副甲状腺機能低下症における血中, 尿中 cyclic AMP,
尿中リン, カルシウムに対する
合成ヒト副甲状腺ホルモン (1-34) の効果

名古屋大学第一内科

(指導: 祖父江逸郎教授)

小長谷 陽 子, 高 槻 健 介, 富 田 明 夫

Effects of Synthetic Human Parathyroid Hormone (1-34)
on Plasma and Urinary Adenosine 3', 5'-Monophosphate
and Urinary Phosphate and Calcium in Patients with
Hypoparathyroidism and Pseudohypoparathyroidism

Yoko KONAGAYA, Kensuke TAKATSUKI and Akio TOMITA

The First Department of Internal Medicine,

Nagoya University School of Medicine,

Nagoya, Japan

(Director: Professor Itsuro Sobue M.D.)

According to recent advances in biochemistry, it is believed that the biologically active site of the parathyroid hormone (PTH) is the amino-terminal portion. Recently human PTH(1-34) (hPTH(1-34)) was synthesized in this country and has been used at a few laboratories. However, the clinical usefulness of this synthetic hPTH(1-34) remains uncertain.

In this paper, whether or not hPTH(1-34) can be used for diagnostic evaluation of hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism as well as native bovine PTH is investigated.

The subjects were 5 patients with untreated idiopathic hypoparathyroidism (group A1), 10 patients with treated idiopathic or post-operative hypoparathyroidism (group A2), 3 patients with treated pseudohypoparathyroidism (group B) and 6 normal controls (group N).

5, 10, 20 or 30 μ g of hPTH(1-34) (Niall sequence, Toyo Jozo Inst.) or 200 units of bovine PTH (Parathormone, Eli Lilly) were injected intravenously with saline at 10:00 a.m. Urine was collected at 9:00, 10:00, 10:30, 11:00, 11:30, 12:00 and 13:00 and blood was driven at 9:30, 10:15, 10:30, 11:00, 11:30 and 12:00. Urine, serum phosphate, calcium and creatinine were measured by Technicon Autoanalyzer. Urine and plasma adenosine 3', 5'-monophosphate (cAMP) were measured by radioimmunoassay using YAMASA cAMP kits.

The results were as follows:

- 1) 5, 10 and 20 μ g of hPTH(1-34) were given to 2 patients in group A1. The dose-response relationship was observed as to the maximum increase in the urinary cAMP excretion after hPTH(1-34) administration in both patients. The phosphaturic response to 5 μ g of hPTH(1-34) was lower than that to 10 or 20 μ g in one patient. In another, 5, 10 and 20 μ g of hPTH(1-34) had almost the same phosphaturic effect.
- 2) The basal excretion of urinary cAMP was significantly lower in groups A1, A2 and B than group N. In groups A1 and A2, 20 μ g of hPTH(1-34) caused an 82.7 or 97.7 fold increase in urinary cAMP excretion. In group B, however, it caused only several fold increase.
- 3) The basal excretion of urinary phosphate was significantly lower in groups A1, A2 and B than in group N. Phosphaturic response to hPTH(1-34) was more than 5 times in groups A1 and A2 but very low in groups B and N.
- 4) The basal excretion of urinary calcium was significantly low in group A1, but almost the same level of excretion was observed in groups A2, B and N. Urinary excretion of calcium after hPTH(1-34) administration decreased in groups A1, A2 and N, while it slightly elevated in group B.
- 5) The basal plasma cAMP levels were higher in groups A2 and B than in group N, and were not significantly different in groups A1 and N. The responsiveness to hPTH(1-34) showed the same tendency to urinary cAMP.
- 6) Renal responses of cAMP and phosphate to 30 μ g of hPTH(1-34) were not so different from those to 20 μ g of hPTH(1-34) in patients with idiopathic hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism.
- 7) There was a significant positive correlation between basal urinary phosphate and cAMP excretion.
- 8) 20 μ g of hPTH(1-34) and 200 units of Parathormone had almost identical effects on urinary cAMP excretion in patients with idiopathic hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism, but hPTH(1-34) had less effect on urinary phosphate excretion than Parathormone.

From these results, it is suggested that synthetic human PTH(1-34) can be used for diagnostic evaluation of patients with hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism as well as native bovine PTH.

I. 緒 言

副甲状腺機能低下症は、低カルシウム (Ca) 血症、高リン (P) 血症を示し、テタニーを主症状とする疾患であり、種々の原因によって引き起こされるが、主として 2 型に分けられている。第 1 群は副甲状腺ホルモン (PTH) の合成、分泌が欠如あるいは減少しているもので、特発性副甲状腺機能低下症 (IHP) 及び術後性副甲状腺機能低下症 (POHP) に代表される。第 2 群は PTH 作用の障害によるもので、その中に PTH に対する標的器官の感受性の欠如に起因する³⁾仮性副甲状腺機能低下症 (PHP) が含まれるが、この血中 PTH はむしろ二次性に高値を示し、円形顔貌、短軀、中手骨の短縮等の特徴ある所見を呈することが多く、遺伝性の receptor 異常症と考えられている。

この副甲状腺機能低下症の2つの型を鑑別する方法として、Ellsworth-Howard testが行なわれている。1934年、EllsworthとHowardは副甲状腺抽出物を投与するとIHPで尿中P排泄が著明に増加することを報告した¹⁴⁾が、その後PHPではPTHを投与しても尿中P排泄がほとんど増加しないことが明らかとなり、両者を鑑別する上で最も重要な検査として確立された。1967年、ChaseらはPTHがadenosine 3', 5'-monophosphate (cAMP)をsecond messengerとしてそのホルモン作用を表わすことを明らかにし⁸⁾、更に1969年、IHPではPTH投与により尿中cAMPが著明に増加するが、PHPではほとんど増加が見られないことを報告した⁹⁾。その後PTH投与による尿中cAMPの反応は正常であるが尿中Pの反応が小さい症例が報告され、これをPHP II型とし¹³⁾、従来のものをI型として区別するようになった。従って現在では、IHP又はPOHPとPHP I型、II型の診断には、Ellsworth-Howard testにより尿中PとcAMPとを同時に測定することが必須となっている。

