

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

副腎ホルモン産生異常に関する調査研究

# 平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 藤 枝 憲 二

平成20年3月

# 目 次

I. 序文 .....	1
II. 研究班構成員名簿 .....	3
III. 総括研究報告書 .....	4
主任研究者 旭川医科大学小児科	藤枝憲二
IV. 分担研究報告書	
(1) 副腎ホルモン産生異常症の診療ガイドライン作成に関連する研究	
1. 新たな原発性アルドステロン症の頻度の検討～特にスクリーニング法の比較 .....	11
横浜労災病院内分泌代謝内科 西川哲男、大村昌夫、齋藤 淳、松澤陽子、伊藤浩子	
2. 原発性アルドステロン症全国アンケート調査集計（第一報） .....	20
横浜労災病院内分泌代謝内科 西川哲男、齋藤 淳、大村昌夫、松澤陽子、伊藤浩子	
3. 原発性アルドステロン症の疫学の基盤研究（平成 18 年度分を含む） .....	31
京都大学大学院医学研究科内分泌代謝内科 田村尚久	
4. 副腎皮質癌における特異的標的治療対象の発現～免疫組織化学的検索～ .....	46
東北大学大学院医学系研究科病理病態学 中村恵美、笹野公伸	
5. 本邦における副腎皮質癌の疫学調査 .....	55
旭川医科大学小児科 藤枝憲二、鈴木 滋、向井徳男 東邦大学医学部内科学糖尿病・代謝・内分泌科 上芝 元	

6. 副腎偶発腫における副腎癌の解析 ..... 69  
東邦大学医学部内科学糖尿病・代謝・内分泌科

上芝 元、一城貴政

7. 21-水酸化酵素欠損症の出生前診断、治療についてのアンケート調査 ..... 74  
北海道大学大学院医学研究科小児科

田島敏広

浜松医科大学小児科

大関武彦

旭川医科大学小児科

藤枝憲二、向井徳男

## (2) 副腎の再生に関する研究

8. SF-1/Ad4BP はヒト骨髄由来間葉系幹細胞をステロイド産生細胞へ分化誘導する  
..... 77

九州大学大学院医学研究院病態制御内科

柳瀬 敏彦、田中智子、權藤重喜、岡部泰二郎、高柳涼一  
九州大学大学院医学研究院

名和田新

9. ステロイド産生細胞の分化再生に関する研究 ..... 83  
福井大学医学部医学科生命情報医科学

宮本 薫

## (3) 副腎ホルモン産生異常に関連する基礎的・臨床的研究

10. 副腎皮質の発生初期過程に関する研究 ..... 87  
九州大学大学院医学研究院分子生命科学系

諸橋憲一郎

11. Yeast two-hybrid system を用いた StAR および DAX-1 相互作用因子同定の試み  
..... 90

旭川医科大学小児科

藤枝憲二、向井徳男、鈴木 滋

12. 血中ステロイドプロファイル LCMSMS 法による  
早産児・正期産児の新生児早期副腎機能解析 ..... 93

慶應義塾大学医学部小児科

長谷川奉延、三輪雅之、池田一成

慶應義塾大学病院中央臨床検査部

本間桂子

13. 塩誘導性キナーゼ (SIK) によるアルドステロン合成酵素遺伝子の 発現調節に関する研究	96
帝塚山大学	
	岡本光弘
14. コレステロール硫酸のステロイドホルモン産生の影響	102
北海道大学大学院医学研究科分子医科学	
	菅原照夫
15. 続発性副腎皮質機能低下症患者の副腎髄質機能	105
日本生命済生会附属日生病院総合内科	
笠山宗正、浅沼伸行、佐藤文三	
大阪大学大学院医学系研究科内分泌・代謝内科学	
森田真也、大月道夫	
16. ステロイド (糖質コルチコイド) 補充療法の現状と問題点	111
九州大学大学院医学研究院病態制御内科	
柳瀬敏彦、高柳涼一	
浜松医科大学小児科	
	大関武彦
日生病院内科	
	佐藤文三
広島大学泌尿器科	
	碓井 亜
17. プレレセプターレベルにおけるステロイド抵抗性発症機序の解明 ～急性リンパ性白血病における $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 の解析に関する研究	124
浜松医科大学小児科	
	大関武彦、中川祐一、齋 秀二、 藤澤泰子、坂口公祥、岡田周一
18. <i>CYP11B1</i> common variants と表現型の関連	131
岐阜大学大学院医学系研究科内分泌代謝病態学分野	
宗 友厚、伏見宜俊、黒田英嗣、山田亘子、 廣田卓男、村松 学、塩谷真由美、川地慎一、 佐々木昭彦、諏訪哲也、加納克徳、武田 純	
19. アルドステロンの血管新生抑制作用についての研究	138
福井大学医学部第三内科	
	宮森 勇、藤井美紀、居軒 功、稲葉 聡

