

201324012A

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

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 柳 瀬 敏 彦

平成 26 年 3 月

# 目 次

I. 序文	1
II. 研究班構成員名簿	5
III. 総括研究報告書	9
研究代表者	
福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科	
	柳瀬 敏彦
IV. 分担研究報告書	31
(1) 疫学・診断基準	33
1. 副腎偶発腫長期予後調査-平成 25 年度報告-	35
東邦大学医学部内科学糖尿病・代謝・内分泌分野	
	上芝 元
2. 本邦における 21 水酸化酵素欠損症の追加予後調査	42
旭川医科大学小児科	
	棚橋 祐典
3. 本邦における 21 水酸化酵素欠損症の治療の現状	47
北海道大学大学院医学研究科小児科学分野	
	田島 敏広
4. 副腎性サブクリニカルクッシング症候群診断基準（私案）作成	49
福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科	
	柳瀬 敏彦
(2) 先天性副腎酵素異常症の生化学的・遺伝学的診断システムの確立	59
5. 尿ステロイドプロフィールによる正期産新生児古典型 3 $\beta$ -水酸化ステロイド脱水素酵素欠損症の診断指標	61
慶應義塾大学医学部小児科	
	長谷川奉延



6. MC2R 遺伝子異常による先天性 ACTH 不応症 3 例の検討	66
国立成育医療研究センター研究所 分子内分泌研究部	
	勝又 規行
<b>(3) 副腎ステロイド産生機構の基礎研究</b>	<b>73</b>
7. 副腎皮質の発生初期過程に関する研究	75
九州大学大学院医学研究院性差生物学 (分子生物学) 分野	
	諸橋憲一郎
8. ステロイド産生細胞分化・再生に関する研究	78
福井大学 医学部 分子生体情報学領域	
	宮本 薫
9. 副腎皮質細胞における melanocortin 2 receptor accessory protein (MRAP) 遺伝子の発現は転写因子 AP1 により制御される	83
高知大学臨床医学部門、同医学部内分泌代謝・腎臓内科	
	岩崎 泰正
10. アルドステロン過剰産生を伴うクッシング症候群の CYP11B1 及び B2 遺伝子のエピジェネティクス	89
金沢大学大学院医薬保健学総合研究科臓器機能制御学(内分泌代謝内科)	
	武田 仁勇
11. Purkinje cell protein 4 (PCP4)のヒト副腎組織での発現と、アルドステロン産生調節への関与	93
東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野	
	笹野 公伸
<b>(4) ステロイド産生細胞による細胞療法に関する研究</b>	<b>99</b>
12. SF-1/Ad4BP 誘導性ステロイド産生細胞の副腎不全マウスへの移植効果について	101
福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科	
	柳瀬 敏彦

(5) 原発性アルドステロン症の病態に関する研究	105	
13. small size APA における CYP11B1 および CYP11B2 発現の特徴	107	
東北大学病院 腎・高血圧・内分泌科		佐藤 文俊
14. 片側副腎摘除術による副腎予備能の変化についての検討	110	
京都大学大学院医学研究科 糖尿病・内分泌・栄養内科		曾根 正勝
15. 原発性アルドステロン症術後の腎機能悪化の予知因子	115	
国立病院機構京都医療センター 内分泌代謝内科		成瀬 光栄
(6) 原発性アルドステロン症の成因研究	121	
16. コルチゾールの自律分泌を伴う原発性アルドステロン症における KCNJ5 遺伝子変異についての検討	123	
群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学		山田 正信
17. アルドステロン産生腺腫の KCNJ5、ATPase 遺伝子変異の頻度と心血管合併症及び外科治療の効果	127	
横浜労災病院 内分泌・糖尿病センター		西川 哲男
18. アルドステロン産生腺腫における KCNJ5、ATP1A1 および ATP2B3 体細胞変異と臨床的特徴の検討	131	
大分大学医学部内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学講座		柴田 洋孝
(7) GC 抵抗症の病態理解のための GC 作用機構の研究	137	
19. 骨格筋量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	139	
東京大学医科学研究所附属病院抗体・ワクチンセンター免疫病治療学分野、同アレルギー免疫科		田中 廣壽

(8) その他の副腎腫瘍の成因や病態に関する研究	145	
20. 副腎性クッシング症候群とサブクリニカルクッシング症候群における原発性アルドステロン症合併頻度と高血圧合併頻度に関する検討	147	西川 哲男
横浜労災病院 内分泌・糖尿病センター		
21. 機能性副腎腫瘍患者における非侵襲的血管機能評価	151	高柳 涼一
九州大学大学院医学研究院病態制御内科学		
22. 「悪性褐色細胞腫に対する CVD 療法の有用性の検討」	160	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		
V. 会議記録	165	
VI. 研究成果の刊行に関する一覧表	187	

# I. 序 文

## 序 文

本研究班は副腎ホルモン産生・作用異常症の実態を把握し、病因・病態の解明に努め、より適切な診断・治療法を国民に提示することを目標としています。原発性アルドステロン症(PA)、副腎低形成（アジソン病）、副腎酵素欠損症、グルココルチコイド(GC)抵抗症、偽性低アルドステロン症が重点疾患として指定されていますが、全国疫学調査の結果、稀少性故に臨床研究が極めて困難な疾患群もあり、本分野全体が抱える問題点やニーズも勘案して、総合的に研究を推進しています。

