

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

## ヒト副腎皮質および皮質腫瘍における Estrogen-related receptor $\alpha$ (ERR $\alpha$ )発現の検討

分担研究者 笹野 公伸、中村保宏、サウロJ.A.フェリゾラ  
東北大学大学院医学系研究科医科学専攻病理病態学講座病理診断学分野

### 【研究要旨】

【目的】 Estrogen-related receptor  $\alpha$  (ERR $\alpha$ )は副腎を含む各臓器に発現し、ミトコンドリア遺伝子の制御に関与していることが知られている。また、様々な癌においてERR $\alpha$ の発現上昇が報告されている。今回、我々は正常副腎皮質および各種の副腎皮質腫瘍でのERR $\alpha$ の発現度を調べ、副腎皮質の発達および副腎皮質腫瘍の悪性度との関連について検討した。

【対象と方法】 東北大学病院にて手術で切除されたアルドステロン産生副腎皮質腺腫(APA)11例、コルチゾール産生副腎皮質腺腫(CPA)11例、副腎皮質癌 (ACC)8例、病理解剖で切除された正常副腎40例、胎児副腎7例を対象とし、ERR $\alpha$ 蛋白の発現度を免疫組織化学的に検討した。また正常副腎皮質13例、副腎皮質腫瘍28例の凍結組織からRNA抽出を行い、RT-PCR法にてERR $\alpha$ のmRNA発現について確認を行った。

【結果】 RT-PCR法では、ERR $\alpha$ のmRNA発現が正常副腎皮質および各種副腎皮質腫瘍のいずれにおいても確認された。ERR $\alpha$ 蛋白の発現度は、正常副腎皮質ではpre-adrenarcheに比べpost-adrenarcheおよび成人で、胎児副腎では胎児層(FZ)に比べ永久層(NC)で、また副腎皮質腫瘍では他の副腎皮質腫瘍に比べ副腎皮質癌で、各々有意に高かった。

【考察】 ERR $\alpha$ は正常副腎皮質の発達、および副腎皮質癌の増大等に有用な役割を果たしている可能性が示唆された。

### A. 研究目的

Estrogen-related receptor  $\alpha$  (ERR $\alpha$ )は各臓器に発現し、ミトコンドリア遺伝子の制御に関与していることが知られている。副腎皮質では、網状層(ZR)や束状層(ZF)での発現が確認されており、SULT2A1等のアンドロゲンを含むステロイドホルモン合成酵素の発現に関与することが報告されている。アンドロゲンの合成は網状層を主体とした副腎の発達との関連が強いが、副腎皮質におけるERR $\alpha$ の発現変化との関係については解明されていない。また、脳腫瘍や乳癌など様々な悪性新生物においてERR $\alpha$ の発現上昇とその機能的役割が報告さ

れているが、副腎皮質腫瘍での発現については解析されいない。今回、我々は正常副腎皮質および各種の副腎皮質腫瘍でのERR $\alpha$ の発現度を調べ、副腎皮質の発達および副腎皮質腫瘍の悪性度との関連について検討した。

### B. 研究方法

東北大学病院にて手術で切除されたアルドステロン産生副腎皮質腺腫(APA)11例、コルチゾール産生副腎皮質腺腫(CPA)11例、副腎皮質癌 (ACC)8例、病理解剖で切除された正常副腎 (NA)40例、胎児副腎7例を対象とし、ERR $\alpha$ 蛋白の発現度を免疫組織化学的に検討した。ま

#### IV. 分担研究報告書

た正常副腎皮質13例、副腎皮質腫瘍28例の凍結組織からRNA抽出を行い、RT-PCR法にてERR $\alpha$ のmRNA発現について確認を行った。

(倫理面への配慮)

症例はすべて匿名化して検索しており、研究計画は東北大学医学部倫理委員会に提出済みである。

#### C. 研究結果

免疫組織化学的検討では、ERR $\alpha$ 蛋白はNAでは球状層(ZG)、ZF、ZRの各層のいずれの皮質細胞核にも観察された(図1)。各層間に発現の有意差はみられなかったが、各層ともpre-adrenarcheに比べpost-adrenarcheおよび成人、すなわち年齢とともに有意に発現上昇がみられた(図3A)。胎児副腎では、胎児層(FZ)での発現が永久層(NC)に比べ有意に高かった(図2、図3B)。

皮質腫瘍における免疫組織化学的検討では、ERR $\alpha$ 蛋白の発現度は副腎皮質癌において他の副腎皮質腫瘍に比べ有意に高かった(図4A)。定量RT-PCRでも同様の傾向が確認された(図4B)。

#### D. 考察

ERR $\alpha$ 蛋白の発現度はNAではZG、ZF、ZRの各層間で有意差がなかったが、これは過去に報告されているようにアンドロゲン以外の様々なステロイド合成ホルモン合成酵素の発現や機能に関与していることに合致するものと推察される。一方、ERR $\alpha$ は正常副腎皮質の発達とともに発現が上昇しているが、これはステロイド合成のみでなく副腎皮質の成長及び分化等と関連している可能性が示唆された。胎児副腎FZでの高発現は、SULT2A1発現などを介した著明なアンドロゲン酸性に寄与しているものと考えられる。副腎皮質腫瘍では、良性腫瘍に比

し副腎皮質癌での発現が高かったが、他種類の癌細胞と同様、癌の増殖や進展に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

#### E. 結語

ERR $\alpha$ は正常副腎皮質の発達、および副腎皮質癌の増殖等に有用な役割を果たしている可能性が示唆された。

#### F. 研究発表

論文発表

1. 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 (Oxf);76(6):778-784. 2012
2. Satoh H, Saito R, Hisata S, Shiihara J, Taniuchi S, Nakamura Y, Nukiwa T, Ebina M, Sasano H. An ectopic ACTH-producing small cell lung carcinoma associated with enhanced corticosteroid biosynthesis in the peritumoral areas of adrenal metastasis. Lung Cancer;76(3):486-490. 2012
3. Miki Y, Ono K, Hata S, Suzuki T, Kumamoto H, Sasano H. The advantages of co-culture over mono cell culture in simulating in vivo environment. J Steroid Biochem Mol Biol;131(3-5):68-75.2012
4. Kukidome D, Miyamura N, Sakakida K,

