

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591354

研究課題名(和文)下垂体機能低下症における新規自己抗体の同定と臨床応用

研究課題名(英文)Clinical application and the identification of novel autoantibodies in hypopituitarism

研究代表者

井口 元三 (IGUCHI, GENZO)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60346260

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々が見出した「抗Pit-1抗体症候群」を中心に、新たな診断・治療方法へ展開する事を目的として検討した。小児例、原因不明例およびACTH単独欠損症・IgG4関連下垂体炎において抗Pit-1抗体は認められず、他疾患と全く異なる疾患概念であることを明らかにした。さらに抗Pit-1抗体による液性免疫は関与せず、PIT-1蛋白に特異的に反応する細胞障害性T細胞が強く関連することを示し、抗Pit-1抗体の意義について明らかにした。また、IgG4関連下垂体炎に関して下垂体生検組織を検討し、頻度が多いことと、病理所見に「花むしる構造」を認めるが、「閉塞性静脈炎」を認めないことを初めて見出した。

研究成果の概要(英文)：Anti-pituitary-specific transcriptional factor 1 (PIT-1) antibody syndrome is characterized by acquired growth hormone (GH), prolactin (PRL), and thyroid-stimulating hormone (TSH) deficiencies associated with circulating anti-PIT-1 antibodies. To elucidate the involvement of antibody- or cell-mediated immunity in anti-PIT-1 antibody syndrome. Enzyme-linked immunospot (ELISpot) assay revealed the presence of cytotoxic T lymphocytes (CTLs) that specifically reacted to the recombinant PIT-1 protein in the patient's peripheral lymphocytes. This result suggests that the anti-PIT-1 antibody is not a cause but a marker of anti-PIT-1 antibody syndrome, in which CTLs play a pivotal role in the pathogenesis. The prevalence and clinical characteristics of IgG4-related hypophysitis have been clarified.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：下垂体機能低下症 抗Pit-1抗体 抗Pit-1抗体症候群

1. 研究開始当初の背景

下垂体機能低下症の分類は腫瘍性、外傷性、炎症性、特異性など多岐にわたるが、原因のはっきりしないものが多いことから満足できる診断・根本的治療がないのが現状である。

また確定診断として「下垂体生検」が必要とされることが少なくなく、臨床現場での大きなジレンマとなっている。したがって下垂体機能低下症の原因解明、非浸襲的検査の開発および適切な治療法の開発が切に望まれているが、下垂体機能低下症を生じる自己免疫性炎症を巡るこれまでの報告では、いくつかの自己抗体の関与が示唆されているが、臨床応用はむずかしいのが現状である。

最近我々は、成人において後天性に成長ホルモン (growth hormone, GH)、プロラクチン (prolactin, PRL)、甲状腺刺激ホルモン (thyroid stimulating hormone, TSH) 欠損を呈した複合型下垂体ホルモン欠損症 (combined pituitary hormone deficiency (CPHD)) 症例を解析し、下垂体の発生・分化にかかわる下垂体特異的転写因子 PIT-1 (pituitary-specific transcription factor-1) に対する自己抗体を見出し、新たな疾患概念「抗 PIT-1 抗体症候群」を提唱した。

下垂体は組織発生・分化のメカニズムの研究が以前より行われており、分化に関わる因子の同定が比較的進んでいる臓器と言える。発生分化にかかわる因子の特徴と、症例の臨床的特徴から自己免疫疾患の関与を証明した点で、発生・分化研究の進歩が、臨床現場の下垂体機能低下症例の中に転写因子自己抗体を見出し、新たな病因を提唱した点で、今後の基礎研究にもフィードバック出来る、意義深い発見と考えられた。

しかしながら、この病態を検討するに足る症例数が不足しており、その実態を把握することは困難となっていた。さらに、その病態の詳細は不明であったため、臨床応用のためにはさらなる解析が必要とされた。

2. 研究の目的

本研究は下垂体機能低下症において我々が見出し、最新版の Williams の教科書にも新たな疾患概念として記載された「抗 Pit-1 抗体症候群」を中心に解析し、新たな診断・治療方法へ展開する事を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 抗 Pit-1 抗体症候群が潜在している可能性が高い疾患をスクリーニングするため、PIT-1 異常症が疑われたが PIT-1, PROP1 等 9

