

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04852

研究課題名(和文) 原発性アルドステロン症の遺伝子変異を基盤とした新たな診断・治療・病態モデルの開発

研究課題名(英文) Insight into mechanisms underlying Primary aldosteronism

研究代表者

山田 正信 (Masanobu, Yamada)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90261833

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：高血圧症は、本邦の死因の約1/3をしめる動脈硬化性疾患の最大の原因である。近年、その約10%を原発性アルドステロン症(PA)が原因であることが明らかとなった。本研究では、PAの最大の原因であるアルドステロン産生腺腫の体細胞遺伝子変異を導入したモデルマウスや変異発現細胞株を作成、また人における術前術後の血清プロテオーム解析を行い、腫瘍発生の原因と高い心脳血管障害の発生の原因を解明する。

研究成果の概要(英文)：Hypertension is the greatest cause of arteriosclerotic disease that accounts for about 1/3 of the cause of death in Japan. In recent years, it was revealed that about 10% of it is caused by primary aldosteronism (PA). In this study, we made model mice and cell lines introducing somatic mutations of aldosterone producing adenomas, and also performed a proteome analysis of serum before and after the surgery to investigate mechanisms underlying tumorigenesis of PA and cause of high occurrence of cardiovascular disorders in patients with PA.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：原発性アルドステロン症 高血圧症 腫瘍発生

1. 研究開始当初の背景

本邦の死因の約 1/3 は心脳血管障害が占め、高血圧症が最大の危険因子である。高血圧症の罹患者数は本邦では約 4500 万人とされ、その約 10%は原発性アルドステロン症が原因であり心脳血管障害を極めて高率に併発する。

私たちは本邦のアルドステロン産生腫瘍の約 70%はカリウムチャンネル KCNJ5 の極めて強いホットスポットを持つ体細胞変異が原因であることを発見した。

2. 研究の目的

本研究では、この KCNJ5 変異による病態モデルを作製し腫瘍発症機構と心脳血管障害発症機構を明らかとし、これらのバイオマーカーを探索すると同時に、変異に結合し機能を阻害する特異的抗体や人工核酸アプタマーを作製し、新たな診断法や治療法を開発することを目的とした。

究極的には KCNJ5 遺伝子変異による小さな過形成を腫瘍が発生する前に介入し発症予防することを目指す。

3. 研究の方法

1) 初めに病態モデルとなる副腎特異的 KCNJ5 変異発現トランスジェニックマウスや変異 KCNJ5 ノックインマウスを作製する。

2) アルドステロン産生腫瘍、可能であれば KCNJ5 変異により特異的に誘導される血清バイオマーカーを明らかとするため、アルドステロン産生腺腫の患者さんの術全と術後の血清のプロテオーム解析を行う。

3) KCNJ5 変異を恒常的に発現する細胞株を樹立し、マイクロアレイ解析などにより腫瘍化に必要な機構を検討する。

4) ホットスポットに結合し機能を阻害する特異的抗体や人工核酸アプタマーを作製する。

4. 研究成果

1) 副腎特異的 SF-1 プロモーターでドライブされる KCNJ5 変異発現トランスジェニックマウスを作成した。しかし、副腎腫瘍は発生せず引き続き解析中。

2) 変異 KCNJ5 ノックインマウスも ES 細胞の相同遺伝子組み換え受精卵への injection によりキメラマウスを作成後、F1 マウスを得た。現在バッククロスを継続し、腫瘍の発生や血清アルドステロン濃度などを測定している。

3) 術前術後の血清を比較したプロテオーム解析により、アディポネクチンに加え、補体系やアポ蛋白に変化が多いことが判明し、詳細を解析中。

4) 変異 KCNJ5 を恒常的に発現する H295 細胞を樹立し、マイクロアレイ解析を行った。アポトーシス関連の遺伝子群に変化を認め詳細を解析中。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 16 件)

1. Naruse M, Satoh F, Tanabe A, Okamoto T, Ichihara A, Tsuiki M, Katabami T, Nomura M, Tanaka T, Matsuda T, Imai T, Yamada M, Harada T, Kawata N, Takekoshi K. Efficacy and safety of metyrosine in pheochromocytoma/paraganglioma: a multi-center trial in Japan. 査読有、Endocr J. Mar 28;65(3):359-371. doi:10.1507/endocrj.EJ17-0276
2. Toda K, Ishii S, Yasuoka H, Nishioka M, Kobayashi T, Horiguchi K, Tomaru T, Ozawa A, Shibusawa N, Satoh T, Koshi H, Segawa A, Shimizu SI,