従来このEllsworth-Howard testにはウシ副甲状腺抽出物“Parathormone®”(Eli-Lilly)が使用されていたが、ウシPTHはヒトPTHとはアミノ酸配列が異なること²⁰⁾、また本製品は純度、力価の安定性、副作用の点で問題があり、しかも我国では入手困難になってきておりヒトPTHの合成が強く要望されてきた。ヒトPTHも、ウシPTHも、その生物学的活性はN末端(1-34)にあることが知られており^{19) 20) 31)}、ヒトPTH(1-34)は2つのグループによりそれぞれ異なる構造をもつものが合成されたが^{6) 30)}、現在では一般にNiallらのものが正しいと考えられている。Neerらは既にNiallらのアミノ酸組成に基づく合成ヒトPTH(1-34)を使用してその効果について報告している²⁹⁾が、我国でも最近その合成が可能となった。そこで我々は、従来のウシPTHによるEllsworth-Howard testに準じた副甲状腺機能検査法の確立を目的として、この合成ヒトPTH(1-34)を正常者及び副甲状腺機能低下症の患者に投与し、尿中P、cAMP排泄を検討すると共に従来の“Parathormone®”を用いた検査成績と比較し、本法の臨床的有用性を検討した。対象(表1)

対象は、正常者6例=N群、未治療のIHP5例=A1群、治療中のIHP8例及び治療中のPOHP2例=A2群、治療中のPHP3例=B群である。各群の間で年齢構成の偏りはみられなかった。また、A2群及びB群は主として乳酸カルシウム及び1 α OH D_3 又は1,25(OH) $_2D_3$ による治療を受けていた。検査前の血清Ca値はA1群、A2群では低値を示したが、B群とN群との間には有意差はなかった。また、血清P値はA1、A2群で高値を示したが、B群ではN群との間に有意差は見られなかった。

方法

検査当日の朝は絶食とし、治療中の症例では当日服薬を中止させた。朝8時に排尿させ、10時に合成ヒトPTH(1-34)20 μ g、又は30 μ g、あるいは“Parathormone®”200単位を10mlの生理的食塩水に溶解して5分間で静注した。9:00, 10:00, 10:30, 11:00, 11:30, 12:00, 13:00に採尿、9:30, 10:15, 10:30, 11:00, 11:30, 12:00に採血して、Ca、P、クレアチニン及びcAMPを測定した。cAMP測定用の血液は500mMのEDTAを20 μ l加えた試験管に採り、直ちに氷中に置き、低温遠心機にて分離して、測定まで凍結保存した。cAMP測定用の尿は、採取後速やかに凍結保存した。

合成ヒトPTH(1-34)は、Niallらの構造式に基づき東洋醸造(静岡県大仁町)にて合成され完全な無菌処理及び発熱物質除去を行なったもので、厚生省受容体異常調査研究班から提供されたものを使用した。cAMPはヤマサcAMPキットを用いたradioimmunoassayにより測定した²⁷⁾。Ca、

P, クレアチニンは, Technicon Autoanalyzer® で測定した。

尿中電解質及び cAMP の表示法は報告者によりさまざまであるが, 今回対象とした症例では腎機能はいずれも正常であったので, 採尿時間のずれや GFR の変動による影響が少ないと思われるクレアチニン補正值について検討した。統計学的検討は Student's t test により行なった。

Table 1. Subjects and clinical data.

Group	Sub.	Age	Sex	s-Ca(mEq/l)	s-P(mg/dl)	s-Cr.(mg/dl)	GFR(ml/min.)	Treatment prior to present study
N	J.I.	19	F	4.6	3.9	0.8	73.9	none
	R.Y.	24	M	4.6	2.9	0.8	112.3	
	M.K.	31	M	4.8	3.1	1.0	130.5	
	K.M.	34	F	4.3	3.8	0.7	84.3	
	E.Y.	42	F	4.7	2.9	1.0	77.0	
	K.A.	49	F	4.6	3.2	0.9	108.3	
mean±SEM				4.6±0.07	3.3±0.20	0.9±0.05	97.7±10.2	
A1	M.S.	24	M	2.8	8.6	1.0	123.3	none
	R.Y.	42	F	3.0	4.8	0.9	118.0	
	N.S.	48	M	3.6	3.6	1.1	75.0	
	Y.S.	49	F	2.9	5.4	0.8	86.9	
	M.Y.	51	F	3.7	6.0	0.9	73.2	
mean±SEM				3.2±0.11	5.7±0.62	0.9±0.05	95.3±11.9	
A2	T.Y.	26	F	3.5	4.5	0.8	99.1	1,25(OH) ₂ D ₃ 1μg, Ca lactate 7.5g
	S.S.	33	M	3.2	4.5	1.0	93.2	Vit.D ₂
	E.M.	35	F	3.5	3.6	0.8	105.0	1,25(OH) ₂ D ₃ 1μg, Ca lactate 15g
	S.Y.	39	F	3.8	4.0	0.8	105.0	1,αOHD ₃ 2μg, Ca lactate 3g
	M.T.	42	F	3.3	5.2	0.7	95.2	1,αOHD ₃ 3μg, Ca lactate 7.5g
	K.S.	43	M	3.9	4.3	1.3	98.0	1,αOHD ₃ 2μg, Ca lactate 7.5g
	T.O.	51	M	3.7	2.8	1.1	71.6	1,25(OH) ₂ D ₃ 0.5μg, Ca lactate 7.5g
	H.T.	51	F	3.5	4.5	0.9	92.1	1,αOHD ₃ 3μg
	T.I.*	31	F	4.3	5.0	0.9	92.2	1,αOHD ₃ 2μg, Ca lactate 7.5g
	S.Y.*	33	M	3.8	4.4	1.1	81.4	1,25(OH) ₂ D ₃ 1μg, Ca lactate 7.5g
mean±SEM				3.7±0.11	4.3±0.23	0.9±0.06	93.3±3.42	
B	K.T.	23	F	4.3	4.1	0.8	85.8	1,αOHD ₃ 0.5μg, Ca lactate 7.5g
	T.I.	31	M	4.5	4.0	1.1	83.9	1,25(OH) ₂ D ₃ 0.5μg, Ca lactate 7.5g
	Y.S.	46	M	4.3	2.9	1.0	100.0	Ca lactate 7.5g
mean±SEM				4.4±0.07	3.7±0.38	1.0±0.12	89.9±5.08	

N:Normal

A1:Idiopathic hypoparathyroidism(untreated)

A2:Idiopathic hypoparathyroidism and post-operative hypoparathyroidism(*) (treated)

B:Pseudohypoparathyroidism(treated)

Fig. 1. Response of urinary phosphate (P) and cAMP to graded doses of hPTH (1-34). Case R.Y. is a patient with idiopathic hypoparathyroidism (untreated).

