

## トピックス

## III. トピックス

1. カルシウム代謝調節因子：最近の進歩  
2) 副甲状腺ホルモン関連蛋白とその作用

大津留 晶 山下 俊一

## 要 旨

副甲状腺ホルモン関連蛋白 (PTHrP) は、悪性腫瘍に伴う高カルシウム血症の原因物質として発見された。PTHrPのN端は副甲状腺ホルモン (PTH) と高い相同性を有し、いずれも共通のPTH/PTHrP受容体に結合し、作用を発揮する。しかし、副甲状腺より分泌され、血中カルシウムレベルを調節するホルモンであるPTHに対し、PTHrPはあらゆる臓器の様々な細胞より、時に応じて分泌され、生理的には主にパラクライン・オートクライン的に作用している。事実その受容体は全身に幅広く分布している。このためPTHrPの生理作用は不明な点が数多くあったが、発生工学的手法などの発展に伴い骨・軟骨系の新知見を始め、その機能の実態が徐々に明らかにされつつある。

〔日内会誌 88:1271~1276, 1999〕

**Key words** : PTHrP, PTH/PTHrP受容体, HHM, 内軟骨性骨化, ノックアウトマウス

## はじめに

副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone, PTH) の存在が明らかにされたのは、1925年であり、今世紀の半ばには既にウシのPTHが精製されていた。これに対し、副甲状腺ホルモン関連蛋白 (parathyroid hormone-related protein, PTHrP) は、長いこと不明であった悪性腫瘍の高カルシウム血症 (humoral hypercalcemia of malignancy, HHM) の主要な起因物質として、1987年に、肺扁平上皮癌・乳癌・腎細胞癌などから発見された。さらに1989年にはhuman PTHrPのcDNAが、1993年にはgenomic DNAがクローニングされた。一方、共通のG蛋白共役型受容体であるPTH/PTHrP受容体は、

1991年にcDNAが発表された。PTHrPの生理作用はその発現のパターンや、*in vitro*系における添加刺激実験などにより、心血管系・消化管・膀胱・子宮などの平滑筋、乳腺、胎盤および神経系におけるパラクライン機能が推測されてきた<sup>1)</sup>。成体に比し、PTHrPの発現がよく認められ、血中にも生理的にPTHrPが存在する胎児の発生期における役割についてはノックアウトマウスのシステムを駆使することにより次第に明らかになりつつある<sup>2)</sup>。本稿では、PTHrPの分子構造と現在までに明らかにされた生理作用を紹介し、最後に悪性腫瘍におけるHHM以外の病態生理作用について最近の知見を述べてい

## 1. PTHrP遺伝子とその分子構造

ヒトPTHrP遺伝子は12番目の染色体短腕に

おおつる あきら、やました しゅんいち：長崎大学  
原爆後障害医療研究施設分子医療部門

表1. PTHrPの分子構造・機能比較

	PTH/PTHrP	Insulin/IGF-I
分子構造		
染色体	11p/12p	11p/12q
アミノ酸	N端(1-34)の32% 相同	プロインスリン A鎖と38% 相同
プロモーター	1(TATA)/3(2TATA, 1GC)	1(TATA)/2.4(TATA less)
alternative splicing	無し/有り	無し/有り
分布(産生細胞)	副甲状腺/全身	膵β細胞/全身
受容体	共通受容体 特異的受容体	特異的受容体 (Insulin-R/IGF-I-R)
生理作用	Ca代謝ホルモン/サイトカイン (増殖・分化)	糖代謝ホルモン/サイトカイン (増殖・分化)

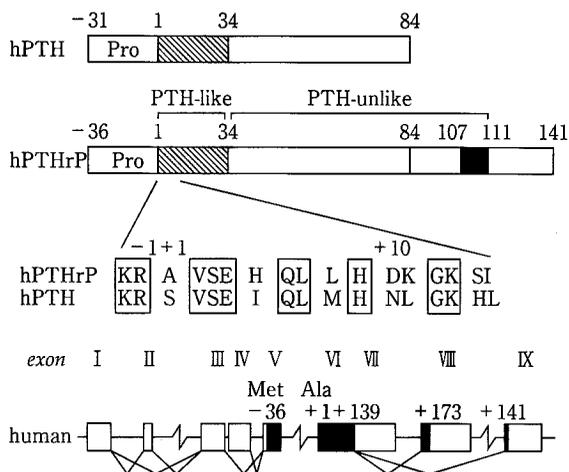


図1. PTHとPTHrPの遺伝子構造の比較.

