

## 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

研究分担者	高橋 裕	神戸大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌内科学
研究協力者	坂東 弘教	神戸大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌内科学
	山本 雅昭	神戸大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌内科学
	松本 隆作	神戸大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌内科学
	西沢 衡	神戸大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌内科学
	隅田健太郎	神戸大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌内科学
	高橋 路子	神戸大学医学部附属病院栄養管理部
	福岡 秀規	神戸大学医学部附属病院糖尿病・内分泌内科
	井口 元三	神戸大学医学部附属病院糖尿病・内分泌内科

**研究要旨：**これまで私たちは成人GH分泌不全症(AGHD)において、NAFLD/NASHの合併が多くGH補充療法によって改善すること(EJE2012)、さらにその機序としてミトコンドリア機能異常と酸化ストレスが関連し、主にIGF-Iが重要な役割を果たしていること(BBRC2012, EJ 2012 Review)を報告してきた。今回私たちは、AGHDにおけるGH補充療法が少なくとも2年間にわたって肝機能改善効果を発揮することを明らかにした。また一般のNASHモデルマウスにおいてIGF-Iが線維化を改善し、その機序としてp53依存性に星細胞の細胞老化誘導を介して活性を低下させるという新たな機序を見出した。さらに低栄養や飢餓時の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ってIGF-I産生を抑制することを明らかにした(PNAS 2013)。

### A. 研究目的

私たちはこれまでに成人GH分泌不全症(AGHD)にはNAFLD/NASHが高頻度に合併すること、GH補充療法(GHRT)により肝機能、肝線維化が6ヶ月から1年の比較的短期間で改善することを報告してきた。しかしGHRTの長期間における有効性は未だ明らかではない。本研究においては、GHRTの長期成績を解析するなど臨床および基礎的検討を通じてその病態を明らかにし、AGHDにおけるGH補充療法の新たな意義の解明と予後の改善を目指す。また治療法が確立

していない一般のNASHへのGH/IGF-Iの治療応用を目指した基礎的研究を行う。さらに、肝臓におけるGH作用機序の解明を目指す。分担研究者らは以前よりAGHDにおける肝障害に注目しAGHDにおけるNASHがGHRTによって著明に改善した症例、その後多数例による疫学的な解析の結果を報告しており(Takahashi et al. Gastroenterology 2007, Nishizawa et al. EJE 2012)、本研究ではそれらを発展させてさらに臨床的意義と作用機序の解明と臨床応用をめざす。

## B. 研究方法

神戸大学医学部附属病院通院中でGHRTを行っている重症AGHD患者のうち、24か月以上経過観察が可能であった31例を対象とした。GHRTを行っていない重症AGHD23例を対照群とし、GHRT前、3、6、12、24ヶ月後の肝機能、肝線維化マーカーなどを後向きに比較検討した。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。

基礎研究として、肝細胞初代培養系、肝癌細胞株、下垂体摘除マウス、GH欠損ラット (Spontaneous dwarf rat)、一般のNASHモデルマウス (コリン、メチオニン欠乏食負荷 db/db マウス) を用いて、肝臓におけるGH、IGF-I作用およびその機序を解析するとともに、臨床応用を目指した基礎的検討を行った。

### (倫理面での配慮)

本研究計画の実施に際して臨床検体を使用する場合には、患者からインフォームドコンセントを得た上で神戸大学医学部倫理委員会の規約に基づいて行った。また、動物実験においては学内の動物実験倫理委員会の承認を得た上で、学内規則に則り動物愛護の精神を持って行った。

## C. 研究成果

GHRT群のIGF-1は有意に上昇した。対照群ではAST、ALT、 $\gamma$ -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GH有効群と非有効群の比較では、GHRT開始後の体

重増加が非有効群で有意に多かった(82% vs 42%  $p = 0.04$ ) (Matsumoto et al. Manuscript in submission)。

その機序を明らかにするためにGH欠損ラットを用いて解析を行ったところ内臓肥満とともにNASHを認め、肝細胞における酸化ストレス上昇、ミトコンドリア形態異常を伴っていた。そして1ヶ月のGHあるいはIGF-I投与を行ったところいずれにおいても生化学的、組織的改善を認めた (Nishizawa et al. BBRC 2012)。さらに一般のNASHモデル動物であるコリン、メチオニン欠乏食負荷 db/db マウスに対して1ヶ月のGHあるいはIGF-I投与した結果、IGF-I投与によって脂肪滴の沈着および線維化についての組織学的改善を認め、酸化ストレス、ミトコンドリア機能の改善が関連していた。さらに線維化抑制機序について解析を進めたところ、IGF-Iがp53蛋白を介して線維化の鍵である星細胞の細胞老化を促進することによりその活性を抑制し、線維化を改善しているという新たなIGF-Iの作用機序を見出した (Anastasia et al. BBRC 2012, Takahashi EJ (Review) 2012, Nishizawa et al. manuscript in preparation)。

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ってIGF-I産生を抑制することを明らかにした (Yamamoto et al. PNAS 2013)。

## D. 考察

これまで私たちは、AGHDにおいてNAFLD/NASH合併頻度が高く、6ヶ月-1年間のGHRTが有効であることを報告してきた。今回の検討において、GHRTが少なくと

も2年間にわたって肝機能、線維化マーカーを改善することを明らかにした。特にNASHは長期間にわたって徐々に進展する予後の悪い病態であるため、NASHの合併がAGHDの予後の悪化に関わる可能性があり、今回の長期間にわたるGHRTの有用性が明らかになったことには臨床的に重要な意義があると考えられる。また肝機能を悪化させないためにはGH治療中には体重増加に注意が必要であることが明らかになった。

AGHDにおけるNASHの発症機序として、①GHによる内臓脂肪減少作用による間接的な効果、②IGF-Iによるインスリン抵抗性改善、③IGF-Iによる肝細胞における酸化ストレス低下およびミトコンドリア機能改善、④IGF-Iによる星細胞の細胞老化誘導と活性の低下作用など複数の機序によって肝臓において作用していると考えられた(Takahashi et al. EJ (Review) 2012) (図1)。またGH/IGF-Iが、AGHDに合併したNASHのみならず、一般のNASHモデルにおいても改善効果、特に線維化抑制を示すことを明らかにした。NASHにおいては線維化が予後不良と関連していることから、IGF-Iによる線維化改善を目指した一般のNASHに対する治療応用は、NASHの予後を改善するために貢献できる可能性がある。

またこれまで機序が不明であった絶食、低栄養時のGH抵抗性の機序について今回初めて明らかになった。絶食時にはサーチュインのひとつであるSIRT1が活性化されGHシグナルに重要なSTAT5を脱アセチル化することによって、STAT5のGH受容体への結合能を低下させて、GHシグナルを抑制する。このことは低栄養時への適応現象としてSIRT1が、GH-IGF-I系においても重要な役割を果たしていることを示している(Yamamoto et

al. PNAS 2013) (図2)。

## E. 結論

AGHDに伴うNAFLD/NASHに対するGHRTが長期的にも有効であること、IGF-Iが一般のNASH治療においても有用である可能性、IGF-Iによる肝臓星細胞に対する作用機序、肝臓におけるGH抵抗性の新たな機序の解明とともに、GHの標的臓器としての肝臓の重要性が明らかになった。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

