



Adult combined GH, prolactin, and TSH deficiency associated with circulating PIT-1 antibody in humans

Yamamoto, Masaaki

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2012-03-25

(Date of Publication)

2012-10-03

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5445

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005445>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

Adult combined GH, prolactin, and TSH deficiency
associated with circulating PIT-1 antibody in humans.

抗 PIT-1 抗体に関連した成人発症成長ホルモン、
プロラクチン、甲状腺刺激ホルモン欠損症

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

内科学講座 糖尿病・内分泌・腎臓内科学分野 糖尿病・内分泌内科学部門

(指導教員：清野進教授)

山本 雅昭

(要約)

Pituitary-specific transcriptional factor-1(PIT-1)は成長ホルモン(GH)、プロラクチン(PRL)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)産生細胞分化において不可欠な転写因子であり、PIT-1 遺伝子異常では GH、PRL、TSH 分泌不全が引き起こされる。私たちは成人発症 GH、PRL、TSH 分泌不全の3例の血清中において様々な自己抗体とともに抗 PIT-1 抗体を見出した。ELISA を用いて下垂体疾患や自己免疫疾患および健常者の血清をスクリーニングした結果、抗体は本症例に特異的な自己抗体であることが明らかとなった。剖検例の免疫組織学的検討においては下垂体組織で PIT-1、GH、PRL、TSH 陽性細胞が消失していた。本症例は抗 PIT-1 抗体の存在と特異的なホルモン欠損のパターンを認めるとともに、多彩な内分泌臓器に対する自己免疫機序を示すことから、新たな多腺性自己免疫症候群(APS)関連疾患として「抗 PIT-1 抗体症候群」と命名し報告する。

(背景)

PIT-1 は下垂体における GH 分泌細胞、PRL 産生細胞、TSH 分泌細胞の分化、増殖、維持に不可欠である(1)。したがって先天性 PIT-1 遺伝子異常では GH、PRL、TSH 欠損という複合型下垂体機能低下症を呈する(2)。一方で後天性複合型下垂体機能低下症は視床・下垂体疾患により非特異的な下垂体ホ

ルモン分泌不全を生じる。APS は複数の内分泌臓器に障害があるもので以下の3群に分けられる(3)。その成因として APS-1 は AIRE 遺伝子の異常により生じ、APS-II は HLA 多型が強く関連している。IPEX 症候群は FOXP3 遺伝子変異を有し、重篤な自己免疫疾患および免疫不全を引き起こす。APS 患者では多彩な自己抗体が見られる。例えば 1 型糖尿病では GAD、インスリン、IA-2 に対する抗体が認められる(4)。APS にも合併する自己免疫性下垂体炎においては GH、 α -enolase、TDRD6 などが抗下垂体抗体の候補抗原として報告されているが(5,6,7)、それらの病態生理学的意義は明らかではない。私たちは 3 例の抗 PIT-1 抗体に関連した成人発症 GH、PRL、TSH 欠損症について報告する。

(症例)

症例 1 は 44 歳男性。顔面、手指、上肢浮腫が 2 年間持続するため来院。成長、発育歴は正常で 2 人の子供がいる。内分泌学的検査において GH、PRL、TSH 分泌不全と原発性副腎皮質機能低下症が示唆された。MRI では下垂体前葉は軽度萎縮していた。その他に萎縮性胃炎と小脳失調および味覚障害を認めた。

症例 2 は 75 歳男性。緩徐進行型 1 型糖尿病に対してインスリン加療中であった。内分泌学的検査において GH、PRL、TSH 分泌不全と原発性性腺機能

低下症が示唆された。MRI では下垂体に異常は認めなかった。その後患者は事故により死亡されたためご遺族の同意を得て病理解剖を行った。

症例 3 は 78 歳男性。数年来持続する眼瞼、下腿浮腫の精査のため入院した。内分泌学的検査において GH、PRL、TSH 分泌不全を認めたが、MRI では下垂体に異常は認めなかった。その他に一過性の小脳失調を認めた。

(方法と結果)

