

201324011A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業(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25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大 磯 ユタカ

平成26年3月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業(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25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大 磯 ュタカ

平成26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. ACTH依存性Cushing症候群における CRH・dDAVP・GHRP-2負荷試験の評価	25
浜松医科大学第二内科 沖 隆	
2. ヒトACTH1-39に対する新規超高感度測定法(ACTH/ICT-EIA)の開発と 臨床応用：一次性あるいは二次性のACTH分泌不全症 (ACTHF)の鑑別診断に関する研究	27
帝京大学ちば総合医療センター内科臨床研究部 片上 秀喜	
3. サブクリニカルクッシング症候群における0.5mg デキサメサゾン抑制試験導入の試み	33
福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科学 柳瀬 敏彦	
4. ACTH産生下垂体腺腫に対する内視鏡下経鼻的 下垂体腫瘍摘出術(eTSS)の治療成績	38
日本医科大学大学院医学研究科神経病態解析学分野 田原 重志	

5. メラノコルチン2受容体欠損マウスにおける
下垂体遺伝子発現の検討 — 第2報 — 48
北海道大学病院検査・輸血部 清水 力
6. Cushing病における脂肪蓄積機構の解明
— グルココルチコイドによる中性脂肪合成調節の分子機序 — 58
高知大学保健管理センター 岩崎 泰正
7. レチノイドX受容体(RXR)アゴニストHX630の*Pomc*遺伝子
転写抑制機構の解明ならびに*in vivo*腫瘍増殖抑制効果の検討 64
東北大学大学院医学系研究科分子内分泌学分野 菅原 明
8. 心疾患におけるバソプレシン分泌過剰 70
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
9. 中枢性尿崩症の病因、水バランスの実態、
および渴感障害が生命予後に及ぼす影響の検討 76
名古屋大学大学院医学系研究科糖尿病・内分泌内科学 有馬 寛
10. 間脳下垂体疾患データベースによる長期予後調査 84
国立保健医療科学院生涯健康研究部 横山 徹爾
11. 先端巨大症患者の世代別特性に関する研究 93
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. 先端巨大症術後におけるOGTTでのGH底値<0.4 ng/mlを
用いた治療効果判定に関する検討 100
東京女子医科大学医学部第二内科 肥塚 直美
13. 先端巨大症術後のQOLと骨関節症に関する検討 103
宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野 中里 雅光
14. 成人下垂体機能低下症QOL尺度を用いた
本邦先端巨大症のQOL評価に関する研究 110
大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科 大月 道夫

15. 器質性成長ホルモン分泌不全症 (OGHD) に対する
成長ホルモン適応基準の検討 115
国立成育医療研究センター生体防御系内科部 横谷 進
16. 成人GH分泌不全症の合併症としてのNAFLD/NASHの
病態と治療意義の解明 119
神戸大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌内科学 高橋 裕
17. TSH産生腫瘍に対するソマトスタチンアナログ徐放製剤による治療 128
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
18. Rev-erbaによる下垂体TSHβ遺伝子の新たな発現制御機構 134
群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学 山田 正信
19. エストロゲン長期投与により誘発された
多ホルモン産生増殖性病変の分子病理学的解析 138
東海大学医学部基盤診療学系病理診断学 竹腰 進
20. 多嚢胞性卵巣症候群 (PCOS) の病態解明と
ゴナドトロピン療法の個別化 146
群馬大学大学院医学系研究科産科婦人科学 峯岸 敬
21. 正常下垂体前葉細胞からの生理的開口分泌と
ヒト機能性下垂体腺腫細胞からの開口分泌の可視化解析 150
北里大学医学部内分泌代謝内科学 高野 幸路

V. 重点研究課題報告書

1. Cushing病に対する新規薬物療法および診断法の開発 159
高知大学保健管理センター 岩崎 泰正
2. 機能性下垂体腺腫の腫瘍発生原因と腫瘍増殖に関与する因子の解析 162
北里大学医学部内分泌代謝内科学 高野 幸路

3. 自己免疫性下垂体炎の診断法の確立に関する研究
— 抗PIT-1抗体症候群とIgG4関連下垂体炎の病態の解明— …………… 174
神戸大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌内科学 高橋 裕

VI. 会議記録

- 平成25年度研究会議プログラム …………… 187
間脳下垂体機能障害に関する調査研究班2013年度公開セミナー …………… 193

- VII. 研究成果の刊行に関する一覧表 …………… 197

I. 序 文

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研究代表者(班長)はこれまで1期3年間で2期担当し交代することが慣例となっており、今年度は私にとって班長としての最終年度となりました。私の担当期間に当班の守備範囲は大きく変化し、厚労省から指定を受けた研究対象疾患は倍増し、また特定疾患治療研究事業の対象にも組み入れられ、結果的に社会的にもより大きな責務を持つこととなった班活動を担うため、研究分担者、研究協力者が全力を挙げ研究に邁進してきました。

難治性疾患の研究班のタスクは、疾患の病態解明、治療方法開発の展開、新規創薬などのいわゆる研究的な側面と、診断と治療の手引き(ガイドライン)の作成、研究成果の社会への還元のためのセミナー開催やホームページの充実など実務的側面の両面を持つ多彩な活動が求められまた使命ともなっています。当研究班ではそうした多面性任務を分担するだけでなく特定疾患治療研究事業で指定される7病態のみならずそれらの関連する10数疾患を対象とするという他の研究班には見られない非常に重い役割を持っています。

