

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
 分担研究報告書

高血圧合併2型糖尿病における原発性アルドステロン症の 合併頻度と臨床的特徴の検討

研究分担者	柳瀬 敏彦	福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科
研究協力者	村瀬邦 崇	同上
	野見山 崇	同上
	明比 祐子	同上

【研究要旨】

本邦における高血圧合併糖尿病患者における原発性アルドステロン症(PA)の頻度は不明であり、その頻度と臨床的特徴を解析した。2009年4月より2012年8月の間に当科に入院した高血圧合併糖尿病患者のうち、PAC/ PRA比(ARR)が測定された124例を対象とした。この内ARR200以上で立位フロセミド負荷試験、カプトプリル負荷試験、迅速ACTH負荷試験の2つ以上で陽性の症例をPAの確定診断とした。その結果、最終的なPAの確定診断例は14例で11.3%に該当した。PA群と非PA群の臨床的特徴を比較検討したところ、PA群で有意に糖尿病歴が短く、高血圧が糖尿病よりも先行発症している症例が有意に多かった。また、ARR測定時のARB内服はPAの診断に影響はなかった。一方、同じ期間に入院したPA患者43例において糖尿病合併(15例)、非合併群(28例)の2群間の臨床的特徴の検討も行った。PA患者群での糖尿病合併の有無の検討では、糖尿病合併例は有意に高齢で高血圧罹病期間も長く、PA診断が遅れる傾向が示唆された。糖尿病患者の高血圧管理のために積極的なPAスクリーニングを行うことが望ましく、特に高血圧発症が糖尿病発症に先行する症例では効率的と思われる。

A. 研究目的

近年、全高血圧患者の8-13%がPAであることが、我が国のみならず全世界的に明らかにされてきている。さらに、PAは高率（約50%）に耐糖能異常を合併する。一方、糖尿病患者の50-60%が高血圧を合併すると報告されている。しかし、高血圧合併2型糖尿病患者においてPA患者に関する検討成績は極めて少ない。本研究は、糖尿病患者におけるPA合併頻度を明らかにし、その臨床的特徴を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

2009年4月1日より2012年8月31日までの

間、当科に入院した高血圧合併2型糖尿病患者のうち、入院時に安静臥床下でARRを測定された患者124例を対象とした(表1)。ARR測定時に投与されていた降圧剤の種類は表2にまとめられた。なお、ARR測定時には安全性や倫理面への配慮から降圧薬の中止や変更は行っていない。ARRデータ判明後、ARR \geq 200を満たす患者に対し、降圧薬をカルシウムチャネルブロッカー（CCB）に変更し、3日後より迅速ACTH負荷試験、立位-フロセミド負荷試験、カプトプリル負荷試験を行い、3試験中、2試験以上の陽性例をPA確定診断とした。迅速ACTH負荷試験ではPACの最大値200 pg/ml以上かつアルドステロン最大値/コルチゾール比

8.5以上で陽性と判断した。立位-フロセミド負荷試験では負荷後のPRAが $2.0\text{ng/ml}\cdot\text{hr}$ 以下を陽性とし、カプトプリル負荷試験で負荷ARR ≥ 200 で陽性とした。次に、PA群と非PA群に分け、年齢、性別、BMI、高血圧歴、糖尿病歴、降圧薬の種類、血圧、PAC、PRA、血中クレアチニン値、血中Na値、血中K値、FBS(空腹時血糖)値、HbA1c、蓄尿Cペプチドの因子に関して、PA群、非PA群の2群間で比較検討した。そして、本邦の高血圧合併糖尿病患者における降圧薬の第一選択薬となっているARBによるARRへの影響も検討した。さらに、同期間、当科で経験した43例のPA患者における耐糖能異常例の特徴を検討するために、糖尿病合併PA例と糖尿病非合併PA例をと同期間、同様の方法で比較検討した。統計学的検討は、unpaired t-test及び、logisticモデルによる回帰分析を用いた多変量解析、Fisher検定を用いて行い、 $p < 0.05$ を有意差有りとした。以降の統計学的表記はmean \pm SDとした。

(倫理的配慮) 本研究の実施に関しては、福岡大学病院臨床研究審査委員会の承認を得た。

C. 結果

観察期間中に当科へ入院とした高血圧合併糖尿病患者は585例の内、容態が安定していた124例についてARRが測定され、残り461例については、糖尿病性ケトアシドーシス、重症の糖尿病合併症、感染症、早急の術前血糖管理、脆弱、寝たきりなどの病態のため、研究への参加が不適切と判断され、ARRスクリーニングは行われなかった。ARRが測定された124例の患者背景を表1に示した。平均年齢は、 63.01 ± 12.08 歳であり男性79例(63.7%)、糖尿病歴は 12.84 ± 11.3 年、高血圧歴は 10.43 ± 10.97 年であった。収縮期血圧

$142.4 \pm 22.45\text{mmHg}$ 、拡張期血圧 $79.84 \pm 13.59\text{mmHg}$ とやや血圧高値で、HbA1c $8.61 \pm 1.92\%$ (NGSP) とコントロール不可の母集団であった。124例中ARRが ≥ 200 以上の症例は23例であったが、このうち、糖尿病により明らかな低レニン・低アルドステロン血症¹⁷⁾のために、ARR比が見かけ上200以上を呈した6症例(何れもPAC 70.3pg/ml 以下)は負荷試験対象からは除外した。残りの17例の負荷試験の結果、14例中11例が3つの負荷試験の全てに陽性、残り3例において3試験中2試験で陽性所見を示し、これら14例を最終的にPAと診断した。高血圧合併糖尿病患者124例中、PAは14例(11.3%)であった。

次に、PA合併糖尿病患者の特徴を検討するために、PA群14例と非PA群110例に分け比較検討した(表1)。両群の男女比、年齢に有意差は無かった。糖尿病歴はPA群($n=14$)で 5.21 ± 6.51 年と非PA群($n=106$)の 13.73 ± 11.43 年と比べて有意に短く、高血圧歴は両群間に有意差は無かった。さらに、Logisticモデルによる回帰分析を用いた多変量解析でも、寄与因子としてPA群では糖尿病歴が有意に短かった(表3)。糖尿病に先行して高血圧を発症していた症例は、両罹病歴が得られたPA群14例中の8例で認めたのに対し、両罹病歴が得られた非PA群では91例中の17例に認めた。すなわちPA群では非PA群に比して高血圧先行例が多く、Fisherの直接確率検定でも両群間に有意差を認めた($P=0.013$)(図1)。血清K値は、PA群で 3.82mEq/L 、非PA群で 4.17mEq/L とPA群で有意に低値であったが、明確な低K血症を示した1例を除いては14例中13例(92.8%)の症例で正常範囲(3.5mEq/dl 以上)を示した。その他の観察項目で、PA群では有意にFBS、HbA1cが低値であったが、尿中Cペプチドの一日定量値は有意差を認めなかった(表1)。

さらに、ARB、CCB内服がPAC、PRAに及ぼす影響を検討した。PA群、非PA群でARB、CCBの内服の有無でFisher検定をしたところ、有意差を認めなかった。更に、PAC、PRA、ARR値を124例全体で検討したところ、ARB内服群、非内服群間で有意差を認めなかった。次に、PA群、非PA群のそれぞれについて同様の検討を行ったがARB内服の有無で両群間のARRに有意差を認めなかった（表4）。