3例に共通してGH、PRL、TSHの欠損を認めたことから、PIT-1との関連を疑った。しかしこれまで先天性複合型下垂体機能低下症の原因遺伝子として報告されているPIT-1、さらに関連した転写因子であるPROP1、HesX1遺伝子を解析したが変異は認めず、全例正常身長であり成人発症であることから遺伝子異常による先天性の成因については否定的であった。そこで血清中にPIT-1発現細胞に対する阻害因子の存在の可能性を検討したが、患者血清はGH3細胞(ラット下垂体前葉細胞由来腫瘍細胞株)の細胞増殖やPIT-1転写活性に対して影響を与えなかった。次に我々は患者血清中に下垂体に対する自己抗体が存在するか調べた。マウス下垂体組織およびGH3細胞、ヒト下垂体組織の抽出液を用いてウエスタンブロット法を行うと患者血清群では33kDaのサイズにバンドを同定した。PIT-1のサイズが33kDaであることから抗原としてPIT-1が疑われた。実際PIT-1を強制発現した細胞の抽出液に対しても同

じサイズにバンドを認めた。患者血清はPIT-1のPOUドメインおよびTAドメインの両者を認識することから、PIT-1蛋白を広く認識する自己抗体であった。またヒト遺伝子組み換えPIT-1蛋白を用いて吸収試験を行うとバンドが消失したことから、PIT-1蛋白に特異的な抗体であることが示された。抗PIT-1抗体のアイソタイプを調べるとIgG1とIgG3に属していた。さらに抗PIT-1抗体の疾患特異性を確かめるためにELISAを確立し、下垂体腫瘍、下垂体炎、1型糖尿病、自己免疫性甲状腺炎、SLE、RAをはじめとする自己免疫疾患の患者血清をスクリーニングしたが、いずれも抗PIT-1抗体は検出されず、極めて特異的だった。症例2の剖検下垂体組織を用いて病理学的検討を行ったところ、線維化が著明であり、間質へのリンパ球および形質細胞の浸潤を認めた。免疫組織学的検討ではPIT-1陽性細胞で見られるGH、PRL、TSHが著明に減少していた一方でACTH、LH、FSH陽性細胞は保たれていた。その他の組織では、膝、副腎、甲状腺、肝臓にリンパ球を中心とする炎症細胞浸潤と組織破壊、胃では粘膜萎縮、炎症細胞浸潤と壁細胞の消失を認め、病理学的にはAPS関連疾患と診断された。

(考察)

我々は抗PIT-1抗体に関連したGH、PRL、TSH特異的欠損による成人複合型下垂体機能低下症の3症例を報告した。成長障害や発達障害を認めない

ことから後天性の原因が強く示唆された。これまで動物モデルであるSnell、Jackson dwarfマウスではGH、PRL、TSH欠損がPIT-1遺伝子異常によって引き起こされていることが報告されている(8)。病理組織学的解析ではGH、PRL、TSH産生細胞が欠損しており、症例2の病理組織所見と類似していた。これらの結果は本症例が後天的にPIT-1発現細胞の機能的、構造的障害を引き起こした可能性とともに、抗PIT-1抗体が本症のマーカーのみならず原因として密接に関連しているということを示唆した。

抗PIT-1抗体は、多くの健常人や他の視床下部・下垂体疾患や自己免疫疾患で認めないことから本疾患に非常に特異的であると言える。また本症では、これまでに報告されている抗GH、 α -enolase、TDRD6抗体などのPIT-1以外の下垂体蛋白に対する抗体は認めなかった。さらにMRIでは下垂体炎でしばしば見られる下垂体の腫大などの形態学的異常を認めなかった。これらの所見はAPSで見られる一般的な下垂体炎と臨床的、病理学的特徴において明らかに異なっている。

今回の症例で下垂体以外の病変としては、症例1で潜在性原発性副腎不全が示唆された。症例2では病理組織学的解析で自己免疫性膵島炎、甲状腺炎、副腎炎など様々な内分泌臓器障害を認めると同時に、内分泌学的検査では原発性性腺機能低下症が示唆された。その他症例1、2に共通して胃壁細胞の消失を伴う自己免疫性胃炎や脱毛と小脳失調が見られた。血液検査所見からは