こうした背景の中で、当班では横断的ワーキングによる重点的研究として新規下垂体疾患の探索、自己免疫性下垂体炎とその関連疾患の診断法の策定、Cushing病の新規治療薬開発に向けた研究、機能性下垂体腫瘍の発症機構の解明、各種下垂体疾患の診断と治療のガイドラインの設定等を進め、また個々の研究者が各担当疾患に関してその病態解析、発症予防、増悪抑止、治療ツールの開発などを行ってきました。さらに長期予後調査として2006年から当班が独自に運営する下垂体疾患データベースの維持と解析、海外連携による国際共同研究、医療関係者、患者会、一般市民等への研究成果の周知(公開セミナー、独自ホームページ)等の企画に積極的に取り組んできました。

国の難病対策は2015年年初の実施を目標に現在の組織、制度、実行体制などが大きく変わることが確定しており、40年来継続してきた研究体制が全くと言ってよいほど姿を変えます。それに先立ち、2014年度からこれまでの厚生労働科学研究費補助金の難治性疾患克服研究事業が難治性疾患政策研究事業に衣替えし、その目的は「患者データベースを活用し、難治性疾患患者の疫学調査に基づいた実態把握を行い科学的根拠を集積・分析することにより、診断基準・重症度分類の確立、診療ガイドライン等の確立と普及を行う」等、難病患者のQOL向上や政策に活用できる知見の収集が主たる事業目的となり、難病研究の網羅的推進というレベルから難病政策推進のためのインフラ整備という限定された役割になり、長年班研究に携わってきた私達にとっては少しの不安もありますが、いずれにしてもわれわれ研究者一人一人が難病患者さんの苦痛、不安を改善することのできる研究を今後も継続していくことを最も重要な目標と認識し努力していく所存です。

2014年3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	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
	片上 秀喜	帝京大学ちば総合医療センター内科・臨床研究部	部 長
	横谷 進	独立行政法人国立成育医療研究センター生体防御系内科部	部 長
	峯岸 敬	群馬大学大学院医学系研究科産科婦人科学	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	臨 床 研 究 セ ン タ ー 長
	柳瀬 敏彦	福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科学	教 授
	沖 隆	浜松医科大学地域家庭医療学講座	特 任 教 授
	中里 雅光	宮崎大学医学部神経呼吸内分泌代謝学・呼吸器学	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	北里大学医学部内分泌代謝内科	准 教 授
	竹腰 進	東海大学医学部基礎医学系生体防御学	准 教 授
	山田 正信	群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学	教 授
	清水 力	北海道大学病院検査・輸血部	准 教 授
	菅原 明	東北大学大学院医学系研究科分子内分泌学分野	教 授
	有馬 寛	名古屋大学大学院医学系研究科糖尿病・内分泌内科学	准 教 授
	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生涯健康研究部	部 長
	大月 道夫	大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科	講 師
	田原 重志	日本医科大学大学院医学研究科神経病態解析学分野(脳神経外科学)	病 院 講 師
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
	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
	梶村 益久	名古屋大学医学部附属病院糖尿病・内分泌内科	講 師
	泉山 肇	東京医科歯科大学医学部附属病院内分泌・代謝内科	講 師
	蔭山 和則	弘前大学医学部附属病院内分泌内科	講 師
	須賀 英隆	名古屋大学医学部附属病院糖尿病・内分泌内科	病 院 助 教
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 e-mail hashimoto193@med.nagoya-u-ac.jp	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：今年度は間脳下垂体機能障害に関する調査研究班として3年タームの最終年度となるため、臨床に応用展開できる成果を得ることを目的として研究を推進した。本研究班の研究対象疾患は先端巨大症、下垂体機能低下症、抗利尿ホルモン(AVP)分泌異常症、ゴナドトロピン分泌異常症、プロラクチン分泌異常症、クッシング病、下垂体機能低下症など多数の疾患を守備範囲とするため、研究推進体制として班横断的な重要研究課題および各疾患の個別研究課題の両面から研究を進めた。

重要課題研究としては3課題を中心に展開し、「自己免疫性下垂体炎の診断法の確立に関する研究」については、本研究で後天性下垂体機能低下症を呈する新たな疾患単位「抗PIT-1抗体症候群」を世界に先駆け発見したため今年度はその発症機序について検討し、PIT-1特異的に反応する細胞障害性T細胞の存在が重要な意味をもつことが明らかとなり、今後早期診断・治療法樹立のための重要な知見を得た。「Cushing病に対する新規薬物療法および診断法の開発」については下垂体腺腫全般の治療法が急速に進歩している中、Cushing病の診断・治療に関しては未だ未解決の問題点が多いため今年度も新規治療法開発に向けた検討を行い、診断法に関してはCRH、dDAVP、GHRP2試験の診断精度の検証を行い、治療面ではレチノイドX受容体(RXR)アゴニストHX630の効果を確し治療薬への応用に有効となる成績を得た。また「機能性下垂体腺腫の腫瘍発生原因と腫瘍増殖に関与する因子の解析」では、機能性下垂体腺腫の発生原因と腫瘍増殖に関与する因子について、成長ホルモン(GH)産生腺腫のG α をコードするGNAS近傍のエピゲノムを解析し、gsp変異の有無でこの領域のDNAメチル化に差を認めなかったが、ゲノムワイドの解析ではhierarchical clustering analysisを含めた結果から、GH産生腺腫には2群が存在し、そのうちの一群ではgsp変異群と近似した事象が起こっていることが明らかとなった。

