

腎機能の低下程度で判定可能であり、偶発腫瘍の自律性ステロイド産生能の評価には Dex1mg抑制試験は極めて簡便かつ有用であることが判明した。また CS のみならず PCS、a-NFT でも自律性ステロイド産生能を有してる可能性があり手術適応の判定の基準になる分類法と考えられた。

#### E. 結論

以上の検討結果より、我々が開発した ACTH 負荷副腎採血法にて、偶発腫瘍の自律性ステロイド産生能を明確化するには対側副腎機能の抑制程度で判定可能であった。同様に、偶発腫瘍の自律性ステロイド産生能の評価には Dex1mg 抑制試験が最も簡便かつ極めて有用であることがあらためて明らかとなった。さらには、Dex1mg 抑制試験で4群に分類すると、偶発腫瘍の内CSのみならず PCS、a-NFT でも過剰ステロイド産生してる可能性が示され、手術適応の判定の基準になる臨床検査法としての分類法と考えられた。

#### F. 研究発表

##### (1) 論文発表

1. 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、「ステロイドホルモン研究の進歩 2001」. ホルモンと臨床 vol.49 (秋季増刊号) :59-61, 2001
2. 西川哲男：副腎偶発腫瘍の内分泌機能、「ステロイドホルモン研究の進歩 2001」. ホルモンと臨床 vol.49 (秋季増刊号) :28-31, 2001
3. 大村昌夫、齋藤淳、伊藤浩子、笹野公伸、向笠浩司、関原久彦、西川哲男：原発性アルドステロン症での末梢血中 15-hydroxy-corticosterone (18-H-B)濃度の検討、「ステロイドホルモン研究の進歩 2001」. ホルモンと臨床 vol.49 (秋季増刊号) :

117-119, 2001

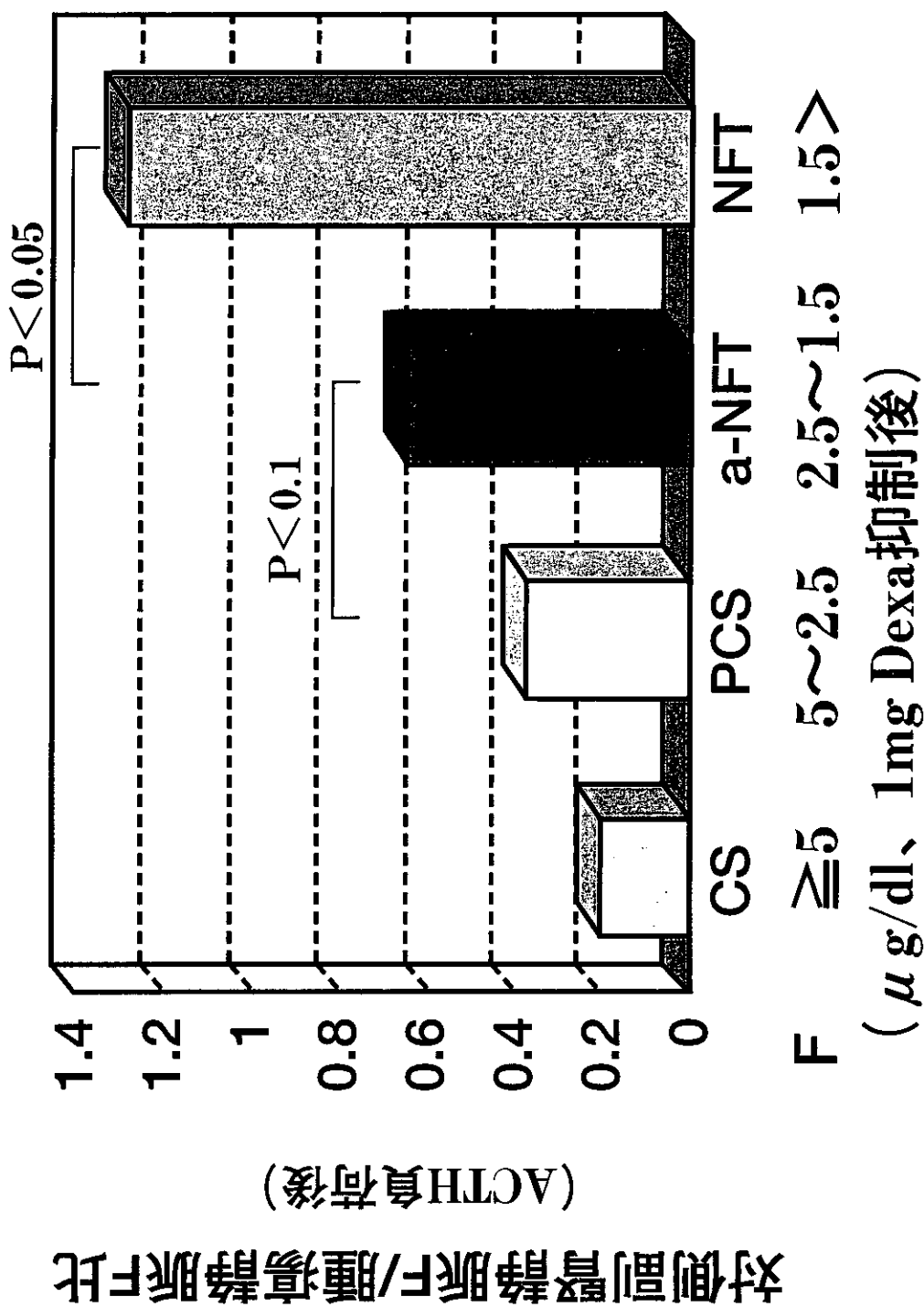
4. 西川哲男：副腎性器症候群、今日の治療指針 2002 年版：p487-489, 2001
5. 大村昌夫、西川哲男：副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)、臨床検査ガイド 2001~2002：p384-391, 2000
6. 西川哲男、齋藤淳、大村昌夫：原発性アルドステロン症. 内分泌・糖尿病科 Vol.12：230-233, 2001
7. 西川哲男、齋藤淳：副腎皮質機能低下症の治療法—併用薬剤の注意点. 臨床成人病 Vol.31：791-793, 2001

