微量測定による副腎皮質各層のステロイド含量

福島県立医大第三内科

福地 總逸, 中嶋 凱夫

東北大学医学部第二病理

笹野 伸昭, 中村 克宏

Microdetermination of Corticosteroids in Adrenocortical Zones in Various Adrenal Diseases

Soitsu FUKUCHI and Katsuo NAKAJIMA

Dept. of Internal Medicine, Fukushima Medical College, Fukushima

Nobuaki SASANO and Katsuhiro NAKAMURA

Dept. of Pathology, Tohoku University School of Medicine, Sendai

Since the relationship between steroidogenic activity and morphological differentiation is not necessarily clear in the human adrenal cortex, aldosterone (Al), cortisol (F) and corticosterone (B) from the adrenal tissues cut into four small pieces (capsule and glomerulosa, outer fascicular, inner fascicular, and reticular zones) on a cryostat immediately after their removal at surgery were estimated by radioimmunoassay in 15 patients with adrenal diseases (8 primary aldosteronism, 1 idiopathic aldosteronism, 4 Cushing's syndrome and 2 pheochromocytoma) and 8 control subjects with other diseases.

A larger amount of Al was contained in the outer fascicular zone than in other zones in control subjects. Al showed a high value of 0.16~7.40 ng/mg tissue in adenomas of primary aldosteronism and a low value of 0~0.25 ng/mg tissue in adenomas of Cushing's syndrome. A high value of Al was detected in idiopathic aldosteronism but not in the remaining adrenal of primary aldosteronism. In Cushing's syndrome, F showed a high value of 2.58~12.3 ng/mg tissue in adenoma and a relatively low level of 0.77 ng/mg tissue in carcinoma. A larger amount of F and B was found in the inner fascicular zone than in other zones in the control subjects.

These results indicate that the corticosteroid content in each adrenal zone correlates with the morphological findings.

緒 言

副腎皮質のステロイド分泌機能の診断は通常、尿中または血中のコルチコステロイドないしその代謝産物

を測定することによって行われている。しかし、これらの測定値は生理的にかなり変動するので、試料を採取した時間や、生体の状態、食餌内容などを把握することが必要となる。従ってこれらの測定値が直ちに副腎皮質ホルモンの生合成あるいは蓄積の状態を反映することにはならない。すなわち副腎皮質の遊離細胞の組織培養や副腎の微小切片のステロイド含量を測定することも必要となる。特に副腎皮質は甲状腺の如く生成されたステロイドホルモンを貯蔵する能力を欠くので、副腎組織内ステロイド含量はその組織のステロイド生合成能力をかなりよく反映すると考えられる⁽⁷⁾。

副腎皮質は形態学的に球状帯、束状帯および網状帯に分類され、球状帯からは電解質代謝コルチコイド、束状帯からは糖質代謝コルチコイド、網状帯からは性コルチコイド、が分泌されるという機能局在論が有力である⁽⁸⁾。しかしこの様な副腎皮質の機能的分化は動物では明らかであるが、ヒトにおいては必ずしも明瞭でない。これは、動物の場合と異り、ヒトの新鮮な副腎組織をうるためには、外科手術によって切除された組織を利用する以外に方法がないことと、微量の副腎組織内ステロイド含量を正確に測定する感度の高い方法がなかったためである。最近副腎皮質の遊離細胞の組織培養が行われる様になり、またステロイドの測定に radioimmunoassay が利用されて pg 単位のステロイドも測定可能となったので、理論的には副腎皮質組織 1 mg 内に含まれるステロイドも測定出来る様になった。

そこでわれわれはすでに開発した radioimmunoassay によるステロイド測定法を利用して、各種副腎疾患患者における副腎皮質各層ならびに副腎皮質腫瘍の微小切片に含まれる各種ステロイド含量を測定することにより各種疾患の皮質各層のステロイド分泌機能について考察した。

Fig. 1. Four adrenocortical zones for measuring corticosteroids.

