

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研究班

分担研究報告書

副腎皮質の発生初期過程に関する研究

研究分担者 諸橋 憲一郎 九州大学大学院医学研究院 教授

【研究要旨】

転写因子Ad4BP/SF-1は副腎皮質におけるステロイドホルモン産生能を制御している。一方、本遺伝子のノックアウトマウスには副腎が形成されないこと、ならびに本遺伝子の強制発現マウスでは副腎形成が促進されることを考慮すると、本因子は単にステロイドホルモン産生に関与する遺伝子の制御を行っているだけではなく、副腎皮質細胞の分裂や増殖を制御していると推測される。しかしながら、本因子がどのようなメカニズムで細胞増殖を制御しているのかは不明である。この問題を明らかにするため、副腎皮質における本因子の標的遺伝子の全体像を明らかにするため、次世代シーケンサーとクロマチン免疫沈降法による解析を行った。その結果、一群の解糖系酵素遺伝子の近傍にAd4BP/SF-1の蓄積が認められ、これらの遺伝子がAd4BP/SF-1の標的遺伝子となっている可能性が示唆された。

A. 研究目的

Ad4BP/SF-1は核内受容体型転写因子であり、副腎皮質細胞において種々の遺伝子の転写を制御している。本研究では次世代シーケンサーとクロマチン免疫沈降法による解析を行うことで、Ad4BP/SF-1が制御する標的遺伝子の全体像を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

前年度に副腎皮質由来のY1細胞を用いて条件検討を行い、緩衝液、精製抗体濃度、固定核のソニケーション強度、回

収するDNAの鎖長等の条件を決定してきた。同様に、次世代シーケンサーについては、本学医学研究院に設置されている機器を用い、数回の予備的実験を行い、我々が調製したDNAから理想的な結果が得られることを確認してきた。本年度の実験では以上の予備実験で決定した最適の方法を用いた。以下に要点のみを記載する。Ad4BP/SF-1に対する抗体を用いた免疫沈降を行い、本因子が核内で結合しているDNA領域を回収した。その後、増幅ならびにサイズフラクショネーションを行い、次世代シーケンサーによる塩基配列決定を行った。次世代シーケンサーによって得られる塩基配列情

報は膨大なものであり、これを解析するためのツールを、オープンリソースを用いて検討した。

(倫理面への配慮)

本実験にはトランスジェニックマウスならびに遺伝子破壊マウスを用いるが、全ての動物実験は九州大学動物実験指針に従って行なわれた。なお本研究は九州大学実験動物委員会の承認を得たものである。同様に組み替えDNA実験については、組み替えDNA実験委員会の承認を得たものである。

C. 研究成果

ChIP-sequence解析によって得られた塩基配列を全ゲノムレベルで対応させ、どのような遺伝子の近傍にAd4BP/SF-1が集積しているかを確認した。その結果を基に、Ad4BP/SF-1がどのような生物学的活性とリンクしているかを調べたところ、Glucose catabolic processなどのエネルギー産生に関与する生物学的経路との間に強い相関を示すことが明らかになった。実際に、ほとんどの解糖系酵素遺伝子の10 Kb上流ならびに10 Kb下流以内にAd4BP/SF-1の集積が認められる。この結果は、Ad4BP/SF-1が解糖系遺伝子の近傍に結合することで、それらの遺伝子の転写を調節していることを示唆した。そこで、RNAi法にてAd4BP/SF-1をノックダウンし、解糖系遺伝子の発現を調べたところ、その発現は期待通りに低下していた。また、我々自身が行った他

の実験では、Ad4BP/SF-1の結合領域が活性化遺伝子の指標となるヒストン修飾を受けていることも分かっており、これらの結果と合わせて、Ad4BP/SF-1が解糖系遺伝子の転写に関与することが強く示唆されることとなった。

D. 考察

本年度に得られた結果から、Ad4BP/SF-1は解糖系酵素遺伝子の制御に関与する可能性が強く示唆された。解糖系酵素はグルコースの分解により細胞内のエネルギー産生を、ひいては細胞の分裂や生存自体を制御すると考えられる。実際に、Ad4BP/SF-1をノックダウンした細胞では細胞増殖の低下も観察されており、このような制御経路をもってAd4BP/SF-1がステロイド産生細胞の生存を制御していると考えられる。

E. 結論

Ad4BP/SF-1はステロイド産生細胞において解糖系遺伝子の発現を制御することで、これらの細胞の生存を制御していると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Y. Katoh-Fukui, K. Miyabayashi, T. Komatsu, A. Owaki, T. Baba, Y. Shima, T. Kidokoro, Y. Kanai, A. Schedl, D. Wilhelm, P. Koopman, Y.

- Okuno, K. Morohashi
Cbx2, a polycomb group gene, is required for Sry gene expression in mice.
 Endocrinology 153, 913-924, 2012
2. Y. Shima, K. Miyabayashi, T. Baba, H. Otake, S. Oka, M. Zubair, K. Morohashi
 Identification of enhancer specific for fetal Leydig cells in *Ad4BP/SF-1* gene.
 Endocrinology 153, 417-425, 2012
3. Y. Shima, K. Miyabayashi, T. Baba, H. Otake, S. Oka, M. Zubair, K. Morohashi
 SF-1 expression during adrenal development and tumorigenesis.
 Mol. Cell. Endocrinol. in press
4. E. A. Hoivik, T. E. Bjanesoy, O. Mai, S. Okamoto, Y. Minokoshi, Y. Shima, K. Morohashi, U. Boehm, and M. Bakke
 DNA methylation of intronic enhancers directs tissue-specific expression of Steroidogenic Factor 1/Adrenal 4 Binding Protein (SF-1/Ad4BP)
 Endocrinology 152, 2100-2112, 2011
5. K. Morohashi and M. Zubair
 The fetal and adult adrenal cortex
 Mol. Cell. Endocrinol. 336, 193-197, 2011
1. 諸橋 憲一郎
 シンポジウム：生殖腺の性差構
 第4回 日本性差医学・医療学会
 下関 2月5日-6日
2. 嶋雄一、諸橋憲一郎
 胎仔型ライディッシュ細胞の生理学的機能の解明
 第84回日本内分泌学会
 神戸4月21日-23日
3. 諸橋 憲一郎
 招待講演：生殖腺におけるステロイドホルモン産生
 第6回日本生殖内分泌学会
 東京 11月19日
- 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

