

の既報では CYP11B2 との関連が報告されているが、SNP 既報の SNP のみならず、今後新たにゲノムワイド解析や関連の遺伝子のダイレクトシーケンスによる新規 SNP を検索する。対照の設定は、高血圧群および一般住民集団とする。

(倫理面への配慮)

ヘルシンキ宣言、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成 20 年 12 月 1 日一部改正)に基づき実施する。特に、「個人情報保護の方法及び個人情報管理者」、「試料等の保管・管理方法」、「試料等の廃棄方法およびその際の匿名化の方法」については十分に留意する。

2. 原発性アルドステロン症の血圧日内変動に関する検討

PA を診断された当院入院患者を対象に、診療録から 24 時間血圧(ABPM)を含むデータを収集した。ABPM は、30 分間隔の設定で計測し、昼間の平均血圧より夜間の平均血圧の降圧が 10%未満の場合に夜間非降下型(non-dipper)と判定した。

C. 研究結果

1. 原発性アルドステロン症の遺伝素因の解明

当センター倫理委員会に倫理申請書類を提出し、2011 年 5 月に承認を得た(研究課題番号 M23-15)。収集作業を効率的に進めるために、当センターでのバイオバンクと共同で行うこととし、研究計画に変更を行い、2011 年 12 月に承認を得て(研究課題番号 M23-15-2)、現在収集作業を進行中である。

2. 原発性アルドステロン症の血圧日内変動に関する検討

動に関する検討

56 名(男性 25 名、平均 62.9±10.5 歳)を対象に検討したところ、24 時間の平均血圧は 143.9±16.2/ 85.4±11.7 mmHg、日中の平均血圧は 145.8±15.8/ 87.0±11.4 mmHg、夜間血圧は 140.2±19.4/ 82.2±13.3 mmHg であった。また、11 名(20%)が 3 種類以上の降圧薬を処方されており、46 名(82%)が non-dipper であった。

D. 考察

これまで、PA の夜間降圧は、正常であるとする報告¹⁻³と減弱しているとする報告⁴⁻⁶があり、一定の見解が得られていない。今回の検討の結果、減塩食下の入院中で大部分は降圧薬の投与を受けているという条件であるが、PA にはコントロール不良高血圧や non-dipper の頻度が多かった。PA には心血管系疾患や腎障害を合併することが多いことが知られているが、その発症機序の一つとして夜間降圧の減弱がある可能性が示唆された。

E. 結論

PA の血圧日内変動に関する検討では、コントロール不良高血圧や夜間降圧の減弱している頻度が多いことを明らかにした。遺伝素因の解明についての検討は進行中であるが、今後、同疾患の遺伝素因の関与を明らかにし、遺伝子解析を導入することでより正確で簡便な診断方法の確立を目指したい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

- 52 Kawano Y, Ogihara T, Saruta T, Goto Y, Ishii M: Association of blood pressure control and metabolic syndrome with cardiovascular risk in elderly Japanese: JATOS study. *Am J Hypertens.* 24, 1250-6, 2011.
- 53 Yamazaki D, Tabara Y, Kita S, Hanada H, Komazaki S, Naitou D, Mishima A, Nishi M, Yamamura H, Yamamoto S, Kakizawa S, Miyachi H, Yamamoto S, Miyata T, Kawano Y, Kamide K, Ogihara T, Hata A, Umemura S, Soma M, Takahashi N, Imaizumi Y, Miki T, Iwamoto T, Takeshima H: TRIC-A channels in vascular smooth muscle contribute to blood pressure maintenance. *Cell Metab.* 14, 231-41, 2011.
- 54 Kawano Y: Salt intake in children. *Hypertens Res.* 34, 797-8, 2011.
- 55 Kamide K, Kokubo Y, Yang J, Takiuchi S, Horio T, Matsumoto S, Banno M, Matayoshi T, Yasuda H, Miwa Y, Yoshihara F, Nakamura S, Nakahama H, Iwashima Y, Oguro R, Ohishi M, Rakugi H, Okamura T, Miyata T, Kawano Y. Association of intima-media thickening of carotid artery with genetic polymorphisms of the regulator of G-protein signaling 2 gene in patients with hypertension and in the general population. *Hypertens Res.* 34, 740-6, 2011.

- 56 Kawano Y: Diurnal blood pressure variation and related behavioral factors. *Hypertens Res.* 34, 281-5, 2011.
- 57 Iwashima Y, Horio T, Suzuki Y, Takagi T, Kamide K, Ohishi M, Ogihara T, Yoshikawa J, Kawano Y, Rakugi H: Impact of concomitant diabetes and chronic kidney disease on preload-induced changes in left ventricular diastolic filling in hypertensive patients. *J Hypertens.* 29, 144-53, 2011.
- 58 岩嶋義雄、河野雄平: 原発性アルドステロン症の診断と治療は JSH2009 で良いか? 循環器内科. 70, 389-94, 2011.

学会発表

- 1 河野雄平: 高血圧治療: 治療抵抗性高血圧への対処. 平成 23 年度日本内科学会生涯教育講演会, 2011 (10) 福岡 (教育講演).
- 2 河野雄平: 高血圧の食事療法: 効果と限界. 第 34 回日本高血圧学会総会, 2011 (10) 宇都宮 (シンポジウム).
- 3 Kawano Y: Salt, hypertension, and cardiovascular disease. Autumn Scientific Meeting of the Korean Society of Hypertension 2011, 2011 (11) Busan, Korea (Plenary lecture).

