

表 1. 副腎静脈サンプリング (AVS) によるアルドステロン過剰分泌の左右局在と画像診断による原発性アルドステロン症病変の左右局在の比較

AVS による左右局在との比較	CT	デキサメタゾン抑制アドステロール副腎シンチ (SPECT/CT)
一致	28 症例 (47%)	12 症例 (48%)
片側 vs. 両側	19 症例 (37%)	4 症例 (16%)
左右逆	2 症例 (3%)	1 症例 (4%)
AVS 不成功	11 症例 (18%)	8 症例 (32%)
症例数合計	60 症例	25 症例

AVS で両側性過剰分泌、あるいは、AVS で腫瘍と対側に過剰分泌が認められ、手術を行わず内服治療を行っている症例を含む。AVS 不成功は片側のみ成功した症例を含む。

表 2. 画像検査および副腎静脈サンプリング (AVS) による原発性アルドステロン症 (PA) 病変の左右局在と手術により決定された左右局在の比較

手術により決定された PA 病変の左右局在との比較	CT	デキサメタゾン抑制アドステロール副腎シンチ (SPECT/CT)	AVS
一致	23 症例 (79%)	12 症例 (75%)	22 症例 (76%、AVS 両側成功例の 91%)
AVS 不成功 <内、AVS 片側不成功でシンチを合わせて左右局在を診断>			5 症例 (17%) <内、4 症例>
片側 vs. 両側	4 症例 (14%)	4 症例 (25%)	2 症例 (7%)
左右逆	2 症例 (7%)	0 症例 (0%)	0 症例 (0%)
症例数合計	29 症例	16 症例	29 症例

手術を行った症例のみを示す。

表 3. ACTH 負荷前後の副腎静脈サンプリング (AVS) の検査成績による原発性アルドステロン症 (PA) 病変の左右局在と手術により決定された左右局在との比較

手術により決定された PA 病変の左右局在との比較	ACTH 負荷前	ACTH 負荷後	総合判定
一致	13 症例 (45%)	19 症例 (66%)	22 症例 (76%)
片側 vs. 両側	1 症例 (3%)	4 症例 (14%)	2 症例 (7%)
左右逆	0 症例 (0%)	0 症例 (0%)	0 症例 (0%)
AVS で過剰分泌なし*1	1 症例 (3%)	1 症例 (3%)	0 症例 (0%)
AVS 不成功*2	14 症例 (48%)	5 症例 (17%)	5 症例 (17%)

合計 29 症例の検討。

*1：両側とも AVS 成功し、両側ともアルドステロン過剰分泌の基準を満たさず。

*2：両側あるいは片側 AVS 不成功。

アルドステロン産生のエピジェネティクス-アルドステロン産生腺腫での検討

研究分担者 武田仁勇（金沢大学大学院臓器機能制御学(内分泌代謝内科)）
研究協力者 出村昌史（同上）

【研究要旨】

Aldo 産生副腎腫瘍(APA) (n=9)と非 Aldo 産生組織(non-APA) (n=8; クッシング副腎腫瘍(Cu)(n=2)、非機能性副腎腫瘍(NF)(n=3)、腎動脈(RA)(n=3))を用い、CpG1,2,3 のメチル化率を比較し、2) 副腎皮質癌由来 H295R 細胞を用いて CpG1,2 のメチル化とアンジオテンシン II(Ang II), KCl, cAMP の刺激による CYP11B2 プロモーター活性に対する影響を検討した。APA でのメチル化率は non-APA の約半分程度であり、CpG メチル化率と CYP11B2 mRNA レベルは統計学的に有意な逆相関を示した(p<0.05)。副腎皮質癌由来 H295R 細胞を用いた Luciferase reporter assay では、20%程度の CpG1,2 のメチル化は、非刺激、刺激下(Ang II, KCl, cAMP)のプロモーター活性を有意に減弱した。これらの結果は CYP11B2 が DNA メチル化依存性に発現調節されていることを示唆している。

A. 研究目的

原発性アルドステロン症(PA)は治療抵抗性の高血圧を呈し心血管系の合併症が多い疾患であるが、アルドステロン(aldo)過剰産生の機序は明らかではない。我々はメチル化 CpG が遺伝子発現抑制と関連し内分泌疾患の病態を説明しうる因子であることを報告してきた(1)。aldo 合成酵素遺伝子(CYP11B2)プロモーターに DNA メチル化標的的部位である CpG ジヌクレオチド (CpG1 (-68/-67), CpG2 (-112/-111), CpG3 (-219/-218)) が散在することが明らかにされている。1) Aldo 産生副腎腫瘍(APA) (n=9)と非 Aldo 産生組織(non-APA) (n=8; クッシング副腎腫瘍(Cu)(n=2)、非機能性副腎腫瘍(NF)(n=3)、腎動脈(RA)(n=3))を用い、CpG1,2,3 のメチル化率を比較した。2) 副腎皮質癌由来 H295R 細胞を用いて CpG1,2 のメチル化とアンジオテンシン II(Ang II), KCl, cAMP の刺激による CYP11B2 プロモーター活性に対する影響を検討した。

B. 研究方法

APA 及び Cu は内分泌学会の診断基準を用いて診断し、組織学的に診断を確定した。組織から DNA を抽出し bisulfite で処理後 CYP11B2 プロモーター領域を特異的なプライマー(sense: 5' -tttagttttggagaaaggagaggtt-3' ; antisense: 5' -ccattccaataactcctcca-3')を用いて増幅し CpG メチレーション状態を解析した。副腎由来の H295R 細胞は ATCC (Manassas, VA, USA)から購入し、既報のごとく培養した。ヒトゲノム DNA を用いて各 CYP11B2 プロモーター領域を含む Luciferase レセプタープラスミドを作成し Luciferase assay を既報のごとく行った(2)。

C. 研究結果

図 1 に APA 及び non-APA 組織における CYP11B2 mRNA 発現及びメチル化率を示す。APA でのメチル化率は non-APA の約半分程度

であった。CpGメチル化率とCYP11B2 mRNAレベルは統計学的に有意な逆相関を示した(図2)。副腎皮質癌由来 H295R 細胞を用いた Luciferase reporter assay では、20%程度の CpG1,2 のメチル化は、非刺激、刺激下(Ang II, KCl, cAMP)のプロモーター活性を有意に減弱し、完全なメチル化は、それらのプロモーター活性を完全に抑制した(図3)。

D. 考察

原発性アルドステロン症の病因は不明である。我々はAPAにおいてCYP11B2 mRNA発現の亢進を見出したがCYP11B2遺伝子異常は発見できなかった(3)。今回の研究によりCYP11B2遺伝子発現がメチレーションにより制御されていることを明らかにし、組織発現の差異はメチレーションの程度と相関した。さらにCYP11B2遺伝子発現の調節因子であるAng II, KCl, cAMPによる刺激がメチル化によりコントロールされることが副腎培養細胞を用いた実験から明らかになった。これらの事実はアルドステロンの過剰産生にメチル化が一部関与している可能性を示唆している。また我々は心血管系組織からのaldo産生が高血圧や心肥大の病態に関与していることを報告してきた(4)が、副腎だけでなく組織におけるCYP11B2遺伝子発現がメチル化により制御されている可能性が示唆される。DNAのメチル化による遺伝子制御はがんだけでなく心血管系疾患や糖尿病など幅広い疾患において病因と関係があることが示唆されている。我々は偽性副甲状腺機能低下症や乳がんにおいてDNAのメチル化が病態と関係していることを報告してきた(2, 5)。今後腫瘍形成因子とホルモン過剰産生に関与しうる共通の因子についてさらに検討が必要である。近年TASK-1, 3(6, 7)及びCry1, 2(8)の遺伝子改変モデルが高アルドステロン血症及び高血圧を呈することが報告され、またAPAにおいて組織におけるKCNJ5遺伝子異常が報告されている(9)が、いずれの場合もアルドステロン過剰産生に関しては説明が可能であるが、それらの遺伝子異常が腺腫形成に関与しているとは考えに