Fig. 2. Response of urinary phosphate (P) and cAMP to graded doses of hPTH (1-34). Case M.S. is a patient with idiopathic hypoparathyroidism (untreated).

II. 結 果

1. 合成ヒト PTH (1-34) 投与量と尿中 P, cAMP 排泄の変化 (図 1, 2)

PTH の投与量が尿中 P, cAMP 排泄増加反応に及ぼす影響をみるために, A1 群の 2 例 (症例 R.Y., M.S.) に 20, 10, 5 μ g の PTH をそれぞれ投与し, 尿中 P, cAMP 排泄の変化を見た。

R.Y. では, 投与した PTH が 10 μ g, 5 μ g の場合にも 20 μ g を投与した時と同程度の尿中 P 排泄増加が見られた。M.S. では, 10 μ g の PTH を投与した場合には 20 μ g の場合と同程度の尿中 P 排泄増加が見られたが, 5 μ g の PTH を対しては 20 μ g 及び 10 μ g の時より反応が低かった。また, 尿中 cAMP については, 両症例において PTH の投与量とその尿中排泄の最大値との間に用量反応関係が見られた。

2. 合成ヒト PTH (1-34) 20 μ g 投与による検討

1) 尿中 cAMP 排泄について (図 3, 4, 表 2)

PTH 投与前 2 時間の尿中 cAMP 排泄の平均値 (これを基礎値とする, P, Ca についても同様) は, N 群で 6.63 ± 0.64 n mole/mg Cr. (mean $\pm$ SEM) であった。A1 群では 4.32 ± 0.92 n mole/mg Cr., A2 群では 3.13 ± 0.59 n mole/mg Cr., B 群では 3.87 ± 0.54 n mole/mg Cr. と, いずれも N 群より有意に低い値を示した。PTH 投与後いずれの群でも増加し, 投与 30 分後に頂値を示した。基礎値からの増加率は N 群で 11.6~61.8 倍 (mean $\pm$ SEM = 37.2 ± 7.79) であり, A1, A2 群ではそれぞれ 45.4~144.7 倍 (82.7 ± 18.9), 44.1~140.3 倍 (97.7 ± 11.7) と N 群より有意に大きい値を示したが若干の overlap がみられた。一方 B 群では, 1.9~9.3 倍 (5.00 ± 2.22) と N 群より有意に小さい値を示し overlap は無かった。さらに, A1 群と A2 群との間には有意差はなかったが, A1, A2 両群と B 群との間には明らかな有意差が認められ overlap もなく区別が可能であった。基礎値との差; Δ cAMP (peak - basal) については, A1, A2 両群と N 群との間及び A1 群と A2 群との間に有意差はみられなかったが, B 群は N, A1, A2 いずれの群と比較しても有意に低い値を示し overlap もみられなかった。

Fig. 3. Changes in urinary cAMP excretion after hPTH (1-34) administration. Data are the mean $\pm$ SEM.

Fig. 4. Urinary cAMP excretion ratio (peak/basal) and increment (peak-basal) after hPTH (1-34) administration. Horizontal bars show the mean values.

Table 2. Changes in urinary cAMP excretion after hPTH (1-34) administration.

group	basal(nmole/mgCr.)	peak/basal	Δ cAMP(nmole/mgCr.)
N	6.63 $\pm$ 0.64	37.2 $\pm$ 7.79	227.9 $\pm$ 52.4
A1	4.32 $\pm$ 0.92	82.7 $\pm$ 18.9	344.8 $\pm$ 94.8
A2	3.13 $\pm$ 0.59	97.7 $\pm$ 11.7	250.2 $\pm$ 37.8
B	3.87 $\pm$ 0.54	5.00 $\pm$ 2.22	12.9 $\pm$ 5.26
N vs A1(P value)	<0.05	<0.05	NS
A2(P value)	<0.01	<0.01	NS
B(P value)	<0.05	<0.02	<0.02
A1 vs A2(P value)	NS	NS	NS
A1 vs B(P value)	NS	<0.02	<0.05
A2 vs B(P value)	NS	<0.01	<0.01

Δ cAMP=peak-basal
NS: not significant
Results are expressed as the mean $\pm$ SEM.

Fig. 5. Changes in urinary phosphate excretion after hPTH (1-34) administration. Data are the mean $\pm$ SEM.

2) 尿中P排泄について (図5, 6, 表3)

尿中P排泄の基礎値は, N群では $419.2 \pm 72.7 \mu\text{g/mg Cr.}$ (mean $\pm$ SEM)であり, A1群では $194.4 \pm 47.3 \mu\text{g/mg Cr.}$, A2群では $226.9 \pm 32.2 \mu\text{g/mg Cr.}$, B群では $187.3 \pm 49.7 \mu\text{g/mg Cr.}$ といずれもN群より有意に低い値を示したが, A1, A2, B群の相互間には有意差は認められなかった。PTH投与によりいずれの群でもP排泄増加が認められ, 1時間後の尿で頂値を示した。基礎値からの増加率は, N群で1.21~2.35倍(mean $\pm$ SEM= 1.73 ± 0.13), A1群で3.01~9.68倍(5.32 ± 1.22), A2群で2.60~10.66倍(5.99 ± 0.81), B群では1.25~1.65倍(1.50 ± 0.13)であった。A1及びA2群はともにN群及

びB群との間に有意差を示しoverlapもなかったが、A1群とA2群、B群とN群の間にはいずれも有意差は認められなかった。また頂値と基礎値との差 (ΔP) についても同様にA1及びA2群で大きく、ともにN及びB群との間に有意差が認められたが、A1群とA2群の間には有意差は見られなかった。しかし ΔP においてはB群はN群に較べて有意に小さく、増加率で見た場合には有意差を示さなかった両群間の相違が明らかであった。

Fig. 6. Urinary phosphate excretion ratio (peak/basal) and increment (peak-basal) after hPTH (1-34) administration. Horizontal bars show the mean values.