PTH/PTHrP受容体を介し、骨・腎・平滑筋等の多くの細胞で作用を有する(図1)。中間部分のPTHrP(35~111)は動物の種で非常によくそのアミノ酸配列が保存されているとともに、他の蛋白との相同性はなく、PTHrP特有の重要な機能を司ることが推測される。中間部分のうちPTHrP(87~107)の領域には核移行シグナルがあり、核に局在するPTHrPがアポトーシスを防止する作用があるという報告がある。C端のPTHrP(111~139)はN端に比し、半減期が長く、安定で血中や関節液中などでの検出指標として利用されている。また一部によく保存された部分を有し、破骨細胞の活性化を抑制能の報告を認めるが、その詳細は不明である。

## 2. 骨・軟骨系の生理・病理作用

骨・軟骨系におけるPTHrPの生理作用の解明は発生工学的手法を用いることにより飛躍的に進歩した。PTHrP遺伝子をノックアウトしたマウスは著明な骨・軟骨異形成を示し、肋軟骨の異常な骨化のため恐らく呼吸不全にて出生直後に死亡する。内軟骨性骨化過程の障害を組織学的に検討すると、正常でPTHrPの発現を認める骨端軟骨の静止層と増殖層がノックアウトのマウスでは著明に短縮し、肥大化層内に肥大化していない軟骨細胞が不規則に混在してい

位置し、9個のexonと8個のintronからなる。11番と12番の染色体は姉妹染色体であり、PTHが11番染色体に存在することより、やはり同様な存在様式を示すインスリンとIGF-1(insulin-like growth factor-1)と類似の関係にある(表1)。PTHrP mRNAはPTHに比べ複雑な転写機構と多様なスプライシングが存在する。PTHrP遺伝子のプロモーターは少なくとも3つ存在し、サイトカイン遺伝子等に特徴的なモチーフを有することよりmRNAの半減期も30分~2時間と短い。またスプライシングにより139, 141, 173アミノ酸の異なる成熟蛋白が存在する。このうちN末端ペプチド(1~34)はPTHに相同性が高くPTH様作用を有し、PTHと共通の

ることが観察される。同様の現象はPTH/PTHrP受容体ノックアウトマウスでも認められるため、PTHrPの作用のうち骨・軟骨の分化制御は、PTHや他のサイトカインにより代償されないものと考えられる。さらにATF-2やbcl-2ノックアウトマウスでも類似の軟骨の早期成熟を認めることより、軟骨の分化過程におけるPTHrPの作用は、bcl-2を介した抗アポトーシスによる軟骨細胞の分化制御とも考えられる。

PTH/PTHrP受容体のクローニングとノックアウトマウス作製を行ったKronenbergらのグループは発生期におけるPTHrPの内軟骨性骨化における作用メカニズムについて図2のような仮説を提唱している。すなわちショウジョウバエの分節化・極性遺伝子ヘッジホックの脊椎動物における相同遺伝子の一つIndian hedgehog (Ihh)がPTH/PTHrP受容体を発現する軟骨より分泌され、軟骨分化作用を促進し、Ihhの受容体であるPTCそしてPTCのシグナル伝達転写因子であるGliがさらに軟骨の増殖と分化に対しネガティブフィードバック機構としてPTHrPの転写を促すというものである。PTCやGliが軟骨性骨化だけでなく表皮や毛根そして肺の細胞の分化に関与していることより考えても、ヘッジホックやWntファミリーのような

形態形成に重要なシグナルに対する修飾因子として、FGFやTGF- $\beta$ に加えPTHrPが重要な因子の一つであるという魅力的な仮説の実施が今後展開して行くと予想される。

出生後軟骨ではPTHrPの発現は著明に低下してゆくが、軟骨の変性疾患や破壊性の疾患である慢性関節リウマチでは再びPTHrPの発現が上昇し、特に関節液中で著明に増加する。これがPTHrPのアポトーシス抑制効果と関与しているかどうか不明だが興味深い知見である。

骨リモデリングの観点より見ると、PTHやPTHrPが血中で持続的に上昇している病態では骨吸収が進む。しかし、内因性PTHrPの生理作用は、逆に骨形成を促す方向へ働くことが*in vitro*や*in vivo*で証明されている。このことはPTHrPアナログが骨粗鬆症などに対する治療薬として働く可能性を示唆し、治療への応用の試みが開始されている。

また、非常に稀な遺伝性疾患であるJansen-typeの軟骨異形成症候群は、高カルシウム血症を示し、血中のPTHおよびPTHrPは著明に低下している。この疾患のPTH/PTHrP受容体遺伝子の解析の結果、constitutive activeな点突然変異があることが報告された。

### 3. 心・血管系における作用

PTHを静脈内に投与すると血圧が低下することが以前より知られていたことより、PTHrPも局所の心血管のトーンを調整する弛緩因子として働いていることが予想された。血管平滑筋を始め、消化管・膀胱・子宮の平滑筋では機械的な伸展刺激に対し、直接PTHrP mRNAの転写が刺激され発現亢進が引き起こされる。またPTHrP mRNAの転写はアンギオテンシンIIなどによりさらに相乗的に増加する。平滑筋のPTHrPを介した弛緩反応のうち即時的な反応は内皮を介したNO等による弛緩作用が予想される。一方、直接平滑筋細胞に働きcAMPシグ

