

AP1結合配列を認め、その部位への結合が EMSA法で認められた。

C. 考察

副腎皮質球状層のアルドステロン合成がAIIにより刺激された際に、細胞内Ca⁺が上昇することは良く知られている。今回の私どもの検討により、Ca⁺応答性の代表的な転写因子であるNFATが、CYP11B2遺伝子転写に関与している可能性が強く示唆された。一方、CYP11B1, コルチゾール合成を制御するACTHシグナルを仲介するMC2R受容体が機能するにはMRAPの存在が必須であること、またMC2Rは持続的なACTH刺激下でも脱感作を受けにくいことが示されている。今回の成績より、ACTH/MC2Rを介して発現が誘導されたFos/Jun (AP1) がMRAP発現を介してMC2Rの持続的な機能維持に寄与している機序の存在が推察される。またAP1は炎症刺激でも誘導されることから、炎症時におけるコルチゾール産生にAP1/MRAP系が関与している可能性もある。

正常および腫瘍性副腎組織における Metabotropic Glutamate Receptors type 3(mGLUR3) およびPurkinje Cell Protein 4(PCP4)発現の検討

分担研究者	笹野 公伸	東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野
	中村 保宏	東北大学大学院医学系研究科総合地域医療研修センター
	Saulo J.A. Felizola	東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野
	伊勢 和恵	東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野
	佐藤 文俊	東北大学病院腎・高血圧・内分泌科

【研究要旨】

〔目的〕最近、従来神経組織での発現と機能が知られているMetabotropic Glutamate Receptors type 3 (GRM3)及びPurkinje Cell Protein 4(PCP4)のアルドステロン産生性副腎皮質腺腫(APA)でのmRNA発現が報告された。今回、我々は正常副腎皮質、副腎皮質腫瘍での両者の発現パターンや機能的役割を検討した。

〔対象と方法〕東北大学病院にて手術で切除された正常副腎および副腎腫瘍組織を対象とした。免疫組織化学的検索で解析を行った。またH295R細胞を用いたin vitroの実験で、その機能的役割を検討した。

〔結果〕免疫組織化学的検討では、両者はアルドステロン産生細胞に強く発現していた。In vitroでの検討では、GRM3はアルドステロン産生抑制に、PCP4はアルドステロン産生促進に作用していることが証明された。

〔考察〕以上の結果から、両者は正常副腎皮質、副腎皮質腫瘍に発現し、副腎組織でのアルドステロン産生調節に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、G-protein-coupled receptors(GPCR)に所属し代謝型グルタミン酸受容体の1つであるglutamate metabotropic receptor 3(GRM3)の異所性発現がアルドステロン産生性副腎腺腫(APA)で報告された。また、APAでのアルドステロン過剰産生には、細胞内カルシウムシグナルが重要であることが知られている。Purkinje Cell Protein 4(PCP4)は、カルモジュリン(CaM)とカルシウムの結合・解離を促進する蛋白質である。PCP4は小脳プルキンエ細胞に発現し、同

細胞内カルシウムシグナルを調節してその神経伝達に重要な働きをしていることが知られている。近年、APAでPCP4発現が報告された。しかし、これまでGRM3とPCP4の正常副腎皮質および副腎腫瘍組織での両者の発現パターンの詳細、およびその機能的役割については十分解明されてはいない。本研究では、GRM3とPCP4の副腎組織での発現状況及びin vitroでの機能的意義を検討することで、両者の副腎組織での生理的、病理的機能への関与を解明することを目的とした。

B. 研究方法

- 1) 東北大学病院にて腎癌などで合併切除された正常副腎(NA)、切除されたAPA、特発性アルドステロン症(IHA)、コルチゾール産生性副腎腺腫(CPA)を対象とし、GRM3及びPCP4蛋白の発現について免疫組織化学的検討を行った。
- 2) 副腎皮質癌由来培養細胞株H295R細胞にangiotensin-II(AngII)やforskolin(FSK)を添加し、さらにGRM3のリガンドであるLY354740の有無で細胞内cAMP濃度や培養液中のステロイドホルモン濃度を24hで測定した。
- 3) PCP4に特異的なsiRNAをH295R細胞にトランスフェクションし、qPCRでCYP11B2mRNA発現量、さらに培養液中のアルドステロン量を測定した。

(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. 研究成果

- 1) 免疫組織化学的検討の結果、GRM3蛋白はNAやIHAでは、球状層(ZG)に特異的に観察された(図1)。腫瘍組織では、APA、CPAで部分的にみられた(図2)。一方、核や細胞質に発現するPCP4蛋白はNAやIHAでは球状層(ZG)での発現度が、束状層(ZF)や網状層(ZR)に比べ有意に高かった(図2)。腫瘍組織間では、APAではCPAに比べPCP4の核及び細胞質発現度が有意に高かった(図3)。
- 2) AngIIやFSK添加による細胞質内cAMP濃度、培養液中アルドステロン・コルチゾール濃度の上昇は、LY354740により

有意に抑制された(図4)。

- 3) 特異的siRNAのトランスフェクションにより、H295R細胞でのPCP4の発現レベルは効果的に抑制された(図5)。この状態でAngIIを添加した場合、AngIIによるCYP11B2のmRNA発現誘導、アルドステロン量産生が有意に減少した(図6)。CYP11B1mRNA発現やコルチゾール産生量には影響はみられなかった。

D. 考察

GRM3やPCP4は主に脳組織に発現し、神経伝達機能に関与していることが知られている。今回の検討では、GRM3やPCP4は、正常副腎組織のみでなく副腎皮質腫瘍組織でも主にアルドステロン産生細胞に発現していることが証明された。また、ヒト副腎細胞ではAngIIなどにより細胞内カルシウムシグナルの刺激が生じ、その結果CYP11B2発現が誘導されてアルドステロン産生が引き起こされる。今回の検討では、GRM3やPCP4は副腎細胞での、アルドステロン産生調節に関与していることも証明された。今後は、アルドステロン産生細胞でのGRM3とPCP4の発現や機能を調節する因子の解明が必要と考えられた。

E. 結論

GRM3及びPCP4はヒト副腎組織に発現し、アルドステロン産生調節に重要な役割を果たしていることが証明された。

○研究発表

●論文発表

1. Suzuki T, Miki Y, Nakamura Y, Ito K, Sasano H.
Steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in human carcinomas.

