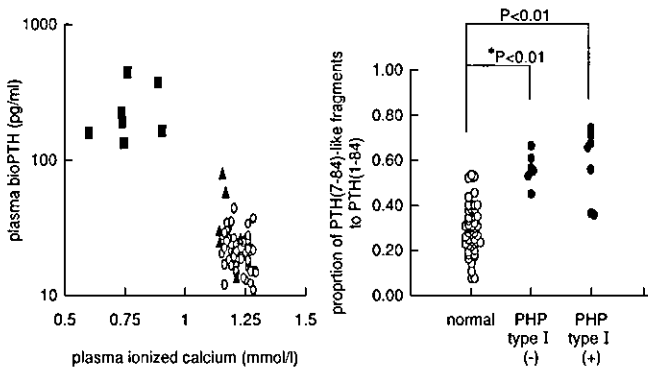


偽性副甲状腺機能低下症におけるPTH分子の存在様式に関する研究

- 最近、PTH(1-84) whole molecule (Bio-PTH)に特異的な測定系が開発された。
- 従来のintact PTH測定系では、Bio-PTHの他にHPLCでPTH(7-84)と同じ分画に溶出されるfragmentsがcrossreactすることが明らかにされた。
- 偽性副甲状腺機能低下症 (PHP) では、intact PTH同様に、血中BioPTHの増加が確認された。
- また、PTH(7-84)様fragmentsの割合が正常者に比べ増加していることも明らかとなった。
- 従って、PHPではPTHの合成分泌と分解のいずれもが亢進していると考えられた。



PTH(1-84) whole molecule (Bio-PTH)に特異的な測定系が開発された。

これまで用いられてきたいわゆる intact PTH assay系では、Bio-PTHの他にHPLCでPTH(7-84)と同じ分画に溶出されるfragmentsがcrossreactすることが明らかにされた。

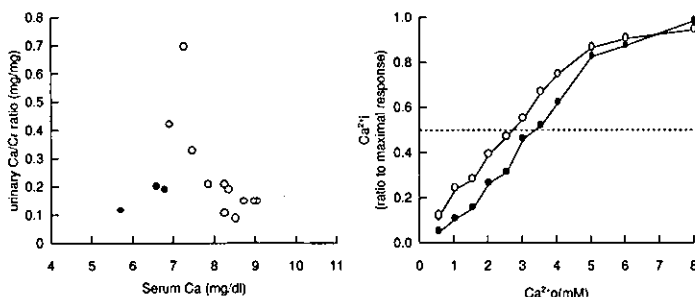
偽性副甲状腺機能低下症 (PHP) では、これまでの intact PTH測定系による結果と同様に、血中BioPTHの増加が確認された (left panel: ■ ビタミンD 治療前PHP、▲ ビタミンD 治療後PHP、○正常者)。

さらに、本症では、PTH(7-84)様fragmentsの割合が正常者に比べ増加していることも明らかとなった (right panel: ● ビタミンD 治療前PHP、● ビタミンD 治療後PHP、○正常者)。

従って、PHPではPTHの合成分泌と分解のいずれもが亢進していると考えられた。

高Ca尿症を呈した偽性副甲状腺機能低下症患者のCa受容体変異に関する研究

- 尿中排泄量の増加を伴った偽性副甲状腺機能低下症Ibの症例を経験した。
- Ca感受受容体(CaR)のcodon592にheterozygousなmissense mutation (Asn/Ser)が認められた。
- mutant CaRのEC50はwild-typeに対して低下していた。
- 1 α OHD3(1 μ g/day)投与後、尿中Caは一過性に増加したが、1 α OHD3の投与を継続していたところ、血清Caの正常化とともに尿中Caも正常化した。
- 少量の1 α OHD3投与により血清PTHを高値に保つことで、血清および尿中Caを正常化できたと考えられる。



尿中排泄量の増加を伴った偽性副甲状腺機能低下症Ibの症例を経験した(left panel:● ビタミンD 治療前、○ ビタミンD 治療後、shaded area:尿中Ca排泄量の正常範囲)。

本症例のCa感受受容体(CaR)遺伝子を解析したところ、codon592にheterozygousなmissense mutation (Asn/Ser)が認められた。mutant CaRの細胞外Caに対する反応性を解析をしたところ、そのEC50はwild-typeに比べ低下していた (right panel:○ mutant CaR、● wild-type CaR)。

したがって、mutant CaRの機能異常が、高Ca尿症の原因と考えられた。1 α OHD3(1 μ g/day)投与後(left panel:○)、血清Caの上昇とともに尿中Caは一過性に増加したが、1 α OHD3の投与を継続していたところ、血清Caの正常化とともに尿中Caも正常化した。

少量の1 α OHD3投与により血清PTHを高値に保つことで、血清および尿中Caを正常化できたと考えられる。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

副甲状腺機能異常症の病因・病態解析

分担研究者 皆川真規 千葉大学大学院医学研究院小児病態学

安田敏行 国立千葉病院（現国立病院機構千葉医療センター）小児科

A. 研究目的

偽性副甲状腺機能低下症（PHP）は代表的なホルモン受容機構異常症である。PHPはAlbright Hereditary Osteodystrophy（AHO：皮下異所性石灰化、低身長、中手中足骨短縮、肥満、円形顔貌）を伴うIa型（PHP-Ia）とAHOを伴わないIb型（PHP-Ib）に臨床的に分類されてきた。PHP-Iaは各種ホルモン受容体と共役するGs α 蛋白をコードするGNAS1遺伝子コード領域の母親由来の塩基配列（genetic）異常によることが知られていたが、PHP-IbではGNAS1遺伝子の転写調節領域のDNAメチル化パターンの異常（epigeneticな異常）があることが明らかになり、これによりGs α 蛋白の発現が障害されていることが推測された。しかし、このepigeneticな異常をきたす原因およびこのepigeneticな異常が組織特異的発現異常をきたすメカニズムについては全く不明である。

大部分のPHP-Ibは孤発性と考えられ、遺伝性しない可能性が高いと考えられるが、最近米国から家族性の常染色体優性遺伝性PHP-IbにおいてGNAS1遺伝子の5'上流約220kbにある全く別の遺伝子であるSTX16遺伝子の欠失がみられることが報告されたため、この欠失が日本人の孤発性PHP-Ibで認められるか検討した。また、PHP-Ibにみられるepigeneticな異常がGNAS1遺伝子特異的に生じているものか検討

するために、女性患者においてX染色体不活性化の偏りをアンドロジェン受容体遺伝子のリピート多型を用いて検討した。

PHPでは、腎でのPTH抵抗性が母系遺伝することから、PTHの標的臓器である腎近位尿細管ではGs α 蛋白をコードするGNAS1遺伝子が、ゲノム刷り込みを受け母性発現していると推測されている。しかし、これまでの胎児腎組織を用いた報告では、全腎組織では単アレル性の発現は証明されなかった。ヒトで直接ゲノム刷り込みが示されている組織は下垂体と甲状腺のみであったため、ヒト腎近位尿細管での単アレル性発現を直接証明できないか検討した。

