

Cushing病における脂肪蓄積機構の解明 — グルココルチコイドによる中性脂肪合成調節の分子機序 —

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
	岡崎 瑞穂	高知大学医学部内分泌代謝・腎臓内科

研究要旨：Cushing病の代表的な病態である中心性肥満の病態解明および治療法開発を目的として、グルココルチコイド(GC)過剰によるTG合成・中心性肥満の発症メカニズムに関する分子生物学的な検討を行った。すなわち、中性脂肪(TG)合成酵素(GPAT, AGPAT, Lipin, DAGT, MGAT 各アイソフォーム計15遺伝子17プロモーター)をクローニングしたのち、これらの転写調節領域をレポーターベクターに組み込み、細胞内に一過性に導入した条件で、GC(Dexamethasone; Dex)の効果を解析した。その結果、1) 検討した多数の遺伝子に glucocorticoid-response element (GRE) を認めた。2) Dex (100 nM) は大部分のTG合成酵素において、直接的な転写誘導効果を認めた。2) インスリンとの併用効果は見られなかった。以上の結果より、GCは直接的にTG合成酵素の発現を誘導し、TG蓄積、中心性肥満形成を招来することが示唆された。TG合成阻害剤、ないし細胞内GC活性化酵素阻害剤は、Cushing病のGC過剰による脂肪合成亢進を抑制し、病態の改善をもたらすことが期待される。

A. 研究目的

Cushing病の代表的な病態として中心性肥満(内臓脂肪蓄積)がある。この中心性肥満は、メタボリックシンドロームの究極の病態とも考えられ、種々のアディポカインの産生を介してインスリン依存性や糖尿病、高血圧を招来し、これが本疾患の予後を悪化させる一因となっている。その意味で、Cushing病における脂肪蓄積機序を解明し、その予防・治療法を開発することは重要な臨床検討課題である。しかしながら、脂肪酸(FFA)合成系の分子機序解明が進んでいるのに対し、中性脂肪を合成する酵素群(GPAT, AGPAT, Lipin, MGAT, DGAT)はアイソフォームを含

めると関連する遺伝子の数が多く、またその機能解析も緒に着いたばかりである。

GC作用の多くは、標的遺伝子の転写促進作用を介して生じている。このため、GCによるTG合成促進の分子機序を明らかにするためには、TG合成酵素の転写調節領域に対するGCの作用を網羅的に解析することが重要である。今回我々は、上記TG合成酵素15種類、17プロモーターを全て自施設でクローニングし、各々の遺伝子に対するGCの効果を *in vitro* の系を用いて検討した。

B. 研究方法

ヒトTG合成遺伝子(GPAT1-4, AGPAT1,2,

Lipin 1-3, MGAT1,2,3, LGPAT, DAGA1,2) 全 15 遺伝子 17 プロモーター (各 2kb) (図 1) を クローニングした後レポーターベクターにサブクローンし、各コンストラクトを DMEM 培地で培養したヒト肝臓由来 HepG2 細胞に一過性に導入した。この条件下において、Dexamethasone (Dex) ないしインスリンが各 TG 合成系酵素遺伝子転写活性に及ぼす効果を評価した。

C. 研究結果

- 1) クローンした多くの遺伝子プロモーター上に、GRE 様結合配列を認めた。
- 2) 検討した 17 種類の遺伝子のうち、Dex (100 nM) は、GPAT では GPAT2, AGPAT では AGPAT2, MGAT では MGAT1, DGAT では DGAT1,2 に対し、強力な転写誘導効果を示した。
- 3) Cushing 症候群ではインスリン抵抗性による高インスリン血症が高頻度に認められる。今回の検討において、インスリン (10 nM, 24 h) も TG 合成系遺伝子の多くの転写を促進した。しかし Dex との相加・相乗効果は認めなかった (結果省略)。

D. 考察

Cushing 病における高コルチゾール血症は、GC 受容体を介して多数の遺伝子発現に影響を与える。実際、血管や神経などの興奮性細胞に対しては過敏性上昇による高血圧や神経症状を、筋肉組織や骨組織に対しては異化作用による筋萎縮や骨粗鬆症を招来することが知られており、Cushing 病における重大な合併症となる。

それらに加え、GC は強力な脂肪同化作用を有しており、解糖系の中間代謝産物である dihydroxyacetone phosphate から glycerol-3-

phosphate を経て中性脂肪 (TG) に至る代謝経路を強力に活性化し、脂肪蓄積による中心性肥満を生じる。これらの脂肪細胞からは各種のアディポカインが産生されるため、結果的にインスリン抵抗性などに起因する心血管障害や脳血管障害が生じ、Cushing 病患者の生命予後に大きな影響を及ぼすことが知られている。

しかしながら、その分子機序、特に GC が TG 合成系を促進する標的遺伝子に関しては、全く研究が進展していなかった。今回私どもは、上記の代謝系に関与する遺伝子の転写調節領域を全てクローニングして検討した結果、その多くに GC が促進的に作用することを明らかにした。

今回得られた結果より、GC は GPAT2, AGPAT2, DGAT1,3 の転写を強力に促進することが示された。これらの酵素は glycerol-3-phosphate から TG に至る代謝系の中軸に位置しており、GC はこれらの酵素の発現を増強することで、TG 蓄積を促進し、一方で筋肉の異化で生じたアラニンなどの糖原性アミノ酸を糖新生により糖に変換して、血糖値を維持・上昇させているものと考えられる。

Cushing 病の治療は、下垂体腺腫そのものに対する治療が最も優先されるが、その合併症の防止も重要である。また近年注目されているメタボリックシンドロームも、内臓肥満が血管障害を招来するという意味で、類似の病態と考えられる。その意味で、今回の我々の検討結果を考慮すると、脂肪細胞における GC 活性化の阻害 (11 β -HSD1 阻害剤)、ないし GC による TG 合成阻害 (DGAT 阻害剤) が、Cushing 病による代謝合併症の治療、ないしメタボリックシンドローム自体の治療に有用である可能性が強く示唆され、今後の薬剤開発ならびに臨床応用が期待される。

E. 結論

ヒトTG合成酵素遺伝子の転写調節領域17種類を全てクローニングした。また、その多くに対してGCが促進的に作用することを明らかにし、Cushing病における中心性肥満発症の分子機序の一端を解明した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表・著書

- 1) 岩崎泰正. 尿崩症. 今日の治療指針 医学書院(東京) 2013, p689-690.
- 2) 岩崎泰正. アクロメガリーと合併症. Acropegaly Handbook. メディカルレビュー社. 2013, p143-145.
- 3) 岩崎泰正. 症状・身体所見とホルモン分泌・作用機序との関連. 特別増刊号「内分泌ホルモンのすべて」. 内分泌・糖尿病・代謝内科 2013; Suppl 4: 22-30.
- 4) 岩崎泰正. 中枢性尿崩症. 特集「内分泌疾患に強くなる」. Medicina 2013; 50: 1802-1805.
- 5) 綿貫裕, 高安忍, 蔭山和則, 岩崎泰正, 須田俊宏, 大門眞. ヒトメラノーマHMV-II細胞におけるCRH及びurocortin 1による tyrosinase-related protein 1 遺伝子発現作用機序についての検討. ACTH RELATED PEPTIDES 24: 18-20; 2013.
- 6) 蔭山和則, 山形聡, 岩崎泰正, 井樋慶一. 視床下部CRF遺伝子発現におけるFosB蛋白の関与について - in vivo の検討 -. ACTH RELATED PEPTIDES 24; 21-22; 2013.
- 7) 西山充, 次田誠, 中山修一, 岡崎瑞穂, 田口崇文, 岩崎泰正, 辛島尚, 執印太郎, 寺田典生. 片側副腎腫瘍摘除により糖尿病の改善が得られたAIMAHの1例. ACTH RELATED PEPTIDES 24; 24-26; 2013.
- 8) Miyake Y, Tanaka K, Nishikawa T, Naruse M, Takayanagi R, Sasano H, Takeda Y, Shibata H, Sone M, Satoh F, Yamada M, Ueshiba H, Katabami T, Iwasaki Y, Tanaka H, Tanahashi Y, Suzuki S, Hasegawa T, Katsumata N, Tajima T, Yanase T. Prognosis of primary aldosteronism in Japan: results from a nationwide epidemiological study. Endocr J 2013 ePub.
- 9) Lee HA, Lee DY, Cho HM, Kim SY, Iwasaki Y, Kim IK. Histone deacetylase inhibition attenuates transcriptional activity of mineralocorticoid receptor through its acetylation and prevents development of hypertension. Circ Res 2013; 112: 1004-1012.
- 10) 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 2012; 97: 2575-2576.
- 11) Kageyama K, Itoi K, Iwasaki Y, Niioka K, Watanuki Y, Yamagata S, Nakada Y, Das G, Suda T, Daimon M. Stimulation of corticotropin-releasing factor gene expression by FosB in rat hypothalamic 4B cells. Peptides. 2013; 51C: 59-64. Peptides 2013 Epub.
- 12) Watanuki Y, Takayasu S, Kageyama K, Iwasaki Y, Sakihara S, Terui K, Nigawara T, Suda T. Involvement of Nurr-1/Nur77 in

