

- coactivator through the N-terminal activation domain (AF-1) with an RNA coactivator, SRA. *EMBO J.*, 2001 (in press).
2. Li, M., Indra, A. K., Warot, X., Brocard, J., Messaddeq, N., Kato, S., Metzger, D., Chambon, P.: Skin abnormalities generated by temporally-controlled RXR mutations in adult mouse epidermis. *Nature*, 407, 633-636, 2000.
 3. Adachi, M., Takayanagi, R., Tomura, A., Imasaki, K., Kato, S., Goto, K., Yanase, T., Ikuyama, S., Nawata, H.: Androgen-insensitivity syndrome as a possible coactivator disease. *N. Engl. J. Med.*, 343, 856-862, 2000.
 4. Kodera, Y., Takeyama, K., Murayama, A., Suzawa, M., Masuhiro, Y., Kato, S.: Ligand-type specific interactions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma with transcriptional coactivators. *J. Biol. Chem.*, 275, 33201-33204, 2000.
 5. Suzuki, K., Yamanishi, K., Mori, O., Kamikawa, M., Andersen, B., Kato, S., Toyoda, T., Yamada, G.: Defective terminal differentiation and hypoplasia of the epidermis in mice lacking the Fgf 10 gene. *FEBS Lett.*, 481, 53-56, 2000.
 6. Ohuchi, H., Hori, Y., Yamasaki, M., Harada, H., Sekine, K., Kato, S., Itoh, N.: FGF10 acts as a major ligand for FGF receptor 2 IIIb in mouse multi-organ development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 277, 643-649, 2000.
 7. Yamamoto, A., Hashimoto, Y., Kohri, K., Ogata, E., Kato, S., Ikeda, K., Nakanishi, M.: Cyclin E as a coactivator of the androgen receptor. *J. Cell Biol.*, 150, 873-879, 2000.
 8. Arao, Y., Kuriyama, R., Kayama, F., Kato, S.: A nuclear matrix-associated factor, SAF-B, interacts with specific isoforms of AUF1/hnRNP D. *Arch. Biochem. Biophys.*, 380, 228-236, 2000.
 9. Kato, S., Masuhiro, Y., Watanabe, M., Kobayashi, Y., Takeyama, K., Endoh, H., Yanagisawa, J.: Molecular mechanism of a cross-talk between oestrogen and growth factor signalling pathways. *Genes to Cells*, 5, 593-601, 2000.
 10. Kato, S.: The function of vitamin D receptor in vitamin D action. *J. Biochem.*, 127, 717-722, 2000.
 11. Haraguchi, R., Suzuki, K., Murakami, R., Sakai, M., Kamikawa, M., Kengaku, M., Sekine, K., Kawano, H., Kato, S., Ueno, N., Yamada, G.: Molecular analysis of external genitalia formation: the role of *fibroblast growth factor (Fgf)* genes during genital tubercle formation. *Development*, 127, 2471-2479, 2000.
 12. Kobayashi, Y., Kitamoto, T., Masuhiro, Y., Watanabe, M., Kase, T., Metzger, D., Yanagisawa, J., Kato, S.: p300 Mediates functional synergism between AF-1 and AF-2 of estrogen receptor α and β by

- interacting directly with the N-terminal A/B domains. *J. Biol. Chem.*, 275, 15645-15651, 2000. *Clin. Endocrinol. Metab.*, 85, 1290-1295, 2000.
13. Fuse, H., Kitagawa, H., Kato, S.: Characterization of transactivational property and coactivator mediation of rat mineralocorticoid receptor AF-1. *Mol. Endocrinol.*, 14, 889-899, 2000.
14. Kinuta, K., Tanaka, H., Moriwake, T., Aya, K., Kato, S., Seino, Y.: Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology*, 141, 1317-1324, 2000.
15. Endre, B., Kato, S., DeLuca, H. F.: Metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in vitamin D receptor-ablated mice in vivo. *Biochemistry*, 39, 2123-2129, 2000.
16. Yanagi, Y., Masuhiro, Y., Mori, M., Yanagisawa, J., Kato, S.: p300/CBP Acts as a coactivator of the cone-rod homeobox transcription factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 269, 410-414, 2000.
17. Tai, H., Kubota, N., Kato, S.: Involvement of nuclear receptor coactivator SRC-1 in estrogen-dependent cell growth of MCF-7 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 267, 311-316, 2000.
18. Hasegawa, Y., Fujii, K., Yamada, M., Igarashi, U., Tachibana, K., Tanaka, T., Onigata, K., Nishi, Y., Kato, S., Hasegawa, T.: Identification of novel human *GH-1* gene polymorphisms that are associated with growth hormone secretion and height. *J.*