20. アルドステロンが及ぼす血管内皮細胞 HDL 依存性 NO 産生への影響	142
香川大学医学部内分泌代謝・血液・免疫・呼吸器内科 村尾孝児、井町仁美、村岡都美江、石田俊彦	
21. 原発性アルドステロン症における糖代謝異常	149
金沢大学大学院臓器機能制御学(内分泌代謝内科) 武田仁勇、米田 隆	
22. アルドステロン作用の抑制因子としての NF- $\kappa$ C の役割	154
慶應義塾大学医学部内科 柴田洋孝	
23. ステロイドホルモンレセプターの転写制御メカニズムの解明に関する研究	158
東京大学分子細胞生物学研究所 加藤茂明	
24. グルココルチコイド作用調節機構に関する研究～HEXIM1 は組織特異的グルコ コルチコイド応答性遺伝子発現に関与する	167
東京大学医科学研究所先端医療研究センター 田中廣壽、吉川賢忠、清水宣明	
<b>V. 診療ガイドライン</b>	
1. 先天性副腎過形成症の診断基準	173
a. 先天性リポイド過形成症	
b. 3 $\beta$ -水酸化ステロイド脱水素酵素欠損症	
c. 17 $\alpha$ -水酸化酵素欠損症	
d. 21-水酸化酵素欠損症	
e. 11- $\beta$ 水酸化酵素欠損症	
f. P450 オキシドレダクターゼ (POR) 欠損症	
2. 先天性副腎低形成症診断の手引き	186
a. DAX-1 異常症 (X 連鎖性)	
b. SF-1/Ad4BP 異常症 (常染色体性)	
c. IMAGe 症候群 (原因不明)	
<b>VI. 会議記録</b>	
平成 19 年度研究報告会プログラム	191
<b>VII. 研究成果の刊行に関する一覧表</b>	
	198

# I. 序 文

# I. 序 文

厚生労働省科学研究費補助金による難治性疾患克服研究事業「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班におきまして主任研究者を担当し、研究を継続させていただき、今年で早3年が過ぎました。

副腎ホルモン産生異常に関連する病態を明らかにし、それに基づいて診断法および治療法を開発することを研究目標とし、これまでの2年間の研究成果を基に、最終年度である本年はいくつかの関連対象疾患について診断基準の改定・作成を行いました。

さらに、昨年度に引き続いて以下の項目に重点を注いだ研究を分担研究者の方々とともに進めて参りました。

- (1) 副腎ホルモン産生異常症の診療ガイドライン作成に関連する研究
- (2) 副腎の発生・分化・再生に関する研究
- (3) 副腎ホルモン産生異常に関する基礎的・臨床的研究

また、平成19年度研究報告会を平成19年12月14日(金)に東京で開催いたしました。昨年に引き続いて多くの成果があげられました。特に今年度は先天性副腎過形成症の中の21水酸化酵素欠損症の出生前診断・治療について、そして副腎癌について全国疫学調査を行いました。同時に、先天性副腎過形成症の診断基準改定と、先天性副腎低形成症の診断基準作成にも取り組みました。また、幹細胞からのステロイド産生細胞への分化に関しましては独創的で将来の発展につながる研究が着々と進んでおります。以下に本年度の研究班の成果について要約します。

(1) 先天性副腎過形成症の診断基準の改訂と、先天性副腎低形成症の診断の手引きの作成を行いました。また、副腎偶発腫瘍・副腎癌、および先天性副腎過形成症の出生前診断・出生前治療に関する全国アンケート調査を実施し、解析を行いました。