平成25年度には、平成11-15年当時、当班で集積された副腎偶発腫瘍3,678症例の10年後予後調査を施行しました。平成25年度段階では、いまだ、調査票の回収率が不十分であったため、中間解析とさせていただきます。次年度以降の調査延長、最終解析を計画しております。また、各方面からご要望のあるサブクリニカルクッシング症候群の診断基準の改定に向けて、施設研究としての私案も発表しています。今後、本素案に基づき、改訂に向けた議論を深めていきたいと思っております。また、関連学会と厚労省の研究班が、一体となった診療指針の作成が求められていますが、「副腎クリーゼを含む副腎皮質機能低下症の診断と治療に関する指針（第一案）」を作成しました。現在、日本内分泌学会、日本小児内分泌学会のHPを通じて、広く外部意見をお聞きしているところです。その他にも、本研究班では、基礎、臨床研究の両面で、この分野の新しい医療の発展、展開に繋がるような新知見が、数多く明らかにされています。ご一読の上、ご意見等、賜れば幸いに存じます。

平成25年度には、前年度に引き続き、副腎疾患に関する市民公開講座を東京にて開催させていただき、患者会の皆様とも継続的な交流を行いました。継続して患者様の声を聴取し、反映できる研究体制の構築に取り組んでまいりたいと思っております。

最後に、本研究班の研究目標の達成に向けてご尽力いただいた研究分担者の皆様、また、大変、ご多忙の中、全国疫学研究の重要性を認識していただき疫学調査にご協力いただいた全国の先生方に心から深謝申し上げます。また、種々、ご指導いただきました厚生労働省並びに国立保健医療科学院の関係者の皆様にも深謝いたします。

平成26年3月

「副腎ホルモン産生異常に関する調査研究」班  
研究代表者 柳瀬 敏彦

## II. 研究班構成員名簿



## 副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	柳瀬 敏彦	福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科	教授
研究分担者	諸橋憲一郎	九州大学大学院医学研究院分子生命科学性差生物学	主幹教授
	宮本 薫	福井大学医学部分子生体情報学	教授
	田中 廣壽	東京大学医科学研究所附属病院アレルギー免疫科	教授
	高柳 涼一	九州大学大学院医学研究院病態制御内科	教授
	成瀬 光栄	独立行政法人国立病院機構京都医療センター 臨床研究センター 内分泌代謝高血圧研究部	副センター長、部長
	長谷川 奉延	慶應義塾大学医学部小児科	教授
	田島 敏広	北海道大学大学院医学研究科小児科学	講師
	勝又 規行	独立行政法人国立成育医療研究センター研究所 分子内分泌研究部基礎内分泌研究室	室長
	棚橋 祐典	旭川医科大学小児科学	助教
	西川 哲男	独立焼成法人労働者健康福祉機構横浜労災病院 内分泌糖尿病センター	院長
	柴田 洋孝	大分大学医学部・内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学	教授
	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	准教授
	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
	佐藤 文俊	東北大学病院腎高血圧内分泌科	講師
	岩崎 泰正	高知大学教育研究部医療学系臨床医学部門 高知大学保健管理センター	教授
	笹野 公伸	東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野	教授
	上芝 元	東邦大学医学部内科学糖尿病代謝内分泌科	准教授
山田 正信	群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学	教授	
方波見卓行	聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院代謝・内分泌科	准教授・部長	
三宅 吉博	福岡大学医学部衛生・公衆衛生学	准教授	
事務局		〒814-0180 福岡市城南区七隈7-45-1 福岡大学医学部内分泌・糖尿病内科（三小田玲子） TEL 092-801-1011（内3645） FAX 092-865-5163 e-mail reikos@fukuoka-u.ac.jp	
経理事務担当者		〒814-0180 福岡市城南区七隈8-19-1 福岡大学研究推進部研究推進課（三村正彦） TEL 092-871-6631（内2824） FAX 092-866-2308 e-mail suisin@adm.fukuoka-u.ac.jp	

### Ⅲ. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）

平成25年度 総括研究報告書

## 副腎ホルモン産生異常に関する調査研究

主任研究者 柳瀬 敏彦

福岡大学医学部 内分泌・糖尿病内科教授

### 研究要旨

#### 分担研究者

諸橋憲一郎	九州大学大学院医学研究院分子生命科学教授
宮本 薫	福井大学医学部分子生体情報教授
高柳 涼一	九州大学大学院医学研究院病態制御内科教授
西川 哲男	横浜労災病院院長
成瀬 光栄	京都医療センター臨床研究センター部長
笹野 公伸	東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野教授
岩崎 泰正	高知大学保健管理センター教授
田中 廣壽	東京大学医科学研究所先端医療研究センター准教授
武田 仁勇	金沢大学大学院医薬保健総合研究科臓器機能制御学准教授
長谷川奉延	慶應義塾大学医学部小児科准教授
上芝 元	東邦大学医学部内科学糖尿病・代謝・内分泌科准教授
山田 正信	群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学教授
方波見卓行	聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院代謝・内分泌科准教授
勝又 規行	国立成育医療研究センター研究所室長
田島 敏広	北海道大学大学院医学研究科小児科学講師
佐藤 文俊	東北大学病院腎・高血圧内分泌科講師
柴田 洋孝	大分大学医学部内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学教授
棚橋 祐典	旭川医科大学小児科学助教
曾根 正勝	京都大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌・栄養内科講師
三宅 吉博	福岡大学医学部衛生・公衆衛生学准教授

