九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

二次性副甲状腺機能亢進症における副甲状腺の増殖機序

徳本, 正憲
九州大学医学部附属病院腎疾患治療部

谷口, 正智
九州大学医学部附属病院腎疾患治療部

平方, 秀樹
九州大学医学部附属病院腎疾患治療部

https://doi.org/10.15017/18761

出版情報：福岡醫學雜誌. 94 (6), pp.201-208, 2003-06-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：

二次性副甲状腺機能亢進症における副甲状腺の増殖機序

九州大学医学部附属病院　腎疾患治療部
徳本正憲，谷口正智，平方秀樹

はじめに

慢性腎不全患者では，活性型ビタミンD（1,25 D）の産生低下，低カルシウム（Ca）血症，リン（P）の蓄積（高P血症）によって，副甲状腺ホルモンの分泌が持続的に亢進し，二次性副甲状腺機能亢進症(2HPT)を発症する．2HPTでは，副甲状腺細胞が増殖して結節を形成し，超音波検査で容易に検出できるほどに腫大する．骨には典型的な線維性骨炎が生じ，X線単純写で特徴的な変化を呈する．

約20年前に，経口投与可能な活性型ビタミンD製剤が開発され臨床応用が開始され，2HPTは治療可能になると期待された．しかし，これまでの臨床成績の結果，活性型ビタミンD製剤やP吸着薬を投与し，1,25 D濃度を正常に保って低Ca血症や高P血症を是正してもPTHの合成・分泌の亢進が持続する例が少なくないことが明らかになった．活性型ビタミンDによって低Ca血症を是正してもPTH分泌亢進を抑制できない例では，CaとPTH分泌との間のフィードバック機構に異常がある．最近では，その異常に副甲状腺細胞の形質変化が関与している可能性が示唆されている．

本項では，2HPTの発症・進展について，副甲状腺細胞の増殖と形質変化を中心に概説する．

1．副甲状腺細胞の形質

1）副甲状腺の発生

単細胞生物からヒトに至るすべての生物において，カルシウムイオン（Ca）は正常の細胞機能を保障する必須の物質で，細胞外液Ca濃度は10 mg/dl（総Ca濃度）前後の狭い範囲に調節されている．このCa濃度を調節する体液性因子については，生物の進化の過程が大きく影響した．すなわち，海水中で，周囲環境から自由にCaを摂取できる魚類ではCaの欠乏状態になることはなく，Ca動員ホルモンが欠如している．一方，両生類以降，陸上で生活する生物ではCaの供給が保障されず，常にCa欠乏をきたす危機的状況にある．そのため，体内にCaを備蓄する器官として骨組織が発達し，骨は陸上で体重を支え移動を可能にする役割を果たす目的で頑丈に発達した．また，Ca欠乏状態で骨からCaを動員して細胞外Ca濃度の恒常性を維持するシステムが構築された．すなわち，副甲状腺が発生し，骨からCaを動員するホルモンとして副甲状腺ホルモン（PTH）が登場した．

2）正常副甲状腺

ヒトで初めて副甲状腺の存在や解剖学的特徴が正確に記載されたのは1880年である．副甲状腺は，通常，扁平な卵円形ないし紡錘形を呈する腺（大きさ平均5 x 3 x 1 mm，重量35～40 mg）が左右2腺ずつ計4腺存在し，ほぼ一生にわたって同じ大きさを維持する．組織学的に，実質細胞と脂肪細胞が混在し，薄い結合織被膜で覆われていることが特徴で，実質細胞は主細胞と好酸性細胞からなり，索状，腺管状ないし濾胞状の小葉構造を呈する（図1）．

正常副甲状腺ではアポトーシスをきたしている細胞がほとんど検出できない．また，細胞周期のG1からM期に発現するKi67抗原の発現を検討した結果，その半減期は約19年にも及ぶと推測されている．すなわち，正常副甲状腺細胞は極めて高度の分化状態を維持する細胞で，腫瘍性疾患や慢性腎不全における

Masanori TOKUMOTO, Masatomo TANIGUCHI and Hideki HIRAKATA
Kidney Care Unit, Central Department, Kyushu University Hospital, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582 Japan
Cell Cycle Progression in Secondary Hyperparathyroidism

