Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Parathyroid hormone gene polymorphisms in primary hyperparathyroidism

神澤，道子

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2000-05-17
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
乙2418
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002418

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

氏名・（本籍）　神澤道子（かんざわみちこ）　（兵庫県）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　博ろ第1736号

学位授与の要件　学位規則第4条第2項該当

学位授与の日付　平成12年5月17日

学位論文題目　Parathyroid hormone gene polymorphisms in primary hyperparathyroidism
（原発性副甲状腺機能亢進症における副甲状腺ホルモン遺伝子多型の検討）

審査委員　主査　教授　千原和夫
教授　前田　盛　教授　丸尾　猛

論文内容の要旨

Ⅰ．序文

最近骨粗鬆症をはじめとする代謝性骨疾患の遺伝的素因に関する研究が進み，ビタミン D受容体（VDR）遺伝子多型と骨密度や骨代謝動態との相関関係がいわれている。またスウェーデンにおいて VDR 遺伝子多型が原発性副甲状腺機能亢進症（pHPT）の発症に関与しているという報告がされた。私共は本邦で pHPT において VDR 遺伝子型により骨量低下の程度に差があることを報告した。一方，特発性副甲状腺機能低下症の一部の例において副甲状腺ホルモン（PTH）遺伝子の変異により PTH の合成や分泌が障害されることが知られており，また PTH 遺伝子には多型が存在する。そこで PTH 遺伝子多型が PTH の分泌やその活性に一部関わっている可能性も想定し，今回 PTH 遺伝子多型と pHPT の発症および病態との関連を検討した。

Ⅱ．対象と方法

1）対象

当科および隈病院で pHPT と診断された患者79名と年齢をマッチさせた対照例104名を対象とした。多発性内分泌腺腫症，家族性低 Ca 尿性高 Ca 血症あるいは三次性副甲状腺機能亢進症と診断できた症例は pHPT 例から除外した。

2）骨密度

骨密度は第2－4腰椎を dual energy X-ray absorptiometry（QDR－2000，Hologic 社）で，橈骨遠位端1／3を single photon absorptiometry（Bone Mineral Analyzer278o，Norland 社）で測定し得られた値を年齢と性によって補正し，Z score を得た。

3）生化学検査

pHPT 例では血中 Ca,P，アルカリフォスファターゼ（ALP）および intactPTH（i-PTH）を測定した。

4）genotyping

末梢白血球から DNA を抽出し，PTH 遺伝子の intron 2 と exon 3 のそれぞれ制限酵素 *Bst* BI, *Dra* II

で切断される部位を含む領域をPCR法で増幅し，RFLP解析を行った。*Bst* BI, *Dra* IIにより切断される対立遺伝子をそれぞれB, D, されない対立遺伝子をb, dで表した。

5）統計解析

有意差の検定は解析ソフトStatView-J4.11を用いてunpaired Studen's *t*-testsを行い，$p<0.05$を有意とした。

III．結果

対照例の背景は，腰椎と橈骨のZ scoreの平均がほぼ0であった。pHPT例では血中CaとALP値が高値をとり血中Pは低値であった。また高Ca血症にもかかわらずi-PTHは高値で橈骨のZ scoreは腰椎のZ scoreより低く皮質骨優位の骨量低下を認めた。

PTH遺伝子多型の頻度はpHPT例で*Bst* BI多型は，BB82.3%，Bb15.2%，bb2.5%，*Dra* II多型はDD83.1%，Dd15.6%，dd1.3%であり対照例では各々BB87.5%，Bb12.5%，bb 0 %，DD81.4%，Dd17.6%，dd1.0%で有意な差はみられなかった。b alleleおよびd alleleの頻度が少なかったためb alleleおよびd alleleの有無でそれぞれ2群（BBとBb+bb,DDとDd+dd）に分けて検討した。対照例，pHPT例ともに2群で年齢に有意な差は認められなかった。