#### A. 研究目的

副腎ホルモン産生・作用異常症の実態を把握し、病因・病態の解明に努め、より適切な診断・治療法を国民に提示することを目的とする。我が国で欠落している疾患予後調査を当班研究の柱に据え、以下の臨床、基礎研究を推進した。

- 1) 全国疫学調査：21-水酸化酵素欠損症（21OHD）の予後に関する全国調査、並びに副腎偶発腫の長期（10年）予後の全国調査のを計画・施行・解析

- 2) 診断システムの確立を含む先天性ステロイド産生異常症に関する研究
- 3) サブクリニカルクッシング症候群(SCS)の診断基準改定のための臨床研究
- 4) 原発性アルドステロン症(PA)の研究
- 5) その他の副腎腫瘍の病態に関する研究
- 6) ステロイド合成・作用機構に関する研究
- 7) ステロイド産生細胞再生研究

## B. 研究方法、C研究結果及びD考察

### 1) 全国疫学調査

(1) 副腎偶発腫の10年後予後調査（中間解析）：H11-15年当時、当班で集積された副腎偶発腫瘍3,678症例（副腎癌50例、非機能性腺腫1868例、コルチゾール産生腺腫386例含む）の10年後、長期予後調査を計画、アンケート形式の調査票を送付し、回収できた分に関して、H25年度に中間解析を行った。今回の追跡調査の結果、1841例（回収率50.1%）の報告を受けた。男性942例、女性873例、未報告26例であった。平均年齢 $58.1 \pm 13.0$ 歳で、病型別では非機能性腺腫53.7%と半数以上を占め、SCSを含むコルチゾール産生腺腫11.9%、褐色細胞腫7.8%、アルドステロン産生腺腫5.0%の順で前回調査と同様であった。副腎腺腫全体では71.6%に達し、副腎癌は1.5%であった。転帰の報告を受けたのは1276例で、継続25.4%、転院9.6%、追跡不可58.6%、死亡6.3%であった。死亡として報告された81例のうち、死因の報告があった76例の内訳は心血管障害15.8%、脳血管障害9.2%、副腎癌以外の癌46.1%、その他28.9%で、死因の1/4は心・脳血管障害であった。より詳細な予後解析には症例数が足りず、延長解析とした（上芝、三宅、柳瀬）。

(2) 21-水酸化酵素欠損症（21OHD）の予後に関する全国調査：21OHDの長期的な治療予後は不明である。また、女兒の外性器異常の予防として、出生前診断および母体へのデキサメサゾン（Dex）投与による出生前治療の有効性が報告されているが、胎児期のGC曝露が出生後に与える長期予後も不明である。そこで、2003年-07年の全国疫学調査の二次調査で回答が得られた633例の21OHDを対象として、21OHDの予後に関する全国調査：高血圧、耐糖能異常、インスリン抵抗性、骨粗鬆症、不妊原因の副腎遺残腫瘍の調査のため、また出生前診断が行われた21OHDの追加予後調査に関する調査票が作成された（棚橋）。2003-07年の全国疫学調査の21-水酸化酵素欠損症を対象としたサブ解析としての予後調査では成人身長が報告され、GC補充に伴う本症患者における低身長が、男女とも初めて明らかとなった。幼小児期の過剰なGC補充療法の弊害を啓蒙する重要な知見となり、現在、このことを踏まえた副腎不全症の治療指針原案が内科、小児科合同で作成されている。同様に、今回の研究計画が、本症の治療指針作成や改訂に有益な知見をもたらす期待される。

### 2) 診断システムの確立を含む先天性ステロイド産生異常症に関する研究

先天性副腎過形成、先天性副腎低形成等の先天性疾患の成因、病態研究、診断システムの確立をめざした。



(1) 尿ステロイド代謝物による先天性副腎疾患の診断法の開発：新生児期の種々のステロイド産生異常症を尿ステロイド代謝物あるいは代謝物比により診断する方法の確立を試みた。 $3\beta$ HSDD の診断指標候補は $\Delta 5$  ステロイド代謝物であったが、 $\Delta 5$  代謝物による診断では、胎生皮質由来 $\Delta 5$  が著明に増加する21OHD との鑑別が困難であった。 $\Delta 5/\Delta 4$  代謝物比の比は、 $3\beta$ HSDD の永久皮質の $\Delta 5$  と $\Delta 4$  ステロイド比の増加を検出しにくい指標と結論した(長谷川)。

(2) 先天性副腎疾患の遺伝子解析：3例の先天性ACTH不応症のMC2R遺伝子解析で、1例は複合ヘテロ性変異、2例でホモ接合性変異(1例は新規)が同定された。MC2R変異による先天性ACTH不応症は、出生直後から低血糖症状を示すこと、電解質は正常でもPRAが軽度高値となることが明らかになった(勝又)。本班では難病、稀少疾患である先天性の副腎ステロイド産生異常症の病態、成因解明に努めており、本班で種々の遺伝子異常が明らかにされている。現在、これらの稀少難病疾患の遺伝子検査等は一般病院では困難であり、確定診断に至らない症例も多いと思われる。なお、当班で取り扱っている各種副腎疾患のうち、先天性副腎疾患に関する診断基準、生化学的・遺伝子学的診断システム(検査の可能施設を公表)はHP (<http://www.pediatric-world.com/fukujin/>) に公開しており、医療レベルの均一化と向上に努めている。