次に、当科でPAと診断された43症例のPAについて、糖尿病群15例、非糖尿病群28例に分け、両群間での種々の因子に関する比較検討を行った。43例のPAの患者背景をTable5に示した。t検定で群間比較したところDM合併例では非合併群に較べ有意に高齢(66.45 ± 8.43 vs 55.07 ± 10.53 歳)であり、高血圧病歴(17.44 ± 11.28 vs 7.55 ± 9.87 年)も長い事が判明した。その他の観察項目ではHbA1c以外に糖尿病群、非糖尿病群間で有意差は無く、PAC、PRA、ARRについても両群間で有意差を認めなかった。また、Fisher検定によりARB、CCB内服の有無で、糖尿病群、非糖尿病群間で有意差検定を行ったが、差異を認めなかった（表5）。

D. 考察

糖尿病は、動脈硬化症の危険因子としては、もっとも重要な疾患の一つであると同時に、高血圧の合併頻度も極めて高いことが知られているが、PAの合併頻度については明確ではない。今回の我々の検討により、高血圧合併糖尿病患者の少なくとも11.3%にPAが合併している事実が確認された。高血圧集団におけるPA合併頻度の検討は、施設研究として数多く存在するが、総じて10%前後と理解されている。糖尿病は、種々の成因により高血圧合併症を起

こしやすく、そのために日常臨床では高血圧成因として二次的要因を想起しにくい疾患であると言える。2003年のNational Health and Nutrition Examination Surveyでは、通常の高血圧診療で140/90 mmHg未満を達成しているのは53%に過ぎないとの報告されており、糖尿病における血圧管理の困難さがうかがえる。難治性（治療抵抗性）高血圧とは、利尿剤を含む適切な用量の3種類以上の降圧剤の使用にもかかわらず、良好な血圧コントロールが得られない場合を指すが、2008年の1616人の治療抵抗性高血圧の解析報告例では最終的に182人（11.6%）がPAと診断されている。糖尿病患者では、PAと診断されずに見過ごされている高血圧合併症例群は少なくないと予想され、ARRによるPAの積極的スクリーニングの臨床的意義は大きいと考えられる。

一般高血圧診療において内服降圧薬の種類によっては、PRA、PACが変化しARRに影響を与え偽陰性や偽陽性が増える可能性が指摘されている。厳密な意味では、ARB、ACE (angiotensin converting enzyme)阻害薬、抗アルドステロン薬、利尿薬、 β -blockerは特にPRA値に影響を与えるため、比較的影響の少ないCa拮抗剤、 α -遮断薬投与下でのPA精査が推奨されている。糖尿病診療においては、臓器保護、特に腎保護の観点からARBの使用頻度が高い現状がある。今回の研究では、ARRはPA合併群・非合併群共に有意差は無く、少なくとも比較的、定型的なPA群を糖尿病合併高血圧群からスクリーニングする上では、降圧剤の種類の違いや服用の有無は臨床的に大きな障害にならないと考えられた。一般高血圧集団を対象としたPAスクリーニングの施設研究においても、ARB、ACEを含む降圧薬内服の種類によりARRは影響を受けるものの、PAが強く疑われる症例では、ARBを含む降圧剤の種類の影

響は大きくないことが報告されている。しかしながら、PA非合併例と診断された高血圧合併糖尿病患者群には、ARB、ACEの投与によりPAと診断されなかった疑陰性例が少なからず存在すると考えられる。降圧剤服用の影響でPA疑診例にとどまり、明確な結論を必要とする場合にはARB、ACE服用中止後の再検査が望ましい。また、一般的に自律神経障害が高度な糖尿病重症例では注意が必要と言える。PA非合併例と診断された高血圧合併糖尿病症例群の中には、PA偽陰性症例が存在している可能性は否定できない。以上のことを考慮すると、今回の高血圧合併糖尿病患者におけるPAの頻度、11.3%は実際の頻度よりもやや低めである可能性が考えられる。

PA合併糖尿病患者の特徴として糖尿病歴はPA合併群で有意に短かった。また糖尿病に先行して高血圧を発症していた症例群は、Fisher検定で有意差を認め、PA群では57.1%、非PA群では18.7%と、PA合併群で有意に高血圧先行例が多かった。糖尿病が原因の高血圧であれば、高血圧は糖尿病と同時期発症もしくは後年発症になると考えられるので、PA合併糖尿病例では高血圧先行例が多いという事実は、高血圧合併糖尿病症例でPA合併を積極的に疑う手がかりの一つとして参考になると言える。

最後に同じ研究期間内に当科で最終的にPAと診断されたPA患者43例を対象に糖尿病合併例と非合併例に分け群間比較した。糖尿病非合併群に比して糖尿病合併群ではPA診断に至るまでの高血圧罹病期間が長く、PA診断年齢も有意に高かった。高血圧は併存している糖尿病によるものとの先入観から、結果的にPAの診断が遅れる傾向にある可能性が示唆された。また、この集団においても、ARR測定に対する降圧剤の種類の影響は統計学的には認められなかった。PA診療において定型的PAをスクリー

ニングするためのARR測定であれば、初診時に必ずしも降圧剤の変更や中止をする必要はないと考えられた。

E. 結論

高血圧合併糖尿病患者でも少なくとも11.3%と高率にPAを合併している事を明らかにした。PA合併糖尿病患者では、高血圧発症が糖尿病発症に先行する症例が多く、病歴聴取がPA早期診断の一助となることが示唆された。高血圧合併糖尿病患者におけるARR \geq 200でのスクリーニングは、ARB内服の有無にかかわらず有用である事が示された。また、糖尿病合併PA例では、おそらく糖尿病に起因する高血圧症との先入観から、糖尿病非合併PAに比べ、PA診断が遅れる可能性が示唆された。高血圧合併2型糖尿病患者においてPAの可能性を念頭に置いた診療が望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tachibana S, Sato S, Yokoi T, Nagaishi R, Akehi Y, Yanase T, Yamashita H. : Severe hypocalcemia complicated by postsurgical hypoparathyroidism and hungry bone syndrome in a patient with primary hyperparathyroidism, Graves' disease, and acromegaly. Intern Med.51(14):1869-73,2012
- 2) 濱之上暢也、永石綾子、竹之下博正、野見山 崇、明比 祐子、乗富 智明、林博之、鍋島一樹、池満陽美子、野々熊真也、桑原康雄、榊 裕佳、的場ゆか、小河 淳、柳瀬敏彦：局在診断に FDG-