く、今後の検討課題である。

E. 結論

CYP11B2はDNAメチル化依存性に発現調節されることが明らかになった。

G. 文献

1. 出村昌史, 山岸正和, 武田仁勇 アルドステロン産生のエピジェネティクス, 最新医学 65: 71-78, 2010
2. Demura M, Bulun SE. CpG dinucleotide methylation of the CYP19 L3/II promoter modulates cAMP-stimulated aromatase activity. *Molec Cell Endocrinol* 283: 127-132, 2008
3. Takeda, Y, Usukura, M, Yoneda, T, et al. The expression of messenger RNA of ADP-ribosyl cyclase in aldosterone-producing adenoma. *Clin Endocrinol* 62: 504-508, 2005
4. Takeda, Y. Vascular synthesis of aldosterone: role in hypertension. *Molec Cell Endocrinol* 217: 75-79, 2004
5. Demura, M, Takeda, Y, Yoneda, T, et al. Completely skewed X-inactivation in a mentally retarded young female with pseudohypoparathyroidism type IB and juvenile renin-dependent hypertension. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 3043-3049, 2003
6. Heitzmann D, Derand R, Jungbauer S, et al. Invalidation of TASK1 potassium channels disrupts adrenal gland zonation and mineralocorticoid homeostasis. *EMBO J* 27: 179-187, 2008
7. Davies LA, Hu C, Guagliardo NA, et al. TASK channel deletion in mice causes primary hyperaldosteronism *PNAS* 105: 2203-2208, 2008
8. Doi M, Takahashi Y, Komatsu R et al. Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient Cry-null mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6. *Nature Med.* 16: 67-74, 2010

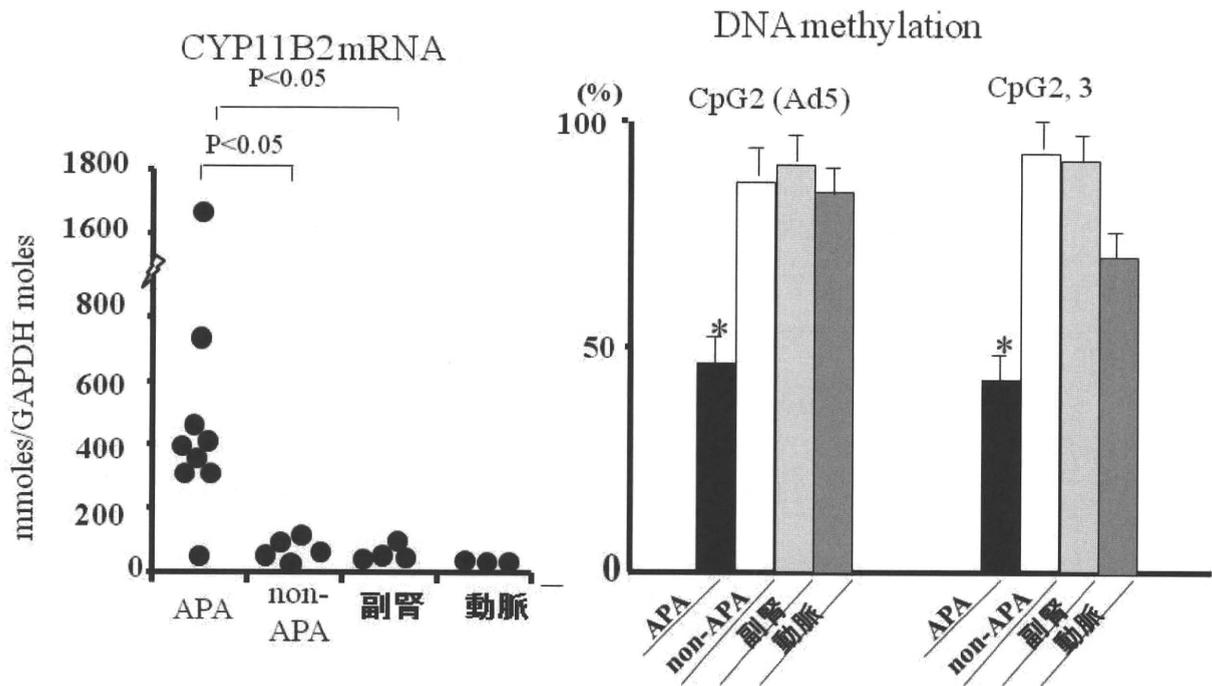


図1. APAにおけるCYP11B2 mRNAは他の組織に比して有意に高値を示した。DNAのメチル化と mRNA発現は有意な負の相関を示した ($p < 0.01$ vs non-APA, 副腎, 動脈)。

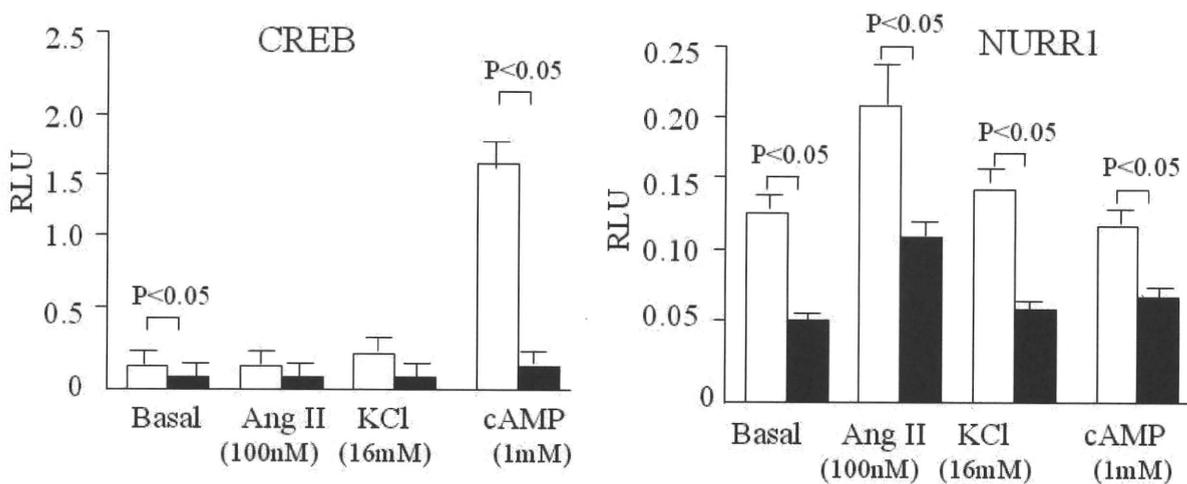


図2. 副腎皮質癌由来H295R細胞を用いたLuciferase reporter assay では、20%程度のCpG1,2のメチル化は、非刺激 (Basal)、刺激下 (Ang II, KCl, cAMP)でのプロモーター活性を有意に減弱した ($p < 0.05$)

原発性アルドステロン症の病型診断における副腎静脈血中

18-水酸化ステロイドの役割

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)の局在診断は副腎静脈サンプリングにて行われている。結果の解釈には、副腎静脈血中のアルドステロン/コルチゾール比を用いて、片側性または両側性病変の判定が行われている。アルドステロン産生腺腫では、24時間蓄尿中 18-hydroxycortisol や 18-oxocortisol が高値となることが示されている。そこで本研究では副腎静脈血中においてこれらの 18-水酸化ステロイドの測定系を用いて、PA の局在診断における有用性を検討した。その結果、アルドステロン産生腺腫の局在診断には、アルドステロン/コルチゾール比の左右比 >4 、18-oxocortisol/cortisol 比の左右比 >2 および 18-hydroxycorticosterone/aldosterone 比の左右比 <0.5 が有用であった。