3) 尿中Ca排泄について (図7)

尿中Ca排泄の基礎値は、N群で $88.6 \pm 13.7 \mu\text{g/mg Cr.}$ (mean $\pm$ SEM)であり、A1群では $22.2 \pm 9.4 \mu\text{g/mg Cr.}$ と有意な減少が認められた。一方、A1群及びB群はN群との間に有意差を示さなかった。PTH投与後N群では尿中Ca排泄は経時的に減少し投与後2時間で最小となった。A1及びA2群でもほぼ同様のパターンでCa排泄が減少し、以上3群の最小値は各群の前値に比べ有意に低かった。一方、B群では投与後30分でやや増加した後漸減する傾向を示したが、他の3群に比較してその減少は軽度であった。

4) 血中cAMPについて (図8, 表4)

PTH投与前の血中cAMPは、N群で $15.1 \pm 1.10 \text{ pmole/ml}$ (mean $\pm$ SEM)であり、これと比較してA1群では有意差を示さなかったが、A2及びB群では有意に高い値を示した。PTH投与後、N, A1, A2の3群では増加が見られ、15分後に頂値を示し、N群では基礎値の 2.80 ± 0.37 倍 (mean $\pm$ SEM)

となった。これに対しA1, A2群では増加率 4.22 ± 0.85 倍, 5.06 ± 0.50 倍とN群より有意に大きな反応が認められた。一方, B群は増加率 1.13 ± 0.14 倍とほとんど反応を示さなかった。 Δ cAMPに関しても, 各群間に同様の関係が見られた。

Table 3. Changes in urinary phosphate excretion after hPTH (1–34) administration.

group	basal($\mu\text{g}/\text{mgCr.}$)	peak/basal	Δ P($\mu\text{g}/\text{mgCr.}$)
N	419.2 ± 72.7	1.73 ± 0.13	249.3 ± 51.6
A1	194.4 ± 47.3	5.32 ± 1.22	703.4 ± 81.8
A2	226.9 ± 32.2	5.99 ± 0.81	976.8 ± 144.0
B	187.3 ± 49.7	1.50 ± 0.13	88.0 ± 30.0
N vs A1(P value)	< 0.05	< 0.01	< 0.001
A2(P value)	< 0.01	< 0.001	< 0.01
B(P value)	< 0.01	NS	< 0.05
A1 vs A2(P value)	NS	NS	NS
A1 vs B(P value)	NS	< 0.05	< 0.001
A2 vs B(P value)	NS	< 0.01	< 0.01

Δ P=peak-basal
NS: not significant
Results are expressed as the mean $\pm$ SEM.

Fig. 7. Changes in urinary calcium excretion after hPTH (1–34) administration. Data are the mean $\pm$ SEM.

*: $P < 0.01$ (from basal level)

副甲状腺機能低下症における血中, 尿中 cyclic AMP, 尿中リン,
カルシウムに対する合成ヒト副甲状腺ホルモン (1-34) の効果(小長谷, 他2名)

Fig. 8. Changes in serum cAMP levels after hPTH (1-34) administration.
Data are the mean $\pm$ SEM.

Table 4. Changes in serum cAMP levels after hPTH (1-34) administration.

group	basal (pmole/ml)	peak/basal	Δ cAMP (pmole/ml)
N	15.1 $\pm$ 1.10	2.80 $\pm$ 0.37	26.6 $\pm$ 4.96
A1	21.1 $\pm$ 5.90	4.22 $\pm$ 0.85	72.7 $\pm$ 28.5
A2	29.9 $\pm$ 2.57	5.06 $\pm$ 0.50	116.3 $\pm$ 14.1
B	36.0 $\pm$ 5.57	1.13 $\pm$ 0.14	6.0 $\pm$ 6.09
N vs			
A1 (P value)	NS	< 0.02	< 0.05
A2 (P value)	< 0.001	< 0.01	< 0.001
B (P value)	< 0.01	< 0.02	< 0.05
A1 vs A2			
(P value)	NS	NS	NS
A1 vs B			
(P value)	NS	< 0.05	NS
A2 vs B			
(P value)	NS	< 0.01	< 0.01

Δ cAMP=peak-basal
NS: not significant
Results are expressed as the mean $\pm$ SEM.

5) 血中 Ca, P について (表 5)

PTH 投与前の血清 Ca 値は N 群で 4.6 ± 0.07 mEq/l (mean $\pm$ SEM) であり, A1 群では 3.2 ± 0.19 mEq/l と低値を示した。A2 群でも低値を示したが, B 群では N 群との間に有意差は見られなかった。PTH 投与による血清 Ca 値の変化はいずれの群でもほとんど認められなかった。血清 P は, PTH 投与前 N 群で 3.3 ± 0.20 mg/dl (mean $\pm$ SEM) であり, A1 群では 5.7 ± 0.62 mg/dl, A2 群では 4.3 ± 0.23 mg/dl といずれも N 群より有意に高い値を示したが, B 群では N 群との間に有意差はなかった。また, いずれの群でも PTH 投与による血清 P の有意な変化は認められなかった。

Table 5. upper: Changes in serum calcium levels (miliequivalent per liter) after hPTH (1-34) administration.

lower: Changes in serum phosphate levels (miligram per deciliter) after hPTH (1-34) administration.

group	time(min.)					
	bef.	15	30	60	90	120
N	4.6±0.07	4.6±0.07	4.6±0.06	4.6±0.07	4.6±0.10	4.7±0.12
A1	3.2±0.19*	3.0±0.33	3.0±0.28	3.0±0.33	3.0±0.30	3.0±0.30
A2	3.7±0.11*	3.7±0.11	3.7±0.11	3.7±0.11	3.7±0.11	3.7±0.11
B	4.4±0.07**	4.4±0.03	4.4±0.07	4.4±0.12	4.6±0.03	4.5±0.07

*:P<0.001 compared with group N

**: not significant

Results are expressed as the mean±SEM.

group	time(min.)					
	bef.	15	30	60	90	120
N	3.3±0.20	3.2±0.19	3.2±0.20	3.2±0.16	3.2±0.16	3.2±0.16
A1	5.7±0.62*	5.6±0.98	5.7±0.93	5.5±0.88	5.5±0.91	5.6±0.90
A2	4.3±0.23**	4.2±0.23	4.1±0.23	4.0±0.21	3.9±0.18	3.9±0.17
B	3.7±0.38***	3.4±0.33	3.4±0.33	3.4±0.32	3.5±0.26	3.6±0.26

*:P<0.05 compared with group N

**:P<0.02 compared with group N

***: not significant

Results are expressed as the mean±SEM.