- PET/CTが有用であった異所性ACTH産生
 隣神経内分泌腫瘍の一例 臨床と研究
 89:1417-1422,2012
- 3) 後藤敏孝、高田 徹、佐藤栄一、田村和夫、柳瀬敏彦:クリプトコッカス、サイトメガロウイルス及びニューモシスチスの重複感染下でコルチゾール拮抗薬投与後に急性呼吸窮迫症候群を呈したと推定されるCushing症候群1例 感染症学雑誌 87(1):39-43, 2013
- 4) 明比祐子、継 仁、辰元亜希、吉田亮子、二村 聡、重川誠二、鍋島一樹、井上亨、小野順子、柳瀬敏彦: Corticotroph hyperplasia を示した高齢Cushing症候群の一例臨床と研究90(1): 103-106, 2013
- 5) 柳瀬敏彦:成人GHDであってもGH補充療法を避けるべき患者 成人GHDにおけるPitfall 3: 1-2, 2012
- 6) 高柳涼一、河手久弥、柳瀬敏彦: 内分泌疾患:診断と治療の進歩:副腎疾患の取り扱いと問題点 副腎偶発腫とサブクリニカルクッシング症候群 日本内科学会雑誌 101:941-948,2012
- 7) 柳瀬敏彦、野見山 崇:前立腺癌と糖代謝の関係 アンドロゲンとインスリンの観点から内分泌・糖尿病・代謝内科35(3): 270-274, 2012
- 8) 柳瀬敏彦、村瀬邦崇、明比祐子、野見山崇 :ステロイドホルモンと脂質代謝6. テストステロンと脂質代謝 -late-onset hypogonadism (LOH)を含めてThe Lipid 23:54-59, 2012
- 9) 柳瀬敏彦、明比祐子:内分泌環境の中でのテストステロンの位置づけ 臨床泌尿器科66(5):309-314, 2012
- 10) 森 昌朋、柳瀬敏彦、小川佳宏、大磯ユタカ:厚生労働省難治性疾患研究から得られた日本の難病の現状-内分泌系4領域の研究成果- 内分泌系4難治性疾患研究班の研究成果とその展望. 最新医学 67:1939-1952, 2012
- 11) 明比祐子、永石綾子、竹之下博正、野見山崇、柳瀬敏彦:腎臓症候群(第2版)上 尿細管輸送異常症 偽性低アルドステロン症i型. 日本臨床 別冊:830-833, 2012
- 12) 柳瀬敏彦:厚生労働省難治性疾患研究から得られた日本の難病の現状-内分泌系4領域の研究成果- 副腎ホルモン産生異常 厚生労働省「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班」の研究概要紹介 疫学研究を中心に. 最新医学 67:1981-1988, 2012
- 13) 柳瀬敏彦、永石綾子、明比祐子、野見山崇:高齢者の男性医学 テストステロンと脂質、糖代謝、肥満、動脈硬化Geriatric Medicine 50:449-454, 2012
- 14) 柳瀬敏彦、野見山 崇、明比祐子:腎臓症候群(第2版)上 尿細管輸送異常症 偽性低アルドステロン症ii型. 日本臨床 別冊:834-837, 2012
- 15) 柳瀬敏彦、明比祐子:17 α -水酸化酵素欠損症および11 β -水酸化酵素欠損症の新しい診断と治療のABC 73内分泌性高血圧(編集 宮森 勇) 最新医学社 132-138, 2012
- 16) 高柳涼一、河手久弥、柳瀬敏彦 クッシング症候群とサブクリニカルクッシング症候群 新しい診断と治療のABC73内分泌性高血圧(編集 宮森 勇) 最新医学社 28-37, 2012
- 17) 柳瀬敏彦 副腎インシデンタローマ(偶発腫) 山口 徹、北原光夫、福井次矢 編集(医学書院) 今日の治療指針2012 p672, 2012

IV. 分担研究報告書

2. 学会発表

- 1) 明比祐子、柳瀬敏彦：クリニカルアワー8 コルチゾール代謝・産生の軽度異常時の対処「軽症副腎不全の診断と治療」第85回日本内分泌学会学術総会 2012.4.20 (名古屋)
- 2) 野見山 崇、堤 陽子、藤木 亮次、加藤茂明、柳瀬 敏彦: シンポジウム6 核内受容体のエピゲネティクスと内分泌疾患糖尿病血管合併症とエピゲネティクス第85回日本内分泌学会学術総会 2012.4.20 (名古屋)
- 3) 柳瀬敏彦:クリニカルアワー6厚生労働省難治性疾患克服研究事業 各研究班トピックス発表 厚労省・副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班の研究活動紹介 第85回日本内分泌学会学術総会 2012.4.20 (名古屋)
- 4) 柳瀬敏彦:クリニカルアワー9 性ステロイドとメタボリックシンドローム アンドロゲンの抗肥満作用の基盤研究と生活習慣病創薬第85回日本内分泌学会学術総会 2012.4.20 (名古屋)
- 5) Yanase T : Symposium 6: Subclinical adrenal diseases Diagnosis and treatment of subclinical Cushing syndrome (SCS) International Congress of Endocrinology May 5-9, 2012 (Florence, Italy)
- 6) Akehi Y, Fukuda T, Nagasako H, Terawaki Y, Takada A, Nagaiashi R, Takenoshita H, Nomiya T, Yanase T: Utility of CGM for the determination of optimal glucocorticoid replacement method in patients with adrenal insufficiency International Congress of Endocrinology May 5-9, 2012 (Florence, Italy)
- 7) 柳瀬敏彦:特別講演「ステロイドホルモン産生異常症に関する幾つかの話題」第13回日本内分泌学会近畿支部学術集会 2012.10.20 (大阪)
- 8) Yanase T : Symposium Androgen and metabolic syndrome 15th International Congress on Hormonal Steroids and Hormones and Cancer Nov 17th 2012 (Kanazawa)
- 9) 柳瀬敏彦: 教育講演「SARMとSERM」 Selective androgen receptor modulator (SARM)開発の現況 第20回日本ステロイドホルモン学会学術集会 2012. 11.18 日(金沢)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

原発性アルドステロン症患者におけるミネラルコルチコイド受容体拮抗薬による寛解効果

分担研究者 武田仁勇（金沢大学医薬保健研究域医学系臓器機能制御学（内分泌代謝内科））
研究協力者 米田 隆（同上）
研究協力者 米谷充弘（同上）

【緒言】

原発性アルドステロン症(PA)は本態性高血圧症に比して心、脳血管障害や腎機能障害などの合併症が多く、重症な血圧のコントロールが必要である。PAは手術により治癒可能な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)を始めとする薬物治療が必要な疾患に分かれるが、APAでも手術を希望しない患者も存在し、薬物治療患者は70%以上を占める。降圧薬として従来からのスピロノラクトン(SP)及びMRに特異性の高いエプレレノン(EPL)があるが、IHA患者においてSP長期投与による寛解症例が報告されている^{1), 2)}。我々もアルドステロン産生腺腫に対してSP長期投与により寛解した症例を経験したが³⁾、EPLによる寛解に関しては報告がない。今回 PA患者においてSP及びEPLによる寛解の有無を比較検討した。

【研究方法】

内分泌学会の指針により診断したPA患者92例に対しSP (n=47)及びEPL (n=42)を投与し、完全寛解 (CR)及び部分寛解 (PR)について検討した。完全寛解 (CR)の指標は3カ月間SPまたはEPLの服薬休止にて血漿アルドステロン(p-aldo)/PRA (ARR) <200、カプトプリルなどの負荷試験陰性、正カリウム血症、正常血圧とし、部分寛解(PR)はARR<200、負荷試験陰性、正カリウム血症、高血圧とした。

【結果】

SP投与群(平均投与期間4.8年)ではCR 5例(11%)、PR 4例(9%)であった(表1)。寛解した群と寛解が得られなかった群において年齢、血圧、ARR、p-aldo、PRA、投与量、投与期間において有意の差を認めなかった(表2)。EPL投与群(平均投与期間3.1年)ではCRはなし、PR 4例(8%)であった(表3)。PRを示した群と