PHP-Ibの臨床的特徴については、PHP-Iaに比べ詳細な報告がなく、GNAS1遺伝子のDNAメチル化状態を解析することにより分子生物学的診断をすることができるようになったため、この方法によりPHP-Ibを診断し、臨床的特徴を解析する。また、DNAメチル化異常のパターンは症例により異なるため、このパターンと臨床的特徴を比較検討する。

これらの検討により、epigenetic diseaseの発症機序について基礎的情報を得ること、PHP-Ibの診療に役立つ遺伝的、臨床的情報を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

- 1) STX16遺伝子欠失の検討：PHP-Ib日本人孤発例10例および家族例1家系においてPCR法およびサザン解析を用いて検討した。
- 2) X染色体不活性化の偏りの検討：PHP-Ib日本人孤発例のうちアンドロジェン受容体遺伝子CAリピート多型がヘテロであった4例について、CpGメチル化感受性制限酵素での切断前後でのDNAを鋳型として蛍光プライマーによるPCRを行い、シークエンサーにより蛍光強度を比較した。
- 3) 尿中落下近位尿細管由来細胞培養法を用いたGNAS1 mRNA発現の検討：PHP-Ib 4例の患者（Exon 5に存在するFokI多型がヘテロのもの）尿より近位尿細管由来細胞を培養し、RNAを抽出しRT-PCRを行いエクソン1A、エクソン1由来のmRNA発現を制限酵素FokI切断により確認した。
- 4) 日本人PHP-Ib 孤発例10例におけるGNAS1遺伝子上流域のDNAメチル化異常パターンと表現型の検討：メチル化感受性制限酵素によるサザン解析とbisulfite PCRによりメチル化異常部位を確認し、臨床的特徴と比較検討した。

(倫理面への配慮)

ヒトにおいては臨床像の解析が中心で、研究にあたっては、施設の倫理委員会の承認のもとで個人情報の保護と研究対象者の人権を最優先として、患者に対し十分に説明を行い書面による承諾を得ておこなった。

C. 研究結果及び考察

- 1) STX16遺伝子欠失の検討：PHP-Ib日本人孤発例10例では欠失はみとめなかったが、家族例1家系では欠失を証明した。STX16遺伝子の欠失は日本人PHP-Ibにおいても疾患遺伝性の特異度は高いと考えられた。
- 2) X染色体不活性化の偏りの検討：検討可能であった孤発性PHP-Ibにおいて著しいX染色体不活性化の偏り（skewed X-inactivation）を半数例において認めた。この頻度は一般人口でみられる3%の頻度と比べ明らかに高く、PHP-Ibにみられるepigeneticsの異常が、他の染色体上の他の遺伝子にも及ぶ可能性を示唆する。PHP-Ibの症例にみられた合併症がGNAS1遺伝子以外のepigenetics異常によっている可能性を検討する必要性を導く結果と考えた。
- 3) 尿中落下近位尿細管由来細胞を用いたGNAS1アリル特異的mRNA発現の検討：エクソン1Aの発現は健常コントロール（単アリル脱メチル化）では単アリル性で、PHP-Ib（両アリル脱メチル化）では両アリル性であった。エクソン1Aの単アリル性発現がこの細胞で証明され、その単アリル発現はDNAメチル化に強く依存していることが示された。しかし、エクソン1Aの発現は、メチル化状態および発現パターンに関わらず両アリル性であった。このことは、この尿細管由来細胞株ではGs α 蛋白の発現はゲノム刷り込みを受けていないことを示し、臨床的遺伝的事実と反する結果となった。この原因は主として細胞をin

in vitroで培養したことに起因すると考えられ、GNAS1遺伝子の生体内近位尿管細胞でのゲノム刷り込みには、高度の分化によるtrans-acting elementの発現が必須であると推測される。

- 4) PHP-IbのDNAメチル化異常パターンと臨床症状との関連：PHP-IbでPHP-Ia類似の臨床像（精神発達遅滞、中手中足骨の短縮）を示す例がありDNAメチル化解析は、両者の区別に有用であった。PHP-IbでもPHP-Iaと同様に種々の程度のホルモン抵抗性をTSHやLHに対して認めることがあり、これまでヒト甲状腺、性腺においてゲノム刷り込みがみられたとする報告と矛盾しない結果であった。PHP-Iaに類似する臨床像を呈した患者は広い範囲のDNAメチル化異常を示したものに含まれていたが、検討した範囲のDNAメチル化異常のパターンだけでは、臨床像の違いを説明できなかった。また、臨床的にPHP-Iaに特異度の高い臨床症状は皮下異所性石灰化であった。

D. 評価

1) 達成度について

当初目標の80%の成果を達成できたと判断する。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

epigenetic diseaseの原因・病態について基礎的情報を加えることができ、epigenetic diseaseの概念の確立に貢献した。また、epigeneticsの手法を用いることで、偽性副甲状腺機能低下症の診療において正確な診断、遺伝的情報を加えることができた。

3) 今後の展望について

GNAS1遺伝子のDNAメチル化以外の組織特異的インプリンティングの機構と生物学的意義については未だ不明である。本研究で可能性が強く示されたインプリンティングに必須のtrans-elementを同定し、その作用機序や特性を今後解明することが現在治療法のないPHP-Ia、偽性偽性副甲状腺機能低下症、progressive osseous heteroplasiaにみられる重症の異所性石灰化の新たな治療法の開発につながる情報を与えるものと考えられる。また、PHP-Ibの遺伝性についての情報もまだ完全なものとはいえず、さらに多数例の検討が必要であると考えられる。

4) 研究内容の効率性について

本研究によりepigenetic diseaseの概念について効率良く確立することができた。また、偽性副甲状腺機能低下症の診療に役立つ新たな情報を加えることができた。

E. 結論

偽性副甲状腺機能低下症の病因としてDNAメチル化異常が関与していることを明らかにした。同疾患の臨床像を詳細に解析することにより、診断のための新たな正確な情報を提供することができた。また、この疾患をモデルとしてepigenetic diseaseの概念を確立するための新たな情報を加えることができた。

F. 研究発表

1) 国内

口頭発表	10件
原著論文による発表	3件
それ以外（レビュー等）の発表	3件

そのうち主なもの

論文発表

皆川真規、安田敏行、渡辺智之、数川逸郎、河野陽一。偽性副甲状腺機能低下症IbにおけるGNAS1遺伝子転写調節領域のDNAメチル化異常。ホルモンと臨床 50(12):1223-1228, 2002