corticotropin-releasing factor/urocortin1-induced tyrosinase-related protein 1 gene transcription in human melanoma HMV-II cells. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 370: 42-51.

2. 学会発表

- 1) Tsukamoto N, Otsuka F, Ogura-Ochi K, Inagaki K, Nakamura E, Toma K, Terasaka T, Iwasaki Y, Makino. Inhibitory effects of melatonin on adrenocorticotropin production via BMP-4 activation by pituitary corticotrope cells. The 95th Annual Meeting of the Endocrine Society. 2013, June 14-18. San Francisco, USA.
- 2) Ogura-Ochi K, Otsuka F, Tsukamoto N, Miyoshi T, Nakamura E, Takeda M, Inagaki K, Ogura T, Iwasaki Y, Makino H. 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.

- 3) 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.
- 4) 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

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1. ヒトTG合成に関与する遺伝子と、その代謝系における位置付け

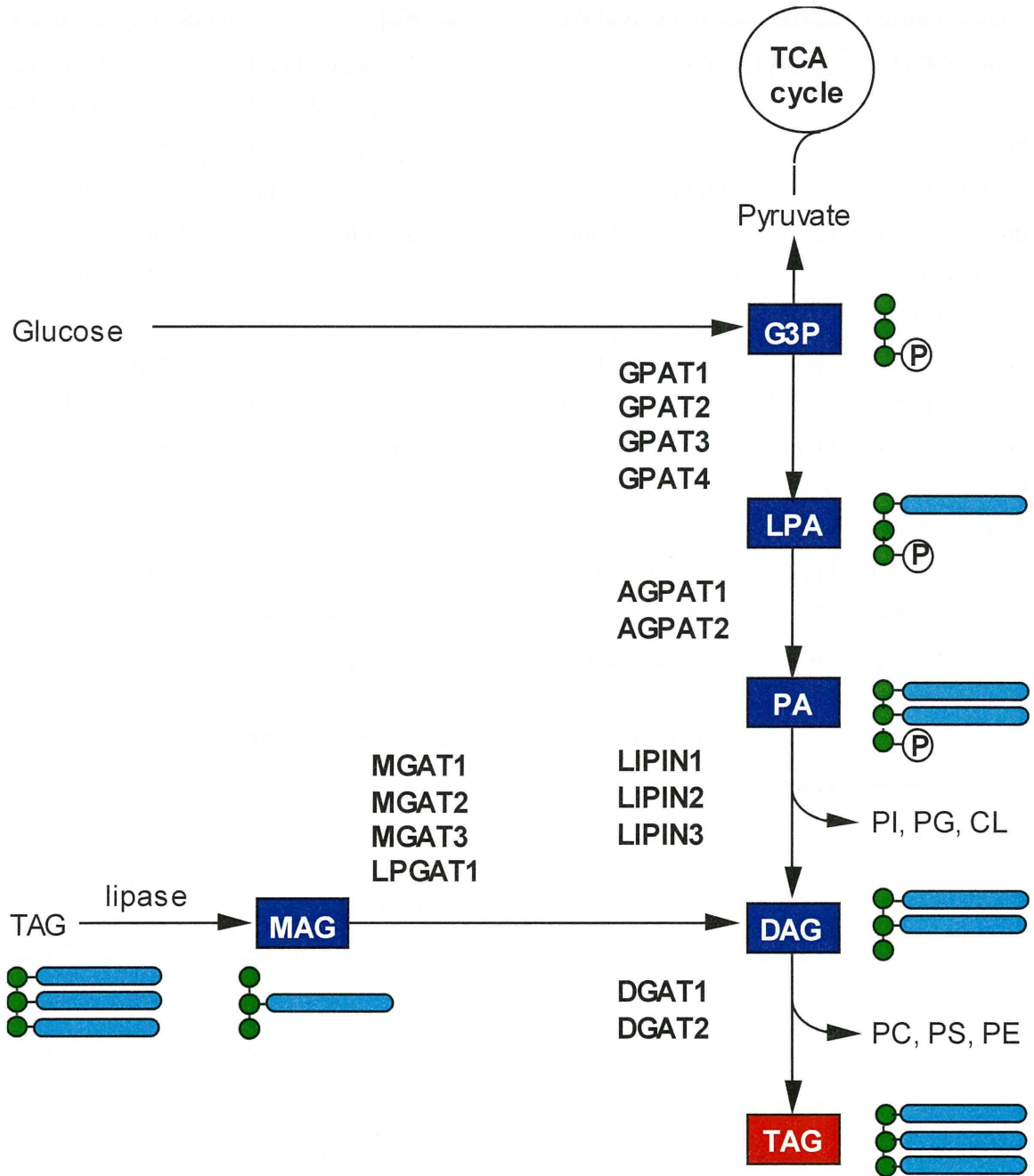
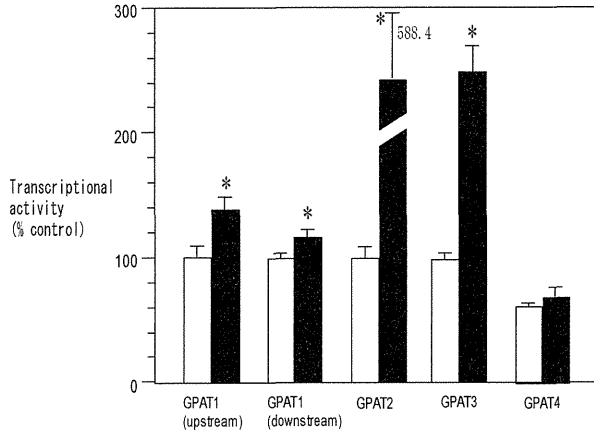


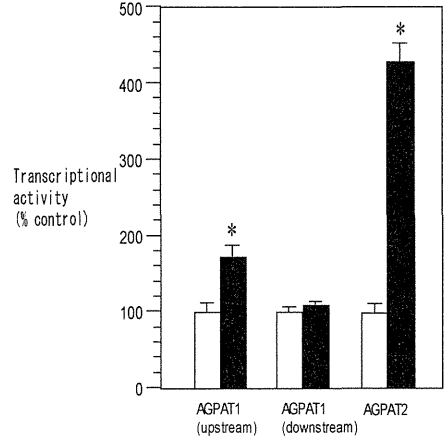
図2. GC (Dex, 100 nM, 24 h) の TG 合成系遺伝子転写活性に対する効果

