

図2. ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬による腹囲, 皮下脂肪及び内臓脂肪量の影響を示す。スピロラクトンまたはエプレレノン投与により腹囲, 皮下脂肪量には有意の変化が見られなかったが, 内臓脂肪量は有意に減少した($p < 0.05$)。

F. 研究発表

- 1) Zhu A, Yoneda T, Demura M, Karashima S, Usukura M, Yamagishi M, Takeda Y.* Effect of mineralocorticoid receptor blockade on the renal renin-angiotensin system in Dahl salt-sensitive hypertensive rats. *J Hypertension* 27; 800-805, 2009
- 2) Usukura M, Zhu A, Yoneda T, Karashima S, Yagi K, Yamagishi M, Takeda Y.* Effects of a high-salt diet on adipocyte glucocorticoid receptor and 11β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 in salt-sensitive hypertensive-rats. *Steroids* 74 : 978-982, 2009
- 3) Takeda Y. Effects of eplerenone, a selective mineralocorticoid receptor antagonist, on clinical and experimental salt-sensitive hypertension. *Hypertension Res.* 32: 321-324, 2009
- 4) 武田仁勇 副腎静脈血中コルチゾールの迅速検査 クッシング症候群診療マニュアル, 平田結喜緒, 成瀬光栄 編, 診断と治療社, 東京 pp266-267, 2009
- 5) 武田仁勇 アルドステロンと糖代謝異常 Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌, 金澤康徳, 武谷雄二, 関原久彦, 山田信博 編, 中外医学社, pp167-170, 2009
- 6) 武田仁勇 アルドステロンによる血管障害のメカニズムをみる 選択的アルドステロンブロッカーのすべて 猿田享男 編, 先端医学社, pp51-55, 2009
- 7) 武田仁勇 コルチゾールの迅速測定 カレントセラピー 27: 69, 2009
- 8) 武田仁勇 アルドステロン Heart View 13 (増刊号): 34-39, 2009
- 9) 武田仁勇 食塩と心血管および腎障害—食塩と組織レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系— 医学の歩み 231 : 805-808, 2009

原発性アルドステロン症における腎障害

研究分担者 柴田洋孝 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科 講師

【研究要旨】

原発性アルドステロン症(PA)と確定診断された 71 例（手術療法 20 例、薬物療法 51 例）を対象として、アルドステロン産生量の階層化を行って、6 カ月後の時点における両治療法による血圧値と腎機能を比較検討した。尿中アルドステロン排泄が 20g/日未満の症例では、両治療法ともに高血圧、低K血症、蛋白尿を同等に改善した。しかし、尿中アルドステロン排泄が 20g/日以上以上の症例では、高血圧および低K血症の改善が手術療法でより顕著であった。また、治療後の eGFR は、手術療法で 11~26% の減少、スピロノラクトン治療群で 15% の減少、エプレレノン治療群で 0~8% の増加を認めた。一方、蛋白尿の減少は、手術療法で 60%、スピロノラクトン治療群で 40%、エプレレノン治療群で 67% において認めたことから、治療後の eGFR 低下は病的な MR 活性化の解除の結果と考えられた。

A. 研究目的

高アルドステロン血症と食塩摂取過剰は心血管リスクを増加させる。原発性アルドステロン症(PA)の治療は、片側か両側副腎病変のサブタイプに基づき、手術療法（片側副腎摘出術）または薬物療法（ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬）が選択される。しかし、両治療法の長期予後の検討は少なく、アルドステロン産生腺腫において、高血圧や低K血症はより重症例が多く、背景因子が異なっている。そこで、本研究では確定診断で行った経口食塩負荷試験における尿中アルドステロン排泄量により階層化して、比較を行った。

B. 研究方法

対象は、PA と確定診断され、副腎静脈サンプリングにより片側病変と診断さ

れ、手術療法が行われたアルドステロン産生腺腫の 20 例および両側病変と診断され薬物療法が行われた 47 例（スピロノラクトン 17 例、エプレレノン 30 例）の合計 67 例（表 1）。

C. 研究結果

高アルドステロン血症、活性レニン濃度低値、アルドステロン/レニン比高値、尿中アルドステロン排泄高値はいずれも手術療法群で有意に重症であった(表 1)。確定診断で施行した経口食塩負荷試験における尿中アルドステロン排泄量が 12g/日未満、12-20g/日、20g/日以上の 3 群に階層化した。治療前後の収縮期血圧（図 1）の変化を検討した。いずれの治療によっても、収縮期および拡張期血圧は改善したが、尿中アルドステロンが 20g/日以上以上の群では、手術療法による収

縮期血圧低下が最も著明であったが、拡張期血圧は同程度であった。一方、尿中アルドステロン<20mg/日の症例では、高血圧、低K血症はいずれの治療法でも同等に改善した。

次に、eGFR の治療前後の変化を検討した(図2)。尿中アルドステロン排泄量にかかわらず、eGFR は低下したが(手術療法で11~26%、スピロノラクトン治療で15%)、エプレレノン治療ではeGFR は0~8%増加した(図2)。また、治療前後の蛋白尿の変化は手術療法、スピロノラクトン治療、エプレレノン治療のいずれにおいても低下した(図3)。したがって、治療によるeGFR の低下は、腎機能の悪化ではなく、病的なミネラルコルチコイド受容体の活性化が解除された結果と考えられた。

PA67 例全体の中で、治療後に eGFR が10%以上低下した群と10%未満の低下群に分けて、治療前のいかなる因子に差があるかを検討した結果、高齢、低K血症、アルブミン尿、迅速ACTH 負荷試験におけるピークアルドステロン濃度高値の症例でeGFR が10%以上低下することが示された(表2)。

D. 考察

PA の治療として、手術療法か薬物療法かの選択は、副腎静脈サンプリングによる局在診断および患者の手術希望の有無により決定される。しかし、現時点ではどちらの治療法の長期予後が優れているかは不明である。それは両治療法が行われるPA 症例の重症度などの背景因子が異なっていることがあげられる。そこで、本研究では経口食塩負荷試験での尿中アルドステロン排泄量で3群に階層化

して比較を行った。その結果、尿中アルドステロン<20g/日のPA 症例では、手術および薬物療法いずれも高血圧、低K血症、蛋白尿とも同等に改善した。しかし、尿中アルドステロン \geq 20g/日の症例では手術療法による改善は薬物療法よりも優れていた。アルドステロン排泄量が多いPA 例では積極的に副腎静脈サンプリングによる手術適応を検査すべきと考えられた。

eGFR は、治療前と比べていずれの治療も開始後に低下する症例を多く認めた。手術療法とスピロノラクトン治療では有意なeGFR の低下を認めたが、エプレレノン群では有意な変化を認めなかった。これは、治療6カ月後の時点での結果であり、さらに長期の経過観察を必要と思われた。エプレレノン治療により手術療法やスピロノラクトン治療と比べて腎保護効果がある可能性も考えられるが、MR 拮抗作用が弱いために、治療後にeGFR の低下が少ない可能性も考えられた。

