

201024009B

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20～22年度 総合研究報告書

主任研究者 藤 枝 憲 二 (平成20～21年度)
梶 野 浩 樹 (平成22年度)

平成23年 4 月

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20～22年度 総合研究報告書

主任研究者 藤 枝 憲 二 (平成20～21年度)
梶 野 浩 樹 (平成22年度)

平成23年4月

目次

I. 総合研究報告	1
主任研究者 旭川医科大学小児科	
藤枝憲二、梶野浩樹	
II. 分担研究報告書	
(1)先天性副腎酵素異常症の生化学・遺伝子診断システムの構築と病態の解明	
1. 機器分析を用いた尿中および血中ステロイド分析による正期産および早産児の新生児・乳児期におけるステロイド分泌動態の解析と基準範囲設定	13
慶應義塾大学医学部小児科	
長谷川奉延	
2. 非古典的 StAR 欠損症の分子遺伝学的、臨床的解析	22
国立成育医療センター研究所小児思春期発育研究部成長障害研究室	
勝又規行	
3. 先天性副腎疾患の病態解明とその治療	27
北海道大学大学院医学研究科小児科学分野	
田島敏広	
(2)副腎の発生・分化機構の解明	
4. 副腎皮質の発生初期過程に関する研究	29
九州大学大学院医学研究院分子生命科学系	
諸橋憲一郎	
5. ヒト副腎網状層の発育についての形態学的および免疫組織学的検討	33
東北大学大学院医学系研究科病理病態学	
赤平 純一、 笹野 公伸	
6. 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	36
東北大学大学院医学系研究科病理病態学	
中村 保宏、 笹野 公伸	

7. 原発性アルドステロン症での過形成副腎球状層における HSD3B2 の転写調節因子発現の検討	39
東北大学大学院医学系研究科病理病態学 中村 保宏、 笹野 公伸	
(3)副腎再生による新しい副腎不全治療法の開発	
8. 副腎皮質の再生機構の分子基盤の解明	43
福井大学医学部分子生体情報学 宮本 薫	
(4)原発性アルドステロン症 (PA) の診断基準の策定と治療法の検討	
9. 原発性アルドステロン症の診断治療ガイドライン-2009-	48
日本内分泌学会 原発性アルドステロン症検討委員会 西川哲男、大村昌夫、佐藤文俊、柴田洋孝、高橋克敏、田辺晶代、田村尚久、齋藤淳	
10. 超選択的 ACTH 負荷副腎静脈採血診断に基づく 機能性副腎皮質腺腫の片側副腎部分切除による治療	54
横浜労災病院内分泌代謝科 西川哲男	
11. 原発性アルドステロン症の頻度、診断基準、および肥満の 原発性アルドステロン症関連検査値に与える影響の検討	62
京都大学大学院医学研究科内分泌代謝内科 田村尚久	
12. 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時の コルチゾール迅速測定の有用性	68
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	
13. 原発性アルドステロン症の診断および治療に関する検討	71
慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科 柴田洋孝	
14. 「アルドステロン産生腺腫におけるセロトニン受容体 (5-HT ₄ R) およびトロンボスポンジン発現」に関する研究	78
福井大学医学部病態制御医学講座内科学(3) 宮森 勇	

(5)ステロイド作用に関わる受容体とその異常の解析

15. MR 新規共役因子の探索 81

東京大学分子細胞生物学研究所

加藤茂明

16. グルココルチコイド作用調節機構に関する研究

- 組織特異的グルココルチコイド応答性遺伝子発現とその生物学的意義 90

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

(6)副腎癌の診断・治療法の検討

17. 副腎偶発腫瘍の良悪性の鑑別診断における 18F-FDG/PET-CT の有用性と

- 18-oxocortisol 濃度測定を用いた原発アルドステロン症における局在診断 96

東北大学病院腎高血圧内分泌科

佐藤文俊

18. 副腎偶発腫として発見された

- 副腎癌、コルチゾール産生腺腫、褐色細胞腫の解析 98

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

東邦大学医学部健康推進センター

齋藤毅寧

19. 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 104

福岡大学医学部 内分泌・糖尿病内科学

柳瀬敏彦

(7)副腎ホルモン産生異常症の全国疫学調査

20. 副腎ホルモン産生異常症の全国疫学調査 111

旭川医科大学小児科

藤枝憲二、梶野浩樹、棚橋祐典、鈴木滋

旭川医科大学健康科学講座

西條泰明

旭川厚生病院小児科

向井徳男

21. 原発性アルドステロン症の全国における実態調査	125
横浜労災病院内分泌・代謝内科	
京都大学大学院医学研究科内分泌代謝内科	
東北大学病院腎高血圧内分泌科	
慶応義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科	
金沢大学大学院医学系研究科臓器機能制御学	
福井大学医学部病態制御医学講座内科学	
	西川哲男 田村 尚久 佐藤文俊 柴田洋考 武田仁勇 宮森 勇
22. アジソン病、副腎性サブクリニカルクッシング症候群の全国における実態調査	139
福岡大学医学部 内分泌・糖尿病内科学	
旭川医科大学小児科	
旭川厚生病院小児科	
	柳瀬敏彦 藤枝憲二、梶野浩樹、棚橋祐典、鈴木滋 向井徳男
23. 副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班による褐色細胞腫の疫学調査	147
国立病院機構 京都医療センター 内分泌代謝高血圧研究部	
	成瀬 光荣
24. 先天性副腎酵素異常症、先天性副腎低形成症の全国における実態調査	149
旭川医科大学小児科	
旭川厚生病院小児科	
	藤枝憲二、梶野浩樹、棚橋祐典、鈴木滋 向井徳男
Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	156
Ⅳ. 研究班構成員名簿	191