《著書》

- 1) 高橋 裕：糖尿病代謝疾患の分子標的と治療薬事典 D2 ドーパミン受容体作動薬. 羊土社 332-333, 2013
- 2) 高橋 裕：アхроメガリーハンドブック アхроメガリーの病態とGH, IGF-I過剰. メディカルレビュー社 45-50, 2013
- 3) 高橋 裕：今日の臨床サポート 先端巨大症. エルゼビア・ジャパン2013(ウェブサイト：<http://clinicalsup.jp/jpoc/>)
- 4) 高橋 裕：医学大事典 成人成長ホルモン分泌不全症. 南江堂 2013, in press
- 5) 高橋 裕：医学大事典 成長ホルモン単独欠損症. 南江堂 2013, in press
- 6) 高橋 裕：医学大事典 下垂体前葉ホルモン単独欠損症. 南江堂 2013 in press
- 7) 高橋 裕：医学大事典 ラローン型低身長症. 南江堂 2013, in press
- 8) 高橋 裕, 高橋路子：最新肥満症学 新規のアディポサイトカイン ケマリン. 日本臨床 2013, in press

9) 井口元三, 高橋 裕: 下垂体前葉機能低下症 内科外来基本処方Navi. 中外医学社 2013, in press

10) 福岡秀規, 高橋 裕: プロラクチノーマ 内科外来基本処方Navi. 中外医学社 2013, in press

11) 高橋 裕: 先端巨大症 内科外来基本処方Navi. 中外医学社 2013, in press

《英文論文》

1) Takahashi M, Inomata S, Okimura Y, Iguchi G, Fukuoka H, Miyake K, Koga D, Akamatsu S, Kasuga M, Takahashi Y. Decreased serum chemerin levels in male Japanese patients with type 2 diabetes: sex dimorphism. *Endocrine J.* 2013 60: 37-44

2) Sugiyama Y, Ikeshita N, Shibahara H, Yamamoto D, Kawagishi M, Iguchi G, Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K, Okimura Y. A PROP1-binding factor, AES cloned by yeast two-hybrid assay represses PROP1-induced Pit-1 gene expression. *Mol Cell Endocrinol.* 2013 376: 93-8

3) Nishizawa H, Fukuoka H, Iguchi G, Inoshita N, Yamada S, Takahashi Y. AIP mutation identified in a patient with acromegaly caused by pituitary somatotroph adenoma with neuronal choristoma. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes.* 2013 121: 295-9

4) Suda K, Inoshita N, Iguchi G, Fukuoka H, Takahashi M, Nishizawa H, Yamamoto M, Yamada S, Takahashi Y. Efficacy of combined octreotide and cabergoline treatment in patients with acromegaly: a retrospective clinical study and review of the literature. *Endocrine J.* 2013 60: 507-515

5) Yamamoto, M Iguchi G, Fukuoka H, Suda

K, Bando H, Takahashi M, Nishizawa H, Seino S, Takahashi Y. SIRT1 regulates adaptive response of growth hormone-insulin-like growth factor-I axis under fasting conditions in the liver. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013 110: 14948-53

6) Bando H, Iguchi G, Fukuoka H, Taniguchi M, Yamamoto M, Matsumoto R, Suda K, Nishizawa H, Takahashi M, Kohmura E, Takahashi Y. The prevalence of IgG4-related hypophysitis in 170 consecutive patients with hypopituitarism and/or central diabetes insipidus and review of the literature. *Eur J Endocrinol.* 2013 Oct 28. [Epub ahead of print]

《和文論文》

1) 隅田健太郎, 井口元三, 橋本尚子, 廣田勇士, 坂東弘教, 山本雅昭, 西沢衡, 福岡秀規, 高橋路子, 坂口一彦, 小川渉, 清野進, 高橋 裕: 糖尿病精査を契機にサブクリニカルアクロメガリーが疑われた2例 第8回アクロメガリーフォーラム記録集, 52 2013

2) 駒田久子, 廣田勇士, 坂口一彦, 中村友昭, 福岡秀規, 橋本尚子, 井口元三, 高橋 裕, 小川 渉, 清野 進: クランプ法を用いた内分泌疾患における耐糖能の検討. *日本内分泌学会雑誌* 89 Suppl 30-32, 2013

3) 西沢 衡, 福岡秀規, 井口元三, 坂東弘教, 隅田健太郎, 山本雅昭, 高橋路子, 廣田勇士, 坂口一彦, 高橋 裕: リンパ球性下垂体炎の合併が疑われた水疱性類天疱瘡の一例. *日本内分泌学会雑誌* 89 Suppl 30-32, 2013

4) 隅田健太郎, 井口元三, 廣田勇士, 坂東弘教, 山本雅昭, 西沢 衡, 福岡秀規, 高

橋路子, 坂口一彦, 高橋 裕: 2型糖尿病における先端巨大症の頻度についての検討. 日本内分泌学会雑誌 89 Suppl 4-7, 2013

## 2. 学会発表

### 《国際学会》

- 1) The role of primary medical therapy and combined therapy in acromegaly. Takahashi Y. (Symposium) The 2nd Pituitary Expert Meeting in Asia 2013
- 2) Novel mechanism leading to hypopituitarism. Takahashi Y. (Symposium, invited speaker) The 9th Joint Meeting of Pediatric Endocrinology, ESPE, PES, APEG, ASPAE, JSPE, SLEP 2013
- 3) High serum cortisol levels at mid-night and after LDDST are associated with elevated levels of D-dimer in patients with Cushing's syndrome. Fukuoka H, Takaeuchi T, Iguchi G, Hirota Y, Takahashi Y. The 95th Annual Meeting of the Endocrine Society 2013
- 4) The pathophysiological analysis of novel 'anti-PIT-1 antibody syndrome'. Iguchi G, Bando H, Yamamoto M, Takeno R, Suda K, Takahashi M, Nishizawa H, Fukuoka H, Takahashi Y. The 95th Annual Meeting of the Endocrine Society 2013
- 5) Pathophysiology of IgG4-related hypophysitis: an analysis of 7 patients. Bando H, Iguchi G, Fukuoka H, Taniguchi M, Yamamoto M, Suda K, Nishizawa H, Takahashi M, Kohmura E, Takahashi Y. The 95th Annual Meeting of the Endocrine Society 2013
- 6) SIRT1 regulates adaptive response of GH-IGF-I axis under fasting conditions in the liver. Yamamoto M, Iguchi G, Fukuoka H, Suda K, Bando H, Takahashi M, Nishizawa

H, Takahashi Y. The 95th Annual Meeting of the Endocrine Society 2013

- 7) IGF-I prevents the progression of hepatic fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis by inactivating hepatic stellate cells in a p53 dependent manner. Nishizawa H, Iguchi G, Fukuoka H, Takahashi M, Yamamoto M, Suda K, Bando H, Takahashi Y. The 95th Annual Meeting of the Endocrine Society 2013
- 8) Frequency of acromegaly in hospitalized patients with type 2 diabetes and its significance. Suda K, Fukuoka H, Iguchi G, Hashimoto N, Hirota Y, Bando H, Yamamoto M, Nishizawa H, Takahashi M, Sakaguchi K, Takahashi Y. The 95th Annual Meeting of the Endocrine Society 2013