2HPT 以外に腺細胞が増殖する病態はない．

副甲状腺は細胞外 Ca 濃度の低下を鋭敏に感知して PTH の合成分泌を亢進させる．PTH は，骨からの Ca 動員，腎臓における Ca 再吸収亢進と 25（OH）D_3の活性化促進，25（OH）D_3活性化の結果としての腸管での Ca 吸収亢進作用を介して，細胞外 Ca 濃度を上昇させるホルモンである．この一連の過程には精密なフィードバック機構が備わり，Ca 濃度が回復すると，PTH の分泌亢進が是正される．このように，細胞外 Ca 濃度の調節の中心には PTH が位置し，副甲状腺細胞における細胞外 Ca 濃度や 1,25 D 動態の感知機構の存在が予測された．そして，1987 年にビタミン D 受容体（VDR）が，1993 年には Ca 感受受容体（CaSR）が証明された．

3）2HPT における副甲状腺細胞増殖

内科的治療に抵抗する 2HPT では，PTH の合成・分泌亢進が持続する．副甲状腺細胞の増殖（過形成）も持続して小指頭大から母指頭大の巨大な腺腫様の結節となる．外科的に摘出した過形成組織は，病理学的に，びまん性過形成（diffuse hyperplasia）と結節性過形成（nodular hyperplasia）に分類される．前者は，副甲状腺の正常小葉構造を維持し，後者は，均一の細胞群で構成された，線維性被膜で覆われている結節を有することが特徴で（図1），両組織は混在することが多い．結節性過形成では，被膜を欠く場合もあり（early nodular gland），全腺が1つの結節で占められた結節性過形成（single nodular gland）を呈することもある．腺重量と病理学的特徴には関係があり，重量が小さいものはびまん性過形成を呈し，大きくなると結節性過形成の割合が増加する．重量が 500 mg 以上になると，結節性過形成の頻度は 85%以上と報告されている[1]．

