

原発性アルドステロン症の病型診断における 新規病型診断マーカーの有用性評価

慶應義塾大学医学部 腎臓内分泌代謝内科

講師 栗原 勲

(共同研究者)

慶應義塾大学医学部 腎臓内分泌代謝内科

特任助教 小林 佐紀子

慶應義塾大学医学部 腎臓内分泌代謝内科

助教 横田 健一

慶應義塾大学医学部 腎臓内分泌代謝内科

大学院生 中村 俊文

はじめに

原発性アルドステロン症 (PA; primary aldosteronism) は、近年、高血圧学会や内分泌学会にて診療ガイドラインが発表され、高血圧初診患者においても積極的にスクリーニングされるようになった背景から、患者数も増加し、内分泌性高血圧において最も頻度の高い疾患となっている。アルドステロン産生腺腫 (APA; aldosterone producing adenoma) と特発性アルドステロン症 (IHA; idiopathic hyperaldosteronism) の2大病型があり、病型によって治療方針が異なるため、両者の鑑別が臨床上重要である。

当大学病院は、年間約100症例の原発性アルドステロン症 (疑いを含む) の初診患者がおり、そのうち年間約60の症例で、手術治療適応を決定するための副腎静脈サンプリング (AVS; adrenal vein sampling) 検査を行っている。AVSの結果、片側病変であるAPAの診断となり手術治療を受けるのはその3割~4割であり、残りの症例はIHAの診断として、ミネラルコルチコイド受容体 (MR; mineralocorticoid receptor) 拮抗薬による薬物治療が行われる。上述のとおり、積極的なPAのスクリーニングがなされるようになった背景もあり、AVS施行症例は年々増加しているが、AVSは侵襲的な検査であり、かつ今後の診療の効率化を図る意味でも、AVS施行前にAPAとIHAの判別を予測する非侵襲的な病型診断マーカーの確立が求められている。

APAとIHAを鑑別する病型診断マーカー確立の試みは、過去にもいくつか報告されている。まず、18水酸化ステロイド代謝物は、APA特有のステロイド代謝経路の影響を受けて、APAのみで高値を示すことが知られており、当院でもこれまでLC-MS/MS法を用いた尿中ステロイド代謝物の一斉分析のPA病型診断における有用性を報告してきた (図1)。

また、近年の遺伝子解析技術の飛躍的な進歩に伴い、APAおよびIHAにおける遺伝子異常が少しずつ明らかになってきており、その特性を用いた診断マーカーの可能性も期待されている。KCNJ5遺伝子は、腫瘍局所における体細胞変異がAPA症例で高頻度に見られることが

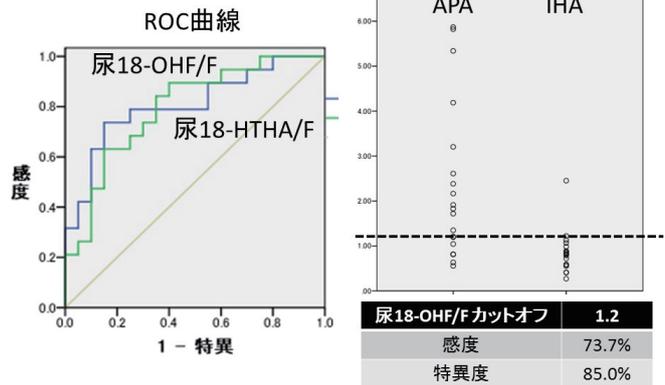
近年報告され^(文献1)、さらに本邦においてはAPAの約65%にKCNJ5遺伝子の異常がみられることが報告された^(文献2)。現在、KCNJ5遺伝子異常を持つAPA症例における臨床プロフィールから、APAの診断マーカーを拾い上げる試みが、様々な施設で進められている。一方、遺伝子改変マウスを用いた解析から、アルドステロン合成において従来から知られている合成酵素CYP11B2と異なる新規合成

酵素HSD3B1 (マウスホモログはHsd3b6) の存在が近年明らかになり^(文献3)、IHA症例においてHSD3B1の発現が特異的に上昇していることが報告された^(文献4)。現在、HSD3B1活性を標的とした新たな病型診断マーカーの確立が期待されている。

副甲状腺ホルモンは、Ca代謝調節ホルモンであるが、近年intact PTH値がAPAの病型診断のマーカーになりうるという興味深い報告がなされた^(文献5)。詳細な機序は未解明であり、診断精度について更なる検証が必要と考えられている。

以上の背景から、本研究では、1) 18水酸化ステロイド代謝物、2) 遺伝子異常と新規アルドステロン合成酵素HSD3B1、3) 副甲状腺ホルモンなど、確立が期待されている新規PA病型診断マーカーについて、それぞれ有用性の評価を行った。

