

1.6 Intrakrine, parakrine und autokrine Funktionen des PTH/PTHrP-Systems

KLAUS-DIETER SCHLÜTER und GÜNTER ROSS

Inhaltsverzeichnis

1.6.1	Die Parathormon-Familie: Komponenten des PTH/PTHrP-Systems	133	1.6.2.1	PTH-assoziierte Krankheitsformen	142
1.6.1.1	PTHrP: Historischer Abriss	133	1.6.2.2	PTHrP-assoziierte Krankheitsformen	142
1.6.1.2	Expression, Freisetzung und molekularer Aufbau von PTHrP	134	1.6.2.3	TIP39-assoziierte Krankheitsformen	143
1.6.1.2.1	Molekularer Aufbau des Gens	134	1.6.3	Molekulare Grundlagen der PTHrP-assoziierten Krankheitsbilder	143
1.6.1.2.2	Regulation der Expression	135	1.6.3.1	PTHrP-bildende Tumore	143
1.6.1.2.3	Regulation der Freisetzung	135	1.6.3.2	Pulmonale Defekte	145
1.6.1.2.4	Gewebsspezifische Expression	136	1.6.3.3	Kardiovaskuläre Dysfunktionen	146
1.6.1.3	Molekularer Aufbau und Wirkmechanismen der Rezeptoren	137	1.6.3.4	Präeklampsie	148
1.6.1.3.1	PTH1-Rezeptor	137	1.6.3.5	Schuppenflechte	149
1.6.1.3.2	PTH2-Rezeptor	139	1.6.3.6	Krankheitsauslösende Mutationen des PTH/PTHrP-Rezeptor-Gens	149
1.6.1.3.3	PTH3-Rezeptor	139	1.6.4	Therapeutische Ansätze	151
1.6.1.3.4	C-terminaler PTH-Rezeptor und Rezeptoren für mittregionale Fragmente	139	1.6.5	Diagnostische Aspekte	151
1.6.1.4	Intrakrine Wirkungsweise des PTHrP	140	1.6.6	Ausblick	152
1.6.1.5	Transgene Tiermodelle	141	1.6.7	Literatur	152
1.6.2	Krankheitsbilder	141			

1.6.1 Die Parathormon-Familie: Komponenten des PTH/PTHrP-Systems

Im vorliegenden Kapitel werden intrakrine, autokrine und parakrine Wirkungen des PTH/PTHrP-Systems beschrieben. Dabei handelt es sich um eine Peptidfamilie, der derzeit drei Peptide/Proteine zugerechnet werden. Dies sind das Hormon der Nebenschilddrüse, Parathormon („parathyroid hormone“, PTH), das PTH-verwandte Protein („parathyroid hormone-related protein“, PTHrP) und das Tuberoinfundibularpeptid bestehend aus 39 Aminosäuren (TIP39). Die Peptide dieser Familie haben zwar strukturelle Gemeinsamkeiten, üben aber im Körper spezifische Funktionen aus. Ein großer Unterschied zwischen dem namensgebenden Peptid der Familie, PTH, und den beiden strukturverwandten Proteinen PTHrP und TIP39 ist, dass PTHrP und TIP39 hauptsächlich auto-, para- oder intrakrin wirken, wohingegen die PTH-Effekte vorwiegend endokriner Natur sind. Es versteht sich deshalb von allein, dass ein Beitrag über parakrine und au-

tokrine Wirkungen im Wesentlichen das PTHrP behandelt, welches nahezu ubiquitär exprimiert wird.

Über TIP39, ein Neuropeptid, welches 1999 erstmals aus dem Hypothalamus von Rindern isoliert wurde, ist zur Zeit noch recht wenig bekannt. Es ist im zentralen Nervensystem an der Steuerung der hypothalamisch-hypophysalen Achse und an der Nozizeption beteiligt (Usdin et al. 2003). Des Weiteren wird es als lokaler Vasodilatator im Gefäßbett der Niere (Eichinger et al. 2002) und als Modulator der Kontraktilität des Herzens beschrieben (Ross et al. 2005). Da bisher wenig über dieses neue Peptid bekannt ist und vor allem seine klinische Relevanz noch erforscht werden muss, wird im Weiteren auf TIP39 nicht ausführlich eingegangen werden.

1.6.1.1 PTHrP: Historischer Abriss

In den 20er Jahren des vergangenen Jahrhunderts wurde erstmals eine Hyperkalzämie beschrieben, welche bei Patienten im Zusammenhang mit Tu-

morerkrankungen auftrat (Zondek et al. 1924; Gutman et al. 1936). Dieses Krankheitsbild, genannt maligne Hyperkalzämie, ist eines der häufigsten endokrinen paraneoplastischen Syndrome. Etwa 40% aller auftretenden Hyperkalzämien beruhen darauf (Meyer-Heim u. Stäubli 2002). Die maligne Hyperkalzämie wurde ursprünglich auf lokale osteolytische Prozesse zurückgeführt, welche bei Knochenmetastasen durch osteoklastenaktivierende Zytokine ausgelöst werden („local osteolytic hypercalcaemia“; LOH). Gegen diese Annahme sprachen allerdings das Auftreten von malignen Hyperkalzämien auch bei Patienten, welche keine Knochenmetastasen ausgebildet hatten (Gellhorn u. Plimpton 1956), und das Verschwinden der Symptomatik nach Entfernung eines knochenfernen Primärtumors. Eine weitere Hypothese ging davon aus, dass dem Krankheitsbild der malignen Hyperkalzämie ursächlich ein ektopter Hyperparathyroidismus zugrunde liegt (Fuller 1941) und es sich bei dem humoralen Faktor um PTH handeln würde. Diese These wurde von Untersuchungen gestützt, bei welchen Extrakte aus den Tumoren, die mit maligner Hyperkalzämie einhergehen, in einer PTH-sensitiven Zelllinie die biologischen Effekte des PTH imitierten (Stewart et al. 1983). Im selben Jahr wurde die Expression von PTH-mRNA in Tumoren mit maligner Hyperkalzämie untersucht. Es konnte jedoch keine PTH-Expression nachgewiesen werden (Simpson et al. 1983). Damit konnte eine Beteiligung von PTH an der malignen Hyperkalzämie ausgeschlossen werden.

Im Jahre 1987 gelang es schließlich drei Arbeitsgruppen unabhängig voneinander, aus verschiedenen Tumorzelllinien ein Protein zu isolieren, welches die PTH-Effekte an Niere und Knochen zu imitieren vermochte (Burtis et al. 1987, Moseley et al. 1987, Strewler et al. 1987). Ursprünglich wurden verschiedene Bezeichnungen für diese Proteine verwendet, wie „human adenylate cyclase-stimulating protein“, „humoral hypercalcaemia of malignancy-(HHM)-factor“ oder „parathyroid hormone-like protein (PTH-IP)“. Seine Eigenschaften und die hohe strukturelle Homologie im N-terminalen Bereich des Proteins gegenüber PTH führten schließlich zu der heute verwendeten Namensgebung. Diese Peptide werden nunmehr als „parathyroid hormone-related protein“ (PTHrP) bezeichnet. Wir verwenden in diesem Kapitel die Bezeichnung PTHrP und schlagen vor, dies auch zur Vermeidung von Missverständnissen in der deutschsprachigen Literatur so zu übernehmen.

Wie im Folgenden eingehender dargestellt, wird PTHrP zum Teil in Form von proteolytischen Teil-

peptiden mit biologischer Aktivität freigesetzt. Für das C-terminale Peptid (Aminosäuren: 107–139) wird auch das Synonym Osteostatin verwendet, aufgrund der stimulierenden Wirkung auf die Knochenresorption. Inzwischen konnten die Gene, die beim Menschen, der Ratte und der Maus für PTHrP kodieren, identifiziert werden (Hendy et al. 1988, 1990; Suva et al. 1989).

1.6.1.2 Expression, Freisetzung und molekularer Aufbau von PTHrP

1.6.1.2.1 Molekularer Aufbau des Gens

PTH und PTHrP wirken beide kalzitrop aufgrund ihrer großen strukturellen Homologie im N-terminalen Bereich. Trotz der strukturellen Ähnlichkeit sind beide Peptide ein Produkt verschiedener Gene, die auf unterschiedlichen Chromosomen lokalisiert sind. Bei allen bisher untersuchten Spezies besitzt das PTHrP-Gen (Mensch: kurzer Arm von Chromosom 12) eine wesentlich komplexere Struktur als das PTH-Gen (Mensch: kurzer Arm von Chromosom 11) (Abb. 1.6.1). Beide Gene scheinen phylogenetisch einen gemeinsamen Ursprung zu haben. Das PTHrP-Gen des Menschen besteht aus insgesamt neun verschiedenen Exons. Daraus ergibt sich die Möglichkeit von bis zu zwölf unterschiedlichen Transkripten und von drei unterschiedlich großen, initialen Translationsprodukten. Der endständigen 3'-mRNA-Region kann kein Translationsprodukt zugeordnet werden. Es wird vermutet, dass diese Region nicht translatiert wird, sondern für einen schnellen Abbau der mRNA sorgt, da in diesem Segment die Nukleotidsequenz „AUUUU“ sehr häufig vorkommt. Diese Sequenz führt bei anderen mRNA zu einem beschleunigten Abbau. Für die PTHrP-mRNA kann eine Halbwertszeit von 30 min bis zu 3 h angegeben werden. Diese große Zeitspanne kann dadurch erklärt werden, dass einige Faktoren, wie beispielsweise „transforming growth factor $\beta 1$ “ (TGF- $\beta 1$), die Halbwertszeit der PTHrP-mRNA beeinflussen (Sellers et al. 2004 b). Das PTHrP-Gen beinhaltet drei unterschiedliche Promoterregionen (P1–P3). P1 und P3 besitzen TATA-Box-ähnliche Sequenzen, während es sich bei P2 um einen GC-reichen Promoter handelt (Southby et al. 1995; Richard et al. 2003). Eine strenge Korrelation zwischen dem verwendeten Promotor und der entstehenden PTHrP-Isoform scheint jedoch nicht zu existieren. Wahrscheinlich spielt hier die Rekrutierung verschiedener Transkriptionsfaktoren eine wichtigere Rolle als die Verwendung der unterschiedlichen Promotoren.

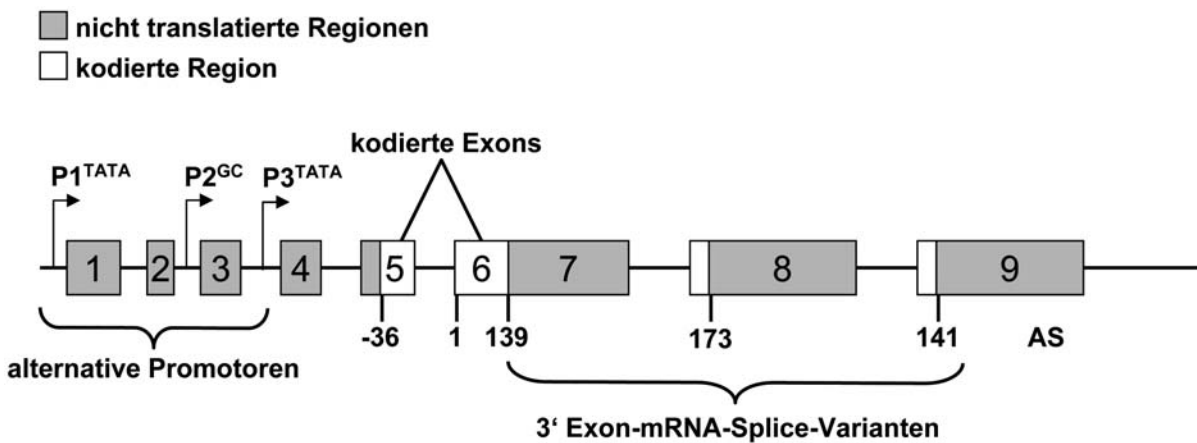


Abb. 1.6.1. Aufbau des menschlichen PTHrP-Gens. Der komplexe Aufbau des Gens enthält 9 nichttranslatierte Abschnitte (Exons). Vor dem ersten Exon und nach dem zweiten und dritten Exon befinden sich drei Promotoren, die

unabhängig voneinander genutzt werden können. Durch Splicen entstehen drei unterschiedlich lange Transkriptionsprodukte, die für unterschiedlich lange Peptidketten kodieren

1.6.1.2.2 Regulation der Expression

Die genaue Regulation der PTHrP-mRNA-Expression wird zur Zeit noch intensiv erforscht. In vielen Zellen scheint TGF- β 1 daran beteiligt zu sein. In koronaren Endothelzellen reguliert TGF- β 1 die Expression herab (Wenzel et al. 2001), dagegen wird die Expression in Keratinozyten, sich entwickelnden Chondrozyten oder beim Ovarialkarzinom durch TGF- β 1 heraufreguliert (Pateda et al. 2000; Werkmeister et al. 1998; Yasui et al. 1997). Wahrscheinlich spielt eine noch nicht im Detail charakterisierte Interaktion zwischen Transkriptionsfaktoren und der Verwendung der drei genannten Promotoren eine entscheidende Rolle. Neben TGF- β 1 wurden weitere Regulationsmechanismen identifiziert, über welche die Expression des PTHrP beeinflusst wird (Tabelle 1.6.1). Die Expression von PTHrP auf Proteinebene hängt allerdings nicht ausschließlich von der Transkription ab, sondern wird durch posttranslationelle Modifikationen beeinflusst. Dazu gehören Glykosylierungen, Phosphorylierungen und proteolytische Spaltung.

1.6.1.2.3 Regulation der Freisetzung

Die Freisetzung von PTHrP erfolgt gewebspezifisch oder zellspezifisch und ist dabei entweder konstitutiv oder induzierbar. Konstitutiv wird es von einer Reihe von Zellen freigesetzt, beispielsweise von vaskulären Glattmuskelzellen, Hepatozyten, Osteoblasten, Keratinozyten, Chondrozyten und renalen Tubuluszellen, um hier nur einige zu nennen. In neuroendokrinen Zellen, wie dem Pan-

Tabelle 1.6.1. Endogene und exogene Regulation von PTHr

Regulationsmechanismen	Referenz
<i>Stimulatorisch</i>	
Angiotensin II	Pirola et al. 1993
Kalzium	Zajac et al. 1989; Hellmann et al. 1992; Tanaka et al. 2005
cyclo-AMP	Chilco et al. 1998
Cycloheximid	Ikeda et al. 1990; Allinson u. Drucker 1992
1,25-Dihydroxyvitamin D ₃	Kremer et al. 1991
Epidermal growth factor	Heath et al. 1995
Östrogen	Casey et al. 1993; Grohé et al. 2004
Interleukin-2	Ikeda et al. 1993
Prolaktin	Thiede 1989
Mechanische Dehnung	Schordan et al. 2004; Yamamoto et al. 1992
TGF- β 1	Pateda et al. 2000; Werkmeister et al., 1998; Yasui et al. 1997
<i>Inhibitorisch</i>	
TGF- β 1	Wenzel et al. 2001; Law et al. 1994
Testosteron	Liu et al. 1993
Glukokortikoide	Ikeda et al. 1989; Glatz et al. 1994
1,25-Dihydroxyvitamin D ₃	Ikeda et al. 1989
Medroxy-Progesteron-Acetat	Kurebayashi et al 2003

kreas, der Parathyroidea oder aber der Hypophyse, wird seine Freisetzung hauptsächlich durch bestimmte Stimuli induziert. Aber auch in nichtneuroendokrinen Geweben kann seine Freisetzung induziert werden, beispielsweise in koronaren Endothelzellen, bei denen mechanische Stimuli oder ein Absinken des lokalen pO_2 zu einer Freisetzung führen (Degenhardt et al. 2002; Schlüter et al. 2000).