追 悼



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」班

研究代表者 旭川医科大学小児科

藤枝 憲二 教授

平成 22 年 3 月 19 日午前 1 時 26 分に永眠されました。

本研究班に対し多大なご尽力をいただいた御功績に感謝し、

故人のご冥福を心よりお祈り申し上げます。

研究班構成員一同

I. 総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合研究報告書

副腎ホルモン産生異常に関する調査研究

研究代表者 藤枝憲二（平成 20 年～21 年度）
旭川医科大学小児科 教授

梶野浩樹（平成 22 年度）
旭川医科大学小児科 准教授

研究要旨

副腎の発生・分化、ステロイドホルモン産生、ステロイドホルモン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目標として研究を行い、以下の主な成果をあげた。

(1) 先天性副腎酵素異常症の生化学・遺伝子診断システムの構築と病態の解明

新生児尿中ステロイド代謝物の在胎週数別基準範囲を設定した。これにより、副腎皮質束状層・胎生皮質の成長・成熟は、子宮内発育遅延の影響を受け低下することが示唆された。早産児の胎生皮質ステロイド分泌ピークは、在胎 34 週以下の群において修正 35-40 週の間が存在し、ピークの高さは在胎週数が少ないほど高かったことから、修正週数依存性の胎生皮質退縮の前に、在胎週数依存性の胎生皮質分泌増加が存在すると考えられた。また、T・DHT 基準範囲を設定した。このデータは、外性器異常を有する性分化疾患の診療に極めて有用である。

非古典型先天性副腎リポイド過形成症の *STAR* 遺伝子および臨床像解析により、新規の *STAR* 変異を同定した。新規変異 *StAR* の活性は低下するが、残存活性を有しており、病因と考えられた。臨床所見のみでは ACTH 不応症、副腎低形成症との鑑別が困難な症例があり、その確定診断には遺伝子解析が必須であった。

ヒト ACD 遺伝子が副腎低形成を起こす可能性は低いと考えられ、先天性副腎疾患の成因についてさらなる検討が必要であることが示唆された。

21 水酸化酵素欠損症の思春期発来および成人身長を明らかとし、小児期のステロイドの適切な補充量については検討の余地があることを明らかとした。

(2) 副腎の発生・分化機構の解明

初期の胎仔副腎皮質は成獣副腎皮質に分化する能力を有することが明らかとなった。そして、未分化細胞がステロイドホルモン産生細胞へと分化する際には、Ad4BP/SF-1 の発現量が重要であることを示した。この成果は、間様系幹細胞や ES 細胞をステロイド産生細胞に分化させる能力を有することを支持するものである。Ad4BP/SF-1 の標的遺伝子の全貌を明らかにするため、次世代シーケンサーを用いた実験系を確立した。

副腎網状層（ZR）の adrenarche における役割を解明するため、ZR の形態学および免疫組織学的変化と年齢の関係を検討したところ、ZR が年齢に伴い発育することが判明し、その発育は皮質細胞の増殖とアポトーシスでバランスされ、また puberty にも関与することが示唆された。

特発性アルドステロン症（IHA）とアルドステロン産生性副腎皮質腺腫（APA）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 の鑑別が重要であり、遺伝子発現パターンの解析を行った。アンジオテンシン II 応答遺伝子発現パターンに違いが認められた。また、アルドステロン合成に関わる酵素 HSD3B2 の転写調節因子 NGFIB, GATA-6, SF-1, DAX1 の発現度が、それらの病態の修飾因子となっていることが考えられ、うち

IHA の ZG では、NGFIB 発現上昇がアルドステロン産生亢進の一要因となっている可能性が示唆された。

(3) 副腎再生による新しい副腎不全治療法の開発

転写因子 Ad4BP/SF-1 および LRH-1 の導入により幹細胞がエピジェネティックな変化を伴ってステロイドホルモン産生細胞へと分化誘導でき、将来的な副腎ホルモン産生異常に関わる疾患への再生医療の可能性を示した。

(4) 原発性アルドステロン症 (PA) の診断基準の策定と治療法の検討

一般医家向けと専門医向けに PA の診断治療ガイドラインを作成した。このガイドラインは日本人の本疾患に関するエビデンスを元に構成されていることが特徴の一つであり、本疾患の診療の際には直ちに役立つ有益な情報を記したのものである。

副腎皮質ホルモン分泌過剰症では、超選択的 ACTH 負荷副腎静脈採血はその診断にきわめて有用であり、機能性副腎腺腫治療における手術範囲の縮小が可能であることを実証した。さらに、両側機能性副腎腺腫治療への道も開かれることが示唆された。

PA 診断治療ガイドラインに従った PA のスクリーニングと診断は良好な感度、特異度を示し、その妥当性を確認した。肥満合併アルドステロン産生腺腫患者では片側副腎摘除による高血圧治療率が悪い可能性が示唆された。

コルチゾール迅速測定キットを開発し、副腎静脈サンプリング時の迅速測定が副腎静脈からの検体採取成功率をあげ臨床的に有用であることを示した。

PA のスクリーニングは ARR 高値を用いた場合、血圧値にかかわらず有用であった。片側病変の診断には、副腎静脈血の A/F 比の左右比 > 4 、18-oxoF/F 比の左右比 > 2 、18-OHB/A 比 < 0.5 が有用であった。また、手術療法と薬物療法はほぼ同等の効果が示唆されたが、尿中アルドステロン $\geq 20 \mu\text{g}/\text{日}$ の重症例では手術療法の方が優れていることを明らかにした。

APA における 5HT4R、TSP 発現の検討により、セロトニン系を薬理的に刺激や抑制しアルドステロン反応を調べることにより、APA やその亜型の補助診断となり得ることを示した。また腫瘍抑制因子 TSP1 の減少は ACTH 受容体発現増加に同調してアルドステロン産生腺腫発生に関与している可能性を示唆した。

(5) ステロイド作用に関わる受容体とその異常の解析

グルココルチコイド受容体 (GR) 新規標的遺伝子 REDD1、KLF15 を同定し、グルココルチコイドによる GR を介した筋萎縮の分子基盤を明らかにした。今後 GC 抵抗性病態の解明や新規 GR 標的治療法の開発が期待される。

新規ミネラルコルチコイド受容体 (MR) 結合因子 p120 の同定および機能解析により、MR 転写においてもエピゲノム制御メカニズムが働き、ヒストン修飾を介して転写が制御されていることが明らかとなった。このことは、MR を介した高血圧などの病態発症解明の新たな切り口となりうる。

