

平成 26 年 6 月 15 日現在

機関番号：32669

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24780315

研究課題名(和文) 11 HSD阻害剤による犬下垂体ACTH産生腺腫を標的とした治療に関する研究

研究課題名(英文) The study of therapy for canine pituitary adenomas by 11beta-HSD inhibitor

研究代表者

手嶋 隆洋 (Teshima, Takahiro)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・助教

研究者番号：80610708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：今回の研究から、犬における11beta-HSD阻害剤の効果は用量依存的であることが明らかとなり、健康犬においては11beta-HSD阻害剤により下垂体からのACTH分泌を抑制できる可能性が示唆された。また、中長期的な投与においても明らかな副作用は認められなかったことから、今後はさらに頭数を増やして検討を重ねると共に、実際に下垂体ACTH産生腺腫に罹患した犬における効果を検討する必要があると考えている。本研究結果より、11beta-HSD阻害剤が犬下垂体ACTH産生腺腫の治療薬となりうる可能性が示唆されたため、今後も更に継続して研究を発展させたいと考えている。

研究成果の概要(英文)：It was revealed that the effect of 11beta-HSD inhibitor on dogs was dose-dependent in this study. From the result of our study, it was suggested that ACTH secretion from pituitary was decreased by 11beta-HSD inhibitor in healthy dogs. Moreover, apparent side effects were not observed in the long term administration period of 11beta-HSD inhibitor. We have to research the effect of 11beta-HSD inhibitor on dogs with canine pituitary ACTH adenomas. In conclusion, we expect that there is possibility that 11beta-HSD inhibitor can be therapeutic drug for canine pituitary ACTH adenoma. Furthermore, we need to proceed this study for treatment of canine pituitary ACTH adenomas.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 臨床獣医学

キーワード：下垂体 ACTH クッシング症候群 11 -HSD

1. 研究開始当初の背景

副腎からの過剰なコルチゾール分泌によって引き起こされるクッシング症候群は犬の主要な内分泌疾患のひとつであり、その約80%は下垂体 ACTH 産生腺腫を原因とするクッシング病である。現在、犬のクッシング病に対する治療薬は副腎からのコルチゾール産生・分泌の抑制を目的としたものだけであり、本疾患の原因である下垂体 ACTH 産生腺腫を標的とした治療薬は開発されていない。また、この現状は小動物臨床分野だけでなく、人医学分野においても同様であり、クッシング病に対する薬物療法はその他の下垂体ホルモン産生腫瘍と比べて著しく遅れているのが現状である。

正常な生体では、高コルチゾール血症が生じると視床下部 下垂体 副腎軸における負のフィードバック調節機能によってコルチゾール分泌は抑制されるが、クッシング病では下垂体 ACTH 産生腺腫の特徴であるグルココルチコイド抵抗性によって、この調節機能が十分に働かないために過剰な ACTH の産生・分泌が持続する。

グルココルチコイド抵抗性にはステロイド代謝酵素である 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type1(11 β -HSD1) と type2(11 β -HSD2)が関与しており、ヒトやマウス下垂体においても発現が確認されている。また、マウス下垂体 ACTH 産生腺腫の培養細胞である AtT20 を用いた研究では、11 β -HSD2 の阻害によって、培養細胞にアポトーシスが誘発されたことが報告されており(Nigawara et al.*Endocrinology* 2006)、我々のこれまでの研究においても、犬下垂体 ACTH 産生腺腫では、11 β -HSD1 および 11 β -HSD2 に異常発現がみられることが明らかとなっている(Teshima et al.*Domest Anim Endocrinol.*2009)。

2. 研究の目的

本研究は、11 β -HSD 阻害剤が犬の正常下垂体や下垂体 ACTH 産生腺腫に与える影響を研究するものであり、今後 11 β -HSD 阻害剤が犬下垂体 ACTH 産生腺腫をターゲットとした新たな治療薬として臨床応用に展開できるかどうか、さらにはヒト下垂体 ACTH 産生腺腫においても応用可能かどうかを検討するための研究基盤を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 11 β -HSD 阻害剤がステロイド代謝に与える影響は用量依存性であるといわれている。そのため、犬における影響も用量依存性であるかを検討した。

(2) 11 β -HSD 阻害剤が健常な犬に与える影響を検討するために、下記の項目を継続的に測定した。

血液学的検査および血液生化学検査

血中ホルモン濃度の変化

血中ホルモン濃度として、ACTH 濃度、コルチゾール濃度、コルチゾン濃度を測定。

(3) 11 β -HSD 阻害剤投与後の下垂体および副腎における遺伝子発現量の検討。本検討は Real time RT-PCR 法を用いて下記の遺伝子発現量の検討を行った。

11 β -HSD1 および 11 β -HSD2

ACTH の前駆物質であるプロオピオメラノコルチン(POMC)

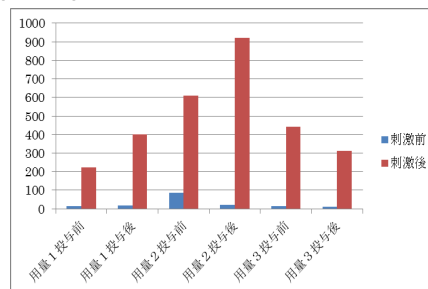
(4) 11 β -HSD 阻害剤投与後の下垂体および副腎における病理組織学的検討。また、免疫染色を用いて下垂体における ACTH の発現を検討した。