1.6.1.2.4 Gewebsspezifische Expression

Wie bereits oben erwähnt, kann beim Menschen zwischen drei initialen Translationsprodukten unterschieden werden (Abb. 1.6.2), welche aus 139, 141 und 173 Aminosäuren bestehen. Welches dieser Produkte freigesetzt wird, ist gewebespezifisch und wird durch Beteiligung der drei Promotoren vermittelt. Bei der Ratte und der Maus existiert dagegen jeweils nur ein initiales Translationsprodukt (Ratte: 141 Aminosäuren; Maus: 139 Aminosäuren). Diese initialen PTHrP-Isoformen können durch Mitglieder der Prohormon-Convertase-Familie in drei biologisch aktive Fragmente gespalten werden: Ein N-terminales PTHrP(1-36), ein mittregionales PTHrP(38-94) und ein C-terminales PTHrP(107-139). Einem weiteren Fragment (141-173) konnte bisher keine biologische Wirkung zu-

geordnet werden. Jedes der erwähnten Fragmente besitzt unterschiedliche biologische Eigenschaften und agiert über unterschiedliche Rezeptoren. Die Fragmente werden teilweise in glykosylierter Form sezerniert.

Während die Expression von PTH nur für wenige Organe beschrieben ist, neben der primären Bildungsorte Nebenschilddrüse auch Gehirn und Thymus (Günther et al. 2000), wird PTHrP nahezu ubiquitär exprimiert. Des Weiteren wird es nicht nur unter pathophysiologischen Bedingungen von malignen Zellen exprimiert und freigesetzt, sondern auch unter physiologischen Bedingungen von vielen Zellen. So spielt es eine große Rolle während der Embryonalentwicklung, ist aber auch an der Regulation von verschiedenen Prozessen im adulten Organismus beteiligt. Eine Übersicht gibt Tabelle 1.6.2. Von herausragender Bedeutung ist PTHrP für die Skelettentwicklung. PTHrP ist beteiligt an der Regulation von Proliferation und Differenzierung der Chondrozyten und auch an der Regulation der nachfolgenden Mineralisierung und dem Ersatz des Knorpels durch Knochengewebe, der sog. enchondralen Ossifikation (Kap. 5.1). Doch auch außerhalb des Skelettsystems scheint PTHrP an der Regulation der Embryonalentwicklung vieler verschiedener Organe bzw. Organsysteme beteiligt zu sein, wie beispielsweise von Mam-

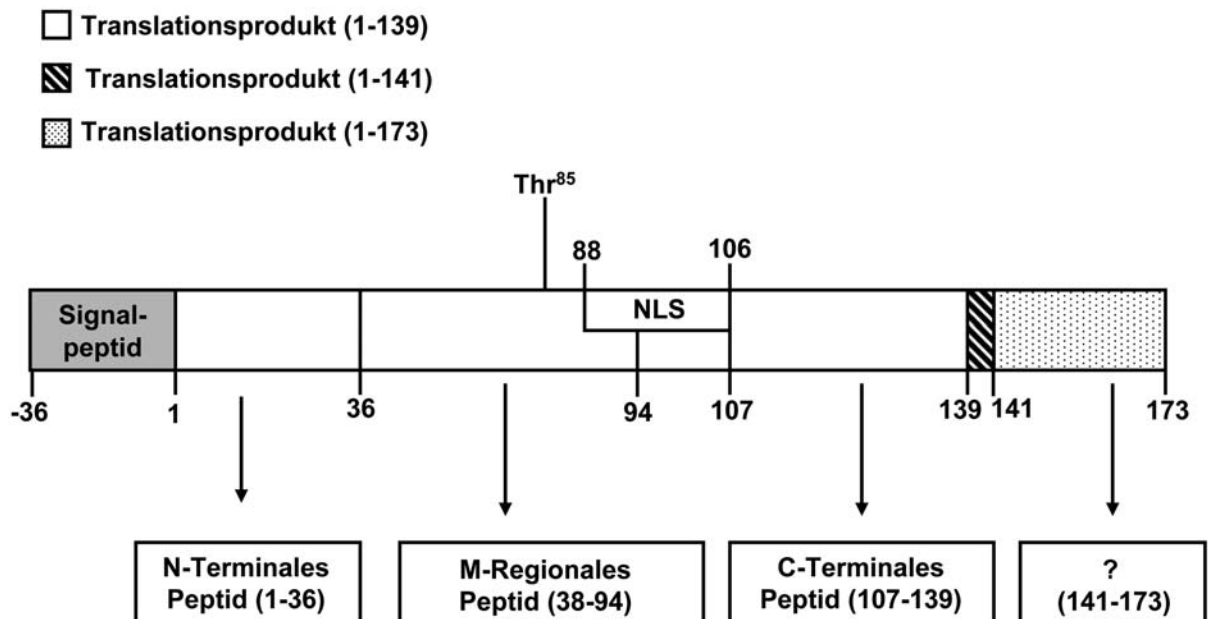


Abb. 1.6.2. Aufbau des PTHrP-Proteins. Durch proteolytische Spaltung können mindestens drei funktionelle Teilpeptide entstehen (N-, M- und C-terminale Peptide). Zwischen Aminosäure 88 und 106 findet sich die für die intrakrine Wir-

kung wichtige NLS-Sequenz. An Position 85 kann das Peptid phosphoryliert werden. Dies dient ebenfalls der intrazellulären PTHrP-Verteilung

Tabelle 1.6.2. Gewebsspezifische Wirkungsmechanismen des PTHrP

Organ	Wirkung	Wirkmechanismus	Referenz
Knorpel	Differenzierung	Intrakrin	Chung et al. 1998; Amizuka et al. 1996; Goomer et al. 2000; Lanske et al. 1998
Knochen	Osteolyse	Parakrin	Caverzasio u. Bonjour 1996; Cuthbertson et al. 1999; Ouyang et al. 2000; Philbrick et al. 1998
Haut/Haare	Differenzierung	Autokrin/parakrin	Foley et al. 1998; Thomson et al. 2003
Glatter Muskel	Relaxation	Autokrin/parakrin	Nickols et al. 1989; Schordan et al. 2004; Francis et al. 2003; Williams et al. 1994; Thiede et al. 1991; Degenhardt et al. 2004; Stuart et al. 2000
Endothel	Apoptosetoleranz	Intrakrin	Schorr et al. 2003
Plazenta	Wachstum	Intrakrin	Wlodek et al. 2004
Herz(-muskel)	Inotropie	Parakrin	Jansen et al. 2003; Schlüter et al. 2000; Hara et al. 1997; Nickols et al. 1989
Brust/Laktation	Chronotropie Ca ²⁺ -Transport in die Milch	Autokrin/endokrin	van Houten et al. 2004; Lippuner et al. 1996
Niere	Kalziumtransport Phosphattransport Renaler Blutfluss	Parakrin	Esbrit et al. 2001
Lunge	Surfactant-Bildung Differenzierung	Autokrin/endokrin	Hastings et al. 2004
Magen-Darm-Trakt	Motilität, Differenzierung	Autokrin	Ito u. Ohtsuru 1996; Cooper et al. 1991; Ye et al. 2001; Botella et al. 1994
Leber	Akut-Phase-Antwort	Parakrin	Funk et al. 1997; Li et al. 1996
Pankreas	Differenzierung	Parakrin	Zhang et al. 2003; Vasavada et al. 1998
Nebenschilddrüse	PTH-Freisetzung	Autokrin	Lewin et al. 2000
Zentralnervensystem	ADH-Freisetzung Blutdruckregulation	Autokrin	Ono et al. 1997; Yamamoto et al. 1997

ma, Lunge, Zähne, kardiovaskulärem System oder Niere (Tucci et al. 1996; Aya et al. 1999; Dunbar u. Wylsolmerski 1999; Torday et al. 1998; MacLean et al. 2004; Calvi et al. 2004; Bui et al. 1993; Mekapiruk et al. 2002; Lee et al. 1995). Rückschlüsse auf die Bedeutung des PTHrP während der Embryonalentwicklung ergeben sich vor allen Dingen aus Untersuchungen an transgenen Tieren (Abschn. 1.6.1.5).

1.6.1.3 Molekularer Aufbau und Wirkmechanismen der Rezeptoren

Bis heute sind drei PTH/PTHrP-Rezeptoren bekannt: der PTH1-Rezeptor (PTH1R), der PTH2-Rezeptor (PTH2R) und der PTH3-Rezeptor (PTH3R). Außerdem gibt es Hinweise für die Existenz eines C-terminalen Rezeptors (CPTHR, Divieti et al. 2004). Bisher konnte allerdings noch kein Rezeptor für die mittregionalen Abschnitte identifiziert werden.

1.6.1.3.1 PTH1-Rezeptor

Der PTH1-Rezeptor, auch als PTH/PTHrP-Rezeptor in der Literatur bezeichnet, wurde erstmals Anfang der 90er Jahre kloniert (Juppner et al. 1991). Sowohl PTH(1–34) als auch PTHrP(1–36) können an diesen Rezeptor mit sehr hoher Affinität binden und diesen auch aktivieren. Die EC₅₀ liegt für beide Substanzen im nanomolaren Bereich. Beide Peptide, PTH und PTHrP, weisen innerhalb der ersten 13 Aminosäuren eine sehr große Homologie auf, so sind 8 davon identisch. Die Regionen 15–34 zeigen nahezu keine Homologie in der Primärstruktur. Hier sind nur noch 3 Aminosäuren identisch. Trotzdem ist diese Region sehr wichtig, da sie die Bindungsdomäne für den PTH1R beinhaltet. In diesem Bereich besitzen beide Peptide eine amphiphile α -Helix mit einem hydrophoben Bereich. Dieser hydrophobe Bereich ist für eine Rezeptorbindung verantwortlich. Somit kann angenommen werden, dass beide Bindungsdomänen eine ähnliche Konformation besitzen (Caulfield et al.

Bei wiederholter Aktivierung des Rezeptors durch PTH oder PTHrP ist eine Desensitivierung des Rezeptors zu beobachten. Nach Anlagerung des Proteins β -Arrestin ist zuerst die Inaktivierung des Rezeptors mit anschließender Sequestrierung und Internalisierung zu beobachten (Villardaga et al. 2001). Für die Internalisierung selbst scheint auch eine Aktivierung des Rezeptors benötigt zu werden. Das bedeutet eine Aktivierung des PKC- und des PKA-Signal-Wegs (Sneddon et al. 2004). Nicht in allen Zellen scheint eine Aktivierung des Rezeptors für die Endozytose des Rezeptors nötig zu sein. Des Weiteren weisen Ergebnisse mit dem synthetischen Teilpeptid PTH(1–31), welches beide Signalwege aktiviert, aber keine Internalisierung des Rezeptors induziert, daraufhin, dass Aktivierung und Internalisierung vollkommen unabhängig voneinander sein können (Sneddon et al. 2004). Möglicherweise könnte diese Kontroverse dadurch aufgeklärt werden, dass der Vorgang zellspezifisch ist. So konnte gezeigt werden, dass PTH(7–34), welches an den Rezeptor zwar hochaffin bindet, diesen jedoch nicht aktiviert, zelltypabhängig eine Internalisierung induziert. Der Beginn der Internalisierung ist etwa 6–7 min nach Zugabe des Agonisten zu beobachten. Nach 15 min sind 50% aller Rezeptoren internalisiert.

1.6.1.3.2 PTH2-Rezeptor

Der PTH2-Rezeptor wurde 1995 von der Arbeitsgruppe um Ted Usdin auf der Suche nach einem neuen Klasse-II-G-Protein-gekoppelten Rezeptor im Zentralnervensystem entdeckt. Dieser Rezeptor besitzt in seiner Primärstruktur eine 51%ige Homologie zu PTH1R. Wie auch PTH1R wird er in einer Vielzahl von Geweben bzw. Organen exprimiert (Usdin et al. 1996), wobei seine Expression im Zentralnervensystem besonders hoch ist. PTHrP kann an diesen Rezeptor weder binden noch ihn aktivieren. PTH kann zwar an den humanen PTH2-Rezeptor binden und diesen auch aktivieren, doch scheint sein natürlicher Ligand TIP39 zu sein. Dafür spricht, dass TIP39 die rezeptorvermittelte cAMP-Produktion wesentlich potenter stimulieren kann als PTH. Den PTH2-Rezeptor der Ratte vermag PTH sogar kaum zu aktivieren (Hoare et al. 1999). Des Weiteren wird der PTH2-Rezeptor im Zentralnervensystem in vielen Gebieten exprimiert, aufgrund der Blut-Hirnschranke ist dort allerdings kaum PTH zu finden. Auch dies gilt als Indiz dafür, dass TIP39 der natürliche Ligand des PTH2R ist. Studien zeigten, dass die Aminosäure an Position 5 für die Ligan-

denselektivität des humanen PTH2R sorgt. An dieser Position steht ein Histidin beim PTHrP, aber ein Isoleuzin beim PTH (Behar et al. 1996). TIP39 weist im Vergleich von PTH zu PTHrP eine wesentlich geringere Homologie in seiner Aminosäuresequenz zu diesen beiden Peptiden auf. So sind nur 5 Aminosäuren zwischen TIP39 und den Peptiden PTH(1–40) und PTHrP(1–39) identisch.

Für diesen Rezeptor ist neben einer Stimulierung des cAMP-Signal-Wegs, auch ein rezeptorvermittelter Anstieg der zytoplasmatischen Ca^{2+} -Konzentration und eine Aktivierung des PLC/PKC-Signal-Wegs beschrieben (Della Penna et al. 2003). Im Weiteren soll auf diesen Rezeptor nicht weiter eingegangen werden, da dieser nicht von PTHrP aktiviert werden kann und pathophysiologische Dysregulationen zur Zeit nicht bekannt sind. Für weitergehende Informationen siehe Usdin et al. 2002.

1.6.1.3.3 PTH3-Rezeptor

Ein dritter PTH-Rezeptor konnte bisher nur beim Zebrafisch nachgewiesen werden (Rubin u. Juppner 1999). Dieser Rezeptor besitzt eine 69%ige Homologie zu dem PTH1R des Zebrafisches. PTHrP kann über den PTH3R den cAMP-Signal-Weg wesentlich potenter aktivieren als PTH. Eine Aktivierung des PLC-Signal-Wegs ist für den PTH3R bisher noch nicht beschrieben. Obwohl PTHrP an Zielzellen von Säugetieren spezifische Effekte ausübt, die nicht von PTH imitiert werden können, also ein ligandenspezifisches Profil zeigten, das dem des PTH3R entspricht, konnte eine Expression dieses Rezeptors in Säugetieren nie nachgewiesen werden.

1.6.1.3.4 C-terminaler PTH-Rezeptor und Rezeptoren für mittregionale Fragmente

In Seren vieler verschiedener Spezies konnte man relativ hohe Konzentrationen von C-terminalen PTH-Fragmenten nachweisen, die jedoch nicht mit dem PTH1R interagieren. Für dieses C-terminale PTHrP-Peptid wird auch das Synonym Osteostatin verwandt. Osteostatin ist an der Regulation der osteoklastenvermittelten Knochenresorption beteiligt. Zur Bindung an den skelettalen CPTHr scheinen drei verschiedene Sequenzabschnitte von Bedeutung zu sein, die Aminosäurereste 25–27, 53+54 sowie 57,65+72 (Divieti et al. 2004). Diese Reste sind innerhalb der PTH-Sequenz der Säugetiere sehr stark konserviert. Neben diesem skelettalen CPTHr scheinen auch noch andere, eventuell organspezifische C-terminal-spezifische PTH-Rezep-

toren zu existieren. Über den strukturellen Aufbau dieser Rezeptoren und ihre angekoppelten Signalwege ist bisher noch sehr wenig bekannt. In-vitro-Daten lassen vermuten, dass innerhalb des Knochenstoffwechsels der klassische PTH1R und der CPTH1R gegensätzliche Wirkungen besitzen.

Aufgrund des Vorkommens von biologisch aktiven mittregionalen PTHrP-Fragmenten kann vermutet werden, dass für diese Teilpeptide auch entsprechende Rezeptoren existieren, da diese Peptide nicht in der Lage sind, mit dem klassischen PTH1R zu interagieren. Beispielsweise scheinen mittregionale Peptide an der Regulation des Kalziumstoffwechsels des Fetus beteiligt zu sein (Care et al. 1990). Allerdings sind bisher noch keine Rezeptoren für dieses Fragment bekannt. Dies gilt auch für Rezeptoren, die Wirkungen des PTH/PTHrP im zentralen Nervensystem vermitteln (Yamamoto et al. 1997).