PHA1 型に対し、MR 遺伝子解析を行ったところ正期産児に変異を認め、早産児には認めないことを示した。

(6) 副腎癌の診断・治療法の検討

18F-FDG/PET-CT を用いた検討により、SUVmax6.0 を cut-off に設定すると、副腎腫瘍の良悪性診断において感度・特異度共に良好な鑑別が得られた。

副腎偶発腫における副腎癌、コルチゾール産生腺腫、褐色細胞腫の解析から、それぞれの疾患の診断に有用なマーカーを見出すとともに、診断に際してのピットフォールを明らかにした。

新しい副腎性 subclinical Cushing 症候群の診断基準案を、1mgDST における F 値カットオフ値を $1.8 \mu\text{g}/\text{dl}$ 以上を基本に作成した。

(7) 副腎ホルモン産生異常症の全国疫学調査

病床数 200 床以上の医療機関を対象とし、本研究班の主要対象疾患 5 疾患を含む、副腎ホルモン産生異常を呈する 11 疾患における全国疫学調査を行った。全国推定患者数は 5 年間で、先天性副腎過形成症 1791 例、先天性副腎低形成 100 例、偽性低アルドステロン症 258 例、 11β 水酸化ステロイド脱水素酵素欠損症 27 例、原発性アルドステロン症 7487 例、副腎性サブクリニカルクッシング症候群 1829 例、アジソン病 911 例、褐色細胞腫 3537 例であった。

疾患毎の二次調査を解析した。PA は、50 歳代で確定診断されていたことから必ずしも早期診断がなされていなかった。APA の方が IHA よりも若年性に発症しているため、発見しやすい病型とも考えられた。アジソン病の病因は、特発性（自己免疫性）が 49%、感染性が 27% であった。副腎クリーゼの発症は 31.4% であり決して稀ではなかった。副腎性サブクリニカルクッシング症候群の平均年齢は男性 62.2 ± 10.9 歳、女性 61.7 ± 12.9 歳であり、クッシング症候群とは異なる病態であることが改めて示唆された。治療開始前の症候として、高血圧の頻度が最も高く 63% に認め、糖尿病、肥満は 30% 前後に合併していた。褐色細胞腫は無症候性が多く、高血圧も発作型が多いことから、早期診断が困難で、その可能性を考慮した日常診療が必須であると考えられた。また機能診断法と手術方法は施設毎で差を認めることから、今後、標準的診療の普及と長期にわたる追跡調査が必要である。先天性副腎酵素欠損症の原因として、P450 オキシドレダクターゼ欠損症が 21 水酸化酵素欠損症、リポイド過形成症に続く頻度であることが明らかとなった。マスキリング開始後、副腎不全症例は減少し、死亡の報告は 1 例だけであった。平均成人身長は男性 $-1.69SD$ 、女性 $-1.40SD$ であり、未だ良好とは言えない。先天副腎低形成症では、DAX1 遺伝子以外の SF1、MC2R、MRAP 遺伝子異常の頻度を初めて示した。死亡例の報告はなく、前回調査よりさらに予後の改善が得られていた。

研究分担者

- 諸橋 憲一郎 (九州大学大学院医学研究院分子生命科学機能高分子設計学、教授)
宮本 薫 (福井大学医学部分子生体情報、教授)
柳瀬 敏彦 (福岡大学医学部内分泌糖尿病内科、教授)
長谷川 奉延 (慶應義塾大学医学部小児科、准教授)
田島 敏広 (北海道大学大学院医学研究科小児科、講師)
勝又 規行 (国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部基礎内分泌研究室、室長)
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)
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)
西川 哲男 (横浜労災病院内分泌代謝内科、院長)
柴田 洋孝 (慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科、専任講師)
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)
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)
上芝 元 (東邦大学医学部内科学糖尿病代謝内分泌科、講師)
田村 尚久 (京都大学大学院医学研究科内分泌代謝内科、講師)
佐藤 文俊 (東北大学病院腎高血圧内分泌科、講師)
成瀬 光荣 (国立病院機構京都医療センター臨床研究センター内分泌代謝高血圧研究部、部長)
西條 泰明 (旭川医科大学健康科学講座、教授)

研究協力者

- 向井 徳男 (旭川厚生病院小児科、部長)

A. 研究目的

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業として「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班は副腎の発生・分化、ステロイドホルモン産生、ステロイドホルモン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目標として研究を行っている。

B. 研究方法

(1) 先天性副腎酵素異常症の生化学・遺伝子診断システムの構築と病態の解明

- ・ 正期産児および早産児の新生児・乳児期におけるステロイド分泌動態を、随時尿を用いて GC-MS により測定した。また、血清を用いてカラム精製・ピコリン酸誘導体化後 LC-MS/MS により測定した T・DHT および T/DHT の男女別基準範囲を設定した。

- ・ 非古典的リポイド過形成症の分子遺伝学的、臨床的検討を 5 家系 7 例に行った。

- ・ マウスにおける常染色体劣性副腎低形成症 (AHC) の新規成因のヒトホモログである ACD 遺伝子解析を AHC 患者 4 例 (1 同胞例) で検討した。

- ・ 成人身長に到達した 21-水酸化酵素欠損症 (21-OHD) 患者 14 名で、成長学的指標と治療薬剤投与量について後方視的に検討した。

(2) 副腎の発生・分化機構の解明

- ・ 胎仔副腎エンハンサー配列を用いて、胎仔副腎皮質特異的 Ad4BP/SF-1 強制発現トランスジェニックマウス系統を準備し、胎仔型副腎皮質と成獣型副腎皮質の細胞系譜について、また副腎皮質細胞の細胞増殖における Ad4BP/SF-1 の発現量の関係について検討した。Ad4BP/SF-1 の標的遺伝子の全貌を明らかにするため、次世代シーケンサーと免疫沈降法を用いる配列決定法にて、標的遺伝子配列を決定するための予備実験を行った。

