原 著

血液透析患者における PTH 分泌に及ぼす活性型ビタミンDの影響

安藤 亮一 秋 葉 隆 丸 茂 文 昭 松 田 治*
松 井 則 明**

東京医科歯科大学第2内科 武蔵野赤十字病院内科* 土浦協同病院内科**

key words : 活性型ビタミンD, 経口パルス療法, 透析患者, PTH, カルシウム

〈要旨〉

1,25(OH)₂D₃ の経口的大量間欠療法 (経口パルス療法) の作用機序を明らかにする目的で, 6名の二次性副甲状腺機能亢進症を合併した血液透析患者に 1,25(OH)₂D₃ 4 μg を2回投与し, 前後で透析液カルシウム (Ca) を変化させたときの血中イオン化カルシウム (Ca²⁺) と PTH の関係を検討した。血中 Ca²⁺ の透析前値は変化を認めなかったのに対し, PTH の透析前値は有意に減少した。PTH と Ca²⁺ の関係は同程度の Ca²⁺ に対して PTH が低値を示す方向に変化した。低 Ca 透析による最大の PTH 分泌は抑制されるのに対して, 高 Ca 透析による最小の PTH には有意な変化を認めなかった。

以上より, 短期間の 1,25(OH)₂D₃ の経口パルス療法は血中 Ca²⁺ の変化を介さずに PTH を抑制した。また, PTH 抑制の機序の少なくとも一部は 1,25(OH)₂D₃ が血中 Ca²⁺ に対する副甲状腺の感受性を変化させることによると考えられた。

Effects of oral 1,25-dihydroxyvitamin D on the response of parathyroid hormone to blood calcium level

Ryoichi Ando, Takashi Akiba, Fumiaki Marumo, Osamu Matsuda*, Noriaki Matsui**

Department of Internal Medicine, Tokyo Medical and Dental University ; Musashino Red Cross Hospital* ; Tsuchiura Kyoudou Hospital**

The periodic oral administration of high doses of 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25-(OH)₂D pulse therapy) has been reported to be effective in reducing the serum levels of parathyroid hormone (PTH) in severe cases of secondary hyperparathyroidism (Nephron 51 : 130-131, 1989). To clarify the mechanisms of this therapy, the effects of short-term oral 1,25-(OH)₂D on the response of PTH to blood calcium level were evaluated in 6 hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. Blood ionized calcium and serum intact PTH were measured during high calcium dialysis (Ca=5.5 mEq/l) and low calcium dialysis (Ca=2.5 mEq/l) before and after two 4 μg doses of oral 1,25-(OH)₂D.

The basal PTH fell from 333.5±185.2 pg/ml to 181.2±95.1 pg/ml after 1,25-(OH)₂D without a change of blood ionized calcium. The linear regression line between the blood ionized calcium and the serum PTH (Y=AX+B, Y ; PTH, X ; free calcium) shifted downward after 1,25-(OH)₂D. The maximum PTH induced by conditions of low calcium fell from 394.7±132.1 pg/ml to 223.3±154.0 pg/ml, while the minimum PTH induced by conditions of high calcium did not change significantly.

We conclude that short term oral 1,25-(OH)₂D pulse therapy suppresses PTH secretion without changing blood calcium levels and that it changes the response of PTH to blood calcium. These results suggest that the suppressive effect of 1,25-(OH)₂D on PTH is partly attributable to the change of sensitivity of the parathyroid gland to blood calcium.

表 1 対象症例の検査所見

	Age	Sex	HD histdry (month)	intact PTH (pg/ml)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Al-pase (KA)
1	67	F	86	718	8.1	6.2	5.0
2	22	F	136	241	10.5	4.7	9.5
3	38	M	120	137	10.7	4.3	5.0
4	67	F	64	340	8.4	4.9	25.5
5	51	M	44	230	8.0	8.2	10.4
6	79	F	71	335	9.8	5.7	24.3
mean±SD	54±19.4		86.8±32.0	333.5±185.2	9.3±1.1	5.7±1.3	13.3±8.5