(2) SF-1/Ad4BP 導入によりヒト骨髄由来間葉系幹細胞をステロイド産生細胞へと形質転換することに成功し、ACTH受容体及びLH受容体の誘導を認め、ACTH, LHに対しても良好な反応性とステロイド産生性を示すことを見出しました。また、これとは別に、転写因子LRH-1導入及びcAMP処理によって、SF-1/Ad4BP導入と同様に、ヒト間葉系幹細胞株からステロイドホルモン産生細胞の樹立に成功しました。これらの研究は本研究班においてなされた極めて独創性の高い成果といえます。

(3) Ad4BP/SF1の胎仔副腎皮質特異的エンハンサーの研究、StARタンパク・DAX-1タンパクとの相互作用因子の探索、StARタンパクの発現調節機構に関する研究が行われました。副腎癌に対する治療法について検討されました。また、アルドステロン作用と心血管障害との関連、原発性アルドステロン症の臨床的診断法の検討がなされ、ステロ

イド合成酵素の活性に影響する因子の解析も進んでいます。副腎皮質機能低下症に対する治療法や髄質機能に関する検討も行われました。グルココルチコイド受容体 (GR) を中心にステロイドホルモン受容体の発現や機能に関する調節機構、中でも酸化還元反応による GR の転写制御機構についても解析が進められ、ステロイドホルモンの作用機構についての新たな知見を得ることができました。

本研究班の研究目標に向かってご尽力いただきました分担研究者の方々に心から感謝申し上げますとともに、多くのご助言を賜りました厚生労働省健康局疾病対策課難病調査係の方々に厚く御礼申し上げます。

平成 20 年 3 月

「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班

主任研究者 藤 枝 憲 二



## II. 研究班構成員名簿

## II. 「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班 構成員名簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
主任研究者	藤枝 憲二	旭川医科大学小児科	教 授
分担研究者	岡本 光弘	帝塚山大学現代生活学部	教 授
	諸橋 憲一郎	九州大学大学院医学研究院分子生命科学系機能高分子設計学	教 授
	加藤 茂明	東京大学分子細胞生物学研究所核内情報研究分野	教 授
	柳瀬 敏彦	九州大学大学院医学研究院病態制御内科	准教授
	田中 廣壽	東京大学医科学研究所先端医療研究センター免疫病態分野	准教授
	柴田 洋孝	慶應義塾大学医学部内科	講 師
	笹野 公伸	東北大学大学院医学系研究科病理診断学	教 授
	宮森 勇	福井大学医学部第3内科	教 授
	宮本 薫	福井大学医学部生命情報医科学講座分子生体情報学	教 授
	大関 武彦	浜松医科大学小児科	教 授
	笠山 宗正	日本生命済生会附属日生病院総合内科	副院長
	宗 友厚	岐阜大学大学院医学研究科内分泌代謝病態学	准教授
	長谷川 奉延	慶應義塾大学医学部小児科	准教授
	上芝 元	東邦大学医学部内科学糖尿病代謝内分泌科	講 師
	武田 仁勇	金沢大学大学院医学系研究科分子病態内科	准教授
	村尾 孝児	香川大学医学部内分泌代謝・血液・免疫・呼吸器内科	講 師
	田島 敏広	北海道大学大学院医学研究科小児科	講 師
	菅原 照夫	北海道大学大学院医学研究科分子生化学	助 教
田村 尚久	京都大学大学院医学研究科内分泌代謝科	助 教	
西川 哲男	横浜労災病院内分泌代謝内科	副院長	
事務局担当	向井 徳男	旭川医科大学小児科 〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1丁目1-1 TEL: 0166-68-2481 FAX: 0166-68-2489	助 教
経理事務担当	大関 高志	旭川医科大学総務部会計課出納係 〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1丁目1-1 TEL: 0166-68-2154 FAX: 0166-66-1300	係 長