- ・ 副腎皮質全層および網状層 (ZR) の厚さを

年齢 (0-3, 4-12, 13-20) により 3 群において形態学的に計測し、3bHSD による免疫染色とともに評価した。また、Ki67、Bcl2 および 17bHSD5 による免疫染色を施行した。

- ・ IHA および APA 付随副腎の球状層 (ZG) で、アンギオテンシン II 応答遺伝子や HSD3B2 発現関連の転写因子の発現状況を免疫組織化学的に検討した。

(3) 副腎再生による新しい副腎不全治療法の開発

- ・ ヒト骨髄間葉系幹細胞に SF-1 および LHR-1 を安定導入することで、ステロイドホルモン産生細胞への分化誘導を行い、その過程で生じる、ステロイド合成関連遺伝子上でのクロマチン構造変化を解析した。

(4) 原発性アルドステロン症 (PA) の診断基準の策定と治療法の検討

- ・ 当研究班および日本内分泌学会の後援と承認を受けて PA の診断治療指針の策定を行った。

- ・ 超選択的 ACTH 負荷副腎静脈採血診断 (SS-ACTH-AVS) に基づく機能性副腎皮質腺腫の片側副腎部分切除による治療法を検討した。

- ・ PA の実地医家を受診する初診高血圧患者における頻度、PA のスクリーニング・診断基準および肥満の影響を検討した。

- ・ 数分で測定可能な血中コルチゾール (F) の迅速測定キットを開発し PA 患者 36 例における副腎静脈サンプリング (AVS) での有用性を検討した。すなわち、19 例は採血部位の確認を透視化で行い (コントロール群) 27 例は測定キットを用いてカテーテルが副腎静脈に選択的に挿入されたか判断した (迅速測定群)。最終的な AVS の成功の判定は検体の F を AVS 後に従来どおり ELISA で測定し、副腎静脈の F 濃度が下大静脈の濃度より高値 (2 倍以上) であれば成功と判定した。

- ・ PA のスクリーニングとして健康診断受診者 947 名において血漿アルドステロン濃度 (PAC [pg/mL])/血漿レニン活性 (PRA [ng/mL/h]) 比 (ARR) と臨床指標との相関を

検討し、局在診断としてアルドステロン産生腺腫 (APA) 18 名および両側病変 (特発性アルドステロン症 (IHA)) 18 名における副腎静脈血中 18-oxocortisol (18-oxoF)、18-hydroxycorticosterone (18-OHB) を比較検討し、また PA 患者の手術療法および薬物療法の有用性を検討した。

・APA におけるアルドステロン分泌調節因子の 1 つとしてセロトニンに注目しその受容体 (5HT4R) を、組織診断にて APA と診断された 12 例、非機能性腺腫 (NF) 5 例を対象として切除組織を用いて解析した。さらに APA における腫瘍化を検討する目的でトロンボスポンジン (TSP) の発現についても検討した。

(5) ステロイド作用に関わる受容体とその異常の解析

・MR と結合する新規 MR 転写共役因子を 293 細胞から生化学的に精製し、得られた候補蛋白質の安定細胞株を樹立し、その複合体の構成因子を同定し機能解析を行った。

・GR の標的遺伝子の包括的同定し、それらの働きと生理的意義を解明するため、グルココルチコイド (GC) 筋症モデルラットを作成し、その骨格筋を用いて分子遺伝学的、生化学的および組織学的に解析した。

・偽性低アルドステロン症 1 型 (PHA 1) の 10 例に対し、MR 遺伝子解析を行い、病態との関連を検討した。

(6) 副腎癌の診断・治療法の検討

・副腎腫瘍の質的診断、特に良悪性の鑑別診断における 18F-FDG/PET-CT の有用性を検討した。

・副腎偶発腫疫学調査 (1999 年から 2003 年) で報告を受けた症例のうち、副腎癌 50 例、コルチゾール産生腺腫 386 例、褐色細胞腫 314 例の特徴を解析した。

・NF95 例および副腎性サブクリニカルクッシング症候群 (SCS) 21 例を対象に、内分泌学的パラメータの陽性率を検討し、1mgDST における F 値カットオフ値を求め、副腎性 SCS の診断基準案の作成を試みた。

(7) 副腎ホルモン産生異常症の全国疫学調査
・病床数 200 床以上の医療機関を対象とし、本研究班の主要対象疾患 5 疾患を含む、副腎酵素欠損症、副腎低形成症、偽性低アルドステロン症、グルココルチコイド抵抗症、原発性アルドステロン症、副腎性 SCS、アジソン病および褐色細胞腫とした。2003 年 1 月 1 日～2007 年 12 月 31 日の 5 年間に於ける患者数を一次調査で集計し、二次調査で臨床情報等を得た。

(倫理面への配慮)

研究対象者 (未成年の場合には代諾者) に対してインフォームド・コンセントは各研究実施施設で、各研究分担者の責任において行った。また、疫学研究および遺伝子解析研究についてはそれぞれの倫理指針を遵守して行った。研究遂行上必要な場合には、各研究施設において倫理委員会の承認を得て行った。得られた臨床情報に関しては匿名化を行った上で解析した。

また、実験動物を用いる研究においては各研究施設の指針に則り、動物愛護の精神の下に行った。

C. 研究結果

(1) 先天性副腎酵素異常症の生化学・遺伝子診断システムの構築と病態の解明

・生後 3-5 日の SGA (在胎週数別出生体重分布の 10 パーセント未満) の F 分泌は早産において AGA (同 10 パーセント以上) より低値、aldosterone 分泌は AGA と同等、pregnenolone 分泌は、早産、正期産において AGA より低値であった。早産児の胎生皮質ステロイド分泌ピークの有無および高さは在胎週数に、時期は生後週数より修正週数に依存していることが示唆された。生後 4-6 日血中 T・DHT 基準範囲は、共存する胎生皮質ステロイドの影響を受けやすい免疫化学的測定法による既報より有意に低く、誘導体化なしの LC-MS/MS 法による既報より低濃度領域まで設定できた。

