抗 ACTH 抗体と副腎不全を伴った術後 Cushing 症候群の一例

長崎大学医学部第一内科

石丸 忠彦, 原 恵子, 森本 勲夫
久保 一郎, 山下 俊一, 和泉 元衛
宇佐 利隆, 長瀧 重信

国立長崎中央病院内科

前田 蓮十

Antibody to 1~24 ACTH and Hypofunction of the Adrenal Cortex
in a Patient who was Unilaterally Adrenalectomized
for Cushing's Syndrome

**Tadahiko ISHIMARU, Keiko HARA, Isao MORIMOTO,
Ichiro KUBO, Shunichi YAMASHITA, Motomori IZUMI,
Toshitaka USA, Shigenobu NAGATAKI and Renju MAEDA***

First Department of Internal Medicine,
Nagasaki University School of Medicine
Nagasaki 852, Japan

National Nagasaki Chuo Hospital*

We report here on a patient who was unilaterally adrenalectomized for Cushing's syndrome, and who developed antibodies to 1~24 ACTH.

A 49-year-old nurse had undergone right adrenalectomy for adrenal adenoma. After surgery, she was treated with 0.5mg of 1~24 ACTH-Z together with glucocorticoid replacement therapy for 40 days. Thereafter she was given 0.25~0.5mg of ACTH-Z every other day for 4 months. ACTH-Z was then stopped for a year but glucocorticoid therapy was continued. About one year prior to this admission, 1mg of ACTH-Z was again initiated 1 to 2 times a week. Glucocorticoid therapy was not withdrawn during the four years after adrenalectomy. She was admitted for the purpose of withdrawal of glucocorticoids. Her serum was found to bind labeled ACTH. This labeled ACTH was competitively displaced from binding by unlabeled hormones. Finally, reaction with specific antihuman Ig demonstrated an antibody of the IgG class. The titer of the antibodies gradually decreased after the discontinuation of ACTH-Z, but it is still present in measurable quantity in her serum. The clinical significance of the circulating anti-ACTH antibody in her serum is discussed.

緒 言

副腎腺腫によるCushing症候群では、対側副腎に萎縮がみられることはよく知られている。従って腺腫摘出後は、副腎皮質機能が回復するまで、glucocorticoidによる代償療法が必要である。従来、glucocorticoid離脱時には萎縮した副腎を刺激するため、ACTHがしばしば併用されていた。合成(1-24)ACTHは下垂体より抽出したブタACTH製剤に比べてアレルギーやアナフィラキシーなどの副作用は非常に少いといわれている。しかし、合成(1-24)ACTHでも、投与された症例の約30%に血中抗ACTH抗体の出現がみられると報告されている³⁾⁴⁾。しかしながら抗ACTH抗体が存在しても、内因性ACTHのステロイド産生刺激作用はあまり阻害されないといわれている¹⁾³⁾。

著者らは、副腎腺腫によるCushing症候群の患者で、一側副腎摘出後に、副腎皮質機能の回復を早めるために合成(1-24)ACTHを使用した。しかし、抗ACTH抗体が出現し、術後4年以上たった現在でも副腎皮質機能低下の状態にあり、glucocorticoidが離脱出来ない症例を経験したので、若干の考察を加えて報告する。

〔症例〕 49才、看護婦

主 訴: glucocorticoidの離脱

家族歴: 父に脳溢血、母に慢性関節リウマチを認める。

既往歴: 11才湿性胸膜炎(右側)。22才虫垂切除術。33才急性糸球体腎炎。44才閉経。

現病歴:

昭和40年(34才)より中心性肥満と多毛の傾向となる。昭和48年より下肢に出血斑を認めた。昭和49年、高血圧を指摘され、昭和51年外傷性肋骨骨折で入院。体重の著明な増加と、満月様顔貌、癰瘡を認め、昭和51年7月当科に入院した。入院時の迅速ACTH試験はCortisol, (前) 27, (30分) 39, (60分) 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ でACTHへの反応を軽度と認めたが、デキサメサゾン抑制試験で尿中17OHC S, 血中Cortisolの低下はみられなかった。同年9月右副腎腫瘍の診断で、右副腎全別術をうけた。

Fig. 1. Treatment with glucocorticoid and 1-24 ACTH-Z and the rapid ACTH test. The responses of plasma cortisol ($\mu\text{g}/\text{dl}$) are shown in the ACTH test column.