- Oyama T, Yamada M. Adrenal Ewing's Sarcoma in an Elderly Man. 査読有、Intern Med. 2017 Dec 21. doi: 10.2169/internalmedicine.8892-17. [Epub ahead of print]
3. Fujita H, Kataoka Y, Nagano R, Nakajima Y, Yamada M, Sugimoto N, Kuwahara M. Specific Light-Up System for Protein and Metabolite Targets Triggered by Initiation Complex Formation. 査読有、Sci Rep. 2017 7:15191
 4. Yuasa-Shibasaki E, Ishii S, Matsumoto S, Tomaru T, Horiguchi K, Osaki A, Ozawa A, Shibusawa N, Satoh T, Yamada M. Hypercalcemia after the Discontinuation of Medroxyprogesterone Acetate. 査読有、Intern Med. 2017 Dec 8. doi: 10.2169/internalmedicine.9036-17.
 5. Lacroix A, Gu F, Gallardo W, Pivonello R, Yu Y, Witek P, Boscaro M, Salvatori R, Yamada M, Tauchmanova L, Roughton M, Ravichandran S, Petersenn S, Biller BMK, Newell-Price J; Pasireotide G2304 Study Group. Efficacy and safety of once-monthly pasireotide in Cushing's disease: a 12 month clinical trial. 査読有、Lancet Diabetes Endocrinol. 2018 Jan;6(1):17-26. doi: 10.1016/S2213-8587(17)30326-1.
 6. Hashimoto K, Nishihara E, Matsumoto M, Matsumoto S, Nakajima Y, Tsujimoto K, Yamakage H, Asahara-Satoh N, Noh JY, Ito K, Miyauchi A, Mori M, Yamada M, Ogawa Y. Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin I as a Novel Predictive Biomarker for Relapse in Graves' Disease-A multicenter study. 査読有、Thyroid. Jan;28(1):50-59. doi: 10.1089/thy.2017.0244.
 7. Sapkota S, Horiguchi K, Tosaka M, Yamada S, Yamada M. Whole-Exome Sequencing Study of Thyrotropin-Secreting Pituitary Adenomas. J Clin Endocrinol Metab. 2017 Feb 1;102(2):566-575. doi: 10.1210/jc.2016-2261.
 8. Okano Y, Satoh T, Horiguchi K, Toyoda M, Osaki A, Matsumoto S, Tomaru T, Nakajima Y, Ishii S, Ozawa A, Shibusawa N, Shimada T, Higuchi T, Chikamatsu K, Yamada M. Nivolumab-induced hypophysitis in a patient with advanced malignant melanoma. 査読有、Endocr J. 2016 63:905-912.
 9. Okamura T, Nakajima Y, Katano-Toki A, Horiguchi K, Matsumoto S, Yoshino S, Yamada E, Tomaru T, Ishii S, Saito T, Ozawa A, Shibusawa N, Satoh T, Okada S, Nagaoka R, Takada D, Horiguchi J, Oyama T, Yamada M. Characteristics of Japanese aldosterone-producing adenomas with KCNJ5 mutations. 査読有、Endocr J. 2017 Jan 30;64(1):39-47. doi: 10.1507/endocrj.EJ16-0243.
 10. Yamada E, Okada S, Bastie CC, Vatish M, Nakajima Y, Shibusawa R, Ozawa A, Pessin JE, Yamada M. Fyn phosphorylates AMPK to inhibit AMPK activity and AMP-dependent activation of autophagy. 査読有、Oncotarget. 2016 Nov 15;7(46):74612-74629. doi: 10.18632/oncotarget.11916.
 11. Saito T, Okada S, Shimoda Y, Tagaya Y, Osaki A, Yamada E, Shibusawa R, Nakajima Y, Ozawa A, Satoh T, Mori M, Yamada M. APPL1 promotes glucose uptake in response to mechanical stretch via the PKC ζ -non-muscle myosin IIa pathway in C2C12 myotubes. 査読有、Cell Signal. 2016 Nov;28(11):1694-702. doi: 10.1016/j.cellsig.2016.07.010.
 12. Nikitski A, Saenko V, Shimamura M, Nakashima M, Matsuse M, Suzuki K, Rogounovitch T, Bogdanova T, Shibusawa N, Yamada M, Nagayama Y, Yamashita S, Mitsutake N. Targeted Foxe1 Overexpression in Mouse Thyroid Causes the Development of Multinodular Goiter But Does Not Promote Carcinogenesis. 査読有、Endocrinology. 2016 May;157(5):2182-95. doi: 10.1210/en.2015-2066.
 13. Sawada Y, Ishii S, Koga Y, Tomizawa T, Matsui A, Tomaru T, Ozawa A, Shibusawa N, Satoh T, Shimizu H, Hirato J, Yamada M. Reversible Hypopituitarism Associated with Intravascular Large B-Cell Lymphoma: Case Report of Successful Immunochemotherapy. 査読有、Tohoku J Exp Med. 2016 Mar;238(3):197-203. doi: 10.1620/tjem.238.197