1.6.1.4 Intrakrine Wirkungsweise des PTHrP

Unter physiologischen Bedingungen ist kaum PTHrP im Blut nachweisbar ($< 1,3$ pmol/l). Eine

Ausnahme stellt die Laktationsphase dar, da während dieser auch höhere PTHrP-Blutspiegel detektierbar sind. Ansonsten sind systemisch erhöhte PTHrP-Spiegel Anzeichen pathophysiologischer Ereignisse.

Da, wie oben bereits erwähnt, PTHrP als zirkulierendes Agens kaum eine Rolle spielt, entfaltet PTHrP seine rezeptorvermittelten Effekte hauptsächlich durch eine lokal beschränkte Freisetzung. Nach der Sekretion bindet PTHrP an den jeweiligen Rezeptor und aktiviert verschiedene Signalwege. Durch Internalisierung des Rezeptors gelangt PTHrP aber auch ins Zytosol und kann dann in den Kern transportiert werden (Abb. 1.6.4). Auch endogen gebildetes PTHrP kann ohne vorherige Sekretion eine intrakrine Wirkung entfalten.

Innerhalb der letzten Dekade wurden biologische PTHrP-Wirkungen nachgewiesen, welche nicht über einen Rezeptor an der Zelloberfläche vermittelt werden, sondern auf intrakrinen Mechanismen vermittelt durch eine Kerntranslokation des PTHrP beruhen. So konnte gezeigt werden, dass nukleäres PTHrP in Chondrozyten das Auftreten von Apoptose verzögert (Henderson et al. 1995). PTHrP besitzt zwei Kernlokalisationsse-

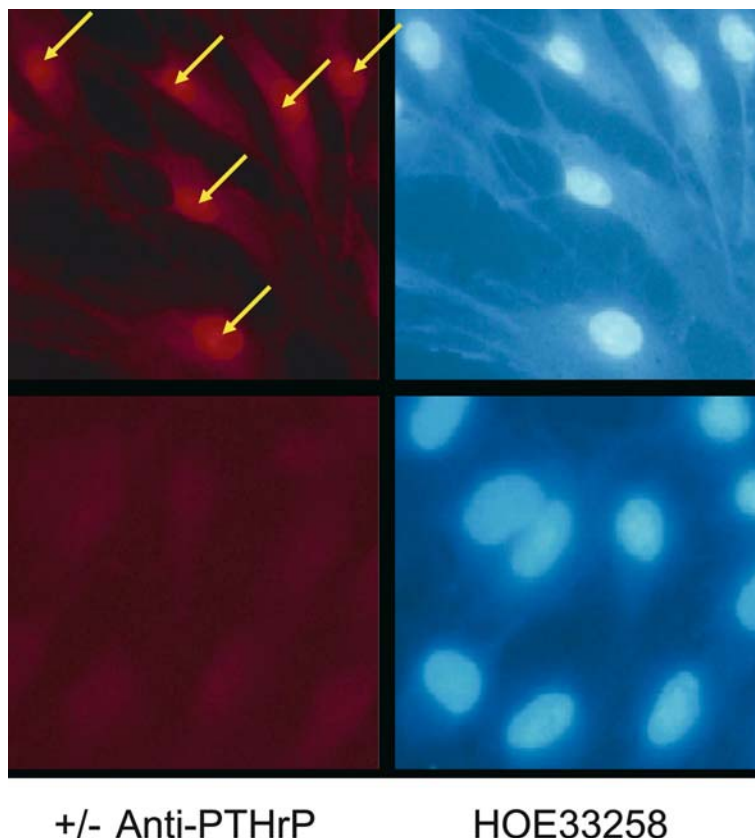


Abb. 1.6.4. Kernlokalisierung von PTHrP in mikrovaskulären Endothelzellen (*gelbe Pfeile*). In *rot* dargestellt die Immunreaktion mit einem PTHrP-Antikörper, in *blau* dargestellt die Kernanfärbung. In den *unteren Bildern* ist der Primärantikörper vor der Histochemie mit dem Liganden abgesättigt worden. Dies dient dem Nachweis der Spezifität des Antikörpers

quenzen („nuclear localization sequence“, NLS). Diese werden von den Aminosäureresten 88–91 und 89–106 gebildet (Henderson et al. 1995; Massfelder et al. 1997). Des Weiteren scheint die Phosphorylierung der Aminosäure Threonin an Position 85 für den NLS-vermittelten Transport sehr wichtig zu sein. Kürzlich wurde ein rezeptorvermittelter Transport von PTHrP in den Zellkern, unter Bindung an spezielle Kernimportrezeptoren, sog. Importine, beschrieben. Hierbei scheint PTHrP hauptsächlich an Importin- β_1 zu binden. Für die Bindung sind die Aminosäureabschnitte 83–93 und 71–82 verantwortlich (Lam et al. 2002). Im Kern selbst kann PTHrP drei mögliche Zielmoleküle haben: RNA, DNA oder Proteine. Eine Bindung von PTHrP an die RNA wurde *in vitro* nachgewiesen (Aarts et al. 1999). Eventuell könnte PTHrP hierbei als Transporter für mRNA ins Zytoplasma agieren. Aufgrund der großen Homologie der NLS von PTHrP zu anderen Transkriptionsfaktoren, wie beispielsweise c-jun, c-fos oder p53, lässt sich vermuten, dass auch PTHrP die Möglichkeit besitzt, direkt an die DNA zu binden und somit als Transkriptionsfaktor zu fungieren. Eine Bindung von PTHrP an nukleäre bzw. zytosolische Proteine zur Induzierung seiner zellulären Effekte kann ebenso nicht ausgeschlossen werden. Verschiedene Studien deuten daraufhin, dass PTHrP durch seine nukleäre Funktion hauptsächlich als Wachstumsfaktor, sowohl bei physiologischen als auch bei pathologischen Prozessen, fungiert oder die Apoptosetoleranz der Zellen modifiziert.

1.6.1.5 Transgene Tiermodelle

Die zentrale Rolle des PTHrP und des PTH1R bei der Kalziumhomöostase und als Wachstumsregulator konnte durch eine Reihe von transgenen Tieren belegt werden.

Homozygote PTHrP-knock-out Mäuse (PTHrP^{-/-}) versterben kurz nach der Geburt. Diese zeigten die Symptome einer Asphyxie und einer Störung der enchondralen Ossifikation (Karaplis et al. 1994). Morphologisch weisen die Mäuse einen verkleinerten Brustkorb mit verminderter Dehnbarkeit auf. Dies wird für das postnatale Versterben der Mäuse verantwortlich gemacht. Des Weiteren weisen diese Knock-outs hypoplastische Lungen mit einer gestörten Lungenentwicklung sowie einer mangelnden Ausdifferenzierung der Alveolarepithelzellen vom Typ II auf und daraus resultierend eine mangelnde Surfactant-Sekretion (Rubin et al. 2004). Die frühzeitige Mineralisierung und Ossifikation,

welche bei den PTHrP^{-/-}-Mäusen zu beobachten ist, scheinen auf einem verfrühten Übergang der Chondrozyten vom proliferativen zum hypertrophen Stadium in den fetalen Wachstumsfugen zu beruhen. Des Weiteren weisen die PTHrP^{-/-}-Knock-outs eine gestörte Zahnentwicklung auf (Kitahara et al. 2004).

Knock-out-Mäuse für den PTH1R (PTH1R^{-/-}) zeigen einen anderen Phänotyp als die bereits oben erwähnten PTHrP^{-/-}-Knock-outs. Der Phänotyp dieser Knock-outs ist vergleichbar mit dem Blomstrand-Syndrom (Abschn. 1.6.3.6). Der unterschiedliche Phänotyp von PTHrP^{-/-}- und PTH1R^{-/-}-Mäusen könnte darauf beruhen, dass bei den PTHrP^{-/-}-Mäusen PTH teilweise die Aufgaben von PTHrP übernimmt (Lanske et al. 1999).

Transgene Mäuse, die entweder PTHrP oder aber PTH1R in den Glattmuskelzellen der Gefäße überexprimieren, sind hypotensiv und weisen eine gestörte Reaktion bei Applikation von Vasodilatoren auf (Maeda et al. 1999; Qian et al. 1999). Diese Untersuchungen zeigen, welche zentrale Rolle PTHrP bei der lokalen Tonusregulation im Gefäßsystem zu spielen scheint, da die Vielzahl von körpereigenen Gegenregulationsmechanismen nicht in der Lage ist, bei diesen Tieren einen normalen Blutdruck einzustellen. Die transgenen Mäuse dieser Zuchtlinie zeigten häufig sowohl Missbildungen im Bereich des Herzens als auch des Skelettsystems, des Weiteren zeichnen sie sich durch eine hohe Sterblichkeit *post natum* aus. Dies zeigt auf, welche Folgen eine Überexpression von PTHrP hat. Eine Überexpression sowohl von PTHrP als auch PTH1R ist auf jeden Fall letal, doppelt transgene Mäuseembryonen sterben schon im Uterus und weisen Entwicklungsdefekte im Herz-Kreislauf-System auf (Qian et al. 1999). Transgene Mäuse, die PTHrP im Bereich der Lunge überexprimieren, zeigten extreme Missbildungen der Lunge. Bei diesen Tieren kam es zu Störungen der Lungenentwicklung und zur Ausbildung von Zysten (Hastings et al. 2004).

1.6.2 Krankheitsbilder

Im folgenden Abschnitt wird zunächst ein kurzer Überblick über die wichtigsten Krankheitsbilder gegeben, die auf molekularer und zellulärer Ebene ursächlich durch Veränderungen in Expression, Freisetzung oder Wirkung von Peptiden der PTH-Familie beruhen.

1.6.2.1 PTH-assoziierte Krankheitsformen

Primärer und sekundärer Hyperparathyroidismus sind Krankheitsbilder, die eine vermehrte Freisetzung von Parathormon (PTH) zeigen. Dabei handelt es sich in der Regel um klassische hormonelle Dysregulationen, also endokrine Fehlregulationen, die an dieser Stelle nicht näher beschrieben werden sollen, weil es sich nicht um parakrine oder autokrine Wirkungen handelt. An dieser Stelle sei deshalb lediglich auf das Kap. 4 „Hyper- und Hypoparathyroidismus“ im Band „Molekularmedizinische Grundlagen von Endokrinopathien“ verwiesen.

Die endokrine Wirkung des PTH schließt andererseits Interaktionen mit lokalen PTH/PTHrP-Wirkungen nicht aus und kann deshalb auch als Teil einer gestörten parakrinen oder autokrinen Regulation verstanden werden. Beim primären Hyperparathyroidismus ist eine erhöhte Mortalität erkennbar, die vorwiegend kardiovaskuläre Ursachen hat (Hedbäck u. Odén 1998). Die Kausalanalyse über mögliche Mechanismen, die beim primären Hyperparathyroidismus zu erhöhter kardiovaskulärer Mortalität führen, ist im Detail unverständlich. Auffällig ist die Ausbildung von Myokardhypertrophien (Symons et al. 1985). Eine direkte hypertrophe Wirkung von PTH auf Herzmuskelzellen ist nachgewiesen worden und beruht auf einer Aktivierung der PKC (Schlüter und Piper 1992). Sie geht einher mit der Reexpression fetaler Proteine und ähnelt damit phänotypisch auf zellulärer Ebene der besser charakterisierten Hypertrophie, die durch die Wirkung der Katecholamine vermittelt wird. Es gibt Hinweise dafür, dass nicht PTH selbst, sondern die hohen Kalziumspiegel kausal für die kardiovaskulären Probleme verantwortlich sind (Hedbäck u. Odén 1995). Dann würde es sich um einen zumindest indirekt endokrinen Wirkmechanismus des PTH handeln. Im Sinne einer parakrinen oder autokrinen Wirkung könnten Hyperparathyroidismen wirken, indem es zu einer Desensibilisierung des PTH1R an nichtklassischen Zielzellen kommt. Dies würde dann eine veränderte Ansprechbarkeit gegenüber parakrin gebildetem PTHrP zur Folge haben. Insofern ist denkbar, dass Formen des Hyperparathyroidismus indirekt Einfluss nehmen auf die parakrine Regulation durch PTHrP.

Eine direkte autokrine Rolle spielt das PTHrP offensichtlich bei Formen des sekundären Hyperparathyroidismus. Da Zellen der Nebenschilddrüse neben PTH auch PTHrP exprimieren (Kitazawa et al. 2002), wurde eine funktionelle Relevanz der Koexpression des PTHrP postuliert. Die zuvor be-

schriebene Wachstumskontrolle der Zellen der Nebenschilddrüse durch PTHrP könnte eine solche Rolle sein (Matsushita et al. 1999).

In seltenen Fällen fanden sich erhöhte PTH-Spiegel auch ohne Hyperparathyroidismus. In einem Fallbeispiel über eine juvenile akute lymphatische Leukämie wurde kürzlich gezeigt, dass die Leukoblasten PTH freisetzen (Lankisch et al. 2004). Die PTHrP-Konzentrationen waren hingegen im Normbereich. Im Gegensatz zu erhöhten PTHrP-Konzentrationen war in diesem Fall das klinische Erscheinungsbild durch eine nur moderate Nierenfunktionsstörung charakterisiert.

Ähnlich kann beim pathophysiologischen Erscheinungsbild des Pseudohypoparathyroidismus davon ausgegangen werden, dass hier autokrine/parakrine Prozesse zumindest mitbeteiligt sind. Beim Pseudohypoparathyroidismus handelt es sich um Mutationen des postrezeptoriell wichtigen G_{α_s} -Proteins, das für die Übertragung des initialen Signals in ein intrazelluläres Signal, in diesem Fall cAMP, verantwortlich ist (Patten et al. 1990). Obwohl grundsätzlich verschiedene Signalkaskaden durch PTHrP in den Zielzellen aktiviert werden, handelt es sich bei den meisten zellulären Prozessen um cAMP-abhängige Regulationen. Eine solche Veränderung im G_{α_s} -Protein greift deshalb in alle PTH1R-vermittelten Prozesse ein und beeinflusst auch alle parakrinen Wechselwirkungen.

1.6.2.2 PTHrP-assoziierte Krankheitsformen

PTHrP ist ein ubiquitär gebildetes Peptidhormon, das i. allg. als autokrin, parakrin oder intrakrin wirkender Transmitter angesehen wird, der im Plasma nicht oder nur in geringen Konzentrationen nachweisbar ist. Entsprechend seiner ubiquitären Verbreitung können Krankheiten, die auf Veränderungen im PTHrP-System beruhen, alle Organe betreffen und zeigen häufig lokal beschränkte Symptome. PTHrP-assoziierte Krankheitsbilder lassen sich grob in drei Formen unterteilen:

- Krankheitsformen, bei denen es aufgrund einer konstitutiven Freisetzung von PTHrP aus Tumorzellen zu erheblichen systemischen Konzentrationen von PTHrP kommt. Dies betrifft besonders Formen des Brustkrebs und Lungentumoren, ist aber nicht auf diese Tumoren beschränkt.
- Krankheiten, bei denen die lokale Balance von PTHrP durch veränderte lokale Bildung des Peptids zu lokalen Defekten führt. Beispiele sind pulmonale, kardiovaskuläre oder schwangerschaftsbedingte Veränderungen.

- Seltene genetisch bedingte Krankheiten, die auf Mutationen des PTH1R beruhen und die häufig mit erheblichen Entwicklungsstörungen der Knochenbildung einhergehen.

Die molekularbiologischen und zellphysiologischen Grundlagen dieser Krankheitsformen werden im Folgenden eingehender beschrieben.