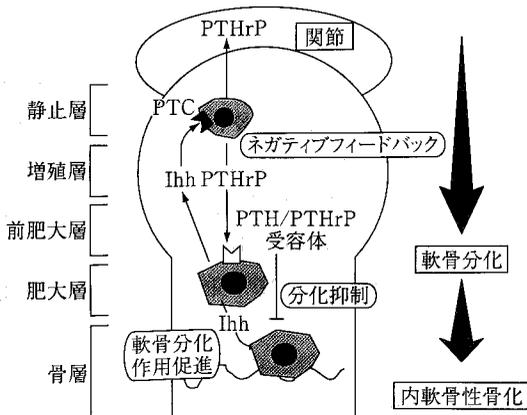


図2. 軟骨分化過程におけるPTHrPの役割 (仮説)

ナルを介しL型カルシウムチャンネルのブロックによる緩徐で長時間反応する平滑筋の自己調整作用の方が、平滑筋由来PTHrPの重要な作用である可能性が高い。実際ヒト冠動脈の中膜平滑筋のPTHrP発現は動脈の閉塞率と比例する傾向を認めた。トーン調整とは別に、動脈硬化巣やPTCA後の新生内膜内の増殖平滑筋にもPTHrPの過剰発現を認めることにより、PTHrPは平滑筋細胞の脱分化・細胞増殖・アポトーシス抑制・遊走などの反応にも先に述べた軟骨細胞と類似の反応があることが予想される。

心筋細胞では腎不全の時の高PTH血症が心肥大を促進することが知られているが内因性のPTHrPはむしろ心筋の保護へ働く事が報告されている。

最近、我々は悪性腫瘍の血管新生においてPTHrPが血管新生促進因子の一つであることを見出したが<sup>3)</sup>、また成人における生理的血管新生の代表である子宮内膜においても、月経周期とシンクロナイズし、子宮内膜血管の新生期に一致してPTHrPの発現の増加が認められることは血管新生における何らかの役割を示唆するものである。

#### 4. 胎盤のカルシウム輸送作用

出生後はカルシウムの主要な供給源は骨と腎と腸からの吸収で、それはPTHを中心にコントロールされている。一方、胎児期ではPTHは発現せず、カルシウム代謝は胎盤における母体よりの能動的輸送に依存し、それにPTHrPが関与していることが予測されてきた。その証明もPTHrPノックアウトマウスを用いた系でなされた<sup>2)</sup>。すなわち、ノックアウトマウスをPTHrP (1-86) で治療すると胎盤のカルシウムの能動的輸送が有意に増加するのに対しPTH (1-84) には全くその効果は見られなかった。さらに興味深いことにPTHrP (1-34) に

もその作用はなく、PTHrP (67-86) 投与で認めたことより、PTH/PTHrP受容体以外のPTHrP特異的受容体の存在を強く示唆している。

#### 5. その他の生理作用

胎児組織では発育段階に応じて多くの組織でPTHrPの発現がみられる。成人では骨・軟骨、血管平滑筋以外にも、皮膚、乳腺、中枢神経、末梢神経、心筋、消化管、膀胱、内分泌細胞など種々の組織で定常状態では発現を認めないものの、何らかの刺激に応じてPTHrPの発現が一過性に増加する。例えば皮膚のケラチノサイトではPTHrPは細胞の増殖抑制と分化促進を促していることが示されている。またケラチンプロモーター制御下のPTHrPトランスジェニックマウスは毛のうの発達障害を認める。さらに母体では吸乳刺激に応じてPTHrPがミルク中に大量に分泌されてることにより、その新生児に対する役割が注目されているが、その意義は現在も不明である。血管平滑筋以外の消化管・子宮・膀胱の平滑筋における主要生理作用もやはり機械的刺激に対するトーン調整が考えられる。例えば妊娠後期に子宮平滑筋でPTHrPの発現が増加するのは胎児や羊水による子宮過伸展の緊張を取り早産を予防しているとも考えられる。出産の直前にPTHrPの発現が急に減少するのも陣痛を促し理にかなったことと思われる。また活動型の胃潰瘍・十二指腸潰瘍における胃の過伸展や、イレウスの時の拡張した消化管の平滑筋においても、あるいは、尿が充満した膀胱の平滑筋でもPTHrPの発現増強が認められるのは、潰瘍の増悪、消化管穿孔や膀胱破裂を防ぐ意味で重要な生理作用かもしれない<sup>4)</sup>。

