

メタボロミクスに基づく副腎皮質腫瘍の代謝特性の解明と医学応用

九州大学病院 内分泌代謝・糖尿病内科

特任助教 馬越 洋宜

(共同研究者)

九州大学病院 検査部	助教	瀬戸山 大樹
九州大学病院 内分泌代謝・糖尿病内科	講師	坂本 竜一
九州大学病院 内分泌代謝・糖尿病内科	助教	松田 やよい
九州大学病院 内分泌代謝・糖尿病内科	学術研究員	馬越 真希
九州大学病院 内分泌代謝・糖尿病内科	大学院生	緒方 大聖
九州大学病院 内分泌代謝・糖尿病内科	教授	小川 佳宏

はじめに

内分泌腫瘍はホルモン産生能を考慮すべきユニークな腫瘍であり、ホルモンを産生する「機能性」とホルモンを産生しない「非機能性」に大別される。代表的な内分泌臓器である副腎は皮質と髄質より構成され、副腎皮質は形態的にも機能的にもユニークな3層構造(球状層:ミネラルコルチコイド、束状層:グルココルチコイド、網状層:副腎アンドロゲン)を呈する。副腎皮質腫瘍の多くは良性腫瘍であり、ステロイドホルモン(ミネラルコルチコイド代謝産物であるアルドステロン(アルドステロン産生腫瘍)あるいはグルココルチコイド代謝産物であるコルチゾール(コルチゾール産生腫瘍)の過剰産生の場合には「機能性」と判定され、いずれも過剰産生しない場合は「非機能性」と判定される。一方、画像診断技術の進歩により副腎腫瘍の診断機会が増加しているが(副腎偶発腫瘍)、約80%は良性の非機能性腫瘍であり、多くは経過観察あるいは放置されている。しかしながら、「非機能性」と判定された副腎皮質腫瘍において従来の臨床診断法では検出できなかったステロイドホルモン産生と糖尿病などの代謝障害の関連が指摘されている⁽¹⁾。

副腎皮質腫瘍の「機能性」獲得の大部分は体細胞遺伝子変異によることが知られている。例えばアルドステロン産生腫瘍とコルチゾール産生腫瘍において、細胞内カルシウム濃度上昇と細胞内cAMP濃度上昇に関連する遺伝子変異が報告されており⁽²⁻³⁾、この2つは細胞機能の観点から全く異なる疾患概念として理解されている。一方、血中メタボローム解析により、アルドステロン産生腫瘍ではミネラルコルチコイド代謝産物に加えて、グルココルチコイド代謝産物の増加が確認され、異なる合成経路のステロイドホルモンの同時過剰産生による血中ステロイド代謝特性の多様性が示唆されている⁽⁴⁾。申請者らは最近、この血中ステロイド代謝特性の多様性が椎体骨折に関連することを報告し⁽⁵⁾、臨床的な意義を明らかにした。しかしながら、副腎皮質腫瘍における代謝特性の多様性の成因は明らかにされていない。

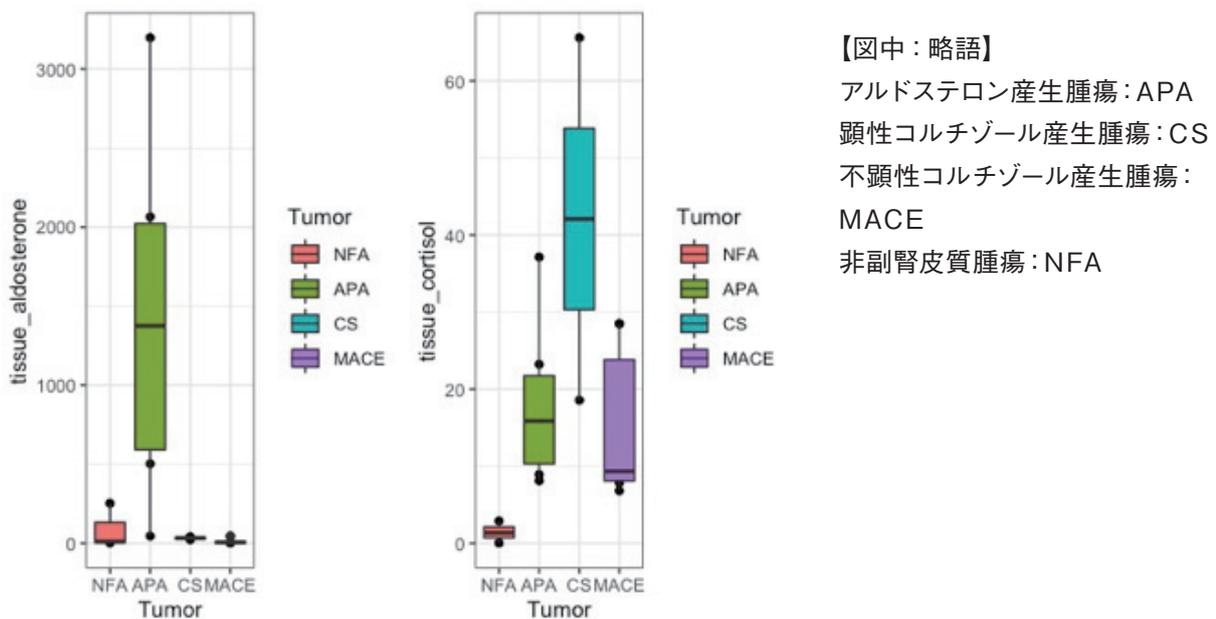
本研究では副腎皮質腫瘍を対象として液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC/MS/MS）によるメタボロミクスを基盤とした、腫瘍組織の統合解析から副腎皮質腫瘍における代謝特性の多様性の成因を明らかにする。