1.6.2.3 TIP39-assoziierte Krankheitsformen

Tuberoinfundibularpeptid mit 39 Aminosäuren (TIP39) wurde 1999 gereinigt und sequenziert (Usdin et al. 1999). Es gilt heute als spezifischer Ligand für den PTH2R. Die Expression von TIP39 und PTH2R im zentralen Nervensystem spricht für lokale Funktionen des Peptids im Zentralnervensystem. TIP39 und PTH2R scheinen bei Prozessen der Schmerzempfindung und der Regulation der Freisetzung einiger Neuropeptide beteiligt zu sein (Usdin et al. 2003). Allerdings lässt sich eine Expression von TIP39 und PTH2R auch in anderen Organen und dem Gefäßsystem nachweisen. Dieses Expressionsmuster spricht für weitere lokale Funktionen, die bislang nicht untersucht worden sind. Bislang sind auch keine Krankheitsbilder bekannt, die ursächlich auf einen Defekt der TIP39-Expression oder Freisetzung beruhen. Dies gilt auch für Defekte des PTH2R. Dies liegt aber vermutlich in den bislang unzureichenden Erkenntnisstand, und es darf erwartet werden, dass in den nächsten Jahren TIP39-vermittelte Krankheitsbilder identifiziert werden können. Zum gegenwärtigen Stand sind spezifische Krankheitsbilder, die auf TIP39 beruhen, nicht bekannt.

1.6.3 Molekulare Grundlagen der PTHrP-assoziierten Krankheitsbilder

1.6.3.1 PTHrP-bildende Tumore

PTHrP wurde ursprünglich erstmals aus Zellen schwammartiger Lungentumore isoliert. In der Tat finden sich in mehr als der Hälfte aller Lungentumore hohe Expressionen an PTHrP. Da das Peptid aus den Tumorzellen konstitutiv freigesetzt wird, ergeben sich hohe Plasmakonzentrationen an PTHrP. PTHrP ist dabei kausal für eine resultierende Hyperkalzämie verantwortlich, die eine osteolytische Aktivität umfasst. Die Kausalbeziehung

zwischen PTHrP-produzierenden Tumoren, hohen Plasma-PTHrP-Konzentrationen und Hyperkalzämie respektive verstärkter Knochenresorption kann als gesichert angesehen werden. In einer autokrinen Wirkungsweise trägt PTHrP außerdem dazu bei, die Lungenkrebszellen gegen Apoptose zu schützen. Anders als dies in mikrovaskulären Endothelzellen oder Zellen von Prostata Tumoren der Fall ist, wird hierbei die antiapoptotische Wirkung des PTHrP durch eine rezeptorvermittelte Aktivierung der Adenylatcyclase bewirkt (Hastings et al. 2004). Die klinische Relevanz ist von erheblicher Tragweite, weil diese Zellen dadurch bestrahlungsresistent werden. Intrakrine, autokrine und parakrine Wirkungen des Peptidhormons eröffnen die Möglichkeit, PTHrP auch als Target einer Tumorrepressorstrategie ins Auge zu fassen. Die intrakrine Wirkung von PTHrP kann generell als proliferationssteigernd und apoptosehemmend eingestuft werden. Sie bedarf einer Translokation des PTHrP in den Zellkern. Eine Hemmung der nukleären Translokation kann deshalb das Wachstum der Tumoren deutlich reprimieren (Tovar-Sepulveda u. Falzon 2002). Parakrine Wirkungen des PTHrP auf Wachstum und Apoptose sind vielschichtiger und hängen primär von Zelltyp und Differenzierung ab. So kann exogenes PTHrP PC-3-Prostata-Tumorzellen in seinem Wachstum stimulieren (Tovar-Sepulveda u. Falzon 2002), während Brustkrebszelllinien durch mittregionale PTHrP-Peptide in ihrem Wachstum reprimiert werden (Luparello et al. 2001).

Unabhängig von diesen zum Teil sehr heterogenen Antworten verschiedener Tumorzellen auf PTHrP kann eine hohe PTHrP-Konzentration im Plasma als Zeichen einer schlechten Prognose angesehen werden. Patienten mit hohen PTHrP-Spiegeln weisen auch hohe Kalziumkonzentrationen auf. Die Häufigkeit der Koinzidenz von Knochenmetastasen und hohen PTHrP-Konzentrationen beträgt dagegen nur etwa 50% (Blind et al. 1993). Hinsichtlich der Kausalität zwischen PTHrP and schlechter Prognose herrscht zur Zeit weitgehend Unklarheit. Tierexperimentell lässt sich eine Beteiligung von systemisch nachweisbarem PTHrP an der Knochenmetastasenbildung nachweisen (Miki et al. 2004; Burton et al. 2005). Hingegen zeigen 66% aller Patienten mit erhöhten Plasmawerten für PTHrP keine Knochenmetastasen. Dies kann entweder als Gegenargument einer zwingenden Kausalbeziehung von PTHrP und Metastasierung angesehen werden oder aber als Anzeichen dafür, dass hohe PTHrP-Konzentrationen der Metastasenbildung vorangehen. Auch scheinen nur bestimmte

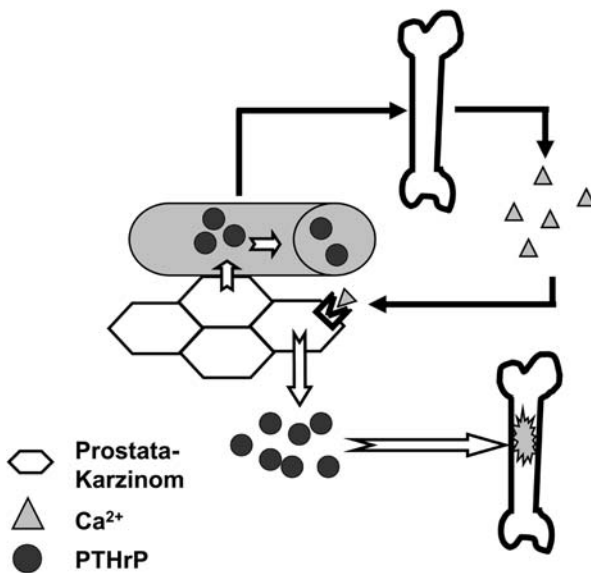


Abb. 1.6.5. Rolle des PTHrP bei der osteolytischen Aktivität von Prostatakrebs und der Entstehung von Knochenmetastasen. Prostatakrebszellen bilden PTHrP, das über die Blutbahn an Knochenzellen bindet und dort eine Osteoklastenaktivierung auslöst. Das führt zu einer Erhöhung der Plasmakalziumkonzentration (maligne Hyperkalzämie). Kalzium verstärkt die PTHrP-Bildung durch die Tumorzellen weiter und unterstützt die Metastasierung von Tumorzellen im Knochen

Varianten des PTHrP kausal für eine schädigende Wirkung in Frage zu kommen. Hier hinken die gesicherten experimentellen Befunden dem möglichen Potential einer gezielten pharmakologischen Beeinflussung des PTHrP-Systems hinterher.

Eine Kausalbeziehung zwischen Expression von PTHrP und Entstehung von Knochenmetastasen ist auch beim Prostatakrebs belegt. Der Tumor selbst produziert dabei neben einer Reihe von anderen Zytokinen auch PTHrP, das seinerseits die Entwicklung von osteoblastischen Metastasen fördert (Sugihara et al. 1998). Im Gegensatz zur Expression von IL-1 α und IL-1 β kann unter endokriner Therapie eine Reduktion der PTHrP-Bildung nicht erreicht werden. PTHrP wirkt nicht nur endokrin, indem es die Knochenmetastasierung unterstützt, sondern auch intrakrin. Dabei steigert es durch einen noch nicht genau identifizierten Mechanismus die Expression von IL-8 (Lehrer et al. 2004). Bei der Entstehung der Knochenmetastasen beim Prostatakrebs kommt dem Zytokin TGF- β eine dominierende Rolle zu, weil TGF- β die Expression und Sekretion von PTHrP in Prostatakrebszellen steigert (Sellers et al. 2004a). In Form einer positiven Rückkopplung führt die Freisetzung von PTHrP zur Hyperkalzämie (Abb.

1.6.5). Die Kalziumkonzentration wird über einen spezifischen Rezeptor der Prostatakrebszellen gemessen. Hohe Kalziumkonzentrationen führen zur Transaktivierung des Heparin-Bindungs-EGF-Rezeptors (HB-EGF), der die Expression von PTHrP verstärkt (Yano et al. 2004). Andererseits unterliegt die PTHrP-Expression der negativen Kontrolle eines sekretorischen Proteins der Prostata (PSP-94), das die PTHrP-Bildung reduziert, die Kalziumkonzentrationen reduziert und die Ausbildung von Knochenmetastasen verzögert (Shukeir et al 2004). Synthetische Teilpeptide, welche die biologische Aktivität des PSP-94 imitieren, könnten geeignet sein als neue Therapieformen für Patienten mit Prostatakrebs.

Auch viele Formen des Brustkrebses gehen mit der Bildung von Knochenmetastasen einher. Das bedeutet die Aktivierung von Osteoklasten, die für einen fortschreitenden Knochenabbau sorgen. Dabei scheint PTHrP früh in die Kausalkette einzugreifen. Tumorabhängig gebildetes PTHrP steigert die osteoblastäre IL-11-Bildung, die wiederum eine Zytokinkaskade aktiviert, an deren Endpunkt eine verstärkte Aktivität der Osteoklasten steht (Morgan et al. 2004). Unterstützt wird die Ausprägung von Knochenmetastasen auch durch die verstärkte Expression der proinvasiven Integrine $\alpha 6$ und $\beta 4$ (Shen et al 2004). Diese wird direkt durch PTHrP als intrakrine Wirkung vermittelt, wobei eine Deletion der Kernerkennungssequenz (NLS) die Wirkung von PTHrP beseitigt. Exogenes PTHrP kann die Wirkung des endogenen PTHrP nicht imitieren. Es wird vermutet, dass die PTHrP-vermittelte Expression dieser proinvasiven Integrine wesentlich zur Metastasierung der Tumoren beiträgt.

Schließlich lassen sich auch in einigen Gliatumoren unterschiedlich starke Expressionen an PTHrP nachweisen. Die Stärke der PTHrP-Expression scheint dabei mit einem geringeren Grad an Differenzierung dieser Zellen einherzugehen, was andererseits aggressivere Tumoren bedeutet. Folglich haben Patienten mit hohen PTHrP-Expression auch geringere progressionsfreie Zeiten und insgesamt eine kürzere Überlebensrate (Pardo et al. 2004).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass verschiedene Tumorformen, die sich besonders bei Formen von Brustkrebs, Lungenkrebs oder Prostatakrebs finden lassen, erhebliche Mengen an PTHrP produzieren, die dann lokal parakrine Signalwege am Knochen modulieren und zu einer gesteigerten Osteoklastenaktivität, der Mobilisierung von Kalzium und letztendlich auch der Entstehung

von Knochenmetastasen beitragen. Insbesondere die Bildung PTHrP-produzierender Knochenmetastasen ist von großer klinischer Relevanz. Unter der Standardtherapie von Brust- und Prostatakrebs kommt es nach wie vor zu einem Verlust der Knochenmasse. Über einen noch nicht vollständig verstandenen Mechanismus führt dies wiederum zu einer verstärkten Neigung der Knochenmetastasierung. Nachdem sich die Knochenmetastasen erst ausgebildet haben, sind die Patienten praktisch nicht mehr kurierbar (Mundy 2002). Eine frühzeitige Unterdrückung der PTHrP-Bildung als initiales Ereignis der Kausalkette ist deshalb von herausragendem Interesse. Die Applikation von neutralisierenden PTHrP-Antikörpern ist in der klinischen Erprobung (Chirgwin et al. 2004). Die hier angesprochenen PTHrP-produzierenden Tumoren stellen nur eine Auswahl besonders gut charakterisierter Tumoren dar. PTHrP-Bildung findet sich aber auch bei anderen Krebsformen, so am Pankreas (Grzseiak et al. 2004), an der Leber (Pun u. Tam 1995), in kardialen Chondrosarkomen (Kase et al. 2004) oder Tumoren des Gastrointestinaltraktes (Yoshizaki et al. 2004). In seltenen Fällen können auch Blasen-tumore mit Hyperkalzämie assoziiert sein und produzieren PTHrP (Chaudary et al. 2004). Die Rolle des PTHrP ist in diesen Fällen aber weniger klar definiert und beruht auf Spekulationen aufgrund der Expression von PTHrP oder des korrespondierenden PTH1R in solchen Zellen. Dagegen hängt die Proliferation von Zellen aus Nierenkarzinomen, die ebenfalls PTHrP produzieren, direkt von der lokalen PTHrP-Wirkung ab. Seine Expression wird gehemmt durch Aktivierung des Hippel-Lindau-Tumor-Repressorgens (Massfelder et al 2004).

1.6.3.2 Pulmonale Defekte

PTHrP wird sowohl in der normalen als auch in der malignen Lunge konstitutiv exprimiert und beeinflusst Lungenreifung, Lungenfunktion und die pathophysiologischen Veränderungen bei Lungenerkrankungen und Lungenkrebs (zur Übersicht siehe Hastings 2004). PTHrP wird während der Embryonalentwicklung (7.–12. Woche) frühzeitig in der Lunge exprimiert. Die Expression ist beschränkt auf Epithelzellen, während der korrespondierende Rezeptor in den benachbarten mesenchymalen Geweben exprimiert wird. Dieses Expressionsmuster weist bereits auf eine parakrine Rolle bei der Lungenentwicklung hin. In transgenen PTHrP-defizienten Mäusen weist eine ver-

minderte oder fehlende Produktion von Surfactant-Proteinen auf die elementare Bedeutung des PTHrP für die Entwicklung einer funktionellen Lunge hin (Rubin et al. 2004). Umgekehrt konnte anhand tierexperimenteller Befunde gezeigt werden, dass es bei Überexpression des PTHrP während der Lungenreifung zur Zystenbildung kommt, ähnlich solchen, wie sie beim Menschen in Form der erworbenen zystischen adenomatoiden Fehlbildung vorliegen. Ob diese Krankheit in der Tat auf einer Überexpression von PTHrP beruht, ist bislang aber nicht gezeigt worden. Interessanterweise zeigen Mäuse mit einer PTH1R-Überexpression keine vergleichbaren Symptome, was als Indiz dafür gewertet werden kann, dass PTHrP intrakrin die Lungenreifung beeinflusst. Beim Erwachsenen geht eine pulmonale Überexpression des PTHrP dagegen nicht mit pulmonalen Fehlfunktionen einher. Dies unterstreicht die Bedeutung des PTHrP für die Lungenreifung. Mangelnde oder fehlende Bildung von PTHrP während der Lungenreifung manifestiert sich in Missbildungen der fetalen Typ-II-Zell-Reifung. Diese Zellen besitzen keinen korrespondierenden Rezeptor, und das PTHrP wirkt entweder intrakrin, indem es das Wachstum der Typ-II-Zellen beeinflusst, oder parakrin, indem benachbarte Zellen zur Bildung von Surfactant-Vorläufermolekülen angeregt werden. Beide Prozesse sind bei mangelnder PTHrP-Bildung beeinträchtigt. Die Interaktion von PTHrP mit den benachbarten, PTH1R exprimierenden Zellen, vorwiegend Fibroblasten des subepithelialen Mesenchyms, weisen auf eine bidirektionale parakrine Achse zwischen fetalem Epithel und Mesenchym hin. So produziert die fetale Lunge bei Gabe von bioaktiven PTH-Peptiden vermehrt ungesättigtes Phosphatidylcholin, das wichtigste Phospholipid der Surfactants (Abb. 1.6.6). Als möglicher Mediator der Fibroblastenwirkung auf die Typ-II-Epithelzellen kann das adipozytenverwandte Protein (ADRP) und Leptin angesehen werden.

In Anbetracht des bislang Gesagten erstaunt es nicht, dass niedrige tracheale PTHrP-Konzentrationen direkt assoziiert sind mit dem adulten respiratorischem Distress-Syndrom (ARDS) und niedriger Surfactant-Bildung, weil niedrige PTHrP-Spiegel als Indikator für eine fehlende Typ-II-Zell-Funktion angesehen werden können. Ein ultimativer Beweis dafür, dass ein Mangel an PTHrP nicht nur Indikator für die verminderte Typ-II-Zell-Funktion ist, sondern auch kausal an seiner Entstehung beteiligt ist, liegt aber zur Zeit nicht vor.