【緒言】

原発性アルドステロン症(PA)の診断では、日本内分泌学会、日本高血圧学会および米国内分泌学会から診療ガイドラインが示されている。まず高血圧患者を対象に血漿アルドステロン濃度と血漿レニン活性（濃度）を用いたアルドステロン/レニン比の高値を指標としてスクリーニングを行う。次に、いくつかの機能確認検査により、PA の除外診断を行う。そして、手術希望がある例を対象に副腎静脈サンプリング(AVS)を行って局在診断が行われる。局在診断では、副腎静脈血を用いてアルドステロン/コルチゾール(A/F)比の左右比や下大静脈との比を用いて判定する基準が広く用いられている。本研究では、アルドステロン産生腺腫(APA)と両側副腎過形成(IHA)との鑑別に有用であることが示されている 18-水酸化ステロイド(18-hydroxycortisol, 18-oxocortisol, 18-hydroxycorticosterone)を副腎静脈血中にて測定し、局在診断における有用性を検討した。

【研究方法】

対象は、PA と確定診断され、AVS が施行された合計 36 例（表 1）。方法は、両側大腿静脈からカテーテルを 2 本挿入し、左右の副腎静脈および下大静脈より採血し、コートロシンの点滴静注 30 分後に再度、同部位から採血を施行した。Aldosterone, cortisol, 18-hydroxycorticosterone (18-OHB), 18-hydroxycortisol (18-OHF), 18-oxocortisol (18-oxoF)を LC-MS/MS を用いて測定した。

【結果】

36 例の PA に対して AVS を施行し、アルドステロン/コルチゾール比の左右比 >4 で、副腎摘出術後に APA と確認されたのが 18 例で、残りの 18 例は両側病変と考えられ臨床的に IHA と判定された。APA 症例の腫瘍側の副腎静脈血中 aldosterone 濃度は、 97830 ± 78466 pg/ml（対側は 3663 ± 4096 pg/ml）、18-OHF 濃度は、 19955 ± 17086 ng/dl（対側は $8928 \pm$

6212pg/ml), 18-oxoF 濃度は、 2657 ± 3403 ng/dl (対側は 81 ± 45 pg/ml) および 18-OHB 濃度は 28360 ± 18189 ng/dl (対側は 6214 ± 3764 pg/ml)であった。一方、特発性アルドステロン症では、aldosterone 濃度は、右副腎静脈 36245 ± 37705 pg/ml, 左副腎静脈 20741 ± 14905 pg/ml, 18-OHF 濃度は、右副腎静脈 9872 ± 6932 ng/dl, 左副腎静脈 8047 ± 7460 ng/dl, 18-oxoF 濃度は、右副腎静脈 335 ± 291 ng/dl, 左副腎静脈 238 ± 174 ng/dl, 18-OHB 濃度は、右副腎静脈 12300 ± 8695 ng/dl, 左副腎静脈 8911 ± 7349 ng/dl であった。

A/F 比の左右比は、APA では 46.7 ± 9.2 , IHA では 2.0 ± 0.4 であり、カットオフ 4.0 により局在は 1 例の IHA を除いて可能であった。18-OHF/F 比の左右比は、APA では 3.1 ± 0.6 , IHA では 1.2 ± 0.1 であり、18-OHB/F 比の左右比は、APA では 6.3 ± 1.1 , IHA では 1.6 ± 0.2 でありどちらも重複が多く明確なカットオフの設定は困難であった。一方、18-oxoF/F 比の左右比は、APA では 41.8 ± 11.4 , IHA では 2.1 ± 0.4 であり、カットオフを 2.0 に設定することが有用と考えられた(表 1)。また、18-OHB/A 比は、APA の健常側で 0.36 ± 0.03 , 腫瘍側で 2.57 ± 0.37 , IHA では 0.44 ± 0.03 であり、カットオフ値 0.5 未満ではアルドステロン過剰分泌があると判定された。

【考 察】

本研究の結果、AVS での局在診断では従来用いている A/F 比の左右比は LC-MS/MS で再測定した結果でも同様で、A/F 比の左右比 (lateralization ratio) > 4.0 の時に APA と診断することが可能と考えられた。また、18-oxoF/F 比の左右比 > 2.0 も APA の局在診断を支持する結果を示したが、18-OHF/F 比や 18-OHB/F 比は IHA と明確に分けて診断するのは困難と思われた。したがって、副腎静脈血を用いた APA の病型診断は、A/F 比および 18-oxoF/F 比の両方を用いることで、さらに有用になることが示唆された。しかし、まだ症例数が限られていることや IHA と診断された症例の中にも両側

APA や片側過形成+片側 APA の症例が混在していることを考えると、IHA と診断された症例における手術例での検討が今後は必要と考えられた。本研究から得られた 18-oxoF/F 比のカットオフ値は参考値であるが、今後の症例いあてはめていくことで、将来的には A/F 比から両側性 PA (IHA) と診断される症例の中から両側 APA や片側過形成+片側 APA の症例の診断が可能となる可能性が期待される。

【結 語】

PA と診断された症例の局在診断では、AVS を施行して、副腎静脈血の A/F 比 > 4.0 と 18-oxoF/F 比 > 2.0 が有用である可能性が示唆された。

【研究発表】

1. 論文発表 論文

1. S.Yamaguchi, H.Shibata, K.Miyashita, I.Kurihara, A.Murai-Takeda, Y.Mitsuishi, T.Motosugi, Y.Saito, K.Hayashi, H.Itoh. Gastrointestinal pseudo-obstruction after debulking surgery of malignant pheochromocytoma, improved by intravenous administration of alpha-adrenergic receptor blocker, phentolamine. *Hypertens.Res.* 33: 753-754, 2010.
2. K.Yuge, A.Miyajima, M.Hasegawa, Y.Miyazaki, T.Maeda, T.Takeda, A.Takeda, K.Miyashita, I.Kurihara, H.Shibata, E.Kikuchi, M.Oya. Initial experience of transumbilical laparoendoscopic single-site surgery of partial adrenalectomy in patient with aldosterone-producing adenoma. *BMC Urol* 10:19, 2010.
3. 栗原 勲、柴田洋孝、伊藤 裕. 内分泌関連 腎と透析 67: 789-792, 2009
4. 柴田洋孝. Cushing 症候群. 内科、105:1544-1549, 2010
5. 柴田洋孝. Pre-clinical Cushing 症候群. 内

科、105:1572, 2010

6. 柴田洋孝. 副腎ステロイド合成酵素異常症. 内科、105:1573, 2010
7. 柴田洋孝、伊藤 裕. 内分泌性高血圧を鑑別する検査. Life Style Medicine、4:64-70, 2010
8. 柴田洋孝、伊藤 裕. 鋳質コルチコイド受容体の転写と Epigenetics. 最新医学、65:79-87, 2010
9. 柴田洋孝. 質疑応答 日本医事新報、24512: 76-77, 010
10. 武田彩乃、柴田洋孝、横田健一、須田徳子、中川 健、村井 勝、大家基嗣、伊藤 裕. 副腎偶発腫瘍として発見されRET 遺伝子変異を認めた MEN2B 型の一例 ホルモンと臨床 内分泌学ニカルカンファレンス 51, 58 (春期増刊号) :151-158, 2010
11. 柴田洋孝. 原発性アルドステロン症 内科 105:427-432, 2010