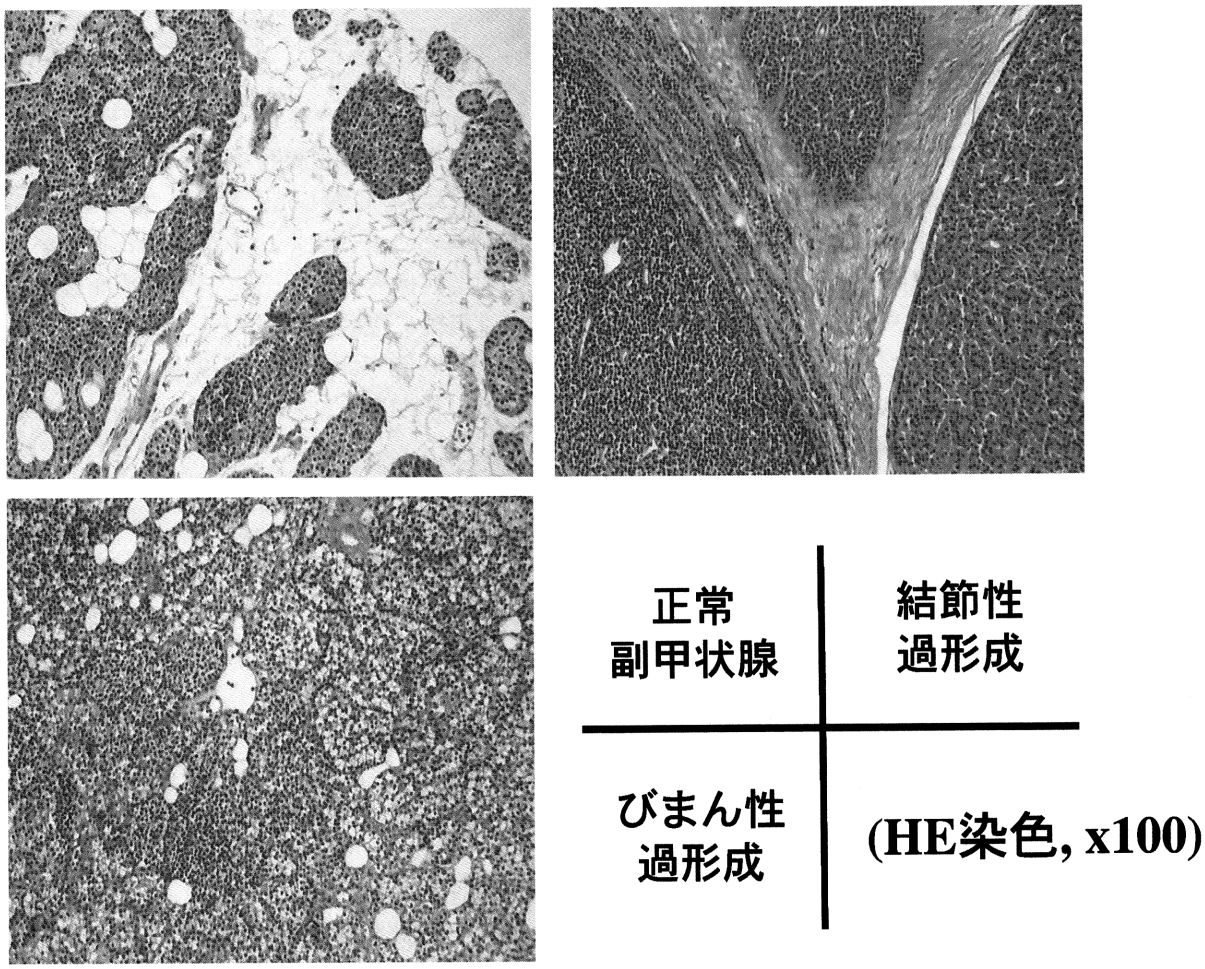

図1　二次性副甲状腺機能亢進症による過形成副甲状腺組織の光顕像

2HPT における副甲状腺過形成は，びまん性過形成から結節性過形成へ，さらには，single nodular gland へと進行すると考えられている．Image cytometric DNA analysis や PCNA，Ki67 を用いた検討によって，びまん性過形成から結節性過形成へと進展する過程で細胞周期の進行が著しく促進していることが明らかになり，細胞周期を制御する因子の異常が示唆されている．

2．ビタミン D と副甲状腺細胞増殖

1）ビタミン D と副甲状腺細胞増殖

ラット腎不全モデルに 1,25 D を投与すると，摘出した副甲状腺組織の重量は小さくなり，^{3}H-thymidine 取り込み率も低下する．Kremer ら[2]は，培養ウシ副甲状腺細胞を用いた検討で，1,25 D 投与が PTH 分泌と腺細胞の増殖を抑制し，この時，c-myc 発現も抑制されていたことから，1,25 D が c-myc 発現を阻害して副甲状腺細胞の増殖を抑制すると報告した．2HPT 患者においても，1,25 D を大量投与（ビタミン D パルス療法）したり，腫大腺組織に 1,25 D を直接注入（ビタミン D 局所注入療法）すると腫大腺が退縮することがある．

Cozzolino ら[3]は，副甲状腺細胞は P 負荷によって増殖するが，その増殖が 1,25 D や 1,25 D アナログ（19 Nor-1,25 D）の投与によって抑制されたことを報告した．この機序として，彼らは，P の過剰な負荷は transforming growth factor alpha（TGF-α）の発現を増加させるが，1,25 D が TGF-α の発現を抑制するとともに，cyclin dependent kinase inhibitor（CDKI）（p21）の発現を誘導した結果であることを明らかにした（図 2）．