Die Fähigkeit der Typ-II-Zellen der Lunge, PTHrP zu bilden, bleibt beim Erwachsenen erhal-

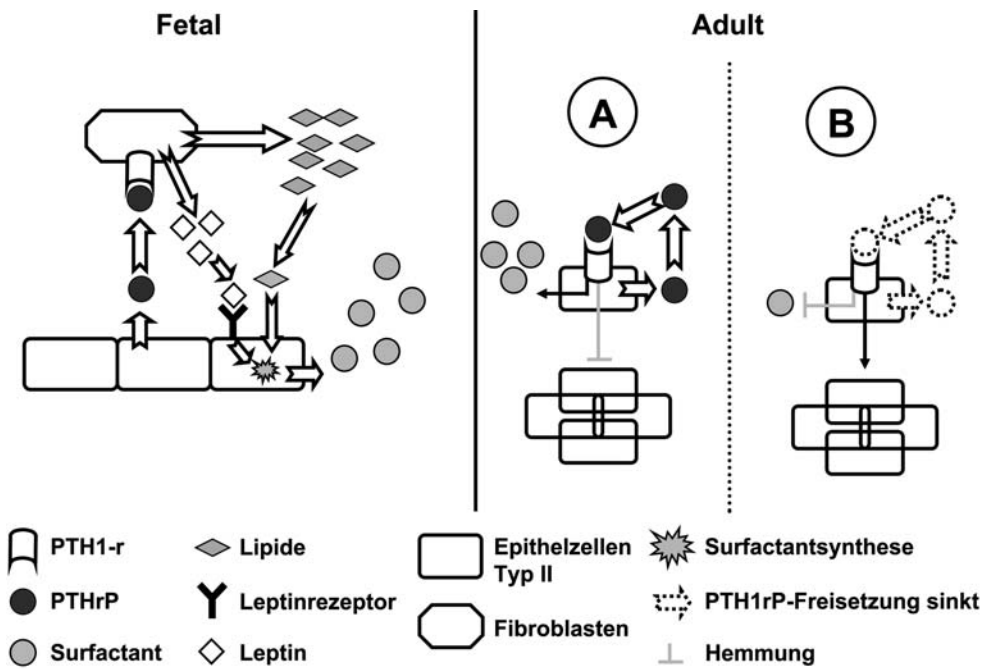


Abb. 1.6.6. Rolle des PTHrP bei Reifung der Lunge und Lungendefekten des Erwachsenen. Während der Embryonalentwicklung bilden Epithelzellen vom Typ II PTHrP, aber exprimieren nicht den korrespondierenden Rezeptor. Durch parakrine Wechselwirkung werden die Nachbarzellen zur Bildung von Lipiden angeregt, die die Typ-II-Zellen zur Surfactant-Bildung anregen. Beim Erwachsenen exprimieren die Typ-II-Zellen auch den Rezeptor. Das freigesetzte PTHrP

unterstützt die Surfactant-Bildung und wirkt autokrin auf die Zelle zurück, indem es die Proliferation hemmt (A). Bei Lungendefekten kann es zur verminderten Expression von PTHrP der Typ-II-Zellen kommen (B). Dies führt zu einer verminderten Surfactant-Bildung, aber zur Aufhebung der Wachstumshemmung. Dadurch steigt die Zahl der Surfactant bildenden Zellen wieder an und damit mittelfristig auch die Konzentration an PTHrP

ten. Dieser Zelltyp stellt die Hauptquelle des pulmonalen PTHrP dar. Der wesentliche Unterschied besteht in der Expression des PTH1R in diesen Zellen, der in fetalen Typ-II-Zellen nicht exprimiert wird. Somit müssen autokrine Mechanismen für die PTHrP-Wirkung berücksichtigt werden. Die Zellen scheinen PTHrP konstitutiv freizusetzen, und PTHrP scheint das Wachstum der Typ-II-Zellen zu reprimieren. Parallel dazu beeinflusst PTHrP die Apoptosesuszeptibilität der Zellen. Die pathophysiologische Relevanz dieser Befunde ist nicht abschließend geklärt. In tierexperimentellen Arbeiten konnte aber ein biphasischer Verlauf der lokalen PTHrP-Bildung gefunden werden. Während der Frühphase verschiedener Lungendefekte sinkt die lokale PTHrP-Bildung. Im weiteren Verlauf steigt sie aber wieder deutlich an. Die Lunge könnte in zweifacher Weise von einer solchen biphasischen Syntheserate profitieren. In der Frühphase der Lungenschädigung trägt eine verminderte PTHrP-Produktion zur Steigerung der Typ-II-Zell-Proliferation bei und somit zur Aktivitätszunahme dieser Zellen (Abb. 1.6.6). Dadurch kann mehr Surfactant gebildet werden, d. h. die alveoläre

Oberflächenspannung sinkt, und die Ventilation wird verbessert. In der Spätphase können, ausgelöst durch die jetzt wieder höheren PTHrP-Spiegel, diese Zellen eliminiert werden und dem Wiederaufbau einer normalen Architektur Platz machen.

1.6.3.3 Kardiovaskuläre Dysfunktionen

Ursprünglich wurde eine Beteiligung von PTH oder PTHrP bei kardiovaskulären Komplikationen vermutet, weil bei verschiedenen Formen des Hyperparathyroidismus kardiovaskuläre Komplikationen entstehen (Abschn. 1.6.2.1). Inzwischen ist klar geworden, dass die exzessive Konzentration an PTH hier PTH1R stimuliert, das normalerweise Teil einer parakrinen und intrakrinen Wirkung von PTHrP im kardiovaskulären System ist. Daraus ergeben sich zwei Konsequenzen:

1. Kardiovaskuläre Zellen exprimieren zumindest zum Teil PTH1R.
2. Die lokale PTHrP-Konzentration scheint eng an die Bedürfnisse der lokalen Umgebung angepasst zu sein, Exzess oder Fehlen führt zu sub-

stantiellen Veränderungen in der Aktivität kardiovaskulärer Zellen.

Zu den Zellen, die unstrittig konstitutiv PTH1-Rezeptoren exprimieren, gehören Zellen der glatten Muskulatur. Vom theoretischen Hintergrund aus gesehen, sind diese Zellen Ziel einer relaxierenden Wirkung des PTHrP. Die vielleicht direktesten Evidenzen für eine solche direkte Interaktion sind Untersuchungen an transgenen Mäusen, die eine glattmuskelspezifische Überexpression des PTH1R tragen. Diese Tiere entwickeln einen Hypotonus. Hinsichtlich des Mechanismus, über den PTHrP vasodilatierend wirkt, herrscht Uneinigkeit. An einigen Gefäßabschnitten scheinen endotheliale Komponenten die vasodilatierende Wirkung des PTHrP zu vermitteln oder zumindest zu unterstützen. Hinweise ergeben sich aus der NO-Abhängigkeit der dilatierenden Wirkung (Sutliff et al. 1999). Bemerkenswert ist der Befund, dass unter pathophysiologischen Bedingungen nicht hypo-, sondern hypertone Drücke nachweisbar sind, beispielsweise beim Hyperparathyroidismus. Ein möglicher Mechanismus könnte eine Desensibilisierung des PTH1R sein. Dies würde umgekehrt bedeuten, dass unter physiologischen Bedingungen PTH oder PTHrP einen messbaren Beitrag zum Blutdruck leisten.

Im klinischen Interesse stehen allerdings weniger die dilatierenden Eigenschaften des PTH und/oder PTHrP. Im Vordergrund steht die Beobachtung, dass PTHrP als proinflammatorisches Peptid einen eigenständigen Beitrag während arteriosklerotischer Prozesse ausüben könnte. PTHrP kann offenbar von inflammatorischen Zellen gebildet werden. Diese finden sich in der Kappenstruktur der Plaques. Von dort freigesetztes PTHrP stimuliert die Bildung des „monocyte chemoattractant protein 1“ (MCP-1) in Zellen der glatten Muskulatur, die wiederum Plaques destabilisieren (Martin-Ventura et al 2003). Neben den Makrophagen sind die Glattmuskelzellen selbst ein wesentlicher Bildungsort des PTHrP. Die Wirkung von PTHrP auf Zellen der glatten Muskulatur ist nicht beschränkt auf die Induktion von MCP-1. PTHrP scheint das Wachstum der Zellen zu inhibieren und verhindert somit die Entstehung einer Neointima nach arteriosklerotischen Läsionen (Ishikawa et al. 2000). Da hierbei die Expression in den Glattmuskelzellen selbst erheblich ansteigt, muss von einem autokrinen Prozess ausgegangen werden (Nakayama et al. 1994). Eine strenge Korrelation zwischen Schweregrad und Progression der Arteriosklerose und dem Ausmaß der PTHrP-Expression spricht ebenfalls

für eine Kausalbeziehung. In arteriosklerotischen Plaques scheint PTHrP einmal Plaques zu destabilisieren und andererseits die Neointimabildung zu blockieren. Die Gemeinsamkeiten zwischen inflammatorischen Eigenschaften des PTHrP und anderen inflammatorischen Peptiden hat zu der Vermutung geführt, dass PTHrP auch bei rheumatischen Erkrankungen beteiligt sein könnte (Funk et al. 2002).

Im Gegensatz zu den Glattmuskelzellen exprimieren Gefäßendothelzellen keinen PTH1R (Rian et al. 1994). Sie sind aber andererseits ein wichtiger Bildungsort des Peptids. Direkte Wirkung auf die Endothelzelle entfaltet PTHrP in erster Linie durch eine intrakrine Wirkung. Diese versetzt die Endothelzelle in die Lage, eine höhere Apoptosetoleranz zu entwickeln (Schorr et al. 2003). Mechanistisch ist dies durch eine verstärkte Expression von bcl-2, einem antiapoptotischen Gen, vermittelt. Wie PTHrP im Zellkern die Expression von Genen verändert, vorzugsweise solchen, die in die Apoptosetoleranz der Zelle eingreifen, ist noch Gegenstand eingehender Untersuchungen. Eine verminderte Expression von PTHrP, wie sie sich beispielsweise im chronisch druckbelasteten Herzen wiederfindet, könnte aber die Apoptosesuszeptibilität der Endothelzellen erhöhen und damit kausal ein erhöhtes Risiko für die Bildung von arteriosklerotischen Plaques darstellen.

Neben der intrakrinen Wirkung von PTHrP ist die parakrine Wirkung zu berücksichtigen. PTHrP wird sowohl im Zellkulturexperiment als auch unter klinisch relevanten Bedingungen lokal und mechanosensitiv freigesetzt. Wie bereits weiter oben ausgeführt, wirkt PTHrP vasodilatierend. Das bedeutet, dass die mechanosensitive Freisetzung des PTHrP einen zusätzlichen Mechanismus darstellt, über den das Gefäß auf Drucksteigerung dilatierend reagieren kann. Eine solche mechanosensitive Freisetzung fand sich auch bei Patienten mit pulmonalem Hochdruck, die erhöhte PTHrP-Konzentrationen in Abhängigkeit von der Druckbelastung zeigten (Abb. 1.6.7). Keine solche druckinduzierte Freisetzung zeigen jedoch Kinder mit endothelialer Dysfunktion. Somit ist in Gefäßen mit endothelialer Dysfunktion nicht nur die NO-Bildung gestört, sondern auch die PTHrP-Freisetzung. Beides kann zur lokalen Perfusionsstörung beitragen.

Als dritte wesentliche Zielzelle für PTH und/oder PTHrP im kardiovaskulären System muss schließlich die ventrikuläre Herzmuskelzelle angesehen werden. Auch hier ergaben sich historisch gesehen erste Hinweise aus der Wirkung von exzessiven PTH-Konzentrationen. Hyperparathyroi-

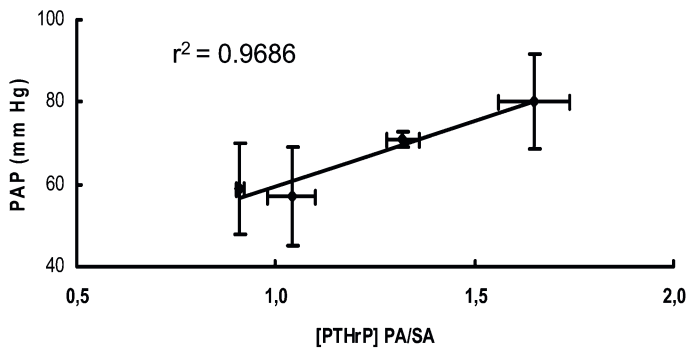


Abb. 1.6.7. Plasmakonzentration des PTHrP in der Pulmonalarterie (PA) normiert auf die Konzentration in der A. femoralis (SA) in Abhängigkeit von der Druckbelastung in der Pulmonalstrombahn bei Kindern mit pulmonaler Hypertension. Zu erkennen ist eine lokale, druckabhängige Freisetzung des PTHrP

dismus geht häufig einher mit hypertrophem Zellwachstum des Herzmuskels und der Manifestation einer Myokardhypertrophie. Sowohl PTH als auch PTHrP vermag die Proteinsyntheseleistung der Herzmuskelzelle zu steigern (Schlüter u. Piper 1992; Schlüter et al. 1997). Auch wenn keine gesicherten klinischen Daten vorliegen, kann doch aus tierexperimentellen Untersuchungen hergeleitet werden, dass im chronisch druckbelasteten Herzen zunächst die PTHrP-Konzentration lokal ansteigt, um dann langfristig zu fallen (Ogino et al. 2002). Die Koinzidenz aus wachstumsfördernder Wirkung des PTHrP, verstärkter Expression des PTHrP bei Druckbelastung und Entstehung einer Myokardhypertrophie bei Hyperparathyroidismus indizieren eine Kausalität. Neben der wachstumsfördernden Wirkung des PTHrP auf die Herzmuskelzelle greift das Peptid auch in den Kalziumhaushalt der Zelle ein. Historisch gesehen gilt die Kalziumeinlagerung in das Myokard des Hundeherzens nach Applikation von Extrakten der Nebenschilddrüse als eine der ersten beobachteten Wirkungen des PTH überhaupt. Neben dem reinen Wachstum scheint auch die Funktion der Zelle durch PTHrP modifiziert zu werden.

1.6.3.4 Präeklampsie

Präeklampsie ist eine Schwangerschaftskomplikation, die sowohl die Mutter als auch den Fetus betrifft. Etwa 5–10% aller Schwangeren sind davon betroffen. Typische Charakteristika sind mütterlicher Bluthochdruck, Albuminurie, Ödembildung und Wachstumsretardation des Fetus. Obwohl der Entstehungsmechanismus im Detail nicht vollständig geklärt ist, herrscht doch Einigkeit darüber, dass dieses Krankheitsbild seinen Entstehungsursprung in einer fehlerhaften Plazentation während der ersten Phase der Schwangerschaft hat. Eine reduzierte Trophoblasteneinbettung und eine

hohe Apoptoserate dieser Zellen sind charakteristische zelluläre Defizite. In diesen Prozess scheinen intrakrine und parakrine Wirkungen des PTHrP kausal eingebettet zu sein.

Der fetale Anteil der Plazenta stellt eine der Hauptquellen der endogenen PTHrP-Bildung dar, die sonst nur von Tumoren übertroffen wird. Als Hauptbildungsort kann das Amnion angesehen werden. Die Konzentration an PTHrP in der Amnionflüssigkeit übersteigt diejenige im fetalen oder maternalen Plasma um das mehr als Zehnfache (Farrugia et al. 2000). Die PTHrP-Konzentration im fetalen Plasma übersteigt dabei diejenige des mütterlichen Plasmas. PTHrP ist das wichtigste kalzitrope Hormon des Fötus. Die zelluläre Wirkung des PTHrP ist extrem gewebspezifisch. Im Uterus reguliert PTHrP den Blutfluss und senkt den myometralen Tonus und verhindert so eine zu frühe myometrale kontraktile Aktivität. Kurz vor der Geburt sinken die lokalen PTHrP-Konzentrationen und erlauben so einen Anstieg der kontraktilen Aktivität. Daneben sind die Rolle des PTHrP für den plazentalen Kalziumtransport und den Gefäßtonus der Plazenta gut charakterisiert.