実験材料ならびに方法

対象としたのは、原発性アルドステロン症（すべて 副腎腺腫）8 例、特発性アルドステロン症 1 例、クッシング症候群 4 例（副腎腺腫 3 例、副腎癌 1 例）および褐色細胞腫 3 例であった。そのほかに、乳癌で治療の目的で副腎全摘出を行った 8 例を対照として選んだ。

これらの症例の外科手術によってえられた副腎組織を、採取後なるべく速かに凍結し、立体顕微鏡下に鋭利な剃刀を用いて厚さ 約 0.5mm の切片とし、さらに顕微鏡下に 4 層 (Fig. 1)、すなわち被膜および球状帯 (I 層)、束状帯外層 (II 層)、束状帯内層 (III 層)、ならびに、網状帯および一部の髄質 (IV 層)、に分け、重量測定後、約 3 ml の冷却アセトン液 (4℃ 以下) を加え、直ちに測定しない場合には -20℃ に保存した。

測定時, 組織片を除くアセトン層を40℃以下で減圧乾固してのち, メタノール20mlに溶解して2分し, その1.0mlには ^3H -aldosterone (約10,000 cpm) と ^3H -hydrocortisone (約10,000 cpm) を, 他の1.0mlには ^3H -corticosterone (約10,000 cpm) を加え, 共に40℃以下で減圧乾固した。

^3H -aldosterone と ^3H -hydrocortisone を加えた試料については, hexane: benzene: methanol: water (1:9:5:2.5) の paper chromatography により30℃に5時間安定後, 12時間展開した。その後, paper chromatogram scanner により ^3H -aldosterone および ^3H -hydrocortisone の位置を確認して切りとり, それぞれ5.0mlのメタノールで溶出した。

アルドステロン (A) 相当部分のメタノール溶出液は, 1.0ml ずつに分け, うち2本は回収率の補正のため直ちに counting vial に入れ, 他の2本は小試験管にとり, いずれも40℃以下で減圧乾固した。これらに含まれるAはすでに発表した radioimmunoassay⁽³⁾ により測定した。ハイドロコチゾン (F) 相当部分のメタノール溶出液は, 1.0ml ずつに分け, うち2本は回収率補正のため直ちに counting vial に入れ, 残り3mlのうち, 0.2ml 2本と0.02ml 2本は小試験管にとり, さらに約1,000 cpm の ^3H -hydrocortisone を加え, 40℃以下で減圧乾固した。これらについてすでに発表した radioimmunoassay⁽¹⁾ によりFを測定した。測定値としては, 試料量0.2ml または0.02ml のうち, そのB/F比が標準曲線の感度のより高い部分に一致した方を採用した。

^3H -corticosterone を加えたメタノール溶液1.0mlはBush B₅ systemの paper chromatographyにより3時間展開後, paper chromatogram scanner により ^3H -corticosterone 相当部分を切りとり, 5.0mlのメタノールで溶出した。さらにこれを1.0ml ずつに分け, うち2本は回収率補正のために直ちに counting vial に入れ, 他の2本は小試験管にとり, いずれも40℃以下で減圧乾固した。これらの試料についてすでに発表した competitive protein-binding radioassay⁽²⁾ によりコルチコステロン (B) を測定した。

Fig. 2. Content of aldosterone, hydrocortisone and corticosterone in four adrenocortical zones in a case of breast cancer.

実験結果

1) 副腎組織内ステロイド含量の部位による差異: 乳癌の1例の左副腎内ステロイド含量は, Fig. 2に示す如く, 採取部位によりかなりの差が存在したが, 皮質各層におけるステロイド含量の比率は採取部位により差がなかった。すなわち採取した3切片のいずれも, A含量はI層に多く内層層低値を示し, F含量はI層よりもIII層に多く, B含量もF含量と同様III層に多量に認められた。

Fig. 3. Content of aldosterone, hydrocortisone and corticosterone in four adrenocortical zones in a case of primary aldosteronism due to right adrenal adenoma.

次に、右副腎腺腫による原発性アルドステロン症の1例の腺腫以外の副腎組織内ステロイド含量の左右差を検討した所、Fig. 3に示す如く、A含量は右副腎の1切片を除きI層に少く、IIないしIII層に高値を示し、左右差は特にみられなかった。各層におけるF含量の比率に左右差はみられなかったが、腺腫側の右副腎含量は左副腎含量の5～9倍の高値を示した。B含量はF含量と異り左側副腎の方が右側よりも高値を示したが、有意ではなかった。F含量もB含量もIII層の含量が他層よりも大であった。

これらの測定結果から、同一の副腎でもその採取部位によりかなりの差がみられたので、以下にのべる実験結果では同一の副腎について少くとも3ヶ所より組織切片を採取してその平均値について検討した。

Fig. 4. Content of aldosterone in four adrenocortical zones in control subjects and patients with various adrenal diseases.