- Mol Cell Endocrinol, 340(2):148–153, 2011
2. Wang T, Satoh F, Morimoto R, Nakamura Y, Sasano H, Auchus R, Edwards MA, Rainey W. Gene expression profiles in aldosterone-producing adenomas and adjacent adrenal glands. *Eur J Endocrinol*, 164:613–619, 2011
 3. Hayakawa E, Yoshimoto T, Hiraishi K, Kato M, Izumiya H, Sasano H, Hirata Y. A rare Case of ACTH-independent Macronodular Adrenal Hyperplasia Associated with Aldosterone-producing Adenoma. *Intern Med*, 50:227–232, 2011
 4. Ishidoya S, Kaiho Y, Ito A, Morimoto R, Satoh F, Ito S, Ishibashi T, Nakamura Y, Sasano H, Arai Y. Single-center Outcome of Laparoscopic Unilateral Adrenalectomy for Patients With Primary Aldosteronism: Lateralizing Disease Using Results of Adrenal Venous Sampling. *Urology*, 78(1):68–73, 2011
 5. Akishima-Fukasawa Y, Yoshihara A, Ishikawa Y, Watanabe N, Hiroi N, Akasaka Y, Sasano H, Ishii T, Yoshino G. Malignant Adrenal Rest Tumor of the Retroperitoneum Producing Adrenocortical Steroids. *Endocr Pathol*, 22(2):112–117, 2011
 6. Yoshida M, Hiroi M, Imai T, Kikumori T, Himeno T, Nakamura Y, Sasano H, Yamada M, Murakami Y, Nakamura S, Oiso Y. A case of ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia associated with multiple endocrine neoplasia type 1. *Endocr J*. 58(4):269–277, 2011
 7. Hashimoto N, Kawamura Y, Nakamura T, Murawaki A, Nishiumi T, Hirota Y, Sakagushi K, Kurahashi T, Miyake H, Fujisawa M, Sasano H, Takahashi Y. A case of primary aldosteronism caused by multiple adrenocortical macronodules. *Intern Med*, 50:585–590, 2011
 8. Yoshida M, Sasano H, Kikumori T, Imai T, Murakami Y, Nakamura S, Ogawa K, Miyata M, Murakami M, Oiso Y. A case of subclinical Cushing syndrome due to primary pigmented nodular adrenocortical disease associated with adrenocortical adenoma. *Endocrine*, 40(1):144–145, 2011 No abstract available
 9. Takizawa N, Muguruma K, Sasano H. Pheochromocytoma and subclinical Cushing's syndrome with focal adrenocortical hyperplasia. *Int J Urol*, 18(7):548–549, 2011
 10. Hiraishi K, Yoshimoto T, Tsuchiya K, Minami I, Doi M, Izumiya H, Sasano H, Hirata Y. Clinicopathological features of primary aldosteronism associated with subclinical Cushing's syndrome. *Endocr J*, 58(7):543–551, 2011
 11. Demura M, Wang F, Yoneda T, Karashima S, Mori S, Oe M, Kometani M, Sawamura T, Cheng Y, Maeda Y, Namiki M, Ino H, Fujino N, Uchiyama K, Tsubokawa T, Yamagishi M, Nakamura Y, Ono K, Sasano H, Demura Y, Takeda Y. Multiple noncoding exons 1 of nuclear receptors NR4A family (nerve growth factor-induced clone B, Nur-related factor 1 and neuron-derived orphan receptor 1) and NR5A1 (steroidogenic factor 1) in human cardiovascular and adrenal tissues.

- J Hypertens, 29(6):1185–1895, 2011
12. Nakamura Y, Satoh F, Morimoto R, Kudo M, Takase K, Gomez-Sanchez CE, Honma S, Okuyama M, Yamashita K, Rainey WE, Sasano H, Ito S.
18-Oxocortisol Measurement in Adrenal Vein Sampling as a Biomarker for Subclassifying Primary Aldosteronism.
J Clin Endocrinol Metab, 96(8): 1272–1278, 2011
 13. Saito T, Tojo K, Furuta N, Ono K, Sasano H, Utsunomiya K.
Feminizing adrenocortical carcinoma with selective suppression of follicle-stimulating hormone secretion and disorganized steroidogenesis: a case report and literature review.
Intern Med, 50(13):1419–1424, 2011
 14. Takada M, Saji S, Masuda N, Kuroi K, Sato N, Takei H, Yamamoto Y, Ohno S, Yamashita H, Hisamatsu K, Aogi K, Iwata H, Ueno T, Sasano H, Toi M.
Relationship between body mass index and preoperative treatment response to aromatase inhibitor exemestane in postmenopausal patients with primary breast cancer.
Breast, 21(1):40–45, 2011.
 15. Nakamura Y, Orikasa K, Fujishima F, Shibahara Y, Saito R, Ohkubo T, Ueno S, Sasano H.
A case of villous adenoma of the urinary bladder with tubulovillous architecture: characterization by immunohistochemical analysis.
Pol J Pathol, 62(3):179–182, 2011.
 16. 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.
 17. 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.
 18. 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.
 19. 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.
 20. 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):2181–2187, 2012.