Eine besondere Bedeutung scheint dem PTHrP bei der Regulation der Trophoblasteneinwanderung und dem apoptotischen Abbau dieser Zellen zuzukommen. Wie oben beschrieben, beruht Präeklampsie initial auf einer fehlerhaften Plazentation. Diese erfolgt durch die verstärkte Bildung von Matrixmetalloproteinasen (MMP). In diesem Zusammenhang ist es von Wichtigkeit, dass PTHrP die Expression von MMP-Isoformen in verschiedenen Zielzellen induzieren kann (Kawashima-Ohya et al. 1998; Uchida et al. 2001; Maioli et al. 2002). Obwohl eine Kausalbeziehung noch nicht eindeutig belegt werden konnte, ist es anzunehmen, dass eine solche hier wahrscheinlich vorliegt.

Die Entwicklung und Differenzierung der Trophoblasten beruht auf einer ausgewogenen Balance zwischen Proliferation und Apoptose. PTHrP

scheint insbesondere die Apoptoseanfälligkeit verschiedener Zelltypen zu beeinflussen. Durch den Transfer des Peptids in den Zellkern hinein (intrakrine Wirkung) werden Chondrozyten, Endothelzellen und glatte Muskelzellen der Gefäßwand weniger anfällig gegenüber Apoptose.

1.6.3.5 Schuppenflechte

PTHrP ist ein integraler Bestandteil der normalen epidermalen Erneuerung, die fortwährend erfolgt. Diese besteht aus einer andauernden Proliferation von Keratinozyten auf der Basalmembran, die sich nachfolgend von der Basalmembran lösen und zu keratinbepackten sog. Korneozyten konvertieren. Aufgrund ihrer schnellen Proliferationsrate werden die sich ablösenden Keratinozyten auch als TA („transit amplifizier“)-Keratinozyten bezeichnet. Diese bilden einen untypischen und molekular bislang nicht identifizierten PTH/PTHrP-Rezeptor aus, der nicht an die Adenylatcyclase koppeln kann. Wenn die Zellen erst einmal aufhören zu proliferieren und sich von der Basalmembran lösen, synthetisieren sie selbst PTHrP (Abb. 1.6.8). Induziert wird die Expression von PTHrP vermutlich durch Mitglieder der EGF-Familie (Cho et al. 2004). Vermutlich stellt diese PTHrP-Bildung ein Signal für die Anzahl suprabasaler Zellen dar, welches die Reifung und Proliferation der Keratinozyten auf der Basalmembran hemmt. PTH-Antagonisten, die auch die lokale PTHrP-Wirkung antagonisieren, stimulieren die epidermale Proliferati-

on (Holick et al. 1994). Fehlende PTHrP-Produktion dieser Zellen scheint ein Schlüsselereignis bei der Schuppenflechte zu sein. Ähnlich wie die Antagonisierung der PTHrP-Wirkung stört dies die reguläre Proliferation. Eine lokale Applikation von PTH normalisierte umgekehrt die Keratinozytenproliferation und erwies sich als sichere und effektive Behandlung der Schuppenflechte (Holick et al. 2003).

1.6.3.6 Krankheitsauslösende Mutationen des PTH/PTHrP-Rezeptor-Gens

Eine Reihe von seltenen genetisch vererbten Krankheiten beruht auf Mutationen des PTH1R. Dazu zählt das Jansen-Syndrom, eine seltene autosomal-dominant vererbte Krankheit, die auf einem konstitutiv aktiven PTH1R beruht. Im klinischen Erscheinungsbild dominiert die massive Kleinwüchsigkeit (Abb. 1.6.9 a). Ursächlich scheint eine verzögerte Skelettreifung zu sein. Die biochemischen Laborbefunde ähneln denen des primären Hyperparathyroidismus. Es lassen sich aber weder erhöhte PTH- noch PTHrP-Spiegel nachweisen. In 7 von 9 bekannten Fällen handelt es sich um eine Punktmutation des PTH1R an Position 223 (Histidin zu Arginin). Zwei weitere Punktmutationen des Rezeptors konnten an Position 410 und 458 festgestellt werden. Alle drei Mutationen führen zu einer konstitutiven Aktivierung des Rezeptors. Der molekulare Mechanismus, über den es bei einer konstitutiven Stimulation des PTH1R zu einer Rei-

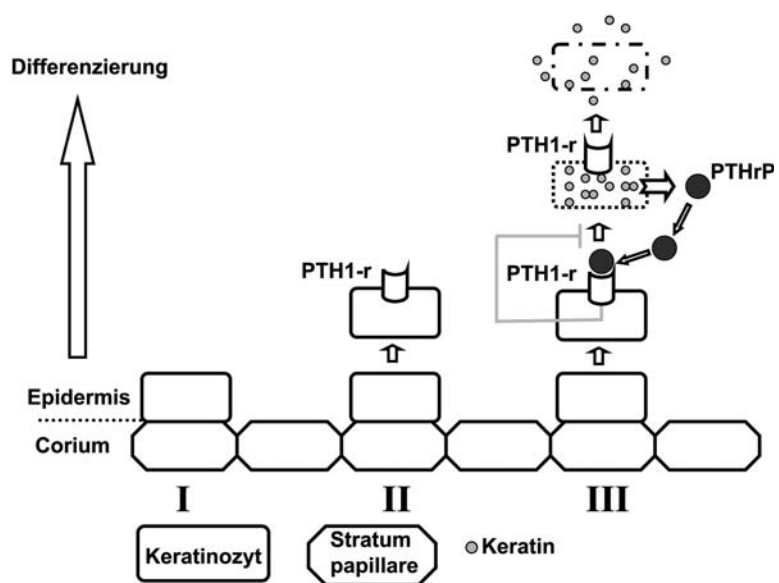


Abb. 1.6.8. Rolle des PTHrP bei der Epidermidifferenzierung. Mit Ablösen der Keratinozyten beginnen diese, den PTH1R zu exprimieren. Im Folgenden bilden diese Zellen viel Keratin und PTHrP, das in einer parakrinen Weise auf Zellen der unten liegenden Schichten rückwirkt und wachstumshemmend wirkt. Fehlende PTHrP-Bildung trägt zur Wachstumsdysregulation und Differenzierungsfehlern bei

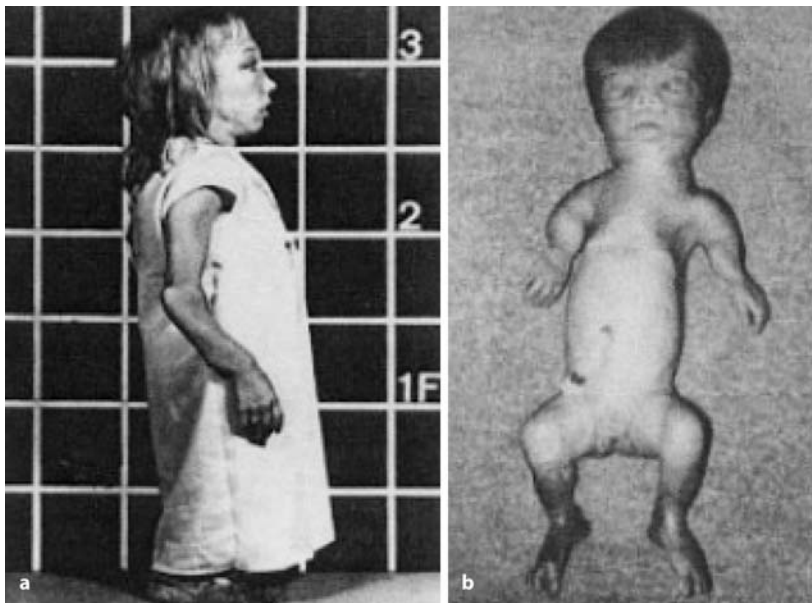


Abb. 1.6.9 a, b. Auswirkung von PTH1R-Mutationen auf den Phänotyp. **a** 22-jährige Frau mit Jansen-Syndrom, einem konstitutiv aktiven PTH1R. **b** Totgeburt eines Kindes mit Blomstrand-Syndrom, einer Mutation im PTH1R, die zur Inaktivierung des Rezeptors führt. (Aus Schipani et al. 2003. Nachdruck mit freundlicher Genehmigung von Wiley-Liss, Inc., einer Tochtergesellschaft der John Wiley & Sons, Inc.)

funksstörung im Skelettsystem kommt, konnte teilweise aufgeklärt werden. PTHrP steigert die Expression von bcl-2, einem antiapoptotischen Gen. Dies verzögert die Hypertrophie und den apoptotischen Abbau der Chondrozyten, bewirkt also eine generelle Verzögerung im Knochenaufbau (Amling et al. 1997). In transgenen Mäusen konnte eine Verzögerung in der Skelettreifung durch Überexpression des PTHrP mittels Deletion des bcl-2 Gens verhindert werden und so die Kausalität belegt werden. Da es sich hierbei, anders als bei der ebenfalls PTHrP-vermittelten bcl-2-Expression in mikrovaskulären Endothelzellen, um einen rezeptorvermittelten Prozess handelt, kann auch das strukturverwandte PTH ähnliche Symptome auslösen (Harrington et al 2004).

Eine weitere genetisch vererbte Krankheit liegt beim Blomstrand-Syndrom vor, eine rezessiv vererbte und letalen Erkrankung, die auf einer Inaktivierung des PTH1R beruht (Abb. 1.6.9b). Diese Mutation wird autosomal-rezessiv vererbt. Drei verschiedene Formen des Rezeptordefekts konnten nachgewiesen werden. Im ersten Fall handelt es sich um eine 10 Aminosäuren umfassende Deletion in der fünften Transmembrandomäne des Rezeptors. Verursacht wird dies durch eine Punktmutation, die ein alternatives Splicen der mRNA bewirkt. In diesem Fall zeigt der Rezeptor eine normale Expression an der Zelloberfläche, kann aber weder PTH noch PTHrP binden oder durch diese Liganden aktiviert werden. Im zweiten Fall konnte eine Punktmutation im N-terminalen Be-

reich des Rezeptors nachgewiesen werden. Dies führt neben einem Rezeptor mit geringer Aktivität nach Ligandenbildung vor allen Dingen zu einer geringeren Expression an der Zelloberfläche. Als Drittes konnte eine weitere Deletionsmutante identifiziert werden, bei der es infolge einer Mutation im Exon EL2 zu einer Deletion der 5-, 6- und 7-Transmembranregion und des zytoplasmatischen Teils des Rezeptors kommt. Das Maß der Skelettdeformationen korreliert dabei eng mit dem Ausmaß der Mutation. Die Punktmutation im N-terminalen Bereich hat die geringste Ausprägung, die Deletion von drei Transmembranregionen die stärkste Ausprägung.

Als dritte Form eines genetischen Defekts des Rezeptors wurden ursprünglich Enchondromatosen beschrieben. Über die Beteiligung des PTH1R bei Enchondromatosen (auch Ollier-Krankheit oder Maffucci-Syndrom genannt) herrscht Uneinigkeit. Ursprünglich wurde eine Mutation an Position 150, also im N-terminalen extrazellulären Bereich des Rezeptors, für die verminderte Expression des Rezeptors an der Zelloberfläche verantwortlich gemacht. Rozeman und Mitarbeiter (2004) fanden in einem größeren Patientenkollektiv aber weder eine Bestätigung für die ursprünglich gefundene Mutation des Rezeptors noch andere alternative Mutationen, was gegen eine Kausalbeziehung spricht.

Als vierte genetisch vererbte Krankheit, die auf einem Defekt des PTH1R beruht, kann das Eiken-Syndrom angesehen werden. Diese Erkrankung ist bislang nur bei einer einzigen Familie nachgewie-

sen worden und beruht auf einer Deletion im C-terminalen zytoplasmatischen Teil des Rezeptors (Duchatelet et al. 2005).

In allen genannten Fällen liegt der Defekt auf der Ebene des PTH1R. Dies bedeutet, dass unabhängig von messbaren oder hohen systemischen PTHrP-Konzentrationen dem PTHrP eine wichtige und entscheidende Rolle in Wachstum und Regulation zukommt, die durch parakrine oder autokrine Wirkungen vermittelt wird. Da bislang keine genetischen Erkrankungen gefunden wurden, die auf eine Mutation im PTHrP-Gen beruhen, kann auch vermutet werden, dass solche Veränderungen wohl letal sind. Darüber hinaus bleibt festzustellen, dass Formen eines defekten PTH1R schwerwiegende Symptomatiken zeigen. Aus dem Fehlen von PTHrP-Mutationen und dem Nachweis von PTH1R-Mutationen kann man entweder folgern, dass einige Funktionen des PTHrP über einen bislang nicht identifizierten Rezeptor vermittelt werden oder aber dass der Ausfall der intrakrinen rezeptorunabhängigen Wirkungen bei Fehlen des PTHrP schwerwiegender ist.

1.6.4 Therapeutische Ansätze

Eine Betrachtung der oben aufgeführten klinischen Erscheinungsformen, die sich entweder aus einer verminderten lokalen Verfügbarkeit des PTHrP ergeben oder aus der massiv erhöhten Konzentration des PTHrP resultieren, lässt umgekehrt den Schluss zu, dass eine enge Balance zwischen PTHrP-Konzentration und -Wirkung notwendig ist. Hinsichtlich jener Fälle, in denen entweder die PTHrP-Produktion zu niedrig ist, z.B. bei der Präeklampsie, ist es schwer, regional die PTHrP-Konzentrationen zu normalisieren. Eine Ausnahme bildet die oben genannte Schuppenflechte, weil dort lokal von außen auf die Haut aufgetragene PTH direkt appliziert werden kann (Holick et al. 2003). In den häufigen Fällen einer massiven Überproduktion des PTHrP mit systemisch relevanten Konzentrationen im Plasma ist andererseits aber eine Inhibierung der PTHrP-Wirkung durch Applikation von PTHrP-Antagonisten möglich. Beispiele für einen viel versprechenden Ansatz finden sich durch Verwendung neutralisierender Antikörper. Hier konnte gezeigt werden, dass solche Antikörper in der Tat die PTHrP-Wirkung praktisch vollständig unterdrücken (Onuma et al. 2004; Miki et al. 2004). In vivo konnte gezeigt werden,

dass die Antikörper signifikant die Konzentration an ionisiertem Blutkalzium in Mäusen senken, die einen PTHrP-produzierenden Tumor trugen. Ähnliche Ergebnisse mit neutralisierenden Antikörpern fanden sich auch in einem anderen Mausmodell mit Knochenmetastasenbildung. Vergleichbar vielversprechend scheinen Ansätze zu sein, in denen statt PTHrP das distal dem PTHrP agierende IL-11 neutralisiert wird. Dies belegt eindrucksvoll, dass PTHrP über die Induktion von IL-11 seine osteolytisches Potential entwickelt. Schließlich setzten neue, in der tierexperimentellen Phase befindliche Verfahren, auch oberhalb des PTHrP an. Prostatatumoren scheinen PTHrP primär durch die Wirkung eines prostatasekretorischen Proteins (PSP-40) zu entfalten, das wiederum die PTHrP-Expression steigert. Dessen Wirkung lässt sich durch synthetische Peptide blockieren und somit die Wirkung des PTHrP bei der Knochenmetastasierung des Prostatakrebses einschränken. Dabei besteht allerdings immer die Gefahr der Immunisierung gegen solche Peptide. Einen weiteren vielversprechenden Ansatz zur Reduktion der PTHrP-Expression durch Tumoren zeigten Gallwitz und Mitarbeiter (2002) auf. Sie konnten im Tierexperiment zeigen, dass durch Gabe von Guanin-Nukleotid-Analoga die Expression von PTHrP spezifisch reprimiert wurde.

