

- expression, and tissue distribution of the rat nicotinamide adenine dinucleotide-dependent 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *Endocrinology* 136: 3729-3734
8. Shimojo M, Whorwood CB, Stewart PM. 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in the rat adrenal. *J Mol Endocrinol* 17: 121-130, 1996.
 9. Condon J, Ricketts ML, Whorwood CB, Stewart PM. Ontogeny and sexual dimorphic expression of mouse type 2 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *Mol Cell Endocrinol* 127: 121-128, 1997.
 10. Agarwal AK, Rogerson FM, Mune T, White PC. Analysis of the human gene encoding the kidney isozyme of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. *J Steroid Biochem Mol Biol* 55: 473-479, 1995.
 11. Coulter CL, Smith RE, Stowasser M, Sasano H, Krozowski ZS, Gordon RD 1999 Expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11betaHSD-2) in the developing human adrenal gland and human adrenal cortical carcinoma and adenoma. *Mol Cell Endocrinol* 154: 71-77
 12. Mazzocchi G, Rossi GP, Neri G, Malendowicz LK, Albertin G, Nussdorfer GG 1998 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase expression and activity in the human adrenal cortex. *FASEB J* 12: 1533-1539
 13. 安田圭吾, 宗 友厚, 諏訪哲也, 伊佐治真子, 柴田敏朗, 森田浩之. 腎型 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase の遺伝子解析 —第 2 報— 厚生省特定疾患副腎ホルモン産生異常症調査研究班 平成 9 年度研究報告書 96-101, 1998.
 14. Mune T, White PC. Apparent minealocorticoid excess: genotype is correlated with biochemical phenotype. *Hypertension* 27: 1193-1199, 1996.
 15. 安田圭吾, 宗 友厚, 棚橋哲也, 伊佐治真子, 諏訪哲也, 柴田俊朗, 森田浩之: 腎型 (Type 2) 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 活性の臨床的評価法と遺伝子解析 —第 3 報— 副腎ホルモン産生異常症調査研究班 平成 10 年度研究報告書 149-154, 1999.
 16. 安田圭吾, 磯村幸範, 森田浩之, 宗 友厚, 棚橋哲也, 大洞尚司: 尿中遊離コチゾール/遊離コチゾン比からみた腎 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase タイプ 2 活性副腎ホルモン産生異常症調査研究班 平成 11 年度研究報告書 66-71, 2000.