### Ⅲ. 総括研究報告書

# III. 副腎ホルモン産生異常に関する調査研究

## 総括研究報告

主任研究者  
藤枝 憲二  
旭川医科大学小児科

### 1. 研究目的

厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班は平成17年度に発足した。当研究班は副腎の発生・分化、ステロイド産生、その作用に異常を呈する疾患を対象に病因・病態の解明、新しい診断法・治療法の開発、さらには疾患の実態調査を行い、診療ガイドラインを作成することを研究目標として研究を継続させ、3年間の総括を行った。

#### (1) 副腎ホルモン産生異常症の診療ガイドライン作成

- 1) 原発性アルドステロン症
- 2) 副腎癌
- 3) 副腎偶発腫瘍
- 4) 先天性副腎過形成症
- 5) 先天性副腎酵素欠損症
- 6) 先天性副腎低形成症

#### (2) 副腎の再生に関する研究

#### (3) 副腎ホルモン産生異常に関連する基礎的・臨床的研究

- 1) 副腎の発生・分化、ステロイド合成
- 2) 原発性アルドステロン症
- 3) ステロイド受容体

### 2. 研究成果

#### (1) 副腎ホルモン産生異常症の診療ガイドライン作成

新宿地区無治療初診高血圧402例を対象とした調査で原発性アルドステロン症の頻度が9.5%であること、原発性アルドステロン症を診断するための一次スクリーニングに、アルドステロン-レニン活性比よりアルドステロンとレニン活性の実測値を用いた検査が有用であり、ROC解析によりカットオフ値をアルドステロン10.0ng/dlかつレニン活性1.0ng/ml/hに設定することが最も効率的であることを明らかにした。以前行った1020例を対象としたYokohama studyでのPAの頻度は6.0%であることから、初診無治療高血圧患者に占めるPAの頻度は7.0%であると推定された。また、PAの72%が外科的治療で治癒が期待できることから、すべての高血圧患者でPAの鑑別のためのスクリーニング検査を行うことの重要性を指摘した。(西川)

また、適切な診断と治療により治癒が期待できるPAの診療実態調査を全国200床以

上の医療機関を対象にアンケート方式で行い、平成18年の1年間に新たに診断されたPA症例に関して症例の解析を行って中間集計を行った。事前調査は2754施設を対象に行い907施設(32.9%)から回答を得た。回答施設のうちPA症例を経験した140施設(15.4%)に調査用紙を送付して回収し集計を行った。平成18年11月30日までに67施設から287例の調査用紙が回収された。PA287例の性別に男女差はなく、平均年齢は53.7歳で40歳以下の若年患者は41例、収縮期血圧は平均155mmHg、拡張期血圧は92mmHgであり、収縮期血圧180mmHg以上の重症高血圧は27例であった。血清カリウム値は平均3.3mEq/lであり、正カリウム血症の症例が44.5%を占めていた。診断時の血漿アルドステロン濃度は平均27.8ng/dl、血漿レニン活性は平均0.33ng/ml/h、アルドステロン/レニン活性比(ARR)は2.85~859であり、ARR20以上の症例は全体の92.5%であった。またPA患者のBMIは平均24.5kg/m<sup>2</sup>でBMI25kg/m<sup>2</sup>以上の肥満の合併は108例(39%)に認められた。今後さらに調査表の回収作業を継続し、平成18年に診断されたPAの臨床像を明らかにしてゆく予定である。(西川)

PAの頻度を実地医家受診患者ベースで明らかにすることを目的に、全国11施設において実地医家各10名前後の参加グループを編成し、参加実地医家を受診する初診の高血圧患者を登録し、診断を確定する作業を行っている。本調査は実地医家受診レベルにおける初めての頻度調査である。京都大学EBM共同研究センターにてデータ管理と統計解析を行う。目標登録患者数を1,000名とし、PAが稀少疾患かコモンディージーズかを明らかに出来ると考えられる。(田村)

副腎皮質癌および副腎皮質腺腫において標的治療の有用性を判定するために、標的因子の発現を免疫組織化学的に検討した。その結果、今回検討した因子の中で唯一、副腎皮質癌においてCetuximab等の標的因子であるEGFRが有意に高発現を示した。Bevacizumabの標的因子であるVEGFAやTrastuzumabの標的因子であるHER2/neuは有意な発現の差を認めなかった。この結果からCetuximabが治療薬として有効である可能性が示唆された。(笹野)

