

- Shimoyama, M., Nakagawa, K., Okano, T., Tanimoto, M., Kato, S. and Matsui, T.: Importance of vitamin D receptor for neuronal control of hematopoietic stem cell niche. *Blood* 116, 5528-5535, 2010.
- Sumitomo-Ueda, Y., Aihara, K., Ise, T., Yoshida, S., Ikeda, Y., Uemoto, R., Yagi, S., Iwase, T., Ishikawa, K., Hirata, Y., Akaike, M., Sata, M., Kato, S. and Matsumoto, T.: Heparin cofactor II protects against angiotensin II-induced cardiac remodeling via attenuation of oxidative stress in mice. *Hypertension* 56, 430-436, 2010.
- Chambon, C., Duteil, D., Vignaud, A., Ferry, A., Messaddeq, N., Malivindi, R., Kato, S., Chambon, P. and Metzger, D.: Myocytic androgen receptor controls the strength but not the mass of limb muscles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 14327-14332, 2010.
- Ikeda, Y., Aihara, K., Akaike, M., Sato, T., Ishikawa, K., Ise, T., Yagi, S., Iwase, T., Ueda, Y., Yoshida, S., Azuma, H., Walsh, K., Tamaki, T., Kato, S. and Matsumoto, T.: Androgen receptor counteracts Doxorubicin-induced cardiotoxicity in male mice. *Mol. Endocrinol.* 24, 1338-1348, 2010.
- Jeong, J. H., Jung, Y. K., Kim, H. J., Jin, J. S., Kim, H. N., Kang, S. M., Kim, S. Y., van Wijnen, A. J., Stein, J. L., Lian, J. B., Stein, G. S., Kato, S. and Choi, J. Y.: The gene for aromatase, arate-limiting enzyme for local estrogen biosynthesis, is a downstream target gene of Runx2 in skeletal tissues. *Mol. Cell. Biol.* 30, 2365-2375, 2010.
- Miyauchi, Y., Ninomiya, K., Miyamoto, H., Sakamoto, A., Iwasaki, R., Hoshi, H., Miyamoto, K., Hao, W., Yoshida, S., Morioka, H., Chiba, K., Kato, S., Tokuhisa, T., Saitou, M., Toyama, Y., Suda, T. and Miyamoto, T.: The Blimp1-Bcl6 axis is critical to regulate osteoclast differentiation and bone homeostasis. *J. Exp. Med.* 207, 751-762, 2010.
- Yu, J., Akishita, M., Eto, M., Ogawa, S., Son, B. K., Kato, S., Ouchi, Y. and Okabe, T.: Androgen receptor-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells: role of phosphatidylinositol 3-kinase/akt pathway. *Endocrinology* 151, 1822-1828, 2010.
- Mizoguchi, F., Izu, Y., Hayata, T., Hemmi, H., Nakashima, K., Nakamura, T., Kato, S., Miyasaka, N., Ezura, Y. and Noda, M.: Osteoclast-specific Dicer gene deficiency suppresses osteoclastic bone resorption. *J. Cell. Biochem.* 109, 866-875, 2010.
- Murai-Takeda, A., Shibata, H., Kurihara, I., Kobayashi, S., Yokota, K., Suda, N., Mitsuishi, Y., Jo, R., Kitagawa, H., Kato, S., Saruta, T. and Itoh, H.: NF- $\kappa$ B functions as a corepressor of agonist-bound mineralocorticoid receptor. *J. Biol. Chem.* 285, 8084-8093, 2010.
- Son, B. K., Akishita, M., Iijima, K., Ogawa, S., Maemura, K., Yu, J., Takeyama, K., Kato, S., Eto, M., Ouchi, Y.: Androgen receptor-dependent transactivation of growth arrest-specific gene 6 mediates inhibitory effects of testosterone on vascular calcification. *J. Biol. Chem.* 285, 7537-7544, 2010.
- Nishikawa, K., Nakashima, T., Hayashi M., Fukunaga, T., Kato, S., Kodama, T., Takahashi, S., Calame, K. and Takayanagi, H.: Blimp1-mediated repression of negative regulators is required for osteoclast differentiation.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107,  
3117-3122, 2010.

Koyama, S., Wada-Hiraike, O.,  
Nakagawa, S., Tanikawa, M., Hiraike,  
H., Miyamoto, Y., Sone, K., Oda, K.,  
Fukuhara, H., Nakagawa, K., Kato, S.,  
Yano, T. and Taketani, Y.:  
Repression of estrogen receptor beta  
function by putative tumor suppressor  
DBC1. Biochem. Biophys. Res.  
Commun. 392, 357-362, 2010.

Nagy, Z., Riss, A., Fujiyama, S., Krebs, A.,  
Orpinell, M., Jansen, P., Cohen, A.,  
Stunnenberg, H. G., Kato, S. and  
Tora, L.: The metazoan ATAC and  
SAGA coactivator HAT complexes  
regulate different sets of inducible  
target genes. Cell. Mol. Life Sci. 67,  
611-628, 2010.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

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

図 1

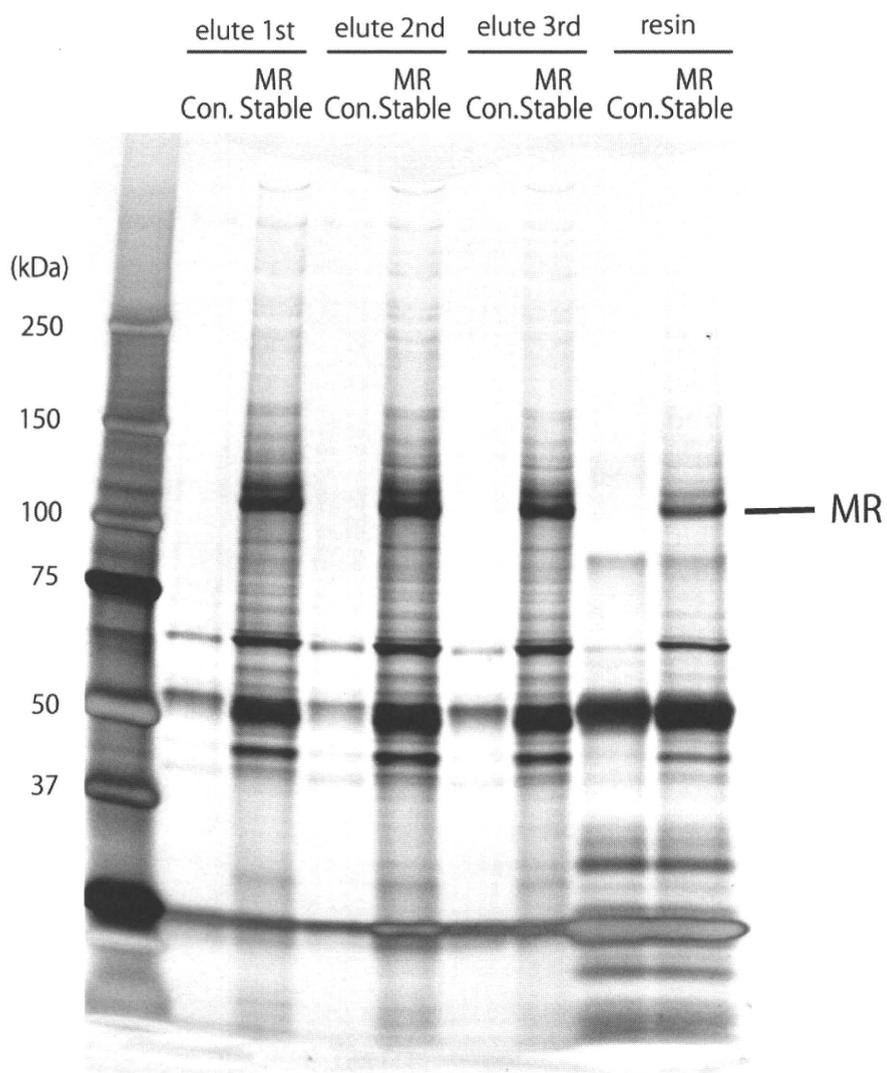


Fig. HEK 293 細胞における MR 相互作用因子群の探索 :FLAG タグ付き MR 安定発現細胞株の核抽出液を取得後、FLAG 抗体で免疫沈降し SDS-PAGE に展開し、銀染色で MR 相互作用因子の存在を確認した。

