

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

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)准教授

【研究要旨】

原発性アルドステロン症の約 6 割を占めるアルドステロン産生腺腫は治癒可能な疾患であり、正確な部位診断は臨床上極めて重要である。副腎静脈サンプリング(AVS)は部位診断に決定的な役割を果たすが、その成功率は多くの施設で 50~60%である。カテーテルが副腎静脈に選択的に挿入されたかどうかは血中のコルチゾール(F)により判定可能である。AVS 中に瞬時にコルチゾール濃度の測定可能なナノテクノロジーによる測定方法を開発し、目視で判定可能なキットを開発した。そのキットを用いて検討した所 AVS の成功率は 70%台から 93%まで改善し、有用性が確認できた。

A. 研究目的

血中コルチゾール(F)の迅速測定キットを開発し副腎静脈サンプリングでの有用性を検討した。

B. 研究方法

ナノテクノロジーを持ちいて抗原抗体反応を早め数分で測定可能な測定系を開発し原発性アルドステロン症の患者 36 例に対し副腎静脈サンプリング(AVS)を行い 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。

C. 研究結果

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 19 例中 15 例が成功(成功率 79%)、迅速測定群では 27 例中 25 例が成功であった(成功率 93%)。迅速測定群の失敗は副腎静脈の走行異常のため、カテーテルの副腎静脈への選択が困難という理由によるものであった。全例を通して、迅速法による判定と AVS 後の ELISA による F 値の結果に解離は認めなかった。

D. 考察

多くの施設で AVS の成功率は 50%~70%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 の迅速測定が成功率を上げる鍵となる。今回用いた方法では 1 分間の遠心分離後、血漿 60 μ L を使い測定時間が 4 分間要するため結果が出るまで 5 分を要する。測定感度は数 μ g/dL と余りよくないが、副腎静脈血の F の測定については問題ないと考えられた。技術的困難な症例を除けば迅速 F 測定による AVS は全例が成

功した。

E. 結 論

AVS 時の F 迅速測定は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と考えられた。

G. 文献

1. Oka, R., Kobayashi, J., Yagi, K., Tanii, H., Miyamoto, S., Asano, A., Hagishita, T., Mori, M., Moriuchi, T., Kobayashi, M., Katsuda, S., Kawashiri, M., Nohara, A., Takeda, Y., Mabuchi, H. and Yamagishi, M. Reassessment of the cutoff values of waist circumference and visceral fat area for identifying Japanese subjects at risk for the metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Practice* 79; 474-481, 2008
2. Sakamoto, A., Ishibashi-Ueda, H., Sugamoto, Y., Higashikata, T., Miyamoto, S., Kawasiri, M., Yagi, K., Konno, S., Fujino, N., Ino, H., Takeda, Y. and Yamagishi, M. Expression and function of ephrin-B1 in human cognate receptor EphB2 in human atherosclerosis : from an aspect of chemotaxis. *Clin Sci* 114; 643-650, 2008
3. 武田仁勇 アルドステロンの基礎と臨床 : アルドステロンの生化学と生理作用 日本内科学会雑誌 97 : 2150-2154, 2008
4. 武田仁勇 アルドステロンの生化学と生理作用 成人病と生活習慣病 38 : 1338-21343, 2008
5. 武田仁勇 エプレレノンとはスピロノラクトンにとってかわるのか? EBM 循環器疾患の治療 2008-2009, 三田村、山科、川名、桑島編、中外医学社、p278-281, 2008
6. 武田仁勇 アルドステロンと糖代謝異常 *Annual Review* 2009 糖尿病・代謝・内分泌 金澤、武谷、関原、山田編、中外医学社、p167-170, 2008
7. 武田仁勇 副腎静脈サンプリングにおける迅速コルチゾール測定法の有用性 ホルモンと

臨床 56:615-618, 2008

8. 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. *Steorids* 74; 978-982, 2009
9. 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
10. Takeda, Y. Effects of eplerenone, a selective mineralocorticoid receptor antagonist, on clinical and experimental salt-sensitive hypertension. *Hypertension Res.* 32: 321-324, 2009
11. Oka, R., Miura, K., Sakurai, M., Nakamura, K., Yagi, K., Miyamoto, S., Moriuchi, T., Mabuchi, H., Yamagishi, M., Takeda, Y., Hifumi, S., Inazu, A., Nohara, A., Kawashiri, M. and Kobayashi, J. Comparison of waist circumference with body mass index for predicting abdominal adipose tissue. *Diabetes Res Clin Practice* 83:100-5, 2009
12. Oka R, Miura K, Sakurai M, Nakamura K, Yagi K, Miyamoto S, Moriuchi T, Mabuchi H, Koizumi J, Nomura H, Takeda Y, Inazu A, Nohara A, Kawashiri MA, Nagasawa S, Kobayashi J, Yamagishi M. Impacts of Visceral Adipose Tissue and Subcutaneous Adipose Tissue on Metabolic Risk Factors in Middle-aged Japanese. *Obesity (Silver Spring)*. 2009 doi:10.1038/oby.2009
- 13 武田仁勇 原発性アルドステロン症の診断と治療 内分泌・糖尿病科 29;463-467, 2009
14. 武田仁勇 食塩と心血管および腎障害 医学の歩み 231: 805-808, 2009
15. 武田仁勇 アルドステロン *Heart View* 13:34-39, 2009
16. 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