図1 尿中18水酸化ステロイドのPA病型診断マーカーとしての有用性



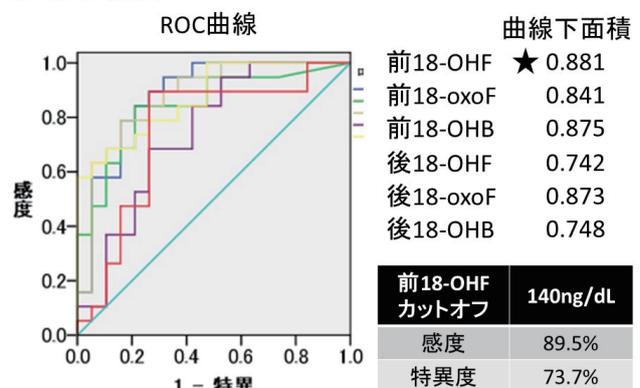
結果

1) 18水酸化ステロイド代謝物

上述のとおり、これまで我々は尿中18水酸化ステロイド代謝物のPA病型診断における有用性を評価しており、図1に示すとおり、尿18-OHF/F比、尿18-HTHA/F比がいずれも、APAとIHAの鑑別に有用であることを確認した。尿18-OHF/F比を用いた鑑別では、1.2をカットオフとした場合、感度73.7%、特異度85.0%であった。

本研究では、さらに末梢血18水酸化ステロイド代謝物を用いたPA病型診断能の評価を行った(図2)。ACTH負荷時(後)および非負荷時(前)の検体を用いて検討を行い、いずれも高い

図2 末梢血18水酸化ステロイドを用いたPA病型診断の検討

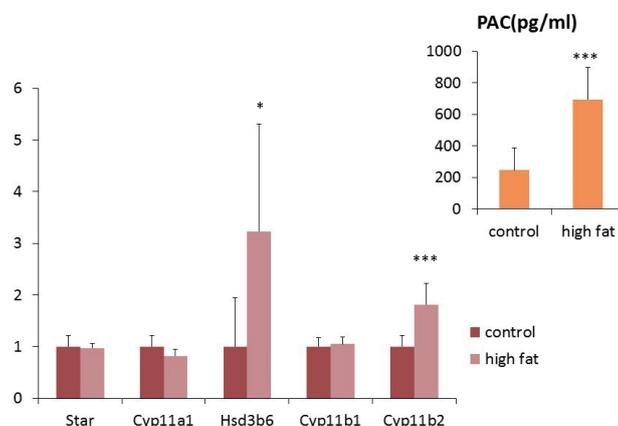


診断能が確認された。ACTH非負荷時の180HFを用いた鑑別では、140ng/dLをカットオフとした場合、感度89.5%、特異度73.7%であった。

2) 遺伝子異常と新規アルドステロン合成酵素HSD3B1

当院において手術を施行されたAPA症例において、KCNJ5遺伝子の変異検出を行ったところ、既報と同様、約7割の症例にKCNJ5遺伝子の異常を認めた。KCNJ5遺伝子変異陽性のPA症例では、アルドステロン分泌高値、K低値などの特徴を認めたが、APAとIHAの病型鑑別における有用性は低いと考えられた。組織免疫染色において、CYP11B1（コルチゾール合成酵素）およびCYP11B2の共染色を行ったところ、変異陽性症例において両酵素陽性例が多い傾向を認めしたが、免疫染色における染色性は定量化が困難なこともあり、統計学的な有意差は得られなかった。一方、IHAにおけるHSD3B1の意義を明らかにするために、我々はまずIHAモデルマウスの確立を試みた。IHA症例では、APA症例に比べ肥満度が有意に高いことから発想を得て、高脂肪食負荷（high fat）によるHsd3b6（ヒトHSD3B1のマウスホモログ）およびCyp11b2の変化を検討したところ、28週において有意なHsd3b6の発現上昇と血中アルドステロン濃度（PAC）の高値を認めた（図3）。HSD3B1酵素活性が高いモデルマウスにおける尿中ステロイド代謝物の測定を行い、有用なステロイド代謝物の変化を同定することを試みたが、測定系の感度が低く、有意な所見は得られなかった。

図3 マウスを用いたIHAモデル確立の検討



3) 副甲状腺ホルモン

AVSによりAPAあるいはIHAと診断した当院PA症例において、intact PTHを測定し、両群比較を行った。図4に示すとおり、APA群ではIHA群に比較し、有意にintact PTHが高値であり、既報のとおりAPAの病型マーカーとなる可能性が示唆された。APA術後には、intact PTHが低下することも確認された。また図4に示すとおり、APA群ではIHA群に比較し、アルドステロン分泌が高く、それに伴いK値が低値を示す傾向を認め、PAの病勢が強いことが確認された。