GPAT では GPAT2, AGPAT では AGPAT2, MGAT では MGAT1, DGAT では DGAT1, 2 に対し強力な転写誘導効果が認められた。

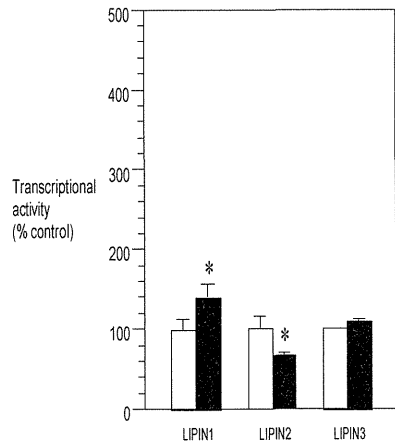
GPAT



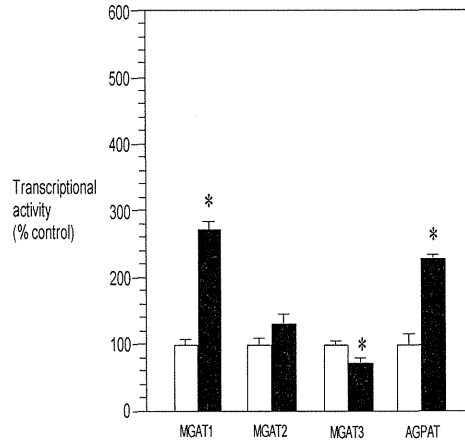
AGPAT



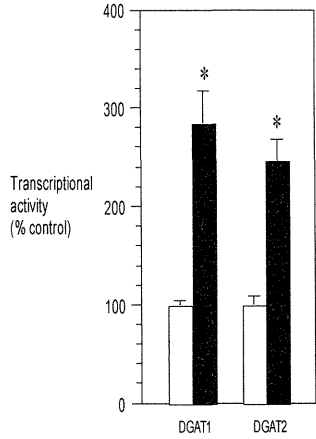
Lipin



MGAT



DGAT



レチノイドX受容体(RXR)アゴニストHX630の *Pomc* 遺伝子転写抑制機構の解明ならびに *in vivo* 腫瘍増殖抑制効果の検討

研究分担者	菅原 明	東北大学大学院医学系研究科分子内分泌学分野
研究協力者	箱田 明子	東北大学大学院医学系研究科分子内分泌学分野
	清水 恭子	東北大学大学院医学系研究科分子内分泌学分野
	小暮 直敬	東北大学大学院医学系研究科分子内分泌学分野
	宇留野 晃	東北大学大学院医学系研究科医化学分野
	横山 敦	東北大学大学院医学系研究科分子内分泌学分野
	菅原 香織	東北大学大学院医学系研究科分子内分泌学分野
	吉川 雄朗	東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野
	藤原 幾磨	東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野
	佐藤 郁子	東北大学大学院医学系研究科分子内分泌学分野
	松田 謙	東北大学大学院医学系研究科腎・高血圧・内分泌学分野
	工藤 正孝	東北大学大学院医学系研究科腎・高血圧・内分泌学分野
	影近 弘之	東京医科歯科大学生体材料工学研究所
	岩崎 泰正	高知大学臨床医学部門
	伊藤 貞嘉	東北大学大学院医学系研究科腎・高血圧・内分泌学分野

研究要旨：【目的】我々は昨年までの本会議において、RXRアゴニストであるHX630が、マウス下垂体由来ACTH産生AtT20細胞に対して、細胞増殖抑制・アポトーシス誘導作用ならびに*Pomc*遺伝子転写抑制・*Pomc* mRNA発現抑制・ACTH分泌抑制作用を示す事を明らかにして来た。今回我々は、HX630の*Pomc*遺伝子の転写抑制機構を更に解明するとともに、ヌードマウスを用いてHX630の*in vivo*における腫瘍増殖抑制効果を検討した。【方法】ラット*Pomc*遺伝子転写活性はルシフェラーゼアッセイにて、*Pomc* mRNA発現は定量PCRにてそれぞれ検討した。*In vivo*腫瘍増殖抑制効果は、生後8週のヌードマウス皮下に100万個/匹のAtT20細胞を埋め込み、HX630腹腔内投与3週間後に解析した。【結果】HX630が*Pomc*遺伝子NurREに結合する転写因子であるNur77とNurr1のmRNA発現を抑制する結果、同部位を介して*Pomc*遺伝子転写が抑制される事が明らかとなった。また、HX630による同遺伝子転写抑制は、RXR α の過剰発現にて増強しRXR α のsiRNA投与で軽減された事から、RXR α の関与が考えられた。さらに、HX630の3週間の腹腔内投与により、ヌードマウス皮下に定着したAtT20細胞由来腫瘍の体積ならびに*Pomc* mRNA発現は、vehicle投与群に比して有意に減少した。【考察】本研究結果から、HX630がpotentialなCushing病の新規治療薬たり得る可能性が示唆された。

A. 研究目的

Cushing病は下垂体ACTH産生腫瘍からのACTH過剰分泌をきたす疾患であり、治療の第一選択は経蝶形骨洞下垂体腺腫摘出術であるが、腫瘍残存時・再発時に有効な薬物療法は確立していない。近年、ビタミンA誘導体であるレチノイン酸(RA)が、Cushing病に対してACTH分泌を抑制し治療的効果を持つ可能性が報告されている。我々は平成20・22年度の本会議において、レチノイン酸受容体(RAR)アゴニストであるAm80が、マウス下垂体由来ACTH産生AtT20細胞における*Pomc*転写活性およびACTH分泌を、むしろ増加させることを報告した。さらに平成21・23・24年度の本会議において、レチノイドX受容体(RXR)アゴニストであるHX630がAtT20細胞において、細胞増殖抑制・アポトーシス誘導作用ならびに*Pomc*遺伝子転写抑制・*Pomc* mRNA発現抑制・ACTH分泌抑制作用を示す事を明らかにしてきた。今回我々は、HX630の*Pomc*遺伝子転写抑制機構の解明ならびに*in vivo*腫瘍増殖抑制効果の検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

細胞はマウス下垂体由来ACTH産生細胞であるAtT20細胞を、RXRアゴニストはRXR pan-agonistであるHX630を使用した。*Pomc*ならびに各転写因子mRNA発現はリアルタイムPCRにて、*Pomc*プロモーター活性は一過性トランスフェクション後のルシフェラーゼアッセイにて、各転写因子のDNA結合能はChIP assayにてそれぞれ解析した。各転写因子の過剰発現実験ならびにsiRNA投与実験も施行した。ヌードマウスの腫瘍細胞移植実験に関しては、生後8週のヌードマウスに1匹あたり100万個のAtT20細胞を

埋め込み、その1週間後からHX630投与群(5mg/kg/dose)とコントロール群のそれぞれに、3回/週の腹腔内投与を3週間施行した。実験最終日に体重測定、腫瘍径計測を行った後に腫瘍摘出を行った。腫瘍からRNA抽出を行った後、リアルタイムPCRにて*Pomc* mRNAの発現を両群間で比較検討した。

C. 研究結果

昨年の本会議で我々は、RXRアゴニストHX630が*Pomc* promoterの-429~-379領域を介して転写を抑制することを明らかにした。本領域中にはNurREが存在し、転写因子であるNur77およびNurr1が結合することが知られている。リアルタイムPCRならびにChIPアッセイの結果から、HX630 10 μ Mの48時間添加により、Nurr1・Nur77のmRNA発現抑制ならびにNurr1/Nur77のDNAへの結合低下が認められた(data not shown)。Nurr1・Nur77の過剰発現により、HX630による*Pomc* promoterの転写抑制の減弱が認められた。一方、HX630による*Pomc* promoterの転写抑制は、RXR α の過剰発現により増強し、RXR α のsiRNA投与により減弱した(data not shown)。一方、ヌードマウスにおける腫瘍細胞移植実験において、腫瘍体積ならびに腫瘍細胞中*Pomc* mRNAの発現のいずれもが、コントロール群に比してHX630投与群が有意に減少していた(data not shown)。