2. 学会発表
 (招待講演)

**(4) 原発性アルドステロン症 (PA) の
診断基準の再評価**

原発性アルドステロン症の新しい診断・治療戦略の開発

研究分担者：曾根 正勝 京都大学大学院医学研究科 内分泌代謝内科 特定講師

【研究要旨】

原発性アルドステロン症の新しい診断・治療戦略の開発を目指し、アルドステロン産生腺腫（APA）のアルドステロン産生能のACTH依存性に関する検討を行った。本年度は、ACTH負荷試験のAPA診断における意義を検討する臨床研究を行い、APA患者では非アルドステロン症患者や特発性アルドステロン症（IHA）患者に比べACTH負荷後の血漿アルドステロン濃度（PAC）が有意に高値であることを示し、APA診断におけるACTH負荷試験の意義を示した。

A. 研究目的

原発性アルドステロン症の大部分はアルドステロン産生腺腫（APA）と特発性アルドステロン症（IHA）が占め、高血圧患者の中から手術で治癒しうる前者を効率的に検出することが临床上重要となる。今回、我々は1mgデキサメタゾン抑制下ACTH負荷試験を用いて、ACTH負荷のAPA診断における意義を検討した。

B. 研究方法

過去7年間にARR200以上を示したPA疑いの入院患者連続80例を解析した。患者はカプトプリル負荷試験によりPA群とnon-PA群に分けられ、PA群はさらに副腎静脈サンプリング(AVS)によってIHA群とAPA群に分けられた。コルチゾール自律性分泌を呈する患者やAVSが

不成功であった患者等は除外した(図1)。non-PA群、IHA群、APA群の3群の患者に、前日23時にデキサメタゾン1mgを内服させ、9時に0.25mgの合成ACTHを静注、ACTH負荷前、及び負荷30分後、60分後、90分後、120分後における血漿アルドステロン濃度(PAC)を測定した。そして、receiver operated characteristics (ROC) curveを用いて、3群間からのAPA群の診断における各々の時点での診断能を評価した。

(倫理面への配慮)

本臨床研究については京都大学医学部医の倫理委員会の承認を受けて行っている。(第E859号)

C. 研究結果

80例のうち、21例は前述の除外規定により除外となり、non-PA群20例、IHA

群16例、APA群23例となった(図1)。APA群におけるACTH負荷後のPAC値の平均は30分値が647pg/ml、60分値が801pg/ml、90分値が752pg/ml、120分値が626pg/mlであった。一方、IHA群では30分値が330pg/ml、60分値が346pg/ml、90分値が319pg/ml、120分値が278pg/mlであり、non-PA群では30分値が324pg/ml、60分値が344pg/ml、90分値が322pg/ml、120分値が270pg/mlであった。ACTH負荷後のPAC値はAPA群で他の2群に比べ有意に高値であった(表1、図2)。ROC curve解析では、3群間からのAPA群の診断にはACTH負荷後90分値が最も有用であり、cut-off値を379pg/mlとした場合、感度91.3%、特異度80.6%であった(表2)。

D. 考 察

本研究において、dex-ACTH testにて負荷90分後のPAC値を用いてPA疑い患者の中から高い感度でAPA患者を選別することができることが示され、ACTH負荷試験がAPAの診断に有用であることが示された。

本研究では、内因性のACTHの影響を抑制するため、前日に1mgデキサメタゾン内服を行ったうえでACTH負荷試験を行った。

当初、PACの前値との比(PAC/PAC0min)での診断を考えていたが、ACTH負荷試験におけるAPAの診断能は、各時点での前値との比(PAC/PAC0min)よりもPACの絶対値の

方が良好であった。

1mgデキサメタゾン抑制が必須かどうかは不明だが、安定した結果が得られた原因の一つである可能性が考えられる。

また、APAの場合はコルチゾールの自律産生の有無のスクリーニングは必須であり、本検査では両者を同時に行えるというメリットもある。

また、本研究の局在診断においては、副腎サンプリングのlateralization ratio (LR)、contralateral ratio (CLR)を用いているため、両側APA、ACTH反応性IHAは両者ともデザイン上IHA群に含まれている。本検査が感度に比べ特異度が低めに出ているのはこれらの存在が関係している可能性があるが、本検査の目的上、これらが陽性とするのは大きな問題ではないと考えられる。

また、本研究の23例のAPAのうち5例がmicro APA(腫瘍径9mm以下)であった。その5例中4例では本試験が陽性であり、micro APAの検出においてもACTH負荷はある程度の意義を有していることが示唆される。