## グルコルチコイド作用調節機構に関する研究

### 一骨格筋におけるグルコルチコイド標的遺伝子の同定とその機能の解明

研究分担者 田中廣壽 東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 准教授  
研究協力者 吉川賢忠 東京大学医科学研究所附属病院 助教  
研究協力者 清水宣明 東京大学医科学研究所 特別研究員

#### 【研究要旨】

グルコルチコイドによる筋萎縮の病態は不明であり治療法も存在しない。そこで、すでに確立したグルコルチコイドレセプター標的遺伝子同定法を骨格筋に応用し、グルコルチコイドレセプターの標的遺伝子を同定した。Myostatinに加え、新規に REDD1 と KLF15 を標的遺伝子として明らかにした。これらの遺伝子産物により、mTOR 活性抑制、atrogin-1、MuRF1 などのユビキチンリガーゼ遺伝子発現亢進、などによって骨格筋が起こることが示された。すなわち、骨格筋において、グルコルチコイドは、異化の亢進と同化の抑制を、GR 標的遺伝子の発現制御を介して協調的に引き起こすことが明らかになった。

#### A. 研究目的

グルコルチコイド (GC) は広範な組織に対して影響を及ぼす生命維持に必須のステロイドホルモンであり、その分泌・代謝・シグナル伝達の異常は様々な病態と密接に関連する。また、GC は臨床医学の広範な領域において主要な治療薬としての位置を占めているが、その多臓器において多岐にわたる副作用の根本的解決の糸口は見出されていない。

多様な GC 作用の共通のプラットフォームとして機能するグルコルチコイドレセプター (GR) はすべての組織に発現している。したがって、GC-GR 系の多組織にわたる多彩な作用の分子基盤として標的遺伝子の組織特異的な発現制御が想定されている。これまでに GR 量、リガンドの細胞内代謝 (不活性化)、転写共役因子の組織特異的発現、ヒストン-クロマチンレベルにおける遺伝子の修飾、など、多くのメカニズムが組織特異的 GC 応答性の制御に関して提唱されている。しかし、いずれか単独の

みでは複雑なホルモン応答のコントロールには不十分であり、複数の調節系が精緻に GC に対する応答を制御し、細胞の合目的的応答や恒常性維持につながっているものと推測されるが実態は未解明である。そこで、GC 作用を包括的に理解するため、各標的臓器における GR 応答性遺伝子を同定し、それらの役割を明らかにすることをめざすこととし、まず骨格筋をモデルに検討した。

癌や糖尿病、慢性心不全などの消耗性疾患や、加齢や痛みなど何らかの原因により運動を制限された結果として生じる不動化による筋萎縮 (廃用性筋萎縮) の潜在患者数は数百万人～数千万人と想定される。また、グルコルチコイド (GC) を服用している患者は国内で約 100 万人程度、高齢者では約 2.5% と想定され、筋萎縮は高頻度に認められる。しかし、これらの患者における筋萎縮の詳細な実体は不明のままであり、系統だった医学的介入のない医療上のアン

メットニーズであった。その理由として、その要因が多様であることに加え、臨床的汎用性の高い筋量評価法や診断基準がないためその程度や頻度が不明確なこと、治療的介入法が存在しないこと、また、市場性が不明であることなどがあげられる。したがって、筋萎縮の病態を解明しその診断、治療法を開発することは、これらの莫大な潜在患者の QOL を改善し、運動器不安定症の患者数を減少させ、医療のみならず介護や福祉の経済負担を軽減させることによってわが国の社会経済に貢献できる可能性が大である。

ステロイド筋症は、GC 過剰（クッシング症候群、GC 製剤投与）に合併して発生する筋萎縮とそれに伴う臨床徴候と定義される。一般的に（臓器を問わず）GC はその細胞内受容体であるグルココルチコイドレセプターGR を介して作用を発現する。従来、GC のタンパク異化作用が筋萎縮の主体と考えられてきたが、近年、筋萎縮の分子機構として、ユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー系が各々を構成する遺伝子とともに明らかにされた。しかし、GC-GR 系がいかなる機序でこれらの遺伝子発現に関与しているかは不明のままである。ここで、糖尿病や敗血症性筋萎縮などにおいて、その筋萎縮の発生に GC-GR 系が密接に関わっていることも明らかにされ、ステロイド筋症の病態を解明することは、ステロイド筋症のみならず多くの疾患における筋萎縮の病態解明と治療法開発につながると思われる。そこで、本研究は、骨格筋における GC-GR 系の標的遺伝子を明確にし、GC による筋萎縮の分子機構を詳細に解明することを目的とする。

## B. 研究方法

1) GC 筋萎縮モデルはラットにデキサメタゾン DEX 600  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重を腹腔内注射することにより作成した。腓腹筋、ヒラメ筋を採取し、RNA、タンパク、クロマチン免疫沈降法、組織学的解析に用いた。なお、標的遺伝子の同定は既報のごとく行った。

2) GR 応答性遺伝子発現は GRE-luciferase 遺伝子を用いたレポーターアッセイにより、内因性 GC 応答性遺伝子の mRNA 発現はリアルタイム PCR 法によった。

3) GR の標的遺伝子プロモーターとの相互作用はクロマチン免疫沈降法によって解析した。

（倫理面への配慮）

動物実験は所属施設の基準に従った。

## C. 研究結果

1. GC による筋萎縮は 2 型速筋線維に優位に起こる。その理由は不明であるが、GR 発現量は 1 型であるヒラメ筋に比して腓腹筋で有意に多く、GR の関与が示唆された（図 1）。

2. GC-GR 系標的遺伝子の定義は、それらの遺伝子発現が GC-GR 系によって誘導されること、グルココルチコイドに応答するプロモーター上に GRE 配列が存在し、かつ、GR の結合が確認されること、である。ラット骨格筋における GC-GR 系の標的遺伝子を探索した結果、既知の標的遺伝子である MuRF1、myostatin とともに、今回、REDD1、KLF15 を新たに GC-GR 系標的遺伝子として同定した。すなわち、REDD1、KLF15 のプロモーター領域に GRE を同定し、同部位に GR が結合することを確認した（図 2）。

3. REDD1 は mTOR 抑制作用を有することが知られており、実際に DEX 投与後骨格筋における mTOR 活性は低下していた。

4. KLF15 の機能を探索するため、Cre-loxP システムによって KLF15 を発現するアデノウイルスを作成し、ラット腓腹筋に投与して各種遺伝子の mRNA 発現を定量的 RT-PCR 法で検討した。外来性 KLF15 導入により、アミノ酸分解の律速段階を規定する BCAT2 の遺伝子発現は約 2 倍増加し、BCAT2 の酵素活性の増加を伴うことを確認した。KLF15 の発現により、筋萎縮関連遺伝子 atrogenes である atrogen-1、MuRF1 遺伝子の mRNA 発現も増加していた。これらの atrogenes のプ

ロモーター領域に KLF15 が結合することが確認された。KLF15 の転写活性は GR、FoxO と協調的であった。すなわち、GC-GR 系は KLF15 とその下流の標的遺伝子の発現を、とくに atrogenes に関してはドミノ式に誘導し、筋萎縮に向かわせることが伺えた。以上から、GC-GR 系は多くの標的遺伝子発現を介して、mTOR 抑制とプロテアソーム依存性タンパク分解により筋萎縮を招来することが示唆された (図 3)。

5. ラットにおいて、外来性 KLF15 の前頸骨筋筋肉内注射によって筋萎縮がおこった。その機序として、BCAT2 発現増加による分岐鎖アミノ酸 BCAA 分解亢進による mTOR 活性低下と atrogen-1、MuRF1 発現の増加の関与が示された (図 4)。

## D. 考察

グルココルチコイドによる筋萎縮は GC-GR 系を介した多くの遺伝子の協調的な発現増強によって起こるものと考えられる。それらの遺伝子産物は、mTOR 抑制によるタンパク合成の低下と E3 リガーゼ活性上昇によるユビキチンプロテアソーム系の活性化を介して筋萎縮に至るらしい。

