

令和元年5月12日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16165

研究課題名(和文)自己免疫性内分泌機能低下症の病態解明

研究課題名(英文)Analysis of the pathophysiology of autoimmune endocrine disease

研究代表者

坂東 弘教 (Bando, Hironori)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：80790708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は下垂体を中心とした自己免疫性内分泌疾患の発症メカニズムの解明と臨床応用を目指し、新規症例の解析から診断・治療への臨床応用の基盤確立が目的である。腫瘍に合併し下垂体機能低下症を起こした症例を解析し、腫瘍随伴症候群としての新たな下垂体機能低下症の提唱を行った。また、下垂体に特異的に存在する転写因子"PIT-1"に対する自己抗体を有する症候群(抗PIT-1抗体症候群)についてPIT-1陽性細胞の解析を行い、PIT-1抗原がMHC class Iと共に細胞表面に提示されていることを示した。また、IgG4関連疾患の代表である自己免疫性膵炎における下垂体炎の頻度について臨床研究を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

下垂体前葉機能低下症ならびに後葉が障害される下垂体性ADH分泌異常症はいずれも厚生労働省の難病に指定されており、これらの病態・病因の解明ならび診断・治療方法の確立は社会的なニーズも高い領域である。今回の研究結果は新たな病態・病因の提唱に繋がる内容で有るものと考え、今後の下垂体機能低下症症例における診断時に潜在的な腫瘍の存在を疑う必要があることが明らかになった。加えて、近年報告が増加しているIgG4関連疾患症例内に下垂体機能低下症が潜在的に存在することを示唆する結果はIgG4関連疾患症例診療中に下垂体機能への配慮が必要なことを示すことに繋がった。

研究成果の概要(英文)：This study focuses on elucidation and clinical application of the onset mechanism of autoimmune hypopituitarism and aims at establishing a research base of clinical application to diagnosis and treatment from analysis of new autoimmune induced endocrine diseases cases. We analyzed the cases that caused hypopituitarism due to the tumor, and proposed a new cause of hypopituitarism "paraneoplastic syndrome". Also, PIT-1 positive cells were analyzed for syndrome (anti-PIT-1 antibody syndrome) having autoantibodies against the transcription factor "PIT-1" that specifically exist in the pituitary, and PIT-1 antigen was detected on the cell surface with MHC class I. We also conducted clinical studies on the frequency of hypophysitis in autoimmune pancreatitis, which is a representative of IgG4-related diseases.

研究分野：内分泌学

キーワード：自己免疫性下垂体炎 抗PIT-1抗体症候群 ACTH単独欠損症 IgG4関連下垂体炎 自己免疫性膵炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

下垂体機能低下症をはじめ、ホルモンの分泌低下は脂質代謝異常や骨代謝異常、電解質異常など、全身性の代謝調節の障害をもたらす、QOL の低下と生命予後の悪化を引き起こす。これらの内分泌機能が障害される種々の疾患では、病態および病因について不明なものが多い。一部の1型糖尿病、パセドウ病、橋本病、アジソン病などの疾患では病因として自己免疫的な機序が提唱、一部には解明されているものもある。その一方で下垂体機能低下症においては、リンパ球性下垂体炎、ACTH 単独欠損症などにおいて自己免疫的な機序が類推されているのにも関わらず、未だ病態について十分な検討はなされていない。

2. 研究の目的

本研究は申請者が新規に発見し解析を進めてきた下垂体特異的転写因子 PIT-1 に対する自己免疫による「抗 PIT-1 抗体症候群」の他、発症機序が不明な後天性下垂体機能低下症症例を対象に自己免疫を中心とした発症メカニズムの解明から診断を目標とするものであり研究項目は下記1)から3)である。

- 1) 下垂体機能低下症における自己抗体/抗原の同定、自己抗原の提示機序の解明
- 2) 腫瘍随伴症候群としての下垂体機能低下症の病態解明
- 3) 自己免疫性下垂体炎についての臨床研究