### 《国内学会》

- 1) 高橋 裕: NAFLD/NASH 発症の新たな機序: 成長ホルモン/IGF-Iの役割(特別講演). 臨床肝臓病研究会, 2013
- 2) 高橋 裕: 健やかに生きるために大切な下垂体の役割とその病気(特別講演). 平成24年度堺市難病患者支援センター間脳下垂体機能障害学習会, 2013
- 3) 高橋 裕: サブクリニカル機能性下垂体腺腫の病態(教育講演). 第23回日本間脳下垂体腫瘍学会, 2013
- 4) 高橋 裕: 成人GH分泌不全症の新たな病態と疾患概念(特別講演). 第1回脳と生活習慣病セミナー, 2013
- 5) 高橋 裕: 先端巨大症の新たな病態と治療戦略(ランチョンセミナー). 第86回日本内分泌学会学術総会, 2013
- 6) 高橋 裕: 成人GH分泌不全症の新たな病態と疾患概念(特別講演). 第77回宮城内分泌研究会

- 7) 高橋 裕：先端巨大症の新たな病態と治療戦略(特別講演). Masterclass on Acromegaly, 2013
- 8) 高橋 裕：成人GH分泌不全症の新たな病態と疾患概念(特別講演). 第1回成人GH分泌不全症セミナー, 2013
- 9) 高橋 裕：成人GH分泌不全症の新たな病態と疾患概念(特別講演). 第34回東京成長ホルモン, 成長因子セミナー, 2013
- 10) 高橋 裕：成人GH分泌不全症の新たな病態と疾患概念(特別講演). 第4回西神戸内分泌糖尿病オープンカンファレンス, 2013
- 11) 高橋 裕：下垂体機能低下症を呈する新たな疾患概念(特別講演). AGHD Advisory Board Meeting, 2013
- 12) 高橋 裕：下垂体機能低下症を呈する新たな疾患概念(特別講演). 第46回間脳下垂体疾患研究会, 2013
- 13) 高橋 裕：成長ホルモン, IGF-Iの肝臓における新たな作用(教育講演). Pfizer Endocrinology forum, 2013
- 14) 高橋 裕：成人GH分泌不全症の新たな病態 NAFLD/NASH(特別講演). Endocrinology Forum in Supporo, 2013
- 15) 高橋 裕：非アルコール性脂肪性肝炎の新たなメカニズムー成長ホルモン, IGF-Iの役割ー(ランチョンセミナー). 第11回大連合大会(第35回日本臨床栄養学会総会, 第34回日本臨床栄養協会総会), 2013
- 16) 高橋 裕：下垂体機能低下症を呈する新しい疾患概念(特別講演). 第33回千駄木内分泌懇話会, 2013
- 17) 高橋 裕：小児がんサバイバーにおける内分泌代謝異常とその管理の重要性～健やかな人生のために～(ランチョンセミナー). 第55回日本小児血液・がん学会学術集会, 第11回日本小児がん看護学会, 第18回がんの子どもを守る会公開シンポジウム, 2013
- 18) 高橋 裕：先端巨大症の病態とそのメカニズム(ランチョンセミナー). 第24回日本間脳下垂体腫瘍学会, 2014
- 19) 高橋 裕：見逃しがちな糖尿病, 高血圧に潜む内分泌疾患(特別講演). 南大阪糖尿病セミナー, 2014
- 20) 高橋 裕：GH/IGF-I系とサーチュインによる寿命調節機構とその意義(特別講演). 第28回東北成長障害・成長因子研究会, 2014
- 21) 高橋 裕：高齢化社会における骨粗鬆症の重要性, 病態と治療のトピックス(特別講演). 神戸市医師会講演会, 2014
- 22) 高橋 裕：内分泌機能検査のパールとピットフォール(シンポジウム:とことん神経内分泌). 第40回日本神経内分泌学会学術総会, 2013
- 23) 高橋 裕：診断治療に難渋した症例, 下垂体(コメンテーター). 第23回臨床内分泌代謝Update, 2014
- 24) 吉岡奈美, 福岡秀規, 西原永潤, 宮内昭, 井口元三, 廣田勇士, 坂口一彦, 小川渉, 清野 進, 高橋 裕：新規TR $\beta$ 遺伝子変異(A234D)を認めた甲状腺ホルモン不応症の1家系, 第86回日本内分泌学会学術総会, 仙台, 2013年4月25-27日
- 25) 隅田健太郎, 福岡秀規, 井口元三, 坂東弘教, 山本雅昭, 西沢 衡, 高橋路子, 清野 進, 高橋 裕：下垂体腫瘍を認めない巨人症におけるSOCS2, IGF-IRの遺伝子解析, 第86回日本内分泌学会学術総会, 仙台, 2013年4月25-27日
- 26) 坂東弘教, 井口元三, 福岡秀規, 隅田健

- 太郎, 山本雅昭, 西澤 衡, 高橋路子, 谷口理章, 甲村英二, 清野 進, 高橋裕: IgG4陽性細胞が認められた肉芽腫性下垂体炎の1例, 第86回日本内分泌学会学術総会, 仙台, 2013年4月25-27日
- 27) 山本雅昭, 福岡秀規, 井口元三, 中島進介, 高橋路子, 西澤 衡, 隅田健太郎, 坂東弘教, 清野 進, 高橋 裕: 腎嚢胞は先端巨大症における脳動脈瘤合併の危険因子である, 第86回日本内分泌学会学術総会, 仙台, 2013年4月25-27日
- 28) 小武由紀子, 福岡秀規, 吉岡奈美, 廣田勇士, 井口元三, 坂口一彦, 小川 渉, 清野 進, 高橋 裕: 副甲状腺機能低下症をきっかけに成人期に診断された22q11.2欠失症候群の3例, 第86回日本内分泌学会学術総会, 仙台, 2013年4月25-27日
- 29) 西沢 衡, 井口元三, 坂東弘教, 隅田健太郎, 山本雅昭, 高橋路子, 福岡秀規, 清野 進, 高橋 裕: IGF-IはNASHにおける線維化進展を防止する, 第86回日本内分泌学会学術総会, 仙台, 2013年4月25-27日
- 30) 向井美希, 福岡秀規, 中島進介, 伊賀真紀子, 西本祐希, 廣田勇士, 坂口一彦, 小川 渉, 井口元三, 高橋 裕: コルチゾール産生副腎腫瘍, 心臓腫瘍, 皮膚多発性平滑筋腫を合併しCarney Complexとの鑑別を要した一例, 第14回内分泌学会近畿地方会, 京都, 2013年10月19日
- 31) 隅田健太郎, 松本隆作, 福岡秀規, 井口元三, 坂東弘教, 西沢 衡, 高橋路子, 高橋 裕: SOCS2遺伝子変異により引き起こされた巨人症, 第40回神経内分泌学会, 宮崎, 2013年10月23-24日
- 32) 隅田健太郎, 松本隆作, 福岡秀規, 井口元三, 廣田勇士, 坂東弘教, 西沢 衡, 高橋路子, 坂口一彦, 高橋 裕: 一般の2型糖尿病による血中GH, IGF-I値への影響の検討, 第23回臨床内分泌代謝Update, 名古屋, 2014年1月24-25日
- 33) 坂東弘教, 井口元三, 福岡秀規, 隅田健太郎, 松本隆作, 西澤 衡, 高橋路子, 谷口理章, 甲村英二, 高橋 裕: 下垂体機能低下症, 中枢性尿崩症におけるIgG4関連下垂体炎の頻度, 第23回臨床内分泌代謝Update, 名古屋, 2014年1月24-25日
- 34) 山本雅昭, 福岡秀規, 井口元三, 高橋路子, 西沢 衡, 隅田健太郎, 坂東弘教, 松本隆作, 高橋 裕: 75gOGTT試験のGH高値は先端巨大症における大腸癌合併と関連している, 第23回臨床内分泌代謝Update, 名古屋, 2014年1月24-25日
- 35) 松本隆作, 福岡秀規, 井口元三, 西沢 衡, 坂東弘教, 隅田健太郎, 高橋路子, 高橋 裕: 成人GH分泌不全症に対するGH補充療法: 肝機能に関する長期成績, 第23回臨床内分泌代謝Update, 名古屋, 2014年1月24-25日
- 36) 西沢 衡, 井口元三, 松本隆作, 坂東弘教, 隅田健太郎, 福岡秀規, 廣田勇士, 坂口一彦, 小川 渉, 高橋 裕: 頭部外傷後に発症し失神発作をきたしたACTH単独欠損症の一例, 第23回臨床内分泌代謝Update, 名古屋, 2014年1月24-25日
- 37) 中島進介, 福岡秀規, 関口兼司, 廣田勇士, 井口元三, 坂口一彦, 小川 渉, 高橋 裕: 下肢関節拘縮を呈し補充療法によって改善した汎下垂体機能低下症, 第23回臨床内分泌代謝Update, 名古屋, 2014年1月24-25日
- 38) 播 悠介, 福岡秀規, 竹内健人, 岩橋泰