また個別研究の研究成果の代表例としては、Cushing病関係ではヒトACTH1-39に対する新規超高感度測定法を開発し、ACTH単独欠損症と二次性ACTH分泌不全症の鑑別診断を可能とし、またメラノコルチン2受容体欠損モデルにおける下垂体遺伝子発現の検討を行い、ACTH陽性細胞においてニューロメジンBの発現がCRHによって促進的に、デキサメサゾンによって抑制的に調節されていることが示され病態の理解を深めた。またGH関連の研究では、先端巨大症患者の世代別特性に関する解析を行い、若年群では術前の腫瘍サイズが有意に大きく、術前のGH値あるいはIGF-1値が高値であり、術後の寛解率が低値であることが明らかとなり、その原因として年齢に伴う生理的なGH底値の低下等が考えられ、治療戦略を決定する上で年齢が重要な因子となることが初めて示され、また先端巨大症術後患者と骨関節症の関連の検討では86%

に関節痛を自覚しその多くの症例で変形性関節症を認め、最も病変の多い部位は頸椎であり骨関節症が先端巨大症術後患者のQOLに長期的な影響を与える可能性が示された。次にAVP分泌異常症領域では、発症背景の現況が不明な中枢性尿崩症の病因分析を行い、特発性尿崩症が13%、続発性尿崩症が87%であることを明らかにし、さらにその生命予後解析では渴感障害群で有意に悪くまた感染症を有する割合も有意に高く、渴感障害を伴う中枢性尿崩症患者は重症感染症に罹患しやすく、生命予後が不良であることが明らかになった。また下垂体腫瘍関連の研究では、特異的な治療法をもたないTSH産生腫瘍に対するソマトスタチンアナログ徐放製剤による治療を検討しその有効性を認め、また正常下垂体細胞と機能性下垂体腺腫の顆粒分泌を比較し機能性下垂体腺腫の多くで自発性開口分泌が観察され、これがホルモン過剰分泌の重要な要因であることを明らかにした。ゴナドトロピン分泌異常症の領域では、エストロゲンを長期間投与したモデルにおける下垂体に多ホルモン産生性の増殖性病変が生じることを既に当班の研究で明らかにしたが、この多ホルモン産生性下垂体腺腫の分子病態解析を行い、その病態形成にはSOX2が重要な役割を果たしていることを認め、一方、卵巣顆粒膜細胞の培養系を用いた研究ではIL-6がFSH作用を増強しLHレセプター発現を早期に誘導することを明らかにし、これにより顆粒膜細胞の早期黄体化が生じ卵胞の発育障害の原因となることが示された。また2006年から開始しその後も症例集積を行っている当班独自のデータベースを用いた検討では、間脳下垂体機能障害患者459例(先端巨大症25%、下垂体機能低下症38%、AVP分泌低下症12%など)を対象に経時的に合併症、ホルモン値、治療選択、生活状況の解析と一般集団との生活状況の比較を行い、それら因子に疾患特異性がある結果を得た。

国際連携としては、当班の研究を有機的に拡大する目的で国際交流(Johns Hopkins大学等)を積極的に進め、検体試料の相互利用体制を構築しその解析を共同で行った。社会連携面では研究成果の社会還元を重視し、医療関係者、患者会、市民等を対象とした公開セミナーを開催し、また情報発信媒体としてホームページの企画を充実させ、疾患に関する最新情報提供と患者支援機能の充実を図った。さらに当班の研究対象範囲に含まれる18疾患に関し継続的にそのガイドラインを改定し、当研究班独自ホームページに掲載するとともに日本内分泌学会にもその内容を提供し同学会のホームページに転用掲載されるなど医療の現場への啓発と情報発信を行ってきた。

研究分担者氏名	横谷 進	国立成育医療研究センター生
肥塚 直美	東京女子医科大学医学部第二	体防御系内科部
	内科	峯岸 敬
石川三 衛	自治医科大学附属さいたま医	群馬大学大学院医学系研究科
	療センター内分泌代謝科	産科婦人科学
片上 秀喜	帝京大学ちば総合医療セン	島津 章
	ター内科・臨床研究部	京都医療センター臨床研究セ
		ンター
	柳瀬 敏彦	福岡大学医学部内分泌・糖尿

		病内科学
沖 隆		浜松医科大学第二内科
中里 雅光		宮崎大学医学部神経呼吸内分 泌代謝学・呼吸器学
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
岩崎 泰正		高知大学教育研究部医療学系 臨床医学部門
高野 幸路		北里大学医学部内分泌代謝内 科
竹腰 進		東海大学医学部基盤診療学系 病理診断学
山田 正信		群馬大学大学院医学系研究科 病態制御内科学
清水 力		北海道大学病院検査・輸血部
菅原 明		東北大学大学院医学系研究科 分子内分泌学
有馬 寛		名古屋大学大学院医学系研究 科糖尿病・内分泌内科
高橋 裕		神戸大学大学院医学研究科糖 尿病・内分泌内科学
横山 徹爾		国立保健医療科学院生涯健康 研究部
大月 道夫		大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科
田原 重志		日本医科大学大学院医学研究 科脳神経外科学

研究協力者氏名

千原 和夫		兵庫県立加古川医療センター
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
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
梶村 益久		名古屋大学医学部附属病院糖 尿病・内分泌内科

泉山 肇		東京医科歯科大学医学部附属 病院内分泌・代謝内科
蔭山 和則		弘前大学医学部附属病院内分 泌内科
須賀 英隆		名古屋大学医学部附属病院糖 尿病・内分泌内科