- Shimoda S, Shigematu Y, Nishi K, Yamashita Y, Eto M, Sasano H, Araki E.  
A case of cortisol producing adrenal adenoma associated with a latent aldosteronoma: usefulness of the ACTH loading test for the detection of covert aldosteronism in overt Cushing syndrome.  
Intern Med;51(4):395-400. 2012
5. Inuzuka M, Tamura N, Sone M, Taura D, Sonoyama T, Honda K, Kojima K, Fukuda Y, Ueda Y, Yamashita Y, Kondo E, Yamada G, Fujii T, Miura M, Kanamoto N, Yasoda A, Arai H, Mikami Y, Sasano H, Nakao K.  
A case of myelolipoma with bilateral adrenal hyperaldosteronism cured after unilateral adrenalectomy.  
Intern Med;51(5):479-85. 2012
6. Brutsaert EF, Sasano H, Unger P, Beasley MB, Golden BK, Inabnet WB, Levine AC.  
Adrenal cortical carcinoma with late pulmonary metastases causing clinical Cushing's Syndrome: Case report with immunohistochemical analysis of steroidogenic enzyme production.  
Endocr Pract;18(6):e138-143. 2012
7. Iwata M, Oki Y, Okazawa T, Ishizawa S, Taka C, Yamazaki K, Tobe K, Fukuoka J, Sasano H, Nishikawa T.  
A Rare Case of Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH)-independent Macroadrenal Hyperplasia Showing Ectopic Production of ACTH.  
Intern Med;51(16):2181-7. 2012
8. Felizola SJ, Nakamura Y, Hui XG, Satoh F, Morimoto R, M McNamara K, Midorikawa S, Suzuki S, Rainey WE, Sasano H.  
Estrogen-related receptor  $\alpha$  in normal adrenal cortex and adrenocortical tumors: Involvement in development and oncogenesis.  
Mol Cell Endocrinol;365(2):207-211. 2012
9. Mise K, Ubara Y, Sumida K, Hiramatsu R, Hasegawa E, Yamanouchi M, Hayami N, Suwabe T, Hoshino J, Sawa N, Hashimoto M, Fujii T, Sasano H, Takaichi K.  
Cushing's Syndrome after Hemodialysis for 21 Years.  
J Clin Endocrinol Metab. 2012 Nov 21. [Epub ahead of print]
10. Sakuma I, Suematsu S, Matsuzawa Y, Saito J, Omura M, Maekawa T, Nakamura Y, Sasano H, Nishikawa T.  
Characterization of steroidogenic enzyme expression in aldosterone-producing adenoma: a comparison with various human adrenal tumors.  
Endocr J. 2012 Dec 18. [Epub ahead of print]

