

令和 5 年 5 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20888

研究課題名(和文)メタボロミクスを用いたアルドステロン産生腺腫の新規バイオマーカーの探索

研究課題名(英文)Development of a novel biomarker for aldosterone-producing adenomas

研究代表者

手塚 雄太 (Tezuka, Yuta)

東北大学・大学病院・医員

研究者番号：50854642

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、原発性アルドステロン症(PA)計29症例(アルドステロン産生腺腫、特発性アルドステロン症)を対象として副腎静脈血および末梢血でのメタボローム解析を実施した。脂質や低分子化合物を中心とする628個の測定項目のうち、病型間で副腎静脈血および末梢血に一貫性のある有意差がみられた項目は30項目程度であり、これらが原発性アルドステロン症の新規病型診断マーカーの候補分子であると判断した。続いて、症例数の増加、他条件の追加、サブグループでの解析を予定したが、世界情勢の影響を受けてメタボローム解析に使用するMxP Quant 500キットの価格高騰があり、研究期間中の測定解析は上記に留まった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通して、原発性アルドステロン症の中でも、腫瘍性あるいは非腫瘍性といったアルドステロン産生病変の差異により、血中代謝物も異なる分泌動態を示すことが明らかとなった。また、原発性アルドステロン症の病型診断マーカーとなりうる分子を30項目程度まで絞り込むことができた。現行の診断法はレニン、アルドステロン、他ステロイドホルモンによるものが提唱されているが、それらは併用薬や測定環境の影響を受けやすいことが欠点である。上記候補分子はその点において影響を受けにくく、今後の原発性アルドステロン症診療をより簡便に、かつ効率的に改善することが期待され、健康寿命の延伸に寄与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, metabolome analysis was performed using plasma samples from 29 cases with primary aldosteronism (PA; aldosterone-producing adenomas and bilateral hyperaldosteronism). Of 628 parameters measured by liquid-chromatography mass-spectrometry, around 30 molecules were identified as a potential diagnostic biomarker based on the differences between unilateral and bilateral PA subtypes. Although the number of examined samples was not enough for planned statistical analysis, skyrocketing cost of the MxP Quant 500 kit precluded second measurement of metabolome using additional samples.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：原発性アルドステロン症 アルドステロン産生腺腫

1. 研究開始当初の背景

原発性アルドステロン症 (PA) は、全高血圧症の 5-10% を占める、最も頻度の高い内分泌性高血圧症である。本態性高血圧症と比較して、PA では脳・心血管リスクが 1.7-2.5 倍と高く (Monticone et al, 2018) 治療開始時期、そして治療内容が予後を規定する。中でも、アルドステロン産生腺腫に伴う PA では、両側性病変 (いわゆる特発性アルドステロン症) より合併症リスクが高く、アルドステロン産生腺腫の早期手術加療による臓器障害の最小化が、健康寿命の延伸に必須である。

PA 診断法については、長年に亘り、レニン、アルドステロン値に基いた精度検証および改良が行われてきた。現行の診断プロセスは、スクリーニング検査、機能確認検査、そして局在診断の 3 つのステップにより構成される。申請者の施設では、新規測定系の確立によりスクリーニング検査の迅速化を図り (Morimoto et al, 2017) 局在診断手法を進展させることで病型診断法の精緻化を行い (Satoh et al, 2015) 診断正確性の向上に尽力してきた。しかし、未だに既存のスクリーニング検査や機能確認検査の判断基準の再設定について議論を要しており (Umakoshi et al, 2020; Nagano et al, 2020) また、2021 年度にはアルドステロン測定法の移行も行われたため、日常診療ではどのように PA を診断していくべきか、一定の見解が得られていなかった。また、以前からの問題として、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系 (RAAS) の評価では内服薬の影響は避けられず、RAAS 阻害薬や遮断薬継続内服症例での PA 診断は困難であった。また、診断確定までに数ヶ月を要し (Brown et al, 2017) 病型診断法の実施可能施設が限定されるなど、現行の診断法は効率性に課題を抱えていた。実際に、PA 罹病率が 20% 程度と推定される治療抵抗性高血圧症症例群での PA スクリーニング率は 1.6% と極めて低く (Cohen et al, 2021) 脳心血管疾患リスク上昇の主な原因となっていた。

本研究開始時点で、欧米では臨床データの機械学習を用いた予測スコアが報告されており (Burrello et al, 2021) また、質量分析計を用いたバイオマーカーについても、ステロイドプロファイルを中心に、PA スクリーニングおよび病型診断への応用可能性は報告されつつあった (Eisenhofer et al, 2016; Erlic et al, 2021) 。しかし、レニン、アルドステロン値に依存した診断ツールであることから内服薬などの検査条件の影響を受けやすく、精度も改善の余地があり、実臨床への応用には至っていなかった。本邦でも同様に、RAAS 以外の要素に基づく PA の診断手法は検討されていなかった。そこで、申請者は、液体クロマトグラフィ・質量分析計 (LC-MS) を用いた血中メタボローム解析を用いて、PA の診断を効率的に行うことができないか、検討を行った。PA は、アルドステロン産生腺腫と特発性アルドステロン症に病型分類されるが、両者の副腎には病理組織学的に腫瘍性変化と非腫瘍性変化の大きな違いがあり、ステロイド合成酵素の発現にも差異がみられる。アルドステロン産生腺腫を要する PA 症例であれば、腫瘍の存在が血中メタボロームに特徴的な影響を与えうると考えた。すなわち、手術適応であるアルドステロン産生腺腫に特異的なバイオマーカーを同定しようと、本研究の発想に至った。本研究を通して、RAAS に依存しない新規バイオマーカーの確立し、診断プロセスの簡略化、普及が得られ、PA 診療におけるアンメットニーズの解消が期待された。

2. 研究の目的

上記背景より、本研究は、アルドステロン産生腺腫の存在診断となり得る新規バイオマーカーを同定することを目的とした。研究期間内に以下の 2 点を主軸とする実験、検討を予定した。

1. LC-MS による副腎静脈血中バイオマーカーの探索
メタボローム解析により、アルドステロン産生腺腫に特異的な候補分子を選別する。
2. アルドステロン産生腺腫を識別し得る末梢血中バイオマーカーの同定
選別された候補分子の末梢血中濃度を測定し、病型診断に応用可能な分子を同定する。

申請者の所属する東北大学病院では選択的副腎静脈サンプリングを実施しており、通常の副腎静脈血検体に加え、当施設独自の検体として副腎静脈の分支静脈血検体も保管している。同検体の使用により、必要時、1 つの副腎内でも分画毎にメタボローム評価が可能であると考えた。本研究のための LC-MS 測定技術は、東北メディカル・メガバンク内で検証、改良を行い、末梢血、副腎静脈血中のメタボローム解析への応用が可能であった。また、ステロイドプロファイルに着目した予備的検討では、アルドステロン産生腺腫の症例群で複数のステロイドホルモンの産生亢進を確認しており、さらに、末梢血中ステロイドプロファイルの PA 病型診断能は、ROC 曲線下面積が 90% 以上を示し、病型診断ツールとしての有用性が示唆されていた。本研究ではステロイドプロファイル以外の脂質を中心とするメタボローム解析により、より簡便かつ効率的にアルドステロン産生腺腫をスクリーニング可能な新規バイオマーカー同定を試みた。

3. 研究の方法

本研究では、はじめに、当院で診療し、末梢血および副腎静脈血を保管し得た PA 症例リストを作成し、副腎静脈サンプリングの結果および手術症例では摘出副腎標本より、アルドステロン産生腺腫に伴う PA 症例、と 両側性 PA、そして その他の PA に分類した。本研究の目的は の症例群の新規診断マーカーの確立であることから、対象である の症例、そして、その対照群となる の症例について、診断時の検査所見を詳細に確認し、本研究への組入を検討した。

次に、上記にて組み入れた症例をもとに、血中メタボローム解析用となる副腎静脈血検体、末梢血検体について、LC-MS 測定に必要な検体量の確認を行い、東北メディカル・メガバンクでのメタボローム解析を実施した。測定は MxP Quant 500 キットを用いて行った。その後、各測定項目の測定結果について信頼性を確認し、検討および統計解析に使用可能な測定項目の絞り込みを行った。

続いて、上記にて得られた測定項目について、対象症例とその対照群において、副腎静脈血および末梢血のそれぞれで有意差がみられる測定項目を抽出し、さらに副腎静脈血と末梢血で両群の関係性が同じとなる項目を絞り込み、新規病型診断マーカーの候補分子とした。

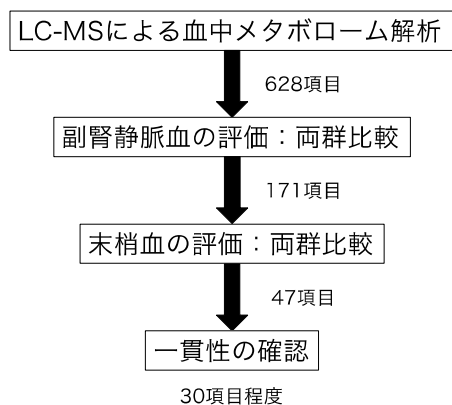
最後に、その候補分子を標的として、他症例群を用いた病型診断における有用性の検証を予定した。

4. 研究成果

本研究の対象となりうる症例/使用可能な検体を確認し、後ろ向き研究として本研究実施のため当学倫理委員会に研究倫理申請手続きを行った(2022-1-170)。次に、臨床情報などから対象症例の選定を行い、副腎静脈血でのメタボローム解析に計 40 検体(アルドステロン産生腺腫、特発性アルドステロン症)、末梢血でのメタボローム解析に計 100 検体(PA、本態性高血圧症)を確保した。PA の病型診断については、副腎静脈サンプリング(分支採血を含む)の結果を全て確認し、典型的なアルドステロン産生腺腫、あるいは両側性アルドステロン過剰分泌の所見がみられることを確認した。一方、PA および本態性高血圧症の診断については、カプトプリル負荷試験や生理食塩水負荷試験など機能確認検査に加え、腎動脈超音波検査や睡眠時無呼吸症候群など、十分な二次性高血圧症の成因精査が実施されていることを確認した。更に、メタボローム解析を実施する東北メディカルメガバンクの研究者とのミーティングも開催し、本研究の意義・目的、研究手順の確認、実験に使用する血漿検体の詳細、実験開始までのプロセスを共有した。

LC-MS による初回測定は、測定キットの検体数制限に基づき、PA 計 29 症例(アルドステロン産生腺腫 19 症例、特発性アルドステロン症 10 症例)を対象として副腎静脈血および末梢血のメタボローム解析を実施した。副腎静脈血の解析は初めてであったが特段の問題なくメタボロームの測定は可能であり、アルドステロン産生腺腫灌流域、非腫瘍灌流域の両方の副腎静脈血を解析した。今回の解析では(右図)脂質や低分子化合物を中心とする 628 個の測定項目のうち、測定可能域のデータが得られ、かつ、病型間での有意差がみられた項目は、副腎静脈血で 171 項目であった。そのうち両群間で末梢血中の差異がみられた分子は 47 項目に絞られた。次に各項目につき副腎静脈血と末梢血中濃度の比較を行い、病型間比較で矛盾のない副腎静脈血および末梢血中濃度(どちらも高値あるいは低値)を示した項目が 30 項目程度であり、これらが原発性アルドステロン症の新規病型診断マーカーの候補分子であると判断した。

続いて、症例数の増加、他条件の追加、サブグループでの解析を予定したが、世界情勢の影響を受けてメタボローム解析に使用する MxP Quant 500 キットの価格高騰があり、研究期間中の測定解析は上記に留まった。そのため、一般住民コホートおよびコントロール血漿(NIST SRM 1950)の定量値も参照し、各項目の原発性アルドステロン症への特異性についても検討した。今後、上記病型診断マーカー候補分子の絞り込み、診断能検証を予定している。



新規診断マーカー候補分子の絞り込み

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nezu Kunihisa, Kawasaki Yoshihide, Morimoto Ryo, Ono Yoshikiyo, Omata Kei, Tezuka Yuta, Shimada Shuichi, Satake Youhei, Katayama Hiromichi, Sato Takuma, Kawamorita Naoki, Yamashita Shinichi, Takahama Hiroyuki, Mitsuzuka Koji, Satoh Fumitoshi, Ito Akihiro	4. 巻 259
2. 論文標題 Impact of Adrenalectomy on Diastolic Cardiac Dysfunction in Patients with Primary Aldosteronism	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Tohoku Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 229 ~ 236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.2022.J117	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Williams Tracy Ann, Gong Siyuan, Tsurutani Yuya, Tezuka Yuta, Thuzar Moe, Burrello Jacopo, Wu Vin-Cent, Yamazaki Yuto, Mulatero Paolo, Sasano Hironobu, Stowasser Michael, Nishikawa Tetsuo, Satoh Fumitoshi, Reincke Martin	4. 巻 10
2. 論文標題 Adrenal surgery for bilateral primary aldosteronism: an international retrospective cohort study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Lancet Diabetes & Endocrinology	6. 最初と最後の頁 769 ~ 771
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/S2213-8587(22)00253-4	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oguro Sota, Morimoto Ryo, Seiji Kazumasa, Ota Hideki, Kinoshita Tomo, Kawabata Masahiro, Ono Yoshikiyo, Omata Kei, Tezuka Yuta, et al.	4. 巻 12
2. 論文標題 Safety and feasibility of radiofrequency ablation using bipolar electrodes for aldosterone-producing adenoma: a multicentric prospective clinical study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14090 ~ 14090
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-18136-5	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakakibara Hiroyuki, Seiji Kazumasa, Oguro Sota, Mori Kenji, Omata Kei, Tezuka Yuta, Ono Yoshikiyo, Morimoto Ryo, Masuda Takuya, Miyamoto Hisao, Hirao Takuya, Niwa Yuki, Suzuki Yohei, Baba Yasutaka, Satoh Fumitoshi, Takase Kei	4. 巻 45
2. 論文標題 Transvenous Radiofrequency Ablation of Adrenal Gland: Experimental Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 CardioVascular and Interventional Radiology	6. 最初と最後の頁 1178 ~ 1185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00270-022-03155-6	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Harashima Shogo, Yamazaki Yuto, Motomura Naoki, Ono Yoshikiyo, Omata Kei, Tezuka Yuta, Morimoto Ryo, Nakamura Yasuhiro, Satoh Fumitoshi, Suzuki Hiroyoshi, Kwon Go Eun, Choi Man Ho, Sasano Hironobu	4. 巻 221
2. 論文標題 Phenotype-genotype correlation in aldosterone-producing adenomas characterized by intracellular cholesterol metabolism	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 106116 ~ 106116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsbmb.2022.106116	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tezuka Yuta, Ito Sadayoshi	4. 巻 24
2. 論文標題 The Time to Reconsider Mineralocorticoid Receptor Blocking Strategy: Arrival of Nonsteroidal Mineralocorticoid Receptor Blockers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Hypertension Reports	6. 最初と最後の頁 215 ~ 224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11906-022-01177-6	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Motomura Naoki, Yamazaki Yuto, Koga Daiki, Harashima Shogo, Gao Xin, Tezuka Yuta, Omata Kei, Ono Yoshikiyo, Morimoto Ryo, Satoh Fumitoshi, Nakamura Yasuhiro, Kwon Go Eun, Choi Man Ho, Ito Akihiro, Sasano Hironobu	4. 巻 23
2. 論文標題 The Association of Cholesterol Uptake and Synthesis with Histology and Genotype in Cortisol-Producing Adenoma (CPA)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2174 ~ 2174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23042174	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Motomura Naoki, Yamazaki Yuto, Gao Xin, Tezuka Yuta, Omata Kei, Ono Yoshikiyo, Morimoto Ryo, Satoh Fumitoshi, Nakamura Yasuhiro, Shim Jaeyoon, Choi Man Ho, Ito Akihiro, Sasano Hironobu	4. 巻 218
2. 論文標題 Visualization of calcium channel blockers in human adrenal tissues and their possible effects on steroidogenesis in the patients with primary aldosteronism (PA)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 106062 ~ 106062
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsbmb.2022.106062	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tezuka Yuta, Ito Sadayoshi	4. 巻 NA
2. 論文標題 The Time to Reconsider Mineralocorticoid Receptor Blocking Strategy: Arrival of Nonsteroidal Mineralocorticoid Receptor Blockers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Hypertension Reports	6. 最初と最後の頁 NA
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11906-022-01177-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Motomura Naoki, Yamazaki Yuto, Koga Daiki, Harashima Shogo, Gao Xin, Tezuka Yuta, Omata Kei, Ono Yoshikiyo, Morimoto Ryo, Satoh Fumitoshi, Nakamura Yasuhiro, Kwon Go Eun, Choi Man Ho, Ito Akihiro, Sasano Hironobu	4. 巻 23
2. 論文標題 The Association of Cholesterol Uptake and Synthesis with Histology and Genotype in Cortisol-Producing Adenoma (CPA)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2174 ~ 2174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23042174	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Motomura Naoki, Yamazaki Yuto, Gao Xin, Tezuka Yuta, Omata Kei, Ono Yoshikiyo, Morimoto Ryo, Satoh Fumitoshi, Nakamura Yasuhiro, Shim Jaeyoon, Choi Man Ho, Ito Akihiro, Sasano Hironobu	4. 巻 218
2. 論文標題 Visualization of calcium channel blockers in human adrenal tissues and their possible effects on steroidogenesis in the patients with primary aldosteronism (PA)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 106062 ~ 106062
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsbmb.2022.106062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 1)Tezuka Y, Kei Omata, Yoshikiyo Ono, Ryo Morimoto, Sota Oguro, Kei Takase, Tetsuhiro Tanaka, Fumitoshi Satoh
2. 発表標題 A case series of unilateral primary aldosteronism treated by radiofrequency ablation.
3. 学会等名 ISH2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 手塚雄太、尾股慧、小野美澄、森本玲、小黒草太、高瀬圭、川崎芳英、伊藤明宏、山崎有人、鈴木貴、笹野公伸、田中哲洋、佐藤文俊。
2. 発表標題 6年の経過で重症化した両側性原発性アルドステロン症の一例。
3. 学会等名 第33回特定非営利活動法人東北内分泌研究会 / 第45回日本内分泌学会東北地方会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 手塚雄太、尾股慧、小野美澄、森本玲、小黒草太、高瀬圭、伊藤明宏、山内正憲、佐藤文俊、田中哲洋
2. 発表標題 ラジオ波焼灼術により寛解した片側性原発性アルドステロン症の1例。
3. 学会等名 第226回日本内科学会東北地方会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 手塚雄太、尾股慧、小野美澄、森本玲、田中哲洋、宮城重人、徳永英樹、高橋雅信、山崎有人、笹野公伸、佐藤文俊。
2. 発表標題 同時性重複癌を呈した副腎皮質癌の一例。
3. 学会等名 第18回副腎腫瘍研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 E.V.Lerma, J.M.Luther & S.Hiremath	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 240
3. 書名 Hypertension Secrets, 2nd edition	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------