

## 二次性副甲状腺機能亢進症における細胞遺伝学的研究

十倉 健彦

透析医療の進歩に伴い長期透析患者数は年々増加している。長期透析患者 QOL に大きく影響する重要な合併症の1つである透析骨症は現在においても重要な問題で、その中でも二次性副甲状腺機能亢進症は精力的に検討されてきた。最近の報告によれば、X染色体の不活化を用いた Monoclonarity の検索で、内科的治療に抵抗性で摘出術を必要とする二次性副甲状腺機能亢進症において、Monoclonal な副甲状腺細胞の増殖が認められることが示されている。しかしこの二次性副甲状腺機能亢進症において見られる副甲状腺過形成及び腫瘍性増殖の責任遺伝子については全く解明されていない。

今回我々は、二次性副甲状腺機能亢進症と診断され、外科的に摘出された副甲状腺に対して、責任遺伝子の染色体座位を明らかにすべく、細胞遺伝学的検索を行った。副甲状腺摘出術を受けた血液透析患者15名、15腺に対して染色体解析を行い、また、血液透析患者22名、42腺について、Allelotyping を行い、Loss of heterozygosity 解析 (LOH 解析) を行った。染色体解析では15腺中13腺にて、解析可能であり、染色体数の異常を6腺に認めた。7番染色体の増加が38% (5/13)、22番染色体の欠失が23% (3/13) に認められた。LOH 解析では、22番染色体、11番染色体の Microsatellite marker において、それぞれ、19% (8/42)、7% (3/42) の LOH を認めた。病理組織所見と染色体異常、LOH の有無との間に関連を認めなかった。

今回の結果から、複数の染色体で、数的異常や LOH を認めた。その内、7番染色体、11番染色体、22番染色体の異常が、副甲状腺の増殖調節に関与している可能性が示唆された。

(平成13年10月17日受理)

### Cytogenetic Analysis of Secondary Hyperparathyroidism

Takehiko TOKURA

Secondary hyperparathyroidism is a common endocrine disorder in uremic patients, and has been considered as an adaptic physiologic response to this state. However, a recent study using X-chromosome inactivation analysis to evaluate clonality showed that 64% of uremic patients had at least one monoclonal parathyroid tumor. The molecular basis of parathyroid tumorigenesis has been shown to involve overexpression of the cyclin D1 oncogene and loss of the MEN1 tumor suppressor gene, but much still remains unclear.

To find the loci involved in parathyroid tumorigenesis in secondary hyperparathyroidism (2 HPT), a chromosome study and an LOH (Loss of heterozygosity) study were performed.

For the chromosome study, 15 fresh parathyroid tissue samples obtained from 15 hemodialysis











を含む rearrangement が報告されているが<sup>13)</sup>、今回の解析では認めなかった。

対立遺伝子の一方の欠失を見る方法として、LOH 解析があり、PCR を用いて簡易に染色体の量的不均衡を証明する方法として確立されている。腫瘍抑制遺伝子の概念である両方の対立遺伝子の不活化（一对の対立遺伝子の両方が不活化した場合に、細胞増殖能を得るという Knudson の Two hit theory<sup>14)</sup>）を検索する方法で、近年様々な癌においてその病因を解析する上で注目を集めている<sup>15), 16)</sup>。腫瘍において LOH を認めたという事は、腫瘍組織の大部分の細胞が対立遺伝子の同じ領域を欠失している事を意味し、腫瘍抑制遺伝子の存在を示唆する。今回の LOH 解析では、11番染色体上の多発性内分泌腺腫症 I 型の近傍のマーカーと、第22番染色体上の複数のマーカーで LOH を認めた。11番染色体上の LOH については、多発性内分泌腺腫症 I 型遺伝子の近傍に別の腫瘍抑制遺伝子の存在を示唆する報告がある<sup>17)</sup>。今回この領域で LOH を認めた事は、二次性副甲状腺機能亢進症においても、これらの腫瘍抑制遺伝子の関与が推測された。第22番染色体の LOH と原発性副甲状腺腫瘍の関連を示唆する報告は無い。今回の検討で第22番染色体の LOH が高頻度に認められた事より、第22番染色体上に二次性副甲状腺機能亢進症の monoclonal な進展に関連する遺伝子の存在が示唆された。

原発性副甲状腺腫瘍と二次性副甲状腺機能亢進症で CGH (Comparative genomic hybridiza-

tion)、LOH 解析を行った報告から、原発性と二次性では異なったパターンを示しており、異なった遺伝子異常が各々の病態に関与していることが示唆されている<sup>18), 19)</sup>。今回の我々の解析から、第7番染色体数の増加そして第11番、22番染色体の LOH を認めた。複数の染色体領域で量的異常を認めた事から、二次性副甲状腺機能亢進症の発症と進展には、いくつかの遺伝子異常が関与していると考えられた。特に第22番染色体の LOH を高頻度に認めたことは、二次性副甲状腺機能亢進症に特徴的である可能性がある。しかしながら、今回検索した部位は全染色体のごく一部であり、他の部位にも LOH を認める可能性は高い。他の領域および第22番染色体の欠失領域の絞り込みのため、今後詳細な検討を重ねていく必要がある。

## 謝 辞

稿を終えるに当たり、直接御指導、御協力下さいました川崎医科大学内科学（腎臓）教室の柏原直樹教授、壺村信介前講師（現三重大学）、佐々木環助教授、福島達夫講師、辻田佐和子女史、小野真由美女史、摘出標本をご供与下さいました川崎医科大学外科学（乳腺甲状腺）教室の園尾博司教授、染色体解析にご尽力いただいた日本遺伝子研究所の酒井京子、伊藤正行両先生に厚く御礼申し上げます。