##### (2) 学会発表

1. 高取宏昌、齋藤淳、祖山暁子、伊藤浩子、飯塚孝、西川哲男：原発性アルドステロン症 (PA) 術後に高K血症を呈し、4型尿細管性アシドーシス (RTA) と考えられた一例. 第1回日本内分泌学会関東甲信越支部会、2001年2月10日、群馬大学医学部刀城会館 (前橋)
2. 齋藤淳、大村昌夫、祖山暁子、飯塚孝、伊藤浩子、西川哲男：当院で経験した ACTH 単独欠損症 8 例の臨床像. 第12回 CRH・ACTH 研究会、2001年3月24日、ぱ・る・るプラザ京都 (京都)
3. 祖山暁子、荻野淳、河村治清、齋藤淳、伊藤浩子、飯塚孝、西川哲男：副腎外腫瘍による原発性アルドステロン症の一例. 第11回臨床内分泌代謝 Update、2001年3月10-11日、都市センターホテル (東京)
4. 齋藤淳、大村昌夫、祖山暁子、飯塚孝、伊藤浩子、阿部薫、西川哲男：7年の経過にて再発し部位診断に MIBI シンチが有用であった ACTH 産生悪性傍神経節腫瘍の一例. 第11回臨床内分泌代謝 Update、2001年3月10-11日、都市センターホテル (東京)
5. 河村治清、齋藤淳、大村昌夫、祖山暁

- 子、飯塚孝、伊藤浩子、西川哲男：海綿静脈洞内への直達手術を施行した機能性下垂体腺腫六例の検討。第 11 回臨床内分泌代謝 Update、2001 年 3 月 10-11 日、都市センターホテル（東京）
6. 大村昌夫、笹野公伸、関原久彦、西川哲男：クッシング症候群、プレクッシング症候群の ACTH 負荷副腎静脈採血法によるホルモン動態の比較検討。第 11 回臨床内分泌代謝 Update、2001 年 3 月 10-11 日、都市センターホテル（東京）
  7. 向笠浩司、大村昌夫、齋藤淳、関原久彦、西川哲男：プレクッシング症候群と非機能性副腎腫瘍でステロイド産生能の比較。第 11 回臨床内分泌代謝 Update、2001 年 3 月 10-11 日、都市センターホテル（東京）
  8. 菊池泰介、大村昌夫、齋藤淳、関原久彦、西川哲男：非機能性副腎腺腫を合併した特発性アルドステロン症の臨床的検討。第 11 回臨床内分泌代謝 Update、2001 年 3 月 10-11 日、都市センターホテル（東京）
  9. 伊藤聡、大村昌夫、齋藤淳、笹野公伸、関原久彦、西川哲男：アルドステロン、コルチゾール過剰産生を認めた副腎病変の臨床的検討。第 11 回臨床内分泌代謝 Update、2001 年 3 月 10-11 日、都市センターホテル（東京）
  10. 齋藤淳、大村昌夫、祖山暁子、飯塚孝、伊藤浩子、西川哲男：副腎偶発腫瘍のステロイド産生能の評価。第 74 回日本内分泌学会学術総会、2001 年 6 月 29-7 月 1 日、パシフィコ横浜（横浜）
  11. 西川哲男：微小腺腫による原発性アルドステロン症の特徴とその診断法。第 74 回日本内分泌学会学術総会、2001 年 6 月 29-7 月 1 日、パシフィコ横浜（横浜）
  12. 石川耕、前澤善朗、祖山暁子、伊藤浩子、齋藤淳、西川哲男：心血管合併症発症に及ぼすアルドステロンの影響-当院における原発性アルドステロン症の検討から-。第 24 回日本高血圧学会、2001 年 10 月 25-27 日、大阪国際会議場（大阪）
  13. 齋藤淳、大村昌夫、祖山暁子、飯塚孝、伊藤浩子、西川哲男：非機能性副腎腫瘍の病型分類とステロイド産生能。第 9 回日本ステロイドホルモン学会総会、2001 年 11 月 17 日、都市センターホテル（東京）
  14. 末松佐知子、西川哲男、齋藤淳、西芳寛、柳瀬敏彦、名和田新：ヒト卵巣顆粒膜細胞での StAR 調節機構。第 9 回日本ステロイドホルモン学会総会、2001 年 11 月 17 日、都市センターホテル（東京）

図1 1mg Dexa抑制後F値で分類・評価した腫瘍の  
F自律産生能と対側副腎F産生能



## ヒト副腎皮質癌組織における TGF $\beta$ type II receptor 発現低下

宮地幸隆、山本奈津子、馬目聖子  
東邦大学医学部第一内科

### 研究要旨

副腎皮質癌発生のメカニズムを解明するため、ヒト副腎皮質腫瘍およびヒト副腎皮質癌細胞株における増殖抑制因子 TGF $\beta$  1 とその受容体の発現について検討した。

手術時または剖検時に得た副腎皮質癌、異所性 ACTH 産生腫瘍に伴う副腎皮質過形成組織、良性腫瘍であるコルチゾール産生副腎皮質腺腫、アルドステロン産生副腎皮質腺腫、非機能性腺腫と周囲の正常副腎皮質組織およびヒト副腎皮質癌細胞株である SW-13 より total RNA を抽出し Northern blot analysis により TGF- $\beta$  1、TGF $\beta$  type I receptor (T $\beta$ RI) および TGF $\beta$  type II receptor (T $\beta$ RII) mRNA の発現について検討した。すべての副腎皮質腫瘍、副腎皮質過形成組織、正常副腎皮質組織および SW-13 において TGF- $\beta$  1 と T $\beta$ RI の発現が認められた。しかし T $\beta$ RII は良性副腎皮質腫瘍、副腎皮質過形成組織と正常副腎皮質組織では発現が認められたが、悪性腫瘍である副腎皮質癌および SW-13 では発現が認められなかった。

Southern blot analysis では副腎皮質癌組織および SW-13 の T $\beta$ RII 遺伝子に大きな欠損や再構成を認めなかった。SW-13 について行なった T $\beta$ RII プロモーターの活性は保たれていた。副腎皮質癌組織および SW-13 における T $\beta$ RII mRNA 発現低下の機序については、イントロンやより遠位のプロモーター領域、mRNA の不安定性、点突然変異といった小さな変異などが関与していると考えられた。

### A. 研究目的

副腎皮質癌は大変稀な疾患であり副腎皮質癌発生の遺伝子レベルでの機構は解明されていない。現在までに、*IGF2*、*TP53*、*MEN1*、*CDKN2A*、*CLG4A* 遺伝子などが副腎皮質癌発生に関与する要因として研究されてきた。今回、代表的な増殖抑制因子である TGF $\beta$  に着目し、TGF $\beta$  と副腎皮質癌との関連について検討した。

TGF $\beta$  は多くの細胞の増殖を抑制する。TGF $\beta$  のシグナルを伝えるにはセリン/スレオニン活性をもつ TGF $\beta$  type I receptor (T $\beta$ RI) および TGF $\beta$  type II receptor (T $\beta$ RII) が不可欠である。TGF $\beta$  分子が T $\beta$ RII

に結合するとつづいて T $\beta$ RI が結合し、2 量体で複合体を形成すると、T $\beta$ RII が T $\beta$ RI の GS 領域をリン酸化する。リン酸化をうけた T $\beta$ RI は、自身の持つキナーゼが活性化され下位シグナルである Smad 分子をリン酸化しシグナルを核内に伝える。Smad のシグナルは細胞周期の G1 期から S 期への移行を阻止することによる増殖抑制効果や、アポトーシスによる細胞死をもたらす。

この TGF $\beta$  のシグナルに異常が起こり、TGF $\beta$  抵抗性を獲得すると細胞は自律性に増殖し細胞の癌化に寄与すると考えられている。大腸癌をはじめとして様々な細胞において、T $\beta$ RI および T $\beta$ RII の発現低下、欠失、点変異が報告され、TGF $\beta$  抵抗性に基づく癌化

を来すものとして注目されている。これまでにわたしたちはヒト甲状腺乳頭癌で、14 症例のうち 10 症例でコントロールの正常甲状腺組織に対し  $T\beta RII$  mRNA の発現が約 60% に減少していることを示した。今回、ヒト副腎癌組織およびヒト副腎皮質癌細胞株 SW-13 における  $T\beta RII$  発現低下とそのメカニズムについて検討を行った。

## B. 研究方法

### (1) 材料

副腎皮質癌、コルチゾール産生副腎皮質腺腫、アルドステロン産生副腎皮質腺腫、非機能性腺腫および周囲の正常副腎皮質組織、異所性 ACTH 産生腫瘍に伴う副腎皮質過形成組織を用いた。ヒト副腎皮質癌細胞株である SW-13 と対照としてヒト肝癌細胞株 HepG2、ヒト口腔底癌細胞株 KB、ヒト胎盤組織を使用した。各ヒト副腎皮質腫瘍組織とヒト胎盤組織は患者の同意を得て、手術時または剖検時に得られた組織を液体窒素で急速凍結し、 $-70^{\circ}\text{C}$  に保存した。

### (2) Northern blot analysis

RNA extraction kit (Pharmacia)あるいは TRIzol reagent (GIBCO BRL) を用い各ヒト副腎皮質組織、SW-13 および対照の HepG2、KB から total RNA を抽出した。total RNA 各  $10\mu\text{g}$  をナイロン膜に移し取り Random Primer DNA Labelling Kit (Takara) を用いて  $[^{32}\text{P}]\text{dCTP}$  で標識したヒト  $\text{TGF}\beta 1$ 、 $T\beta RI$ 、 $T\beta RII$  プローブとハイブリダイズし Northern blot analysis を行った。RNA 量の標準として  $\beta$ -actin あるいは GAPDH を用いた。

### (3) Southern blot analysis

DNA extraction buffer を用いヒト副腎皮

質組織および対照のヒト胎盤組織よりゲノム DNA を抽出しゲノム DNA 各  $10\mu\text{g}$  を制限酵素 EcoRI によって切断後、ナイロン膜に移し取った。また Dneasy Tissue Kit (QIAGEN)を用い SW-13 および HepG2 からゲノム DNA を抽出しゲノム DNA 各  $20\mu\text{g}$  を AfaI, AluI, BamHI, HincII, HaeIII の制限酵素によって切断後、ナイロン膜に移し取った。Random Primer DNA Labelling Kit (Takara) を用いて  $[^{32}\text{P}]\text{dCTP}$  で標識したヒト  $T\beta RII$  プローブとハイブリダイズし Southern blot analysis を行なった。

## C. 研究結果

### (1) ヒト副腎皮質組織での $\text{TGF}\beta 1$ 、 $T\beta RI$ 、 $T\beta RII$ 発現の検討

Northern blot analysis の結果、コルチゾール産生副腎皮質腺腫、アルドステロン産生副腎皮質腺腫、非機能性副腎皮質腺腫、正常副腎 (図表なし) や副腎皮質過形成ではポジティブコントロールの HepG2 と同様に  $\text{TGF}\beta 1$ 、 $T\beta RI$ 、 $T\beta RII$  の発現が認められた。一方副腎皮質癌では、 $\text{TGF}\beta 1$ 、 $T\beta RI$  の発現が認められるのに対し、ネガティブコントロールの KB cell line と同様に  $T\beta RII$  の発現は認められなかった (Fig. 1)。 $T\beta RII$  mRNA 発現低下の原因を知るためこれらの組織のゲノム DNA を用い  $T\beta RII$  遺伝子の Southern blot analysis を行った。副腎皮質癌においても、アルドステロン産生副腎皮質腺腫、非機能性副腎皮質腺腫やコルチゾール産生副腎皮質腺腫と同様のバンドを認め、 $T\beta RII$  遺伝子に大きな欠損や再構成を認めなかった (Fig. 2)。

### (2) ヒト副腎皮質癌細胞株 SW-13 での $\text{TGF}\beta 1$ 、 $T\beta RI$ 、 $T\beta RII$ 発現の検討

このようなヒト副腎癌組織での  $T\beta RII$  発現の低下と癌化の関係を明らかにするために、副腎癌は大変稀な疾患であることから、ヒト副腎皮質癌細胞株 SW-13 を用い  $T\beta RII$  発現の低下の機序を検討した。Northern blot の結果、SW-13 は  $TGF\beta 1$ 、 $T\beta RI$  の発現を認めたが  $T\beta RII$  mRNA の発現を認めなかった (Fig. 3)。 $T\beta RII$  mRNA 発現低下の原因を知るため SW-13 のゲノム DNA を用いた  $T\beta RII$  遺伝子の Southern blot analysis と  $T\beta RII$  のプロモーター活性の検討を行った。Southern blot analysis では SW-13 と HepG2 では同様のバンドを示し、ヒト副腎皮質癌組織と同様、SW-13 でも  $T\beta RII$  遺伝子の大きな欠損や再構成を認めなかった (Fig. 4)。 $T\beta RII$  のプロモーター(-1886/+317)を、SW-13 および HepG2 のゲノム DNA をもとに PCR 法によって増幅し、このプロモーター領域をルシフェラーゼ遺伝子を有する pGL3 basic の KpnI および HindIII サイトに挿入したプラスミドを作成した。このプラスミドを SW-13 および HepG2 にトランスフェクションし 24 時間後にルシフェラーゼアッセイを行なった。この結果、SW-13 のプロモーターおよび HepG2 のプロモーターは SW-13 においてほぼ同様のルシフェラーゼ活性を示した。また SW-13 のプロモーターおよび HepG2 のプロモーターは HepG2 においても同様のルシフェラーゼ活性を示し (図表なし)、プロモーター領域とこの領域に作用する転写因子は  $T\beta RII$  の mRNA 発現低下に関与しないと考えられた。

#### D. 考察

ヒト副腎皮質癌組織およびヒト副腎皮質癌細胞株 SW-13 での  $TGF\beta 1$ 、 $T\beta RI$ 、 $T\beta RII$

発現の検討をおこなった。コルチゾール産生副腎皮質腺腫、アルドステロン産生副腎皮質腺腫、非機能性副腎皮質腺腫や副腎皮質過形成といった副腎皮質良性腫瘍では  $TGF\beta 1$ 、 $T\beta RI$ 、 $T\beta RII$  の発現が認められた。一方副腎皮質癌組織および SW-13 では、 $TGF\beta 1$ 、 $T\beta RI$  の発現が認められるのに対し、 $T\beta RII$  の発現は認められなかった。 $T\beta RII$  は単独で  $TGF\beta 1$  と結合するが  $T\beta RI$  はそれのみでは  $TGF\beta$  に結合せず、 $T\beta RII$  の共存下で  $TGF\beta 1$  に結合できる。 $TGF\beta 1$  が  $T\beta RI$  および  $T\beta RII$  と結合し両者が細胞表面で複合体を形成することにより情報が伝達され、細胞周期の G1 から S 期への移行が阻害され  $TGF\beta 1$  の増殖抑制効果が示されると考えられている。このことからこの副腎皮質癌および SW-13 では  $T\beta RII$  発現の低下による  $TGF\beta$  抵抗性の獲得、すなわち  $TGF\beta 1$  による増殖抑制効果を受けないということが癌の発症に関与しているのではないかと考えられた。

$T\beta RII$  mRNA 発現低下の原因を知るためこれらの組織および SW-13 のゲノム DNA を用い  $T\beta RII$  遺伝子の Southern blot analysis を行った。副腎皮質癌および SW-13 においても、副腎皮質良性腫瘍と同様のバンドを認め、 $T\beta RII$  遺伝子に大きな欠損や再構成を認めなかった。

$T\beta RII$  mRNA 発現低下の原因として転写調節領域や転写因子の異常も考えられるため、SW-13 の全長  $T\beta RII$  プロモーターを有するプラスミドをトランスフェクションしルシフェラーゼアッセイを行なったところ、プロモーター活性は保たれており、SW-13 のプロモーター領域とこのプロモーター領域内に作用する転写因子は  $T\beta RII$  mRNA 発現低下に関与しないと考えられた。SW-13 に

における T $\beta$ RII mRNA 発現の低下はイントロンやより遠位のプロモーター領域、mRNA の不安定性、点突然変異といった小さな変異などが関与していると考えられた。

#### E. 結論

ヒト副腎皮質癌組織およびヒト副腎癌細胞株 SW-13 において T $\beta$ RII mRNA 発現低下を認め、癌化との関連が示唆された。ヒト副腎皮質癌組織および SW-13 の T $\beta$ RII 遺伝子に大きな欠損や再構成を認めず、また SW-13 の T $\beta$ RII プロモーター活性は保たれており T $\beta$ RII mRNA 発現低下の機序についてはさらなる研究が必要である。

#### F. 研究発表

##### (1)論文発表

馬目 聖子

副腎皮質腫瘍における TGF- $\beta$ 1、TGF-RI 型受容体、TGF-RII 型受容体 mRNA の発現およびゲノム DNA についての検討

東邦医学会雑誌 45: 37-42, 1998

Matoba H, Sugano S, Yamaguchi N, Miyachi Y;

Expression of Transforming Growth Factor- $\beta$  1 and Transforming Growth Factor- $\beta$  Type-II Receptor mRNA in Papillary Thyroid Carcinoma. Horm Metab Res 30: 624-628, 1998

##### (2)学会発表

79th Annual Meeting of American Endocrine Society (Minneapolis, 1997)  
Reduced expression of the type II receptor

mRNA for transforming growth factor  $\beta$  in adrenocortical carcinoma.

Matsumoto M, Matoba H, Ogome C, Hiroi N, Yakusiji F, Tsuboi K, Miyachi Y

11th International Congress of Endocrinology (Sydney, 2000)

EXPRESSION OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR  $\beta$  1 AND TRANSFORMING GROWTH FACTOR  $\beta$  TYPE I AND TYPE II RECEPTOR mRNA IN ADRENOCORTICAL TISSUES AND CELL LINES

Yamamoto N, Matsumoto M, Yoshida C, Matoba H, Sugano S, Miyachi Y

#### G. 知的所有権の取得状況

特記事項なし

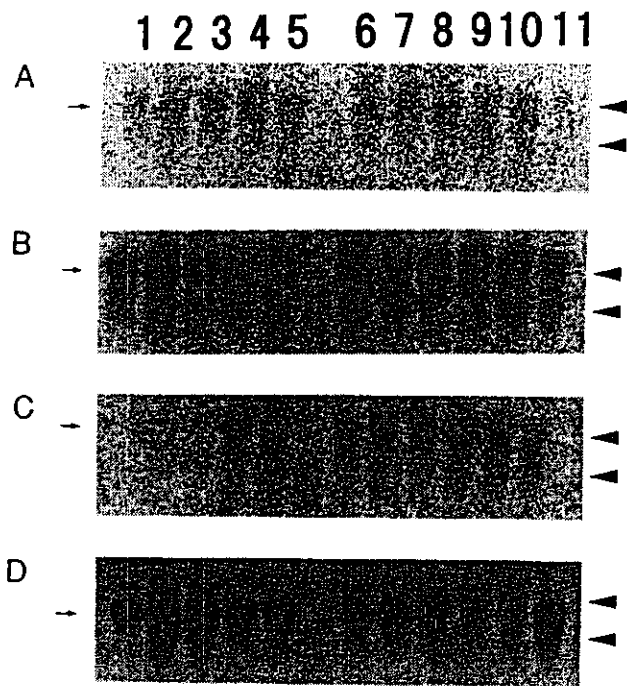


Fig. 1

Fig. 1 Northern blot analysis of the mRNA expression of TGF  $\beta$  1, and its type I and type II receptor genes in various tissues. Twenty micrograms of RNA was used in each lane.

A. hybridization with TGF  $\beta$  1 cDNA. B. hybridization with TGF  $\beta$  type I receptor cDNA. C. hybridization with TGF  $\beta$  type II receptor cDNA. D. hybridization with  $\beta$ -actin cDNA. ( $\beta$ -actin was used as an internal control.) The numbers above the lanes are as follows: 1. KB cell line; 2,3. adrenocortical carcinoma; 4,5. adrenocortical adenoma which caused Cushing's syndrome; 6. adrenocortical adenoma which caused primary aldosteronism; 7,8. non-functioning adrenocortical adenoma (incidentaloma); 9,10. hyperplastic adrenocortical tissue due to ectopic ACTH-producing carcinoid; 11. Hep G 2 cell line.

Arrows on the left side of each panel (A-D) indicate TGF  $\beta$  mRNA (2.5 kb), TGF  $\beta$  RI mRNA (2.3 kb), TGF  $\beta$  RII mRNA (5.5 kb), and  $\beta$ -actin mRNA, respectively. Arrowheads to the right of each panel indicate 28S- $\gamma$  RNA (upper) and 18S- $\gamma$  RNA (lower).

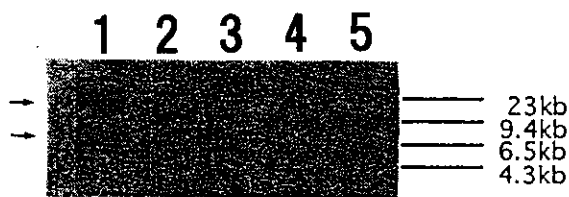


Fig. 2 Southern blot analysis of the TGF  $\beta$  type II receptor gene. Ten micrograms of genomic DNA were digested with Eco RI and electrophoresed. The numbers above the lanes are as follows:

1. human placental tissue; 2. adrenocortical carcinoma; 3. adrenocortical adenoma which caused primary aldosteronism; 4. non-functioning adrenocortical adenoma (incidentaloma); 5. adrenocortical adenoma which caused Cushing's syndrome. Arrows to the left of the panel indicate TGF  $\beta$  RII DNA.



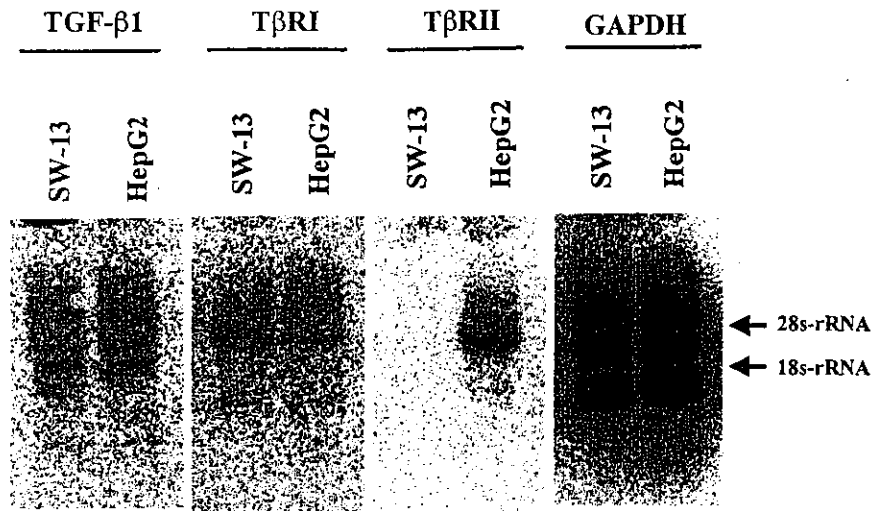


Fig. 3 Expression of the T  $\beta$  RII mRNA in SW-13

Northern Blot Analysis: Total RNA(10 $\mu$ g) from SW-13 and HepG2 cells was hybridized with human TGF  $\beta$  1, T  $\beta$  RI and T  $\beta$  RII probes. GAPDH was used to verify equal sample loading. Arrows indicate the 28s-rRNA and the 18s-rRNA bands.

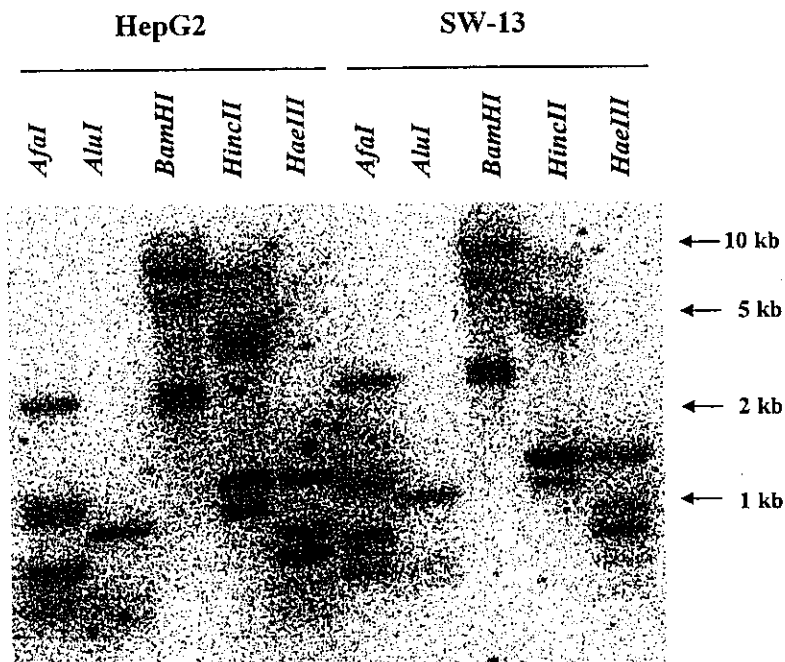


Fig. 4 Genomic organization and expression of the T  $\beta$  RII gene in SW-13

Southern Blot Analysis: genomic DNA from SW-13 and HepG2 was digested with *EcoRI*, *PstI*, *HincII*, *AfaI*, *AluI*, *BamHI*, *HaeIII* resolved by electrophoresis on 1.0%(w/v) agarose gels, and transferred onto nitrocellulose paper. Blots were hybridized with a  $^{32}$ P-labeled T  $\beta$  RII probe.

# 腹腔鏡下副腎摘出術における合併症と開腹移行症例の検討

三宅 修・吉村一宏・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

腹腔鏡下手術を行った副腎良性腫瘍症例において開腹移行および合併症発生症例について詳細に検討した。65例中2例が開腹手術に移行し、いずれも後腹膜的到達法により行なわれ、視野が不良であったこと、患者が肥満傾向で腎周囲脂肪組織が多かったこと、術者が未熟であったことから腫瘍を同定できなかった症例であった。合併症は術中出血4例、術後出血1例、術後尿溢流1例（開腹移行例）であった。開腹移行例とあわせ7例に合併症が見られたが、うち5例は術者として1回目の症例であった。Learning curveから考えて、腹腔鏡下副腎摘出術は助手としてのトレーニングを5例程度積んだ後、最初の4～5例を熟練した術者とともに経腹膜的到達法で行なうのが良いと考えられた。

## B. 研究方法

当科では1992年より2001年11月末までに65例の腹腔鏡下副腎腫瘍摘出術を行っている。平均年齢47.1歳、男28女37例で、対象疾患は原発性アルドステロン39、褐色細胞腫6、内分泌非活性腫瘍6、Cushing症候群5、骨髄脂肪腫4、神経節細胞腫2、Cushing症候群+原発性アルドステロン1、リンパ管腫1、嚢腫1例であった。これらの全体、最近の治療成績と開放手術との比較、また開腹移行症例と合併症発生症例についての内容を詳細に検討した。

（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

手術は患側を上とする側臥位、全身麻酔下に右症例では経腹膜的前方到達法を、左症例では経後腹膜的側方、経腹膜的側方到達法を用い、全例気腹下で行った。65例中2例は開腹手術に移行し、腹腔鏡手術で治療しえたのは63例であった。63例全体の治療成績は表1のとおりである。さらに最近の腹腔鏡症例26例と1990～1996年までに行った開放手術症例25例の成績を表2に示した。

両者の比較では手術時間が全体の平均296分に比べ最近の腹腔鏡症例では208分と大幅に短縮されているとはいえ、開放手術の133分より有意に長かった。これ以外のパラメーターは腹腔鏡症例で明らかに有利であった。

一方合併症（開腹手術移行を含む）は表3に示すように7例に認められた。術中出血4例、術後出血1例、開腹移行2例、術後腎盂からの尿溢流1例（開腹移行例で術後に判明）であった。

## D. 考察

腹腔鏡下副腎摘出術は1991年に本邦泌尿器科医によって開始された手術であり、現在は保険収載されている副腎良性腫瘍に対する標準術式である。副腎は後腹膜臓器であり、泌尿器科医が扱うことが多いが、泌尿器科領域では現在精索静脈瘤、腹腔内停留精巣、良性腎疾患においてしか腹腔鏡手術の適応がなく、これらの症例は比較的少ないため、なかなか副腎摘出術の術者になるまでのトレーニングの機会に恵まれないのが現状である。したがって開放手術ではベテランでも内視鏡手術に不慣れな術者が本手術を行うと、非常に長時間を要する。実際我々の施設でも本手術を開始した初めの10例では平均手術時間は約7時間で最小侵襲治療とはいえない状況であったが、最近の25例では3.5時間をきって開放手術に近づいている。合併症も初期症例に集中している。21例目までに6例の合併症が発生している。この6例の内訳は5例が術中または術後早期の出血で、4例に600～2400mlの輸血を行っている。出血例5例のうち1例は腎被膜周囲の動脈を損傷したことが原因で、3例は肝下面との癒着剥離が原因、残る1例は7時間を越える長時間手術が原因と考えられた。副腎良性腫瘍では腫瘍を部分切除するつ

もりで肝との癒着部は強引に剥離して全摘に固執しないほうが賢明と考えられる。No17は3×5cmのリンパ管腫症例を後腹膜側方到達法で手術した症例であるが、長時間腫瘍を発見できず開放手術に移行している。さらに腹腔鏡による広範な腎門部の剥離操作によると思われる腎盂からの尿溢流が術後に判明し、術後ダブルピグテールカテーテルを長期留置した。比較的最近行われたNo54はアルドステロン症例でやはり副腎を同定できずに開放手術に移行している。この症例を含めて合併症発生7例中5例の術者は腹腔鏡下副腎摘出術を初めて経験しており、また1例は我々の施設で初めて後腹膜的到達法を用いた症例であった。また開腹移行症例では2例とも術者が腹腔鏡下副腎摘出術は初めてにもかかわらず後腹膜的到達法で開始した症例であった。

腹腔鏡でみた術野は開腹手術でみる視野とかなり異なる。モニターのみで見る術野は、色調が異なる、立体感がない、術者の指による触覚がないなどの点で本手術に慣れない術者には大きなストレスとなる。腹腔鏡下副腎摘出術は腹腔鏡手術の中でも比較的難度が高い手術といわれる。停留精巣や精索静脈瘤程度の難易度の低い腹腔鏡手術との間を埋める手術が今のところ泌尿器科領域にないため、初めて本手術を経験すると非常に長時間を要することが予想される。今回の検討で、術者が本手術は初めてという症例や初回の後腹膜到達法で2例が開腹手術に移行していること、5.5時間を越える長時間手術で合併症が多く発生していること、が判明した。

#### E. 結論

以上より、腹腔鏡下副腎摘出術をはじめるとあたっては、ドライボックスで修練を積んだ後、助手としてスコープ持ちを2～3例経験し、まず解剖学的指標の多い経腹膜的到達法で、2～3例は経験豊かな医師のもとで術者として手術に臨むべきであると考えられる。

#### 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

三宅 修、垣本健一、吉村一宏、辻畑正雄、松宮清美、高原史郎、奥山明彦

当科における腹腔鏡下、後腹膜腔鏡下副腎摘出術の治療成績。第15回日本Endourology ESWL学会、名古屋、2001

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.

#### 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

表1. 全体の治療成績 (N=63)

手術時間	296	(分)
出血量	263	(ml)
経口摂取	1.6	(日)
歩行開始	1.9	(日)
術後在院日数	10.9	(日)
腫瘍径	2.4	(cm)

## 表2. 開放手術との比較

	腹腔鏡手術 N=26	開放手術 N=25	P value
手術時間	分 207.5±69.6	132.9±56.3	0.0001
出血量	ml 85.0±146.8	345.2±419.8	<0.0001
経口摂取	日 1.5±1.1	2.4±0.8	0.0007
歩行開始	日 1.4±0.5	4.1±1.0	<0.0001
術後在院日数	日 9.7±2.9	18.2±17.3	<0.0001
腫瘍径	cm 2.77±1.24	3.71±2.53	N.S.

腹腔鏡手術 : 1998~2001年    開放手術 : 1990~1996年

# 表3. 合併症

No	手術日	手術時間 (分)	アプローチ	合併症の内容	処置内容
5	93.11.29	455	経腹膜的	術中出血	輸血1900ml
11	94.3.30	405	経腹膜的	術中出血	輸血600ml
15	94.6.22	835	経腹膜的	術中出血(腎動脈の分枝を損傷)	輸血2400ml
17	95.1.5	545	経後腹膜的	開放手術に移行 術後尿溢流	D-J stent留置
19	95.7.5	340	経後腹膜的	術後出血	なし
21	95.9.20	340	経後腹膜的	術中出血	輸血800ml
54	99.10.21	410	経後腹膜的	開放手術に移行	

## 原発性アルドステロン症における連続 ACTH・アンジオテンシン受容体拮抗薬投与下副腎静脈サンプリングの意義—アンジオテンシン II 負荷試験—

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

我々はこれまでの本学会議において、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・アンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)投与下での副腎静脈サンプリング法にて診断し得た原発性アルドステロン症(PA)の症例を報告してきた<sup>1</sup>。今回、これまでの報告において検討課題となった副腎静脈サンプリング時における ACTH 連続負荷、あるいは ARB 投与の意義を検討するために、PA 症例あるいは正常例において ACTH 負荷試験、アンジオテンシン II(AII)負荷試験を行った。ACTH 負荷試験においては、特発性アルドステロン症(IHA)例・正常例における ACTH に対する反応性の結果から、投与方法・量に関し今後更なる検討が必要と思われた。AII 負荷試験の結果からは、サンプリングにおける ARB 前投与の有用性が示唆された。

### A. 研究目的

従来原発性アルドステロン症(PA)の頻度は、全高血圧症の 1%以下と報告されており<sup>2-6</sup>、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<sup>7</sup>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 6.59~14.4%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<sup>8-10</sup>。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(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(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、図 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

るためにアンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)の投与下での副腎静脈サンプリング法を開発した。これまでの班会議において、従来の副腎静脈サンプリング法では診断が困難であった症例に対し、我々の方法を適用することにより診断し得た PA の症例を報告してきた。今回、平成13年に当科入院した PA 症例あるいは正常例において ACTH 負荷試験、アンジオテンシン II(AII)負荷試験を行い、これまでの班会議において検討課題となった副腎静脈サンプリング法における ACTH 連続負荷、あるいは ARB 投与の意義を検討した。

## B 研究方法

平成13年に当科入院となった PA 症例あるいは PA が疑われた症例において以下の検討を行った。

1. ACTH bolus 投与、あるいは連続投与による末梢血血漿アルドステロン濃度(PAC)、Cortisol の経時的变化
  - ACTH bolus 投与 - 合成 ACTH(コートロシン)0.25mg(25IU)を静注し、0分、30分、60分、90分、120分後の PAC、Cortisol を測定。
  - ACTH 連続投与 - 合成 ACTH(コートロシン)0.25mg(25IU)を静注後、引き続き合成 ACTH0.25mg を生理食塩水 100ml で溶解し、100ml/h で持続静注し、0分、30分、60分、90分、120分後の末梢血 PAC、Cortisol を測定する。
2. AII 単独投与、あるいは ARB 前投与下における AII 投与による末梢血 PAC、血圧の経時的变化
  - AII 単独投与 - 内因性 ACTH による影響を除くため、前日就寝

前にデキサメサゾン 1mg を服用させる。翌朝 AII を 0.25ng/kg/min より投与開始し、以後 15 分ごとに倍量濃度とし、15 分ごとの末梢血 PAC、血圧を測定する。収縮期血圧が 0 分に比べ 20mmHg 以上上昇、あるいは AII が 2ng/kg/min となった時点で終了とする。

- ARB 前投与下における AII 投与 - AII 投与の 3 時間前に ARB であるカンデサルタンを 12mg 内服させ、他は上記 AII 単独投与と同様に行う。

## C 研究結果

### [症例]

表1に平成13年に PA あるいは PA が疑われ、当科に入院し ACTH・AII 負荷試験の施行に同意を得た症例を示す。副腎静脈サンプリングにて4例の APA、2例の IHA を診断し、残り3例は PA が否定された。PA を否定された症例のうち、Y.K.は左腎上極の境界不明瞭な径 5cm の腫瘍の精査にて当科入院となり、ラシックス立位負荷にて PRA の上昇が認められないため、副腎静脈サンプリングを施行し PA が否定された症例である。S.M.は左副腎腫瘍の精査にて入院となった症例である。甘草を含む漢方薬を自己判断にて内服していたため、外来時のデータは低レニン状態であるが、最終診断は Cushing 症候群であった。T.H.は外来にて低 K 血症、低レニン、高アルドステロンを認めた高血圧症例であるが、カプトプリル負荷、ラシックス立位負荷試験にて正常パターンであった。

[ACTH bolus 投与と ACTH 連続投与の



比較]

図2にAPA症例におけるACTH負荷試験の結果を示す。bolus投与時におけるPACは60分後まで増加し続け、以後高値を保った。連続投与においては、3例中2例は投与30分後以降においてPACは高値を保ったが、1例は投与後60分をピークとした変化であった。Cortisolは両者とも負荷により高値を保っていた。

図3にIHA症例、正常例におけるACTH負荷試験の結果を示す。bolus投与ではPACは投与後30分でピークとなり、以後減少し、120分後には投与前の値近くに減少している例も認められた。連続投与においてもPACは投与後30あるいは60分でピークとなり、以後減少した。Cortisolに関してはAPA症例同様すべての症例において高値を保っていた。

[AII単独投与とARB前投与下AII投与の比較]

AII負荷試験に関しては、前回の班会議にて報告した症例においても施行したが、内因性ACTHによる影響を除外していなかったため、正確な検討ができなかった。そこで、今回デキサメサゾンによりあらかじめ内因性ACTHによる影響を除いた上でAII負荷試験を行った。図4にAPA症例におけるAII負荷試験の結果を示す。すべての症例においてAII2ng/kg/min投与時には収縮期血圧が投与前と比較し、20mmHg以上上昇した。しかし、PACはAII2ng/kg/min投与時においてもほとんど変化なく、APAにおけるアルドステロン分泌がレニン-アンジオテンシン系に依存していないことがわかる。ARB前投与下では、

AII2ng/kg/min投与時においても血圧に変化は認めなかった。

図5はIHA症例・正常例におけるAII負荷試験の結果である。IHA症例・正常例共AII1~2ng/kg/min投与で確実に収縮期血圧は20mmHg以上上昇しており、PACに関してもすべての症例において増加し、投与前の2倍程度まで増加している例も認められた。ARB前投与下AII負荷に関しては、正常例における検討のみではあるが、AII2ng/kg/min投与時においても血圧、PACに変化は認めなかった。

[カプトプリル負荷とAII負荷の比較]

さらに、APAとIHAの鑑別という観点からこれらの症例におけるカプトプリル負荷試験の結果をAII負荷試験の結果と比較した。APA症例におけるカプトプリル負荷の結果をみると(図6)、全体的な傾向としてはPACに変化を認めないが、やや減少している例もあった。この症例におけるACTHの変化をみると、スケールオーバーのため図には示していないが、投与前が90pg/mlであったものが、120分後には54pg/mlまで減少しており、これに伴うPACの減少が考えられた。また、逆にPACに変化を認めない例においても、時間経過と共にACTHが増加している場合もある。IHA症例・正常例においては、すべての例において時間経過と共にPACの減少を認めるが、ACTHは増加している例がある。日内変動、検査のストレス等の要因で内因性ACTHにこれだけの変化が認められることを考慮すると、正確にAPAとIHAを鑑別するためには、カプトプリル負荷においてもDexamethasone前投与によりあらかじめ内因性ACTHを抑

制した状態で施行すべきであると思われる。

#### D 考察

前回・前々回の本班会議において、従来の副腎静脈サンプリング法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・ARB 投与下副腎静脈サンプリング法を開発し、複数の PA 症例においてその結果を報告した。報告してきた症例はいずれも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。

内因性 ACTH の影響を除く目的で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<sup>11</sup>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<sup>12-15</sup>。しかし、rapid ACTH 試験そのものである ACTH bolus 投与により経時的に PAC が変化することは周知の事実であり、サンプリングのタイミングにより副腎静脈のアルドステロン濃度は変化することが考えられる。これをさけるため、1976 年 Yune ら<sup>16</sup>、1979 年 Weinberger ら<sup>17</sup>はサンプリング中に ACTH を連続負荷する方法を紹介しているが、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(5IU/hr)で連続負荷するものであり、経時的なアルドステロン濃度の変化を含めたその意義・有用性の検討はなされていない。

また、PA の中でも IHA は APA と比べ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といわれている。サンプリング中の循環動態の変化がデータに反映される可能

性は、特に IHA 症例あるいは正常例において否定できない。このことは、IHA 症例においては AII 投与に対するアルドステロンの反応が認められるとする報告からも推測される。今回我々が検討したレニン-アンジオテンシン系の影響を除く目的でサンプリング時に ARB あるいはアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤を投与する方法はこれまで報告されていない。

今回、これまでの報告において検討課題となった副腎静脈サンプリング時における ACTH 連続負荷、あるいは ARB 投与の意義を検討するために、PA 症例あるいは正常例において ACTH 負荷試験、AII 負荷試験を行った。

ACTH 負荷試験であるが、APA 症例では、bolus 投与では PAC は投与後 60 分をピークとする変化あったのに対し、連続投与は投与後 30 分以降高値を保つ傾向が認められた。しかし、IHA 症例・正常例においては、いずれの投与方法においても PAC は投与後 30~60 分をピークとし、以後減少する傾向が認められた。最初のサンプリングを開始してから 30~60 分で全サンプリングが終了すると仮定すると、我々の連続投与方法では副腎静脈アルドステロン濃度がサンプリング施行中に安定しているとはいえず、ACTH の投与方法に関しては今後更なる検討が必要と考える。なお、Cortisol に関しては、いずれの症例・投与方法においても早期より安定して高値を保っているが、これは Cortisol の半減期が、アルドステロンのそれが約 20 分であるのに対し、60~90 分と長いためであると考えられる<sup>18</sup>。

AII 負荷試験であるが、APA 症例では

血圧の上昇を確実に認める AII2ng/kg/min においても PAC はほとんど変化なく、アルドステロン分泌がレニン-アンジオテンシン系に依存していないことがわかる。ARB 前投与下では同じ濃度の AII にて血圧の上昇はブロックされており、ARB によりレニン-アンジオテンシン系は抑制されていることがわかる。

IHA 症例・正常例では、すべての例において血圧の上昇を認める AIII ~ 2ng/kg/min 投与で PAC は増加していた。この増加したアルドステロン濃度はこれらの症例において通常の状態では認められた血中濃度の範囲内であり、投与された AII 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。正常例における検討のみではあるが、ARB 前投与により AII2ng/kg/min 投与時においても血圧、PAC に変化は認めず、このことから、正常同様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 IHA においても、ARB 投与によりその影響を除外しうることを示唆された。

また、これら症例におけるカプトプリル負荷試験の結果からは、PA の鑑別診断におけるカプトプリル負荷試験の一定の有用性が示唆されたが、上記のごとく副腎静脈サンプリング同様内因性 ACTH による影響が無視できないことが明らかとなった。このことは、高血圧症例において高頻度に存在するといわれる PA のスクリーニング検査の選択という観点からも大変重要な事項である。PA が疑われる症例に対し、外来でも施行可能な二次スクリーニング検査とし

ては、カプトリル負荷、ラシックス立位負荷などが考えられるが、カプトリル負荷はその安全性・簡便性のため選択されやすい。しかし、いずれの負荷試験においても、検査のストレス・日内変動といった内因性 ACTH による影響を除くため、Dexamethasone 前投与下で施行すべきであると思われる。

## E 結論

今回、我々が開発した副腎静脈サンプリング法における ACTH 連続負荷、あるいは ARB 投与の意義を検討した。ACTH 負荷試験の結果からは、ACTH の投与方法・量に関し今後更なる検討が必要と思われた。AII 負荷試験の結果からは、サンプリングにおける ARB 前投与の有用性が示唆された。

## 参考文献

1. Yamahara K et al: New diagnostic procedure for primary aldosteronism: adrenal venous sampling under adrenocorticotrophic hormone and angiotensin II receptor blocker - application to a case of bilateral multiple adrenal microadenomas. *Hypertens res*, 2002 (in press)
2. Fishman LM et al: Incidence of primary aldosteronism uncomplicated essential hypertension. *JAMA* 205: 497-502, 1968
3. Berglund G et al: Prevalence of primary and secondary hypertension: studies in a random population sample. *Br Med J* 2: 554-6, 1976
4. Danielson M et al: The prevalence of secondary and curable hypertension. *Acta Med Scand* 209: 451-5, 1981
5. Sinclair AM et al: Secondary

- hypertension in a blood pressure clinic. *Arch Intern Med* 147: 1289-93, 1987
6. 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
  7. Gordon RD et al: High incidence of primary aldosteronism in 199 patients referred with hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 21: 315-8, 1994
  8. Abdelhamid S et al: Prevalence of adrenal and extra-adrenal Conn syndrome in hypertensive patients. *Arch Intern Med* 156: 1190-5, 1996
  9. Lim PO et al: Potentially high prevalence of primary aldosteronism in a primary-care population. *Lancet* 353: 40, 1999
  10. Fardella CE et al: Primary hyperaldosteronism in essential hypertensives: prevalence, biochemical profile, and molecular biology. *J Clin Endocrinol Metab* 85(5): 1863-7, 2000
  11. Spark FR et al: Activation of aldosterone secretion in primary aldosteronism. *J Clin Invest* 48: 96-104, 1969
  12. Kem 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
  13. Dunnick NR et al: Localization of functional adrenal tumors by computed tomography and venous sampling. *Radiology* 142: 429, 1982
  14. Doppman LJ et al: Distinction between hyperaldosteronism due to bilateral hyperplasia and unilateral aldosteronoma: reliability of CT. *Radiology* 184: 677-682, 1992
  15. Young WF Jr. et al: Primary aldosteronism: adrenal venous sampling. *Surgery* 120: 913-20, 1996
  16. Yune HY et al: Radiology in primary hyperaldosteronism. *Am J Roentgenol* 127: 761-767, 1976
  17. Weinberger MH et al: Primary aldosteronism: diagnosis, localization, and treatment. *Ann Intern Med* 90: 386-95, 1979
  18. 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