摘出副腎は14 gと大きく、組織学的に腺腫であった。術後はFig. 1に示すように、hydrocortisoneの代償療法に加えて、術後6日目より合成(1-24) ACTH・Z 0.5 mgの連日投与を40日間、次いで0.5 mg 隔日投与を30日間、さらに0.25 mgの隔日投与を40日間うけた。その後0.5 mgと増量し、40日間隔日投与され、ACTH・Zの投与は合計5ヶ月間におよんだ。この間hydrocortisone 20~25 mgの内服を併用した。ACTH・Z投与開始4ヶ月後、Cortisolのbasal levelの著明な低下がみられ、ACTHへの反応も次第に低下した。昭和52年4月退院後はプレドニゾロン5~10 mg/日の内服で看護婦として勤務を再開した。昭和52年10月および53年11月、ステロイド離脱の目的でプレドニゾロンを2.5 mgまで減量したところ、副腎不全と肺炎を併発し、一時的にステロイドの増量を余儀なくされた。昭和53年3月よりACTH・Z 1 mgの筋注週二回、2ヶ月間、53年9月より週2回、1ヶ月間、53年12月よりACTH・Z 1 mg週一回の筋注を再びうけていた。昭和54年10月ステロイドホルモン離脱を目的として再度当科に入院した。

入院時現症：

身長153 cm。体重46.5 Kg。体温36.1℃。脈搏72/分。血圧120/80 mmHg。栄養は良好。中心性肥満や満月様顔貌などは認められない。皮膚はやや乾燥しているが、色素沈着や皮膚線条も認められない。眼瞼結膜に軽度の貧血を認めたが、黄疸はない。胸部では下肺野に乾性ラ音を聴取した。心濁音界正常、心音清。腹部では肝、脾を触知せず。右側の側腹部に副腎摘出術の手術創を認めた。恥毛、腋毛は粗。下肢に浮腫なく、皮下出血斑の古い瘢痕を認めた。

一般検査所見：

検尿：蛋白(－)。糖(－)。沈渣、異常なし。検便：異常なし。血液：RBC $367 \times 10^4 / \text{mm}^3$, Hb 11.1 g/dl, Ht 33.8%, WBC $7600 / \text{mm}^3$, (baso 1%, eos 3%, st 1%, seg 39%, lym 55%, mono 1%)。

生化学的検査：GOT 21 mU/ml, GPT 14 mU/ml, 総ビリルビン 0.3 mg/dl, Al-phos 159 mU/ml, コリンエステラーゼ 0.83 ΔPH/hr, 総コレステロール 158 mg/dl, トリグリセライド 113 mg/dl, 総蛋白 5.3 g/dl, Alb 61.7%, α_1 -G 3.9%, α_2 -G 10.2%, β -G 10.2%, γ -G 13.8%, 尿素チツ素 23 mg/dl, クレアチニン 0.8 mg/dl, 血清 Na 143 mEq/l, K 4.4 mEq/l, Cl 109 mEq/l, Ca 9.0 mg/dl, P 4.3 mg/dl。

免疫学的検査：

マイクロゾームテスト(－)。サイロイドテスト(－)。LE test(－)。RA(+)。ESR 8/21。CRP(－)。抗核抗体定性(－)。抗DNA抗体(RIA) 12.0 U/ml。抗ENA抗体40倍以下。補体価(CH50) 34 U/ml。抗平滑筋抗体10倍以下。抗ミトコンドリア抗体10倍以下。

[内分泌学的検査](Table 1)

1. 迅速 ACTH 試験

血中 Cortisol の basal level および、(1-24) ACTH 0.25 mg 筋注後の Cortisol 値はともに測定感度以下であった。血中 aldosterone は前値 4 ng/dl と正常値で、ACTH 投与後、前値の約4倍と正常域の上昇がみられた。

2. インスリン負荷試験

regular insulin 0.1 U/kg 静注で、血糖は著明に低下したが、血中 Cortisol は測定感度以下であった。

3. vasopressin 試験

lysine vasopressin 5 単位(生食水 250 ml に溶解したもの)を60分間、点滴静注時の Cortisol も測定感度以下であった。

Table 1. The endocrine studies on this admission. Table 2. Detection of the anti-ACTH antibody in serum.
A star signal indicates plasma ACTH measured by CIS RIA Kit.