幸, 藤田泰功, 平田 悠, 伊賀真紀子, 中島進介, 西本祐希, 向井美希, 廣田勇士, 井口元三, 坂口一彦, 小川 渉, 高橋 裕, 顕 性:不顕性クッシング症候群における骨折と糖脂質代謝の関連, 第23回臨床内分泌代謝Update, 名古屋, 2014年1月24-25日

39) 平田 悠, 福岡秀規, 岩橋泰幸, 藤田泰功, 播 悠介, 伊賀真紀子, 中島進介, 西本祐希, 向井美希, 廣田勇士, 井口元三, 坂口一彦, 小川 渉, 高橋 裕: 中枢性甲状腺機能低下症に対するT4製剤補充時の指標に関する検討, 第23回臨床内分泌代謝Update, 名古屋, 2014年1月24-25日

40) 高橋路子, 松本隆作, 坂東弘教, 隅田健太郎, 西澤 衡, 福岡秀規, 井口元三, 宇佐美眞, 高橋 裕: ステロイド補充が著効した重症患者における相対的副

腎不全の1例, 第23回臨床内分泌代謝Update, 名古屋, 2014年1月24-25日

41) 伊賀真紀子, 福岡秀規, 西本祐希, 岩橋泰幸, 藤田泰功, 播 悠介, 平田 悠, 中島進介, 向井美希, 廣田勇士, 井口元三, 小川 渉, 岡 昌宏, 高橋 裕, 播種状黄色腫による中枢性尿崩症と考えられた一例, 第24回間脳下垂体腫瘍学会, 福岡, 2014年2月21-22日

42) 福岡秀規, 井口元三, 松本隆作, 坂東弘教, 隅田健太郎, 西澤 衡, 高橋路子, 井下尚子, 山田正三, 高橋 裕, ACTH産生下垂体腫瘍に発現するEGF受容体ファミリーの意義の解明, 第24回間脳下垂体腫瘍学会, 福岡, 2014年2月21-22日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1. GH、IGF-Iの肝臓における新たな作用機序

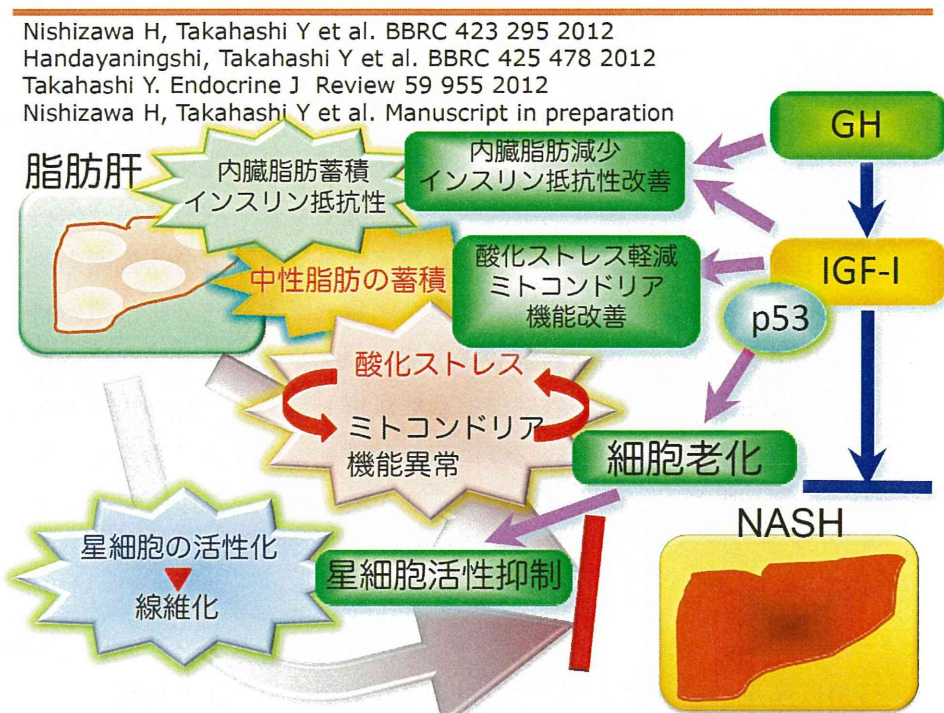
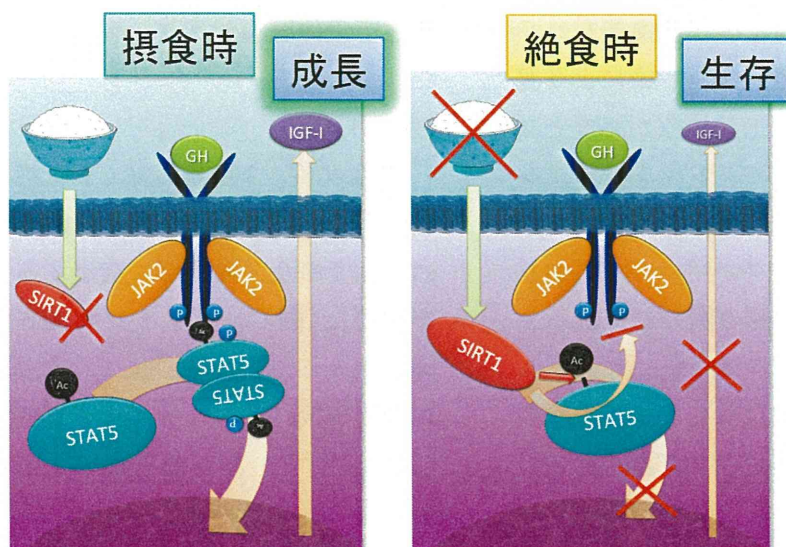