Fig. 9. The correlation between basal urinary phosphate and basal urinary cAMP. A positive correlation is observed. ($Y=0.012X+1.24$, $r=0.641$, $n=24$, $P<0.001$)

●N, ■A1, □A2, ▲B

副甲状腺機能低下症における血中, 尿中 cyclic AMP, 尿中リン,
カルシウムに対する合成ヒト副甲状腺ホルモン (1-34) の効果 (小長谷, 他 2 名)

6) 尿中 cAMP 排泄と尿中 P 排泄との関係 (図 9)

N 群 6 例, A1 群 5 例, A2 群 10 例及び B 群 3 例における, 尿中 cAMP 排泄の基礎値と尿中 P 排泄の基礎値との間に図 9 の如き有意の正の相関が認められた。

3. 合成ヒト PTH (1-34) 30 μ g 投与による検討 (表 6)

未治療の IHP 3 例, PHP I 型 1 例, PHP II 型 2 例に, 合成ヒト PTH (1-34) 30 μ g を投与し, 尿中 cAMP と P の反応をみた。

1) 尿中 cAMP 排泄について

IHP では, 尿中 cAMP の増加率, 増加量は 20 μ g の合成ヒト PTH (1-34) を A1 群に投与した場合と比較して有意差は見られなかった。PHP I 型では, 尿中 cAMP の反応は悪く, PHP II 型では, IHP と同程度の反応が見られた。

Table 6. Renal response to 30 μ g of hPTH (1-34) in idiopathic hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism.

	No. of patients	Urinary peak/basal	cAMP Δ cAMP (nmole/mgCr.)	Urinary peak/basal	phosphate Δ P (μg/mgCr.)	
IHP	3	77.2±16.3	280.9±70.2	3.93±0.99	784.0±148.2	
PHP	type I	1	4.92	31.0	1.21	103.0
	type II	2	40.4	464.9	1.26	313.0

All subjects are untreated ones.

Δ cAMP=peak-basal Δ P=peak-basal

Results are expressed as the mean $\pm$ SEM.

Table 7. Comparison of renal response to 20 μ g of hPTH (1-34) and 200 units of Parathormone.

	PTH administered	No. of patients	Urinary cAMP		Urinary phosphate	
			peak/basal	Δ cAMP (nmole/mgCr.)	peak/basal	Δ P (μ g/mgCr.)
IHP	hPTH(1-34) 20 μ g	5	82.7 $\pm$ 18.9	344.8 $\pm$ 94.8	5.32 $\pm$ 1.22	703.4 $\pm$ 81.8
	Parathormone 200U	9	63.5 $\pm$ 13.0	244.6 $\pm$ 80.9	3.98 $\pm$ 0.42	1151.7 $\pm$ 225.9
PHP	hPTH(1-34) 20 μ g	3	5.00 $\pm$ 2.22	12.9 $\pm$ 5.26	1.50 $\pm$ 0.13*	88.0 $\pm$ 30.0**
	Parathormone 200U	4	3.81 $\pm$ 1.61	13.2 $\pm$ 6.43	2.01 $\pm$ 0.09*	241.5 $\pm$ 31.6**

IHP corresponds to group A1.

PHP corresponds to group B.

* P<0.05 hPTH(1-34) vs Parathormone

** P<0.02 hPTH(1-34) vs Parathormone

Others are not significant. Results are expressed as the mean $\pm$ SEM.

2) 尿中 P 排泄について

IHP では, 尿中 P の増加率, 増加量は 20 μ g の合成ヒト PTH (1-34) を A1 群に投与した場合と同程度の反応が見られた。一方, PHP では I 型でも, II 型でも, 尿中 P 排泄増加は軽度であった。

4. “Parathormone®” と合成ヒト PTH (1-34) とによる尿中 cAMP, P 反応の比較 (表 7)

IHP 9 例 (未治療, うち 5 例は A1 群と同症例), PHP 4 例 (治療中, うち 3 例は B 群と同症例) に, “Parathormone®” 200 単位を投与し, 尿中 cAMP, P の反応を, 合成ヒト PTH (1-34) 20 μ g を投与した結果と比較した。尿中 cAMP 排泄の基礎値及び PTH に対する反応は, IHP 及び PHP において,

“Parathormone®”とヒトPTH (1-34) との間に有意差は認められなかった。また尿中P排泄については、IHPにおける基礎値が“Parathormone®”投与の場合に高い傾向を示したが、PTHに対する反応はヒトPTH (1-34) の場合との有意差はみられなかった。一方、PHPでは、基礎値については差がみられなかったが、PTHに対する反応は“Parathormone®”の方が大きかった。

III. 考 察

従来のEllsworth-Howard testにおいて、副甲状腺機能低下症の鑑別診断の判定基準となる尿中cAMP及びP排泄の反応については、その増加率を指標とする報告が多い^{7) 9) 10)}。今回の検討では、cAMPについては各群間の有意差は増加率においてより明らかであったが、Pについては増加率より増加量の方が有意差が明らかであった。

Kaminskyらは正常人に“Parathormone®”の量を変えて投与し、尿中cAMP及びP排泄の変化をみているが、cAMP排泄の頂値は投与量を40m U/kg/min.まで増加したのに比例して増加したが、P排泄の頂値は10m U/kg/min.以上では投与量を増加しても尿中排泄の増加は見られなかったと報告している¹⁸⁾。今回検討したIHPの症例でも、尿中cAMPの最大反応値は投与した合成ヒトPTH (1-34)の量に比例して増加し、従来の報告と一致する^{10) 18) 39)}。また、P排泄については、20 μ gのPTHにより機能低下症の鑑別診断には十分と思われる増加反応が見られた。