#### 知的所有権の出願、取得状況

- 1) 特許取得  
なし。
- 2) 実用新案登録  
なし。
- 3) その他

図 1

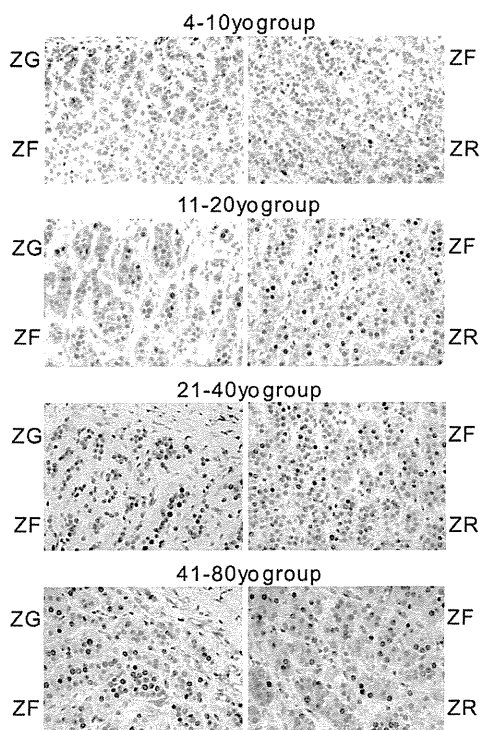


図 2

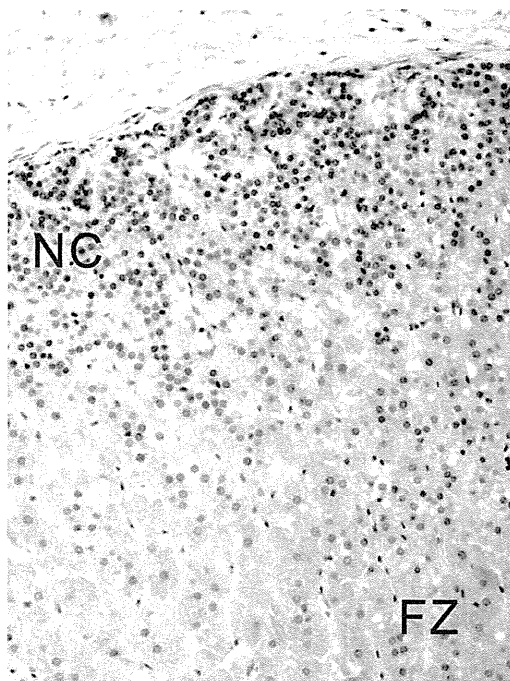


図 3

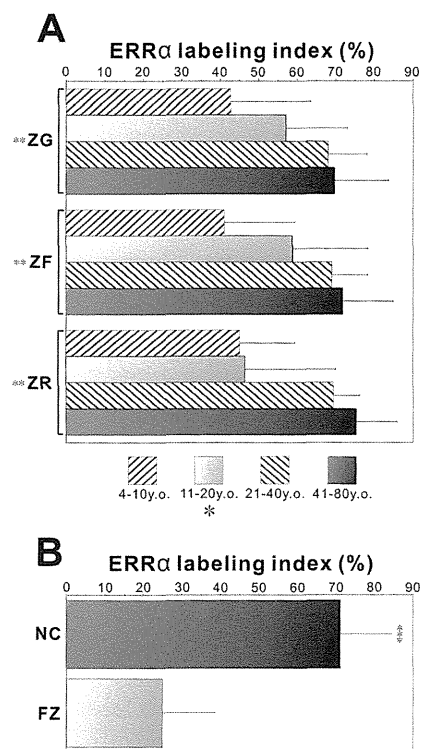
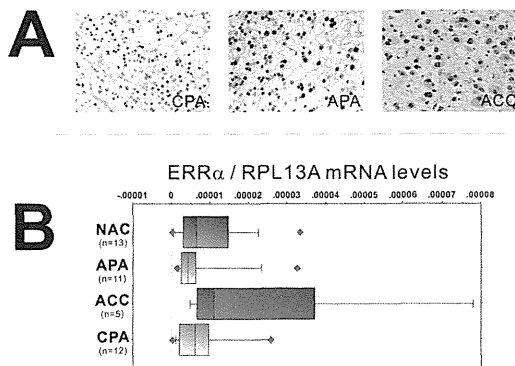


図 4



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

## アンジオテンシンII依存性アルドステロン合成における 転写因子NFATの関与

—ヒト副腎細胞株 NCI-H295Rを用いた検討—

研究分担者 岩崎泰正 高知大学保健管理センター  
研究協力者 西山 充 高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科  
田口崇文 高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科  
次田 誠 高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科  
中山修一 高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科  
高尾俊弘 高知大学医学部地域看護学

### 【研究要旨】

副腎皮質ではCYP11B1がコルチゾール合成に、CYP11B2がアルドステロン合成に関与する。両遺伝子の構造は極めて類似しているが、発現調節機構は異なり、前者は主としてangiotensin II(AII)/Ca<sup>++</sup>、後者はACTH/cAMPシグナル伝達系の支配下にある。私共はAIIによるCYP11B2遺伝子転写調節機構を解明し、その選択的な阻害による原発性アルドステロン症の治療法開発を目的として、ヒト副腎皮質由来NCI-H295R(H295R)細胞を用いた解析を行った。その結果、同細胞においてAIIはCYP11B2遺伝子転写活性を20倍以上と強力に刺激した。またAII刺激の細胞内メディエーターであるCa<sup>++</sup>に応答する転写因子[AP1(Fos/Jun)、SRF、NFAT]共発現の効果を検討したところ、NFATにおいて約30倍の増強効果を認めた。CYP11B2遺伝子プロモーター上にはNFAT結合配列が存在し、EMSA法でNFATの結合が認められた。またカルシニューリン/NFAT阻害剤である cyclosporin A存在下でAII依存性CYP11B2遺伝子転写誘導効果は完全に消失した。NFAT阻害剤は、アルドステロン産生過剰を呈する疾患に有用である可能性がある。

### A. 研究目的

副腎皮質球状層にはangiotensin II(AII)受容体(AT1)が選択的に発現している。AII刺激によりよりもたらされた細胞内Ca<sup>++</sup>の上昇は、何らかのCa<sup>++</sup>応答性転写因子を介して、CYP11B2遺伝子発現誘導、ひいてはアルドステロン合成を促進すると推察される。近年、アルドステロン産生腺腫においてカリウムチャネル(KCNJ5)の変異が報告されたが、この変異による細胞内Ca<sup>++</sup>の恒常的な上昇が、アルドステロンの持続分泌に関連している可能性もある。しかし細胞

内Ca<sup>++</sup>濃度の変化とCYP11B2遺伝子転写を仲介する転写因子の詳細に関しては、未だ詳細は明らかにされていない。この点を解明することで、本態性高血圧症の5-10%を占めるとされる原発性アルドステロン症の治療法解明に繋がることが期待される。

本年度の研究で私どもは、昨年度に当研究グループがマウス副腎皮質由来Y1細胞を用いて明らかにした転写因子Nuclear Factor of Activated T-cells (NFAT)のCYP11B2遺伝子転写における役割を、ヒト副腎皮質由来NCI-

#### IV. 分担研究報告書

H295R(H295R)細胞を用いて検討した。本細胞株はAT1受容体を内因性に発現し、AIIに対する反応性を保持していることから、AII刺激によるCYP11B2遺伝子転写調節機構の詳細を解明する目的に適した実験系と考えられる。

#### B. 研究方法

DMEM/F12培地で培養したヒト副腎皮質由来 H295細胞に、ヒトゲノムよりクローニングした CYP11B2遺伝子転写調節領域 (約2kb)とレポーター遺伝子との結合プラスミドを一過性に導入した。この条件下において、AII (10nM), Forskolin (Fsk;10  $\mu$ M)/cAMP, およびKCl (15mM) がCYP11B2遺伝子転写活性に及ぼす効果を経時的に評価し、同時に種々のシグナル伝達系阻害剤の効果を解析した。またCa<sup>++</sup>応答性転写因子 [AP1(Fos/Jun)、SRF、NFAT]の共発現がCYP11B2遺伝子の転写活性に及ぼす効果、ならびにNFATのCYP11B2プロモーター上への結合に関する検討(Electromobility shift assay; EMSA)も行った。

#### C. 研究結果

- 1) CYP11B2遺伝子の転写活性は、AIIにより時間依存性に強力に誘導された (図1)。Fskも同様の誘導効果を発揮したが、KClの効果は比較的軽微であった。
- 2) 上記の効果発現は極めて迅速で、刺激開始2時間後で既に有意の上昇が認められたことから、新たな蛋白 (転写因子) の発現を介さない、既発現の転写因子を介した効果である可能性が存在が推察された (結果省略)。
- 3) 種々のシグナル伝達阻害剤の効果を検討した結果、AIIの効果は、phospholipase C阻害剤 (YM254890)のほか、calcineurin阻害剤(cyclosporine A), protein kinase A

阻害剤 (H89) で完全に阻害された (図2)。

- 4) Ca<sup>++</sup>応答性転写因子のうち、NFATの共発現は、CYP11B2遺伝子の転写活性を約32倍と、強力に誘導した。一方、SRF, AP1 (Fos/Jun) の効果は軽微であった(図3)。
- 5) CYP11B2遺伝子プロモーター上のNFAT応答配列 (-58/-53 bp) へのNFATの結合がEMSA アッセイにより認められ、コンセンサスNFAT結合配列を有する非ラベルのプロープで完全に競合されたことから、その特異性が確認された (図4)。