A. 研究目的

今年度は3年間の研究期間の最終年度に当たるため、この間に進めて来た研究を臨床展開に向けより具現化することを目的とした。本班の対象疾患は先端巨大症、下垂体機能低下症など7病態18疾患と広範なため、班横断的重点研究課題および各疾患の個別研究課題の両面から研究を進めた。重点研究課題には「自己免疫性下垂体炎の病因解析と新規疾患分類の確立に関する研究」、「Cushing病に対する新規薬物療法および診断法の開発」および「機能性下垂体腺腫の腫瘍発生原因と腫瘍増殖に関与する因子の解析」を設定しこの間研究を進めてきたが、これらの課題の進捗が今後の臨床展開への基盤となることを目的とする。また臨床診療の現場に最新の診断・治療指針を提供する目的で、当班の対象18疾患に関し継続的にその診断と治療の手引き(ガイドライン)を随時改定し、わが国の間脳下垂体疾患の診断・治療のレベルアップに寄与することも大きな目的である。疾患別の個別研究に関しては、各々の疾患について日進月歩の医学・医療の知識と技術水準向上に対応し、難治性下垂体疾患の病態解析、診断法の開発、発症・増悪の抑止方法の開発、治療方法の有効性評価など患者の長期予後の改善を最大の目的として研究を推進した。さらに研究成果を社会へ還元する目的から、当班独自ホームページを活用し疾患概要、研究成果の紹介、各種ガイドラインの掲載等積極的

に実施し、また得られた成果について医療関係者、患者会、一般市民等への周知目的で公開セミナーを開催した。

具体的な研究計画は以下の研究方法の項目と重複する部分が多いためここでは簡略に示す。

• 重点研究課題：

1) 自己免疫性下垂体炎の病因解析と新規疾患分類の確立(大磯、島津、高橋)：後天性下垂体機能異常をきたす自己免疫性下垂体疾患の探索とその病態の検討、2) 機能性下垂体腺腫の腫瘍発生と腫瘍増殖因子の研究(有田、高野、田原)：従来の研究結果をもとに、GH産生腺腫でエピゲノム状態の異なる2群の腺腫群で腫瘍増殖因子、腫瘍抑制因子発現の相違を検討し発症抑制の糸口を解明。

3) Cushing病に対する新規薬物療法および診断法の開発(菅原、岩崎、沖)：ACTHの分泌亢進を抑制する新規薬物療法開発を目的に、新たな分子標的の探索を進めその作用機序と効果を検討。

• 疾患個別研究：

1) Cushing病関連(岩崎、片上、沖、菅原、清水、柳瀬、田原)、2) 成長ホルモン(GH)関連(肥塚、横谷、有田、中里、高橋、大月)、3) 抗利尿ホルモン(AVP)分泌異常症(大磯、石川、有馬)、4) 下垂体腫瘍ほか(島津、山田、高野)、5) ゴナドトロピン分泌異常症(峯岸、竹腰)、6) 長期予後調査(横山)について各々の研究者が個別のテーマを担当し研究を進め、研究内容の主体は病態発症機構の検討、高精度ホルモン測定系の確立と測定系の標準化の試み、診断指針の策定、新規治療法の開発、長期予後調査等である。

• 対外連携調査(大磯、相村)：

国際的な関連領域の専門研究者とのネットワークを形成(米国2大学と連携)をさらに

進め、効率的な診断技術開発を行うため各々の専門分野を分担する。

• 社会連携活動(大磯)：

研究成果の社会への還元を重視し、すでに継続開催している班研究公開セミナーと本研究班ホームページの充実を図り、さらに患者会との交流を定期的に行い情報の相互共有を図る。

B. 研究方法

1) 重点研究課題：

a) 自己免疫性下垂体炎の病因解析と新規疾患分類の確立：抗PIT-1抗体症候群の病態解明を目的に下垂体初代培養系、GH3細胞を用い患者血清による細胞増殖活性に対する影響、補体依存性細胞障害性の有無の検討および患者リンパ球を用いてPIT-1蛋白に反応する細胞障害性T細胞の有無について解析した。さらにIgG4関連下垂体炎の頻度と病態の解明目的で下垂体機能低下症・中枢性尿崩症170症例を対象とし臨床像、経過について検討を行った。b) Cushing病に対する新規薬物療法および診断法の開発：Cushing病においてCRH、dDAVPあるいはGHRP2試験の有効性と診断精度を検討した。またこれまでの検討でRXRアゴニストHX630がACTH産生細胞に対し細胞増殖抑制・アポトーシス誘導作用ならびに*Pomc*遺伝子転写およびACTH分泌抑制作用を示すことを*in vitro*で明らかにしたが、今年度はその分子機序をさらに解析しHX630の作用機序を解明する。c) 機能性下垂体腺腫の腫瘍発生と増殖に関する因子の研究：下垂体腫瘍に関しこれまでに知られているいくつかの腫瘍増殖に関与する因子は、腫瘍増殖機序の一部のみの理解であるため、今年度は機能性下垂体腺腫発生の原因と腫瘍増殖に関与する因子をゲノムワ

イドの探索解析により明らかにする。

2) 個別研究：

代表的研究例について以下に示す。

i) Cushing病ほか：

a) AtT20細胞を用い、RXR pan-agonistであるHX630を使用し*Pomc*ならびに各種転写因子の発現と*Pomc*プロモーター活性、各種転写因子のDNA結合能を解析した。またヌードマウスにAtT20細胞を移植後HX630を投与し腫瘍部分の検討を行った。b) 健常者、ACTH単独欠損症(IAD)、下垂体腫瘍術後の副腎不全(HP)、内因性ステロイド過剰症(CS)等を対象に、既報の抗ヒトACTH抗体(HK202：自家作製家兎血清、MCACT02：ヤマサ醤油)を用いてEIA(ICT-EIA)測定系を構築しその有用性を検討した。c) eTSS(内視鏡下transsphenoidal surgery)を施行したACTH産生腫瘍患者52例を対象とし、microadenoma(m)群とmacroadenoma(M)群の治療成績を比較した。

ii) 成長ホルモン(GH)関連：

a) 先端巨大症術後におけるGTT時のGH底値 <0.4 ng/mlを用いた治療効果判定に関する検討を行った。先端巨大症術後1か月以内に施行したGTTでGH底値が <1 ng/mlであった53例を対象に、術後3か月、12か月後のIGF-I値を用いてGTTのGH底値 <1 ng/ml及び <0.4 ng/mlを適用した際の術後治療成績を比較検討した。b) 器質性成長ホルモン分泌不全症(OGHD)に対する成長ホルモン適応基準の妥当性を検討するため555名の小児を対象に解析した。c) 成人GH分泌不全症(AGHD)の合併症としてのNAFLD/NASHの病態と治療意義を解明する目的でGH補充療法中(GHRT)