4. 研究成果

(1) 11 β -HSD 阻害剤の用量変化が犬に与える影響について

これまでに報告されていたように、犬においても用量依存的に 11 β -HSD 阻害剤が下垂体からの ACTH 分泌や副腎からのコルチゾール分泌に与える影響には変化がみられた。犬においては、用量を増加させることで血中 ACTH 濃度を低下させ、それに伴って副腎からのコルチゾール分泌が低下することが明らかとなった。

(図1) CRH 負荷後の血中 ACTH 濃度変化



(2) 11 β -HSD 阻害剤が犬の血液学的および血液生化学的検査マーカーに与える影響について

血中 ACTH 濃度の低下が期待される用量で 15 日間の連日投与を行った結果、下記の検査項目に明らかな変化はみられなかった。

血液学的検査項目：赤血球数、白血球数、白血球分画、血小板数

血液生化学検査項目：TP、ALB、GPT、GOT、ALP、T-Bil、BUN、Cre、Glu、T-Cho、Na、K、Cl

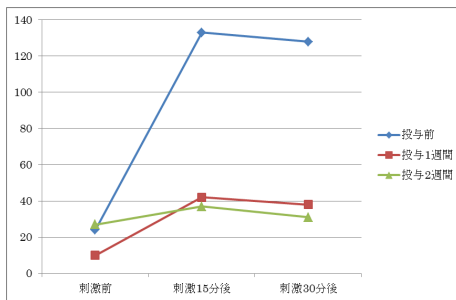
また、投与期間中に嘔吐や下痢などの消化器症状を含めて、明らかな副作用はみられな

った。

(3) CRH 負荷における血中 ACTH 濃度の変化

結果(1)より血中 ACTH 濃度の低下が期待される用量にて 11 β -HSD 阻害剤を投与した場合、75%の犬において図2のような血中 ACTH 濃度の変化がみられた。しかし、25%の犬では血中 ACTH 濃度の低下はみられず、個体間においても 11 β -HSD 阻害剤の影響には違いがあることが示唆された。

(図2) CRH 負荷による血中 ACTH 濃度の変化



(4) 副腎と下垂体組織における遺伝子発現量の変化

副腎における 11 β -HSD1 および 11 β -HSD2 の変化

11 β -HSD 阻害剤投与後の副腎における 11 β -HSD1 および 11 β -HSD2 mRNA 発現量には低下がみられ、特に 11 β -HSD2 では顕著な低下が認められた。

下垂体における 11 β -HSD1 および 11 β -HSD2 の変化

11 β -HSD 阻害剤投与後の下垂体においては、副腎で認められた変化ほどではないものの、11 β -HSD2 の低下がみられた。

下垂体における POMC の変化

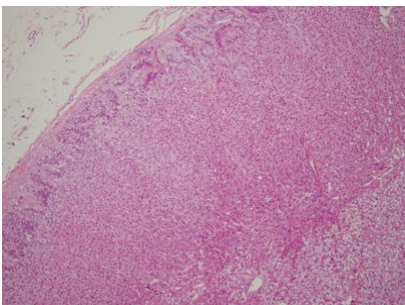
11 β -HSD 阻害剤投与後の下垂体では POMC 発現量の変化がみられた。

(5) 11 β -HSD 阻害剤投与後の下垂体および副腎の組織学的変化

副腎

HE 染色による組織学的検査の結果、投与後の副腎に明らかな変化はみられなかった。

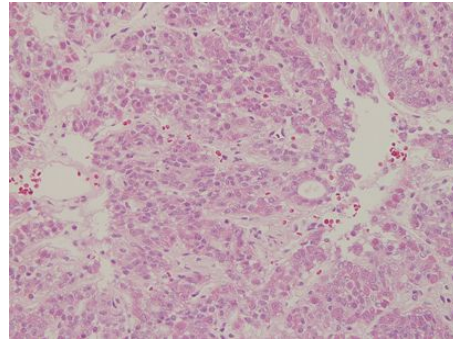
(図3) 副腎 HE 染色



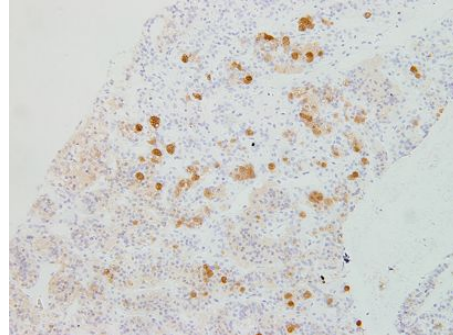
下垂体

HE 染色による組織学的検査の結果、投与後の下垂体に明らかな変化はみられなかったが、抗 ACTH 抗体を用いた免疫染色では、ACTH 産生細胞の割合の低下がみられた。

(図4) 下垂体前葉 HE 染色



(図5) 下垂体前葉抗 ACTH 染色



以上の結果より、11 β -HSD 阻害剤の投与によって、健常な犬では明らかな副作用の発現なく、血中 ACTH 濃度の低下を引き起こす可能性があることが確認された。そのため、11 β -HSD 阻害剤は下垂体 ACTH 産生腺腫をターゲットとした新たな治療薬と成り得る可能性が十分にあると思われる。

今後はさらに健常犬における検討を進めると共に、実際に下垂体 ACTH 産生腺腫に罹患した犬における 11 β -HSD 阻害剤の効果を検討する必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Teshima T, Matsumoto H, Kumagai T, Kurano M, Koyama H. Expression of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase isoforms in canine adrenal glands treated with trilostane. Vet J. 2014;200(3):452-455. 査読あり。

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

手嶋 隆洋 (TESHIMA TAKAHIRO)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・助教

研究者番号：80610708