

論文の内容の要旨

論文題目 カルシウム感知受容体異常とカルシウム代謝異常症

指導教官 藤田 敏郎 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成9年4月入学

医学博士課程 内科学専攻

氏名 千勝 典子

Ca 感知受容体(calcium-sensing receptor: CaSR)は、副甲状腺における細胞外 Ca^{2+} の感知に必須の分子として同定され、その機能異常により種々の Ca 代謝異常がもたらされることが明らかにされてきた。本研究では、各種 Ca 代謝異常症の発症における CaSR 異常の役割を解明する目的で、以下の4つのテーマにつき検討を行った。

1. CaSR 不活性型変異により惹起される病態

新生児重度副甲状腺機能亢進症(neonatal severe hyperparathyroidism: NSHPT)は、出生直後から重症の高 Ca 血症を呈し、一般的には新生児期に副甲状腺摘除を行わないと致死的であるとされている。初期の検討では、CaSR の不活性型変異のヘテロ接合体が家族性低 Ca 尿性高 Ca 血症(familial hypocalciuric hypercalcemia:FHH)を、ホモ接合体が NSHPT の病態を呈すると考えられてきた。しかし我々は、CaSR の新規不活性型変異 Q27R をホモで有しながらも、成人まで無治療で生存し得た副甲状腺機能亢進症の症例を経験した。そこで in vitro mutagenesis により変異 CaSR

cDNA を作成し、それをヒト胎児腎(HEK)293 細胞に導入することにより変異受容体の機能を解析した。細胞外 Ca^{2+} 濃度上昇に対する細胞内 Ca^{2+} 濃度変化の EC_{50} は、野生型 CaSR では約 4 mM なのに対し、既報の不活性型変異受容体の EC_{50} はこれより高く 5.5–50 mM 以上の広い範囲の値をとることが報告されている。本研究から本症例の変異 Q27R では EC_{50} が 4.9 mM、これまでに一例のみ報告されている成人まで無治療で生存できたホモ接合体の変異 P39A では EC_{50} が 4.4 mM であり、 EC_{50} は野生型に対して有意に上昇しているものの、既報の不活性型変異の中では最も軽度な上昇にとどまっていることが明らかになった。以上のことから、CaSR 不活性型変異ホモ接合体では、変異受容体機能が Ca^{2+} 感知機能を決定し、変異受容体の EC_{50} の上昇がわずかで機能障害が軽度な特殊な場合には、不活性型変異のホモ接合体であっても無治療で成人まで生存しうると考えられた。

また FHH の自験例の検討から CaSR の新規のヘテロ変異 R220W と既報のヘテロ変異 P55L を同定し、機能解析によりこれらの変異が不活性型変異であることを明らかにした。これまでの不活性型変異受容体の機能解析の報告とも併せ、CaSR 不活性型ヘテロ接合体によりもたらされる FHH では野生型受容体の発現量の低下により Ca 代謝異常が惹起される可能性が高いと考えられた。

一方、我々は臨床的には FHH と考えられるものの、CaSR 遺伝子に変異を持たない症例を経験した。そこで CaSR 遺伝子に変異の証明できた FHH 症例と原発性副甲状腺機能亢進症(primary hyperparathyroidism: HPT)の臨床像を検討し、一定の Ca 摂取下での 24 時間蓄尿を用いた尿中 Ca 排泄の評価と血清 1,25(OH) $_2$ D 濃度により、FHH と HPT の鑑別が可能であることを示した。本症例はこの基準によっても FHH と同一の病態であることが確認され、CaSR 遺伝子以外にも CaSR 遺伝子不活性型変異による FHH と同様の病態を惹起しうる原因遺伝子が存在することが明らかになった。従って CaSR の変異が否定されても、それだけでは FHH は除外できない。FHH に対す

る副甲状腺手術は無効であることから、特に家族性の高 Ca 血症の診断にあたっては、24 時間蓄尿での尿中 Ca 排泄、血清 1,25(OH)₂D 濃度や副甲状腺画像診断など臨床像の慎重な検討が必要である。

2. CaSR の活性型変異による常染色体優性低 Ca 血症

CaSR の活性型変異では、常染色体優性低 Ca 血症 (autosomal dominant hypocalcemia : ADH) が惹起されることが明らかになっている。しかし、本症は現在までに世界で十数例と報告が少なく、その病態は十分解析されていない。我々は家族性低 Ca 血症の家系において CaSR の新規変異 K47N を同定し、変異受容体の機能を解析した。その結果、本変異の EC₅₀ は 2.2 mM と野生型受容体の EC₅₀ 3.7 mM に対して有意に低下しており、本変異が活性型変異で本家系の Ca 代謝異常の原因であることを明らかにした。したがって、副甲状腺機能低下症のうち、少なくとも家族例においては、ADH を念頭に CaSR 変異の解析が必要と考えられる。

3. CaSR の自己抗体と特発性副甲状腺機能低下症

1996 年、自己免疫疾患を伴う特発性副甲状腺機能低下症の患者の血中に、CaSR の細胞外領域に対する自己抗体が存在すると報告され、長らく不明であった本症の病因がついに特定されたかと注目された。そこで我々は特発性副甲状腺機能低下症の自験例 8 例において血清中の CaSR 抗体の有無を検討したが、CaSR に対する自己抗体は証明されなかった。今後さらに症例数の蓄積は必要であるが、本症における CaSR 自己抗体の報告は一報のみで追試が全くなく、自己抗体の頻度や機能も不明である。従って現状では、この抗体が本症の病因であると結論するのは困難ではないかと考えられる。

4. CaSR 発現調節機序と副甲状腺腺腫における CaSR 発現低下

HPT の腺腫組織において CaSR の発現量の低下が報告されている。しかし CaSR の発現調節機序や副甲状腺腺腫における CaSR の発現低下の機序は解明されていない。そこで我々はゲノミッククローニングによりヒト CaSR 遺伝子の二つのプロモーターを同定し、その特徴を明らかにした。さらに、正常副甲状腺および副甲状腺腺腫においてこの二つのプロモーターから複数の mRNA が産生され、副甲状腺腺腫においては上流のプロモーターから産生される転写物の発現が特異的に低下していることを明らかにした。今後、この上流のプロモーター活性を修飾する因子の解析を通して、副甲状腺腺腫における CaSR 発現の低下をもたらす機序を明らかにすることが、本症の病因解明に結びつくものと考えられる。