示さなかった群で、SP投与群と同様の指標を検討すると、PR群ではARRが有意に高値であった(表4)。

【考案】

1970年代に副腎静脈造影による梗塞のためPAが寛解したという報告⁴⁾以来、寛解に関する報告はほとんどなかったが、Armaniniら¹⁾が2007年にIHAにおいてMR拮抗薬による3例の寛解を報告している。Fischerら²⁾は37症例のIHAの内2症例(5.4%)にMR拮抗薬による寛解を認めたと報告しているが、APAの寛解例の報告はなかった。我々はCT及び副腎静脈サンプリングでAPAと診断した症例がSP投与中に血圧の改善を見、中止後も正常血圧、血漿アルドステロン/PRA比が200未満であり、各負荷試験も陰性であったために副腎静脈サンプリングを再施行し、アルドステロンの過剰産生がなかった症例を報告した³⁾。今回の研究では

APAを含むPAにおいてSP及びEPLによる寛解の有無を検討したが、寛解率の成績は従来の報告よりSP投与群、EPL投与群とも高く、APAにおいても寛解が観察された。2013年にLucatelloら⁵⁾は、後ろ向き研究であるがAPAも含むPAにおいて寛解は59%見られたと非常に高い寛解率を報告しているが、半数以上の患者が薬物治療により寛解しうるかさらに多施設での検討が必要である。

SPによるアルドステロン過剰産生の改善作用として、アンジオテンシンIIに対する感受性やアルドステロン刺激因子の可能性、古くはSPによる副腎への直接作用などが挙げられる。EPLに関してはアルドステロン産生に対する副腎への直接作用の報告はない。我々はCYP11B2遺伝子発現が遺伝子上流域におけるメチレーションにより調節されていることを報告した⁶⁾。副腎及び心血管系においてメチル化状態とCYP11B2 mRNA発現が負の相関を示し、APAでは低メチル化状態であった。SPやEPLがメチル化に作用している可能性も考えられ、さらなる検討を行っている。

【結語】

MR拮抗薬による寛解は従来の報告より高率に認められた。SPとEPLとの差異、寛解した症例の予後などさらなる検討が必要である。

【文献】

- 1) Armanini D. et al. Spontaneous resolution of idiopathic aldosteronism after long-term treatment with potassium canrenoate. Hypertension 50, e69-e70, 2007
- 2) Fischer E. et al. Spontaneous remission of idiopathic aldosteronism after long-term treatment with spironolactone: results from the German Conn's Registry. Clin Endocrinol 76, 473-477, 2012
- 3) Yoneda T et al. Unilateral primary aldosteronism with spontaneous remission after long-term spironolactone therapy. J Clin Endocrinol Metab 97, 1109-1113, 2012
- 4) Fisher CE et al. Remission of primary hyperaldostrenism after adrenal venography. N Engl J Med 285, 334-336, 1971
- 5) Lucatello B et al. Long term re-evaluation of primary aldosteronism after medical treatment reveals high proportion of normal mineralocorticoid secretion. Eur J Endocrinol 2013 PMID: 23321419
- 6) 武田仁勇, 組織レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系のエピジェネティクス 適応医学16, 2-7, 2012

表 1. SP 投与による寛解率

	完全寛解	部分寛解
片側性病変 (n=10)	1 (10%)	0
両側性病変 (n=22)	2 (9%)	2 (9%)
不明 (n=15)	2 (13%)	2 (13%)
全体 (n=47)	5 (11%)	4 (9%)

表 2. SP による寛解症例と非寛解症例の臨床的差異

	寛解群 (n=9)	非寛解群 (n=38)	P 値
男/女	5/4	17/21	
年齢 (歳)	57±9	58±8	0.5
収縮期血圧 (mmHg)	160±12	162±9	0.16
拡張期血圧 (mmHg)	96±4	97±6	0.11
血清カリウム値 (mEq/L)	3.9±0.4	3.9±0.4	0.8
SP 投与期間 (年)	4.3±0.9	5.2±1.9	0.09
SP 投与量 (mg/日)	43±12	36±3	0.1
PRA (ng/mL·h)	0.3±0.1	0.3±0.2	0.4
血漿アルドステロン濃度(PAC) (pg/mL)	110±19	112±29	0.8
PAC/PRA	468±292	609±346	0.2

表 3. EPL 投与による寛解率

	完全寛解	部分寛解
片側性病変 (n=6)	0	0
両側性病変 (n=28)	0	2 (7%)
不明 (n=11)	0	2 (18%)
全体 (n=45)	0	4 (8%)

表 4. EPL による寛解症例と非寛解症例の臨床的差異

	寛解群 (n=4)	非寛解群 (n=41)	P 値
男/女	2/2	24/17	
年齢 (歳)	57±7	55±11	0.6
収縮期血圧 (mmHg)	160±6	164±9	0.3
拡張期血圧 (mmHg)	98±3	96±6	0.4
血清カリウム値 (mEq/L)	3.8±0.4	3.9±0.4	0.6
EPL 投与期間 (年)	3.7±0.5	3.2±0.5	0.1
EPL 投与量 (mg/日)	63±25	66±24	0.8
PRA (ng/mL·h)	0.4±0.3	0.3±0.2	0.4
血漿アルドステロン濃度(PAC) (pg/mL)	111±42	112±34	0.9
PAC/PRA	281±54	489±276	0.005

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

「原発性アルドステロン症に対するミネラルコルチコイド拮抗薬の有用性に関する研究」

研究分担者 方波見 卓行

聖マリアンナ医科大学 横浜市西部病院 代謝・内分泌内科 部長

【研究要旨】

原発性アルドステロン症（PA）の頻度は高く、副腎静脈サンプリング（AVS）の全例実施困難である。そこでPAに対しミネラルコルチコイド拮抗薬を主体とする降圧治療（M群）を施行した場合の治療効果を検討し、手術治療（O群）を行った片側アルドステロン産生腺腫（APA）との比較も行った。M群（43例）とO群（16例）の高血圧罹病期間、血圧、介入前のPAC、PRA、ARR、Aldosterone Resolution Score（ARS、M群：3.2±1.5、O群：3.2±1.7）に差はなく、M群の血清Kは有意に低値、eGFRは有意に高値だった。両群の介入後の血圧（M群：134.9±16.0/82.3、O群：130.1±17.7/81.1±13.4mmHg）、投与降圧薬の数（M群：1.9±0.7、O群：2.1±1.5剤）、血清K（M群：4.0±0.4、O群：4.2±0.5mEq/l）とeGFR（72.2±17.1、O群：64.5±21.3ml/min/1.73m²）に差はなかった。局在不明のPA対しMRBを主体とする治療を平均約47週行い、比較的良好な降圧とeGFRの改善が得られ、その効果は手術と同等だった。ARSが3点程度の例ではAVSを行わず、MRBを主体とした降圧治療を選択しても手術と類似の降圧と腎機能改善が得られる可能性がある。今後より長期間での検証が必要である。

A. 研究目的

原発性アルドステロン症（PA）の頻度は高く、副腎静脈サンプリング（AVS）の全例実施困難である。そこでPAに対しミネラルコルチコイド拮抗薬（MRB）を主体とする降圧治療を施行した場合の治療効果を検討し、手術治療を行った片側アルドステロン産生腺腫（APA）との比較も行った。