Bst BI多型においては，対照例では腰椎骨密度(Z score)はBB群で有意に高かったのに対し，pHPT例ではBB群で低い傾向がみられ，術後の回復率はBB群で高い傾向がみられた。またpHPT例において血中Ca値がBB群で有意に高く，血中PTHとALPもBB群で高い傾向が認められた。以上の結果より，BB群ではpHPTの重症度が比較的高いことが示された。次に*Dra* II多型においては対照例では2群間に差を認めるものは無かった。一方pHPT例においてはDD群で血中i-PTHが有意に高く，*Dra* II多型がpHPTのPTH分泌能に何らかの影響を及ぼしていることが示唆された。

次に*Bst* BIと*Dra* IIの結果を用いたhaplotypeでBBDD群とそれ以外の2群で比較解析を行ったところ，pHPT例ではBBDD64.9%，BBDD以外35.1%であり，対照例ではそれぞれ70.3%，29.7%であった。そして対照例では2群間に差を認めるものは無かった。一方pHPT例においてはBBDD群で血中i-PTHおよびALPが有意に高く，術前橈骨骨密度が低い傾向がみられた。

IV．考察

今回の検討で得られたPTH alleleの頻度は，他国の報告とは異なりB alleleとD alleleを持つ人の割合が多く，bbとddの割合は少なかった。対象例とpHPT例の間でPTH遺伝子多型の頻度に差を認めずpHPTの発症にPTH遺伝子多型は関与していない結果であった。

対象例においてBB群で有意に腰椎骨密度が高かったのに対し，pHPT例では逆にBB群で腰椎，橈骨ともに低い傾向がみられた。対象例とpHPT例でPTH遺伝子多型がBMDに及ぼす影響が逆になる機序は明らかでないが，VDR *Bsm* I多型においても同様の結果が得られた。

pHPT例においてBb/bb群に比べBB群で有意に血中Caが高値でi-PTH，ALPも高い傾向，骨密度は低い傾向を示した。この結果より，*Bst* BI多型はpHPTの重症度に関連している可能性がある事が考えられる。米国ではpHPTの診断時に約80%が無症候性であるといわれているが，それはわが国より高い比率である。今回の検討でBB群の割合が高かったことは，無症候性のpHPTが米国よりわが国で低率であることと関連がある可能性が考えられる。

PTH遺伝子の変異により特発性副甲状腺機能低下症がおこることがいわれている。またVDR多型がVDRのmRNAの安定性や転写に関与していると報告されている。*Bst* BI多型はintron 2に存在し，

Dra II 多型は exon 3 にあり翻訳される蛋白は変わらないが，PTH 遺伝子多型が PTH 遺伝子の発現や PTH の分泌や機能に関わっている可能性は否定できない。pHPT 例で DD 群は他群に比べ i–PTH が有意に高値を示していることは，PTH 遺伝子多型が PTH の分泌や分解に関わっている可能性を示唆する。

Bst BI 多型と *Dra* II 多型の組み合わせでみると pHPT 例において BBDD 群は他群に比べ ALP と i–PTH が有意に高値を示し骨密度は低い傾向があった。このことからも PTH 遺伝子多型は pHPT の臨床像に影響していることがうかがえる。

PTH 遺伝子多型が骨密度や pHPT の重症度に関わっている機序は今後の検討課題であるが，PTH 遺伝子多型が pHPT の病態，特に重症度や PTH 分泌能に影響を及ぼす可能性が示唆された。

V．結語

PTH *Bst* BI 多型は骨密度に関連する可能性があり，また PTH 遺伝子多型は pHPT の発症には関与しないがその重症度に影響を及ぼす可能性があり，pHPT の臨床像は，一部遺伝的に調節されていることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