14. Nakajima Y, Okamura T, Horiguchi K, Gohko T, Miyamoto T, Satoh T, Ozawa A, Ishii S, Yamada E, Hashimoto K, Okada S, Takata D, Horiguchi J, Yamada M. GNAS mutations in adrenal aldosterone-producing adenomas. 査読有、Endocr J. 2016;63(2):199-204. doi: 10.1507/endocrj.EJ15-0642.
15. Shimoda Y, Okada S, Yamada E, Pessin JE, Yamada M. Tctex1d2 is a negative regulator of GLUT4 translocation and glucose uptake. 査読有、Endocrinology. 2015 Oct;156(10):3548-58. doi: 10.1210/en.2015-1120. Epub 2015 Jul 22.
16. Okamura T, Nakajima Y, Satoh T, Hashimoto K, Sapkota S, Yamada E, Okada S, Fukuda J, Higuchi T, Tsushima Y, Yamada M. Changes in visceral and subcutaneous fat mass in patients with pheochromocytoma. 査読有、Metabolism. 2015 Jun;64(6):706-12. doi: 10.1016/j.metabol.2015.03.004.

[学会発表] (計 5 件)

- 1, 中島 康代 本邦の原発性アルドステロン症における病態と原因解明～私の診療・研究歴～ 第 18 回日本内分泌学会関東甲信越学術集会 招待講演 2017
- 2, 中島 康代, 佐藤哲郎, 山田正信 潜在性甲状腺機能低下症とメタボリック症候群 第 90 回日本内分泌学会学術総会 クリニカルアワー 2017
- 3, 中島 康代: KCNJ5 変異と原発性アルドステロン症 第 24 回臨床内分泌代謝 Update 大宮 2014 (シンポジウム)
- 4, 中島康代, 岡本孝志, 渋沢信行, 小澤厚志, 堀口和彦, 橋本貢士, 佐藤哲郎, 佐々木努, 北村忠弘, 山田正信 下垂体の機能調節に関わる新規分子の解明 TRH ノックアウトマウスを用いた新たな生理活性経路の探索 第 87 回日本内分泌学会学術総会 東京 2014 (シンポジウム)
- 5, 山田正信, 中島康代, 岡村孝史, 原発性アルドステロン症の遺伝子変異と病態 日本内分泌学会学術集会, 4月23日～25日 2014年 福岡 (教育講演)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 2 件)
名称: P R K A C A 遺伝子を使用したクッシング症候群を呈するコルチゾール産生腫瘍の検査方法
発明者: 山田 正信, 中島 康代, 堀口 和彦, 岡村 孝志
権利者: 群馬大学
種類: 特許
番号: 特開 2016-10335
取得年月日: 平成 28 年 1 月 21 日
国内外の別: 国内

名称: KCNJ5 遺伝子を利用したアルドステロン産生腺腫の検査方法およびアルドステロン産生腺腫治療薬のスクリーニング方法
発明者: 山田 正信, 中島 康代, 田口 亮
権利者: 群馬大学
種類: 特許
番号: 特開 2013-172705
取得年月日: 平成 25 年 9 月 5 日
国内外の別: 国内

[その他]
<http://naibunpi.showa.gunma-u.ac.jp>

6. 研究組織
- (1) 研究代表者
山田 正信 (YAMADA Masanobu)
群馬大学大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 90261833
- (2) 研究分担者
桑原 正靖 (KUWAHARA Masayasu)
群馬大学大学院理工学府・准教授
研究者番号: 40334130
- (3) 研究分担者
佐藤 哲郎 (SATO Tetsuro)
群馬大学大学医学部附属病院・講師
研究者番号: 40302484
- (4) 研究分担者
渋沢 信行 (SIBUSAWA Nobuyuki)
群馬大学大学医学部附属病院・助教
研究者番号: 90396622
- (5) 研究分担者
小澤 厚志 (OZAWA Atsushi)
群馬大学大学医学部附属病院・助教
研究者番号: 10573496
- (6) 研究分担者
中島 康代 (NAKAJIMA Yasuyo)
群馬大学大学医学部附属病院・助教
研究者番号: 70707017