このように 2 HPT における副甲状腺の過形成には，細胞増殖の制御因子を介して 1,25 D が関与してい

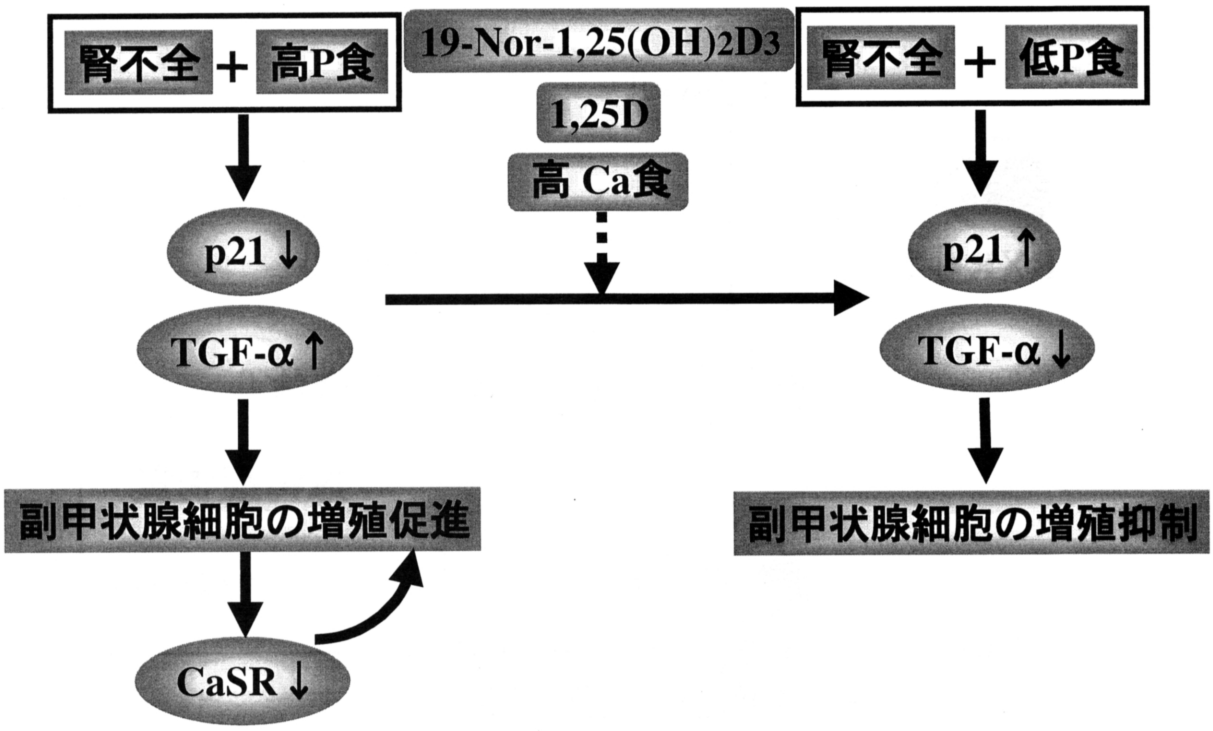

図 2　P による副甲状腺細胞増殖の機序
P 制限食は副甲状腺細胞における p21 発現を増加させ，副甲状腺増殖を抑制し，P 負荷食は，transforming growth factor α（TGF-α）の発現を増加させて増殖を促進する．さらに，高 Ca 食や 1,25 D あるいは 19 nor-1,25 D の投与により，P 負荷によって発現が増加した TGF-α の発現が減弱し，同時に p21 発現が誘導され，P 負荷による副甲状腺細胞増殖を抑制すると考えられている．

る．

2）副甲状腺のビタミンD抵抗性

2HPT患者において，1,25D製剤を投与して血中1,25Dを生理的濃度に上昇させてもPTHの過剰分泌が抑制できない場合に，1,25Dパルス療法を行うとその過剰分泌が抑制されることがある．このことは，PTH分泌を抑制する1,25D濃度の閾値が高くなっていることを示し，臨床的に1,25D抵抗性があるという．この1,25D抵抗性には，副甲状腺細胞核の1,25D受容体（VDR）の量的減少，VDRとヘテロダイマーを形成して標的遺伝子に結合し転写を調節するretinoid X receptorの減少，1,25D-VDR複合体と標的遺伝子の1,25D応答配列（VDRE）との結合能の低下などが関与している．1,25D-VDR複合体とVDREとの結合能の低下については，未知の尿毒症物質や腺細胞内calreticulin増加などの関与が示唆されている（図3）．

すなわち，2HPTにおける1,25D抵抗性の機序には，腎不全という病態に起因した1,25Dのgenomic actionの障害も主要な因子として関与している．

3）ビタミンD受容体と副甲状腺細胞増殖

2HPTで摘出したヒトの副甲状腺過形成組織ではVDRの発現が減少しているが，このことは結節性過形成で著しく[4]，VDR発現細胞数と腺重量[4]や細胞増殖度の間には負の相関関係がある．また，VDR knock-out　mouseでは，血中PTH濃度の上昇とともに副甲状腺細胞の増殖が認められる．すなわち，VDRの量的減少は腺細胞増殖の促進因子として作用している（図4）．

Liuら[5]は，myelomonocytic cell line(U937)で，1,25DがVDRを介し，G1 arrestを誘導するCDKI(p21，p27)の転写を活性化すること，p21のpromoter領域にVDREが存在することを明らかにし，p21発現が，p53ではなく1,25D依存性に制御されることを示した．われわれは[6]，2HPT患者の摘出副甲状腺組織においてVDR発現が減少し，その発現量がp21やp27の発現低下と相関していることを明らかに