E. 結論

PA の治療として、手術療法と薬物療法の予後を6カ月の短期間で比較すると、高血圧、低K血症、蛋白尿はほぼ同等の治療効果を認めたが、尿中アルドステロン排泄 \geq 20g/日の重症例では手術療法でより効果的であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

論文

A.Murai-Takeda, H.Shibata, I.Kurihara, S.Kobayashi, K.Yokota, N.Suda, Y.Mitsuishi, R.Jo, H.Kitagawa,

S.Kato, T.Saruta, H.Itoh.
NF- κ B is a corepressor of
agonist-bound mineralocorticoid
receptor. *J.Biol.Chem.* Jan.6 epub
ahead of print, 2010

K.Nishimoto, K.Nakagawa, D.Li,
T.Kosaka, M.Oya, S.Mikami,
H.Shibata, H.Itoh, F.Mitani,
T.Yamazaki, T.Ogishima, M.Suematsu,
K.Mukai. Adrenocortical zonation in
humans under normal and pathologic
conditions. *J.Clin.Endocrinol.Metab.*
(in press), 2010

柴田洋孝. クッシング症候群の診断ガイ
ドライン. *ホルモンと臨床* 56: 7-15,
2009.

栗原 勲、柴田洋孝、武田彩乃、三石木
綿子、本杉裕一郎、伊藤 裕. ACTH 非
依存性大結節性副腎皮質過形成
(AIMAH)の診断と治療. *ホルモンと臨
床* 56: 55-60, 2009

市原淳弘、柴田洋孝、伊藤 裕. 内分泌
性高血圧を見逃さないにはどうする
か. *治療* 91: 477-480, 2009

三石木綿子、柴田洋孝. クッシング症候
群、クッシング病は体型のみで診断可能
か. *Modern Physician* 29: 473-477,
2009

柴田洋孝、市原淳弘、伊藤 裕. レニン
-アンジオテンシン-アルドステロン系
の調節機構. *診断と治療* 97: 680-687,
2009

武田彩乃、柴田洋孝. アルドステロン拮
抗薬. *カレントセラピー* 27: 72-77,
2009

柴田洋孝. 内分泌疾患における補充療法
の実際: 鉱質コルチコイド補充療法. *内
分泌・糖尿病科* 28: 468-473, 2009

柴田洋孝、伊藤 裕. アルドステロン関
連高血圧-ミネラルコルチコイド受容体
活性化と治療抵抗性高血圧. *最新医学*
64: 19-27, 2009

本杉裕一郎、柴田洋孝、栗原 勲、伊藤
裕. 原発性アルドステロン症で手術適応
例は全例手術すべきである: *Con. ホル
モンと臨床* 57: 49-55, 2009

栗原 勲、柴田洋孝、伊藤 裕. 原発性
アルドステロン症の確定診断では複数の
内分泌負荷試験が必要である: *Con. ホ
ルモンと臨床* 57: 23-28, 2009

柴田洋孝、伊藤 裕. 二次性高血圧-概
論. *日本臨床* 67: 443-449, 2009

柴田洋孝. 原発性アルドステロン症の内
科的治療の現状. *血圧* 16: 52-56, 2009

柴田洋孝. 二次性高血圧が疑われる場合
-原発性アルドステロン症. *診断と治療*
98: 37-42, 2009

柴田洋孝. 副腎偶発腫. *内科* 104:
1237-1243, 2009

柴田洋孝. 高血圧とアルドステロン. *循
環器科* 66: 623-631, 2009

著書

栗原 勲、柴田洋孝、伊藤 裕. 肥満を
有する高血圧患者のイベント発症抑制に
対する選択的アルドステロンブロッカー
の効果をみる. 猿田享男編、*選択的アル
ドステロンブロッカーのすべて*、先端医
学社、東京、2009、p.160-167.

柴田洋孝. 性腺機能低下症. 山口 徹、
北原光夫、福井次夫編、*今日の治療指針
2010*、医学書院、東京、2009、p.636

柴田洋孝. コルチゾール基礎知識 2. 平
田結喜緒、成瀬光栄編、*クッシング症候
群診療マニュアル*、診断と治療社、東京、
2009、p.19-21

柴田洋孝、サブクリニカルクッシング症候群の診断基準の課題、平田結喜緒、成瀬光栄編、クッシング症候群診療マニュアル、診断と治療社、東京、2009、p.197-198

柴田洋孝、副腎腫瘍と遺伝子異常、平田結喜緒、成瀬光栄編、クッシング症候群診療マニュアル、診断と治療社、東京、2009、p.261-262

柴田洋孝、副腎皮質機能低下症、小川 聡編、内科学書、中山書店、東京、2009、p.154-162

柴田洋孝、副腎偶発腫瘍、小川 聡編、内科学書、中山書店、東京、2009、p.162-164

伊藤 裕、柴田洋孝、内分泌疾患総論、小川 聡編、内科学書、中山書店、東京、2009、p.2-10

柴田洋孝、原発性アルドステロン症：経口食塩負荷試験、成瀬光栄、平田結喜緒、肥塚直美編、内分泌機能検査実施マニュアル、診断と治療社、東京、2009、p.78

柴田洋孝、原発性アルドステロン症：フルドロールコルチゾン負荷試験、成瀬光栄、平田結喜緒、肥塚直美編、内分泌機能検査実施マニュアル、診断と治療社、東京、2009、p.79

学会発表

1. 第 82 回日本内分泌学会学術総会（2009年4月23日～25日、前橋）
原発性アルドステロン症における副腎静脈サンプリングの再評価

柴田洋孝、栗原 勲、三石木綿子、本杉裕一郎、武田彩乃、伊藤 裕

2. 第 82 回日本内分泌学会学術総会（2009年4月23日～25日、前橋）
原発性アルドステロン症の腎機能の予

後：副腎摘出術および薬物療法の比較
本杉裕一郎、柴田洋孝、栗原 勲、武田彩乃、三石木綿子、伊藤 裕

3. 第 82 回日本内分泌学会学術総会（2009年4月23日～25日、前橋）
ミネラルコルチコイド受容体の転写活性化における EGF および PI3 キナーゼの役割

