岐阜大学機関リポジトリ
Gifu University Institutional Repository

正常副腎・アルドステロン自律産生副腎腺腫におけるCYP11B2多型とCYP11B2発現レベルの関連

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-07-16 キーワード (Ja): キーワード (En): CYP11B2, APA, -344T/C, K173R (Lysl73Arg) 作成者: 棚橋, 弘成, 宗, 友厚, 森田, 浩之 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/12367

正常副腎・アルドステロン自律産生副腎腺腫における *CYP11B2*多型と *CYP11B2*発現レベルの関連

棚橋　弘成*，宗　　友厚*，森田　浩之**，高橋　義人***，伊藤　　勇*，伊佐治真子*
磯村　幸範*，棚橋　哲也*，諏訪　哲也*，大洞　尚司*，出口　　隆***，安田　圭吾*

岐阜大学医学部免疫アレルギー内分泌学講座内分泌代謝病学分野*（主任安田圭吾教授）
岐阜大学医学部　総合診療部**
〃　　泌尿器科***

Association of Lys173Arg Polymorphism with *CYP11B2* Expression in Normal Adrenal Glands and Aldosterone Producing Adenoma

Hiromichi TANAHASHI*, Tomoatsu MUNE*, Hiroyuki MORITA**, Yoshihito TAKAHASHI***, Isamu ITO*, Mako ISAJI*, Yukinori ISOMURA*, Tetsuya TANAHASHI*, Tetsuya SUWA*, Hisashi DAIDO*, Takashi DEGUCHI***and Keigo YASUDA*

Department of Endcrinology, Diabetes and Rheumatology, Division of Bioregulatory Medicine, Gifu University School of Medicine

(Director: Prof. K. YASUDA)

Department of General Medicine, Gifu University School of Medicine
Department of Urology, Division of Organ Pothobiology, Gifu University School of Medicine

Aldosterone synthase (encoded by *CYP11B2*) converts11-deoxycorticosterone to aldosterone in adrenal zona glomerulosa and several frequent polymorphisms are described in *CYP11B2*. To investigate possible genetic heterogeneity in expression of this enzyme, we measured the mRNA levels in normal adrenal glands (N) and aldosterone-producing adenomas (APA), in relation to a K173R polymorphism in *CYP11B2*, which is in complete linkage disequilibrium with the promotor-344T/C polymorphism. The mRNA levels were quantitated by competitive RT-PCR methods normalized for GAPDH (G), and K173R was genotyped by RT-PCR followed by RFLP with Cvn I. The mRNA levels of *CYP11B2* as well as the ratios of *CYP11B2* to *CYP11B1* mRNA (B2/B1) were confirmed to be much higher in APA than in N. With regards to the K173R polymorphism, the logB2/G ratio in the KR genotype, the log B2/B1 ratio in the KK and KR genotype of N group were higher than those of RR genotype, and the logB2/B1ratio in the KK genotype of APA group was higher than that of RR genotype. In patients with APA, the loguAld was higher in KK genotype than that of RR genotype. Measurement of the bands intensities of KR genotype revealed that transcription efficiencies from 173R allele were estimated to be 52.1±3.9% (mean±SE, n＝5) of those from 173K. Our results showed that adrenal *CYP11B2* expression level might be genetically determined by the allelic variation of K173R, which completely links to promotor-344T/C polymorphism of *CYP11B2*.

Acta Sch Med Univ Gifu 51：38－43（2003）
Key words : *CYP11B2*, APA, -344T/C, K173R (Lys173Arg)

緒　　言

強力なミネラロコルチコイド作用を有するアルドステロンは，おもに腎集合管に作用してナトリウム・カリウムの再吸収や排泄を調節し，結果として体液量や血圧をコントロールしている。ヒト副腎皮質球状層でのアルドステロン合成には，$P450_{SCC}$ (cholesterol side chain cleavage enzyme)，3β-HSD (3β-hydroxysteroid dehydrogenase)，$P450_{C21}$ (21-hydrogenage) および $P450_{Ald}$ (aldosterone synthase) の4酵素が必要であり，その分泌は主にレニン－