図4 当院PA症例におけるintact PTHを用いたPA病型診断の検討

	APA 群 (n=16)	IHA 群 (n=67)	P 値 (unpaired t-test)
intact-PTH(pg/ml) (基準値 10~65)	79.9 ± 26.0	59.6 ± 23.2	0.004
Ca (mg/dl)	9.05 ± 0.54	9.19 ± 0.37	0.233
P (mg/dl)	3.31 ± 0.32	3.50 ± 0.49	0.160
PAC (pg/ml)	379.3 ± 213.2	221.6 ± 96.9	<0.001
ARC (pg/ml)	1.89 ± 1.08	3.35 ± 2.61	0.037
ARR	242.7 ± 158.2	104.0 ± 101.7	<0.001
尿中Aldo (µg/day)	21.8 ± 14.0	11.1 ± 5.2	<0.001
血清 K (mEq/l)	3.31 ± 0.50	3.88 ± 0.29	<0.001

PAC：血漿アルドステロン濃度, ARC：活性レニン濃度, ARR：アルドステロン・レニン比

考 察

PAの病型診断マーカーとして、18水酸化ステロイド代謝物は有用であることが示された。しかし感度・特異度の観点からは、依然十分な診断能とは言えず、さらなる改良・開拓が必要と思われた。新規アルドステロン合成酵素HSD3B1の活性を反映するステロイド代謝物も、新規PA病型診断マーカーとしての有用性が示唆されたが、こちらも検出感度を含めた技術の改良が必要と思われた。またHSD3B活性を示す指標の1つであるプロゲステロン/プレグネロン(PD/P5)比の使用においては、プロゲステロンが生理周期に合わせて卵巣からの分泌が変化するため、男女差を考慮しなければならないなど、複数の課題があることも確認された。intact PTHも、PA病型診断マーカーとして有用であることが示されたが、APAとIHAの病勢の違いを反映しているだけの可能性も考えられた。今後は、治療効果判定のマーカーとしての有用性も検討すべきと考えられた。特に、IHAに対しMR拮抗薬治療が行われている症例では、レニンおよびアルドステロン値では病勢コントロールの成否の確認はできず、intact PTHの推移が有用になると考えられた。

要 約

原発性アルドステロン症の診療においては、非侵襲的な病型診断マーカーの確立が求められている。本研究では、我々のこれまでの研究成果、および既報を参考に、1) 18水酸化ステロイド代謝物、2) 遺伝子異常と新規アルドステロン合成酵素HSD3B1、3) 副甲状腺ホルモンの3者に注目し、その有用性につき評価を行った。いずれのマーカーも、ある程度の有用性は期待されるものの、副腎静脈サンプリングに置き換わる程の正確性には乏しく、今後のさらなる改良、新規マーカーの開拓が必要であると考えられた。

文 献

1. Choi M, Scholl UI, Yue P, Björklund P, Zhao B, Nelson-Williams C, Ji W, Cho Y, Patel A, Men CJ, Lolis E, Wisgerhof MV, Geller DS, Mane S, Hellman P, Westin G, Åkerström G, Wang W, Carling T, Lifton RP. K⁺ channel mutations in adrenal aldosterone-producing adenomas and hereditary hypertension. *Science*. 331 (6018) :768-72. 2011
2. Taguchi R, Yamada M, Nakajima Y, Satoh T, Hashimoto K, Shibusawa N, Ozawa A, Okada S, Rokutanda N, Takata D, Koibuchi Y, Horiguchi J, Oyama T, Takeyoshi I, Mori M. Expression and mutations of KCNJ5 mRNA in Japanese patients with aldosterone-producing adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 97 (4) :1311-9. 2012
3. Doi M, Takahashi Y, Komatsu R, Yamazaki F, Yamada H, Haraguchi S, Emoto N, Okuno Y, Tsujimoto G, Kanematsu A, Ogawa O, Todo T, Tsutsui K, van der Horst GT, Okamura H. Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient Cry-null mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6. *Nat Med*. 16 (1) :67-74. 2010
4. 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*. 99 (2) :E257-62. 2014
5. Rossi GP, Ragazzo F, Seccia TM, Maniero C, Barisa M, Calò LA, Frigo AC, Fassina A, Pessina AC. Hyperparathyroidism can be useful in the identification of primary aldosteronism due to aldosterone-producing adenoma. *Hypertension*. 60 (2) :431-6. 2012