

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 adaptive 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

patients with 2 HPT who had undergone parathyroidectomy were analyzed. G-band analysis was performed. For the LOH study, high molecular weight DNA extracted from 42 parathyroid tumors and the peripheral leukocytes of the patients with 2 HPT were analyzed. The microsatellite markers located around the loci of multiple endocrine neoplasia type I (11 q 13), hyperparathyroidism jaw tumor syndrome (1 q 21-32) and the calcium sensing receptor (2 q 21-q 22), were analyzed. Chromosome markers that showed abnormality in the G-band analysis were also analyzed.

Among the 15 tissue samples, the G-band analysis could be completed in thirteen. Seven samples had an abnormality and the other six samples were normal. An increase in chromosome 7 was found in 38% (5/13) and loss of chromosome 22 was noted in 23% (3/13). In the LOH study, 19% (8/42) of the samples showed LOH on the chromosome 22 markers and 7% (3/42) on the chromosome 11 markers.

This study suggests that several chromosomal loci are important for tumor formation. Specifically chromosomes 7 and 22 might play an important role in the tumorigenesis of 2 HPT.

(Accepted on October 17, 2001) *Kawasaki Igakkaishi* 27(4): 315-322, 2001

Key Words ① Secondary hyperparathyroidism ② LOH (Loss of heterozygosity)
③ Tumorigenesis

緒 言

二次性副甲状腺機能亢進症は、維持透析患者における最も一般的な内分泌障害の一つである。この疾患は慢性腎不全状態での低カルシウム血症や高リン血症に対する生理学的反応の結果、引き起こされるものと考えられている¹⁾。しかし、低カルシウム血症や高リン血症に対して、ビタミンDやリン吸着剤などの治療を行っても反応しない二次性副甲状腺機能亢進症症例も認められる。このような難治性もしくは不応性の二次性副甲状腺機能亢進症においては、副甲状腺細胞の自律性増殖が起こっているものと推測されている²⁾。

Arnoldら³⁾は、X染色体の不活化を用いた方法で、腎不全患者の64%において副甲状腺4腺の内、少なくとも一つはモノクローナルな増殖を示している事を報告した。つまり二次性副甲状腺機能亢進症は、従来は生理的反応による過形成と捉えられてきたが、腫瘍増殖性変化も含まれているのではないかと考えられるに至った。原発性副甲状腺腫瘍や副甲状腺腫瘍を併発する多発性内分泌腺腫症I型では、近年の分子生物

学的研究により責任遺伝子が明らかにされようとしている^{4)~7)}。しかし、二次性副甲状腺機能亢進症における副甲状腺過形成および腫瘍性増殖の発症に関与している遺伝子については全く解明されていない。

このような背景から、二次性副甲状腺機能亢進症の副甲状腺組織を用いて、本症の発症に関連する遺伝子を検索すべく、染色体解析ならびに Loss of heterozygosity 解析 (LOH 解析) の手法を用いた細胞遺伝学的検討を行った。

材 料 と 方 法

川崎医科大学附属病院にて、二次性副甲状腺機能亢進症と診断され、副甲状腺摘出術および前腕への自家移植術を受けた維持透析患者を対象とし、以下の解析を施行した。

1. 染色体解析

手術により摘出された15症例15腺 (男性6名、女性9名、平均年齢 50.3 ± 8.5 才・37~68才、平均透析歴 12 ± 3.7 年・5~17年) について検討を行った。摘出された副甲状腺組織はペニシリンとストレプトマイシンを含む DMEM (Dulbecco's modified eagle medium) 液で十分な

Table 1. Summary of the Karyotype of Secondary Hyperparathyroidism

Patient	Karyotype	Age	Sex	Duration of hemodialysis(years)	Weight of the gland (mg)	Intact PTH (pg/ml)	Macroscopic pattern	Number of the analyzed cells
1	57, XX, +5,+5,+6,+7,+9,+11,+12,add(14)(q32),+16,+18,+19,+20	50	F	16	350	873	Nodular	12
2	56, XX, +X,+5,+7,+9,+12,+14,+15,+16,+17,+19,-22	37	F	17	7950	1270	Diffuse	3
3	48, XY, +7,+8	52	M	10	1580	1190	Nodular	3
	47, XY, +7,+8,add(9)(q34),-19							1
	47, XY, +7,+7,+8,-12,-22							1
4	46, XY, add(7)(q32)	49	M	10	1060	970	Nodular	3
5	47, XX, +7,+16,-22	68	F	11	800	2100	Diffuse	1
6	47, XX, +7	47	F	17	800	1140	Nodular	1
	47, XX, +6							1
7	46, XX	46	F	11	1660	1510	Nodular	1
8	46, XX	55	F	12	2230	1210	Nodular	20
9	46, XX	57	F	12	2000	1630	Diffuse	20
10	46, XX	68	F	16(5)*	2100	737	Diffuse	20
11	46, XY	45	M	15(9)*	3070	2166	Nodular	20
12	46, XY	48	M	5	1940	1700	Nodular	10
13	46, XY	49	M	13	460	1510	Diffuse	8
14	Failed	42	F	5	3030	2360	Nodular	-
15	Failed	42	M	10	2630	673	Diffuse	-

All karyotypes are determined by G-band staining.