種類の候補遺伝子のコーディング領域に変異を認めなかった小児発症下垂体機能低下症 9 例および、高齢者で原因不明とされていた下垂体機能低下症である ACTH 単独欠損症 6 例において抗 TPIT 抗体の有無についてウエスタンブロット法を用いて検討を行った。次に、広く疾患をスクリーニングするために抗 Pit-1 抗体測定 ELISA を用いて下垂体腫瘍症例 (男/女=7/9=16)、下垂体機能低下症例 (5/6=11)、その他自己免疫疾患症例 (1 型糖尿病 (5 例)、ATD (5 例)、APS-II (6 例)、SLE・RA・その他膠原病 (41 例)) および正常者 (190 例) の血清で抗 Pit-1 抗体の有無について検討した。

(2) 抗 Pit-1 抗体症候群における抗 Pit-1 抗体が「原因」であるのか「結果」なのかは明らかではなかったため、液性免疫と細胞性免疫のどちらが本疾患の病態に関与するかを検討する必要があった。液性免疫の関与を確認するため抗 Pit-1 抗体症候群患者の血清を用いた細胞増殖実験、細胞性免疫の関与を確認するため抗 Pit-1 抗体症候群患者の末梢血リンパ球を用いた ELISPOT アッセイ法で Pit-1 反応性 T 細胞の有無を検討した。

(3) 多臓器に障害をもたらす IgG4 関連疾患の亜型として IgG4 関連下垂体炎の報告が増えてきているため、抗 Pit-1 抗体症候と IgG4 関連下垂体炎患者に関して検討した。下垂体機能低下症の原因として自己免疫の関与が強く示唆される IgG4 関連下垂体炎に関してこれまでの報告の中で最も多い 7 症例での下垂体生検組織を詳細に検討した。

4. 研究成果

(1) 抗 Pit-1 抗体症候群が潜在している可能性が高い疾患をスクリーニングするため、PIT-1 異常症が疑われたが遺伝子変異を認めなかった小児発症下垂体機能低下症例および、高齢者で原因不明とされていた下垂体機能低下症および ACTH 単独欠損症例において患者血清を解析したが、PIT-1, TPIT に対する自己抗体は認めなかった。次に、抗 Pit-1 抗体測定 ELISA を用いて広くスクリーニングした結果、下垂体腫瘍症例、下垂体機能低下症例、その他自己免疫疾患症例および正常者において抗 Pit-1 抗体は認められなかった。この結果から本疾患がこれまで知られた疾患とは全く違う概念であることが改めて確認された。

(2) 「抗 PIT-1 抗体症候群」における抗 Pit-1 抗体の意義について検討した。患者血清を用いた細胞増殖実験を行ったが有意な差は認めなかった。すなわち抗 Pit-1 抗体による液性免疫の関与はないと考えられた (図 1)。しかしながら ELISPOT アッセイ法を用いて Pit-1 反応性 T 細胞の有無を検討したところ、

患者血中に Pit-1 反応性 T 細胞を認めるとともに、細胞障害性 T 細胞(CTL)の臓器浸潤を認めた(図 2-1、2-2)。すなわち、抗 Pit-1 抗体症候群の病態には PIT-1 蛋白に特異的に反応する CTL が強く関連していることを新たに見出した。この結果から抗 Pit-1 抗体は疾患診断のマーカーであり、原因としては CTL が発症のメカニズムを担っていることを明らかにし報告した(2013 全米内分泌学会発表、JCEM 2014)。

(3) IgG4 関連下垂体炎に関してこれまでの報告の中で最も多い7症例での下垂体生検組織を詳細に検討し、その発症頻度が自己免疫性下垂体炎の中で多いこと、および病理所見に「花むしる構造」を認めるが、「閉塞性静脈炎」を認めないことが特徴的であることを初めて見出し報告した(EJE 2013)。

以上の結果から、下垂体機能低下症の原因として自己免疫機構の関与は大きく、その解析には自己抗体の解析とともに細胞障害性 T 細胞の解析が重要であることが明らかとなった。