(3) 21-OHDの治療指針改訂のための調査研究：治療指針の改訂に向けて、小児内分泌学会評議員156名を対象に、21OHD の初期ならびに維持GC療法に関するアンケート調査を施行した。初期治療の回答は、40人(回収率25.6%)、維持療法の回答は31人(回収率19.8%)であった。新生児の初期治療に関して、塩喪失症状なしの場合のHCの投与量は、治療指針の通り $100\sim 200\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ が20/40人と半数を占めたが、 $50\sim 100\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ が13人、 $20\sim 50\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ が6人と少量から開始する施設も半数あった。維持療法の幼児期のHC量は、治療指針通りの $15\sim 30\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ は16/31人と半数を占めたが、海外の推奨量 $10\sim 15\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$ も10人みられた。一般に不要とされる精神的ストレス時の増量も見受けられた。以上の結果から、先天性副腎過形成症の治療の標準化の必要性を提唱した(田島)。

### 3) 副腎性サブクリニカルクッシング症候群(SCS)に関する研究(柳瀬、高柳)

(1) SCS診断基準改定案の提案：福大と九大の副腎腫瘍119例〔従来の診断基準下で非機能性95例、SCS24例〕を対象に、SCSの診断基準案の作成を試みた。低濃度域の血中コルチゾール(F)値のキット間測定誤差による診断上の混乱を回避する手段として、1mgDSTにおける血中F値のカットオフ値を現行の $3.0\mu\text{g}/\text{dl}$ から米国内分泌学会提唱の $1.8\mu\text{g}/\text{dl}$ に引き下げて検討した。現在のSCS診断基準項目の中で1)ACTH基礎値 $10\text{pg}/\text{ml}$ 未満 2)日内リズムの消失(夜間コルチゾール(F)値 $5.0\mu\text{g}/\text{dl}$ 以上) 3)ACTH分泌刺激試験(CRH負荷)の低反応の3項目に関して、1mg DST  $1.8\mu\text{g}/\text{dl}$ 未満で上記1), 2)を満たす症例は一例も認めなかったことから、上記3項目はSCSの鑑別条件として有用と判断した。1mgDST F値 $1.8\mu\text{g}/\text{dl}$ 以上を必須項目として1)と3)あるいは2)と3)を満たせばSCSとする案を作成した。高血圧、耐糖能異常、

高コレステロール血症の頻度との関連性を検討した結果、耐糖能異常を高率に検出した。統計学的にも1mg DST後の血中F値は単変量、多変量解析の何れにおいても耐糖能異常と有意の関連性を示し、本診断基準案の適用による耐糖能異常の検出において、感度86%、特異度73%、正確性78%と適切な統計学的数値を示した。現行の1mgDSTのカットオフ値を引き下げても、他条件の設定により臨床的に意味のあるSCSを診断することは可能と考えられた(柳瀬、高柳)。今後、日本内分泌学会とも連動した上、今後、本案を素材に、より議論を深めて改訂案をまとめる予定である。

#### 4) 原発性アルドステロン症(PA)研究

- (1) アルドステロン産生微小腺腫の病態解明：CTで責任病変を描出し得ず、副腎静脈サンプリング(AVS)により局在診断したアルドステロン産生微小腺腫(small size APA)の病態解明のため、40名のAPAの腫瘍サイズとステロイド合成酵素の関係について免疫組織化学的検討を行った。40例のPA中、CTで腫瘍結節を描出し得なかったものは20例であり、腫瘍を指摘し得たものは20例であった。切除標本上での最大腫瘍面積と術前のPACおよび1日尿中アルドステロン排泄量、CYP11B1のH-scoreと正相関する一方、CYP11B2とは逆相関をそれぞれ有意に認めた。CTで描出し得ない微小なAPAでも手術加療により良好な臨床成績を得られた。微小なAPAでも相対的にCYP11B2活性が高く、加療対象となる十分なアルドステロン合成能を備えていることが示唆された(佐藤)。
- (2) PAにおける先端的診療：超選択的副腎静脈サンプリング(SSAVS)による両側腫瘍性病変と過形成の鑑別に基づき施行する正常副腎温存両側副腎手術の成否を検討した。PA299例中29例(21.6%)が術前CTで病変を指摘し得なかったmAPA、5例(3.7%)が両側APAと診断。両側APA 5例中4例は1期的両側副腎手術、1例は2期的手術を施行した。5例中3例は術後に全ての降圧薬を中止、正常血圧を維持している。SSAVSによる両側腫瘍性病変と過形成の鑑別に基づいて施行する正常副腎温存両側副腎手術により、両側APAの病態は治癒可能と考えられた(佐藤)。現在、片側性病変のPAに対しては、片側副腎全摘術が一般的であるが、SSAVSを施行し、分枝レベルでのAPA局在診断が得られた場合は、正常副腎を温存した腫瘍摘出術が可能であることが、分担研究者の佐藤(本報告)、西川により報告されている。現在、AVS技術については施設間格差があり、現時点で一般医療化はできないが、今後の治療発展に繋がる技術革新と言える。
- (3) PA術後の副腎機能、腎機能評価・片側副腎摘除術後の副腎予備能変化：片側副腎摘除は副腎機能に影響しないとされるが、エビデンスはない。APA患者の片側副腎摘除術前後の副腎皮質機能の変化について評価。PA14名において、術前後のコルチゾール・ACTHの基礎値とACTH刺激試験での副腎予備能を比較した。全例ともPA術後に明らかな副腎不全症状は示さなかった。術後2週間後において、コルチゾール基礎値は術前に比べ有意変化を認めず、ACTH基礎値は有意な上昇を認め、ACTHの上昇がその代償機構として働いていると考えられた。ACTH刺激試験ではコルチゾールの頂値は術前に比べ全例で低下し、コルチゾール血中濃度-時間曲線下面積(AUC)も有意な低下を認めた。術後1年後の観察でも同様の結果