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究協力者

庄・腎臓科)

岩嶋義雄（国立循環器病研究センター高血

**原発性アルドステロン症の診断法に関する研究
： PA 診断のための各種機能確認検査に対する年齢の影響**

研究分担者 神出 計 大阪大学大学院医学系研究科 老年・腎臓内科学 講師
研究協力者 中間 千香子 大阪大学大学院医学系研究科 老年・腎臓内科学 医員
研究協力者 大石 充 大阪大学大学院医学系研究科 老年・腎臓内科学 講師
研究協力者 楽木宏実 大阪大学大学院医学系研究科 老年・腎臓内科学 教授

研究要旨

我々は原発性アルドステロン症(PA)の遺伝素因を明らかにするために昨年度、当大学倫理委員会に PA の遺伝子・組織解析の申請を行ない承認を受けた(原発性アルドステロン症遺伝素因の解明□承認番号 295)。本年度は本研究を推進すべく PA 患者より血液・組織サンプル収集を行った。現在 36 名(平均年齢 57.3±14 歳、男女比 16:20)の PA 患者から解析の承認を得てサンプル収集している。副腎腺腫摘出術を今年施行した 4 例については手術時副腎組織サンプルを得た。昨年以前に手術を行った症例は病理に保存してある標本から未染色標本を病理で解析用に作成した。血液サンプルは DNA, RNA を採取しておりゲノム網羅的解析ならびに遺伝子の末梢血での発現解析を予定している。臨床的な検討としては、PA 診断における機能確認検査についてその診断率ならびに高齢 PA 患者における検査の問題点につき検討した。

A. 研究目的

PA の診断過程で、スクリーニング検査で陽性であればアルドステロンの自律性分泌を証明するための機能的確認検査として、カプトプリル負荷試験、フロセミド立位負荷試験、生理食塩水負荷試験の 3 種類がもっとも一般的な検査である。カプトプリル負荷試験は簡便であるため外来でも施行可能である。特異度は若干低いが感度が優れているため 3 種類の検査の中ではもっとも頻用されている。日本高血圧学会治療ガイ

ドライン、日本内分泌学会ガイドラインともに専門医療機関へ紹介する前にカプトプリル負荷試験を可能であれば施行することを推奨している。フロセミド立位負荷試験は感度、特異度がやや劣り、身体的負担も少なくない。生理食塩水負荷試験は欧米で汎用されており、感度、特異度ともに高い。しかしながら検査時間が長く、心機能・腎機能低下例では適さない。これら 3 つの検査を少なくとも 1 つ、できれば 2 つ以上(日本内分泌学会ガイドライン)施行の上、局在

診断を行うとされている。当科では、以下の方法で機能確認検査を施行している。原則入院にて施行する。カプトプリル負荷検査、生理食塩水負荷、フロセミド立位負荷検査を行い、それら3つのうち2つがPAに合致すればアルドステロンの自律性分泌ありと判定する。それぞれの検査の判定基準は、

・カプトプリル負荷検査：カプトプリル50mgを内服後、60分後のARR>200以上を陽性とする。

・生理食塩水負荷検査：2000mlの生理食塩水を4時間かけて点滴静注、4時間後のPAC>85pg/mlを陽性とする。

・フロセミド立位負荷検査：フロセミド40mg静注、2時間立位を維持。2時間後のPRA<2.0ng/ml/hrを陽性とする。

を用いている。

当科での各種負荷試験の診断率の比較において、3種の負荷試験の診断率は生食負荷、カプトプリル負荷、フロセミド立位負荷の順に良好であった。また生食負荷ではアルドステロン産生腺腫(APA)では殆ど負荷後100pg/ml以上、特発性アルドステロン過形成(IHA)では100を超える症例は少ないといったことから病型診断もある程度可能と考えている。

これらの負荷試験施行前には心機能・腎機能の評価なたびに血清Kモニターが欠かせない。フロセミド立位負荷では脱水、低血圧、ふらつき、転倒のリスクがあり注意を要する。これらの負荷試験の判定には血漿レニン活性、アルドステロン濃度を用いるため年齢の影響を受けることが予測される。一般に高齢者では食塩感受性が亢進することから低レニン・低アルドステロンを

示すと考えられており、これらの負荷試験への年齢の影響を検討することは意義が大きいと考えられる。

B. 研究方法

最近2年間に当科入院し、スクリーニングの血漿アルドステロン濃度・レニン活性比(PAC/PRA比:ARR)が200以上を示したためPAが疑われ、各種機能確認検査(カプトプリル負荷、生理食塩水負荷、フロセミド立位負荷)を行った37症例中、機能的PAと診断された22例(平均年齢53.7歳、男性11例、女性11例)を対象とした。非高齢者群(60歳未満)14例(平均年齢44.4歳)、高齢者群(60歳以上)8例(平均年齢70.0歳)で負荷試験の結果につき、比較・検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は診療の中で得られた情報をもとに後ろ向きに解析されており研究対象者に不利益が生じることはない。個人情報の管理については個人を特定できるIDなどデータベースには含めることなく情報の漏えいがないよう万全を期して行っている。研究は「疫学研究に関する倫理指針(平成14年6月17日)」を厳守して行われた。

C. 研究結果

負荷試験前のPRA(ng/ml/hr)は、非高齢者群 0.37 ± 0.23 、高齢者群 0.18 ± 0.12 (p値=0.0367)、PAC(pg/ml)は非高齢者群 220.7 ± 78.2 、高齢者群 189.1 ± 114.2 (p値=0.4495)、ARRは非高齢者群 1122.8 ± 1139.9 、高齢者群 1323.4 ± 1066.4 (p値=0.6890)と、PRAは高齢者において有意に低値であった。カプトプリル負荷試験では、60分後ARRにお

いて非高齢者群 855.7 ± 1002.8 、高齢者群 1217.7 ± 966.0 (p 値=0.425)と有意な差を認めなかった。生理食塩水負荷試験では、負荷後 PAC が非高齢者群 165.6 ± 95.8 、高齢者群 82.9 ± 37.7 (p 値=0.0342)と高齢者で有意に低値を示した。フロセミド立位負荷試験では、負荷後 PRA が非高齢者群 0.61 ± 0.35 、高齢者群 0.20 ± 0.10 (p 値=0.081)と高齢者において PRA 低値の傾向を示した。

D. 考察

高齢 PA 患者において、フロセミド立位負荷試験後の PRA 低値となる傾向が認められ、生理食塩水負荷試験後の PAC は有意に低値を示した。高齢者では、元来 PRA 低値の傾向があり、PRA で評価するフロセミド立位負荷試験において、陽性となりやすい可能性が示唆された。また生理食塩水負荷後では有意に高齢者群で PAC が低値を示したことから、食塩感受性などが生理食塩水負荷試験の結果に影響を及ぼしている可能性が考えられた。高齢者の PA 診断においては、年齢が負荷試験に影響を及ぼす可能性が示唆されるため、複数の機能確認検査を行い、総合的に診断をつける必要があると思われる。

E. 結論

一般に高齢者では食塩感受性が亢進することから低レニン・低アルドステロンを示すと考えられており、これらの負荷試験への年齢の影響を検討することは意義が大きいと考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Popov S, Silveira A, Wågsäter D, Oguro R, Matsumoto S, Sugimoto K, Kamide K, Hirose T, Satoh M, Metoki H, Kikuya M, Ohkubo T, Katsuya T, Rakugi H, Imai Y, Sanchez F, Leosdottir M, Syvänen A-C, Hamsten A, Melander O, Bertorello AM.: A genetic variation in salt-inducible kinase 1 influences Na⁺,K⁺-ATPase activity in vascular smooth muscle cells and associates with variations in blood pressure. J Hypertens 29:2395-2403, 2011.