B. 研究方法

対象はPRA<1.0ng/ml/hr、PAC>120pg/ml、確認検査陽性からPAと診断し、介入後の追跡が可能であった59例で、内訳は副腎静脈サンプリング（AVS）未実施、不成功、両側副腎過剰産生の理由によりMRBを主体と

する降圧療法[エプレレノン（EPL）35例、スピロラクトン（SPL）8例]を選択した43例（M群、60.5±11.9歳、平均値±標準誤差）と手術を実施したAPA16例（O群、53.9±10.9歳）。

評価項目は治療前後の収縮期血圧（SBP、mmHg）、収縮期血圧（SBP mmHg）、血清K(mEq/l)、eGFR (ml/min/1.73m²)、投与降圧薬数と量、Aldosterone Resolution Score (ARS、Ann Surg 247;511,2008) で、観察期間は46.6±8.6 (4-52) 週だった。M群での降圧治療は血清K 4.0mEq/Lを目標にMRBを増量し、増量後も血圧が140/90mmHgに到達しない場合は他剤を追加した。

(倫理面への配慮)

データは連結・匿名下の後に登録、解析した。

C. 研究結果

M群とO群の高血圧罹病期間、糖尿病、脂質異常症、肥満、大血管症の合併頻度は各々 10.6 ± 10.2 と 10.5 ± 10.2 年、 16.3 と 18.8% 、 14.0 と 31.3% 、 41.9 と 32.1% 、 9.3 と 18.8% と、脂質異常はM群、肥満と大血管症はO群でより多く認められた。

介入前のPAC、PRA、ARRはM群が各々 202.7 ± 135.5 pg/ml、 0.33 ± 0.28 ng/ml/hr、 1070.8 ± 1429.8 、O群が各々 213.1 ± 161.5 pg/ml、 0.34 ± 0.25 ng/ml/hr、 1252.3 ± 1494.3 と差はなかったが、血清KはM群の 3.61 ± 0.47 mEq/lに対し、O群は 3.99 ± 0.44 mEq/lとM群が有意に低値($p=0.033$)で、eGFRはM群が 81.1 ± 18.1 ml/min/1.73m²、O群が 68.7 ± 22.1 ml/min/1.73m²とM群が有意($p=0.005$)に高値だった。

投与降圧薬数、体格指数、高血圧罹病期間、性をスコア一化して算定されるARSはM群が 3.2 ± 1.5 、O群が 3.2 ± 1.7 と群間差はなかった。

介入前後のSBPとDBPはM群が $149.0 \pm 18.6/88.9 \pm 12.3$ mmHgから $134.9 \pm 16.0/82.3$ mmHg、O群が $150.2 \pm 15.2/91.4 \pm 10.9$ mmHgから $130.1 \pm 17.7/81.1 \pm 13.4$ mmHgとなり、両群の介入前後の値に差はなかった。また投与した降圧薬の数はM群では 1.6 ± 0.9 から 1.9 ± 0.7 剤に増加し、O群では 2.4 ± 1.1 から 2.1 ± 1.5 剤に減少し、介入間に認められた群間差は介入後消失した。M群でのMRB最終投与量はEPLが 62.1 ± 26.7 mg/日、SPLが 46.9 ± 16.0 mg/日となった。

介入前に有意差のあった血清KとeGFRは介入後消失(M群： 4.0 ± 0.4 mEq/lと 72.2 ± 17.1 ml/min/1.73m²、O群： 4.2 ± 0.5 mEq/lと 64.5 ± 21.3 ml/min/1.73m²)し、介入後のPAC、PRA、ARRにも差はなかった。

D. 考察

PAではアルドステロンの過剰産生が片側性の場合手術により治癒が期待できることから、全例にAVSを行うべきである。しかしPAの頻度は全高血圧患者の5%程度を占めるため、その実現は物理的に困難といわざるをえない。このような現状を勘案すると、手術による治癒がより期待される例を選別してAVSを優先的に行うのが現実的な対応と思われる。

今回生化学的に典型的だが、病変の局在が明らかでないPA対しMRBを主体とする降圧療法を平均約47週行い、比較的良好な降圧、eGFRの低下が得られた。また本治療の効果は術後の高血圧改善を予知するとともにされるARSに差のない手術群と同等であった。

手術施行例の一部は術後の経過を追えていないが、少なくともARSが3点程度の例ではAVSを行わず、MRBを主体とした降圧治療を選択しても手術と類似の降圧と腎機能改善が得られる可能性がある。今後さらに経過観察を行い、より長期における結果の検証が望まれる。

E. 結論

PAに対するMRBを主体とする降圧治療は有用で、ARS3点程度の例であれば手術と同等の改善効果が期待できる。

F. 研究発表

(2010.04.01～2012.03.31発表)

1. 論文発表

1) 方波見卓行、小林鈴子、田中逸：褐色細胞

IV. 分担研究報告書

腫の診断と内科・放射線治療 現状と課題. 家族性腫瘍10: 13-17、2010

- 2) 小金井理江子、方波見卓行: 褐色細胞腫、クロニジン負荷. 内分泌検査診療マニュアル (成瀬光栄、他編)、診断と治療社、p80、2010
- 3) 方波見卓行、大森慎太郎、田中逸: 褐色細胞腫. 内分泌性高血圧診療マニュアル (成瀬光栄、他編)、診断と治療社、p124-128、2010
- 4) 方波見卓行、松井智也、大森慎太郎、田中逸: 褐色細胞腫の検査・診断法. 日本臨床 69 (増刊2): 505-510、2011
- 5) 方波見卓行、大森慎太郎、小林鈴子、浅井志高、田中逸: 褐色細胞腫クリーゼ. 救急医学35: 1396-1400、2011
- 6) 方波見卓行、村上万里子、浅井志高、田中逸: 悪性褐色細胞腫の診断. 医学のあゆみ: 240、157-161、2012

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

- 1) 方波見卓行、松井智也、加藤浩之、浅井志高、田中逸. 難治性副腎疾患の診断と治療. 日本内分泌学会雑誌: 86 (2)、565、2010
- 2) 浅井志高、方波見卓行、杉沢貴子、船津美恵子、笹野公伸、太田明雄、田中逸. カテコラミンが軽度高値で、一部に¹³¹I-MIBGの集積を認めた副腎皮質腺腫の一例. 日本内分泌学会雑誌: 86 (2)、578、2010
- 3) 田辺晶代、成瀬光栄、絹谷清剛、方波見卓行. 悪性褐色細胞腫の臨床的特徴 厚生労働省難治性疾患研究班における77例の解析. 日本内分泌学会雑誌: 87 (1)、288、2011

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他

研究協力者:

- ・聖マリアンナ医科大学 代謝・内分泌内科 加藤浩之 (講師)
- ・聖マリアンナ医科大学 病理診断学 船津美恵子 (講師)

(5) GC 抵抗症や偽性低アルドステロン症の病態理解と治療法開発のための GC/アルドステロン作用機構の基礎的研究

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

骨格筋量・筋力制御におけるグルココルチコイドと そのレセプターの意義に関する研究

研究分担者

東京大学医科学研究所附属病院アレルギー免疫科 田中廣壽

研究協力者

東京大学医科学研究所附属病院アレルギー免疫科 清水宣明、丸山崇子

【研究要旨】

主要な筋量制御メカニズムである、タンパク質の異化と同化のバランス制御および筋再生、における内因性グルココルチコイドの役割を、筋量制御と筋再生メカニズムに関連する遺伝子の誘導発現に与える影響を通じて明らかにすることを目的とした。副腎摘除ラットでは、コントロールラットとは異なり、絶食によっても骨格筋萎縮関連遺伝子の発現は変化しなかった。人工的筋損傷モデルでは、副腎摘除ラットにおいて筋再生関連遺伝子発現が抑制されていた。以上から、内因性GCは、骨格筋の異化亢進のみならず筋再生にも必須であることがわかった。