E. 結 論

主要な二次性高血圧症の一つである原発性アルドステロン症のうち、手術的に治癒可能なアルドステロン産生腺腫(APA)を見落とさないことは、治療選択の上でも医療経済面でも重要である。APAの確定診断においてはAVSによるlateralityの評価が必須であるが、PA疑いの患者が高血圧の数%と頻度が多いこ

とを考慮すると、全員に対してAVSを行うことは患者の侵襲の面からも医療経済上も困難を伴う。dex-ACTH testは必ずしも入院を必要とせず、安全に簡便に行うことができ、PA患者のうちAPAが強く疑われ、優先的にAVSを必要とする症例のスクリーニングに有用であると考えられた。

るACTH負荷試験の意義

第21回臨床内分泌代謝Update 浜松市、日本 2012年1月28日

G. 研究発表

1. 論文発表

Sonoyama T, Sone M (corresponding author), Miyashita K, Tamura N, Yamahara K, Park K, Oyamada N, Taura D, Inuzuka M, Kojima K, Honda K, Fukunaga Y, Kanamoto N, Miura M, Yasoda A, Arai H, Itoh H, Nakao K.

Significance of adrenocorticotropin stimulation test in the diagnosis of an aldosterone-producing adenoma.

J Clin Endocrinol Metab. Sep;96(9): 2771-8, 2011.

2. 学会発表

園山拓洋、曾根正勝、他

アルドステロン産生腺腫の診断におけるACTH負荷試験の意義

第15回日本心血管内分泌代謝学会学術総会 豊中市、日本、2011年11月25日

園山拓洋、曾根正勝、他

アルドステロン産生腺腫の診断におけ

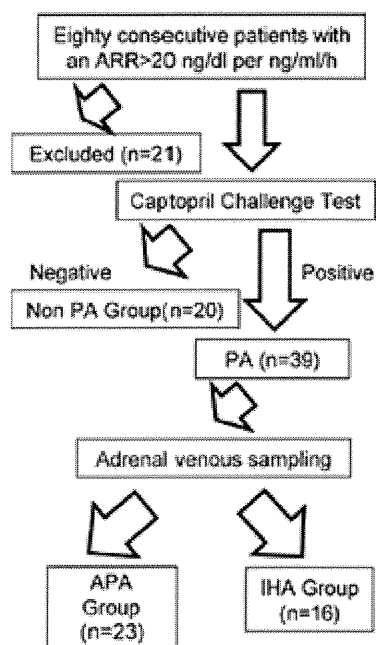


FIG. 1. Trial design.

図1

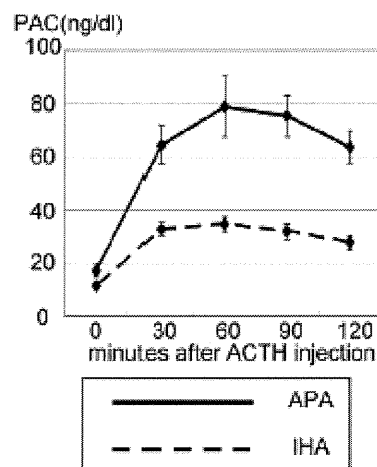


図2

表1

PAC絶対値 (ng/dl)

	0min	30min	60min	90min	120min
IHA群	11.6	33.0	34.6	31.9	27.8
APA群	17.1	64.7	80.1	75.2	62.6
Non-PA群	11.1	32.4	34.4	32.2	27.0

表2

TABLE 2. Results of the ROC curve analysis of PAC values before and after ACTH stimulation

Time point	AUC (95% CI)	Optimal cutoff (ng/dl)	Sensitivity at optimal cutoff (%)	Specificity at optimal cutoff (%)
Diagnosis of APA group between APA and IHA groups				
Before	0.622 (0.443 to 0.801)	>11.0	65.2	56.3
30 min	0.851 (0.731 to 0.970)	>41.5	82.6	81.3
60 min	0.889 (0.788 to 0.989)	>47.3	78.3	87.5
90 min	0.921 (0.836 to 1.007)	>37.9	91.3	87.5
120 min	0.883 (0.771 to 0.995)	>35.3	87.0	87.5
Diagnosis of APA group among IHA, APA, and non-PA groups				
Before	0.623 (0.472 to 0.775)	>12.9	47.8	69.4
30 min	0.855 (0.745 to 0.965)	>42.2	82.6	86.1
60 min	0.885 (0.794 to 0.976)	>43.6	82.6	86.1
90 min	0.913 (0.838 to 0.988)	>37.9	91.3	80.6
120 min	0.889 (0.800 to 0.978)	>35.3	87.0	86.1

CI, Confidence interval.

降圧薬内服下におけるアルドステロン／レニン比による 原発性アルドステロン症のスクリーニング

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

【研究要旨】

原発性アルドステロン症(PA)のスクリーニングは、アルドステロン／レニン比(ARR)が有用であるが、内服中の降圧薬の影響が大きいことから、診療ガイドラインでは降圧薬をCa拮抗薬および α 遮断薬に変更することを推奨している。しかし、その結果としてスクリーニングに時間がかかり、重症高血圧では高血圧の増悪の危険も伴う。本研究では、内服中の降圧薬とARRによるスクリーニング結果につき検討した。ほとんどの降圧薬の内服下でPAと非PAではARRに有意差を認め、同一患者における降圧薬の切り替えを行わない場合は偽陰性が28名中7名で、Ca拮抗薬および α 遮断薬に変更すると3名に減少した。以上の結果より、内服降圧薬はARRに影響を与えるが、実地臨床ではほとんどの例でその影響は少なく、臨床的にPAを強く疑えば、確定診断の段階で偽陰性はなくなることから、高血圧患者ではまずARRによるスクリーニングを一度は行う意義が高いと考えられた。