MRAF 1 存在領域の同定

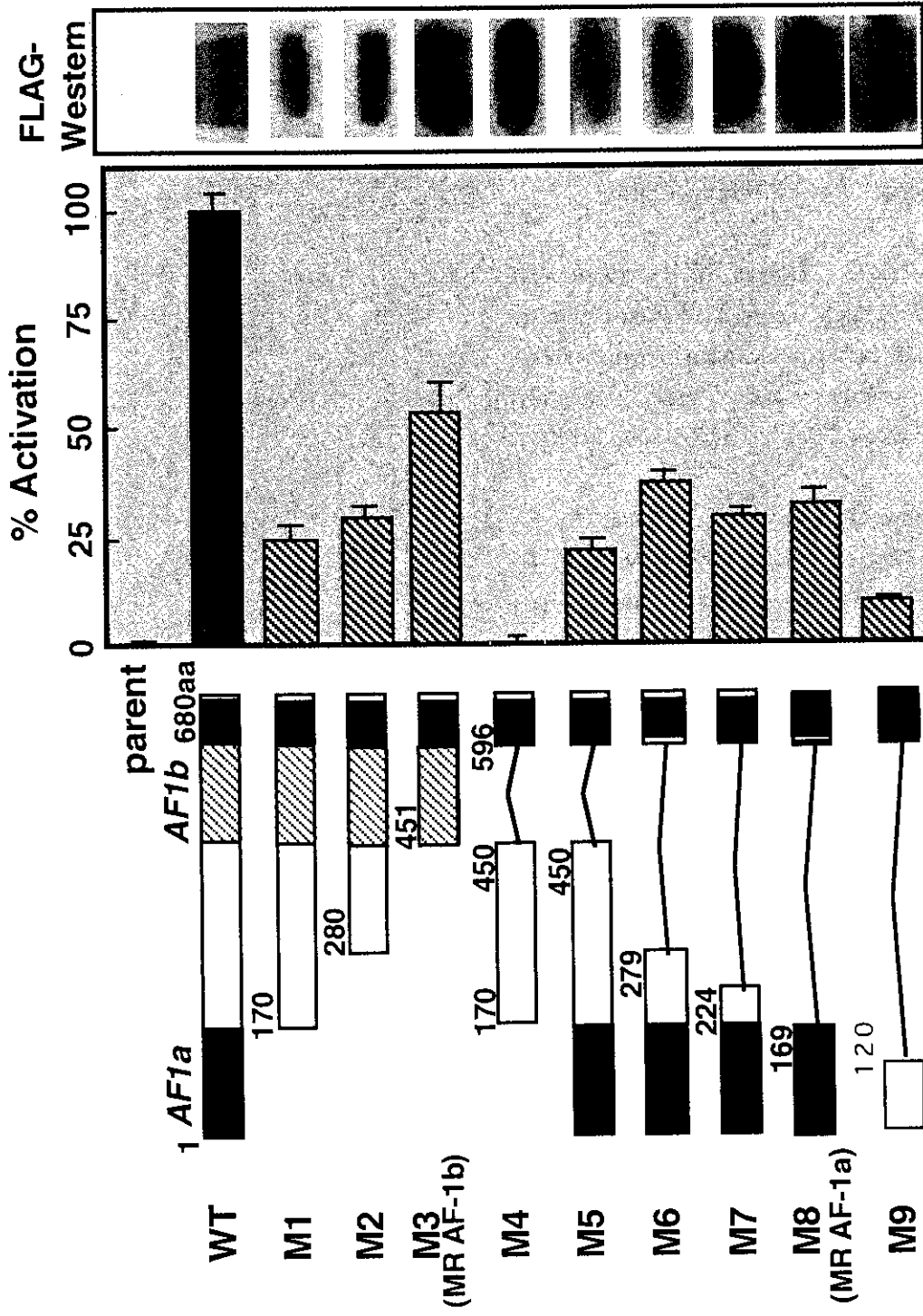


Fig. 1

MRAF1 新規転写共役因子複合体の精製

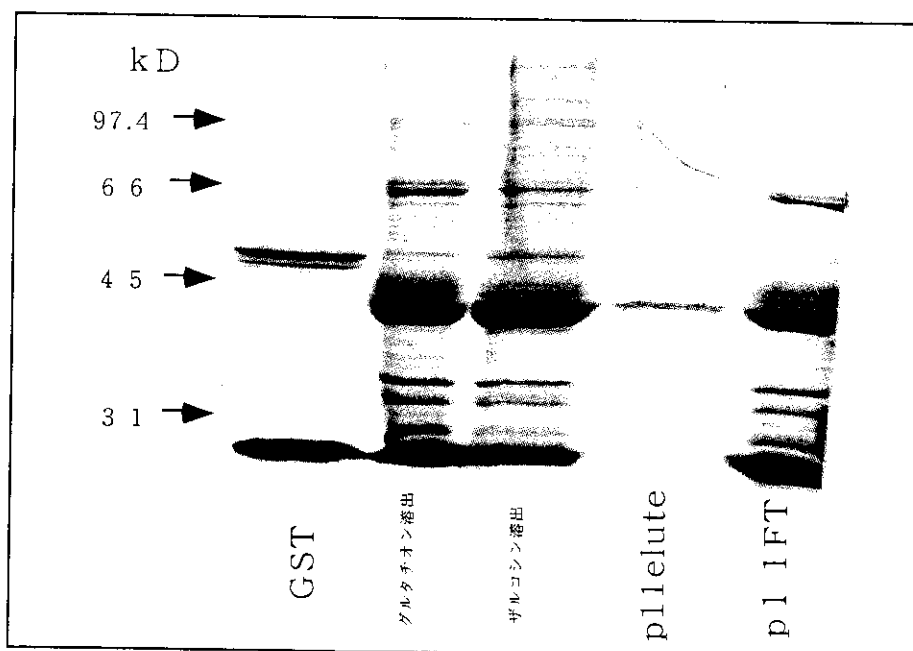
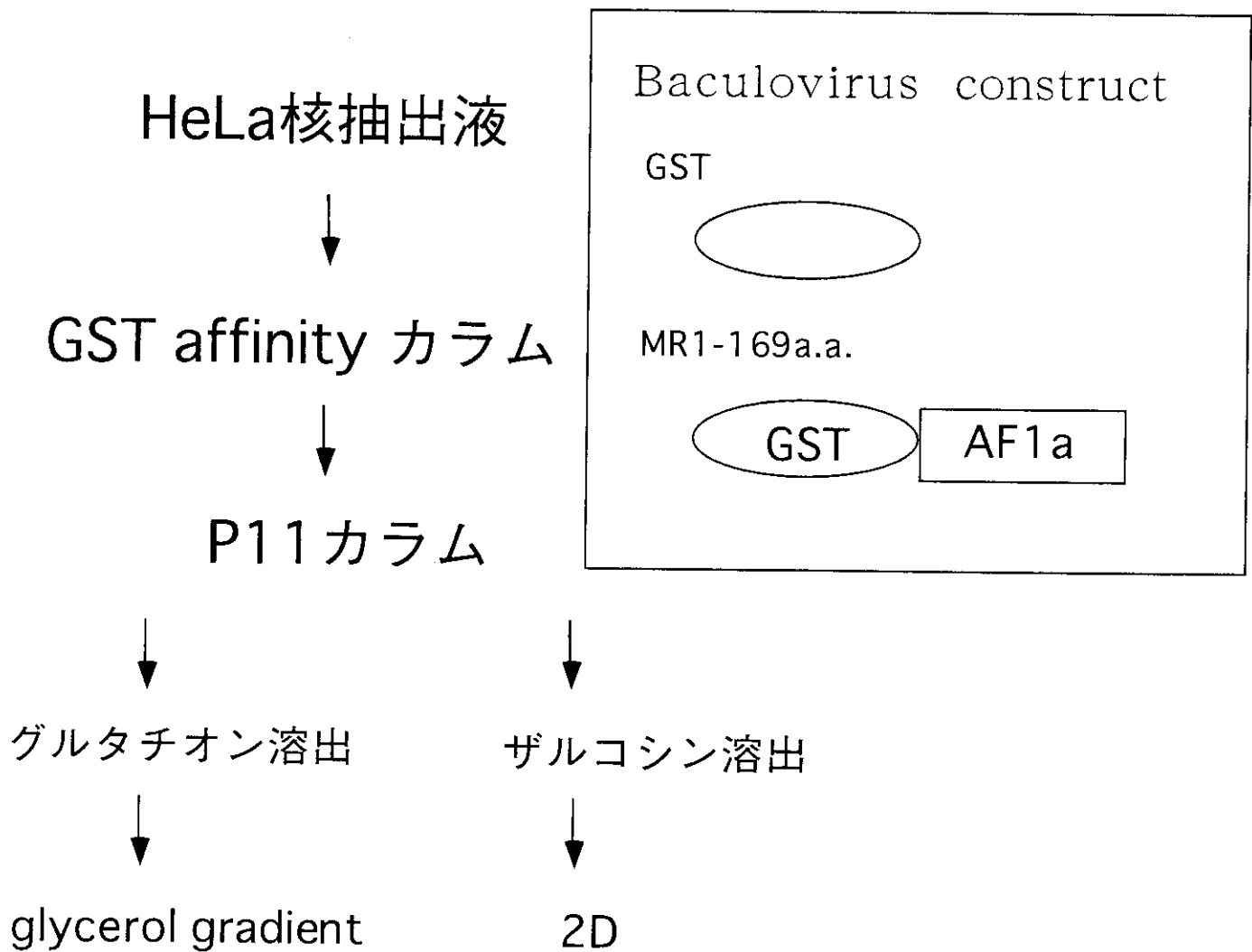
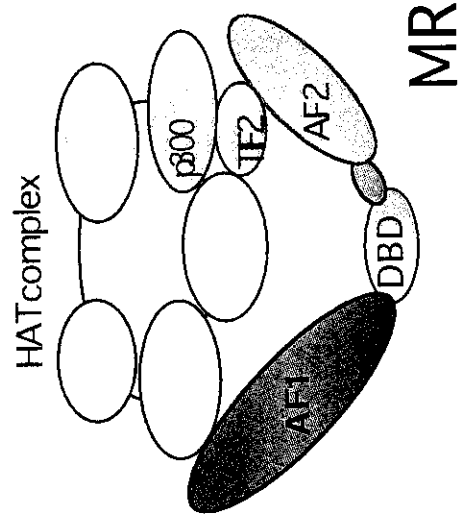
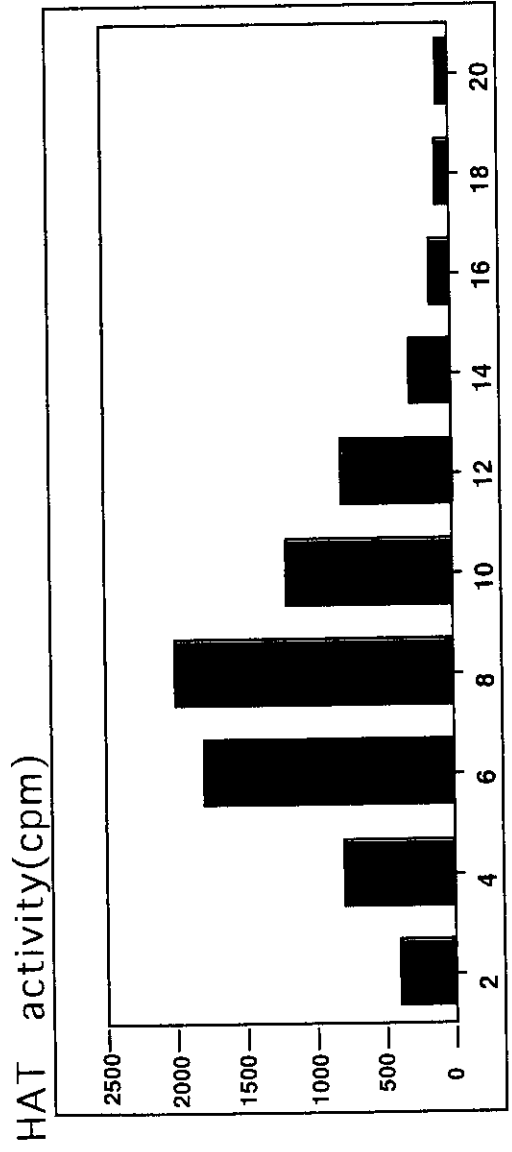
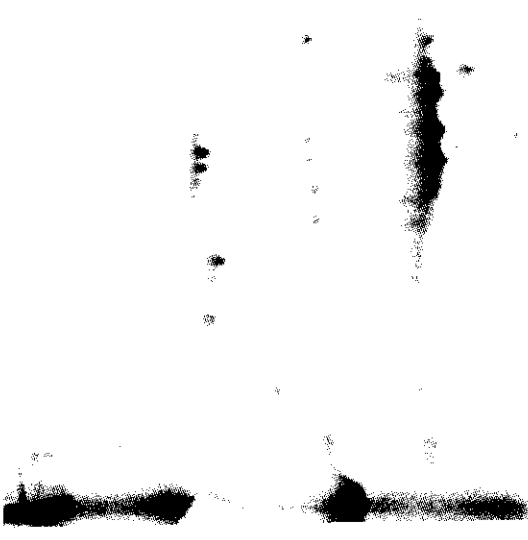
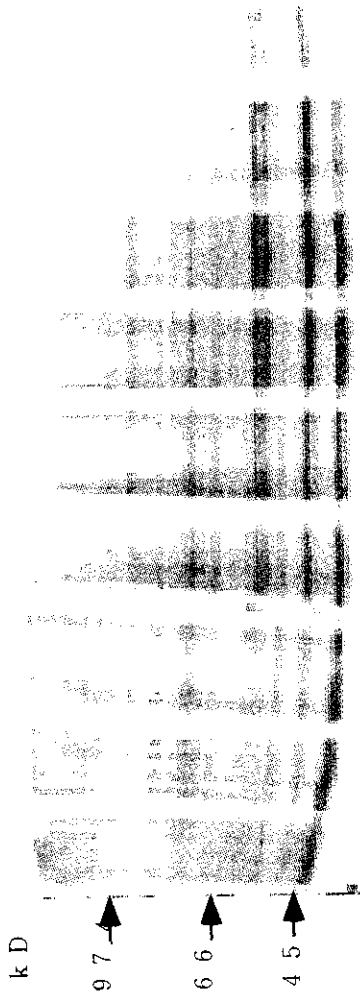
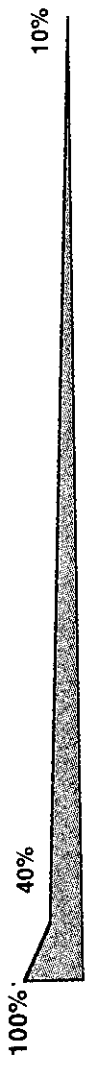


Fig. 2

glycerol gradient

2D



fraction No.