A. 研究目的

超高齢化時代において運動器障害による生活の質（QOL）低下は喫緊の医学的・社会的課題である。骨格筋萎縮は、筋量と筋力が減り運動機能を損なう病態の総称であり、便宜的に次の二つに分けることができる。第一に、筋肉を支配する神経の損傷（神経原性）や筋肉自体の疾病を原因とする（筋原性）筋萎縮。第二に、がんや糖尿病などの消耗性疾患に伴う筋萎縮（悪液質）や、運動不足に低栄養などの要因が加わって生じる筋萎縮（廃用性）、加齢に伴うさまざまな原因により進行する筋萎縮（サルコペニア）、グルココルチコイド過剰による筋萎縮（ステロイド筋症）などの、いわば「二次的な」要因による筋萎縮である。後者の「二次的な」筋萎縮は、しばしば同時に複数の要因により引き起こされ、またその進行過程でも同様にこれら複数の要因が同時に作用して病態が悪化する。したがって、骨格筋におけるグルココル

チコイドシグナルの意義を解明することは、複合した筋萎縮の病態解明と治療法開発基盤の構築に大きな意義を有すると考えられる。そこで二つの主要な筋量制御メカニズム、すなわちタンパク質の異化と同化のバランス制御および筋再生の両方におけるグルココルチコイドの役割を解明することを目的とした。具体的には、内因性グルココルチコイドの量がこれらの筋量制御メカニズムに関連する遺伝子の誘導発現に与える影響を明らかにすることを目指した。

B. 研究方法

(1) 実験動物、試薬

動物実験は、東京大学医科学研究所動物実験委員会の承認下で実施した。7週齢雄のC57BL/6Jclマウス、8週齢雄のC57BL/10-mdxマウスを、9:00～21:00を明期とする明暗サイクルで飼育した。

(2) 副腎摘除

IV. 分担研究報告書

9週齢雄C57BL/6Jclマウスを全身麻酔し、副腎を切除した。副腎摘除後のマウスは、高塩濃度飼料CE-2+NaCl 8% (日本クレア) を自由摂食させ、また絶食期間中の飲料水には10 mg/ml NaClを加えた。

(3)筋損傷惹起

コブラ由来カルディオトキシン (CTX、Sigma-Aldrich) を体重20gのマウス片脚あたり1 nmolを筋肉注射後7日間自由摂食下で飼育した。

(4)血漿コルチコステロン濃度測定

YK240 Corticosterone EIAキット (矢内原研究所) を用いて定量した。

(5)肝、骨格筋mRNA発現解析

セパゾールRNA I Super Gを用いて全RNAを抽出し、オリゴ(dT)₂₀プライマー (ライフテクノロジー) とSuperScript III First-Strand Synthesis System for RT-PCR (ライフテクノロジー) を用いてcDNAを作製した。リアルタイムPCRは、Thunderbird Probe qPCR Mix (東洋紡)、UPLユニバーサルプローブライブラリーセット、マウス (ロシユアプライドサイエンス)、CFX96リアルタイムPCR解析システム (バイオラッド) を用いて行った。それぞれの遺伝子のmRNA発現量は、段階希釈したcDNAを用いてそれぞれの遺伝子ごとに作製した標準曲線に基づき、検体間の相対量として算出した。

(6)統計処理

独立した2標本が等分散とみなせない場合の2標本t検定 (ウェルチのt検定) による両側P値が0.01未満のとき有意差があるとした。

C. 研究結果

(1)副腎摘除による内在性グルココルチコイドシグナルの消失

副腎摘除後14日間飼育したマウスの血漿コ

ルチコステロン濃度は、平均36ng/mlと、偽手術施行群平均227ng/mlの1/6未満 ($P < 0.001$) であった (図1A)。また、偽手術施行14日後に36時間の絶食を行ったマウスでは、平均438ng/mlと、絶食によりおよそ2倍の増加 ($P < 0.001$) を認めた一方、副腎摘除14日後に36時間の絶食を行ったマウスでは、平均40ng/ml ($P = 0.88$) と、自由摂食群と絶食群の間に統計的有意差のあるコルチコステロン濃度差を認めなかった (図1A)。上記マウスの肝臓よりRNAを抽出し、肝臓におけるGR標的遺伝子であるチロシンアミノトランスフェラーゼ (TAT)およびFK506結合タンパク質5 (FKBP5) のmRNA発現量を定量RT-PCRにより解析した。これらmRNAは、偽手術群では絶食による発現上昇を認める一方で、副腎摘除群では絶食で発現上昇を示さなかった (図1B)。前脛骨筋におけるGR標的遺伝子であるKLF15、MuRF1、Bnip3およびFKBP5のmRNA発現量を定量RT-PCRにより解析した。これらmRNAの絶食による発現上昇は、肝臓におけるGR標的遺伝子と同様に副腎摘除群よりも偽手術群において高かった。 (図1C)。また、肝臓、前脛骨筋におけるGRのmRNA発現量は、副腎摘除、絶食、いずれの処置においても有意な変化を示さなかった (図1B, C)。

(2)人工的筋損傷による筋湿重量の変化

副腎摘除または偽手術14日後、前脛骨筋に体重20gのマウス片脚あたり1nmolのコブラ由来毒素CTXまたは溶媒 (生理食塩水) を筋肉注射した。注射7日後に前脛骨筋湿重量を測定し、体格補正のため体重で除した。偽手術群、副腎摘除群ともに、CTXによって25%程度の前脛骨筋湿重量/体重比の低下 (偽手術群 $P = 0.004$ 、副腎摘除群 $P < 0.001$) が認められた (図2)。このとき腓腹筋湿重量/体重比 (偽手

術群 $P=0.03$ 、副腎摘除群 $P=0.42$) および体重 (偽手術群 $P=0.29$ 、副腎摘除群 $P=0.09$) については、有意な変化を認めなかった (図2)。

(3)人工的筋損傷による骨格筋mRNA発現変化

B.で得たマウス前脛骨筋よりRNAを抽出し、筋分化の過程で発現が上昇することが知られている遺伝子群 (Pax7、Myf5、MyoD、myogenin、MRF4)、細胞増殖の活発な状態で発現が上昇することが知られている遺伝子群 (CyclinB1、CyclinB2、E2F1)、および骨格筋におけるGR標的遺伝子群 (Myostatin、KLF15、MuRF1、atrogin-1、Bnip3、LC3、FKBP5) 25)のmRNA発現量を定量RT-PCRにより解析した。筋分化の過程で発現が上昇することが知られている遺伝子群および、細胞増殖の活発な状態で発現が上昇することが知られている遺伝子群のうち、MRF4を除いた7つの遺伝子のmRNAは、偽手術下CTX処理によって発現が上昇した (図3)。このときの、これら遺伝子のmRNA発現量は、筋変性と筋再生の両方が亢進していることが知られている、筋ジストロフィーモデルマウスの一系統、X-linked muscle dystrophy (C57BL/10-mdx) マウスの前脛骨筋における発現量と同等であった (図3)。一方、副腎摘除下では、これらmRNAのCTX処理による発現上昇は、各遺伝子によって程度の差はあるもののいずれも著明に抑制され、Pax7、MyoDのように、CTXによるmRNA発現上昇が消失する遺伝子もあった (図3)。また、骨格筋におけるGR標的遺伝子群のうち、LC3、FKBP5を除いた5つの遺伝子mRNAは、偽手術下CTX処理によって発現が低下した (図3)。副腎摘除下のCTX処理で、これらmRNA発現が低下するのは同様であったが、LC3、FKBP5を含めたいずれの遺伝子も、偽手術下CTX処理群よりも低い発現量に