D. 考察

本研究結果から、RXRアゴニストHX630がRXRを介してNurr1・Nur77の発現を抑制し、その結果Nurr1/Nur77のNurREへの結合が減弱し、*Pomc* promoterの転写が抑制されることが推定された(図1)。一方、ヌードマウスを用いたAtT20細胞移植実験から、

HX630が*in vivo*でも腫瘍縮小効果・*Pomc* mRNA発現抑制作用を有することが示された。これらの実験結果よりHX630はCushing病の治療薬になり得る可能性が示唆された。

E. 結論

HX630はCushing病の新規治療薬になり得る可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌(2013～2014年)

- 1) Saha HR, Khan H, Sarkar BC, Khan SA, Sana NK, Sugawara A, Choudhury S. Effects of thyroid dysfunction on lipid profile with and without diabetes subjects. *OJEMD*. 2013; 3: 113-119.
- 2) Uruno A, Furusawa Y, Yagishita Y, Fukutomi T, Muramatsu H, Negishi T, Sugawara A, Kensler TW, Yamamoto M. The Keap1-Nrf2 system prevents onset of diabetes mellitus. *Mol Cell Biol*. 2013; 33: 2996-3010.
- 3) Kudo M, Saito-Hakoda A, Matsuda K, Shimizu K, Sato I, Uruno A, Yoshikawa T, Iki Y, Sugawara K, Kogure N, Saito-Ito T, Ito S, Sugawara A. The effects of GLP-1 receptor agonists on endothelial function: do they function directly or indirectly? *J Autacoids*. 2013; 2: e121.
- 4) Matsuda K, Uruno A, Kogure N, Sugawara K, Shimada H, Nezu M, Saito-Ito T, Iki Y, Kudo M, Shimizu K, Sato I, Yoshikawa T, Satoh F, Ito R, Yokoyama A, Rainey WE, Saito-Hakoda A, Ito S, Sugawara

A. Angiotensin II receptor blockers differentially affect CYP11B2 expression in human adrenal H295R cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2013; 383: 60-68.

- 5) Nakamura T, Yoshikawa T, Noguchi N, Sugawara A, Kasajima A, Sasano H, Yanai K. The expression and function of histamine H3 receptor in pancreatic β -cells. *Br J Pharmacol*. 2014; 171: 171-185.
- 6) Yagishita Y, Fukutomi T, Sugawara A, Kawamura H, Takahashi T, Pi J, Uruno A, Yamamoto M. Nrf2 protects pancreatic β -cells from oxidative and nitrosative stress in diabetic model mice. *Diabetes*. 2014; 63: 605-618.

- 7) Felizola SJ, Nakamura Y, Ono Y, Kitamura K, Kikuchi K, Onodera Y, Ise K, Takase K, Sugawara A, Hattangady N, Rainey WE, Satoh F, Sasano H. PCP4: a regulator of aldosterone synthesis in human adrenocortical tissues. *J Mol Endocrinol*. 2014 Jan 8. [Epub ahead of print]

和文雑誌・著書(2013～2014年)

- 1) 工藤正孝、森本 玲、小野美澄、岩倉芳倫、柁津昌広、松田 謙、齋藤綾子、菅原明、伊藤貞嘉、池田秀敏、佐藤文俊：過去1年間に当科においてMet PETにて局在診断し、治療を行ったCushing病の4症例。ACTH related peptides 24 : 52-54, 2013

2. 学会発表

国際学会(2013～2014年)

- 1) Saito-Ito T, Kogure N, Sugawara K, Matsuda K, Uruno A, Sato I, Shimizu K, Iki Y, Yoshikawa T, Kudo M, Saito-Hakoda A, Ito S, Sugawara A. High-glucose stimulates aldosterone synthase gene (CYP11B2) expression via T-type calcium channel

in human adrenal H295R cells. The 6th International Aldosterone Forum in Japan. Tokyo 4/21/2013

- 2) Sugawara K, Matsuda K, Saito-Ito T, Kogure N, Iki Y, Uruno A, Sato I, Shimizu K, Tsukada A, Okuma T, Tanaka T, Minakawa K, Ota S, Kakuta R, Katsuki M, Kitani Y, Yoshikawa T, Kudo M, Saito-Hakoda A, Ito S, Sugawara A. Isolation and characterization of a stable H295R cell line expressing 11 β -hydroxylase gene (CYP11B1) promoter and the effect of high-glucose on its expression. International Symposium of Aldosterone and Related Substances in Hypertension 2013. Sendai 4/27-28/2013
- 3) Kogure N, Saito-Ito T, Iki Y, Sugawara K, Matsuda K, Uruno A, Sato I, Shimizu K, Tsukada A, Okuma T, Tanaka T, Minakawa K, Ota S, Kakuta R, Katsuki M, Kitani Y, Yoshikawa T, Kudo M, Saito-Hakoda A, Ito S, Sugawara A. High-glucose stimulates aldosterone synthase gene (CYP11B2) expression via the T-type calcium channel induction in human adrenal H295R cells. International Symposium of Aldosterone and Related Substances in Hypertension 2013. Sendai 4/27-28/2013
- 4) LaFonte MW, Stanek A, Mueller C, Zenilman ME, Sugawara A, Alfonso AE, Huan CM. Identification of Reg1 as a novel stellate cell activator in regenerating pancreas. The American College of Surgeons 2013 Clinical Congress. Washington DC 10/8/2013

国内学会 (2013~2014年)