皆川真規。副甲状腺ホルモン/副甲状腺ホルモン関連ペプチド受容体 (PTHRI) 遺伝子多型と身長。ホルモンと臨床 51(11):955-958, 2003

数川逸郎、皆川真規、渡邊智之、木下香、佐藤裕美子、下橋京子、南谷幹史、安田敏行、河野陽一。特異な病像を呈する偽性副甲状腺機能低下症Ib-GNAS1遺伝子XL α s領域のDNAメチル化異常と臨床像の検討。ホルモンと臨床 52(10):971-976, 2004

学会発表

皆川真規、渡辺智之、数川逸郎、安田敏行、和田誠基、大竹明、佐々木望、根東義明、河野陽一。尿中落下培養細胞を用いたGNAS1遺伝子の腎における発現：偽性副甲状腺機能低下症Ibと健常人における両アリの発現。第75日本内分泌学会学術総会 平成14年6月30日

皆川真規、安田敏行、渡辺智之、数川逸郎、木下香、佐藤裕美子、下橋京子、河野陽一。偽性副甲状腺機能低下症Ib：DNAメチル化異常と臨床像の検討。第76日本内分泌学会学術総会 平成15年5月9日

数川逸郎、皆川真規、安斎未知子、木下

香、佐藤裕美子、渡辺智之、南谷幹史、安田敏行、河野陽一。偽性副甲状腺機能低下症の表現型とDNAメチル化異常。第77日本内分泌学会学術総会 平成16年6月24日

2) 海外

口頭発表	なし
原著論文による発表	1件
それ以外（レビュー等）の発表	なし

そのうち主なもの

論文発表

Minagawa M, Yasuda T, Watanabe T, Minamitani K, Takahashi Y, Goltzman D, White JH, Hendy GN, Kohno Y. Functional significance of AAAG repeat polymorphism in the P3 promoter of the human parathyroid hormone(PTH)/PTH-related peptide receptor gene. J Clin Endocrinol Metab 87(4):1791-1796, 2002

学会発表

なし

G. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1) 特許取得

なし

2) 実用新案登録

なし

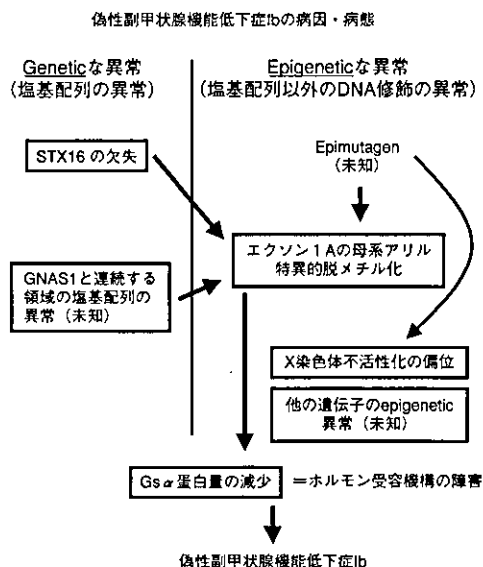
3) その他

なし

副甲状腺機能異常症の病因・病態解析

〈内容〉

- ・偽性副甲状腺機能低下症の病因としてgeneticな異常とepigeneticな異常があることを明らかにし、その臨床的および分子生物学的詳細について解析した。
- ・偽性副甲状腺機能低下症はいわゆる遺伝病と非遺伝病の間を補完するepigenetic diseaseの概念を確立する有用なモデルとなった。
- ・臨床診療において疾患の遺伝についての情報は重要であるが、現時点でのその情報の不確実な点と新たな情報を整理することができた。
- ・epigenetic diseaseについての病因・病態解明は不妊治療、再生医療の安全性を確保するため必須の研究と考えられる。



〈難治性疾患克服研究事業〉

偽性副甲状腺機能低下症の病因としてgeneticな異常とepigeneticな異常があることを明らかにし、その臨床的および分子生物学的詳細について解析した。(図参照：本研究により左のgeneticな異常としてSTX16遺伝子の欠失、あるいは原因不明の要因(epimutagenと呼ぶ)により右のepigeneticな異常が生じ、GNAS1遺伝子エクソン1Aの母系アリル特異的脱メチル化が惹起されることによって組織特異的なGs α 蛋白の減少をきたし、ホルモン受容機構の障害をきたすことを明らかにした)疾患発症は内的素因(遺伝的要因)と外的因子(環境要因)の両者の種々の程度の関与により成立する。偽性副甲状腺機能低下症はいわゆる遺伝病と非遺伝病の間を補完するepigenetic diseaseの概念を確立する有用なモデルとなった。また、臨床診療において疾患の遺伝についての情報は、罹患者のみならず近親者の重大な関心事であり、次の子や次世代の健康について重大な影響を及ぼすが、現時点でのその情報の不確実な点と新たな情報を整理することができた。最近、不妊治療としての生殖医療はその社会的認知度や必要性が増しているが、体外受精によりepigeneticsの異常をきたしepigenetic diseaseと考えられている疾患発症のリスクがあがることが報告されている。また、クローン動物の解析などにより哺乳動物の発生にはepigeneticsの正確な時間的空間的再現が必要であることが示されている。こうした点から今後、epigenetic diseaseについての病因・病態解明は不妊治療、再生医療の安全性を確保するため必須の研究と考えられる。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

副甲状腺ホルモンの骨形成促進作用およびその低下機序の解明に関する研究

分担研究者 松本 俊夫 徳島大学大学院生体情報内科学 教授

A. 研究目的

副甲状腺ホルモン（PTH）は7回膜貫通型受容体であるPTH/PTHrP受容体を介してGs, Gqなど複数のGタンパクと共役することにより骨や腎などの標的臓器に作用する。Gs α の不活性化はPTHに対する不応性により偽性副甲状腺機能低下症をもたらすが、その病態は主にPTHが果たすべき腎近位尿細管におけるリン再吸収抑制、活性型ビタミンD産生促進作用の欠如に基づくものと考えられる。一部の症例ではおそらくPTHの骨に対する抵抗性の欠如により骨代謝異常が認められることがあるが、その機序については不明である。

また、副甲状腺機能低下症の治療薬として用いられる活性型ビタミンDはPTH作用の一部のみしか代償できないことから、高カルシウム尿症などがしばしば問題となる。PTHの各臓器における作用機序の解明は副甲状腺機能低下症における新たな代替療法の可能性を開くものと考えられる。

骨に対しては、PTHは骨吸収促進作用を介した血中へのカルシウム動員によって血中カルシウム濃度の維持に貢献している一方、間欠的投与により骨形成を促進してアナボリックに作用することが知られている。このような複雑な骨作用におけるGs, Gqを介したシグナルの貢献度や、作用の時間依存性の機序などについてはほとんど不明である。さらに加齢、グルココ

ルチコイド過剰や力学的負荷の低下に伴う骨粗鬆症の病態においては、骨におけるPTH作用の減弱、すなわちPTH抵抗性が骨形成の抑制と骨量の減少に関与している可能性がある。