Rapid ACTH test

	0'	30'	60'
Cortisol (μg/dl)	<1.25	<1.25	<1.25
Aldosterone (ng/dl)	4.0	15.8	18.7

Insulin tolerance test

	0'	30'	60'	90'	120'
Sugar (mg/dl)	76	33	36	50	48
Cortisol (μg/dl)	<1.25	<1.25	<1.25	<1.25	<1.25
ACTH (pg/ml)	<10	<10	<10	<10	<10

Vasopressin test

ACTH and cortisol: no response

Plasma ACTH diurnal variation

	A M 8:00	P M 8:00
C I S, R I A kit	<10 pg/ml	<10 pg/ml
R C C, R I A kit	142	89

Insulin tolerance test

	0'	30'	45'	60'
C I S, R I A Kit	<10	<10	<10	<10
R C C, R I A Kit	135	136	193	189

Detection of anti-ACTH antibody

Serum (2μl) plus 125 I ACTH
with or without cold ACTH
↓
incubate at 4°C, overnight
Add anti- IgG or IgM antiserum
↓
incubate at 4°C, overnight
Centrifuge and count

Binding of 125 I ACTH to serum

	without cold ACTH	with cold ACTH	Antiserum
Patient serum	65 %	2.4 %	
Control serum 1	4.2	2.0	IgG
2	4.8	2.3	
3	4.1	2.5	
Patient serum	3.1	3.2	IgM

4. 血中 ACTH

ACTH は二種類の RIA キットで測定した。血漿を抽出なしに直接測定する CEA-IRE-SORIN RIA キット (以下 CIS キットと略) では 10 pg/ml 以下であった。さらにインスリン負荷および vasopressin 静注時の血中 ACTH も測定感度以下であった。同一検体を Radiochemical Center の RIA キット (以下 RCC キットと略) で測定すると, AM 8:00 は 142 pg/ml とやや高く (正常値 15–85 pg/ml), PM 8:00 は 89 pg/ml と日内変動を認めた。またインスリン負荷により血中 ACTH は 45 分後に最高値となり, 増加反応が認められた。本法では血漿中の ACTH をガラス粒に吸着させたあと, 1 N 塩酸で酸性化して抗体と ACTH を分離後, 50% v/v アセトン水溶液でガラス粒より ACTH を溶出し, ラジオイムノアッセイを行う。

5. 甲状腺機能

T₄ 6.3 μg/dl, T₃ 106 ng/dl, TSH 3.2 μU/ml と正常であった。

6. 抗 ACTH 抗体に関する検索

(1) 抗 ACTH 抗体の証明 (Table 2)

患者血清 2 μl に 0.1% アルブミンを含む 0.1 モル 燐酸緩衝液に溶解した 125 I- α^{1-39} ACTH (15,000 cpm) を添加し, さらに同緩衝液を加えて全量を 1 ml にした後に, 4°C で overnight インキュベートした。次いでヒツジ抗ヒト IgG 抗血清 25 μl 又はヒツジ抗ヒト IgM 抗血清 30 μl を添加し, さらに同緩衝液を加えて全量を 1.1 ml にして, さらに overnight インキュベートした。3000 rpm, 4°C で 25 分間遠沈分離後, 上清をすてて, 沈澱物の放射活性を測定し, 添加した 125 I-ACTH の血清への結合率を計算すると, Table 2 のような結果が得られた。ヒツジ抗ヒト IgG 抗血清を用いた場合, 患者血清では 65% と著明な結合が得られたが, コントロール血清では 4% の結合を認めるにすぎなかった。

このとき ^{125}I -ACTHと同時に大量の cold α^{1-24} ACTH ($6.25\mu\text{g}$) あらかじめ添加しておくと、血清への ^{125}I -ACTHの結合率は2.4%と著明に低下し、cold ACTHによる replacement がみられた。またヒツジ抗ヒトIgM抗血清では沈澱物の放射活性はみられなかった。

(2) 患者血清を用いた ACTH assay の標準曲線。

Fig.2に示すように、患者血清を抗ACTH抗血清として用いてCISキットでAssayの標準曲線をかくと、1000倍希釈の血清で比較的良好なStandard curveが得られた。

Fig. 2. ACTH displacement study. The patient's serum was used as the antibody of CIS RIA Kit. The standard curve using the 1000 times dilution of her serum is shown to be similar to that of CIS RIA Kit.

