

### O1-8-13 ACTH産生下垂体腫瘍におけるカネルチニブのPOMC発現抑制効果とEGF受容体ファミリー発現量との関連

福岡 秀規<sup>1</sup>、井口 元三<sup>1</sup>、松本 隆作<sup>2</sup>、坂東 弘教<sup>2</sup>、岡田健太郎<sup>2</sup>、西澤 衡<sup>1</sup>、高橋 路子<sup>1</sup>、井下 尚子<sup>3</sup>、山田 正三<sup>4</sup>、高橋 裕<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>神戸大学 医学部附属病院 糖尿病・内分泌内科、<sup>2</sup>神戸大学大学院 医学研究科 糖尿病・内分泌学、<sup>3</sup>虎の門病院 病理診断科、<sup>4</sup>虎の門病院 間脳下垂体外科

【背景】我々はこれまでにACTH産生下垂体腫瘍 (ACTHoma) におけるEGF受容体 (EGFR) のチロシンキナーゼ阻害 (TKI) がACTH分泌を抑制する事を示した。EGFRファミリーにはEGFRの他にErbB2-4が知られているが、ACTHomaにおけるその役割は不明である。【方法】14例のクッシング病患者より抽出されたACTHomaの初代培養系を用いてEGFRのTKIであるゲフィチニブ (Gef)、あるいはEGFRとErbB2-4すべてのTKIであるカネルチニブ (Can) 処置を行い、遺伝子発現量を定量realtime PCR法を用いて測定した。また各腫瘍でのEGFRファミリーの発現量を(++), (+), (-) 群に分け、Gef, Canの効果との関連性を検討した。【結果】EGFR (+) 群ではGefによりPOMC発現が抑制された (41.7 ± 28.8%,  $p < 0.01$ )。EGFR (-) 群ではGefによるPOMC発現抑制効果は認めなかったが、Canにより抑制を認めた (33.8 ± 8.6%,  $p = 0.04$ )。一方Canは正常下垂体におけるPOMC発現には影響しなかった ( $p = 0.25$ )。次にCanによるPOMC発現抑制効果とEGFRファミリーの発現プロファイルの関連を検討したところ、ErbB3 (-) 群では (+) 群、(++) 群と比べCanによりPOMC発現が低下した ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ )。ErbB4は全ての腫瘍で発現を認めたが、(++) 群は (+) 群と比べCanによるPOMC発現抑制効果が高かった ( $p < 0.01$ )。【考察】ACTHomaにおいてCanによるPOMC発現抑制効果はEGFR発現量によらず、ErbB3発現量が少ない腫瘍、ErbB4発現量の多い腫瘍で高いことから、これらのキナーゼ活性を介したPOMC発現調節が示唆された。

### O1-8-15 GnRH産生ニューロン株に対するγアミノ酪酸 (GABA) の作用について

金崎 春彦、折出 亜希、ミジドルジ ツェルメグ、  
 スクバツタル ウスルジャル  
 島根大学 医学部 産科婦人科

【目的】GnRHニューロンにはキスペプチン受容体GPR54の他、神経伝達物質であるグルタミン酸γアミノ酪酸 (GABA) の受容体も存在する。今回我々はGnRH産生ニューロン株を用いて神経伝達物質GABAの薬理作用について検討した。【方法】GnRH産生ニューロンのモデル細胞としてGT1-7細胞を用いた。GABA<sub>A</sub>受容体アゴニストで細胞刺激を行い、ERK活性及びcAMP/PKA活性を反映するserum response element (SRE) 及びcAMP response element (CRE) レポーターアッセイを行った。GnRH受容体及びGnRH発現に関してもレポーターアッセイ及び定量PCRで測定した。キスペプチン及びPACAP効果に対するGABAの影響についても併せて検討した。【結果】GT1-7細胞においてGABAは単独でSRE活性、CRE活性を共に増加させた。キスペプチンによるSRE活性の増加はGABAとの同時刺激で更に増強した。またPACAPによるCRE活性化反応もGABA存在下で更に増強した。キスペプチン及びPACAPは共に細胞内GnRH受容体発現を増加させたが、GABAは単独でもGT1-7細胞におけるGnRH受容体発現を増加させ、キスペプチン及びPACAPによるGnRH受容体発現を更に増加させた。一方GABAの刺激により細胞内のGnRH mRNA発現は有意に減少した。【結論】一般的に抑制性の神経伝達物質とされるGABAはGnRHニューロンにおいてはGABA<sub>A</sub>受容体を介してニューロンを興奮させ、GnRH受容体発現が促進する一方、GnRHの合成は抑制している可能性がある。