そこで本研究では、骨芽細胞におけるPTHの細胞内シグナルを解明し、PTHの骨形成促進機序および加齢や不動に伴うPTHの骨形成促進作用の抑制機序を明らかにするため、特にAP-1転写因子およびその下流標的遺伝子である骨形成性サイトカインInterleukin (IL)-11に注目し、これらのPTHシグナルにおける関与を検討した。

B. 研究方法

- 1) AP-1転写因子でin vivoの骨形成促進作用を有するdfosBの発現およびその転写に対するPTHの作用をRT-PCR, fosB promoter-luciferaseベクターを用いた転写アッセイにより検討した。
- 2) PTHのIL-11遺伝子転写に対する効果をマウスIL-11 promoter-luciferase constructおよびその変異体を用いた転写アッセイにより検討した。さらにPTH作用に与えるデキサメタゾン（DEX）の効果も調べた。
- 3) 新生児マウス頭蓋骨由来初代培養骨芽細胞や骨芽細胞株MC3T3E1細胞を用いてDEX・エトポシドによりアポトーシスを誘導し、trypan blue染色、DNA ladderなどを指標に

評価した。

- 4) アポトーシスに関与するシグナルを各種キナーゼ抑制薬やIL-11中和抗体などを用いて検討した。
- 5) AP-1とクロストークし、骨形成に重要な役割を有することが知られているSmad1/5のPTHシグナルにおける役割を検討した。
- 6) 倫理面への配慮：マウスは、倫理委員会で承認されたプロトコールに基づき、麻酔下で苦痛を与えないよう安楽死させた。

C. 研究結果及び考察

<結果>

- 1) PTHはfosB/dfosB遺伝子のmRNA発現を転写レベルで、ERK依存性に促進した。
- 2) PTHはIL-11遺伝子の転写をERK依存性にAP-1結合部位を介して促進した。またPTHによるIL-11転写促進作用はDEXにより強力に抑制された。
- 3) PTHおよびIL-11はDEXにより誘導される骨芽細胞アポトーシスを約50%に抑制した。
- 4) PTHおよびIL-11の抗アポトーシス効果はERK依存性であった。
- 5) DEXは抗アポトーシス因子であるbcl-2の発現を低下させたが、PTHおよびIL-11はこの発現低下を抑制した。
- 6) 上記のPTHの効果はIL-11の中和抗体により一部解除された。
- 7) PTHはERK非依存性にSmad1/5を活性化した。
- 8) AP-1転写因子の一つでin vivoでの骨形成促進能を有するdfosBは、Smad1と協調的にIL-11遺伝子の転写を促進した。

<考察>

以上の検討により、骨芽細胞においてPTH

がERK依存的なAP-1(dfosB)の誘導およびERK非依存的なSmad1の活性化を介してIL-11遺伝子の転写を誘導することが明らかとなった。

骨芽細胞においてはcAMPアナログ、PMA、Ca ionophoreのいずれもがERKを活性化すること (data not shown) から、PTHによるERKの活性化には複数のG蛋白を介したシグナルが協調的に作用している可能性がある。

PTHによるSmad1/5の活性化機序の詳細は不明であるが、AP-1誘導に至る経路とは別のERK非依存的なシグナル経路の関与が考えられる。そしてこれらの両経路の活性化がIL-11などの骨形成促進因子の転写を誘導することによりPTHの骨形成促進作用に寄与しているものと思われる。

また、PTHの骨形成促進作用には骨芽細胞に対する抗アポトーシス作用が関与していることが示唆された。このPTHの作用はERK依存性で、一部はIL-11の発現促進を介するものと考えられた。また、PTHによるアポトーシスの抑制にはbcl-2発現の促進が関与している可能性が示された。PTHはIL-11をin vitroおよびin vivoで誘導し、DEXはこれを強力に抑制することから、PTHの骨形成促進作用およびグルココルチコイドによる骨形成抑制作用にはIL-11が関与している可能性がある。

一方、骨形成誘導因子BMP-2のシグナルを媒介するSmad1/5は生理的な骨形成においても重要な役割を果たすと考えられている。PTHはBMP-2の骨形成促進作用を媒介するSmad1/5の活性化により、Smad1/5自身およびAP-1と協調的な転写促進作用に基づき、IL-11などの骨形成に関わる標的遺伝子を誘導することが示唆された。

このAP-1・Smad1/5転写因子複合体の活性

は力学的負荷によっても活性化され、逆に加齢やグルココルチコイドによって抑制されることから、普遍的な骨形成制御因子であるとともに、加齢やグルココルチコイド過剰におけるPTH作用の低下にも関わっている可能性がある。

D. 評 価

1) 達成度について

PTHの骨作用の解明という点から、ほぼ目標通りの成果が得られたが、PTHによるSmadの活性化や骨に対する時間依存性作用の機序解明が大きな課題として残されている。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

本研究によりPTH作用の新たな側面が明らかとなった。IL-11などの骨形成関連標的遺伝子の誘導に関与するAP-1・Smad1/5複合体に関する研究は、全くユニークなものであり国際的にも類を見ない。PTHによるアポトーシス抑制作用についても機序はほとんど知られておらず、我々が特に注目してきた骨形成性サイトカインIL-11の役割を示した点で独自性が高く先進的である。これらの成果は国際的にも広く骨・カルシウム代謝領域における骨形成の分子研究の進展に貢献するものである。

PTHの間欠的投与の骨形成促進、骨量増加効果は既に認知され臨床応用が進められているが、その機序の解明が待たれている。本研究の進展によりPTHの各標的臓器におけるシグナル伝達機構や作用機序が解明されれば以下のことが期待される：

- (1) 新たな骨形成促進薬の開発により、最も患者数の多い疾患の一つで高齢化社会

において重大な医学的、社会的問題となっている骨粗鬆症の治療に寄与し得る。

- (2) 副甲状腺機能低下症に対して現在用いられている活性型ビタミンDとは異なるPTHの代替療法の開発につながり得る。

3) 今後の展望について

今後、現在の研究成果を以下のように発展させていく：

- (1) PTHによる抗アポトーシス作用の機序のさらなる解明
- (2) PTHによるSmad1/5活性化機序の解明
- (3) PTHによるAP-1・Smad1/5転写因子複合体活性化に対するグルココルチコイドおよび加齢の及ぼす効果の解析と機序の解明
- (4) PTHの時間依存的作用（間欠的投与による骨形成促進）機序の解明。特に半減期が長い蛋白であるDFosBの蓄積効果の解析。
- (5) PTHの骨作用と腎作用の特異性と差異の解明