学会発表

1. 神出 計、大石 充、楽木宏実： 原発性アルドステロン症の診療ガイドラインの意義と課題：各種負荷試験での診断率の比較 第 84 回日本内分泌学会学術総会 クリニカルアワー 平成 23 年 4 月 21 日 神戸
2. 中間千香子、神出 計、他：原発性アルドステロン症診断のための各種機能確認検査に対する年齢の影響 第 34 回日本高血圧学会総会 平成 23 年 10 月 20 日 宇都宮

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

高アルドステロン血症における血圧制御機構に関する研究

研究分担者 江本憲昭 神戸薬科大学 臨床薬学研究室 教授

研究要旨

HSD3B1 高発現によるアルドステロン症における血圧上昇メカニズムとして、腎集合管におけるナトリウムおよび水の再吸収亢進に伴う食塩感受性高血圧に加え、皮膚におけるリンパ管増殖を介した血圧上昇抑制作用の破綻の可能性についてモデルマウスを用いて検討した。その結果、マウスの HSD3B1 に相当する酵素を高発現している Cry 欠損マウスでは、高食塩負荷による血圧上昇時に皮膚でのマクロファージの増殖およびリンパ管密度の増加が認められず、血圧上昇に対する緩衝作用が働いていないことが示された。これらの結果はアルドステロン症の新たな病態の解明と新規治療法の開発につながる可能性がある。

A. 研究目的

アルドステロン症での血圧上昇作用は腎集合管におけるナトリウムおよび水の再吸収亢進に伴う食塩感受性高血圧と考えられている。最近、ナトリウムが皮膚においてリンパ管の増殖を促し、血圧上昇の緩衝作用をもたらしていることが示された。そこで、本研究ではリンパ管の増殖に伴う血圧上昇抑制作用の破綻がアルドステロン症における血圧上昇作用に関与しているという仮説をたて、HSD3B1 に相当する酵素が高発現しているモデルマウスを用いてこれを検証した。

B. 研究方法

10～12 週齢の野生型マウスおよび

HSD3B1 に相当する酵素が高発現している Cry 欠損マウスを正常食塩食および高食塩食で 20 週間飼育した。血圧測定後に屠殺し、皮膚におけるマクロファージを F4/80 を用いた免疫染色、またリンパ管を LYVE を用いた免疫染色で定量化した。

（倫理面への配慮）

現時点ではマウスを用いた研究の段階にあるため、ヒトの臨床研究には該当しない。

C. 研究結果

高食塩負荷 20 週後、野生型マウスでは血圧に有意な変化は認められなかったが、Cry 欠損マウスでは、正常食塩負荷マウスに比較し血圧が有意に上昇した。高食塩食 20 週

後、野生型マウスでは皮膚のマクロファージ数の増加に伴いリンパ管密度が増えた。一方 Cry 欠損マウスでは、マクロファージ数は増加せずリンパ管の密度も変化しなかった。

D. 考察

高食塩負荷の状態では皮膚においてマクロファージ数が増加し、リンパ管密度が増加することによって、体液の緩衝作用をもたらし、血圧の上昇を抑制する。Cry 欠損マウスでは、この高食塩に対する皮膚の血圧上昇抑制作用が障害されていることが明らかとなった。今後、この分子機構を検討することによりアルドステロンを介した古典的な経路以外に、皮膚における血圧制御機構が明らかになることが期待される。

E. 結論

HSD3B1 異常に伴う原発性アルドステロン症での高血圧発症メカニズムにおいて、皮膚のマクロファージおよびリンパ管を介した新たな分子機序が明らかになる可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1 Anggraeni VY, Emoto N, Yagi K, Mayasari DS, Nakayama K, Izumikawa T, Kitagawa H, Hirata KI. Correlation of C4ST-1 and ChGn-2 expression with chondroitin sulfate chain elongation in atherosclerosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 406,

36-41, 2011.

2 Vignon-Zellweger N, Heiden S, Emoto N. Renal Function and Blood Pressure: Molecular Insights into the Biology of Endothelin-1. *Contributions to Nephrology* 172, 18-34, 2011.

3 Fukuda Y, Tanaka H, Sugiyama D, Norisada K, Tatsumi K, Onishi T, Fukuya H, Nogami M, Ohno Y, Emoto N, Kawai H, Hirata KI. Utility of Right Ventricular Free Wall Speckle Tracking Strain for Evaluation of Right Ventricular Performance in Patients with Pulmonary Hypertension. *J Am Soc Echocardiogr.* 24, 1101-1108, 2011.

4 Tawaramoto K, Kotani K, Hashiramoto M, Kanda Y, Nagare T, Sakaue H, Ogawa W, Emoto N, Yanagisawa M, Noda T, Kasuga M, Kaku K. Ablation of 3-Phosphoinositide-Dependent Protein Kinase 1 (PDK1) in Vascular Endothelial Cells Enhances Insulin Sensitivity by Reducing Visceral Fat and Suppressing Angiogenesis. *Mol Endocrinol.* 26, 95-109, 2011.

