

4. 大村昌夫、西川哲男、吉田尚 1999
副腎皮質刺激ホルモン(ACTH) 臨床検査ガイド 1999~2000, p373-385
5. 大村昌夫、西川哲男 1999 病気のはなし-クッシング症候群
検査と臨床 26: 422-433
6. 西川哲男、大村昌夫 1999 病態にみる内分泌疾患の治療-性腺機能低下症
医学と薬学 41:591-602
7. 西川哲男 他 1999 内分泌疾患を見逃さないために
Medicina 36:1691-1703
8. 大村昌夫、飯塚 孝、西川哲男 1999
原発性アルドステロン症
Medicina 36: 1656-58
9. 大村昌夫、加々見新一郎、関 直人、飯塚 孝、西川哲男、笹野公伸 1999
発症経過を観察し得た微小副腎腺腫による原発性アルドステロン症の1例
日本内科学会雑誌 88:166-167
10. Sanae Midorikawa,
Shigeatsu Hashimoto,
Minoru Kuriki, Ken Katoh, Tsuyoshi Watanabe, Hironobu Sasano,
Tetsuo Nishikawa:
A patient with preclinical Cushing's Cushing's syndrome and excessive DHEA-S Secretion having unilateral adrenal carcinoma and cintralateral adenoma.
Endocr. J. 46:59-66, 1999.
2. 学会発表
 1. 大村昌夫、飯塚 孝、笹野公伸、西川哲男. 原発性アルドステロン症 (APA)の ACTH 分泌動態に関する検討 -APA 診断への CRH 試験応用の試み-
第 96 回日本内科学会講演会, 1999 年 3 月 30 日・4 月 1 日東京東京国際フォーラム
 2. 大村昌夫、飯塚 孝、西川哲男. 原発性アルドステロン症の病型分類と臨床像の比較検討 第 72 回日本内分泌学会学術総会, 1999 年 5 月 31 日-6 月 2 日, 横浜市パシフィコ横浜
 3. 西川哲男. 原発性アルドステロン症と類縁疾患-原 发性アルドステロン症の病態-特殊病型および類縁疾患を中心に 第 72 回日本内分泌学会学術総会 1999 年 5 月 31 日-6 月 2 日, 横浜市パシフィコ横浜
 4. Nishikawa, T., Suematsu S, Omura M. Role of lipoprotein lipase in regulation of adrenal steroidogenesis. Internal symposium on molecular steroidogenesis Nara, Japan 1999 8/25-8/28
 5. Tetsuo Nishikawa, Masao Omura, Hironobu Sasano. A new type of primary aldosteronism induced by unilateral multiple adrenocortical nodules. Primary aldosteronism and adrenal incidentaloma. 21st-24th September, 1999 Couran Cove Resort, South Stradbroke Island Queensland, Australia

6. 末松佐知子, 大村昌夫, 西川哲男.
リポ蛋白リパーゼによるステロイド産生調節. 第7回ステロイドホルモン学会
1999年11月27日
7. 西川哲男 他 1999 カニクイザルを用いた反復投与試験における副腎機能の検討
第26回日本トキシコロジー
学会学術年会 1999年7月21日-23日
札幌市 ロイトン札幌
8. 大村昌夫, 飯塚 孝, 西川哲男 1999
新たな2次性高血圧症のスクリーニング法の検討.
第47回日本災害医学会
1999年10月6-7日広島広島国際会議場
9. 佐藤 徹, 倉岡 隆, 大村昌夫,
飯塚 孝, 西川哲男 1999
褐色細胞腫とプレクッシング症候群を合併した1例
第470回日本内科学会関東地方会
1999年2月13日東京虎ノ門発明会館
10. 佐藤 徹, 大村昌夫, 阿部泰伸, 金森由美子, 桜井健一, 石塚俊治, 西川哲男, 飯塚 孝, 山口邦雄, 高木平 1999
副腎偶発腫瘍により発見された18-OH-DOC産生腫瘍の1例.
第474回日本内科学会関東地方会
1999年7月17日東京日本都市センター

図1 Aldosterone contents in affected adrenal venous effluent
30min after ACTH administration

