

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

佐々木 要輔

専攻分野：生活習慣プロフェッショナル養成コース

コース：

指導教授：田中 逸

主論文の題目：

In the Overnight Dexamethasone Suppression Test, 1.0 mg Loading is Superior to 0.5 mg Loading for Diagnosing Subclinical Adrenal Cushing's Syndrome Based on Plasma Dexamethasone Levels Determined Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

(副腎性サブクリニカルクッシング症候群診断目的に行う一晩法デキサメサゾン抑制試験は、液体クロマトグラフィー・タンデム型質量分析法を用いた血漿デキサメサゾン濃度によると 1mg 負荷が 0.5mg 負荷よりも優れる。)

共著者：

Takuyuki Katabami, Shiko Asai, Hisashi Fukuda, Yasushi Tanaka

緒言

サブクリニカル Cushing 症候群 (Subclinical Cushing's syndrome:SCS) を含む内因性 Cushing 症候群 (Cushing's syndrome:CS) を疑う場合、少量デキサメサゾン抑制試験 (Dexamethasone Suppression Test:DST) は最初に行うべき検査である。我が国では 0.5mg と 1mg の DST を推奨する 2 種の診断基準が混在し、診療に混乱を招いている。そこで我々はデキサメサゾン (DEX) 測定系を確立し、その血中濃度により両負荷の優劣を比較した。

方法・対象

高精度の DEX 濃度測定系確立のためイオン化スプレー・液体クロマトグラフィータンデム型質量分析 (Liquid

Chromatography-Tandem Mass Spectrometry:LC-MS/MS)法を採用し、内標準物質にはDEXと挙動の一致する安定同位体(DEX-4, $6\alpha, 21, 21-d_4$)を用いた。測定検体に内標準物質を添加後、液液抽出・固相抽出で夾雑物を除去後、溶液を測定器に供した。検体中のDEX同定は以下の2条件を満たす場合とした。得られたマススペクトルが、①標準物質DEXの質量、構造特異的マススペクトル(質量/電荷比393.1→147.2)と同一、②標準物質DEXと一致した保持時間に検出。DEX濃度定量は内標準物質とのピーク面積比を用いた。

対象は副腎偶発腫精査目的で聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院に入院した連続52例。DSTは検査実施day1の23時に0.5mg、day2の23時に1mgDEXを服薬させる一晩法を用い、負荷前、0.5mg負荷翌朝、1mg負荷翌朝(いずれも8時)の血漿ACTH、血清Cortisolを測定し、血漿DEX濃度は0.5mg負荷翌朝、1mg負荷翌朝(いずれも8時)に測定した。

DEXの有効刺激血中濃度は米国内分泌学会のCSガイドラインに示される2.2ng/mLを採用し、SCSの有無は平成7年度厚生省「副腎ホルモン産生異常症」研究班の基準に準じた。

本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会(承認3324号)の承認取得後に後ろ向き解析を行った。結果は中央値[四分位範囲]で表し、群間比較はMann-Whitney U、Fisher直接確率検定、関連性はSpearman順位検定、単回帰・重回帰分析を用いた。

結果

確立DEX測定系の同時・日差再現性の変動係数は各々2.4-6.6%と3.3-9.1%、添加回収率も99.2%-107.9%と良好だった。測定下限値は0.74ng/mL、定量範囲は1.2-23.5ng/mLだった。

対象52例(男性30例、女性22例)の年齢は中央値で65[53, 73]歳、8例(15.4%)がSCSと診断された。DSTでのDEX血中濃度は、全例1mg負荷での値が0.5mg負荷よりも高く($p<0.001$)、濃度比は約2倍だった。負荷後のDEX血中濃度が2.2ng/mL以下となったのは0.5mg負荷が45例、1mg負荷が17例と、1mg負荷の方が少なかった($p<0.001$)。SCSの8例でDEX濃度 >2.2 ng/mLとなったのは0.5mg負荷で2例、1mg負荷で4例

だった。DST 後も血中 ACTH 濃度が測定可能な例は 0.5mg 負荷で 30 例、1mg 負荷で 19 例にみられたが、その内 28 例と 4 例の血中 DEX 濃度は 2.2ng/mL 未満だった。

さらに DEX 血中濃度の規定因子 0.5mg 負荷後の DEX 血中濃度は BMI ($p=0.049$) のみと、1mg 負荷後は体重 ($p=0.041$)、BMI ($p=0.018$)、 γ -GTP ($p=0.014$)、HbA1c ($p=0.037$) と相関性を有したが、重回帰分析では γ -GTP ($p=0.049$) のみが 1mg 負荷後の DEX 血中濃度の有意な独立した説明変数として選択された。

考察

DST での不十分な血中 DEX 濃度上昇は、抑制効果不十分による偽陽性をもたらす可能性があり、その診断確度の比較には DEX 濃度測定が不可欠である。我々は高感度、特異的な LC-MS/MS 法による測定系開発を試み、示した精度検証試験結果から本アッセイ系が臨床応用可能な水準にあることを確認した。

本研究では DEX 0.5mg 負荷に対する 1mg 負荷の優越性が以下の理由により示された：①DST での血中 DEX 濃度は検討した全症例で 1mg 負荷後の方が高値、②有効 DEX 血中濃度 ($>2.2\text{ng/mL}$) 到達率は DEX 1mg 負荷の方が高い、③DEX 負荷後の ACTH 分泌抑制は 1mg 負荷の方がより強い。

DEX 0.5mg 負荷の推奨論拠として、欧米人と日本人の体格差が言われてきた。しかし、本研究では体格の指標である体重、体表面積、体格指数と血中 DEX 濃度の関連性は重回帰分析でみられず、体格差を根拠とした DEX 用量調節に合理性はないと考えられる。

結論

我々は高精度の LC-MS/MS 法を用いた血漿 DEX 濃度測定系を開発した。DEX 1mg 負荷後の DEX 血中濃度は常に 0.5mg 負荷での濃度よりも高く、偽陽性率も低いことから、副腎性 SCS の診断には 1mg 負荷の方が優れる。