マイクロソーム、サイログロブリン、TPO、GAD、胃壁細胞に対する様々な自己抗体が検出された。以上の所見は、この症候群が APS 関連疾患であることを支持するものである。APS-I では皮膚カンジダ症や副甲状腺機能低下症が発育早期にしばしば見られる。この点において、本症例はカンジダ感染や血清カルシウム値や PTH 値の異常も見られないことから、APS-I とは明らかに異なる病態であると言える。APS-II は特異的な HLA ハプロタイプとの関連が報告されている(4)。症例 1 では A24、DR9 で症例 2 では B54 であった、注目すべきことに DR4、DR9、A24、B54 は日本人における 1 型糖尿病と関連があることが報告されている(9,10)。しかし 3 症例における HLA のハプロタイプは典型的な APS-II に関連するそれとは合致しなかった。

この症候群の発症メカニズムを考える上で PIT-1 は下垂体前葉細胞の核内に局在する蛋白であることから抗 PIT-1 抗体の直接的な標的であることは考えにくい。一つの可能性として最初に PIT-1 に対する免疫寛容の破綻が何らかの原因で起こり、細胞表面において MHC 抗原とともに PIT-1 蛋白エピトープが提示され、細胞障害性 T 細胞により PIT-1 発現細胞に対する特異的攻撃を誘導していることが考えられる。その場合には結果として抗 PIT-1 抗体が産生される。T 細胞機能の異常に関して、症例 2 において下垂体、甲状腺、肝臓、膵臓におけるリンパ球浸潤が見られたが、その病理像は 1 型糖尿病のそれと類似していた(11)。もう一つの重要な点としては、抗 PIT-1 抗体は IgG1、

IgG3 アイソタイプであり、これらのアイソタイプは抗原依存性細胞障害(ADCC)を有することから、本抗体が補体依存性に細胞障害を引き起こした可能性もある。

GH、PRL、TSH 特異的欠損と抗 PIT-1 抗体を認める成人複合型下垂体機能低下症を報告した。本症候群を APS に関連した新しい疾患概念「抗 PIT-1 抗体症候群」と命名し、今後そのメカニズムを明らかにするためにさらなる解析を行っていく。

(文献)

- (1) Cell. 1988; 55(3): 519-529.
- (2) Science. 1992; 257(5073): 1118-1121.
- (3) Nat Rev Endocrinol. 2010; 6(5): 270-277.
- (4) N Engl J Med. 2004; 350(20): 2068-2079.
- (5) Horm Res. 2001; 55(6): 288-292.
- (6) J Clin Endocrinol Metab. 2002; 87(2): 752-757.
- (7) Proc Natl Acad Sci U S A. 2007; 104(3): 949-954.
- (8) Nature. 1990; 347(6293): 528-533.
- (9) Diabetes. 1993; 42(7): 1086-1093.
- (10) Diabetes Care. 1993; 16(5): 780-788.
- (11) Nat Rev Immunol. 2010; 10(7): 501-513.

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2240 号	氏 名	山本 雅昭
論文題目 Title of Dissertation	Adult combined GH, prolactin, and TSH deficiency associated with circulating PIT-1 antibody in humans. 抗 PIT-1 抗体に関連した成人発症成長ホルモン、プロラクチン、甲状腺刺激ホルモン欠損症		
審査委員 Examiner	主 査 戸田 圭 Chief Examiner 副 査 南 康博 Vice-examiner 副 査 塩澤 俊一 Vice-examiner		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

Pituitary-specific transcriptional factor-1(PIT-1)は下垂体において成長ホルモン(GH)、プロラクチン(PRL)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)産生細胞分化において必須の転写因子であり、PIT-1 遺伝子異常では先天性の GH、PRL、TSH 分泌不全が引き起こされる。一方で後天性複合型下垂体機能低下症は種々の視床下部・下垂体疾患により非特異的な下垂体ホルモン分泌不全を生じる。今回我々は3例の抗 PIT-1 抗体に関連した成人発症 GH、PRL、TSH 欠損症について報告した。