これらの研究を進めることによりPTH作用低下・抵抗性に基づく骨粗鬆症や特発性・偽性副甲状腺機能低下症に対する新たな治療開発への基礎を築く。

4) 研究内容の効率性について

研究班の分担研究の一つとして他の研究員とPTH作用に関わる情報や実験材料や共有しながら効率的に行っている。

E. 結 論

PTHはERK依存性にdfosBをはじめとするAP-1転写因子を誘導する一方、ERK非依存性

にSmad1を活性化することが明らかとなった。PTHはこれらの独立した二つのシグナル経路の協調的作用によりIL-11などの下流標的遺伝子を誘導し、骨芽細胞分化促進、アポトーシス抑制作用などを介して骨形成促進作用を発揮するものと考えられる。AP-1・Smad1/5転写因子複合体の活性は力学的負荷によっても誘導され、逆に加齢や不動などでは抑制されることから、生理的骨形成や骨形成低下病態において、骨のPTH反応性を規定している可能性がある。

F. 研究発表

1) 国内

主な学会発表 9件

1. 第75回日本内分泌学会学術総会（6/28-30/02、大阪）

PTHによるAP-1/IL-11カスケードの活性化は骨芽細胞の初期分化を促進するとともに、骨芽細胞アポトーシスをも抑制する

加藤修司、井上大輔、木戸慎介、伊藤祐司、松本俊夫

2. 第20回日本骨代謝学会（7/25-27/02、岡山）

力学的負荷による骨形成促進機構におけるfosB/Interleukin-11経路の活性化機序

木戸慎介、井上大輔、答島恵美子、松本俊夫

3. 第20回日本骨代謝学会（7/25-27/02、岡山）

副甲状腺ホルモン（PTH）によるdelta-fosBおよびinterleukin-11の発現誘導の機序およびその役割

井上大輔、木戸慎介、松本俊夫

4. 第20回日本骨代謝学会（7/25-27/02、岡山）

力学的負荷による骨形成促進機構におけるfosB/Interleukin-11経路の活性化機序

木戸慎介、井上大輔、答島恵美子、松本俊夫

5. 第76回日本内分泌学会学術総会（5/9-11/03、横浜）

骨形成促進因子インターロイキン(IL)-11はErk依存性にbcl-2の発現を促進してデキサメタゾンによる骨芽細胞のアポトーシスを抑制する。

加藤修司、木戸慎介、井上大輔、伊藤祐司、松本俊夫

6. 1st Joint Meeting of IBMS/JSBMR JAPAN DAY 第21回日本骨代謝学会（6/5/03、大阪）

骨形成促進因子インターロイキン(IL)-11の骨芽細胞に対する抗アポトーシス作用には、ERK依存性のbcl-2発現作用が関与する。

加藤修司、木戸慎介、吉田清美、伊藤祐司、井上大輔、松本俊夫

7. 第77回日本内分泌学会学術総会（6/24-26/2004、京都）

力学的負荷（Fluid shear stress）プロテインキナーゼC依存性にSmad1/5を活性化して骨芽細胞分化を促進する。

井上大輔、木戸慎介、今村健志、宮園浩平、松本俊夫

8. 第22回日本骨代謝学会学術総会（8/4-7/2004、大阪）

グルココルチコイドによるIL-11遺伝子転写の抑制

伊藤祐司、木戸慎介、井上大輔、松本俊夫

9. 第22回日本骨代謝学会学術総会（8/4-7/2004、大阪）

力学的負荷はPKC依存性かつBMP受容体非依存性にSmad1を活性化して骨芽細胞分化を促進する：

木戸慎介、井上大輔、今村健志、宮園浩平、山内英美子、宮本貴子、谷口寿章、松本俊夫

2) 国外

主な論文発表 16件

1. Abe, M., Hiura, K., Wilde, J., Moriyama, K., Hashimoto, T., Ozaki, S., Wakatsuki, S., Kosaka, M., Kido, S., Inoue, D., Matsumoto, T. et al. 2002. Role for macrophage inflammatory protein (MIP)-1alpha and MIP-1beta in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *Blood* 100:2195-2202.
2. Okazaki, R., Inoue, D., Shibata, M., Saika, M., Kido, S., Ooka, H., Tomiyama, H., Sakamoto, Y., and Matsumoto, T. 2002. Estrogen promotes early osteoblast differentiation and inhibits adipocyte differentiation in mouse bone marrow stromal cell lines that express estrogen receptor (ER) alpha or beta. *Endocrinology* 143:2349-2356.
3. Takeuchi, Y., Watanabe, S., Ishii, G., Takeda, S., Nakayama, K., Fukumoto, S., Kaneta, Y., Inoue, D., Matsumoto, T., Harigaya, K., et al. 2002. Interleukin-

11 as a stimulatory factor for bone formation prevents bone loss with advancing age in mice. *J Biol Chem* 277:49011-49018.

4. Endo, I., Inoue, D., Mitsui, T., Umaki, Y., Akaike, M., Yoshizawa, T., Kato, S., and Matsumoto, T. 2003. Deletion of vitamin D receptor gene in mice results in abnormal skeletal muscle development with deregulated expression of myoregulatory transcription factors. *Endocrinology* 144:5138-5144.
5. Iuchi, T., Akaike, M., Mitsui, T., Ohshima, Y., Shintani, Y., Azuma, H., and Matsumoto, T. 2003. Glucocorticoid excess induces superoxide production in vascular endothelial cells and elicits vascular endothelial dysfunction. *Circ Res* 92:81-87.
6. Kido, S., Inoue, D., Hiura, K., Javier, W., Ito, Y., and Matsumoto, T. 2003. Expression of RANK is dependent upon differentiation into the macrophage/osteoclast lineage: induction by 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and TPA in a human myelomonocytic cell line, HL60. *Bone* 32:621-629.
7. Kitagawa, H., Fujiki, R., Yoshimura, K., Mezaki, Y., Uematsu, Y., Matsui, D., Ogawa, S., Unno, K., Okubo, M., Tokita, A., Matsumoto, T., Kato, S. et al. 2003. The Chromatin-Remodeling Complex WINAC Targets a Nuclear Receptor to Promoters and Is Impaired in Williams Syndrome. *Cell* 113:905-917.