21. Nakamura Y, Felizola SJ, Kurotaki Y, Fujishima F, McNamara KM, Suzuki T, Arai Y, Sasano H.
Cyclin D1 (CCND1) expression is involved in estrogen receptor beta (ER β) in human prostate cancer.
Prostate, 73(6):590–595, 2013.
22. Felizola SJ, Nakamura Y, Hui XG, Satoh F, Morimoto R, M McNamara K, Midorikawa S, Suzuki S, Rainey WE, Sasano H.
Estrogen-related receptor α in normal adrenal cortex and adrenocortical tumors: Involvement in development and oncogenesis.
Mol Cell Endocrinol, 365(2):207–211, 2012.
23. 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, 98(1):13–19, 2013.
24. 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, 60(3):329–336, 2013.
25. Arai S, Shibata Y, Nakamura Y, Kashiwagi B, Uei T, Tomaru Y, Miyashiro Y, Honma S, Hashimoto K, Sekine Y, Ito K, Sasano H, Suzuki K.
Development of prostate cancer in a patient with primary hypogonadism: intratumoural steroidogenesis in prostate cancer tissues.
Andrology, 1(1):169–174, 2013.
26. Fujimoto K, Honjo S, Tatsuoka H, Hamamoto Y, Kawasaki Y, Matsuoka A, Ikeda H, Wada Y, Sasano H, Koshiyama H.
Primary aldosteronism associated with subclinical Cushing syndrome.
J Endocrinol Invest, 36(8):564–567, 2013.
27. Rege J, Nakamura Y, Satoh F, Morimoto R, Kennedy MR, Layman LC, Honma S, Sasano H, Rainey WE.
Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Analysis of Human Adrenal Vein 19–Carbon Steroids Before and After ACTH Stimulation.
J Clin Endocrinol Metab, 98(3):1182–1188, 2013.
28. Yokoyama H, Adachi T, Tsubouchi K, Tanaka M, Sasano H.
Non-functioning Adrenocortical Carcinoma Arising in an Adrenal Rest: Immunohistochemical Study of an Adult Patient.
Tohoku J Exp Med, 229(4):267–270, 2013.
29. Miyata M, Yoshida M, Shinoda J, Sasano H, Oiso Y.
A Marked Difference in the Vasopressin Responsiveness Between the Adrenal Glands in a Patient with Adrenocorticotropin-independent Macronodular Adrenal Hyperplasia.
Intern Med, 52(10):1073–1078, 2013.
30. Shibahara Y, Miki Y, Sakurada C, Uchida K, Hata S, McNamara K, Yoda T, Takagi K, Nakamura Y, Suzuki T, Ishida T, Ohuchi N, Sasano H.
Androgen and androgen-metabolizing enzymes in metastasized lymph nodes of breast cancer.

- Hum Pathol, 44(10):2338–2345, 2013
31. 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 Sep 28. [Epub ahead of print]
 32. Hayashi M, Kataoka Y, Sugimura Y, Kato F, Fukami M, Ogata T, Homma K, Hasegawa T, Oiso Y, Sasano H, Tanaka H. A 68-year-old phenotypically male patient with 21-hydroxylase deficiency and concomitant adrenocortical neoplasm producing testosterone and cortisol. *Tohoku J Exp Med*. 231(2):75–84. 2013
 33. Felizola SJ, Nakamura Y, Satoh F, Morimoto R, Kikuchi K, Nakamura T, Hozawa A, Wang L, Onodera Y, Ise K, McNamara KM, Midorikawa S, Suzuki S, Sasano H. Glutamate receptors and the regulation of steroidogenesis in the human adrenal gland: The metabotropic pathway. *Mol Cell Endocrinol*. Sep 27. 2013. [Epub ahead of print]
 34. Wang F, Demura M, Cheng Y, Zhu A, Karashima S, Yoneda T, Demura Y, Maeda Y, Namiki M, Ono K, Nakamura Y, Sasano H, Akagi T, Yamagishi M, Saijoh K, Takeda Y. Dynamic CCAAT/Enhancer Binding Protein-Associated Changes of DNA Methylation in the Angiotensinogen Gene. *Hypertension*. 2013 Nov 4. [Epub ahead of print]
 35. Nakamura Y, Nishimura M, Terano T, M McNamara K, Sasano H, Kurosu A, Joh K. A Patient with POEMS Syndrome: The Pathology of Glomerular Microangiopathy. *Tohoku J Exp Med*. 231(3): 229–234. 2013
 36. Felizola SJ, Nakamura Y, Arata Y, Ise K, Satoh F, Rainey WE, Midorikawa S, Suzuki S, Sasano H. Metallothionein-3 (MT-3) in the Human Adrenal Cortex and its Disorders. *Endocr Pathol*. 2013 Nov 17. [Epub ahead of print]
 37. Pilon C, Urbanet R, Williams TA, Maekawa T, Vettore S, Sirianni R, Pezzi V, Mulatero P, Fassina A, Sasano H, Fallo F. $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D₃ inhibits the human H295R cell proliferation by cell cycle arrest: A model for a protective role of vitamin D receptor against adrenocortical cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 140:26–33. 2014
 38. Iwakura Y, Morimoto R, Kudo M, Ono Y, Takase K, Seiji K, Arai Y, Nakamura Y, Sasano H, Ito S, Satoh F. Predictors of decreasing glomerular filtration rate and prevalence of chronic kidney disease after treatment of primary aldosteronism: Renal outcome of 213 cases. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Nov 27. [Epub ahead of print]
 39. Gomez-Sanchez CE, Qi X, Velarde-Miranda C, Plonczynski MW, Parker CR, Rainey W, Satoh F, Maekawa T, Nakamura Y, Sasano H, Gomez-Sanchez EP. Development of monoclonal antibodies against human CYP11B1 and CYP11B2. *Mol Cell Endocrinol*. 5;383(1–2):111–7. 2014
 40. Konosu-Fukaya S, Nakamura Y, Fujishima F,

