

審査の結果の要旨

氏名 千勝 典子

本研究は、各種 Ca 代謝異常症の発症において、副甲状腺における細胞外 Ca^{2+} 濃度の感知に必須である Ca 感知受容体(calcium-sensing receptor: CaSR)の異常の役割を解明することを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. CaSR 不活性型変異のホモ接合体は、一般的には新生児重度副甲状腺機能亢進症を惹起し、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。しかし、CaSR の新規不活性型変異 Q27R のホモ接合体でありながら、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ことから、in vitro mutagenesis により変異 CaSR 発現ベクターを作成し、それをヒト胎児腎細胞に導入して受容体機能を解析した。その結果、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} は本症例の変異 Q27R では 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、野生型受容体 3.7 mM 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。したがって、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ことを示された。

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、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ことを示した。

一方、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)₂D 濃度により、FHH と HPT の鑑別が可能であることを示した。さらに、この方法を用いて自験例の臨床像を詳細に検討し、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を明らかにした。

2. 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、機能解析により、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。

3. 特発性副甲状腺機能低下症の自験例において血清中の CaSR 抗体の有無を Western blot により検討したが、CaSR に対する自己抗体は全く認められなかった。本症における CaSR 自己抗体の報告は一報のみで追試がなく、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あると考えられた。

4. 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、上流のプロモーターは TATA ボックス、CAAT ボックスを有すること、下流のプロモーターは TATA ボックスを持たない GC リッチなプロモーターであることを明らかにした。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。

以上、本論文は Ca 感知受容体の不活性型変異、活性型変異、発現量の低下により各種 Ca 代謝異常がもたらされることを明らかにした。さらに本研究はプロモーターのクローニングによって、これまで未知に等しかったヒト Ca 感知受容体遺伝子の発現調節機序の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。