#### D. 考察

私どもは、マウス副腎皮質由来Y1細胞を用いた昨年度の検討結果より、アルドステロン合成酵素をコードするCYP11B2 遺伝子の転写にカルシウム応答性転写因子NFATが関与することを強く示唆する成績を得た。しかしY1細胞はAIIに対する応答性を欠くため、AIIによるCYP11B2遺伝子発現誘導において、実際にNFATが関与するか否かは不明であった。

今回私どもは、AII受容体(AT1)を内因性に発現し、AIIによりCYP11B2遺伝子の発現が誘導されるヒト副腎皮質由来H295R細胞を用いて、より詳細な検討を行った。その結果、1) 本細胞においてもNFATの共発現はCYP11B2遺伝子の転写を強力に誘導すること、2) calcineurin/NFATの特異的な阻害剤である cyclosporin Aの存在下でAIIによるCYP11B2遺伝子転写誘導効果は完全に消失すること、3) NFATがCYP11B2転写開始点近傍のNFAT応答配列に実際に結合すること、などの知見を得た。

AIIによるCYP11B2の発現には、誘導型転写因子Nur77/Nurr1が関与する可能性が、従来より報告されている。しかし、新たな遺伝子お

よび蛋白の発現を介した効果の場合は、実際にCYP11B2遺伝子の発現が誘導されるまでに少なくとも3-4時間を要すると推察される。しかし今回の私どもの検討では、AII刺激2時間で既にCYP11B2遺伝子転写の転写が強力に誘導されたこと（図2）、またこの早期効果がcyclosporin Aの存在下で完全に消失したことから、AT1受容体の刺激により惹起された細胞内カルシウム濃度の上昇は、calmodulinおよびcalcineurinの活性化、およびcalcineurinによるNFATの脱リン酸化を招来し、活性化されたNFATが核に移行してCYP11B2遺伝子のプロモーターに直接作用する機序の存在が推察された。またAIIの効果がphospholipase C(PLC)阻害剤YM254890存在下で同様に消失したことは、AIIの作用が、Gq/PLCと共役するAT1受容体を介した作用であることを裏付けている。

一方、forskolinによるcAMP/PKAの刺激も、CYP11B2遺伝子の転写を強力に誘導した。これは臨床的にACTHが一過性にアルドステロン合成・分泌を促進する事実と一致する。しかし予想外にも、AII刺激によるCYP11B2遺伝子発現誘導もPLCやNFAT阻害剤のみならずPKA阻害剤H89で完全に阻害された。この結果は、AIIによるCYP11B2遺伝子の誘導に、Ca<sup>++</sup>/NFAT系の活性化のみならず、cAMP/PKA系の活性化が同時に必要であることを示唆している。Raineyらは従来、AT1受容体がGq/PLCのみならずGs/adenylate cyclase系とも共役する機序の存在を示唆する成績を報告しており、両シグナルの同時活性化がCYP11B2発現に必要な可能性がある。

今回私どもが使用した実験系は、AII刺激に対する転写の反応が極めて鋭敏で、アルドステロン合成調節の転写レベルにおける機序の解明に極めて有用な実験系と考えられた。今後、HSD3Bなど他の副腎ステロイド合成酵素も含

め、アルドステロン合成系の分子機序をより詳細に検討することにより、特異的なステロイド合成阻害剤の創薬に結び付くことが期待される。

#### E. 結論

ヒト副腎皮質由来H295R細胞において、AII刺激に対するCYP11B2遺伝子発現誘導にCa<sup>2+</sup>/calmodulin/calcineurin依存性転写因子NFATが関与することを、レポーターアッセイ、阻害剤の効果、ならびにEMSA解析を用いて明らかにした。

#### F. 研究危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表・著書

- 1) 岩崎泰正。先端巨大症。山口徹／北原光夫／福井次矢編。今日の治療指針。医学書院。p664-665、2012年。
- 2) 岩崎泰正。機能検査総論。成瀬光栄、平田結喜緒編。内分泌代謝専門医ガイドブック。診断と治療社。p48-49。2012年。
- 3) 岩崎泰正。下垂体後葉疾患。中枢性尿崩症。代謝・内分泌疾患診療最新ガイドライン。総合医学社。P194-198。2012年。
- 4) 次田誠、岩崎泰正。サルコイドーシスと腎障害。日本臨床 別冊 新領域別症候群シリーズ。腎臓症候群（第2版）下—その他の腎臓疾患を含めて—。p739-743、2012年。
- 5) 岩崎泰正。栄枯盛衰。巻頭言。腎と透析。72:281-282,2012.
- 6) 岩崎泰正。腎性・中枢性尿崩症の病態と治療。特集：水代謝の基礎と機能障害。腎