であった。本研究により、片側副腎摘除術の安全性が示されたが、術後は術前と同等の副腎予備能を保持できないことも判明した。術後の軽度の副腎予備能の低下はストレスへの対応力や高負荷時の身体能力に影響する可能性もある。PAの治療法として片側副腎摘除術か薬物療法かを選択する際に認知しておくべき事と考えられた(曾根)。PA術後の腎機能悪化の予知因子：PAでは循環血漿量の増加で糸球体過剰濾過を伴い、副腎摘出後に腎機能が悪化する事がある。悪化予知因子を検討した。副腎摘出術を施行した一側性病変のPA患者45名を対象に術後1ヶ月の $eGFR < 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$ を術後腎機能悪化とし、術前の関与因子を解析した。88.9% (40/45名) で術後に $eGFR$ が低下し、37.8% (17/45名) で術後腎機能悪化( $eGFR < 60$ )を認めた。ロジスティック回帰分析により、術前 $eGFR$  ( $p < 0.0001$ )、年齢 ( $p = 0.008$ )、服用降圧薬数 ( $p = 0.0027$ )、ARR ( $p = 0.0351$ ) が術後腎機能悪化と有意な関連を示した。術前 $eGFR$ で調整するとARRのみ術後腎機能悪化と有意な関連性を示し、ROCによるカットオフ値の検討でARR：3050が感度58.8%、特異度82.1%であった。PA術後は腎機能悪化を認める頻度が高く、 $eGFR$ 、年齢、降圧薬数、ARRが予知因子になりうる。術前に患者への十分な説明と共に、ARR高値例では器質的な腎機能障害の進行予防のため早期診断、治療が望まれる(成瀬)。

(4) PAにおけるKCNJ5、ATPaseの体細胞変異の意義に関する研究：近年、アルドステロン産生副腎腺腫 (APA) の病因としてKCNJ5、ATP1A1、ATP2B3遺伝子などの体細胞変異が報告されているが、本邦における陽性率や臨床所見との関連性は不明である。APA摘出術を受けた患者を対象に、組織体細胞変異と種々の臨床指標との関連を検討した。各施設の多数例のAPA解析の結果、約?%と高率にKCNJ5変異を同定し、変異群ではACTHに対する反応性が非変異群に比して過大との特徴を明らかにした(柴田)。コルチゾール自律分泌を伴うAPAもKCNJ5変異を有した(山田)。APA88例の解析結果では、KCNJ5遺伝子変異をもつAPA (K群) 62例 (70.5%)、ATPase遺伝子変異をもつAPA (A群) 3例 (3.4%)、変異のないAPA (W群) 23例 (26.1%)であった。K群はW群に比し年齢が若く高血圧罹病期間が短く、PACが高かったが、左室心筋重量係数はK群とW群は同程度の心肥大が認められた。術後両群の血圧の改善度は同等であった。PAは心血管合併症が多く、早期治療が望まれる(西川)。KCNJ5変異陽性例では、陰性例と比べて、血清K値の低値、PACの高値、経口食塩負荷24時間尿中アルドステロン排泄量の高値、24時間尿中18OHF値の高値を認めた。KCNJ5変異陽性のAPAは腺腫内CYP11B2とCYP11B1の高発現を認め、24時間尿中18-OHFと変異の関連が示唆された(柴田)

#### 5) その他の副腎腫瘍の病態に関する研究

(1) 各種機能性副腎腫瘍における非侵襲的血管機能評価：PA、クッシング症候群 (CS)、褐色細胞腫の心血管病リスクを非侵襲的機能検査で評価した。：PA、SCS、褐色細胞腫などの副腎腫瘍を有する患者は、高血圧、糖尿病、脂質異常症などの心血管病リスクを合併する。頸動脈のIMT (内膜中膜複合体厚) とプラーク、PWV、CAVI (動脈の硬さの評価)、ABI、NICaS (末梢血管抵抗や心拍出量の評価) 等で、機能性副腎腫瘍患者の血管機能を評価。IMTの肥厚およびプラーク数増加は、褐色細胞腫群にて最も顕著であった。CAVIでは、PA

群が他の3群と比較して低値であった。PA群の中で、SCSを合併群と非合併群を比較すると、合併群ではIMTが低くCAVIは高値であった。NICaSは、褐色細胞腫患者において、簡便かつ非侵襲的に心拍出量を評価可能で、循環血漿量とよく相関していた（高柳）。