### O1-9-1 血清IRIおよびインスリン抗体測定はインスリノーマ・非ラ氏島細胞腫瘍由来低血糖・インスリン自己免疫症候群の鑑別診断に有用である

稲田 慎也、上田晋一郎、亀山 智子、中村 裕子、野崎 秀一、  
 古賀 正史  
 市立川西病院 糖尿病・内分泌内科

【目的】慢性低血糖をきたす代表的疾患としてインスリノーマ・非ラ氏島細胞腫瘍由来低血糖 (NICTH) およびインスリン自己免疫症候群 (IAS) が挙げられる。しかし、これらの鑑別診断に関する報告は少ない。今回、上記3疾患の鑑別診断における血清Cペプチド (CPR)、血清インスリン (IRI)、インスリン抗体の有用性を検討した。【対象と方法】本邦の報告例のインスリノーマ (悪性インスリノーマ4例を含む) 43例 (男性17例/女性32例、年齢60.5 ± 18.6歳)、NICTH 11例 (男性9例/女性3例、年齢69.0 ± 9.0歳)、IAS 10例 (男性3例/女性7例、年齢48.1 ± 23.7歳) を対象とした。【結果】NICTHの血清CPRは全例0.5 ng/ml以下と低値であったのに対して、インスリノーマは1例を除き全例0.5 ng/ml超、IASは全例1 ng/ml超であった。NICTHの血清IRIは全例1 μU/ml以下と低値を示したのに対して、インスリノーマは全例1 μU/ml超かつ100 μU/ml以下であった。IASの血清IRIは全例100 μU/ml超と著明高値であった。NICTHおよびインスリノーマのインスリン抗体結合率は全例10%以下と陰性あるいは弱陽性であったのに対して、IASのインスリン抗体結合率は全例70%超と著明高値を示した。【結論】血清CPRはNICTHと他の2疾患を鑑別するためには有用であるが、インスリノーマとIASの鑑別診断は困難である。血清IRIを用いると3疾患の鑑別診断が可能である。また、インスリン抗体結合率が著明高値 (70%超) であればIASの診断が可能である。

### O1-8-14 ES細胞由来一視床下部培養系におけるMCHニューロンの特徴

長崎 弘<sup>1</sup>、小谷 侑<sup>1</sup>、須賀 英隆<sup>2</sup>、金子 葉子<sup>1</sup>、中島 昭<sup>1</sup>、  
 太田 明<sup>1</sup>

<sup>1</sup>藤田保健衛生大学 医学部 生理学講座 I、<sup>2</sup>名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌学

【背景と目的】近年、マウス胚性幹細胞 (mESC) から視床下部組織へ誘導する手法が開発され、新たなin vitro実験系としての活用や、再生医療への応用が期待されている。mESCから生じる前駆細胞群は、多様な視床下部ニューロン種に分化し、視床下部の器官形成がなされるが、個々のニューロン種の特性に関して十分な検討はなされていない。本研究では特に、摂食行動や睡眠覚醒調節に関わるメラニン凝集ホルモン (MCH) ニューロンに焦点を当て、免疫組織化学的特徴を解析した。【方法】マウスES細胞株 (EB5) を、血清および成長因子を含まない化学合成培地中で浮遊凝集培養することにより、視床下部前駆細胞を誘導した。最大36日目まで培養を継続し、リアルタイムPCRおよび免疫組織化学染色に使用した。【結果及び考察】浮遊培養開始後3週目から、MCHのmRNAは指数関数的に増大し、多くのMCH及びその受容体であるMCHR1免疫陽性ニューロンが細胞塊中に観察された。MCHニューロンの多くは、生体視床下部のMCHニューロンと同じくcocaine amphetamine regulatory transcript (CART) またはGABA (GAD67) を共発現しており、オレキシンニューロンまたはドーパミンニューロンとシナプス様連絡を形成していた。さらにその細胞形態は、発達過程において観察されるMCHニューロンの細胞形態と非常に似ていた。また、以上のように、mESC由来MCHニューロンは生体内のMCHニューロンと多くの共通点を有することから、視床下部における神経発生過程を再現しているものと考えられる。

### O1-8-16 慢性ストレスは視床下部視交叉上核を介さずに肝臓の時計・代謝関連遺伝子の日内発現様式を変調させる

高橋 圭、山田 哲也、突田 壮平、白井 勇太、宗像佑一郎、  
 児玉慎二郎、浅井洋一郎、梶澤 貴志、千葉 弓子、金子 慶三、  
 宇野 健司、澤田正二郎、今井 淳太、片桐 秀樹

東北大学 糖尿病代謝内科学分野

【目的】慢性ストレスは代謝性疾患の要因であることが知られ、ストレス反応機構と代謝制御機構との因果関係が想定されるが、互いをつなぐ分子機構の全容解明には至っていない。糖・脂質代謝は時計機構による制御を受けており、時計機構の変調は代謝性疾患の発症に繋がることが知られている。一方、視床下部一下垂体-副腎系 (HPA axis) の終末伝達物質であるグルココルチコイドは、種々の末梢臓器における時計遺伝子の日内発現様式を変調させることが報告されている。【方法】Chronic Mild Stress (CMS) 負荷モデルを用いて慢性ストレスが肝臓の時計・代謝関連遺伝子の日内発現様式に与える影響を検討した。【成績】BALB/cマウスではCMSにより血漿コルチコステロン濃度の上昇と日内変動リズムの変調を認め、CMSによるHPA axisの活性化が示された。肝臓において、*Clock*、*Bmal1*、*Per1*、*Cry1*などの時計遺伝子や、*Para*、*Ppar-1*、*Pgc-1a*、*Pepeck*などの代謝関連遺伝子の日内発現様式が変調していた。一方、視床下部視交叉上核 (SCN) において時計遺伝子の日内発現様式は全く変化していなかった。HPA axisがCMSによって影響を受けない系統であるC57BL/6マウスでは、CMSを負荷しても血漿コルチコステロンの日内変動は影響を受けず、肝臓における時計・代謝関連遺伝子の日内発現様式も変調しなかった。【結論】慢性ストレスはSCNの時計機構の変調を介さずに肝臓における時計・代謝関連遺伝子の日内発現様式を変調させることが示され、この過程にはHPA axisの活性化が重要な役割を担っていることが強く示唆された。

### O1-9-2 GH過剰状態がグリコアルブミンに与える影響 -先端巨大症による解析-

玉田 大介<sup>1</sup>、大月 道夫<sup>1</sup>、北村 哲宏<sup>1</sup>、押野 悟<sup>2</sup>、齋藤 洋一<sup>2</sup>、  
 下村伊一郎<sup>3</sup>、古賀 正史<sup>3</sup>

<sup>1</sup>大阪大学大学院 医学系研究科 内分泌・代謝内科、<sup>2</sup>大阪大学大学院 医学系研究科 脳神経外科、<sup>3</sup>市立川西病院 内科

【目的】成長ホルモン (GH) は蛋白の合成促進・異化抑制作用を有するが、アルブミン代謝への作用は不明である。GHがアルブミンに対して異化抑制作用を有する場合、GH過剰状態ではアルブミンの半減期が延長し、血糖コントロール指標であるグリコアルブミン (GA) に影響する可能性がある。今回、我々はGH過剰病態である先端巨大症を対象にGHがGAに与える影響について検討した。【対象と方法】2010年4月~2013年3月に大阪大学医学部附属病院にて診断された先端巨大症 29例 (糖尿病合併 19例、非合併 10例) を対象とした。糖尿病合併・非合併先端巨大症の各々に年齢、性、BMIをマッチさせた58例 (非糖尿病 38例、2型糖尿病 20例) を対照として用いた。【結果】先端巨大症非糖尿病群の空腹時血糖および75g経口グルコース負荷後2時間血糖は、対照に比し有意差を認めず、HbA1cも有意差を認めなかった。一方、GAは対照に比し有意に高値であった。先端巨大症糖尿病合併群でも同様に空腹時血糖およびHbA1cは対照群に比し有意差を認めず、GAは対照に比し有意に高値であった。【結論】GH過剰病態である先端巨大症のGAは対照群に比し高値を示したことよりGHがアルブミンに対しての異化抑制作用を有することが明らかとなった。先端巨大症は高頻度に糖尿病を合併するため、GAを用いて血糖コントロール状態を判断する場合は注意が必要である。