- Kasajima A, Takahashi Y, Joh K, Ikeda Y, Ioritani N, Watanabe M, Sasano H. Bilateral papillary renal cell carcinoma and angiomyolipoma in the patients with autosomal dominant polycystic kidney disease: case report of two cases and literature review. *Pol J Pathol.* 64(4):303-307. 2013
41. 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]
42. Rege J, Nakamura Y, Wang T, Merchen TD, Sasano H, Rainey WE. Transcriptome profiling reveals differentially expressed transcripts between the human adrenal zona fasciculata and zona reticularis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Jan 1:jc20133198. [Epub ahead of print]
43. Doi M, Satoh F, Maekawa T, Nakamura Y, Fustin JM, Tainaka M, Hotta Y, Takahashi Y, Morimoto R, Takase K, Ito S, Sasano H, Okamura H. Isoform-specific monoclonal antibodies against 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase family provide markers for subclassification of human primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Jan 1:jc20133279. [Epub ahead of print]

なし。

3) その他

なし。

F. 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

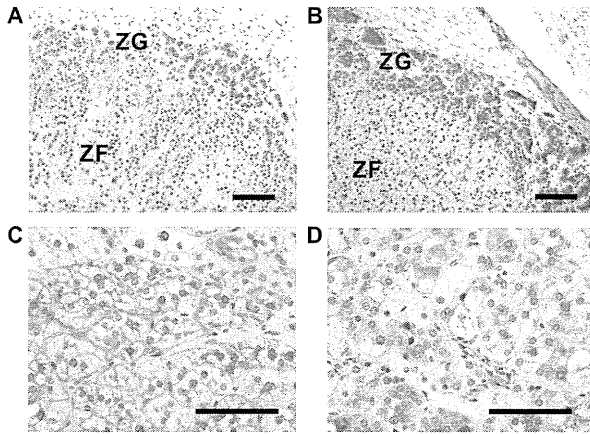


図1 NA(A)、IHA(B)、APA(C)、CPA(D)でのGRM3の発現

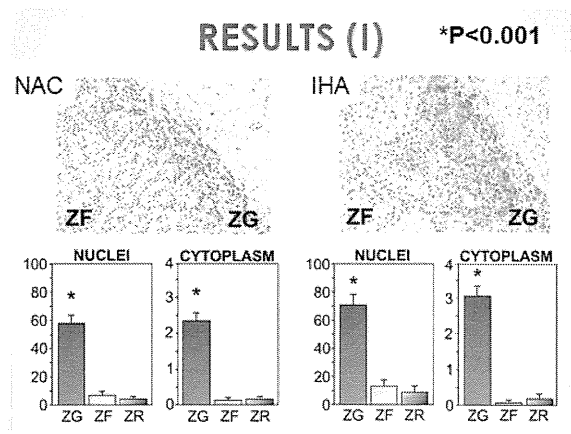


図2 NAおよびIHAでのPCP4蛋白の発現

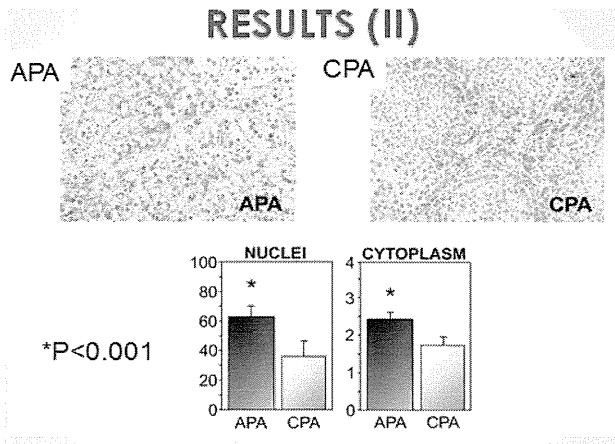


図3 APAおよびCPAでのPCP4蛋白の発現

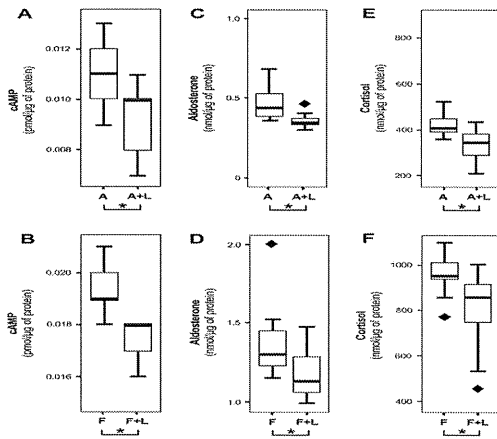


図4 GRM3アゴニストによるH295R細胞での細胞内cAMP濃度やステロイドホルモン産生

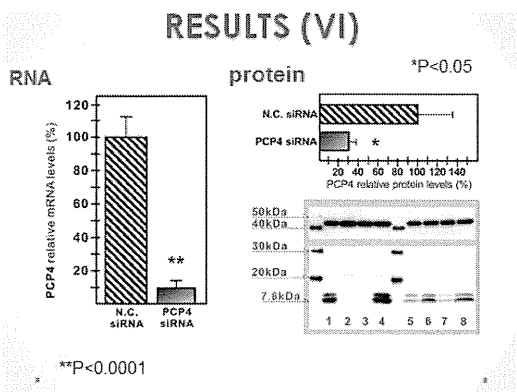


図5 H295R細胞での特異的siRNAによるPCP4発現の変化

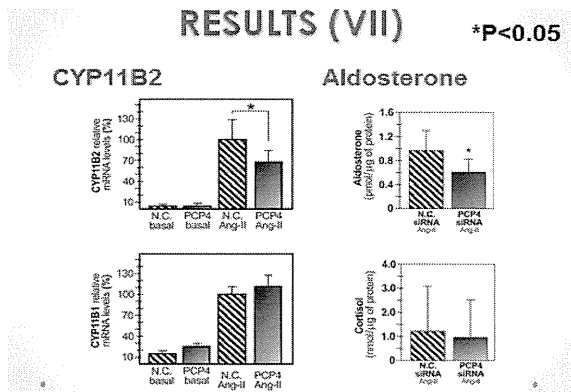


図6 H295R細胞でのPCP4発現ノックダウンによるCYP11B1/2発現およびステロイドホルモン産生

(4) 原発性アルデステロンに関する研究

原発性アルドステロン症の新規診断法の開発と 腎機能障害の合併に関する研究

研究分担者 佐藤 文俊 所属 東北大学病院 腎・高血圧・内分泌科 役職 講師
研究協力者 小野 美澄、岩倉 芳倫、森本 玲、柘津 昌広、松田 謙、工藤 正孝、
尾股 慧、伊藤貞 嘉、中村 保宏、笹野 公伸、高瀬 圭、清治 和将、
荒井 陽一