17. Ito Y, Takeda R, Karashima S, Yamamoto Y, Yoneda T, Takeda Y. Prevalence of Primary Aldosteronism among Prehypertensive and Stage 1 Hypertensive Subjects. *Hypertension Res*, doi:10.1038/hr.2010.166

18. Demura M, Yoneda T, Wang F, Zen P, Karashima S, Yamagishi M, Takeda Y. Ectopic production of parathyroid hormones in a patient with sporadic medullary thyroid cancer. *Endocrin J* 57; 161-170, 2010

19. Demura M, Yoneda T, Wang F, Zen P, Karashima S, Yamagishi M, Takeda Y. Ectopic production of parathyroid hormones in a patient with sporadic medullary thyroid cancer. *Endocrin J* 57; 161-170, 2010

20. 武田仁勇 アルドステロンと脂質代謝異常医学の歩み 232:906-910, 2010

21. 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

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

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

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 専任講師

【研究要旨】

原発性アルドステロン症(PA)は、心血管疾患の合併症が多いが、早期に診断することにより治癒や改善が可能な高血圧症である。PA のスクリーニングに有用なアルドステロン/レニン比(ARR)の有用性を検討するために、健康診断受診者 947 名における検討では、ARR 高値の高血圧者では左室肥大、蛋白尿が多く、正常血圧者でも ARR 高値の方が血圧の高値を認めた。次に、局在診断で行われる副腎静脈サンプリングでは、アルドステロン/コルチゾール(A/F)比 >4 、18-oxocortisol/F 比 >2 が局在診断に有用であった。治療効果については、尿中アルドステロン $<20 \mu\text{g/日}$ の症例では、手術および薬物療法で同等の効果をみられたが、尿中アルドステロン $\geq 20 \mu\text{g/日}$ では手術療法の方が有効であった。

【緒言】

原発性アルドステロン症(PA)の診断では、高血圧患者を対象にして、アルドステロン/レニン比(ARR)を用いたスクリーニング、機能確認検査による除外診断、さらに副腎静脈サンプリング(AVS)による局在診断により手術適応を決定している。この3年間の研究において、ARR によるスクリーニングの有用性を健康診断受診者において検討を行い、AVS における局在診断では、18-水酸化ステロイドの有用性を検討した。さらに、最終的に手術または薬物療法が選択された症例における臨床的予後につき検討を行った。

【研究方法】

<平成 20 年度>

対象は、2005 年職場健康診断（男性 463 名、女性 484 名、年齢 40~65 歳 (50 \pm 7 歳) の計 947 名とした。高血圧(HBP)は、収縮期血圧 $\geq 130\text{mmHg}$ または拡張期血圧 $\geq 85\text{mmHg}$ または、降圧薬内服者とした。一方、正常血圧(NBP)

は、収縮期血圧 $<130\text{mmHg}$ かつ拡張期血圧 $<85\text{mmHg}$ とした。血漿アルドステロン濃度(PAC)はスパック-S(TFB)、血漿活性レニン濃度(ARC)はレニン IRMA「第一」を用いて測定した。

<平成 21 年度>

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。

<平成 22 年度>

対象は、PA と確定診断され、AVS が施行された合計 36 例。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。

【研究結果】

<平成 20 年度>

健診受診者の 40%が HBP (男性の 57%、女性の 24%) が HBP であった。男女ともに、HBP が NBP と比べて、年齢、BMI、腹囲、心拍数、血糖値、総コレステロール、中性脂肪、BNP が有意に高値であった($P<0.05$)。

2. HBP および NBP における ARR 高値者の分布

次に、男女別に HBP および NBP における $ARR \geq 40$ を示す者の分布を検討した (図 1)。全体の 8.9%が $ARR \geq 40$ であった (男性 5.8%、女性 11.6%)。また、 $ARR \geq 40$ を示したのは、男性では NBP の 3.0%、HBP の 7.9%、女性では NBP の 9.5%、HBP の 18.3%であり、男女ともに HBP で NBP よりも多く認めた (男性 2.6 倍、女性 1.9 倍)。