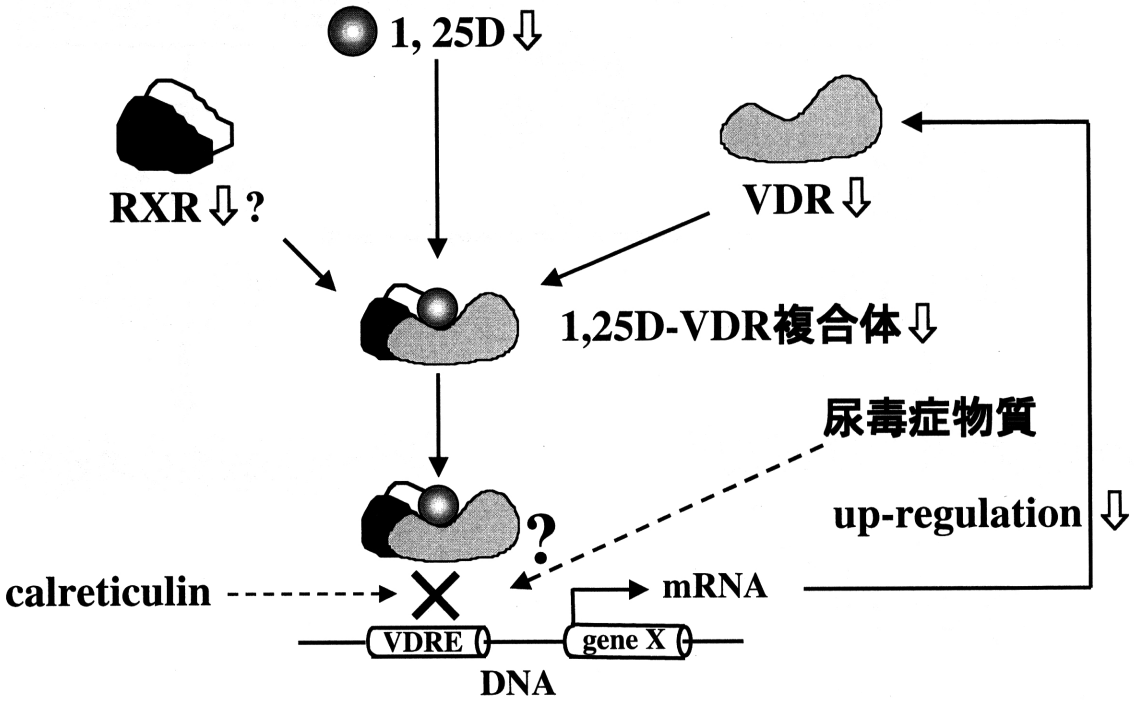

図3　腎不全患者におけるビタミンD抵抗性の発生機序
治療によって，活性型ビタミンD（1,25D）が生理的濃度に保たれたとしても，ビタミンD受容体（VDR）の減少，レチノイドX受容体（RXR）の減少，尿毒症物質による標的遺伝子への結合阻害など，1,25Dが効果を発現するのに必要な細胞内情報伝達機構が阻害されているので，1,25Dの効果は減弱している．

した．つまり，2HPT の過形成副甲状腺組織においても U937 細胞のように，VDR 依存性に CDKI の発現が調節され，VDR の発現低下が細胞周期制御蛋白の発現を低下させて腺細胞の増殖を促進している可能性が示唆される（図 4）．

4）ビタミン D 受容体の発現調節

1,25 D それ自体が VDR の発現調節をしている可能性が指摘されている．正常副甲状腺では，Ca ではなく 1,25 D によって VDR mRNA 発現が亢進し，ラット腎不全モデルでは，1,25 D を 8 週間と長期間投与することによって VDR 発現の減少が抑制される．このように，1,25 D 作用の減弱は VDR 発現を抑制して 1,25 D 抵抗性に関与し，2HPT の発症・進展の悪循環形成に寄与している．一方，P による直接的な VDR 発現調節作用は小腸上皮細胞で確認されているが，副甲状腺では明らかではない．

3．Ca と副甲状腺細胞増殖

1）細胞外 Ca 濃度と副甲状腺細胞増殖

Ca は副甲状腺細胞の増殖を抑制する．ラット副甲状腺の培養細胞を用いた検討では，培養液中の Ca 濃度を低下させると細胞増殖が促進し，Ca を上昇させると細胞増殖が抑制され，Ca 濃度を上昇させた条件下では cyclin D1 mRNA の発現が抑制される．正常ラットでも，低 Ca 食で飼育すると PTH mRNA が増加し，副甲状腺における PCNA 陽性細胞数も 6 倍に増加したことが報告されている．Cozzolino ら[3]は，高 Ca 食は，P 負荷によって亢進した TGF-α 発現を減弱させ，同時に，p21 発現を誘導して副甲状腺細胞増殖を抑制すると報告した（図 2）．

細胞外 Ca 濃度も副甲状腺細胞の機能と増殖に寄与する重要な因子である．しかし，2HPT においては副甲状腺細胞の Ca 感受性に異常があることが示唆されている．

2）Ca 感受性の低下

PTH 分泌は細胞外 Ca 濃度によって厳密に調節され，この関係は S 字状カーブを示す（図 5）．この曲線は，PTH 最大分泌能，set point（PTH 分泌が最大分泌量の 50%になる時の Ca 濃度），set point にお