2003年1月7日受理

アンギオテンシン系，さらにカリウムやACTH（adrenocorticotropic hormone）による制御を受けている。アルドステロン産生の主な規定因子とされる $P450_{Ald}$ をコードする遺伝子 *CYP11B2* は，副腎皮質束状層内でコルチゾール生合成を担う $P450_{c11}$（11β-hydroxylase）をコードする遺伝子 *CYP11B1* と隣接して，ヒト第8染色体上（8q24）に存在しているが，コード領域における各々の塩基配列相同性は約95%にも及ぶこと[1]が知られている。また，自律的なアルドステロン産生過剰により低カリウム血症を伴う低レニン性高血圧をきたす原発性アルドステロン症（primary aldosteronism; PA）[2]のうち，約7～9割を占めるとされるアルドステロン産生腺腫（aldostrone-producing adenoma; APA）では，腺腫組織中の *CYP11B2* 発現は増加しており[3]，転写因子を含めた発現制御機構の異常が示唆される。

CYP11B2 の promorter 領域には，オーファンレセプターの一つで副腎ステロイドホルモン合成酵素発現に必須の転写因子とされる SF-1[4]（steroidogenic facter-I/adrenal4-binding protein; Ad4BP）との想定結合部位に含まれる-344塩基上流部分が，シトシン（C）あるいはチミジン（T）塩基となる多型（-344C/T 多型）が知られている。さらに，第3エクソン内には promorter-344C/T 多型と連鎖するとされる Lys173Arg（K173R）多型が，また第2イントロンのほとんどの塩基配列が近接する *CYP11B1* の塩基配列に置き換わった遺伝子転換多型（intron 2 conversion 多型）も存在する[5)~7)]。近年，これらの多型と高血圧症との関連，さらにアルドステロン分泌・心室構造・心機能との関連についても検討されているが，既報[8]の如く未だに一致した結論に達していない。また基本的に，副腎皮質での *CYP11B2* 発現レベル自体にこれらの多型が関連しているのかどうかについては全く不明である。本研究では，ヒト正常副腎・APA 組織中の *CYP11B2* 発現レベルを定量し，cDNA サンプルを用いて検討可能な K173R 多型との関係について検討するとともに，APA 患者の臨床データと K173R 多型との関連について検討した。

対象と方法

1992から2000年までの間に岐阜大学医学部付属病院および関連病院にて片側副腎摘出術を受けた APA 患者25例（Table 1），腎癌手術時に得た正常副腎組織11例，およびクッシング症候群副腎腺腫17例，を対象とした。各組織は摘出後速やかに−80℃で冷凍保存した。なお，対象からはいずれも予め書面でインフォームドコンセントを得た。

血清電解質やホルモン測定は，早朝空腹時，AM 8～

Table 1　Clinical findings in APAs

NO.	Age yr	Gender	*Volume mm 3	K mEq/l	ACTH pg/ml	Cortisol μg/dl	PRA ngAl/ml・h	PAC pg/ml	uAld μg/day
1	52	F	10.5	2.6	24.2	10.0	trace	648	19.8
2	55	M	3.0	3.5	26.0	11.6	trace	307	15.2
3	41	M	15.1	2.1	13.4	10.9	trace	233	
4	47	F	5.6	3.1	15.9	8.9	0.30	462	
5	26	F	2.3	3.4	21.0	8.8	trace	407	28.1
6	51	M	2.3	3.3	13.4	10.1	trace	137	11.0
7	31	F	15.1	3.2			0.20	320	
8	41	M	9.4	3.4		8.4	trace	383	52.0
9	25	F	4.0	3.0	14.9	6.6	trace	184	7.9
10	58	F	12.9	2.9	21.1	14.7	trace	235	12.8
11	44	F	30.2	2.0	19.3	9.7	trace	1269	64.5
12	42	M	4.2	2.9	33.2	12.0	trace	201	13.3
13	47	F	7.2	2.3	29.0	9.8	trace	440	
14	56	F	8.5	2.8	23.8	17.7	trace	343	10.0
15	32	F	5.5	2.2	20.3	6.8	trace	345	33.7
16	55	M	16.9	3.3	17.8	19.8	trace	270	20.4
17	50	F	4.2	2.8	10.1	12.6	0.10	310	7.0
18	50	F	11.8	3.5	11.6	4.2	trace	466	16.0
19	35	M	24.4	2.6	34.0	10.7	0.30	590	23.2
20	48	F	16.0	3.1	13.9	7.0	0.10	141	16.0
21	32	M	8.2	2.9	34.0	12.1	0.10	370	33.0
22	34	F	20.1	3.4	21.0	16.4	trace	380	
23	58	M	2.1	3.0	20.0	6.0	0.10	110	12.0
24	32	M	27.1	3.0	24.0	8.0	trace	400	31.5
25	29	F	18.8	2.6	15.1	7.4	0.10	127	25.6