3. HBP における PA スクリーニング陽性者の臨床的特徴

PA スクリーニングにおいて、 $ARR \geq 40$ は有用な指標であるが、 $ARR \geq 40$ かつ $PAC > 150 \text{ pg/ml}$ とするとさらに特異度が上昇する。そこで、HBP 381 名の中で $ARR \geq 40$ かつ $PAC > 150 \text{ pg/ml}$ を示したのは 20 名 (5.2%) であった。そして、PA スクリーニング陽性者と陰性者を比べたところ、収縮期血圧、拡張期血圧はともに同定土であったが、陽性者で左室肥大と蛋白尿を有意に多く認めた。

4. NBP における PA スクリーニング陽性者の臨床的特徴

次に、NBP 566 名の中で、 $ARR \geq 40$ かつ $PAC > 150 \text{ pg/ml}$ を示したのは、22 名 (3.9%) であった。NBP 中の PA スクリーニング陽性者と陰性者と比べると、左室肥大や蛋白尿の頻度には有意差を認めなかったが、収縮期血圧、拡張期血圧ともに陽性者で有意に高値を認めた。

<平成 21 年度>

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 12 g/日未満、12-20 g/日、20 g/日以上 の 3 群に階層化した。治療前後の収縮期血圧の変化を検討した。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 20 g/日以上 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 < 20 g/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。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。また、治療前後の蛋白尿の変化は手術療法、スピロラクトン治療、エプレレノン治療のいずれにおいても低下した。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。

PA 67 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。

<平成 22 年度>

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、 $97830 \pm 78466 \text{ pg/ml}$ (対側は $3663 \pm 4096 \text{ pg/ml}$)、18-OHF 濃度は、 $19955 \pm 17086 \text{ ng/dl}$ (対側は $8928 \pm 6212 \text{ pg/ml}$)、18-oxoF 濃度は、 $2657 \pm 3403 \text{ ng/d}$ (対側は $81 \pm 45 \text{ pg/ml}$) および 18-OHB 濃度は $28360 \pm$

18189ng/dl (対側は 6214±3764pg/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±37705pg/ml, 左副腎静脈 20741±14905pg/ml, 18-OHF 濃度は、右副腎静脈 9872±6932ng/dl, 左副腎静脈 8047±7460ng/dl, 18-oxoF 濃度は、右副腎静脈 335±291ng/dl, 左副腎静脈 238±174ng/dl, 18-OHB 濃度は、右副腎静脈 12300±8695ng/dl, 左副腎静脈 8911±7349ng/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、PA のスクリーニングに用いている ARR 高値は有用な指標であり、ARR 高値は、PA の診断目的だけではなく、心肥大や蛋白尿などの臓器障害や高血圧を多く合併することが示された。

局在診断では、A/F 比の左右比 > 4 が有用であるが、18-oxoF/F 比の左右比 > 2 を合わせて用いることにより、さらに精度が高くなることが期待される。特に、両側性 PA と診断される症例において、18-oxoF/F 比を用いることで、両側性のアルドステロン産生腺腫の診断が可能となり、手術適応となる症例が増えることも期待される。

最後に、PA の予後に関しては、手術療法と薬物療法に分けられるが、現状では明らかな片

側病変に対してのみ手術が行われており、それ以外は薬物療法であるため、2つの治療法の単純な比較をすることは難しい。そこで、尿中アルドステロン分泌量によって分類して、両治療法を比較したところ、尿中アルドステロン < 20 μg/日の例ではほぼ同等の効果であり、尿中アルドステロン ≥ 20 μg/日の重症例では手術療法の方が血圧値のコントロールが良好であった。

【結 論】

- (1) 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。
- (2) 副腎静脈サンプリングによる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 が有用であった。
- (3) PA の治療では手術療法と薬物療法による予後は、血圧値や腎機能に関してはほぼ同等であった。しかし、尿中アルドステロン ≥ 20 μg/日のアルドステロン分泌が多い重症例では手術療法の方が優れていた。