3. 研究の方法

1) 自己抗体/抗原の同定、自己抗原の提示機序の解明

これまでのこれまで先行する検討においてその発症機序が明らかにならなかった理由として、①極微量な分子については同定できていなかった。②同じ phenotype を呈する症例群においても症例毎に病態や抗原が異なっている。③自己抗体の同定を中心に解析が進み、細胞性免疫や液性因子の解析が不十分であった。などの可能性が考えられた。その為申請者は特徴的な病態を有する症例に着目することで共通の分子・機構が想定できるものと推測し解析を行った。

抗 PIT-1 抗体症候群における自己抗原の提示機序の解明

「抗 PIT-1 抗体症候群」に関する研究の発展として、これまで細胞障害性 T 細胞が PIT-1 発現細胞を傷害することが明らかとなっていたため(JCEM2014)、PIT-1 発現細胞である GH3 細胞を免疫染色ならびに Proximity ligation assay を用い MHC class I 上並びに antigen presentation pathway 上の PIT-1 が認められるか評価を行った。加えて、患者由来 iPS 細胞から下垂体へ分化させ、患者・コントロール下垂体間で HLA class I 上の PIT-1 フラグメントの多寡の有無について検討を行った。

2)腫瘍随伴症候群としての下垂体機能低下症の病因・病態の解析

ACTH 単独欠損症に潜在性肺癌が認められた症例に着目し、血清中の自己抗体を同定するとともにその抗原同定、細胞性免疫について検討を行った。加えて臨床データと合わせて解析することにより自己抗体の病的意義についての検討を行った。

3)自己免疫性下垂体炎についての臨床研究

A. 自己免疫性膵炎中の IgG4 関連下垂体炎の頻度

IgG4 関連疾患の代表である自己免疫性膵炎症例について神戸大学消化器内科との連携を行い、自己免疫性膵炎症例について下垂体機能ならびに MRI のスクリーニングを行うことで下垂体炎の頻度についての検討を行った。

B. ACTH 単独欠損症における自己抗体と臨床データの関係性

1)自己抗体/抗原の同定に関する解析を発展させた臨床研究として、後天性 ACTH 単独欠損症に着目した。同症例を 46 例(うち血清 33 例)を集積し、臨床データの集積・解析とともに ACTH 陽性細胞に対する血清中の自己抗体と臨床データとの関係性、同症例における新たな疾患群の分類の可能性について検討を行った。

4. 研究成果

1) 自己抗体/抗原の同定、自己抗原の提示機序の解明

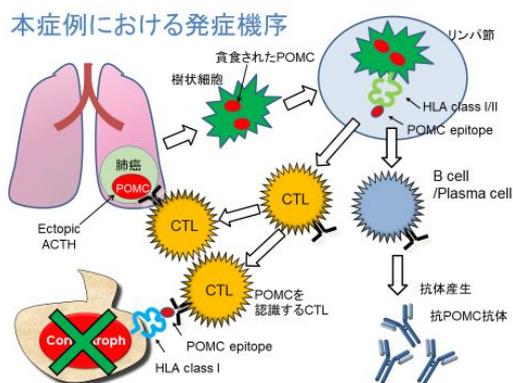
抗 PIT-1 抗体症候群における自己抗原の提示機序の解明

GH3 細胞に対して抗 PIT-1 抗体症候群症例患者血清ならびに市販の抗 PIT-1 抗体を用いた免疫染色では核内のみならず細胞質内、細胞表面にも Dot 状の構造物を認識することが認められた。これらの認識部位につき、Calnexin,GM130, MHC classI との共染色が認められたことから、PIT-1 蛋白ならびにそのフラグメントが Antigen presentation pathway 上に存在していることが推測された。PIT-1 が MHC class I 上に実際に提示されているのかを評価する目的で抗 PIT-1 抗体と抗 MHC class I 抗体を用いた proximity ligation assay(PLA)を用いて検討を行うと PIT-1 蛋白・フラグメントが MHC class I と結合していることが示され、PIT-1 陽性細胞の MHC class I 上では PIT-1 が提示されていることが示された。種々の自己免疫疾患においては HLA 型がその発症に関わっていることが知られており、本疾患患者と健常者において HLA class I 上への PIT-1 の提示に差が認められるのか検討を行った。患者 iPS 細胞を樹立の上、下垂体