三石木綿子、柴田洋孝、栗原 勲、武田彩乃、本杉裕一郎、伊藤 裕

4. 第 82 回日本内分泌学会学術総会（2009年4月23日～25日、前橋）
非古典型先天性リポイド副腎過形成症の成人期精巣機能

石井智弘、堀 尚明、天野直子、綾 美咲、柴田洋孝、伊藤 裕、勝又規行、長谷川奉延

5. 第 188 回日本内科学会近畿地方会（2009年6月13日、大阪）
外科的切除やミトタン投与により耐糖能が改善したコルチゾール産生性副腎皮質癌の一例

水口 綾、山田千積、佐藤広規、浜本芳之、曾根正勝、渡部 淳、柴田洋孝、本間桂子、笹野公伸、稲垣暢也

6. 第 564 回日本内科学会関東地方会（2009年7月12日、東京）
大腿骨骨折手術後の低 Na 血症を契機に診断された続発性副腎皮質機能低下症の一例

神戸香織、村上円人、金森英彬、柴田洋孝、荒木崇志、目黒真理子、川田一郎、丸山悠里子、林 篤

7. 第 32 回日本高血圧学会総会（2009年10月1日～3日、滋賀）
原発性アルドステロン症の薬物療法におけるエプレレノンとスピロノラクトンの有用性と安全性の検討

柴田洋孝、本杉裕一郎、栗原 勲、三石木綿子、武田彩乃、伊藤 裕

8. 第32回日本高血圧学会総会（2009年10月1日～3日、滋賀）

ジヒドロピリジン系 Ca 拮抗薬は Ca チャンネル拮抗作用とは独立した新規ミネラルコルチコイド受容体拮抗作用を有する

栗原 勲、柴田洋孝、三石木綿子、武田彩乃、本杉裕一郎、林 毅、伊藤 裕

9. アルドステロンフォーラム（2009年1月16日、東京）

原発性アルドステロン症の予後

本杉裕一郎、柴田洋孝、栗原 勲、宮下和季、武田彩乃、三石木綿子、城 理絵、伊藤 裕

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

表1 原発性アルドステロン症患者の臨床的特徴

| | 手術療法 | 薬物療法 | |
|----------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | | エプレレノン | スピロノラクトン |
| 人数 | 20 | 30 | 17 |
| 性別(男:女) | 13:7 | 11:19 | 12:5 |
| 年齢(歳) | 53±12 | 50±9 | 58±9 |
| 身長(cm) | 165±6 | 163±8 | 163±7 |
| 体重(kg) | 66±14 | 66±14 | 68±20 |
| BMI(kg/m ²) | 24.1±3.9 | 24.5±4.1 | 26.1±6.0 |
| 収縮期血圧(mmHg) | 138±15 | 138±10 | 144±13 |
| 拡張期血圧(mmHg) | 85±8 | 82±11 | 83±10 |
| 血清K濃度(mEq/L) | 3.7±0.5 | 4.1±0.4 | 3.8±0.5 |
| 血清クレアチニン濃度(mg/dL) | 0.9±0.2 | 0.8±0.2 | 0.8±0.1 |
| eGFR(ml/min/1.73m ²) | 70.0±18.0 | 70.4±12.3 | 71.3±11.3 |
| 蛋白尿 | 35.0% | 7.4% | 35.0% |
| 血漿アルドステロン濃度(pg/mL) | 357±157 | 238±96 | 214±66 |
| 血漿活性レニン濃度(pg/mL) | 3.7±3.2 | 6.7±4.9 | 5.0±3.1 |
| アルドステロン/レニン比 | 135±81 | 50±31 | 52±22 |
| 尿中アルドステロン排泄(8g/day) | 23.4±15.0 | 12.2±4.8 | 13.5±5.8 |

表2 治療後のΔeGFR≥10%と関連する因子

| | ?eGFR≥10% | ?eGFR<10% | P |
|---------------------------|-----------|-----------|---------|
| 人数 | 35 | 49 | |
| APA:IHA | 14:21 | 8:41 | |
| 男性:女性 | 25:10 | 19:30 | P<0.05 |
| 年齢 | 55±10 | 50±10 | P<0.05 |
| 収縮期血圧(mmHg) | 139±13 | 138±12 | ns |
| 拡張期血圧(mmHg) | 82±11 | 84±9 | ns |
| 血清K濃度(mEq/l) | 3.7±0.5 | 4.1±0.4 | P<0.001 |
| 血漿アルドステロン(pg/ml) | 294±158 | 265±114 | ns |
| 血漿活性レニン濃度(pg/ml) | 6.2±5.9 | 5.7±4.2 | ns |
| アルドステロン/レニン比 | 79.5±72.0 | 65.8±49.4 | ns |
| アルブミン尿(mg/gCr) | 40.3±43.3 | 17.8±13.7 | P<0.05 |
| 経口食塩負荷尿中アルドステロン(ng/day) | 18.5±13.9 | 15.0±8.5 | ns |
| カプトプリル負荷後の血漿アルドステロン | 257±191 | 186±163 | ns |
| フロセミド立位負荷後の活性レニン濃度 | 8.0±8.6 | 6.3±4.3 | ns |
| 迅速ACTH負荷後のアルドステロン/コルチゾール比 | 31.3±15.4 | 21.4±9.4 | P<0.01 |