留まった (図3)。

D. 考察

最近我々は、GRをカギ因子とした遺伝子転写ネットワークが多様な遺伝子の発現調節を介して、筋線維内タンパク質の異化亢進と同化抑制を誘導し、筋線維の太さを負に制御する分子メカニズムを明らかにした。本研究の結果から、活発な筋再生の指標となる、筋衛星細胞の増殖と分化過程において重要な転写因子群 (Pax7、Myf5、MyoD、myogenin、MRF4) の人工的筋損傷による発現誘導は、副腎摘除による内在性グルココルチコイドの分泌不能によって著しく阻害されることが明らかとなった (図3)。さらに、細胞周期におけるG2期からM期への移行に必要なCyclin B1、B2、またG1期からS期への移行に必要なE2F1転写因子の人工的筋損傷による発現誘導も、内在性グルココルチコイド分泌に高度に依存していた (図3)。したがって、グルココルチコイドは、筋衛星細胞の増殖と分化の促進を介して筋量を正に制御している可能性が考えられる。実際、ステロイド療法後のデュシェンヌ型筋ジストロフィー患者には、筋衛星細胞が増加していることが明らかとなっている。したがって、例えば、筋異化を促進するグルココルチコイドの作用を制限して筋量維持を図る際には、筋衛星細胞を介した筋再生を抑制しない工夫が必要である。

E. 結論

サルコペニアをはじめとする複雑な要因から発症する「二次的な」筋萎縮のメカニズムを解明し、治療法を構築するためには、骨格筋組織中の細胞種に特異的なグルココルチコイド作用の分子メカニズムの究明が必要であると考えられる。

IV. 分担研究報告書

F. 研究発表

1. 論文発表

Yoshikawa N, Shimizu N, Maruyama T, Sano M, Matsuhashi T, Fukuda K, Kataoka M, Satoh T, Ojima H, Sawai T, Morimoto C, Kuribara A, Hosono O, Tanaka H.

Cardiomyocyte-Specific Overexpression of HEXIM1 Prevents Right Ventricular Hypertrophy in Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension in Mice. PLoS One. 2012;7(12):e52522.

2. Kondo S, Iwata S, Yamada T, Inoue Y, Ichihara H, Kichikawa Y, Katayose T, Souta-Kuribara A, Yamazaki H, Hosono O, Kawasaki H, Tanaka H, Hayashi Y, Sakamoto M, Kamiya K, Dang NH, Morimoto C.

Impact of the integrin signaling adaptor protein NEDD9 on prognosis and metastatic behavior of human lung cancer.

Clin Cancer Res. 2012;18(22):6326-38.

3. 松宮遼, 清水宣明, 吉川賢忠, 田中廣壽
ステロイドと筋萎縮のメカニズム. 成人病と生活習慣病. 42巻8号, 949-953, 2012

4. 田中廣壽, 松宮遼. 骨格筋研究の新展開とグルココルチコイドレセプターによる骨格筋量制御の分子機構. 医学のあゆみ. 242巻4号, 343-345, 2012

5. 田中廣壽. mTOR. 炎症と免疫. 20巻3号, 323-325, 2012

6. 吉川賢忠, 田中廣壽. 実地臨床におけるステロイドの使い分け・副作用・相互作用. ENTONI, 139号, 15-22, 2012

7. 田中廣壽, 吉川賢忠, 松宮遼. 《治療薬のPros & Cons》ステロイド. 内科. 109巻4

号, 601-606, 2012

8. 田中廣壽, 清水宣明, 吉川賢忠, 松宮遼. ステロイド筋症. Clinical Neuroscience. 30巻3号, 341-344, 2012

2. 学会発表

1. Noriaki Shimizu, Noritada Yoshikawa, and Hirotohi Tanaka
Crosstalk between hormonal and nutritional sensing in skeletal muscle. Keystone Symposia, Nuclear Receptor Matrix: Reloaded, Keystone, Colorado, 米国, 平成24年4月15日-20日

2. 田中廣壽. 骨格筋におけるグルココルチコイドシグナルと栄養シグナルのクロストーク. 第66回 日本栄養食糧学会, 仙台, 平成24年5月18日-20日

3. 田中廣壽. 骨格筋萎縮の分子機構. 第30回 日本骨代謝学会, 東京, 平成24年7月19日-21日

4. Hirotohi Tanaka, Noriaki Shimizu, Noritada Yoshikawa, and Takako Maruyama. Tissue-specific action of glucocorticoids. Molecular Medicine Conference 2012, バンコク、タイ、平成24年12月18日-23日