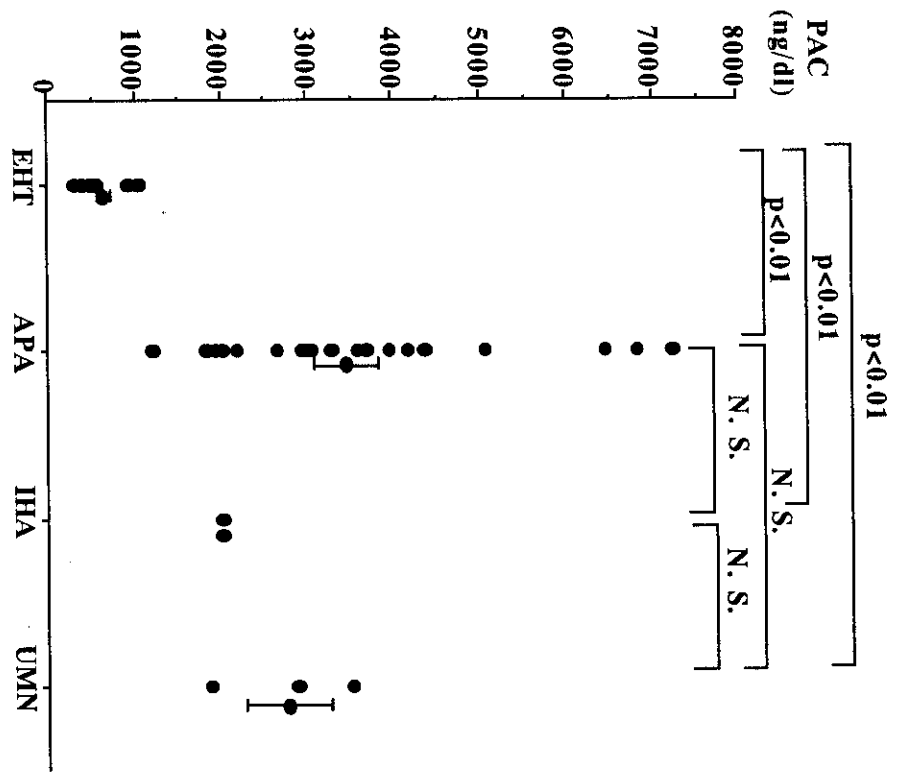


表1 画像検査成績

Patient	Age	Sex	CT	Final diagnosis (mm)	¹³¹ I-adosterol scintigram
APA- 1	47	F	normal	Rt-APA(1)	normal
APA -2	49	F	normal	Rt-APA(1)	normal
APA- 3	52	M	normal	Rt-APA(1)	normal
APA- 4	68	F	normal	Rt-APA(2)	normal
○ APA- 5	48	F	Rt-tumor	Lt-APA(2)	Right
○ APA- 6	65	F	Lt-tumor	Rt-APA(2)	
APA- 7	54	M	normal	Rt-APA(3)	normal
APA- 8	43	M	normal	Rt-APA(3)	normal
APA- 9	56	M	normal	Rt-APA(4)	
APA-10	59	M	normal	Rt-APA(4)	normal
APA-11	47	F	normal	Rt-APA(5)	
APA-12	46	F	normal	Lt-APA(6)	normal
APA-13	49	F	Rt-tumor	Rt-APA(7)	
APA-14	72	F	Lt-tumor	Lt-APA(8)	normal
○ APA-15	61	F	Lt-tumor	Rt-APA(8)	normal
APA-16	37	M	Rt-tumor	Rt-APA(10)	
APA-17	44	F	Rt-tumor	Rt-APA(10)	normal
APA-18	62	F	Lt-tumor	Lt-APA(10)	
APA-19	49	M	Rt-tumor	Rt-APA(10)	Right
APA-20	50	M	Rt-tumor	Rt-APA(14)	normal
APA-21	53	M	Lt-tumor	Lt-APA(15)	
APA-22	45	F	Blt-tumor	Lt-APA(20)	Left
APA-23	48	F	Lt-tumor	Lt-APA(23)	Left
APA-24	48	F	Lt-tumor	Lt-APA(30)	Left
IHA- 1	38	M	normal	IHA	
IHA- 2	37	F	Lt-tumor	IHA	Left
UMN- 1	60	F	normal	Rt-UMN	normal
UMN- 2	45	F	normal	Lt-UMN	normal
UMN- 3	50	F	normal	Rt-UMN	normal
正診率			34%(10/29)		23%(5/21)

原発性アルドステロン症に対する外科的治療

三宅 修、吉村一宏、辻畑正雄、垣本健一、奥山明彦
大阪大学大学院医学系研究科臓器制御外科学講座（泌尿器科）

研究要旨

原発性アルドステロン症の多くが副腎腺腫によるものであり、我々も 1990 年以降 44 例の腺腫症例を経験し、外科的治療を行っているが、その成績について検討した。10 例に開腹手術 (supracostal flank incision) が、34 例に腹腔鏡手術が行われた。両者を比較すると、手術時間のみ開腹手術が優っていたが、患者回復の parameter に関しては腹腔鏡手術がいずれも開腹手術より優れていた。副腎腺腫による原発性アルドステロン症に対しては腹腔鏡手術の最も良い適応であると考ええる。

A. 研究目的

原発性アルドステロン症の多くが副腎腺腫によるものであり、我々も 1990 年以降 44 例の腺腫症例を経験し、外科的治療を行っているが、その成績について検討した。10 例に開腹手術 (supracostal flank incision) が、34 例に腹腔鏡手術が行われた。両者を比較すると、手術時間のみ開腹手術が優っていたが、患者回復の parameter に関しては腹腔鏡手術がいずれも開腹手術より優れていた。副腎腺腫による原発性アルドステロン症に対しては腹腔鏡手術の最も良い適応であると考ええる。

B. 研究方法

1992 年 9 月から 1999 年末までに 52 例の副腎良性腫瘍に対し腹腔鏡下手術を行っている。この内の原発性アルドステロン症症例 34 例と 1990 年から 1999 年末までに何らかの理由で開腹手術を施行した本症の 10 例、計 44 例を対象とした。腹腔鏡下手術については当初は右症例には経腹膜的前方、左症例には経腹膜の側方到達法を用い

たが、1995 年からは経後腹膜の側方到達法もとりいれている。

腹腔鏡下手術を到達方法により分類し、どの到達方法が最も有用かを検討した。また腹腔鏡下手術の初期症例と後期症例で治療成績、合併症などに差が見られるかを検討した。さらに腹腔鏡下手術と開腹手術の治療成績を比較する。

(倫理面への配慮)

