

審査の結果の要旨

氏名 渡邊 秀美代

本研究は、カルシウム感知受容体(CaSR)の腎臓における作用の解明に重要な役割を果たすと共に、現在まで臨床的に鑑別が困難であった「常染色体優性低カルシウム血症 (ADH)」と、「PTH 分泌不全を伴うが ADH 以外の副甲状腺機能低下症」の臨床的な鑑別を可能にしたという意義を有する。

この研究から解明された結果を以下に述べる。

- 1) PTH 分泌不全を呈する副甲状腺機能低下症の症例 16 例を任意に選びその CaSR 翻訳領域の遺伝子配列を調べた結果、5 例の CaSR に変異が認められた。この変異は A843E, C131W, F788C, K47N, P221L のアミノ酸置換をもたらすものと考えられた。このうち C131W は新規に認めた変異である。
- 2) 上記の変異が CaSR の活性に影響を及ぼすものであるかどうかを調べるために上記の各変異を持つ CaSR の発現ベクターを下記の方法で作成した。

まず、野生型のヒト CaSR の全翻訳領域を RT-PCR で増幅し、この cDNA を発現ベクター (pcDNA3) にサブクローニングした。次に上記の野生型ベクターを元に、各変異部位を含むプライマーを用いて、変異をもつ CaSR の発現ベクターを作成した。
- 3) 上記の各変異ベクターを COS-1 細胞に過剰発現させ、その培養液に [³H] myoinositol を添加して更に培養した。細胞外 Ca²⁺濃度を変化させたときの細胞内 IP₃ 産生を、ダウエックスカラムを用いたイオン交換クロマトグラフィーを通した分画で IP₃ を単離し、IP₃ 分画の [³H] 量を測定することで CaSR の活性を定量した。
- 4) その結果、上記 5 症例の CaSR 遺伝子の変異は活性型変異であることがわかった。また、活性化の程度が強い変異をもつ症例では副甲状腺機能低下症に加えて Bartter 症候群及び低 Mg 血症をも呈していること

がわかった。活性化の度合いが弱い変異では Bartter 症候群も低 Mg 血症も呈していなかった。一方、CaSR に変異が認められない副甲状腺機能低下症症例では全員、Bartter 症候群も低 Mg 血症も呈していなかった。

以上のことより、下記の結論が導かれた。

- 5) CaSR の活性型変異で Bartter 症候群がもたらされる場合がある。これは Henle の上行脚の ROMK 及び NKCC2 チャネルの抑制によって生じている可能性がある。ただし、Bartter 症候群が発症するかどうか、またその程度は CaSR の活性化の度合いに依存している。
- 6) CaSR の活性型変異で低 Mg 血症がもたらされる。これは Henle の上行脚における細胞間輸送による Mg^{2+} の再吸収が低下することによって生じている可能性がある。ただし、低 Mg 血症が発症するかどうか、またその程度は CaSR の活性化の度合いに依存している。
- 7) CaSR の変異のない副甲状腺機能低下症では Bartter 症候群、および低 Mg 血症は生じない。

副甲状腺機能低下症に対しては、一般に活性型ビタミン D_3 製剤の投与が行われるが、ADH では特に、腎石灰化、腎結石、腎機能低下を予防するためにビタミン D_3 製剤投与量を最小限にする必要がある。しかし副甲状腺機能低下症の原因を臨床的に鑑別する方法は存在しなかったために、ADH と ADH 以外の副甲状腺機能低下症を区別して治療できなかった。

本研究により、副甲状腺機能低下症のうち、ADH の場合は Bartter 症候群または低 Mg 血症を生じる可能性があり、ADH でない場合は Bartter 症候群も低 Mg 血症も呈しないことがわかった。

従って、Bartter 症候群または低 Mg 血症を呈している副甲状腺機能低下症は、ADH であると考えられる。本研究により ADH が（特に CaSR の活性化の度合いが強い ADH が）臨床的に鑑別できるようになったことで、ADH 患者の腎石灰化から腎機能低下への進行の予防に努めることを可能にした。

また、本研究はこれまで不明であった腎臓における CaSR の機能の解明にも重要な貢献を成したと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。