Fig. 3. The change of the titer of anti-ACTH antibody in serum after discontinuation of 1-24 ACTH-Z. The titer was expressed as the dilution of the serum to get 50% binding.

(3) 抗 ACTH 抗体の力価の変動 (Fig.3)

患者血清の 1 倍, 10 倍, 100 倍, 1000 倍希釈したもののいずれか 0.1 ml と ^{125}I -ACTH 0.1 ml (7.0 00 cpm) および, 0.02 M beronal buffer (pH 8.4) 0.8 ml を混和し, 4℃ で 48 時間インキュベートした。次いで dextran coated charcoal を添加後 4℃, 3000 rpm で 15 分間遠沈分離した。上清をカウントし, 上清の total count に対する比率 (B/T) を Fig.3 のように血清の希釈度に応じてプロットした。B/T の 50% に相当するところを 50% binding として抗体の力価とすると, ACTH・Z 中止 3 ヶ月後は 250 倍であった。以後は力価は次第に低下したが, 中止 1 年後でも抗体が存在していた。

考 案

一側性副腎腺腫による Cushing 症候群においては, 腺腫摘出後, 対側の萎縮した副腎皮質がその機能を回復するのに通常 9~12 ヶ月を要するといわれている⁶⁾。したがって, 本例のように術後 4 年以上たっても副腎皮質機能低下の状態で, 副腎皮質ホルモンの代償療法を必要とする症例は稀と思われる。

本例で抗 ACTH 抗体の存在が疑われたのは, CIS 製 ACTH RIA Kit で測定不能であった ACTH が, RCC 製 RIA Kit で測定可能であったためである。CIS RIA Kit では, 血中の ACTH 抗体が過剰のときは, 血中 ACTH の多くは bound form となり, free ACTH が減少し, 血中 ACTH は測定感度以下になる。一方 RCC RIA Kit では血漿中の ACTH をガラス粒に吸着させたあと塩酸で酸性化して, ACTH をガラス粒および ACTH 抗体より解離させて, free ACTH の状態で ACTH を測定している。しかしながら RCC キットを用いても, 抗体に結合した ACTH はガラス粒への吸着が悪い可能性があり, 本キットで測定した値が total ACTH の真の値を反映するかは疑問である。

RCC キットによると血中 ACTH は 142 pg/ml と正常値よりむしろ高値であった。bioassay の結果でも抗 ACTH 抗体のある血清で同様の成績が報告されている。即ち検体を塩酸で酸性化して ACTH を測定すると無処置の検体に比べて, 血中 ACTH は 10~20 倍と高値であった²⁾。これはいわゆる free ACTH の濃度を正常に近づけるため代償性に ACTH 分泌が増加するためといわれている^{2) 3)}。

我々の症例に抗 ACTH 抗体が存在することは次の三つの実験により確認された。第一に, 患者血清は, ^{125}I -ACTH と 65% も結合したが, コントロール血清との結合は 4% にすぎなかった。第 2 に, あらかじめ大量の cold ACTH を添加しておくと, ^{125}I -ACTH への結合は 2% と著明に低下し, cold ACTH による replacement がみられた。第 3 に, 患者血清と ^{125}I -ACTH の結合は抗ヒト IgG 抗血清の添加で沈澱し, 抗ヒト IgM 抗血清では沈澱が認められず, 抗 ACTH 抗体は IgG class の抗体であった。