へと分化させ、患者・健常者下垂体組織を用いて PLA での PIT-1 蛋白の HLA class I への提示量について差異を評価したが、明らかな差は認められなかった。その結果からは、本症候群の発症に下垂体側の明らかな差異は認められず、既報の細胞障害性 T 細胞の異常 (JCEM2014) ならびにそれを惹起する胸腺腫などの因子 (Sci rep 2017) が発症に寄与すると示唆される結果を得た。学会発表で要旨を発表の上、現在論文投稿中である (3,5,7,10,16,20,21 (日本内分泌学会 YIA 受賞))。

2) 腫瘍随伴症候群としての下垂体機能低下症の病因・病態の解析

後天性 ACTH 単独欠損症発症後に大細胞性神経内分泌腫瘍 (LCNEC) が偶発的に認められた症例に着目し病因・病態の解析を行った。腫瘍組織内には著明なリンパ球浸潤が認められ、腫瘍組織に対する免疫反応が強く起きていたものと考えられた。腫瘍組織の免疫染色の結果から、同腫瘍内には ACTH の異所性発現が認められた。加えて患者血清中の IgG が下垂体の ACTH 産生細胞を認識することを同定し、ACTH の前駆蛋白である POMC 蛋白での吸収実験で認識性が低下したことから、患者 IgG は ACTH/POMC を認識していることが示された。ただし、患者血清自体は ACTH 産生細胞株である AtT20 細胞の傷害・細胞増殖の低下作用は認めず、POMC の発現低下も来さなかったことから、血清・IgG 自体には直接の障害性はないものと考えられた。しかし患者リンパ球を用いた ELISpot アッセイでは患者リンパ球が POMC に対する反応性を有することが認められ、細胞性免疫が主たる ACTH 産生細胞の障害に関与しているものと考えられた。また、異所性 ACTH 産生腫瘍症例においても ACTH 産生腫瘍組織内にリンパ球浸潤が認められるのみならず、剖検例の下垂体においても ACTH 産生細胞に近接してリンパ球が存在していることから、腫瘍組織において反応性を有するリンパ球が下垂体においても障害を起している可能性が示唆される結果と考えられた。これらの結果を論文・学会発表を行った (2,14,17,19 (日本内分泌学会臨床内分泌代謝 Update 高得点演題))。



3) 自己免疫性下垂体炎についての臨床研究

A. 自己免疫性膵炎中の IgG4 関連下垂体炎の頻度

自己免疫性膵炎症例について 27 例の下垂体機能ならびに MRI のスクリーニングを行うことで自己免疫性膵炎症例中の潜在性下垂体炎の可能性につき検討を行った。1 例 (3.4%) において下垂体機能の低下並びに MRI 上下垂体炎に合致する所見を得た。同症例はステロイド補充後に MRI 所見が改善する経過を観察し得た。また、4 例 (18.7%) において下垂体機能は低下せずに維持されていたが、炎症の経過過程・遺残と考えられる empty sella を認めた。特に下垂体機能低下、MRI 異常を有する群では 80% に他の IgG4 関連疾患の他臓器病変が多いのに対し、非下垂体機能低下症群では 48% と差が認められた。この結果から、他の複数の臓器病変を有する症例においてより下垂体機能異常を疑うべきであることを示し、これらの内容を英文論文として発表した (1)。

B. ACTH 単独欠損症における自己抗体と臨床データの関係性

後天性 ACTH 単独欠損症症例を 46 例 (うち血清 33 例) を集積し、臨床データの集積・解析とともに ACTH 陽性細胞に対する血清中の自己抗体と臨床データとの関係性について検討を行った。本コホートにおいては 33 例中 19 例で ACTH 産生細胞に対する自己抗体、2 例においては FS 細胞に対する自己抗体が認められた。興味深いことに発症時の ACTH 値の障害状況に応じて本コホートを分類すると、他の自己免疫疾患の合併は ACTH 分泌の障害程度が軽度なものに多く、高度障害群では ACTH 産生細胞に対する自己抗体を有する症例が多いことが判明した。本疾患はヘテロな症例群が混在しているものと考えられ、現在クラスタリングを行い、本疾患の新たな分類手法について提唱が行えるものと考えられる。本研究については学会発表で要旨を発表し、現在論文投稿の準備中である (11,13)。