Fig. 3

MIRの転写メカニズムのまとめ

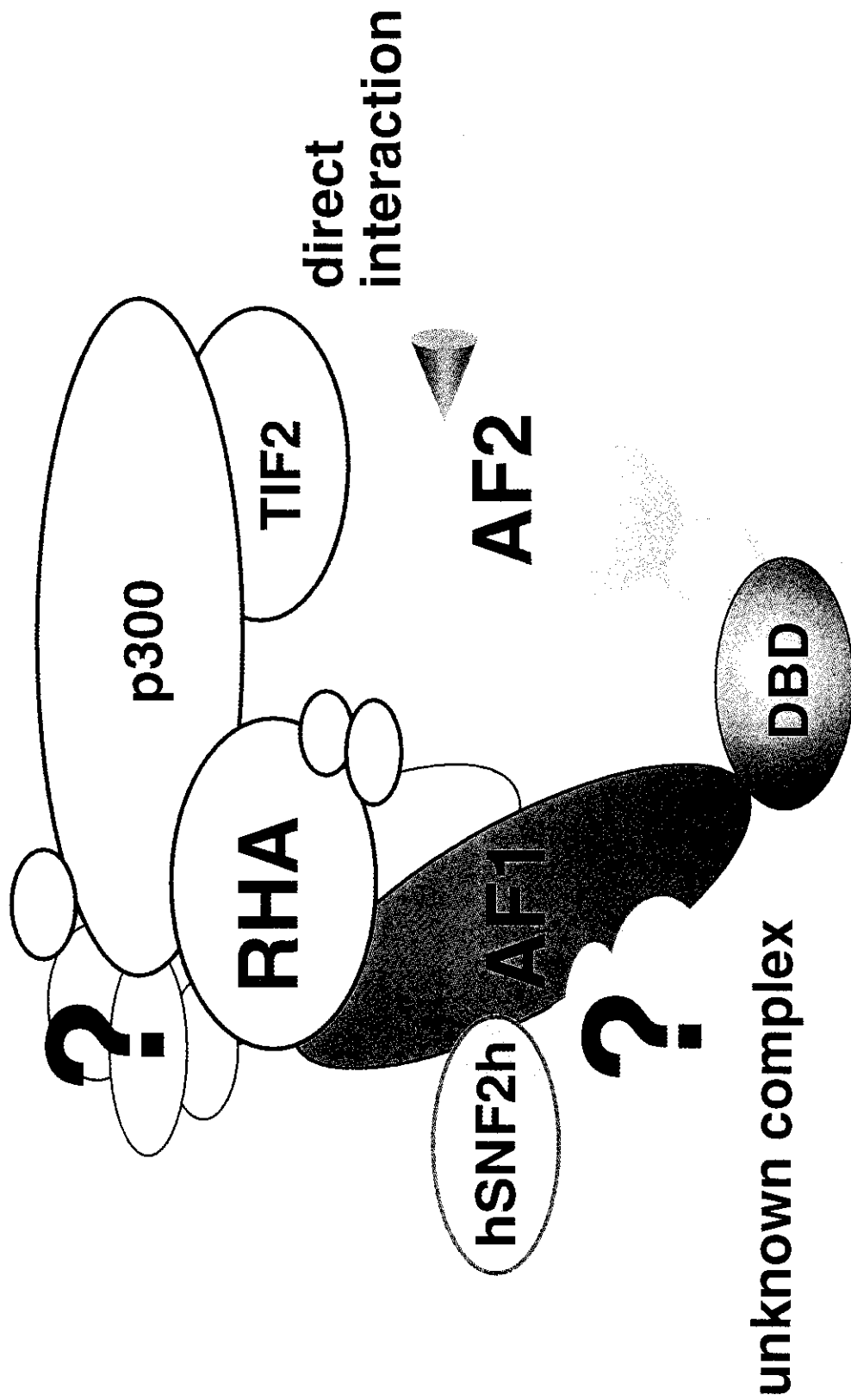


Fig. 4

(2) 副腎性高血圧

Dehydroepiandrosterone (DHEA) による心筋線維化抑制の検討

向笠 浩司、関原 久彦

横浜市立大学医学部第三内科

研究要旨

Dehydroepiandrosterone (DHEA) は加齢とともに血中濃度が減少するという特性をもっており、また、生体にとって有用な作用が報告されている、内因性の副腎ステロイドであるが、心臓に対する影響はほとんど報告されていない。また、心筋は加齢によって生理的に線維化を来す。今回我々は自然高血圧発症ラット (SHR) を用いて、DHEA が心筋線維化に与える影響を組織および核酸レベルにおいて検討し、そのメカニズムを明らかにし、DHEA の臨床応用への足がかりとすることを試みた。

A. 研究目的

DHEA は血中濃度が思春期にピークを迎え、加齢に従い、分泌が減少するというユニークな特性を持っており、また、DHEA は、すでに我々も報告しているが、インスリン感受性の改善作用(*The Journal of Steroid Biochem. and Molecular Biology* 67 355-358, 1998, *Diabetes* 48 1579-1585, 1999)を有することをはじめとして、生体にとって有用な種々の作用を持つことが明らかにされている。

心筋のコラーゲンは I 型が約 80%、III 型が約 15% を占めている。これらのコラーゲンの増減が様々な心疾患・薬剤投与下において報告されている。また、心筋は加齢とともに線維化を来し、これが心機能の低下加齢に伴う心筋の線維化と DHEA の関連を探るうえでも重要と考えられる。心筋の線維化が、メカニズムに至るまで解明された場合、もともと生体内に存在するが故に、副作用のほとんどない、非常に安全性の高い心機能改善剤およびインスリン感受性改善剤として、とくに心合併症の多い糖尿病患者に対しては有用であり、また臨床応用可能であると考えられる。DHEA が心筋の線維化を抑制することが予想されるが、DHEA は内因性の副腎ホルモンであり、ヒトへの投与に対する安全性が確立していることから、安全な薬剤で心筋の線維化を抑制し、心不全死を減少させようという点で、医療経済におい

ても、臨床においても、その意義は極めて大きいと考えられる。そこで我々は、線維化を抑制すると考えられる DHEA を実験動物に投与し、線維化における DHEA の作用点および DHEA 投与による心筋の線維化のメカニズムを検討し、今後の臨床応用の可能性を検討した。

B. 研究方法

8週令の SHR にアルドステロンを注入したポンプを皮下に埋め込み、心筋に対して負荷がかかる状態を作り出し、心筋の線維化を惹起した。この rat を用いて、0.4%の割合で食餌に混ぜた DHEA を投与する群とコントロール群とに分け、3ヶ月後に rat より心臓を摘出し、コラーゲンを染色する Masson-Trichrome 染色を用いて、組織学的検討を行い、青色に染色された領域を画像解析ソフトウェアにて定量化した。さらに心筋から mRNA を抽出し、心筋の主たるコラーゲンである I 型コラーゲン、III 型コラーゲンの発現を定量的 RT-PCR により検討した。また血圧は1週間おきに tail cuff 法をもちいて測定した。また、ステロイドマップにおいて、DHEA の下流に位置する、テストステロン、エストラジオールの血中濃度を Radioimmuno assay により測定した。

(倫理面への配慮)

ポンプの埋め込み時、飼育終了時の動物の屠殺時には、ネンプター麻酔をかけて、動物に与える苦痛は最小限としており、動物愛護に関して配慮している。

C. 研究結果

今回の研究では DHEA 投与群とコントロール群の間で、収縮期血圧は有意差を認めなかった (図1)。

DHEA 投与群においては、コントロール群に比して、有意に心筋の線維化が抑制され (図2)、定量的 RT-PCR にて I 型コラーゲンと III 型コラーゲンの発現が有意に減少していた (図3)。血中テストステロン濃度は両群で有意差を認めなかったが、血中エストラジオール濃度は DHEA 投与群で有意に高値であった (図4)。

D. 考察

DHEA 投与にて血圧には有意差を認めなかったことより、DHEA が血圧降下によって機械的刺激を減少させることで、心筋の線維化を抑制していることは否定的であり、DHEA 投与により、線維化に関わる因子が抑制されていることが示唆される。また、DHEA 投与群でエストラジオールの血中濃度が高値であったことから、DHEA がエストラジオールに変換されて作用している可能性も検討する必要があると思われた。