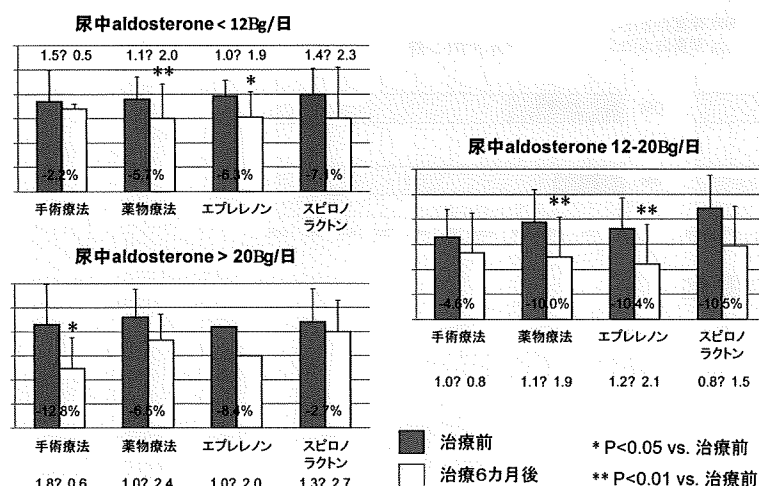


図1 収縮期血圧の変化

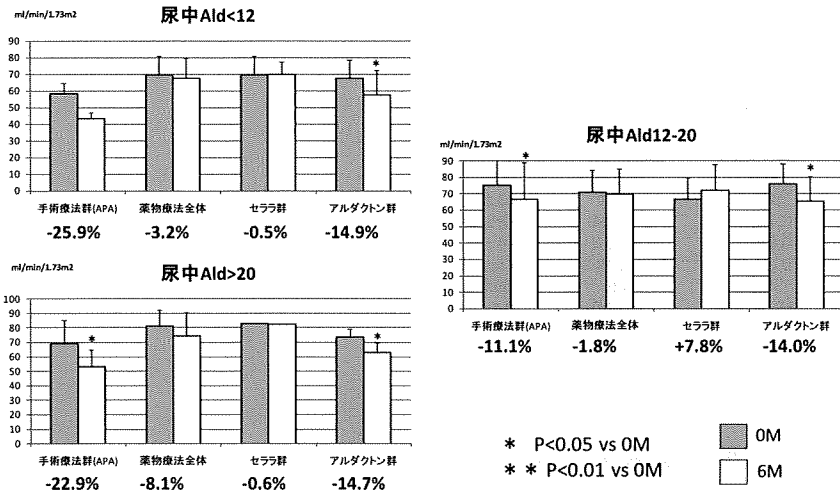


図2 eGFR の変化

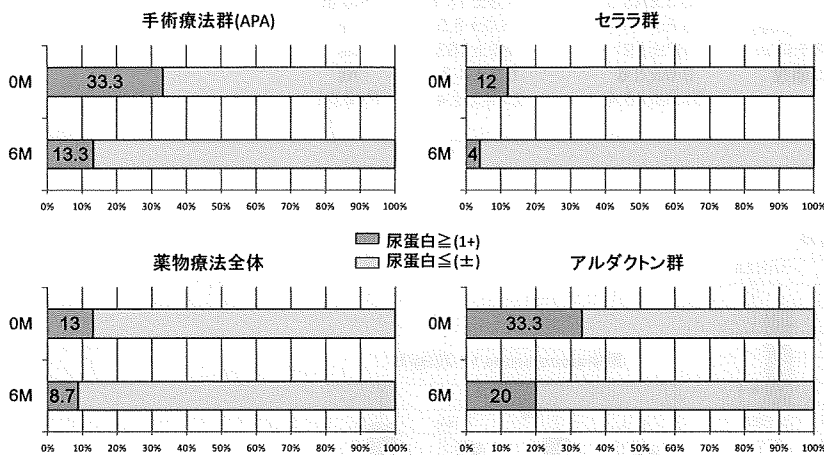


図3 治療後の蛋白尿の変化

原発性アルドステロン症における過形成副腎球状層における アンジオテンシン II 応答遺伝子発現の検討

研究分担者 笹野公伸 東北大学大学院医学系研究科医科学専攻病理病態学講座病理診断学分野 教授
研究協力者 中村保宏 東北大学大学院医学系研究科医科学専攻病理病態学講座病理診断学分野

【研究要旨】

【目的】 原発性アルドステロン症の発症機序は、特発性アルドステロン症(IHA)及びアルドステロン産生性副腎皮質腺腫(APA)を背景としたアルドステロン過剰産生である。APA と IHA の最終鑑別診断では、IHA 球状層(ZG)の hyperplasia と APA の付随副腎 ZG での paradoxical hyperplasia の鑑別が重要であるが、両者でのアルドステロン産生や細胞増殖に関わる因子の発現はほとんど解明されていない。本研究では、アンジオテンシン II (ATII)の応答遺伝子のうち上記の機能に関与する因子の発現程度を両者で検討することで、組織診断への有用性を模索することを目的とした。

【対象と方法】 東北大学病院にて手術で切除された IHA11 例、APA18 例、腎癌などで合併切除された正常副腎 20 例を対象とした。IHA、正常副腎、および APA の付随副腎における ZG および束状層(ZF)において、ATII 応答遺伝子でアルドステロン合成酵素の発現に関与する NGFIB および細胞増殖を調節する EGR1 の発現を免疫染色で比較検討した。

【結果】 NGFIB は、各群において ZG での発現が ZF に比べ有意に高値であった ($p<0.05$)。APA の付随副腎や IHA の ZG での発現は正常副腎の ZG に比べ有意に高値であった ($p<0.05$)。また、IHA の ZG での発現は APA の付随副腎 ZG に比べ有意に高値であった ($p<0.05$)。EGR1 は、正常副腎では ZG での発現が ZF に比べ有意に高値であった ($p<0.05$) が、他群では有意差は無かった。APA の付随副腎や IHA の ZG での発現が、正常副腎の ZG に比べ有意に低値であった ($p<0.05$)。

【考察】 免疫組織学的に、EGR1 の発現低下が APA の付随副腎や IHA の ZG でみられており、レニン・アンジオテンシン系抑制の影響である可能性が考えられた。一方で、両者特に IHA の ZG では NGFIB の発現がレニン・アンジオテンシン系の抑制とは別の調節経路により誘導され、アルドステロン合成に関わる HSD3B2 や CYP11B2 の発現調節に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

原発性アルドステロン症の発症機序は、特発性アルドステロン症(IHA)及びアルドステロン産生性副腎皮質腺腫(APA)を

背景としたアルドステロン過剰産生である。APA と IHA の最終鑑別診断では、IHA 球状層(ZG)の hyperplasia と APA の付随副腎 ZG での paradoxical

hyperplasia の鑑別が重要である。しかし、これまでの研究では両 ZG 間での転写因子等の発現パターンについて十分解明されてはいない。本研究では、アルドステロン産生の調節因子の 1 つであるアンジオテンシン II (ATII) に関連する因子の発現パターンの差が両者の病態の違いの原因となっている可能性を考え、それらを免疫組織学的に解明することを目的とした。

B. 研究方法

東北大学病院にて手術で切除された IHA11 例、APA18 例、腎癌などで合併切除された正常副腎 20 例を対象とした。IHA、正常副腎、および APA の付随副腎における ZG および束状層(ZF)において、ATII 応答遺伝子でアルドステロン合成酵素の発現に関与する NGFIB および細胞増殖を調節する EGR1 の発現を免疫染色で比較検討した。これらの免疫染色の評価には H-score を使用した。この際に、ZG の判別のため C17 (ZF に陽性) および 3 β HSD (ZG, ZF に陽性) に対する抗体 (条件は以下) を用いた免疫染色を併用した (図 1)。

(倫理面への配慮)

