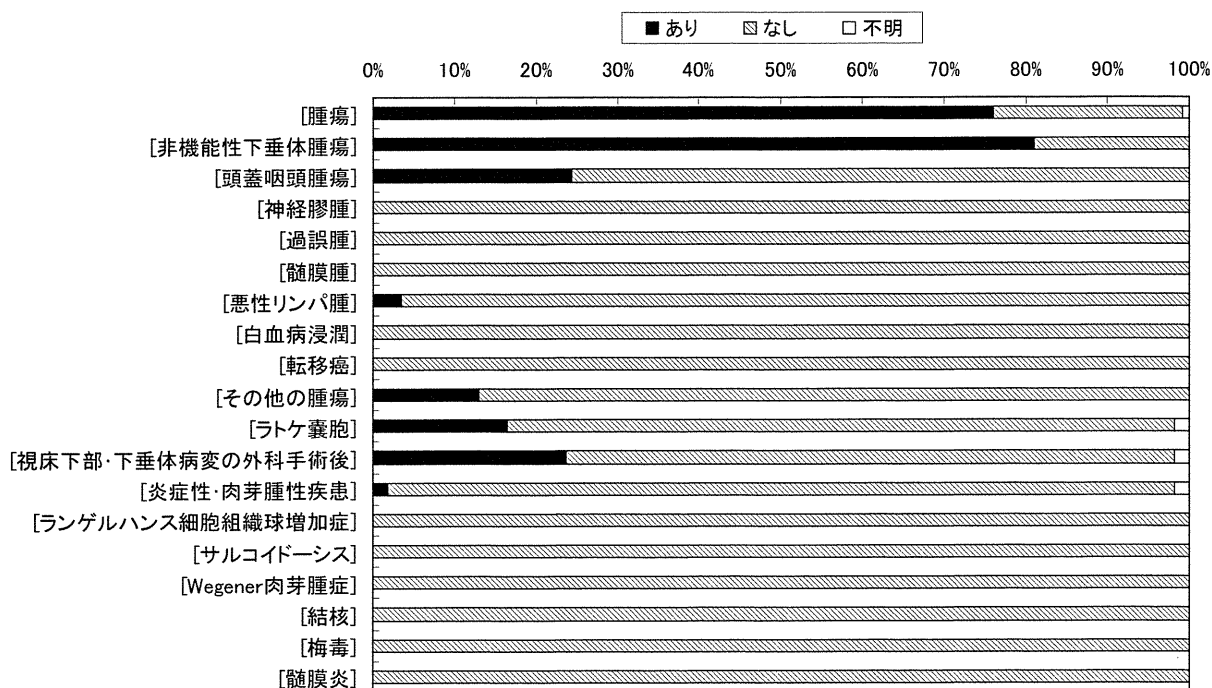


図 4-4. 下垂体機能低下症 (続き)