はじめに

透析患者にみられる腎性骨異常栄養症のなかで、二次性副甲状腺機能亢進症は最も頻度が高く、重要な問題である。その治療はリン吸着薬に加えて活性型ビタミンDによりなされてきた¹⁾。しかし、高度の二次性副甲状腺機能亢進症の場合、従来の内科的治療法では十分PTHを抑制することはできず、外科的な副甲状腺摘除術がなされてきた^{2,3)}。Slatopolskyら⁴⁾は、1,25-dihydroxycholecalciferol (1,25(OH)₂D₃)を経静脈的に投与することにより、効果的にPTHを抑制することができることを示した。この治療法の理論的根拠は、副甲状腺に1,25(OH)₂D₃のレセプターがあり、1,25(OH)₂D₃が直接作用してPTHを抑制するというin vitro⁵⁻⁸⁾およびin vivo⁹⁾の成績である。本邦においては、1,25(OH)₂D₃の注射薬が使用できないため、1,25(OH)₂D₃の経口の大量間欠投与(経口パルス療法)が試みられ効果をあげている¹⁰⁻¹²⁾。しかし、その作用機序については不明の点が少ない。今回、我々は短期の1,25(OH)₂D₃経口パルス療法施行時におけるPTHの分泌動態を血中Caとの関連で検討し、若干の知見を得たので報告する。

方法

対象は、Allegro intact PTHが100 pg/ml以上の二次性副甲状腺亢進症を呈する維持透析患者6名(男2名、女4名)で年齢は22歳～79歳、平均54歳、透析期間は44～136か月、平均86.8か月、原疾患はいずれも慢性腎炎である。対象症例の検査所見を表1に示した。全例、週3回1回4時間の血液透析を施行している。使用したダイアライザーはいずれもクロロファン膜である。

ビタミンD製剤は、2週間前より予め中止した。週の第1透析日に高Ca(5.5 mEq/l)透析液による透析を60分間施行し、その後低Ca(2.5 mEq/l)透析液による透析を3時間施行した。この際、透析前、30分後、60分後、透析直後に採血し、Allegro intact PTH、血中イオン化Ca(Ca²⁺)を測定した。また、透析終了後に、監視下で1,25(OH)₂D₃ 4 μgを経口投与した。週の第2透析日には

図 1 1,25(OH)₂D₃投与前後の血中イオン化カルシウム(Ca²⁺)、PTHの透析前値

低Ca透析を施行し、透析終了後に再び1,25(OH)₂D₃ 4 μgを経口投与した。週の第3透析日には、第1透析日と同様に、高Ca透析の後に低Ca透析を施行し、同様に採血した。なお、PTHの測定は、Allegro intact PTHのキットを用いたimmuno radiometric assayにて^{13,14)}、血中Ca²⁺はAVLにて測定した。高Ca透析は、市販のCa 3.5 mEq/lの透析液原液10 lに25.7%塩酸Caを150 ml混和させて作成した。低Ca透析液はCa濃度2.5 mEq/lを使用した。結果は特に断わりがない限り平均値±SDで示した。有意性の検定には対応のあるt検定、および対応のないt検定を用い、pが0.05未満を有意とした。

結果

1,25(OH)₂D₃投与前後の血中Ca²⁺の透析前値は、各々1.32±0.25 mmol/l、1.42±0.26 mmol/lで有意な変化を認めなかったのに対して、PTHの透析前値は333.5±185.2 pg/mlより181.2±95.1 pg/mlへと有意に減少した(p<0.05, 図1)。図2に1,25(OH)₂D₃投与前後における、高Caおよび低Ca透析施行時のPTHと血中Ca²⁺の関係の代表例を示した。1,25(OH)₂D₃投与前においては、PTHをY、血中Ca²⁺をXとして、Y=-579.0 X+1,200.6 (r=0.98)の関係を示したのに対して、投与後においてはY=-156.9 X+353.7 (r=0.48)

図 2 代表例 (case 2) における $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与前 (●), 後 (○) における PTH と血中イオン化カルシウム (Ca^{2+}) の関係

図 3 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与前 (●), 後 (○) における PTH と血中イオン化カルシウム (Ca^{2+})

表 2 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与前後における PTH と血中イオン化カルシウム (Ca^{2+}) の相関直線の傾き (slope) と Y 切片 (intercept)

Case	Before			After		
	Slope	Intercept	r	Slope	Intercept	r
1	-2,373	3,030	0.984**	-812	1,422	0.820*
2	-579	1,200	0.984**	-157	354	0.479
3	-227	477	0.412	-168	344	0.979**
4	-799	1,219	0.950**	-541	831	0.808
5	-757	1,108	0.999**	-285	489	0.994**
6	-721	1,514	0.976**	-306	706	0.958**
mean±SD	-908±682	1,425±783		-378±232	691±372	