5 Vignon-Zellweger N, Heiden S, Miyauchi T, Emoto N. Molecular Biology of Endothelin-1 in the Renal and Cardiovascular Systems. *Life Sci. in press*, 2012

6 Adiarto S, Heiden S, Vignon-Zellweger N,

Nakayama K, Yagi K, Yanagisawa M, Emoto N. ET-1 from endothelial cells is required for complete angiotensin II-induced cardiac fibrosis and hypertrophy. *Life Sci. in press*, 2012

Meeting of the Japanese Circulation Society, March 16-18, Fukuoka, 2012

- 7 江本憲昭 : 生体時計と血圧調節, 血圧 18 (11), 1073-1077, 2011.
- 8 江本憲昭: 時計機構の異常と心血管疾患, 心臓 43, 150-153, 2011

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

学会発表

- 1) Dwi AN, Emoto N., et al. Cryptochrome Null Mice as Mice Model for Primary Hyperaldosteronism. 第 34 回日本高血圧学会総会、2011 年 10 月 20 日-22 日、宇都宮
- 2) Dwi AN, Emoto N., et al. Lymphatic Capillary Density Increase on Salt Treated Hyperaldosteronism Mice Restrain Hypertension Development. The 76th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, March 16-18, Fukuoka, 2012
- 3) Emoto N. トピックス 体内時計と循環器疾患 The 76th Annual Scientific

HSD3B1 遺伝子多型と原発性アルドステロン症に関する研究

研究分担者 岡村 均 京都大学大学院薬学系研究科 システムイオロジー分野 教授

研究協力者 土居雅夫 京都大学大学院薬学系研究科 システムイオロジー分野 准教授

研究要旨

原発性アルドステロン症には大きく分けて腫瘍性（APA）と特発性（IHA）という2つの異なる病変が存在する。片側性の病変であるAPAに対し、非腫瘍性のIHAは両側性であり、特発性という名の通り、いまだその病因は特定されていない。ヒトのHSD3B（ 3β 水酸化ステロイド脱水素酵素）にはHSD3B1とHSD3B2の二種のアイソザイムがあり、これまで副腎ではHSD3B2のみが存在するとされてきたが、私共は最近、副腎皮質のアルドステロン産生細胞（球状層）においては従来のHSD3B2とともに「分子時計によって制御されるHSD3B1」が強く発現することを明らかにした（Nature Med., 2010）。リズム障害によって高アルドステロン血症を引き起こすのはこの球状層のHSD3B1だと考えられ、またこれまで原因の不明であった特発性アルドステロン症においてもこの新型のHSD3B1が病態に深く関与する可能性が考えられた。そこで本研究では、原発性アルドステロン症の2大病変であるAPAとIHAの原因究明ならびに鑑別診断を目的とし、HSD3B1とHSD3B2の違いを判別することのできる特異的モノクローナル抗体の作成に取りかかった。GANPマウスを利用した高親和性抗体作製技術を用いた結果、昨年度樹立に成功したHSD3B1特異抗体に引き続き、今年度は新たにHSD3B2に対する特異的抗体を取得することに成功した。

A. 研究目的

興味深いことに、特発性アルドステロン症患者の球状層細胞ではPan-HSD3B抗体（本研究分担者である東北大学笹野教授作製）に対する免疫陽性反応が亢進している。ところがこのHSD3Bの正体を特定するにはヒトの2種のアイソザイムの極度の構造的類似性が障害となっていた（図1）。この課題を克服するためには、HSD3B1と

HSD3B2のそれぞれに対して、両者の微少なアミノ酸配列の違いを識別することのできるサブタイプ特異的抗体を樹立する必要がある。HSD3B1に対する特異的モノクローナル抗体については昨年度樹立することに成功したので、その成果に引き続き今年度はHSD3B2に対する抗体の作製に挑戦した。

B. 研究方法

GANP マウスを利用した高親和性抗体作製法を用いて HSD3B2 に特異的なモノクローナル抗体の作成を行った。抗原としてヒト HSD3B2-GST 融合蛋白質を調製し、GANP マウスに免疫を行った。ELISA 法を用いて抗血清の力価上昇を確認した後、脾臓抗体産生細胞を摘出し、ミエローマ細胞と融合させてハイブリドーマを作製した。HSD3B2 特異的クローンを選出するため、ハイブリドーマの培養上清を用いて HSD3B2-GST に対し陽性かつ HSD3B1-GST に対して陰性となるクローンを ELISA によりスクリーニングし、その結果、HSD3B2 に特異的な陽性有望クローン (12E4) を得た。本クローンのサブタイプ特異性を裏付けるため、HSD3B1 と HSD3B2 を異所的に発現させた培養細胞の抽出液を用いてウェスタンブロット解析を行った。なお、この際、抗体の特異性を比較する上で、HSD3B1 と HSD3B2 を共に認識する Pan-HSD3B 抗体 (東北大学笹野教授作製) と昨年度作出した HSD3B1 特異的モノクローナル抗体 (4B15) を対照に用いた。

(倫理面への配慮)

現時点ではマウスを用いた抗体作製の段階にあるため、ヒトの臨床研究には該当しない。

C. 研究結果

我々が今回作出したモノクローナル抗体 (12E4) は HSD3B2 を特異的に認識する抗体であることが分かった (図 2)。すなわち、本抗体を用いてウェスタンブロット解析を行った結果、本抗体は、HSD3B2 (HA タグ

付き) を異所的に発現させた細胞の抽出液において当該蛋白質に相当する約 41kDa のバンドと特異的に反応することが分かった。これに対し、HSD3B2 ではなく HSD3B1 (同様に HA タグ付き) を異所発現させた場合には陽性バンドは検出されなかった。HA 抗体を用いてウェスタンブロットを行うと、HSD3B2 は HSD3B1 と同程度の発現が認められたため、今回我々が作出したモノクローナル抗体は HSD3B2 ではなく HSD3B1 を特異的に認識することが分かった。これに対し、従来から病理解析に用いられていた Pan-HSD3B 抗体を用いてウェスタンブロットを行ったところ、この抗体は、当初の予想通り、HSD3B1 と HSD3B2 のどちらともを同程度認識することが分かった。また、我々が昨年度樹立に成功した HSD3B1 抗体 (4B15) は、HSD3B2 に特異的な上述の 12E4 抗体とは対照的に、HSD3B2 には反応せず HSD3B1 のみを特異的に認識することが分かった。

D. 考察

これまで病理解析に広く用いられてきた Pan-HSD3B 抗体は、HSD3B1 と HSD3B2 のサブタイプの違いを区別することができない。これに対し、我々が GANP マウスを用いて開発した HSD3B1 ならびに HSD3B2 特異的モノクローナル抗体を用いれば、これまで不可能であったサブタイプ別の病理検査を行うことができると思われる。

E. 結論

昨年度の HSD3B1 に引き続き、今年度は HSD3B2 に対する特異的モノクローナル抗体を樹立することに成功した。これによっ

て今後、原発性アルドステロン症の新たな病理検査の可能性が広がったといえる。すなわち、原発性アルドステロン症の患者から切除された副腎腫瘍（APA）、副腎過形成組織（IHA）、および対照群として腎癌などで合併切除された副腎組織におけるHSD3B1ならびにHSD3B2の発現状態を免疫組織学的に検査することによって、本症の病態の理解が進み、HSD3Bサブタイプをもとにした新たな診断・分類法が樹立される可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