症例はすべて匿名化して検索しており、研究計画は東北大学医学部倫理委員会に提出済みである。

C. 研究結果 (図 2、3)

NGFIB、EGR1 とも副腎皮質細胞の核に発現していた。NGFIB は、各群において ZG での発現が ZF に比べ有意に高値であった ($p < 0.05$)。APA の付随副腎や IHA の ZG での発現は正常副腎の ZG に

比べ有意に高値であった ($p < 0.05$)。また、IHA の ZG での発現は APA の付随副腎 ZG に比べ有意に高値であった ($p < 0.05$)。EGR1 は、正常副腎では ZG での発現が ZF に比べ有意に高値であった ($p < 0.05$) が、他群では有意差は無かった。APA の付随副腎や IHA の ZG での発現が、正常副腎の ZG に比べ有意に低値であった ($p < 0.05$)。

D. 考察

EGR1 は ATII 応答遺伝子の 1 つであることから、APA の付随副腎や IHA の ZG における発現低下は、アルドステロン過剰産生による、レニン・アンジオテンシン系抑制の影響による可能性が考えられた。一方で、IHA の ZG では NGFIB の発現は APA の付随副腎や正常 ZG よりも亢進しており、これはレニン・アンジオテンシン系の抑制では説明できないことから別な発現調節経路が存在し、アルドステロン合成に関わる HSD3B2 や CYP11B2 の発現調節に関与している可能性が示唆された。また APA 付随副腎の ZG でも、NGFIB の発現は低下していないことから、こちらでは HE 染色で認められる paradoxical hyperplasia の形成との関連が示唆された。

E. 結語

IHA の hyperplasia や APA 付随副腎の ZG における ATII 応答遺伝子の発現パターンの差が、両者の病態の違いを理解する上で有用であると考えられた。

F. 研究発表

・論文発表

1. Nakamura Y, Suzuki T, Arai Y,

Sasano H:

Nuclear Receptor DAX1 in Human Prostate Cancer: A Novel Independent Biological Modulator. *Endocr J.* 56:39-44. 2009

2. Nakamura Y, Gang HX, Suzuki T, Sasano H, Rainey WE: Adrenal changes associated with adrenarche. *Rev Endocr Metab Disord.* 10:19-26. 2009

3. Sakamoto N, Tojo K, Saito T, Fujimoto K, Isaka T, Tajima N, Ikeda K, Yamada H, Furuta N, Sasano H: Coexistence of Aldosterone-Producing Adrenocortical Adenoma and Pheochromocytoma in an Ipsilateral Adrenal Gland. *Endocr J.* 56:213-219. 2009

4. Ye P, Yamashita T, Pollock DM, Sasano H, Rainey WE: Contrasting Effects of Eplerenone and Spironolactone on Adrenal Cell Steroidogenesis. *Horm Metab Res.* 41:35-39. 2009

5. Nakamura Y, Vargas Morris C, Sasano H, Rainey WE: DAX-1A (NR0B1A) Expression Levels are Extremely Low Compared to DAX-1 (NR0B1) in Human Steroidogenic Tissues. *Horm Metab Res.* 41:30-34. 2009

6. Sone M, Shibata H, Homma K, Tamura N, Akahira J, Hamada S, Yahata M, Fukui N, Itoh H, Sasano H, Nakao K: Close examination of steroidogenesis disorders in a DOC- and progesterone-producing adrenocortical carcinoma. *Endocrine J.*

35:25-33. 2009

7. Ebisawa T, Tojo K, Tajima N, Kamio M, Oki Y, Ono K, Sasano H: Immunohistochemical Analysis of 11-beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 and Glucocorticoid Receptor in Subclinical Cushing's Disease due to Pituitary Macroadenoma. *Endocr Pathol.* 19:252-260. 2009

8. Ye P, Yamashita T, Pollock DM, Sasano H, Rainey WE: Contrasting Effects of Eplerenone and Spironolactone on Adrenal Cell Steroidogenesis. *Horm Metab Res.* 41:35-39. 2009

9. Nakamura Y, Vargas Morris C, Sasano H, Rainey WE: DAX-1A (NR0B1A) Expression Levels are Extremely Low Compared to DAX-1 (NR0B1) in Human Steroidogenic Tissues. *Horm Metab Res.* 41:30-34. 2009

10. Nakamura Y, Gang HX, Suzuki T, Sasano H, Rainey WE: Adrenal changes associated with adrenarche. *Rev Endocr Metab Disord.* 10:19-26. 2009

11. Sone M, Shibata H, Homma K, Tamura N, Akahira J, Hamada S, Yahata M, Fukui N, Itoh H, Sasano H, Nakao K: Close examination of steroidogenesis disorders in a DOC- and progesterone-producing adrenocortical carcinoma. *Endocrine J.* 35:25-33. 2009

12. Sakamoto N, Tojo K, Saito T, Fujimoto K, Isaka T, Tajima N, Ikeda

- K, Yamada H, Furuta N, Sasano H: Coexistence of Aldosterone-Producing adrenocortical adenoma and Pheochromocytoma in an ipsilateral adrenal gland. *Endocr J.* 56:213-219. 2009
13. Ebisawa T, Tojo K, Tajima N, Kamio M, Oki Y, Ono K, Sasano H: Immunohistochemical Analysis of 11-beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 and Glucocorticoid Receptor in Subclinical Cushing's Disease due to Pituitary Macroadenoma. *Endocr Pathol.* 19:252-260. 2009
14. Takayama K, Tsutsumi S, Suzuki T, Horie-Inoue K, Ikeda K, Kaneshiro K, Fujimura T, Kumagai J, Urano T, Sakaki Y, Shirahige K, Sasano H, Takahashi S, Kitamura T, Ouchi Y, Aburatani H, Inoue S: Amyloid precursor protein is a primary androgen target gene that promotes prostate cancer growth. *Cancer Res.* 69:137-142. 2009
15. Nakamura M, Miki Y, Akahira JI, Morimoto R, Satoh F, Ishidoya S, Arai Y, Suzuki T, Hayashi Y, Sasano H: An Analysis of Potential Surrogate Markers of Target-Specific Therapy in Archival Materials of Adrenocortical Carcinoma. *Endocr Pathol.* 20:17-23. 2009
16. Nigawara T, Sakihara S, Kageyama K, Terui K, Takayasu S, Hatakeyama S, Ohyama C, Sasano H, Suda T: Endothelial cyst of the adrenal gland associated with adrenocortical adenoma: preoperative images simulate carcinoma. *Intern Med.* 48:235-240. 2009
17. Kimura T, Usui T, Inamoto S, Minamiguchi S, Okuno H, Sasano H, Hagiwara H, Nagata D, Tagami T, Naruse M, Shimatsu A: Image in endocrinology. Pheochromocytoma with Subclinical Cushing's Syndrome Caused by Corticomedullary Mixed Tumor of the Adrenal Gland. *J Clin Endocrinol Metab.* 94:746-747. 2009
18. Nakamura Y, Hornsby PJ, Casson P, Morimoto R, Satoh F, Xing Y, Kennedy MR, Sasano H, Rainey WE: Type 5 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase (AKR1C3) contributes to testosterone production in the adrenal reticularis. *J Clin Endocrinol Metab.* 94:2192-2198. 2009
19. Nakamura Y, Xing Y, Sasano H, Rainey WE: The mediator complex subunit 1 enhances transcription of genes needed for adrenal androgen production. *Endocrinology.* 150: 4145-4153. 2009
20. Nagasaki S, Miki Y, Akahira J, Suzuki T, Sasano H: Transcriptional regulation of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 12 by SREBP-1. *Mol Cell Endocrinol.* 307: 163-168. 2009
21. Miyoshi Y, Oue T, Oowari M, Soh H, Tachibana M, Kimura S, Kiyohara Y, Yamada H, Bessyo K, Mushiake S, Homma K, Hasegawa T, Sasano H, Ozono K: A Case of Pediatric Virilizing Adrenocortical Tumor Resulting in