尿中cAMP排泄の基礎値は副甲状腺機能亢進症で高く^{11) 23) 28)}、機能低下症では低く、よく副甲状腺機能を反映することが知られている^{8) 26) 34) 35) 40)}。今回の検討でも、A1, A2, B群の尿中cAMP排泄の基礎値は、N群に比べて有意に低い値を示した。PTH投与によりN, A1, A2群ではcAMPの尿中排泄が速やかに且つ著しく増加し、30分後に頂値を示した。B群では、PTHに対する反応は低く、従来の報告と一致する⁸⁾。また、増加率、増加量のいずれにおいても、B群と他の3群との間にはoverlapはなかった。A1, A2群とN群との間のoverlapは、増加率で見た場合により少なく、尿中cAMPの判定は増加率を指標とするのが適当と考えられた。

副甲状腺機能低下症では尿中P排泄は減少しているが、今回の検討でもP排泄の基礎値はA1, A2, B群共に減少しており、3群間に有意差はなく、治療の有無による差もみられなかった。PTHは近位尿細管でのPの再吸収を抑制し尿中排泄を増加させる^{11) 17)}が、A1, A2群では、PTH投与による尿中Pの増加反応はN群より大きかった。副甲状腺機能亢進症ではPTHに対する尿中P排泄の反応が正常より悪いという報告があり^{2) 5) 18) 37)}、内因性のPTHが存在する場合には、腎のtarget cellのreceptorがそれにより占拠されるため外因性のPTHに反応し難いが、内因性のPTHが減少しているIHPでは、外因性のPTHに対しより良く反応するものと思われる。一方、B群では、PTH投与後も尿中P排泄増加は少なく、従来の報告と一致する³⁾。A1, A2群とB群の間には、増加率、増加量のいずれについてもoverlapはなく区別が可能であった。しかし、N群とB群の間にはoverlapが見られ、増加率においては有意差がなかったが増加量においては有意差がみられた。

PTHは、また、遠位尿細管におけるCa再吸収を促進すると言われているが^{21) 32)}、PTHを欠くA1群では尿中Ca排泄の基礎値は著しく低かった。これはCa再吸収の低下にもかかわらず低Ca血症によりCaの糸球体濾過量が減少しているためである。PTH投与によりN, A1, A2群ではCa排泄は減少したが、血清Caは投与後2時間まで殆んど変化していないことから、これはPTHの遠位尿細管におけるCa再吸収促進作用のためと思われる。PHPでは、PTH投与により尿中Ca排泄の減少がみられず、むしろ増加する例もあるという報告があり²⁵⁾、腎のCa再吸収メカニズムの障害であると

言われている。今回検討したPHPでも、PTH投与後30分にやや増加がみられ、腎尿細管におけるPTHのCa再吸収促進作用が欠如することを示唆している。

IHPにおいて治療等により血清Caが上昇した場合、PTHに対する尿中cAMP及びPの反応が変化するか否かを検討した報告は少ない。今回未治療群と治療群とに分けて検討したが、PTHに対する尿中cAMP及びPの反応については治療群（A2）の方がやや良い傾向にあるように思われたが有意差はみられなかった。

一方、PHPでは、急速なCa負荷やVit. D治療によって血清Caが正常化すると、PTHに対する尿中P排泄の反応が良くなるという報告がある^{12) 33) 35) 36)}。今回対象としたPHPは3例とも治療中で血清Caは正常化し臨床的にもテタニー等はみられなかったが、尿中P排泄は基礎値もPTHに対する反応も正常より低く、血清Caが正常化してもPTH resistantであったという他の報告に一致する^{15) 24)}。

血中cAMPは他の多くのホルモン等の影響があり、必ずしも副甲状腺機能を反映しているとは言えない^{4) 18) 22)}。今回の検討では、尿中cAMPとは逆に機能低下症で高い傾向にあった。しかし、PTHに対する反応はA1、A2群で大きくB群では殆んど見られなかった。Tomlinsonらは血中cAMPはPTH投与後7分で最大となり、半減期は15分であると報告している³⁸⁾。彼らはEllsworth-Howard testにおける尿中P排泄の反応は信頼性に乏しく、尿中cAMP排泄あるいはもっと簡単には血中cAMPの変化で判定すべきであると述べている。しかし、今回の検討では、尿中P及びcAMPの反応から正常、IHP及びPHPの鑑別は十分可能であった。更に尿中P排泄の反応は悪くcAMPの反応は正常であるPHP II型を明らかにすることができ、尿中PとcAMPの測定は、極めて有用であると考えられる。

合成ヒトPTH（1-34）30 μ g投与に対する反応は未だ症例数が少なく検討の余地が残されているが、IHPとPHPのいずれにおいても、20 μ g投与した場合と同様の反応が認められた。

Neerらは、1977年、ヒトPTH（1-34）、ウシPTH（1-34）、ウシPTH（1-84）を副甲状腺機能低下症の患者に投与して尿中cAMP及びPを測定し、3種のPTHのいずれを投与しても、IHPでは尿中cAMP排泄は10～350倍に増加し、尿中P排泄は2～7倍に増加し、反応の速さ、強さ、持続において差はみられなかったと報告している²⁹⁾。今回の検討でも、従来用いられた“Parathormone®”と合成ヒトPTH（1-34）との間には、IHPにおいては尿中P排泄及びcAMP排泄の反応に関して殆んど差は認められなかった。PHPでは、尿中P排泄の反応は“Parathormone®”の方が大きかったが、cAMPの反応には差がなかった。

以上、合成ヒトPTH（1-34）20 μ gは、“Parathormone®”200単位と同様にIHPとPHPとの鑑別に用いることができ、今後の副甲状腺機能低下症の鑑別診断に十分有用であると考えられた。