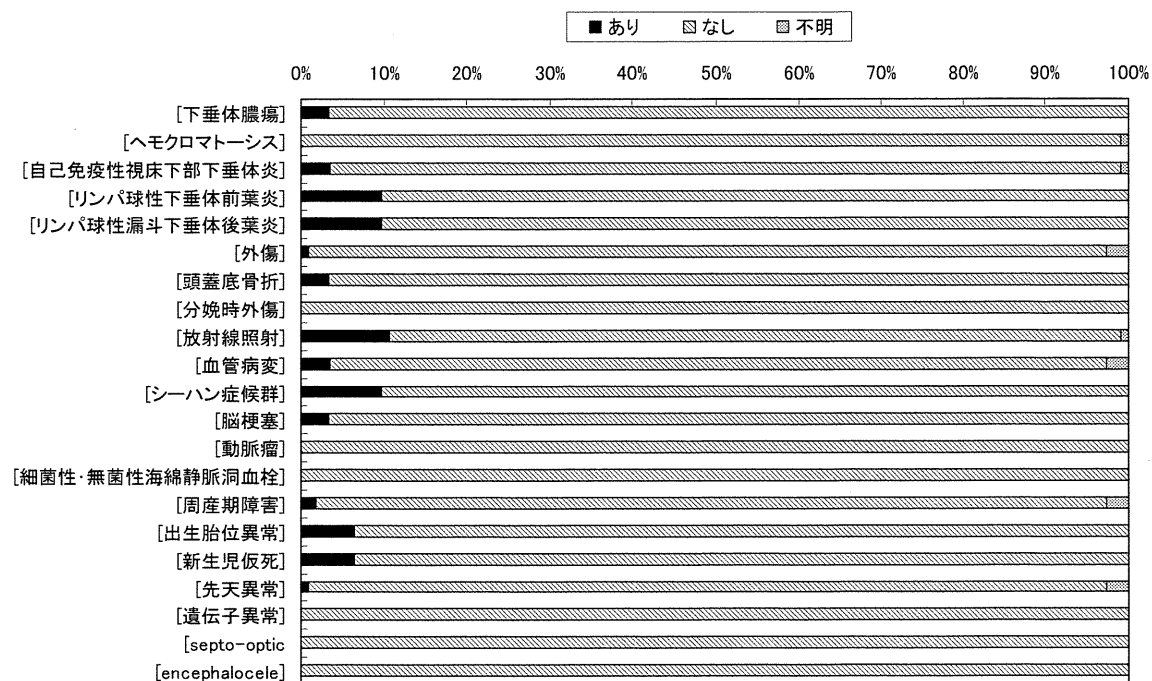


図 4-5. バゾプレシン分泌低下症：【診断時の症候】(n=45[男 16, 女 29])

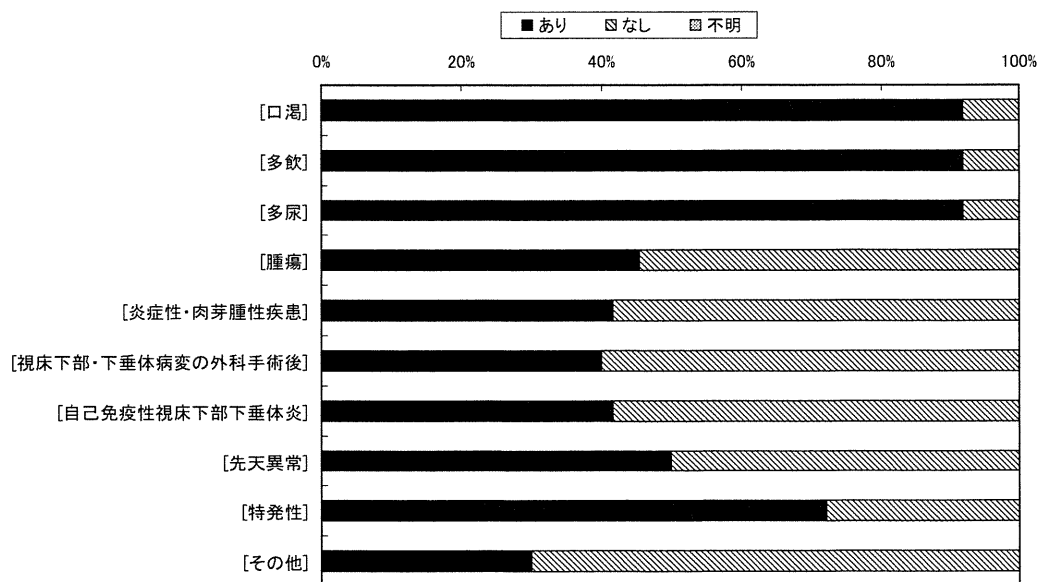
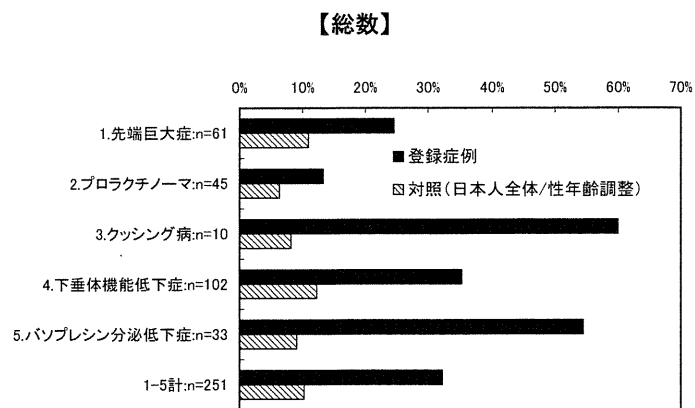


図5. 健康上の問題で日常生活に影響のある者の割合



対照(日本人全体)は、平成16年国民生活基礎調査による。率は、対照の性・年齢構成を、症例のものに調整した。