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1. マウス内在性コルチコステロンの副腎摘除による抑制

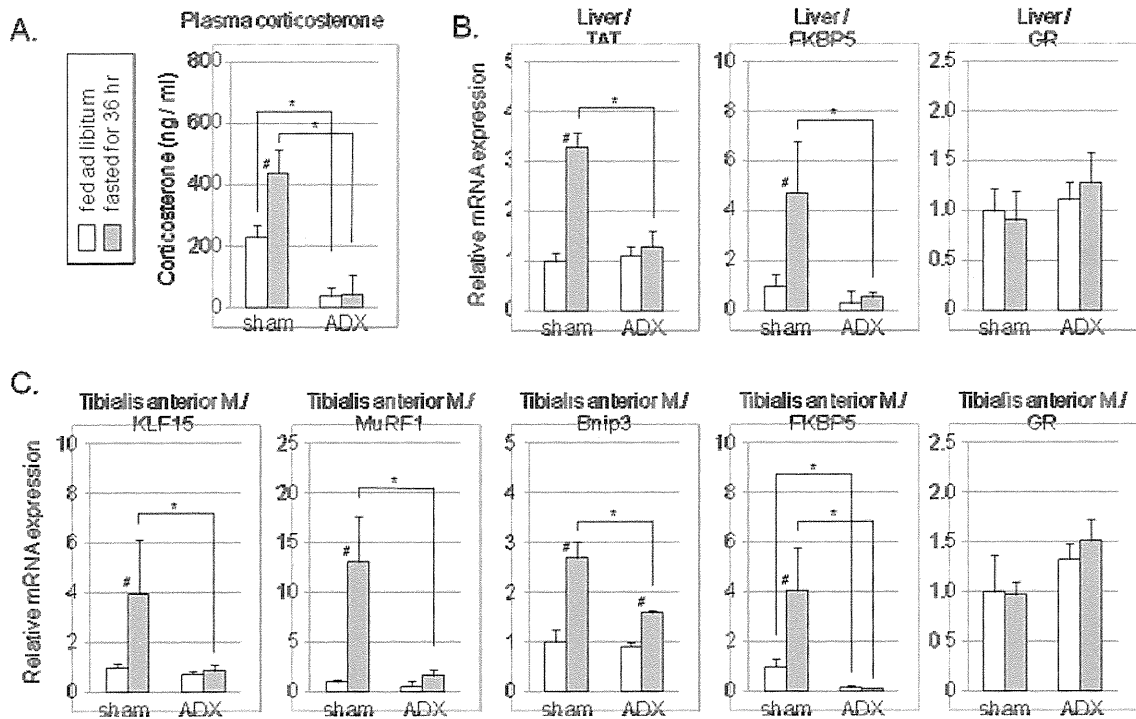


図 2. カルディオトキシンによるマウス前脛骨筋重量の減少

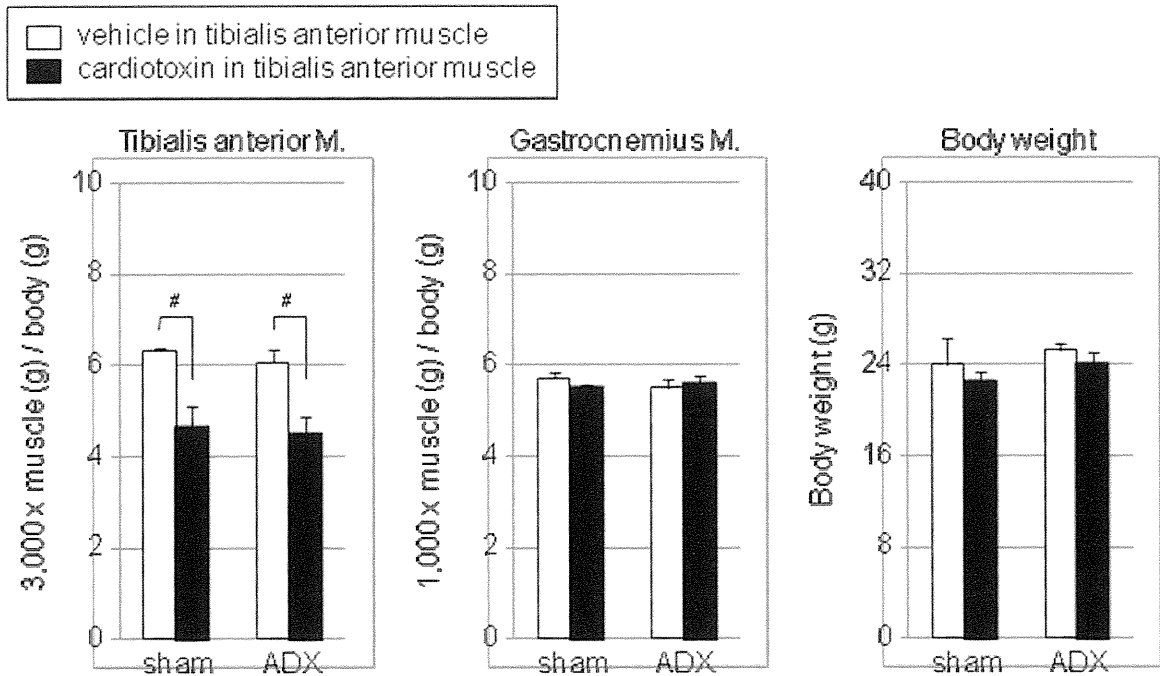
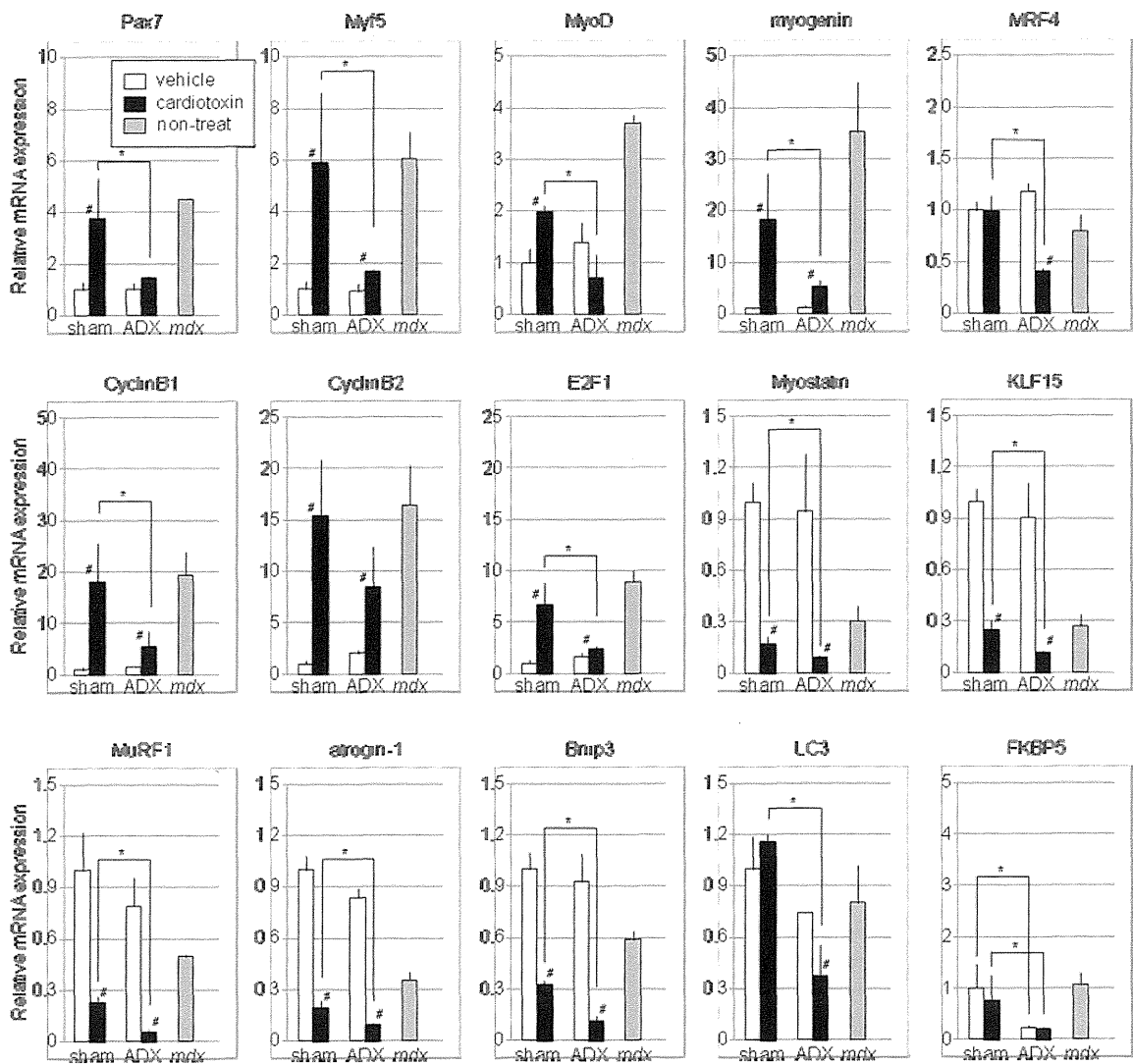


図3. カルディオトキシン筋肉注射によるマウス前脛骨筋 mRNA 発現の変化



**(6) 副腎腫瘍の成因や発生機序に関する
基礎的研究の推進**