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

と傾き, Y 切片いずれも減少した。各症例における, 高 Ca および低 Ca 透析施行時の PTH と血中 Ca^{2+} の相関係数, 傾き, Y 切片を表 2 に示した。相関係数は $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与前 0.412~0.999 で 6 例中 5 例で有意であった。 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与後においては, 0.479~0.994 で 6 例中 3 例で有意な相関を示した。相関直線の傾きは $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与前 -227~-2,373 ng/mmole, 投与後 -157~-812 ng/mmole で, 全例において傾きは緩やかになった。また, Y 切片も全例において減少した。図 3 に $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与前後の PTH と血中 Ca^{2+} との関係をまとめた。 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の投与により, 傾きが緩やかになり, PTH は, 同程度の血中 Ca^{2+} 濃度に対して低値をとる傾向を示した。図 3 に示されるように, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与前後の差は特に血中 Ca^{2+} の低値域において明らかであるのに対して, 高値域においては差が少ない傾向を示した。低 Ca 透析により最大に刺激された PTH 値 (maximum PTH) は, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与前 394.7 ± 132.1

pg/ml, 投与後 223.3 ± 154.1 pg/ml と有意に減少した ($p < 0.01$, 図 4)。この際の血中 Ca^{2+} は, 各々 1.25 ± 0.19 mmol/l, 1.34 ± 0.19 mmol/l で有意差を認めなかった。一方, 高 Ca 透析において, 最大に抑制された PTH (minimum PTH) は, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 投与前 121.5 ± 58.3 pg/ml, 投与後 86.0 ± 25.1 pg/ml と, 有意な変化を認めなかった。この際の血中 Ca^{2+} も投与前 1.55 ± 0.23 mmol/l, 投与後 1.62 ± 0.17 mmol/l と同様に有意な変化を認めなかった。

考察

従来, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ による慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症の治療においては, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ による血中 Ca の上昇による PTH の抑制の機序が考えられていた¹⁾。しかし, ラットにおいて $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の腹腔内投与により, 血中 Ca の変化を伴わずに PTH が抑制されるという報告をはじめ¹⁵⁾, 副甲状腺に $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のレセプターが存在することや⁶⁾, ウシ副甲状腺細胞の

図4 1,25(OH)₂D₃投与前後における、低Ca透析により最大に刺激されたPTH値(maximum PTH)、高Ca透析により最大に抑制されたPTH値(minimum PTH)(n=6)

培養の研究によりPTH分泌が直接1,25(OH)₂D₃により抑制されること⁶⁾、さらに最近では、prepro PTHのメッセンジャーRNAレベルでの抑制作用が明らかにされ、1,25(OH)₂D₃の副甲状腺への直接作用によるPTH合成の抑制が証明されてきている⁷⁻⁹⁾。また、Slatopolskyら⁴⁾は、高度の二次性副甲状腺機能亢進症を示す透析患者に対して、経静脈的1,25(OH)₂D₃投与によるPTHの抑制の成績を示し、その機序の一部としては、1,25(OH)₂D₃の副甲状腺への直接作用であることを示唆した。

今回、我々は、1,25(OH)₂D₃経口パルス療法がPTHを抑制する機序を明らかにする目的で、1,25(OH)₂D₃の経口投与とは2回、4日後という短期間の1,25(OH)₂D₃の経口パルス療法のPTH分泌への効果、および血中Caに対する副甲状腺の感受性を検討した。その結果、短期間の1,25(OH)₂D₃の経口パルス療法は、血中Caの変化を介さずPTHを抑制することを示した。また、PTHと血中Caとの関係は、同程度の血中Caに対してPTHが低値を示す方向に変化した。すなわち、短期間の1,25(OH)₂D₃の経口パルス療法は、副甲状腺の血中Caに対する感受性を変化させた。

Slatopolskyら⁴⁾の成績によると、1,25(OH)₂D₃の経静脈投与を施行した同じ対象に対して、1日0.5μgを経口投与させた場合、PTHは抑制されなかったとしている。これは、1,25(OH)₂D₃が腸管で分解され¹⁰⁾、経口投与では、経静脈投与に比して、血中濃度の上昇が少ないためであるとしている。しかし、血中1,25(OH)₂D₃濃度