・非古典的リポイド過形成症の StAR 遺伝子解

析で、R188C/Q258X 変異が 1 家系、L157P/R188H 変異が 1 家系、Q258X/R272H 変異が 1 家系、Q258X/R272C 変異が 2 家系で同定された。R188H 変異、R272H 変異、R272C 変異は新規変異であり、変異蛋白は残存活性を有していた。発端者 5 例の副腎不全発症時の年齢は 6 ヶ月から 4 歳であり、全例で皮膚色素沈着が認められ ACTH は高値であったが、レニン活性は正常から著明な高値まで幅広かった。副腎の腫大は認めなかった。男子 5 例の外性器は正常男性型であり、うち 1 例で片側の停留精巣が認められた。男女とも二次性徴が自然発来、進行した。

- ・AHC4 例 (1 同胞例) で ACD 遺伝子変異を同定できなかった。

- ・日本での GC 投与量は乳児期に欧米より多く、21-OHD 患者の成長は 1 歳までに低下する傾向にあった。すなわち、成人身長は男子で $-1.26SD$ 、女子では $-0.78SD$ であり、出生後半年までに身長 SD スコアは $-0.75SD$ 、1 歳までに $-1.5SD$ まで低下することが判明した。

(2) 副腎の発生・分化機構の解明

- ・胎齢 11.5 日までのマウスの胎仔副腎皮質は成獣副腎皮質へ分化する能力を有していたが、胎齢 14.5 日にはその能力を消失していた。胎仔副腎皮質における Ad4BP/SF-1 の強制発現により、異所性副腎皮質の形成に寄与することが示唆された。Ad4BP/SF-1 の標的遺伝子の全貌を明らかにするため、次世代シーケンサーと免疫沈降法を用いる配列決定法にて、調製した DNA から理想的な結果が得られることを確認した。得られた塩基配列がゲノム中のどの領域に相当するのか、またどの領域に集積しているのかなどについて自動的に処理するシステムを構築した。予備的な実験結果からは、Ad4BP/SF-1 抗体を用いて回収した DNA 断片には Ad4BP/SF-1 の結合サイトが存在した。

- ・ZR の厚さは、4 歳以降、男女とも 20 歳まではほぼ直線的に厚さが増加した。Ki67 による免疫染色では、男女ともに 4-12 歳の群で ZR

に高発現が認められた。

- ・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 ($p < 0.05$)。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 ($p < 0.05$)。

- ・IHA の ZG では、NGFIB、GATA-6、SF-1、DAX1 発現が、APA の付随副腎 ZG では GATA-6、DAX1 発現が各々正常副腎の ZG に比べ有意に高値であった。EGR1 の発現は、APA の付随副腎や IHA の ZG では正常副腎の ZG に比べ有意に低値であった。

(3) 副腎再生による新しい副腎不全治療法の開発

- ・SF-1 および LRH-1 をヒト骨髄間葉系幹細胞に安定導入することで、ステロイドホルモン産生細胞への分化誘導が可能であった。また StAR 遺伝子上流に SF-1 が結合する新たなエンハンサー領域を同定し、SF-1 結合に伴いこの領域がプロモーター領域とループ構造をとり、クロマチン構造変化を伴うエピジェネティックな修飾を受けていることを明らかにした。さらに分化誘導時の SF-1 転写複合体を単離精製し、構成タンパク質を同定した。これらの中で、C/EPB β はステロイドホルモン合成遺伝子上流に結合し SF-1 と協調的に転写を活性化していることが明らかとなった。

(4) 原発性アルドステロン症 (PA) の診断基準の策定と治療法の検討

- ・一般医家向けと専門医向けにガイドラインを作成した (図 1)。数回の検討委員会を開催した後その原案は平成 21 年 6 月～8 月にかけて日本内分泌学会評議員のパブリックコメントを求め、同時に当研究班班員による査読を経た後、最終的なガイドラインを作成した。

- ・SS-ACTH-AVS に基づき、片側 APA 症例では

腫瘍を含めた部分切除を腹腔鏡下手術で施行した。両側 APA の症例では右副腎の腫瘍を含めた部分切除を施行した。顕性クッシング症候群 (CS) のコルチゾール産生腺腫 (CPA) と PA の APA の合併が SS-ACTH-AVS で診断された症例では左副腎の CAP を含めた部分切除を行った。その結果、片側副腎部分切除を行った 17 例で腺腫の完全摘出が確認された。片側 APA 症例ではアルドステロン (A) の過剰分泌は全例で正常化が認められた。両側 APA 症例では A 過剰分泌は改善したものの、軽度の A 過剰分泌を示し、非手術側での APA の残存が示唆された。CPA+APA 症例では、全例で術後 F の過剰分泌は消失した。術前認められた A 過剰分泌は術直後正常化したが、3 例中 2 例では C 補充療法終了に伴い、A の過剰分泌が認められるようになり、CPA の存在した副腎の反対側副腎での APA の残存が示唆された。従って、SS-ACTH-AVS を行うことで、A の瀰漫性過剰分泌、A や F の副腎腫瘍からの過剰分泌を診断可能となった。そしてこの診断をもとに腺腫を含めた片側副腎部分切除が技術的に可能な症例で施行することで、PA や CS の治療の得られることが判明した。

・高血圧症における PA の全国調査は登録患者数が十分な数に達せず、登録継続中である。

・PA 診断治療ガイドラインに基づく、ARR>200 による PA のスクリーニングは感度 85%、特異度 65%で、PAC>120 の併用は感度を大幅に低下させた。機能確認試験の精度は、カプトプリル負荷試験 (負荷 60 または 90 分後 ARR>200) が感度 81%、特異度 97%、生理食塩水負荷試験 (負荷後 PAC>60) が感度 71%、特異度 79%、フロセミド立位負荷試験 (負荷後 PRA<2) が感度 73%、特異度 94%であった。PA 患者において ARR は body mass index (BMI) と有意な負相関を示した。