A. 研究目的

原発性アルドステロン症(PA)の診断では、日本内分泌学会、日本高血圧学会および米国内分泌学会から診療ガイドラインが示されているが、早朝採血の血漿アルドステロン濃度、血漿レニン活性（濃度）およびアルドステロン／レニン比(ARR)によるスクリーニングが有用である。レニンとアルドステロンは降圧薬などの薬剤の影響による偽陰性や偽陽性が問題となり、診療外ドリアンではできなからざるにCa拮抗薬および α 遮断薬に降圧薬を最低2週間以上変更後の検査が推奨

されている。しかし、薬剤変更によりスクリーニングに時間がかかることや、重症の高血圧では高血圧の増悪が生じる危険が伴う。そこで、本研究ではPAスクリーニングにおける降圧薬のアルドステロン、レニンへの影響を検討した。

B. 研究方法

対象は、PA診療ガイドライン（日本内分泌学会209）に準拠して診断されたPA127例および非PA59例（本態性高血圧症6例、非機能性副腎腫瘍47例、サブクリニカルクッシング勝央群4例、褐色細

胞腫1例、先天性副腎過形成1例)を対象とした(表1)。また、各群の内服降圧薬の内訳は表2に示す。

C. 研究結果

降圧薬を内服していない群、内服群の中でCa拮抗薬、Ca拮抗薬+アンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)、利尿薬群、Ca拮抗薬+ β 遮断薬群、Ca拮抗薬+ARB、利尿薬、 β 遮断薬群、Ca拮抗薬+ミネラルコルチコイド受容体(MR)拮抗薬のいずれの群においても血漿アルドステロン濃度、血漿活性レニン濃度、ARR(図1)はPA群と非PA群の間で有意差を認めた。

さらに、PA患者28例では、Ca拮抗薬+ α 遮断薬群とそれ以外の切り替えを行ったところ、レニン濃度、アルドステロン濃度はいずれも薬剤の影響を受けたが、ARRによるスクリーニングの結果では、降圧薬混在群ではスクリーニング陰性(ARR<40)者が7例(25%)であり、Ca拮抗薬+ α 遮断薬に切り替えた後は、3例(10.7%)に減少した。

D. 考察

本研究の結果、ARRによるPAスクリーニングでは、ガイドラインに準拠してCa拮抗薬+ α 遮断薬に切り替えると偽陰性が25%から10.7%に減少することが示された。

レニン、アルドステロンは両者とも降圧薬により多様な変化を受けるが、PAス

クリーニングの判定への影響はそれほど大きくないことが示された。ARRの値は同一個人においても変動が大きく1回の値のみで判定することは困難である。実際には、担当医がカットオフ値を参照して判断するが、PAの疑いありと判断すれば、次の機能確認検査で偽陰性、偽陽性の確認が可能となることから、スクリーニングにおいて全例で必ずしもCa拮抗薬+ α 遮断薬に変更する必要はなく、随時薬剤内服下でPAスクリーニング陽性であれば、次の機能確認検査に進んでよいと考えられる。随時薬剤内服下でPAスクリーニングが境界域となる例では、可能な範囲でCa拮抗薬+ α 遮断薬の変更を検討すればよいと思われた。

E. 結論

PAの診断において、ほとんどすべての降圧薬内服下で、早朝採血のアルドステロン/レニン比によりスクリーニングが可能であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

論文

1. N.Suda, H.Shibata, I.Kurihara, Y.Ikeda, S.Kobayashi, K.Yokota, A.Murai-Takeda, K.Nakagawa, M.Oya, M.Murai, W.E.Rainey, T.Saruta, H.Itoh. Coactivation of SF-1-mediated transcription of steroidogenic enzymes by Ubc9 and

- PIAS1. Endocrinology, 152:2266-2277, 2011
2. R.Kouyama, K.Hiraishi, T.Sugiyama, H.Izumiyama, T.Yoshimoto, T.Akashi, K.Kihara, K.Homma, H.Shibata, Y.Hirata. Clinicopathological features, biochemical and molecular markers in 5 patients with adrenocortical carcinoma. Endocr.J., 58:527-534, 2011
3. T.Nishikawa, M.Omura, F.Satoh, H.Shibata, K.Takahashi, N.Tamura, A.Tanabe, The Task Force Committee on Primary Aldosteronism, The Japan Endocrine Society. Guideline for the diagnosis and treatment of primary aldosteronism-The Japan Endocrine Society 2009-. Endocr.J., 58:711-721, 2011.
4. Y.Koyama, K.Homma, M.Murata, H.Shibata, H.Itoh, T.Hasegawa. Free cortisol /cortisone ratio in pooled urine was increased after rapid-ACTH stimulation test under dexamethasone suppression. Endocr. J., 58:1099-1103, 2011
5. H.Shibata, H.Itoh. Mineralocorticoid receptor-associated hypertension and its end-organ damage: clinical relevance for resistant hypertension. Am J Hypertens, (in press), 2011.
6. 柴田洋孝。副腎腫瘍 副腎腫瘍の検査・診断 副腎皮質腫瘍の検査・診断法 概論。日本臨床 69巻増刊2 内分泌腺腫瘍 Page497-504 2011。
7. 柴田洋孝。加齢と副腎皮質ホルモン。最新医学 66巻4号 Page851-855 2011。
8. 城 理絵、柴田洋孝。抗アルドステロン薬、カリウム保持性利尿薬。Modern Physician 31巻6号 Page725-730 2011。
9. 柴田洋孝、伊藤 裕。メタボリックシンドロームと食塩感受性—ミネラルコルチコイド受容体の活性化—Diabetes Frontier、22(5) : 489-493、2011。
10. 大山貴子、柴田洋孝。褐色細胞腫の診断：生化学診断。ホルモンと臨床、58(10) : 17-23、2012。
11. 柴田洋孝、伊藤 裕。アルドステロンと脂質代謝。The Lipid、23(1) : 29-34、2012。
12. 柴田洋孝、伊藤 裕。メタボリックシンドローム、カレントセラピー、30(1) : 13-18、2012。
13. 柴田洋孝。褐色細胞腫の診断と治療—最近の進歩と今後の展開。医学のあゆみ、240(2) : 141-146、2012。
14. 山口慎太郎、柴田洋孝、宮下和季、栗原 勲、小口英世、二木功治、武田彩乃、三石木綿子、本杉裕一郎、城 理絵、林 晃一、伊藤 裕。麻痺性イレウスにフェントラミン静注が著効した悪性褐色細胞腫の一例。日本内分泌学会雑誌 87(Suppl.) : 61-63、2011