図 1

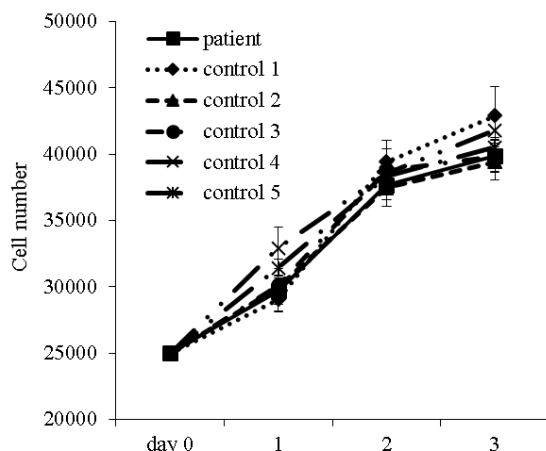


図 2 - 1

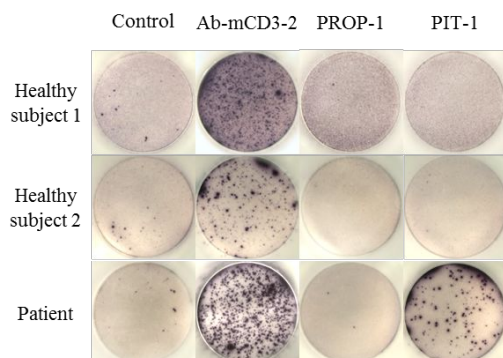
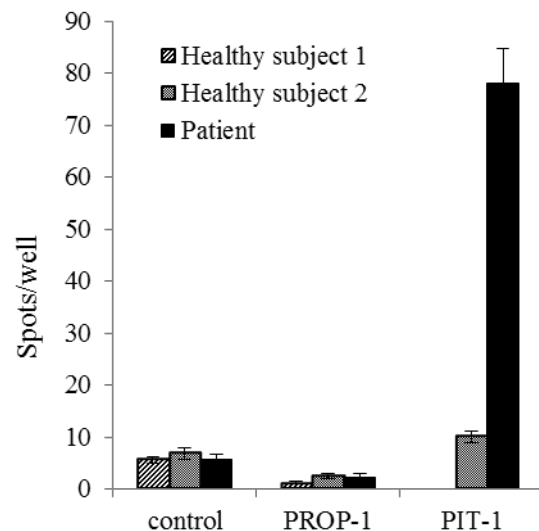


図 2 - 2



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 10 件)

Bando H, Iguchi G, Fukuoka H, Yamamoto M, Takeno RH, Okimura Y, Matsumoto R, Suda K, Nishizawa H, Takahashi M, Tojo K, and Takahashi Y. Involvement of PIT-1-reactive cytotoxic T lymphocytes in anti-PIT-1 antibody syndrome. **J Clin Endocrinol Metab.** 査読有、2014 (2014/6/5 accepted)

Yamamoto M, Iguchi G, Bando H, Fukuoka H, Suda K, Takahashi M, Nishizawa H, Matsumoto R, Tojo K, Mokubo A, Ogata T, Takahashi Y. A missense single nucleotide polymorphism in the sialic acid acetyl esterase gene is associated with anti-PIT-1 antibody syndrome. **Endocr J.** 査読有、2014
DOI:http://dx.doi.org/10.1507/endocrj. EJ13-0539

Yamamoto M, Iguchi G, Fukuoka H, Suda K, Bando H, Takahashi M, Nishizawa H, Seino S, Takahashi Y. SIRT1 regulates adaptive response of the growth hormone--insulin-like growth factor-I axis under fasting conditions in liver. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 査読有、110 巻、2013、14948-14953、
DOI:10.1073/pnas.1220606110.

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.* 査読有、170 巻、2013、161-172、DOI:10.1530/EJE-13-0642.

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.* 査読有、376 巻、2013、93-98、DOI:10.1016/j.mce.2013.05.022.

井口元三, 坂東弘教, 山本雅昭, 高橋 裕, 抗 PIT-1 抗体症候群の病態と自己免疫性下垂体疾患における位置付け、ホルモンと臨床、査読無、60 巻、2013、33-39

井口 元三、小児発症下垂体機能低下症における抗 PIT-1 抗体症候群の検索、成長科学協会研究年報、査読無、35 巻、2012、93-95

高橋 裕, 井口 元三、【知っておきたい内科症候群】 内分泌《複数の臓器に影響を及ぼす症候群》 抗 PIT-1 抗体症候群、内科、査読無、109 巻、2012、1333-1334

高橋 裕, 山本 雅昭, 井口 元三、下垂体機能低下症を呈する新たな疾患概念「抗 PIT-1 抗体症候群」、*BIO Clinica*、査読無、27 巻、2012、1185-1188

井口元三、山本雅昭、高橋裕、抗 PIT-1 抗体による下垂体前葉ホルモン複合分泌不全症、内分泌・糖尿病・代謝内科、査読無、33 巻、2011、240-246

〔学会発表〕(計 17 件)