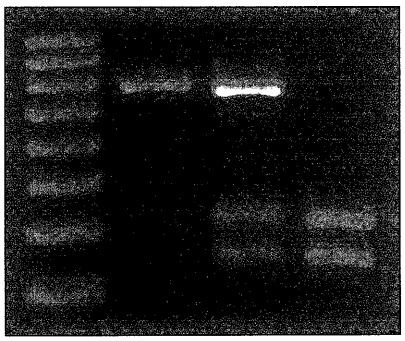
*; Tumor volume was calculated as measured three-dimensional diameters by estimating each tumor as an ellipsoid.
PRA: plasma renin activity, PAC: plasma aldosterone concentration, uAld: 24-hour urinary excreation of aldosterone

9時の間にそれぞれ30分以上の仰臥位を保った後に採血した。血漿レニン活性（plasma renin activity; PRA），血漿アルドステロン濃度（plasma aldosterone concentration; PAC），ACTH，血漿コルチゾール（plasma free cortisol; F），および24時間尿中アルドステロン排泄量（urinary secretion of aldosterone; uAld）は市販の radioimmunoassay kit を用いて測定した。

Genotyping と *CYP11B1* および *CYP11B2* mRNA レベルの定量：

凍結組織から Isogen（Nippon Gene）を用いて total RNA を抽出し，2.2μg を DNase I（Gibco-BRL）で処理後，2.5 mM の randam 9 mer，各 1 mM の dNTPs，8U placental RNase inhibitor，添付 buffer を用い，160U の逆転写酵素 Superscript II（Gibco-BRL）を添加，20μl 容量で逆転写反応（室温15分，42℃ 1.5時間）に供した。

Lys173Arg（K173R）多型の検出は PCR-RFLP 法により行った。上記 cDNA サンプル0.5μl，エクソン1内の sense primer（5'-GCT CGG GCC CCT AGG ACG-3', nt85-102）とエクソン5内 antisense primer（5'-TGC ACA GAT GCC TGT GTA GTG-3', nt853-873）を各2.5pmoles, 1.5 mM Mg^{2+}/5％glycerol 含有 PCR buffer に，0.25U EXTaq DNA polymerase（TaKaRa Co.）を加え，5μl 容量で PCR を行った。サーマルサイクラー条件は，96℃ 2分間の denature 後，96℃ denaturation 20秒→66℃ annealing & extension30秒，を35cycles とした。増幅された789bp バンドは制限酵素 Cvn I で37℃下に一晩処理し，2％アガロースゲルで電気泳動後，ethidium bromide 染色を行った。Lys（K）アリルは切断されず，Arg（R）アリルは430bp と359bp の二つのバンドに切断された（Fig. 1）。正常副腎のうち本多型に関して heterozygote すなわち KR 型のサンプルについて，GT-9000image scanner（EPSON）によりコンピューターに取り込んだのち，NIH image 1.60（Rasband W, N. I. H）を用いて，φX174-Hae Ⅲ 断片をスタンダードとして各バンド濃度を測定し，K および R 各アリルの転写効率を推測した。



S: 100 bp ladder
1: 173 - Lys / Lys（KK）
2: 173 - Lys / Arg（KR）
3: 173 - Arg / Arg（RR）