*: Patient 10 and 11 are recurrent hyperparathyroidism, the number in parenthesis indicates the duration between the two operations.

洗浄を行い、0.1%コラゲナーゼ (type I) を添加し37℃で30～60分反応させ、細胞懸濁液化し、洗浄後遠心を行い細胞を精製した。集められた細胞は10% FCS (Fetal calf serum) 添加のDMEM液により37℃で7～10日培養され、コロニーの成長を確認後に0.02 mg/ml colcemid で4～6時間処理後標本を作製した。

染色体分析はG-band法により行った⁸⁾。検索細胞数は1～20個 (Table 1) であった。染色体異常の決定は少なくとも2つの細胞に構造異常または過剰染色体を認めるか、あるいは、少なくとも3つ以上の細胞に欠失染色体を認めるというISCN (International System for Human Cytogenetic Nomenclature) の判定基準に基づいて行われた⁹⁾。

2. LOH (Loss of heterozygosity) 解析

手術により摘出された22症例、42腺 (男性9名、女性13名、平均年齢50.3±8.0才・37～68才、平均透析歴11.5±4.0年・4～17年) について検討を行った。Genomic DNAは、摘出副甲状腺を液体窒素にて凍結後破碎し、Proteinase K添加後、フェノール・クロロホルム法を用い抽出、精製された。正常コントロールとして、同一患者から採血し溶血後に遠心にて回収された末梢血白血球からフェノール、クロロホルム法でDNAを抽出、精製した。抽出した副甲状腺あるいは末梢血白血球由来のDNAを鋳型に用いて、下に記すMicrosatellite

marker部位でのPCR産物を用いてLOH解析を行った。γ-³³P ATPをT4 Kinaseにて5'-end label法により標識したPrimerを用いてPCRを行った。5%ポリアクリルアミドゲル上で電気泳動し、乾燥後デジタルイメージングシステム (Bio-imaging analyzer Bas 2000, Fuji inc., Japan) にて解析を行った。

原発性、家族性副甲状腺腫瘍の責任遺伝子部位の近傍、および今回の染色体検査で異常を多く認めた染色体を候補遺伝子部位としてLOH解析を行った。用意されたマーカーは、D1S103, D1S549 (Hyperparathyroid Jaw tumor syndrome: 顎骨の嚢胞性腫瘍を合併する稀な遺伝性副甲状腺機能亢進症、遺伝子部位1q21-31¹⁰⁾), D11S916, D11S904, D11S876 (多発性内分泌腺腫症I型: 遺伝子部位11q13), D12S372, D3S392, D3S379 (Vitamin D receptor gene: 遺伝子部位12q¹¹⁾), D3S1769, D3S1269 (calcium sensing receptor: 遺伝子部位3q21¹²⁾), および今回の染色体検査で欠失を認めた12, 19, 22番染色体上のマーカー (D12S372, D12S397, D19S247, D19S433, D22S12RB, D22S270, D22S683, D22S685, D22S345) である。

LOHは白血球由来のDNAと比較して、組織由来のDNAを用いたPCR産物で片方のAlleleの濃度が50%以上低下しているか全く観察されない場合をLOHありと判定した。また白血球由来のDNAで、homozygosityを示したものは、

A

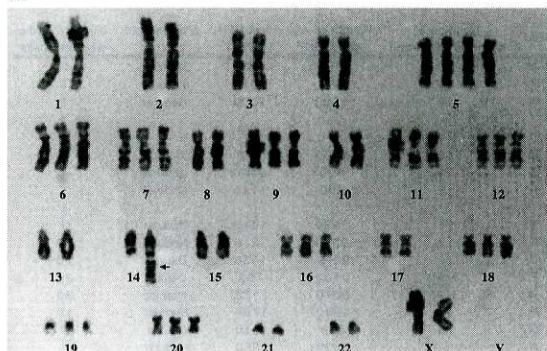
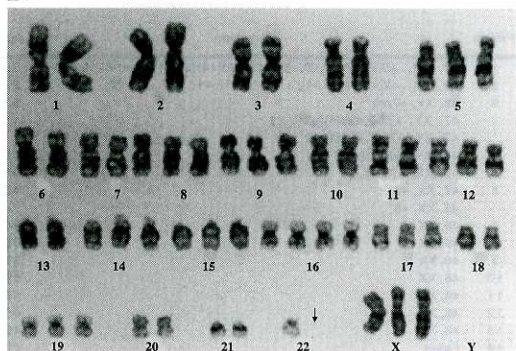


Fig. 1. G-banded karyogram of parathyroid tumors

A: G-banded karyogram of patient 1 in Table 1. Arrow shows additional chromosomal component attached to chromosome 14.