著書

1. 柴田洋孝。アルドステロンの合成、原発性アルドステロン症診療マニュアル（成瀬光栄、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.5-6。
2. 柴田洋孝。フルドロコルチゾン試験、原発性アルドステロン症診療マニュアル（成瀬光栄、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.54。
3. 柴田洋孝。経口食塩負荷試験 原発性アルドステロン症診療マニュアル（成瀬光栄、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.57。
4. 柴田洋孝、伊藤 裕。慶應義塾大学腎臓内分泌代謝内科における診療手順 原発性アルドステロン症診療マニュアル（成瀬光栄、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.218-219。
5. 武田彩乃、柴田洋孝。CTの診断的意義 ②CTで腫瘍を確認できない場合 原発性アルドステロン症診療マニュアル（成瀬光栄、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.69-70。
6. 三石木綿子、柴田洋孝、伊藤 裕。副腎静脈サンプリング 各施設の実践：(g)慶應義塾大学腎臓内分泌代謝内科 原発性アルドステロン症診療マニュアル（成瀬光栄、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.103-104。
7. 栗原 勲、柴田洋孝。手術効果の判定方法 原発性アルドステロン症診療マニュアル（成瀬光栄、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.141-142。
8. 横田健一、柴田洋孝、伊藤 裕。合併症、予後③：ミネラルコルチコイド受容体活性化による心血管障害 原発性アルドステロン症診療マニュアル（成瀬光栄、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.166-168。
9. 本杉裕一郎、柴田洋孝。腎嚢胞を合併した原発性アルドステロン症 原発性アルドステロン症診療マニュアル（成瀬光栄、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.184-185。
10. 城 理絵、柴田洋孝。ミネラルコルチコイド受容体の活性化 原発性アルドステロン症診療マニュアル（成瀬光栄、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.28-30。
11. 伊藤 裕、柴田洋孝。内分泌検査、高血圧専門医ガイドブック第2版（日本高血圧学会編集）、診断と治療社、p.53-63, 2011。
12. 柴田洋孝。画像検査の概要 内分泌画像検査・診断マニュアル（成瀬光栄、織内 昇、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.132-134。
13. 柴田洋孝。原発性アルドステロン症：CT 内分泌画像検査・診断マニュアル（成瀬光栄、織内 昇、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.152-153。
14. 柴田洋孝。原発性アルドステロン症：副腎シンチグラフィ 内分泌画像検査・診断マニュアル（成瀬光栄、織内 昇、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.154-155。
15. 柴田洋孝、橋本 統。原発性アルドステロン症：副腎静脈サンプリング 内分泌画像検査・診断マニュアル（成瀬光栄、織内 昇、平田結喜緒編集）、

- 診断と治療社、p.156-158。
- 16.柴田洋孝。11C-metomidate-PET 内分泌画像検査・診断マニュアル（成瀬光栄、織内 昇、平田結喜緒編集）、診断と治療社、p.220-221。
- 17.柴田洋孝。二次性高血圧 高血圧ナビゲーター第3版（熊谷裕生、小室一成、堀内正嗣、森下竜一編集）、メディカルレビュー社、p.114-117。
- 18.柴田洋孝、伊藤 裕。肥満、メタボリックシンドローム 高血圧ナビゲーター第3版（熊谷裕生、小室一成、堀内正嗣、森下竜一編集）、メディカルレビュー社、p.22-23。
- 19.柴田洋孝 経口食塩負荷試験 内分泌機能検査実施マニュアル第2版（成瀬光栄、平田結喜緒、肥塚直美編集）、診断と治療社、p.79
- 20.柴田洋孝 フルドロコルチゾン抑制試験 内分泌機能検査実施マニュアル第2版（成瀬光栄、平田結喜緒、肥塚直美編集）、診断と治療社、p.80
- 21.柴田洋孝。原発性アルドステロン症と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関連高血圧。心血管内分泌検査から読み解く降圧薬処方（伊藤 裕編集）、南山堂、p.48-59、2011。
- 22.柴田洋孝、伊藤 裕。アルドステロン合成酵素と副腎疾患。Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌2012、中外医学社、p.161-169、2012。
- 23.柴田洋孝。症状、スクリーニング、機能検査。褐色細胞腫診療マニュアル(改訂第2版)、診断と治療社、p.31-34、2012。
- 24.柴田洋孝。アジソン病、急性副腎不全（副腎クリーゼ） 今日の治療指針2012、（山口 徹、北原光夫、福井次矢編集）、医学書院、p.668-669、2011