・F 迅速測定と従来の ELISA 法による検討では有意の正の相関が得られた。コントロール群では成功率 79%、迅速測定群では成功率 93%であった。

・高血圧者において ARR 高値では左室肥大、蛋白尿が多く、正常血圧者では、血圧高値を認めた。PA の局在診断では、副腎静脈血の A/F 比の左右比>4、18-oxoF/F 比の左右比>2 および 18-OHB/A 比の左右比<0.5 が有用であった。治療効果については、尿中アルドステロン<20 μ g/日では、手術および薬物療法で同等の効果がみられたが、尿中アルドステロン \geq 20 μ g/日では、手術療法の方が有効であった。

・APA では NF や正常副腎に比べ優位に 5HT4R、ACTH 受容体の発現が増加しており、A 合成の亢進に関与していることが明らかとなった。また腫瘍抑制因子 TSP は APA において発現は減少していることが示された。

(5) ステロイド作用に関わる受容体とその異常の解析

・新規 MR 結合因子 p120 を同定した。p120 はリガンドによる MR 転写活性を増強し、p120 のノックダウンで MR 転写活性は減少し、また MR の標的遺伝子発現も減少した。p120 はリガンド投与下で細胞核において MR と共局在した。p120 安定発現細胞株より p120 を含む蛋白質複合体を精製したところ、NSD1 が取得できた。p120 のノックダウンにより、NSD1 の標的遺伝子への動員が減少し、H3K36me3 レベルも減少した。

・ラット骨格筋から、GR 標的遺伝子として新たに REDD1、KLF15 を同定した。KLF15 は BCAT2、atrogin-1、MuRF1 遺伝子の発現を転写レベルで誘導し、骨格筋萎縮をきたした。mTOR 活性化はかかる GR 下流の遺伝子発現を抑制し、GC による筋萎縮を抑えた。

・PHA1 型の早期産児や尿路感染症の症例では MR 遺伝子変異は同定できなかったが、正期産の 2 例で、変異を同定し (R651X、R947X)、機能解析では両変異とも機能を喪失していた。

(6) 副腎癌の診断・治療法の検討

・18F-FDG/PET-CT を用いた検討により、SUVmax 6.0 をカットオフとすると副腎良性腫瘍 (AIMAH を含む) と副腎皮質癌の鑑別が

感度 99.2%、特異度 98.3%で可能であった。

・副腎偶発腫における副腎癌 (1)、コルチゾール産生腺腫 (2)、褐色細胞腫 (3) の疫学的特徴を示す。(1) 平均年齢は 58.8 歳で、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。

(2) 平均年齢は 55.4 歳、男女比 3 : 7 で、平均腫瘍径は 2.8cm であった。血中 F 高値例は 23%のみ、1mg デキサメサゾン抑制試験では抑制なしが 65%、ありが 35%であった。血中 ACTH 低値例は 26%のみであった。F の日内変動は、なしが 71%であった。SCS であったと考えられるのは 23%であった。(3) 平均年齢は 53.8 歳で、平均腫瘍径は 4.5cm であった。診断時に血圧正常例が 50.3%であった。血中及び尿中アドレナリン、血中及び尿中ノルアドレナリンが、いずれも有意に高値であった。

・副腎性 SCS 診断基準の検討において、F 値カットオフ値を $1.8 \mu\text{g/dl}$ あるいは $3 \mu\text{g/dl}$ 以上の症例群では早朝 ACTH 基礎値 10 pg/ml 未満 および日内リズムの消失を同時に満たす症例群が多く、逆に F 値カットオフ値を $1.8 \mu\text{g/dl}$ 未満の症例では、これらの基準を満たす症例は一例もなかった。一方、F 値 $1.8 \mu\text{g/dl}$ 以上の症例群の中には、ACTH 日内リズムの消失を明らかに満たしながら、早朝 ACTH 基礎値 10 pg/ml 未満を満たさず、CRH 負荷で無-低反応を示す症例が存在することから、最終的に 1) ACTH 基礎値 10 pg/ml 未満 2) 日内リズムの消失(夜間の F 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、1) +2) または 2) +3) を満たせば SCS とする診断基準案を作成した。

(7) 副腎ホルモン産生異常症の全国疫学調査
・一次調査の回収率は 60.3%、二次調査の回収率は平均 36.2% (11.1~60.7%) であった。全国推定患者数は 5 年間で、先天性副腎過形成症 1791 例、先天性副腎低形成 100 例、偽性低アルドステロン症 258 例、 11β 水酸化ステ

ロイド脱水素酵素欠損症 27 例、原発性アルドステロン症 7487 例、副腎性 SCS 1829 例、アジソン病 911 例、褐色細胞腫 3537 例であった。

・PA の二次調査、1284 例を対象に臨床像を検討した。現在も二次調査の解析中であり、その結果の解析の一部を本研究報告書にまとめた。病変部位は、片側性の場合、アルドステロン産生腺腫でも、副腎皮質球状層過形成でも、左が右よりも 1.3~1.5 倍多かった。発症年齢は、APA (47.4 ± 0.5 歳) と IHA (50.1 ± 1.2 歳) の比較では、後者で前者よりも発症年齢が有意に高かった。両側性 (50.3 ± 1.1 歳) と片側性 (47.4 ± 0.5 歳) の比較では、片側性で両側性よりも発症年齢が有意に低かった。

・アジソン病の二次調査、132 例を対象に臨床像を検討した。平均年齢は男性 63.2 ± 21.5 歳、女性 65.6 ± 18.3 歳であった。男女とも中高年以上で患者数が増加し、70 歳以上が多かった。病因は、特発性(自己免疫性)が 49%、感染性が 27%であった。副腎クリーゼの発症は 31.4%であった。

・副腎性サブクリニカルクッシング症候群の二次調査、395 例を対象に臨床像を検討した。平均年齢は男性 62.2 ± 10.9 歳、女性 61.7 ± 12.9 歳であった。男性では 60~64 歳にピークがあり、女性では 65~79 歳にピークがあった。治療開始前の症候として、高血圧の頻度が最も高く 63%に認め、糖尿病、肥満は 30%前後に合併していた。これらは、腫瘍摘出により、50%の症例で改善していた。