- 1 Okamura H, Doi M, Yamaguchi Y, Fustin JM: Hypertension due to loss of clock: novel insight from the molecular analysis of Cry1/Cry2-deleted mice. *Curr Hypertens Rep.* 13(2):103-108, 2011. (PMID: 21286865)
- 2 Imanishi M, Nakamura A, Doi M, Futaki S, Okamura H. Control of circadian phase by an artificial zinc finger transcription regulator. *Angew Chem Int.* 50(40): 9396-9399, 2011. (doi: 10.1002/anie.201103307. Published on line at 2011 Sep 8)
- 3 Ota T, Fustin JM, Yamada H, Doi M, Okamura H. Circadian clock signals in the adrenal cortex. *Mol Cell Endocrinol.* 349(1):30-37, 2011. (PMID:21871948.

Published on line at 2011 Aug 19)

- 4 Sato M, Mizoro Y, Atobe Y, Fujimoto Y, Yamaguchi Y, Fustin JM, Doi M, Okamura H: Transportin 1 in the mouse brain: appearance in regions of neurogenesis, cerebrospinal fluid production/sensing, and circadian clock. *J. Comp. Neurol.*, 519(9):1770-1780, 2011. (doi: 10.1002/cne.22600)
- 5 Tanaka R, Tainaka M, Mizuguchi N, Kato H, Urabe S, Chen Y, Fustin J-M, Yamaguchi Y, Doi M, Hamada S, Okamura H: Accurate determination of S-phase fraction in proliferative cells by dual fluorescence and peroxidase immunohistochemistry with 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) and Ki67 antibodies. *J. Histochem. Cytochem.* 59(8): 791-798, 2011. (Published on line at 2011 May 6. PMID: 21551319).
- 6 Doi M, Ishida A, Miyake A, Sato M, Komatsu R, Yamazaki F, Kimura I, Tsuchiya S, Kori H, Seo K, Yamaguchi Y, Matsuo M, Fustin JM, Tanaka R, Santo Y, Yamada H, Takahashi Y, Araki M, Nakao K, Aizawa S, Kobayashi M, Obrietan K, Tsujimoto G, Okamura H: Circadian regulation of intracellular G-protein signalling mediates intercellular synchrony and rhythmicity in the suprachiasmatic nucleus. *Nat Commun.* 2:327, 2011. (PMID: 21610730)

- 7 岡村 均:生体時計による血圧調節のメカニズムー新たな高血圧治療薬の開発に向けて、ファルマシア、46(12)、1125-1129、2011.
- 8 岡村 均、土居雅夫:生体リズムと高血圧、Annual review 2011 糖尿病・代謝・内分泌、寺内康夫、石橋俊、伊藤裕編、pp159-pp170、中外医学社、2011.
- 9 岡村 均、土居雅夫:生体リズム異常とアルドステロン産生過剰を伴う高血圧、Annual review 2011 循環器、山口徹、高本眞一、小室一成、佐地勉編、p73-p80、中外医学社、2011.
- 10 岡村 均:はじめに、特集:体内時計と疾病(企画/岡村均)、医学のあゆみ、239(9)、873-875、2011.
- 11 田井中元美、岡村 均:生体リズムと発癌の分子機構、特集:体内時計と疾病(企画/岡村均)、医学のあゆみ、239(9)、891-896、2011.
- 12 岡村 均:視交叉上核の異常と周期性の謎、特集:体内時計と疾病(企画/岡村均)、医学のあゆみ、239(9)、912-914、2011.
- 13 岡村 均、土居雅夫:生体リズムと高血圧、日本臨牀、70(2):339-347、2012.
- the world congress of chronobiology in Puebla (Mexico), May 5-9, 2011.
- 2 Okamura H. Dysregulated, cell-specific ccg's lead to disease. In Gordon Research Conference on Chronobiology, Il Ciocco in Lucca (Barga), Italy, June 12 -17, 2011.
- 3 Okamura H. Clock and renin angiotensin aldosterone system in adrenal gland and kidney. In 2011 APS Conference: 7th International Symposium on Aldosterone and the ENaC/Degenerin Family of Ion Channels: Molecular Mechanisms and Pathophysiology, Pacific Grove, CA, USA, September 18—22, 2011.
- 4 岡村 均: (特別講演) 岡村 均: (教育講演) 時計遺伝子と疾病、日本炎症・再生学会、京都(京都国際会議場)、2011年6月3日
- 5 岡村 均: (特別講演) 分子より見た生体リズム異常による病気、日本交通医学会総会、京都、2011年6月4日
- 6 岡村 均: (招待講演) 生体リズム異常と高血圧、第34回日本高血圧学会総会、宇都宮(栃木県総合文化センター)、2011年10月20日—22日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

学会発表

- 1 Okamura H. Coordinated regulation of circadian rhythms and homeostasis by the hormonal suprachiasmatic nucleus outputs.

```

(1) 1 10 20 30 40 55
hHSD3B1 (1) MTGWSCLVTPGAGGFLGQRIIRLLVKEKELKEIRVLDKAGPELREEFKSLQNKPK
hHSD3B2 (1) -MGWSCLVTPGAGGFLGQRIIVRLVVEEKELKEIRALDKAEREPELREEFKSLQNKPK

(56) 56 70 80 90 100 110
hHSD3B1 (56) LTVLEGDILDEPFLKRAEQDVSVIHTACIIDVFGVTHRESIMNVNVKGTQLLLE
hHSD3B2 (55) LTVLEGDILDEPFLKRAEQDVSVIHTACIIDVFGVTHRESIMNVNVKGTQLLLE

(111) 111 120 130 140 150 165
hHSD3B1 (111) ACVQASVPVFIYTSSIEVAGPNSYKEIIQNGHEEEPLENTWPAFYPHSKKLAEKA
hHSD3B2 (110) ACVQASVPVFIYTSSIEVAGPNSYKEIIQNGHEEEPLENTWPTPYRISKKLAEKA

(166) 166 180 190 200 210 220
hHSD3B1 (166) VLAANCWNLKNGGTLTYTCALRPMYIYEGGSRPLSASINEALNNGILSSVGKFSST
hHSD3B2 (165) VLAANGWNLKNGDTLYTCALRPTYIYEGGSPPLSASINEALNNGILSSVGKFSST

(221) 221 230 240 250 260 275
hHSD3B1 (221) VNPVYVGNVAWAHILALRALQDPKAPSIRGQFYIISDDTPHQSYDNLNYTLSKE
hHSD3B2 (220) VNPVYVGNVAWAHILALRALRDPKAPSVRGQFYIISDDTPHQSYDNLNYILSKE

(276) 276 290 300 310 320 330
hHSD3B1 (276) FGLRLDSRWSLPLTLMYWIGFLEIVSFLLRPIYTYRPPFNRRHIVTLSNSVFTFS
hHSD3B2 (275) FGLRLDSRWSLPLTLMYWIGFLEIVVSFLLSPLIYSYQPPFNRRHTVTLNSVFTES

(331) 331 340 350 360 374
hHSD3B1 (331) YKKAQRDLAYKPLYSWEEAKQKTVEWVGS�VDRHKETLRSKTQ-
hHSD3B2 (330) YKKAQRDLAYKPLYSWEEAKQKTVEWVGS�VDRHKETLRSKTQ-