【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、cut-off値4.8ng/dl以上でアルドステロン産生腺腫(APA)の両側過形成病変に対する感度81%、特異度は97%の高い診断能を有し、画像診断と併用して局在診断に有用である。APAは、片側が主たる病態であるが、当施設で両側APAもAPA全体の約4%、5例経験された。両側APAは選択的副腎静脈分枝採血法(SSAVS)により両側過形成との鑑別が可能であり、片側副腎部分切除、片側副腎全摘との組み合わせにより計5例手術治療している。原発性アルドステロン症(PA)においてCTで責任病変を描出し得ず、AVSにより局在診断したアルドステロン産生微小腺腫(aldosterone producing microadenoma: micro APA)はAPA全体の約20%存在し、AVSによってのみ局在診断され、CT陽性のAPA(macro APA)に比べてCYP11B2の発現が高く微小サイズでもPAの病態であり、アルドステロン分泌(血漿・尿)はCYP11B2 x腫瘍面積に相関した。過剰なアルドステロンは腎障害を惹起し、PAでは本態性高血圧症と比べ、治療前には、アルブミン尿が多く、糸球体過剰濾過作用で推定糸球体濾過量(eGFR)が過大評価されるが、治療後はeGFRが低下し本来の腎障害が顕在化する一方、アルブミン尿も有意に低下する。治療後に顕在化するPAの慢性腎臓病(CKD)約60%は治療前潜在していた。

A. 研究目的

- I. 末梢血 18-oxocortisol(18-oxoF)測定による、片側アルドステロン産生腺腫(APA)と両側過形成病変(BAH・IHA)の病型鑑別能を評価する。
- II. 副腎静脈分枝採血を行う超選択的副腎静脈サンプリング(SS-AVS)による両側腫瘍性病変と過形成の鑑別を、自験例における診断と治療の成果から今後の課題を検討する。
- III. APAの腫瘍サイズとステロイド合成酵素と

の連関について免疫組織化学的(IHC)に検討を行った。

- IV. PAにおける慢性腎臓病(CKD)の罹患率とその推移について探索する。
またPA治療後にeGFRが低下する予測因子を検討する。

B. 研究方法

- I. 1) 末梢血18-oxoF測定法
既報(JCEM,2011;96:E1272)に基づいてLC ms/msにより測定する。

2) 副腎静脈サンプリング(AVS)

既報(HypertensionRes,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。

3) 病理診断

ステロイド合成酵素に対する免疫組織化学法を加えた診断。

4) 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113症例、AVSで両側病変と診断し薬物療法施行例121症例の2群間で、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。

- II. 2007年4月から2012年6月の自験例を対象とし、Ca拮抗薬・ α 遮断薬内服下に、アルドステロン・レニン活性比(ARR)基礎値20(ng/dl per ng/ml/h)以上、かつ、カプトプリル50mg負荷ARR20以上の両者を満たす際に原発性アルドステロン症と診断。クッシング症候群の合併は1mgデキサメサゾン抑制試験にて鑑別し、64Ch MDCTにより副腎静脈と副腎結節の描出を行った。ACTH負荷副腎静脈サンプリングによる局在診断を行い、ACTH負荷後に中心静脈採血におけるアルドステロン・コルチゾル比(ACR)の左右比2.6倍未満は両側性病変と診断。加えて、副腎静脈分枝における超選択的採血にて、ACRが末梢血におけるそれを下回る部位はアルドステロン分泌が抑制されており、腫瘍性病変に付随する正常副腎と判定した。
- 中心静脈における判定で両側性であり、CT所見、副腎静脈サンプリングの結果を総合して臨床的に両側性APAと診断、正常副腎温存鏡視下副腎手術を施行し、免疫組織化学法を含む病理検索にて診断を確

定した。

- III. 既報の基準に従い当院でPAと診断、Multi-detector CTおよびAVSを施行、既報の基準に従い切除側を決定し、腹腔鏡下副腎摘除術を施行した40名のAPA患者を対象とした。病理標本上で腫瘍の最大径と面積を測定、60mm \lt SUP $\gt 2$ \lt /SUP \gt 未満をSmaller APA群、60mm \lt SUP $\gt 2$ \lt /SUP \gt 以上をLarger APA群とし、抗CYP11B1/B2抗体を使用して腫瘍部のIHC検討をH-score法を使用して施行した。
- IV. 2007年4月より2010年12月までに当科で診断・治療したPA(213例)について、その治療前後のeGFRの変化を検討する。全例、副腎静脈採血検査による局在判定を基に、片側病変に対し手術治療(鏡視下患側副腎切除術)を行い、両側病変(BHA)に対してはアルドステロン拮抗薬の投与を行った。前者では副腎摘出後に病理学的検討を行い、アルドステロン産生腺腫(APA)と診断した。観察時点は治療開始後より1か月と12か月である。その他の内分泌疾患や腎疾患を合併する症例は本研究より除外した。