Fig. 1 Expression levels of Type 2 11 β HSD mRNA in adrenal tissues

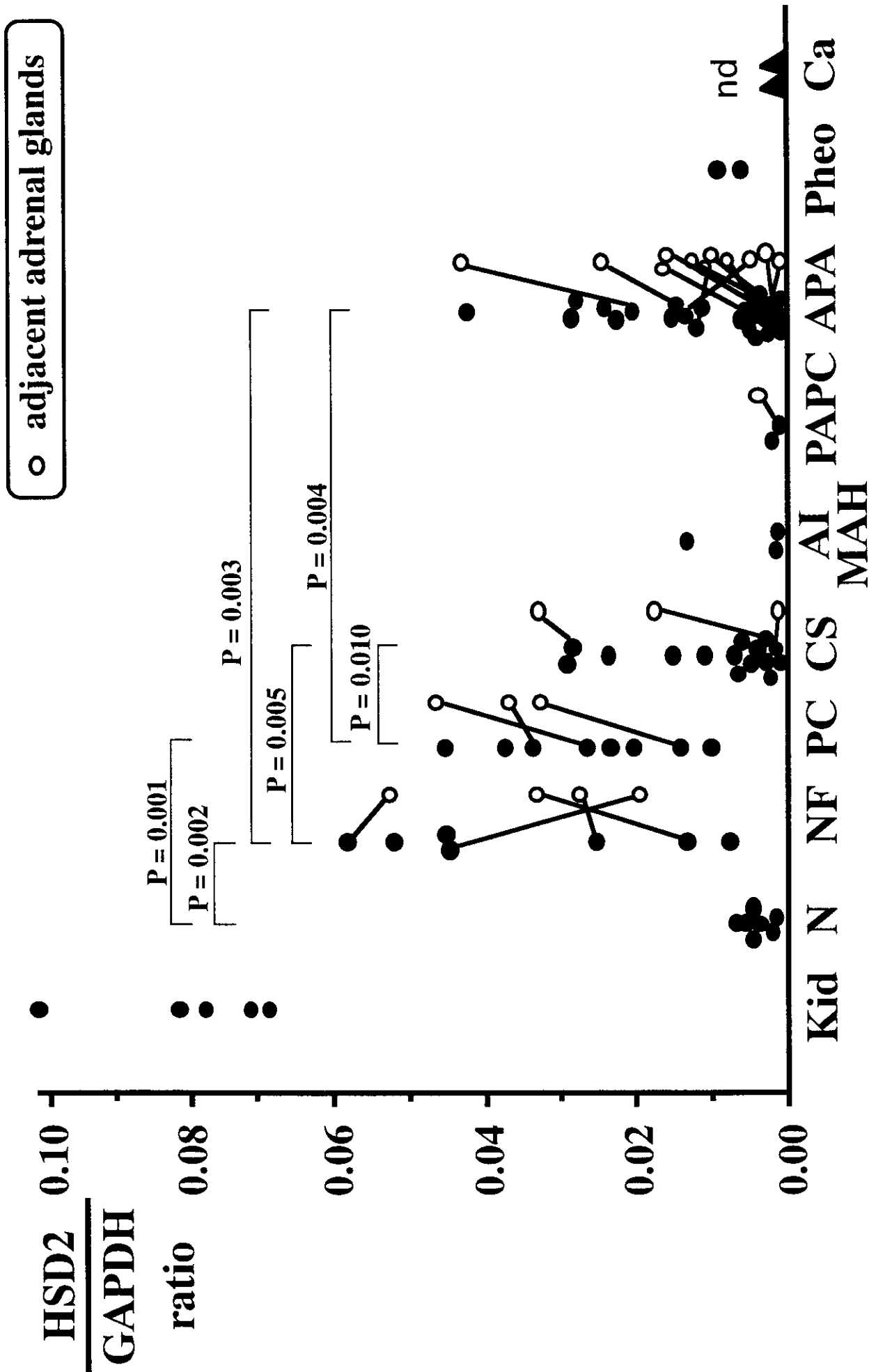


Fig. 2 CS, PC, NF における HSD2, 腫瘍サイズ, 血清 K, 血漿 cortisol 濃度の関係

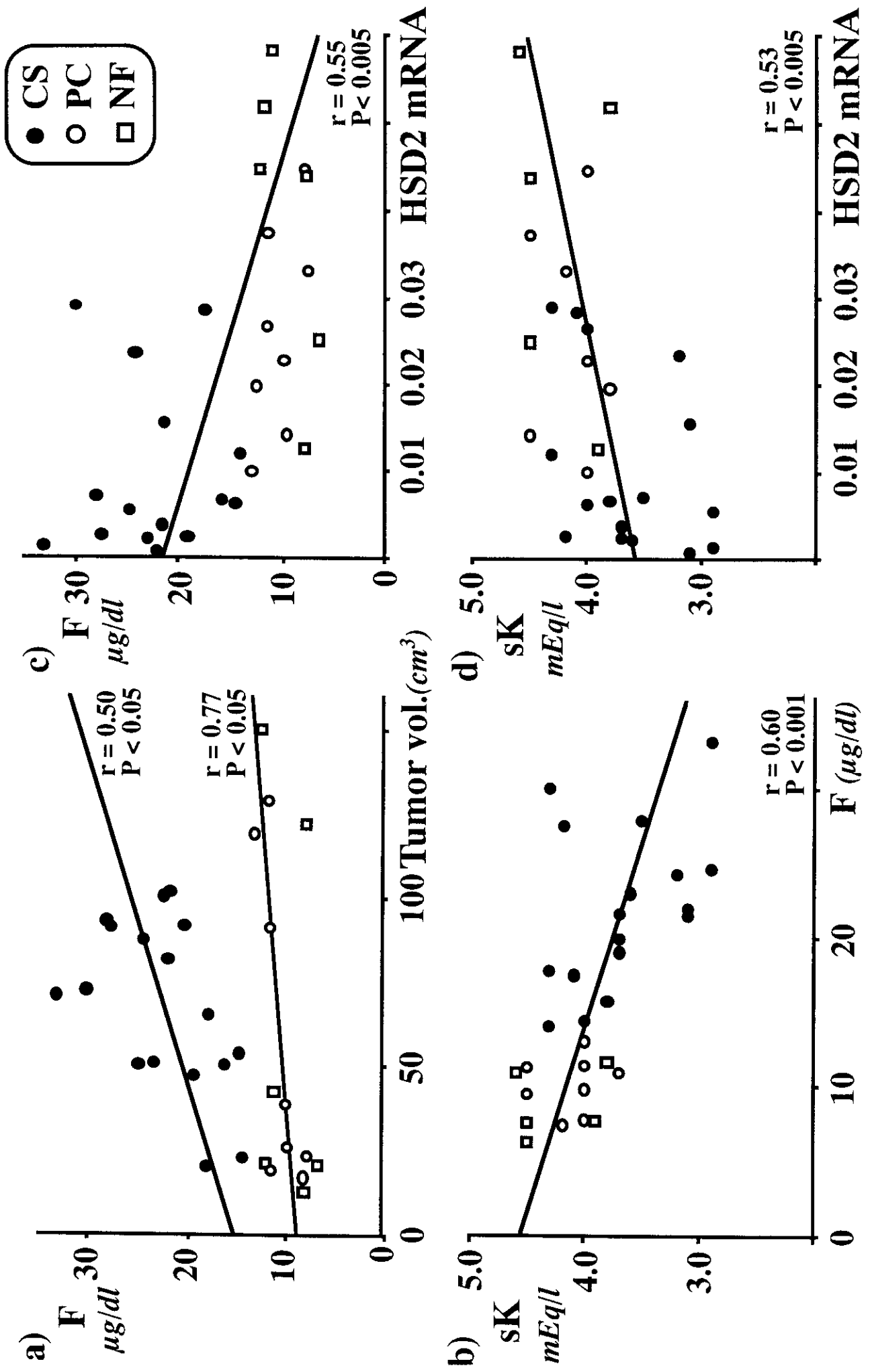
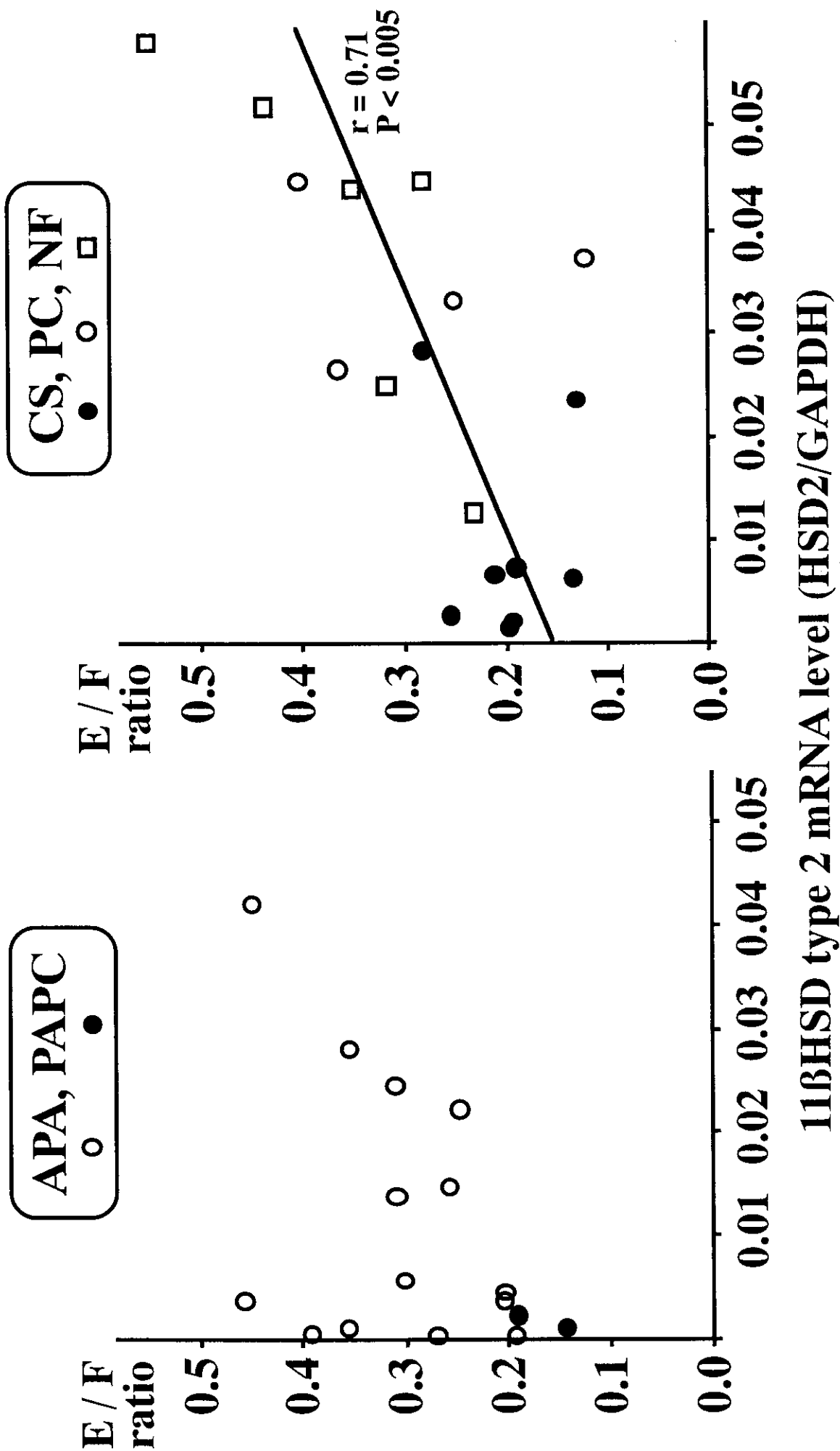


Fig. 3 腫瘍中HSD2発現レベルと血中cortisone/cortisol比との関連



下垂体組織における 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase の発現に関する免疫組織化学的検討