```

図 1. ヒト HSD3B1 と HSD3B2 のアミノ酸配列の比較

灰色の背景は 2 種のアイソザイムで共通するアミノ酸配列を示す。

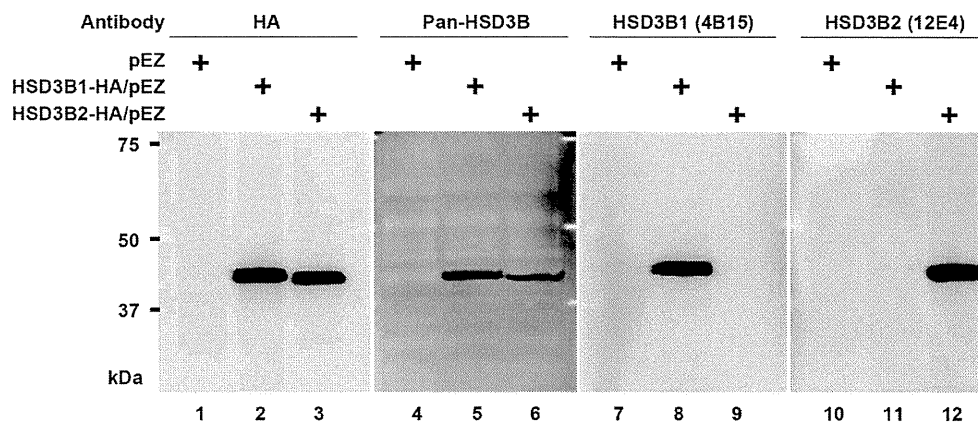


図 2. ウェスタンブロット解析による抗体反応の特異性の検定

HA 抗体 (レーン 1-3)、Pan-HSD3B 抗体 (レーン 4-6)、4B15 モノクローナル抗体 (レーン 7-9)、および 12E4 モノクローナル抗体 (レーン 10-12) の HSD3B1 および HSD3B2 に対する反応の特異性を評価するため、HA タグ付きの HSD3B1 蛋白質 (レーン 2, 5, 8, 11) もしくは HSD3B2 (レーン 3, 6, 9, 12) を異所的に発現させた COS7 細胞の抽出液を用いてウェスタンブロット解析を行った。レーン 1, 4, 7, および 10 には対照として空の発現ベクター (pEZ) をトランスフェクトした細胞の抽出液を流した。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

HSD3B1 遺伝子多型と原発性アルドステロン症に関する研究

研究分担者 笹野公伸 東北大学大学院医学系研究科 病理生理学分野 教授

研究協力者 中村保宏 東北大学大学院医学系研究科 総合地域医療研究センター 准教授

研究協力者 前川尚志 東北大学大学院医学系研究科 病理生理学分野 大学院生

研究要旨

ヒトのHSD3B（3β水酸化ステロイド脱水素酵素）にはHSD3B1とHSD3B2の二種のアイソザイムがあり、これまで副腎ではHSD3B2のみが存在するとされてきた。最近、副腎皮質のアルドステロン産生細胞（球状層）においては従来のHSD3B2とともに「分子時計によって制御されるHSD3B1が強く発現することが明らかにされた（Nature Med, 2010）。また、アルドステロン合成酵素（CYP11B2）は球状層において特異的に発現していることが知られている。本研究では、従来のHSD3B1・HSD3B2を染色する抗体（PanHSD3B）のみならず、HSD3B1の特異的抗体、およびCYP11B2の特異的抗体を用い正常副腎皮質に対して免疫組織化学的検討を行った。正常副腎皮質では、球状層でHSD3B1が特異的に発現していることが確かめられた。また、CYP11B2の発現は上記HSD3B1陽性細胞の一部に発現していることが確かめられた。以上から、HSD3B1とCYP11B2のいずれもが正常副腎皮質球状層で特異的に発現しかつ一部で共発現し、アルドステロン合成に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

A. 研究目的

正常副腎皮質の球状層はアルドステロン産生が特異的に行われている。そのアルドステロン産生に関与するHSD3B（3β水酸化ステロイド脱水素酵素）のアイソザイムの1つであるHSD3B1およびアルドステロン合成酵素（CYP11B2）の発現状況を各々の特異的な抗体を用いて免疫組織科学的に検討することを目的とした。

B. 研究方法

ヒト正常副腎9例において、本研究では、従来のHSD3B1・HSD3B2を染色する抗体（PanHSD3B）のみならず、HSD3B1の特異的モノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的検索を行った。アルドステロン合成酵素（CYP11B2）の特異的抗体を用いて、その発現パターンの検索も行った。副腎皮質球状層の同定には、steroid 17- α -monooxygenase（CYP17）に対する特異的抗

体も使用した。

(倫理面への配慮)

東北大学医学系研究科倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

正常副腎皮質では、Pan-HSD3B 抗体では、束状層に強く、球状層に中程度の染色性が認められた。これに比し、新規 HSD3B1 特異抗体では、球状層に特異的に HSD3B1 陽性像が認められた。CYP11B2 の陽性像は、球状層主体で散在性に認められ、一部 HSD3B1 陽性細胞と共発現している傾向がみられた。

D. 考察

HSD3B1 が CYP11B2 とともに正常副腎の球状層でアルドステロン合成に関係していることが示された。今後、さらに症例を増やすとともに副腎皮質過形成や副腎皮質腫瘍症例での発現変動を検索し、それらの病態との関連を解析することが必要と思われる。

E. 結論

HSD3B1 および CYP11B2 の副腎皮質球状層での発現が、アルドステロン産生に重要な役割を果たしていると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Morimoto R, Kudo M, Murakami O, Takase K, Ishidoya S, Nakamura Y, Ishibashi T, Takahashi S, Arai Y, Suzuki T, Sasano H,

Ito S, Satoh F.. Difficult-to-control hypertension due to bilateral aldosterone-producing adrenocortical microadenomas associated with a cortisol-producing adrenal macroadenoma. *J. Hum. Hypertens.*, 25(2):114-121. 2011.