## E. 結論

GR 標的遺伝子の同定とその機能解析、そして組織特異的発現制御機構解明によって GC 作用の全貌が明らかになるものと思われる。

## F. 健康危険情報

とくになし。

## G. 研究発表

### 1. 雑誌発表論文

1. Shimizu N, Yoshikawa N, Ito N, Maruyama T, Suzuki Y, Takeda S, Nakae J, Tagata Y, Nishitani S, Takehana K, Sano M, Fukuda K, Suematsu M, Morimoto C, Tanaka H. Crosstalk between Glucocorticoid Receptor and Nutritional Sensor mTOR in Skeletal Muscle. *Cell Metab.* 2011;13(2):170-82

Fukazawa T, Maeda Y, Matsuoka J, Ono T, Mominoki K, Yamatsuji T, Shigemitsu K, Morita I, Murakami I, Tanaka H, Durbin ML, Naomoto Y. Targeting KRAS mutation-bearing lung cancer in vivo by pulmonary surfactant-adenovirus-mediated gene transfer. *Anticancer Res.* 2010;30(12):4925-35.

Ohnuma K, Hosono O, Katayose T, Yoshikawa N, Kawasaki H, Fujii T, Oyaizu N, Tanaka H, Morimoto C. Microscopic polyangiitis initiated with liver dysfunction, calf pain and fever of unknown origin. *Rheumatol Int.* 2010;30(12):1651-6.

### 2. 学会発表

清水宣明, 吉川賢忠, 丸山崇子, 森本幾夫, 田中廣壽. GR による組織特異的遺伝子発現機構に関して. 第 1 回核内受容体研究会, 東京, 2009.

清水宣明, 吉川賢忠, 森本幾夫, 田中廣壽. グルココルチコイド (GC) 応答性遺伝子発現の HEXIM1 による組織特異的制御機構. 第 82 回日本内分泌学会学術総会, 前橋, 2009.

吉川賢忠, 清水宣明, 森本幾夫, 田中廣壽. HEXIM1 はグルココルチコイド受容体 (GR) の hinge (D) 領域に結合して GR の転写活性を抑制する. 第 82 回日本内分泌学会学術総会, 前橋, 2009.

清水宣明, 吉川賢忠, 丸山崇子, 森本幾夫, 田中廣壽. in vivo におけるグルココルチコイド応答性遺伝子の HEXIM1 を介した発現制御. 第 17 回日本ステロイドホルモン学会学術集会, 福岡, 2009.

吉川賢忠, 長崎正朗, 井本清哉, 宮野悟, 徳留さと, 佐野元昭, 福田恵一, 清水宣明, 森本幾夫, 田中廣壽. グルココルチコイド受容体は心筋におけるアミノ酸代謝、プロスタグランジン産生を抑制する. 第 17 回日本ステロイドホルモン学会学術集会, 福岡, 2009.

Shimizu N, Yoshikawa N, Ito N, Tagata Y, Takehana K, Maruyama T, Takeda S, Morimoto C, Tanaka H. Crosstalk between glucocorticoid response and nutritional sensor in skeletal muscle. 14th International Congress of Endocrinology. Kyoto, Japan, 2010.

なし  
3. その他  
なし

Yoshikawa N, Sano M, Tokudome S, Shimizu N, Nagasaki M, Imoto S, Miyano S, Fukuda K, Morimoto C, Tanaka H. The roles of glucocorticoid receptor on cardiac metabolism. 14th International Congress of Endocrinology. Kyoto, Japan, 2010.

清水宣明, 吉川賢忠, 佐野元昭, 福田恵一, 森本幾夫, 田中廣壽. グルココルチコイド誘導性筋萎縮の分子機構の解明 (2). 第18回日本ステロイドホルモン学会学術集会, 名古屋, 2010.

吉川賢忠, 清水宣明, 佐野元昭, 福田恵一, 森本幾夫, 田中廣壽. グルココルチコイド誘導性筋萎縮の分子機構の解明 (1). 第18回日本ステロイドホルモン学会学術集会, 名古屋, 2010.

清水宣明, 吉川賢忠, 丸山崇子, 竹鼻健司, 伊藤尚基, 武田伸一, 佐野元昭, 福田恵一, 森本幾夫, 田中廣壽. グルココルチコイドによる転写因子 KLF15 の骨格筋特異的発現活性化の意義. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010.

丸山崇子, 吉川賢忠, 清水宣明, 佐野元昭, 福田恵一, 森本幾夫, 田中廣壽. 心筋細胞におけるグルココルチコイド受容体の役割の解明. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, 神戸, 2010.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

図1 腓腹筋 (Gas)、ひらめ筋 (Sol)、前頸骨筋 (Tib) におけるグルココルチコイドレセプター (GR) の発現

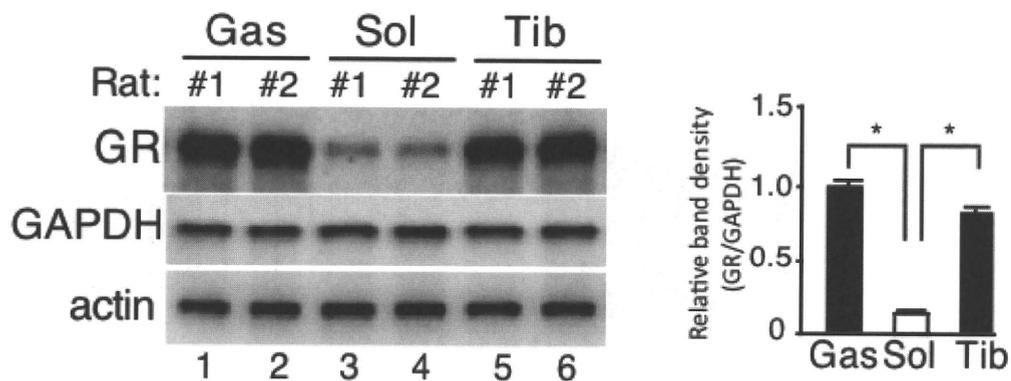


図2 KLF15 遺伝子プロモーターのグルココルチコイド応答性配列 (GRE) 同定

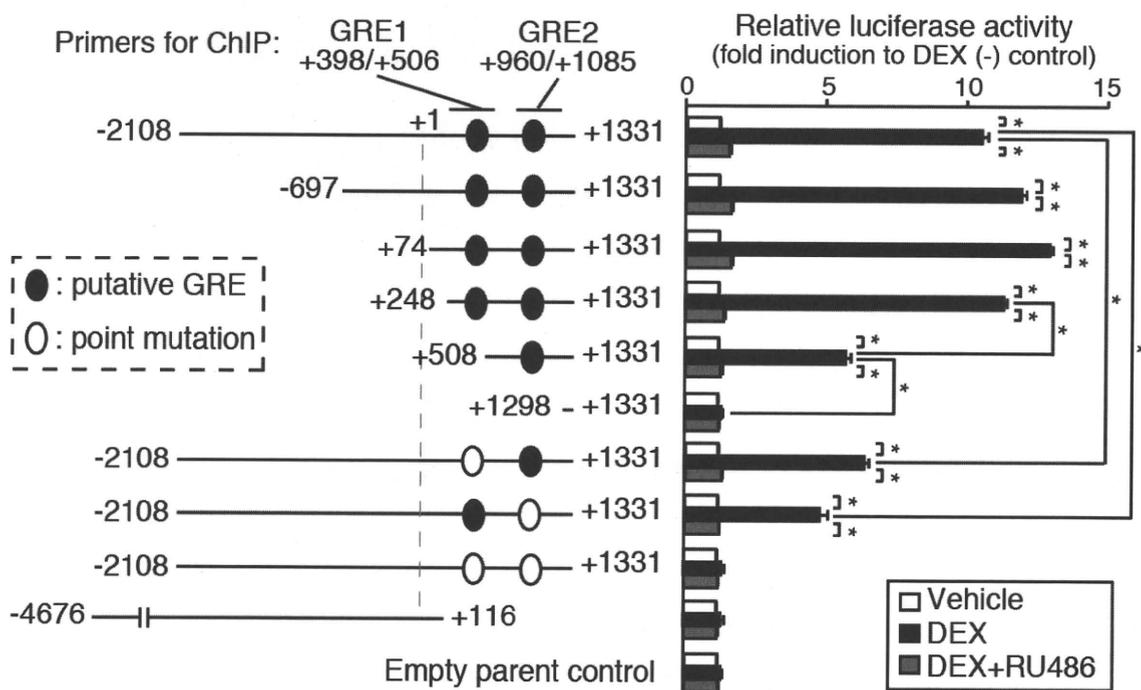
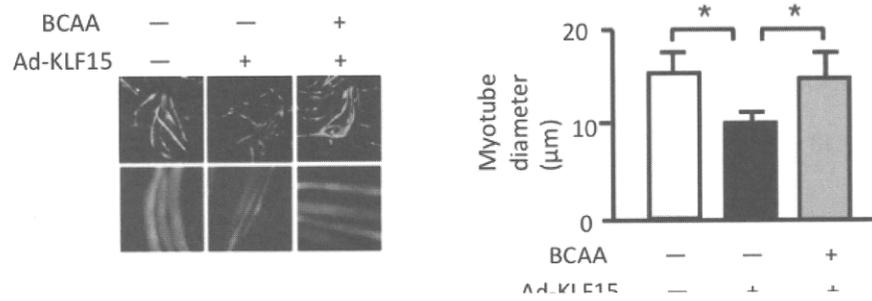