は用量依存性であり、経口投与であっても、4μgという大量を用いれば、最高血中濃度は100~200pg/mlに達する^{12,17)}。本邦で行われ始めた1,25(OH)₂D₃経口パルス療法は、この比較的大量の1,25(OH)₂D₃を高Ca血症を防ぐために、週1回ないし、2回投与する。しかし、実際にはある期間以上投与すると、血中Caが上昇してしまうために、PTHを抑制する機序が血中Caの上昇を介するか否かについては不明であった。今回の我々の結果から、少なくとも経口パルス療法によるPTH抑制の一部は静脈投与の場合と同様に血中Caの変化を介さないことが、明らかになった。しかし、今回の我々の成績からは、血中Caの変化を介さずPTHが抑制されたということが、前述したin vitroの成績のように、直接1,25(OH)₂D₃がPTHの合成を抑制したためと結論することはできない。

1,25(OH)₂D₃がPTHを抑制する機序のもう一つの可能性として、今回の我々の成績でも認められた、血中Ca濃度に対する副甲状腺の感受性の変化があげられる。血中Ca濃度はPTH分泌に重要な役割を果たしているが、慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症では、血中Ca濃度に対する副甲状腺の感受性が変化し、同じ血中Ca濃度に対するPTHが高値をとることが証明されている¹⁸⁾。この原因としては1,25(OH)₂D₃の不足が関与していると考えられている。今回の我々の成績によると、1,25(OH)₂D₃により、この血中Ca濃度に対する副甲状腺の感受性がより正常の方向に変化し、同程度の血中Ca濃度に対してPTHが低値をとる傾向を示した。PTHと血中Caとの関係をさらに詳しく検討すると、1,25(OH)₂D₃は低Ca透析による最大のPTH分泌刺激(maximum PTH)は抑制したが、高Ca透析による分泌抑制によるPTHの最小値(minimum PTH)には有意な影響を及ぼさなかった。同様の成績が1,25(OH)₂D₃の経静脈投与での検討においても認められている¹⁹⁾。この原因としては、すでに過形成に陥った副甲状腺にとっては、1,25(OH)₂D₃の投与期間が短く、その効果を未だにあげることができなかった可能性が考えられるが、さらに検討を要する問題である。

今回我々がPTHの測定方法に用いた、Allegro intact PTHはPTHのC末端およびN末端を認識することにより、intact PTHを測定する。したがって、腎不全患者においても、ごく短時間の血中Caの変化に対するPTHの分泌状態を比較的正確に把握することが可能である^{13,14)}。また、透析中のPTHの変化をもって、PTHの分泌動態を論じられるかという点に関しては、透析膜がいずれもクプロファン膜で、PTHの分子量を考慮すると、透析性の可能性はなく、PTHの半減期が通常5

～10分と考えられているので、透析中の PTH レベルはほぼ PTH の分泌状態をあらわしていると考えられる。このように、高 Ca 透析液、低 Ca 透析液を用いて PTH と血中 Ca との関係を検査する方法は、透析中にすべて施行でき、簡便かつ安全な検査方法と考えられる。

結論

1. 6名の二次性副甲状腺機能亢進症を合併した血液透析患者に 1,25(OH)₂D₃ 4 μg 2回の短期の経口パルス療法を施行し、前後で PTH と血中 Ca²⁺ の関係を検討した。

2. 血中 Ca²⁺ は短期のパルス療法前後で変化を認めなかったのに対し、PTH は有意に減少した。

3. 短期の 1,25(OH)₂D₃ 経口パルス療法により、PTH と血中 Ca²⁺ の関係は同程度の血中 Ca²⁺ 濃度に対して PTH が低値を示す方向に変化した。低 Ca 透析による最大の PTH 分泌は抑制されるのに対して、高 Ca 透析による最小の PTH には有意な変化を認めなかった。

4. 以上より、1,25(OH)₂D₃ の経口パルス療法は血中 Ca の変化を介さずに PTH を抑制する。この機序の少なくとも一部は血中 Ca 濃度に対する副甲状腺の感受性をより正常の方向に変化させることによると考えられた。