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
1. M. Sone, H. Shibata, K. Homma, N. Tamura, S. Hamada, M. Yahata, N. Fukui, H. Itoh, H. Sasano, K. Nakao. Close examination of steroidogenesis disorders in a DOC- and progesterone-producing adrenocortical carcinoma. *Endocrine* 35:25-33, 2009.
2. S.Nagasaki, T.Suzuki, Y.Miki, J.Akahira, H.Shibata, T.Ishida, N.Ohuchi, H.Sasano. Chicken obalbumin upstream promoter transcription factor II in human breast carcinoma: a possible regulator of lymphangiogenesis via VEGF-C expression. *Cancer Science* 100:639-645, 2009
3. 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.* 285:8084-8093, 2010
4. 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.*, 95:2296-2305, 2010
 5. 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.
 6. 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.
 7. 柴田洋孝. ミネラルコルチコイド受容体と疾患 ゲノム医学、8:33-36, 2008.
 8. 柴田洋孝. 高血圧と「原発性アルドステロン症」 総合臨床、57:497-501, 2008
 9. 柴田洋孝. 副腎不全の原因と分類 日本内科学会雑誌、97:702-707, 2008
 10. 柴田洋孝. 内科必携画像診断—Cushing 症候群内科、101(6):1648-1651, 2008
 11. 柴田洋孝. 内科必携画像診断—原発性アルドステロン症. 内科、101(6):1652-1655, 2008
 12. 柴田洋孝. 内科必携画像診断—褐色細胞腫. 内科、101(6):1656-1659, 2008
 13. 柴田洋孝. メタボリック症候群の修飾因子としてのアルドステロン *Mebio*, 25: 72-81, 2008
 14. 柴田洋孝. 原発性アルドステロン症の治療—ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬の有用性. *ホルモンと臨床* 56:95-104, 2008
 15. 武田彩乃、柴田洋孝、栗原 勲、三石木綿子、本杉裕一郎、橋本 順、久保敦司、伊藤裕. 原発性アルドステロン症の局在診断—131I-アドステロールシンチグラムの有用性. *ホルモンと臨床* 56:75-82, 2008.
 16. 栗原 勲、柴田洋孝、伊藤 裕. 総論 ホルモンとは—産生、分泌、ホルモンレセプター、シグナル伝達 *臨床検査* 52:1097-1102, 2008
 17. 柴田洋孝. 泌尿器科医のための内分泌学事始め 副腎ホルモン *臨床泌尿器科* 63:139-146, 2009.
 18. 柴田洋孝. 原発性アルドステロン症の内科的治療. *成人病と生活習慣病* 38:1424-1431, 2008.
 19. 栗原 勲、柴田洋孝、伊藤 裕. アルドステロン産生腺腫の診断と治療. *カレントセラピー* 27:8-13, 2008.
 20. 柴田洋孝. ステロイド合成阻害薬の基礎と臨床. *カレントセラピー* 27:59-62, 2008.
 21. 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.
 22. 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
 23. 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
 24. 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
 25. 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
26. 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
 27. 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
 28. 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
 29. 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
 30. 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
 31. 柴田洋孝、伊藤 裕. 二次性高血圧—概論. 日本臨床 67: 443-449, 2009
 32. 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
 33. 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
 34. 柴田洋孝. 副腎偶発腫. 内科 104: 1237-1243, 2009
 35. 柴田洋孝. 高血圧とアルドステロン. 循環器科 66: 623-631, 2009
 36. 栗原 勲、柴田洋孝、伊藤 裕. 内分泌関連 腎と透析 67: 789-792, 2009
 37. 柴田洋孝. Cushing 症候群. 内科、105:1544-1549, 2010
 38. 柴田洋孝. Pre-clinical Cushing 症候群. 内科、105:1572, 2010
 39. 柴田洋孝. 副腎ステロイド合成酵素異常症. 内科、105:1573, 2010
 40. 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
 41. 柴田洋孝、伊藤 裕. 鉱質コルチコイド受容体の転写と Epigenetics. 最新医学、65:79-87, 2010
 42. 柴田洋孝. 質疑応答 日本医事新報, 24512: 76-77, 010
 43. 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 内分泌クリニカルカンファランス 51, 58 (春期増刊号) :151-158, 2010
 44. 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. クッシング症候群 最新医学 別冊 新しい診断と治療の ABC 二次性高血圧、p.169-179, 2008.
 2. 武田彩乃、柴田洋孝、伊藤 裕. 副腎性高血圧の機序とその対処、降圧薬の選択は? 専門医のための薬物療法 Q & A : 循環器 p.81-83, 2008.
 3. 横田健一、柴田洋孝、伊藤 裕. 異常な発汗、頭痛、動悸がともなう高血圧はなにを考慮どのような検査をするか? 専門医のための薬物療法 Q & A : 循環器 p.87-88, 2008.
 4. 三石木綿子、柴田洋孝、伊藤 裕. 低 K や高 Ca 血症を呈する高血圧、何を考慮どのような検査をするか? 専門医のための薬物療法 Q & A : 循環器 p.84-86, 2008.
 5. 柴田洋孝. 性腺疾患 (精巣疾患)、新臨床内科学, 第9版、p.825-827, 医学書院、2009
 7. 柴田洋孝. 原発性アルドステロン症、今日の治療指針 2009, p.576-578, 医学書院、2009
 8. 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見る. 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.
 9. 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
 10. 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
11. 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
 12. 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
 13. 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
 14. 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
 15. 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
 16. 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
 17. 柴田洋孝、原発性アルドステロン症：フルドコロチゾン負荷試験、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
 18. 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.
 19. 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.
 20. 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
2. 学会発表
 1. The Endocrine Society's 90th Annual Meeting (San Francisco) Relations of aldosterone-to-renin ratio and blood pressure in a hospital-based medical checkup. H.Shibata, A.Ohta, M.Murata, K.Yokota, A. Takeda-Murai, Y.Mitsuishi, I.Kurihara, H. Itoh, H.Kawabe, I.Saito
 2. 34th Meeting of the International Aldosterone Conference (San Francisco) Active renin concentration versus plasma renin activity to define aldosterone-to-renin ratio in mild to moderate hypertension. H.Shibata, A.Ohta, M.Murata, K.Yokota, A. Takeda-Murai, Y.Mitsuishi, I.Kurihara, H.Itoh, H.Kawabe, I.Saito
 3. 21st Naito Conference on Nuclear Dynamics and RNA (Yamanashi) Genetic and epigenetic regulation of mineralocorticoid receptor action by Ubc9. H.Shibata, K.Yokota, A.Murai-Takeda, I.Kurihara, Y.Mitsuishi, H.Kitagawa, S.Kato, H.Itoh
 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) 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
 5. 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 一品、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
 6. 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
 7. 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