すべての手術を行う前に患者に対しては十分なインフォームドコンセントを行って患者の同意を得た。

C. 研究結果

対象症例の患者背景は表 1 のとおりであり、開腹手術と、腹腔鏡下手術のグループ間で年齢、左右差、腫瘍径に有意差は見られなかった。

腹腔鏡下手術を到達方法により分類し、その手術時間を比較したところ右側では経腹膜の前方到達法が、左側では経後腹膜の側方到達法が有意に短かった (表 2)。腹腔鏡下手術の中で初期症例と後期症例を比較

すると手術時間が 364 分から 201 分に短縮されたのを始め、出血量、術後歩行可能となるまでの期間で有意な改善が見られた(表 3)。

開腹手術と、最近の腹腔鏡下手術 10 例とを比較したところ手術時間のみ開腹手術が約 1 時間短かったが、他のパラメーター、すなわち術中出血量、術後鎮痛剤の使用回数、経口摂取、歩行、退院までの期間では明らかに腹腔鏡下手術が優っていた(表 3)。また術中術後合併症も開腹手術で 2 例に輸血を要したが、最近の腹腔鏡下手術 10 例では全くなく、輸血症例もなかった。

D. 考察

Primary aldosteronism の病因は本邦では副腎腺腫が 82 から 92% を占め、癌、過形成の頻度は非常に少ない。実際我々の施設においても 1990 年以降の 44 例中全例が腺腫であった。過形成に対しては、副腎垂全摘術など外科的治療の有効性は低く、現在は spironolacton などを用いた薬物療法による対症療法が一般的である。一方副腎腺腫が原因の本症は腺腫の摘出により低カリウム血症、内分泌学的異常は速やかに改善されるため外科治療の最も良い適応となる。

開腹手術での副腎への到達方法は経腹的、経後腹膜的、経胸経腹的に大きく分けられるが、本症で選択されるのはおもに背面切開または腰部斜切開による経後腹膜的到達法である。我々の施設ではほぼ全例腰部斜切開による経後腹膜的到達法をもちいているが、欧米報告では経後腹膜的到達法における術中合併症は気胸が 8~14%、下大静脈損傷が 2~3% といわれている。高羽らが

我々の施設における 1960 年から 1985 年にこの approach を用いた 32 例について報告しているが、術中合併症としては、下大静脈を含めた他臓器損傷は 0 であり、気胸症例は 15 例でみられたが、いずれも術中の胸膜縫合のみで消失した。また術後の atelectasis, pneumonia, pleural effusion などの pulmonary complications も皆無であった。今回の検討症例 10 例では術中出血による輸血症例が 2 例あっただけで他に一切の術中、術後合併症は認められなかった。腹腔鏡下副腎切除術は本邦では 1992 年 1 月から経腹膜的到達法を用いて行われ、1993 年に Gaur らが後腹膜腔にバルーンを挿入し一気に後腹膜を剥離する方法を報告して以来、経後腹膜的到達法が本術式においても普及した。経腹膜的到達法では右側では肝臓、上行結腸ともに中央に脱転する方法もあるが、肝下面、横行結腸上方の後腹膜を切開し直接右副腎に到達できる。一方左側では脾臓、下行結腸の外側の後腹膜を大きく切開してこれらを内方におこしてくる必要があるため、経後腹膜的に到達する方が時間短縮効果が大きいと思われる。経後腹膜的到達法では操作スペースが小さい、オリエンテーションが困難、両側疾患に対応不可などの欠点はあるが、腹腔内臓器損傷の危険が少ない、過去の腹部手術の影響を受けない、時間短縮などの大きな利点がありわれわれも最近では左側症例にはもっぱら経後腹膜的到達法を用いている。腹腔鏡下手術はモニターを見ながら体外で鉗子を操作するという特殊な技能を要するため開腹手術に精通した術者でさえやはり熟練が必要である。実際前期症例に比べ後期症例では約 2.5 時間も手術時間が短縮さ

れ、出血量は 1/5 に減少している。

E. 結論

原発性アルドステロン症をきたす副腎腺腫の大きさは副腎腫瘍の中でも比較的小さく、ある程度腹腔鏡下手術の経験がなければ、腫瘍の発見に時間を要する。しかし症例経験をつめば開腹手術に匹敵する 3 時間程度で行いうる手術であり、患者の術後回復の早さを考えると本症は腹腔鏡下手術の最も良い適応であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

O. Miyake, K. Yoshimura, T. Yoshioka,
M. Honda, Y. Kokado, T. Miki,

A. Okuyama

Laparoscopic adrenalectomy :
Comparison of the transperitoneal and
retroperitoneal approach.

European Urology, 1998, 33, 303-307

O. Miyake, K. Yoshimura, T. Yoshioka,
M. Honda, K. Matsumiya, Y. Kokado,
T. Miki, A. Okuyama

Operating time and complications in
laparoscopic adrenalectomy.

Japanese Journal of Endourology and
ESWL, 1998, 11, 31-34

K. Yoshimura, T. Yoshioka, O. Miyake,
K. Matsumiya, T. Miki, A. Okuyama

Comparison of clinical outcomes of
laparoscopic and conventional open
adrenalectomy. J Endourol, 1998, 12,
555-559

2. 学会発表

三宅 修、吉村一宏、本多正人、吉岡俊
昭、奥山明彦。腹腔鏡下副腎摘出術にお
ける手術時間と合併症について。第 10 回
日本 Endourology・ESWL 学会総会
12.13~14 東京、1996

O.Miyake, K.Yoshimura, K.Matsumiya,
M.Honda, T.Yoshioka, T.Koide,

A. Okuyama.

Laparoscopic adrenalectomy :

Transperitoneal versus retroperitoneal
approach. SIU 24th Congress,

September 11, Montreal, Canada, 1997

K. Yoshimura, O. Miyake,

K. Matsumiya, T. Yoshioka,

S.Takahara, A. Okuyama.