図3 KLF15は骨格筋を萎縮させる-C2C12筋管細胞(上)、ラット(下)を用いた検討

Effects of KLF15 and BCAA on myotube diameter in C2C12



Effects of ectopic KLF15 expression on myofiber cross-sectional area (CSA) in rat tibialis anterior

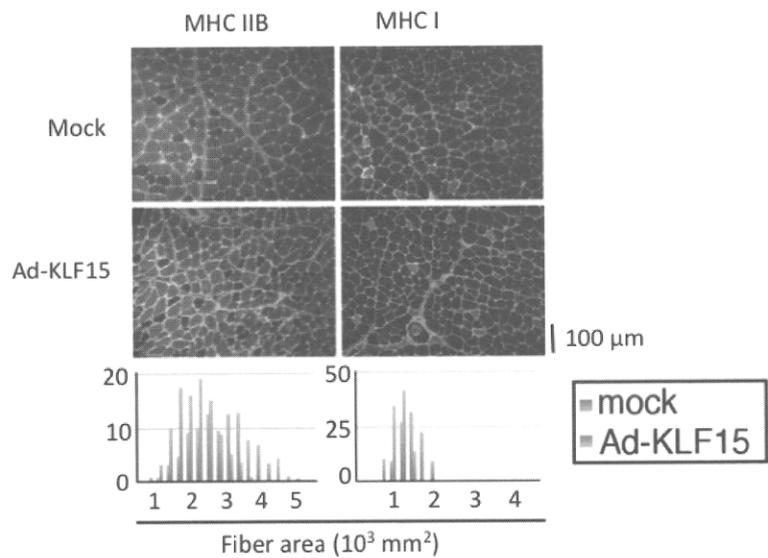
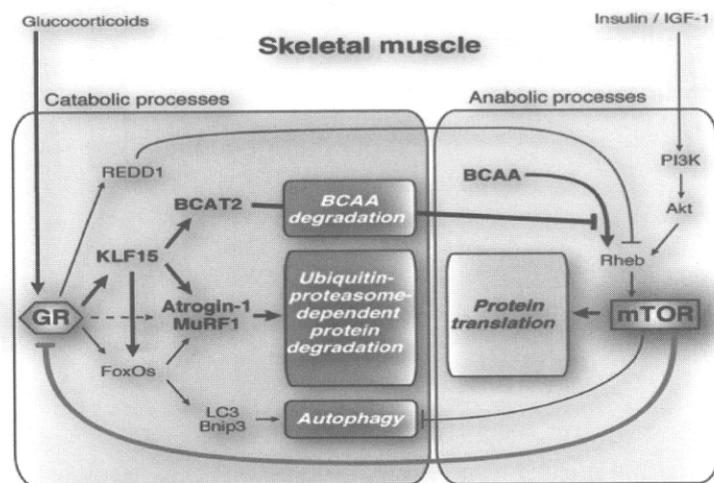


図4 グルココルチコイドによる骨格筋萎縮の分子機構(仮説)



BCAA: branched-chain amino acids

## (6) 副腎癌の診断・治療法の検討

## 副腎偶発腫として発見された褐色細胞腫の解析

上芝 元<sup>1</sup>、一城貴政<sup>1</sup>、齋藤毅寧<sup>2</sup>

1) 東邦大学医学部内科学糖尿病・代謝・内分泌科

2) 東邦大学医学部健康推進センター

### 【研究要旨】

平成 11 年度（1999 年）より 5 年間にわたり、副腎偶発腫についての全国疫学調査を行い、報告を受けた偶発腫 3,678 例のうち褐色細胞腫 314 例（8.5%）の集計結果をもとに、副腎偶発腫として発見された褐色細胞腫の解析を行なった。平均年齢は  $53.8 \pm 14.7$  歳、男女差や病側の左右差はなく、診断時平均腫瘍径は  $4.54 \pm 2.97\text{cm}$  であり、ホルモン非産生腺腫平均腫瘍径  $2.33 \pm 1.26\text{cm}$  より有意に大きかった。発見の契機として頻度が多かったものは、無症状（人間ドックなど）31.2%、腹部症状の精査 16.2%、高血圧の精査 15.3%であり、診断方法としては腹部 CT45.2%と超音波 43.3%が大多数を占めた。診断時の血圧は収縮期  $140.9 \pm 26.9\text{mmHg}$ 、拡張期  $82.1 \pm 16.0\text{mmHg}$ （Mean $\pm$ SD）であったが、血圧正常例が 50.3%と半数を占めた。内分泌学的検討では、褐色細胞腫とホルモン非産生腺腫の比較で、血中アドレナリン、血中ノルアドレナリン、尿中アドレナリン、尿中ノルアドレナリンにおいて、いずれの検査でも褐色細胞腫で有意に高値であった（全て  $p < 0.0001\%$ ）。しかし、初診時の尿中及び血中カテコールアミン検査で正常例が約 25%にみられた。1 年以上の経過観察期間があった褐色細胞腫 26 例中の 46.2%に腫瘍径の増大がみられた。副腎偶発腫として発見された褐色細胞腫においても、尿中及び血中カテコールアミン検査の有用性が再確認され、初診時正常範囲でも、経過観察していく中で、繰り返しの測定が重要と考えられた。

### A. 研究目的

褐色細胞腫は治癒可能な副腎性高血圧症であり、また原発性アルドステロン症やクッシング症候群より悪性の頻度が高く、悪性の場合、確実な治療法がなく予後不良である。今回、平成 11 年度（1999 年）より 5 年間にわたり、副腎偶発腫についての全国疫学調査を行い、報告を受けた偶発腫 3,678 例のうち褐色細胞腫 314 例（8.5%）の集計結果をもとに、副腎偶発腫として発見された褐色細胞腫の解析を行なった。

### 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

（その際、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、副腎偶発腫瘍の継続的な全国調査を開始した。以降 5 年間で 3678 例の報告を受け、その中で褐色細胞腫は 314 例（8.5%）であり（図 1）、それらの集計結果をもとに、副腎偶発腫として発見された褐色細胞腫の解析を行なった。

### C. 研究結果

平均年齢は  $53.8 \pm 14.7$  歳、男女差や病側の左右差はなく、両側性は 10.2%みとめられた。診断時平均腫瘍径は  $4.54 \pm 2.97\text{cm}$