- Hypothalamic-pituitary Activation and Central Precocious Puberty Following Surgical Removal. *Endocr J.* 56:975-982. 2009
22. Sasano H: Steroid hormones are produced at the sites of action. *Endocr J.* 56:825-826. 2009
23. Hong Y, Li H, Ye J, Miki Y, Yuan YC, Sasano H, Evans DB, Chen S: Epitope characterization of an aromatase monoclonal antibody suitable for the assessment of intratumoral aromatase activity. *PLoS One.* 4:e8050. 2009
24. Nomura M, Sasano H, Okada Y, Watanabe T, Sakamoto S, Sakiyama Y, Sakamoto R, Abe I, Horiuchi T, Yanase T, Takayanagi R: Adrenal failure caused by a retroperitoneal malignant mesothelioma. *Intern Med.* 48: 2109-2114. 2009
25. Tamura Y, Adachi J, Chiba Y, Mori S, Takeda K, Kasuya Y, Murayama T, Sawabe M, Sasano H, Araki A, Ito H, Horiuchi T: Primary aldosteronism due to unilateral adrenal microadenoma in an elderly patient: efficacy of selective adrenal venous sampling. *Intern Med.* 47:37-42. 2008
26. Leung AM, Sasano H, Nishikawa T, McAneny DB, Malabanan AO: Multiple unilateral adrenal adenomas in a patient with primary hyperaldosteronism. *Endocr Pract.* 14:76-79. 2008
27. Nigawara T, Kageyama K, Sakihara S, Takayasu S, Kawahara M, Imai A, Ohyama C, Usui T, Sasano H, Suda T: A male case of nonclassical 21-hydroxylase deficiency first manifested in his sixties with adrenocortical incidentaloma. *Endocr J.* 55:291-297. 2008
28. Morimoto R, Satoh F, Murakami O, Hirose T, Totsune K, Imai Y, Arai Y, Suzuki T, Sasano H, Ito S, Takahashi K: Expression of adrenomedullin 2/intermedin in human adrenal tumors and attached non-neoplastic adrenal tissues. *J Endocrinol.* 198:175-183. 2008
29. Oki K, Yamane K, Sakashita Y, Kamei N, Watanabe H, Toyota N, Shigeta M, Sasano H, Kohno N: Primary aldosteronism and hypercortisolism due to bilateral functioning adrenocortical adenomas. *Clin Exp Nephrol.* 12:382-7. 2008
30. Baba Y, Beppu T, Imai K, Masuda T, Iyama KI, Sasano H, Baba H: A case of adrenal rest tumor of the liver: Radiological imaging and immunohistochemical study of steroidogenic enzymes. *Hepatol Res.* 38: 1154-1158. 2008
31. Murakami M, Ohba T, Xu F, Satoh E, Miyoshi I, Suzuki T, Takahashi Y, Takahashi E, Watanabe H, Ono K, Sasano H, Kasai N, Ito H, Iijima T: Modified sympathetic nerve system activity with over-expression of the voltage-dependent calcium channel beta 3 subunit. *J Biol Chem.* 283:24554-24560. 2008
32. Morimoto R, Satoh F, Murakami O, Totsune K, Saruta M, Suzuki T, Sasano

H, Ito S, Takahashi K: Expression of peptide YY in human brain and pituitary tissues. Nutrition. 24:878-884.2008

33. Satoh F, Abe T, Tanemoto M, Nakamura M, Abe M, Uruno A, Morimoto R, Sato A, Takase K, Ishidoya S, Arai Y, Suzuki T, Sasano H, Ishibashi T, Ito S: Localization of aldosterone-producing adrenocortical adenomas: significance of adrenal venous sampling. Hypertens Res.30:1083-1095.2007