Das PTHrP-Peptid exponiert antigene Oberflächen, die teilweise zur Aktivierung von peptidspezifischen zytotoxischen T-Lymphozyten beitragen. So fanden Yao et al. (2005) in Patienten mit Prostatakrebs Immunglobuline (IgG), die reaktiv gegenüber PTHrP(42–51) sind. Die peptidspezifische Aktivierung der zytotoxischen T-Lymphozyten führt zu einer spezifischen Abwehr der Prostatakrebszellen. Eine spezifische Immuntherapie mittels solcher PTHrP-Teilpeptide könnte ein vielversprechender neuer Ansatz sein, um Patienten mit Prostatakrebs zu behandeln und die Progression der Knochenmetastasierung zu unterdrücken.

1.6.5 Diagnostische Aspekte

Für die Diagnose stehen heute geeignete ELISA-Verfahren zur Verfügung, welche eine Bestimmung der Plasmakonzentrationen an PTHrP ermöglichen. Von Bedeutung ist dies im Hinblick auf die allgemein schlechte Prognose bei Tumorpatienten mit hohen PTHrP-Spiegeln. Neben der oben näher erläuterten Wechselwirkung des PTHrP für die

Tabelle 1.6.3. Plasmaspiegel von PTHrP

Nachweismethoden	Physiologisch/pathologisch	Plasmakonzentration	Referenz
RIA gegen N-terminales PTHrP (1–34)	Normbereich Maligne Hyperkalzämie	<1,3 pmol/l 3,4 pmol/l	Attia et al. 2003
RIA gegen mittregionales PTHrP (53–84)	Normbereich Maligne Hyperkalzämie	5–21 pmol/l 22–333 pmol/l	Blind et al. 1993
Immunoassay gegen Mittregionales PTHrP (38–64)	Normbereich	19,1 nmol/l	(eigene Bestimmung)
RIA gegen N-terminales PTHrP (1–34)	Normbereich	99,9 pmol/l	(eigene Bestimmung)

Metastasierung von Tumoren steht hier eine hohe PTHrP-Konzentration immer auch für eine hohe Tumoraktivität. Die normalen und niedrigen PTHrP-Konzentrationen (5–21 pmol/l) können nach Blind et al. (1993) in Gegenwart von PTHrP-bildenden Tumoren um mehr als das Zehnfache ansteigen (22–333 pmol/l). Die Bestimmung der PTHrP-Konzentrationen unterliegt keinem normalisierten Verfahren, so dass unterschiedliche Werte in der Literatur genannt werden. Dies hängt zum einen mit der Verwendung unterschiedlicher Antikörper zusammen und zum anderen mit dem Nachweis verschieden strukturierter Teilpeptide, die durch Glykosylierung in der Affinität gegenüber Antikörpern zusätzlich variieren. So konnten wir beispielsweise im Plasma von Kindern mit pulmonalem Hochdruck durch Verwendung zweier unterschiedlicher Primärantikörper, die gegen N-terminales PTHrP oder mittregionales PTHrP gerichtet waren, höchst unterschiedliche Konzentrationen in ein und der selben Plasmaprobe bestimmen (Tabelle 1.6.3). Auch hängt die absolute Konzentration von der Referenzgröße ab (synthetisches Teilpeptid, biologische Aktivität oder authentisches Peptid). Für Aussagen zur Veränderung der lokalen, parakrinen, autokrinen oder intrakrinen Wirkung von PTHrP sind diese Verfahren nicht geeignet.

1.6.6 Ausblick

In den vergangenen Jahren konnte PTHrP als ubiquitär exprimiertes Peptid mit seinen zahlreichen intrakrinen, autokrinen und parakrinen Wirkungen unter physiologischen Bedingungen identifiziert werden. Dies umfasst praktisch alle Organe. Um die Bedeutung des PTHrP für die Entstehung verschiedenster Krankheitsformen zu verstehen,

bedarf es einer extensiven Erforschung der zellspezifischen Regulation der Expression, seines zellspezifischen Freisetzungsmechanismus und der Wirkungsweise des Peptids. Hier steht die Forschung leider noch ganz am Anfang. Von entscheidender Bedeutung wird dabei ein besseres Verständnis der Rezeptoren und der Liganden-Rezeptor-Interaktion sein. Es ist bislang völlig unklar, ob ein Rezeptor verschieden ausgeprägte Ligandeninteraktionen eingeht oder ob andere bislang nicht identifizierte Rezeptoren, pleiotrope Wirkungsweisen des PTHrP vermitteln können. Entsprechend vage sind derzeit alle Versuche, durch geeignete Rezeptorantagonisten therapeutisch einzugreifen.

1.6.7 Literatur

- Aarts MM, Levy D, He B et al. (1999) Parathyroid hormone-related protein interacts with RNA. *J Biol Chem* 274: 4832–4838
- Allinson ET, Drucker DJ (1992) Parathyroid hormone-like peptide shares features with members of the early response gene family: Rapid induction by serum, growth factors, and cycloheximide. *Cancer Res* 52: 3103–3109
- Amizuka N, Henderson JE, Hoshi K et al. (1996) Programmed cell death of chondrocytes and aberrant chondrogenesis in mice homozygous for parathyroid hormone-related peptide gene deletion. *Endocrinology* 137: 5055–5067
- Amling M, Neff L, Tanaka S et al. (1997) Bcl-2 lies downstream of parathyroid hormone-related peptide in a signaling pathway that regulates chondrocyte maturation during skeletal development. *J Cell Biol* 136: 205–213
- Attia P, Phan GQ, Duray PH, Rosenberg SA (2003) Parathyroid hormone-related protein and hypercalcemia in patients with metastatic melanoma. *Am J Clin Oncol* 26: 42–45
- Aya K, Tanaka H, Ichinose Y, Kobayashi M, Seino Y (1999) Expression of parathyroid hormone-related peptide messenger ribonucleic acid in developing kidney. *Kidney Int* 55: 1696–1703
- Behar V, Nakamoto C, Greenberg Z et al. (1996) Histidine at position 5 is the specificity “switch” between two para-

- thyroid hormone receptor subtypes. *Endocrinology* 137: 4217–4224
- Blind E, Raue F, Meinel T et al. (1993) Diagnostische Bedeutung von Parathormone-related-Protein bei Tumorpatienten mit Hypercalcämie. *Dtsch Med Wochenschr* 118: 330–335
- Botella A, Rekik M, Delvaux M et al. (1994) Parathyroid hormone (PTH) and PTH-related peptide induce relaxation of smooth muscle cells from guinea pig ileum: Interaction with vasoactive intestinal peptide receptors. *Endocrinology* 135: 2160–2167
- Bui TD, Shallal A, Malik AN et al. (1993) Parathyroid hormone related peptide gene expression in human fetal and adult heart. *Cardiovasc Res* 27: 1204–1208
- Burtis WJ, Wu T, Bunch C et al. (1987) Identification of a novel 17,000-dalton parathyroid hormone-like adenylate cyclase-stimulating protein from a tumor associated with humoral hypercalcemia of malignancy. *J Biol Chem* 262: 7151–7156
- Burton DW, Geller J, Yang M et al. (2005) Monitoring of skeletal progression of prostate cancer by GFP imaging, and serum OPG and PTHrP. *Prostate* 62: 275–281
- Calvi LM, Shin HI, Knight MC et al. (2004) Constitutively active PTH/PTHrP receptor in odontoblasts alters odontoblast and ameloblast function and maturation. *Mech Dev* 121: 397–408
- Care AD, Abbas SK, Pickard DW et al. (1990) Stimulation of ovine placental transport of calcium and magnesium by mid-molecule fragments of human parathyroid hormone-related protein. *Exp Physiol* 75: 605–608
- Casey ML, Mibe M, MacDonald PC (1993) Regulation of parathyroid hormone-related protein gene expression in human endometrial stromal cells in culture. *J Clin Endocrinol Metab* 77: 188–194
- Caulfield MP, McKee RL, Goldman ME et al. (1990) Parathyroid hormone-related protein (PTHrP): Studies with synthetic peptides indicate that parathyroid hormone and PTHrP interact with the same receptor. *Int J Rad Appl Instrum B* 17: 633–637
- Chaudhary UB, Milling DL, Bissada NK (2004) Transitional cell carcinoma of the bladder producing parathyroid hormone-related protein (PTHrP). *Can J Urol* 11: 2136–2138
- Caverzasio J, Bonjour JP (1996) Characteristics and regulation of Pi transport in osteogenic cells for bone metabolism. *Kidney Int* 49: 975–980
- Chilco PJ, Leopold V, Zajac JD (1998) Differential regulation of the parathyroid hormone-related protein gene P1 and P3 promoters by camp. *Mol Cell Endocrinol* 138: 173–184
- Chirgwin JM, Mohammad KS, Guise TA (2004) Tumor-bone cellular interactions in skeletal metastases. *J Musculoskel Neuron Interact* 4: 308–318
- Cho YM, Lewis DA, Koltz PF et al. (2004) Regulation of parathyroid hormone-related protein gene expression by epidermal growth factor-family ligands in primary human keratinocytes. *J Endocrinol* 181: 179–190
- Chung UI, Lanske B, Lee K, Li E, Kronenberg H (1998) The parathyroid hormone/parathyroid hormone-related peptide receptor coordinates endochondral bone development by directly controlling chondrocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 13030–13035
- Cooper CW, Seitz PK, McPherson MB, Selvanayagam P, Rajaraman S (1991) Effects of parathyroid hormonal peptides on the gut. *Contrib Nephrol* 91: 26–31
- Cuthbertson RM, Kemp BE, Barden JA (1999) Structure study of osteostatin PTHrP[Thr107](107–139). *Biochim Biophys Acta* 1432: 64–72
- Degenhardt H, Jansen J, Schulz R, Sedding D, Braun-Dulaeus R, Schlüter KD (2002) Mechanosensitive release of parathyroid hormone-related peptide from coronary endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283: H1489–1496
- Della Penna K, Kinose F, Sun H, Koblan KS, Wang H (2003) Tuberoinfundibular peptide of 39 residues (TIP39): Molecular structure and activity for parathyroid hormone 2 receptor. *Neuropharmacology* 44: 141–153
- Divieti P, Geller AI, Suliman G, Juppner H, Bringhurst FR (2004) Receptors specific for the carboxyl-terminal region of parathyroid hormone on bone-derived cells: Determinants of ligand binding and bioactivity. *Endocrinology* 146(4): 1863–1870
- Duchatelet S, Ostergaard E, Cortes D, Lemainque A, Julier C (2005) Recessive mutations in PTHR1 cause contrasting skeletal dysplasias in Eiken and Blomstrand syndromes. *Hum Mol Genet* 14: 1–5
- Dunbar ME, Wysolmerski JJ (1999) Parathyroid hormone-related protein: a developmental regulatory molecule necessary for mammary gland development. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 4: 21–34
- Eichinger A, Fiaschi-Taesch N, Massfelder T, Fritsch S, Barthelmebs M, Helwig JJ (2002) Transcript expression of the tuberoinfundibular peptide (TIP)39/PTH2 receptor system and non-PTH1 receptor-mediated tonic effects of TIP39 and other PTH2 receptor ligands in renal vessels. *Endocrinology* 143: 3036–3043
- Esbrit P, Santos S, Ortega A et al. (2001) Parathyroid hormone-related protein as a renal regulating factor. From vessels to glomeruli and tubular epithelium. *Am J Nephrol* 21: 179–184
- Farrugia W, Ho PW, Rice GE, Moseley JM, Permezel M, Wlodek ME (2000) Parathyroid hormone-related protein(1–34) in gestational fluids and release from human gestational tissues. *J Endocrinol* 165: 657–662
- Foley J, Longely BJ, Wysolmerski JJ, Dreyer BE, Broadus AE, Philbrick WM (1998) PTHrP regulates epidermal differentiation in adult mice. *J Invest Dermatol* 111: 1122–1128
- Francis M, Arkle M, Martin L et al. (2003) Relaxant effects of parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptides on oviduct motility in birds and mammals: Possible role of nitric oxide. *Gen Comp Endocrinol* 133: 243–251
- Fuller A (1941) Case records of the Massachusetts General Hospital (case 27461). *N Engl J Med* 225: 789–791
- Funk JL, Moser AH, Grunfeld C, Feingold KR (1997) Parathyroid hormone-related protein is induced in the adult liver during endotoxemia and stimulates the hepatic acute phase response. *Endocrinology* 138: 2665–2673
- Funk JL, Wei H, Downey KJ et al. (2002) Expression of PTHrP and its cognate receptor in the rheumatoid synovial microcirculation. *Biochem Biophys Res Commun* 297: 890–897
- Gallwitz WE, Guise TA, Mundy GR (2002) Guanosine nucleotides inhibit different syndromes of PTHrP excess caused by human cancer in vivo. *J Clin Invest* 110: 1559–1572
- Gellhorn A, Plimpton CH (1956) Hypercalcemia in malignant disease without evidence of bone destruction. *Am J Med* 21: 750–759