文献

- 1) Berl T, Berns AS, Huffer WE, Hammill K, Alfley AC, Arnaud CD, Schreier RW : 1,25 dihydroxycholecalciferol effects in chronic dialysis. *Ann Intern Med* 88 : 774-780, 1978
- 2) Takagi H, Tominaga Y, Uchida K, Yamada N, Kawai M, Kano T, Morimoto T : Subtotal versus total parathyroidectomy with forearm autograft for secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure. *Ann Surg* 200 : 18-23, 1984
- 3) Welk RA, Alix DR : A community hospital experience with total parathyroidectomy and autotransplantation for hyperparathyroidism. *Am Surg* 53 : 622-627, 1988
- 4) Slatopolsky E, Weerts C, Thielan J, Horst R, Harter H, Martin KJ : Marked suppression of secondary hyperparathyroidism by intravenous administration of 1,25-dihydroxycholecalciferol in uremic patients. *J Clin Invest* 74 : 2136-2143, 1984
- 5) Brumbaugh PF, Hughes MR, Hausler MR : Cytoplasmic and nuclear binding components for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in chick parathyroid glands. *Proc Natl Acad Sci USA* 72 : 4871-4875, 1975
- 6) Cantley LK, Russel D, Lettieri D, Sherwood LM : 1,25-dihydroxyvitamin D₃ suppresses parathyroid hormone secretion from parathyroid cells in tissue culture. *Endocrinology* 117 : 2114-2119, 1985
- 7) Silver J, Russell J, Sherwood LM : Regulation by vitamin D metabolites of messenger RNA for pre-proparathyroid hormone in isolated bovine parathyroid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 82 : 4270-4273, 1985
- 8) Russell J, Lettieri D, Sherwood LM : Suppression by 1,25(OH)₂D₃ of transcription of the parathyroid hormone gene. *Endocrinology* 119 : 2864-2866, 1986
- 9) Silver J, Naveh-Many T, Mayer H, Schmerzer HJ, Popovtzer MM : Regulation by vitamin D metabolites of parathyroid hormone gene transcription in vivo by the rat. *J Clin Invest* 78 : 1296-1301, 1986
- 10) 鈴木正司：ビタミンD pulse 療法。透析患者の骨病変（前田貞亮，平沢由平，黒川 清，鈴木正司編），p 173-184，日本メヂカルセンター，東京，1985
- 11) Tsukamoto T, Nomura M, Marumo F : Pharmacological parathyroidectomy by oral 1,25(OH)₂D₃ pulse therapy. *Nephron* 51 : 130-131, 1989
- 12) 重松 隆，川口良人，畠村さゆみ，鈴木 誠，山本裕康，森田 隆，百瀬光生，小川愛一郎，中山昌明，宮原 正：間欠的な 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ 大量経口投与の試み。日腎誌 31 : 393-401, 1989
- 13) Nussbaum SR, Zahradnik RJ, Lavigne JR, Brennan GL, Nozawa-Ung K, Kim LY, Keutmann HT, Wang C, Potts JT, Sergre GV : Highly sensitive two-site immuno-radiometric assay of parathyroidin, and its clinical utility in evaluating patients with hypercalcemia. *Clin Chem* 33 : 1364-1367, 1987
- 14) 富樫和美，坂牧久哉，阿部明生，塚本雄介，丸茂文昭：IRMA による血中 PTH 測定法の基礎的検討。臨床病理 37 : 702-706, 1989
- 15) Chertow BS, Baylink DJ, Wergedal JE, Su MHH, Norman AW : Decrease in serum immunoreactive parathyroid hormone in rats and in parathyroid hormone secretion in vitro by 1,25-dihydroxycholecalciferol. *J Clin Invest* 56 : 668-678,

- 1975
- 16) Napoli JL, Premanik PM, Royal TA, Reinhardt TA, Horst RL : Intestinal synthesis of 24-keto 1,25-dihydroxy D₃. J Biol Chem 258 : 2100-2107, 1983
- 17) Seino Y, Tanaka H, Yamaoka K, Yabuuchi H : Circulating 1 α ,25-dihydroxyvitamin D levels after a single dose of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D or 1 α -hydroxyvitamin D in normal men. Bone and Mineral 2 : 479-485, 1987
- 18) Brown EM, Wilson RE, Eastman RC, Pallotta J, Marynick SP : Abnormal regulation of parathyroid hormone release by calcium in secondary hyperparathyroidism due to chronic renal failure. J Clin Endocrinol Metab 54 : 172-179, 1982
- 19) Delmez JA, Tindira C, Grooms P, Dusso A, Windus DW, Slatopolsky E : Parathyroid hormone suppression by intravenous 1,25-dihydroxyvitamin D. J Clin Invest 83 : 1349-1355, 1989