

臨床医のために

分子病理学からみた間脳下垂体腫瘍

山王 直子¹ 梅岡 克也² 大山 健一² 田原 重志²
 太組 一朗² 寺本 明² 長村 義之³

¹ 日本医科大学付属多摩永山病院脳神経外科

² 日本医科大学付属病院脳神経外科

³ 東海大学病態診断系病理学部門

Pituitary Tumors from Molecular-Biological Aspects

Naoko Sano¹, Katsuya Umeoka², Kenichi Ooyama², Shigeyuki Tahara²,
 Ichiro Takumi², Akira Teramoto² and Yoshiyuki Osamura³

¹ Department of Neurosurgery, Nippon Medical School Tamanagayama Hospital

² Department of Neurosurgery, Nippon Medical School Hospital

³ Department of Pathology, Tokai University School of Medicine

はじめに

分子生物学的手法の進歩に伴い、あらゆる生物学的分野で従来想像がつかない速度で未知の遺伝子が発見され、新しい知見が集積されつつある。そのような研

究の一端として、下垂体前葉細胞の機能分化には発生段階における様々な転写活性因子の作用が不可欠であることが最近あきらかにされてきた。

1988年に下垂体特異的転写因子 Pit-1 が最初に発見されたが、その後わずか10年の間に、Prop-1, Ptx-1, Neuro D1 など次々と新しい転写因子が発見されてい

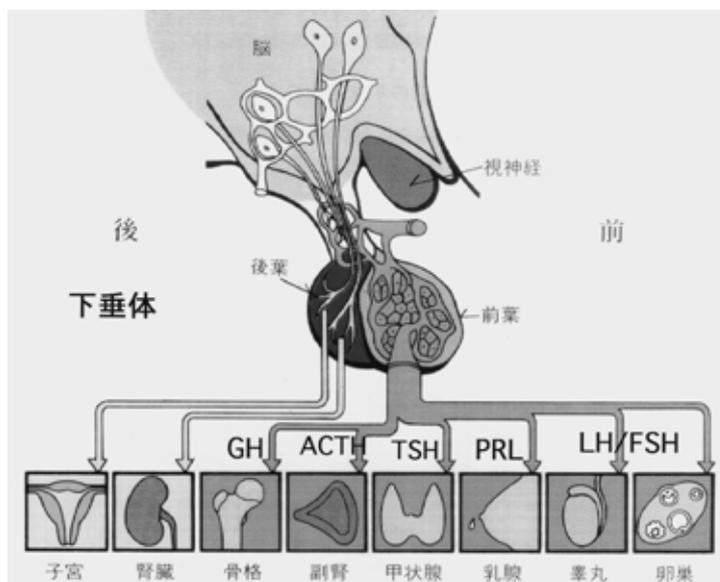


図1 間脳下垂体の構造および下垂体前葉細胞とホルモン、それぞれの標的末梢臓器の関係。GH：成長ホルモン，ACTH：副腎皮質刺激ホルモン，TSH：甲状腺刺激ホルモン，PRL：プロラクチン，LH：黄体形成ホルモン，FSH：濾胞刺激ホルモン。