西澤 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, 廣田勇士, 坂口一彦, 小川涉, 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、2014 年 01 月 24 日~2014 年 01 月 24 日、名古屋

坂東弘教, 井口元三, 福岡秀規, 隅田健太郎, 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、2014 年 01 月 24 日~2014 年 01 月 24 日、名古屋

高橋 裕、下垂体機能低下症を呈する新しい疾患概念、第 33 回 千駄木内分泌懇話会(招待講演) 2013 年 10 月 31 日~2013 年 10 月 31 日、東京

高橋 裕、成人 GH 分泌不全症の新たな病態 NAFLD/NASH、Endocrinology Forum in Support(招待講演) 2013 年 09 月 28 日~2013 年 09 月 28 日、札幌

Takahashi Y、Novel mechanism leading to hypopituitarism、The 9th Joint Meeting of Pediatric Endocrinology, ESPE, PES, APEG, ASPAE, JSPE, SLEP、2013 年 09 月 19 日~2013 年 09 月 22 日、Milan, Italy

高橋 裕、下垂体機能低下症を呈する新たな疾患概念、第 46 回 間脳下垂体疾患研究会(招待講演) 2013 年 08 月 31 日~2013 年 08 月 31 日、京都

高橋 裕、下垂体機能低下症を呈する新たな疾患概念、AGHD Advisory Board Meeting (招待講演) 2013 年 07 月 09 日~2013 年 07 月 09 日、大阪

高橋 裕、成人 GH 分泌不全症の新たな病態と疾患概念、第 4 回 西神戸内分泌糖尿病オープンカンファレンス(招待講演) 2013 年 06 月 29 日~2013 年 06 月 29 日、神戸

高橋 裕、成人 GH 分泌不全症の新たな病態と疾患概念、第 34 回 東京成長ホルモン、成長因子セミナー(招待講演) 2013 年 06 月 28 日~2013 年 06 月 28 日、東京

Genzo Iguchi, Hironori Bando, Masaaki Yamamoto, Ryoko Takeno, Kentaro Suda, Michiko Takahashi, Hitoshi Nishizawa, Hidenori Fukuoka and Yutaka Takahashi、The pathophysiological analysis of novel "anti-PIT-1 antibody syndrome", Endo 2013 The 95th Annual Meeting & Expo、2013 年 06 月 15 日~2013 年 06 月 18 日、San Francisco, USA

高橋 裕、成人 GH 分泌不全症の新たな病態と疾患概念、第 1 回 成人 GH 分泌不全症セミナー(招待講演) 2013 年 06 月 04 日~2013 年 06 月 04 日、鹿児島

高橋 裕、成人 GH 分泌不全症の新たな病態と疾患概念、第 77 回 宮城内分泌研究会(招待講演) 2013 年 05 月 29 日~2013 年 05 月 29 日、仙台

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、2013 年 04 月 27 日~2013 年 04 月 27 日、仙台

高橋 裕、成人 GH 分泌不全症の新たな

病態と疾患概念、第1回 脳と生活習慣病セミナー(招待講演) 2013年04月18日~2013年04月18日、出雲

高橋 裕, 坂東 弘教, 山本 雅昭, 井口 元三、下垂体と自己免疫 抗 PIT-1 抗体症候群 その後の展開、第39回日本神経内分泌学会、2012年09月28日~2012年09月29日、北九州国際会議場

山本雅昭, 井口元三, 高橋路子, 西沢 衡, 隅田健太郎, 高木優樹, 長谷川奉延, 清野進, 高橋裕、下垂体特異的転写因子に対する自己抗体の意義の解析、第21回臨床内分泌代謝 Update、2012年1月28日、アクトシティ 浜松

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, 清野 進, 高橋 裕、IgG4 関連下垂体炎5例の臨床的検討(優秀ポスター受賞) 第22回臨床内分泌 Update、2012年01月18日~2012年01月19日、大宮ソニックシティ

〔図書〕(計 2 件)

井口元三、高橋 裕、中外医学社、内科外来基本処方 Navi、2014 印刷中

編集:平田結喜緒、山田正三、成瀬光栄、診断と治療社、下垂体疾患診療マニュアル、2012、274

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

井口 元三 (GENZO, Iguchi)
神戸大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 60346260

(2)研究分担者

高橋 裕 (YUTAKA, Takahashi)
神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・講師
研究者番号: 70301281

(3)連携研究者

該当なし