Ⅳ．ま と め

合成ヒトPTH（1-34）を正常者及び副甲状腺機能低下症の患者に投与して次の様な知見を得た。

- 1) 特発性機能低下症において、投与する合成ヒトPTH（1-34）の量と尿中cAMP排泄の最大値との間には用量反応関係が見られた。20 μ gの合成ヒトPTH（1-34）投与後の尿中P排泄の反応により、特発性機能低下症と仮性機能低下症との鑑別が可能であった。
- 2) 合成ヒトPTH（1-34）20 μ g投与については、
  - a) 尿中cAMP排泄の基礎値は、特発性及び仮性機能低下症で正常者より有意に低い値を示した。

合成ヒトPTH (1-34) 投与に対しては、特発性機能低下症及び正常者で30分後に著明な増加が見られたが、仮性機能低下症では増加は軽度であった。

b) 尿中P排泄の基礎値は、特発性及び仮性機能低下症で正常者より低い値を示し、合成ヒトPTH (1-34) 投与により、特発性機能低下症では正常者より大きい反応を示したが、仮性機能低下症では反応が小さかった。

c) 尿中Ca排泄の基礎値は、未治療の特発性機能低下症で著しく低く、治療中の特発性及び仮性機能低下症では正常者との間に有意差はなかった。合成ヒトPTH (1-34) 投与により、特発性機能低下症及び正常者では減少が見られたが、仮性機能低下症では軽度の増加が見られた。

d) 血中cAMPの基礎値は、治療中の特発性及び仮性機能低下症で高値を示した。合成ヒトPTH (1-34) 投与により、特発性機能低下症では15分後に数倍に増加したが、仮性機能低下症では殆んど増加しなかった。

3) 合成ヒトPTH (1-34) 30 μ g 投与については、尿中cAMP排泄及びP排泄のいずれにおいても、20 μ g 投与の場合とほぼ同程度の反応が得られた。

4) 合成ヒトPTH (1-34)は、“Parathormone®”と同様に尿中cAMP及びP排泄増加反応によって副甲状腺機能低下症の鑑別に用いることができる。

御指導、御校閲を賜った名古屋大学医学部第一内科祖父江逸郎教授に深謝いたします。また、合成ヒトPTH (1-34)を提供して下さいました厚生省受容体異常調査研究班および東洋醸造に感謝いたします。

本論文の要旨は、第54回日本内分泌学会総会（昭和56年6月、岡山）において発表した。

文 献

- 1) Agus, Z.S., Gardner, L.B., Beck, L.H. and Goldberg, M.: Effects of parathyroid hormone on renal tubular reabsorption of calcium, sodium and phosphate. *Am. J. Physiol.* 224: 1143-1148, 1973.
- 2) Aida, M., Hurukawa, Y., Miura, A., Koto, K., Tana, T., Ojima, M., Haniw, K., Murakami, O., Shyi-Chag Lee and Yoshinaga, K.: Responsiveness of urinary cyclic AMP and phosphate to parathyroid extract in patients with parathyroid diseases. *Tohoku J. Exp. Med.* 115: 319-325, 1975.
- 3) Albright, F., Burnett, C.H., Smith, P.H. and Parson, W.: Pseudohypoparathyroidism — an example of “Seabright-Bantam Syndrome”. *Endocrinology* 30: 922-932, 1942.
- 4) Ball, J.H., Kaminsky, N.Y., Hardman, J.G., Broadus, A.E., Sutherland, E.W. and Liddle, G.W.: Effects of catecholamines and adrenergic agents on plasma and urinary cyclic mononucleotides in man. *J. Clin. Invest.* 51: 2124-2129, 1972.
- 5) Becker, K.L., Parnell, D.C. and Jones, J.: Tubular reabsorption of phosphate in primary hyperparathyroidism — before and after administration of parathyroid hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 24: 347-351, 1964.
- 6) Brewer, H.B.Jr., Fairwell, T., Ronan, R., Sizemore, G.W. and Arnaud, C.D.: Human parathyroid hormone: amino-acid sequence of the amino-terminal residues 1-34. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 69: 3585-3588, 1972.
- 7) Bronsky, D., Kushner, D.S., Dubin, A. and Snapper, I.: Idiopathic hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism: case reports and review of the literature. *Medicine* 37: 317-352, 1958.
- 8) Chase,

- L.R. and Aurbach, G.D.: Parathyroid function and the renal excretion of 3', 5'-adenylic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 58: 518-529, 1967. 9) Chase, L.R., Melson, G.L. and Aurbach, G.D.: Pseudohypoparathyroidism: defective excretion of 3', 5'-AMP in response to parathyroid hormone. *J. Clin. Invest.* 48: 1832-1844, 1969.
- 10) Coulson, R. and Moses, A.M.: Effect of chlorpropamide on renal response to parathyroid hormone in normal subjects and in patients with hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 194: 603-613, 1975. 11) Dohan, P.H., Yamashita, K., Larsen, P.R., Defots, L. and Field, J.B.: Evaluation of urinary cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate excretion in the differential diagnosis of hypercalcemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 35: 775-784, 1972. 12) Drezner, M.K., Neelon, F.A., Haussler, M., McPharson, H.T. and Lebovitz, H.E.: 1, 25-dihydroxycholecalciferol deficiency: the probable cause of hypocalcemia and metabolic bone diseases in pseudohypoparathyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42: 621-628, 1976. 13) Drezner, M.K., Neelon, F.A. and Lebovitz, H.E.: Pseudohypoparathyroidism Type II: a possible defect in the reception of the cyclic AMP signal. *N. Engl. J. Med.* 289: 1056-1060, 1976.
- 14) Ellthworth, R. and Howard, J.E.: Studies on the physiology of the parathyroid glands; VI. some responses of normal human kidneys and blood to intravenous parathyroid extract. *Bull. Johns Hopkins Hospital* 55: 296-308, 1934. 15) Felitti, V. and McAfee, L.: Recovery from symptoms in pseudohypoparathyroidism. A case study. *Johns Hopkins Med. J.* 123: 271-275, 1968. 16) Gershberg, H., Shields, D.R. and Kove, S.S.: The acute effect in states of edema, diminished renal function and parathyroid diseases. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 19: 681-691, 1959. 17) Hiatt, H.H. and Thompson, D.D.: The effects of parathyroid extract on renal function in man. *J. Clin. Invest.* 36: 557-565, 1957. 18) Kaminsky, N.Y., Broadus, A.E., Hardman, J.G., Jones, D.J. Jr., Ball, J.H., Sutherland, E.W. and Liddle, G.W.: Effects of parathyroid hormone on plasma and urinary adenosine 3', 5'-monophosphate in man. *J. Clin. Invest.* 49: 2387-2395, 1970.
- 19) Keutman, H.T., Bawson, B.F., Aurbach, G.D. and Potts, J.T. Jr.: A biological active amino-terminal fragment of bovine parathyroid hormone prepared by acid hydrolysis. *Biochemistry* 11: 1973-1979, 1972. 20) Keutman, H.T., Barling, P.M., Hendy, G.N., Segre, G.V., Niall, H.D., Aurbach, G.D., Potts, J.T. Jr. and O'Riordan, J.L.H.: Isolation of human parathyroid hormone. *Biochemistry* 13: 1646-1652, 1974.
- 21) Kleeman, C.R., Bernstein, D., Rockney, R., Dowling, J.T. and Maxwell, M.H.: Studies on the renal clearance of diffusible calcium and the role of the parathyroid glands in its regulation. *Yale J. Biol. Med.* 34: 1-30, 1961. 22) Lijenquist, J.E., Bomboy, J.D., Lewis, S.B., Sinclair-Smith, B.C., Felts, P.W., Lacy, W.W., Crofford, O.B. and Liddle, G.W.: Effects of glucagon on net splanchnic cyclic AMP production in normal and diabetic men. *J. Clin. Invest.* 53: 198-204, 1974. 23) Marx, S.J., Powel, D., Shimkin, P.M., Wells, S.A., Kitcham, A.S., McGuigan, J.E., Bilezikian, J.P. and Aurbach, G.D.: Familial hyperparathyroidism: mild hypercalcemia in at least nine members of a kindred. *Ann. Internal Med.* 78: 371-377, 1973. 24) McDonald, K.M.: Responsiveness of