副腎皮質癌の全国疫学調査を行なったところ、2002年から2006年の5年間の患者数は341人と推定された。診断の契機としては偶発腫が24%と2番目に多い原因であった。また、治癒切除可能例ではこれまでの報告より明らかに予後がよいという結果であった。副腎皮質癌のマーカーとして血中DHEA-S、尿中17-OHCSおよび17-KSが有用と報告されているが、その施行率は50%と決して高いものではなかった。従って、偶発腫の中から早期の副腎皮質癌を拾い上げて行くことは非常に重要であり、今後これらの症例における診断指針が求められる。また、予後良好例についてはホルモン補充の有無等を含めたQOLについて今後明らかにしていく必要があると思われた。一方、依然として約40%は診断時に治癒切除不能であり、診断および集学的治療の標準化による症例の蓄積が必要である。(藤枝)

5年間の継続的な副腎偶発腫全国疫学調査で報告を受けた副腎癌50例の集計結果をもとに、本邦における副腎癌の疫学像を解析した。また、その頻度を諸外国と比較した。副腎癌の割合は1.4%で、平均腫瘍径は8.3cmであり、副腎偶発腫全体の平均腫瘍径3.0cmより明らかに大きかった。また、従来より診断に有用とされている血中DHEA-S、尿中17-OHCSおよび尿中17-KSの有用性が再確認された。しかし、鑑別には

腫瘍径とともに従来から有用とされてきたマーカー（血中 DHEA-S、尿中 17-OHCS および尿中 17-KS）、画像的特徴を含めて、総合的な判断が必要と考えられた。副腎偶発腫における副腎癌の頻度については、米国（1%）、ハンガリー（1.5%）、ドイツ（2%）、フランス（2%）と同頻度と考えられた。（上芝）

21-水酸化酵素欠損症(21-OHD)は女兒において副腎性アンドロゲンの過剰による外性器の男性化、内性器の男性化は重大な合併症であり外科的矯正が必要である。外性器の男性化抑制を目的とした 21-OHD の出生前治療は、欧米諸国において実施されている。そこで本邦での出生前診断・治療の現状を把握するためアンケート調査を行った。出生前診断は 6 施設 6 症例のみで行われていた。そのうち自施設で行われたものは 3 施設であった。絨毛細胞による 21-OHD の遺伝子診断は 3 例で行われていた。出生前診断に基づく治療については分娩まで治療された症例は罹患女兒 1 例であった。出生前治療を受けた本疾患罹患女兒の外性器の男性化は軽度で、手術は必要なかった。また、出生前診断・治療のすべてを行える施設は現状では 3 施設であった。21-OHD における出生前治療、診断については絨毛、羊水細胞による診断可能な施設が十分ではないことが判明したため、今後対応できるシステムを構築しなければならないと考えられた。（田島）

このような臨床的・基礎的研究成果を基に、策定からおおよそ 10 年が経過した副腎酵素欠損症の診断基準について改定を行った。また、これまで存在しなかった先天性副腎低形成症候群の診断基準について、昨年度に策定した 1 次案をもとに診断基準を作成した。

## （2）副腎の再生に関する研究

ステロイドホルモン産生異常症などに対する再生治療の開発を目指すことを目的に以下の研究成果が得られた。

ヒト骨髄由来間葉系幹細胞(BMC)のステロイド産生能を検証し、そのプロフィールをマウス BMC のそれと比較検討した。ヒト BMC はマウス BMC 同様、ステロイド産生細胞へ形質転換されたが、マウス BMC と異なり、ACTH 受容体及び LH 受容体の劇的な誘導を認め、ACTH, LH に対しても良好な反応性とステロイド産生性を示した。さらに、幾つかの性分化関連因子について同様にヒト BMC へ遺伝子導入したが、SF-1/Ad4BP のみがステロイド産生細胞への転換能を示し、SF-1 がこの機能において真にマスターレギュレーターであることが確認された。（柳瀬）