B



B: G-banded karyogram of patient 2 in Table 1. Arrow shows monosomy of chromosome 22.

Not informative と判定した。

3. 摘出副甲状腺組織像と染色体解析及び LOH 解析の相関

摘出副甲状腺組織の病理組織像(過形成, 腺腫)及び肉眼所見(びまん性, 結節性)を以下の組織診断基準に従い分類した。

〈組織診断基準〉

過形成: 充実性索状または濾胞状に増殖する正常主細胞主体の結節性病変。

腺腫: 1つの副甲状腺の腫大である。

主細胞様細胞が充実性索状に増殖している病変。

増殖病変の辺縁に正常副甲状腺の圧排, 萎縮像を伴うもの。

びまん性: 均一に腫大した副甲状腺組織。

結節性: 比較的大きく, 腫大した副甲状腺組織内に結節性病変を認めるもの。

更に過形成と診断したものは構成細胞により3群, A: 主細胞が増生しているもの, B: 主細胞の増生に水様明細胞の混在するもの, C: 主細胞の増生に好酸性細胞の混在するものに分類した。病理組織像および肉眼所見分類した群と染色体異常, LOH を認めたものを χ^2 検定で比較検討した。

結 果

1. 染色体解析

15症例中, 13腺が解析可能であった。解析可能例において, 6腺で何らかの異常が見られ, 7腺は正常であった。

今回認められた異常を Table 1 に示した。染色体数の増加を約半数に認めた。年齢, 性別, 透析期間, 副甲状腺重量, intact PTH 値と染色体異常との関連は認めなかった。また Figure 1 に2症例の染色体分析の結果を示す。ISCN の判定基準を満たさなかったものの, 多くの副甲状腺で様々な染色体上に多様な異常を認めた。しかし今回の検討では全てに共通した染色体異常は観察されなかった。

しかしその中でも, 第7番染色体のトリソミーが多く認められ (38%), 第22番染色体のモノソミーもいくつかの副甲状腺で共通して認められた (23%)。第12, 19染色体のモノソミーも観察された (6.7%)。これらの異常のほかに, トリソミーやさらにそれ以上の染色体数の増加が多くの副甲状腺において認められた。原発性副甲状腺腺腫で報告のある11番染色体の re-arrangement [inv(11) (p15; q13)]¹³⁾ は認めなかった。

2. LOH 解析

Table 2. Summary of the LOH study of Secondary Hyperparathyroidism

Sample Number:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
	a	b	a	b	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	a	b	c
Hyperparathyroidism Jaw tumor syndrome Chromosome 1 (1q31)																						
Microsatellite Markers																						
D1S103 (1q21-31)																						
D1S549 (1q)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Multiple Endocrine Neoplasia type I (MEN I) Chromosome 11 (11q13)																						
D11S916 (11q13)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
D11S904 (11q13)																						
D11S876 (11q14-q21)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Calcium sensing receptor Chromosome 3 (3q21)																						
D3S1769 (3q13-21)																						
D3S1269 (3q13-21)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Vitamin D receptor Chromosome 12 (12q)																						
D12S372 (12p ter)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
D12S392 (12q24-q ter)																						
D12S379 (12q)																						

Candidate loci and used microsatellite markers are listed left side.
 Samples list upper row, a-b are different parathyroid tissues from the same patient.
 The normal control (WBC DNA) which showed homozygote was considered as a not informative.

■ : LOH(Loss of heterozygosity)
 □ : No LOH
 N : Not informative

Table 3. Summary of the LOH study of Secondary Hyperparathyroidism in chromosome 12, 19 and 22

Sample Number:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
	a	b	a	b	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	a	b	c
Chromosome 12																						
D12S372 (3p)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
D12S397 (3q)																						
Chromosome 19																						
D19S247 (19p)																						
D19S433 (19q)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Chromosome 22																						
D22S12RB (22q12)																						
D22S270 (22q13)																						
D22S683 (22q)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
D22S685 (22q11.2)	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
D22S345 (22q11)																						

Microsatellite markers of chromosome 12, 19 and 22 are examined.
 Samples list upper row, a-b are different parathyroid tissues from the same patient.
 The normal control (WBC DNA) Which showed homozygote was considered as a not informative.