著書

1. 柴田洋孝、伊藤 裕. 副腎疾患 今日から実践！内科確定診断完全マスター p.286-296, MEDICAL VIEW、2009.
2. 柴田洋孝. DOC 産生腫瘍 内分泌性高血圧診療マニュアル, p.116-117, 2010.
3. 柴田洋孝、伊藤 裕. 診断と検査—基本方針 心血管リスクを防ぐ！テーラーメイド高血圧診療ガイド、p.64-74, 2010

学会発表

1. 第10回日本内分泌学会関東甲信越支部学術集会(2010年7月2日~7月3日、大宮) 2型糖尿病の治療中に動悸症状にて発見され術後に糖尿病の著明な改善を認めたアドレナリン優位型右副腎性褐色細胞腫の一例 柴田洋孝、栗原 勲、宮下和季、城 理絵、武田彩乃、三石木綿子、本杉裕一郎、宮嶋哲、大家基嗣、伊藤 裕
2. 第10回日本内分泌学会関東甲信越支部学術集会(2010年7月2日~7月3日、大宮) クオンティフェロン強陽性で両側副腎腫

瘍を認めた副腎皮質機能低下症の一例 中嶋一晶、柴田洋孝、宮下和季、栗原 勲、侯金成、武田彩乃、三石木綿子、本杉裕一郎、城 理絵、中塚誠之、伊藤 裕

3. 第10回日本内分泌学会関東甲信越支部学術集会(2010年7月2日~7月3日、大宮) 治療方針に難渋した原発性アルドステロン症とサブクリニカルクッシング症候群が合併した左副腎偶発腫瘍の一例 田口寛子、柴田洋孝、栗原 勲、宮下和季、川野義長、細谷幸司、武田彩乃、三石木綿子、本杉裕一郎、城 理絵、橋本 統、伊藤 裕
4. 第10回日本内分泌学会関東甲信越支部学術集会(2010年7月2日~7月3日、大宮) サブクリニカルクッシング症候群にて副腎摘出術後に原発性アルドステロン症が顕在化した1例:CYP11B1及びCYP11B2特異的抗体を用いた免疫組織化学的検討 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、林 毅、城 理絵、向井邦晃、西本紘嗣郎、中川 健、大家基嗣、笹野公伸、伊藤 裕
5. 第33回日本高血圧学会総会(2010年10月15日~10月17日、福岡) 副腎静脈血中18-水酸化ステロイド測定は原発性アルドステロン症の病型診断に有用である 栗原 勲、柴田洋孝、武田彩乃、三石木綿子、本杉裕一郎、林 毅、城 理絵、宮下和季、太田敦美、本間桂子、村田 満、橋本 統、伊藤 裕
6. 第33回日本高血圧学会総会(2010年10月15日~10月17日、福岡) ミネラルコルチコイド受容体は栄養センサーとして高血圧の増悪因子となる:慢性高血糖状態における細胞内 O-linked β -N-acetylglucosamine レベルの上昇との関連 城 理絵、柴田洋孝、栗原 勲、武田彩乃、三石木綿子、本杉裕一郎、林 毅、伊藤 裕
7. 第33回日本高血圧学会総会(2010年10月15日~10月17日、福岡) マクロファージはミネラルコルチコイド受

容体活性亢進因子を分泌してアルドステロン作用を増強する 林 毅、柴田洋孝、栗原勲、武田彩乃、三石木綿子、本杉裕一郎、城理絵、伊藤 裕

8. 第33回日本高血圧学会総会（2010年10月15日～10月17日、福岡）
原発性アルドステロン症に対する手術療法および薬物療法の予後：アルドステロン分泌量の階層化による血圧および腎機能の比較検討 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、林 毅、伊藤 裕
9. 第14回日本内分泌病理学会学術総会（2010年10月29日～30日、京都）
Pancreatic solid-pseudopapillary tumor が疑われた副腎偶発腫瘍の一例 栗原 勲、柴田洋孝、亀山香織、宮嶋 哲、伊藤 裕
10. 第18回日本ステロイドホルモン学会学術総会（2010年11月27日、名古屋）
原発性アルドステロン症における手術療法および薬物療法の治療効果に対するPAの重症度の影響の検討 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、林 毅、城 理絵、伊藤 裕
11. 第18回日本ステロイドホルモン学会学術総会（2010年11月27日、名古屋）
原発性アルドステロン症の病型診断における血中 18-水酸化ステロイド測定の有用性 栗原 勲、柴田洋孝、武田彩乃、三石木綿子、本杉裕一郎、林 毅、城 理絵、宮下和季、本間桂子、伊藤 裕
12. 第18回日本ステロイドホルモン学会学術総会（2010年11月27日、名古屋）
O-linked β -N-acetylglucosamine 修飾とミネラルコルチコイド受容体発現量の変化 城 理絵、柴田洋孝、栗原 勲、武田彩乃、三石木綿子、本杉裕一郎、林 毅、伊藤 裕

H. 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

図1 18-水酸化ステロイドの合成

18-hydroxycorticosterone (18-OHB), 18-hydroxycortisol (18-OHF), 18-oxocortisol (18-oxoF)の合成経路

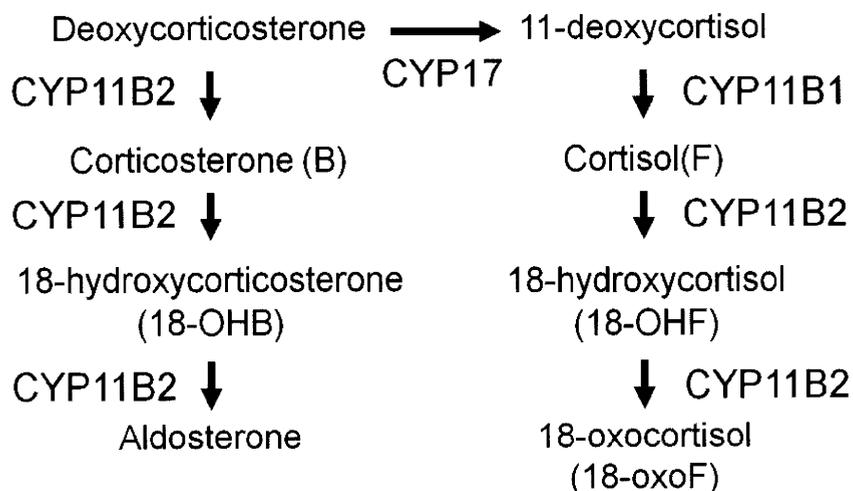


表1 原発性アルドステロン症患者 36名の臨床的特徴

	APA	IHA
N	18	18
Age	52±3	52±2
Sex (male:female)	10:8	6:12
Tumor size (mm)	12.6±1.9	9.8±2.3
ARC (pg/ml)	2.7±0.3	3.3±0.5
PAC (pg/ml)	486±65	188±19
PAC/ARC ratio	197.3±29.1	67.4±8.6
Urine aldosterone (μg/day)	22.9±2.1	13.3±1.1

APA: アルドステロン産生腺腫、IHA: 特発性アルドステロン症

表2 副腎静脈血中ホルモンによる片側病変の診断

副腎静脈血中ホルモンの局在指標	カットオフ値
aldosterone/cortisol 比	>4
18-oxocortisol/cortisol 比	>2
18-hydroxycorticosterone/aldosterone 比	<0.5