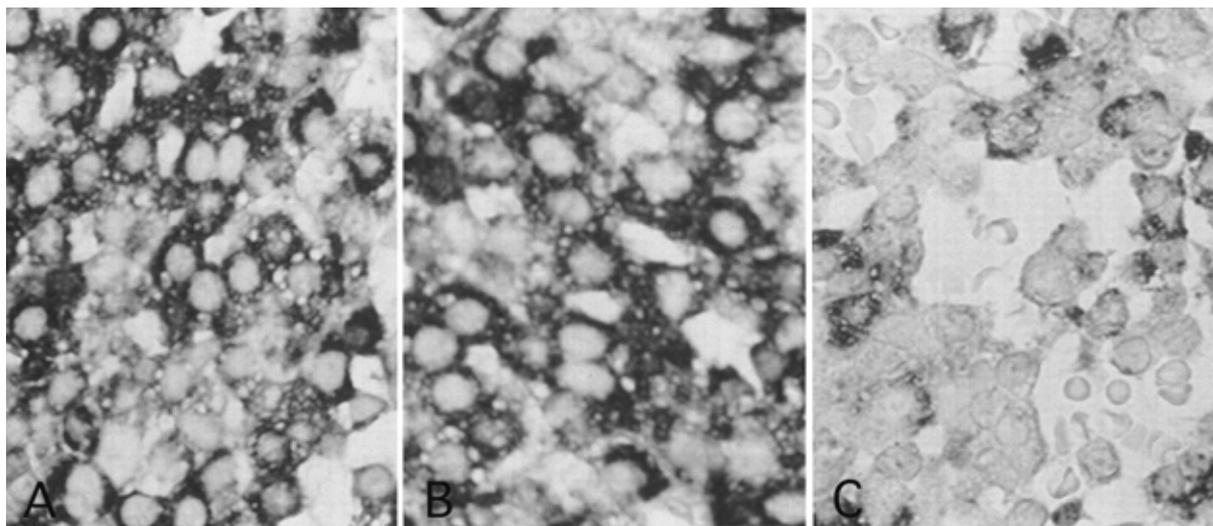


図2 下垂体腺腫における転写活性因子 Pit-1 遺伝子の発現 . A : GH 産生腺腫 , B : PRL 産生腺腫 . ほとんどの腫瘍細胞の細胞質に Pit-1 遺伝子が強く発現している . C : 臨床的非機能性腺腫例 . わずかであるが , Pit-1 遺伝子の発現が認められる (非放射性 oligonucleotide probe を用いた *in situ* hybridization 法 . NBT-BCIP にて発色 . $\times 400$)

る . これらの新しい転写因子が腫瘍においてどのような役割を果たすのか興味を持たれる .

本稿ではこれまでの分子生物学的研究の進歩に伴う下垂体転写活性因子研究の流れについて概説し , 今後の展望について述べる .

1. 下垂体細胞の機能分化

下垂体前葉細胞は 5 種類のホルモン産生細胞 , すなわち成長ホルモン (growth hormone; GH) , プロラクチン (PRL) , 副腎皮質刺激ホルモン (adrenocorticotropin; ACTH) , 甲状腺刺激ホルモン (thyroid stimulating hormone; TSH) , 性腺刺激ホルモン (gonadotropin; FSH/LH) より構成される . 図 1 に示すように , これらのホルモンは , 標的となる末梢臓器に働き , 作用を発揮するのである . 下垂体前葉は胎生期にラトケ囊から発生するが , このような 5 種類の細胞に分化する段階で不可欠な因子が存在することが近年明らかになってきた .

2. 下垂体特異的蛋白転写活性因子 Pit-1 と核内レセプター

Pituitary specific transcription factor Pit-1 は 1988 年に Karin¹ , Rosenfeldt² の 2 つのグループにより , ラット下垂体細胞の核蛋白の抽出物より , 成長ホルモン GH , プロラクチン PRL の転写を活性化する物質として発見された . その後 GH , PRL , TSH 3 種の細胞の機能分化・維持・増殖に関与することが明らかになっ

た .

Pit-1 遺伝子異常による下垂体性侏儒ラットでは複合ホルモン欠損が認められ , ヒトにおいても下垂体性小人症の原因であることが明らかにされている .

著者らは腫瘍細胞における Pit-1 の発現を免疫組織化学 *in situ* hybridization 法を用いて検討した^{3,4} . 図 2 に腫瘍における Pit-1 mRNA の発現を示す . Pit-1 は非機能性腺腫の一部に発現がみられ , 諸家の報告でも GH , PRL , TSH 産生腫瘍においては , 過剰発現があり , 腫瘍の増殖にも関与すると考えられているが , それ以外の種類における役割は controversial である⁵ .

現時点で Pit-1 は単独で作用するのではなく , 種々の他の因子 , 核内レセプターや視床下部ホルモンとの協調作用によって腫瘍の発現や機能分化・増殖に関与すると考えられている .