- と透析。73:69-72, 2012.
- 7) 岩崎泰正。血漿バソプレシンおよびコペプチンの測定。Fluid Management Lunaisance 2: 380-383,2012.
- 8) 岩崎泰正。中枢性尿崩症に関する最近の動向。特集：下垂体後葉ホルモンの最前線。ホルモンと臨床59:457-462,2012.
- 9) 山形聡、蔭山和則、秋元加奈子、岩崎泰正、須田俊宏。視床下部細胞におけるレプチンによるCRF family peptides遺伝子発現調節について。ACTH RELATED PEPTIDES 23:5-7;2012.
- 10) 箱田明子、宇留野晃、清水恭子、伊藤貴子、吉川雄朗、藤原幾磨、松田謙、工藤正孝、影近弘之、岩崎泰正、伊藤貞嘉、菅原明。種々のレチノイドX受容体(RXR)アゴニストは、AtT20細胞の増殖・アポトーシス・POMC発現・ACTH分泌に異なる影響を及ぼす。ACTH RELATED PEPTIDES 23:15-16;2012.
- 11) 西山充、岩崎泰正、西岡達矢、橋本浩三。副腎不全診断におけるCRH負荷試験の有用性。ACTH RELATED PEPTIDES 23:83-84;2012.
- 12) Otsuka F, Tsukamoto N, Miyoshi T, Iwasaki Y, Makino H. BMP action in the pituitary: Its possible role in modulating somatostatin sensitivity in pituitary tumor cells. Mol Cell Endocrinol 349:105-110,2012.
- 13) Li P, Zhao Y, Wu X, Xia M, Fang M, Iwasaki Y, Sha J, Chen Q, Xu Y, Shen A. Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) disrupts energy expenditure and metabolic homeostasis by suppressing SIRT1 transcription. Nucleic Acids Res 40:1609-1620,2012.
- 14) Zhao LF, Iwasaki Y, Nishiyama M, Taguchi T, Tsugita M, Okazaki M, Nakayama S, Kambayashi M, Fujimoto S, Hashimoto K, Murao K, Terada Y. Liver X Receptor  $\alpha$  Is Involved in the Transcriptional Regulation of the 6-Phosphofructo-2-Kinase/Fructose-2,6-Bisphosphatase Gene. Diabetes 61:1062-1071,2012.
- 15) Amano E, Nishiyama M, Iwasaki Y, Matsushima S, Oguri H, Fukuhara N, Nishioka H, Yamada S, Inoshita N, Fukaya T, Terada Y. Remarkable Cystic Expansion of Microprolactinoma Causing Diabetes Insipidus during Pregnancy. J Clin Endocrinol Metab 97:2575-2576,2012.

## 2. 学会発表

- 1) Kanako Ogura-Ochi, Fumio Otsuka, Naoko Tsukamoto, Tomoko Miyoshi, Eri Nakamura, Masaya Takeda, Kenichi Inagaki, Toshio Ogura, Yasumasa Iwasaki, Hirofumi Makino. Regulatory Role of Melatonin and BMP-4 in Prolactin Secretion by Rat Pituitary Lactotrope Cells. The 94th Annual Meeting of the Endocrine Society. 2012, June 23-26. Houston, USA.
- 2) Saito-Hakoda A, Uruno A, Shimizu K, Kudo K, Saito-Ito T, Yoshikawa T, Matsuda K, Fujiwara I, Kagechika H, Iwasaki Y, Ito S, Sugawara A. Retinoid X Receptor Agonists Differentially Affect Proliferation, Apoptosis, and ACTH Secretion/POMC Gene Expression in AtT20 Corticotroph Cells. The 94th Annual Meeting of the Endocrine Society.



2012, June 23-26. Houston, USA.

- 3) Iwasaki Y, Nishiyama M, Taguchi T, Tsugita M, Okazaki M, Nakayama S, Ema H, Terada Y, Kambayashi M, Kawamura K. Role of Ca-dependent transcription factor NFAT in the regulation of CYP11B2 gene. The 15th International Congress on Hormonal steroids and Hormones & cancer. 2012, November 15-17, Kanazawa, Japan
- 4) 岩崎泰正、西山充、田口崇文、次田誠、岡崎瑞穂、中山修一、江間宏樹、寺田典生、神林真知子、川村和夫。副腎皮質アルドステロン合成酵素 (CYP11B2) 遺伝子発現における転写因子NFATの関与。第20回日本ステロイドホルモン学会学術集会。2012年11月18日。金沢市。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

図 1. CYP11B2 遺伝子の転写活性に対するアンジオテンシン II (AII), forskolin (Fsk), KCl (15 mM) の時間依存性効果. AII と Fsk/cAMP は迅速かつ強力に CYP11B2 遺伝子の転写を促進した。

### CYP11B2

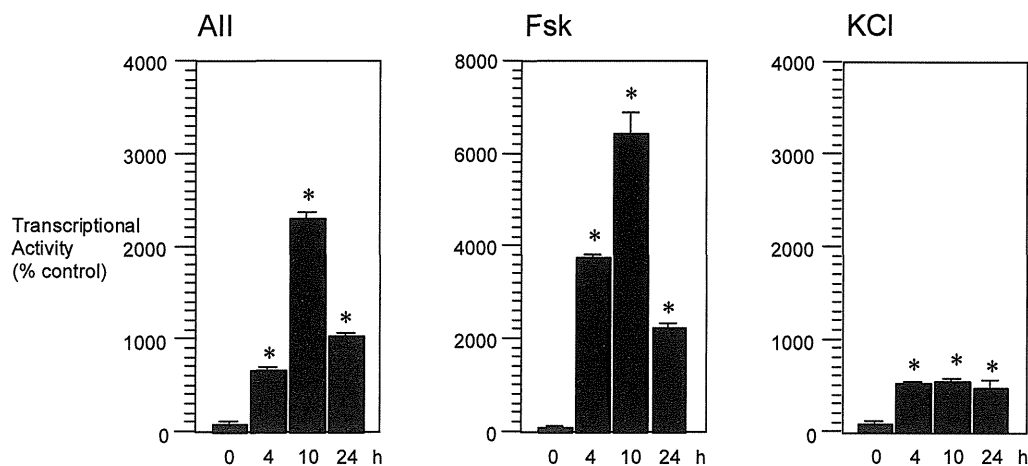


図 2. 各種シグナル伝達阻害剤がアンジオテンシン II (AII) 依存性 CYP11B2 遺伝子転写に及ぼす影響. AII 短時間 (2 h) 処置による CYP11B2 遺伝子転写活性の上昇は、PLC 阻害剤 (YM254890)、calcineurin 阻害剤 (cyclosporin A; CyA)、および PKA 阻害剤 (H89) により完全に阻害された。