原発性アルドステロン症の局在診断における副腎静脈サンプリング血中の

18-oxocortisol 濃度測定の臨床的意義と課題

研究分担者 佐藤文俊
東北大学病院 腎・高血圧・内分泌科 講師

【研究要旨】

手術と病理で確定診断のついたアルドステロン産生腺腫(APA) 症例と特発性アルドステロン症(IHA) 症例の副腎静脈血(AVS) での検討では APA 側 AVS 血中の ms/ms で測定した 18-oxocortisol(18-oxoF)血中濃度は、IHA 両側と非腫瘍側の AVS 血中濃度に比較して有意に高く、18-oxoF 絶対値及び 18-oxoF/F ともに鑑別に有用であり、AVS での APA の局在診断に大きな一助となる可能性がある。

A. 研究目的

手術治療が可能な片側のアルドステロン産生腺腫と両側病変との鑑別は重要である。18-oxoF 測定の有用性を ACTH 負荷前後の AVS サンプル血漿を用いて検討した。

B. 研究方法

術後組織学的診断とステロイド合成酵素(3 β HSD、CYPc17)の免疫組織化学的診断にて確定診断された、片側 APA 11 症例と IHA5 症例、それぞれ ACTH 負荷前後での両側の AVS 血漿中アルドステロン、コルチゾル 18-oxoF を ms/ms で測定し比較検討した。

(倫理面への配慮)
当施設の倫理委員会にて承認されている。

C. 研究結果

ACTH 負荷前 AVS 血漿中の 18-oxoF は、APA が局在する副腎側 11 症例の濃度の平均は 1800 \pm 480ng/dL(mean \pm SEM)あり、IHA5 症

ng/dL と比較して有意に増大していた。

D. 考察

ACTH 負荷後の AVS 血漿中の 18-oxoF は APA 側で 3300 \pm 500 (ng/dL)(2110 ~ 7010ng/dL) であり全例 2000ng/dL を超え全例 2000ng/dL 未満の IHS 症例の 508 \pm 150 (ng/dL)(150~1640 ng/dL)と非腫瘍側の 68.0 \pm 17 (ng/dL) (10~140ng/dL)と比較して有意に増大していた。ACTH 負荷後の AVS 血漿中 18-oxoF が 2000ng/dL を超えた場合 APA の可能性が高い。

E. 結論

APA 側副腎静脈血中の 18-oxoF は、IHA と非腫瘍側に比較して有意に高く、AVS での APA の局在診断に大きな一助となる可能性がある。さらに今後末梢血中 18-oxoF の高感度測定法が確立した場合、AVS 適応には APA の可能性が高い PA 症例群の選別が可能となり、より効率のいい手術適応の選別がなされる可能性も推定

される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Satoh F, et al. Rev Endocr Metab Disord; Feb 9.2011

2) Ishidoya S, et al. Urology; Feb 17.2011

3) Takahashi K, et al. J Mol Neurosci; 41(1):138-44; May.2010

4) Morimoto R, et al. J Endocrinol; 198(1): 175-83; Jul.2008

2. 学会発表

1. 佐藤文俊ら：アルドステロン産生腺腫 (APA) の確定診断における 18-oxocortisol(18-oxoF) 測定の意義～ APA 側副腎静脈 18-oxoF は有意に高く 18-oxoF と 18-Hydroxycortizol(18-OHF)

は有意な正の相関がある～; 第 34 回日本高血圧学会総会 2010/10/15～17; 福岡

2. 佐藤文俊ら：アルドステロン産生腺腫 (APA) と特発性アルドステロン症は副腎静脈血 18-oxocortisol(18-oxoF) で鑑別可能である; 第 18 回日本ステロイドホルモン学会 2010/11/26; 福岡

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

アルドステロン産生腺腫患者の内臓脂肪におけるグルコ及びミネラルコルチコイ

ドホルモン受容体, 11 β -HSD1, 2 遺伝子発現

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】

【目的】内臓脂肪組織においてグルコルチコイド受容体(GR)以外にミネラルコルチコイド受容体(MR)が存在し、アルドステロンの脂肪細胞に対する作用も明らかにされてきた。原発性アルドステロン症患者に MR ブロッカーを長期投与すると、内臓脂肪量が減少することを報告され、臨床的に内臓脂肪組織における MR の重要性が明らかにされた。グルコルチコイドだけでなくアルドステロンも心血管系や腎臓以外に脂肪組織において重要な役割を果たしていると考えられる。培養細胞や動物実験モデルを用いてアルドステロンの過剰状態による内臓脂肪組織での MR に関する報告はあるが、ヒトでの動態は不明である。今回アルドステロン過剰状態である原発性アルドステロン症の患者における内臓脂肪組織における MR 発現に関して検討した。【方法】アルドステロン産生腺腫(APA)患者の内臓脂肪における GR, MR, 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD)1, 2 のメッセンジャーRNA(mRNA)発現について検討した。APA12例、クッシング腺腫(Cu)4例、非機能性副腎腺腫(NF)5例から腺腫摘出時の副腎隣接脂肪組織を採取し、RNAを抽出し real time PCR 法にて各因子の mRNA を定量化した。APA の診断は副腎 CT 及び副腎静脈サンプリングにより部位を決定し、組織学的に腺腫であることを確認した。Cu の診断はデキサメサゾン抑制試験、副腎 CT, 副腎スキャンなどにより部位診断をし、酵素免疫学的に診断した。【成績】内臓脂肪における GR mRNA 発現は Cu において APA より低値、MR mRNA 発現は APA において NF より有意に高値(p<0.05)を示した。11 β -HSD1mRNA は 3 群間で有意の変動を示さなかったが、11 β -HSD2mRNA 発現は APA において有意に低値であった(p<0.05)【結論】APA 患者内臓脂肪における MR 発現の高値及び 11 β -HSD2 の低値は APA において循環血中のアルドステロンの高値に加え、局所でのアルドステロンの作用発現の増加が示唆され、APA における心血管系の合併症や代謝異常に関与している可能性が示唆された。

【背景】

内臓脂肪組織においてグルコルチコイド受容体(GR)以外にミネラルコルチコイド受容体(MR)が存在し、アルドステロンの脂肪細胞に対する作用も明らかにされてきた。原発性アルドステロン症患者にMRブロッカーを長期投与す

ると、内臓脂肪量が減少することを報告され、臨床的に内臓脂肪組織におけるMRの重要性が明らかにされた。グルコルチコイドだけでなくアルドステロンも心血管系や腎臓以外に脂肪組織において重要な役割を果たしていると考えられる。培養細胞や動物実験モデルを用いてア

ルドステロンの過剰状態による内臓脂肪組織でのMRに関する報告はあるが、ヒトでの動態は不明である。今回アルドステロン過剰状態である原発性アルドステロン症の患者における内臓脂肪組織におけるMR発現に関して検討した。

【目的と方法】

アルドステロン産生腺腫(APA)患者の内臓脂肪におけるGR, MR, 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD)1, 2のメッセンジャーRNA(mRNA)発現について検討した。APA12例、クッシング腺腫(CS)4例、非機能性副腎腺腫(NF)5例から腺腫摘出時の副腎隣接脂肪組織を採取し、RNAを抽出しreal time PCR法にて各因子のmRNAを定量化した。APAの診断は副腎CT及び副腎静脈サンプリングにより部位を決定し、組織学的に腺腫であることを確認した。CSの診断はデキサメサゾン抑制試験、副腎CT、副腎スキャンなどにより部位診断をし、酵素免疫学的に診断した。対象症例の臨床像を表1に示す。非機能性腺腫に比べAPA,CSの各群では血圧が有意に高値でありAPAでは低K血症、APA/PRA比の上昇(650)が見られた。