G. 知的所有権の出願、取得状況

1) 特許取得

特になし

2) 実用新案登録

特になし

3) その他

特になし

図 1

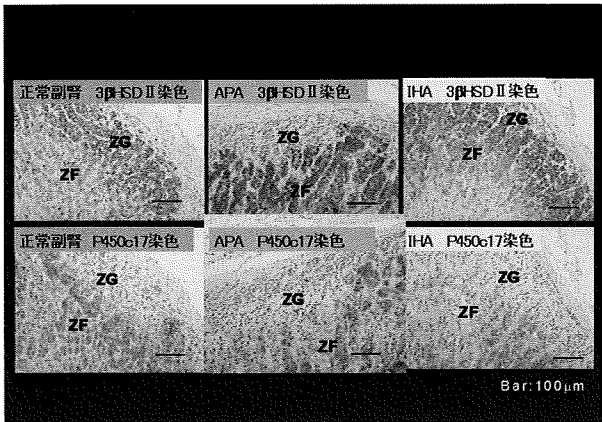


図 2

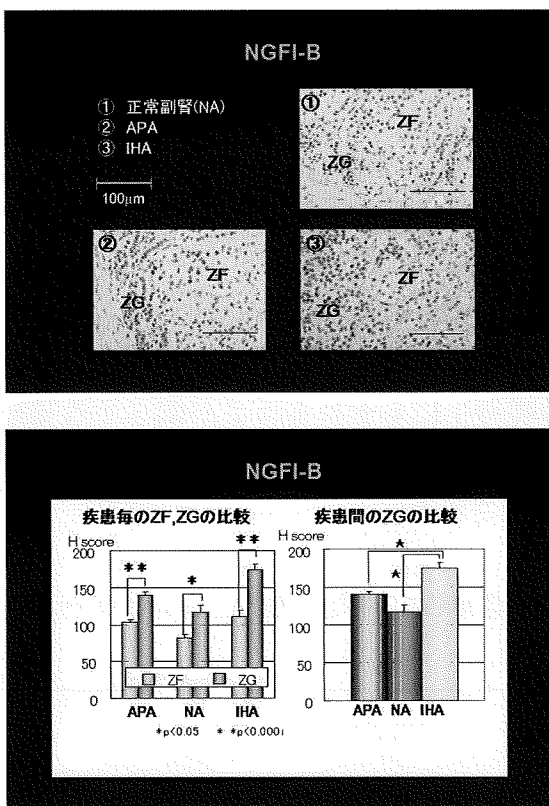
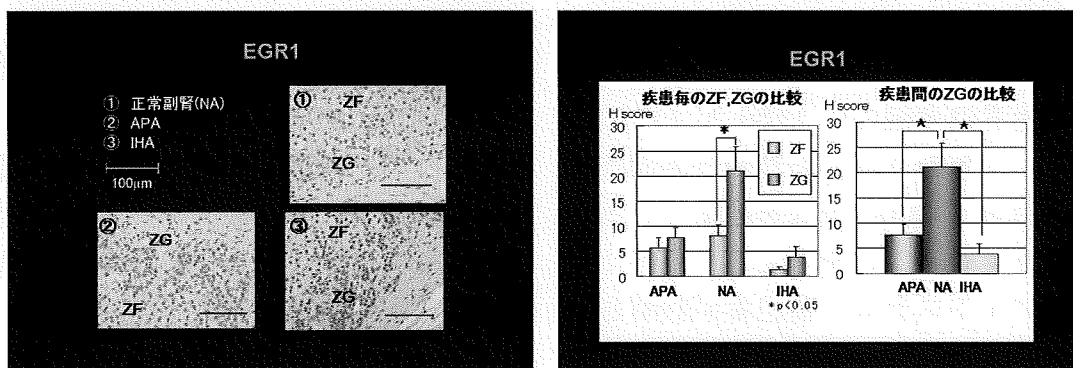


図 3



アルドステロン産生腺腫におけるセロトニン受容体 5-HT4R の解析

研究分担者 宮森 勇 福井大学医学部病態制御医学講座内科学(3) 教授

【研究要旨】

①目的

アルドステロン産生腺腫（APA）へのセロトニン受容体（5-HT4R）の関与を APA、非機能性腺腫（NF）、副腎皮質で検討した。

②方法

APA12 例、NF5 例の術前の血圧、血清カリウム値、血漿レニン活性、血漿アルドステロン濃度を評価し、摘出組織での 5-HT4R、アルドステロン合成酵素、GIP 受容体（GIPR）、レニン、プロレニン受容体、アンギオテンシン II-1 型受容体の mRNA 発現を検討した。

③結果と考察

APA での 5-HT4R mRNA の発現は NF、正常副腎皮質に比べ有意に高かった。また GIPR の発現は 3 群間に差異はなかった。副腎皮質ではアルドステロン分泌がセロトニンで刺激されるが、この結果は APA の腺腫発生にもセロトニンが関与する可能性を想定した。スクリーニングが困難とされる APA 患者の新たな診断法としてセロトニン受容体刺激試験が有用である可能性も示唆された。

④結論

APA では 5-HT4R 発現が NF や正常副腎より増加していた。APA でのセロトニンによるアルドステロン合成への関与が想定された。

A. 研究目的

近年の様々な疫学調査により原発性アルドステロン症は高血圧患者の 5～10%に存在すると言われている。しかしながら原発性アルドステロン症と診断されている患者は全国でも 1450 人（1997 年、推定）と報告されており、日本国内の高血圧患者が 3000 万人を超えていると推定されていることを考えると、多くの原発性アルドステロン症患者が診断されていないことになる。原発性アルドス

テロン症のスクリーニングは血清カリウム値や血漿アルドステロン濃度と血漿レニン活性の比などで行われているものの偽陰性例も少なくなく、特に軽症例での診断は困難とされる。クッシング症候群では少量デキサメタゾン抑制試験などの検出力の高いスクリーニング検査が実用されているが、原発性アルドステロン症においても同様な検査の確立が潜在患者の発見に必要不可欠である。

近年、副腎皮質にはセロトニン受容体

が発現し、セロトニンの刺激によりアルドステロン産生が増加することが確認された。また、アルドステロン産生腺腫 (APA) においてセロトニン受容体発現が亢進していることが明らかになっている。セロトニンは消化管、あるいは血小板に多く存在する生理活性アミンの一種で、腸管や血管などの平滑筋を収縮させる働きがあるが、中枢神経系で神経伝達物質として作用する事も知られている。同様に神経ペプチドに属する gastric inhibitory polypeptide (GIP) が副腎皮質過形成による食事依存性クッシング症候群の病因として位置づけられているように、セロトニンに関しても副腎皮質でのアルドステロン分泌や腫瘍形成に関与していることが想定されており興味もたれる。

これらのことを踏まえて、今回我々は APA におけるアルドステロン産生にセロトニン受容体 5-HT₄R が関与しているかを明らかにするために、APA および非機能性腺腫 (NF) における 5-HT₄R の発現量を評価した。

B. 研究方法

副腎腫瘍摘出を受け、組織診断にて確定された APA12 例、NF5 例の合計 17 症例を対象とした。まず腫瘍摘出術施行前に血圧測定を行い、また安静臥床時の血清カリウム値および血漿レニン活性、血漿アルドステロン濃度を測定した。手術後に摘出された APA 組織 (n=12) と同時に摘出された正常副腎皮質 (n=4) 及び NF 組織 (n=5) について、これらの標本から totalRNA を抽出し、5-HT₄R、アルドステロン合成酵素 CYP11B2、GIP 受容体 (GIPR)、レニン、プロレニン受

容体 (PRR)、アンギオテンシン II-1 型受容体 (AT1R) の mRNA 発現を real-time PCR 法にて測定した。定量時の標準化には GAPDH を用いた。定量した遺伝子発現量の平均、標準偏差は一元配置分散分析を用いて計測し、シェッフエの多重比較検定で検討した。2 群間の相関関係は直線回帰分析にて行いピアソンの積率相関係数で評価した。

C. 研究結果

術前検査における APA、NF 両群間には性別、年齢での差異は認められなかったが、APA 群ではアルドステロン過剰を反映して収縮期および拡張期血圧の上昇、血清カリウム値の低下、血漿レニン活性の抑制が、NF 群に対して有意に認められた (表 1)。