E. 結論

SHR において、DHEA 投与により、血圧の変化なく心筋の線維化を抑制した。また、DHEA 投与群においてエストラジオールの血中濃度が上昇していた。これらのことより DHEA あるいはその代謝物が心筋の線維化を抑制する方向に作用していることが示唆され、今後、線維化のいかなるステップに作用しているのかが検討課題となった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Dehydroepiandrosterone suppresses elevated hepatic glucose-6-phosphatase mRNA level in C57BL/KsJ-db/db mice. K.Aoki, T.Kikuchi, K.Mukasa Endocrine Journal 47: 799-804, 2000

2. 学会発表

日本内分泌学会総会 2000年6月

米国内分泌学会 2000年6月

国際内分泌学会 2000年10月

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

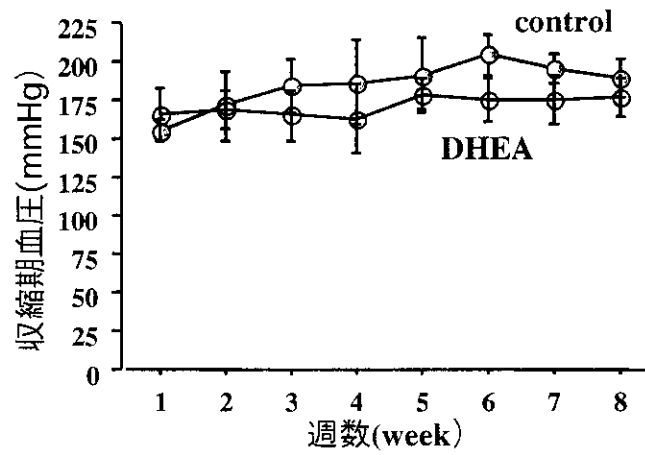


図1 血圧の変動

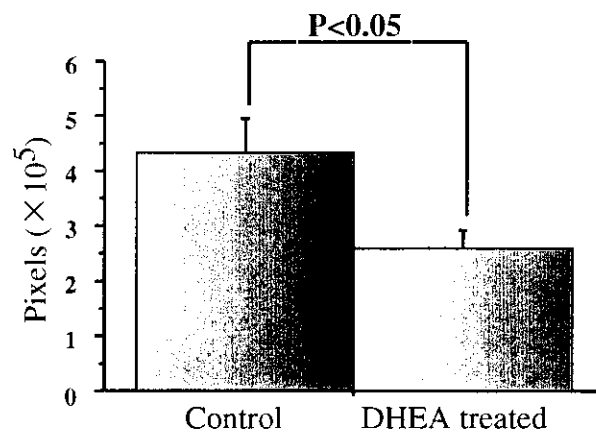


図2 心筋線維化領域の面積の比較

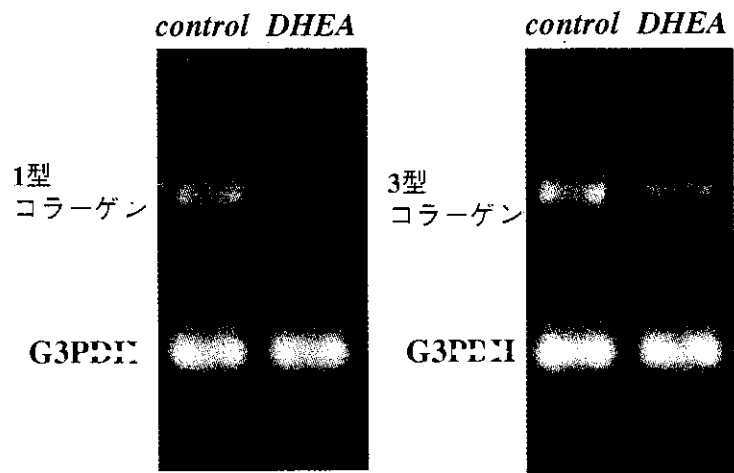


図3 心筋内コラーゲンの発現の差異

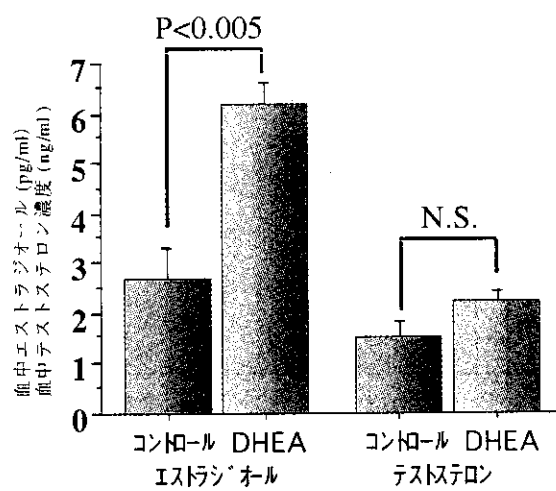


図4 血中ステロイドホルモン濃度

ACTH連続負荷・アンジオテンシンⅡタイプ1(AT1)受容体拮抗薬投与下副腎静脈サンプリング法の妥当性の検討

伊藤 裕
京都大学大学院医学研究科臨床病態医科学

研究要旨

我々は ACTH 連続負荷・AT1 受容体拮抗薬投与下副腎静脈サンプリングを開発し、今回通常のサンプリングでは診断に苦慮した原発性アルドステロン症(primary aldosteronism:PA)の二症例においてこの方法を適用し、局在診断し得た。同時に ACTH 連続負荷、あるいは AT1 受容体拮抗薬投与の意義に関してこれらの症例において検討し、ACTH 連続負荷に関しては、その有用性が示唆された。AT1 受容体拮抗薬投与については、その方法及び評価について今後更なる検討が必要と考えられた。

A. 研究目的

従来 PA の頻度は、全高血圧症の 1%以下と報告されており¹⁻⁵、頻度の高い疾患とは考えられていなかった。ところが、1994 年 Gordon ら⁶は血清 K 値が正常である高血圧患者 199 例中 17 例に PA が存在することを報告し、以後 PA は全高血圧患者の 10%前後という非常に高率に認められるとする報告が相次いでなされるようになった⁷⁻⁹。この背景には、一般的な方法では診断が困難な PA が多数存在するためと考えられる。

PA の局在診断には、エコー、CT、MRI、シンチが一般的に用いられるが、これらは空間分解能に限界がある。特に、アルドステロン産生腺腫(aldosterone producing adenoma:APA)の中でもマイクロアデノーマや、特発性アルドステロン症(idiopathic hyperaldosteronism:IHA)による PA の場合、これらの方法では診断が困難であり、最終的には副腎静脈サンプリングの結果が重要となる。

しかし、PA の診断において、副腎静脈サンプリングにはいくつかの問題点がある。APA の場合、一般にアルドステロン分泌における ACTH への反応性が増加している。そのため、サンプリング中のストレス・時間経過によって ACTH が変動し、それによりサンプリングのデータが影響を受ける。一方、IHA の場合、アルドステロン分泌が レニン-アンジオテンシン系による制御を受けている。そのため、サンプリング中の循環動態の変化によるレニン-アンジ

オテンシン系に対する影響が、サンプリングのデータに反映される可能性がある。

そこで、我々は、Fig.1 に示すように、内因性 ACTH の影響を除くため、恒常的に ACTH による負荷を加え、かつレニン-アンジオテンシン系をブロックするために AT1 受容体拮抗薬の投与下での副腎静脈サンプリング法を開発した。

前回の班会議においては、従来の副腎静脈サンプリング法では診断が困難であり、我々が開発した ACTH 連続負荷・AT1 受容体拮抗薬投与下での副腎静脈サンプリング法にて診断し得た PA の一例を報告した。前回報告した症例以降も従来の方法では診断に苦慮した PA を二例経験し、また、ACTH 連続負荷、あるいは AT1 受容体拮抗薬投与の意義に関してもこれらの症例において検討したため、その結果を含め報告する。

B 研究方法

[症例 1]

48才、男性。H7年健診にて初めて高血圧を指摘され、以後降圧薬(イミダプリル5mg、ニフェジピン徐放剤40mg)を服用していた。H11年6月人間ドックでの腹部CTにて左副腎に径12mmの腫瘤を指摘され、近医を受診。血漿レニン活性(PRA)0.58ng/ml/h、血漿アルドステロン濃度(PAC)178.7pg/mlと低レニン・高アルドステロン血症を認め、精査加療目的にてH11年10月当科を紹介受診。イミダプリル中止後の尿中アルド

ステロンが14~17 μ g/dayと高値であり、PAを疑われ、精査のためH12年3月当科入院となる。血圧(座位・ニフェジピン徐放剤40mg投与下): 130/90mmHg、脈拍: 80/分であり、他に特記すべき身体所見上の異常はなかった。

[症例2]

58才、女性。H2年頃より高血圧を指摘され、以後降圧薬を処方されていたが、服薬は不規則であった。H12年9月1日動悸・めまい・ふらつきを覚え、近医を受診。このとき血圧220/110mmHg、脈拍90/分であり、また、PRA0.8ng/ml/h、PAC225pg/ml、血中ACTH260pg/ml、血中コルチゾール22.3 μ g/dl、血清K3.4mEq/lであった。二次性高血圧症の精査加療目的のためH12年9月26日当科紹介入院となった。身長: 154.8cm、体重: 87.2kg、BMI: 36.4、血圧(座位・ニフェジピン徐放剤60mg、カルベジロール10mg投与下): 144/94mmHg、脈拍: 56/分であり、他に特記すべき身体所見上の異常はなかった。