■ : LOH(Loss of heterozygosity)
 □ : No LOH
 N : Not informative

22症例42腺を対象に行った。

結果を Table 2, 3 に示し、結果の一部を Figure 2 に示した。Figure 2 に示すように、正常コントロールの DNA では、2つの Allele を認めるが、罹患副甲状腺組織 DNA では片方の Allele の欠失が見られた。

副甲状腺腫瘍の責任遺伝子の近傍のマーカーによる解析では、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においてのみ、3腺 (7%, 3/42) で LOH を認めた (Table 2)。染色体解析の結果から、モノソミーを認めた12, 19, 22番染色体上のマーカーの解析からは、8腺 (19%, 8/42) において、22番染色体上のマーカーで LOH を認めた (Table 3)。

第22番染色体上の5つのマーカーでの LOH の分布は、全てのマーカーに LOH が見られる

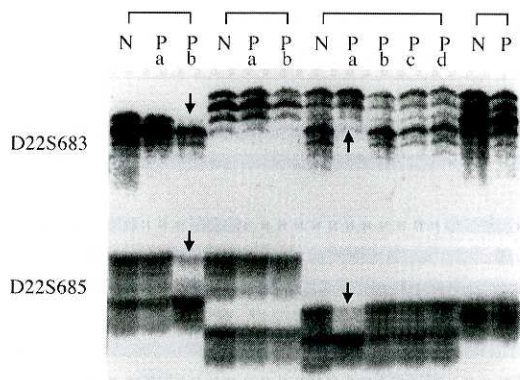


Fig. 2. Allelotyping of parathyroid tumors (LOH study)
Results of two microsatellite markers on chromosome 22 (D 22S683, D 22S685) are shown. Arrows show loss of heterozygosity, loss of one allele band.
N : Normal control (WBC), P : Parathyroid tissue, a-d : Different parathyroid tissues from the same patient.

LOHの有無との間に何らかの関連を見い出せなかった。

考 察

腎不全に合併する副甲状腺機能亢進症には細胞外カルシウム濃度の低下、リンの蓄積、活性型ビタミンDの欠乏やビタミンDレセプターの減少が発症に関与している¹⁾。副甲状腺細胞は分裂を繰り返し当初は polyclonal にびまん性に増殖し、そのうち一部になんらかの somatic mutation が起こり、その細胞が monoclonal な結節を形成し、副甲状腺腫瘍に置き換わり進展すると考えられている²⁾。Arnold ら³⁾は、二次性副甲状腺機能亢進症の細胞が、monoclonal に増殖していることを報告している。今回我々が LOH を認めたということは、monoclonal な変化を起こしていることの傍証であり、当初は内科的治療に反応するが、さらに進展すると奏効しなくなるという臨床経過を説明し得るものと思われる。

今回の染色体解析では多様な変化を認めたが、副甲状腺組織の増殖能とどれだけ関係しているかは不明である。今回の結果から第7, 22番染色体の変化を高頻度に認め、二次性副甲状腺機能亢進症に特徴的である可能性が推測された。第11番染色体の短腕には PTH 遺伝子がコードされており、原発性副甲状腺腫瘍ではその部分

傾向（全染色体型）と、染色体の一部のマーカーに LOH が見られる傾向（部分的欠失）が認められた。しかし、全てにオーバーラップする領域は認められなかった。

3. 摘出副甲状腺組織像と染色体解析及び LOH 解析の相関

摘出副甲状腺組織の病理組織学的診断は、全て副甲状腺過形成であった。病理組織像および肉眼所見分類と染色体異常、LOH を認めたものとの比較を Table 4 に示した。Arnold ら³⁾は、Monoclonal であった副甲状腺の肉眼所見との相関を見たが有意差を認めなかった。本研究でも病理組織像及び肉眼所見分類と染色体異常、

Table 4. Comparison of pathological diagnosis and LOH, Chromosomal analysis

	LOH analysis	
	All	LOH (+)
A	17	2
B	15	5
C	10	3

p=0.4773

	Chromosomae analysis	
	All	Abnormality (+)
A	5	3
B	4	1
C	6	2

p=0.7624

A: Chief cell hyperplasia
B: Chief cell hyperplasia with watery clear cell
C: Chief cell hyperplasia with oxyphilic cell

	LOH analysis	
	All	LOH (+)
D	12	3
N	30	7

p=0.9286

	Chromosomae analysis	
	All	Abnormality (+)
D	6	2
N	9	4

p=0.7763

D: Diffuse hyperplasia
N: Nodular hyperplasia

p = p value of χ^2 test

を含む rearrangement が報告されているが¹³⁾、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 theory¹⁴⁾）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^{15), 16)}。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¹⁷⁾。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^{18), 19)}。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、堅村信介前講師（現三重大学）、佐々木環助教授、福島達夫講師、辻田佐和子女士、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 bcl1-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, Maniccam 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, Drueke 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 $\text{Ca}(2+)$ -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