・褐色細胞腫の二次調査、284 例を対象に臨床像を検討した。男 48%、女 52%で男女差なく、平均年齢は 51.5 歳、治療前の血圧は $145 \pm 33 \text{ mmHg}/84 \pm 19 \text{ mmHg}$ であった。臨床病型は 60%が無症候性、40%が症候性で、症候性の 55%が発作性高血圧、45%が持続性高血圧を示した。病変部位は 91%が副腎性、9%が副腎外であった。良性は 94%、悪性は 6%、悪性での転移部位は肝臓と骨に多く見られた。全体の 98%で腫瘍摘出術が施行され、その

64%が内視鏡下手術、36%が開腹術であった。

・先天性副腎酵素欠損症の二次調査、700例を解析した。各病型別頻度では、21水酸化酵素欠損症(21OHD)の頻度が最も高く90.4%ついで、リポイド過形成症が4.1%、P450オキシドレダクターゼ欠損症(PORD)が2.4%であった。46,XX症例278例中2例(0.7%)が社会的男性を選択していた。この2症例はいずれもMS以前の症例で、塩喪失型を示し性腺摘出ならびに外生殖器形成術を受けていた。成人身長を骨端線閉鎖時の身長と同等とすると、症例数は少ないが、男性 $161 \pm 6.6\text{cm}$ (-1.69SD)、女性 $150.7 \pm 7.9\text{cm}$ (-1.40SD)であった。マスキリーニング陽性率は、99.1%は陽性であった。また、死亡例は1例のみであった。

・先天性副腎低形成の二次調査、57例を対象に臨床像を検討した。平均年齢は男性 16.2 ± 12.4 歳、女性 14.7 ± 6.7 歳であった。遺伝子解析は、不明、未記入例を除くと、87.2%で行われていた。解析遺伝子として、最も多いのはDAX1遺伝子の31例で、陽性率は71.0%であった。常染色体に存在するSF1、MC2R、MRAP遺伝子は合わせて14例に解析されており、SF1遺伝子異常を1例に、MC2R遺伝子異常が2例に認められていた。調査中の5年間に死亡例の集計はなかった。

D. 考察

(1) 先天性副腎酵素異常症の生化学・遺伝子診断システムの構築と病態の解明

新生児、乳児の在胎週数別在胎週数・出生体重・生後週数・修正週数別基準値を設定した。このことにより、束状層・胎生皮質の成長・成熟は、子宮内発育遅延の影響を受け低下することが示唆された。また未熟な早産児において、修正週数依存性の胎生皮質退縮の前に、在胎週数依存性の胎生皮質分泌増加が存在すると考えられた。T・DHT基準範囲の設定は、外生殖器異常を有する性分化疾患の診療に極めて有用である。

非古典型リポイド過形成症の原因であるStAR欠損症には、臨床的多様性が認められるばかりでなく、遺伝的にも多様性が認められることが明らかとなった。StAR欠損症の臨床型は残存活性の高い方のアレルに依存した。非古典的StAR欠損症ではACTH不応症、副腎低形成症との鑑別が困難な例があり、確定診断にはSTAR遺伝子解析が有用である。

ヒトACD遺伝子が副腎低形成を起こす可能性は低いと考えられ、成因の同定にはCGHアレイ、次世代シーケンサーによる解析が必要と考えられる。

適切な思春期発来および成人身長獲得のための小児期のステロイドの適切な補充量については検討の余地があり、多数例での解析を行う必要がある。

(2) 副腎の発生・分化機構の解明

これまで胎仔副腎皮質と成獣副腎皮質細胞の起源については、不明な点が残されていた。本研究の成果より、初期の胎仔副腎皮質は成獣副腎皮質に分化する能力を有することが明らかとなった。また、Ad4BP/SF-1を発現する副腎皮質においては、Ad4BP/SF-1が発現量(遺伝子量)依存的に細胞増殖を制御することで、これらの組織形成に寄与する。Ad4BP/SF-1の標的遺伝子の全貌を明らかにするための理想的な免疫沈降-次世代シーケンス解析法を確立できたことにより、今後Ad4BP/SF-1を中心とする副腎皮質の機能獲得の過程(分化の過程)を明らかにすることができると思われる。

adrenarcheの開始前後には副腎皮質網状層が形態学的に肥厚することが確認された。この肥厚は網状層細胞の増殖と、アポトーシス抵抗性による相乗的变化であることが免疫組織学的に裏付けられた。

IHAのZGやAPAの付随副腎ZGでは、NGFIB、GATA-6、SF-1、DAX1の発現が病態の修飾因子となっている可能性が示唆された。一方、EGR1の発現低下はアルドステロン過剰産生に伴うレニン・アンギオテンシン系抑制の影

響による可能性が考えられた。この知見は、APA と IHA の最終鑑別診断を考える際、IHA 球状層(ZG)のhyperplasia およびAPAの付随副腎ZGでのparadoxical hyperplasiaの発生基盤を考える上で有用である。

(3) 副腎再生による新しい副腎不全治療法の開発

骨髄由来の間葉系幹細胞はステロイドホルモン産生細胞に分化する能力を有していることが示され、転写因子 Ad4BP/SF-1 および LRH-1 の導入によりエピジェネティックな変化を伴って分化誘導されることが示された。また SF-1 転写複合体には C/EBP β が含まれ、SF-1 と協調的にステロイドホルモン合成関連遺伝子の転写を活性化していることが明らかとなった。これら知見は、将来的な副腎ホルモン産生異常に関わる疾患への再生医療の可能性を示すものである。

(4) 原発性アルドステロン症 (PA) の診断基準の策定と治療法の検討

PA ガイドラインは日本人の本疾患に関するエビデンスを基に構成されていることが特徴の一つであり、一般医家、さらには内分泌代謝あるいは高血圧循環器領域の専門医師にとっても本疾患の診療の際には直ちに役立つ有益な情報を記したものである。

副腎皮質ホルモン分泌過剰症では SS-ACTH-AVS はその診断にきわめて有用であり、機能性副腎腺腫治療における手術範囲の縮小を可能とし、さらに両側機能性副腎腺腫治療への道も開かれるものと考えられた。