摘出副腎組織での 5-HT₄R mRNA の発現は APA (1.80 ± 0.22) において NF (0.48 ± 0.16) または正常副腎皮質 (0.45 ± 0.07) に比べて有意に高いことが確認された (図 1a)。APA ではアルドステロン合成が亢進していることを反映して NF や正常副腎皮質と比べ CYP11B2 の発現が増加していた (図 1b)。

GIPR の発現は APA (0.19 ± 0.08) と NF (0.29 ± 0.10) または正常副腎皮質 (0.69 ± 0.45) との間に有意な差異は認められなかった (図 2a)。また、レニン、PRR、AT1R などのレニン-アンギオテンシン系の構成因子についても APA と NF または正常副腎皮質との間に有意な差異は認められなかった (図 2b-d)。

D. 考察

これまでにセロトニン受容体の一種

である 5-HT_{4d} 受容体が正常副腎皮質や APA で発現していることが報告され、5-HT_{1A} 受容体あるいは 5-HT_{2A/2C} 受容体を介した CRF、ACTH 分泌制御や、5-HT₂ 受容体を介したレニン分泌制御など、セロトニンの視床下部・下垂体・副腎系への密接な関与が確認されている。また、副腎皮質からのアルドステロン分泌についても、その制御にセロトニンが関与していることが示されており、カエル副腎皮質細胞においてセロトニンがアルドステロンを含むステロイド分泌を促進し、その効果は 5-HT_{4R} 拮抗薬で抑制されたと報告された。これはセロトニンが副腎皮質ホルモン合成の上流において促進効果を発揮していることを示す所見と考えられ、セロトニンが副腎皮質でのステロイド合成の根本に関与している可能性が想定される¹⁾。また、臨床試験においてもセロトニン受容体を介したアルドステロン分泌制御が報告されている。5-HT_{4R} アゴニストである cisapride を投与すると血漿アルドステロン濃度が健常者およびアルドステロン産生腺腫患者で増加した²⁾ ことや、APA 患者の副腎皮質では血管周囲の肥満細胞にセロトニンが貯蔵され、傍分泌的に 5-HT_{4R} を介してアルドステロン分泌を促進することが確認されている³⁾。

今回の我々の研究では、APA 組織において 5-HT_{4R} の発現増加が確認された。これまでの報告から副腎皮質でのホルモン合成にセロトニンが関与している可能性が考えられていたが、正常副腎組織や NF 組織との比較で APA における 5-HT_{4R} の発現が増加していることが初めて確認された。

セロトニンと同様に神経ペプチドに

属する GIP や LH などのゴナドトロピンが、その受容体を過剰に発現している副腎皮質の過形成をきたす可能性については以前より報告されている。特に GIP による副腎皮質過形成は食事依存性クッシング症候群の病因として位置づけられており、GIP によるステロイドホルモン合成のみならず、過形成の成因としての関与に興味が集まっている。今回の我々の研究で確認されたことはアルドステロン合成が亢進している APA において 5-HT_{4R} の発現が増加しているという事実だけであり、その発現増加のアルドステロン合成への関与の有無やメカニズムについては明らかとなっていない。一般に ACTH 依存的とされる APA においては、その発症に ACTH が関与している可能性も想定される。しかし、昨年 of 班会議でも報告した通り ACTH 分泌パターンが APA 症例、NF 症例間で差がなかった⁴⁾ という結果から、APA の発生やアルドステロン合成に ACTH 以外の因子が関与していることは十分に考えられる。前述したようにセロトニンにはその候補として挙げるべき十分な研究成果があり、今後も検討を継続していくべきテーマと考えている。

APA におけるアルドステロン産生に 5-HT_{4R} が関与している可能性が想定されたことを受けて、蛋白レベルでの 5-HT_{4R} 発現についても APA、NF 両群において確認したい。また、5-HT_{4R} を培養副腎皮質癌細胞に一過性発現させて、5-HT_{4R} の特異アゴニストである CJ-033466 やアンタゴニストである GR113808 を作用させることで 5-HT_{4R} を介したアルドステロン合成の調節についても検討したい。これらの結果よりセ

ロトニンによるアルドステロン合成への関与がより明確になれば、5-HT₄R アゴニストである mosapride または CJ-033466 を投与による血漿アルドステロン濃度の変化を経時的に観察し、APA 患者と健常者との比較によるスクリーニング法としての可能性を検討したい。また GR113808 による APA 患者でのアルドステロン分泌抑制並びに腫瘍縮小効果についても検討したい。

E. 結論

APA ではセロトニン受容体ファミリーの一種である 5-HT₄R の発現が NF や正常副腎皮質との比較で有意に増加していることが確認された。この結果より APA では局所で産生されるセロトニンによりアルドステロン合成あるいは分泌が促され、アルドステロン過剰の一因となっている可能性がうかがわれた。このことはセロトニン受容体アゴニストの APA の新たな診断法としての応用や、セロトニン受容体拮抗薬の APA 患者へのアルドステロン分泌抑制治療としての可能性を期待させるものである。

謝辞

本研究の遂行にご協力いただきました金沢大学大学院臓器機能制御学 武田仁勇先生に深謝いたします。

F. 研究発表

実績なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

実績なし

A. 参考文献

1) Contesse V et al: Effect of a series of

5-HT₄ receptor agonists and antagonists on steroid secretion by the adrenal gland in vitro. *Eur J Pharmacol* 265: 27-33, 1994

2) Lefebvre H et al: Characterization of serotonin(4) receptors in adrenocortical aldosterone-producing adenomas: in vivo and in vitro studies. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 1211-1216, 2002

3) Cartier D et al: Expression profile of serotonin(4) (5-HT₄) receptors in adrenocortical aldosterone-producing adenomas. *Eur J Endocrinol* 153: 939-947, 2005

4) Hatakeyama H et al: Thrombospondin expression in aldosterone-producing adenomas. *Hypertens Res* 25: 523-527, 2002

表1

| | APA | NF |
|----------------|-----------|---------|
| 男性/女性 | 7/5 | 3/2 |
| 年齢 (歳) | 50±3 | 61±1 |
| 収縮期血圧 (mmHg) | 158±4* | 132±4 |
| 拡張期血圧 (mmHg) | 98±2* | 78±16 |
| 血清K (mEq/l) | 3.5±0.1* | 4.3±0.1 |
| PRA (ng/ml/hr) | 0.5±0.2** | 1.5±0.4 |
| PAC (pg/ml) | 236±47** | 85±11 |

* : p<0.05, ** :p<0.01

図1