[方法]

各症例において、一般・内分泌学的検査、CT、デキサメサゾン抑制下¹³¹I-アドステロールシンチ、日内変動、Rapid ACTH試験、カプトリル負荷試験、ラシックス立位負荷試験、通常の副腎静脈サンプリングに加え、Fig. 1に示すACTH連続負荷・AT1受容体拮抗薬投与下における副腎静脈サンプリングを施行した。また、ACTH連続負荷の意義を検討するために、ACTHbolus投与時とACTH連続投与時の末梢血アルドステロン・コルチゾール濃度を測定し、さらに、AT1受容体拮抗薬投与の意義を検討するために、アンジオテンシンII(AII)負荷時の血圧・末梢血アルドステロン濃度をcontrol時、およびカンデサルタン8mg×2日投与時に測定した。

症例1においては、informed consentを得た後、左副腎摘出術を施行し、手術摘出標本の病理組織学的検索やステロイド合成酵素の免疫組織化学的検索を行った。

C 研究結果

[症例1]

一般・内分泌学的検査所見では、血清Kが3.4mEq/Lと軽度低下、PRA低値(0.27ng/ml/h)、PAC高値(175pg/ml)、尿中アルドステロン高値

(14 μ g/day)を認め、その他には異常を認めなかった。

CTでは、造影にて左副腎に径16mmの、通常の副腎腺腫と比べ強くenhanceを受けるhomogeneousな腫瘤を認めた。右副腎には異常を認めなかった。

デキサメサゾン抑制下¹³¹I-アドステロールシンチは、副腎部に明らかな左右差は認めなかった。

通常の副腎静脈サンプリングでは、右副腎静脈のコルチゾールは24.8 μ g/dlと下大静脈のコルチゾール(25.2~34 μ g/dl)とほぼ同じであり、カテーテルがwedgeできていなかったと思われる。左副腎静脈に関しては、アルドステロンは913pg/ml、コルチゾールは98 μ g/dl、A/C比は9.3と下大静脈のA/C比(5.2~7.5)に比べやや高値であり、左副腎よりのアルドステロン分泌過剰が疑われた(Fig.2)。

ACTH連続負荷・AT1受容体拮抗薬投与下でのサンプリングでは、左副腎静脈はアルドステロン19150pg/ml、コルチゾール805 μ g/dl、右副腎静脈はアルドステロン5511pg/ml、コルチゾール248 μ g/dlと両者ともA/C比は23前後であり、下大静脈のA/C比(8.9~14)に比べ明らかに高値であった(Fig.3)。

つまりACTH連続負荷・AT1受容体拮抗薬投与下副腎静脈サンプリングの結果は、両側副腎からのアルドステロン分泌が明らかに過剰であることを示しており、両側性のAPAまたはIHAが疑われた。

この症例に対し我々は、泌尿器科とも相談の上、本人の同意を得た上で、確定診断のため腫瘤のある左副腎を切除し、病理学的検索を行った。

手術摘出標本の肉眼像では、Fig.4の様にCTで確認された腫瘤を認めた。病理組織診断やステロイド合成酵素の免疫組織化学的検索は東北大学大学院医学研究科病理学講座の笹野公伸教授に依頼した。病理組織所見としては、比較的びまん性に球状層の過形成を認め、この球状層から外側束状層にはpseudoglandular hyperplasiaの所見も見られ、アルドステロン過剰を示唆する所見であった。束状層、網状層に皮質の萎縮は認められなかった。また、皮質には皮膜を有さず境界が不鮮明なclear cellsを主体とした結節がみられたが、肉眼的に認められた腫瘤を含め、

腺腫は認めなかった。ステロイド合成酵素の免疫組織化学的検索では、P450_{sc}c,3 β -HSD(hydroxysteroiddehydrogenase)P450_c21, P450_c11,P450_c17,DHEA-

ST(dehydroepiandrosterone sulfotransferase)の6種類のsteroidogenic enzymesの発現を免疫組織化学的に検索した^{10,11}。3 β -HSDによる免疫染色では、球状層から外側束状層においても、APAに認められるparadoxical hyperplasiaとは異なり、発現が認められた。皮質に認められた結節においては、DHEA-STを除く他のステロイド合成酵素の発現を認めた(Fig.5,6)。これらの所見から、この症例はIHAと診断した。

[症例 2]

一般・内分泌学的検査所見では、血清Kが3.1mEq/Lと低下していた。PRA0.24ng/ml/h、PAC140pg/mlとレニンが比較的低値であるのに対し、アルドステロンは相対的に高値であった。尿中アルドステロンは最高10.5 μ g/dayと軽度増加していた。ACTH・コルチゾールは正常範囲内であり、その他には異常を認めなかった。

CTでは、3mmスライスでの評価でも両側副腎に異常を認めなかった。

デキサメサゾン抑制下¹³¹I-アドステロールシンチは、右副腎部においてわずかな取り込みを認めた。左副腎部への取り込みは明らかではなかった。

通常の副腎静脈サンプリングでは、右副腎静脈のアルドステロンは1195pg/ml、コルチゾールは120 μ g/dl、A/C比は10であるのに対し、左副腎静脈はアルドステロン291pg/ml、コルチゾール59 μ g/dl、A/C比は4.9であった。この結果から、右副腎のアルドステロン分泌が過剰であり、そのため、左副腎のアルドステロン分泌は抑制を受けていると考えられた。しかし、下大静脈のA/C比は8前後と右副腎静脈のA/C比と近い値であった(Fig.7)。

ACTH連続負荷・AT1受容体拮抗薬投与下でのサンプリングでは、右副腎静脈のアルドステロンは54198pg/ml、コルチゾールは364 μ g/dl、A/C比は148.9と通常のサンプリングでの値に比べ明らかに高値であった。左副腎静脈はアルドステロン1476pg/ml、コルチゾール111 μ g/dlであり、A/C比は13.3と下大静脈におけるA/C比とほぼ同じであった(Fig.8)。

つまりACTH連続負荷・AT1受容体拮抗薬投

与下副腎静脈サンプリングにより、右副腎単独のアルドステロン分泌過剰がより明確なものとなり、右副腎のマイクロアデノーマによるAPAがもっとも疑われた。

この症例の患者は、H13年1月12日当院泌尿器科にて腹腔鏡下右副腎摘出術を施行され、病理結果待ちの状態である。

[ACTH連続負荷の意義の検討]

我々が副腎静脈サンプリング時に行っているACTH連続負荷の意義について検討するために、各症例においてACTHbolus投与時とACTH連続投与時における末梢血のアルドステロン・コルチゾール濃度の変化を測定した。

Fig.9は症例1における結果である。bolus投与ではアルドステロン濃度は投与後30分でピークとなり、以後低下し2時間後には投与前の値よりも低下した。一方、連続投与の場合、投与中アルドステロン濃度は高値を保っていた。コルチゾールに関しては、両者とも高値を保っていた。

Fig.10は症例2における結果である。bolus投与ではアルドステロン濃度は投与後1時間でピークとなり、以後症例1と同様低下した。連続負荷では、症例1同様投与中アルドステロン濃度に変化は認めなかった。コルチゾールは症例1同様両者共に高値を保っていた。なお、ACTH連続投与で、投与前からアルドステロン・コルチゾール共に高値であるが、これは検査に伴う緊張のために内因性のACTHが過剰に分泌されていたためと考えられた。

[AT1受容体拮抗薬投与の意義の検討]

次にAT1受容体拮抗薬投与の意義について検討するために、各症例においてアンジオテンシンII(AII)負荷時の血圧・末梢血アルドステロン濃度の変化をcontrol時・カンデサルタン(8mg \times 2day)投与時に測定した。

Fig.11は症例1のIHAの症例における結果である。血圧はcontrolではAII2 γ 投与で収縮期・拡張期共に15~20mmHg上昇した。カンデサルタン投与にて完全に血圧上昇は阻害可能であった。アルドステロン濃度に関してはcontrolではAII1 γ 以上の投与で反応を認めた。一方、カンデサルタン投与下ではcontrolに比べ全体的に低値であるが、完全には抑制できな

かった。

Fig.12 は、症例2における結果である。血圧は、control では A II₁γ の時点で 170/110mmHg まで上昇したため、この時点で A II 投与を中止した。カンデサルタン投与によりこの血圧上昇は完全に阻害され、A II₂γ 投与にても前値と変わらなかった。アルドステロン濃度に関しては、control では A II 濃度依存性に反応し、カンデサルタン投与下では、この反応は完全に抑制された。

D 考察

前回の班会議において、従来の副腎静脈サンプリングの欠点を補う新しい局在診断法として、我々は ACTH 連続負荷・AT1 受容体拮抗薬投与下副腎静脈サンプリングを開発し、PA の一症例においてその結果を報告した。今回報告した症例はいずれも前回同様従来のサンプリング法では診断に苦慮し、我々のサンプリング法にて診断に至った例であり、その有用性が示唆される結果であった。

今回我々が開発したサンプリング法の有用性を確認するため、ACTH 連続負荷、あるいは AT1 受容体拮抗薬投与の意義に関して PA の二症例において検討した。

副腎静脈サンプリング時に ACTH を負荷する方法は、1969 年の Spark ら¹²の報告が最初であり、以後、多くの報告があるが、そのほとんどが ACTH を bolus に投与したものである¹³⁻¹⁶。