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

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）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
9. 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
10. 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
11. 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

12. 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
13. 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
14. 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
15. 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

「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）

およびトロンボスポンジン発現」に関する研究

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】多くの癌遺伝子、癌抑制遺伝子の変異による腫瘍病変ではトロンボスポンジン（TSP1）の発現が低下している。本研究期間においてアルドステロン産生腺腫（APA）における腫瘍化に果たす TSP1 発現の意義を検討する。さらに機能亢進の機序としてアルドステロン産生刺激因子であるセロトニンに注目しセロトニン受容体（5-HT4R）の発現を検討する。

【方法】TSP-1 は APA の腺腫摘出標本から totalRNA を抽出し、各々30mg を電気泳動にてゲル上に展開した後ノーザンブロッティング法にて目的の mRNA を確認、イメージアナライザー（BAS1500）にて定量した。定量時の標準化には GAPDH を用いた。5-HT4R についても同様に、摘出組織から totalRNA を抽出し 5-HT4R mRNA 発現を real-time PCR 法にて測定した。

【結果と考察】ACTH 分泌能は APA、非機能性腺腫群ともに同程度であるため、ACTH 受容体発現の程度が ACTH の作用を強調し TSP 発現に影響している可能性がある。APA 群において TSP1 発現が低下していたことが、腫瘍増大に関与していた可能性が想定された。APA ではセロトニン受容体ファミリーの一種である 5-HT4R の発現が有意に増加しておりアルドステロン分泌刺激因子となっている。

【結論】APA 群において TSP1 発現の低下が、腫瘍増大に関与し、セロトニン受容体一種である 5-HT4R の発現亢進がアルドステロン過剰分泌を生じている。受容体アゴニストの APA の新たな診断法としての応用や、治療としての可能性を期待させるものである。

A. 目的

アルドステロン産生腺腫（APA）におけるセロトニン受容体の意義に関して十分解明されていない。本研究では 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に関しその受容体（5HT4R）を解析した。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。

B. 方法

当院において副腎腫瘍の摘出を受け組織診断にて APA と診断された12例、非機能性腺腫5例を対象として切除組織から total mRNA を抽出し 5HT4R、ACTH 受容体（ACTH-R）、アルドステロン合成酵素（CYP11B2）遺伝子の mRNA を RT-PCR 法により解析した。