下条正子、土田恭代、薬師寺史厚、上芝元、宮地幸隆
東邦大学医学部第一内科

研究要旨

11 β -hydroxysteroid dehydrogenase はコルチゾールとコルチゾンの相互変換をする酵素で、type1, type2 の二つの isoform がある。下垂体にも 11 β -HSD1 が存在することが知られており、同じく下垂体に glucocorticoid receptor (GR) が存在していることから、下垂体内で 11 β -HSD1 によりコルチゾンから変換されたコルチゾールは、GR に結合して作用することが推測される。ACTH 産生細胞についてのみをみると、正常ヒト下垂体の ACTH 産生細胞には 11 β -HSD1 の存在が認められなかった一方、Cushing 病の ACTH 産生腫瘍には 11 β -HSD1 が発現していた。コルチゾンをコルチゾールに変換する 11 β -HSD1 が ACTH 産生腫瘍に発現することと、Cushing 病のグルココルチコイドによる視床下部-下垂体系へのネガティブフィードバック異常との関連が示唆される。

また、今回、正常下垂体には 11 β -HSD1 のみでなく 11 β -HSD2 も発現していることが明らかになり、コルチゾールの作用を局所でコントロールしている可能性が示唆される。

A. 研究目的

11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD) はコルチゾールとコルチゾンの相互変換をする酵素で、コルチゾールとコルチゾンの相互変換する 11 β -HSD type1 (11 β -HSD1) と、コルチゾールをコルチゾンに変換する 11 β -HSD type2 (11 β -HSD2) が知られている。11 β -HSD1 は肝臓などのグルココルチコイドの標的組

織に存在し、主としてコルチゾンをコルチゾールに変換する reductase として作用する。11 β -HSD1 は肝臓以外に、副腎、下垂体などグルココルチコイド産生に関与する組織にも存在することが報告されている。11 β -HSD2 は腎臓などミネラルコルチコイドの標的組織に存在し、ミネラルコルチコイドレセプターにアルドステロンに対する選択性をあたえる役割を

果たしている。ミネラルコルチコイドの標的組織以外に、ミネラルコルチコイドの標的組織ではないと考えられる副腎にも 11β -HSD2 が発現していることが報告されている。

下垂体に 11β -HSD1 が存在する意義については明らかにされていないが、視床下部-下垂体-副腎系のグルココルチコイドによるネガティブフィードバックに影響を与えているのではないかと推察される。 11β -HSD1 によって増加したコルチゾールは GR に結合して作用するため、正常下垂体における GR の発現と、正常下垂体の ACTH 産生細胞および Cushing 病の ACTH 産生腫瘍における 11β -HSD1 の発現を、免疫組織学的に検討した。

副腎に 11β -HSD1 と 11β -HSD2 の両者が存在していることから、下垂体にも 11β -HSD2 が存在している可能性が考えられ、正常下垂体における 11β -HSD2 の発現を、免疫組織学的に検討した。

B. 研究方法

(1) 検体

正常ヒト下垂体は、Queen Elizabeth Hospital, Department of Pathology (英国 Birmingham) より供された標本を用いた。ACTH 産生下垂体腺腫の検体は、東邦大学大森病院で経蝶形骨洞下垂体腺腫摘出術を受けた Cushing 病の患者の病理標本を用いた。

(2) 免疫組織化学染色

1) ホルマリン固定後パラフィン包埋した

切片を、脱パラフィンの後、0.1M citric buffer と共に圧力鍋にて前処理を行った。以下の操作はすべて室温で行った。

2) 11β -HSD1, 2 の染色

内因性のペルオキシダーゼを block した後、一次抗体として、ヒツジ抗 11β -HSD1 または 2 抗体を一時間反応させた。二次抗体として、ペルオキシダーゼ結合抗ヒツジ抗体を 30 分反応させた。発色の後にヘマトキシリンで核を染色した。蛍光染色では、

二次抗体としてアルカリホスファターゼ結合抗ヒツジ IgG 抗体を 30 分反応させ、Vector Red で発色させた後、純エタノールで洗浄し、bisBENZIMIDE で核を染色した。

3) ACTH の染色

一次抗体として、マウス抗 ACTH 抗体を一時間反応させた。二次抗体として、アルカリホスファターゼ結合ウサギ抗マウス抗体を 30 分反応させた。発色の後にヘマトキシリンで核を染色した。蛍光染色では、二次抗体として FITC 結合抗マウス IgG 抗体を 30 分反応させた後、bisBENZIMIDE で核を染色した。

4) glucocorticoid receptor (GR) の染色

内因性のペルオキシダーゼを block した後、一次抗体として、ウサギ抗 GR 抗体を一時間反応させた。二次抗体として、ペルオキシダーゼ結合抗ウサギ抗体を 30 分反応させた。発色の後にヘマトキシリンで核を染色した。

C. 研究結果

(1) 正常下垂体

正常下垂体には 11β -HSD1 の発現が認められ、連続した切片の同一の細胞に GR の発現も認められた。 11β -HSD1 陽性の細胞と連続した切片の同一の細胞に、ACTH は発現しておらず、 11β -HSD1 が発現しているのは ACTH 産生細胞以外と考えられる。蛍光抗体を用いた二重染色でも、ACTH 産生細胞には 11β -HSD1 は発現していなかった。

なお、正常下垂体には 11β -HSD2 の発現も認められた。

(2) ACTH 産生下垂体腺腫

ACTH 産生下垂体腺腫の標本で、連続した2枚の切片を ACTH と 11β -HSD1 で染色すると ACTH 陽性の部分は 11β -HSD1 も陽性であった。

蛍光抗体を用いた二重染色でも、ACTH 陽性の細胞は 11β -HSD1 も陽性であった。

D. 考察

通常 11β -HSD1 はコルチゾンを活性型のコルチゾールに変換する方向に働くと考えられている。

正常な下垂体では 11β -HSD1 が発現している細胞に GR の発現も同時に認められ、 11β -HSD1 によって増加したコルチゾールが GR に結合して作用するのに都合がよいものと考えられる。

正常下垂体の細胞の中で、ACTH 産生細胞には 11β -HSD1 は発現していないが、ACTH 産生下垂体腺腫では 11β -HSD1 が

発現し、腎臓などに由来するコルチゾンを、腫瘍内という局所でコルチゾールに変換し、コルチゾールの濃度を上昇させる方向に働いているのではないかと考えられる。ACTH 産生下垂体腺腫で 11β -HSD1 が発現するようになった理由は今後の検討課題である。

一般的なミネラルコルチコイドの標的組織ではないのに 11β -HSD2 の発現が認められる組織としては胎盤が知られているが、下垂体もそうした組織の一つである可能性が示された。

E. 結論

正常な下垂体の ACTH 産生細胞には 11β -HSD1 は発現していないが、ACTH 産生下垂体腫瘍では、ACTH と同時に 11β -HSD1 も発現しており、Cushing 病のグルココルチコイドによる視床下部-下垂体系へのネガティブフィードバック異常との関連を示唆した。また、正常下垂体には 11β -HSD2 が発現していることが示されたが、その意義については今後の検討が必要である。

下垂体には 11β -HSD1 および 11β -HSD2 が発現し、コルチゾールの作用をコントロールしている可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Masako Shimojo, Marie L. Ricketts, Massimiliano D. Petrelli, Phillip Moradi, Gerald D. Johnson, A. R. Bradwell, Martin Hewison, Alexander J. Howie,

Paul M. Stewart ; Immunodetection of 11β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human mineralocorticoid target tissues: Evidence for nuclear localization ; *Endocrinology*, 138, 1305-1311, 1997