2) 副腎皮質各層のA含量 (Fig. 4): 対照例におけるA含量は, 副腎皮質の外層すなわちI層において高値であった。原発性アルドステロン症では, 対照群に比し全例で低値を示し, 各層間に差はみられなかった。特発性アルドステロン症の1例のA含量は, 左右副腎の全層において650pg/mg以上の高値を示し, 特にIないしII層において著明であった。副腎腺腫によるクッシング症候群4例では, 原発性アルドステロン症と同様, 全層で低値を示し, 各層間の差は特にみられなかった。褐色細胞腫では最外層 (I層) でやや低値を示したが, 特に対照例との間に有意差はなかった。

Fig. 5. Content of hydrocortisone in four adrenocortical zones in control subjects and patients with various adrenal diseases.

Fig. 6. Content of corticosterone in four adrenocortical zones in control subjects and patients with various adrenal diseases.

3) 副腎皮質各層のF含量 (Fig. 5): 対照例では, A含量と異り, I層では少量で, III層の含量が最も大であった。原発性アルドステロン症と特発性アルドステロン症のF含量は対照例との間に有意差はなく, 各層間の差異も特になかった。クッシング症候群の腺腫以外の副腎皮質組織では全層で20ng/mg以下の低値を示し, 各層間の差は特になかった。褐色細胞腫の1例では全層で300ng/mg以上の高値がみられたが, 他の2例では対照例と同様の低値を示した。

Fig. 7. Content of aldosterone, hydrocortisone and corticosterone in adrenocortical adenomas in patients with primary aldosteronism.

Fig. 8. Content of aldosterone, hydrocortisone and corticosterone in adrenocortical tumors in patients with Cushing's syndrome.

Fig. 9. Ratio of aldosterone to hydrocortisone in adrenal tissue in patients with various adrenal diseases.

Fig. 10. Ratio of aldosterone to corticosterone in adrenal tissue in patients with various adrenal diseases.

4) 副腎皮質各層のB含量 (Fig. 6) : 対照例ではF含量と同様Ⅲ層に高値であった。原発性アルドステロン症と特発性アルドステロン症のB含量は対照例との間に特に差がみられず、各層間の差異も特になかった。クッシング症候群2例では全層において2 ng/mg 以下の著明な低値を示した。褐色細胞腫では、対照例と同様、Ⅲ層のB含量が他層に比べ高値を示した。

5) 原発性アルドステロン症の副腎腺腫内ステロイド含量 (Fig. 7) : A含量は3例で800 pg/mg 以上の高値であったが、他の4例では、対照例の副腎組織内A含量と同様の300 pg/mg 以下の値を示した。しかし腺腫以外の副腎組織内A含量よりは高値を示した。F含量は1例で65 ng/mg の高値を示したが、他の6例では対照群のF含量と同様の値であった。B含量はすべて7.0 ng/mg 以下の低値を示した。

6) クッシング症候群の副腎腺腫内ステロイド含量 (Fig. 8) : 副腎腺腫のA含量は3例中1例で250 pg/mg の値を示したが、他の2例では50 pg/mg 以下の低値であった。F含量は1例において38.2 ng/mg のやや高値を示したが、他の2例では15 ng/mg 以下であって、腺腫以外の副腎組織内含量とはほぼ同様の値を示した。B含量は7 ng/mg 以下であって、腺腫以外の副腎組織内含量と同様、他疾患の副腎組織内含量よりも低値であった。副腎癌組織内ステロイド含量はA、FおよびBのいずれも著明な低値を示した。