2. Oka K, Suzuki T, Onodera Y, Miki Y, Takagi K, Nagasaki S, Akahira JI, Ishida T, Watanabe M, Hirakawa H, Ohuchi N, Sasano H. Nudix-type motif 2 (NUDT2) in human breast carcinoma: A potent prognostic factor associated with cell proliferation. *Int. J. Cancer*; 128(8): 1770-1782. 2011.

7. Yamada S, Tanimoto A, Wang KY, Ding Y, Guo X, Shimajiri S, Sasano H, Sasaguri Y. Non-functional adrenocortical adenoma: A unique case of combination with myelolipoma and endothelial cysts. *Pathol. Res. Pract.*, 207:192-196, 2011.

8. Tsujimoto T, Takaichi M, Endo H, Yasuda K, Kishimoto M, Noto H, Gomibuchi H, Yasuda H, Yamamoto-Honda R, Takahashi Y, Kajio H, Sasano H, Noda M. A patient with diabetes and breast cancer in whom virilization was caused by a testosterone-producing mature cystic teratoma containing a Brenner tumor. *Am. J. Med. Sci.*, 341:74-77, 2011.

9. Suzuki T, Miki Y, Nakamura Y, Ito K, Sasano H. Steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in human carcinomas. *Mol*

- Cell Endocrinol. 340(2):148-153, 2011.
10. Uruno A, Matsuda K, Noguchi N, Yoshikawa T, Kudo M, Satoh F, Rainey WE, Hui XG, Akahira JI, Nakamura Y, Sasano H, Okamoto H, Ito S, Sugawara A. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\{\gamma\}$ suppresses CYP11B2 expression and aldosterone production. *J Mol Endocrinol.*, 46:37-49, 2011.
 12. Nakamura Y, Xing Y, Hui XG, Kurotaki Y, Ono K, Cohen T, Sasano H, Rainey WE. Human adrenal cells that express both 3β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (HSD3B2) and cytochrome b5 (CYB5A) contribute to adrenal androstenedione production. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 123:122-126, 2011.
 13. Wang T, Satoh F, Morimoto R, Nakamura Y, Sasano H, Auchus R, Edwards MA, Rainey W. Gene expression profiles in aldosterone-producing adenomas and adjacent adrenal glands. *Eur. J. Endocrinol.*, 164:613-619, 2011.
 14. Hayakawa E, Yoshimoto T, Hiraishi K, Kato M, Izumiyama H, Sasano H, Hirata Y. A rare case of ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia associated with aldosterone-producing adenoma. *Intern. Med.* 50:227-232, 2011.
 15. Ishidoya S, Kaiho Y, Ito A, Morimoto R, Satoh F, Ito S, Ishibashi T, Nakamura Y, Sasano H, Arai Y. Single-center outcome of laparoscopic unilateral adrenalectomy for patients with primary aldosteronism: lateralizing disease using results of adrenal venous sampling. *Urology*, 78(1):68-73, 2011.
 16. Miki Y, Abe K, Suzuki S, Suzuki T, Sasano H. Suppression of estrogen actions in human lung cancer. *Mol. Cell Endocrinol.*, 340(2):168-174. 2011.
 17. Geisler J, Sasano H, Chen S, Purohit A. Steroid sulfatase inhibitors: promising new tools for breast cancer therapy? *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 125(1-2):39-45. 2011.
 18. Akishima-Fukasawa Y, Yoshihara A, Ishikawa Y, Watanabe N, Hiroi N, Akasaka Y, Sasano H, Ishii T, Yoshino G. Malignant adrenal rest tumor of the retroperitoneum producing adrenocortical steroids. *Endocr. Pathol.*, 22(2):112-117, 2011.
 19. Verma MK, Miki Y, Sasano H. Aromatase in human lung carcinoma. *Steroids*. 76(8):759-764. 2011.
 20. Yoshida M, Hiroi M, Imai T, Kikumori T, Himeno T, Nakamura Y, Sasano H, Yamada M, Murakami Y, Nakamura S, Oiso Y. A case of ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia associated with multiple endocrine neoplasia type 1. *Endocr. J.* 58(4):269-277, 2011.

21. Hashimoto N, Kawamura Y, Nakamura T, Murawaki A, Nishiumi T, Hirota Y, Sakagushi K, Kurahashi T, Miyake H, Fujisawa M, Sasano H, Takahashi Y. A case of primary aldosteronism caused by multiple adrenocortical macronodules. *Intern. Med.*, 50:585-590, 2011.
22. Yoshida M, Sasano H, Kikumori T, Imai T, Murakami Y, Nakamura S, Ogawa K, Miyata M, Murakami M, Oiso Y. A case of subclinical Cushing syndrome due to primary pigmented nodular adrenocortical disease associated with adrenocortical adenoma. *Endocrine*, 40(1):144-145, 2011.
23. Hiraishi K, Yoshimoto T, Tsuchiya K, Minami I, Doi M, Izumiyama H, Sasano H, Hirata Y. Clinicopathological features of primary aldosteronism associated with subclinical Cushing's syndrome. *Endocr. J.*, 58(7):543-551, 2011.
24. Demura M, Wang F, Yoneda T, Karashima S, Mori S, Oe M, Kometani M, Sawamura T, Cheng Y, Maeda Y, Namiki M, Ino H, Fujino N, Uchiyama K, Tsubokawa T, Yamagishi M, Nakamura Y, Ono K, Sasano H, Demura Y, Takeda Y. Multiple noncoding exons 1 of nuclear receptors NR4A family (nerve growth factor-induced clone B, Nur-related factor 1 and neuron-derived orphan receptor 1) and NR5A1 (steroidogenic factor 1) in human cardiovascular and adrenal tissues. *J. Hypertens.*, 29(6):1185-1895, 2011.
25. Nakamura Y, Satoh F, Morimoto R, Kudo M, Takase K, Gomez-Sanchez CE, Honma S, Okuyama M, Yamashita K, Rainey WE, Sasano H, Ito S. 18-Oxocortisol measurement in adrenal vein sampling as a biomarker for subclassifying primary aldosteronism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 96(8):E1272-1278, 2011.
26. Brown KA, McInnes KJ, Takagi K, Ono K, Hunger NI, Wang L, Sasano H, Simpson ER. LKB1 expression is inhibited by estradiol-17 β in MCF-7 cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2011 Jun 12. [Epub ahead of print]
27. Nakamura Y, Rege J, Satoh F, Morimoto R, Kennedy MR, Ahlem CN, Honma S, Sasano H, Rainey WE. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of human adrenal vein corticosteroids before and after ACTH stimulation. *Clin. Endocrinol.*, 2011 [Epub ahead of print]