図2. 絶食によって活性化されたSIRT1がSTAT5を脱アセチル化しGHシグナルを抑制する

Yamamoto M, Takahashi Y et al. PNAS 2013 110 14948



## 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

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	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
	田上 哲也	国立病院機構京都医療センター内分泌代謝内科
	中谷理恵子	国立病院機構京都医療センター内分泌代謝内科
	植田 洋平	国立病院機構京都医療センター内分泌代謝内科
	垣田真以子	国立病院機構京都医療センター内分泌代謝内科
	中尾佳奈子	国立病院機構京都医療センター内分泌代謝内科
	立木 美香	国立病院機構京都医療センター内分泌代謝内科
	成瀬 光栄	国立病院機構京都医療センター臨床研究センター

### A. 研究目的

甲状腺刺激ホルモン(TSH)産生腫瘍は全下垂体腫瘍の1-2%を占めるに過ぎず、まれな機能性腫瘍である<sup>1)</sup>。甲状腺機能亢進にもかかわらず血中TSH濃度が抑制されないTSH不適切分泌(SITSH)の病態が広く知られるようになり、報告例が増している。TSH産生腫瘍治療の第一選択は経鼻的下垂体腫瘍摘除術である<sup>1)</sup>が、手術前に甲状腺機能をコントロールする必要がある。また手術により寛解に至らなかった例では追加治療が必要となる。現在、薬物療法として、ソマトスタチンがTSH分泌の生理的抑制因子であることからソマトスタチンアナログが用いられており<sup>2)</sup>、ドパミン作動薬も一部の例で効果を示す<sup>3)</sup>。我々は、TSH産生下垂体腫瘍にオクトレオチド皮下注製剤を長期投与し、甲状腺機能のコントロールと腫瘍縮小効果が得られることを報告した<sup>4)-7)</sup>。GH産生腫瘍である先端巨大症の薬物治療にはソマトスタチンアナログの徐放製剤(オクトレオチドLARおよびランレオチド徐放製剤<sup>8)</sup>)が用いられ、頻回注射が軽減されている。そこでTSH産生腫瘍

に対して、ソマトスタチンアナログ徐放製剤の術前投与および長期薬物治療を試み、その臨床的有用性を検討することにした。

### B. 研究方法

TSH産生腫瘍の2例(表1)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。

#### 《症例1》

35歳女性。3回の流産(不育症)と甲状腺機能亢進を指摘され、fT4 3.4ng/dl, TSH 3.74  $\mu$ U/mlであり、鞍上部に突出する下垂体腫瘍を認めた(図1)。オクトレオチド負荷でTSH抑制がみられたため、皮下注製剤による2週間の治療後、オクトレオチドLAR 10mgの筋注を2回行い、甲状腺機能の正常化と腫瘍縮小を得て経鼻的下垂体腫瘍摘出術が行われた(図2)。術後5ヶ月に渡り破壊性甲状腺炎を併発した<sup>9)</sup>。病理組織像はTSH産生下垂体腫瘍であった。

## 《症例2》

65歳女性。大腸癌の手術後、動悸、頭痛、顔面および手掌の紅潮があり、fT4 1.8ng/dl、TSH 8.24 $\mu$ U/mlとPRL高値を指摘された。下垂体はいびつに腫大し(図1)、オクトレオチド負荷でTSH、PRLはともに抑制された。手術を受諾されず、ランレオチド徐放製剤による薬物療法を試みた。60mg/4週で開始、28週目で甲状腺機能の正常化、PRLの低下、腫瘍の軽度縮小が得られており、投与間隔を調整している(図2)。

## C. 研究結果

表2に、2症例のTRH200 $\mu$ g負荷試験およびオクトレオチド50 $\mu$ g負荷試験の成績を示した。症例1では、TRHに対してTSHは著明な増加反応を示した。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。

図2に、ソマトスタチンアナログ徐放製剤による治療の臨床経過を示した。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。また、症例1において発汗の減少、症例2において顔面の潮紅や動悸、頭痛の軽減がみられ、臨床症状の改善を認めた。症例1で皮下注製剤の開始時に嘔気が見られたが、LARへは問題なく切り替えが出来た。両例とも徐脈や肝機能障害の副作用は認めなかった。症例2において、血中GHは低値でIGF1濃度は基準範囲以下となっている。

## D. 考察

Beck-Peccozらの総説<sup>10)</sup>では、TSH産生下垂体腫瘍の薬物治療の主流は徐放性ソマトス

タチンアナログである、とされ、これらのソマトスタチンアナログの投与により殆どすべての患者でTSHと $\alpha$ サブユニットの分泌抑制がみられ、大部分の患者で甲状腺機能の回復がみられる、95%以上の患者で血中ホルモン、TSH濃度が正常化し、40%の患者で下垂体腫瘍が縮小する、ソマトスタチンアナログ治療に対する抵抗性や副作用による治療中止は殆ど報告されていない、と記載されている。その根拠である徐放製剤の報告例<sup>11) - 16)</sup>をまとめて示した(表3)。現在、ソマトスタチンアナログ治療がTSHの産生下垂体腫瘍に適用されているのは英国および仏国で、いずれもランレオチドのSRもしくはLP製剤である。

我が国では、TSH産生腫瘍に関する薬物療法のまとまった報告は非常に少ない<sup>6)</sup>。山田ら(論文投稿中)は、手術を行なったTSH産生下垂体腫瘍90例のうち、LARを含めたオクトレオチドの術前投与は44例と報告している。1週間から2ヶ月間の投与期間で34例において甲状腺機能は正常化し、前後で腫瘍サイズを検討できた38例中22例で縮小を認め、良好な成績であった。今回、1例は術前の投与、1例は薬物治療継続であり、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がみられ、既報に合致する結果であった。

TSH産生腫瘍に対する薬物療法の目的は、腫瘍コントロールと甲状腺機能の正常化である。手術前の症例では、周術期における甲状腺中毒クリーゼを回避する必要がある。実際にTSH産生腫瘍で甲状腺中毒クリーゼに陥った症例は、中毒症がありながら術前にTSH産生腫瘍と診断されなかった若年例の報告<sup>17)</sup>があるにすぎない。我が国における甲状腺中毒クリーゼ356例のうち、バセドウ病以外の甲状腺基礎疾患は5例のみでこの中にTSH産生

腫瘍は含まれていなかった(赤水ら、personal communication)が、藤尾ら(論文準備中)は、甲状腺中毒症状が強い例で全身麻酔導入時にクリーゼに陥ったTSH産生腫瘍の1例を経験している。術前のソマトスタチンアナログ徐放製剤が、我が国でもTSH産生腫瘍へ適用拡大されることが期待される。