の患者31例とGHRTを行っていない重症AGHD23例について肝機能、肝線維化マーカーなどを比較検討し、またGHRTにより肝機能が改善した有効群と非有効群を比較しその寄与因子を検討した。

iii) AVP分泌異常症：

a) 中枢性尿崩症患者170名を対象とし、患者背景、基礎疾患、渴感障害の有無、感染症による入院歴の有無、生命予後等を解析した。b) 心疾患におけるAVP分泌過剰状態を解析する目的で心不全と急性心筋梗塞時における低Na血症の発現とAVPの分泌動態について検討した。

iv) 下垂体腫瘍ほか：

a) 下垂体TSH β 遺伝子発現は甲状腺ホルモン(T3)により抑制されるがその分子機構は不明であるため、核内受容体Rev-erbaによる下垂体TSH β 遺伝子の発現制御機構を解明する目的で下垂体TSH産生細胞を用いて検討した。b) TSH産生腫瘍に対するソマトスタチンアナログ徐放製剤による治療の有効性検証の目的でTSH産生腫瘍に対してオクトレオチド徐放製剤(LAR)およびランレオチド徐放製剤の投与を行い、甲状腺機能の推移と下垂体腫瘍サイズの変化について観察した。

v) ゴナドトロピン分泌異常症ほか：

a) 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の病態解明とゴナドトロピン療法の個別化を行う目的で卵巣機能を抑制するIL-6のPCOSの病態に対する関与とその作用メカニズムの解明を行った。b) エストロゲン(E2)長期投与により多ホルモン産生増殖性病変が生じることを本研究で明らかにしたが、その分子病理学的解析により多ホルモン産生に至る機序について検討した。

3) 長期予後研究：

本調査は2006年度より本班独自で運営する多施設共同の予後調査で、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、先端巨大症、プロラクチノーマ、クッシング病、下垂体前葉機能低下症、AVP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。診断時点における調査内容は、患者背景、症候、合併症、検査所見、治療方法、生活状況等である。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ある。解析計画として、基本集計、登録症例と一般集団との死亡率の比較、登録症例と一般集団との生活状況の比較、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)、治療法と症候等の変化との縦断解析である。

4) 対外連携研究：

海外の下垂体疾患の専門研究者と連携し、希少疾患の検体試料交換を開始し、各施設の専門性が高い部分を各々分担して解析を行った。

5) 社会連携活動：

研究成果の社会還元を重視し、医療関係者、患者会、市民等を対象とした公開セミナー開催し、また情報発信媒体としてホームページの企画を充実させ、疾患に関する最新情報提供と患者支援機能の充実を図った。

* 倫理面への配慮

間脳下垂体機能障害に関する調査研究の実施に際しては、各施設の生命倫理委員会(あ

るいはこれに準ずる委員会)の承認を得た上で行う。承認後、患者に対しインフォームドコンセントを十分に行い文書による同意を得た後、諸規約を遵守し実施する。個人情報の漏洩のないよう資料や解析データは厳重に管理しまたその秘匿化を行う。当班が実施する代表的臨床研究である「間脳下垂体疾患の予後に関する調査研究」では平成19年3月27日に名古屋大学臨床受託研究審査委員会の承認を得た。動物実験においても組換えDNA実験安全委員会など該当する委員会で承認を得た後、倫理基準に沿って実施する。動物の屠殺にあたっては適切な麻酔法等を用い苦痛を最小限に留めるよう考慮する。

C. 研究成果

1) 重点研究課題：

a) 自己免疫性下垂体炎の病因解析と新規疾患分類の確立：1) 抗PIT-1抗体症候群の病態解明の結果、下垂体初代培養系、GH3細胞における細胞増殖活性、補体依存性細胞障害性に対する患者血清の影響はコントロールと差を認めず、抗PIT-1抗体は原因というよりも結果として生じた可能性が考えられた。また患者リンパ球を用いてPIT-1蛋白に反応する細胞障害性T細胞の有無についての検討では、患者においてネガティブコントロールのPROP1蛋白には反応しないが、PIT-1蛋白に反応する細胞障害性T細胞が存在していることが明らかになった。2) IgG4関連下垂体炎の頻度と病態の解析では全170症例中、IgG4関連下垂体炎と診断された症例は7例であった。他臓器病変が下垂体炎に先行したのが4例で、下垂体炎が先行した症例は3例であった。IgG4関連下垂体炎の頻度は下垂体機能低下症、尿崩症例中の4%、下垂体炎の30%であった。