であり、ホルモン非産生腺腫平均腫瘍径  $2.33 \pm 1.26\text{cm}$  より有意に大きかった (表 1)。発見の契機として頻度が多かったものは、無症状 (人間ドックなど) 31.2%、腹部症状の精査 16.2%、高血圧の精査 15.3% であり、診断方法としては腹部 CT 45.2% と超音波 43.3% が大多数を占めた。診断時の血圧は収縮期  $140.9 \pm 26.9\text{mmHg}$ 、拡張期  $82.1 \pm 16.0\text{mmHg}$  (Mean  $\pm$  SD) であったが、血圧正常例が 50.3% と半数を占めた。内分泌学的検討では、褐色細胞腫とホルモン非産生腺腫の比較で、血中アドレナリン、血中ノルアドレナリン、尿中アドレナリン、尿中ノルアドレナリンにおいて、いずれの検査でも褐色細胞腫で有意に高値であった (全て  $p < 0.0001\%$ ) (図 2)。しかし、初診時の尿中及び血中カテコールアミン検査で正常例が約 25% にみられた。1年以上の経過観察期間があった褐色細胞腫 26 例中の 46.2% に腫瘍径の増大がみられた。

#### D. 考 察

副腎偶発腫として発見された褐色細胞腫の解析から、診断時平均腫瘍径は約 4.5cm であり、大きさからは副腎癌との鑑別を十分に行なわなければならないと考えられた。また、血圧正常例が 50.3% と半数を占めたことは、血圧正常でも褐色細胞腫の可能性を常に考えておかなければならないと思われた。従来から言われている尿中及び血中カテコールアミンの繰り返しの測定は、有用であることが再確認された。

#### E. 結 論

副腎偶発腫として発見された褐色細胞腫においても、尿中及び血中カテコールアミン検査の有用性が再確認され、初診時正常範囲でも、経過観察していく中で、繰り返しの測定が重要と考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Ueshiba H, Yoshino G : The ACE inhibitor, imidapril improves insulin resistance and increases adrenal androgens to the same extent as the ARB, telmisartan.

Therapeutic Research 31(3) : 381-387, 2010

2) 上芝 元 (分担) : 経口避妊薬. 内分泌性高血圧診療マニュアル (成瀬光栄、平田結喜緒、楽木宏美 編集) p150-151. 診断と治療社, 東京, 2010

3) 上芝 元, 中野三郎, 芳野 原 : 本態性高血圧症および糖尿病合併高血圧症におけるオルメサルタンへの切り替え投与についての検討. Therapeutic Research 31(4) : 563-567, 2010

4) 上芝 元, 芳野 原 : ARB バルサルタン長期投与におけるインスリン抵抗性改善作用. 新薬と臨床 59(6) : 960-965, 2010

5) 上芝 元 : 肥満高血圧症におけるアゼルニジピンのインスリン抵抗性改善作用と副腎アンドロゲン増加作用. 診療と新薬 47(7) : 647-650, 2010

6) Ishikawa M, Kimura K, Tachibana T, Hashimoto H, Shimojo M, Ueshiba H, Tsuboi K, Shibuya K, Yoshino G : Establishment and characterization of a novel cell line derived from a human small cell lung carcinoma that secretes parathyroid hormone, parathyroid hormone-related protein, and pro-opiomelanocortin. Human Cell 23 : 58-64, 2010

##### 2. 学会発表

1) 上芝 元, 芳野 原 : カルシウム拮抗薬シルニジピン長期投与におけるインスリン抵抗性改善作用. 第 107 回日本内科学会, 東京, 2010. 4

2) 磯 薫, 久保木幸司, 伊賀 涼, 松本知子, 杉野郁美, 宮城匡彦, 正井なつ実, 重光理華, 廣井直樹, 上芝 元, 芳野 原, 村上英一 : 2 型糖尿病患者における酸化ストレスの頸動脈プラークに対する関与. 第 53 回日本糖尿病学会, 岡山, 2010, 5

3) 伊賀 涼, 宮城匡彦, 久保木幸司, 松本知子, 正井なつ実, 吉原 彩, 磯 薫, 廣井直樹, 上芝 元, 村上英一, 芳野 原 : 糖尿病患者におけるエゼチミブの small, dense LDL-コレステロール (sLDL-C) に対する効果の検討. 第 53 回日本糖尿病学会, 岡山, 2010, 5

4)○上芝 元, 中野三郎, 松本知子, 芳野原: メタボリックシンドローム男性における男性ホルモンとインスリン抵抗性の関連について. 第 53 回日本糖尿病学会, 岡山, 2010, 5

5)○松本知子, 中野三郎, 杉野郁美, 宮城匡彦, 磯 薫, 上芝 元, 久保木幸司, 田中学, 村上英一, 西村千秋, 芳野 原: メタボリックシンドローム(MS)症例の動脈硬化進展度のリスク評価 - small, dense (sd) LDL-C とプラークスコア(PS)の観点から - 第 53 回日本糖尿病学会, 岡山, 2010, 5

6)○石川真由美, 久保木幸司, 宮城匡彦, 安藤恭代, 磯 薫, 廣井直樹, 上芝 元, 芳野原: 成長ホルモン分泌不全を合併したグリメピリドによる低血糖の 1 例. 第 571 回日本内科学会関東地方会, 東京, 2010, 5

7)○Yoshiwara A, Watanabe N, Hiroi N, Ueshiba H, Shiraga N, Ishikawa Y, Akasaka Y, Shibuya K, Sasano H, Yoshino G: An unusual case of Cushing's syndrome caused by ectopic adrenocortical carcinoma. 92nd Annual Meeting of The Endocrine Society, San Diego, 2010, 6

8)○上芝 元, 中野三郎, 芳野 原: メタボリックシンドローム男性におけるインスリン抵抗性と遊離テストステロンの関連 (空腹時高血糖例と空腹時血糖正常例の比較). 第 10 回日本抗加齢医学会, 京都, 2010, 6

9)○上芝 元: DHEA と糖代謝. 第 2 回抗加齢内分泌研究会, 福岡, 2010, 9

10)○上芝 元, 中野三郎, 芳野 原: 肥満高血圧症におけるアゼルニジピン長期投与のインスリン抵抗性に対する効果. 第 31 回日本肥満学会, 前橋, 2010, 10

11)○上芝 元, 芳野 原: シルニジピン長期投与におけるインスリン抵抗性改善作用と副腎アンドロゲン増加作用. 第 33 回日本高血圧学会, 福岡, 2010, 10

12)○坪井久美子, 石川真由美, 一城貴政, 中村はな, 湯浅玲奈, 廣井直樹, 上芝 元, 芳野 原: バセドウ病治療後の甲状腺機能低下症. 第 53 回日本甲状腺学会, 長崎, 2010, 11

13)○中村はな, 石川真由美, 湯浅玲奈, 上芝 元, 木山 智, 海瀬信子, 坪井久美子,

芳野 原: 甲状腺周辺の嚢胞性病変～上皮小体嚢胞 4 例の検討. 第 53 回日本甲状腺学会, 長崎, 2010, 11

14)○上芝 元, 中野三郎, 松本知子, 芳野原: 遊離テストステロン低値を示すメタボリックシンドローム男性におけるテストステロン治療とインスリン抵抗性の関連について. 第 10 回日本 Men's Health 医学会, 東京, 2010, 11