Comparison of clinical outcomes
between laparoscopic and conventional
open adrenalectomy. Ninth Annual

International Meeting of Society
for Minimally Invasive Therapy, July
15, 1997

表1. 患者背景

		開腹	腹腔鏡
年齢		46.4	44.3
患側	右 (例)	4	15
	左 (例)	6	19
性	男性 (例)	8	18
	女性 (例)	2	16
腫瘍径	(cm)	2.0	1.7
到達法			
腹腔鏡	経腹膜的 (例)	-	17
	経後腹膜的 (例)	-	17
開腹	(例)	10	-

表2. 腹腔鏡下手術における到達方法と手術時間

到達法		患側	症例数	手術時間 (分)
経腹膜的	前方	右	10	262
	側方	左	7	518
経後腹膜的	側方	右	5	347
	側方	左	12	229

表3. 各術式による手術成績

	腹腔鏡		p value (vs. 開腹)	開腹
	1992~97 N=24	1998~99 N=10		
年齢	43.5	46.0	NS	46.4
腫瘍サイズ (cm)	1.8	1.7	NS	2
患側	右11, 左13	右4, 左6		右4, 左6
到達法	TP 12, RP 12	TP 5, RP 5		腰部斜切開
手術時間 (分)	364	201	0.0040	133
出血量 (ml)	388	77	0.0021	299
鎮痛剤使用回数 (回)	2.7	1.1	0.0339	2.7
歩行までの期間 (日)	2.2	1.3	<0.0001	4
経口摂取までの期間 (日)	1.5	1.5	0.0011	2.3
退院までの期間 (日)	10.9	9.1	0.0022	13.3

TP: 経腹膜的

RP: 経後腹膜的

DOCA 食塩高血圧における LOX-1 発現調節

高橋克敏、安東克之、藤田敏郎

東京大学大学院医学系研究科内科

研究要旨

副腎性高血圧のうちミネラルコルチコイド作用過剰による高血圧は、食塩感受性高血圧を呈し一般に予後が悪く考えられる。高血圧による臓器障害進展過程においては内皮型新規酸化 LDL 受容体 LOX-1(Lectin-like Oxidatively modified low-density lipoprotein receptor)の関与が示唆されている。そこで副腎性高血圧のうち、特にミネラルコルチコイド関連高血圧の臓器障害の病態解明を目的に、DOCA(deoxycorticosterone acetate)食塩高血圧ラットにおいて組織 LOX-1 遺伝子発現を *in vivo* パラメーターと共に検討した。DOCA 食塩負荷 4 週間後にラット収縮期血圧は 227.2 ± 9.1 mmHg に上昇し対照群と比較して著明な高値となった。DOCA 食塩群では心重量及び腎重量が増加し、腎機能障害の指標が発現し、さらにこれらと平行して LOX-1 遺伝子発現は大動脈及び腎臓において対照群の 4.6 倍、10.4 倍に増強した。DOCA 食塩高血圧ラットの臓器障害の進展過程には LOX-1 が関与する可能性があると考えられる。また今回の結果より、レニン・アンジオテンシンが共に抑制されるミネラルコルチコイド関連高血圧においても LOX-1 の組織発現が亢進することが明らかになった。

A. 研究目的

副腎性高血圧のうちミネラルコルチコイド作用過剰にもとづく高血圧には、代表的な原発性アルドステロン症と共に、deoxycorticosterone (DOC)等の過剰による 11β -hydroxylase 欠損症や 17α -hydroxylase 欠損症など数多くの疾患があるが、これらはいずれも食塩感受性高血圧となることが考えられる。我々は 17α -hydroxylase 欠損症患者に食塩負荷試験を行い、これらが実際に食塩感受性高血圧を呈し、さらに dexamethasone による治療後には食塩感受性が消失することを報告している(1)。近年、本態性高血圧症では食塩感受性を呈する患者群の予後がより悪く、原発性アルドステロン症でも脳出血や心肥大

が起きやすいことが報告されている。従って、食塩感受性を呈するミネラルコルチコイド関連高血圧の臓器障害の機序解明は臨床的に重要な課題である。

さて、高血圧による動脈硬化等の臓器障害進展過程には種々の要因の関与の可能性はあるが、我々を含めた複数の研究者が内皮型新規酸化 LDL 受容体 LOX-1 の関与を想定している(2,3)。そこでミネラルコルチコイド関連高血圧の臓器障害の病態解明を目的に、DOCA(deoxycorticosterone acetate)食塩高血圧ラットにおいて組織 LOX-1 遺伝子発現を臓器障害の指標と共に検討した。

B. 研究方法

DOCA 食塩高血圧ラットは、雄性 7 週齢 Sprague Dawley ラットの片腎摘出後、DOCA(100mg/kg)を週 1 回合計 4 回皮下投与し、食塩は 8%NaCl 負荷食により投与した。対照群は片腎摘出後に通常食を投与した。4 週後、metabolic cage で尿検体を採取し tail cuff 法で血圧を測定後、組織及び血液検体を採取した。LOX-1 遺伝子の組織発現は、ラット肺 total RNA より RT-PCR 法で増幅した LOX-1 の lectin-like domain cDNA 断片を probe として、AGPC 法で各組織より抽出した 20 μ g の total RNA をノザン解析により検討した。なお、DOCA 食塩ラット作製および組織採取時には麻酔下で操作を行った。