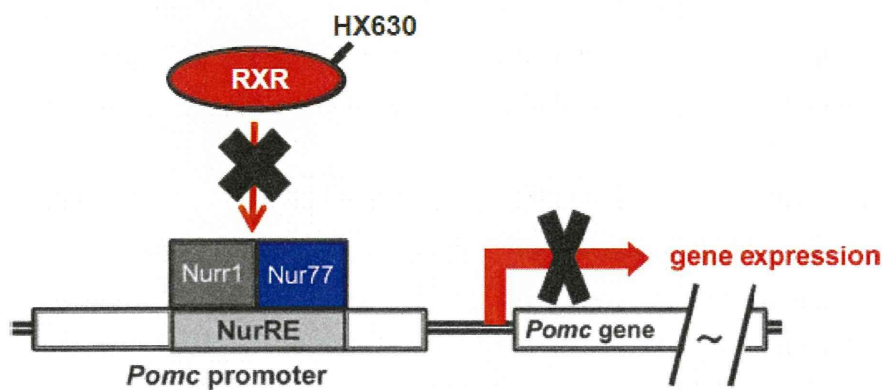
- 1) 菅原 明, 沖 隆, 片上秀喜, 岩崎泰正: Cushing病に対する新規薬物療法の開発. 厚生労働省難治性疾患克服研究事業間脳下垂体機能障害に関する調査研究班平成24年度班会議 2013年1月11日 東京
- 2) 箱田明子, 宇留野晃, 清水恭子, 小暮直敬, 皆川敬治, 伊藤貴子, 吉川雄朗, 藤原幾磨, 松田 謙, 佐藤郁子, 壺岐裕子, 工藤正孝, 影近弘之, 岩崎泰正, 伊藤貞嘉, 菅原 明: レチノイドX受容体 (RXR) アゴニストHX630の *Pomc* 遺伝子転写抑制機構の解明. 厚生労働省難治性疾患克服研究事業間脳下垂体機能障害に関する調査研究班平成24年度班会議 2013年1月11日 東京
- 3) 工藤正孝, 森本 玲, 小野美澄, 岩倉芳倫, 祢津昌広, 松田 謙, 齋藤綾子, 菅原 明, 伊藤貞嘉, 池田秀敏, 佐藤文俊: 過去1年間に当科においてMet PETにて局在診断し, 治療を行ったCushing病の4症例. 第24回間脳・下垂体・副腎系研究会 2013年3月23日 東京
- 4) 菅原 明, 青木淳賢, 段 孝, 清水律子, 鈴木教郎, 可野邦行, 奥平真一, 箱田明子, 金子 寛, 内田隆史, 中澤 徹, 土井隆行, 宮田敏男, 大島吉輝, 山本雅之: 化合物ライブラリーを用いたアカデミア創薬の東北大学における取り組み. 第86回日本薬理学会年会「アカデミア創薬シーズ検索シンポジウム」2013年3月22日 福岡
- 5) 菅原 明, 宇留野晃, 箱田明子, 工藤正孝, 影近弘之, 伊藤貞嘉: レチノイド受容体: 生活習慣病・内分泌疾患との関連と今後の展望. 第86回日本内分泌学会学術総会「教育講演」2013年4月27日 仙台
- 6) 箱田明子, 宇留野晃, 清水恭子, 伊藤貴子, 壺岐裕子, 吉川雄朗, 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。第86回日本内分泌学会学術総会 2013年4月25～27日 仙台
- 7) 壹岐裕子, 工藤正孝, 伊藤貴子, 菅原香織, 松田 謙, 小暮直敬, 皆川敬治, 勝木将人, 佐藤郁子, 宇留野晃, 清水恭子, 吉川雄朗, 箱田明子, 伊藤貞嘉, 菅原 明: ニコチンのヒト冠動脈血管内皮細胞の遺伝子発現に及ぼす影響ならびにそれに対するARBの効果。第86回日本内分泌学会学術総会 2013年4月25～27日 仙台
- 8) 菅原香織, 伊藤貴子, 小暮直敬, 皆川敬治, 壹岐裕子, 勝木将人, 宇留野晃, 佐藤郁子, 田中智博, 太田 翔, 木谷優介, 塚田晃也, 大熊崇生, 角田 亮, 清水恭子, 工藤正孝, 松田 謙, 箱田明子, 伊藤貞嘉, 菅原 明: 高血糖刺激はヒト副腎H295R細胞における11 β -水酸化酵素遺伝子(CYP11B1)発現を誘導する。第86回日本内分泌学会学術総会 2013年4月25～27日 仙台
- 9) 小暮直敬, 伊藤貴子, 菅原香織, 松田 謙, 壹岐裕子, 佐藤郁子, 皆川敬治, 勝木将人, 清水恭子, 吉川雄朗, 工藤正孝, 宇留野晃, 箱田明子, 伊藤貞嘉, 菅原 明: 高血糖刺激は副腎アルドステロン合成酵素の発現をT型Caチャネルの発現増加を介して誘導する。第86回日本内分泌学会学術総会 2013年4月25～27日 仙台
- 10) 柳下陽子, 宇留野晃, 福富俊明, 菅原 明, 川村 仁, 高橋 哲, 山本雅之: Keap1-Nrf2システムによる膵 β 細胞保護作用 第77回日本生化学会東北支部会 2013年5月11日 仙台
- 11) 工藤正孝, 佐藤文俊, 青木空眞, 森本 玲, 岩倉芳倫, 小野美澄, 柘津昌広, 松田 謙, 菅原 明, 佐藤憲一, 伊藤貞嘉: 副腎性サブクリニカルクッシング症候群の診断について。第86回日本内分泌学会学術総会「クリニカルアワー」2013年4月25～27日 仙台
- 12) 菅原 明, 大和田直樹, 伊藤貞嘉: インスリン療法にシタグリプチン追加投与が奏功した3症例。第56回日本糖尿病学会年次学術集会 2013年5月16日 熊本
- 13) 工藤正孝, 松田 謙, 箱田明子, 伊藤貴子, 清水恭子, 壹岐裕子, 佐藤郁子, 菅原香織, 小暮直敬, 吉川雄朗, 宇留野晃, 伊藤貞嘉, 菅原 明: GLP-1受容体アゴニストが冠動脈血管内皮細胞の遺伝子発現に及ぼす影響。第56回日本糖尿病学会年次学術集会 2013年5月17日 熊本
- 14) 菅原 明: 血管を護る～Vascular ω 3系脂肪酸への期待～。第22回日本脳ドック学会総会「イブニングセミナー」2013年6月21日 仙台
- 15) 小暮直敬, 箱田明子, 宇留野晃, 清水恭子, 菅原香織, 壹岐裕子, 吉川雄朗, 松田 謙, 工藤正孝, 影近弘之, 岩崎泰正, 伊藤貞嘉, 菅原 明: RXRアゴニストHX630のCushing病新規治療薬としての可能性。第49回高血圧関連疾患モデル学会学術総会 2013年9月7日 東京
- 16) 菅原 明: アルドステロン合成酵素を標的とした新規創薬を目指して。第78回宮城内分泌研究会 2013年12月4日 仙台

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特記事項なし
2. 実用新案登録
特記事項なし
3. その他
特記事項なし

図1. HX630による*Pomc*転写抑制機構



心疾患におけるバソプレシン分泌過剰

研究分担者 石川 三衛 自治医科大学附属さいたま医療センター内分泌代謝科
研究協力者 多田 祐子 自治医科大学附属さいたま医療センター循環器科
荒尾憲司郎 自治医科大学附属さいたま医療センター循環器科

研究要旨：バソプレシン(AVP)分泌過剰は非内分泌疾患を基盤におこる病態で、その典型例がバソプレシン不適合分泌症候群(SIADH)である。AVPの抗利尿作用の持続的な亢進に基づき、低Na血症を招来する。本研究は、心疾患とくに心不全と急性心筋梗塞時における低Na血症の発現とAVPの分泌動態について検討した。心不全でchronic resynchronization therapy(CRT)を行った患者77例では、予後調査600日目では29%の患者がイベントをおこした。この患者は多変量解析で唯一低Na血症との関連性が強く($p<0.03$)、心疾患自身の病態には影響されなかった。血漿AVP値は血清Na値と負の相関、肺動脈楔入圧(PCWP)と負の相関を示すことから、非浸透圧性AVP分泌が関わることが示唆された。また急性心筋梗塞140例(全例PCIを施行)で発症後72時間以内に低Na血症(<135 mmol/l)を認めた症例は29例(20.7%)であった。低Na血症群では血漿AVP値(4.5 pg/ml)が正Na血症群より有意に高値であった($p<0.003$)。平均920日の予後調査を行うと、Kaplan-Meier解析では心疾患死、心不全への進展入院が明らかに高率であった。心疾患の予後にはAVP分泌過剰を伴う体液調節の異常が深く関わることが考えられる。

A. はじめに

バソプレシン不適合分泌症候群(SIADH)は、代表的な内分泌疾患であるが、その病因は非内分泌性内科疾患に依存している。求心性の非浸透圧性バソプレシン(AVP)分泌刺激により、持続的なAVPの分泌亢進の病態が惹起されて、腎での抗利尿が持続する結果、体液貯留が引き起こされて低ナトリウム(Na)血症に陥る¹⁾。このような非内分泌疾患によるAVP分泌過剰の病態は、心疾患でももたらされる²⁾。本研究では、うっ血性心不全患者と急性心筋梗塞にみられる低Na血症とAVPの分泌動態、さらに長期予後への影響について検討した。

B. 方法

[心不全疾患での研究]