7) 副腎組織内ステロイド含量の比 : 副腎皮質各層のA/F比は、対照例においてはⅠ層で最も高く、内層に移行するに従い低値を示した。原発性アルドステロン症3例のA/F比は対照例と同様の型を示したが、4例では全層において 10×10^{-3} 以下の低値であった。これに対し特発性アルドステロン症のA/F比は、左右共対照例と同様の値を示した。原発性アルドステロン症の副腎腺腫のA/F比は、3例で 50×10^{-3} 以上の高値を示したが、他の3例では対照例の副腎組織内A/F比と同様の値であった。クッシング症候群のA/F比はⅡ層で低値を示した。クッシング症候群の副腎腺腫のA/F比は低値の傾向を示したが、副腎癌では対照例のⅠ層と同様の値であった。褐色細胞腫2例におけるA/F比には一定の傾向はみられなかった (Fig. 9)。

対照例の副腎皮質内のA/B比はA/F比と同様Ⅰ層が最も高く、内層に至る程低下した。原発性アルドステロン症の腺腫以外の副腎組織内A/B比は副腎皮質各層間に差はみられず、いずれも 30×10^{-3} 以下の低値を示した。特発性アルドステロン症の左右副腎各層のA/B比はいずれも 100×10^{-3} 以上の高値を示した。原発性アルドステロン症の副腎腺腫内A/B比はいずれも 90×10^{-3} 以上の高値を示した。副腎腺腫によるクッシング症候群の腺腫以外の副腎組織内A/B比はいずれも高値を示し、副腎腺腫のA/B比は1例で高値を、他の1例で低値を示し、副腎癌の1例では低値を示した。褐色細胞腫では対照例と特に差がみられなかった (Fig. 10)。

考 按

副腎腺腫の局在の診断には、後腹膜腔気体注入法によるレ腺検査および副腎静脈撮影の如き形態上の変化を検出する方法と、 ^{131}I -コレステロールを使用する副腎スキャンや副腎静脈血中ホルモン測定 of 副腎からのステロイド産生の左右差を利用する機能的な方法との二つが存在する⁽⁶⁾。このホルモン産生の左右差を利用する局所診断法は、正常者の副腎皮質からのステロイド産生が均一で左右差がないという理論的仮定に基いている。しかしながら、正常人の副腎特に副腎皮質の大きさやステロイド産生が果して左右同一であるのか否かの問題に関して、実際に測定を行って確認した成績はみられない。最近これらの局所診断法が盛んに行われる様になって、判定に困難を感じる症例が多く発見され、これらの局所診断法の結果と手術所見との間に相異がある場合がみられる。

本実験の結果では、副腎皮質のステロイド含量は組織切片の採取部位によりかなり異なることが明らかとなった。この原因としては、同一副腎から組織切片を採取し、測定操作も同時に行ったので、副腎組織の採取後測定までの時間が問題となるとは考えられない。またこの部位による測定値の差はかなり大きく、組織重

量測定上の誤りや、ステロイドの radioimmunoassay における測定誤差も原因とはならず、実際に同一の副腎でも部位によりステロイド生合成に差異が存在することを示している。さらに原発性アルドステロン症の1例の両側副腎について検討した所、アルドステロン含量にはあまり大きな左右差がみられなかったが、FとBについてはかなりの左右差がみられた。この場合、Fは腺腫の存在した右側に多く、Bは逆に左側に多かったことより、腫瘍の機械的圧迫による影響は考えられない。すなわち正常副腎でもステロイド産生に左右差があることを示唆する所見である。われわれ⁽⁴⁾は、すでに¹³¹I-コレステロールを使用する副腎スキャンにより、腫瘍の存在しない場合でも副腎の映像に左右差のみられることがあるとのべた。さらに特発性アルドステロン症の1例では手術により両側副腎の重量の差が存在することを確めた⁽⁵⁾。この事実は副腎腫瘍の診断の際の判定に副腎静脈血中ホルモン測定や副腎スキャンによって左右差が検出されたとしても、それだけで腫瘍と診断を下すわけに行かないことを示している。