(2) 副腎性クッシング症候群（CS）におけるPA合併頻度：CS、SCSにおけるPA合併頻度と高血圧成因としての合併PAの関与の可能性を検討した。高血圧合併SCS31例中30例でPAを合併し、PAと高血圧合併に関連を認めた。APA合併SCS14例で手術が行われ、PA切除の8例で高血圧は治癒し、コルチゾール産生腺腫（CPA）を切除しPAを残した6例中5例で高血圧が残存した。SCSでのCPAの外科的切除は、耐糖能異常より高血圧の改善効果に優れるとされる。今回の検討でSCSの86%でPAを合併し、SCSの高血圧は合併するPAに依存した。SCS症例で高血圧治癒を目的に手術を行う場合は、A過剰分泌の除去手術を行うべきと考えられた（西川）。

## 6) ステロイド合成・作用機構の研究

(1) GC誘発性筋萎縮の機序解明：GC誘発性筋萎縮の機序として、REDD1とKLF15遺伝子産物によるmTOR活性抑制とユビキチンリガーゼ遺伝子（atrogin-1、MuRF1）発現亢進作用、すなわちGCによる骨格筋同化抑制と異化作用を前年度までに明らかにしていた（Cell Metab 13,170,2011）。本年は骨格筋特異的GRKOマウスを解析し、骨格筋量の増加と脂肪萎縮を認め、生理的レベルのGC-GR系が骨格筋異化とエネルギー代謝に関与していることを解明した（田中）。ステロイド作用機構の研究に端を発し、糖質コルチコイド誘発性筋萎縮の詳細な機序が明らかとなり、現在、治療をめざした自主臨床研究（mTOR活性刺激のために分子鎖アミノ酸投与）へと発展している。

(2) Ad4BP/SF-1（SF-1）の新規標的遺伝子の同定とその機能解析：ChIP-sequence法によりステロイド産生細胞におけるSF-1の標的遺伝子を同定（諸橋）、あるいは間葉系幹細胞からステロイド産生細胞への分化誘導系におけるChIP-on-chip assayおよびマイクロアレイによる網羅的発現解析により新たなSF-1標的遺伝子同定し、その機能を解析した（宮本）。SF-1標的遺伝子としてステロイド産生系に加え、解糖系とコレステロール合成系並びにNADPH産生系の遺伝子群が同定された。siRNAによるSF-1の発現阻害では、上記の代謝系を構築する遺伝子発現が低下した。SF-1は解糖系とNADPH産生系の制御を通じATPとNADPH産生を調節しコレステロールからステロイド産生過程の全体を統括していることを示唆する。以上の結果は、SF-1が副腎、性腺の増殖、形成に必須である理由を説明する可能性がある（諸橋）。別の新規SF-1標的遺伝子として同定されたglutathione S-transferase（GST）familyのうち、GSTA1とGSTA3の転写調節機構の解析を行い、GST family遺伝子はSF-1のHinge領域を介してクロマチン構造の変化をきたし、転写制御されていることを明らかにした（宮本）。

(3) CYP11B2とACTH受容体関連蛋白Mrapの発現調節機構の解明：副腎皮質のACTH受容体であるMC2Rが機能発揮には、受容体関連蛋白Mrap（melanocortin 2receptor accessory protein; Mrap）の存在が必須である。CYP11B2ともどもその発現調節機構を検討。Mrap2転写はAP1（Fos/Jun）により促進された。AP1はcAMP刺激や炎症刺激で発現が誘導



されることから、ストレスや炎症時のACTH 依存性GC産生にMrapが促進的に作用する可能性がある(岩崎)。

(4) 副腎腫瘍におけるCYP11B1遺伝子のメチル化制御：近年、組織の遺伝子発現にエピジェネティクス制御が重要であることが明らかにされている。DNAメチル化はその制御の主たる機序であり、CpGサイトが関与している。今回、両ホルモン過剰産生を有する副腎腺腫におけるCYP11B2及びコルチゾール産生酵素遺伝子CYP11B1のメチレーション状態について検討した。その結果、6例のクッシング腺腫におけるCYP11B1遺伝子は低メチル化状態を示した。副腎腺腫組織においてアルドステロン過剰産生を示した2例においてCYP11B2は低メチル化状態を示した。ホルモン過剰産生と責任遺伝子の低メチル化に伴う過剰発現との関連性が示唆された(武田)。

(5) ヒト副腎組織における各種蛋白発現に関する研究：CaとCaMの結合促進蛋白のPurkinje Cell Protein 4 (PCP4) のヒト副腎における発現を調べた。PCP4は正常副腎皮質やIHAの球状層およびAPAで強発現していた。APAでのPCP4の発現量はCYP11B2発現量と有意の正相関を認めた。また、APAのうちKCNJ5遺伝子変異症例では、変異無しのAPA症例に比べてPCP4及びCYP11B2の発現量が有意に高かった。PCP4 mRNAはAngII添加により上昇し、PCP4のノックダウンでは、AngIIによるCYP11B2のmRNA発現は有意に減少した。PCP4はヒト副腎組織でアルドステロン産生調節に重要な役割を果たしている(笹野)。