C. 研究結果

(1)DOCA 食塩ラットの血圧:

4 週間の DOCA 食塩負荷によりラット尾動脈収縮期血圧は 227.2 ± 9.1 mmHg に上昇し、対照群(146 ± 2.4 mmHg)より有意に高値となった。

(2)DOCA 食塩ラットの臓器障害:

DOCA 食塩負荷により、心重量と腎重量は 1.09 ± 0.09 g から 1.23 ± 0.05 g に、 1.59 ± 0.09 g から 4.44 ± 0.1 g に各々増加した。腎機能の指標に関しては、対照群と DOCA 食塩群において、尿蛋白は 25.5 ± 4.1 及び 396.6 ± 49.1 mg/day、尿中アルブミンは測定感度以下及び 41.5 ± 0.6 mg/day と DOCA 食塩群で有意に増加した。また、血中 Cr 値及び BUN 値は、 0.41 ± 0.01 と 0.83 ± 0.05 mg/dl、 16 ± 0.69 と 73.7 ± 9.9 mg/dl と DOCA 食塩群でやはり高値であった。

(3)DOCA 食塩ラットの LOX-1 組織発現:

大動脈及び腎臓において LOX-1 遺伝子発

現は、DOCA 食塩群では対照群の 4.6 倍、10.4 倍に各々増強していた(図 1)。

D. 考察

今回の検討により、DOCA 食塩高血圧ラットでは、4 週間の DOCA 食塩負荷後、著明な高血圧、心肥大、腎機能障害と共に大動脈及び腎臓において LOX-1 遺伝子発現が増強することが明らかになった。

我々はこれまでに、SHR-SP ラット、Dahl 食塩感受性ラット、アンジオテンシン II 食塩ラットなどの高血圧モデルにおいて血圧上昇と共に組織 LOX-1 遺伝子発現が増強し、さらに培養ウシ大動脈内皮細胞において炎症性刺激(TNF α , LPS)や機械的刺激(ずり応力、伸展刺激)、また酸化 LDL やその成分の Lyso-PC により LOX-1 発現が増強することを報告している(4)。一方、副腎由来ステロイドホルモンの効果についてはこれまで明かではなかったが、強力なミネラルコルチコイド作用を有する DOCA 投与により in vivo で組織 LOX-1 発現が増強することを今回初めて明かにした。この DOCA 食塩高血圧ラットの血管変化として、内皮依存性血管拡張反応の低下や、大動脈壁の LDL 蓄積増加が報告されており、酸化 LDL 暴露が摘出大動脈の内皮依存性血管拡張を低下させ、LOX-1 が酸化 LDL 取り込みを担いいることは、これらの血管変化が血管内皮に高発現した LOX-1 を介するという可能性と矛盾しないものである。

今回の検討では、DOCA が食塩負荷と共に高血圧を惹起していることから、DOCA 投与が高血圧を介した間接作用により LOX-1 発現を増強させた可能性はある。従って、DOCA の直接作用については培養内

皮細胞系での検討や、食塩負荷のない DOCA のみで高血圧を呈さない *in vivo* モデルでの検討が必要である。また DOCA 食塩負荷 4 週間後には組織障害がすでに発現しており、LOX-1 の組織障害発症・進展過程への関与については DOCA 食塩負荷後の比較的早期における LOX-1 発現の検討が望まれる。

レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系と LOX-1 との関係については、アンジオテンシン II が培養ヒト冠状動脈内皮細胞において LOX-1 発現を直接刺激することが最近報告されている。今回我々の用いた DOCA 食塩高血圧ラットではレニン・アンジオテンシン II は体液貯留により抑制されることから、今回の結果は内因性アンジオテンシン II の抑制下にあるミネラルコルチコイド関連高血圧においても LOX-1 の組織発現が増強しうることを示唆するものである。また、副腎由来ステロイドホルモンと臓器障害という観点からは、DHEA が動脈硬化発症を抑制しうるとの報告がなされており、LOX-1 発現に対する DHEA の効果についても興味を持たれる。今後は今回明かにした DOCA 食塩高血圧ラットにおける LOX-1 遺伝子発現増強の機序及びその意義の解明と、さらに培養細胞系における各種ステロイドホルモンの LOX-1 発現

に及ぼす直接作用の検討が期待される。

E. 参考文献

1. Nagase M et al., *Am J Hypertens* 1994; 7, 1005-1011
2. Sawamura T, et al., *Nature* 1997; 386, 73-76
3. Kita T, *Circ Res* 1999; 84, 1113-1115
4. Nagase M et al., *J Biol Chem* 1998; 273, 33702-33707

F. 結論

食塩感受性高血圧を呈するミネラルコルチコイド関連高血圧の臓器障害の病態解明を目的に、DOCA 食塩高血圧ラットにおいて、収縮期血圧上昇、心重量及び腎重量の増大、腎機能障害発現と平行して LOX-1 遺伝子組織発現が大動脈及び腎臓において増強することを明かにした。DOCA 食塩高血圧ラットの臓器障害の進展過程には LOX-1 が関与する可能性があると考えられる。

図 1、DOCA 食塩高血圧ラットの LOX-1 遺伝子組織発現:

大動脈及び腎臓において LOX-1 mRNA 発現は、DOCA 食塩群では対照群の 4.6 倍、10.4 倍に各々増強していた。D: DOCA 食塩高血圧ラット, C: 対照ラット

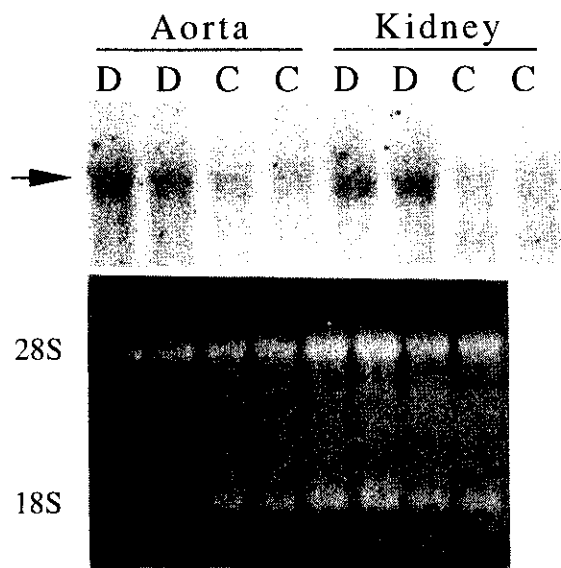


图 1

(3) 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase

尿中遊離コーチゾール/遊離コーチゾン比からみた腎 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase タイプ 2 活性

安田圭吾¹、磯村幸範¹、森田浩之²、宗 友厚¹、棚橋哲也¹、大洞尚司¹
岐阜大学第三内科¹、岐阜大学総合診療部²

研究要旨

Enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA) 法による簡便な尿中遊離 E, F の測定法を開発した。そして腎 HSD 2 活性の指標として、尿中遊離コーチゾール/遊離コーチゾン比 (以下 尿中 E/F 比) が適切かどうか、また健常者における尿中 E/F について検討した。3 4 ~ 5 7 歳、平均年齢 4 8 . 2 歳の健常男性 1 8 7 名を対象とし、2 4 時間尿中 F 及び E を ELISA 法でそれぞれ測定、尿中 E/F 比を算定し、種々の因子との関係を解析した。解析の結果、2 4 時間尿中 E/F 比が臨床的な腎 1 1 β -HSD 2 活性の指標として有用であることが判明した。尿中 E/F 比は尿中 Na 及び K 濃度などと強く相関した。また尿中 Ald 排泄量は尿中 K 濃度、尿中 Na/K 比、FENa などと強く相関した。さらに多変量解析の結果から、腎 1 1 β -HSD 2 は、少なくとも生理的範囲内では、アルドステロンとは独立した重要な MC 作用の調節因子であると考えられた。

A. 研究目的

腎 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β HSD) は、ステロイド骨格の 11 位の炭素に水酸基が β 方向に結合しているステロイド (11 β -水酸化ステロイド) を基質として、11 位の水酸基をケト基に変換する酵素である。この酵素の基質となる 11 β -水酸化ステロイドは、ヒトではグルココルチコイドであるコーチゾール (F) である。11 β -水酸化構造をもたないアルドステロンやデキサメサゾン、この酵素の基質とはならない。この酵素には現在まで 2 つのアイソザイムが知られているが、肝型あるいはタイプ 1 11 β HSD (HSD1) は、生体内では主に reductase として働くことから、グルココルチコイド作用の調節・増幅機構と捉えられつつある。一方、腎型あるいはタイプ 2 11 β HSD (HSD2) は、主にミネラルコルチコイド (MC) 標的臓器に存

在し、生理的には dehydrogenase 活性のみを有することから、MC 受容体 (MR) にアルドステロンと同等の親和性を持つ F から MR を防御する機構と捉えられている¹⁾。

HSD2 の先天性の欠損である AME やグリチルリチン投与による活性低下である偽性アルドステロン症では、高血圧症や低カリウム血症など MC 作用の亢進がみられる。しかし、本態性高血圧患者などでの HSD2 がどの程度血圧や MC 作用を調節しているかは明らかでない。そこで臨床的に正確な腎 HSD2 活性の測定が重要となるが、従来はその指標として tetrahydrocortisone (THE) や tetrahydrocortisol (THF) などの代謝産物比 (THF/allo THF/THE 比) が使用されてきた。しかしそれらの測定は極めて煩雑であり、臨床応用が困難であった。最近、尿中遊離コーチゾン (E) と遊離コーチゾール (F) 比の方が

THF+alloTHF/THE 比に比べ、より正確に腎 HSD2 活性を反映していることが報告された²⁾⁻⁴⁾。我々は、Enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA) 法による簡便な尿中遊離 E, F の測定法を開発した。そして腎 HSD2 活性の指標として、尿中遊離コーチゾール/遊離コーチゾン比(以下 尿中 E/F 比)が適切かどうか、また健常者における尿中 E/F 比について検討した。

B. 研究方法

34~57 歳、平均年齢 48.2 歳の健常男性 187 名を対象とした。対象者全員に、口頭で研究の趣旨を説明し、同意を得た。方法は、24 時間尿 100 μ l をジクロールメタンで抽出後 10 倍に希釈し、F 及び E を ELISA 法でそれぞれ測定し、尿中 E/F 比を算定した。アルドステロンを RIA 法で、また血中及び尿中電解質を同時に測定した。ELISA 法による尿中 E/F 測定法の詳細は、昨年度の本班会議報告書に記載した。