## E. 結論

TSH産生腫瘍において、ソマトスタチンアナログ徐放製剤は、甲状腺機能および腫瘍サイズのコントロールをもたらす有効な治療法の一つである。我が国でもTSH産生腫瘍への適用拡大が期待される。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Shimatsu A, Murabe H, Kamoi K, et al. Treatment of TSH-secreting pituitary adenomas with octreotide. *Endocr J* 46: 113-123, 1999
- 2) 木村 崇, 島津 章, 森 栄作, その他. 習慣性流産を呈したTSH産生腫瘍の一例. 「内分泌クリニカル・カンファランス50」, ホルモンと臨床 57(冬季増刊号): 33-35, 2009

### 2. 学会発表

- 1) 中谷理恵子, 白井 健, 植田洋平, 垣田真以子, 立木美香, 中尾佳奈子, 田上哲也, 成瀬光栄, 島津 章. Lanreotideにて治療をおこなったTSH・PRL産生下垂体腫瘍の1例. 第24回日本間脳下垂体腫瘍学会, 福岡市, 2014年2月21-22日

## G. 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

## 参考文献

- 1) Beck-Peccoz P, Brucker-Davis F, Persani L, et al. Thyrotropin-secreting pituitary tumors. *Endocr Rev* 17: 610-638, 1996
- 2) Chanson P, Weintraub BD, Harris AG. Octreotide therapy for thyroid-stimulating hormone-secreting pituitary adenomas. A follow-up of 52 patients. *Ann Intern Med* 119: 236-240, 1993
- 3) Shimatsu A, Murabe H, Nakamura Y, et al. Long-term treatment with bromocriptine of a plurihormonal pituitary adenoma secreting thyrotroph, growth hormone and prolactin. *Endocr J* 46: 159-165, 1999
- 4) 白井 崇, 佐古伊康, 松本光弘, その他. ソマトスタチンアナログが著効した甲状腺刺激ホルモン, 成長ホルモン, プロラクチン産生下垂体腺腫の1例, *日本内科学会雑誌* 78: 1605-1606, 1989
- 5) 鴨井久司, 島津 章. ソマトスタチンアナログの微量間歇皮下投与が奏効したGraves病を伴ったTSH産生下垂体腫瘍の1症例, 「内分泌 興味ある症例 第20集」, *ホルモンと臨床* 40(増刊): 24-28, 1992
- 6) Suzuki Y, Nanno M, Gemma R, et al. Marked inhibition of hormonal secretion and tumor shrinkage by long-acting somatostatin analogue octreotide in a patient with a TSH- and GH-secreting pituitary adenoma. *Jpn Arch Int Med* 39: 329-336, 1992
- 7) Shimatsu A, Murabe H, Kamoi K, et al. Treatment of TSH-secreting pituitary

- adenomas with octreotide. *Endocr J* 46: 113-123, 1999
- 8) Shimatsu A, Teramoto A, Hizuka N, et al. Efficacy, safety and pharmacokinetics of sustained-release lanreotide (lanreotide Autogel) in Japanese patients with acromegaly or pituitary gigantism. *Endocr J* 60: 651-663, 2013
- 9) 木村 崇, 島津 章, 森 栄作, その他. 習慣性流産を呈したTSH産生腫瘍の一例. 「内分泌クリニカル・カンファレンス50」, ホルモンと臨床 57(冬季増刊号): 33-35, 2009
- 10) Beck-Peccoz P, Persani L, Mannavola D, et al. TSH-secreting adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 23: 597-606. 2009
- 11) Gancel A, Vuillermet P, Legrand A, et al. Effects of a slow-release formulation of the new somatostatin analogue lanreotide in TSH-secreting pituitary adenomas. *Clin Endocrinol* 40: 421-428, 1994
- 12) Kuhn JM, Arlot S, Lefebvre H, et al. Evaluation of the treatment of thyrotropin-secreting pituitary adenomas with a slow release formulation of the somatostatin analog lanreotide. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 1487-1491, 2000
- 13) Caron P, Arlot S, Bauters C, et al. Efficacy of the long-acting octreotide formulation (octreotide-LAR) in patients with thyrotropin-secreting pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 2849-2853, 2001
- 14) Socin HV, Chanson P, Delemer B, et al. The changing spectrum of TSH-secreting pituitary adenomas: diagnosis and management in 43 patients. *Eur J Endocrinol* 148: 433-442, 2003
- 15) Paniagua AE, Bernabeu I, Leskela S, et al. Lanreotide autogel-induced tumour shrinkage in thyrotropin-secreting pituitary macroadenomas. *Clin Endocrinol* 74: 406-408, 2011
- 16) Zhang CF, Liang D, Zhong LY. Efficacy of the long-acting octreotide formulation in patients with thyroid-stimulating hormone-secreting pituitary adenomas after incomplete surgery and octreotide treatment failure. *Chin Med J* 125: 2758-2763, 2012
- 17) Page KA, Roehmholdt BF, Jablonski M, et al. Development of thyroid storm after surgical resection of a thyrotropin-secreting pituitary adenoma. *Endocr Pract* 14: 732-737, 2008

表1. 症例提示

<b>症例1. 33歳 女性</b>		<b>症例2. 65歳 女性</b>	
主訴: 甲状腺腫大 発汗過多		主訴: 動悸 頭痛 顔面紅潮	
既往: 習慣性流産		既往: 大腸癌	
FT3	13.3 pg/ml	FT3	4.5 pg/ml
FT4	4.1 ng/dl	FT4	1.8 ng/dl
TSH	3.58 μU/ml	TSH	8.24 μU/ml
PRL	20.6 ng/ml	PRL	52.7 ng/ml
GH	0.87 ng/ml	GH	0.43 ng/ml
IGF-1	367 ng/ml	IGF-1	139 ng/ml
αSU/TSHモル比	1.76	αSU/TSHモル比	10.9

表2. 内分泌学的検査成績

症例1		症例2	
TRH試験		TRH試験	
TSH	3.2 → 29.8 μU/ml	TSH	6.3 → 9.3 μU/ml
PRL	18.9 → 29.8 ng/ml	PRL	37.4 → 67.2 ng/ml
GH	1.8 → 0.36 ng/ml	GH	0.43 → 0.87 ng/ml
Octreotide試験		Octreotide試験	
TSH	3.5 → 2.0 μU/ml	TSH	5.5 → 2.3 μU/ml
PRL	19.8 → 15.5 ng/ml	PRL	34.3 → 8.0 ng/ml
GH	1.35 → 0.06 ng/ml	GH	0.39 → 0.12 ng/ml

表3. ソマトスタチンアナログ徐放製剤によるTSH産生腫瘍の治療成績

Gancel P, et al. 1994	
N=4, lanreotide SR 30mg/10-14d: 3-6M	4/4: 正常機能
Kuhn JM, et al. 2000	
N=16, lanreotide SR 30mg/10-14d: 6M	13/16: 正常機能
Caron P, et al. 2001	
N=11, octreotide LAR 20mg: 6M	10/11: 正常機能
Socin HV, et al. 2003	
N=26, octreotide or lanreotide SR: mean 6M	19例は術前投与
	22/26: 正常機能 5/13: 腫瘍縮小
Paniagua AE, et al. 2011	
N=2, lanreotide ATG 120mg: 12-24M	2例とも腫瘍縮小
Zhang C, et al. 2012	
N=15, octreotide LAR 20mg: 2M (-1.9y)	14/15: 正常機能