【結果】

内臓脂肪におけるGR mRNA発現はCS患者においてAPAより低値、MR mRNA発現はAPAにおいてNFより有意に高値($p < 0.05$)を示した。11 β -HSD1 mRNAは3群間で有意の変動を示さなかったが、11 β -HSD2 mRNA発現はAPAにおいて有意に低値であった($p < 0.05$) (図2-4)。

【考察とまとめ】

近年、アルドステロンがインスリンシグナルを障害し糖代謝異常を生ずる可能性が指摘されておりアルドステロンの新たな作用として注目されている。今回アルドステロン過剰症であるAPAについて局所におけるコルチコステロイド作用を調節する諸因子を調べ考察した。

1) アルドステロンによる β 作用への影響ア

ルドステロンの過剰分泌症では糖代謝異常を伴うことからアルドステロンと糖代謝の関連が検討されている。APAで糖代謝を検討したMossoらの成績では本態性高血圧症(EHT)に比べAPAでは有意に血糖は高い。しかし血中インスリン濃度、HOMA-IR (インスリン抵抗性指標)は両群間に差は無く、HOMA- β 、C-ペプチドはPA群で低下していた。このことからアルドステロンにより β 機能が減弱することが示唆された。Pierluzziは β 細胞の培養実験でアルドステロンはインスリン分泌を抑制することを証明しており、臨床成績を裏付けている。

2) アルドステロンによる肝糖新生酵素への影響

生理的濃度のアルドステロンは解糖系酵素であるGlucose-6-phosphataseやPhosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK)を活性化することがマウス肝細胞培養実験系で証明されている。インスリンの前処理はこれら糖新生酵素を抑制するがアルドステロンの投与によりある程度復している。絶食下での実験では内因性インスリン分泌が抑制されているためアルドステロン作用は β 作用ではなく糖新生酵素の発現増強によるものと推定されている。糖新生に強く影響するこれらの酵素のプロモーター領域にはステロイドホルモンに応答する領域が存在することからも実験成績が支持される。なお肝細胞ではアルドステロンはIRS/PI3K/PKCB cascadeに対する作用は観察されていない。なおAng IIによりG-6Paseの発現は変化しないことからアルドステロンに特異的と考えられる。

3) アルドステロンのインスリンシグナルへの作用

骨格筋、脂肪細胞におけるインスリン作用の減弱はブドウ糖の取り込みを低下させ血糖の上昇と代償的高インスリン血症を生じる。インスリン抵抗性は高インスリン血症にもかかわらず高血糖を来す病態である。インスリン抵抗性の原因となる異常の1つにインスリン受容体基質(IRS)のセリン (ser) 残基のリン酸化とIRS蛋白質の分解がある。特にIRS1はインスリン

の細胞内伝達系への初期段階に重要な分子であり Ser 残基のリン酸化はインスリン抵抗性に果たす役割は大きい。Ser リン酸化は JNK や IKK β を介した TNF α の作用、PKC θ を介した遊離脂肪酸の作用、TORC 1 pathway を介する持続的インスリン作用などによって惹起される。Wada ら 4) は脂肪細胞の実験系でアルドステロンのインスリンシグナルへの影響を検討している。その結果、アルドステロンは脂肪細胞において IKK β 、ATORC1 pathway を介した ROS 産生により Ser リン酸化と続く IRS1、IRS2 の分解を促進することが示された。特にアルドステロン刺激は低密度マイクロゾーム分画内の IRS1 を細胞質に移行してインスリンシグナルを阻止していることが明らかにされた。このアルドステロン作用は AT1R 拮抗剤によって阻害されないことから Ang II に非依存性であり新たなアルドステロンの細胞作用として注目される。アルドステロンは肝臓および骨格筋において糖輸送体である Glut2, および Glut4 の発現を抑制する。

さらにアルドステロンは内皮細胞において Glucose-6-phosphate dehydrogenase を抑制して NADHP を過剰産生し一酸化窒素を減少し血管収縮を来す。ROS 産生は増加しインスリン抵抗性も高まると推定される。

4) 原発性アルドステロン症とメタボリック症候群に関する考察

上述したようにアルドステロン過剰はインスリン抵抗性の原因となることから Mets の背景に高アルドステロン血症が存在する可能性は否定できない。アルドステロンの慢性的過剰症である APA は本態性高血圧の 5~10% を占め、Mets との関連を明らかにすることも有意義な研究課題である。

460 例の APA と EHT を比較した Matrozova らの報告では空腹時血糖、脂質のレベルに両群間で差はなく、年齢と性で補正した APA のサブタイプ間 (腺腫、過形成) でも明らかな差はなく、腺腫例における術前後での耐糖能や血清脂質にも差は見られていない。本研究では対象患者の腹囲、血圧、インスリン抵抗性指標は計

測されていないが、空腹時血糖が PA 群で EHT に比べやや低値を示している点を考慮するとその差は僅少であると推察される。一方、APA 腺腫で術前後にインスリン抵抗性 (MOMA-R) とインスリン分泌能 (HOMA- β) を検討した観察研究では術後にこれらの指標の改善が見られており、アルドステロンの催 Mets 作用が支持される。

5) APA におけるコルチゾール代謝酵素の発現の臨床的意義

上述のようにアルドステロン症において糖代謝異常が局所コルチゾール産生調節因子である 11 β -HSD 1 の相対的発現亢進が APA において耐糖能異常や Mets に寄与する可能性がある。

【結 論】

APA 患者内臓脂肪における MR 発現の高値及び 11 β -HSD2 の低値は APA において循環血中のアルドステロンの高値に加え、局所でのアルドステロンの作用発現の増加が示唆され、APA における心血管系の合併症や代謝異常に関与している可能性が示唆された。

(謝辞) 本研究は金沢大学大学院武田仁勇博士との共同研究として実施されたものであり同博士の協力に深謝したい。

【研究発表】

- 1) 宮森勇、アルドステロン過剰と糖代謝異常医学の歩み 232:901-905, 2010
- 2) 宮森勇、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系の進歩、アプローチ最新医学 65:2189-2193, 2010
- 3) Fujii.M, Inoki I, Inaba S, Konoshita T, Miyamori I. Aldosterone inhibits endothelial morphogenesis and angiogenesis through the downregulation of PPAR γ and subsequent vascular endothelial growth factor receptor-2 expression. International Society of endocrinology (Kyoto) Mar 26-30, 2010.
- 3) Miyamori I, Fujii.M, Inoki I, Inaba S, Konoshita T, Takeda Y. Serotonin receptors in aldosterone producing adenoma: implication

for aldosterone secretion. International Society of endocrinology (Kyoto) Mar 26-30, 2010.