- bone to parathyroid extract in siblings with pseudohypoparathyroidism. *Metabolism* 21: 521–531, 1972.
- 25) Moses, A.M., Breslau, N. and Coulson, R.: Renal responses to PTH in patients with hormone-resistant (pseudo) hypoparathyroidism. *The American J. of Med.* 61: 184–189, 1976.
- 26) Murad, F. and Pak, C.Y.C.: Urinary excretion of adenosine 3', 5'-monophosphate and guanosine 3', 5'-monophosphate. *New Engl. J. Med.* 286: 1382–1387, 1972.
- 27) 中川ひふみ, 小長谷陽子, 内川厚司, 満間照典, 富田明夫, 今川卓一郎: 副甲状腺疾患における尿中および血中 cyclic nucleotides — 主として副甲状腺ホルモン投与による変化. *日内会誌*, 67: 90–95, 1978.
- 28) Neelon, F.A., Drezner, M., Birsch, B.M. and Lebovitz, H.E.: Urinary cyclic adenosine monophosphate as an aid in the diagnosis of hyperparathyroidism. *Lancet* i: 631–633, 1973.
- 29) Neer, R.M., Tregear, G.W. and Potts, J.T.Jr.: Renal effects of native parathyroid hormone and synthetic biologically active fragment in pseudohypoparathyroidism and hypoparathyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38: 420–423, 1977.
- 30) Niall, H.D., Sauer, R.T., Jacobs, J.W., Keutman, H.T., Segre, G.V., O'Riordan, J.L.H., Aurbach, G.D. and Potts, J.T.Jr.: The amino-acid sequence of the amino-terminal 37 residues of human parathyroid hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 71: 384–388, 1974.
- 31) Potts, J.T.Jr., Tregear, G.W., Keutman, H.T., Niall, H.D., Sauer, R., Deftos, L.J., Dawson, B.F., Hogan, M.L. and Aurbach, G.D.: Synthesis of a biologically active N-terminal tetratriacontapeptide of parathyroid hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 68: 63–67, 1971.
- 32) Pullman, T.N., Lavender, A.R., Aho, I. and Rasmussen, H.: Direct renal action of a purified parathyroid extract. *Endocrinology* 67: 570–582, 1960.
- 33) Rodriguez, H.J., Villarreal, H.Jr., Klarh, S. and Slatopolsky, E.: Pseudohypoparathyroidism Type II: Restoration of normal renal responsiveness to parathyroid hormone by calcium administration. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39: 693–701, 1974.
- 34) Schmidt-Gayk, H. and Roher, H.D.: Urinary excretion of cyclic adenosine monophosphate in the detection and diagnosis of primary hyperparathyroidism. *Surg. Gynecol. Obst.* 137: 439–444, 1973.
- 35) Stögman, W. and Fisher, J.A.: Pseudohypoparathyroidism. Disappearance of the resistance to parathyroid extract during treatment with Vitamin D. *Am. J. Med.* 59: 140–144, 1975.
- 36) Suh, S.M., Frazer, D. and Kooh, S.W.: Pseudohypoparathyroidism: Responsiveness to parathyroid extract induced by Vitamin D₂ therapy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 30: 609–614, 1970.
- 37) Taylor, A.L., Davis, B.B., Pawlson, L.G., Josimovich, J.B. and Mintz, D.H.: Factors influencing the urinary excretion of 3', 5'-adenosine monophosphate in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 30: 316–324, 1970.
- 38) Tomlinson, S., Barling, P.M., Albano, J.D.M., Brown, B.L. and O'Riordan, J.L.H.: The effects of exogenous parathyroid hormone on plasma and urinary adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate in man. *Clinical Science and Molecular Medicine* 47: 481–492, 1974.
- 39) Tze, W.J., Saunders, J. and Drummond, G.I.: Urinary 3', 5'-cyclic AMP, diagnostic test in pseudohypoparathyroidism. *Arch. Dis. Child* 50: 656–658, 1975.
- 40) Werder, E.A., Fisher, J.A., Illig, R., Kind, H.P., Bernasconi, S., Fanconi, A. and Prader, A.: Pseudohypoparathyroidism and idiopathic hypoparathyroidism: Relationship between

serum calcium and parathyroid hormone levels and urinary cyclic adenosine 3', 5'-mono-phosphate response to parathyroid extract. J. Clin. Endocrinol. Metab. 46: 872-879, 1978.
(受付日: 56. 6. 22)