b) Cushing病に対する新規薬物療法および診断法の開発：1) Cushing病診断法の比較検討結果は、CRHおよびdDAVP試験の陽性率は既報と比較して低かったが、GHRP2刺激に対する陽性率は高かった。しかしGHRP2試験の特異度は劣るため診断上の有用性は低いと判断された。またdDAVP試験の反応性には幅があるため、標準化にあたってはその至適投与量の検討が必要と考えられた。2) 新規薬物療法開発の検討としては、RXRアゴニストHX630が候補薬として考えられるためその作用機序を検討したところ、HX630が転写因子RXR α を介して効果を発揮すること、誘導型転写因子Nurr1/Nur77の発現を阻害して*Pomc*遺伝子発現を抑制することを明らかにした。3) Cushing病の合併症発症防止を標的とした治療法の開発では、中性脂肪(TG)合成系酵素15遺伝子に対するグルココルチコイドの作用を検討し、GPAT2, AGPAT2, DGAT1, 2など多くのグルココルチコイド標的遺伝子を同定した。TG合成酵素阻害薬(DGAT阻害薬)等によりCushing病の合併症発生が抑制できる可能性を認めた。

c) 機能性下垂体腺腫の腫瘍発生原因と腫瘍増殖に関与する因子の解析：1) 正常下垂体組織と腺腫組織の網羅的メチローム比較を行ったところ、複数の腫瘍で共通してメチル化状態が正常組織と異なる遺伝子が多数見出され、*gsp*変異の有無でメチル化状態に差がないことも判明した。2) GH産生腺腫においては体細胞の*gsp*変異が約半数に認められるためGsaをコードするGNAS近傍のエピゲノムを解析したが、*gsp*変異の有無で差は認められなかった。ゲノムワイドに解析した結果では、hierarchical clustering analysisで異なる2つの群に分かれた。*gsp*変異群の中では互いによく似たDNAメチル化状態(非メ

チル化領域が多い)が見られたが、wild typeではメチル化領域が多い群と*gsp*変異群によく似た非メチル化領域が多い群の2群に分かれた。Wild typeのGH産生腺腫に2つの群があり、一方は*gsp*変異群と近似した事象が発生していることが考えられた。GH産生腫瘍のメチローム解析には*gsp*変異の有無の情報が不可欠であり、メチル化異常の意義も腫瘍の*gsp*変異の有無によって異なることが明らかになった。

2) 個別研究：

i) Cushing病ほか：

a) RXRアゴニストHX630が*Pomc* promoterの-429~-379領域を介して転写を抑制することを既に明らかにしたが、本領域中にはNurREが存在し、転写因子であるNur77およびNurr1が結合する。HX630により、Nurr1・Nur77のmRNA発現抑制ならびにNurr1/Nur77のDNAへの結合低下が認められた。Nurr1・Nur77の過剰発現により、HX630による*Pomc* promoterの転写抑制の減弱が認められた。一方、HX630による*Pomc* promoterの転写抑制は、RXR α の過剰発現により増強し、RXR α のsiRNA投与により減弱した。一方、ヌードマウスへの腫瘍細胞移植ではHX630投与群で腫瘍体積ならびに腫瘍細胞中*Pomc* mRNAの発現のいずれも有意に減少した。b) ACTH/ICT-EIAの感度は1.0pg/tubeで従来法のIRMAならびにECLIAと比較し、各々x1000倍、x100倍の感度を示し、ヒトACTH1-39に高い特異性を示した。ACTH分泌不全症の血中ACTH基礎値はすべての検体において測定可能で、コントロール群(8.9 \pm 0.6 pg/mL)、IAD(0.8 \pm 0.1 pg/mL)、CS(1.8 \pm

0.5 pg/mL)等を示し、IADの基礎値が最も低値を示した。ヒトCRHの投与試験では、コントロール群では頂値34~154pg/mLを示し、IADでは増加反応が著しく低下し、胚細胞腫治療後(GCT)や視床下部・下垂体腫瘍術後(HP)の2次性ACTH分泌不全症では増加反応が減弱した。c) m群の治療成績では84.1%が寛解基準を満たした。この中で術中明確な腺腫が認めなかったが寛解が得られた症例が2例含まれていた。一方寛解しなかった症例は15.9%であった。M群の治療成績は1例を除きすべてKnosp grade 4の浸潤性の腺腫であり、病理学的にはMIB-1 indexが0.2~4.0%と極端に高くはなく、p53は1例のみ陽性であったが、すべてがCrooke's cell adenomaの所見であり、2例が頭蓋内播種を来し、1例に剖検で肝転移が認められた。

ii) 成長ホルモン(GH)関連:

a) 術後早期(1か月以内)にGH底値<1 ng/mlを満たした53症例における術後3か月後のIGF-I SDSは-2.93~3.81に分布した。術後3か月のIGF-Iが基準値内の症例は89%で、この内60%がGH底値<0.4ng/mlであった。IGF-Iが高値(2.41~3.81SD)の6例中4例がGH底値<0.4ng/ml群であった。先端巨大症における術後GTTの底値と術後3か月後のIGF-I SDSの間には明らかな相関はみられなかった。12か月後にはIGF-Iは94%で基準値内となり、60%がGH底値<0.4ng/ml群であった。術後GTTの底値と術後12か月後のIGF-I SDSの間にも明らかな相関はみられなかった。b) 治療前2年間の身長増加量は 6.05 ± 2.51 cm(治療開始1年前 2.88 ± 1.34 cm)、成長率SDSは2年前 -3.74 ± 1.97 SD,1年前 -4.03 ± 1.85 SDであり、治療開始時の身長は -2.61