2006～2010年に心臓再同期療法(CRT)を導入した慢性心不全の患者77例を対象とした。患者は、男性57例、女性19例で、年齢は24～82歳(63 ± 12 歳)、NYHA 3、4度、心超音波でのLVEFは35%以下と心不全進行例であった。CRT装着のため入院した患者において、血圧、血漿brain natriuretic peptide(BNP)、血清Na、ヘモグロビン、クレアチニン、e GFR、ECG所見でのQRS時間、血漿AVP濃度を測定した。CRT装着後1400日まで(平均601日)の予後調査を施行し、予後に及ぼす低Na血症の影響を検討した。

[急性心筋梗塞での研究]

2004～2005年に急性心筋梗塞で入院した患者140例を対象とした。すべての患者が入院後24時間以内に冠動脈再疎通術を施行された。男性119例、女性21例、年齢は64.4±12.8歳(28～90歳)であった。入院後72時間までに低Na血症($\leq 135\text{mmol/l}$)がみられた症例を抽出し、血清Na値正常群との2群化を行い、短期予後と長期予後調査を行った。短期予後の評価は、入院中の死亡、心不全への進展、在院日数から、また長期予後は心疾患死、心不全による再入院を指標に行った。長期予後調査は平均920日まで行った。また、心筋梗塞の急性期入院時、72時間後の血清Na、血漿浸透圧、血漿レニン活性、血漿アルドステロン、血漿BNP及び血漿AVP濃度を測定した。

統計的解析

すべてのデータはmean±SDで示した。2者の比較はStudent tテスト又はMann-Whitney Uテストで検討した。Categorical解析は χ^2 検定で、多変量解析はCox hazardsモデルを用いて検討した。また長期予後解析はKaplan-Meier法によった。

C. 成績

CRT装着した心不全患者77例のKaplan-Meier解析では、最大1400日まで予後調査を行った。平均601日における心不全患者のイベントは22例(29%)にみられ、内容は心不全での再入院16例、人工補助心臓1例、心移植1例、心疾患死4例であった。心不全の再発を示唆する因子を多変量Cox解析から検討すると、唯一血清Na値のみが抽出された($p=0.03$)。図1に示すように、心不全再発例をECG QRS時間と血清Na値上に

プロットすると、心不全再発例は血清Na値 136mmol/l 以下の低Na血症患者に多いことが示された。また血清Na値と血漿AVP値の間には負の相関($r=-0.68$, $p=0.008$)を認め、肺動脈楔入圧が高いほど血清Na値は低いことが示された($r=-0.71$, $p=0.001$) (図2)。

急性心筋梗塞の患者140例における血清Na値は図3に示す。血清Naが 136mmol/l 以下の低Na血症の症例は入院時5例、入院72時間で29例(20.7%)、退院時13例(9.2%)であった。表1には、入院中にみられた短期のイベントを示した。低Na血症例では、有意に心不全への進展($p=0.0018$)在院日数の増加($p=0.0008$)がみられた。長期の予後は図4に示す。低Na血症群と正常Na血症群で、心疾患死、心不全による再入院についてKaplan-Meier曲線を検定すると、心疾患死は低Na血症群で多い傾向をみる($p=0.19$)が、心不全による再入院は低Na血症群で明らかに増加していた($p=0.002$)。入院72時間後に調べた血中ホルモン値は表2に示す。血漿AVP値は低Na血症群で $4.5\pm 3.1\text{ pg/ml}$ 、正常Na血症群で $2.7\pm 1.3\text{ pg/ml}$ となり、低Na血症群で有意に高値となった。血清Na値と血漿AVP値の相関をみると、有意の負の相関を認めた($r=-0.28$, $p=0.022$)。しかし、他のホルモン値には2群間に差違をみとめなかった。

D. 考察

CRT装着した心不全患者にみられる経過中の心不全での再発での入院は図1に示すように、ECGのQRS時間の延長との関係より、低Na血症の存在と深く関わることを示された。血漿AVP濃度は血清Na値と負の相関を呈することから、AVP分泌亢進には非浸透

圧性因子が介在することが示唆される³⁾。また血清Na値は肺動脈楔入圧と負の相関関係にあり、心負荷が進行するほど低Na血症になる事実が明らかとなった。本研究では心不全におけるAVP分泌亢進の機序は未解明であるが、恐らく心拍出量の低下が圧受容器を調節する有効循環血液量の減少を招く結果、圧受容器を介する抑制性の求心性制御が解除されて、AVPの分泌亢進を惹起することが考えられる。AVP依存性に水利尿不全が助長されて、循環血液量の増加とこれに伴う希釈性低Na血症が招来される悪循環を形成することが示唆される²⁾。この結果、心機能不全はさらに助長される。このように、AVP依存性の体液調節異常は心不全の予後を大きく左右するものと考えられる。

急性心筋梗塞で入院した患者はすべて入院24時間以内に冠動脈再疎通術を施行しえた症例であった。入院72時間以内に低Na血症を認めた症例は29例(20.7%)に達した。心機能検査の中で心駆出率(ejection fraction)は低Na血症群と正Na血症群それぞれ48.6%、49.0%(平均)で差違を認めなかった。短期予後では表1に示した如く低Na血症で存院日数、心不全への進展ともに明らかな増加を認めた。また入院時低Na血症を呈した群でも退院後に低Na血症が遷延する例はなく、経過観察された。長期予後調査(平均920日)では低Na血症群で心不全への進展が明らかに増加しており、また心疾患死も増加傾向であった。同様の成績はGoldbergらも報告している⁴⁾。このような変化は急性心筋梗塞発症72時間の血漿AVP値に由来することが明らかとなった。本研究でAVP分泌亢進の機序は明らかでないが、AVP分泌亢進は非浸透圧性刺激に由来しており、恐らく

慢性心不全と同様心機能の低下が圧受容器を介する求心性AVP分泌抑制系の解除によることが推察される^{2),3)}。したがって、急性心筋梗塞発症時にみられた心筋障害の程度が基盤となってAVPをはじめ、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系、交感神経系を賦活して体液貯留に発展することが、心不全への進展の指標として低Na血症が重要視される根拠と考えられる⁵⁾。

文 献

- 1) Ishikawa S, Schrier RW: Pathological roles of arginine vasopressin and aquaporin-2 in impaired water excretion. *Clin Endocrinol (Oxf)* 58: 1-17, 2003.
- 2) Schrier RW, Abraham W: Hormones and hemodynamics in heart failure *N Engl J Med* 341: 577-585, 1999.
- 3) Funayama H, Nakamura T, Saito T, Yoshimura A, Saito M, Kawakami M, Ishikawa S: Urinary excretion of aquaporin-2 water channel exaggerated dependent upon vasopressin in congestive heart failure. *Kidney Int* 66: 1387-1392, 2004.
- 4) Goldberg A, Hammerman H, Petcherski S, Nassar M, Zdrovovak A, Yalonetsky S, et al: Hyponatremia and long-term mortality in survivors of acute ST-elevation myocardial infarction. *Arch Intern Med* 166: 781-786, 2006.
- 5) Schrier RW: Pathogenesis of sodium and water retention in high-output and low-output cardiac failure, nephrotic syndrome, cirrhosis and pregnancy. *N Engl J Med* 319: 1065-1072, 1988.