PA ガイドライン(GL)に従った PA のスクリーニングと診断は良好な感度、特異度を示し概ね妥当であった。肥満合併 APA では片側副腎摘除による高血圧治癒率が悪い可能性が示唆された。PA の頻度および肥満の影響については引き続き検討が必要である。

AVS の成功率を上げるには、検査施行時に瞬時に F の値が分かることであり、副腎静脈血中 F の迅速測定が鍵となる。今回、AVS 時の F 迅速測定は臨床的に有用であることを示

した。

ARR 高値を用いた PA のスクリーニングは血圧値にかかわらず有用であった。また、片側病変の生化学的診断指標を示すことができた。手術療法と薬物療法はほぼ同等の効果が示唆されたが、尿中アルドステロン $\geq 20 \mu\text{g}/\text{日}$ の重症例では手術療法の方が優れていた。

APA における 5HT4R、TSP 発現の検討により、セロトニン系を薬理的に刺激や抑制しアルドステロン反応を調べることにより APA やその亜型の補助診断となる可能性が示された。また TSP の発現低下は ACTH-R の発現増加と合わせ腫瘍化に対し促進的に作用すると考えられた。

(5) ステロイド作用に関わる受容体とその異常の解析

GR の新規標的遺伝子 REDD1、KLF15 を同定し、GC による GR を介した筋萎縮の分子基盤を明らかにした。今後 GC 抵抗性病態の解明や新規 GR 標的治療法の開発が期待される。

新規 MR 結合因子 p120 の同定および機能解析により、MR 転写においてもエピゲノム制御メカニズムが働き、ヒストン修飾を介して転写が制御されていることが明らかとなった。このことは、MR を介した高血圧などの病態発症解明の新たな切り口となりうる。

PHA1 型における MR 遺伝子変異は正期産児にのみ同定され早産児には認められず、早産児、未熟児にみられる PHA1 型は生理的な MR 発現の減少が根底にあると思われた。

(6) 副腎癌の診断・治療法の検討

18F-FDG/PET-CT により、副腎腫瘍の良悪性度診断に有用であることを示した。今後、多施設・多症例の蓄積が必要である。

副腎偶発腫の解析から、副腎癌の鑑別には、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) など、総合的な判断が必要と考えられた。副腎偶発腫の約 10% に Cushing 症候群が認められ、そのうちの約 20% が SCS であり、基礎値のみでは診断されない可能性が

ある。褐色細胞腫の鑑別には従来の血中及び尿中カテコールアミン測定の有用性が確認された。

新しい副腎性 SCS 診断基準を、1mgDST における F 値カットオフ値を $1.8 \mu\text{g}/\text{dl}$ 以上を基本に提唱できた。

(7) 副腎ホルモン産生異常症の全国疫学調査
調査対象病院を 200 床以上とし、前回調査（平成 9 年度）より多くの病院を対象とした結果、全国推定患者数は、前回調査と比較し、PA、副腎性サブクリニカルクッシング症候群および褐色細胞腫が明らかに増加していた。患者数増加に伴う、疾患の多様性を明らかにするために、今後さらなる解析を加えていく必要がある。それにより、今後の研究の方向性の考察が可能となり、医療レベルの向上、厚生労働行政への還元が可能となると考えられる。

PA においては、50 歳代で確定診断されていたことから必ずしも早期診断がなされていなかった。また、APA の方が、IHA に比較してホルモン異常と臨床症状が顕著で重いため、早期の発症、受診、診断につながっている可能性がある。

アジソン病の年齢分布は、前回調査より約 10 歳、高齢にシフトしていた。病因は、特発性がやや増加し、感染性は減少していた。副腎クリーゼの発症は、決して稀ではなく、適切な治療が求められる。

副腎性 SCS 症候群の性年齢分布は、前回調査とほぼ同様であり、副腎偶発腫として発見されることが確認され、その病態がクッシング症候群とは異なることが改めて示唆された。治療開始前の高血圧、糖尿病、肥満は 30% 前後に合併し、これらは、腫瘍摘出により、50% の症例で改善しており、診断治療の重要性が確認された。

褐色細胞腫では、無症候性が多く、高血圧も発作型が多いことから、早期診断が困難で、その可能性を考慮した日常診療が必須であると考えられた。また機能診断法と手術方法は

施設毎で差を認めることから、今後、標準的診療の普及と長期にわたる追跡調査が必要である。

先天性副腎酵素欠損症の年齢分布は、前回調査より約 10 年遅かった。210HD の成人身長 SD スコアは、男性で身長予後は良くなく、女性においても、今後改善が得られるよう治療を検討していく必要がある。また、今回明らかになったこととして、MS 後には、副腎不全を示唆する所見が減少しており、その効果を確認することができた。また、前回調査より、生命予後が改善していることが明らかとなった。

先天性副腎低形成年齢分布は、前回調査より 15 歳上昇していた。今回、前回調査との違いとして、DAX1 遺伝子以外の責任遺伝子が病因として同定されており、その頻度を解析したことである。約半数の症例で DAX1 遺伝子以外の遺伝子解析行われており、そのうち 21% に変異が認められていた。一方で、未だ原因不明症例の存在も明らかとなり、病態、治療法開発のため、今後も継続した基礎的臨床的研究が必要である。

これら稀少疾患の有病率に加え、二次調査の詳細な解析は、今後の予後調査やガイドライン等の評価にも有用な基礎データとなるものと考えられる。

E. 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、それに対する有用な診断法・治療法を確立することを目的に、さまざまな角度から臨床的研究および基礎的研究を多くの成果を得ることができた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文

海外 249 件

国内 187 件

学会

海外 100 件

国内 375 件

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

・ Split-tip micro catheter (OM-catheter) の特許出願中。

2. 実用新案登録

・ 実用新案登録(平成 21 年 12 月共同考案者として出願)(第 3158079 号)『輸液遮光具』: 主に抗がん剤ダカルバジンの光劣化を防止するための遮光具に関する考案

3. その他

・ なし