疾病の発症，進展，さらに治療薬の効果などにもそれぞれの固体が持つ遺伝子の特性が関与することか指摘されてきている。代表的な代謝性骨疾患である骨粗鬆症の発症にビタミン D 受容体（VDR）遺伝子の遺伝子多型が関与するという報告がなされ全世界に大きなインパクトを与えた。その後この VDR 遺伝子多型が原発性副甲状腺機能亢進症（pHPT）の発症に関与しているという報告がスウェーデンの研究チームよりなされた。本邦では申請者達が検討したが，白人と異なり日本人では pHPT 発症には VDR 遺伝子多型の関与は明らかではなかった。しかし pHPT 患者における骨量低下の程度に VDR 遺伝子多型が関与する成績が得られ報告している。今回，PTH 遺伝子にも多型が存在することに注目し，PTH 遺伝子多型と pHPT 発症および病態との関連について申請者は検討した。

第三内科および隈病院で pHPT と診断された患者79名と年令をマッチさせた対照例104名を対象とし，骨密度は第２－４腰椎を dual energy X–ray absorptiometry で，橈骨遠位端１／３を single photon absorptiometry で測定し，血中 Ca,P，アルカリフォスファターゼ（ALP）および intact PTH（i–PTH）を測定した。genotype は末梢白血球から DNA を抽出し，PTH 遺伝子の intron 2 と exon 3 のそれぞれ制限酵素 *Bst* BI, *Dra* II で切断される部位を含む領域を PCR 法で増幅し，RFLP 解析を行った。*Bst* BI, *Dra* II により切断される対立遺伝子をそれぞれ B,D，されない対立遺伝子を b, d で表した。

PTH 遺伝子多型の頻度は，*Bst* BI 多型（BB, Bb, bb）および Dra II 多型（DD, Dd, dd）ともに pHPT 例と対照例の間に有意差はなく pHPT 発症と PTH 遺伝子多型は関与していない結果が得られた。*Bst* BI 多型においては，対照例では腰椎骨密度（Z score）は BB 群で有意に高かったのに対し，pHPT 例では BB 群で低い傾向がみられ，術後の回復率は BB 群で高い傾向がみられた。また pHPT 例において血中 Ca 値が BB 群で有意に高く，血中 PTH と ALP も BB 群で高い傾向が認められた。対照例と pHPT 例で PTH 遺伝子多型が BMD に及ぼす影響が逆になる機序は明らかでない。*Bst* BI 多型は intron 2 に存在するがこの部位が PTH 遺伝子発現調節にプロモーター領域として係わっているかどうかは不明のままである。しかし，pHPT 例において Bb/bb 群に比べ BB 群で有意に血中 Ca が高値で i–PTH, ALP も高い傾向，骨密度は低い傾向を示した。この結果より，*Bst* BI 多型は pHPT の重症度に関連し

ている可能性がある事が考えられる。すなわちBB群ではBb/bb群にくらべてPTH分泌量がより多く，その結果生化学データや骨密度により大きな影響が出ている可能性である。一方，*Dra*Ⅱ多型において対照例ではDDとDd/dd群の間で差を認めるものは無かったが，一方pHPT例においてはDD群で血中i–PTHが有意に高く，*Dra*Ⅱ多型がpHPTのPTH分泌能に何らかの影響を及ぼしていることが示唆された。*Dra*Ⅱ多型はexon 3にあるが翻訳される蛋白には構造上の変化はないにもかかわらずDD群で血中i–PTHが有意に高い事は興味深い。次に*Bst* BIと*Dra*Ⅱの結果を用いてBBDD群とそれ以外の2群で比較解析を行ったところ，pHPT例においてBBDD群は血中i–PTH値とALPが有意に高く，術前橈骨骨密度が低い結果が得られた。

以上，本研究は，原発性副甲状腺機能亢進症の臨床像について，PTH遺伝子多型の影響を研究したものであるが，従来ほとんど行われなかったPTH遺伝子多型と血中i–PTH,Ca,ALPおよび骨塩量との関連について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって本研究者は，博士（医学）の学位を得る資格があると認める。