学会発表

1. The 37th International Aldosterone Conference 2011 (June 2-3, 2011, Boston)
Measurement of 18-oxocortisol during adrenal venous sampling for primary aldosteronism: a possible subtype marker of aldosterone-producing adenoma.
H.Shibata, I.Kurihara, Y.Motosugi, K.Miyashita, A.Murai-Takeda, Y.Mitsuishi, R.Jo, T.Oyama, A.Ohta, K.Homma, S.Hashimoto, A.Miyajima, K.Nishimoto, K.Mukai, H.sasamoto, K.Yamashita, H.Itoh.
2. 第84回日本内分泌学会学術総会（2011年4月21日～23日、神戸）治療抵抗性高血圧におけるミネラルコルチコイド受容体の蛋白修飾による活性化機構
柴田洋孝、栗原 勲、三石木綿子、林毅、城 理絵、横田健一、武田彩乃、本杉裕一郎、大山貴子、伊藤 裕
3. 第84回日本内分泌学会学術総会（2011年4月21日～23日、神戸）原発性アルドステロン症の病型診断における副腎静脈血中18-水酸化ステロイドの役割
柴田洋孝、栗原 勲、本杉裕一郎、宮下和季、武田彩乃、三石木綿子、城 理絵、大山貴子、太田敦美、本間桂子、

- 橋本 統、伊藤 裕
4. 第29回内分泌代謝学サマーセミナー・教育講演(2011年7月7日～9日、仙台)
ミネラルコルチコイド受容体と高血圧
柴田洋孝
 5. 第84回日本生化学会大会(2011年9月21日～24日、京都) シンポジウム(ステロイド研究の新局面) ミネラルコルチコイド受容体(MR)の翻訳後蛋白修飾による新たな活性化機構。柴田洋孝
 6. 第34回日本高血圧学会総会・教育セッション(2011年10月20日～22日、宇都宮) 治療抵抗性高血圧の治療戦略
柴田洋孝、伊藤 裕
 7. 第34回日本高血圧学会総会・特別教育セッション(2011年10月20日～22日、宇都宮) 原発性アルドステロン症の診療ガイドラインと日常臨床。柴田洋孝、伊藤 裕
 8. 第34回日本高血圧学会総会・ランチョンセミナー(2011年10月20日～22日、宇都宮) 治療抵抗性高血圧の新たな治療戦略：MR拮抗薬の役割。柴田洋孝
 9. 第34回日本高血圧学会総会(2011年10月20日～22日、宇都宮) メタボリックシンドローム、食塩、アルドステロン bad companionの舞台裏。伊藤 裕、柴田洋孝
 10. 第3回アルドステロンフォーラム(2012年1月21日、東京) 原発性アルドステロン症の診断と治療：今後の課題。柴田洋孝
 11. 第21回臨床内分泌代謝 Update

(2012年1月27日～28日、浜松) 臨床内分泌入門6：内分泌性高血圧の診断と治療
柴田洋孝

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 |

表1 臨床的特徴

	PA	Non-PA	P
N	127	59	NS
年齢	51±11	57±12	<0.01
性別(男:女)	68:59	38:21	NS
副腎腫瘍	84	54	NS
血清K (mEq/L)	3.8±0.5	4.1±0.5	<0.01
PAC (pg/ml)	242.2±96.4	126.6±46.5	<0.01
ARC (pg/ml)	4.9±4.3	21.9±77.2	NS
PAC/ARC ratio	72.5±53.3	22.8±12.6	<0.01
尿中aldosterone	14.2±7.6	5.8±3.6	<0.01
TTKG	4.9±2.0	4.1±0.9	<0.01

NS: not significant

表2 内服降圧薬の比較

	PA	Non-PA
No medication	30 (23%)	27 (46%)
CCB	54 (42%)	13 (22%)
CCB+ARB/Diuretics	23 (18%)	12 (20%)
CCB+β blocker	3 (2%)	2 (3%)
CCB+ARB/Diuretics +β blocker	10 (8%)	3 (5%)
CCB+MRA/DRI	9 (7%)	2 (3%)

CCB: Ca拮抗薬、ARB: アンジオテンシン受容体拮抗薬、MRA: MR拮抗薬、
DRI: 直接的レニン阻害薬

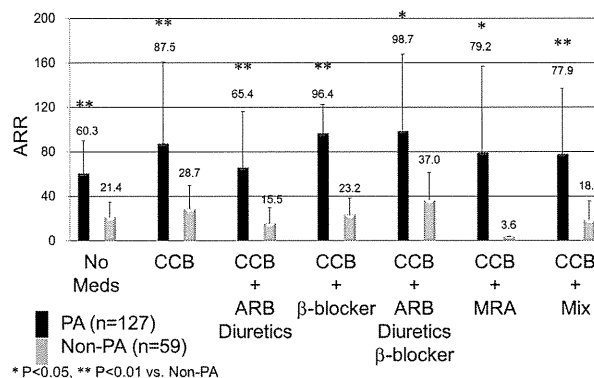


図1 ARRによるPAスクリーニングにおける各種降圧薬の影響

「CTで片側結節を認める原発性アルドステロン症を 副腎静脈サンプリングなしで手術治療する条件」に関する研究

研究分担者 佐藤 文俊 東北大学病院 腎・高血圧・内分泌科 講師

【研究要旨】

LC_MS/MSを用いた高感度測定法で末梢血の18-oxocortisol（18-oxoF）濃度を測定し、原発性アルドステロン症（PA）のsubtype診断での有用性を副腎静脈サンプリング（AVS）と比較検討した。ROC解析を行いcut-off値18-oxoF濃度4.7ng/dl以上でアルドステロン産生腺腫（APA）の感度63% だが特異度は97%と高い診断能を有した。CTでの副腎結節の画像診断と組み合わせた結果では、片側副腎結節をもつPAでのAPA診断はROC解析で末梢血18-oxoF濃度のcut-off値4.6 ng/dl以上で感度73%、特異度97%の診断能を得た。PAの局在診断はCT等の画像診断に比較して明らかに技術習得に成功した施設でのAVSの正診性が高い。18oxoFの測定は画像診断と併用して局在診断に有用である。

A. 研究目的

LC_MS/MSを用いた高感度測定法で末梢血の18-oxocortisol（18-oxoF）濃度を測定し、原発性アルドステロン症（PA）のsubtype診断での有用性を副腎静脈サンプリング（AVS）と比較検討した。ROC解析を行いcut-off値18-oxoF濃度4.7ng/dl以上でアルドステロン産生腺腫（APA）の感度63% だが特異度は97%と高い診断能を有した。CTでの副腎結節の画像診断と組み合わせた結果では、片側副腎結節をもつPAでのAPA診断はROC解析で末梢血18-oxoF濃度のcut-off値4.6 ng/dl以上で感度73%、特異度97%の診断能を得た。PAの局在診断はCT等の画像

診断に比較して明らかに技術習得に成功した施設でのAVSの正診性が高い。18oxoFの測定は画像診断と併用して局在診断に有用である。

B. 研究方法

1) 末梢血18-oxoF測定法

既報（JCEM,2011;96:E1272）に基づいて測定する。

2) PA存在診断

基礎値ARR \geq 20ng/dl per ng/ml/h かつ カプトプリル不可ARR \geq 20ng/dl per ng/ml/h

3) 副腎CT

既報（AJR,2008;191:402）に従い造影

副腎CTを撮影。副腎結節の有無、副腎静脈を描出。

4) 副腎静脈サンプリング (AVS)

既報 (Hypertension Res,2007;30:1083) に従いACTH負荷前後の両側同時サンプリングを施行。ACTH負荷後A/C左右比 ≥ 2.6 を片側手術適応と診断。

5) 病理診断

ステロイド合成酵素に対する免疫組織化学法

6) 末梢血18-oxoF診断能の評価

AVSに基づき片側病変と診断し、片側副腎摘除術施行

例、および両側病変と診断し薬物療法施行例の2群に

分け、ROC解析により末梢血18-oxoF測定値による病型

診断能を評価した。

C. 研究結果

ROC解析を行いcut-off値18-oxoF濃度4.7ng/dl以上でアルドステロン産生腺腫 (APA)の感度63% だが特異度は97%と高い診断能を有した。CTでの副腎結節の画像診断と組み合わせた結果では、片側副腎結節をもつPAでのAPA診断はROC解析で末梢血18-oxoF濃度のcut-off値4.6 ng/dl以上で感度73%、特異度97%の高い診断能を得た。しかしCT陰性微小APA (mAPA)と両側病変群(BHA)に関しては18oxoFで鑑別はできなかった。(図参照)

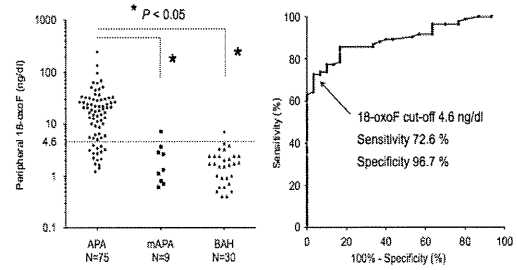


図1 : ROC Analysis ;18-oxoF (ng/dl)
All cases ;Tumors vs Hyperplasia

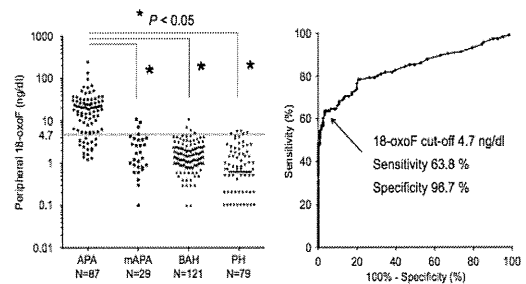


図2 : ROC Analysis ;18-oxoF (ng/dl)
Cases with UNILATERAL nodules

D. 考察

末梢血18-oxoFはcut-off値4.7ng/dl以上で特異度の高いAPA鑑別法といえるが、感度は63.8%である。18-oxoF濃度の低いAPAも存在する理由としては、アルドステロン産生に必要なCYP11B2の発現が低いAPAも存在し、アルドステロンの前駆体を腫瘍内で産生し、付随副腎の球状層のCYP11B2を用いてアルドステロンを産生している可能性が示唆される。既にCYP11B2の発現がないAPAは報告されている。CTで片側副腎結節を有する75症例のAPA中、18-oxoFが4.6ng/dl以上であれば2例を除いて全例でその結節がAPAであり、AVSができない施設でも18-oxoFとCTを組み合わせるとAVSなし

で手術治療を考えられる可能性を示唆した。しかし CT陰性のAPAの局在診断ではAVSが必須であると考えられるが、AVSが困難な施設でも18-oxoF測定により、mAPAと反対側の副腎結節をAPAと誤診して手術する危険を回避できる