C. 結果

APA では非機能性腺腫や正常副腎に比べ優位に 5HT4R、ACTH-R の発現が増加しており、

アルドステロン生合成の亢進に関与していることが明らかとなった(図1)。また腫瘍抑制因子であるTSPはAPAにおいて発現は減少していること示された。

E. 考察

以上の結果は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。今後、APAにおける5HT₄Rの診断的有効性を検討するためセロトニン刺激薬、拮抗薬を用いたアルドステロン反応を検討する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Arakawa K, Kudo T, Ikawa M, Morikawa N, Kawai Y, Sahashi K, Lee JD, Kuriyama M, Miyamori I, Okazawa H, Yoneda M. Abnormal Myocardial Energy-Production State in Mitochondrial Cardiomyopathy and Acute Response to L-Arginine Infusion. *Circ J*. 74:2702-11, 2010
2. Konoshita T, Makino Y, Kimura T, Fujii M, Wakahara S, Arakawa K, Inoki I, Nakamura H, Miyamori I. Genomic Disease Outcome Consortium Study Investigators. A new-generation N/L-type calcium channel blocker leads to less activation of the renin-angiotensin system compared with conventional L type calcium channel blocker. *J Hypertens*. 10:2156-60,2010
3. Wei H, Mi X, Ji L, Yang L, Xia Q, Wei Y, Miyamori I, Fan C. Protein kinase C-delta is involved in induction of NOX1 gene expression by aldosterone in rat vascular smooth muscle cells. *Biochemistry (Mosc)*. 75(3):304-9:2010
4. Suzuki J, Ueno M, Uno M, Hirose Y, Zenimaru Y, Takahashi S, Osuga JI,

Ishibashi S, Takahashi M, Hirose M, Yamada M, Kraemer FB, Miyamori I. Effects of hormone-sensitive lipase-disruption on cardiac energy metabolism in response to fasting and refeeding. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 297:E1115-24, 2009

5. Konoshita T, Kato N, Fuchs S, Mizuno S, Aoyama C, Motomura M, Makino Y, Wakahara S, Inoki I, Miyamori I, Pinet F; Genomic Disease Outcome Consortium (G-DOC) Study Investigators. Genetic variant of the Renin-Angiotensin system and diabetes influences blood pressure response to Angiotensin receptor blockers. *Diabetes Care*. 32:1485-90. 2009.

6. Fan C, Kawai Y, Inaba S, Arakawa K, Katsuyama M, Kajinami K, Yasuda T, Yabe-Nishimura C, Konoshita T, Miyamori I. Synergy of aldosterone and high salt induces vascular smooth muscle hypertrophy through up-regulation of NOX1. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 111(1-2):29-36, 2008

7. Ueno M, Suzuki J, Zenimaru Y, Takahashi S, Koizumi T, Noriki S, Yamaguchi O, Otsu K, Shen WJ, Kraemer FB, Miyamori I. Cardiac overexpression of hormone-sensitive lipase inhibits myocardial steatosis and fibrosis in streptozotocin diabetic mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 294:E1109-18, 2008

8. Zenimaru Y, Takahashi S, Takahashi M, Yamada K, Iwasaki T, Hattori H, Imagawa M, Ueno M, Suzuki J, Miyamori I. Glucose deprivation accelerates VLDL receptor-mediated TG-rich lipoprotein uptake by AMPK activation in skeletal muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 368:716-22, 2008

2. 学会発表

1. Isamu Miyamori, Miki Fujii, Isao Inoki, Satoru Inaba, Shigehiro Karashima, Takashi Yoneda and Yoshiyu Takeda. Analysis of

Serotonin receptor (5-HT4R) expression in
Aldosterone Producing Adenoma 第14回国
際内分泌学会 京都 平成22年