図1. CRT装着した心不全患者の予後：心不全再発と血清Na、QRS時間の関係

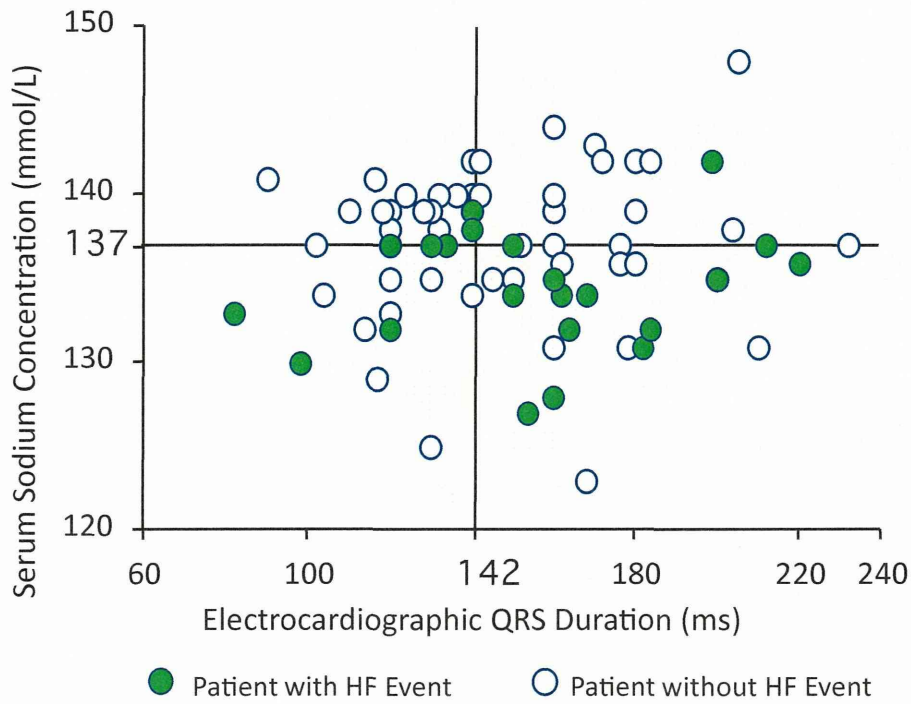


図2. 血清Na濃度と肺動脈楔入圧(PCWP)、血漿AVP濃度

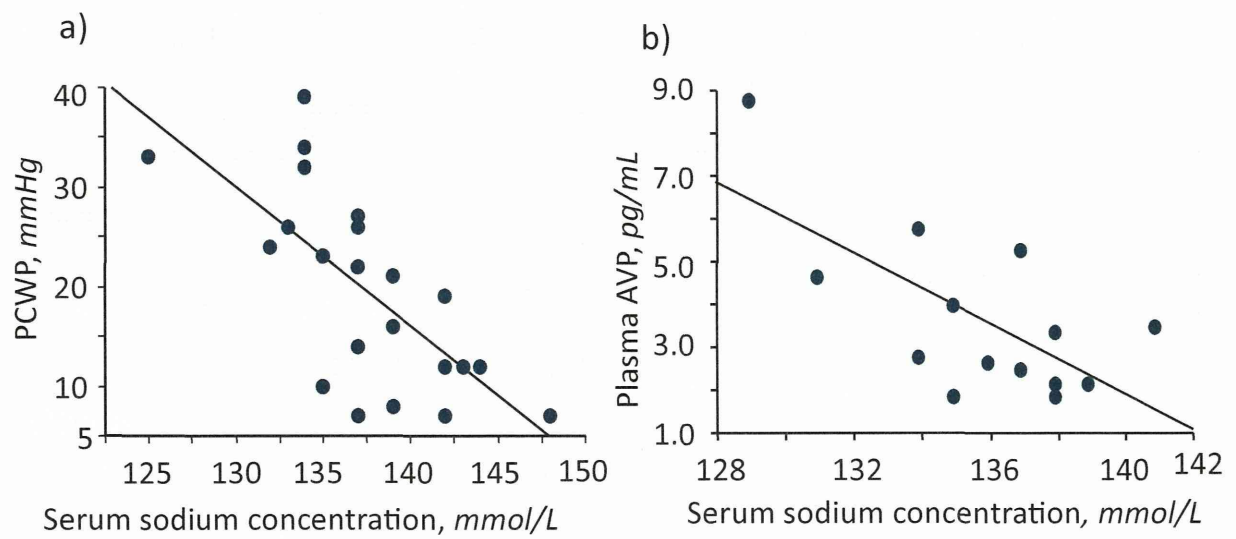


図3. 急性心筋梗塞発症時の血清Na値

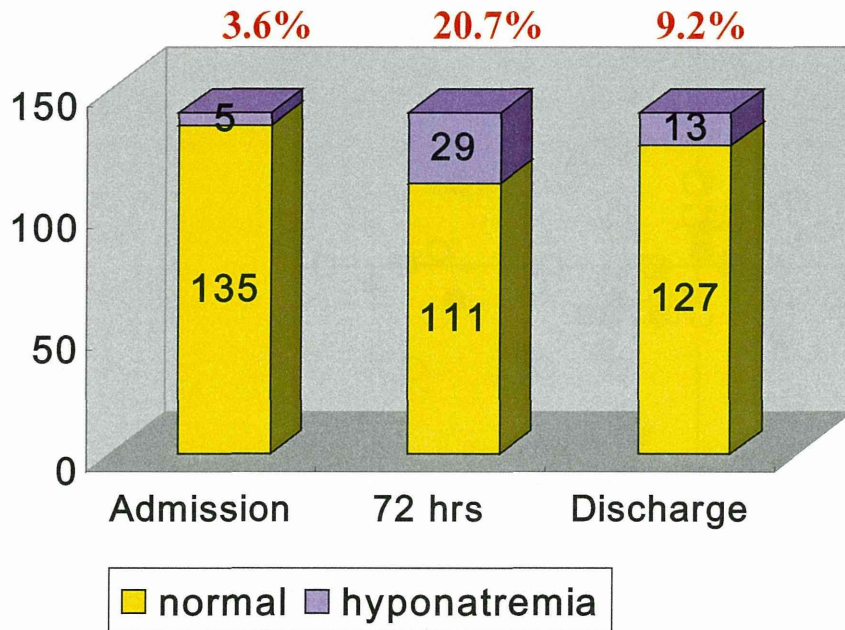


図4. 急性心筋梗塞患者の長期予後：心疾患死と心不全の発症

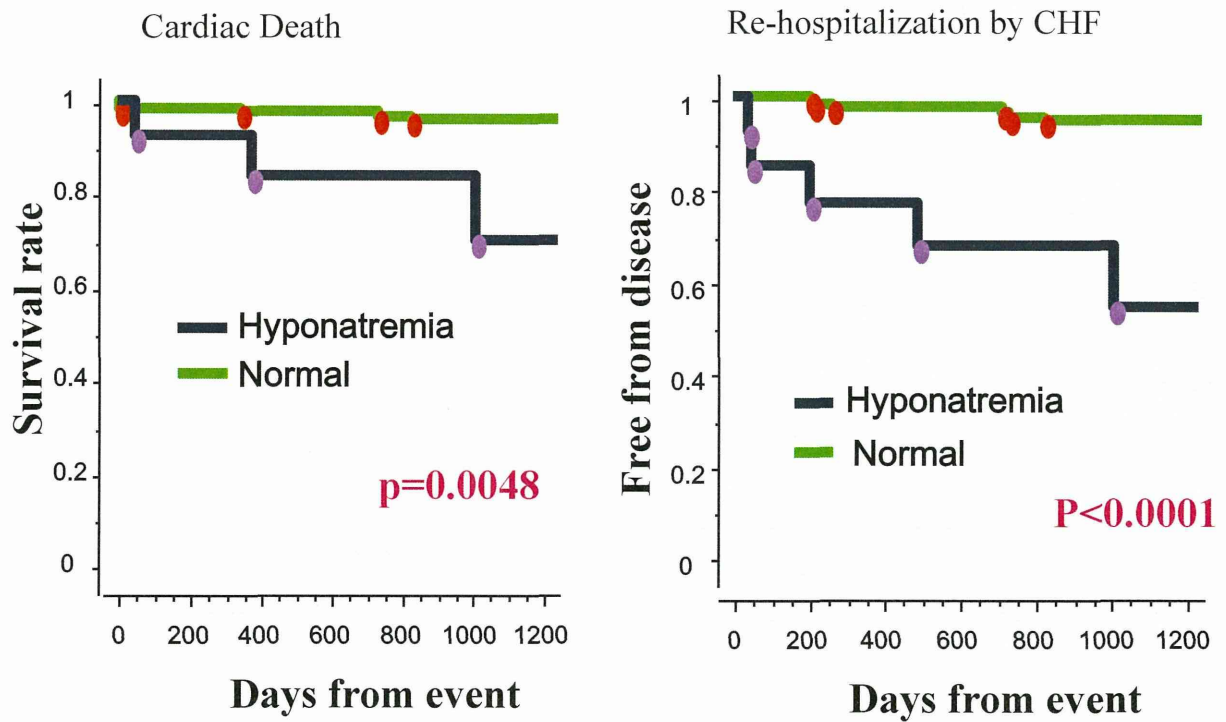


表1. 急性心筋梗塞の短期予後

	Normonatremia (n=111)	Hyponatremia (n=29)	P-value
Death	3 (2.7%)	0 (0%)	>0.99
CHF	6 (5.4%)	8 (27.5%)	0.0018
Hospital stay	15.2 (5.7-24.7)	24.6 (3.9-45.3)	0.0008