Fig. 1　Representative results in *Cvn I* digestion

CYP11B1，*CYP11B2* と glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase（GAPDH）の mRNA レベルは，PCR MIMIC™ KIT（Clontech）を用いた Competitive PCR 法によって定量した。各遺伝子に特異的なプライマーとして，*CYP11B1*: 5'-TGC GCG TGT TCC TCT ACT CT-3'（sense, nt1208-1227）&5'-AGA GAC GTG ATT AGT TGA TG-3'（antisense, nt1503-1522），*CYP11B2*: 5'-AGA GAC GTG ATT AGT TGA TG-3'（sense, nt1208-1227）& 5'-AGA TGC AAG ACT AGT TAA TC-3'（antisense, nt1503-1522），GAPDH: 5'-TCA TCA TCT CTG CCC CCT CTG CTG-3'（sense, nt482-497）& 5'-GAC GCC TGC TTC ACC ACC TTC TTG-3'（antisense, nt812-832），を用いた。Competitive PCR は，2.5倍希釈系列の competitor と cDNA サンプル各々0.5μl に，各2.5pmoles の sense および antisense primers，0.25U Ex Taq DNA polymerase（TaKaRa Co.）を加え，5μl 容量で行った。なお PCR buffer の Mg^{2+}濃度は，*CYP11B2* は1.5mM，*CYP11B1* と GAPDH は2mM とし，GAPDH には5％glycerol を添加した。サーマルサイクラー条件は，96℃ 2分間の denature 後，96℃ denaturation 20秒→56℃（GAPDH は65℃）annealing 15秒→72℃ extension 30秒，を36～45cycles とした。PCR 産物は2％アガロースゲルで電気泳動後，ethidium bromide 染色し，GT-9000 image scanner（EPSON）を用いてコンピューターに取り込み，NIH image 1.60（Rasband W, N.I.H）で解析した。DNase 処理や逆転写効率の違いによるサンプル間のばらつきを最小限にするため，mRNA レベルは housekeeping gene の一つである GAPDH の mRNA レベルに対する *CYP11B1* および *CYP11B2* の mRNA レベル比として表した（B1/G，B2/G）。

統　計　解　析

B1/G や B2/G はそれぞれ means±SE で表示し，2群間の差は Mann-Whitney U test で検定した。2変数間の関係は直線回帰にて評価し，いずれも P 値<0.05で有意差ありと判定した。なお正規分布性については予め Bartllett test にて検定し，必要な場合には log 変換を行った。

結　　果

CYP11B2 および _CYP11B1_ mRNA 定量

正常副腎における *CYP11B2* および *CYP11B1* mRNA 発現量（B2/G および B1/G）は，それぞれ GAPDH mRNA 発現量の約0.8％及び約17％であった（Table 2）。APA 組織では，B2/G が正常副腎の30倍強とかなり高値（P<0.001）であるのみならず，B1/G も正常副腎の5倍弱と有意に高値（P=0.0224）であった（Table 2）。クッシング症候群副腎腺腫（Cushing's syndrome; CS）組織では，*CYP11B2* transcript は75％以上の症例で検出感度以下，と発現低下が示唆された。CS 組織の B1/G はばらつきが大きく，正常副腎と有意差はなかった。また，特に正常副腎の髄質や皮質各層の含有割合を補正する目的で算

Table 2　Expression levels of *CYP11B1* and *CYP11B2*.

	N群 (n=11)	APA群 (n=25)	CS群
B2/G*	8.2±1.6	271.7±81.1	12.5±11.5 (n=4) **
B1/G*	173±31	844±389	1533±875 (n=17)
B2/B1	0.057±0.009	0.553±0.117	0.049±0.032 (n=4) **

B2: *CYP11B2*, B1: *CYP11B1*, G: GAPDH
N: normal adrenals, APA: aldosterone producing adenoma, CS: adenoma causng Cushing's syndrome
*; Date were presented as means±SE（×10−3）
**; transcript was below the detection limit in remaining *CYP11B2* 13 CS adenomas.

定したB2/B1比は，APA組織において正常副腎の約10倍と高値（P<0.001）であった。

B2/GとB1/Gの関係については，APA群で有意な正相関を認めた（Fig. 2左上）が，正常副腎やCS群では有意な相関はなかった。さらにAPA組織の *CYP11B2* 発現レベル（B2/Gあるいはlog B2/G）と各APA患者の臨床・生化・ホルモン所見との関係についても検討したが，腫瘍サイズ・ACTH・F・PAC・uAld値との間（Fig. 2），また血清カリウム（r=−0.006）・PRA（r=−0.030）値との間にも有意な直線的相関は検出されなかった。