なお本論文の要旨は第30回アメリカ腎臓学会（1997年、サンアントニオ）にて、発表した。

本研究の一部は文部省科学研究費（No. 20198625）の援助で行った。

## 文 献

- 1) Parfitt AM: The Parathyroids. Parathyroid Growth. Bilezikian JP, Levine MA, Marcus R: New York, Raven Press, 1993, pp 373-405
- 2) Druke TB: The pathogenesis of parathyroid gland hyperplasia in chronic renal failure. *Kidney Int* 48: 259-272, 1995
- 3) Arnold A, Brown MF, Urena P, Gaz RD, Sarfati E, Druke TB: Monoclonality of parathyroid tumors in chronic renal failure and in primary parathyroid hyperplasia. *J Clin Invest* 95: 2047-2053, 1995
- 4) Motokura T, Bloom T, Kim HG, Juppner H, Ruderman JV, Kronenberg HM, Arnold A: A novel cyclin encoded by a *bc11*-linked candidate oncogene. *Nature* 350: 512-515, 1991
- 5) Imanishi Y, Hosokawa Y, Yoshimoto K, Schipani E, Mallya S, Papanikolaou A, Kifor O, Tokura T, Sablosky M,

- Legars F, Gronowicz G, Wang TC, Schmidt EV, Hall C, Brown EM, Bronson R, Arnold A : Primary hyperparathyroidism caused by parathyroid-targeted overexpression of cyclin D 1 in transgenic mice. *J Clin Invest* 107 : 1093-1102, 2001
- 6) Chandrasekharappa SC, Guru SC, Manicckam P, Olufemi SE, Collins FS, Emmert-Buck MR, Debelenko LV, Zhuang Z, Lubensky IA, Liotta LA, Crabtree JS, Wang Y, Roe BA, Weisemann J, Boguski MS, Agarwal SK, Kester MB, Kim YS, Heppner C, Dong Q, Spiegel AM, Burns AL, Marx SJ : Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1. *Science* 276 : 404-407, 1997
- 7) Crabtree JS, Scacheri PC, Ward JM, Gerrett-Beal L, Emmert-Buck MR, Edgemon KA, Lorang D, Libutti SK, Chandrasekharappa SC, Marx SJ, Spiegel AM, Collins FS : A mouse model of multiple endocrine neoplasia, type 1, develops multiple endocrine tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 1118-1123, 2001
- 8) Ferguson-Smith MA, Andrews T : Cytogenetic Analysis. Principles and Practice of Medical Genetics. 3rd ed. Rimoin D, Connor JM, Pyeritz RE : Edinburgh, Churchill Livingstone. 1997, pp 253-276
- 9) 川島康平, 近藤 誠 訳 : 癌細胞遺伝学のガイドライン An international system for human cytogenetic Nomenclature 1991 & 1985, 東京, 文光堂. 1994, pp 4-10
- 10) Szabo J, Heath B, Hill VM, Jackson CE, Zarbo RJ, Mallette LE, Chew SL, Besser GM, Thakker RV, Huff V : Hereditary hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome : the endocrine tumor gene HRPT 2 maps to chromosome 1 q21-q31. *Am J Hum Genet* 56 : 944-950, 1995
- 11) Brown SB, Brierley TT, Palanisamy N, Salusky IB, Goodman W, Brandi ML, Druke TB, Safati E, Urena P, Chaganti RS, Pike JW, Arnold A : Vitamin D receptor as a candidate tumor-suppressor gene in severe hyperparathyroidism of uremia. *J Clin Endocrinol Metab* 85 : 868-872, 2000
- 12) Hosokawa Y, Pollak MR, Brown EM, Arnold A : Mutational analysis of the extracellular Ca(2+)-sensing receptor gene in human parathyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 80 : 3107-3110, 1995
- 13) Arnold A, Kim HG, Gaz RD, Eddy RL, Fukushima Y, Byers MG, Shows TB, Kronenberg HM : Molecular cloning and chromosomal mapping of DNA rearranged with the parathyroid hormone gene in a parathyroid adenoma. *J Clin Invest* 83 : 2034-2040, 1989
- 14) Knudson AG Jr : Mutation and cancer : statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 68 : 820-823, 1971
- 15) 村松正実 監修 : ヒトの分子遺伝学, 第17章 体細胞変異とがん・東京, メディカル・サイエンス・インターナショナル. 1997, pp 481-502
- 16) Liu J, Zabarovska VI, Braga E, Alimov A, Klein G, Zabarovsky ER : Loss of heterozygosity in tumor cells requires re-evaluation : the data are biased by the size-dependent differential sensitivity of allele detection. *FEBS Lett* 462 : 121-128, 1999
- 17) Tahara H, Imanishi Y, Yamada T, Tsujimoto Y, Tabata T, Inoue T, Inaba M, Morii H, Nishizawa Y : Rare somatic inactivation of the multiple endocrine neoplasia type 1 gene in secondary hyperparathyroidism of uremia. *J Clin Endocrinol Metab* 85 : 4113-4117, 2000
- 18) Palanisamy N, Imanishi Y, Rao PH, Tahara H, Chaganti RS, Arnold A : Novel chromosomal abnormalities identified by comparative genomic hybridization in parathyroid adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 83 : 1766-1770, 1998
- 19) 田原英樹, Andrew Arnold, 今西康雄, 西沢良記, 森井浩世 : 慢性腎不全に伴う二次性副甲状腺機能亢進症の染色体異常 (原発性副甲状腺機能亢進症との比較). *日本骨代謝学会雑誌* 17 : 93, 1999