2) 下条正子、宮地幸隆；ヒト 11β -hydroxysteroid dehydrogenase type2 (11β -HSD 2) の細胞内における局在：ホルモンと臨床、46 増刊号、115-118、1998

3) 下条正子、土田恭代、宮地幸隆；ヒト下垂体 corticotrophs における 11β -hydroxysteroid dehydrogenase (11β -HSD) type1 の発現に関する免疫組織学的検討：ホルモンと臨床、48 増刊号、186-187、2000

2.学会発表

1) 下条正子、宮地幸隆； 11β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11β -HSD2) の各種ヒト組織における局在；第4回日本内分泌学会ステロイドホルモン分科会、東京、1996.11

2) 下条正子、宮地幸隆； 11β -hydroxysteroid dehydrogenase Type II の mineralocorticoid target tissue とその他の組織における局在；厚生省特定疾患内分泌系疾患調査研究班分科会副腎ホルモン産生異常症調査研究班平成8年度公開講座、東京、1996.12

3) 下条正子、上芝元、宮地幸隆； 11β -hydroxysteroid dehydrogenase2 の分布および活性調節；第5回日本内分泌学会ステロイドホルモン分科会、東京、1997.11

4) 下条正子、宮地幸隆；ヒト 11β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11β -HSD 2) の細胞内における局在；厚生省特定疾患内分泌系疾患調査研究班分科会副腎ホルモン産生異常症調査研究班平成9年度公開講座、東京、1997.12

5) 下条正子、土田恭代、宮地幸隆；ヒト下垂体 corticotrophs における 11β -hydroxysteroid dehydrogenase (11β -HSD) type1、type2 の発現に関する免疫組織学的検討；第7回日本内分泌学会ステロイドホルモン分科会、東京、1999.11

(4) 副腎腫瘍

アンドロゲン産生副腎皮質癌のステロイド産生能

西川哲男¹⁾、齋藤 淳¹⁾、小澤安則²⁾、大村昌夫³⁾、関原久彦³⁾
横浜労災病院内科¹⁾、虎の門病院内分泌内科²⁾、横浜市立大学第三内科³⁾

研究要旨

アンドロゲン産生副腎皮質癌 2 例で臨床検査成績と、In vitro での比較検討を行い、極めて稀な本疾患のステロイド産生能並びにその特徴を明確にした。これらの検討の結果、

1.ステロイド産生調節に、ACTH あるいは HCG 刺激が関与する。

2.P-450scc の低下。

3.P-450c17 の低下。

4.P-450c21 の低下。

5.3 β -HSD の低下ないし不変。

であり、アンドロゲン産生副腎皮質癌のアンドロゲン自律産生機構の原因となる酵素偏奇性が存在していることが判明した。

したがって、アンドロゲン産生副腎皮質癌症例の臨床検査値を解釈するうえで、これらの酵素異常の存在と副腎由来のアンドロゲンが ACTH あるいは HCG 支配されている点に注意が必要である。

A. 研究目的

副腎皮質癌は比較的稀な疾患で予後不良と考えられているが、内分泌学的にはクッシング症候群を呈するグルココルチコイド産生腫瘍が主とされ、そのステロイド産生とステロイド合成酵素発現の特徴が検討されてきた。しかし、アンドロゲン産生亢進を呈する副腎皮質癌については生化学的或いは生物学的特徴の検討は全くなされていない。そこで今回経験した副腎皮質癌 2 症例の腫瘍組織を用いてその特徴と臨床診断の際の注意点を明らかにした。

B. 研究方法

対象症例：術前の内分泌学的検査によりアンドロゲン産生腫瘍と診断され、摘出後の病理学的検討により副腎皮質癌と診断された 2 症例。

方法：1) 腫瘍組織の各種ステロイドホルモン含量：摘出腫瘍の pregnenolone (Prog), 17OH-pregnenolone (17OH-
Prog), DHEA, DHEA-S, androstenedione (A-dione),

progesterone (Prog), 17OH-progesterone (17OH-
Prog), DOC, 18OH-DOC, corticosterone (B), aldosterone (Ald), 11-deoxycortisol (DOF), cortisol (F), cortisone, testosterone (T)について定量し、組織重量あたりで比較検討した。

2) 腫瘍組織の酵素活性：ホモジナイズした摘出腫瘍よりマイクロゾーム分画を調製し、標識した Preg と 17OH-Prog を基質として反応させ、産生された DHEA 或いは DOF により 17-hydroxylase または P450c21 の酵素活性を評価した。

3) 腫瘍細胞のステロイド産生能：コラゲナーゼにて分離した初代培養細胞を以下の条件で 2 時間培養し、培養上清中に放出されるステロイドを定量することでステロイド合成経路を比較検討した。3-a) 基質として遊離コレステロール (20 μ M)・pregnenolone (5 μ M)・健常人より分離精製した LDL 又は HDL (40mg cho./dl) を培養液中に添加し、ACTH (10⁻⁹M) 刺激下および非刺激下にて反応させた後に培養上清

中のcortisol, DHEA, testosterone量を測定した。3-b) hCG 刺激下および非刺激下で養上清中のcortisol, testosterone産生量を比較した。

4) Sulfotransferase 活性：腫瘍細胞から調製した細胞質分画を用いて、PAPS 存在下で DHEA を基質として生成される DHEA-S を定量し酵素活性を評価した。

5) DHEA-ST 発現量：腫瘍細胞から total RNA を調製し Northern blot にて発現量を評価し、正常副腎と比較検討した。

C. 研究結果

1) 腫瘍の臨床的内分泌活性(術前の検討)：症例1はDHEA-Sと17-KSの高値およびデキサメサゾンによる抑制の欠如から、腫瘍による自立性のアンドロゲン産生が認められた。症例2はデキサメサゾンによる抑制を認めないcortisolとtestosterone、17-KSの高値を認め、Cushing症候群にアンドロゲン産生を合併した例と考えられた。(表1)

2) 腫瘍組織の各種ステロイドホルモン含量：正常副腎皮質に比して2症例ともPreg, 17OH-Preg, Prog, 17OH-Progの著増が認められた。これよりProgからDOCおよび17OH-ProgからDOFへの代謝酵素であるP450c21活性低下或いは、17OH-PregからDHEAと17OH-ProgからAndioneへの代謝酵素であるP450c17活性低下が示唆された。(表2-1、2-2)

3) 腫瘍組織のステロイド合成酵素活性：17-hydroxylaseの酵素活性は2症例とも正常組織の約2%といずれも著明な酵素活性低下を認めた。P450c21酵素活性についても低下が認められ、症例1で正常組織の約10%、症例2で約30%に低下していた。(表3)

4) 培養腫瘍細胞のステロイド産生能：ステ

ロイド合成の基質となる遊離コレステロールまたはLDL・HDLを添加した際のF産生量を定量しコントロールと比較検討したが、その増加量は低値であった。しかしステロイド合成の中間代謝産物であるPregを基質とした際のF産生量には著しい増加反応が認められた。この解離現象はDHEA-SあるいはT産生量の検討でも同様であり、2症例に共通して認められた。従ってステロイド合成経路のうちコレステロール転送あるいはP450scc酵素の障害が示唆され、3 β -HSDおよびP450c11は正常の活性を有すると考えられた。更に症例2ではhCG添加によりF産生とT産生の増加が認められ、腫瘍にhCGレセプターが存在しステロイド合成を誘導すると考えられた。(表4)