ヒトにおける副腎皮質の組織構造と機能的分化との関連については、動物と同様、機能的分化が明らかであるとする説とそれ程明確には分化していないとする両説が存在する⁽⁸⁾。われわれは副腎組織を層状に分けて、その中のステロイド含量を測定した結果、皮質の構造上の差異による或る程度の機能的分化が存在することを明らかにした。たとえばアルドステロンは副腎皮質の全層に検出されたが、特に球状帯ないし束状帯外層に最も多く、ハイドロコチゾンとコルチコステロンとはⅢ層すなわち束状帯内層に多量に検出された。その結果、A/F比およびA/B比は外層より内層に行くに従って低くなる傾向がみられた。すでに著者らのうちの笹野⁽⁸⁾は、高血圧症や続発性アルドステロン症の如く、臨床的にアルドステロン分泌量の高い症例の手術摘出副腎をみると皮質の特に外側の層が発達し、リポイドに富む明るい細胞からなることを指摘し、アルドステロンは球状帯ないし束状帯外層から分泌されるとのべた。本実験の結果はこの様な臨床的ならびに病理上からの推測の正しいことを裏付ける所見である。

一方FおよびBの分泌に関しては、ACTHを投与した動物において副腎束状帯の過形成が、ステロイドを長期間投与された症例では束状帯の萎縮が、知られており、本実験でもACTHに支配されているFとBは束状帯内層により多量に見出された。この事実はFとBが束状帯内層で生成され、Bは球状帯ないし束状帯外層に移行してAが生合成されることを示唆している。またいずれのステロイドも副腎皮質の全層において見出されたことより、発生学的に副腎皮質は同一の細胞からなり、たゞその位置する部位により産生されるステロイドの量が変化しているにすぎないと考えられる。

副腎腫瘍以外の副腎組織内A含量は、原発性アルドステロン症とクッシング症候群において著明な低値を示し、各層の含量に有意差は見出せなかった。これは副腎腫瘍から分泌されているAまたはFの電解質作用により、レニン放出が抑制され、他層よりも球状帯ならびに束状帯外層からのAの生合成が低下したことによると思われる。一方特発性アルドステロン症の副腎組織内アルドステロン含量は両側共著明な高値を示し、原発性アルドステロン症のA含量とは明らかな差を示した。すなわち原発性アルドステロン症と異なり、両側副腎皮質から同様に多量のAが産生されていることを示しており、このA含量の原発性アルドステロン症と特発性アルドステロン症における差はA/B比をみると更に明らかであって、原発性アルドステロン症では50以下の値を、特発性アルドステロン症では100以上の値を示し、この比は両者の鑑別に有効と思われる。すなわち原発性アルドステロン症と診断して手術を行っても腺腫を発見出来なかった場合に、摘出した副腎皮質のA/B比を測定することにより対側副腎の腺腫の有無を診断することが可能である。

F含量については、原発性アルドステロン症、特発性アルドステロン症および褐色細胞腫では特に対照群と差がなく、これらの疾患では下垂体副腎皮質系に異常がないことを示している。これに対し、クッシング症候群の腺腫以外の副腎組織では著明な低値を示し、かつ各層間の差異は認められなかった。すなわち腫瘍からのF分泌過剰により下垂体からのACTHが抑制され、腫瘍以外の副腎組織からのF分泌が低下したためと考えられる。Bに関しても、原発性アルドステロン症、特発性アルドステロン症および褐色細胞腫の副

腎組織では、対照群と同様、束状帯内層により多量であった。クッシング症候群ではF含量と同様著明な低値を示した。

原発性アルドステロン症の副腎腺腫内アルドステロン含量は腺腫以外の組織よりものかなりの高値を示したが、FとB含量は腺腫と腺腫以外の副腎組織との間に有意の差を認めなかった。クッシング症候群の副腎腺腫のF含量は1例のみで高値を示し、他の2例では腺腫以外の組織内含量と特に差がなかった。これはクッシング症候群の副腎腺腫におけるF産生はかなりの多いが、速かに血中に放出され皮質組織内に貯溜しないことを示している。またクッシング症候群の1例の副腎癌のF含量は周囲の副腎組織内含量より低値を示した。すなわち副腎癌では単位重量当りのF産生はそれ程多くないことを示している。一般に副腎癌によるクッシング症候群では腫瘍がかなり大きくなると症状を現さないという所見と一致する成績である。