副腎静脈サンプリングはその手技にかなりの熟練を要し、しばしば長時間にわたることがある。その場合、ACTH の bolus 投与では時間経過と共にアルドステロン・コルチゾールの濃度が低下することが考えられる。それを解決するために 1976 年 Yune ら¹⁷、1979 年 Weinberger ら¹⁸はサンプリング中に ACTH を連続負荷する方法を報告している。しかし、その方法は、我々のように ACTH を bolus 投与後連続負荷するのではなく、最初から低濃度(5U/hr)で連続負荷するものであり、さらに、その意義・有用性に関しての検討はなされていない。

我々の症例における検討では、Fig.9,10 に示すように二例とも ACTH 連続投与においてアルドステロン濃度は高値を保っているのに対し、ACTH bolus 投与では時間経過と共にアルドステロン濃度が低下している。この結果から、副腎

静脈サンプリングにおいても、この点を克服することができる連続投与の方がより優れていると考えられる。なお、bolus 投与と連続投与の比較で、コルチゾールの方が濃度の変化が少ないのは、半減期がアルドステロンの約 20 分に対し 60~90 分と長いためであると考えられる¹⁹。

A II 負荷の結果を各症例について検討すると、症例1の IHA の例においては、アルドステロン濃度に関し control では A II₁γ 以上の投与で反応を認め、2γ 時の 176pg/ml が最高であった。この数値はこの症例において術前に認められた血中濃度の範囲内であり、投与した A II の濃度が薬理的なものではなく生理的投与量であったことを示唆するものである。しかし、カンデサルタン投与下 A II 負荷をみると、血圧上昇に関しては完全に阻害できているが、アルドステロン濃度は control に比べ全体的に低値ではあるものの、完全には抑制できていない。

一方、症例2はマイクロアデノーマによる APA が疑われる症例であるが、症例1と同じ量のカンデサルタン投与にて A II 負荷による血圧・アルドステロン濃度の上昇は共に完全に抑制された。症例1と2における差異は、PA の病態によってレニン-アンジオテンシン系に対する感受性が異なる可能性が考えられ、AT1 受容体拮抗薬投与量および時間について今後更なる検討を要すると思われる。

E 結論

今回、我々が開発した ACTH 連続負荷・AT1 受容体拮抗薬投与下副腎静脈サンプリングにて局在診断が可能となった二症例を経験した。同時にこれらの症例において、ACTH 連続負荷、AT1 受容体拮抗薬投与の意義についても検討した。ACTH 連続負荷に関しては、その有用性が示唆されたが、AT1 受容体拮抗薬投与に関しては、その方法及び評価について今後更なる検討が必要と考えられた。

参考文献

1. Fishman LM et al: Incidence of primary aldosteronism uncomplicated essential hypertension. JAMA 205:497-502,1968
2. Berglund G et al: Prevalence of primary and secondary hypertension: studies in a random

- population sample. *Br Med J* 2:554-6,1976
3. Danielson M et al: The prevalence of secondary and curable hypertension. *Acta Med Scand* 209:451-5,1981
 4. Sinclair AM et al: Secondary hypertension in a blood pressure clinic. *Arch Intern Med* 147:1289-93,1987
 5. Anderson GH Jr et al: The effect of age on prevalence of secondary forms of hypertension in 4429 consecutively referred patients. *J Hypertens* 12:609-15,1994
 6. Gordon RD et al: High incidence of primary aldosteronism in 199 patients referred with hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 21:315-8,1994
 7. Abdelhamid S et al: Prevalence of adrenal and extra-adrenal Conn syndrome in hypertensive patients. *Arch Intern Med* 156:1190-5,1996
 8. Lim PO et al: Potentially high prevalence of primary aldosteronism in a primary-care population. *Lancet* 353:40,1999
 9. Fardella CE et al: Primary hyperaldosteronism in essential hypertensives: prevalence, biochemical profile, and molecular biology. *J Clin Endocrinol Metab* 85(5):1863-7,2000
 10. Sasano H et al: Immunolocalization of 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase in human adrenal cortex and its disorders. *Endocr Pathol* 1:94,1990
 11. Sasano H et al: Immunohistochemical study of cytochrome P-45017 alpha in human adrenocortical disorders. *Hum Pathol* 20:113-7,1989
 12. Spark FR et al: Activation of aldosterone secretion in primary aldosteronism. *J Clin Invest* 48:96-104,1969
 13. Kern DC et al: Plasma aldosterone response to ACTH in primary aldosteronism and in patients with low renin hypertension. *J Clin Endocrinol Metab* 46:552-60,1978
 14. Dunnick NR et al: Localization of functional adrenal tumors by computed tomography and venous sampling. *Radiology* 142:429,1982
 15. Doppman LJ et al: Distinction between hyperaldosteronism due to bilateral hyperplasia and unilateral aldosteronoma:reliability of CT. *Radiology* 184:677-682,1992
 16. Young WF Jr. et al: Primary aldosteronism: adrenal venous sampling. *Surgery* 120:913-20,1996
 17. Yune HY et al: Radiology in primary hyperaldosteronism. *Am J Roentgenol* 127:761-767,1976
 18. Weinberger MH et al: Primary aldosteronism: diagnosis, localization, and treatment. *Ann Intern Med* 90:386-95,1979
 19. Weitzman ED et al: Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 33:14-22,1971
 - 20.

Fig.1 ACTH連続負荷・アンジオテンシンIIタイプ1(AT1)受容体拮抗薬投与下副腎静脈サンプリング

1. 検査前日午後9時と検査当日午前6時にAT1受容体拮抗薬(カンデサルタン8mg)を計2回内服する。
2. 午前9時より通常のサンプリングを施行。右副腎静脈のサンプリングを最後に行い、カテーテルを右副腎静脈に軽くwedgeさせた状態とする。
3. 合成ACTH(Cortrosyn)0.25mg(25u)をbolusで静注。
4. 引き続き、合成ACTH(Cortrosyn)0.25mgを生理食塩水100mlで溶解し、100ml/hで持続点滴する。
5. 合成ACTH(Cortrosyn)持続静注開始15分後より2回目のサンプリングを右副腎静脈より施行する。