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 特になし

図 1

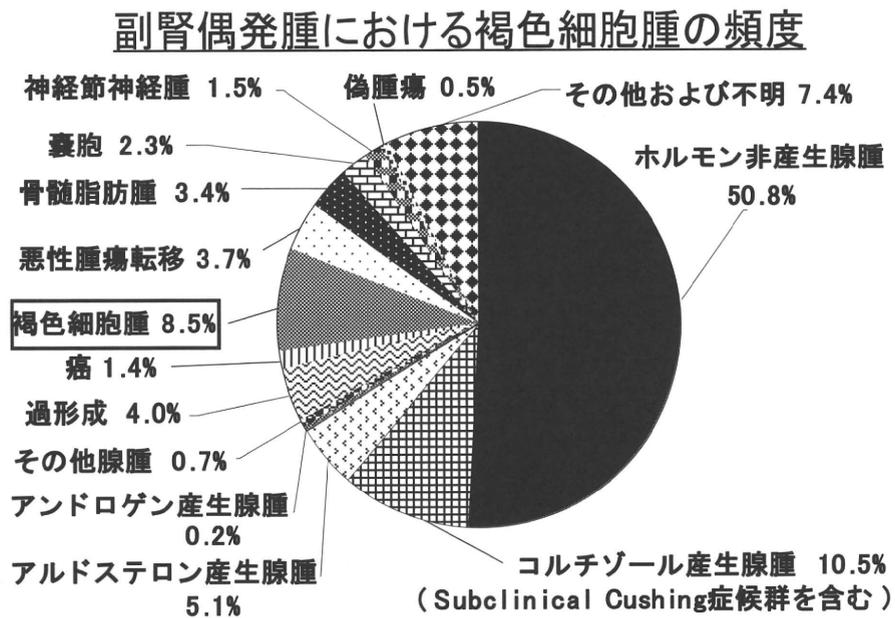
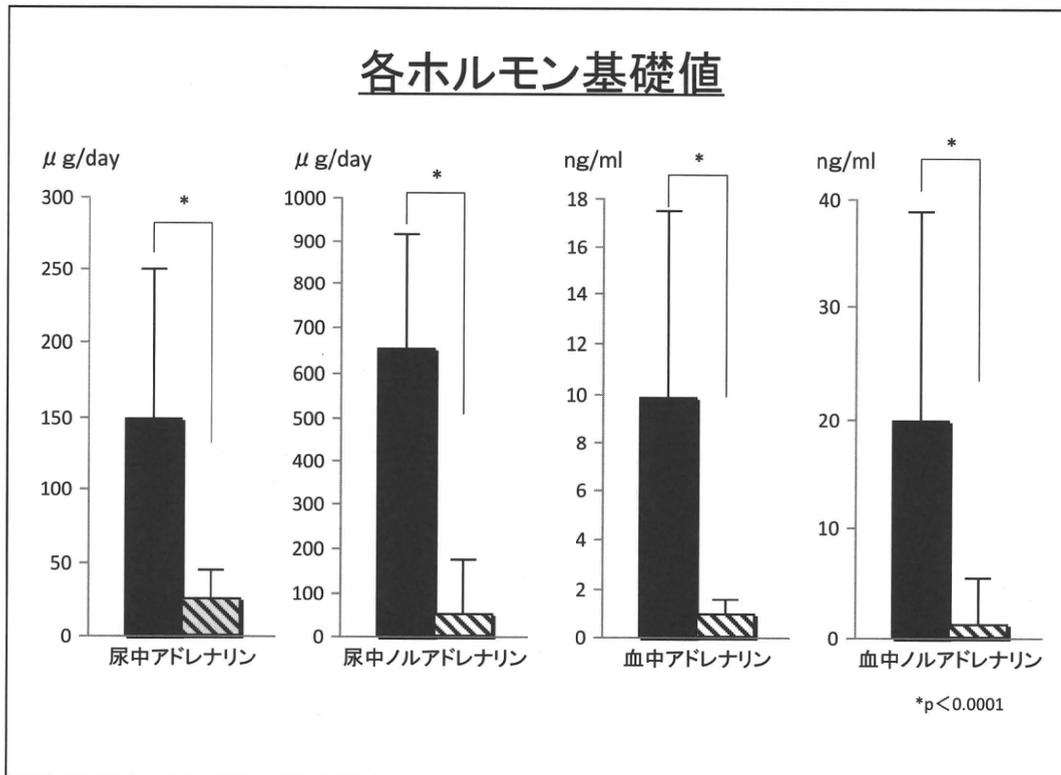


表 1

## 患者背景

	褐色細胞腫	その他
症例数(例)	314 (8.5%)	3,364
平均年齢(歳)全平均	53.8±14.7 * (p<0.05)	58.5±13.1
男性	54.6±10.9 * (p<0.05)	58.5±12.6
女性	53.0±12.9 * (p<0.05)	58.5±13.7
性別(例) 男性	162 (51.6%)	1,759 (52.3%)
女性	152 (48.4%)	1,605 (47.7%)
腫瘍側(例) 右	133 (42.4%)	1,197 (35.6%)
左	149 (47.4%)	1,234 (36.7%)
両側	32 (10.2%)	847 (25.2%)
診断手技(例)超音波	136 (43.3%)	855 (25.4%)
CT	142 (45.2%)	2,227 (66.2%)
MRI	36 (11.5%)	108 (3.2%)
平均腫瘍径 (cm)	4.54±2.97 * (p<0.05)	3.02±2.25

図 2



## 副腎性サブクリニカルクッシング症候群診断基準の再評価

### ・デキサメタゾン抑制試験 0.5mg と 1.0mg 負荷の比較検討・

柳瀬敏彦<sup>1</sup>、明比祐子<sup>1</sup>、高柳涼一<sup>2</sup>

1) 福岡大学医学部 内分泌・糖尿病内科学

2) 九州大学医学部医学研究院 病態制御内科学

#### 【研究要旨】

昨年より自験症例群の解析から、副腎性サブクリニカルクッシング症候群（SCS）の新しい診断基準案の作成を試み、最終的に Dex 1 mg 負荷後の血中コルチゾール値 1.8  $\mu\text{g/dL}$  以上をスクリーニングとして①早朝 ACTH 基礎値 < 10.0 pg/mL ②夜間コルチゾール値 > 5.0  $\mu\text{g/dL}$  ③ACTH 分泌刺激試験（CRH 負荷）の低反応のうち、②を必須項目とし、①または③を満たすものを SCS と診断することとした。今回は昨年より症例数を増やし再検討したが、矛盾症例はなく、同基準案の変更はなかった。また 0.5 mg と 1 mg DST の両者を施行した症例で、血中コルチゾール値を比較した結果、1 mg DST のコルチゾール値 1.8 $\mu\text{g/dL}$  は 0.5 mg DST の 2.8 $\mu\text{g/dL}$  に相当することが明らかになった。下垂体性 SCS の 0.5 mg DST カットオフ値 3.0  $\mu\text{g/dL}$  に近似していることから、DST のスクリーニングを統一できる可能性が示唆された。

#### A. 研究目的

本邦における副腎性サブクリニカルクッシング症候群（SCS）の診断は 1995 年に制定された厚生省特定疾患調査研究班による基準が用いられている(1)。同基準では、①副腎腺腫の存在 ②クッシング症候群に特徴的な身体所見の欠如 ③早朝血中コルチゾール値が正常範囲 ④デキサメタゾン（Dex）1 mg 負荷後の血中コルチゾール値 3  $\mu\text{g/dL}$  以上が必須項目であり、加えて術前の場合 ⑤ ACTH 基礎値が 10 pg/mL 未満 ⑥副腎シンチグラフィでの患側の取り込みと健側の抑制 ⑦日内リズムの消失 ⑧血中 DHEA-S の低値の⑤～⑧までの 4 項目中 1 つ以上を満たすことが条件となっている。そこで昨年、私たちは、福大と九大の副腎腫瘍(CS, PA、褐色細胞腫確診例は除外) 103 例を対象に、SCS の診断基準案の作成を試みた。1 mg デキサメ

タゾン抑制試験(DST)におけるコルチゾールのカットオフ値を欧米で提唱されている 1.8  $\mu\text{g/dL}$  (2) に引き下げ、さらに現在用いられている基準項目の中で、1) ACTH 基礎値 10 pg/mL 未満 2) 日内リズムの消失（夜間のコルチゾール値 5.0  $\mu\text{g/dL}$  以上） 3) ACTH 分泌刺激試験（CRH 負荷）の低反応の 3 項目を鑑別に有用と判断し、2) を必須項目として、1) または 3) を満たせば SCS とする診断基準案を作成した。今回は症例数を 116 例に増やし、診断基準を再検討した。さらに下垂体性 SCS の診断基準では 0.5 mg DST カットオフ値 3.0  $\mu\text{g/dL}$  が用いられており、0.5 mg と 1 mg DST の両者のコルチゾール値の相関性を検討することにより、整合性を検討した。