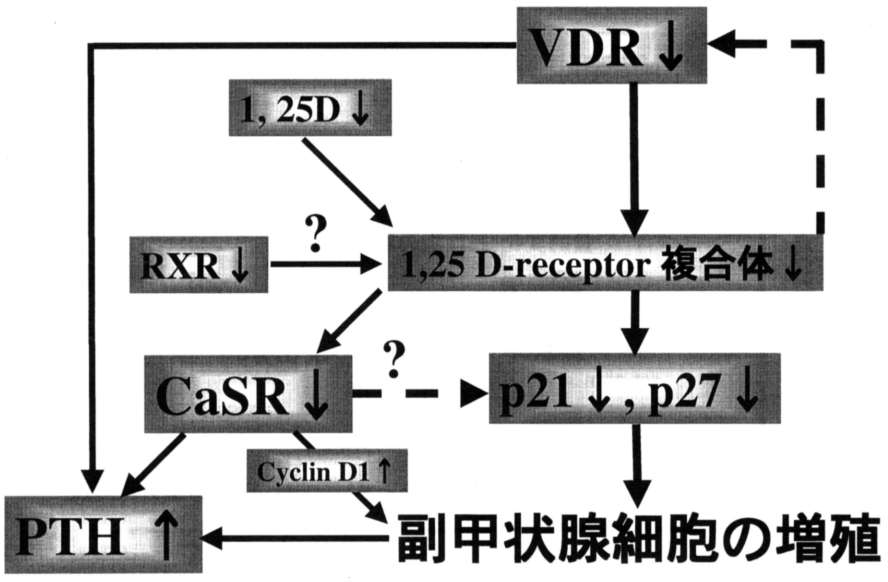

図 4　副甲状腺における受容体異常と二次性副甲状腺機能亢進症の発症機序
ビタミン D 受容体（VDR）およびカルシウム感受受容体（CaSR）の発現減少は，PTH の過剰分泌をもたらす．また，これらの受容体は細胞周期とも関連し，細胞周期の促進あるいは抑制因子の発現を調節していると考えられている．これらの因子を介して，副甲状腺細胞が増殖し，PTH の過剰分泌に寄与していると考えられる．

ける接線の傾き，そしてPTH最小分泌能の4つの要因から成り立ち，PTH最大分泌能は腺細胞の数を，set pointは細胞外Ca濃度に対する感受性を表している．腺細胞数が増加してもCaの感知機構に異常がなければset pointは不変である．2HPTにおけるCa-PTH曲線では最大分泌能の上昇とset pointの右方への偏移が特徴で，腺細胞が増殖しているだけでなく形質が変化し，Ca感受性が低下していることを表している（図5）．前述したように，CaはPTH分泌だけでなく副甲状腺増殖に対しても抑制的に作用する．しかしながら，2HPTでは，腺組織のCa感受性が低下し，細胞外Ca濃度の上昇によるPTH分泌や増殖の抑制作用が減弱していると考えられている．このことは，びまん性過形成にくらべて結節性過形成で著しく，過形成パターンの違いがCa感受性に影響することから，細胞形質の変化が質的に異なる可能性がある．

1993年，ウシ副甲状腺のCaSRがクローニングされ，2HPTの副甲状腺ではCaSRの発現が減少し，結節性過形成で著しいことが明らかになった．副甲状腺の初代培養細胞では，時間経過とともにCaSR発現が減少し，それに伴ってCaによるPTH分泌抑制作用が消失することが報告されている．このように，CaSR発現の量的減少は，副甲状腺過形成組織，特に，結節性過形成におけるCa感受性の低下に寄与している．しかしながら，CaSR遺伝子の変異や機能的異常など質的な異常については明らかでない．

3）Ca感受受容体の異常と副甲状腺細胞増殖

2HPTにおける摘出副甲状腺組織ではCaSR発現量が減少し，結節性過形成で著しく，その発現量は細胞増殖度と負の相関関係を示す[7]．また，CaSR knock-out mouseでは，血中PTH濃度の上昇とともに副甲状腺細胞の増殖が認められる．CaSRに特異的に結合する薬剤として開発されたcalicimimeticsを用いた実験的検討で，calcimimetics投与は血中PTH濃度を低下させ，副甲状腺過形成を抑制してCaと同様の作用を発揮することが明らかになった．すなわち，CaSRを介した細胞内情報伝達系の活性化は，PTH分泌だけでなく腺細胞の増殖をも抑制することを示している．細胞外Ca濃度の低下はcyclin D1の発現亢進を介して細胞増殖を促進する．2HPTでは，びまん性過形成とくらべて結節性過形成でcyclin D1の発現が亢進していることから，CaSRの発現低下がcyclin D1の発現亢進をもたらし，副甲状腺の細胞増殖に寄与している可能性がある（図4）．