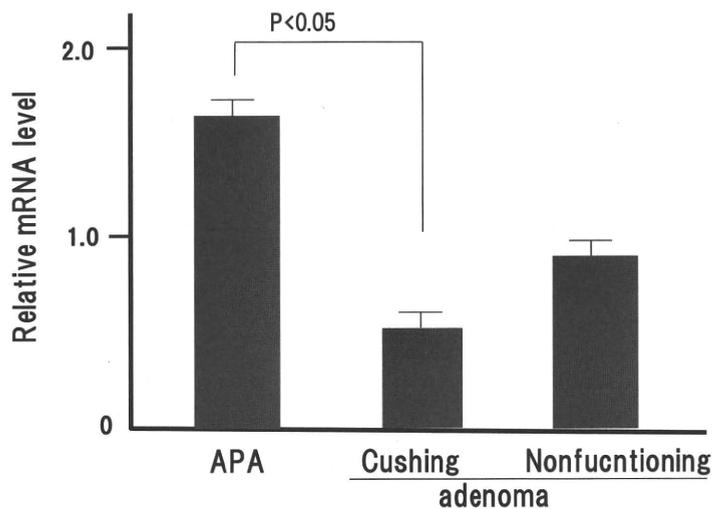
【知的財産権の出願・登録状況】
なし

表1. 各グループの臨床像

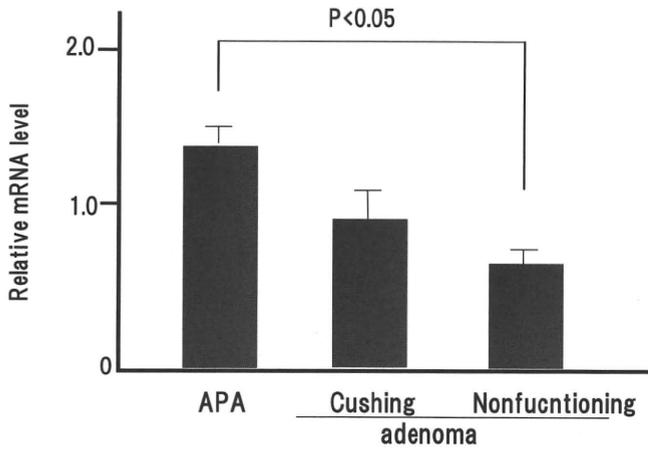
	APA (n=12)	Cushing (n=4)	Nonfunctioning (n=4)
Age (year)	49 ± 3.9	43 ± 8.1	60 ± 3.9
BMI (kg/m ²)	26 ± 4.0	22 ± 2.6	23 ± 4.4
SBP (mmHg)	153 ± 4*	150 ± 4*	114 ± 8
DBP (mmHg)	94 ± 2*	96 ± 1*	69 ± 4
PRA (ng/mL·h)	0.3 ± 0.06*	2.0 ± 0.9	1.6 ± 0.4
Aldo (pg/mL)	194 ± 15*	81 ± 24	90 ± 17
Cortisol (μg/dl)	12.6 ± 1.1	28.0 ± 2.4*	8.8 ± 1.5
ACTH (pg/mL)	29 ± 4.4	<5	19 ± 2.8
S-K (mEq/L)	3.6 ± 0.15**	3.9 ± 0.28	4.4 ± 0.12
eGFR (mL/min)	85 ± 4	95 ± 11	91 ± 10
FPG (mg/mL)	112 ± 5	148 ± 29	99 ± 4
HbA1c (%)	5.6 ± 0.3	8.0 ± 1.3	5.0 ± 0.2
T-Chol (mg/mL)	196 ± 10	220 ± 10	178 ± 4
TG (mg/mL)	111 ± 12	119 ± 36	87 ± 10

FPG: Fasting plasma glucose, TG: Triglyceride * :p<0.01 vs NF; **p<0.05 vs NF

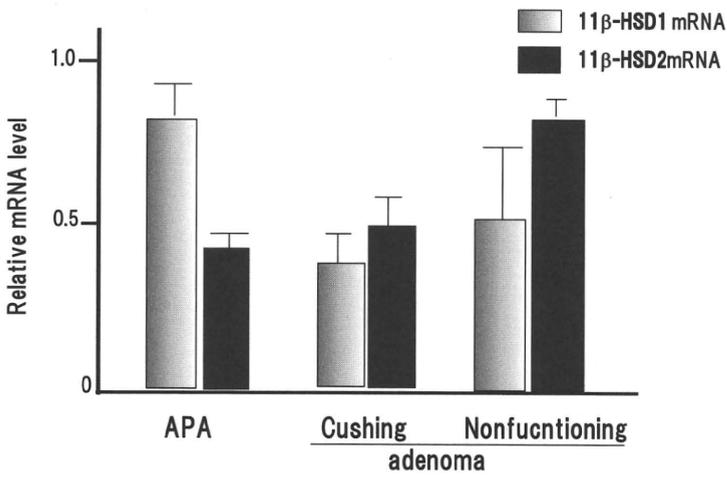
図1. GRmRNA in visceral adipose tissues



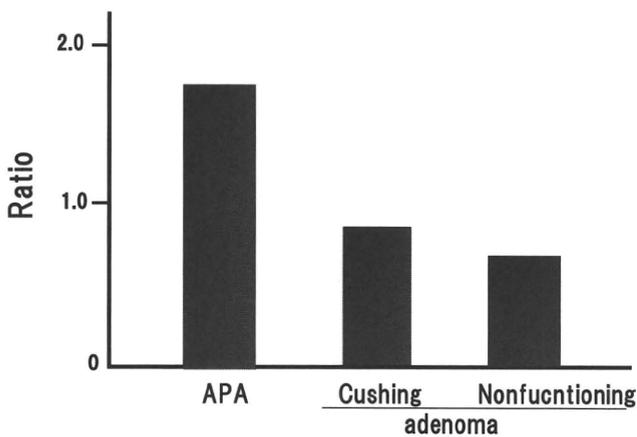
☒ 2. GRmRNA in visceral adipose tissues



☒ 3. 11 β -HSD1 and 11 β -HSD2mRNA in visceral adipose tissues



☒ 4. 11 β -HSD1mRNA /11 β -HSD2mRNA Ratio in visceral adipose tissues



(5) ステロイド作用に関わる受容体とその異常の解析

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

研究分担者 加藤 茂明
東京大学分子細胞生物学研究所 教授

【研究要旨】

これまで MR と結合し転写を制御する因子として報告した p120 の機能解析を進めたところ、p120 は NSD1 のアダプターとして機能することが判明した。そして BRD1 のノックダウンでは NSD1 の DNA への動員も減少し、H3K36me3 レベルも減少することを明らかにした。さらに今回 MR 結合因子として新たに p130、p140 を生化学的に同定することに成功した。免疫沈降法において p130、p140 はいずれも MR と結合した。ルシフェラーゼアッセイでは p130 は MR の転写を増強する co-activator として機能し、一方 p140 は MR の転写を減弱させる co-repressor として機能した。RT-qPCR による MR 標的遺伝子の検討においても p130 は MR の標的遺伝子発現を増強する co-activator として機能し、反対に p140 は標的遺伝子発現を抑制する co-repressor として機能することが明らかとなった。

A. 研究目的

ミネラルコイドは核内受容体の一つであるミネラルコルチコイドレセプター(MR)を介してその生理機能が発揮されるが、その制御メカニズムはほとんど明らかにされていない。そこで、MR の転写制御メカニズムを解明すべく、生化学的手法を用いて MR 転写共役因子の精製を世界で始めて試みることにした。

B. 研究方法

1) MR 結合因子の探索を以前とは異なるアプローチから試みた。すなわち、FLAG タグ付き MR を安定発現する HEK293 細胞を樹立し、大量培養を行った。そして、生化学的手法を用いて核抽出液を取得したのち、抗 FLAG 抗体アガロースビーズを用いて免疫沈降した。これらの手法により得られたサンプルは、SDS-PAGE に展開し染色後、ゲルを切り出し、トリプシン消化を行い、最終的には LC-MS/MS を用いて MR 蛋白質と結合する蛋白質の同定を試みた。

2) ルシフェラーゼ(LUC)法により、得られた因子を HEK293 細胞に過剰発現させた場合と、RNAi によりノックダウンさせた状態で、それぞれ MR 転写に及ぼす影響を検討した。

3) 候補因子を RNAi によりノックダウンしたときの MR 標的遺伝子 SGK や ENaC の mRNA をリアルタイム PCR 法により定量することで、候補因子が内在性の MR 標的遺伝子発現に及ぼす影響を観察した。

4) HEK293 細胞を用いた免疫沈降法により、得られた因子と MR との結合について検討した。

5) FLAG タグを付けた MR 結合候補蛋白質 p120 を安定発現する HEK293 細胞を樹立し、大量培養を行った。そして、生化学的手法を用いて核抽出液を取得したのち、抗 FLAG 抗体アガロースビーズを用いて免疫沈降した。得られたサンプルは、