そこで , 続いて著者らは estrogen receptor との関連を検討した . PRL 腺腫と estrogen との関係は以前から良く知られている . 動物ではラットに estrogen を投与することにより PRL 腺腫が発生し (estrogen 誘発プロラクチノーマ) , 下垂体腺腫モデルとしてすでに確立している⁶ . ヒトでも稀ながら estrogen 治療による男性 PRL 腺腫の報告がある⁷ . 著者らは下垂体腺腫において , ER と PRL の関係を免疫組織化学および *in situ* hybridization を用いて検討した⁸ . PRL 腺腫においてほとんどすべての細胞に ER の mRNA が局在し , Pit-1 と協調作用を有すると考えられる . 最近 Pit-1 の発現に先行する Prophet of Pit-1 (Pit-1 の予言者)

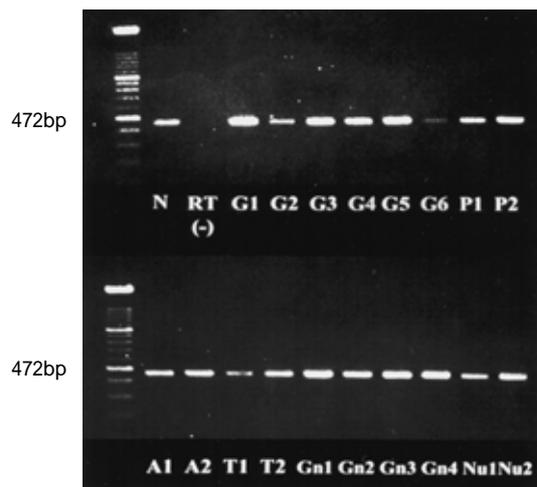


図3 各種下垂体腺腫および正常下垂体における Ptx-1 遺伝子の発現. 手術時摘出組織の凍結材料を用い, 特異的 primer にて, reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR)を行った. すべての種類の腺腫において予測される 472 bp のサイズに単一のバンドを認め, 発現が確認された. 上段左より N: 正常, RT(-): 陰性コントロール, G1~6: GH 腫瘍, P1, 2: PRL 腫瘍, A1 2: ACTH 腫瘍, T1 2: TSH 腫瘍, Gn1~4: Gonadotropin 腫瘍, Nu1, 2: Null cell 腫瘍

(Prop-1) とが発見されたところは記憶に新しい.

3. 新しい転写因子 Ptx-1 と Neuro D1

Pit-1 が関連する 3 種類の細胞について, POMC-ACTH 系の細胞に関連する遺伝子について検討を進めた.

pituitary homeobox-1 (Ptx-1) は, homeodomain を含む転写活性因子で¹⁰, stomodeal ectoderm における発現が当初報告され, POMC 遺伝子の promoter 領域に binding site を有し, 転写制御に関与しているとして注目された.

ヒト下垂体腫瘍の手術時組織から抽出した total RNA を用いて, RT-PCR 法により Ptx-1 遺伝子の発現を検討した結果を図3に示す. 予想に反し, ACTH 腺腫のみならず, すべての種類の腫瘍に発現することが明らかとなった.

Western blotting で抗体の特異性を確認し, 正常下垂体において下垂体前葉ホルモンとの double stain を行うと, 全種類の細胞の核に Ptx-1 の発現が見られた. 次に腫瘍において, ACTH 産生腫瘍でほとんどすべての腫瘍細胞の核に Ptx-1 が認められたが, その他全種類の下垂体腺腫に発現していた. 以上のことから, Ptx-1 は正常下垂体ならび下垂体腺腫において universal な転写活性因子として作用し, 他の因子と協調して働

表1 各種下垂体腺腫における NeuroD1 の免疫組織化学染色による発現頻度. 臨床的非機能性腺腫(non-functioning) 20 例のうち, 10 例は gonadotropin 陽性であった.