**Fig.3 症例1
ACTH連続負荷・AT1受容体拮抗薬投与下副腎静脈サンプリング**

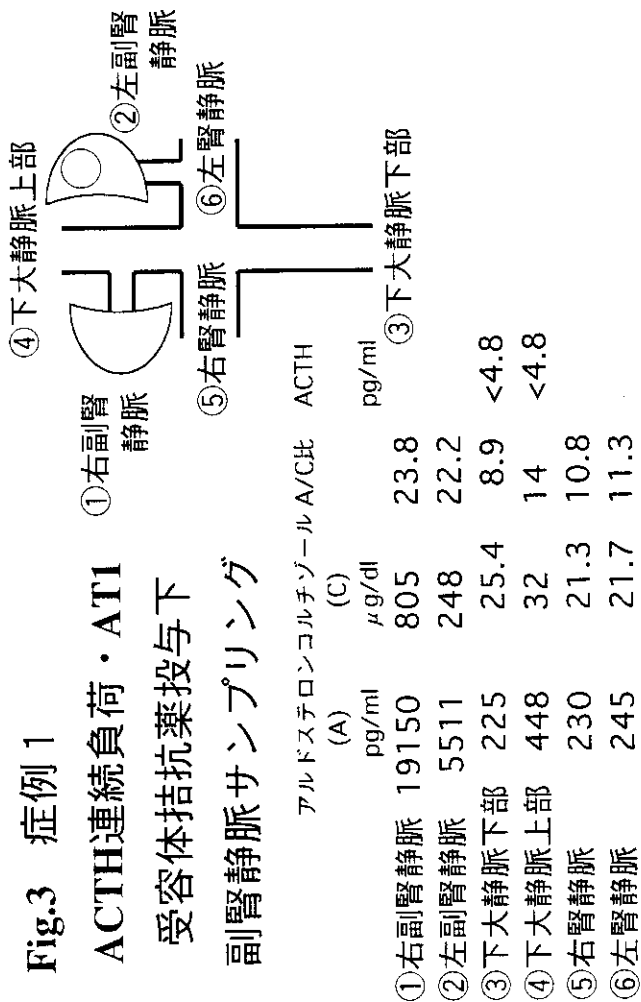


Fig.2 症例1

副腎静脈サンプリング

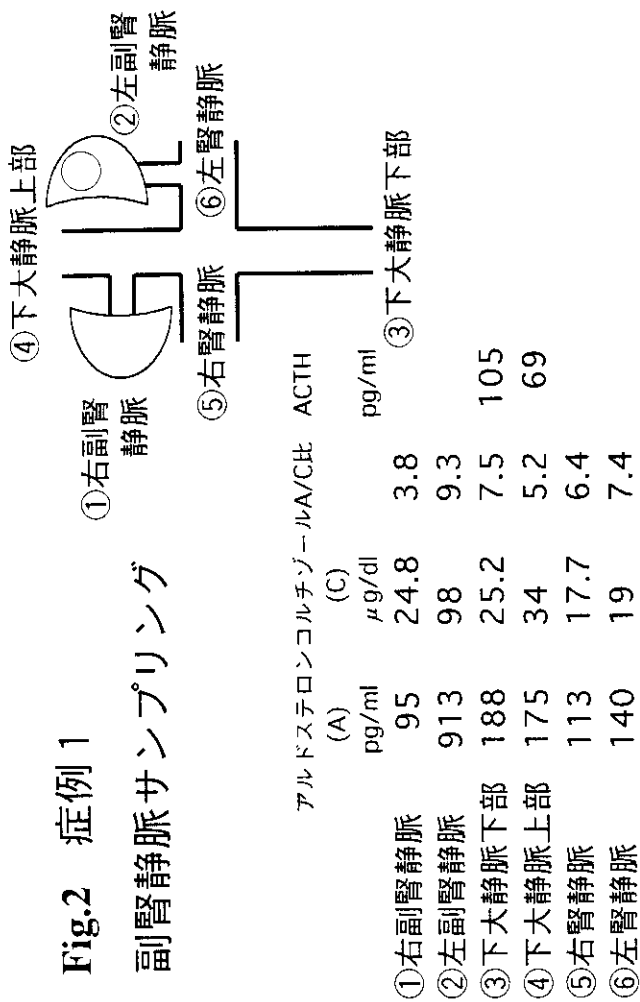


Fig.4 病理組織 肉眼像

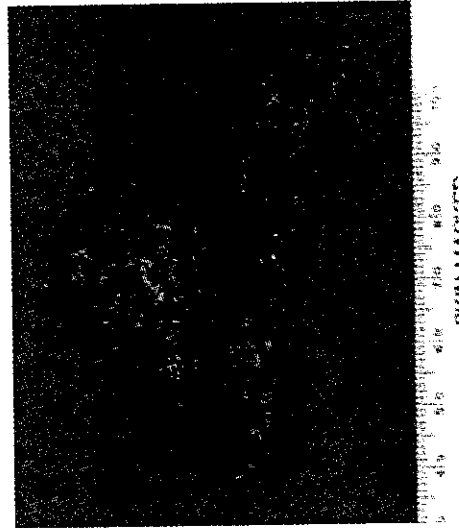
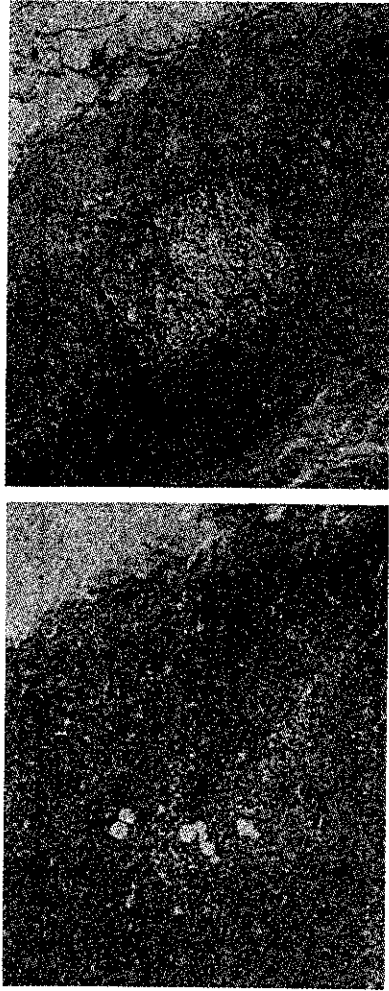


Fig.5 病理組織 (弱拡大)

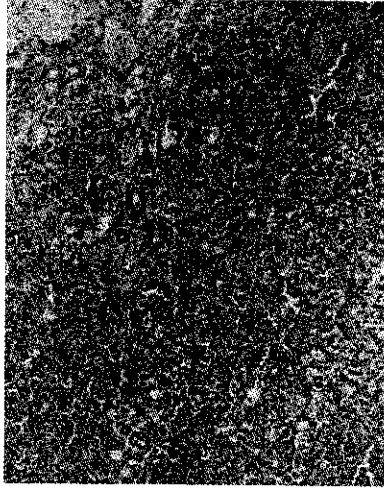


球状層の過形成

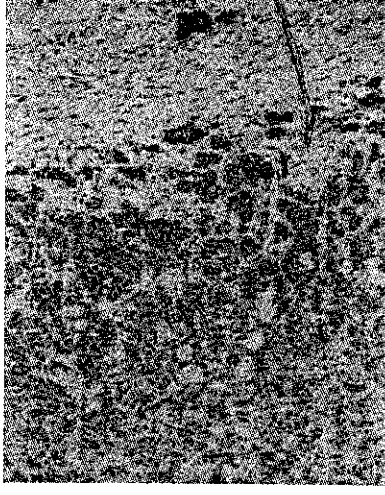
境界の不鮮明なclear cellsを主体とした結節

Fig.6 病理組織 (強拡大)

HE染色



3beta-HSDによる免疫染色



球状層に発現を認め腺腫を否定する所見

球状層にPseudoglandular hyperplasiaを認める

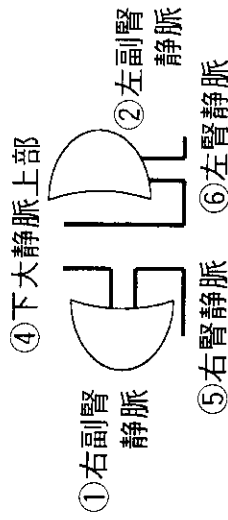
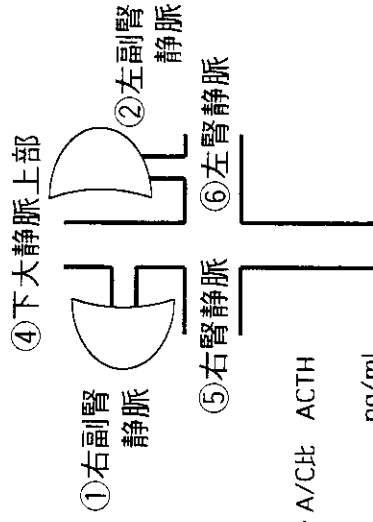


Fig.7 症例2
副腎静脈サンプリング

	アルドステロン/コルチゾールA/C比		ACTH pg/ml
	(A) pg/ml	(C) μg/dl	
①右副腎静脈	1195	120	10.0
②左副腎静脈	291	59	4.9
③下大静脈下部	160	19.6	8.2
④下大静脈上部	158	19.4	8.1
⑤右腎静脈	154	12.4	12.4
⑥左腎静脈	183	12.7	14.4

Fig.8 症例2

ACTH連続負荷・AT1受容体拮抗薬投与下副腎静脈サンプリング



	アルドステロン/コルチゾールA/C比		ACTH pg/ml
	(A) pg/ml	(C) μg/dl	
①右副腎静脈	54198	364	148.9
②左副腎静脈	1475	111	13.3
③下大静脈下部	256	18.8	13.6
④下大静脈上部	251	19.3	13.0
⑤右腎静脈	277	15.4	18.0
⑥左腎静脈	272	16.9	16.1