また、転写因子 LRH-1 導入及び cAMP 処理により、SF-1 導入と同様に、ヒト間葉系幹細胞株からステロイドホルモン産生細胞の樹立にも成功した。（宮本）

## （3）副腎ホルモン産生異常に関連する基礎的・臨床的研究

転写因子 Ad4BP/SF-1 は副腎皮質におけるステロイドホルモン産生能を制御し、同時に組織形成過程で重要な役割を担っている。これまでに Ad4BP/SF-1 遺伝子の胎仔副腎エンハンサー配列を同定し、この配列を用い、Ad4BP/SF-1 を強制的に発現するトランスジェニックマウスを作成したところ、このマウスには異所性に副腎皮質が形成された。この異所性副腎皮質形成のメカニズムを検討したところ、Ad4BP/SF-1 がサイクリ

ン遺伝子の活性化を通じ細胞増殖を亢進させることが明らかになった。これらの結果より Ad4BP/SF-1 が細胞増殖を制御することで異所性副腎皮質形成に寄与していることを明らかにした。(諸橋)

先天性副腎リポイド過形成症は日本人に比較的多く発症し、その病因は多様性に富むことが知られている。また、先天性副腎低形成症の病因にも多様性がある。そこで、新たな病因候補としてそれぞれの主要原因遺伝子として同定されている StAR、DAX-1 と相互作用する因子を探索・同定し、疾患との関連や、ステロイド産生・コレステロール輸送、副腎の組織形成に関連した機能について検討する意義はある。作製したヒト副腎由来 cDNA ライブラリーについて、yeast two-hybrid system を用いてスクリーニングを行った結果、それぞれ 3 個および 79 個の陽性クローンを同定しており、さらなる検証を行っている。(藤枝)

早産児と正期産児について新生児早期における副腎胎生皮質ステロイド分泌を比較した。対象は、生後 3-5 日の早産児(在胎 32-35 週) 29 例、生後 3-6 日の正期産児(37-41 週) 103 例で、血清 100  $\mu$ l について、安定同位体内部標準添加、溶媒抽出、ミニカラム分画、ピコリノイルエステル誘導化等の前処理後、液体クロマトグラフタンデム質量分析(LCMSMS)により非抱合型 17OHpregnenolone、DHEA を測定し、早産児と正期産児を Mann-Whitney 有意差検定により比較した。その結果、17OHpregnenolone、DHEA は、早産児において正期産児より有意に高値であった。これは、早産児において、副腎胎生皮質がより残存しているという病理所見と矛盾しない結果であった。(長谷川)

CYP11B2 遺伝子の発現に、Ca<sup>2+</sup>-CaMKK-SIK-CaMK-CREB リン酸化カスケードがどのように関わるかを検討するため、既に同定した SIK2 の特異的阻害剤である Compound C を利用して上記のリン酸化カスケードを解析することを試みた。その結果 SIK2 の特異的阻害剤は CYP11B2 の遺伝子発現そのものには直接影響を及ぼさないことが分かった。しかし SIK2 がアルドステロン分泌を制御することは明らかなので、SIK2 が PGC-1 などの転写共役因子の働きに影響を及ぼした結果、アルドステロンのミトコンドリア内での合成機能を調節すると考えられた。(岡本)

Steroidogenic acute regulatory protein (StAR 蛋白質) はコレステロールのミトコンドリア内の移動に重要な役割をしている。コレステロール硫酸(CS)は副腎におけるステロイドホルモンの前駆体だけではなく、コレステロール生合成の抑制物質として働く。副腎皮質細胞(ヒト副腎癌細胞 H295R 細胞)のステロイドホルモン産生(プレグネノロン産生量)における CS の生物学的な役割を調べた。その結果、副腎皮質細胞において CS は StAR 蛋白質を調節することにより、ステロイドホルモンの産生に影響を与えることが判明した。(菅原)

下垂体機能低下症を合併する下垂体腺腫患者(非機能性腺腫およびプロラクチノーマ)を対象に、インスリン低血糖刺激時のエピネフリン分泌とノルエピネフリン分泌を評価した。インスリン低血糖刺激時のエピネフリン分泌は、健常対象者に比して低下していた。このうち、続発性副腎皮質機能低下症を合併する患者でエピネフリン分泌低下症(重症型)の頻度が高く、インスリン低血糖刺激時のコルチゾール頂値とエピネフリン頂値は正相関を示した。他の下垂体ホルモンの機能低下はエピネフリン分泌低下症の有無に影響しなかった。すなわち、続発性副腎皮質機能低下症患者では副