## 7) ステロイド産生細胞再生研究

(1) 間葉系幹細胞由来ステロイド産生細胞再生と移植研究：ステロイド産生細胞再生研究：SF-1はステロイド産生を制御すると同時に、副腎の発生分化にも必須の因子である。：ヒト間葉系幹細胞にSF-1を導入し、ステロイド産生細胞再生副腎再生医療のための基盤研究として、C57BL/6マウス脂肪組織より調整した間葉系幹細胞にヒトSF-1cDNAを含むレンチウイルスベクターまたは空ベクターを感染させ3日間非接着性ディッシュにて培養後、両側副腎摘出マウスの腎皮膜下に細胞移植しマウス生存能を検討した。両側副腎摘出マウスは8日以内に全例死亡するが、SF-1誘導性ステロイド産生細胞移植群は、コントロール細胞移植群の1/9例に比して、44.4% (4/9) が少なくとも30日目まで生存した。移植7日目の血漿Bは、SF-1誘導性ステロイド産生細胞移植群 $2.62 \pm 1.46$ 、コントロール細胞移植群 $0.06 \pm 0.06$ ng/mlであった。移植後30日間生存マウスの左腎摘出で全例が8日以内に死亡した。移植再生副腎細胞から産生されたBにより、副腎不全モデルをレスキューしたと考えられる(柳瀬)。再生医療研究では、iPS細胞からのステロイド産生細胞再生 (Endocrinol 153,4336,2012) も分担研究者の曾根らにより報告されている。副腎臓器再生は実現していないが、今後、細胞レベルでの医療応用を見据えた発展が期待される結果と言える。

(倫理面への配慮) 疫学研究および遺伝子解析研究では各倫理指針を遵守した。必要な場合には、各研究施設において倫理委員会や臨床研究審査会の承認を得て行った。実験動物を用いる研究では各研究施設の指針に則り、動物愛護の精神の下に行った。

## E. 結論

副腎ホルモン産生異常に関する調査研究を様々な観点から行い、多くの成果が得られた。これらは本領域の病態の理解、新たな診断法や治療法の開発に有用と考える。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

学会発表（そのうち主なもの）

### 【柳瀬】

柳瀬敏彦：シンポジウム2「ステロイドホルモン研究Update」座長兼演者 間葉系幹細胞からのステロイド産生細胞再生と副腎不全モデルにおける移植研究の試み 第86回日本内分泌学会学術総会 2013.4.26（仙台）

柳瀬敏彦：クリニカルアワー8「厚生労働省班研究トピックス」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の全国疫学調査（二次調査再解析結果） 第86回日本内分泌学会学術総会 2013.4.26

柳瀬敏彦：教育講演「内分泌疾患と糖尿病」 第56回日本糖尿病学会年次学術総会 2013.5.16-18（熊本）

柳瀬敏彦：副腎偶発腫瘍の鑑別と治療 日本内科学会生涯教育講演会Aセッション（第1回） 2013年5月19日（大阪）

### 【諸橋】

嶋雄一，宮林香奈子，大竹博之，馬場崇，諸橋憲一郎：特別講演 胎仔型ライディッチ細胞の存在意義 第32回日本アンドロロジー学会（7月26-27日 大阪）

### 【宮本】

水谷哲也，宮本 薫：GSTAファミリーのクロマチン構造の変化を介した転写制御とステロイド産生に対する役割。シンポジウム17 卵胞発育・排卵・卵成熟の調節機構の分子メカニズム 第86回日本内分泌学会学術総（2013,4,25-27 仙台市）

### 【田中】

田中廣壽：特別講演 骨格筋研究の新展開 第10回Metabolic Syndrome Forum in Tokyo（2013年7月8日 東京）

田中廣壽：特別講演 ステロイド筋症-基礎と臨床 第5回筋炎ワークショップ（2013年9月14日 東京）

田中廣壽：シンポジウム 生体代謝調節における骨格筋GRの役割 第21回日本ステロイドホルモン学会学術集会（2013年11月16日、豊中市）

## 【高柳】

野村政壽, 野口由布子, 嶋田伸吾, 松田やよい, 足立雅広, 河手久弥, 大中佳三, 高柳涼一: 原発性アルドステロン症患者の手術前後における代謝パラメーターの検討 第56回日本糖尿病学会年次学術集会 (2013年5月16-18日、熊本)

河野倫子, 河手久弥, 足立雅広, 大中佳三, 野村政壽, 高柳涼一: 高齢の副腎性サブクリニカルクッシング症候群患者における合併症の経過. 第55回日本老年医学会学術集会 (2013年6月4-6日、大阪)

松田やよい, 松崎千登勢, 河手久弥, 嶋田伸吾, 永田宙生, 足立雅広, 大中佳三, 野村政壽, 高柳涼一: 原発性アルドステロン症患者の治療前後における動脈硬化指標及び代謝系の経時的評価 第86回日本内分泌学会学術集会 (2013年4月25-27日、仙台)

嶋田伸吾, 松崎千登勢, 松田やよい, 永田宙生, 足立雅広, 河手久弥, 大中佳三, 野村政壽, 高柳涼一: 褐色細胞腫患者の循環血液量評価におけるNICaSの有用性の検討. 第86回日本内分泌学会学術集会 (2013年4月25-27日、仙台)

大中佳三, 河野倫子, 足立雅広, 河手久弥, 野村政壽, 高柳涼一: 高齢者褐色細胞腫の臨床的特徴の検討. 第54回日本老年医学会学術集会 (2013年6月28-30日、東京)

## 【成瀬】

Naruse M, Miyazaki Y, Tanaka T, Shimizu M, Otani S, Hata S, Ogou A, Yonezawa K, Yosida K, Sawamura M, Araki R, Tanabe M, Tsuiki M, Tsumagari A, Nanba K, Suzuki T, Shinbo T and Study PHAS-J2.