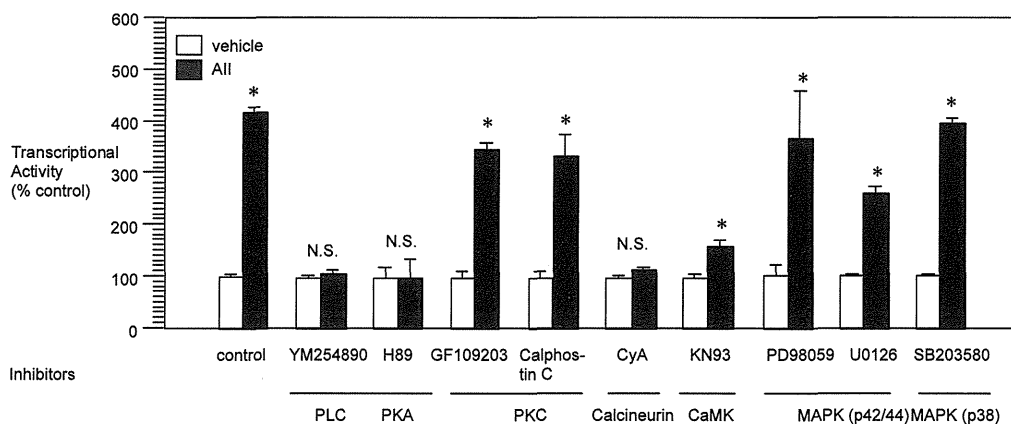


図3. NFAT, SRF, AP1 (Fos/Jun) の共発現がヒト CYP11B2 遺伝子転写活性に及ぼす効果。NFAT の共発現は、CYP11B2 遺伝子の転写活性を用量依存性に強力に誘導した (C, control; L, low; M, medium; H, high)。

## CYP11B2

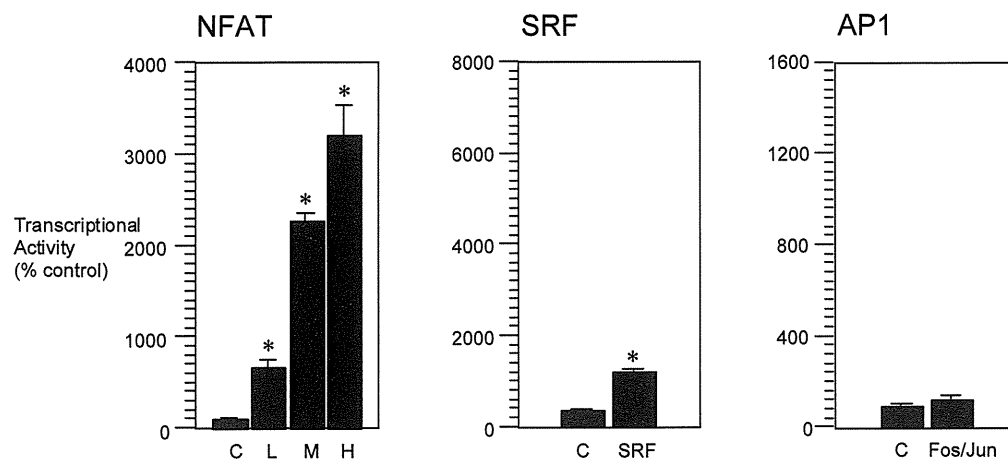
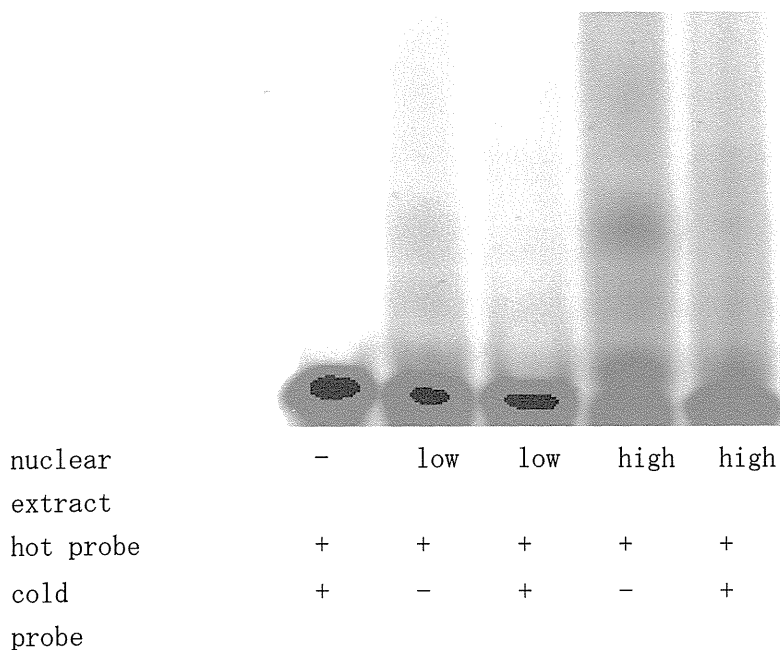


図4. CYP11B2 遺伝子プロモーター上の NFAT-RE (-58/-53 bp) に対する NFAT 結合の EMSA 解析。



---

## V. 会議記録

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業  
(難治性疾患克服研究事業)

