

令和 2 年 7 月 4 日現在

機関番号：34315

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08473

研究課題名(和文) ホルモン抗体陽性患者における至適薬物治療の判定システムの確立と実務応用

研究課題名(英文) Optimal pharmacotherapy in patients with hormone autoantibodies

研究代表者

服部 尚樹 (Hattori, Naoki)

立命館大学・薬学部・教授

研究者番号：80288828

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：マクロプロラクチンを有する女性と有さない女性の間で不妊率に有意な差は認められなかった。マクロTSHの基礎的、臨床的検討を行い報告した。マクロTSH血症の検査依頼を全国から受け付け、結果を臨床現場に還元した。その中で、極めて稀な小児マクロTSH血症を2症例見出した。また、類似の病態であるマクロFSH血症を見出し報告した。マクロTSHを認識しないアッセイ系を確率するためのエピトープ検索は現在進行中である。Dextran charcoal法を応用して患者血清と各種インスリン製剤との結合率を検討し、インスリン抗体を有する患者における最適インスリンのin vitro検索システムを確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

甲状腺疾患患者は多く、甲状腺ホルモンとTSHのアッセイは非常に多くなされている。マクロTSHの生物活性は低いため甲状腺ホルモンによる治療は不要であるが、甲状腺機能低下症と誤診され不要な治療を受けている患者が存在すると予想されている。本研究は多くの医師からの検査依頼を無償で引き受けて結果を臨床現場に返しており、誤診を防ぐなど社会に大いに貢献した。マクロTSHを認識せず生物活性のある真のTSHのみを認識するアッセイ系が確立出来れば更に臨床に寄与できると考えている。

研究成果の概要(英文)：Prevalence of infertility between women with macroprolactin and those without it was not significantly different. I performed a basic and clinical research about macro-TSH and published the results in Thyroid. I accepted the request to test macro-TSH not only from Japan but also Turkey and returned the results to clinical doctors. Macro-TSH was found in two children and reported in Japan Endocrine Meeting 2020. Macro-FSH was found and reported in CCLM. The epitope mapping to develop an assay system not to react to macro-TSH is under way. I established an in vitro system to determine the optimal insulin for the patients with anti-insulin antibodies using dextran-charcoal method.

研究分野：臨床薬学

キーワード：TSH マクロTSH 薬物治療 最適化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 研究代表者らはマクロプロラクチン(PRL)血症の頻度と病態の研究を続け、マクロ PRL の生物活性が Nb2 rat lymphoma cell line を用いた研究で低いことを明らかにした(Clin Endocrinol 2008)。しかし、マクロ PRL 血症患者において、通常の高 PRL 血症患者の様なドパミンアゴニストによる治療が不要であるか否かは示されていない。

(2) 研究代表者らは、甲状腺刺激ホルモン(TSH)に対する自己抗体が原因で生じるマクロ TSH 血症の存在を明らかにした (Hattori et al. Clin Endocrinol 2014)。慢性甲状腺炎などで甲状腺ホルモン分泌が低下すると、ネガティブフィードバック機構によって脳下垂体からの TSH 分泌が増加し血中 TSH は高値になる。マクロ TSH は、クリアランスの低下から血中 TSH は高値になるが、FRTL-5 ラット甲状腺細胞を用いた bioassay ではマクロ TSH の生物活性が低いことが明らかとなった (Hattori et al. Clin Endocrinol 2015)。マクロ TSH 血症の頻度は潜在性甲状腺機能低下症の 1%前後とマクロ PRL 血症より低いが、甲状腺機能低下症の患者は非常に高く、潜在性も含めると成人の 20%にのぼると推定されている。このため血中甲状腺ホルモンと TSH の検査依頼は非常に多い。マクロ TSH 血症を通常の甲状腺機能低下症による高 TSH 血症と誤診すると、不必要な甲状腺ホルモンによる薬物治療が生涯にわたって行われるため、その鑑別は極めて重要である。PRL の場合と異なり、現在国内で使用されている主要な TSH アッセイシステム(エクルーシス、ケンタウルス、アーキテクト)はすべてマクロ TSH を認識する(Hattori et al. Eur J Endocrinol 2016)。このため、マクロ TSH を認識せず、生物活性のある TSH のみを測定できるアッセイシステムの確立が期待されている。

(3) 研究代表者らは、インスリンを使用中の糖尿病患者において、インスリンに対する抗体が高頻度で産生されることを明らかにした(Clinica Chimica Acta 2014)。インスリン抗体は多くの場合、インスリン治療に影響しないと報告されている。しかし、時々インスリン受容体と競合してインスリン抵抗性を増したり、抗体に蓄積されたインスリンが一気に解離して低血糖をきたす症例が報告されている。その際、他のインスリン製剤に変更し、その後の臨床経過を観察することが行われている。インスリン抗体と反応しにくいインスリンアナログ製剤を実際に患者に投与する前に知る方法は現状で存在しない。

## 2. 研究の目的

研究期間内に、ホルモン自己抗体が関与する病態について下記を明らかにする。

(1) マクロ PRL 血症は治療不要な高 PRL 血症かを検討する。

産婦人科不妊外来を受診したマクロ PRL 血症を有する患者を、ドパミン受容体アゴニスト製剤による高 PRL 血症治療群と無治療群に分け、妊娠率に差が生じるか否かをコホート調査する。これにより、マクロ PRL 血症が真に治療不要な病態か否かを明らかにする。

(2) マクロ TSH を認識しない TSH アッセイシステムの確立

エピトープマッピングで TSH 自己抗体が結合する TSH 分子上のエピトープを明らかにする。そのエピトープに対する抗体を作成し、酵素免疫測定系(EIA)を構築する。自己抗体が既に結合したエピトープには EIA の固相抗体は結合せず、生物活性のある TSH のみを測定出来るアッセイ系を確立する。