3例はいずれも内分泌学的検査において GH、PRL、TSH 特異的な分泌不全を認めたことから、PIT-1 遺伝子異常を疑い検索を行ったが、変異は認めなかった。また発症時期について、発育、発達は正常であり最近の甲状腺機能低下症を呈したことから成人発症と考えられた。下垂体の器質的疾患を除外する目的で MRI 検査を施行したが、明らかな異常所見は認められなかった。1例目ではマイクロソーム、サイログロブリン、TPO、胃壁細胞に対する様々な自己抗体が検出され、自己免疫性甲状腺炎、自己免疫性胃炎や脱毛、小脳

失調を認めたことから自己免疫学的機序の関与を考え、患者血清中に下垂体に対する自己抗体が存在するか調べた。マウス下垂体組織および GH3 細胞、ヒト下垂体組織の蛋白に対し患者血清を一次抗体としてウエスタンブロットを行うと 33kDa の抗原を認識した。PIT-1 蛋白の分子量が 33kDa であることから抗原として PIT-1 が疑われ、実際 PIT-1 を強制発現した細胞の蛋白によって PIT-1 が抗原であることが示された。またヒト遺伝子組み換え PIT-1 蛋白を用いて血清吸収試験を行うとバンドが消失したことから、PIT-1 蛋白に特異的な抗体であることが証明された。さらに抗 PIT-1 抗体の疾患特異性を確かめるために ELISA を樹立し、下垂体腫瘍、下垂体炎、1 型糖尿病、自己免疫性甲状腺炎、SLE、RA をはじめとする自己免疫疾患の患者血清を用いて抗 PIT-1 抗体の有無を検討したが検出されなかったことから、本症候群に極めて特異的であることが明らかになった。

症例 2 の下垂体の病理組織学的解析では間質へのリンパ球および形質細胞の浸潤と線維化を認めた。また免疫組織学的検討では PIT-1、GH、PRL、TSH 陽性細胞は完全に欠損している一方で、ACTH、LH、FSH 陽性細胞は保たれていた。その他に自己免疫性膵島炎、甲状腺炎、副腎炎など様々な内分泌臓器の自己免疫的障害を認め、加えて胃組織において絨毛萎縮、炎症細胞浸潤と壁細胞の消失を認め、病理学的には自己免疫性内分泌症候群(APS)と診断された。APS は APS-1 と 2 に分類されるが、本症候群はカンジダ感染や副甲状腺機能低下症による血清カルシウム値や PTH 値の異常は見られないことから、APS-1 とは明らかに異なる病態である。APS-2 においては HLA ハプロタイプとの関連が報告されているが、3 症例における HLA のハプロタイプに共通するものはなく、また典型的な APS-II に関連するものは認められなかったこと、下垂体炎の病態が全く異なることから APS-2 とも異なる病態であり、新たな APS 関連疾患と考えられた。

本症候群の発症メカニズムについて、PIT-1 は下垂体前葉細胞の核内に局在する蛋白であることから抗 PIT-1 抗体の直接的な標的であることは考えにくい。推測される機序として最初に PIT-1 に対する免疫寛容の破綻が何らかの原因で起こり、MHC 抗原とともに PIT-1 エピトープが提示されることにより、細胞障害性 T 細胞による特異的な標的になった可能性が考えられる。もう一つの重要な点としては、抗 PIT-1 抗体は抗原依存性細胞障害作用を有する IgG1、IgG3 アイソタイプに属している点である。このことは抗体依存性細胞障害作用のメカニズムが本症候群の病因と関連している可能性を示唆している。

本症例は抗 PIT-1 抗体の存在とそれに関連した特異的なホルモン欠損のパターンを認めるとともに、多彩な内分泌臓器に対する自己免疫機序を示すことから APS に関連した新たな疾患概念「抗 PIT-1 抗体症候群」として提唱した。

本研究は、成人発症 GH、PRL、TSH 欠損症の自験例から発し類似症例を集積し、内分泌学および免疫学的検討を行い、新たな疾患概念「抗 PIT-1 抗体症候群」を提唱したものであるが、重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士(医学)の学位を得る資格があると認める。