表2. 悪性腫瘍におけるPTHrPの発現

腫瘍	陽性率	報告者
内分泌腫瘍		
下垂体腫瘍	50% (10/20)	Ito, et al (J Clin Pathol 1993)
甲状腺癌	98% (104/107)	Nakashima, et al (J Pathol 1995)
副甲状腺癌	65% (13/20)	Matsumura, et al (Acta Pathol J 1992)
褐色細胞腫	100% (8/8)	Mune, et al (JCEM 1998)
ホルモン依存性腫瘍		
乳癌	69% (56/81)	Liapis, et al (Am J Pathol 1993)
前立腺癌	100% (33/33)	Iwamura, et al (Cancer Res 1993)
卵巣癌	71% (5/7)	Matias, et al (Cancer 1994)
腎細胞癌	95% (40/42)	Gotoh, et al (Cancer 1993)
肺扁平上皮癌	94% (36/34)	Kitazawa, et al (Cancer 1991)
子宮頸癌	100% (16/16)	Dunne, et al (Cancer 1991)
消化器系癌		
胃癌	66% (61/92)	Alipov, et al (J Pathol 1997)
胆嚢癌	100% (45/45)	unpublished data
膵癌	73% (16/22)	unpublished data
大腸癌	94% (86/91)	Nishihara, et al (J Pathol 1999)

表3. 胃癌の深達度とPTHrPの発現

深達度	陰性	弱陽性	強陽性
粘膜内(m)	19(70%)	5(19%)	3(11%)
粘膜下(sm)	3(15%)	2(10%)	15(75%)
固有筋層(pm)	1(8%)	2(15%)	10(77%)
漿膜下(ss)	2(5%)	5(13%)	31(82%)
漿膜外(se)	1(17%)	0(0%)	5(83%)

## 6. 癌におけるPTHrPの病態生理

HHMをきたさない多くの悪性腫瘍においてもPTHrPの発現が増加している(表2)。変異Rasや変異p53遺伝子を導入することによりPTHrPの転写活性が上昇することがいくつかの細胞株で実証されており、悪性化進展とPTHrPの関与が疑われる。我々の検討でも例えば胃癌では癌の深達度が深くなるに従ってPTHrPの発現頻度が増加することが判明した<sup>5)</sup>(表3)。また乳癌の骨転移はPTHrP陽性癌細胞に有意に多く、ヌードマウスを用いた骨転移モデルではPTHrPの中和抗体が骨転移形成を阻止することが証明されている。癌細胞の特徴に脱分化により胎児型の形質へと転化すること

が挙げられるが、PTHrPは癌細胞より分泌される脱分化シグナルとして非癌細胞へ作用して、胎児期と類似した様々な作用を示している可能性がある。それは内皮細胞に働けば血管新生作用であり、リンパ球に対しては腫瘍免疫抑制作用、線維芽細胞では浸潤能、骨組織では転移形成能である。オートクライン・インタークライン的に癌細胞に作用する場合は抗アポトーシス作用があるかもしれない。PTHrPの中和抗体やアンチセンスを用いて一部の腫瘍では治療効果が証明されているが、それは上記のメカニズムの存在を示唆している<sup>3)</sup>。

## おわりに

HHMを生じるホルモン様因子として見出されたPTHrPはその後の研究の発展により、骨・軟骨の発育に必須のサイトカインとして位置付けられるようになった。一方、出生後の生理作用についても徐々に明らかとなってきている。他の因子によりある程度rescue可能なため、現在のノックアウトマウスシステムでは解析困難な生理作用や、軟骨再生、動脈硬化の予

防, 癌の治療にも, PTHrP作用の細胞・器官・生体レベルにおける分子機構の解明がさらに重要になってきている. 近い将来, 細胞内情報伝達系のクロストークの解明やPTHrPに特異的な受容体の存在などの発見により, サイトカインとしてのPTHrPの生理作用, 各種病態とのかかわり合いが明らかにされるものと期待される.

#### 文 献

- 1) 池田恭治: PTHrP (PTH-related peptide), 内分泌・代謝疾患, 最近内科学大系, 金澤一郎他編初版, 中山書店, 東京, 1997, p325-333
- 2) Lanske B, et al: Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) and parathyroid hormone (PTH) /PTHrP receptor. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression* 8: 297-320, 1998.
- 3) Akino K, et al: Antisense inhibition of parathyroid hormone-related peptide gene expression reduces malignant pituitary tumor progression and metastasis in the rat. *Cancer Res* 56: 77-86, 1996.
- 4) Ito M, et al: Expression of parathyroid hormone-related peptide in relation to perturbation of gastric motility in the rat. *Endocrinology* 134: 1936-1942, 1994.
- 5) Alipov GV, et al: Expression of parathyroid hormone-related peptide in human gastric tumor. *J Pathology* 182: 174-179, 1997.