Prevalence of primary aldosteronism depends on the means of case detection: prospective multi-center study of National Hospital Organization in Japan(PHAS-J2). ENDO2013(The Endocrine Society's 95th Annual Meeting & Expo)

San Francisco, USA 2013/6/15-6/18

成瀬光栄, 難波多挙, 立木美香, 中尾佳奈子, 津曲綾, 田上哲也: シンポジウム12「原発性アルドステロン症診療ガイドラインの現状と課題」 第86回日本内分泌学会学術総会 (仙台)

成瀬光栄, 宮崎康, 田中剛史, 清水雅俊, 大谷すみれ, 波多史朗, 小河淳, 米澤一也, 吉田和朗, 澤村守夫, 立木美香, PHAS-J2研究班 原発性アルドステロン症のスクリーニング方法が推定疾患頻度に及ぼす影響: 国立病院機構多施設共同臨床研究PHAS-J2 第36回日本高血圧学会総会 (2013/10/24-10/26、大阪)

## 【長谷川】

Koyama Y, Homma K, Fukami M, Miwa M, Ikeda K, Ogata T, Murata M, Hasegawa T. Classic and non-classic 21-hydroxylase deficiency can be discriminated from P450 oxidoreductase deficiency in Japanese infants by urinary steroid metabolites.

9<sup>th</sup> Joint Meeting of Paediatric Endocrinology 2013.9.19-9.22

Homma K, Koyama Y, Takazawa A, Ishii T, Miwa M, Ikeda K, Shimizu N, Shibata A, Wakui M, Murata M, Hasegawa T. Biochemical diagnosis of classic 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency in term newborns using urine metabolites of  $\Delta$ 5 steroids.

9<sup>th</sup> Joint Meeting of Paediatric Endocrinology 2013.9.19-9.22

小山雄平, 本間桂子, 深見真紀, 三輪雅之, 池田一成, 緒方勤, 村田満, 長谷川奉延: 尿ステロイド代謝物による非古典型を含む21水酸化酵素欠損症とP450還元酵素欠損症の生化学的鑑別診断 第47回日本小児内分泌学会学術集会 (2013年10月10日-12日)

本間桂子, 小山雄平, 高澤啓, 鹿島田健一, 林美恵, 石井智弘, 三輪雅之, 池田一成, 清水長子, 柴田綾子, 上村知恵, 涌井昌俊, 村田満, 長谷川奉延: 尿ステロイドプロファイルによる正期産新生児古典型3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase欠損症の診断指標 第47回日本小児内分泌学会学術集会 (2013年10月10日-12日)

古城真秀子, 青山興司, 藤田竜二, 本間桂子, 長谷川奉延, 神農陽子, 山鳥一郎, 久保俊英: 46,XX性分化異常症の原因と考えられる母体DHEA産生副腎腫瘍の一例 第47回日本小児内分泌学会学術集会 (2013年10月10日-12日)

本間桂子, 小山雄平, 三輪雅之, 池田一成, 清水長子, 上村知恵, 柴田綾子, 涌井昌俊, 村田満, 石井智弘, 長谷川奉延: 尿中5 $\alpha$ -reductase欠損症指標の新生児・乳児期変動と在胎週数の関係 第21回日本ステロイドホルモン学会 (2013年11月16日)

安達昌功, 杉山謙二, 室谷浩二, 朝倉由美, 本間桂子, 長谷川奉延: KCNJ5遺伝子G151R変異を認めるも副腎腫大を欠きspironolactoneに反応した家族性高アルドステロン症3型の1例 第21回日本ステロイドホルモン学会 (2013年11月16日)

#### 【田島】

Tajima T, Nakamura A, Ishizu K, Homma K, Hasegawa T. Two novel mutations of the CYP11B2 gene in a Japanese patient with aldosterone deficiency type 1.

The Endocrine Society's 95th Annual Meeting 2013.6.15-18, San Francisco, USA

田島敏広, 石津桂, 中村明枝, 森川俊太郎, 藤倉かおり, 山岸卓弥, 田上泰子, 花井潤師, 宮田淳, 福士勝: LC-MS/MS法によるステロイド分析が発見に有用であった21-水酸化酵素欠損症の1例. 第40回日本マス・スクリーニング学 (2013年8月大阪)

#### 【勝又】

Katsumata N, Mizuno H, Fujiwara I, Ogawa E. Spontaneous Pubertal Presentation in a 46,XX Patient with Cholesterol Side-Chain Cleavage Enzyme Deficiency.

95th Annual Meeting of the Endocrine Society, San Francisco, CA, USA, June 15-18, 2013.

#### 【西川】

T. Nishikawa, M. Omura, J. Saito, Y. Matsuzawa: Are guidelines really working well for generalists and specialists? International Symposium of Aldosterone and Resistances in Hypertension (ISARSH2013), Apr,