8. Tohjima, E., Inoue, D., Yamamoto, N., Kido, S., Ito, Y., Kato, S., Takeuchi, Y., Fukumoto, S., and Matsumoto, T. 2003. Decreased AP-1 activity and interleukin-11 expression by bone marrow stromal cells may be associated with impaired bone formation in aged mice. *J Bone Miner Res* 18:1461-1470.
9. Abe, M., Hiura, K., Wilde, J., Shioyasono, A., Moriyama, K., Hashimoto, T., Kido, S., Oshima, T., Shibata, H., Ozaki, S., Inoue D., Matsumoto, T., et al. 2004. Osteoclasts enhance myeloma cell growth and survival via cell-cell contact: a vicious cycle between bone destruction and myeloma expansion. *Blood* 104: 2484-2491.
10. Aihara, K., Azuma, H., Akaike, M., Ikeda, Y., Yamashita, M., Sudo, T., Hayashi, H., Yamada, Y., Endoh, F., Fujimura, M., Kato, S., Matsumoto, T., et al. 2004. Disruption of nuclear vitamin D receptor gene causes enhanced thrombogenicity in mice. *J Biol Chem* 279:35798-35802.
11. Inoue, D., Kido, S., and Matsumoto, T. 2004. Transcriptional induction of fosB/delta fosB gene by mechanical stress in osteoblasts. *J Biol Chem* 279: 49795-49803, 2004.
12. Hashimoto, T., Abe, M., Oshima, T., Shibata, H., Ozaki, S., Inoue, D., and Matsumoto, T. 2004. Ability of myeloma cells to secrete macrophage inflammatory protein (MIP)-1alpha and MIP-1beta correlates with lytic bone lesions in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* 125:38-41.
13. Tanimoto, Y., Yokozeki, M., Hiura, K., Matsumoto, K., Nakanishi, H., Matsumoto, T., Marie, P.J., and Moriyama, K. 2004. A soluble form of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) with S252W mutation acts as an efficient inhibitor for the enhanced osteoblastic differentiation caused by FGFR2 activation In Apert syndrome. *J Biol Chem* 279: 45926-45934.
14. Watanabe, Y., Ohshima, H., Mizuno, K., Sekiguchi, C., Fukunaga, M., Kohri, K., Rittweger, J., Felsenberg, D., Matsumoto, T., and Nakamura, T. 2004. Intravenous Pamidronate Prevents Femoral Bone Loss and Renal Stone Formation during 90-Day Bed Rest. *J Bone Miner Res* 19: 1771-1779.
15. Kitagawa, H., Yanagisawa, J., Fuse, H., Ogawa, S., Yogiashi, Y., Okuno, A., Nagasawa, H., Nakajima, T., Matsumoto, T., and Kato, S. 2002. Ligand-selective potentiation of rat mineralocorticoid receptor activation function 1 by a CBP-containing histone acetyltransferase complex. *Mol Cell Biol* 22:3698-3706.
16. Inoue D and Matsumoto T. Reduced AP-1 Mediated Transcription of Interleukin-11 Gene in Marrow Stromal Cells As a Mechanism of Senile Osteoporosis: Lessons from SAMP6. Proceedings of the 2nd International conference on Senescence: The SAM Model. International Congress Series (Elsevier, Amsterdam): 61-65:

2004.

主な学会発表

9件

1. Ninth Workshop on Cell Biology of Bone and Cartilage in Health and Disease
(Davos, Switzerland, 3/16-19/02)
Interleukin-11 Is An Osteogenic Cytokine That Inhibits Osteoblast Apoptosis
D. Inoue, S. Kido, S. Kato, Y. Ito, and T. Matsumoto
2. 24th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, 2002
Downregulation of Interleukin-11 may be involved in the pathogenesis of glucocorticoid-induced osteoporosis
S. Kido, D. Inoue, S. Kato, Y. Ito, T. Matsumoto
3. 24th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, 2002
Mechanism of mechanical stress-induced activation of AP-1/IL-11 transcriptional cascades
D. Inoue, S. Kido, T. Matsumoto
4. 1st Joint meeting of IBMS/JSBMR (Osaka, June 3-7, 2003)
Transcriptional induction of fosB/deltafosB gene by fluid shear stress in osteoblasts.
D. Inoue, S. Kido, Y. Ito, T. Matsumoto
5. 1st Joint meeting of IBMS/JSBMR (Osaka, June 3-7, 2003)

Interleukin-11 is an osteogenic cytokine that inhibits osteoblast apoptosis: upregulation of bcl-2 and synergism with estrogen

S. Kido, D. Inoue, S. kato, K. Yoshida, T. Matsumoto.

6. 25th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (Minneapolis, September 19-23, 2003)
Transcriptional induction of FosB/DeltafosB gene by mechanical stress in osteoblasts.
D. Inoue, S. Kido, S.Kato, T. Matsumoto
7. 25th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (Minneapolis, September 19-23, 2003)
Transcriptional induction of FosB/DeltafosB gene by mechanical stress in osteoblasts.
D. Inoue, S. Kido, S.Kato, T. Matsumoto
8. 25th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (Minneapolis, September 19-23, 2003)
A novel mechanical stress-induced signaling pathway leading to Smad1/5/8 activation in osteoblasts.
S. Kido, D. Inoue, T. Imamura, K. Miyazono, T. Matsumoto.
9. 26th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (Seattle, October 1-5, 2004)
Inhibition of interleukin-11 gene transcription by glucocorticoid.
Ito Y, Kido S, Inoue D, Matsumoto, T.

G. 知的所有権の出願・取得状況

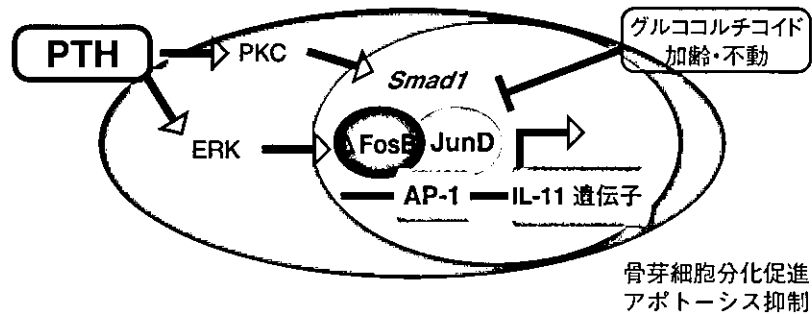
特になし。

副甲状腺ホルモンの骨形成促進作用およびその低下機序の解明に関する研究

<内容>

- PTHは骨芽細胞において二つの独立したシグナル経路を活性化することにより、効率良くIL-11などの標的遺伝子を誘導し、骨芽細胞分化促進・アポトーシス抑制作用を介して骨形成を促進することを明らかにした。
- PTHの骨作用を解明することにより、骨粗鬆症に対する骨形成促進薬や、副甲状腺機能低下症に対する新しいPTH作用代替薬の開発に向けて、新たな糸口が開かれた。

<難治性疾患克服研究事業>



PTHはERK依存性にFosBをはじめとするAP-1転写因子を誘導する一方、ERK非依存性にSmad1を活性化することが明らかとなった。PTHはこれらの独立した二つのシグナル経路の協調的作用によりIL-11などの下流標的遺伝子を誘導し、骨芽細胞分化促進、アポトーシス抑制作用などを介して骨形成促進作用を発揮するものと考えられる。AP-1・Smad1/5転写因子複合体の活性は力学的負荷によっても誘導され、逆に加齢や不動などでは抑制されることから、生理的骨形成や骨形成低下病態において、骨のPTH反応性を規定している可能性がある。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服事業）
分担研究報告書