ラットに抗 ACTH 抗体を投与するとステロイド産生能が低下するといわれている⁵⁾。ラットの副腎細胞を用いた実験でも ACTH 抗体が ACTH のステロイド産生能を阻害することが報告されている⁷⁾。本例における副腎皮質機能の回復遅延の原因はまず第一に副腎腺腫からのコーチゾルの過剰分泌による下垂体の ACTH 分泌能の抑制の結果, ACTH 分泌の予備能が低下していることが考えられる。第 2 に分泌された ACTH の多くは抗体と結合し, 生物学的活性のある unbound (free) ACTH は減少していると思われる。さらに抗 ACTH 抗体が下垂体の ACTH 産生細胞にも直接結合して細胞障害をおこし, ACTH 分泌能の回復を遅延させた可能性も否定出来ない。本症例では外因性 ACTH に対する血中 Cortisol の反応はほとんど認められなかったが, 血中 aldosterone の分泌

はほぼ正常に保たれていた。このことは外因性 ACTH の大量投与により増加した free ACTH が、正常の球状層を刺激するには十分だが、萎縮した束状層を刺激するにはまだ十分でないためと思われる。

本例に抗体が生じた原因は不明だが、(1-24) ACTH を Zinc phosphate と混合することにより、ACTH の分子構造の変化や、aggregation がおこり抗原性を獲得したためであろう⁹⁾。(1-24) ACTH・Z 中止後、抗体価は次第に低下しているので、副腎皮質機能はいずれ回復してくるものと思われる。

Fleischer らは副腎皮質ホルモン離脱時に、ACTH・Z を併用しても下垂体-副腎皮質系の機能の回復を早めることはないと報告している²⁾。また Cushing 症候群では ACTH の投与により副腎出血をおこすことも報告されており⁸⁾¹⁰⁾、ACTH・Z は従来いわれているように安易に使用すべきでないと思われる。

結 語

一側性副腎腺腫による Cushing 症候群で、腺腫剔除後、(1-24) ACTH・Z 治療により、抗 ACTH 抗体が出現し、副腎皮質機能の回復が遅延している一例を報告し、その抗体の臨床的意義について若干の考察を加えた。

本論文の要旨は第53回日本内分泌学会秋季大会(1980年10月31日)で発表した。

文 献

- 1) Charpin, J., Vague, Ph., Aubert, J., Vervloet, D., Anfosso-Capra, F. et Campo, C. DI.: Anticorps anti β 1-24 corticotrophine de synthese. Biomedicine, 21: 349-352, 1974.
- 2) Fleischer, N., Abe, K., Liddle, G.W., Orth, D.N. and Nicholson, W.E.: ACTH antibodies in patients receiving depot porcine ACTH to hasten recovery from pituitary-adrenal suppression. J. Clin. Invest., 46: 196-204, 1967.
- 3) Girard, J., Hirt, H.R., Bühler, U., Zachmann, M., Wick, H., Baumann, J.B. and Stabl, M.: Long term treatment with ACTH and allergenic properties of synthetic β 1-24 corticotrophin. Helv. Paed. Acta, 1: 46-55, 1971.
- 4) Glass, D., Nuki, G. and Daly, J.R.: Development of antibodies during long-term therapy with corticotrophin in rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis., 30: 593-596, 1971.
- 5) Jagannadha Rao, A., Long, J.A. and Ramachandran, J.: Effects of antiserum to adrenocorticotrophin on adrenal growth and function. Endocrinology, 102: 371-378, 1974.
- 6) Liddle, G.W.: The adrenals, 233-283, Ed. by Williams, R.H., Textbook of Endocrinology, Chapter 5, Saunders Company, 1974.
- 7) Marton, J., Meretey, K., Stark, E. and Schulster, D.: Preparation and assessment of antisera to ACTH. Mole. Cellu. Endocrinol., 8: 213-223, 1977.
- 8) Pratt, J.H., Sawin, C.T. and Melby, J.C.: Remission of Cushing's disease after administration of adrenocorticotrophin. Am. J. Med., 57: 949-952, 1974.
- 9) Ratcliffe, J.G., Pritchard, M. and El-Shaboury, A.H.: The production of antibodies to porcine corticotrophin and to synacthen. J. Endocrinol., 43: 1-11, 1969.
- 10) Redman, J.F. and Faas, F.H.: Acute unilateral adrenal hemorrhage following ACTH administration in a patient with Cushing's syndrome. Am. J. Med., 61: 533-536, 1976.

(受付日: 56. 9. 2)