C. 研究結果

- I. ROC解析を行いcut-off値18-oxoF濃度4.8ng/dl以上でアルドステロン産生腺腫(APA)の感度81%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4.6ng/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1・2参照)

- II. 上記診断基準を満たした全299例中、134例(44.8%)が腫瘍性病変であり副134例中、100例(74.6%)が片側APA、29例(21.6%)が術前CTにて病変を指摘し得なかったmAPA、5例(3.7%)が両側APAと診断された。両側APA5例のうち4例が女性、診断時平均年齢は53.6歳、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、周術期の合併症は認めなかった。
- III. micro APAはAVSによってのみ局在診断され、微小サイズでもPAの病態であった。切除標本上での最大腫瘍面積は術前の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。アルドステロン分泌(血漿・尿)はCYP11B2 x腫瘍面積に相関した。
- IV. 治療後1か月でAPA/BHA群ともに血圧・eGFR・アルブミン尿は有意に低下した。これらはその後12か月でそれぞれ変化を認めなかった。CKDの罹患率は治療前後でAPA ; 15.7から37.1%、BHA ; 8.1から28.3%と有意な上昇を認めた。一方、アルブミン尿($\geq 30\text{mg/g Creatinine}$)を有する症例はAPA ; 61.8から14.7%、BHA ; 34.2から16.2%と有意な減少を認めた。治療後に低下するeGFRを規定する因子は、213例の多変量解析を用いた検討で、初診時のアルブミン尿・血清カリウム値及び血漿レニン活性であった。

D. 考察

- I. 末梢血18-oxoFはcut-off値4.8ng/dl以上で97%と特異度の高いAPA鑑別法といえるが、感度は81.1%である。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、CTでの画像診断と18-oxoF

測定により、BHAの末梢血18-oxoF最大値6.1ng/dLを超えるCT陽性APAは113例中86症例(76%)存在して鑑別可能であった。

- II. 術前平均3.4剤の降圧薬内服を要したが、術後平均0.8剤へ減量、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。また、全5例において術後の糖質コルチコイド補充療法より離脱している。重症高血圧を呈する両側APA症例では手術適応も考慮に値すると考えられた。
- III. アルドステロン分泌(血漿・尿)は(CYP11B2のH-score) x(腫瘍面積)に相関したことから、micro APAではmacro APAに比べ腫瘍サイズは格段に小さいがCYP11B2の発現強さがPAの病態を形成していると考えられた。
- IV. PA治療前にCKDを来たした症例が少なからず存在し、長期罹患した高血圧や慢性的な高濃度のアルドステロンによる腎障害が進行したと考えられる。この間、糸球体過剰濾過によるGFRの過大評価が持続すれば、腎障害はマスクされて進行することは日常臨床で起こりうると考えられる。このため、本症におけるアルブミン尿の測定は腎障害を診断する上で重要であると考えられる。PA治療前後に認めたeGFR及びアルブミン尿の変化は、両者の強い相関関係より、糸球体過剰濾過現象の表れであると考えられる。治療後にeGFR < 60 で定義したCKD罹患率は上昇したものの、アルブミン尿患者も有意に減少した。このことから、PAの治療は腎予後を悪化させるものではなく、むしろ改善したものであると考えられる。

E. 結論

- I. 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。
- II. CTなどによる画像評価に加えて、SS-AVSに基づく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の病態は治癒可能であることが示唆された。
- III. CTで描出し得ない微小なAPAでも既報のAVSの基準に基づいた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、加療対象となり得るに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。
- IV. 本症治療後にCKDが顕在化することを未然に防ぐために、アルブミン尿や低カリウム血症を認める以前より本症を早期診断・治療する必要がある。
- F. 健康危険情報**
なし
- G. 研究発表**
1. 論文発表
 - 1) Ishidoya S, Kaiho Y, Ito A, Morimoto R, Satoh F, Ito S, Ishibashi T, Nakamura Y, Sasano H, Arai Y. Single-center Outcome of Laparoscopic Unilateral Adrenalectomy for Patients With Primary Aldosteronism: Lateralizing Disease Using Results of Adrenal Venous Sampling. *Urology* 2011; 78(1): 68-73
 - 2) Miyazato M, Ishidoya S, Satoh F, Morimoto R, Kaiho Y, Yamada S, Ito A, Nakagawa H, Ito S, Arai Y. Surgical outcomes of laparoscopic adrenalectomy for patients with Cushing's and subclinical Cushing's syndrome: a single center experience. *IntUrolNephrol* 2011; 43(4): 975-81
 - 3) Wang T, Satoh F, Morimoto R, Nakamura Y, Sasano H, Auchus RJ, Edwards MA, Rainey WE. Gene expression profiles in aldosterone-producing adenomas and adjacent adrenal glands. *Eur J Endocrinol* 2011; 164(4): 613-9
 - 4) Nakamura Y, Satoh F, Morimoto R, Kudo M, Takase K, Gomez-Sanchez CE, Honma S, Okuyama M, Yamashita K, Rainey WE, Sasano H, Ito S. 18-Oxocortisol Measurement in Adrenal Vein Sampling as a Biomarker for Subclassifying Primary Aldosteronism. *J ClinEndocrinolMetab* 2011; 96(8): E1272-8
 - 5) Kawasaki Y, Ishidoya S, Kaiho Y, Ito A, Satoh F, Morimoto R, Nakagawa H, Arai Y. Laparoscopic simultaneous bilateral adrenalectomy: Assessment of feasibility and potential indications. *Int J Urol* 2011; 18(11): 762-7
 - 6) Nishikawa T, Omura M, Satoh F, Shibata H, Takahashi K, Tamura N, Tanabe A: Guidelines for the diagnosis and treatment of primary aldosteronism—the Japan Endocrine Society 2009-. *Endocr J* 2011; 58(9): 711-21
 - 7) 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 adrenocorticotrophic hormone stimulation. *ClinEndocrinol (Oxf)* 2012; 76(6): 778-84
 - 8) Monticone S, Satoh F, Giacchetti G, Viola A, Morimoto R, Kudo M, Iwakura Y, Ono Y,