#### B. 研究方法

## 1) 対象

2003年4月より2010年10月までの間、九州大学病院病態制御内科（九大）または福岡大学病院内分泌・糖尿病内科（福大）に入院した副腎腫瘍の患者を対象とした。そのうち、原発性アルドステロン症、クッシング症候群および褐色細胞腫と診断した患者は除外した。従来のSCSの診断基準に合致した症例は、九大16例、福大5例、非機能性副腎腺腫と診断した症例は九大63例、福大32例であり、総計116例を今回の対象とした。両大学を合わせた116例中、21例（18.1%）がSCSと従来診断された症例である。

## 2) 方法

コルチゾールの測定は九大、福大ともにEIA（エクルーシス、ロシユ）である。解析方法として、まずDex 1 mg 負荷後の血中コルチゾール値と各基準項目との関係を検討した。負荷後血中コルチゾール値をほぼ1.0刻みに（米国のガイドラインのカットオフ値1.8を考慮し、一部変則的）①0~0.9 ②1.0~1.7 ③1.8~2.9 ④3.0~3.9 ⑤4.0~4.9 ⑥5.0~の6層に分け、以下の5項目を満たす患者の割合をそれぞれの層別に算出した。項目は(1) 血中DHEA-Sが低値 (2) 尿中遊離コルチゾール値70  $\mu\text{g}/\text{日}$ 以上 (3) 早朝ACTH基礎値10.0  $\text{pg}/\text{mL}$ 未満 (4) 21~23時の血中コルチゾール値5.0  $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以上 (5) 上記(3)(4)をともに満たすこととした。

次に、上記の各診断項目がどの程度病態を反映しているのか評価するため、高コルチゾール血症により起こりうる高血圧症、耐糖能異常、高コレステロール血症の3つの罹患率を各々検討した。診断基準は以下によった。高血圧症はI度以上（収縮期血圧140  $\text{mmHg}$ 以上または拡張期血圧90  $\text{mmHg}$ 以上）を示すか、すでに降圧薬内服中、耐糖能異常は75  $\text{g}\cdot\text{OGTT}$ にて境界型または糖尿病型と診断されたか、空腹時血糖110  $\text{mg}/\text{dL}$ 以上または随時血糖200  $\text{mg}/\text{dL}$ 以上、あるいはすでに糖尿病と診断され加療中、高コレステロール血

症はFriedewaldの計算式により算出したLDL-C値140  $\text{mg}/\text{dL}$ 以上または内服加療中を疾患有りと判断した。

また、さらに上記対象症例のうち、0.5  $\text{mg}$ と1  $\text{mg}$  DSTの2つをともに施行した29例を抽出し、両者のF値の相関関係を単回帰分析で検討した。

## C. 研究結果

1) Dex 1 mg 負荷後の血中コルチゾール値と5つの基準項目との関係

Dex 1 mg 負荷後血中コルチゾール値をほぼ1.0刻みに層別化し、それぞれの層で各基準の陽性者数を求め、さらにカットオフ値を1.8  $\mu\text{g}/\text{dL}$ または3.0  $\mu\text{g}/\text{dL}$ とした場合の陽性率を算出した(表1)。

(1) 血中DHEA-S値：

血中DHEA-S値は性別、年齢別の基準値と比較し基準範囲以下であれば陽性としたが、コルチゾール値と陽性率との間に相関はなく、Dex 1 mg 負荷後の血中コルチゾール値1.8  $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以上の24%が陽性、3.0  $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以上の26.7%が陽性と、カットオフ値による差異はほとんどなかった。

(2) 尿中遊離コルチゾール値：

尿中遊離コルチゾール値は従来の診断基準項目に入っていないが、70  $\mu\text{g}/\text{日}$ 以上を陽性とする、層別にみた陽性例数に明らかな偏りはなく、1.8  $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以上の48.3%、3.0  $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以上の50.0%が陽性であった。

(3) 早朝ACTH値

早朝ACTH 10.0  $\text{pg}/\text{mL}$ 未満を満たす症例は、コルチゾール値1.0  $\mu\text{g}/\text{dL}$ 未満の層にはみられず、比較的特異度が高いことが示唆された。また②1.0~1.7 ③1.8~2.9の層の陽性例のうち、それぞれの層の1例は早朝ACTH値は低いもののCRH負荷に対する反応性は保持されていた。早朝ACTH値10.0  $\text{pg}/\text{mL}$ 未満の陽性例は1.8  $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以上は60.0%、3.0  $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以上は70.0%であった。

(4) 21~23時の血中コルチゾール値

5.0  $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以上の基準は、Dex 負荷後コル

チゾール値  $5.0 \mu\text{g/dL}$  以上の層では 100%陽性であり、 $1.8 \mu\text{g/dL}$  以上では 67.6%、 $3.0 \mu\text{g/dL}$  以上では 87.0%と前述の3つの基準に比し、もっとも高い陽性率を示した。

#### (5) 陽性所見の組み合わせ

早朝 ACTH 値  $10.0 \text{ pg/mL}$  未滿かつ 21~23 時の血中コルチゾール値  $5.0 \mu\text{g/dL}$  以上の基準を満たす症例は、Dex 1 mg 負荷後コルチゾール値  $1.7 \mu\text{g/dL}$  以下の層では認めず、Dex 1 mg 負荷の結果との整合性が示唆された。 $1.8 \mu\text{g/dL}$  以上の層の 32 例中、17 例 (53.1%) が両基準を満たした。

(1) ~ (5) については昨年 103 例で検討した結果と、ほぼ同様の結果が得られた。

#### 2) 各診断基準項目を満たす症例における高血圧症、耐糖能異常、高コレステロール血症の罹患率の比較

Dex 1 mg 負荷後コルチゾール値  $1.7 \mu\text{g/dL}$  以下を呈した 79 例をコントロール群として、各診断基準の陽性例における高血圧症、耐糖能異常および高コレステロール血症のそれぞれの罹患率を比較検討した。尚、年齢、Body mass index はコントロール群と有意差は認めなかった。Dex 1 mg 負荷後のコルチゾール値  $1.8 \mu\text{g/dL}$  以上を満たす群 (37 例) は、コントロール群と比較し、各疾患の罹患率に有意差を認めなかったが、その基準を満たした上でさらに早朝 ACTH 値  $10.0 \text{ pg/mL}$  未滿 (20 例)、または早朝 ACTH 値  $10.0 \text{ pg/mL}$  未滿かつ 21~23 時の血中コルチゾール値  $5.0 \mu\text{g/dL}$  以上を満たす群 (17 例) では、耐糖能異常の罹患率がそれぞれ 70.0%、70.6%であり、コントロール群の 41.8% に比し有意に高値を示した。一方、高血圧症、高コレステロール血症についてはコントロール群と各診断基準陽性群いずれの間にも、有意差を認めなかった (表 2)。

#### 3) 新診断基準案の見直し

前述の結果より、Dex 1 mg 負荷後コルチゾ

ール値  $1.8 \mu\text{g/dL}$  以上をスクリーニングとして、さらに早朝 ACTH 値  $10.0 \text{ pg/mL}$  未滿かつ 21~23 時の血中コルチゾール値  $5.0 \mu\text{g/dL}$  以上を満たすことを新診断基準として作成した。また昨年、早朝 ACTH 値  $10.0 \text{ pg/mL}$  以上でありながら CRH 負荷での ACTH の反応性低下を認めた 1 例を提示し、早朝の ACTH 値のみで ACTH の抑制性を判断するのは不十分な場合もあると考え、診断基準に CRH 負荷の項目を追加した。今回症例を増やし再検討したが、診断基準に矛盾する症例がなかったため、同基準案を踏襲した (図 1)。

#### 4) $0.5 \text{ mg}$ と $1 \text{ mg}$ DST の F 値の比較

$0.5 \text{ mg}$  と  $1 \text{ mg}$  DST の両者を施行した 29 名を対象に、それぞれの負荷後コルチゾール値について、単回帰分析をした結果、両者の間に有意な正の相関関係 ( $r=0.783$ ,  $p=0.0062$ ) を認めた (図 2)。回帰直線より Dex 1 mg 負荷後コルチゾール値  $1.8 \mu\text{g/dL}$  と  $3.0 \mu\text{g/dL}$  は  $0.5 \text{ mg}$  DST の  $2.8 \mu\text{g/dL}$  と  $4.0 \mu\text{g/dL}$  にそれぞれ相当した。上記の新診断基準案に基づくと、SCS と診断されたのは  $0.5 \text{ mg}$  DST  $3.0 \mu\text{g/dL}$  以上では 12 例中 4 例 (33.3%)、 $1 \text{ mg}$  DST  $1.8 \mu\text{g/dL}$  以上では 10 例中 5 例 (50%) であり、4 例は両者の DST いずれをスクリーニングとしても陽性であった。