5) Sulfotransferase 活性：症例1の解析では、 $K_m=1.01$ (Normal 0.082)、 $V_{max}=0.644$ (Normal 0.276)であり、基質に対してaffinityが低い酵素が比較的大量に発現している腫瘍と考えられた。

6) DHEA-ST 発現量：症例1でDHEA-STのmRNA発現量について β -actinを内部コントロールとして正常組織と比較検討した。Northern blot法では腫瘍組織の発現量は正常副腎組織の約40%であり十分な発現量が認められた。

D. 考案

副腎皮質癌は小児ではアンドロゲン産生過剰による男性化徴候を示し比較的予後良好な例が多いとされている。一方成人の副腎皮質癌はグルココルチコイドおよびアンドロゲンの両者を過剰産生する例が多く予後は不良と考えられている。そこでアンドロゲン産生副腎皮質癌のステロイド合成の特徴を明らかにすることが腫瘍の悪性度や予後推定に役立つと考えられ、本研究ではin vitroにおける腫瘍組織の検討からその特徴を明らかにした。本研究で示された特徴

は、1)P-450scc の低下、2)P-450c17 の低下、3).P-450c21 の低下、4).3-HSD の低下ないし不変、5)ACTH に対する低反応と hCG 応答性であった。即ち、本腫瘍は副腎皮質由来でありながらテロイド合成酵素に偏倚性を有し、ACTH に対する応答性が低くステロイド分泌に自律性を示すことが特徴であり、更に正常副腎では認められない hCG 応答性は hCG レセプターの異常発現に由来すると考えられた。従って本腫瘍の発症・進展にはステロイド合成酵素の遺伝子異常と異常レセプターの発現が関与すると考えられ、今後はこれらステロイド合成酵素の遺伝子検索などが必要と思われた。

E. 研究発表

(1) 論文発表

1. 大村昌夫、飯塚孝、西川哲男：原発性アルドステロン症(APAとIHA). 血圧 7(1)：21-26, 2000
2. Tetsuo Nishikawa, Sachiko Suematsu and Masao Omura : Role of lipoprotein lipase in regulation of adrenal steroidogenesis. 2000Proc Yamada Conference LII on Molecular Steroidogenesis, Nara, Japan, p275-6, 2000
3. 西川哲男：副腎クリーゼ. JIM 10(4)：346-349, 2000.
4. 西川哲男：原発性アルドステロン症. JIM 10(4)：350-352, 2000.
5. 西川哲男、大村昌夫：内分泌クリーゼ、e 副腎クリーゼ. 臨床医 vol.26 (増刊号)：1372-1375, 2000.
6. T. Nishikawa, S. Suematsu and M. Omura : Role of adrenal steroidogenesis. in "Molecular Steroidogenesis" edited by M. Okamoto, Y. Ishimura and H. Nawata:p275-276, 2000
7. D. Uchida, I. Tatsuno, S. Nakamura, Y. Noguchi, J. Saito, T.

Tanaka, Y. Saito, N. Saeki and T. Nishikawa : Glucocorticoid-dependency on GH secretion and tumor growth in a GH-producing pituitary adenoma with Cushing's syndrome. Endocrine J 47 (suppl)：69-71, 2000

8. A. Tashiro, H. Sasano, T. Nishikawa, N. Yabuki, Y. Muramatsu, M.W. Coughtrie, H. Nagura and M. Hongo : Expression and activity of dehydroandosterone sulfotransferase in human gastric mucosa. J Steroid Biochem & Molec Biol 72 : 149-154, 2000
9. T. Nishikawa and M. Omura : Clinical characteristics of primary aldosteronism : its prevalence and compatative studies on various causes of primary aldosteronism in Yokohama Rosai Hospital. Biomed Pharmacother 54 Suppl 1:83s-85s, 2000

(2) 学会発表

1. 大村昌夫、飯塚孝、関原俊彦、西川哲男：2次性高血圧症のスクリーニング法の検討. 第4回日本心血管内分泌代謝学会、2000年11月24-25日、大阪コンベンションセンター(大阪)
2. 堀江篤哉、大村昌夫、小林照宗、阿部剛、櫻井健一、石塚俊治、河村俊治、田代征夫、村山繁雄、飯塚孝、西川哲男：高齢者ACTH単独欠損症の1剖検例. 第11回CRH・ACTH研究会、2000年3月25日、東京経団連会館(東京)
3. 石塚俊治、大村昌夫、櫻井健一、西川哲男、飯田佐貴子、中島淑人：ヒト血中オレキシン濃度の測定. 第10回臨床内分泌代謝 Update、2000年3月17-18日、高松商工会議所(高松)

4. 大村昌夫、小林照宗、堀江篤哉、櫻井健一、石塚俊治、飯塚孝、西川哲男：原発性アルドステロン症における副腎静脈採血法の重要性についての検討。第10回臨床内分泌代謝 Update、2000年3月17-18日、高松商工会議所（高松）
5. 小林照宗、大村昌夫、堀江篤哉、櫻井健一、石塚俊治、飯塚孝、西川哲男：末端肥大症、甲状腺乳頭癌、原発性アルドステロン症を合併した多内分泌腺腫瘍症と考えられる2例。第10回臨床内分泌代謝 Update、2000年3月17-18日、高松商工会議所（高松）
6. 櫻井健一、大村昌夫、小林照宗、堀江篤哉、石塚俊治、飯塚孝、西川哲男：TSH-GH 産生下垂体腺腫瘍摘出後に破壊性甲状腺炎を合併した1例。第10回臨床内分泌代謝 Update、2000年3月17-18日、高松商工会議所（高松）
7. 末松佐知子、大村昌夫、飯塚孝、西川哲男：リポ蛋白による副腎ステロイド産生調節機構。第73回日本内分泌学会学術総会、2000年6月16-18日、国立京都国際会館（京都）
8. 大村昌夫、末松佐知子、飯塚孝、西川哲男：副腎腫瘍組織 DHEA スルフォトランスフェラーゼ活性の比較検討。第73回日本内分泌学会学術総会、2000年6月16-18日、国立京都国際会館（京都）
9. 西川哲男：シンポジウム「外科的内分泌疾患の診療上の問題点」-副腎「副腎偶発腫瘍をどう扱うか」。第12回日本内分泌外科学会総会、2000年6月27-28日、日本都市センター（東京）
10. Nishikawa T, Omura M, Iizuka T, Ito H and Saito J: Incidence of primary hyperaldosteronism among hypertensive patients in Yokohama Rosai Hospital, Japan. 11th International Congress of Endocrinology、2000年10月29日-11月2日、Sydney (Australia)
11. Omura M, Kobayashi T, Saito J, Ito H, Iizuka T, Sasano H, Hai N, Kosugi S and Nishikawa T: Combination of acromegaly, papillary thyroid carcinoma and primary aldosteronism is possibly a new form of MEN. 11th International Congress of Endocrinology、2000年10月29日-11月2日、Sydney (Australia)
12. Tetsuo Nishikawa, Sachiko Suematsu, Masao Omura: Lipoprotein-induced steroidogenesis is regulated by Ca^{2+} in bovine adrenal fasciculata-reticularis cells. The Endocrine Society's 82nd Annual Meeting (USA)、2000年6月21-24日、Toronto (Canada)
13. 西川哲男：シンポジウム「副腎偶発腫瘍の診断と治療指針」-副腎偶発腫瘍の内分泌機能。第8回日本ステロイドホルモン学会総会、2000年11月25日、大阪国際交流センター（大阪）
14. 大村昌夫、齋藤淳、伊藤浩子、西川哲男、向笠浩司、関原久彦、笹野公伸：原発性アルドステロン症での血中18-OH-B 濃度の検討。第8回日本ステロイドホルモン学会総会、2000年11月25日、大阪国際交流センター（大阪）
15. 西川哲男、末松佐知子、飯塚孝、伊藤浩子、齋藤淳、：リポ蛋白による副腎皮質 StAR 蛋白発現調節。第8回日本ステロイドホルモン学会総会、2000年11月25日、大阪国際交流センター（大阪）