Fig.9 症例1 ACTH bolus 投与とACTH 連続投与の比較

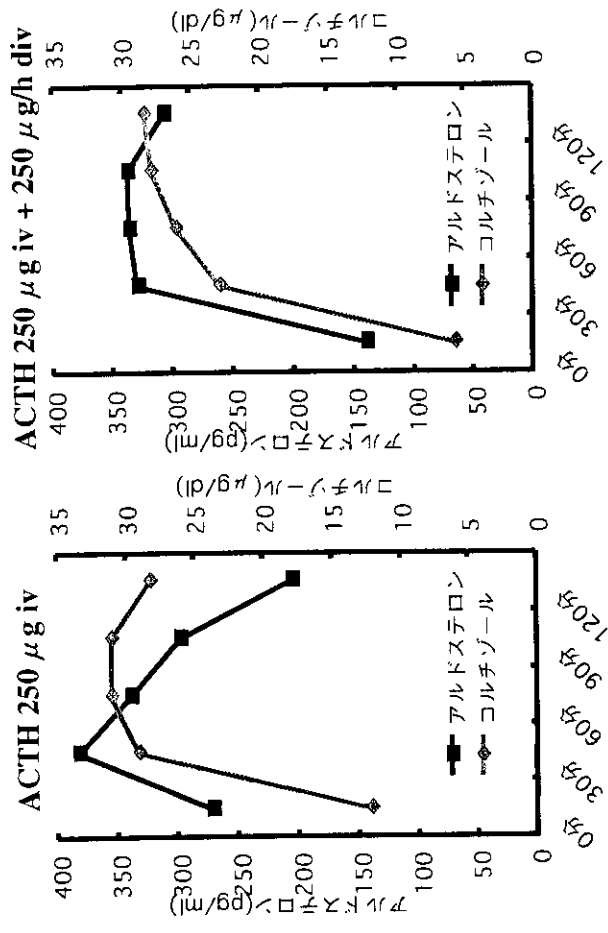


Fig.10 症例2 ACTH bolus 投与とACTH 連続投与の比較

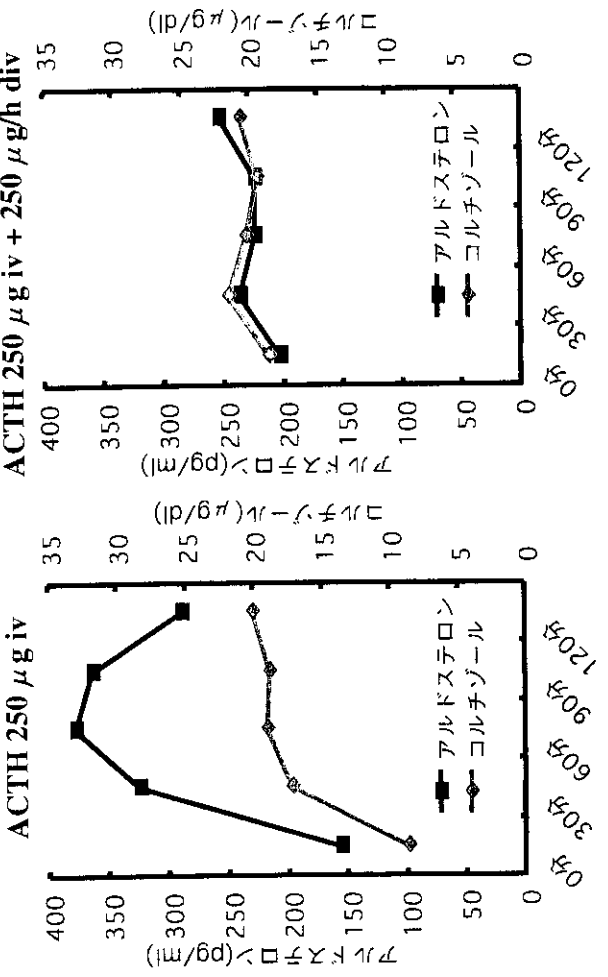


Fig.11 症例1 アンジオテンシンII(AII)負荷 Controlとカンデサルタン(8mg/日×2日)投与下の比較

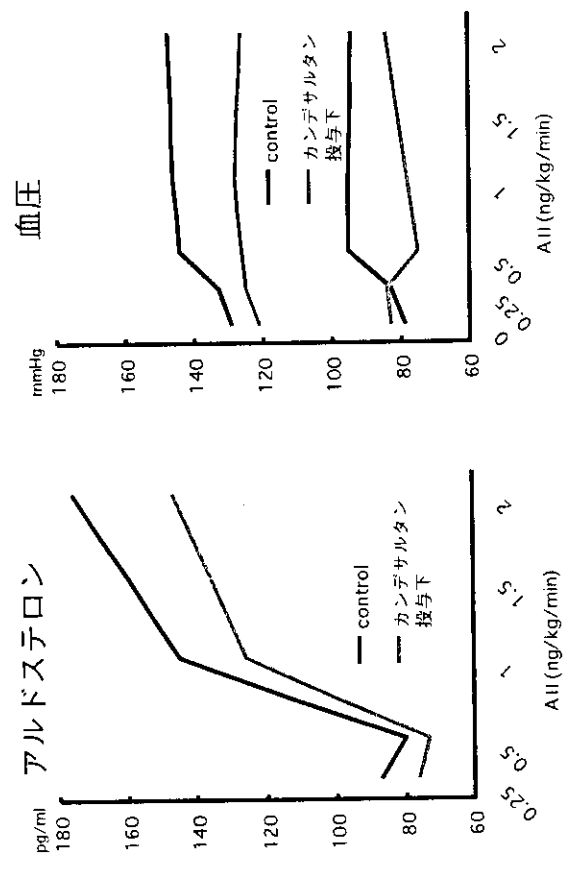
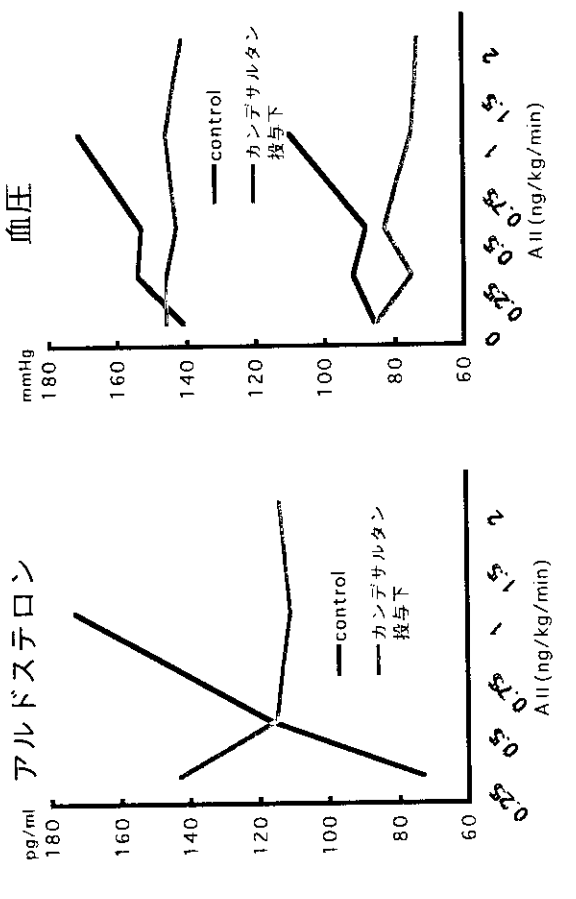


Fig.12 症例2 アンジオテンシンII(AII)負荷 Controlとカンデサルタン(8mg/日×2日)投与下の比較



本邦における 17 α -hydroxylase 欠損症患者の CYP17 遺伝子解析

柳瀬 敏彦¹、安田 圭吾²、三浦 清³、若林 一二(故人)⁴、佐藤 準一⁵、
古川 徳昭⁵、松崎 幸子⁶、江副 幸子⁷、後藤 公宣¹、名和田 新¹
九州大学病態制御内科(第三内科)¹、岐阜大学第三内科²、松波総合病院内分泌代謝疾患
センター³、日本医科大学第三内科⁴、佐賀医科大学内科神経筋部門⁵、東北大学産婦人科⁶、
芦屋市立芦屋病院内科⁷

研究要旨

本邦 17 α -hydroxylase 欠損症患者の CYP17 遺伝子解析の結果、非定型的に月経を有する 46XX 女性患者では Phe(53 or 54)の欠失変異が、高頻度に見い出されることが判明した。また非定型的に高血圧を認めない患者 2 例において共通変異として開始メチオニンの変異が見い出されたが、高血圧を呈さない理由については不明であった。

A. 研究目的

先天性副腎過形成の一病型である 17 α -hydroxylase 欠損症は Biglieri の報告以来、120 例以上の報告を認める¹⁾。その原因遺伝子の CYP17 に多くの変異が同定され、集積されつつあるが、本邦症例における同定変異は 12 種類と比較的少なく、表現型との関連等についての研究も十分ではない。本症は mineralocorticoid の過剰分泌に伴う高血圧と性ステロイドの低下に伴う性腺機能不全症を呈する。そのため、女性では定型的には原発性無月経を呈する。一方では比較的稀ながら、(1) 非定型的に生理を有する症例や(2) 高血圧を認めない症例が存在する¹⁾。本研究では他施設と共同で本邦患者数例の CYP17 を解析し、(1) の共通の変異として Phe53 or 54 欠失変異を高頻度に、また(2) の表現型を呈した 2 例において共通の変異として翻訳開始 Met の変異を認めたので報告する。

B. 研究方法

患者 CYP17 遺伝子解析は患者末梢白血球よりゲノム DNA を抽出し、CYP17 のエクソン 1、2-3、4、5-6、7-8 の 5 断片を各特異的プライマーを用いて増幅し、direct-sequencing 法により塩基配列の決定を行った²⁾。変異遺伝子の COS 1 細胞での発現実験は既報によった³⁾。検討症例は以下の症例を対象とした。

(症例 1) 43 歳女性。高血圧、骨粗鬆症、原発性無月経を認め、市立芦屋病院入院。現症では乳房と外性器の発育不全 (Tanner

I) を認めた。染色体分析では 46XX。内分泌学的検査成績では血中 progesterone(P4), corticosterone(B), deoxycosterone(DOC) の高値、11-deoxycortisol (S), cortisol (F) の低値、estradiol(E2) 低値(10 pg/ml 以下)を認め、17 α -hydroxylase 欠損症と診断した⁴⁾。(症例 2) 17 歳女性、臨床像として高血圧、低 K 血症、規則的生理を認めた。染色体は 46XX。内分泌学的検査では症例 1 とほぼ同様のパターンで 17 α -hydroxylase 欠損症と診断した。高アルドステロン血症を伴う病態から当初、Miura らにより糖質コルチコイド反応性アルドステロン症としても報告された⁵⁾。

(症例 3) 26 歳女性。初潮 10 歳で 18 歳まで規則的月経初来を認めたが、以降、不規則で不妊のため精査加療目的で東北大学婦人科入院。高血圧も認める。現症では二次性徴は中程度 (Tanner III)。染色体は 46XX。血中ステロイドプロフィールより 17 α -hydroxylase 欠損症と診断した⁶⁾。

(症例 4) 28 歳女性。原発性無月経と低 K 血症性ミオパチーによる四肢脱力を認め、精査目的で佐賀医科大学入院。現症では四肢筋トーンス低下、また乳房発育不良で性毛なし。血圧は既往、外来、入院中とおしてほぼ正常で入院時 142/74mmHg。染色体は 46XX、血清 K 1.7mEq/L と著明低下。血中 CPK は 3233u/L (CPK-MB 上昇) と高値を認めた。血中ステロイドプロフィールで DOC 1.57 ng/ml (正常 0.03-0.33), B114.0 ng/ml (正常 0.21-8.47) と共に著