E. 結 論

PAの局在診断はCT等の画像診断に比較して明らかにAVSの正診性が高い。末梢血18-oxoF濃度測定により高い特異度で手術適応のAPA症例を選別することができる。18-oxoFの測定も画像診断と併用して局在診断にさらに有用である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 別紙
2. 学会発表
 - 第19回日本ステロイド学会
 - 第13回欧州内分泌学会
 - 第93回米国内分泌学会
 - 第84回日本内分泌学会

H. 知的財産権の出願登録状況

1. 特許取得
 - 18-oxoFの測定法に関して
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

「原発性アルドステロン症における機能確認検査の診断的意義」

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 難波多拳、立木美香、中尾佳奈子、玉那覇民子、白井 健、田上哲也

国立病院機構京都医療センター内分泌代謝科

【研究要旨】

原発性アルドステロン症（PA）診断においてアルドステロン過剰を評価する機能確認検査は重要な診断プロセスとされるが、全例で実施すべきか、どの検査が最適かは明確でない。本研究ではアルドステロン/レニン比（ARR）が陽性の高血圧患者で、カプトプリル試験（CCT）、フロセミド立位試験（FUT）、生食負荷試験（SIT）の内、少なくとも1種類の機能確認検査が実施されたGroup A（120名）、3種類の検査が実施されたGroup B（57例）、副腎静脈サンプリングあるいは副腎手術にて診断が確認されたGroup C（57例）において、各機能確認検査の陽性率を検討した。その結果、CCTとFUTはいずれのグループでも高い陽性率を示したが、SITの陽性率はいずれのグループでも他の検査より低かった。各機能確認検査はARR 1,000以上あるいはPAC 250 pg/mL以上の例では、高い陽性率を示した。以上から、PAの診断における機能確認検査は1種類の検査で十分で、特にARRあるいはPAC高値例では機能検査を実施せずに、次の病型・局在診断を行うことが可能であることが示唆された。

A. 研究目的

原発性アルドステロン症（PA）は最も頻度の高い二次性高血圧であるため、その診断と治療は高血圧診療で重要な位置をしめる。米国内分泌学会、日本高血圧学会、日本内分泌学会から診療ガイドラインが発表され、アルドステロンとレニン測定によるスクリーニング、機能確認検査、病型・局在診断がその主要なステップとなっている。機能確認検査はアルド

ステロンの自律性・過剰分泌を確認する検査で、我が国ではカプトプリル試験（CCT）、フロセミド立位試験（FUT）、生食負荷試験（SIT）が推奨され、二つ以上陽性の場合にPAと確定診断するとされているが、実際にどの組み合わせが至適かの詳細は不明である。本研究ではARR陽性の高血圧患者において、機能確認検査の診断的意義について検討した。

B. 研究方法

ARRによるスクリーニング陽性の高血圧患者で少なくとも一種類の機能確認検査を実施した120名 (Group A) を対象とした。その中で3種類の機能確認検査を実施した57例をGroup B、副腎静脈サンプリングまたは手術にて診断が確定された57例をGroup Cとして解析した。機能確認検査：早朝、安静臥床30分以上で実施した。CCTは50mgのカプトプリル服用後、60分、90分に採血し、いずれかにおけるARR > 200を陽性とした。FUTはフロセミド40mg静注後、2時間立位とし、PRA < 2 ng/mL/hを陽性とした。SITは生食2リットルを点滴静注し、4時間後のPAC > 60 pg/mLを陽性とした。解析項目：各グループで各機能確認検査の陽性率を検討するとともに、Group Cにおいては片側例と両側例で機能確認検査の陽性率とカットオフ値を比較した。統計解析はJMP version 5 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を用い、t test、 χ^2 testにて検定した。

(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

ARR post-CCT (means \pm SD) はGroup A 1169 \pm 1448、Group B 850 \pm 787、Group C 1463 \pm 1784であった。PRA

post-FUT (means \pm SD) はGroup A 1.2 \pm 1.4 ng/mL/h、Group B 1.0 \pm 1.0 ng/mL/h、Group C 1.1 \pm 1.5 ng/mL/hであった。PAC post-SIT (means \pm SD) はGroup A 111 \pm 103 pg/mL、Group B 111 \pm 108 pg/mL、Group C 125 \pm 128 pg/mLであった。Group CにおけるARR post-CCTはGroup Bと比較して有意に高値であったが、その他の指標は3群間で有意差を認めなかった。

Group AとGroup BではCCTとFUTの陽性率は85%以上であったのに対して、SITの陽性率は65%以下であった。Group CでもCCTとFUTの陽性率は90%以上であったが、SITの陽性率は60%であった。3つの機能確認検査を実施したGroup Bにおいて、28/57 (49%) は3試験陽性、21/57 (35%) は2試験で陽性を示したことから、84%が2試験陽性でPAの確定診断となった。また、ARRの基礎値と機能確認検査の陽性率との関連を検討した結果、ARR 1,000以上の群ではARR 1,000未満の群と比較して、3つの機能確認検査の陽性率はいずれも明らかに高値であった。

Group Cにおいて、片側例 (39例) と両側例 (18例) で機能確認検査の結果を比較した結果、陽性率は2群間で差を認めなかったが、ARR post-CCT とPAC post-SITは片側例が両側例と比較して有意に高値であった (ARR post-CCT: 1904 \pm 2012 vs. 533 \pm 365; PAC post-SIT: 197 \pm 166 pg/mL vs. 61 \pm 24 pg/mL)。

ROC解析によりPA病型の予知因子としてのARR post-CCT とPAC post-SIT