K 173 R 多型との関連

正常副腎において，log B2/Gは，KK（Lys/Lys）0.79±0.19，KR（Lys/Arg）1.02±0.06，RR（Arg/Arg）0.26±0.03であり，KR型がRR型より高値（Fig. 3左上），log B2/B1は，KK-1.259±0.102，KR-1.173±0.072，RR-1.960±0.375であり，KK型およびKR型がRR型より高値を示した（Fig. 3右上）。一方，APA群における

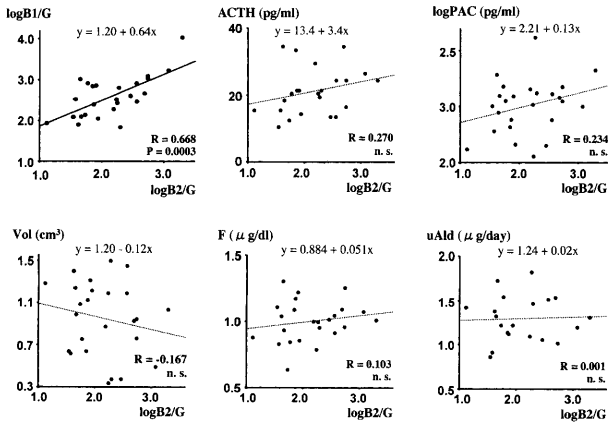


Fig. 2　Correlations between *CYP11B2* mRNA level and-*CYP11B1* mRNA level or clinico-hormonal characteristics in APA

log B2/Gは，KK2.18±0.10，KR2.26±0.28，RR1.85±0.30であり，K173Rの各genotype間に有意差は検出されなかった（Fig. 3左下）が，log B2/B1で評価した場合には，KK−0.251±0.098, KR−0.531±0.179, RR−0.800±0.139, でありKK型がRR型よりも高値を示した（Fig. 3右下）。

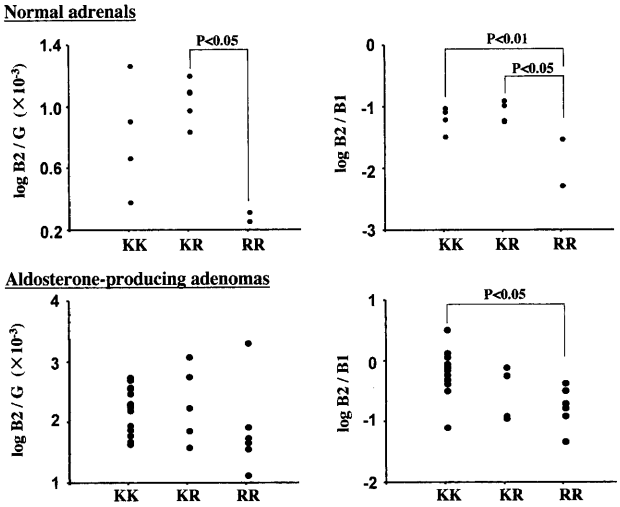


Fig. 3　*CYP11B2* expression levels in relation to K173R polymorphism

APA患者臨床データとK173R多型との関連については，loguAldが，KK1.39±0.08，KR1.05±0.06，RR 1.21±0.10でありKK型がRR型より有意に高値を示した（Fig. 4右下）が，腫瘍サイズ・血清カリウム・PAC値（Fig. 4）やACTH・F・PRA値については各genotype間に有意差は検出されなかった。

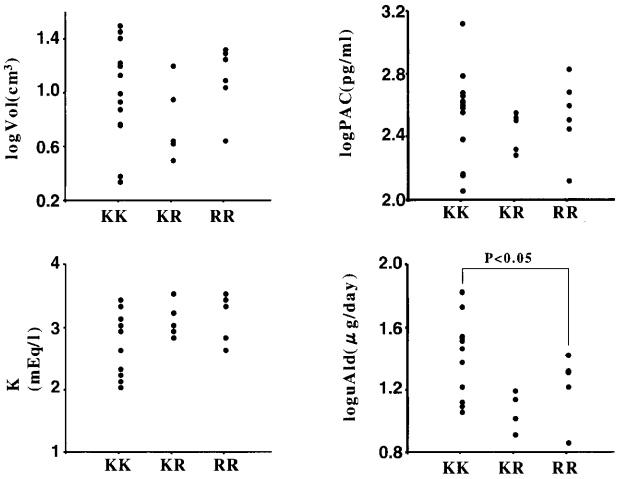


Fig. 4　Clinico-hormonal characteristics in APAs in relation to K173R polymorphism

また正常副腎サンプルのうちKR型（n=5）での各バンド強度の測定により，173Rアリルの転写効率は173Kアリルの52.1±3.9%と推測された。

考　察

CYP11B2 のK173R多型がpromoter領域の-344T/C多型と完全に連鎖することを我々は確認[8]しており，本論

文ではK173Rの多型性は-344T/Cの多型性と一致するものとして記載する。K173R多型についてのチリ人での検討では，173Rアリルが低レニン性本態性高血圧と関連するが，Leydig腫瘍由来細胞株を用いた発現実験ではアルドステロン合成酵素活性には影響しないと報告[9]されている。*CYP11B2*の3種の多型（-344T/C, intron 2 conversion, K173R）とAPA・IHA（idiopathic hyperaldosteronism）・本態性高血圧（EH）・正常血圧（NT）との関連分析[10]では，IHAで特定のhaplotype（-344C・conversionあり・173R）が多いが，APA・EH・NT群間にアリル頻度差は検出されていない。今回の25例のAPAでも，173R（-344C）アリルの頻度はAPA 0.34と，我々の既報[8]のEH 0.37・NT 0.36と変わりなく，多型とAPAとの関連はないものと考えられる。一方*CYP11B2*発現量に関しては，IHA，APAおよび正常群で，末梢単核白血球中の*CYP11B2* mRNA発現量を比較した報告[11]があり，IHA患者で発現量が多いこと，APA患者では正常と変わらないことが示されている。しかしながら*CYP11B2*の多型と発現量との関係については，末梢単核白血球中のみならず副腎組織においても全く不明である。そこで今回，正常副腎・CS・APA摘出標本を直接用いて組織内の*CYP11B2* mRNA発現量を定量し，さらにAPAについて*CYP11B2*多型や臨床像との関係について比較検討した。

本研究において，副腎組織中の*CYP11B2* mRNA発現レベルは，APA組織では正常副腎やCS組織に比して有意に高いこと，逆にCS組織では検出感度以下の例が多いことが確認された。さらに，APA組織での*CYP11B2* mRNA発現レベルはKK型やKR型よりもRR型で低く，正常副腎組織でもKR型に比してRR型で低いことが示された。さらに，正常副腎でのKR型の判定に用いたバンド強度の測定において，173Rアリルの転写効率が173Kアリルの約50%程度と推測されることも判明した。以上から，K173R多型が正常副腎とAPA組織における*CYP11B2* mRNAの基礎発現レベルを遺伝的に規定する可能性が強く示唆される。

今回の検討では，APA組織中の*CYP11B2* mRNA発現レベルと臨床的あるいはhormonalな側面との間に直線的な相関は検出されなかった。しかし，総対的なアルドステロン分泌量を反映すると想定される24時間尿中アルドステロン排泄量に関しては，KK型がRR型よりも有意に高く，遺伝型と中間表現型とのリンクを示す結果と云える。アルドステロン合成を規定する主要な因子は，アンギオテンシンⅡとカリウムとされ，これらが副腎皮質球状帯細胞内のカルシウム濃度を上昇させることにより，カルシウム結合タンパク（calmodulin）を活性化し，細胞内Caシグナル経路を賦活化し*CYP11B2*転写を増加させると考えられている[12)~14)]。本研究では*CYP11B2* mRNA発現量および多型と血清カリウムとの間，またアンギオテンシンⅡは検討していないがレニン活性との間にも明らかな関連は認められなかった。APAでは通常アンギオテンシンⅡは抑制されているため，*CYP11B2*発現量増加との直接的な関連は考えにくいが，低レベルのアンギオテンシンⅡが何らかの機序を介して影響する可能性も否定はできない。また今回の検討では，有意ではなかったものの，*CYP11B2* mRNA発現レベルは，ACTHあるいはコルチゾールと正相関する傾向が見られた。アルドステロン分泌は一部ACTH依存性であるが，一般にAPAではACTHでのアルドステロン過分泌がACTHを抑制することはないとされ，また腫瘍附随副腎皮質の球状層はむしろ過形成を呈することが知られている（paradoxical hyperplasia）[15)~16)]。もしACTHと*CYP11B2*発現レベルとの間に正相関関係が存在するならば，ACTHはcAMPを介して*CYP11B2* mRNA発現レベルを増加させたのであろうか？最近APAでのコルチゾール産生性が注目されているが，これは組織学的に大部分のAPAが球状層細胞と束状層細胞の両者の特徴を有する（hybrid cell type）ために，アルドステロンと同時にコルチゾールをも産生するためと考えられている[17)]。APAにおいて，ACTHがどのように*CYP11B2*発現に関わるのか，レセプター等を含めさらなる検討が必要である。