(表 1)

	F	Ald	DHEA-S	T	17-OHCS	17-KS	Dexa. 抑制テスト (1 mg)	
	($\mu\text{g}/\text{dl}$)	(ng/dl)	(ng/ml)	(ng/ml)	(mg/day)	(mg/day)	ACTH (pg/ml)	F
症例 1	13.6	9.4	10700	3.6	8.4	37.7	1.5	5.9
症例 2	10.8	5.7	104.9	2.02	6.31	14.7	6	12.7

(表 2-1)

	Preg	17OH-Preg	DHEA	DHEA-S	A-dione	Prog	17OH-Prog	DOC
正常	188.4	109.7	1513.5	5534.6	173.4	203.3	168.6	37.6
	± 30	± 10	± 829	± 1221	± 59	± 126	± 111	± 18
症例 1	2920	1900	982	2000	99.4	604	1920	0.4
症例 2	2940	1884	2500	2020	456	1460	1140	21.4

(表 2-2)

	18OH-DOC	B	Ald	DOF	F	cortisone	T
正常	129.9	307.5	5323.8	160.9	2143	177.2	n.d.
	± 43	± 209	± 1136	± 104	± 646	± 49	
症例 1	17.6	252	5000	408	2000	131.2	71.2
症例 2	22.2	278	5000	1296	2560	202	79.6

(Ald の単位は $\text{pg} / \text{g tissue}$ 、それ以外は $\text{ng} / \text{g tissue}$ 、正常 : $n=5$, Mean \pm SE で表示)

(表 3)

	17-hydroxylase	P450c21
	($\text{nmol}/\text{mg protein}/2\text{min}$)	($\text{nmol}/\text{mg protein}/2\text{min}$)
正常	1.82 ± 0.10	2.09 ± 0.26
症例 1	0.03 ± 0.01	0.21 ± 0.19
症例 2	0.02 ± 0.01	0.62 ± 0.20

(表 4)

Stimulation	Substrate	症例 1		症例 2	
		F ($\text{ng}/10^4 \text{ cells}/2\text{h}$)	DHEA-S ($\text{ng}/10^4 \text{ cells}/2\text{h}$)	F ($\text{ng}/10^4 \text{ cells}/2\text{h}$)	T ($\text{ng}/10^4 \text{ cells}/2\text{h}$)
(-)	(-)	0.35	32	0.20	1.02
(-)	LDL	0.65	18	0.21	1.43
(-)	HDL	0.74	29	0.19	1.14
(-)	25-OH Cho.	0.38	30	0.30	1.42
(-)	Preg	2.31	52	0.65	1.75
ACTH	(-)	0.91	38	0.34	0.91
ACTH	LDL	0.33	22	0.28	1.12
ACTH	HDL	0.78	39	0.25	0.90
HCG (500IU)	(-)	nd	nd	0.22	1.38
HCG (1000IU)	(-)	nd	nd	0.31	0.61

ACTH = 10^{-8}M , LDL = $40\text{mg cho.}/\text{dl}$, HDL = $40\text{mg cho.}/\text{dl}$, 25-OH Cho. = $20\mu\text{M}$, Preg = $5\mu\text{M}$

褐色細胞腫に対する腹腔鏡手術

三宅 修・奥山明彦

大阪大学大学院医学系研究科臓器制御医学 器官制御外科学（泌尿器科学）

研究要旨

副腎褐色細胞腫 5 例に対して腹腔鏡手術を行いその有用性を検討した。術前十分な降圧療法により入院中に輸血を行った症例はなく、手術時間 244 分、出血量 231ml、術後在院日数は 12.2 日であった。術中高血圧については phentolamine の使用で 1 例を除き 200mmHg 以下にコントロール可能であった。本術式は褐色細胞腫症例に対しても開放手術と同等に安全で、侵襲の少ない有用な治療法であると考えられた。

A. 研究目的

腹腔鏡手術が副腎腫瘍に対して施行されはじめた当初、褐色細胞腫は適応外とする意見があったが、最近、開腹手術と同等の成績を得られるとする報告も見られる。我々も現在まで副腎良性腫瘍に対して 60 例の腹腔鏡手術を行ってきたがこのうちの 5 例が褐色細胞腫であった。この 5 例の治療成績から褐色細胞腫に対する腹腔鏡手術の有用性を検討した。

B. 研究方法

当科では 1992 年より 2000 年 12 月末までに 60 例の腹腔鏡下副腎腫瘍切除術を行っている。うち 5 例の褐色細胞腫症例は、年齢 45-65 歳（平均 54.4）、男 1 女 4 例、右 4 左 1 例、腫瘍最大径 3-4cm（平均 3.7）で症状発現から手術までの期間は 1.5-17 年（平均 8.1 年）であった。右症例には経腹膜的前方、左症例では経後腹膜的側方到達法を用いた。術前の合併症として 1 例に軽度腎動脈瘤、1 例に MEN type2 を認めた。術中の血圧変動、術後経過について検討した。（倫理面での配慮）術前に患者に対して十分なインフォームドコンセントを得て本術式を施行した。

C. 研究結果

5 例の臨床症状として多いものでは、動悸、多汗が 3 例に、易疲労感が 2 例に見られ、その他表 1 のような症状が見られた。最初の症状出現から手術に至るまでの期間は平均 8.1 年ではなかに 15, 17 年と非常に長期に及ぶ症例もあった。手術方法としては患者は患側を上とする側臥位として全身麻酔で行った。右症例の経腹膜的前方到達法では図 1 のように 4 本のトロッカーを置いて肝下面の後腹膜を切開し右副腎に直接アプローチした。左症例の経後腹膜的側方到達法は後腋下線上に第一トロッカーを置き、バルーンで後腹膜腔に 700ml 程度の操作腔を作成して、中腋下線上に 2 本、前腋下線上に 1 本のトロッカーを追加し左腎を乗り越え側方から左副腎に到達した。前者の方法による 4 例の手術時間は 220 分、後者の 1 例は 340 分で、全体の平均手術時間は 244 分であった。出血量は 231ml、術後経口摂取までに 2.2 日、歩行までに 1.8 日、術後在院日数は 12.2 日であった。術前の血圧コントロールは表 2 のごとく $\alpha 1$ ブロッカー、 β ブロッカーを 2-12 週間用いて循環血液量を測定し手術に臨んだ。術中の血圧はおもに phentolamine を使用したが、1 例で術中最高血圧が 210mmHg と 200mmHg を超え