± 0.93 SDであった。OGHDでGH治療適応となった患者555名の解析にて、過去2年間の成長率が-1.5SD以上のものは、治療開始2年前36.9%、1年前17.8%であり2年間の成長率は57%の症例で前年よりさらに低下していた。c) GHRT群のIGF-1は有意に上昇した。対照群ではAST、ALT、 γ -GTPが上昇する傾向を示したのに対し、GHRT群では有意に低下し、24か月後においてもその効果は持続していた。肝線維化マーカーであるヒアルロン酸も対照群では有意に増悪したが、GHRT群では上昇は認めなかった。また低栄養や飢餓時のGH抵抗性の機序として、肝臓においてサーチュインの一つであるSIRT1が活性化され、GHシグナルに重要なSTAT5を脱アセチル化しGH受容体との相互作用を低下させることによりIGF-I産生を抑制することを明らかにした。

iii) 抗利尿ホルモン(AVP)分泌異常症:

a) 中枢性尿崩症の病因に関し165名を対象として検討した結果、特発性が13%、続発性が87%であった。続発性では胚細胞腫瘍が最も多く(23%)、頭蓋咽頭腫(19%)、手術後(13%)、炎症(9%)、癌転移(6%)、ラトケ嚢胞(4%)の順であった。DDAVP治療観察期間の中央値は45ヶ月で、この間に135 mEq/l未満の低ナトリウム血症発生は52%、130 mEq/l未満は32%に認められた。一方、146 mEq/l以上の高ナトリウム血症の発症は48%、150 mEq/l以上は25%に認められた。149名を対象に渴感障害の有無を検討した結果、渴感正常群は126名、渴感障害群は23名であった。130 mEq/l未満の低ナトリウム血症は両群とも4%であったが、150 mEq/l以上の高ナトリウム血症は渴感正常群で1%、渴感

障害群では25%であった。観察期間中に感染症により入院した患者は渴感正常群で7%、渴感障害群では43%であり、6名の患者が死亡しうち4名が渴感障害群、2名が渴感正常群であった。b) 心不全再発例は血清Na値136mmol/l以下の低Na血症患者に多いことが示され、血清Na値と血漿AVP値との間には負の相関を認めた。急性心筋梗塞患者140例における血清Naが136mmol/l以下の症例は入院時5例、入院72時間で29例、退院時13例であった。心不全による再入院は低Na血症群で明らかに増加した。入院72時間後の血漿AVP値は低Na血症群で 4.5 ± 3.1 pg/ml、正Na血症群で 2.7 ± 1.3 pg/mlとなり、血清Na値と血漿AVP値の相関は有意の負の相関を認めた。

iv) 下垂体腫瘍ほか：

a) T α T1.1細胞において、T3投与により時間的にTSH β mRNAレベルは抑制され、Rev-erb α アゴニストSR9011の添加では濃度依存的にTSH β mRNAレベルは抑制された。またshNCoR導入後、T α T1.1細胞内の内因性NCoRの発現を解析したところ、mRNA、蛋白レベルともに低下を認めた。TSH β 遺伝子上のヒストンH3のアセチル化状態の検討では、T3では変化を認めず、TRH投与ならびにshNCoR導入で増加を認めた。NCoR抗体を用いたクロマチン免疫沈降法でNCoRはTSH β 遺伝子上流に結合し、Rev-erb α も同部位に結合を認めた。b) TSH産生下垂体腫瘍2症例で検討を行い、両例ともオクトレオチドに対するTSHの抑制反応がみられた。症例2では増加しているPRLもオクトレオチドに対して抑制されていることから、TSH・PRLの同時産生腫瘍が考えられた。ソマトスタ

チンアナログ徐放製剤による治療の経過は両例とも甲状腺機能は全て正常化し、軽度の腫瘍縮小効果認められた。

v) ゴナドトロピン分泌異常症ほか：

a) FSH単独添加群に比して、IL-6同時添加群でLH受容体mRNA発現が時間と用量依存的に増強し、IL-6はLH受容体mRNA転写活性を上昇させた。IL-6刺激は顆粒膜細胞においてErk及びSTAT3をリン酸化することが確認できた。一方FSHはErkのリン酸化のみ起こし、STAT3のリン酸化は認めなかった。また、FSH・IL-6同時添加によりリン酸化シグナルの増強を認めた。ERK阻害剤ではリン酸化を抑える濃度でもLH-R mRNAの発現を有意に抑制しないが、JAK/STAT系の阻害剤は同等の濃度でLH-R mRNAの発現を有意に抑制した。b) 多ホルモン産生増殖性病変に見られる大型好酸性細胞にはPRLとTSH β 、PRLと α SU及びTSH β と α SUが共発現しておりPit-1、ER α 及びGATA-2が陽性を示した。増殖調節因子であるp27の発現は、正常下垂体組織に比較してE2投与群ではいずれも増加し、多能性維持に働く転写因子SOX2の発現は、E2投与後経時的に減少した。

3) 長期予後研究：

登録症例数は2013年12月27日現在で、先端巨大症113例、プロラクチノーマ97例、クッシング病22例、下垂体機能低下症174例、AVP分泌低下症53例、計459例が登録された。診断時からの経過年数は 6.1 ± 3.2 年(平均 \pm SD)であり、追跡年数は平均 1.5 ± 2.5 年であった。診断時の生活状況について国民生活基礎調査と同等の質問を用い、一般集団と比較した。「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り、疾患別にみると特にAVP分泌低下症で高かった。登録後1～4年目の追跡データが登録された一部の症例について、「主観的健康観」と「健康上の理由で日常生活に影響のある者の割合」の経年的変化を縦断的に分析した結果、有意に改善していることが確認できた。

4) 対外連携研究：

本研究班として国際交流(Johns Hopkins 大学等)を積極的に進め、検体試料の相互利用体制を構築し、共同研究を進行中である。

5) 社会連携活動：

研究成果の社会還元を目的とした、医療関係者、患者会、市民等に向けた公開セミナー開催し、また情報発信媒体としてホームページの企画を充実させ、疾患に関する最新情報提供と患者支援機能の充実を図った。