Tumor type	number studied	positive rate
ACTH adenomas	10/10	100%
GH adenomas	0/10	0
PRL adenomas	3/10	30
Non-functioning	14/20	70
Gonadotropin positive	7/10	70

表2 下垂体腺腫の種類に関する転写因子と発現ホルモン

Tumor type	Transcription factors	Hormones
<i>Pit-1 family</i>		
GH	Pit-1	GH, αSU
PRL	Pit-1, ER	PRL
TSH	Pit-1, TEF	TSH, GH, PRL, αSU
plurihormonal	Pit-1, ER, TEF	GH, PRL, TSH, αSU
ACTH	NeuroD1	ACTH
Gonadotroph	Ad4BP, SF-1, Egr-1, ER	FSHβ, LHβ, αSU

ER: estrogen receptor, TEF: thyroid embronic factor, Ad4BP: adrenogenic 4 binding protein, SF-1: steroidgenic factor 1, Egr-1: early growth response-1, 他の略語に関しては本文参照.

くということが明らかとなった.

それでは ACTH-POMC に特異的に働く転写因子は他にあるのだろうか. 次に Neuro D1 を検討した. Neuro D1 は basic helix-loop-helix 構造を有する転写因子で当初 pancreas islet cell から発見され, neuron の分化に関与するとされた. 後に POMC 遺伝子の promoter 領域に binding site が存在し, 転写活性に関与することが明らかとなった¹¹. Ptx-1 と同様に, 腫瘍から抽出した total RNA を用いて RT-PCR 法を行ってみると, ACTH 産生腫瘍で明らかな遺伝子発現が確認され, 非機能性腺腫でも発現がみられるものがあった. 特異的抗体を用いて, 免疫組織化学にて正常下垂体における発現をみると, ACTH 細胞に発現がみられた. 腫瘍においては ACTH 産生腫瘍ではほとんど全細胞の核に陽性を示したが, gonadotropin 陽性腫瘍でも, 陽性のものがあった. 免疫組織化学の結果を表1に示す. Neuro D1 は ACTH 産生腫瘍に強く発現しているが, 非機能性腺腫でも発現の見られるものがあった(投稿中データ). この結果は腫瘍細胞起源を考察する上で, 興味深い所見と思われた.

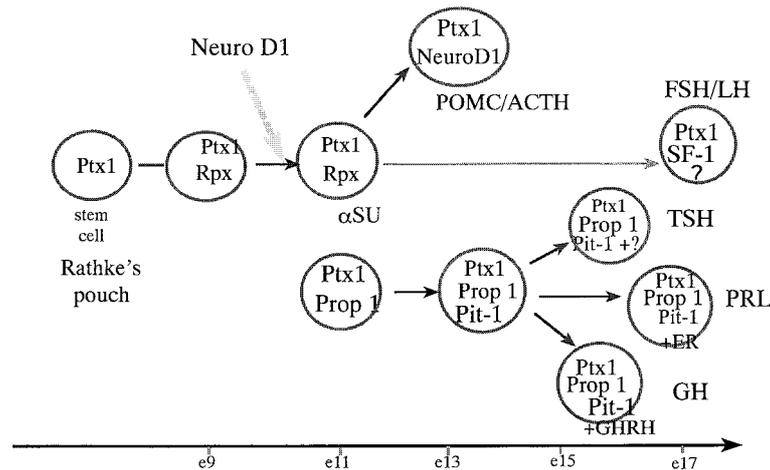


図4 ラットにおける胎生期下垂体細胞の分化と関与する因子 (Drouin Jらより一部改編) 略語は本文参照。ラトケ嚢において幹細胞 stem cell が出現し、最初に α subunit が出現する。Ptx-1 がすべてのホルモンに関与する。Prop-1, Pit-1 に固有の因子が作用して TSH, PRL, GH 細胞に分化する。POMC/ACTH には NeuroD1, FSH/LH 系には Steroidgenic factor-1 (SF-1) およびいくつかの候補が挙げられている。

総括および今後の展望

以上の結果を踏まえ、下垂体腺腫においてそれぞれの腫瘍の種類ごとに、関与する転写因子と、発現ホルモンの関係を示したものが表2である。紙面の関係上、詳細は他に譲るが、gonadotropin 腫瘍に関してはまだ未知の部分が多く、課題が残されている。