た。図 2 は症例 1 の術中血圧を示すが、気腹時に血圧が上昇する傾向があった。5 例中入院中に輸血を行った症例はなかった。

D. 考察

褐色細胞腫は 1986 年の竹田らの報告では高血圧患者 10 万人あたり 1.4 人となっている。本症は持続性高血圧を呈するもの 50%、発作性高血圧 45%、正常血圧 5%となっている。自験例 5 例は持続性 3 例、発作性 2 例であった。しかしながら症状発現から手術までに 15 年、17 年と非常に長期にわたったためにさまざまな重篤な症状、すなわち肺水腫による呼吸不全、痙攣発作をともなう脳梗塞をきたした症例もあり、本症に対する早期発見早期手術の重要性を一般内科医にあらためて認識してもらう必要があると思われる。さて副腎に対する腹腔鏡手術は 1992 年に日本の泌尿器科医によって開始された。開腹手術でさえも褐色細胞腫の手術は副腎手術の中でも繊細な技術を要求される難易度の比較的高い手術とされていたため当初は腹腔鏡手術の適応外とされていた。しかしその普及がすすんで褐色細胞腫に対する腹腔鏡手術の報告が 1995 年ころから散見されるようになった。我々の施設でも 1995 年に 1 例目の褐色細胞腫に対する腹腔鏡手術を行って以来現在まで 5 例の症例を経験したが、その成績から腹腔鏡手術の安全性と有用性について検討した。腹腔鏡手術では気腹という操作が加わり、腹腔内圧や循環動態に開腹手術にはない影響を及ぼすこととなる。とくに褐色細胞腫ではその影響は少ないため、我々の経験でも気腹圧 10mmHg と設定していたが、まず気腹時に全例で急激な血圧上昇を見た。術中麻酔科医師と連携しながら主に phentolamine で血圧コントロールを行うが最初に急激に上昇するタイミングが気腹時である。むしろそれ以降の腫瘍周囲の剥離の際よりこのときの上昇のほうが急である。カテコラ

ミンの分泌の程度は個人差があり、手術開始当初はどれだけの phentolamine を投与すべきか手探り状態であることもその要因であり、と思われる。一方輸血に関しては術前の血圧コントロールを循環血液量を見ながら麻酔科医師とともに行っていたこと、術中出血が少なかったことにより、入院中に輸血を必要とする症例はなかった。腹腔鏡手術における副腎への到達経路であるが、1 例左の症例で経後腹膜的側方到達法を用いたが、この経路では腎を乗り越えるかたちとなり、左腎静脈へ流入する中心静脈の処理がやや困難で、腫瘍を manipulation する機会も多くなりがちであった。やはり他の副腎腫瘍とはちがって左右とも経腹膜的前方到達法が本症には適していると思われた。手術手順としてはまず第一に中心静脈の処理ができればそれにこしたことはないが、実際にはある程度腫瘍周囲の剥離を先行させなければこれを露出するのは困難である。副腎前面、尾側、外側の剥離後に内側の血管処理を行い、全体を剥離するのがよいと思われる。この手順は開放手術でも結局同じであるが、腹腔鏡手術のほうが、術野が拡大されて細かい剥離操作も可能で開放手術よりむしろ腫瘍の manipulation の頻度は少ないと思われる。超音波メスなどの使用により細かい止血も可能で出血量は開放手術より減らすことが可能と考える。しかしながら悪性褐色細胞腫の頻度は 10%といわれ、特に腫瘍径が 5cm を超える症例ではその可能性も高く腹腔鏡手術は適応外であり従来の開放手術を選択するのがよいと思われる。腹腔鏡手術は開放手術と比べ術創がきわめて小さく筋肉を切断しないため圧倒的に術後の回復が早い。今回の症例でも全例術翌日もしくは翌々日から歩行が可能であり、10 日前後で退院が可能であった。

E. 結論

今回の検討から副腎褐色細胞腫に対しても術

前に十分な血圧コントロールを行えば、腫瘍径の比較的小さな症例では腹腔鏡手術は開放手術と同程度安全で、しかも侵襲のより少ない有用な治療法であると思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

O.Miyake, A.Okuyama

Surgical management of primary aldosteronism.

Biomed&Pharmacother 2000, 54 Suppl 1,25-31

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

2. 学会発表

吉村一宏、三宅 修、松宮清美、高原史郎、吉岡俊昭、三木恒治、奥山明彦

褐色細胞腫に対する腹腔鏡下副腎摘除術の経験。第10回日本内分泌外科学会、宇都宮、1998.

三宅 修、吉村一宏、本多正人、松宮清美、吉岡俊昭、奥山明彦

腹腔鏡下、後腹膜腔鏡下副腎摘出術の治療成績。第9回日本内分泌外科学会総会、4.30. 名古屋、1997.