(3) インスリン抗体陽性患者における最適インスリンの in vitro 検索システムの確立

インスリン抗体によって血糖コントロールが不良となった患者において、試行錯誤でインスリン抗体と反応しないインスリンを探すのではなく、患者に投与する前に in vitro で最適インスリンを提案出来る方法を確立し、臨床に応用する。

## 3. 研究の方法

(1) 産婦人科不妊外来を受診し、入院、出産した婦人を対象に、マクロ PRL を有する婦人と有さない婦人で、不妊治療成功率に差があるかどうかを調査する。

(2) マクロホルモンのスクリーニングはポリエチレングリコール法で、確定診断はゲル濾過法、Protein G カラム法、ラジオアイソトープを用いた結合実験で行った。抗 TSH 自己抗体が認識する TSH 上のエピトープを検索する目的で pGEX4T-1 発現ベクターを用いて種々の長さの hTSH を合成し、結合実験を行った。

(3) インスリン抗体を有する患者における最適インスリンの in vitro 検索システムの確立では、dextran charcoal 法を応用して患者血清と各種インスリン製剤との結合率を検討した。

## 4. 研究成果

(1) マクロ PRL を有する女性と有さない女性で不妊率に有意な差は認められなかった。また、不妊治療に対する反応性も両者に差は認められなかった。この検討の過程で、外部医療機関から紹介された高 FSH 血症患者についてはじめてマクロ FSH 血症を見いだした(Clin Chem Lab Med 2019.)。マクロプロラクチン(PRL)血症やマクロ TSH 血症と同様に、FSH に対する低親和性の自己抗体と FSH との複合体であり、クリアランスの低下から高 FSH 血症をきたす。自己抗体は FSH に特異的で、 $\alpha$  サブユニットが共通の TSH、黄体化ホルモン(LH)、ヒト絨毛ゴナドトロピン(hCG)とは結合しなかった。糖化の程度は正常で自己抗体産生の原因は不明であった。

( 2 ) 医療機関から依頼された臨床検体についてマクロ TSH 血症の検討を行ない、結果を臨床現場に還元した。

( 3 ) TSH 抗体のエピトープ検索で、種々の TSH ペプチド断片を合成し、現在結合実験を行っている。

( 4 ) Dextran charcoal 法を応用して患者血清と各種インスリン製剤との結合率を検討し、インスリン抗体を有する患者における最適インスリンの in vitro 検索システムを確立した。

( 5 ) レプチン、アディポネクチンの高感度酵素免疫測定法を確立し、HWP から分化させた脂肪細胞を使ってその分泌調節を検討した。糖尿病治療薬および脂質異常症治療薬の効果について EIA と real time PCR を用いて mRNA、蛋白レベルでのレプチン、アディポネクチン発現を検討している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hattori N, Aisaka K, Chihara K, Shimatsu A	4. 巻 28
2. 論文標題 Current Thyrotropin Immunoassays Recognize Macro-Thyrotropin Leading to Hyperthyrotropinemia in Females of Reproductive Age.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Thyroid	6. 最初と最後の頁 1252-1260
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/thy.2017.0624.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hattori N, Ishihara T, Matsuoka N, Saito T, Shimatsu A	4. 巻 27
2. 論文標題 Anti-TSH autoantibodies in patients with macro-TSH and long-term changes in macro-TSH and serum TSH levels.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Thyroid	6. 最初と最後の頁 138-146
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/thy.2016.0442	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazuhisa Chihara, Naoki Hattori, Takeshi Matsuda., Shingo Murasawa, Makoto Daimon, and Akira Shimatsu	4. 巻 58
2. 論文標題 Procedures for the diagnosis of macro-follicle stimulating hormone (FSH) in a patient with high serum FSH concentrations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Chem Lab Med	6. 最初と最後の頁 e40-e43
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1515/ccIm-2019-0846	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件／うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Naoki Hattori, Kohzo Aisaka, Kazuhisa Chihara, and Akira Shimatsu
2. 発表標題 Methodologies for the diagnosis of macro-TSH and the prevalence in females of reproductive age
3. 学会等名 88th Annual Meeting of the American Thyroid Association（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoki Hattori, Makoto Daimon, Shingo Murasawa, Takeshi Matsuda, Kazuhisa Chihara, Kohzo Aisaka, Akira Shimatsu
2. 発表標題 A Case with Elevated Serum Follicle-Stimulating-Hormone (FSH) concentrations Due to Macro-FSH
3. 学会等名 101st Annual Meeting of the American Endocrine Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoki Hattori, Kohzo Aisaka, and Akira Shimatsu
2. 発表標題 Macro TSH in fertile women: the nature and effects on commercial TSH assay platforms
3. 学会等名 87th Annual Meeting of the American Thyroid Association (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoki Hattori and Akira Shimatsu
2. 発表標題 Establishment of in vitro system to identify suitable insulin analogues in patients with type 2 diabetes having insulin antibodies
3. 学会等名 100th Annual Meeting of American Endocrine Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 服部尚樹
2. 発表標題 マクロTSH血症の診断と臨床的意義
3. 学会等名 第62回日本甲状腺学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 服部尚樹
2. 発表標題 マクロTSH血症の診断と臨床的意義
3. 学会等名 Pfizer Endocrinology Forum 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 服部尚樹、合阪幸三、千原一久、松田孟士、島津章
2. 発表標題 不妊女性におけるマクロTSH血症の頻度とマクロTSHの診断法の検討
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村澤真吾、大門眞、服部尚樹、千原一久、松田孟士、島津章
2. 発表標題 マクロFSHによる高FSH血症の1例
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考