現時点で種々の下垂体腺腫下垂体腫瘍の機能分化には、Ptx-1, Pit-1, Neuro D 1 などの転写因子が作用しており、さらに核内レセプターや視床下部ホルモンなど多くの因子が協調作用を有すると考えられる。図4はラットにおける下垂体細胞の分化に関与する因子を、書き加えた模式図である¹²。ラトケ嚢において幹細胞 stem cell が出現し、最初に α subunit が出現する。Universal な因子として Ptx-1 がすべてに関与する。Prop-1, Pit-1 にそれぞれ固有の因子が作用して TSH, PRL, GH 細胞に分化する。POMC/ACTH には NeuroD 1, FSH/LH 系には Steroidgenic factor-1 (SF-1) およびいくつかの候補が挙げられており、これからの研究の成果が待たれる。

腫瘍における転写因子の発現は下垂体細胞の発生や機能分化の調節機構を知る上での貴重な手がかりになると考えており、今後さらに解明が進むことを期待したい。

文献

1. Bodner M, Castrillo JL, Theill LE, Deerinck T, Ellis-

man M, Karin M: The pituitary-specific transcription factor GHF-1 is a homeobox-containing protein. *Cell* 1988; 55: 505-518.

2. Ingraham HA, Chen RP, Mangalam HJ, Elsholtz HP, Flynn SE, Lin CR, Simmons DM, Swanson L, Rosenfeld MG: A tissue specific transcription factor containing a homeodomain specifies a pituitary phenotype. *Cell* 1988; 55: 519-529.

3. Sanno N, Teramoto A, Matsuno A, Takekoshi S, Osamura RY: Expression of Pit-1 product in human pituitary adenomas. Histochemical studies by antibody against synthetic human Pit-1. *Arch Pathol Lab Med* 1996; 120: 73-77.

4. Sanno N, Teramoto A, Matsuno A, Takekoshi S, Osamura RY: In situ hybridization analysis of Pit-1 mRNA and hormonal production in human pituitary adenomas. *Acta Neuropathol* 1996; 91: 263-268.

5. Lloyd RV, Jin L, Chandler WF, Horvath E, Stefaneanu L, Kovacs K: Pituitary specific transcription factor messenger ribonucleic acid expression in adenomatous and nontumorous human pituitary tissues. *Lab Invest* 1993; 69: 570-575.

6. Lloyd RV: Estrogen-induced hyperplasia and neoplasia in the rat anterior pituitary gland. An immunohistochemical study. *Am J Pathol* 1983; 113: 198.

7. Kovacs K, Stefaneanu L, Ezzat S, Smyth HS: Prolactin-producing pituitary adenoma in male-to-female transsexual patient with protracted estrogen administration. A morphologic study. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118: 562-565.

8. Sanno N, Teramoto A, Matsuno A, Osamura RY: Expression of Pit-1 and estrogen receptor messenger RNA in prolactin-producing pituitary adenomas. *Mod Pathol* 1996; 9: 526-533.

9. Sornson MW, Wu W, Dasen JS, Flynn SE, Norman DJ, O'Connell SM, Gukovsky I, Carriere C, Ryan AK, Miller AP, Zuo L, Gliberman AS, Anderson B,

- Beamer WG, Rosenfeld MG: Pituitary lineage determination by the prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames Dwarfism. *Nature* 1996; 384: 327-333.
- 10 . Lamonerie T, Tremblay JJ, Lanctot C, Therrien M, Gauthier Y, Drouin J: Ptx 1, a bicoid-related homeobox transcription factor involved in transcription of the proopiomelanocortin gene. *Gene Dev* 1996; 10: 1284-1295.
- 11 . Lee JE, Hollenberg SM, Snider L, Turner DL, Lipnick

N, Weingraub H: Conversion of *Xenopus* ectoderm into neurons by NeuroD, a basic helix-loop-helix protein. *Science* 1995; 268: 836-844.

- 12 . Drouin J, Lamolet B, Lamonerie T, Lanctot C, Tremblay JJ: The PTX family of homeodomain transcription factors during pituitary developments. *Mol Cell Endocr* 1998; 140: 31-36.

(受付 : 2000 年 8 月 8 日)

(受理 : 2000 年 8 月 29 日)