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

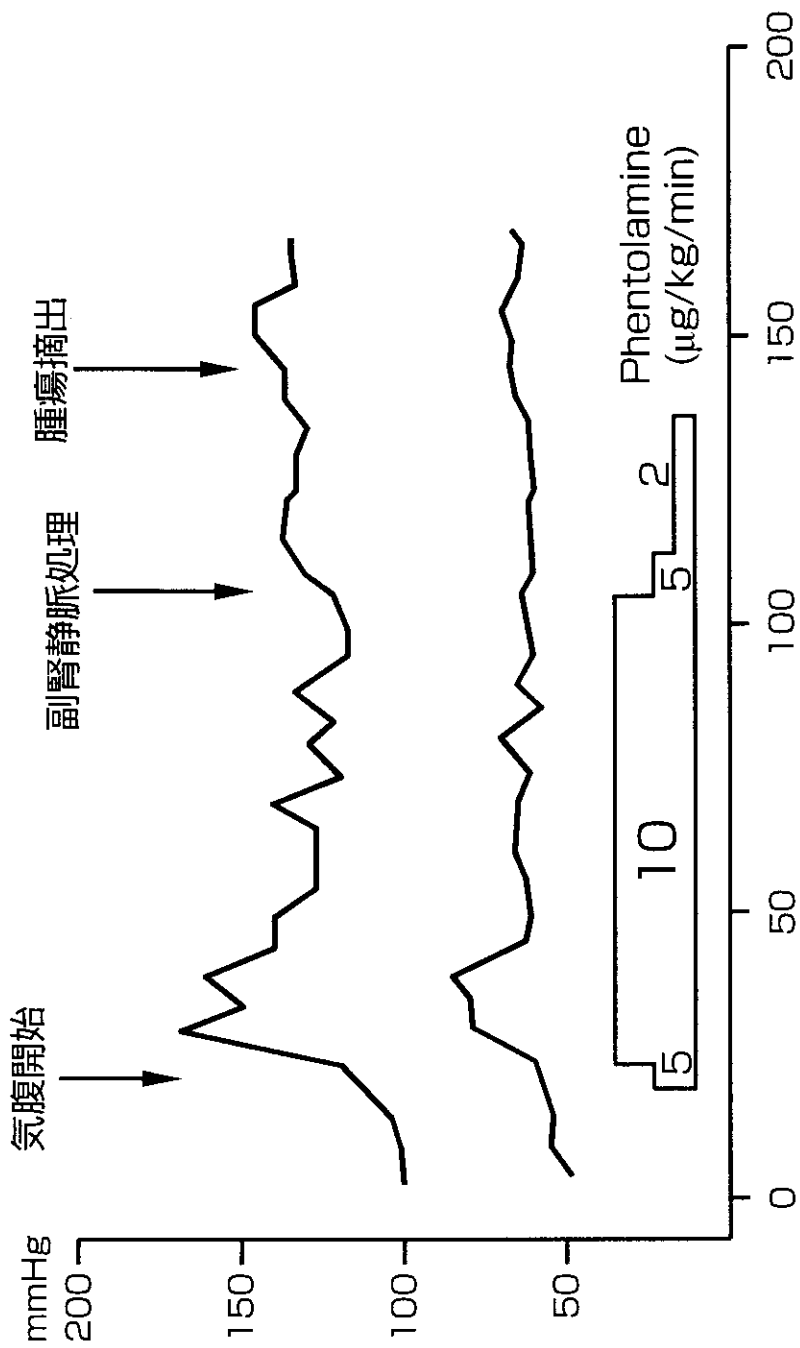


図2

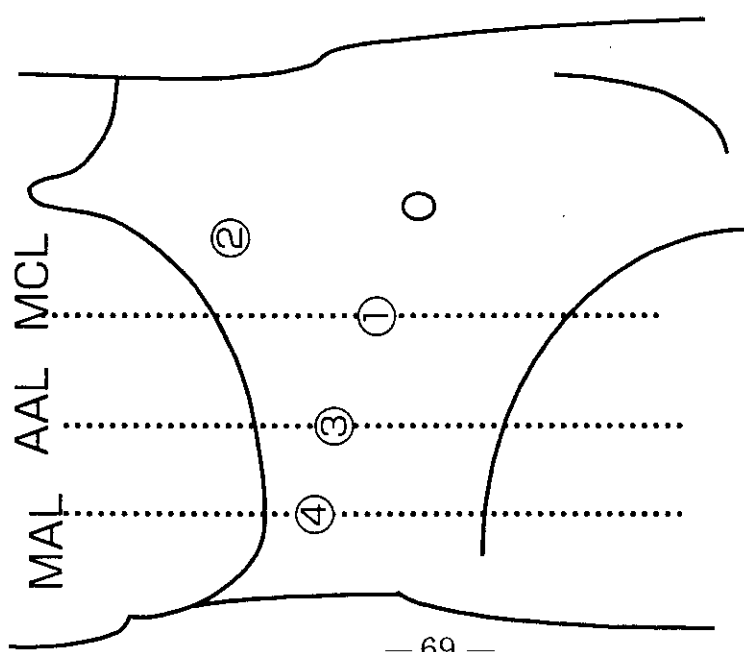


図1

症状\症例No.	1	2	3	4	5	計	薬剤	症例	No.	1	2	3	4	5
動悸	○			○	○	3	α ₁ blocker	Doxazocin Mesilate (カルデナリン)	最終1日 投与量(mg)	2	39	21	15	12
多汗		○	○		○	3			術前までの 投与日数	16	35	22	25	90
易疲労感		○			○	2			最終1日 投与量(mg)			80		40
頻脈		○				1	β blocker	Metoprolol Tartrate (セロケン)	術前までの 投与日数				11	14
体重減少		○				1			最終1日 投与量(mg)		10			
視力低下		○				1	β blocker	Carvedilol (アーチスト)	術前までの 投与日数		34			
胸痛		○				1			最終1日 投与量(mg)					
下腹痛					○	1			術前までの 投与日数					
痙攣発作					○	1	α ₁ β blocker	Amosulalol Hydrochloride (ローガン)	最終1日 投与量(mg)	20				
呼吸不全					○	1			術前までの 投与日数	30				
頸部腫瘍	○					1	循環血液量	投与前 術直前	(L)	-	3.8	3.81	4	3.07
									(L)	-	4	4.64	4.4	3.26

副腎腫瘍における Thrombospondin 発現の検討

島山 治彦、谷口 尚美、宮森 勇
福井医科大学第三内科

研究要旨

Thrombospondin 2 (TSP2) は細胞外マトリックス蛋白であり、ACTH による発現制御を受け、ウシ副腎皮質細胞の遊走化を担うことが知られている。しかし、ヒト副腎組織での発現は検討されていない。そこで正常副腎 (5 例)、アルドステロン産生腺腫 (5 例)、非機能性副腎腫瘍 (3 例)、クッシング症候群 (2 例) の各副腎組織における TSP2 ならびに ACTH 受容体の遺伝子発現を ノザン法にて検討した。その結果、正常副腎、各種副腎腫瘍組織において TSP2 の遺伝子発現が確認された。また、アルドステロン産生腺腫においてのみ TSP2 発現が正常副腎の約 3 倍に増加しており、ACTH 受容体発現量との間に正の相関を認めた。TSP2 の発現は副腎球状・束状層へ局在していることが知られている。今回の検討により、TSP2 は副腎の発生のみならずアルドステロン産生腺腫の産生機構にも関与し得ることが示唆された。

【研究目的】

Thrombospondin (TSP) は 1972 年に、血小板をトロンビンにより活性化した際に生成される糖蛋白として同定された。今日までに、ヒトでは TSP1 から TSP5 までの遺伝子構造が明らかにされている。TSP は細胞外マトリックス蛋白であり、細胞増殖、凝固・線溶系、炎症などへ関与することが知られている。一方、TSP1、TSP2 の発現はウシ培養副腎皮質細胞にも認められ、球状・束状層へ局在している。TSP2 の発現は ACTH により強く制御されており、中和抗体を用いた検討により、TSP2 は ACTH 作用として知られている副腎皮質細胞の遊走化を担っていることが明らかにされている。しかしながら、正常副腎、副腎腫瘍組織内での TSP1、TSP2 の発現は検討されていない。そこで本年度はこれらの発現を検討することでこの蛋白の副腎腫瘍化への関与について検討を行った。

【対象および研究方法】

アルドステロン産生腺腫 (5 例)、非機能性副腎腫瘍 (3 例)、クッシング産生腫瘍 (2 例) 患者の手術時に得られた各種副腎組織および腎癌の合併切築時に得られた正常副腎組織 (5 例) から、文書にて

の同意を取得後、既報の方法にて total RNA を抽出し、プローブには TSP1、TSP2、ACTH 受容体の cDNA を用い、ノザン法にてこれら 3 種の遺伝子発現を検討した。さらに、TSP2 は in vitro では ACTH によりその生成が調節されているため、ACTH 受容体発現量と TSP2 発現量との相関を検討することで生体組織内での TSP2 発現に与える ACTH 作用についても検討を行った。

(倫理面への配慮)

各種副腎組織の提供者から遺伝子解析を行うことへの同意を文書にて取得後、今回の研究を行った。

【研究結果】

TSP1 の発現はアルドステロン産生腺腫、クッシング産生腫瘍では正常副腎の約 25% に低下していたが、TSP2 の発現はアルドステロン産生腺腫でのみ約 3 倍に増加していた。非機能性副腎腫瘍における TSP1、TSP2 発現は正常副腎と同等であった (図 1 および図 2)。ACTH 受容体の発現は既報のごとく非機能性副腎腫瘍では正常副腎の約 50%、アルドステロン産生腺腫では約 1.5 倍であった (図 3)。TSP1、TSP2 の発現量と ACTH 受容体発現量との相関はア