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

原発性アルドステロン症におけるCYP11B2免疫染色の発現動態と 診断的意義の検討

研究分担者 成瀬 光栄

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 部長

研究協力者 難波多挙¹⁾、立木美香¹⁾、澤井邦子¹⁾、山本鉄郎²⁾、西本紘嗣郎³⁾、
向井邦晃⁴⁾

国立病院機構京都医療センター 内分泌代謝科・臨床研究センター¹⁾、同 病
理診断科²⁾、国家公務員共済立川病院泌尿器科³⁾、慶応義塾大学 医化学教室⁴⁾

研究要旨

原発性アルドステロン症（PA）の腫瘍部および非腫瘍部における CYP11B2 発現を特異的抗体を用いた免疫組織染色にて検討した。その結果、APA の 70%以上で腫瘍に明らかな CYP11B2 染色を認め、PA におけるアルドステロン過剰とその病変部位の病理学的診断に有用であることが示された。また、非腫瘍性 PA の球状層には CYP11B2 染色陽性の細胞群（APCC）が存在し、腫瘍性 PA におけるよりも頻度が高かったことから、アルドステロン過剰産生の原因になっていることが示唆された。今後、多数例における臨床所見との対比検討により、その病態生理学的意義の解明が期待される。

A. 研究目的

原発性アルドステロン症（PA）は高血圧の約3-20%、推定患者数100-400万人とされており、内分泌領域におけるcommon diseaseである。近年、学会ガイドラインの普及に伴い、診断、手術例が飛躍的に増加している。その病型にはアルドステロン産生腺腫、特発性アルドステロン症以外の病型も報告されていることから、確定診断における病理組織学的診断の重要性が増している。更に、PAの非腫瘍部球状層にCYP11B2の免疫染色陽性の細胞群Aldosterone-Producing Cel

l Cluster（APCC）の存在が報告されているが、その病態生理学的意義は不明である。本研究では、PAの腫瘍部と非腫瘍部においてCYP11B2発現動態を免疫組織化学的に解析し、アルドステロン過剰との関連から、その病態生理学的意義を検討した。

B. 研究方法

日本内分泌学会ガイドラインによりPAと診断され、臨床的に片側性と診断、手術された25例。23例は副腎CTにて腫瘍を認め、2例は腫瘍を認めなかった。パラフィン包埋

標本から連続切片を作製し、抗CYP11B2抗体（1）を用いて酵素抗体法（ChemMate E NVISIONキット、Dako）にて染色した。染色強度は半定量的に（-）～（±）、（+）、（++）と判定して比較した。更に、腫瘍部にCYP11B2染色を認めなかった非腫瘍性PA群（5例：腫瘍を認めなかった2例を含む）と、CYP11B2染色を認めた腫瘍性PA群（20例）で、球状層のAPCC数、血漿アルドステロン濃度（PAC）、アルドステロン/レニン比（ARR）を比較した。

（倫理面への配慮）

ヘルシンキ宣言及び厚生労働省「疫学研究に関する倫理指針」に準拠し、施設倫理委員会の承認を得て実施した。個人情報の取り扱いには十分配慮し、個人のプライバシーの保護に留意した。

C. 研究結果

APAの腫瘍部は種々の程度のCYP11B2免疫染色を認め、31%が（++）、38%が（+）、31%が（-）～（±）で、少なくとも約70%に（+）以上の染色を認めた。非腫瘍性PA群は5例全例で球状層にAPCC（4～10箇所）を認め、腫瘍性PA群と比較してAPCC数は有意に多かったが、PACとARRは有意に低値であった。

D. 考察

臨床的に典型的なPAでは術後の内分泌学的検査結果や高血圧、低カリウム血症の改善などが、確定診断の根拠となり、病理学的診断は補助的な位置づけであった。しかしながら、近年、PAの啓発活動、診療ガイドラインの策定と普及により。これまで以上に非典型的な症例が手術されるように

なったことから、手術例における病理組織診断の重要性が増している。

今回、我々は既報（1）の抗CYP11B2抗体を用いてPAの組織を解析した結果、多くの例では腫瘍組織中に免疫染色を認め、アルドステロン産生を病理組織学的に確認することができた。一部の例では染色強度は弱く、アルドステロン産生能も弱いと考えられたが、今後、PACやARRなどの機能的指標との関連を検討する必要がある。

Nishimoto et al.（1）は副腎皮質球状層にCYP11B2染色陽性の細胞群を認め、APCCと命名した。今回、球状層のAPCCの検討を行った結果、非腫瘍性PAと腫瘍性PAのいずれにもAPCCを認めたが、前者における数は後者と比較して有意に増加しており、APCCの増加が非腫瘍性PAにおけるアルドステロン過剰産生の原因と考えられた。今後、本病態が従来からIHAとされている過形成病変の前駆病変であるか、あるいはまったく異なる病態かに関して、さらなる検討を要する。

E. 結論

APAの70%以上では腫瘍に明らかなCYP11B2染色を認め、PAにおけるアルドステロン過剰とその病変部位の病理学的診断に有用であることが示された。また、非腫瘍性PAの球状層にはCYP11B2染色陽性APCCが存在し、腫瘍性PAにおけるよりも頻度が高かったことから、アルドステロン過剰産生の原因になっていることが示唆された。今後、その病態生理学的意義の解明のため、多数例における臨床所見との対比検討が必要である。