カルシウム代謝異常症の病因解明：
カルシウム感知受容体の受容機構と役割に関する研究

研究協力者 杉本利嗣 島根大学医学部内分泌代謝・血液腫瘍内科 教授

共同研究者 山内美香 島根大学医学部内分泌代謝・血液腫瘍内科

A. 研究目的

カルシウム (Ca) 代謝異常症の病因、病態の解明と診断、治療法の確立を目的として、Ca感知受容体 (CaSR) の受容機構と役割について研究を行った。検討課題として以下の点を挙げた。

- I. 副甲状腺におけるCaSRの役割として、CaSRの副甲状腺細胞増殖の調節への関与、CaSR機能異常による副甲状腺組織の変化、各ドメインのうち膜貫通領域と細胞内領域の役割を明らかにする。
- II. CaSR agonistおよびantagonistは様々なCa代謝異常症に対する治療薬としての臨床応用への展開が進められているが、これにあたり各組織でのCaSRの受容機構と役割を明らかにすることが必要である。そこで、骨におけるCaSRの役割に着眼し、CaSRの骨芽細胞における役割を明らかにする。
- III. 特発性副甲状腺機能低下症(IHP)をはじめとする原因不明のCa代謝異常症の病因に、抗CaSR自己抗体が関与するか否かを検討する。

B. 研究方法

- I. ①著明な副甲状腺腫大を有し、副甲状腺

摘除術を施行した家族性低Ca尿性高Ca血症 (FHH) 症例について、CaSR遺伝子の変異の有無を検討した。*in vitro*でヒト胎児腎細胞 (HEK293) に変異CaSRを導入し、CaSRの発現と機能解析を行った。副甲状腺組織については、Ki67、CaSR、ビタミンD受容体 (VDR) の免疫染色を行った。②原発性副甲状腺機能亢進症 (pHPT) 例の手術で摘出した副甲状腺組織を用いてCaSR、VDR、Ki67の免疫染色を行い、CaSRと増殖能の関係を検討した。③ヒト副甲状腺培養細胞を用いて細胞増殖へのCa、CaSR agonist、 $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の影響を検討した。

- II. マウス骨芽細胞様MC3T3-E1細胞にベクターのみ、CaSRアンチセンス (AS) ベクターあるいはドミナントネガティブ (DN) ベクターをtransfectionし恒常的発現株を作成し、骨芽細胞の分化能を検討した。
- III. 自己免疫疾患を合併するIHP弧発例について以下の検討を行った。CaSR遺伝子変異の有無を検討した。また、続発性副甲状腺機能亢進症患者の副甲状腺摘出術時に得たヒト副甲状腺組織より蛋白抽出

を行い、ヒトCaSRに対する抗体のみを患者血清から精製し、これを一次抗体としてウエスタンブロット法にて抗CaSR抗体の有無を検討した。さらに、ヒト副甲状腺培養細胞のPTH分泌に対する患者血清の影響を検討した。

(倫理面への配慮)

検討したすべての患者からinformed consentを取得しており、当施設の倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果及び考察

I. ①本FHH例の副甲状腺組織はlipohyperplasiaを示した。Ki67染色で染色細胞を認め、VDR、CaSRとも正常と同程度に染色された。遺伝子解析ではR648stopの第1細胞内ループ以降を欠失する変異をヘテロで認めた。CaSRの発現実験にて正常より短いCaSRの膜での発現を確認し、細胞外Ca濃度の変化に対する細胞内Ca濃度の変化は本変異型では全く認めなかった。②pHPT患者から得た副甲状腺組織において、CaSRとVDR発現は増殖能と強い負の相関を有した。③ヒト副甲状腺培養細胞において、Ca、CaSR agonistは1, 25(OH)₂D₃と比較してもより強い増殖抑制効果を示した。以上のことから、副甲状腺においてCaSRが細胞増殖の調節に重要な役割を担っていることが示唆された。CaSRの膜貫通領域、細胞内領域の機能については、膜貫通領域の第1ループが膜への発現に関与し、膜貫通領域、細胞内領域がCaSRの副甲状腺細胞増殖の調節における情報伝達に重要であることが明らかとなった。

II. 骨芽細胞による検討ではAS株とDN株はいずれもコントロール株と比較して分化能の低下を認めた。骨芽細胞の分化段階でCaSRの役割が異なる可能性があり、CaSRは骨芽細胞の主に分化後期に作用し、その石灰化能に重要である可能性が示唆された。

III. 本IHP例のCaSRにE942Kとなる変異を認めた。これは遺伝子多型ではなかったが、検討したすべての家族にも同様の変異を認め、病因には関与しないと考えられた。Western blot法にて患者血清のみでCaSRの分子量レベルにbandを認めた。患者血清はコントロール血清と異なり、副甲状腺細胞のPTH分泌を有意に抑制した。以上より、IHP弧発例で、その病因に刺激型の抗CaSR抗体が関与する可能性が示された。

D. 評価

1) 達成度について

CaSRがPTH分泌のみならず副甲状腺細胞増殖の調節にも重要であり、CaSR agonistはPTH分泌を抑制するのみならず、副甲状腺の腫瘍性病変に対する細胞増殖抑制作用を有することが示唆された。CaSRの各ドメインの役割の詳細は不明であるが、今回、CaSRが細胞膜に発現するために、膜貫通領域の第1細胞内ループが重要であること、膜貫通領域、細胞内領域がCaSRの副甲状腺細胞増殖の調節における情報伝達に重要であることを示し、CaSRの受容機構の一端を明らかにした。また、臨床上的の問題点であるpHPTとFHHの鑑別については、本FHH例のように画像で副甲状腺腫大が確認されることがあり、腫大の有無は鑑別点にならな

いことを提言した。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

CaSRは様々な臓器に発現しており、CaSR作動薬の全身投与にあたり、CaSR発現臓器でのCaSRの役割を明らかにすることは重要である。CaSRは骨芽細胞にも発現しており、増殖と機能の調節に重要な役割をはたす。骨についてはCaSR agonistは骨石灰化に関して少なくとも悪影響は及ぼさないことが示された。様々な骨・Ca代謝異常症の治療薬としてCa agonistやantagonistの内服投与による臨床応用への展開を進めるにあたり貴重なデータと考えられる。

抗CaSR抗体の存在は1996年に副甲状腺機能低下症例で報告されていたが、これが病態に関わるかは明らかとなっていなかった。最近、副甲状腺機能低下症においてもCaSRの刺激型抗体が原因である2症例が報告され、CaSRがその抗体により刺激されることがin vitroで証明された。私どもは弧発のIHP例につき、抗CaSR抗体がその病態に関わる可能性を本邦で初めて示した。Ca代謝異常症の病因に、CaSRの遺伝子異常とともに、抗CaSR自己抗体が関与する病態が本邦でも検討される必要性を提起した。