图1. 下垂体MRI

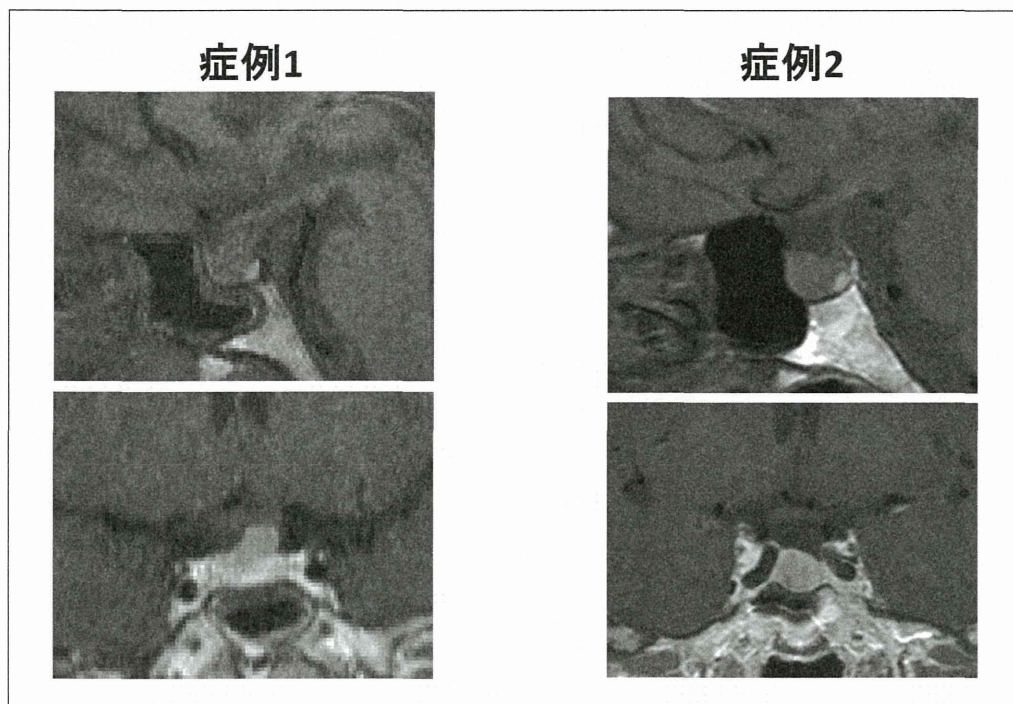


图2. 临床経過

症例1		症例2	
Octreotide LAR 10mg × 2回		Lanreotide 60-90mg × 10回	
FT3	13.3 → 3.58 pg/ml	FT3	4.5 → 2.33 pg/ml
FT4	4.1 → 1.37 ng/dl	FT4	1.6 → 1.10 ng/dl
TSH	3.58 → 0.89 μU/ml	TSH	7.61 → 3.09 μU/ml
PRL	20.6 → 10.8 ng/ml	PRL	46.3 → 9.2 ng/ml
IGF1	367 → 195 ng/ml	IGF1	139 → 73 ng/ml



## Rev-erbaによる下垂体 *TSHβ* 遺伝子の 新たな発現制御機構

研究分担者 山田 正信 群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学  
研究協力者 松本 俊一 群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学

**研究要旨：**下垂体 *TSHβ* 遺伝子発現は甲状腺ホルモン(T3)により抑制され、また概日リズムがあるがその分子機構は不明である。核内受容体Rev-erbaは概日リズムを示しコリプレッサーNCoRと結合し標的遺伝子発現を制御する。そこでマウス下垂体TSH産生細胞を用いてRev-erbaの*TSHβ*遺伝子発現に与える影響を検討した。T3もしくはRev-erbaアゴニスト投与によりmRNAレベルは低下したが、shNCoRにて内因性NCoR発現を低下させるとmRNAレベルは亢進した。ヒストンH3アセチル化はT3で変化せず、TRH投与もしくはshNCoR導入で増加を認めた。細胞同期後*TSHβ* mRNAとRev-erba蛋白発現は時間的にほぼ同期して変動した。Rev-erbaとNCoRは*TSHβ* 遺伝子上の同一領域にリクルートされ、T3の影響を受けなかった。以上より、Rev-erbaはNCoRを介してT3非依存的に下垂体*TSHβ* 遺伝子発現を抑制し概日リズムに関与していることが示唆された。

### A. 研究目的

甲状腺刺激ホルモン(TSH)は下垂体前葉から分泌されるホルモンであり、甲状腺ホルモン(TH)分泌を調節している。血清TSH値は夜間に上昇することが知られている。また、近年*Clock* 遺伝子や*Bmal1* 遺伝子といった概日リズムに関連する遺伝子が同定され、解析されている。核内受容体Rev-erbaは核内コリプレッサーであるNCoRを介してこれら概日リズムに関連する遺伝子群や代謝に関連する遺伝子群など、多くの標的遺伝子発現の概日リズムを制御している。しかし、*TSHβ* 遺伝子に対するRev-erbaによる制御はいまだ不明である。本研究では、マウス下垂体TSH産生細胞株であるTαT1.1細胞を用いて*TSHβ* 遺伝子発現制御へのRev-erbaおよびNCoRの関与、制御機構の解析を行った。

### B. 研究方法

- 1) マウス下垂体TSH産生細胞株であるTαT1.1細胞を用い内因性*TSHβ* 遺伝子発現を定量的リアルタイムPCRで検討した。
- 2) T3並びにRev-erbaアゴニストであるSR9011を添加し、上記遺伝子発現への影響を検討した。
- 3) NCoRを標的としたshRNA(shNCoR)を発現するアデノウイルスを作成し、TαT1.1細胞に導入し内因性NCoRのmRNA並びに蛋白レベルでノックダウン効率を確認した。また内因性SMRTのmRNA並びに蛋白レベルも測定し、shNCoRの特異性を確認した。shNCoRをTαT1.1細胞に導入し<sup>1)</sup>と同様の検討を行った。
- 4) *TSHβ* 遺伝子において、遺伝子の転写活性化に働くヒストンH3アセチル化の状態をT3、TRH添加ならびにshNCoRを導入した各条件下に対し、クロマチン免疫沈降

法により評価した。

- 5) 50% ウマ血清で細胞を同期させ *TSHβ* 遺伝子発現を定量的リアルタイムPCRおよび *Rev-erba* 蛋白発現をウェスタンブロットで解析した。
- 6) *TSHβ* 遺伝子上に増幅産物が500bp未満、主に200から300bpとなるように primer を設定し、*TSHβ* 遺伝子上流約5kb、また下流約2kbをカバーできるようにそれぞれ10 primer sets、4 primer sets ずつデザインし、*TSHβ* 遺伝子上の NCoR もしくは *Rev-erba* 結合部位をクロマチン免疫沈降法により検討した。