總括ならびに結論

原発性アルドステロン症8例、特発性アルドステロン症1例、クッシング症候群4例（副腎腺腫3例、副腎癌1例）、および褐色細胞腫2例の他、対照として副腎疾患以外の症例8例の副腎皮質組織を顕微鏡下に4層（被膜および球状帯、束状帯外層、束状帯内層および網状層）に分け、直ちに重量測定後、アルドステロン(A)、ハイドロコルチゾン(F)およびコルチコステロン(B)を測定した。

- 1) 副腎組織内ステロイド含量は、同一副腎でも部位により差があり、また左右差も存在した。
- 2) 対照例のA含量は束状帯外層に、FとB含量はいずれも束状帯内層に多量に認められた。
- 3) 原発性アルドステロン症の副腎腺腫以外の副腎組織内A含量は、いずれの層においても低値を示した。これに対し、特発性アルドステロン症の副腎組織内A含量は左右副腎の全層において650pg/mg以上の高値を示した。クッシング症候群の腫瘍以外の副腎組織内FおよびB含量は、全層において低値を示し、各層間に有意差は認められなかった。
- 4) 原発性アルドステロン症の副腎腺腫内A含量は高値を、クッシング症候群の副腎腺腫内F含量はやや高値を示した。副腎癌組織内ステロイド含量はA、FおよびBのいずれも著明な低値を示した。
- 5) 対照例の副腎皮質各層のA/F比およびA/B比は、球状層に最も高く、内層に移行するに従い低値を示した。原発性アルドステロン症のA/F比は、全層において 10×10^{-3} 以下の低値を示したが、特発性アルドステロン症では対照例と同様の値を示した。副腎皮質内A/B比は、原発性アルドステロン症においては 30×10^{-3} 以下の低値を示し、特発性アルドステロン症では 100×10^{-3} 以上の高値を示した。

以上の結果から、Aは球状帯ないし束状帯外層、FとBは束状帯内層において産生されると考えられる。また、正常者における副腎皮質のステロイド産生は、部位により、また左右により差異があるので、 ^{131}I -コレステロールによる副腎スキャンや副腎静脈血中ステロイド測定による副腎腫瘍の局在の診断の際に十分な注意が必要である。さらに原発性アルドステロン症と診断し、手術を行っても副腎腺腫を発見出来なかった場合、そのA含量またはA/B比を測定することにより、対側副腎の腺腫の有無を判定することが可能である。

文 献

- 1) 福地總逸, 飯野正典, 勝島一郎: Competitive protein-binding radioassayによる血漿hydrocortisoneの微量測定法, ホルモンと臨床, 16: 913-917, 1968.
- 2) 福地總逸: Steroidのcompetitive protein-binding radioassay, 医学のあゆみ, 66: 527-530, 1968.
- 3) 福地總逸, 勝島一郎, 竹内孝彦: Radioimmunoassayによる血漿aldosterone含量の測定, ホルモンと臨床, 19: 945-949, 1971.
- 4) 福地總逸, 中嶋凱夫, 竹内孝彦, 西里弘二, 中村 護, 小川 弘: ^{131}I -19-コレステロールによる副腎スキャンニング, 核医学, 11: 553-559, 1974.

- 5) 福地總逸, 李 錫昌, 小林 清, 田野武裕, 中嶋凱夫, 竹内孝彦, 西里弘二: 副腎垂全摘により病状の好転した特発性アルドステロン症の1例, 診断と治療, 64: 882-886, 1976.
- 6) 福地總逸: 副腎腫瘍の局在診断, 臨床泌尿器科, 30: 367-375, 1976. 7) 笹野伸昭: 副腎の形態, 皮質ホルモン分泌異常の病態生理との相関, ホルモンと臨床, 15: 677-683, 1967.
- 8) 笹野伸昭: 副腎皮質の形態と機能, 南江堂, 東京, 1975, p. 1-19.

日本内分泌学会雑誌 第54巻 第7号

昭和53年 7月15日印刷 昭和53年 7月20日発行
(毎月1回発行) 1年金7000円

発行所 日本内分泌学会 (振替京都12902番)

〒602 京都市上京区荒神橋西詰下ル

京都府立医科大学 青蓮会館内

TEL. (075)256-0136

編集兼 佐 野 豊
発行人

印刷人 近 浪 廣

印刷所 日本コンベンションサービス株式会社

東京都千代田区内幸町2-2-1

日本プレスセンタービル 8階