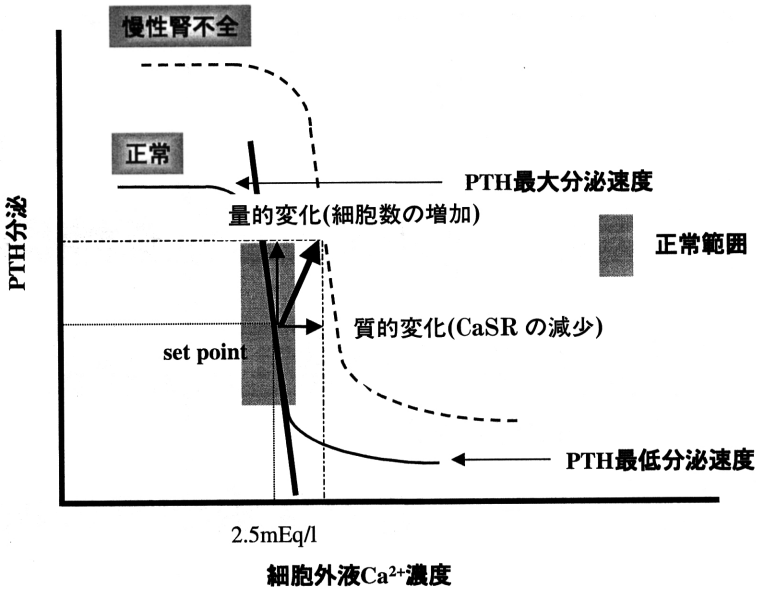

図5 カルシウム感受性の異常
細胞外Caイオン濃度とPTH分泌の関係はsigmoidal curveを描く．腎不全ではこの曲線は右上方に偏移し，CaイオンによるPTH分泌抑制効果が低下している．

CaSR 発現低下と副甲状腺過形成のどちらが先行するのであろうか．マウス副甲状腺に cyclin D1 を過剰発現させると，副甲状腺が腫大し，それに伴って CaSR の発現が低下する．また，腎不全ラットを低 P 食で 1 週間飼育した後に高 P 食に変更すると副甲状腺細胞が増殖するが，この増殖は CaSR の発現減少に先行している．これらの結果は，副甲状腺細胞の増殖が CaSR 発現の減少よりも先行していることを強く示唆し，発端は増殖腺細胞の形質変化によって CaSR 発現が減少することである可能性が高い．しかし，この一連の過程は細胞増殖をさらに促進させる機序として 2HPT の進展に寄与しているかも知れない．

4）Ca 感受受容体の発現調節

ビタミン D パルス療法で，偏移した set point が正常化することがある．すなわち，大量の 1,25 D に暴露されると CaSR 発現が増加することを示し，CaSR の発現が 1,25 D によって調節されている可能性が考えられる．ラットを 1,25 D 欠乏食で飼育すると，副甲状腺の CaSR mRNA 発現が減少するが，高 Ca 食ではなく 1,25 D 投与によってその発現は容量依存性に回復する（図 4）．また，Canaff ら[8] は，CaSR 遺伝子の promoter 領域に VDRE が存在すると報告した．

このように，1,25 D は CaSR 発現の主要な調節因子として関与している．一方，P の直接的な効果については明らかではない．

4．リンと副甲状腺細胞

1）副甲状腺に対するリンの直接作用

高 P 血症は 2HPT を増悪させる主因の一つである．高 P 食による P の負荷は，副甲状腺細胞の増殖を促進し，PTH の合成・分泌を亢進させる．一方，低 P 食によって P の摂取量を制限すると 2HPT の進展が抑制される．P による 2HPT の増悪機序については，近位尿細管上皮細胞における 1α-hydroxylase 作用の阻害（ビタミン D 活性化抑制），その結果としての腸管からの Ca 吸収減少に伴う低 Ca 血症が主因で，間接的であると考えられてきた．しかし，腎不全患者や動物の腎不全モデルでは，低 P 食によって P の摂取量を制限すると，血清 Ca 値や 1,25 D 値の変化を介さずに血中 PTH 濃度が低下することも知られている．正常ラットから摘出した副甲状腺を whole gland のままで潅流し，潅流液中の Ca や P 濃度を変化させて PTH 濃度の変動を観察した実験では，Ca 濃度を固定（1.25 mM）した条件下で P 濃度を 1 mM から 4 mM に上昇させると PTH 分泌が 4 倍に増加した．このことは，P が Ca を介さずに独立して副甲状腺細胞に対する直接的作用を有していることを示している．