### C. 研究結果

- 1)  $T\alpha T1.1$  細胞において、T3 投与により時間的に *TSHβ* mRNA レベルは抑制され、投与16時間後には約26%へと減少を認めた。一方、*Rev-erba* アゴニストである SR9011 の添加では濃度依存的に *TSHβ* mRNA レベルは抑制され、5  $\mu$ M で低値を認めた。
- 2) shNCoR 導入後、 $T\alpha T1.1$  細胞内の内因性 NCoR の発現をそれぞれ定量的リアルタイムPCRならびにウェスタンブロットで解析したところ、mRNA レベル、蛋白レベルともに低下を認めた。また、内因性 SMRT の mRNA レベル、蛋白レベルはともに影響を受けておらず、shNCoR は特異的かつ有意に内因性 NCoR のみノックダウンしていることが認められた。その後、shNCoR を  $T\alpha T1.1$  細胞に導入後、*TSHβ* mRNA レベルを解析したところ、コントロール群である SC 群と比較し有意に増加を認めたが、T3 による抑制は不変であった。
- 3) ヒストン H3 N 端特異的アセチル化抗体を用いたクロマチン免疫沈降法で *TSHβ* 遺伝

子上のヒストン H3 のアセチル化の状態を検討すると、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。

- 4) 細胞同期後 *TSHβ* mRNA と *Rev-erba* 蛋白発現はともに時間的変動を認めた。5) NCoR 抗体を用いたクロマチン免疫沈降法で NCoR は *TSHβ* 遺伝子上流に結合し、*Rev-erba* も同部位に結合を認めた。

### D. 考察

血中の TSH 濃度は甲状腺機能変化を鋭敏にとらえるため、甲状腺疾患の診断として重要である。TSH は  $\alpha$  と  $\beta$  という2つのサブユニットから構成され、 $\alpha$  サブユニットは LH および FSH と共通しているが、 $\beta$  サブユニットは TSH に特異的である。

*TSHβ* 遺伝子発現は TRH による刺激で亢進し、T3 により抑制されることが知られている。しかし、血清 TSH 値の概日リズムに対する制御機構の詳細は不明である。

近年、甲状腺ホルモン受容体 (TR)  $\alpha$  のアンチセンスに由来する核内受容体 *Rev-erba* の発現に概日リズムがあり、標的遺伝子の発現調節を行い、その機構に転写共役因子のコリプレッサーである NCoR が関与することが報告された。NCoR は甲状腺ホルモンにより正の制御を受ける遺伝子群において、TR と結合して標的遺伝子発現を抑制することが知られており、*TSHβ* 遺伝子発現においてもその関与が注目されている。

今回使用したマウス下垂体 TSH 産生細胞株である  $T\alpha T1.1$  細胞は内因性の *TSHβ* 遺伝子を有しており、より生体に近い状態で解析できる。

今回、NCoR を標的とする shRNA の導入により、*TSHβ* 遺伝子発現は NCoR により抑

制されていることが判明した。さらに *TSHβ* 遺伝子上の各部位を標的とした primer を設定し、クロマチン免疫沈降法を用いることにより、NCoR と Rev-erb $\alpha$  は *TSHβ* 遺伝子上の同じ領域にリクルートされることが判明した。この部位は既知の TR 結合部位である、*TSHβ* 遺伝子上 -1.8kb ならびに +18bp とは異なっていた。

NCoR は HDAC3 と結合し、ヒストンを脱アセチル化させることで標的遺伝子発現を抑制することが知られている。そこで今回我々は *TSHβ* 遺伝子における H3 アセチル化の状態をクロマチン免疫沈降法で解析した。すると、H3 アセチル化の状態は T3 で変化せず、TRH 投与もしくは shNCoR 導入で増加を認めた。このことから NCoR は *TSHβ* 遺伝子上においてもヒストン脱アセチル化により抑制状態に働くことが示唆された。

Rev-erb $\alpha$  はその遺伝子発現自体、概日リズムを有することが知られている。そこで、50% ウマ血清を用いて serum shock を与え、細胞を同期させた。その後、*TSHβ* 遺伝子発現ならびに Rev-erb $\alpha$  タンパク発現を解析した。するとともにほぼ同期を示す時間的変動を認めた。また、Rev-erb $\alpha$  アゴニストである SR9011 投与は濃度依存的に *TSHβ* 遺伝子発現を抑制することが判明した。

以上より、Rev-erb $\alpha$  は NCoR を介し、*TSHβ* 遺伝子発現制御へ関与していることが示唆され、特に *TSHβ* 遺伝子発現の概日リズムに重要な役割をしていると考えられた。

## E. 結論

NCoR を介した Rev-erb $\alpha$  は下垂体 *TSHβ* 遺伝子を制御しており、その概日周期発現に重要な役割をしている。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ishida E, Hashimoto K, Okada S, Satoh T, Yamada M, Mori M. Thyroid hormone receptor and liver X receptor competitively up-regulate human selective Alzheimer's disease indicator-1 gene expression at the transcriptional levels. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 432: 513-518.
- 2) Ishida E, Hashimoto K, Okada S, Satoh T, Yamada M, Mori M. Crosstalk between thyroid hormone receptor and liver X receptor in the regulation of selective Alzheimer's disease indicator-1 gene expression. *PLoS One.* 2013; 8(1): e54901

### 2. 学会発表

- 1) 渡邊琢也, 橋本貢士, 中島康代, 登丸琢也, 石井角保, 小澤厚志, 渋沢信行, 佐藤哲郎, 田中知明, 山田正信, 森 昌朋: 甲状腺ホルモン不応症の遺伝子診断の時期について 下垂体腫瘍合併例からの考察. 第86回日本内分泌学会, 2013年4月, 仙台
- 2) 橋本貢士, 石田恵美, 武田茂樹, 登丸琢也, 石井角保, 小澤厚志, 渋沢信行, 佐藤哲郎, 岡田秀一, 清水弘行, 山田正信, 森 昌朋: 摂食抑制ペプチド Nesfatin-1 の細胞内シグナル伝達機構の解析とその特異的受容体の探索. 第86回日本内分泌学会, 2013年4月, 仙台
- 3) 石田恵美, 橋本貢士, 石井角保, 登丸琢也, 小澤厚志, 渋沢信行, 佐藤哲郎, 山田正信, 森 昌朋. Liver X受容体は甲状腺機能低下症における Alzheimer病関連遺伝子 Seladin-1 発現を代償するヒト及びマウス

での検討. 第86回日本内分泌学会, 2013年4月, 仙台

4) Shunichi Matsumoto, Vitor M S Pinto, Aniket Sidhaye and Fredric Edward Wondisford, Regulation of *Tshb* by *Rev-erb- $\alpha$*  and *NCoR* is independent of thyroid hormone, The Endocrine society's 95<sup>th</sup> annual meeting, San Francisco U.S.A., 2013

5) 岡村孝志(群馬大学 大学院医学系研究科病態制御内科学), 中島康代, 登丸琢也, 石井角保, 小澤厚志, 渋谷信行, 橋本貢士, 佐藤哲郎, 山田正信: TRHの下垂体

NR4A1 (*Nur77*) を介する *TSH $\beta$*  遺伝子制御機構. 第56回日本甲状腺学会, 2013年11月, 和歌山

6) 松本俊一, 橋本貢士, 石田恵美, 佐藤哲郎, 森 昌朋, 山田正信: Fredric Wondisford. 甲状腺ホルモンを介しない *Rev-erb $\alpha$*  および *NCoR* による *Tshb* 遺伝子発現制御機構の解析. 第56回日本甲状腺学会, 2013年11月, 和歌山

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし