

SIK の核・細胞質間シャトルによるステロイド合成酵素遺伝子の発現調節

岡本 光弘

大阪大学大学院医学系研究科生化学・分子生物学講座

研究要旨：GFP を融合した SIK を作成して、SIK の細胞内局在場所を検索した。その結果、静止状態の Y1 細胞では SIK は核内に存在するが、Y1 を ACTH で刺激すると SIK は核から細胞質に出ることが分かった。この移動は 5 分以内に完了する。そして核外への移動はレプトマイシンで阻害される。SIK の核外移行には PKA が関与すること、PKA によって SIK の Ser577 がリン酸化されることにより SIK の核外移行が起こることが分かった。そして ACTH 刺激後の SIK の細胞内局在変動の時間経過は、SIK による CRE 活性の抑制作用を良く説明した。

A. 研究目的

下垂体から分泌される副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)は副腎皮質細胞に作用し、cAMP を主要な 2 次メッセンジャーとする情報伝達系を介して、ステロイドの分泌、ステロイド合成酵素の誘導、細胞増殖等を促進する。近年 cAMP 以外の 2 次メッセンジャーが存在する可能性や、cAMP によって他の因子が新たに合成されて cAMP シグナル伝達系を修飾する可能性が示唆されているが、その分子機構の詳細は不明である。我々は高ナトリウム食あるいは高カリウム食を投与したラットの副腎皮質において特異的に誘導される新しいプロテインキナーゼ SIK (salt inducible kinase) の単離に成功した。SIK は N-末端側に SNF1/AMPK family に属するキナーゼ領域を持つセリン・トレオニンキナーゼである。その後の研究の結果、SIK は副腎皮質由来の Y1 細胞を ACTH で刺激すると誘導されることが明らかになった。SIK 遺伝子の誘導は cAMP

／PKA 情報伝達系を介すること、SIK mRNA を高発現させた Y1 細胞では、ACTH で刺激してもステロイド合成酵素遺伝子の発現が抑制されることが明らかとなった。

SIK によるステロイド合成酵素遺伝子の発現抑制が起こるためには SIK の蛋白リン酸化活性が必要で、SIK は標的遺伝子プロモーター上の cAMP 応答配列 (CRE) 結合因子 (CREB/ATF ファミリー) の転写活性を抑制することが分かった。また SIK によるステロイド合成酵素遺伝子誘導の抑制現象の時間経過は標的遺伝子によって異なり、特に P450_{sc} 等遅延型遺伝子の発現は SIK により特異的に抑制され、StAR 遺伝子等早期に誘導される遺伝子の発現は最初 SIK で抑制されず、6 時間以後に抑制効果が発現する。つまり SIK は ACTH 刺激後数時間経って発現する遅延型遺伝子を特異的に抑制する。

一方、SIK の C-末端側を欠失させたコンストラクトを作成し Y1 細胞に導入すると発

現したタンパク質は不安定であるが、転写抑制活性は全長のコンストラクトよりも高いことが分かった。このことは SIK 蛋白の C-末端に SIK の転写抑制活性を負に制御するドメインが存在することを示唆している。

本年度は SIK の転写抑制活性が ACTH 刺激後に時間に依存して変動する分子機構を解明することに重点を置いて研究した。

B. 研究方法

SIK 蛋白を大腸菌で発現させてこのものを抗原としてポリクローナル抗体を作成した。SIK 蛋白の細胞内局在を容易に可視化する目的で、蛍光蛋白 (GFP) と融合させた SIK を Y1 細胞に導入し、ACTH 刺激後の SIK 蛋白の細胞内局在を追跡した。SIK の Ser577 は PKA によってリン酸化されることが分かっている。Ser577 を部位特異的変異法を用いて Ala へ置換した SIK を作成した。SIK(S577A) 変異体の転写抑制活性は CRE-ルシフェラーゼ・レポーターと共発現させて評価した。

C. 研究結果

Y1 細胞を抗 SIK 抗体を利用して免疫染色すると、ACTH 非刺激時は SIK シグナルは主に核内に検出されるが、ACTH 刺激 (1 時間) 後はほとんどが細胞質で検出された。この現象は SIK の核外移行の結果と考えられるが、SIK は ACTH により誘導されることが分かっているから、新たに誘導された SIK が細胞質に蓄積して細胞質側の SIK シグナルが亢進した可能性も考えられる。そこで GFP 融合 SIK をあらかじめ強制発現した細胞を

ACTH で刺激した。その結果、GFP-SIK は ACTH 刺激後に核から細胞質に出ることが分かった。この移動は 5 分以内に完了する。そして核外への移動はレプトマイシンで阻害される。

SIK の核外への移動は ACTH の 2 次メッセンジャーである cAMP を添加しても起こる。また PKA 活性を欠いた Y1 変異株 (Kin-7) では観察されないが、Kin-7 細胞に GFP-SIK 発現ベクターを導入する時に PKA 発現ベクターを共導入すると、ACTH 処理の有無に関わらず GFP-SIK は細胞質に検出された。これらのことは SIK の核外移行に PKA が関与することを示唆する。そこで SIK の核外移行が PKA によって SIK がリン酸化されることによるものかどうかを検討した。図 1 に示すように SIK 蛋白は PKA でリン酸化される部位を 3 個持つ。そこでこれらの部位の Ser あるいは Thr をそれぞれ Ala に置換した SIK を作成し、Y1 細胞へ導入した。その結果、Thr268 および Thr478 に変異を導入しても SIK の核外移行には影響を及ぼさないが、Ser577Ala 変異の SIK は ACTH 刺激の有無に関わらず核内にのみ観察された。また、リン酸化された Ser577 を特異的に認識する抗体を作成し検討した結果、PKA が *in vivo* および *in vitro* で SIK の Ser577 をリン酸化することが分かった。すなわち PKA によって SIK の Ser577 がリン酸化されることにより SIK の核外移行が起こる。

次に SIK の核外移行と転写抑制作用の関係を解明する目的で、ACTH による SIK の細胞内局在変化と転写抑制活性の相関を検

討した。SIK は ACTH または forskolin 刺激後 5 分で核外へと移行し、4 時間たつと再び核内に戻って来た。転写抑制活性には forskolin による CRE の活性化を指標にした。図 2 に示す様に野生型 SIK は forskolin 刺激後 6-8 時間の間、CRE の活性を抑制しないが、18 時間後には高い抑制活性を示した。また常に核内に留まる S577A 変異 SIK はどの時間帯でも 90%以上の抑制活性を示した。

D. 結論

図 3 には SIK による CRE 抑制作用と SIK の細胞内移動の作業仮説を示す。SIK は CRE に作用して転写抑制を行う。SIK の Ser577 はやがて PKA によってリン酸化される。その結果 SIK は細胞質に移動して転写抑制作用は解除される。

F. 研究発表

1. 論文発表 (英文)

1. Doi, J., Takemori, H., Ohta, M., Nonaka, Y., and Okamoto, M. (2001) Differential regulation of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase type II and 17 α -hydroxylase/lyase P450 in human adrenocortical carcinoma cells by epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor. *J. Endocrinol.* 168, 87-94.

2. Takemori, H., Doi, J., Katoh, Y., Halder, S.K., Lin, X-z., Horike, N., Hatano, O., and Okamoto, M. (2001) Characterization of a proximal element in the rat

preadipocyte factor-1 (Pref-1) gene promoter. *Eur. J. Biochem.*, 268, 205-217.

3. Raza, F.S., Takemori, H., Tojo, H., Okamoto, M., and Vinson, G.P. (2001) Identification of the rat adrenal zona fasciculata/reticularis specific protein, IZAg, as the putative membrane progesterone receptor. *Eur. J. Biochem.* 268, 2141-2147.

4. Lin, X-z. Takemori, H., Katoh, Y., Doi, J., Horike, N., Makino, A., Nonaka, Y., and Okamoto, M. (2001) Salt-inducible kinase (SIK) is involved in the ACTH/cAMP-dependent protein kinase signaling in Y1 mouse adrenocortical tumor cells. *Molecular Endocrinology*, 15, 1264-1276.

5. Lu, T., Ito, M., Tchoua, U., Takemori, H., Okamoto, M., and Tojo, H. (2001) Identification of essential residues for catalysis of rat intestinal phospholipase B/Lipase. *Biochemistry*, 40, 7133-7139.

6. Sawaguchi, A., Tojo, H., Kawano, J., Okamoto, M., and Suganuma, T. (2001) Immunocytochemical demonstration of the secretory dynamics of zymogenic contents in rat gastric gland processed by high-pressure freezing/freeze substitution, with special references to phospholipase A2 and phospholipase C γ 1. *Histochem. Cell Biol.*, 116, 361-369.

2. 論文発表（邦文）

1. 塩誘導性プロテインキナーゼ（SIK）による P450_{scc} 遺伝子転写抑制機構、土居純子，竹森洋，岡本光弘、ホルモンと臨床（2001）49，増刊号，56-58
2. ミトコンドリアとステロイド代謝、岡本光弘，堀家なな緒、新ミトコンドリア学（2001），内海耕慥・井上正康監修，共立出版、Pp. 56-61
3. ミトコンドリア チトクローム P450，岡本光弘，加藤芳子、日本臨床2002年増刊 「ミトコンドリアとミトコンドリア病」日本臨床社、印刷中

3. 学会発表（招待講演）

1. ステロイドホルモンの合成機構（エストロゲンの合成代謝経路の基礎）岡本光弘
第2回ホルモンと癌研究会（2001年7月27日-28日）（会長：野口眞三郎（大阪大学大学院腫瘍外科）大阪
2. ステロイドホルモン産生細胞内のコレステロール移動，岡本光弘 第74回日本生化学会大会（2001年10月25日-28日）シンポジウム「脂質の細胞内輸送システム研究の新しい展開」京都

図1 : SIK タンパク質の一次構造模式図

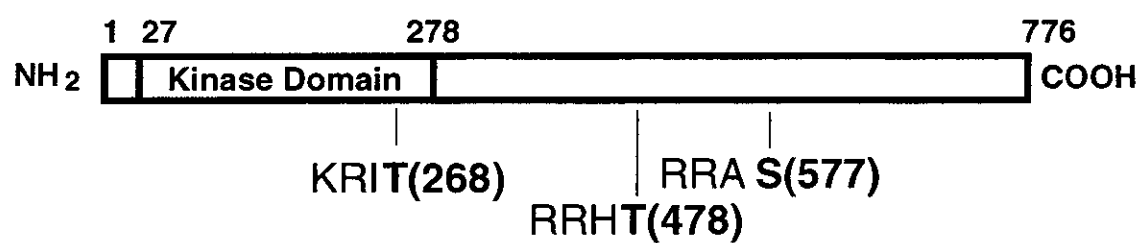


図2：野生型 SIK あるいは SIK 変異体の CRE-レポーター活性におよぼす影響；細胞はフォルスコリンで刺激してレポーター活性を経時的に測定した。右図は抑制程度をパーセントで示す。

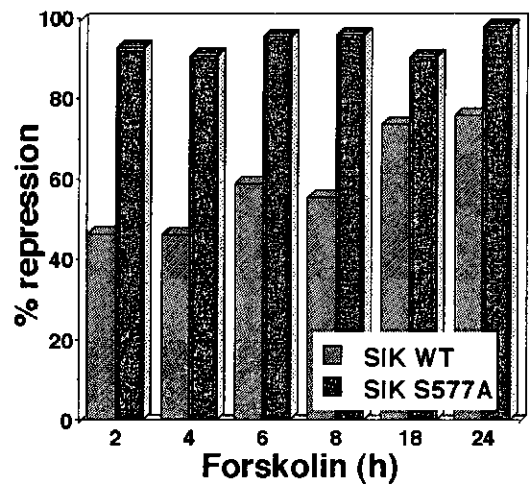
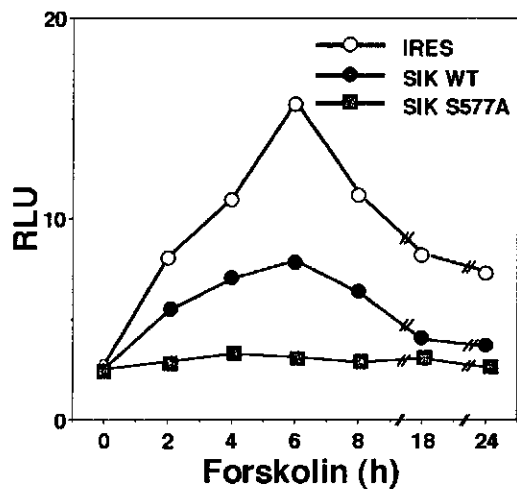
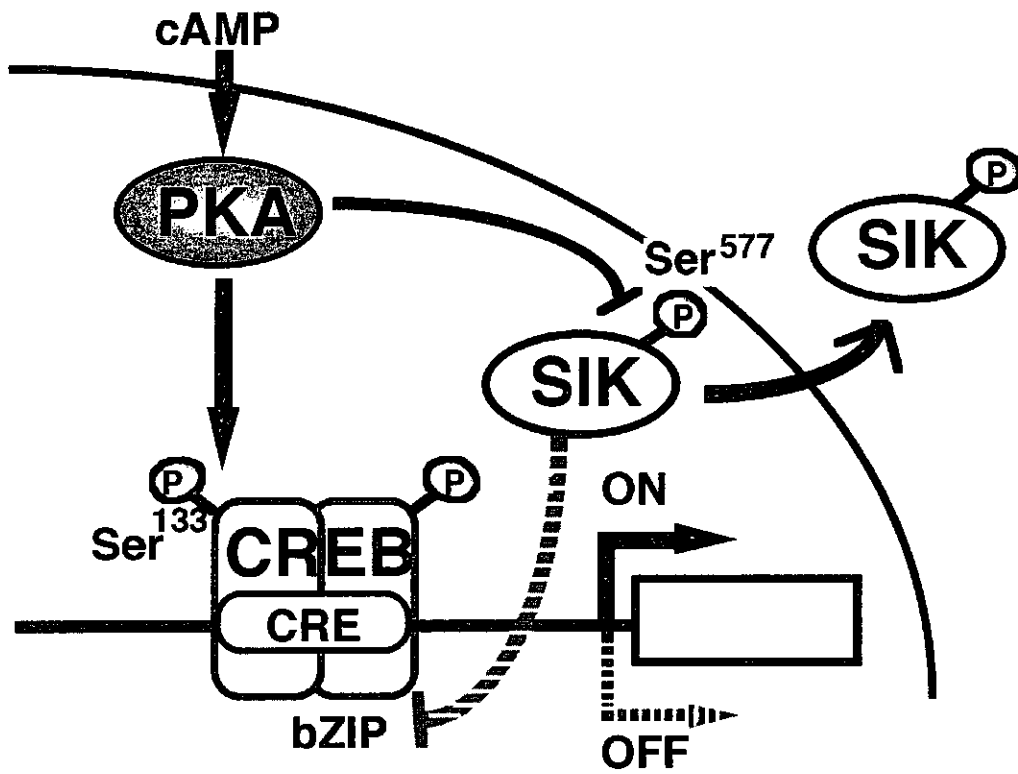


図3：SIKのCRE抑制作用と細胞内移動の作業仮説



副腎偶発腫瘍全国調査（3年目）

副腎偶発腫の長期疫学調査集計報告

一城 貴政、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

副腎偶発腫は副腎疾患の中で最も多い疾患で、近年の健康診断の普及に伴いその際に施行される腹部CT、超音波、MRIなどで発見されることが多くなってきている。しかしながら、詳細な疫学調査およびそれによる治療指針は未だに確立されていない。厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業「副腎ホルモン産生異常に関する研究班」では、大学病院を含む計1014病院に調査表を送付し、3年間の持続的な疫学調査を施行し、副腎偶発腫の診療指針の確立を検討した。今回は集計が行えた平成11年度から12年度までの2年間に報告を受けた2493例の、副腎偶発腫について年齢、大きさ、診断方法、症状、ホルモンデータなどの解析を行ったので報告する。

A. 研究目的

近年、本邦でも副腎偶発腫の発見頻度は確実に増加しているが、その詳細な疫学調査や治療指針は未だ確立されていない。本研究班は、3年間の持続的な疫学調査を施行し、副腎偶発腫の診療指針の確立を検討した。

B. 研究方法

副腎偶発腫を「副腎に腫瘍が、超音波、CT、MRIなどにより偶然に発見された時、それらの腫瘍を総称して副腎偶発腫という（臨床症状のない、糖尿病および高血圧の合併の有無は問わない）」と定義し、平成11年度に、全国の大学病院、200床以上の高度専門医療機関および地域中核病院の1014施設にアンケート形式の調査票を送付し、副腎偶発腫の持続的な全国調査を開始した。初年度に2576例の報告があったが、その中で症状と一般検査より明らかに副腎偶発腫と考えられない470例を除き、2016例について分析を行った。更に2年目も同様に、この2016例の追跡調査を実施するとともに、新規症例の報告を受け、新規症例から再度副腎偶発腫と考えられない症例を除き、最終的に新規症例を含め2493例の報告をもとに、今回の解析を行った。

病因についての疫学は、手術症例で病理学的検討が行われているものについてはその所見により、また経過観察症例については臨床所見およびホルモンデータより病因を決定した。

副腎偶発腫の経時的観察データは2年以上の経過観察期間があった674例について解析を行った。

統計学的データは平均±SDで表し、有意差検定はt検定を用いた。

C. 研究結果

1. 患者背景

報告を受けた2493例の背景は、男性1037例（41.6%）、女性1137例（45.6%）であった。平均年齢は58.0±12.9歳（4~92歳）で、60歳代の症例数が最も多く、性差はなかった。腫瘍側は右698例（46.0%）、左715例（47.1%）、両側105例（6.9%）で左右差はなかった。腫瘍の診断法は腹部CTが1644例（65.9%）で大多数を占め、腹部超音波648例（26.0%）が次いでいた。平均腫瘍径は3.1±2.3cm（0.5~20cm）であったが、症例数では直径1cmのものが最も多く、次いで直径2cmの症例であった。

発見の契機としては、無症状でドックなどの検診で発見される症例が33.1%で最も多く、腹部症状の精査によって発見される症例が19.1%で次いでいた（図1）。

2. 病因

病因の報告があった2455例の病因別頻度では、ホルモン非産生腺腫が52.3%と半数以上を占め、subclinical Cushing症候群を含むコルチゾール産生腺腫および褐色細胞腫が7.9%で次いでいた。アルドステロン産生腺腫は4.1%で、副腎皮質腺腫全体では65.1%に達した。また副腎癌は38例で全体の1.5%を占めた。

男性症例で検討した場合では、病因の報告があった1307例中ホルモン非産生腺腫は54.1%でやはり半数以上を占め、褐色細胞腫が8.1%で次いでいた。

Subclinical Cushing 症候群を含むコルチゾール産生腺腫は 4.2%で、アルドステロン産生腺腫は 3.3%、副腎皮質腺腫全体では 62.3%を占めていた。また、副腎癌は 18 例で 1.4%であった。

一方、女性症例で検討した場合、同様にホルモン非産生腺腫が 49.5%と約半数を占め、Subclinical Cushing 症候群を含むコルチゾール産生腺腫は 11.9%に達し、褐色細胞腫が 7.5%で次ぎ、アルドステロン産生腺腫は 4.9%で、副腎皮質腺腫全体では 67.3%に達した。男性に比較してコルチゾール産生腺腫の割合が多かった。

3. 平均年齢

病因と年齢の両方が報告されていた 2468 例での検討では、アルドステロン産生腺腫 ($P<0.005$)、アンドロゲン産生腺腫 ($P<0.01$) および褐色細胞腫 ($P<0.005$) はホルモン非産生腺腫に比べ若年症例が多く、逆に悪性腫瘍の転移はより高齢の症例が多かった ($P<0.005$)。一方、副腎癌では明らかな傾向は認められなかった。

4. 性別

上述のごとく全症例中の男女比は性別の報告があった 2174 例中、男性 41.6%、女性 45.6%で、ホルモン非産生腺腫 (男性 54.8%、女性 43.6%)、副腎癌 (男性 47.4%、女性 52.6%) および褐色細胞腫 (男性 54.4%、女性 43.6%) とともに男女比はほぼ同じであった。一方、コルチゾール産生腺腫 (男性 28.4%、女性 69.6%)、アルドステロン産生腺腫 (男性 42.6%、女性 55.4%) およびアンドロゲン産生腺腫 (男性 42.8%、女性 57.1%) といったホルモン産生腺腫は女性に多く、逆に過形成 (男性 62.4%、女性 36.7%) および悪性腫瘍の転移 (男性 67.7%、女性 30.3%) は男性例に多かった。

5. 診断時腫瘍径

腫瘍径の報告があった 2199 例の検討では、前述のごとく全症例の平均値は $3.1\pm 2.3\text{cm}$ (平均 \pm SD) であった。これと比較すると、ホルモン非産生腺腫では $2.38\pm 1.22\text{cm}$ でアルドステロン産生腺腫では $2.09\pm 1.06\text{cm}$ であり、有意に小さい傾向があった ($P<0.05$)。一方、アンドロゲン産生腺腫では $4.83\pm 4.61\text{cm}$ 、癌では $8.54\pm 4.28\text{cm}$ 、褐色細胞腫では $4.65\pm 2.37\text{cm}$ 、骨髄脂肪腫では $5.20\pm 2.86\text{cm}$ 、また悪性腫瘍の転移では $4.51\pm 2.92\text{cm}$ で有意に大きい傾向があった ($P<0.05$)。

6. 腫瘍径変化

2 年以上の経過観察期間があった 674 例の腫瘍径変化の検討では、213 例 (31.6%) が増大、90 例 (13.3%) が縮小、371 例 (55.0%) が変化がなかつ

た。病因別に検討すると、ホルモン非産生腺腫では 473 例中 139 例 (29.3%) が増大し、58 例 (12.3%) が縮小し、276 例 (58.4%) が変化がなかった。コルチゾール産生腺腫ではホルモン非産生腺腫と同様の結果が見られたが、アルドステロン産生腺腫では 10 例中 2 例 (20%) が増大し、1 例 (10%) が縮小し、7 例 (70%) が変化を示さなかった。一方、癌では 4 例中 2 例が増大、残りの 2 例が変化なく、縮小を示したものはなかった。また悪性腫瘍の転移では 17 例中増大したものが 11 例 (68.8%)、縮小したものが 2 例 (12.5%)、変化なかったものが 3 例 (18.8%) であった。

7. 手術率

手術の有無について報告があった 2390 例中両側または片側の副腎摘除術や腫瘍切除術など何らかの外科的処置を受けた症例は 1115 例 (46.7%) であった。各病因別に検討すると、6 例全例が手術を受けたアンドロゲン産生腺腫をはじめ、コルチゾール産生腺腫では 191 例中 138 例 (72.3%)、アルドステロン産生腺腫では 96 例中 72 例 (75.0%)、また褐色細胞腫では 189 例中 164 例 (86.8%) といずれも 70%以上の症例が手術を受けていた。一方、ホルモン非産生腺腫では 1239 例中手術例は 365 例 (29.5%) で、過形成では 106 例中 68 例 (64.2%) が手術を受けていた。

8. ホルモン非産生腺腫および癌の主要なホルモン値

診断時におけるホルモン非産生腺腫および副腎癌の血清コルチゾール、アルドステロン、DHEA-S、血漿アドレナリン、ノルアドレナリン、尿中 17-OHCS、17-KS について比較した。血清コルチゾール、アルドステロン、血漿アドレナリン、ノルアドレナリンについては両者で有意差はなかった。一方、ホルモン非産生腺腫と副腎癌の血清 DHEA-S は $737.0\pm 657.2\text{ng/ml}$ と $7616.1\pm 21833.2\text{ng/ml}$ ($P<0.005$)、尿中 17-OHCS は $6.77\pm 7.04\text{mg/日}$ と $12.64\pm 23.08\text{mg/日}$ ($P<0.01$)、尿中 17-KS は $5.54\pm 4.79\text{mg/日}$ と $18.18\pm 21.02\text{mg/日}$ ($P<0.005$) で有意差が認められた。

9. ホルモン非産生腺腫患者の主要なホルモン変化

2 年以上の経過観察期間があった症例の 2 年間の ACTH、コルチゾール、アルドステロン、DHEA-S、アドレナリン、ノルアドレナリン値の報告があったホルモン非産生腺腫症例においてこれらホルモン値の変化について検討を行った。ここでは、基礎値の

1.5倍以上の増加を「増加」、基礎値の半分以下の低下を「減少」、それ以外を変化なしと判断した。コルチゾールは260例中増加した症例が12例(4.6%)、減少した症例が2例(0.8%)、変化のなかった症例が246例(94.6%)であった。ACTHについては188例中増加した症例が28例(14.9%)、減少した症例が2例(1.1%)、変化のなかった症例が158例(84.0%)であった。アルドステロンでは239例中増加した症例が20例(8.4%)、減少した症例が0例、変化のなかった症例が219例(91.6%)であった。アドレナリンでは173例中増加した症例が31例(17.9%)、減少した症例が1例(0.8%)、変化のなかった症例が141例(81.5%)であった。ノルアドレナリンでは171例中増加した症例が38例(22.2%)、減少した症例が1例(0.8%)、変化のなかった症例が132例(77.2%)であった。DHEA-Sでは32例全例で変化がなかった。

10. 腫瘍径カットオフ値による癌の鑑別

副腎偶発腫から副腎癌を鑑別する際の様々な腫瘍径カットオフ値での感度と特異度を検討した。これら感度と特異度を表す曲線は腫瘍径が4.8cmの点で交差した。

D. 考察

諸外国の報告によると、一般に臨床的に診断されたホルモン産生性副腎腫瘍は非常に稀であるが、非機能性副腎腫瘍は30人に1人が有しており、剖検例の検討では1.4~8.7%の症例に副腎腫瘍が見つかったと報告されている。さらに腹部CTでは0.6~5.0%の症例に副腎腫瘍が見つかる。また、年齢別に見た副腎偶発腫瘍の有病率は加齢と共に増加している。

今回の我々の集計による患者背景は、副腎偶発腫の平均年齢は58.0歳で、性差はなく、また腫瘍側は左右ほぼ同等で、腫瘍径の平均は3.1cmで既報のものとはほぼ同等であった。診断法では、CTでの発見が6割以上を占め、これは本邦では比較的CTが普及していることと、副腎描出には超音波よりもCTの方が手技的に簡便であるためと考えられる。

副腎偶発腫の中で、もっとも鑑別の重要な疾患は副腎癌である。一般人口における発症率は10万人に3人にすぎないが、我々の統計では副腎偶発腫に占める割合は1000人に15人を占め、副腎偶発腫に占める副腎癌の割合は一般人口に占める割合の5000倍となっている。また、我々の統計では、ホ

ルモン非産生腺腫が全副腎偶発腫の半数以上を占め、腺腫全体では65%におよび、褐色細胞腫が7.9%で次いだ。また、男性では褐色細胞腫に次ぎ、過形成が5.2%で多かったが、女性では骨髄脂肪腫が4.2%で次いだ。各病因での性差を検討すると、ホルモン非産生腺腫および副腎皮質癌は、発症頻度に性差はなかったが、ホルモン産生腺腫は女性に多い傾向が認められた。これは女性の方が臨床症状が出やすい為に、発見されやすいことも一因と考えられる。また各病因での年齢分布をみると、アルドステロン産生腺腫、アンドロゲン産生腺腫および褐色細胞腫はより若年で、ホルモン非産生腺腫、過形成および悪性腫瘍の転移はより高齢で発見される傾向があった。これは、臨床症状が出やすいものほど若年で発見され、また悪性腫瘍は高齢者に多いことを反映していると考えられる。

2年以上の観察期間があった674例の腫瘍径の変化を検討すると、全症例では半数以上が変化せず、ホルモン非産生腺腫では6割が大きさに変化はなく、さらに症例数は少ないがアルドステロン産生腺腫では7割が変化を示さなかった。一方、副腎皮質癌では縮小したものはなく、半数が増大を示した。さらに悪性腫瘍の転移では7割近くが増大傾向を示した。

手術率は全体では46.6%であったが、ホルモン非産生腺腫では29.5%と少なく、コルチゾールやアルドステロンといったホルモン産生腫瘍では72%以上、さらに褐色細胞腫では86.8%と高率で、副腎癌は51.3%であった。これはホルモン産生腺腫や褐色細胞腫では臨床症状を呈することが多いために手術率が高値となっていると考えられ、逆に副腎癌では発見時に既に進行癌であることが多く、手術不可能症例が比較的多いため逆に手術率が低下すると考えられる。

ホルモン非産生腺腫と副腎癌の主要なホルモンの比較では、副腎癌において血中DHEA-S、尿中17-OHCSおよび尿中17-KSが有意に高値を示した。DHEA-Sおよび尿中17-KSはアンドロゲン代謝産物であり、副腎癌で高値を示すことは広く知られており、我々の結果もそれを示唆するものであった。しかし、血清コルチゾールに有意差がないにもかかわらず、その代謝産物である尿中17-OHCSのみ有意差が出ることは興味深いことである。これは血清コルチゾール測定の採血は多くの施設で早朝空腹時に施行されており、そのため日内変動のうち比較的高値を示す時間に採血が行われていると考えられ、こういった状況下ではホルモン非産生腺腫と副腎癌の間に有意さはないためと考えられる。一方、尿中

17-OHCSは1日蓄尿検体により測定されていることが多いため日内変動は反映されず、1日の総産生量を示す。副腎癌では日内変動が消失しており常にコルチゾール産生が行われているのに対し、ホルモン非産生腺腫では午後から夜間にかけて産生量が低下し、この低下した時間帯の産生量の変化が1日産生量としての差に反映されたための結果と考えられる。

2年以上の経過観察期間があった2年間のACTH、コルチゾール、アルドステロン、DHEA-S、アドレナリン、ノルアドレナリン値の報告があったホルモン非産生腺腫のホルモン産生能獲得性についての検討では、それぞれコルチゾール4.6%、ACTH14.9%、アルドステロンで8.4%、アドレナリン17.9%、ノルアドレナリン22.2%の症例で増加を示した。ACTH、コルチゾール、アドレナリンおよびノルアドレナリンは心理的要因での変動が大きく、さらにACTHが2割近い症例で上昇していることから、ここでのデータをそのままホルモン非産生腺腫のホルモン産生能獲得と判断できない。しかしながら、少なくともアルドステロンに関してはホルモン非産生腺腫がその経過中にアルドステロン産生腺腫となる可能性が1割近くの症例であることが推測される。

腫瘍の大きさにより副腎腫瘍の良悪性の鑑別を行うためのカットオフ値の検討では、その感度および特異度が4.8cmの点で交差することより、5cmとするのが最適と考えられた。しかしながら、実際に手術適応を決定するには、腫瘍径が1cmの副腎癌も報告されており、画像所見なども含め総合的に判断する必要があると考えられる。さらに特異度は低くなるが、わずかであっても副腎癌の可能性が存在するのであれば、悪性疾患である以上早期治療は絶対条件であり、積極的に副腎摘出を行うことは必ずしも間違いではなく、この問題に対しては更なる検討が必要である。

副腎偶発腫の中で、もっとも鑑別の重要な疾患は副腎癌である。副腎癌は、平均生存期間が約18ヶ月で5年生存率はわずか15%といわれている。一般人口における発症率は10万人に3人にすぎないが、我々の統計では、副腎偶発腫症例では1.5%を占めている。副腎偶発腫より副腎癌を効率よく鑑別するのが最も重要で、次回3年目の調査によって副腎偶発腫のさらに詳細な実体の判明とそれに基づいた診療・治療指針の確立を期待する。

E. 結論

副腎偶発腫の中で、もっとも鑑別の重要な疾患は副腎癌で、この副腎癌を鑑別するために今回の解析により以下の点が重要であることが判明した。

1. 報告を受けた副腎偶発腫患者2493例の男女比はほぼ同等で、平均年齢は58.0歳、腫瘍側も左右ほぼ同率であった。
2. 病因の報告があった2455例の病因別頻度は、ホルモン非産生腺腫が半数以上を占め、コルチゾール産生腺腫および褐色細胞腫がほぼ同等でそれに次ぎ、副腎皮質腺腫全体では65%に達した。一方、副腎癌は1.5%を占めた。
3. 病因と年齢の両方が報告されていた2468例では、副腎癌では年齢分布に明らかな特徴はないが、アルドステロン産生腺腫、アンドロゲン産生腺腫および褐色細胞腫はホルモン非産生腺腫より若年発症が多く、悪性腫瘍の転移は逆に高齢症例が多かった。
4. 性別の報告があった2174例での病因ごとの男女比では、コルチゾール産生腺腫、アルドステロン産生腺腫およびアンドロゲン産生腺腫は女性に多く、過形成および悪性腫瘍の転移は男性に多かった。
5. 腫瘍径の報告があった2199例では、全症例の腫瘍径の平均値は3.1cmであったが、これに比較してホルモン非産生腺腫およびアルドステロン産生腺腫では小さく、アンドロゲン産生腺腫、副腎癌、褐色細胞腫、骨髄脂肪腫および悪性腫瘍の転移では大きかった。
6. 2年以上の経過観察期間があった674例の腫瘍径の変化は、各病因ごとの増大した症例の割合はそれぞれ、ホルモン非産生腺腫およびコルチゾール産生腺腫は約3割、アルドステロン産生腺腫は2割、副腎癌では5割、悪性腫瘍の転移では約7割であった。
7. 手術の有無について報告があった2390例の病因ごとの手術率は、コルチゾール産生腺腫、アルドステロン産生腺腫、アンドロゲン産生腺腫および褐色細胞腫では7割以上で、ホルモン非産生腺腫では約3割であった。
8. DHEA-S、尿中17-KSが癌の症例で有意に高値を示しており、またコルチゾールは両者で有意差がないのに対し、尿中17-OHCSは有意に高値を示していた。
9. 主要なホルモン値について2年以上の経過観

察期間のあったホルモン非産生腺腫で各ホルモン増加を認めた症例の割合は、コルチゾール 4.6%、ACTH14.9%、アルドステロン 8.4%、アドレナリン 17.9%およびノルアドレナリン 22.2%であった。DHEA-S は 32 例全例で変化がなかった。

10. 平均腫瘍径は 3.1cm であったが、腫瘍径による副腎癌鑑別のカットオフ値は 5cm とするのが最適であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 上芝元、薬師寺史厚、宮地幸隆；副腎偶発腫の疫学；厚生労働省特定疾患対策研究事業副腎ホルモン産生異常に関する研究班平成 11 年度報告書、2001.5

2. 学会発表

- 1) 一城貴政、薬師寺史厚、上芝元、宮地幸隆；日本における副腎偶発腫瘍の疫学と予後；第 9 回ステロイドホルモン学会、東京、2001.11
- 2) 一城貴政、薬師寺史厚、上芝元、宮地幸隆；日本における副腎偶発腫瘍の疫学と予後；厚生労働省特定疾患対策研究事業副腎ホルモン産生異常に関する研究班平成 13 年度公開講座、東京、2001.11
- 3) Miyachi Y, Ichijo T, Yakushiji F, Ueshiba H; A Survey of Adrenal Incidentaloma in Japan; NIH Consensus Conference, 2002.2

G. 知的所有権の取得状況

なし

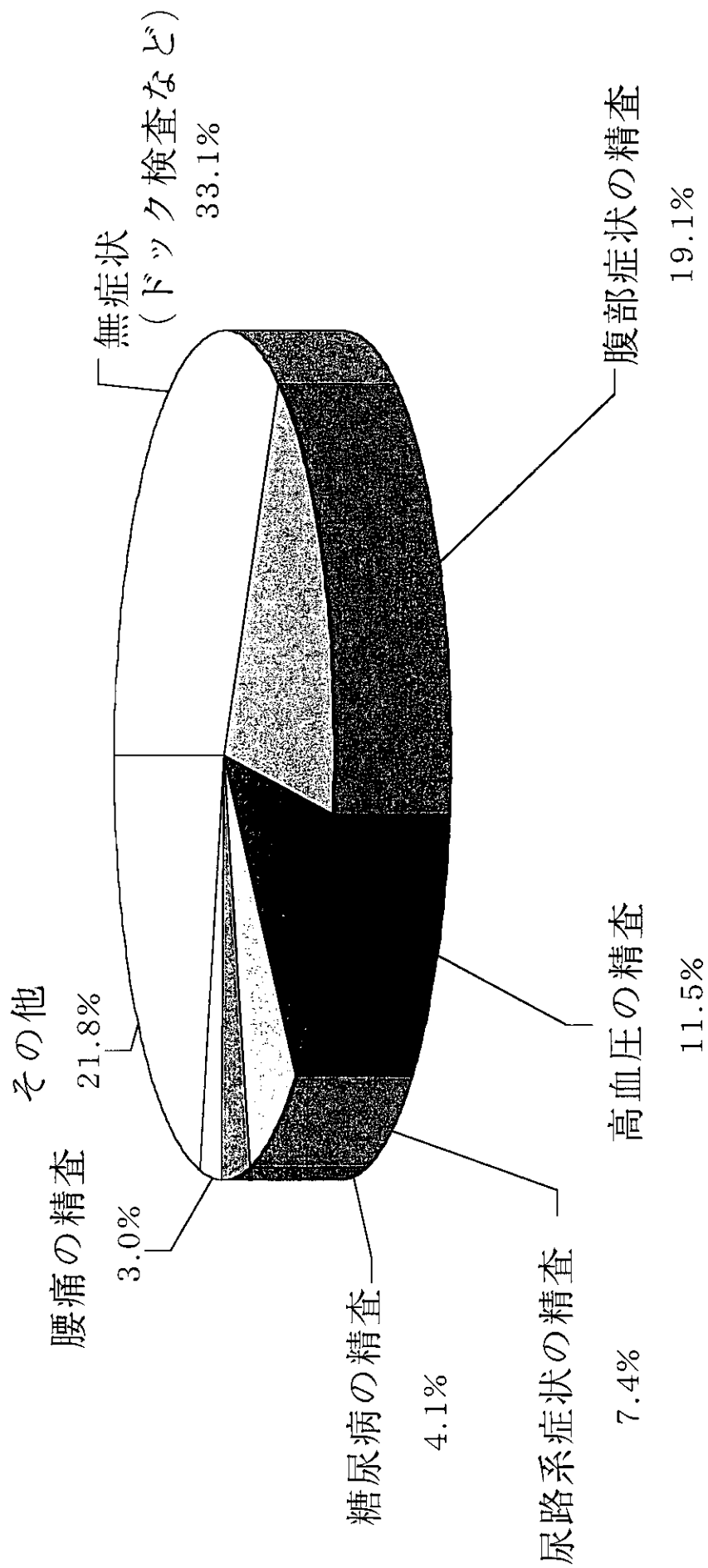


図1. 発見の契機

研究成果の刊行に関する一覧表

論文名 (書名又は誌名 (巻号数))	刊行 年月日	刊行 書店名	執筆者氏名
Nuclear receptor system constituted by PPAR γ :RXR heterodimers inhibits the expression of cytochrome P450arom in human granulosa cells. Mol Cell Endocrinol 181 239-248	2001		Mu Y-M, Yanase T, Nishi Y, Takayanagi R, Goto K, Nawata H
Establishment and characterization of a steroidogenic human granulosa-like tumor cell line, KGN that expresses functional FSH receptor. Endocrinology 142 437-445	2001		Nishi Y, Yanase T, Mu Y, Oba K, Ichino I, Saito M, Nomura M, Mukasa C, Okabe T, Goto K, Takayanagi R, Kashimura Y, Haji M, Nawata H
Saturated free fatty acids, palmitic acid and stearic acid induces apoptosis of human granulosa cells. Endocrinology 142 3590-3597	2001		Mu Y, Yanase T, Nishi Y, Saito M, Nomura M, Mukasa C, Okabe T, Goto K, Nawata H
The subnuclear three-dimensional image analysis of androgen receptor fused to green fluorescence protein. J Biol Chem 276 28395-28401	2001		Tomura A, Goto K, Morinaga H, Nomura M, Okabe T, Yanase T, Takayanagi R, Nawata H.
Tributyltin or Triphenyltin Inhibits Aromatase Activity in the Human Granulosa-like Tumor Cell Line KGN. Biochem Biophys Res Commun. 289 198-204	2001		Saitoh M, Yanase T, Morinaga H, Tanabe M, Mu YM, Nishi Y, Nomura M, Okabe T, Goto K, Takayanagi R, Nawata H.
Regulation of aromatase by nuclear receptors. J Steroid Biochem Mol Biol. 79:187-192	2001		Yanase T, Mu YM, Nishi Y, Goto K, Nomura M, Okabe T, Takayanagi R, Nawata H.
The presence of the amino- and carboxyl-terminal domains in androgen receptor is essential for the completion of a transcriptionally active form with coactivators and intranuclear compartmentalization common to the steroid hormone receptors : A three-dimensional imaging study. Mol Endocrinol	2002 (in press)		Saitoh M, Takayanagi R, Goto K, Fukamizu A, Tomura A, Yanase T, Nawata H.
Nuclear receptor function requires a TFIIIC-type histone acetyl transferase complex. Moll. Cell.	2002 (in press)		Yanagisawa J., Kitagawa, H., Yanagida, M., Wada, O., Ogawa, S., Nakagomi, M., Oishi, H., Yamamoto, Y., Nagaswa, H., McMahon, S. B., Cole, M. D., Tora, L., Takahashi, N., <u>Kato, S.</u>
Transcriptional regulation of the mouse steroid 5 α -reductase type II gene by progesterone in brain. Nucleic Acids Research	2002 (in press)		Matsui, D., Sakari, M., Sato, T., Murayama, A., Takada, I., Kim, M., Takeyama, K., <u>Kato S.</u>
Structure-function analysis of CYP27A1. Studies on mutants from patients with vitamin D-dependent rickets type I (VDDR-I) and cerebrotendinous xanthomatosis (CTX). Eur. J. Biochem., 268,6607-6615	2001		Sawada, N., Sasaki, T., Kitanaka, S., <u>Kato, S.</u> , Inouye, K.
N-terminal activation function is dominant in ligand-dependent transactivation of medaka estrogen receptor α in human cells. Biochem. Biophys. Res. Commun., 289, 763-768	2001		Mezaki, Y., Yoshida, T., Yanagisawa, J., Kato S.

論文名 (書名又は誌名 (巻号数))	刊行 年月日	刊行 書店名	執筆者氏名
Doudenal calcium absorption in vitmin D receptor-knockout mice: functional and meolecular aspects. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98,13324-13329	2001		Van Cromphaut,S. J., Dewerchin, M., Hoenderop, J. G. J., Stockmans, I., Van Herck, E., <u>Kato S.</u> , Bindels, R. J. M., Collen, D., Carmeliet, P., Bouillon, R., Carmeliet, G.
Characterization of a vitamin D receptor knockout mouse as a model of colorectal hyperproliferation and DNA damage. Carcinogenesis, 22, 1429-1435	2001		Kallay, E., Pietschmann, P., Toyokuni, S., Bajna, E., Hahn, P., Mazzucco, K., Bieglmayer, C., <u>Kato, S.</u> , Cross, H. S.
Aberrant growth plate development in VDR/RXR γ double- null mutant mice. Endocrinology, 14 2, 5332-5341	2001		Yagishita, N., Yoshizawa, T., Yamamoto, Y., Sekine, K., Uematsu, Y., Murayama, H., Nagai, Y., Krezel, W., Chambon, P., Matsumoto, T., <u>Kato, S.</u>
A tamoxifen responsive estrogen receptor alpha mutant D351Y shows reduced tamoxifen - dependent interaction wih corepressor complexes.J. Biol. Chem., 276,42684-42691	2001		Yamamoto, Y., Wada, O., Suzawa, M., Yogiashi, Y., Yano, T., <u>Kato, S.</u> , Yanagisawa, J.
Selective coactivation of estrogen - dependent transcription by CITED1 CBP/p300-binding protein. Genes Dev., 15,2598-2612	2001		Yahata, T., Shao, W., Endoh, H., Hur, J., Coser, K. R., Sun, H., Ueda, Y., <u>Kato, S.</u> , Isselbacher, K. J., Brown, M., Shioda, T.
The molecular basis of vitamijn D-dependent rickets type I. Endocrine J., 48,427-432	2001		Kitanaka, S., Takeyama, K., Murayama, A., <u>Kato, S.</u>
Correlation between 25 - hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase gene expression in alveolar macrophages and the activity of sarcoidosis. Am. J. Med., 110,687-693	2001		Inui, N., Murayama, A., Sasaki, S., Suda, T., Chida, K., <u>Kato, S.</u> , Nakamura, H.
A subfamily of RNA binding DEAD-box proteins acts as an estrogen receptor α coactivator through the N-terminal activation domain (AF-1) with an RNA coactivator, SRA. EMBO J., 20, 1341-1352	2001		Watanabe, M., Yanagisawa, J., Kitagawa, H., Takeyama, K., Arao, Y., Suzawa, M., Kobayashi, Y., Ogawa, S., Yano, T., Yoshikawa, H., Masuhiro, Y., <u>Kato S.</u>
Dietary phosphorus restriction reverses the impaired bone mineralization in vitamin D receptor knockout mice. Endocrinology, 142,494-497	2001		Masuyama, R., Nakaya, Y., Tanaka, S., Tsurukami, H. Nakamura, T., Watanabe, S., Yoshizawa, T., <u>Kato S.</u> , Suzuki, K.
A nuclear receptor screening method using a steroid receptor coactivator-1 fragment in a yeast two-hybrid system. Anal. Biochem., 289, 295-297	2001		Sasagawa, S., <u>Kato, S.</u>
Estrogen receptor-mediated cross-talk with growth factor signaling pathways. Breast Cancer, 8, 3-9	2001		<u>Kato, S.</u>
Expression profiles of COUP-TF, DAX-1 and SF-1 in human adrenal gland and adrenocortical tumors: Possible implications in steroidogenesis. <i>Molecular Genetics and Metabolism</i> 74: 206-216	2001		<u>H.Shibata</u> , Y.Ikeda, T.Mukai, K.Morohashi, I.Kurihara, T.Ando, T.Suzuki, S.Kobayashi, M.Murai, I.Saito, <u>T.Saruta</u>

論文名 (書名又は誌名(巻号数))	刊行 年月日	刊行 書店名	執筆者氏名
Expression and regulation of nuclear receptor coactivators in glucocorticoid action. <i>Molecular and Cellular Endocrinology</i> .	2002 (in press)		I.Kurihara, <u>H.Shibata</u> , T.Suzuki, T.Ando, S.Kobayashi, M.Hayashi, I.Saito, <u>T.Saruta</u> .
Down-regulation of Mcl-1 by inhibition of the PI3-K/Akt pathway is required for cell shrinkage-dependent cell death. <i>Biochem Biophys Res Commun.</i> ;290(4):1275-81.	2002 Feb 1		T.Araki, M.Hayashi, N.Watanabe, H.Kanuka, J.Yoshino, M.Miura, <u>T.Saruta</u> .
Regulation of vascular proteoglycan synthesis by angiotensin II type 1 and type 2 receptors. <i>J Am Soc Nephrol.</i> ;12(12):2609-15.	2001 Dec		.R.Shimizu-Hirota, H.Sasamura, M.Mifune, H.Nakaya, M.Kuroda, M.Hayashi, <u>T.Saruta</u> .
Divergent renal vasodilator action of L- and T-type calcium antagonists in vivo. <i>J Hypertens.</i> ;19(11):2031-7.	2001 Nov		M.Honda, K.Hayashi, H.Matsuda, E.Kubota, H.Tokuyama, K.Okubo, I.Takamatsu, Y.Ozawa, <u>T.Saruta</u> .
Effect of T-type selective calcium antagonist on renal microcirculation: studies in the isolated perfused hydronephrotic kidney. <i>Hypertension.</i> ;38(3):343-7.	2001 Sep		Y.Ozawa, K.Hayashi, T.Nagahama, K.Fujiwara, <u>T.Saruta</u> .
副腎皮質機能低下症 ホルモンと臨床 49 (特別増刊号) : 97-103	2001		柴田洋孝, 齊藤郁夫 副腎皮質機能低下症 ホルモンと臨床 49 (特別増刊号) : 97-103, 2001.
Cushing症候群 ホルモンと臨床 49 (特別増刊号) 104-108	2001		柴田洋孝, 猿田享男
DHEA 現在までの研究の経過 高度先進医療 p.145-147	2001		柴田洋孝.
両側副腎偶発腫瘍で発見された先天性副腎過形成(21-水酸化酵素欠損症)の一例 ホルモンと臨床	2001 (in press)		栗原 勲, 柴田洋孝, 鈴木利彦, 安藤 孝, 笹野公伸, 藤枝憲二, 林 晃一, 林 松彦, 村井 勝, 齊藤郁夫, 猿田享男
特集 副腎疾患の診断、病態、治療—最近の進歩 特発性アルドステロン症とデキサメサゾン反応性アルドステロン症 内分泌・糖尿病科 12(3): 234-242	2001		柴田洋孝, 猿田享男.
原発性アルドステロンとその類似疾患 ホルモンと臨床 49 (6): 11-21	2001		柴田洋孝, 猿田享男.
副腎皮質腫瘍における自律的ホルモン産生能 ホルモンと臨床, 49 (増刊号) : 16-22	2001		柴田洋孝, 本間桂子, 猿田享男
グルココルチコイド作用における核内受容体コアクチベーターSRC-1の転写調節. ホルモンと臨床, 49 (増刊号) : 48-51	2001		栗原 勲, 柴田洋孝, 鈴木利彦, 安藤 孝, 小林佐紀子, 林 松彦, 齊藤郁夫, 猿田享男.
糖質コルチコイド Annual Review内分泌・代謝 2002 p.239-244	2002	中外医学社	柴田洋孝, 猿田享男.
二次性高血圧 日本臨床 59 (増刊号8) : 683-692	2002		柴田洋孝, 猿田享男.
内分泌腫瘍における核内受容体の病態生理学的意義 日本臨床60 (2): 237-244	2002		柴田洋孝.

論文名 (書名又は誌名(巻号数))	刊行 年月日	刊行 書店名	執筆者氏名
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		西川哲男、末松佐知子、飯塚孝、伊藤浩子、齋藤淳
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		西川哲男
原発性アルドステロン症での末梢血中15-hydroxycorticosterone(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		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
副腎性器症候群、今日の治療指針2002年版:p487-489	2001		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	2001		大村昌夫、西川哲男
原発性アルドステロン症、内分泌・糖尿病科Vol.12:230-233	2001		西川哲男、齋藤淳、大村昌夫
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		西川哲男、齋藤淳
mRNA and enzymatic activity of hepatic 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 are elevated in C57BL/KsJ-db/db mice. <i>Life Sci.</i> 69(21), 2543-2549	2001		Aoki K, Homma M, Hirano T, Oka K, Satoh S, Mukasa K, Ito S, Sekihara H
DHEAの生理的意義 内分泌・糖尿病科2001:13(1):104-108	2001		青木一孝、関原久彦
デヒドロエピアンドロステロン(DHEA), デヒドロエピアンドロステロンサルフェイト(DHEA-S), 臨床検査診断マニュアル:627-629	2001		青木一孝、関原久彦
副腎アンドロジェン <i>Annual Review 内分泌代謝</i> : 234-238	2002		青木一孝、関原久彦
Recognition of cell surface GD3 by monoclonal antibody anti-6C2 in rheumatoid arthritis synovial fluid. Expression on human T cells with transendothelial migratory activity. <i>Arthritis Rheum.</i> ;44(2):296-306	2001 Feb		Toshio Homma, Osamu Hosono, Satoshi Iwata, Susumu Ando, Katsutoshi Sasaki, Tatsunari Nishi, Hiroshi Kawasaki, Hirotohi Tanaka, Chikao Morimoto
Aryl hydrocarbon receptor/dioxin receptor in U937 cells and human macrophages. <i>Mol. Cell. Biochem.</i> ;226:107-117	2001		Keiji Komura, Shin-ichi Hayashi, Kensaku Okamoto, Isao Makino, Lorenz Poellinger, Hirotohi Tanaka.
Monitoring of <i>in vitro</i> translation of green fluorescent protein and its fusion proteins by fluorescence correlation spectroscopy. <i>Cytometry</i> ;44:1-6	2001		Yasutomo Nomura, Hirotohi Tanaka, Lorenz Poellinger, Fumihiko Higashino, Masataka Kinjo.
Inhibitory PAS domain protein is a negative regulator of hypoxia-inducible gene expression <i>Nature</i> ;414(29):550-554	2001		Yuichi Makino, Renhai Cao, Kristian Svensson, Goran Bertilsson, Mikael Asman, Hirotohi Tanaka, Yihai Cao, Anders Berkenstam, Lorenz Poellinger.

論文名 (書名又は誌名 (巻号数))	刊行 年・月・日	刊行 書店名	執筆者氏名
Functional modulation of the glucocorticoid receptor and repression of NF- κ B by ursodeoxycholic acid. <i>J. Biol. Chem.</i> , ;276: 47371-47378	2001		Takanori Miura, Rika Ouchida, Noritada Yoshikawa, Yuichi Makino, Tetsuya Nakamura, Chikao Morimoto, Isao Makino, Hirotooshi Tanaka
Definition of a Dioxin Receptor Mutant that is a Constitutive Activator of Transcription: Delineation of overlapping repression and ligand binding functions within the PAS domain <i>J. Biol. Chem.</i> , ;276: 41841-41849	2001		Jacqueline McGuire, Kensaku Okamoto, Murray L. Whitelaw, Hirotooshi Tanaka, and Lorenz Poellinger
Distinct interaction of cortivazol with the ligand binding domain confers glucocorticoid receptor specificity. <i>J. Biol. Chem.</i> , ;277: 5529-5540	2002		Noritada Yoshikawa, Yuichi Makino, Kensaku Okamoto, Isao Makino, Hirotooshi Tanaka
Cytokine Receptor Common Subunit-mediated STAT5 Activation Confers NF- κ B Activation in Murine proB Cell Line Ba/F3 Cells <i>J. Biol. Chem.</i> ;277: 6254-6265	2002		Tetsuya Nakamura, Rika Ouchida, Tsunenori Kodama, Toshiyuki Kawashima, Yuichi Makino, Noritada Yoshikawa, Sumiko Watanabe, Chikao Morimoto, Toshio Kitamura, and Hirotooshi Tanaka
11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 Is Expressed in the Human Kidney Glomerulus <i>J Clin Endocrinol Metab</i> ;87: 877-882	2002		Saeko Kataoka, Akihiko Kudo, Hiroshi Hirano, Hayato Kawakami, Toshio Kawano, Eiji Higashihara, Hirotooshi Tanaka, Francoise Delarue, Jean-Daniel Sraer, Tomoatsu Mune, Zygmund S. Krozowski, and Kunimasa Yan
Site-specific reduction and activation of NF- κ B by Ref-1 during nuclear translocation revealed by a novel system for measuring redox state of individual cysteine residues. <i>Mol. Cell. Biol.</i>	2002 (In press)		Takeyuki Nishi, Noriaki Shimizu, Masaki Hiramoto, Yuki Yamaguchi, Makoto Hasegawa, Shin Aizawa, Hirotooshi Tanaka, Kohsuke Kataoka, Hajime Watanabe, Hiroshi Handa
Identification of SWI/SNF complex subunit BAF60a as a determinant of transactivation potential of Fos/Jun dimers. <i>J. Biol. Chem.</i> 276: 2852-2857	2001		Ito, T., Yamauchi M., Nishina, M., Yamamichi, N., Mizutani, T., Ui, M., Murakami, M., and Iba, H.
Functional measurement of Hepatitis C virus core-specific CD8+ T-cell responses in the livers or peripheral blood of patients using autologous peripheral blood mononuclear cells as targets or stimulators. <i>J. Clin. Microbiol.</i> 39: 3895-3901	2001		Fang, S-H, Chiang, B-L., Wu, M-H, Iba, H., Lai, M-Y., Yang, P-M., Chen, D-S., and Hwang, L-H.
Introduction of wild-type <i>patched</i> gene suppresses the oncogenic potential of human squamous cell. <i>Oncogene</i>	2002 (In press)		Koike, C., Mizutani, T., Ito, T., Shimizu, Y., Yamamichi, N., Kameda, T., Michimukai, E., Kitamura, N., Okamoto, T. and Iba, H.
A boy with adrenal insufficiency and DAX-1 gene defect, <i>Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Vyziva</i> 4.2:136-139,	2001		Lebl J, Fujieda K, Kalvachova B, Votava F
RIP140 modulates transcription of the steroidogenic acute regulatory protein gene through interactions with both SF-1 and DAX-1. <i>Endocrinology</i> 142:3570-3577.	2001		Sugawara T, Abe S, Sakuragi N, Fujimoto Y, Nomura E, Fujieda K, Saito M, Fujimoto S