現在までに，APAでは，遺伝性の高血圧症の一つであるグルココルチコイド奏効性アルドステロン症（Glucocorticoid-remediable aldosteronism）でみられるような*CYP11B1*と*CYP11B2*のキメラ遺伝子の存在や，*CYP11B2*遺伝子異常は検出されておらず，APA発症の原因として*CYP11B2*転写レベルの異常が推測されている[18)~19)]。ほとんどのステロイド合成酵素の転写促進因子はSF-1と想定されているが，オーファンレセプターの一種であるCOUP-TF（chicken ovalbumin upstream promoter-transcription facter）やDAX-1（dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenital, critical region on the X chromosome-1）は，*CYP11B2*の転写抑制因子とそれに動員・結合する転写共役因子によって，SF-1による*CYP11B2*転写を調節すると考えられてきた。173Rアリルと完全に連鎖するpromoter-344Cアリルは，-344Tアリルに比して，SF-1に5倍強く結合することが知られており，今回の173Rアリルでの*CYP11B2* mRNA発現レベルおよび転写効率の低下とは一見矛盾するように見える。しかし最近，SF-1は*CYP11B1*や*CYP17*などの他のステロイド合成酵素に対しては転写促進因子として作用するものの，*CYP11B2*に対してはむしろ抑制的に働くこと[20)]が明らかにされた。本研究における-344Cアリル（173Rアリル）での*CYP11B2* mRNA発現低下はこの結果を支持するものである。しかし，tumorigenesisという病理組織学的な観点からは，例えばAPAの大半でp53 geneのmutationが示された[21)]ように，APAでのアルドステロン過剰産生は*CYP11B2*合成異常というよりはむしろアルドステロン産生副腎皮質細胞の腫瘍性増殖によるアルドステロン過剰状態である[10)]とも考えられ，この点についてはAPAと非機能性副腎皮質腺腫との比較検討などが解決のヒントとなるかもしれない。いずれにせよ，上記転

写調節因子などの発現異常が副腎皮質腫瘍のホルモン産生異常機構に重要な役割を果たす可能性が推測され，今後検討していく必要があろう。

結　　語

正常副腎・APA組織中の *CYP11B2* 発現は，プロモーター領域-344T/C多型に完全に連鎖するLys173Arg多型により遺伝的に規定されている可能性が高い。*CYP11B2* 発現量の少ないArg/Arg遺伝型を有するAPA患者の24時間尿中アルドステロン排泄量はLys/Lys遺伝型より少なく，アルドステロン分泌量という中間表現型を介して，APAによる原発性アルドステロン症の多様性と関連することが示唆される。

Reference

1）Mornet E, Dupont J, Vitek A, White PC: Characterization of two genes encoding human steroid11beta-hydroxylase (P-450 (11) beta). J Biol Chem **264**, 20961－20967（1989）

2）White PC. Mechanism of Disease; Disorders of aldosterone biosynthesis and action. N Engl J Med **28**, 250－258（1994）

3）Shibata H, Suzuki H, Ogishima T, Ishimura Y, Saruta Takao. Significance of steroidogenic enzymes in the pathogenesis of adrenal tumor. Acta Endocrinol **128**, 235－242（1993）

4）Lala DS, Rice DA, Parker KL. Steroidogenic facter, a key regulator of steroidogenic enzyme expression, is the mouse homolog of *fushi tarazu*-factor I. Mol Endocrinol **6**, 1249－1258（1992）