D. 考察

1) 重点研究課題：

a) 自己免疫性下垂体炎の病因解析と新規疾患分類の確立：今回の結果から抗PIT-1抗体症候群における自己抗体は病因ではなくPIT-1に対する免疫寛容の破綻の結果として生じた可能性が考えられた。またその発症機序としてPIT-1蛋白を認識する細胞障害性T細胞が、PIT-1発現細胞においてMHC class Iとともに提示されたPIT-1蛋白のエピトープを認識して特異的に攻撃した可能性が考えられた。細胞障害性T細胞は1型糖尿病などにおける発症機序と関わっていることが報告されており、今後モデル動物作製や、細胞障害性T細胞レパトアの解析を通じてさらにそ

の発症機序の解明を進める。IgG4関連下垂体炎に関して、今回の研究よりその頻度がこれまで考えられているよりも高い可能性が示唆された。また補充量のステロイドでも血中IgG4濃度が正常化する可能性があり、ステロイド補充前に血中濃度測定が望ましい。さらに自己免疫性膵炎や後腹膜線維症などの他の臓器のIgG4関連疾患が先行しその後IgG4関連下垂体炎が発症した症例が多いことから、IgG4関連疾患経過中にはIgG4関連下垂体炎発症による下垂体機能低下症や中枢性尿崩症の合併に注意が必要であると考えられた。

b) Cushing病に対する新規薬物療法および診断法の開発：Cushing病の診断には刺激試験としてCRH試験、dDAVP試験、およびGHRP2試験が用いられている。今回の検討では異所性ACTH症候群との鑑別診断において感度・特異性の両面とも良好な検査は確認できず、今後機能検査としてより適正な試験方法を開発する必要性が強く示された。Cushing病の治療に関しても、特異的な内科的治療法が確立されていないのが現状であり、今回の検討ではレチノイン酸受容体のパートナーであるRXR α のアゴニストの有用性が示された。またCushing病の予後を規定する血管障害と密接に相関する内臓肥満と関連して、グルココルチコイドが中性脂肪合成を促進する際の標的遺伝子が同定された。同疾患の合併症を防止する立場から、今後、グルココルチコイドの代謝作用を減弱させる治療法の開発が望まれるところである。

c) 機能性下垂体腺腫の腫瘍発生原因と腫瘍増殖に関与する因子の解析：メチローム解析を用いて24例の多数例で解析を行い、遺伝子ごとにメチル化の亢進する場合、低下する可能性があることが認められた。

GNASの近傍のエピゲノム解析では腫瘍間の差は見られず、*gsp*変異群とwild typeの比較でも差は認めなかった。ゲノムワイドにメチローム解析するとDNAのメチル化状態では特徴的な変化がおきていた。まずwild typeの多くにおいてメチル化されている場所が優位であるのに対し、*gsp*変異群では多くの部位が非メチル化されており遺伝子群が活性化状態にあると推測された。Gsαの活性化変異ひとつの変化だけで、ゲノム全体に著しい活性化をもたらしていることが明らかになった。また、wild typeには2群があり、一方は*gsp*変異例と似たメチル化パターンを起こしていた。メチロームの変化が*gsp*変異陽性群、wild type群のうち*gsp*変異陽性群に近いメチロームを示す群、wild type群で前記2つと大きく異なる群の3群に大きく分かれ、それぞれの群内で比較的均一であることは、これらの3群がそれぞれ異なる原因によって起こっていることを示唆する。

2) 個別研究：

i) Cushing病ほか：

a) 今回の研究結果から、RXRアゴニストHX630がRXRを介してNurr1・Nur77の発現を抑制し、その結果Nurr1/Nur77のNurREへの結合が減弱し、*Pomc* promoterの転写が抑制されることが推定された。一方、ヌードマウスを用いたAtT20細胞移植実験から、HX630が*in vivo*でも腫瘍縮小効果・*Pomc* mRNA発現抑制作用を有することが示された。これらの実験結果よりHX630はCushing病の治療薬になり得る可能性が示唆された。b) ICT-EIAは既存の他のACTH1-39のいずれの測定法よりも高感度で、アミノ酸残基の差異を有するラットACTHを認識しなかったことより

感度・特異度ともに優れた測定法である。EASではPC1/3の活性が低下し、その血漿中には種々の糖付加をうけた低processの大POMC分子が存在するが、ICT-EIA測定では4.5KdaのACTH1-39を主として認識し、一部に15~20KdaのPOMC関連分子を認識することが明らかとなった。さらに従前の測定法では測定不可能であったIADの基礎値のみならず長期のグルココルチコド過剰症、外因性グルココルチコド過剰症や、短期のグルココルチコド過剰であるDEX負荷試験やMPL投与後のACTH底値を明らかにすることができる。c) Cushing病の治癒基準は、未だ明確なものはないが、術後1週間以内の早朝コルチゾール値が2.0μg/dl未満、あるいはACTHの測定感度以下が一般的である。このような基準でACTH産生下垂体腺腫の手術寛解率は一般的に70~90%とされているが、再発率も5年で5~10%、10年で10~20%と高い。最近ではeTSSが広く行われているが、今回の検討ではm群で早期寛解率が84.1%と高かったが、再発率も少なくないため嚴重なフォローが必要と考えている。一方、M群の治療成績は極めて劣るといわざるを得ない。今回のシリーズは病理学的にすべてCrooke's cell adenomaであったことは注目に値する。Crooke変性は正常ACTH産生細胞に見られる退行性変化であり、Crooke's cell adenomaは腺腫細胞においても著明なCrooke変性をきたすものである。Crooke's cell adenomaは臨床的にaggressiveであり、浸潤性のMであることが多く、今回の所見に合致する。近年、悪性あるいは増殖能の高い下垂体腺腫に対し、テモゾロミドが有効であるとの報告が散見される。今回も下垂体癌の症例に