結 果

1) 組織メタボロミクスに基づくステロイド代謝産物の評価

アルドステロン産生腫瘍、顕性コルチゾール産生腫瘍、不顕性コルチゾール産生腫瘍、非副腎皮質腫瘍を対象として、LC/MS/MSを用いて組織中のアルドステロン、コルチゾールの定量を行った。アルドステロンについては、アルドステロン産生腫瘍においてのみ有意な上昇がみられたが、コルチゾールにおいては、興味深いことにアルドステロン産生腫瘍は不顕性コルチゾール産生腫瘍と同程度のコルチゾール過剰分泌がみられた。

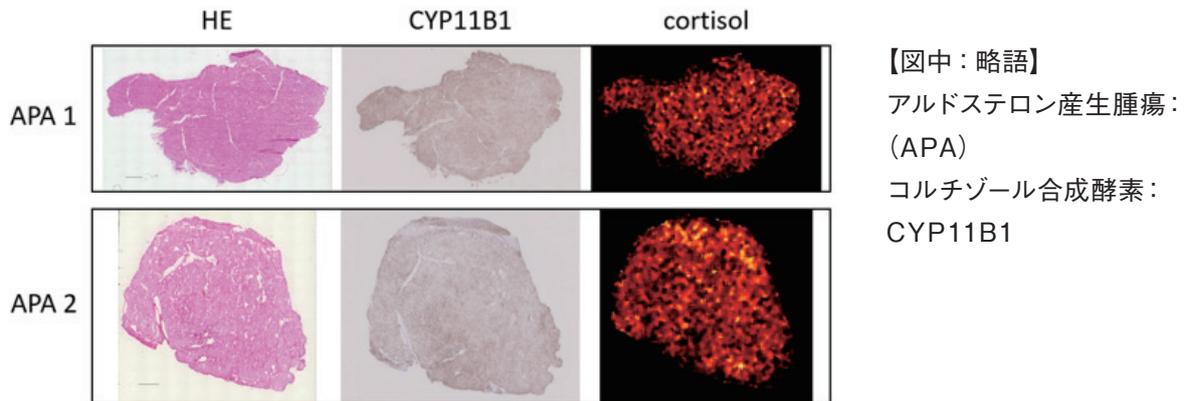
図1：副腎皮質腫瘍における組織中ステロイド代謝産物の比較



2) イメージング質量顕微鏡に基づくステロイド代謝産物の可視化

アルドステロン産生腫瘍における、腫瘍内コルチゾール合成の局在を評価する目的で、代謝産物の可視化法として、最新技術であるイメージング質量顕微鏡を用いた解析を行なった。免疫組織学染色のコルチゾール合成酵素（CYP11B1）の局在と一致して、コルチゾール合成が腫瘍内で均一的に行われることを同定した。