2）リンと副甲状腺細胞増殖

P は直接的に PTH 分泌を亢進させるだけでなく，副甲状腺細胞の増殖も促進することが明らかになっている．正常ラットを低 P 食で飼育すると，副甲状腺組織の PCNA 陽性細胞はほとんど検出できないが，高 P 食下では PCNA 陽性細胞数が低 P 食の 1.5 倍に増加したことが報告されている．PCNA 陽性細胞数の増加とともに重量，DNA 含量や蛋白含量も増加する．

Dusso ら[9] は，ラットの 5/6 腎摘慢性腎不全モデルを用いて P の副甲状腺細胞増殖に対する直接作用について検討し，P 制限食では p21 発現の増加とともに副甲状腺増殖が抑制され，高 P 食では TGF-α 発現の増加に伴って増殖が促進すると報告した（図 2）．TGF-α は，癌や増殖性疾患における主要な細胞増殖因子で，epidermal growth factor receptor に結合し，Ras-Raf-MAPK pathway など多くの細胞内情報伝達系を活性化し，同時に cyclin D1 の転写因子あるいは共同活性化因子として作用して細胞増殖を誘導する．

副甲状腺細胞においても，P がこれらの過程を介して腺細胞増殖に関与している可能性が示唆される．

3）副甲状腺におけるリンの感知機構

最近，Tatsumi ら[10] は，ラット副甲状腺において，細胞膜に存在する Na/P 輸送担体（Na/P co-transporter type 1；Pit 1）を cloning し，この遺伝子発現が 1,25 D 欠乏ラットで減少していることを報告した．Pit-1 mRNA の発現は，1,25 D 投与あるいは P 制限など，PTH 分泌を抑制する条件下で上昇することから，P による PTH 合成の亢進は Pit-1 を介している可能性が示唆されている．

Pを感知する機構としてPit-1が初めて明らかにされた．今後は，Pit-1の発現調節やPTH合成・分泌や腺細胞増殖の調節機構などへの作用を明らかにする必要がある．

おわりに

2HPTの病態について，Caおよび1,25 Dと副甲状腺細胞増殖の関係，特に，その受容体であるVDRやCaSRを介する機序を中心に概説した．副甲状腺細胞は細胞周期が停止した高分化細胞である．このような細胞が腎不全という特殊な環境下で増殖し細胞形質が変化する機序を解明することで，慢性腎不全患者における2HPTを適正に管理できる治療が可能となるであろう．

文　　献

1) Tominaga Y, Tanaka Y, Sato K et al.: Histopathology, pathophysiology, and indications for surgical treatment of renal hyperparathyroidism. Semin Surg Oncol 13: 78-86, 1997.
2) Kremer R, Boliver I et al.: Influence of calcium 1,25 dihydroxycholecalciferol on proliferation and prot-oncogene expression in primary cultures of bovine parathyroid cells. Endocrinol 125: 935-941, 1989.
3) Cozzolino M, Lu Y, Finch J et al.: p21WAF1 and TGF-α, mediate parathyroid growth arrest by vitamin D and high cakcium. Kidney Int 60: 2109-2117, 2001.
4) Fukuda N, Tanaka H, Tominaga Y et al.: Decreased 1, 25Dihydroxyvitamin D3 receptor density is associated with a more severe form of parathyroid hyperplasia in chronic uremic patients. J Clin Invest 92: 1436-1443, 1993.
5) Liu M, Lee MH, Cohen M et al.: Transcriptional activation of the Cdk inhibitor p21 by vitamin D3 leads to the induced differentiation of the myelomonocytic cell line U937. Genes Dev 10: 142-153, 1996.
6) Tokumoto M, Tsuruya K, Fukuda K et al.: Reduced p21 and p27 and vitamin D receptor in the nodular hyperplasisa in patients with advanced secondary hyperparathyroidism. Kidney Int 62: 1196-1207, 2002.
7) Yano S, Sugimoto T, Tsukamoto T et al.: Associatiion of decreased calcium-sensing receptor expression with proliferation of parathyroid cells in secondary hyperparathyroidism. Kidney Int 58: 1980-1986, 2000.
8) Canaff L and Hendy GN: Human calcium-sensing receptor gene. J Biol Chem 277: 30337-30350, 2002.
9) Dusso AS, Pavlopoulos T, Naumovich L et al.: p21WAF1 and transforming growth factor-α mediate dietary phosphate regulation of parathyroid cell growth. Kidney Int 59: 855-865, 2001.
10) Tatsumi S, Miyamoto KI, Takeda E et al.: Molecular cloning and hormonal regulation of Pit-1, a sodium-dependent phosphate cotransporter from rat parathyroid glands. Endocrinology 139: 1692-1699, 1998.