

論文の内容の要旨

1 背景と目的

副甲状腺ホルモン (PTH) は副甲状腺により産生され、カルシウム (Ca) 代謝において中心な役割を果たす。副甲状腺に異常がなく悪性腫瘍体液性高 Ca 血症 (HHM) を呈する症例が多いが、1987 年に副甲状腺ホルモン関連タンパク質 (PTHrP) が発見されて以来、HHM の原因物質のほとんどが PTHrP と判明し、異所性 PTH 産生腫瘍によるものは極めて稀である。

加えて、異所性 PTH 産生機構は、PTH 遺伝子とその上流の再構成やプロモーター領域の CpG 部位の低メチル化が報告されているのみで、ほとんど不明である。今回、高 Ca クリーゼをきたした異所性 (後腹膜) PTH 産生悪性線維性組織球腫 (MFH) 症例を報告するとともに、その PTH 産生機構に迫る目的で解析を行った。

2 材料と方法

症例は 69 歳男性で、高 Ca 血症と後腹膜腫瘍の精査目的で入院した。血中 PTHrP は上昇しておらず、PTH が高値であった。副甲状腺に異常はなく、後腹膜腫瘍摘出後、PTH と Ca は基準範囲内へ下降した。

摘出腫瘍を培地中に静置後、上清の whole-PTH を測定した。腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋切片を、抗 PTH 抗体で免疫染色した。PTH mRNA 量を、定量的 RT-PCR (qRT-PCR) 法で解析した。腫瘍 RNA から cDNA を合成し、PTH コード領域の塩基配列を決定した。転写開始点から上流約 21 キロ塩基対までの DNA 領域を、PCR で増幅した。PTH プロモーター領域の塩基配列を決定した。PTH プロモーター領域の CpG 部位のメチル化状態を、バイサルファイトシーケンシング法で解析した。マイクロアレイ発現解析を施行し、National Center for Biotechnology Information (NCBI) に登録されている GSE6481 の PTH 非産生 MFH 4 症例と比較した。

3 結果

腫瘍を静置した上清中の whole-PTH は高値であった。腫瘍細胞は抗 PTH 抗体により染色された。腫瘍における PTH mRNA 量は、副甲状腺腺腫と同程度のレベルであった。PTH 遺伝子の転写開始点から上流約 21 キロ塩基対までの DNA 領域は、期待される大きさのバンドが増幅された。PTH 遺伝子のコーディング領域、プロモーター領域に変異はなかった。PTH プロモーター領域は、メチル化されていた。PTH プロモーター領域に結合する転写因子 NF-Y β 、Sp3、それらと結合するヒストンアセチル化酵素 p300、CBP、PCAF、さらに PTH mRNA の非翻訳領域に結合し mRNA を安定化する AUF1 と Unr の発現が上昇

していた。

4 考察

臨床経過、免疫染色、qRT-PCR の結果から、PTH の 転写が高まることにより、腫瘍が異所性に PTH を産生したと推論した。発現上昇した Sp3 および NF-Y β タンパク質が PTH 遺伝子のプロモーター領域に結合し、p300/CBP や PCAF のヒストンアセチル化酵素を動員して、クロマチン構造を開いた状態にすることで、PTH 遺伝子の発現が高まったと推察した。さらに、PTH の mRNA の 3' 非翻訳領域に、AUF1 や Unr タンパク質が結合し、PTH の mRNA を安定化することで、PTH の発現上昇に貢献していると推測された。

5 結論

異所性 PTH 産生 MFH を初めて報告した。PTH プロモーター領域に結合する転写因子 NF-Y β 、Sp3、それらと結合するヒストンアセチル化酵素 p300、CBP、PCAF、さらに PTH の mRNA を安定化する AUF1、Unr の発現が増加しており、PTH mRNA の転写促進や安定化が本腫瘍における異所性 PTH 産生に関与していることが示唆された。