- Turchi F, Paci E, Veglio F, Boscaro M, Rainey W, Ito S and Mulatero P. Effects of Adrenocorticotrophic Hormone Stimulation During Adrenal Vein Sampling in Primary Aldosteronism. *Hypertension* 2012; 59(4): 840-6
- 9) Rossi G.P, Barisa M, Allolio B, Auchus R. J, Amar L, Cohen D, Degenhart C, Deinum J, Fischer E, Gordon R, Kickuth R, Kline G, Lacroix A, Magill S, Miotto D, Naruse M, Nishikawa T, Omura M, Pimenta E, Plouin P-F, Quinkler M, Reincke M, Rossi E, Rump L.C, Satoh F, Kool L.S, Seccia T.M, Stowasser M, Tanabe A, Trerotla S, Vonend O, Widimsky J. Jr, Wu K-D, Wu V-C, Pressina A.C. The Adrenal Vein Sampling International Study (AVIS) for Identifying the Major Subtypes of Primary Aldosteronism. *J ClinEndocrinMetab* 2012; 97(5): 1606-14
- 10) Felizola S. J. Nakamura Y. Hui X. G. Satoh F. Morimoto R. McNamara K. Midorikawa S. Suzuki S. Rainey W. E. Sasano, H. Estrogen-related receptor alpha in normal adrenal cortex and adrenocortical tumors: Involvement in development and oncogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 365(2): 207-11
- 11) Rege J, Nakamura Y, Satoh F, Morimoto R, Kennedy MR, Layman LC, Honma S, Sasano H, Rainey WE. Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Analysis of Human Adrenal Vein 19-Carbon Steroids Before and After ACTH Stimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(3): 1182-8
- 12) Yamamoto H, Kaneko K, Ohba K, Morimoto R, Hirose T, Satoh F, Totsune K, Takahashi K. Increased expression of (pro) renin receptor in aldosterone-producing adenomas. *Peptides* 2013; 49C: 68-73
- 13) 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
- 14) Felizola SJ, Nakamura Y, Arata Y, Ise K, Satoh F, Rainey WE, Midorikawa S, Suzuki S, Sasano H. Metallothionein-3 (MT-3) in the Human Adrenal Cortex and its Disorders. *Endocr Pathol* 2013
- 15) Takanami K, Kaneta T, Morimoto R, Satoh F, Nakamura Y, Takase K, Takahashi S. Characterization of lipid-rich adrenal tumors by FDG PET/CT: Are they hormone-secreting or not? *Ann Nucl Med* 2013; 28(2): 145-53
- 16) Iwakura Y, Morimoto R, Kudo M, Ono Y, Takase K, Seiji K, Arai Y, Nakamura Y, Sasano H, Ito S, Satoh F. Predictors of decreasing glomerular filtration rate and prevalence of chronic kidney disease after treatment of primary aldosteronism: Renal outcome of 213 cases. *J Clin Endocrinol Metab* 2013
- 17) Gomez-Sanchez CE, Qi X, Velarde-Miranda C, Plonczynski MW, Richard Parker C, Rainey W, Satoh F, Maekawa T, Nakamura Y, Sasano H, Gomez-Sanchez EP. Development of monoclonal antibodies against human CYP11B1 and CYP11B2. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 383(1-2): 111-7
- 18) Felizola SJ, Nakamura Y, Satoh F, Morimoto

- R, Kikuchi K, Nakamura T, Hozawa A, Wang L, Onodera Y, Ise K, McNamara KM, Midorikawa S, Suzuki S, Sasano H. Glutamate Receptors and the Regulation of Steroidogenesis in the Human Adrenal Gland: The Metabotropic Pathway. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 382(1): 170-177
- 19) Rossi GP, Auchus RJ, Brown M, Lenders JW, Naruse M, Plouin PF, Satoh F, Young WF Jr. An Expert Consensus Statement on Use of Adrenal Vein Sampling for the Subtyping of Primary Aldosteronism. *Hypertension* 2014; 63(1): 151-60
- 20) 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* 2014; 383(1-2): 60-8
- 21) 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
- 22) Doi M, Satoh F, Maekawa T, Nakamura Y, Fustin JM, Tainaka M, Hotta Y, Takahashi Y, Morimoto R, Takase K, Ito S, Sasano H, Okamura H. Isoform-specific monoclonal antibodies against 3β -hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase family provide markers for subclassification of human primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99(2): E257-62
- 23) Nakamura Y, Hattangady NG, Ye P, Satoh F, Morimoto R, Ito-Saito T, Sugawara A, Ohba K, Takahashi K, Rainey WE, Sasano H. Aberrant gonadotropin-releasing hormone receptor (GnRHR) expression and its regulation of CYP11B2 expression and aldosterone production in adrenal aldosterone-producing adenoma (APA). *Mol Cell Endocrinol* 2014; 384(1-2): 102-8
- 24) Ono Y, Nakamura Y, Maekawa T, Saulo J. A. Felizola, Morimoto R, Iwakura Y, Kudo M, Seiji K, Takase K, Arai Y, Celso E. Gomez-Sanchez, Ito S, Sasano H, Satoh F. The different expression of CYP11B1 and CYP11B2 between aldosterone-producing microadenomas and macroadenoma. *Hypertension* 2014 ; in print.