## 「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班

平成24年度研究報告会

研究代表者 柳瀬 敏彦

日 時：平成24年11月30日（金）09:00～16:05  
（受付08:45～）

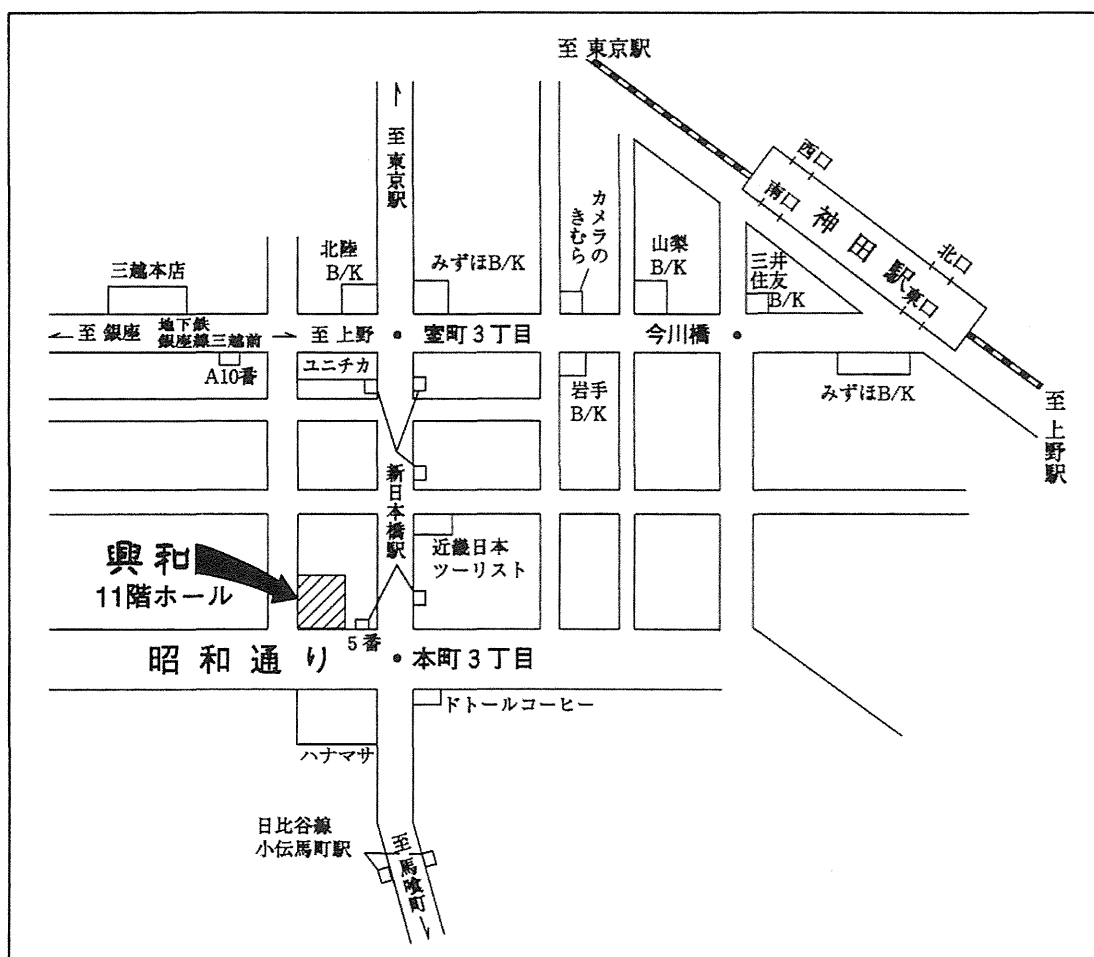
場 所：興和創薬株式会社 本社 11階 大ホール  
東京都中央区日本橋本町3-4-14

# 会場案内図

興和創薬株式会社 本社 11階 大ホール

東京都中央区日本橋本町3-4-1 4

TEL : 03-3279-7480



## 最寄りの駅

JR「神田」駅より徒歩約10分

JR「新日本橋」駅より徒歩約3分（出口5番）

地下鉄銀座線「三越前」駅より徒歩約3分（出口A10番）

地下鉄半蔵門線「三越前」駅より徒歩約10分

地下鉄日比谷線「小伝馬町」駅より徒歩約5分

## 発表者の方へ

- 1 演題につき、発表時間 10 分、討論時間 5 分です。
- 時間厳守での進行にご協力下さい。
- 当日の発表形式はすべてコンピュータによる presentation のみとさせていただきます。
- 必ずご自分のコンピュータをご持参下さい。
- 尚、PC プロジェクターとの接続はミニD-s u b 1 5 ピンのみです。
- アダプターが必要な場合（特に Mac の場合）には必ずご自分でご用意下さい。
- 演者の方は発表前に接続を済ませ、順番になればすぐに発表に移れるよう、あらかじめのご準備をお願いいたします。

### 厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班

事務局連絡先      〒814-0180 福岡市城南区七隈7丁目45番1号  
福岡大学医学部 内分泌・糖尿病内科  
三小田玲子（秘書）  
TEL：092-801-1011 内線 3645  
FAX：092-865-5163  
E-mail：reikos@fukuoka-u.ac.jp



## プログラム

開会の挨拶 (09:00 - 09:05)

研究代表者：柳瀬 敏彦 (福岡大学医学部)

A. ステロイド作用機構基礎 (09:05 - 9:35)

座長：高柳 涼一 (九州大学大学院医学研究院)

1. 骨格筋におけるグルココルチコイド作用に関する研究

○田中廣壽、清水宣明、吉川賢忠、松橋智弘、松宮遼、丸山崇子、馬艶歌

東京大学医科学研究所附属病院アレルギー免疫科

2. Glutathione S-transferase (GST) A family の転写制御機構とステロイド合成における役割

○水谷哲也、宮本 薫

福井大学 医学部 生体情報医科学講座 分子生体情報学領域

B. 疫学調査・予後調査 (9:35 - 10:25)

座長：柳瀬 敏彦 (福岡大学医学部)

3. 副腎偶発腫長期予後調査

○一城貴政<sup>1)</sup>、上芝元<sup>2), 3)</sup>、柳瀬敏彦<sup>4)</sup>

1) 恩賜財団済生会横浜市東部病院糖尿病・内分泌内科

2) 東邦大学羽田空港国際線クリニック

3) 東邦大学医学部 内科学糖尿病・代謝・内分泌分野

4) 福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科

4. 副腎性サブクリニカルクッシング症候群長期観察例における生活習慣病進展症例の検討

○河手久弥<sup>1)</sup>、河野倫子<sup>1)</sup>、野村政壽<sup>1)</sup>、足立雅広<sup>1)</sup>、大中佳三<sup>2)</sup>、明比祐子<sup>3)</sup>、柳瀬敏彦<sup>3)</sup>、高柳涼一<sup>1)</sup>

1 九州大学大学院医学研究院 病態制御内科学

2 九州大学大学院医学研究院 老年医学

3 福岡大学医学部 内分泌・糖尿病内科

5. 原発性アルドステロン症、副腎性サブクリニカルクッシング症候群、アジソン病の全国疫学調査：  
二次調査結果 (発表時間 15 分)

○三宅吉博<sup>1)</sup>、田中景子<sup>1)</sup>、柳瀬敏彦<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>福岡大学医学部衛生・公衆衛生学 <sup>2)</sup>福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科学



挨拶 (10:25 - 10:35)

武村 真治

国立保健医療科学院

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)

研究事業推進官

C. 原発性アルドステロン症 (1) (10:35 - 11:35)

座長：武田 仁勇 (金沢大学医薬保健研究域)