C. 研究結果

- 1) 尿中 E/F 比が、腎 11β -HSD2 の活性を反映しているかどうかを検討するために、Fig. 1 のように、Lineweaver-Burk plot を行くと、 $1/E$ 、 $1/F$ は直線関係となり、 K_m 160nM、 V_{max} は 125 μ g/day であった。
- 2) 尿中 E/F 比の mean \pm SD は 1.28 \pm 0.46 であった。
- 3) 加齢に伴う尿中 E/F 比、及び尿中 Ald 排泄量の変化について検討したが、有意な相関は認められなかった。
- 4) 収縮期血圧及び拡張期血圧と尿中 E/F 比及び尿中アルドステロン排泄量(u-Ald)との相関について検討したが、いずれにおいても有意な相関は認められなかった。
- 5) 尿中 Na 濃度と尿中 E/F 比及び u-Ald との

相関について検討した。尿中 Na 濃度と尿中 E/F 比は、強い負の相関を認めた($r=-0.455$)。一方尿中 Na 濃度と u-Ald には、有意な相関は認められなかった($r=0.028$) (表 1)。

6) 一日尿中 Na 排泄量は、尿中 E/F 比($r=-0.032$)よりも u-Ald($r=-0.229$)と強く相関した(表 1)。

7) 尿中 K 濃度と尿中 E/F 比及び u-Ald の間には、Fig. 2 左のように、尿中 E/F 比と尿中 K 濃度は強い負の相関を示した。すなわち尿中 E/F 比が低下し、MC 作用が増強すると、尿中 K 排泄が増加すると考えられる。一方 Fig. 2 右のように、尿中アルドステロン排泄量が増加すると、尿中 K 排泄が増加していた。

8) 一日尿中 K 排泄量でみると、尿中 E/F 比とは負相関し($r=-0.515$)、u-Ald とは相関しなかった($r=0.044$)。K については、尿中 K 排泄量よりも、尿中 K 濃度の方が強い相関を示した。

9) 尿中 E/F 比、u-Ald はともに尿中 K 濃度と強い相関を示したが、どちらの因子がより尿中 K 濃度に強い影響を与えているかを検討するため、偏回帰分析を行った。尿中アルドステロン排泄量の影響を除外した場合の尿中 E/F 比と尿中 K 濃度の偏相関係数は -0.515 で、強い相関を認めた($p=0.0001$)。逆に尿中 E/F 比の影響を除外した場合、尿中アルドステロン排泄量と尿中 K 濃度の偏相関係数は 0.237 であった($p=0.0012$)。血清 K 濃度に関しては、値の分布が狭く、有意な相関は認められなかった。

10) MC 作用が増強すると、尿中 Na 排泄が低下し、尿中 K 排泄増加するため、尿中 Na/K 比は低下する。即ち尿中 Na/K 比の増加は、MC 作用の減少を示すと考えられる。尿中 Na/K 比と E/F 比は、 $r=0.209$ と正相関した。

尿中 Ald と Na/K 比は、 $r=0.315$ と強い相関を認めた(表 1)。

11) K クリアランスとの関係についても検討したが、尿中 E/F 比及び u-Ald とともに有意な相関は認められなかった(表 1)。

12) Na 排泄率(FENa)は、尿細管における Na 再吸収の指標と考えられる。FENa と尿中 E/F 比は正相関($r=0.195$)、u-Ald($r=-0.320$)とは負相関を認めた(表 1)。偏回帰分析を施行しても、尿中 E/F 比、u-Ald いずれも強い相関を示した。

D. 考察

尿中遊離 E と尿中遊離 F は Lineweaver-Burk plot で直線関係を呈し、基質である F と生成物である E が一つの酵素によって触媒されていることを示していると思われる。純粋な酵素反応による enzyme kinetics として検討したわけではなく、今回の成績の評価には注意を要するが、多数例での検討から臨床的に類推した F に対する K_m 値は 160nM であり、一般に報告されている腎 $11\beta\text{-HSD2}$ の K_m 値 $55\sim 150\text{nM}$ とほぼ一致する値であった。このことは尿中 E/F 比が、腎 $11\beta\text{-HSD2}$ 活性をかなりの程度反映しており、臨床的に有用な指標であると考えられた。今後、同一個体での、尿中 E/F 比と電解質等との関連、その変動や、 $11\beta\text{-HSD}$ 阻害時の変動などについても検討する必要があると思われる。

尿中 Na 濃度と尿中 E/F 比は負相関していたが、これは尿中 Na 濃度が濃くなるような状況下、例えば脱水状態や塩分過剰摂取時などでは、腎 $11\beta\text{-HSD2}$ 活性が低下し、MC 作用を増強、体液貯留の方向に作用していると考えられる。一方、u-Ald は尿中 Na 排泄量と負相関していることから、尿中 Na 排泄量が増加する病態では、尿中アルドステロン分泌が

減少していることが理解される。従来言われているように、アルドステロン分泌が低塩状態では刺激され、高塩状態では抑制されるといふ成績と一致すると思われる。

尿中 K 濃度は尿中 E/F 比、u-Ald の双方に強い相関関係を認めたが、それぞれの影響を除外した偏回帰分析の結果は、健常人尿中 K 濃度の調節に関して、尿中 E/F 比すなわち $11\beta\text{-HSD}$ 活性が強く影響していることが判明した。一方、尿細管における Na 再吸収に関しては、アルドステロン、 $11\beta\text{-HSD2}$ 活性の双方が同程度に関与している。今回の我々の成績は、健常人の腎における Na, K 代謝において、 $11\beta\text{-HSD2}$ とアルドステロンの両者が、各々独立して関与していることをはじめて明らかにした成績と考えられる。