5）White PC, Slutsker L. Haplotype analysis of *CYP11B2*. Endocr Res **21**, 437－442（1995）

6）Kupari M, Hautanen A, Lankinen L, Koskinen P, Virolainen J, Nikkila H, White PC. Associations between human aldosterone synthase（*CYP11B2*）gene polymorphisms and left ventricular size, mass, and function. Circulation **97**, 569－575（1998）

7）Davis E, Holloway CD, Ingram MC, Inglis GC, Friel EC, Morrison C, Anderson NH, Fraser R. Connell JMC. Aldosterone excretion rate and blood pressure in essential hypertension are related to polymorphic differences in the aldosterone synthase gene *CYP11B2*. Hypertension **33**, 703－707（1999）

8）伊佐治真子，宗友厚，高田伸樹，山本頼綱，高見利江子，山北宜由，諏訪哲也，大洞尚司，武田則之，森田浩之，安田圭吾．*CYP11B2* 遺伝子多型と食塩感受性心肥大　岐阜医紀 **50**, 61－69（2002）

9）Fardella CE, Rodriguez H, Montero J, Zhang G, Vignolo P, Rojas A, Villarroel L, Miller WL. Genetic variation in p450c11AS in Chilean patients with low renin hypertension. J Clin Endocrinol Metab **81**, 4347－4351（1996）

10）Mulatero P, Schiavone D, Fallo F, Rabbia F, Oilion C, Chiandussi L, Pascoe L, Veglio F. *CYP11B2* gene polymorphisms in idiopathic hyperaldosteronism. Hypertension **35**, 694－698（2000）

11）Takeda Y, Furukawa K, Inaba S, Miyamori I, Mabuchi H. Genetic analysis of aldosterone synthase in patients with idiopathic hyperaldosteronism. J Clin Endocrinol Metab **84**, 1633－1637（1999）

12）Clyne CD, Zhang Y,Slutsker L,Mathis JM, White PC, Rainey WE. Angiotensin II and potassium regulate human *CYP11B2* transcription through Common *cis*-Elements. Mol Endocrinol **11**, 638－649（1997）

13）Shibata H, Ogishima T, Mitani F, Suzuki H, Murakami M, Saruta T, Ishimura Y. Regulation of aldosterone synthase cytochrome P-450in rat adrenals by angiotensin Ⅱ and potassium. Endocrinolgy; 128: 2534－2539（1991）

14）Condon JC, Pezzi V, Drummond BM, Yin S, Rainey WE. Calmodulin-dependent kinase I regulates adrenal cell expression of aldosterone synthase. Endocrinolgy **143**, 3651－3657（2002）

15）Sasano H. Localization of steroidogenic enzymes in adrenal cortex and its disorders. Endocr J **41**, 471－82（1994）

16）Sasano, H. New approaches in human adrenocortical pathology: assessment of adrenocortical function in surgical specimen of human adrenal glands. Endocr Pathol **3**, 4－13（1992）

17）相羽元彦．アルドステロン産生腫瘍－最近の進歩－病理と臨床 **20**, 370－377（2002）

18）Shibata H, Ikeda Y, Mukai T, Morohashi K, Kurihara I, Ando T, Suzuki T, Kobayashi S, Murai M, Saito I, Saruta T. Expression profiles of COUP-TF, DAX-1, and SF-1 in the human adrenal gland and adrenocortical tumors: possible implications in steroidogenesis. Mol Genet Metab **74**, 206－16（2001）

19）Shibata H, Ando T, Suzuki T, Kurihara I, Hayashi K, Hayashi M, Saito I, Kawabe H, Tsujioka M, Mural M, Saruta T. Differential expression of an orphan receptor COUP-TFI and corepressors in adrenal tumors. Endocr Res **24**, 881－5（1998）

20）Bassett MH, Zhang Y, Clyne C, White PC, Rainey WE. Differential regulation of aldosterone synthase and 11 beta-hydroxylase transcription by steroidogenic factor-1. J Mol Endocrinol **28**, 125－135（2002）

21）Lin SR, Lee YJ, Tasai JH. Mutations of the p53 gene in human functional adrenal neoplasmas. J Clin Endocrinol Metab **78**, 483－491（1994）