その他、近年臨床上問題となっている免疫チェックポイント阻害薬関連下垂体機能低下症について、新規抗 PD-L1 抗体であるアテゾリズマブに伴う下垂体機能低下症に関する症例報告を行った (8)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

1. Kanie K*, **Bando H***, Iguchi G, Shiomi H, Masuda A, Fukuoka H, Nishizawa H, Fujita Y, Sakai A, Kobayashi T, Shiomi Y, Yoshida K, Matsumoto R, Suda K, Kodama Y, Ogawa W, Takahashi Y. IgG4-related hypophysitis in patients with autoimmune pancreatitis. *Pituitary*. 2019; 22:

54-61. (* equally contributed)

2. **Bando H**, Iguchi G, Kanie K, Nishizawa H, Matsumoto R, Fujita Y, Odake Y, Yoshida K, Suda K, Fukuoka H, Tanaka K, Ogawa W, Takahashi Y. Isolated adrenocorticotrophic hormone deficiency as a form of paraneoplastic syndrome. *Pituitary*. 2018; 21:480-9.
3. 井口元三, **坂東弘教**, 高橋裕. 自己免疫性下垂体疾患における抗 PIT-1 抗体症候群の位置付けと病態. *内分泌・糖尿病・代謝内科*. 2018; 46: 200-5.
4. Matsumoto R, Koga M, Kasayama S, Fukuoka H, Iguchi G, Odake Y, Yoshida K, **Bando H**, Suda K, Nishizawa H, Takahashi M, Ogawa W, Takahashi Y. Factors correlated with serum insulin-like growth factor-I levels in health check-up subjects. *Growth Horm IGF Res*. 2018;40:55-60.
5. 高橋裕, **坂東弘教**, 井口元三. 下垂体機能低下症を呈する新たな自己免疫疾患、抗 PIT-1 抗体症候群. *最新医学*. 2018 73 21-26
6. Yoshida K, Fukuoka H, Odake Y, Nakajima S, Tachibana M, Ito J, Hosokawa Y, Yamada T, Miura H, Suematsu N, Matsumoto R, **Bando H**, Suda K, Nishizawa H, Iguchi G, Ogawa W, Takahashi Y. Multiple salivary cortisol measurements are a useful tool to optimize metyrapone treatment in patients with Cushing's syndromes treatment; case presentations. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 8: 375.
7. Iguchi G, **Bando H**, Takahashi Y. A Novel Clinical Entity of Autoimmune Endocrinopathy: Anti-PIT-1 Antibody Syndrome. *Front Horm Res*. 2017;48:76-83.
8. Kanie K, Iguchi G, **Bando H**, Fujita Y, Odake Y, Yoshida K, Matsumoto R, Fukuoka H, Ogawa W, Takahashi Y. Two cases of atezolizumab-induced hypophysitis. *J Endocr Soc*. 2017; 2: 91-5.
9. Odake Y, Fukuoka H, Yamamoto M, Arisaka Y, Konishi J, Yoshida K, Matsumoto R, **Bando H**, Suda K, Nishizawa H, Iguchi G, Yamada S, Ogawa W, Takahashi Y. Cross-sectional prevalence of pancreatic cystic lesions in patients with acromegaly, a single-center experience. *Pituitary*. 2017; 20: 509-14.