3) 今後の展望について

2003年Kiforらは高Ca血症を示す症例で抗CaSR抗体が存在することを示し、これがCaSR機能を抑制することが病因であると初めて証明した。今後IHP以外の原因不明のCa代謝異常症にも抗CaSR抗体が関わっている可能性がある。さらに今後、抗CaSR抗体が原因である疾患にもCaSR agonistやantagonistによる治療の可能性を探る必要があると考える。

4) 研究内容の効率性について

今回の研究成果は、今後CaSR agonistや

antagonistをCa・骨代謝異常症の治療薬として臨床応用をはかる上で貴重な基礎データとなる。また、Ca代謝異常症の病因分類と診断法の確立、そして病因に基づいた保存的治療法の確立に向け一助となるものと考えられる。

E. 結 論

副甲状腺におけるCaSRのPTH分泌以外の役割として、副甲状腺細胞増殖の調節に関与することと、CaSRの受容機構の一端を明らかにした。またCaSRが骨にも発現しており、増殖と機能の調節に重要であることを示した。さらに、Ca代謝異常症の病因としてCaSRの遺伝子異常とともにCaSRの自己抗体が関与する可能性を提起した。

F. 研究発表

1) 国内

口頭発表	3件
原著論文による発表	2件
それ以外（レビュー等）の発表	0件
そのうち主なもの	

論文発表

山内美香、杉本利嗣、山口徹、矢野彰三、Wang J、Bai M、Brown EM、千原和夫：家族性低カルシウム尿性高カルシウム血症（FHH）の3家系の検討。日本内分泌学会雑誌 78：S120-123, 2002

学会発表

山内美香、山口徹、山口徹、杉本利嗣、千原和夫：骨芽細胞様細胞MC3T3-E1の分化・石灰化能におけるカルシウム感知容体の関与。第20回日本骨代謝学会（岡山）2002年7月25～27日

2) 海外

口頭発表 2件

原著論文による発表 4件

それ以外（レビュー等）の発表 0件

そのうち主なもの

論文発表

Yamauchi M, Sugimoto T, Yamaguchi T, Yano S, Wang J, Bai M, Brown EM, Chihara K. Familial hypocalciuric hypercalcemia caused by an R648stop mutation in the calcium-sensing receptor gene. J Bone Miner Res. 17, 2174-2182, 2002.

Yano S, Sugimoto T, Tsukamoto T, Chihara K, Kobayashi A, Kitazawa S, Maeda S, Kitazawa S. Decrease in vitamin D receptor and calcium-sensing receptor in highly proliferative parathyroid adenomas. Eur J Endocrinol. 148, 403-411, 2003.

Yamauchi M, Yamaguchi T, Kaji H, Sugimoto

T and Chihara K. Involvement of calcium-sensing receptor (CaR) in osteoblastic differentiation of mouse MC3T3-E1 cells. Am J Physiol Endocrinol Metab in press.

学会発表

Yamauchi M, Yamaguchi T, Sowa H, Yano S, Kaji H, Sugimoto T, Chihara K. The extracellular calcium-sensing receptor (CaR) is indispensable for expression of alkaline phosphatase (ALP) and osteocalcin(OC) as well as mineralization in mouse osteoblastic MC3T3-E1 cells. J Bone Miner Res. 18, S289, 2003. Twenty-fifth annual meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (Minneapolis)

Sugimoto T. Primary hyperparathyroidism. 2002 1st Conference of Young Human Society of Endocrinology and Metabolism (Gwangju, Korea)

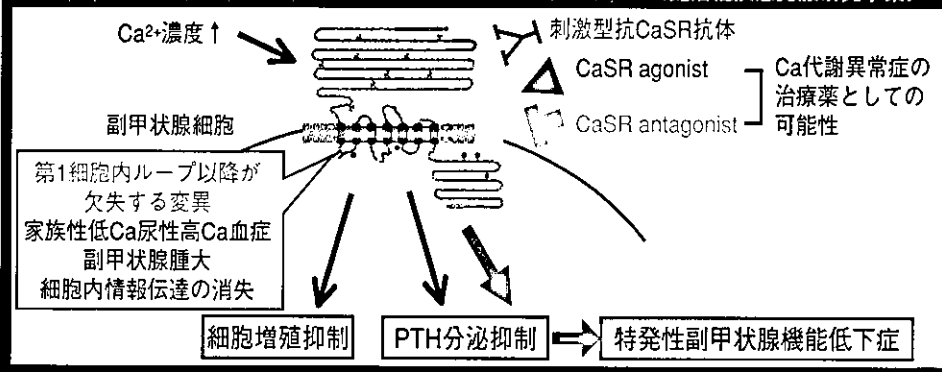
カルシウム代謝異常症の病因解明 カルシウム感知受容体 (CaSR) の受容機構と役割に関する研究

- CaSRが副甲状腺細胞増殖の調節にも重要であり、CaSRの膜貫通及び細胞内領域の情報伝達における重要性を明らかにした。
- CaSRが骨にも発現し、骨芽細胞の増殖や機能の調節に重要であることを示した。
- Ca代謝異常症の病因に抗CaSR自己抗体が関与する可能性を提起した。

今後CaSR agonistやantagonistをCa・骨代謝異常症の治療薬として臨床応用をはかる上で貴重な基礎データとなる。

CaSRの膜貫通領域、細胞内領域がCaSRの副甲状腺細胞増殖の調節における情報伝達に重要であることを示し、CaSRの受容機構の一端を明らかにした。

<難治性疾患克服研究事業>



CaSRの第1細胞内ループ以降が欠失する変異を有し、副甲状腺腫大を認めた症例の検討から、CaSRがPTH分泌のみならず副甲状腺細胞増殖の調節にも重要であり、CaSRの膜貫通領域、細胞内領域がCaSRの副甲状腺細胞増殖の調節における情報伝達に重要であることを示し、CaSRの受容機構の一端を明らかにした。また、臨床上の問題点であるpHPTとFHHの鑑別については、副甲状腺腫大の有無は鑑別点にならないことを提言した。CaSR agonistやantagonistの全身投与にあたり、CaSR発現臓器でのCaSRの役割を明らかにすることは重要である。CaSRは骨芽細胞にも発現しているが、CaSR agonistは骨芽細胞増殖や骨石灰化に関して少なくとも悪影響は及ぼさないことが示された。

私どもは弧発のIHP例につき、抗CaSR抗体がその病態に関わる可能性を示した。Ca代謝異常症の病因に、CaSRの遺伝子異常とともに、刺激型抗CaSR自己抗体が関与する病態が本邦でも検討される必要性を提起した。

以上のことは今後CaSR agonistやantagonistをCa・骨代謝異常症の治療薬として臨床応用をはかる上で貴重な基礎データとなる。また、Ca代謝異常症の病因分類と診断法の確立、そして病因に基づいた保存的治療法の確立に向け一助となるものと考えられた。