6. 特発性アルドステロン症患者における血清中アルドステロン分泌促進因子の検討

柴田洋孝、○横田健一、大山貴子、栗原 勲、武田彩乃、三石木綿子、林 毅、城 理絵、  
中村俊文、伊藤 裕

慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

7. 原発性アルドステロン症 (PA) に対する MR 拮抗薬 (MRB) の有用性

○方波見卓行<sup>1</sup>、加藤浩之<sup>2</sup>、田中 逸<sup>2</sup>

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院 代謝・内分泌内科<sup>1</sup>

聖マリアンナ医科大学 代謝・内分泌内科<sup>2</sup>

8. 本邦アルドステロン産生腺腫における KCNJ5 遺伝子変異の特徴

○山田正信、中島康代、田口亮、岡村孝志、森昌朋

群馬大学医学部病態制御内科

9. KCNJ5 遺伝子変異の有無による原発性アルドステロン症 (PA) 臨床的特徴の比較

○大村昌夫、北本匠、末松佐知子、松澤陽子、齋藤淳、西川哲男

横浜労災病院 内分泌・糖尿病センター

班研究に関する提言、ディスカッション等 (11:35 - 11:50)

研究代表者：柳瀬 敏彦 (福岡大学医学部)

事務連絡 (11:50 - 12:00)

研究代表者：柳瀬 敏彦 (福岡大学医学部)

昼 食 (12:00 - 13:00)

D. 原発性アルドステロン症 (2) (13:00 - 14:00)

座長：西川 哲男 (横浜労災病院)

10. 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

○武田仁勇、米谷充弘、澤村俊孝、大江真史、米田隆

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)

11. 原発性アルドステロン症 (PA) の機能確認検査と病型診断

○津曲 綾、難波多拳、立木美香、中尾佳奈子、植田洋平、垣田真以子、中谷理恵子、臼井 健、田上哲也、田辺晶代、島津 章、成瀬光荣

1 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、2 東京女子医大第二内科

12. 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の頻度

○村瀬邦崇、明比祐子、野見山 崇、柳瀬敏彦

福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科

13. 両側アルドステロン産生副腎皮質腺腫による原発性アルドステロン症の診断と治療

○佐藤文俊 森本 玲 工藤正孝 岩倉芳倫 松田 謙 小野美澄 祢津昌広 伊藤貞嘉  
清治和将<sup>1</sup> 高瀬 圭<sup>1</sup> 荒井陽一<sup>2</sup> 中村保宏<sup>3</sup> 笹野公伸<sup>3</sup>

東北大学病院 腎・高血圧・内分泌科 <sup>1</sup>同 放射線診断科 <sup>2</sup>同 泌尿器科 <sup>3</sup>同 病理部

E. 先天性ステロイド産生異常症 (14:00 - 15:00)

座長：長谷川奉延 (慶應義塾大学医学部)

14. 副腎ホルモン産生異常症の全国疫学調査における、21 水酸化酵素欠損症以外の先天性副腎過形成、先天性副腎低形成、偽性低アルドステロン症についての解析

○鈴木 滋、棚橋 祐典

旭川医科大学小児科

15. アルドステロン合成酵素欠損症の2例

○田島敏広、石津桂、中村明枝

北海道大学大学院医学研究科小児科学分野

16. 自然に思春期が発来したコレステロール側鎖切断酵素欠損症の女児例で見いだされた変異 *CYP11A1* 遺伝子の機能解析

○勝又規行<sup>1</sup>、水野晴夫<sup>2</sup>、藤原幾磨<sup>3</sup>、小川英伸<sup>4</sup>

<sup>1</sup>国立成育医療研究センター研究所 分子内分泌研究部

<sup>2</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科 新生児・小児医学分野

<sup>3</sup>東北大学医学部 小児科

<sup>4</sup>帝京大学医学部 小児科

17. 尿中 $5\alpha/5\beta$ テトラヒドロコルチゾン比による新生児 $5\alpha$ -リダクターゼ欠損症診断○本間 桂子<sup>1)</sup>, 小山 雄平<sup>2)</sup>, 内田 登<sup>3)</sup>, 林 美恵<sup>3)</sup>, 石井智弘<sup>3)</sup>, 涌井 昌俊<sup>4)</sup>, 村田 満<sup>4)</sup>, 長谷川奉延<sup>3)</sup>

1) 慶應義塾大学病院中央臨床検査部, 2) 三菱化学メディエンス株式会社,

3) 慶應義塾大学医学部小児科, 4) 慶應義塾大学医学部臨床検査医学,

## F. ステロイド産生機構 (15:00 - 16:00)

座長: 諸橋憲一郎 (九州大学大学院医学研究院)

## 18. 全ゲノムを対象とした解析から見えてきた副腎皮質における Ad4BP/SF-1 の新たな機能

馬場崇、○諸橋憲一郎

九州大学大学院医学研究院性差生物学分野

19. ヒト副腎皮質および皮質腫瘍における Estrogen-related receptor  $\alpha$  (ERR $\alpha$ )発現の検討○笹野公伸<sup>1)</sup>、中村保宏<sup>1)</sup>、サウロ J.A. フェリゾラ<sup>1)</sup>、緑川早苗<sup>2)</sup>、鈴木眞一<sup>3)</sup>、佐藤文俊<sup>4)</sup>

1) 東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野

2) 福島県立医科大学放射線健康管理学分野

3) 福島県立医科大学器官制御外科学講座乳腺・内分泌・甲状腺外科

4) 東北大学病院腎・高血圧・内分泌科

20. アンジオテンシン II によるアルドステロン合成関連酵素遺伝子発現における転写因子 NFAT の関与  
--- H295R 細胞を用いた検討

○岩崎泰正 西山充 田口崇文 次田誠

高知大学臨床医学部門・保健管理センター、同医学部内分泌代謝・腎臓内科

## 21. ヒト ES/iPS 細胞のステロイド産生細胞への分化誘導

○曾根正勝、園山拓洋、田浦大輔、本田恭子、中尾一和

京都大学医学研究科 内分泌代謝内科

## 閉会の挨拶 (16:00 - 16:05)

研究代表者: 柳瀬 敏彦 (福岡大学医学部)

抄 録