[学会発表](計 12 件)

10. 蟹江慶太郎, 井口元三, **坂東弘教**, 松本隆作, 六車恵子, 志智大城, 藤田泰功, 隅田健太郎, 福岡秀規, 小川渉, 高橋裕. 疾患 iPS 細胞を用いた抗 PIT-1 抗体症候群疾患モデルの樹立. 第 92 回日本内分泌学会学術総会 2019 年 5 月 9 日
11. 藤田泰功, **坂東弘教**, 井口元三, 飯田啓二, 志智大城, 蟹江慶太郎, 松本隆作, 隅田健太郎, 福岡秀規, 小川渉, 高橋裕. ACTH 単独欠損症において抗コルチコトロフ抗体は重症度と関連する. 第 92 回日本内分泌学会学術総会 2019 年 5 月 9 日
12. Shichi H, Fukuoka H, Matsumoto R, Kanie K, Fujita Y, Iguchi G, Suda K, **Bando H**, Inoshita N, Yamada S, Ogawa W, Takahashi Y. The Responsiveness To Ddavn Test Predicts Usp8 Mutation In Patients With Cushing's Disease. ENDO2019, New Orleans 2019 年 3 月 25 日
13. Fujita Y, **Bando H**, Iguchi G, Iida K, Shichi H, Kanie K, Matsumoto R, Suda K, Fukuoka H, Ogawa W, Takahashi Y. Clinical Heterogeneity of Acquired Idiopathic ACTH Deficiency: A New Classification Based on the Clinical Characteristics and Autoantibodies. ENDO2019, New Orleans 2019 年 3 月 23 日
14. **坂東弘教**, 井口元三, 蟹江慶太郎, 藤田泰功, 小武由紀子, 吉田健一, 松本隆作, 隅田健太郎, 福岡秀規, 小川渉, 高橋裕. ACTH 単独欠損症の新たな成因: 腫瘍随伴症候群, 第 91 回日本内分泌学術集会 2018 年 4 月 28 日
15. 蟹江慶太郎, 井口元三, **坂東弘教**, 藤原えり, 藤田泰功, 小武由紀子, 吉田健一, 松本隆作, 福岡秀規, 小川渉, 高橋裕. 特発性中枢性尿崩症と PRL 単独欠損症を合併した 1 例 第 91 回日本内分泌学術集会 2018 年 4 月 28 日
16. 井口元三, **坂東弘教**, 高橋裕. 新たな自己免疫性下垂体疾患: 抗 PIT-1 抗体症候群の病態 (シンポジウム) 第 91 回内分泌学会学術総会 2018 年 4 月 28 日
17. **Bando H**, Iguchi G, Kanie K, Fujita Y, Odake Y, Yoshida K, Matsumoto R, Suda K, Fukuoka H, Ogawa W, Takahashi Y. A novel pathogenesis of isolated ACTH deficiency: Paraneoplastic syndrome. ENDO2018, Chicago, 2018 年 3 月 18 日
18. Odake Y, Fukuoka H, Yoshida K, Matsumoto R, **Bando H**, Iguchi G, Yamada S, Ogawa W, Takahashi Y. An EGFR Family Member, ERBB4 Suppress Pomc Expression And Its Expression Is Negatively Associated With The Knosp Grade In Corticotroph Adenoma. ENDO2018, Chicago, 2018 年 3 月 17 日

19. **坂東弘教**, 井口元三, 蟹江慶太郎, 藤田泰功, 小武由紀子, 吉田健一, 松本隆作, 隅田健太郎, 福岡秀規, 小川渉, 高橋裕. 肺大細胞神経内分泌癌を合併した ACTH 単独欠損症の一例 第 27 回臨床内分泌代謝 Update 2017 年 11 月 25 日(高得点演題)
20. **坂東弘教**, 井口元三, 高橋裕. 下垂体自己免疫の新たな病態、「視床下部下垂体の炎症性疾患」(シンポジウム) 第 90 回日本内分泌学会学術総会 2017 年 4 月 21 日
21. **坂東弘教**, 井口元三, 小武由紀子, 吉田健一, 松本隆作, 隅田健太郎, 西澤衡, 福岡秀規, 犬塚恵, 空保敦子, 東條克能, 小川渉, 高橋裕. 抗 PIT-1 抗体症候群の発症機序の解明 第 90 回日本内分泌学会学術総会 2017 年 4 月 20 日(YIA 審査口演, YIA 受賞)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 <http://www.med.kobe-u.ac.jp/im2/> (神戸大学糖尿病内分泌内科学講座)

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。