## D. 考 察

私たちは昨年より、自験例の解析結果をもとに副腎性 SCS の新診断基準案の作成を試みてきた。昨年作成した基準案は、Dex 1 mg 負荷後コルチゾールのカットオフ値を米国内分泌学会のガイドライン基準の  $1.8 \mu\text{g/dL}$  に設定し、①ACTH 基礎値  $10 \text{ pg/mL}$  未滿 ②日内リズムの消失 (夜間のコルチゾール値  $5.0 \mu\text{g/dL}$  以上) ③ACTH 分泌刺激試験 (CRH 負荷) の低反応の 3 項目のうち、②を必須項目として、①または③を満たせば SCS とした。今回の再検討でも DEX 1.0 mg

負荷後コルチゾール値 1.8 $\mu$ g/dL 未満の症例において、早朝 ACTH 値 10.0 pg/mL 未満と夜間コルチゾール値 5  $\mu$ g/dL 以上の2つの診断基準を満たす症例はなく、Dex 1 mg のカットオフ値と診断基準項目との間に整合性を認め、昨年と同じ基準案を提示した。さらに高コルチゾール血症により起こりうる病態、すなわち高血圧症、耐糖能異常、高コレステロール血症の罹患率に採用した基準がどのように影響しているかを検討した結果、本診断基準を満たす症例群では、昨年同様、耐糖能異常が高率に認められ、副腎性 SCS が耐糖能障害の一成因を形成している可能性が示唆された。

現在スクリーニングとして用いられている DST は、下垂体性 SCS では副腎性と異なる 0.5 mg が採用されており、下垂体性と副腎性 SCS の DST の基準の統一が図れるかは、今後のひとつの課題である。今回は 0.5 mg DST と 1.0 mg DST の両者を施行した 29 名を対象に、両者の負荷後コルチゾール値の関係を検討した。その結果、1 mg DST 1.8  $\mu$ g/dL は 0.5 mg DST の 2.8  $\mu$ g/dL に相当し、下垂体性 SCS のカットオフ値 3.0  $\mu$ g/dL の近似値であることから、DST のスクリーニングを統一できる可能性が示唆された。ただ今回の検討は症例数が少なく、あくまでも副腎腫瘍からみた検討であるため、症例数を増やしての再検討、さらに下垂体症例における同様の検討が必要と思われる。

## E. 結論

自験症例の解析結果に基づいて、副腎性 SCS の新診断基準案の作成を試みた。Dex 1 mg 負荷後コルチゾール値 1.8 $\mu$ g/dL 以上をスクリーニング基準として、さらに① 早朝 ACTH 基礎値 < 10.0 pg/mL、② 夜間コルチゾール値 > 5.0  $\mu$ g/dL ③ CRH 負荷で ACTH の反応低下のうち、②を必須とし、①または②を満たすものを SCS と診断することとした。また今回、スクリーニングとして用いられている 1 mg DST 1.8  $\mu$ g/dL は

0.5 mg DST の 2.8  $\mu$ g/dL に相当するという結果が得られ、下垂体性 SCS とスクリーニングを統一できる可能性が示唆された。

## F. 参考文献

1. 名和田 新：厚生省特定疾患「副腎ホルモン産生異常症」調査研究班 平成7年度研究報告書 1996.pp234-235
2. Nieman LK, Biller BM, Findling JW, et al. : The diagnosis of Cushing's syndrome : an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab, 93: 1526-1540, 2008

## G. 研究発表

### ①論文発表

Yoh J, Nishi Y, Hosoda H, Tajiri Y, Yamada K, Yanase T, Doi R, Yonemoto K, Kangawa K, Kojima M, Tanaka E, Kusukawa J Plasma levels of n-decanoyl ghrelin, another acyl- and active-form of ghrelin, in human subjects and the effect of glucose or meal-ingestion on its dynamics. Regul Pept in press

Kwintkiewicz J, Nishi Y, Yanase T, Giudice LC. Peroxisome Proliferator Activated Receptor-gamma Mediates Bisphenol A Inhibition of FSH-Stimulated IGF-1, Aromatase, and Estradiol in Human Granulosa Cells. Environ Health Perspect. 18(3):400-406, 2010

Nagaishi R, Akehi Y, Ashida K, Higuchi-Tubouchi K, Yokoyama H, Nojiri T, Aoki M, Anzai K, Nabeshima K, Tanaka M, Ono J, Yanase T.

Acute inflammatory syndrome and intrahepatic cholestasis caused by an interleukin-6-producing pheochromocytoma with pregnancy.

Fukuoka Acta Med. 101(1):10-18, 2010

Qiu Y, Yanase T, Hu H, Tanaka T, Nishi Y, Liu M, Sueishi K, Sawamura T, Nawata H. Dihydrotestosterone suppresses foam cell formation and attenuates atherosclerosis development.

Endocrinology 151:3307-16, 2010

Miyazawa M, Yasuda M, Fujita M, Hirabayashi K, Hirasawa T, Kajiwara H, Muramatsu T, Miyazaki S, Harasawa M, Matsui N, Ogane N, Murakami M, Mikami M, Yanase T, Osamura RY.

Granulosa cell tumor with activated mTOR-HIF-1 $\alpha$ -VEGF pathway.

J Obstet Gynaecol Res 36(2):448-53, 2010

Zhang Y, Huang Q, Cheng JC, Nishi Y, Yanase T, Huang HF, Leung PC.

Homeobox A7 increases cell proliferation by up-regulation of epidermal growth factor receptor expression in human granulosa cells.

Reprod Biol Endocrinol 14: 8:61, 2010

Bao B, Jiang J, Yanase T, Nishi Y, Morgan JR.

Connexon-mediated cell adhesion drives microtissue self-assembly.

FASEB J. (in press)

Akehi Y, Mitsuyoshi Y, Tatsumoto A, Yoshida R, Ohkubo K, Kudo T, Ashida K, Anzai K, Yamashita T, Kawashima H, Ono J, Yanase T.

Serum gamma-glutamyltransferase, triglyceride and total cholesterol are possible prediabetic risk markers in young Japanese men.

Endocrine J 57 : 981-989, 2010

Nawata H, Watanabe T, Yanase T, Nomura M, Ashida K, Min L, Fan W.

Sex hormone and neuroendocrine aspects of the metabolic syndrome.

Prog Brain Res 182:175-87, 2010

柳瀬敏彦、蘆田健二、明比祐子

特集「高血圧治療 Up-Date

「二次性高血圧：内分泌高血圧としての原発性アルドステロン症」

Angiology Frontier 9: 18-22, 2010

柳瀬敏彦

副腎性器症候群

今日の治療指針 2010 pp631, 2010

柳瀬敏彦、蘆田健二、明比祐子

III. 内分泌 B. 臨床分野での進歩

「4. アンチエイジングとホルモン」

Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2010 pp242-245, 2010

坂井義之、柳瀬敏彦

特集：すべての医師のための骨粗鬆症診療ガイド 2010 「ステロイド性骨粗鬆症」

総合臨床 59:552-557, 2010

柳瀬敏彦、村瀬邦崇

特集・アンチエイジング医学の進歩

アンチエイジングとしてのホルモン補充療法：GH, DHEA, テストステロン

臨床と研究 87:515-520, 2010

高柳涼一、明比祐子、柳瀬敏彦

Subclinical Cushing 症候群の診断基準と臨床的意義

医学のあゆみ 232: 887-891, 2010

明比祐子、蘆田健二、柳瀬敏彦

特集：内分泌疾患における Evidence に基づいた治療とは？

原発性副腎不全におけるミネラルコルチコイ