E. 結論

ELISA 法による簡便な尿中 free F・E の測定法を確立し、24 時間尿中 E/F 比が臨床的な腎 $11\beta\text{-HSD2}$ 活性の指標として有用であることが判明した。腎 $11\beta\text{-HSD2}$ は、少なくとも生理的範囲内では、アルドステロンとは独立した重要な MC 作用の調節因子であると考えられた。

現在、MC やグルココルチコイドの過剰をきたすような病態や食塩感受性高血圧、低レニン性高血圧症、糖尿病に伴う高血圧症、などにおける腎 $11\beta\text{-HSD2}$ 活性の変化を検討中である。さらに一時尿による腎 $11\beta\text{-HSD2}$ 活性の評価が可能であるか否かを検討するために、尿中 E/F 比の日内変動についても検討中である。また最近、コルチコステロンと $11\text{-Dehydrocorticosterone}$ の ELISA 法による測定法も確立した。今後は齧歯類を用いた動物実験でも同様の検討を行っていく予定である。血中 E/F 比によ

る 11β -HSD1 活性の評価が可能であるか否かについても現在検討中である。

F. 参考文献

1. Funder JW, Pearce PT, Smith R, Smith AI. Mineralocorticoid action: target tissue specificity is enzyme, not receptor, mediated. *Science* 242:583-5, 1988.
2. Palermo M, Shackleton CH, Mantero F, Stewart PM. Urinary free cortisone and the assessment of 11β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in man. *Clin Endocrinol* 45:605-11, 1996.
3. Ruth Best and Brian Walker. Additional value of measurement of urinary cortisone and unconjugated cortisol metabolites in assessing the activity of 11β -hydroxysteroid dehydrogenase in vivo. *Clin Endocrinology* 47:231-236, 1997.
4. Yasuji Kasuya, Hiromi Shibasaki, Takashi Furuta. The use of deuterium-labeled cortisol for in vivo evaluation of renal 11β -HSD activity in man: urinary excretion of cortisol, cortisone and their A-ring reduced metabolites. *Steroid* 65:89-97, 2000.

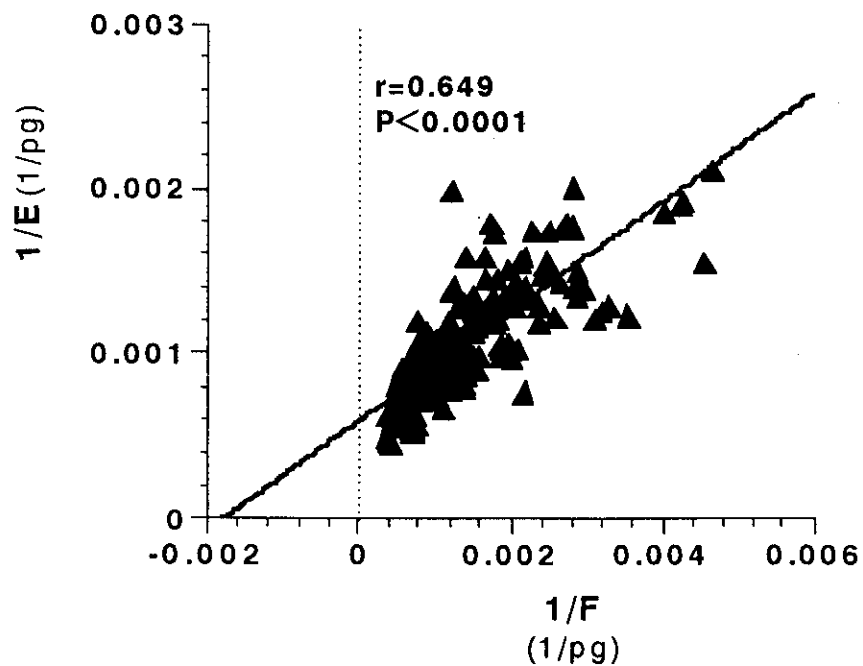
<表1>各種因子と E/F 比、尿中アルドステロン排泄量との相関

	E/F 比	尿中アルドステロン排泄量(μ g/day-Cre)
年齢	r=0.043	r=0.048
収縮期血圧(mmHg)	r=0.045	r=-0.018
拡張期血圧(mmHg)	r=0.020	r=0.004
尿中 Na 濃度(mEq/l)	r=-0.045***	r=0.028
尿中 Na 排泄量(mEq/day)	r=-0.032	r=-0.229**
尿中 K 濃度(mEq/l)	r=-0.517 ^{††}	r=-0.263 [†]
尿中 K 排泄量(mEq/day)	r=-0.158*	r=0.044
尿中 Na/K 比	r=0.209**	r=0.315 ^{††}
K クリアランス(l/day)	r=-0.139	r=0.052
FENa	r=0.195*	r=-0.320 ^{††}

*p<0.05, **p<0.005, ***p<0.001

[†]<0.0005, ^{††}<0.0001

<Fig.1 >Lineweaver-Burk plot of E and F



<Fig.2 >Correlation between urinary K concentration and urinary E/F ratio or aldosterone excretion