2. 学会発表

- 第84回日本内分泌学会学術総会
- The 13th European Congress of Endocrinology
- The Endocrine Society's 93th Annual Meeting & Expo
- High Blood Pressure Research 2011
- 第19回日本ステロイド学会学術集会
- 第109回日本内科学会学術講演会
- 第85回日本内分泌学会学術総会
- 22nd European Meeting on Hypertension
- The 14th European Congress of Endocrinology
- 第1回臨床高血圧フォーラム
- 第55回日本腎臓学会学術総会
- 38th Meeting of the International Aldosterone Conference
- The Endocrine Society's 94th Annual Meeting & Expo
- 第22回臨床内分泌代謝Update
- Progress in Primary Aldosteronism III

- 第86回日本内分泌学会学術総会
- The Endocrine Society's 95th Annual Meeting & Expo
- High Blood Pressure Research 2013

H. 知的財産権の出願PA録状況

1. 特許取得

- I. 「原発性アルドステロン症の腺腫鑑別法及び18-オキシコルチゾール(18oxo-F)、18-ヒドロキシコルチゾール(18-OHF)の測定法」

出願番号：PCT/JP2011/06805

- III. 「原発性アルドステロン症の検出方法及びモノクローナル抗体」

出願番号：2012-222030

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関する調査研究

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 講師

【研究要旨】

原発性アルドステロン症 (PA) に関する調査研究として、アルドステロン産生腺腫(APA)の診断におけるACTH負荷試験の有用性の検討と、片側副腎摘除術後の副腎機能についての詳細な解析を行った。ARR200以上でPAが疑われた連続80例をnon-PA群、IHA群、APA群に分け、ACTH負荷後の血中アルドステロン(PAC)値を比較検討したところ、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。本研究により、原発性アルドステロン症のうち、手術的に治癒可能なAPAの診断にACTH負荷試験が有用であることが示された。また、APAで片側副腎摘除術を行った症例において、片側副腎摘除術前後の副腎皮質機能及び予備能を比較検討したところ、片側副腎摘除術後、コルチゾール基礎値は術前に比べ有意な変化を認めなかったが、ACTH基礎値は有意な上昇を認め、ACTH刺激試験ではコルチゾールの頂値は術前の86.6 [81.4-92.4]%と軽度ではあるものの有意に低下していた。本研究により、治療法として片側副腎摘除術の安全性が確認されたが、術後は術前と同等の副腎予備能を保持できるわけではないことも明らかとなった。

A. 研究目的

原発性アルドステロン症 (PA) 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臨床上重要となる。そこで、本班研究において、我々は、PAの中でも特にAPAを特異的に検出するための手段としてACTH負荷試験の診断的意義を検討した。また、原発性アルドステロン症の治療は、APAでは手術療法(片側副腎摘除術)、IHAでは薬物療法(アルドステロン拮抗薬)が第一選択とされている。一般に、副腎は片側を摘除しても日常生活に問題はないとされているが、果たして、片側副腎を摘除しても健常人と同等あるいは術前と同レベルの副腎機能を保ち得るのか、厳密に評価したエビデ

ンスはこれまでなかった。そこで、片側副腎摘除術前後における副腎皮質機能および予備能の変化について定量的な評価を行った。

B. 研究方法

まず、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。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。

また、APAに対して片側副腎摘除術を施行した患者のうち、コルチゾール自律性分泌合併例などを除外した14名において、術前後でのコルチゾール・ACTHの基礎値およびACTH刺激試験でのコルチゾールの反応性を比較検討した。

(倫理面への配慮)

臨床研究については、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院の医の倫理委員会に申請し承認を得て行った (E859、E977)。

C. 研究成果

まず、80例のPA疑いの患者のうち、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(図2、表1)。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)。

一方、APA患者における片側副腎摘除術後の副腎機能の検討では、全例とも術後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な

変化を認めなかった。一方、ACTH基礎値は術前に比べ有意な上昇を認めた($P < 0.01$) (図3)。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(area under the curve: AUC)も有意な低下を認め($P < 0.01$)、それぞれ術前の86.6 [81.4-92.4]%, 82.6 [79.0-91.9]%であった(図4)。術後1年後の観察においても術後2週間後の結果とほぼ同様であった(図5)。

D. 考察

まず、前半の研究においては、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/PAC_{0min})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/PAC_{0min})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、これらが陽性と出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。

一方、後半の研究においては、APA患者の片側副腎摘除術後の副腎機能については、術後2週間後・1年後において、コルチゾールの基礎値は術前と同レベルに保たれていた一方で、ACTH基礎値は術前に比べ上昇しており、ACTHの上昇により副腎機能が維持されていることが示唆された。ACTH刺激試験でのコルチゾールの反応性（副腎予備能）はコルチゾール頂値で術前の86.6 [81.4-92.4] %と、軽度であるが有意な低下を認めた($P < 0.01$)。副腎の体積が半分になったことを考えるとこの低下の程度は軽度であり、何らかの代償機構が働いていると考えられた。本研究により片側副腎摘除術は術後も副腎不全を起こすことのない安全な治療であることが示唆されたものの、術後は術前と同等の副腎予備能を保持できるわけではないことも明らかとなった。

E. 結論

PAの診断においては、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。

また、APAの治療においては、片側副腎摘除術が最もスタンダードな治療であるが、患者の臓器を半分取り除くという侵襲を伴う治療介入でもある。本研究では、片側副腎摘除術は術後も副腎不全を起こすことのない安全な治療であることが確認された。一方で、副腎予備能については術前と同等の機能を保持できるわけではないことも示唆された。これらの結果は原発性アルドステロン症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留意しておくべき基礎データとして重要であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sonoyama T, Sone M (corresponding author), et al. Significance of adrenocorticotropin stimulation test in the diagnosis of an aldosterone-producing adenoma.

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

Sonoyama T, Sone M (corresponding author), et al. Differentiation of Human Embryonic Stem Cells and Human Induced Pluripotent Stem Cells into Steroid-Producing Cells.

Endocrinology. 153(9):4336-45, 2012

Honda K, Sone M (corresponding author), et al. Adrenal reserve function after unilateral adrenalectomy in patients with primary aldosteronism.

J Hypertens. Oct;31(10):2010-7,2013