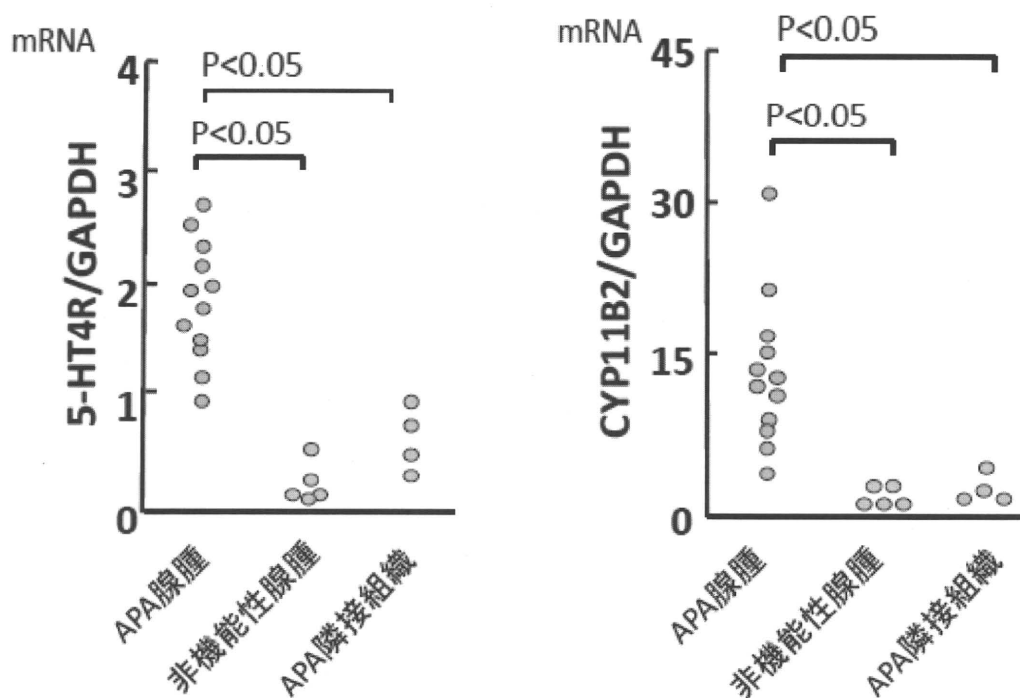
- なし
- 2. 実用新案登録
なし
- 3. その他
なし

【知的財産権の出願・登録状況】

(なし)

- 1. 特許取得

図1. 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



(5) ステロイド作用に関わる受容体とその異常の解析

MR 新規共役因子の探索

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】

ミネラルコルチコイド受容体 MR を介するリガンド依存的な転写抑制機構に関しては、依然として不明な点が多い。我々は、これまでに MR と結合し転写を制御する因子 p120、p130、p140 を生化学的に同定することに成功し、その機能解析を進めてきた。そのうち、p120 はエピゲノム制御メカニズムを介して MR 転写を制御していることが判明した。

A. 研究目的

近年、多くの大規模臨床研究の結果から、心不全や高血圧といった循環器系疾患の病態生理にミネラルコルチコイド受容体 (MR) の活性化が非常に重要な役割を担うことが明らかとなっており、現在これらの疾患を治療する上で MR 作用を制御することは必須となっている。さらに、酸化ストレスや糖尿病、血管内皮機能障害などにおいても、MR の活性化が病態の増悪因子となることが判明しており、MR の作用メカニズム解明の必要性はますます高まっている。MR は核内受容体に属する蛋白質であり、リガンド依存性に標的遺伝子の発現を制御する転写制御因子として働く。転写の場においては、転写共役因子と呼ばれるさまざまな蛋白質が複合体を形成し、ヒストン修飾酵素としてヌクレオソームの構成単位であるヒストン蛋白質をアセチル化、メチル化など修飾することでヌクレオソーム間の相互作用を緩めたり、クロマチン構造変換に関与する複合体蛋白質群として、クロマチンリモデリングを起こすことで遺伝子発現を制御していると考えられる。このようなゲノム情報によらない遺伝子調節発現制御機構を近年ではエピゲノムと総称し、エストロゲン受容体 ER やアンドロゲン

受容体 AR など他の核内受容体で、癌を初めとする多くの疾患の病態生理の中心的な役割を担うことが判明している。一方、MR に関するエピゲノム制御機構はいまだ報告がなく未知のままである。そこで本研究では、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 2 つのアプローチから試みた。すなわち、①HEK293 細胞を大量培養し、生化学的手法を用いて核抽出液を取得したのち、大腸菌から合成した GST-MR 蛋白質と反応させることで MR 結合因子の取得を目指した。②FLAG 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 MALDI-TOF/MS もしくは 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) ルンフェラーゼ(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) HEK293 細胞における免疫染色により、得られた因子の細胞内局在および MR との共局在を検討した。

6) FLAG タグを付けた MR 結合候補蛋白質を安定発現する 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 もしくは LC-MS/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。

7) 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。

C. 研究結果と考察

GST-MR を用いた精製により、新規 MR 結合因子 p120 を同定した。また FLAG-MR 安定発現細胞を用いた精製により、同様に 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。次に、p120 を MR とともに HEK293 細胞に過剰発現させ、免疫染色により細胞内局在を観察したところ、p120 は核に存在し、アルドステロン存在下で MR と核において共局在することが明らかとなった。

そこで 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。

E. 結論

MR を介したリガンド依存的な転写制御において、p120、p130、p140 といった転写共役因子が MR と結合し、転写を制御していることがあきらかとなった。このうち P120 はエピゲノム制御メカニズムを介して MR 転写を制御していることが判明した。