腎髄質機能低下を合併することが判明した。(笠山)

わが国の副腎皮質機能低下症患者に対する副腎ステロイド補充療法はヒドロコルチゾン 15-20mg の補充量が多く、原発性(副腎性)よりも続発性(間脳-下垂体性)で少なめに補充されている現状である。血中コルチゾールの kinetics から検討した理論的必要補充量はさらに低めに見積もられており、長期的な視点からは、患者個人の副腎予備能や QOL に応じた至適補充量の模索努力は重要と思われる。また自験例の検討範囲では選択的なコルチゾール分泌障害に伴うヒドロコルチゾンのみの補充療法による副作用発現頻度は、複合ホルモン欠損症の病態を呈する続発性副腎皮質機能不全症の場合に較べて明らかに少なく、続発性の場合には他のホルモン欠落(成長ホルモンや性腺ステロイド)に伴う副作用発現の可能性にも配慮することが重要と考えられた。(柳瀬)

急性リンパ性白血病(ALL)細胞を用い、グルココルチコイド代謝調節酵素である 11 $\beta$ 水酸化ステロイド脱水素酵素 1 型(11HSD1)およびグルココルチコイド受容体(GR)遺伝子の発現を解析した。さらにこれら遺伝子のデキサメサゾンに対する反応性につき解析した。その結果、ALL 細胞において 11HSD1 および GR の遺伝子発現を認め、薬剤感受性試験にてグルココルチコイド抵抗性を示す白血病細胞はデキサメサゾン投与により 11HSD1 の発現低下を認めた。また GR 遺伝子の発現はグルココルチコイド感受性を示すものに比べデキサメサゾンに対する反応性は低下していた。これらの結果はグルココルチコイド抵抗性の発症にレセプターのみならずプレレセプターレベルの関与を示すものであると思われた。(大関)

コルチゾール(F)合成の最終ステップを司る 11 $\beta$ 水酸化酵素(B1)について、正常/アルドステロン産生/クッシング症候群副腎組織における B1 mRNA 発現量を real time PCR 法により定量した。また直接シーケンスにて検出した R43Q と +225G/A (Y75)両多型のヘテロ接合体サンプルを Msp I と Bfa I で処理し、アリル毎の mRNA レベルを測定、さらに計 1547 例を対象に表現型との関連を検討した。その結果、B1 発現レベルには有意差はなかった。推定転写効率 R43 アリルで明らかに低かった(Q アリルの 29  $\pm$  9(SD)%) が、B1 定常発現レベルには遺伝型による差は検出されなかった。中間表現型と考えられる尿中フリー F 排泄量(n=157)は RR 遺伝型で低値(P=.027)であった。臨床的表現型に関しては、Q アリル頻度は正常血圧対照(n=1021) 41.0%・高血圧患者(n=526) 37.7%と有意な関連はなかったが、血圧値は RR 型で高い傾向を示した。視床下部・下垂体を介したフィードバック(ACTH ドライブ)が迅速に働いている可能性が示唆され、CYP11B1 の R43Q 多型は生体内転写効率や中間表現型に影響すると考えられた。(宗)

アルドステロンの内皮細胞の形態形成、血管新生に果たす役割についての研究を Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) と Bovine aortic endothelial cells (BAECs) を用いた 2 種類の管腔形成アッセイで行った。また、HUVECs においてアルドステロンの MR、KDR (VEGFR-2)、PPAR $\gamma/\delta$  などの血管新生に重要な遺伝子の発現に及ぼす影響を検討した。アルドステロンは血管内皮細胞の形態形成、すなわち in vitro での血管新生を抑制し、また、KDR、PPAR $\gamma/\delta$  の mRNA レベルを抑制した。アルドステロンは血管新生抑制作用を有し、その分子機序として、PPAR $\gamma/\delta$ 、KDR の mRNA レベルを低下させることが推察された。(宮森)