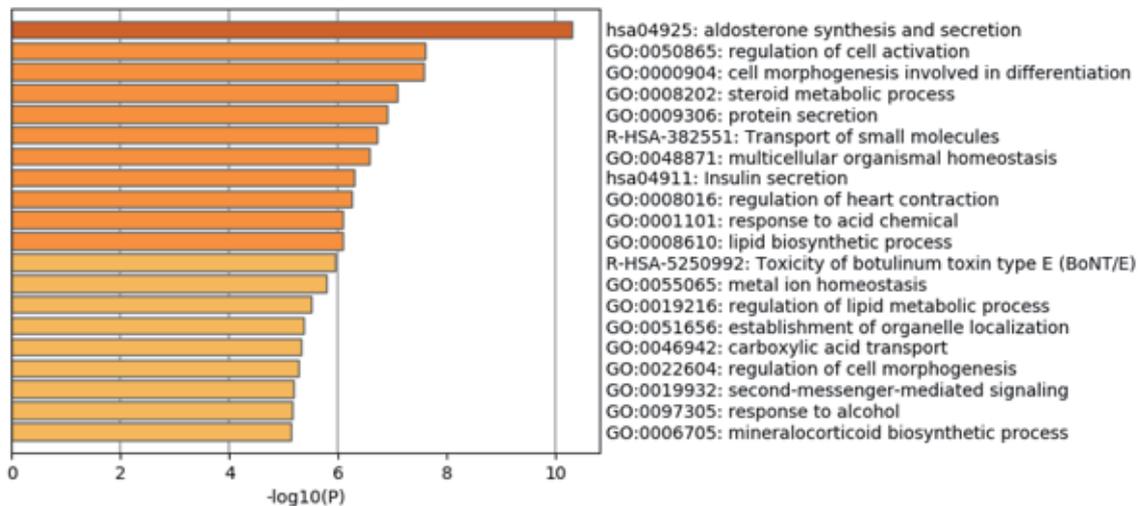
図2：イメージング質量顕微鏡による組織中コルチゾールの可視化および定量



3) RNA-seq に基づくステロイド代謝系関連遺伝子の評価

アルドステロン産生腫瘍およびコルチゾール分泌が緩徐である、不顕性コルチゾール産生腫瘍を対象として、RNA-seqを施行した。315遺伝子に発現変動が確認され、予想通りAPAにおいてアルドステロン合成に関連するパスウェイがエンリッチされた(図3)。一方で、steroid metabolic process パスウェイ (27 遺伝子) もエンリッチされていたが、コルチゾール合成に関連する遺伝子発現は両腫瘍において差異は検出されなかった。

図3：発現変動遺伝子に基づくエンリッチメント解析



考 察

従来、アルドステロン産生腫瘍はコルチゾール産生を伴わない腫瘍と考えられていたが、本研究により、組織中のコルチゾール合成は不顕性コルチゾール産生腫瘍と同程度行われていることが明らかになった。一方で遺伝子発現解析においては、両腫瘍間でステロイド代謝関連27遺伝子に差異が確認されたが、コルチゾール合成の最終経路であるCYP11B1は両

腫瘍で差が確認されなかった。更なる研究の進展として、網羅的な組織中ステロイド産物測定技術の開発を進めており、遺伝子発現変動が得られたステロイド代謝産物を中心として、副腎皮質腫瘍の代謝特性の多様性の解明を進めている。

要 約

本研究では、副腎皮質腫瘍の代謝特性の解明を目的として、代表的な副腎皮質腫瘍である、アルドステロン産生腫瘍を対象として、メタボロミクスを基盤とした副腎皮質腫瘍組織の解析を行った。アルドステロン産生腫瘍におけるコルチゾール合成を組織学的に明らかにし、副腎皮質腫瘍における代謝特性の多様性解明の一助となる成果を得た。

文 献

1. Diana Lopez, Miguel Angel Luque-Fernandez, Amy Steele, Gail K Adler , Alexander Turchin, Anand Vaidya, "Nonfunctional" Adrenal Tumors and the Risk for Incident Diabetes and Cardiovascular Outcomes: A Cohort Study”, **Ann. Intern. Med.** 165: 533-542, 2016
2. Murim Choi 1, Ute I Scholl, Peng Yue, Peyman Björklund, Bixiao Zhao, Carol Nelson-Williams, Weizhen Ji, Yoonsang Cho, Aniruddh Patel, Clara J Men, Elias Lolis, Max V Wisgerhof, David S Geller, Shrikant Mane, Per Hellman, Gunnar Westin, Göran Åkerström, Wenhui Wang, Tobias Carling, Richard P Lifton, “K+ channel mutations in adrenal aldosterone-producing adenomas and hereditary hypertension”, **Science**. 331: 768-772, 2011
3. Yusuke Sato, Shigekatsu Maekawa, Ryohei Ishii, Masashi Sanada, Teppei Morikawa, Yuichi Shiraishi, Kenichi Yoshida, Yasunobu Nagata, Aiko Sato-Otsubo, Tetsuichi Yoshizato, Hiromichi Suzuki, Yusuke Shiozawa, Keisuke Kataoka, Ayana Kon, Kosuke Aoki, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Haruki Kume, Satoru Miyano, Masashi Fukayama, Osamu Nureki, Yukio Homma, Seishi Ogawa, **Science**. 344: 917-920, 2014
4. Wiebke Arlt , Katharina Lang, Alice J Sitch, Anna S Dietz, Yara Rhayem, Irina Bancos, Annette Feuchtinger, Vasileios Chortis, Lorna C Gilligan, Philippe Ludwig, Anna Riester, Evelyn Asbach, Beverly A Hughes, Donna M O'Neil, Martin Bidlingmaier, Jeremy W Tomlinson, Zaki K Hassan-Smith, D Aled Rees, Christian Adolf, Stefanie Hahner, Marcus Quinkler, Tanja Dekkers, Jaap Deinum, Michael Biehl, Brian G Keevil, Cedric Hl Shackleton, Jonathan J Deeks, Axel K Walch, Felix Beuschlein, Martin Reincke, “Steroid metabolome analysis reveals prevalent glucocorticoid excess in primary aldosteronism”, **JCI Insight**. 2: e93136, 2017
5. Yokomoto-Umakoshi M, Sakamoto R, Umakoshi H, Matsuda Y, Nagata H, Fukumoto T, Ogata M, Ogawa Y; Q-AND-A study group, “Unilateral primary aldosteronism as an independent risk factor for vertebral fracture”, **Clin Endocrinol (Oxf)** . 92:206-213, 2020.