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., 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- κ 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.
- Oya, H., Yokoyama, A., Yamaoka, I., Fujiki, R., Yonezawa, M., Youn, M.-Y., Takada, I., Kato, S. and Kitagawa, H.: Phosphorylation of WSTF by MAPK induces a switching between two distinct chromatin remodeling complexes. *J. Biol. Chem.* 284, 32472-32482, 2010.
- Kim, M., Kondo, T., Takada, I., Youn, M., Yamamoto, Y., Takahashi, S., Matsumoto, T., Fujiyama, S., Shirode, Y., Yamaoka, I., Kitagawa H., Takeyama, K., Shibuya, H., Ohtake, F. and Kato, S.: DNA demethylation in hormone-induced transcriptional derepression. *Nature* 461, 1007-1012, 2009.
- Fujiki, R., Chikanishi, T., Hashiba, W., Ito, H., Takada, I., Roeder, R. G., Kitagawa, H. and Kato, S.: GlcNAcylation of a histone methyltransferase in retinoic-acid-induced granulopoiesis. *Nature* 459, 455-459, 2009.
- Yamagata, K., Fujiyama, S., Ito, S., Ueda, T.,

- Murata, T., Naitou, M., Takeyama, K., Minami, Y., O'Malley, B. W. and Kato, S.: Maturation of microRNA is hormonally regulated by a nuclear receptor. *Mol. Cell* 36, 340-347, 2009.
- Zhao, Y., Takeyama, K., Sawatsubashi, S., Ito, S., Suzuki, E., Yamagata, K., Tanabe, M., Kimura, S., Fujiyama, S., Ueda, T., Murata, T., Matsukawa, H., Shirode, Y., Kouzmenko, A. P., Li, F., Tabata, T. and Kato, S.: Corepressive action of CBP on androgen receptor transactivation in pericentric heterochromatin in a *Drosophila* experimental model system. *Mol. Cell. Biol.* 29, 1017-1034, 2009.
- Kouzu-Fujita, M., Mezaki, Y., Mtsumoto, T., Yamaoka, I., Sawatsubashi, S., Yano, T., Taketani, Y., Kitagawa, H. and Kato, S.: Co-activation of ER β by a gonadotropin-induced cofactor. *Mol. Cell. Biol.* 29, 83-92, 2009.
- Imai, Y., Kondoh, S., Kouzmenko, A. and Kato, S.: Regulation of bone metabolism by nuclear receptors. *Mol. Cell. Endocrinol.* 310, 3-10, 2009.
- Yoshimura, K., Kitagawa, H., Fujiki, R., Tanabe, M., Takezawa, S., Takada, I., Yamaoka, I., Yonezawa, M., Kondo, T., Furutani, Y., Yagi, H., Yoshinaga, S., Masuda, T., Fukuda, T., Yamamoto, Y., Ebihara, K., Li, D. Y., Matsuoka, R., Takeuchi, J. K., Matsumoto, T. and Kato, S.: Distinct function of 2 chromatin remodeling complexes that share a common subunit, Williams syndrome transcription factor (WSTF). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 9280-9285, 2009.
- Suzuki, E., Zhao, Y., Ito, S., Sawatsubashi, S., Murata, T., Furutani, T., Shirode, Y., Yamagata, K., Tanabe, M., Kimura, S., Ueda, T., Fujiyama, S., Lim, J., Matsukawa, H., Kouzmenko, A. P., Aigaki, T., Tabata, T., Takeyama, K. and Kato, S.: Aberrant E2F activation by polyglutamine expansion of androgen receptor in SBMA neurotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 3818-3822, 2009.
- Imai, Y., Nakamura, T., Matsumoto, T., Takaoka, K. and Kato, S.: Molecular mechanisms underlying the effects of sex steroids on bone and mineral metabolism. *J. Bone Miner. Metab.* 27, 127-130, 2009.
- Fujiyama-Nakamura, S., Ito, S., Sawatsubashi, S., Yamauchi, Y., Suzuki, E., Tanabe, M., Kimura, S., Murata, T., Isobe, T., Takeyama, K. and Kato, S.: BTB protein, dKLHL18/CG3571, serves as an adaptor subunit for a dCul3 ubiquitin ligase complex. *Genes to Cells* 14, 965-973, 2009.
- Ohtake, F., Fujii-Kuriyama, Y. and Kato, S.: AhR acts as an E3 ubiquitin ligase to modulate steroid receptor functions. *Biochem. Pharmacol.* 77, 474-484, 2009.
- Takada, I., Kouzmenko, A. P. and Kato, S.: Wnt and PPAR γ signaling in osteoblastogenesis and adipogenesis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 5, 442-447, 2009.
- Takada, I., Kouzmenko, A. P. and Kato, S.: Molecular switching of osteoblastogenesis versus adipogenesis: implications for targeted therapies. *Expert Opin. Ther. Targets.* 13, 593-603, 2009.