SDS-PAGE に展開し染色後、ゲルを切り出し、トリプシン消化を行い、最終的には MALDI-TOF/MS を用いて MR 候補蛋白質と結合する蛋白質複合体の同定を試みた。

6) HEK293 細胞を用いてクロマチン免疫沈降法を行うことで、MR 標的遺伝子 ENaC プロモーターへの候補因子の動員やヒストンメチル化修飾を観察した。そして RNAi による候補因子のノックダウンによるヒストン修飾に及ぼす影響を観察した。

(倫理面への配慮)

本研究は東京大学分子細胞生物学研究所組み換え DNA 実験実施規則および東京大学動物実験実施規則にそって行われた。

C. 研究結果

FLAG-MR 安定発現細胞を用いた精製により、p130 および p140 を同定した。これらの因子の発現ベクターを作成し、ルシフェラーゼアッセイを行った結果、p120 および p130 は MR のリガンド依存的な転写を増強する co-activator、p140 は MR のリガンド依存的な転写を抑制する co-repressor として機能することが判明した。さらに、これらの因子を RNAi によりノックダウンした時の、MR 標的遺伝子の変化を観察したリアルタイム PCR 法の結果、これらの因子はルシフェラーゼアッセイの結果同様に MR 転写活性を制御することが明らかとなった。

次にこれらの因子と MR との相互作用を免疫沈降法で検討した。その結果、いずれの因子も MR と結合することが示された。

一方、以前に同定した MR 結合因子 p120 の FLAG タグ付き p120 安定発現 HEK293 細胞を樹立し、大量培養を行ったうえ、核抽出液を取得し、p120 を含む蛋白質複合体の精製を行ったところ、ヒストン H3K36 のメチルトランスフェラーゼである NSD1 が同定された。そこで MR 標的遺伝子 ENaC プロモーターに存在する MR response element に着目した CHIP アッセイを行った。すると、p120 は NSD1 を動員するアダプターとして機能し、p120 のノックダウン条件下では、NSD1 の動員

も減少し、H3K36me3 レベルも減少していることが観察された。

D. 考察

今回新たにミネラルコルチコイド依存性の転写制御メカニズムを明らかにすることができたが、まだ MR の役割やその制御メカニズムを完全に明らかにできてはおらず、引き続き解析を進める必要がある。将来的には、高血圧発症の抑制に役立つと考えられる。

E. 結論

ミネラルコルチコイド依存性の転写制御メカニズムの一端を明らかにした。今後はさらにその詳細を明らかにするとともに、高血圧発症との関係などを明らかにしていきたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

Baba, A., Ohtake, F., Okuno, Y., Yokota, K., Okada, M., Imai, Y., Ni, M., Meyer, A. C., Igarashi, K., Kanno, J., Brown, M. and Kato, S.: Signal-sensing activation of a histone lysine demethylase complex. *Nat. Cell Biol.* 2011 (in press).

Kaneko, I., Segawa, H., Furutani, J., Kuwahara, S., Aranami, F., Hanabusa, E., Tominaga, R., Giral, H., Caldas, Y., Levi, M., Kato, S. and Miyamoto, K. I.: Hypophosphatemia in vitamin D receptor null mice: effect of rescue diet on the developmental changes in renal Na(+)-dependent phosphate cotransporters. *Pflugers Arch. European J.* 461, 77-90, 2011.

Akimoto, C., Ueda, T., Inoue, K., Yamaoka, I., Sakari, M., Obara, W., Fujioka, T., Nagahara, A., Nonomura, N., Tsutsumi, S., Aburatani, H., Miki, T., Matsumoto, T., Kitagawa, H. and Kato, S.: Testis-specific protein on Y chromosome (TSPY) represses the activity of the androgen receptor in androgen-dependent testicular

- germ-cell tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 19891-19896, 2010.
- Youn, M. Y., Takada, I., Imai, Y., Yasuda, H. and Kato, S.: Transcriptionally active nuclei are selective in mature multinucleated osteoclasts. *Genes to Cells* 15, 1025-1035, 2010.
- Yokoyama, A., Okuno, Y., Chikanishi, T., Hashiba, W., Sekine, H., Fujiki, R. and Kato, S.: KIAA1718 is a histone demethylase that erases repressive histone methyl marks. *Genes to Cells* 15, 867-873, 2010.
- Matsuyama, R., Takada, I., Yokoyama, A., Fujiyama-Nakamura, S., Tsuji, N., Kitagawa, H., Fujiki, R., Kim, M., Kouzu-Fujita, M., Yano, T. and Kato, S.: Double PHD fingers protein DPF2 recognizes acetylated histones and suppresses the function of estrogen-related receptor alpha through histone deacetylase 1. *J. Biol. Chem.* 285, 18166-18176, 2010.
- Imai, Y., Kondoh, S., Kouzmenko, A. and Kato, S.: Minireview: osteoprotective action of estrogens is mediated by osteoclastic estrogen receptor-alpha. *Mol. Endocrinol.* 24, 877-885, 2010.
- Chikanishi, T., Fujiki, R., Hashiba, W., Sekine, H., Yokoyama, A. and Kato, S.: Glucose-induced expression of MIP-1 genes requires O-GlcNAc transferase in monocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 39, 865-870, 2010.
- Takada, I., Tsuji, N., Youn, M. Y., Fujiyama, S., Okada, M., Imai, Y., Kondo, S., Kitakawa, H., Yasuda, H. and Kato, S.: Purification and identification of estrogen receptor alpha co-regulators in osteoclasts. *Ann. N Y Acad. Sci.* 1192, 201-207, 2010.
- Kato, S.: The new dimension of endocrinology: nuclear/intracellular endocrinology. *Endocr. J.* 57, 99-100, 2010.
- Takada, I., Kouzmenko, A. P., Kato, S.: PPAR-gamma signaling crosstalk in mesenchymal stem cells. *PPAR Research* 2010, Article 341671, 6 pages.
- Youn, M. Y., Fujiyama-Nakamura, S., Takada, I., Imai, Y. and Kato, S.: Identification of osteoclastic factors in the nuclear envelope of mature, multinucleated osteoclasts. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74, 1956-1959, 2010.
- Sawatsubashi, S., Murata, T., Lim, J., Fujiki, R., Ito, S., Suzuki, E., Tanabe, M., Zhao, Y., Kimura, S., Fujiyama, S., Ueda, T., Umetsu, D., Ito, T., Takeyama, K. and Kato, S.: A histone chaperone, DEK, transcriptionally coactivates a nuclear receptor. *Genes Dev.* 24, 159-170, 2010.
- Ochiai, E., Kitagawa, H., Takada, I., Fujiyama, S., Sawatsubashi, S., Kim, M. S., Mezaki, Y., Tsushima, Y., Takagi, K., Azuma, Y., Takeyama, K., Yamaoka, K., Kato, S. and Kamimura, T.: CDP/cut is an osteoblastic coactivator of the vitamin D receptor (VDR). *J. Bone Miner. Res.* 25, 1157-1166, 2010.
- Duteil, D., Chambon, C., Ali, F., Malivindi, R., Zoll, J., Kato, S., Geny, B., Chambon, P. and Metzger, D.: The transcriptional coregulators TIF2 and SRC-1 regulate energy homeostasis by modulating mitochondrial respiration in skeletal muscles. *Cell Metab.* 12, 496-508, 2010.
- Kawamori, Y., Katayama, Y., Asada, N., Minagawa, K., Sato, M., Okamura, A.,