表2. 急性心筋梗塞における血漿ホルモン濃度

	Normal (N=55)	Hyponatremia (N=10)	p
AVP	2.6 ± 1.2	4.5 ± 3.1	0.003
PRA	3.6 ± 3.3	3.4 ± 2.8	0.85
PAC	55.9 ± 38.2	59.8 ± 36.7	0.76
BNP	209.0 ± 184.1	254.4 ± 206.1	0.50

AVP = Arginine vasopressin [pg/ml]

PRA = Plasma renin activity [ng/ml/hr]

PAC = Plasma aldosterone concentration [pg/ml]

BNP = Brain natriuretic peptide [pg/ml]

中枢性尿崩症の病因、水バランスの実態、 および渴感障害が生命予後に及ぼす影響の検討

研究分担者 有馬 寛 名古屋大学大学院医学系研究科糖尿病・内分泌内科学

A. 研究目的

中枢性尿崩症は視床下部一下垂体系に器質的な異常を認めない特発性中枢性尿崩症、視床下部一下垂体系に器質的な異常を認める続発性中枢性尿崩症、および主として常染色体優性遺伝形式を示す家族性中枢性尿崩症に分類される。また、中枢性尿崩症は口渇、多飲、多尿を主症候とするが、渴感が障害された場合には口渇による飲水行動が惹起されないため、しばしば著明な脱水になる。また中枢性尿崩症の治療としてはバゾプレシンアナログであるデスモプレシンが用いられるが、治療に際しては低ナトリウム血症がしばしば臨床的に問題になる。本研究では中枢性尿崩症の病因、水バランスの実態を明らかにするとともに、渴感障害が中枢性尿崩症患者の生命予後に及ぼす影響を明らかにする目的で以下の検討を行った。

B. 研究方法

1. 対象者の選択基準

2013年3月に名古屋大学医学部附属病院、名古屋第一赤十字病院、国立病院機構名古屋医療センターにおいて電子カルテを用いてデスモプレシンの処方歴から中枢性尿崩症患者170名(名古屋大学医学部附属病院で123人、名古屋第一赤十字病院で25人、国立病院機構名古屋医療センターで22人)を抽出し、本研究の調査対象とした。

2. 調査項目

性別、中枢性尿崩症発症時の年齢、調査時の年齢、follow-up期間、デスモプレシン製剤の種類、デスモプレシンの投与回数および投与量、下垂体前葉機能障害の有無、渴感障害の有無、感染症による入院歴の有無、follow-up期間中の死亡の有無。

3. 実施に際しての倫理的配慮について

本研究は後ろ向き研究でありインフォームド・コンセントは取得しなかったが、今回の調査に関する問い合わせ先と、患者からの希望があればその方の診療録は研究に利用しないようことを記した文書をインターネットで公開した。また、個人保護のために連結可能匿名化を行い、連結表は名古屋大学医学部糖尿病・内分泌内科研究室の鍵のかかる机の引き出しに保管した。

C. 研究結果

1. 対象患者の年齢

中枢性尿崩症発症時の年齢は0歳から82歳、調査時の年齢は1歳から86歳まで幅広く分布していた(図1)。

2. 中枢性尿崩症の病因

病因の判定が不可能であった5名を除いた165名を対象とした結果、特発性中枢性尿崩症が13%、続発性中枢性尿崩症が87%であった(図2)。続発性中枢性尿崩症のなかでは胚細胞腫瘍が最も多く(23%)、頭蓋咽頭

腫(19%)、手術後(13%)、炎症(9%)、癌転移(6%)、ラトケ嚢胞(4%)がそれに続いた(図2)。

3. デスモプレシン製剤の内訳、投与回数および投与量

対象患者のうち、78%がスプレー製剤を、また22%が点鼻液を使用していた。デスモプレシンの一日投与回数は2回が最も多く、1回、3回がそれに続いた(図3)。デスモプレシンの一日投与量は5 µgが最も多く、2.5 µg, 10 µg, 7.5 µgがそれに続いた(図3)。また、一日の最少投与量は1 µg、最大投与量は30 µgであった(図3)。

4. 低ナトリウム血症および高ナトリウム血症

follow-up期間は1-132ヶ月、中央値は45ヶ月であった。この間に一度でも135 mEq/l未満の低ナトリウム血症を経験した患者は52%、130 mEq/l未満の低ナトリウム血症を経験した患者は32%であった(図4)。一方、146 mEq/l以上の高ナトリウム血症を経験した患者は48%、150 mEq/l以上の高ナトリウム血症を経験した患者は25%であった(図5)。

5. 渴感障害が中枢性尿崩症の予後に与える影響の解析

癌の転移など、原疾患により死亡した患者や中枢性尿崩症の発症時期が明らかでない対象者を除く149名を渴感障害の有無により分類した結果、渴感正常群は126名、渴感障害群は23名であった。なお、渴感障害は血清ナトリウム濃度が150 mEq/l以上であっても渴感の訴えがない場合と定義した。

渴感正常群と渴感障害群の間で中枢性尿崩症の発症年齢、性別に明らかな差を認めなかったが、前葉機能低下の合併に関しては渴

感正常群が63%であったのに対し、渴感障害群は87%と高率であった(図6)。

血清ナトリウム濃度の測定回数は渴感正常群で3527回、渴感障害群で2130回であった。このうち、130 mEq/l未満の低ナトリウム血症は両群とも4%であったが、150 mEq/l以上の高ナトリウム血症に関しては渴感正常軍群で1%であったのに対し、渴感障害群では25%であった(図7)。

Follow-up期間に感染症により入院した患者は渴感正常群で7%であったのに対し、渴感障害群では43%であり、その差は統計的にも有意であった(図8)。また、follow-up期間に6名の患者が死亡し、そのうち4名が渴感障害群、2名が渴感正常群であった(図9)。死亡した渴感障害を伴う4名の患者のうち、3名の死因が感染症であった(図9)。

渴感障害が生命予後に及ぼす影響を統計的に解析した結果、渴感障害の合併は中枢性尿崩症の生命予後を有意に悪化させることが明らかとなった(図10)。

D. 考察

中枢性尿崩症は稀な疾患であるために、これまでに報告された調査研究の対象患者数はほとんどが100名未満であり、生命予後に関する検討を行うことは困難であった。今回、電子カルテが導入されている名古屋大学医学部附属病院、名古屋第一赤十字病院、国立病院機構名古屋医療センターの3施設においてデスモプレシンの処方歴から中枢性尿崩症患者をスクリーニングした結果、170名の中枢性尿崩症患者を対象とする調査研究を施行することができ、生命予後の解析が可能となった。また、これまでの中枢性尿崩症の調査では小児を対象としたものが大半であったが、今回の調査対象者は小児から高齢者まで幅広