マウス SR-B1 相同遺伝子である CLA-1 がヒト HDL 受容体であり、副腎で強く発現さ



れていることを報告してきた。ヒトHDL受容体CLA-1がヒト血管内皮細胞に発現され、HDL刺激に応じて、一酸化窒素(NO)合成酵素を活性化し、血管弛緩因子NOの産生亢進をおこすことを報告した。アルドステロンは、血管内皮細胞におけるSR-BI/CLA-1の発現を低下させることにより、NO産生を低下させる。またアルドステロンの作用は、細胞内情報伝達系PI3-K/Akt/FoxO1の経路を介したものであると判明した。原発性アルドステロン症の症例においても、血管内皮細胞の弛緩反応の低下が考えられた。原発性アルドステロン症のような疾患においては、アルドステロン濃度が過剰であり、血管弛緩反応の低下は、動脈硬化性疾患発症に関与することを明らかにした。(村尾)

正カリウム血症性PA患者を対象に血圧をCa拮抗薬でコントロールした後、スピロノラクトンを3ヶ月間投与し、その前後で75gブドウ糖負荷試験を行い糖代謝に関して検討した。その結果、スピロノラクトン投与により血圧、血清カリウム値には有意の変動が見られなかったが、空腹時インスリン(IRI)、HOMA-Rの改善、 $\Sigma$ 血糖、 $\Sigma$ IRIの改善を見た。このことよりアルドステロンが糖代謝に対しカリウムを介さない機序でインスリン抵抗性など惹起している可能性が示唆された。(武田)

アルドステロン作用を調節する蛋白質を明らかにするために、哺乳類細胞two-hybrid法、免疫共沈降法によりミネラルコルチコイド受容体(MR)と特異的に結合する蛋白としてNF- $\kappa$ Bの単離同定に成功した。NF- $\kappa$ Bは、MRのN末端に結合し、レポーターアッセイおよび内因性標的遺伝子mRNAレベルを検討した結果、アルドステロン依存性のMR転写活性を抑制することが示された。今後、アルドステロンによる心血管疾患における病態生理的役割を明らかにすることが重要と考えられた。(柴田)

グルココルチコイド(GC)は核内受容体であるGCレセプター(GR)を介して生理作用を発揮する。GRによる炎症反応制御に着目して、酸化還元反応によるGRの転写制御メカニズムの解析を行い、受容体の分解制御による転写活性制御メカニズムの存在を明らかにすることができた。今後は、更に炎症制御に関与するGR複合体の精製同定に着手する予定である。(加藤)

新たなグルココルチコイド作用調節因子であるHEXIM1によるグルココルチコイド応答性遺伝子発現の組織特異的制御機構について検討した。その結果、細胞内HEXIM1発現量は細胞のグルココルチコイド応答性を規定した。特に、肝臓に比して腎臓ではHEXIM1の発現は低く、atp1a1、scn1a遺伝子のグルココルチコイド応答性mRNA発現誘導の臓器差(肝臓では無く、腎臓では誘導ある)と関連し、HEXIM1はその発現量によって組織のグルココルチコイド応答性を制御する機構の一つとして生理的意義を有すると考えられた。(田中)

### 3. 結論

副腎ホルモン産生異常に関連する病因、病態を把握し、その有用な診断・治療法を確立することを目的に、さまざまな臨床的研究および基礎的研究が行われ、多くの成果を得ることができた。主な成果として以下のものがあげられる。

- (1) 「原発性アルドステロン症」、「先天性副腎過形成症」、「先天性副腎低形成症」に関してそれぞれ診断の手引きを作成した。また、「副腎偶発種」について診断・治療指針を作成した。

- (2) 原発性アルドステロン症、副腎偶発種、21-水酸化酵素欠損症の出生前診断・出生前治療、副腎癌についての全国調査を行い、実態を把握した。
- (3) マウスとヒトの間葉系幹細胞からステロイドホルモン産生細胞へと誘導することに世界で初めて成功した。
- (4) その他、先天性副腎疾患やステロイドホルモン抵抗症、原発性アルドステロン症の病因・病態について顕著な研究成果が得られた。

#### 4. 健康危険情報

なし

#### 5. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## IV. 分担研究報告書

(1) 副腎ホルモン産生異常症の  
診療ガイドライン作成に関する研究