- Glatz JA, Heath JK, Southby J et al. (1994) Dexamethasone regulation of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) expression in a squamous cancer cell line. *Mol Cell Endocrinol* 101: 295–306
- Goomer RS, Johnson KA, Burton DW et al. (2000) The tetra-basic KKKK(147–150) motif determines intracrine regulatory effects of PthrP 1–173 on chondrocyte PPI metabolism and matrix synthesis. *Endocrinology* 141: 4613–4622
- Grohé C, Eickels M van, Wenzel S et al. (2004) Sex-specific differences in ventricular expression and function of parathyroid hormone-related peptide. *Cardiovasc Res* 61: 307–316
- Grzseiak JJ, Clopton P, Chalberg C et al. (2004) The extracellular matrix differentially regulates the expression of PTHrP and the PTH/PTHrP receptor in FG pancreatic cancer cells. *Pancreas* 29: 85–92
- Günther T, Chen ZF, Kim J et al. (2000) Genetic ablation of parathyroid glands reveals another source of parathyroid hormone. *Nature* 406: 199–203
- Gutman AB, Tyson TL, Gutman EB (1936) Serum calcium, inorganic phosphorus and phosphatase activity in hyperparathyroidism, paget's disease, multiple myeloma and neoplastic disease of bones. *Arch Intern Med* 57: 379–413
- Hara M, Liu YM, Zhen L et al. (1997) Positive chronotropic actions of parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide are associated with increases in the current, I(f), and the slope of the pacemaker potential. *Circulation* 96: 3704–3709
- Harrington EK, Lunsford LE, Svoboda KK (2004) Chondrocyte terminal differentiation, apoptosis, and type X collagen expression are downregulated by parathyroid hormone. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 281: 1286–1295
- Hastings RH (2004) Parathyroid hormone-related protein and lung biology. *Respir Physiol Neurobiol* 142: 95–113
- Hastings RH, Araiza F, Burton DW, Bedley M, Deftos LJ (2004) Parathyroid hormone-related protein regulates apoptosis in lung cancer cells through protein kinase A. *Am J Physiol Cell Physiol* 287: C1616–C1622
- Heath JK, Southby J, Fukumoto S, O'Keefe LM, Martin TJ, Gillespie MT (1995) Epidermal growth factor-stimulated parathyroid hormone-related protein expression involves increased gene transcription and mRNA stability. *Biochem J* 307: 159–167
- Hedbäck G, Oden A (1995) Clinical evaluation of total serum calcium in primary hyperparathyroidism and the risk of death after surgery. *Eur J Clin Invest* 25: 48–52
- Hedbäck G, Odén A (1998) Increased risk of death from primary hyperparathyroidism – an update. *Eur J Clin Invest* 28: 277–278
- Hellman P, Ridfelt P, Juhlin C, Akerstrom G, Rastad J, Gylfe E (1992) Parathyroid-like regulation of parathyroid-hormone-related protein release and cytoplasmic calcium in cytotrophoblast cells of human placenta. *Arch Biochem Biophys* 293: 174–180
- Henderson JE, Amizuka N, Warshawsky H et al. (1995) Nuclear localization of parathyroid hormone-related peptide enhances survival of chondrocytes under conditions that promote apoptotic cell death. *Mol Cell Biol* 15: 4064–4075
- Hendy GN, Sakaguchi AY, Yasuda T et al. (1988) Gene for parathyroid hormone-like peptide is on rat chromosome 2. *Biochem Biophys Res Commun* 157: 558–562
- Hendy GN, Sakaguchi AY, Lalley PA et al. (1990) Gene for parathyroid hormone-like peptide is on mouse chromosome 6. *Cytogenet Cell Genet* 53: 80–82
- Hoare SR, Bonner TI, Usdin TB (1999) Comparison of rat and human parathyroid hormone 2 (PTH2) receptor activation: PTH is a low potency partial agonist at the rat PTH2 receptor. *Endocrinology* 140: 4419–4425
- Holick MF, Ray S, Chen TC, Tian X, Persons KS (1994) A parathyroid hormone antagonist stimulates epidermal proliferation and hair growth in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 8014–8016
- Holick MF, Chimeh FN, Ray S (2003) Topical PTH(1–34) is a novel, safe, and effective treatment for psoriasis: A randomized self-controlled trial and an open trial. *Brit J Dermatol* 149: 370–376
- Houten J van, Dann P, McGeoch G et al. (2004) The calcium-sensing receptor regulates mammary gland parathyroid hormone-related protein production and calcium transport. *J Clin Invest* 113: 598–608
- Ikeda K, Lu C, Weir EC, Mangin M, Broadus AE (1989) Transcriptional regulation of the parathyroid hormone-related peptide gene by glucocorticoids and vitamin D in a human C-cell line. *J Biol Chem* 264: 15743–15746
- Ikeda K, Lu C, Weir EC, Mangin M, Broadus AE (1990) Regulation of parathyroid hormone-related peptide gene expression by cycloheximide. *J Biol Chem* 265: 5398–5402
- Ikeda K, Okazaki R, Inoue D, Ohno H, Ogata E, Matsumoto T (1993) Interleukin-2 increases production and secretion of parathyroid hormone-related peptide by human T cell leukemia virus type I-infected T cells: Possible role in hypercalcemia associated with adult T cell leukemia. *Endocrinology* 132: 2551–2256
- Ishikawa M, Akishita M, Kozaki K et al. (2000) Expression of parathyroid hormone-related protein in human and experimental atherosclerotic lesions: functional role in arterial intimal thickening. *Atherosclerosis* 152: 97–105
- Ito M, Ohtsuru A (1996) Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) and PTH/PTHrP receptor in the gastrointestinal tract. *Nippon Rinsho* 54: 1104–1108
- Jansen J, Gres P, Umschlag C et al. (2003) Parathyroid hormone-related peptide improves contractile function of stunned myocardium in rats and pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H49–H55
- Jouishomme H, Whitfield JF, Chakravarthy B et al. (1992) The protein kinase-C activation domain of the parathyroid hormone. *Endocrinology* 130: 53–60
- Juppner H (1999) Receptors for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide: Exploration of their biological importance. *Bone* 25: 87–90
- Juppner H, Abou-Samra AB, Freeman M et al. (1991) A G protein-linked receptor for parathyroid hormone and parathyroid-hormone-related peptide. *Science* 254: 1024–1026
- Karaplis AC, Luz A, Glowacki J et al. (1994) Lethal skeletal dysplasia from targeted disruption of the parathyroid hormone-related peptide gene. *Genes Dev* 8: 277–289
- Kase S, Nakamoto S, Miyasaka S et al. (2004) Cardiac chondrosarcoma producing parathyroid hormone-related protein. *Circ J* 68: 715–718
- Kawashima-Ohya Y, Satakeda H, Kuruta Y et al. (1998) Effects of parathyroid hormone (PTH) and PTH-related peptide on expressions of matrix metalloproteinase-2, -3, and -9 in growth plate chondrocyte cultures. *Endocrinology* 139: 2120–2127

- Kitahara Y, Suda N, Kuroda T, Beck F, Hammond VE, Takano Y (2004) Disturbed tooth development in parathyroid hormone-related protein (PTHrP)-gene knockout mice. *Bone* 30: 48–56
- Kitazawa R, Kitazawa S, Maeda S, Kobayashi A (2002) Expression of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) in parathyroid tissue under normal and pathological conditions. *Histol Histopathol* 17: 179–184
- Kremer R, Karaplis AC, Henderson J et al. (1991) Regulation of parathyroid hormone-like peptide in cultured normal human keratinocytes. Effect of growth factors and 1,25 dihydroxyvitamin D3 on gene expression and secretion. *J Clin Invest* 87: 884–893
- Kurebayashi J, Otsuki T, Tanaka K, Yamamoto Y, Moriya T, Sonoo H (2003) Medroxyprogesterone acetate decreases secretion of interleukin-6 and parathyroid hormone-related protein in a new anaplastic thyroid cancer cell line, KTC-2. *Thyroid* 13: 249–258
- Lam MH, Thomas RJ, Loveland KL et al. (2002) Nuclear transport of parathyroid hormone (PTH)-related protein is dependent on microtubules. *Mol Endocrinol* 16: 390–401
- Lankisch P, Kramm CM, Hermsen D, Wessalowski R (2004) Hypercalcemia with nephrocalcinosis and impaired renal function due to increased parathyroid hormone secretion at onset of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 45: 1695–1697
- Lanske B, Divieti P, Kovacs CS et al. (1998) The parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor mediates actions of both ligands in murine bone. *Endocrinology* 139: 5194–5204
- Lanske B, Divieti P, Kovacs CS et al. (1999) Ablation of the PTHrP gene or the PTH/PTHrP receptor gene leads to distinct abnormalities in bone development. *J Clin Invest* 104: 399–407
- Law F, Bonjour JP, Rizzoli R (1994) Transforming growth factor-beta: A down-regulator of the parathyroid hormone-related protein receptor in renal epithelial cells. *Endocrinology* 134: 2037–2043
- Lee K, Deeds JD, Segre GV (1995) Expression of parathyroid hormone-related peptide and its receptor messenger ribonucleic acids during fetal development of rats. *Endocrinology* 136: 453–463
- Lehrer S, Diamond EJ, Mamkin B, Stone NN, Stock RG (2004) Serum interleukin-8 is elevated in men with prostate cancer and bone metastases. *Technol Cancer Res Treat* 3: 411
- Lewin E, Almaden Y, Rodriguez M, Olgaard K (2000) PTHrP enhances the secretory response of PTH to a hypocalcemic stimulus in rat parathyroid glands. *Kidney Int* 58: 71–81
- Li H, Seitz PK, Selvanayagam P, Rajaraman S, Cooper CW (1996) Effect of endogenously produced parathyroid hormone-related peptide on growth of a human hepatoma cell line (Hep G2). *Endocrinology* 137: 2367–2374
- Lippuner K, Zehnder HJ, Casez JP, Takkinen R, Jaeger P (1996) PTH-related protein is released into the mother's bloodstream during lactation: Evidence for beneficial effects on maternal calcium-phosphate metabolism. *J Bone Miner Res* 11: 1394–1399
- Liu B, Goltzman D, Rabbani SA (1993) Regulation of parathyroid hormone-related peptide production in vitro by the rat hypercalcemic Leydig cell tumor H-500. *Endocrinology* 132: 1658–1664
- Luparello C, Romanotto R, Tipa A et al. (2001) Midregion parathyroid hormone-related protein inhibits growth and invasion in vitro and tumorigenesis in vivo of human breast cancer cells. *J Bone Min Res* 16: 2173–2181
- MacLean HE, Guo J, Knight MC, Zhang P, Cobrinik D, Kronenberg HM (2004) The cyclin-dependent kinase inhibitor p57(Kip2) mediates proliferative actions of PTHrP in chondrocytes. *J Clin Invest* 113: 1334–1343
- Maeda S, Sutliff RL, Qian J et al. (1999) Targeted overexpression of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) to vascular smooth muscle in transgenic mice lowers blood pressure and alters vascular contractility. *Endocrinology* 140: 1815–25
- Maioli E, Fortino V, Torricelli C, Arezzini B, Gradi C (2002) Effect of parathyroid-hormone-related protein on fibroblast proliferation and collagen metabolism in human skin. *Exp Dermatol* 11: 302–310
- Mannstadt M, Juppner H, Gardella TJ (1999) Receptors for PTH and PTHrP: Their biological importance and functional properties. *Am J Physiol Renal Physiol* 277: F665–F675
- Martin-Ventura JL, Ortego M, Esbrit P et al. (2003) Possible role of parathyroid hormone-related protein as a proinflammatory cytokine in atherosclerosis. *Stroke* 34: 1783–1789
- Massfelder T, Dann P, Wu TL, Vasavada R, Helwig JJ, Stewart AF (1997) Opposing mitogenic and anti-mitogenic actions of parathyroid hormone-related protein in vascular smooth muscle cells: A critical role for nuclear targeting. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 13630–13635
- Massfelder T, Lang H, Schordan E et al. (2004) Parathyroid hormone-related protein is an essential growth factor for human clear cell renal carcinoma and a target for the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene. *Cancer Res* 64: 180–188
- Matsumita H, Hara M, Endo Y et al. (1999) Proliferation of parathyroid cells negatively correlates with expression of parathyroid hormone-related protein in secondary parathyroid hyperplasia. *Kidney Int* 55: 130–138
- Mekapiruk K, Suda N, Hammond VE et al. (2002) The influence of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) on tooth-germ development and osteoclastogenesis in alveolar bone of PTHrP-knock out and wild-type mice in vitro. *Arch Oral Biol* 47: 665–672
- Meyer-Heim T, Stäubli M (2002) Paraneoplasien. *Schweiz Med Forum* 48: 1139–1145
- Miki T, Yano S, Hanibuchi M, Kanematsu T, Muguruma H, Sone S (2004) Parathyroid hormone-related protein (PTHrP) is responsible for production of bone metastasis, but not visceral metastasis, by human small cell lung cancer SBC-5 cells in natural killer cell-depleted SCID mice. *Int J Cancer* 108: 511–515
- Morgan H, Tumber A, Hill PA (2004) Breast cancer cells induce osteoclast formation by stimulating host IL-11 production and downregulating granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *Int J Cancer* 109: 653–660
- Moseley JM, Kubota M, Diefenbach-Jagger H et al. (1987) Parathyroid hormone-related protein purified from a human lung cancer cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 5048–5052
- Mundy GR (2002) Metastasis to bone: Causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* 2: 584–593
- Nakayama T, Ohtsuru A, Enomoto H et al. (1994) Coronary atherosclerotic smooth muscle cells overexpress human parathyroid hormone-related peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 200: 1028–1035

- Nickols GA, Nana AD, Nickols MA, DiPette DJ, Asimakis GK (1989) Hypotension and cardiac stimulation due to the parathyroid hormone-related protein, humoral hypercalcemia of malignancy factor. *Endocrinology* 125: 834–841
- Ogino K, Ogura K, Kinugasa Y et al. (2002) Parathyroid hormone-related protein is produced in the myocardium and increased in patients with congestive heart failure. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 4722–4727
- Ono T, Inokuchi K, Ogura A, Ikawa Y, Kudo Y, Kawashima S (1997) Activity-dependent expression of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) in rat cerebellar granule neurons. Requirement of PTHrP for the activity-dependent survival of granule neurons. *J Biol Chem* 272: 14404–14411
- Onuma E, Sato K, Saito H et al. (2004) Generation of a humanized monoclonal antibody against human parathyroid-hormone-related protein and its efficacy against humoral hypercalcemia of malignancy. *Anticancer Res* 25: 2665–2673
- Ouyang H, McCauley LK, Berry JE, Saygin NE, Tokiyasu Y, Somerman MJ (2000) Parathyroid hormone-related protein regulates extracellular matrix gene expression in cementoblasts and inhibits cementoblast-mediated mineralization in vitro. *J Bone Miner Res* 15: 2140–2153
- Pardo FS, Lien WW, Fox HS et al. (2004) Parathyroid hormone-related protein expression is correlated with clinical course in patients with glial tumors. *Cancer* 101: 2622–2628
- Pateda DB, Rosier RN, Schwarz EM et al. (2000) PTHrP expression in chondrocytes, regulation by TGF- β , and interactions between epiphyseal and growth plate chondrocytes. *Exp Cell Res* 256: 555–562
- Patten JL, Johns DR, Valle D et al. (1990) Mutation in the gene encoding the stimulatory G protein of adenylate cyclase in Albright's hereditary osteodystrophy. *N Engl J Med* 322: 1412–1419
- Philbrick WM, Dreyer BE, Nakchbandi IA, Karaplis AC (1998) Parathyroid hormone-related protein is required for tooth eruption. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 11846–11851
- Pirola CJ, Wang HM, Kamyar A et al. (1993) Angiotensin II regulates parathyroid hormone-related protein expression in cultured rat aortic smooth muscle cells through transcriptional and post-transcriptional mechanisms. *J Biol Chem* 268: 1987–1994.
- Pun KK, Tam SM (1995) Humoral hypercalcemia of hepatocellular carcinoma associated with elevated levels of parathyroid-hormone-related-peptide. *Endocr Pract* 1: 166–169
- Qian J, Lorenz JN, Maeda S et al. (1999) Reduced blood pressure and increased sensitivity of the vasculature to parathyroid hormone-related protein (PTHrP) in transgenic mice overexpressing the PTH/PTHrP receptor in vascular smooth muscle. *Endocrinology* 140: 1826–1833
- Rian E, Jemtland R, Olstad OK et al. (1994) Parathyroid hormone-related protein is produced by cultured endothelial cells: A possible role in angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 198: 740–747
- Richard V, Luchin A, Brena RM, Plass C, Rosol TJ (2003) Quantitative evaluation of alternative promoter usage and 3' splice variants for parathyroid hormone-related protein by real-time reverse transcription-PCR. *Clin Chem* 49: 1398–1402
- Ross G, Engel P, Abdallah Y, Kummer W, Schlüter K-D (2005) Tuberoinfundibular peptide of 39 residues (TIP39): A new mediator of cardiac function via NO production in the rat heart. *Endocrinology* 146(5): 2221–2228 (in press)
- Rozeman LB, Sangiorgi L, Briaire de Bruijn IH et al. (2004) Enchondromatosis (Ollier disease, Maffucci syndrome) is not caused by the PTHR1 mutation p.R150 C. *Hum Mutat* 24: 466–473
- Rubin DA, Juppner H (1999) Zebrafish express the common parathyroid hormone/parathyroid hormone-related peptide receptor (PTH1R) and a novel receptor (PTH3R) that is preferentially activated by mammalian and fugu-fish parathyroid hormone-related peptide. *J Biol Chem* 274: 28185–28190
- Rubin LP, Kovacs CS, Paepe ME de, Tsai SW, Torday JS, Kronenberg HM (2004) Arrested pulmonary alveolar cytodifferentiation and defective surfactant synthesis in mice missing the gene for parathyroid hormone-related protein. *Dev Dyn* 230: 278–289
- Schipani E et al. (2003) PTHrP, PTH and the PTH/PTHrP receptor in endochondral bone development. *Birth Def Res (Part C)* 69: 352–362
- Schlüter K-D, Piper HM (1992) Trophic effects of catecholamines and parathyroid hormone on adult ventricular cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 263: H1739–H1746
- Schlüter K-D, Weber M, Piper HM (1997) Effects of PTH-rP(107–111) and PTH-rP(7–34) on adult cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 29: 3057–3065
- Schlüter K-D, Katzer C, Frischkopf K, Wenzel S, Taimor G, Piper HM (2000) Expression, release, and biological activity of parathyroid hormone-related peptide from coronary endothelial cells. *Circ Res* 86: 946–951
- Schordan E, Welsch S, Rothhut S et al. (2004) Role of parathyroid hormone-related protein in the regulation of stretch-induced renal vascular smooth muscle cell proliferation. *J Am Soc Nephrol* 15: 3016–3025
- Schorr K, Taimor G, Degenhardt H, Weber K, Schlüter K-D (2003) Parathyroid hormone-related peptide is induced by stimulation of α_1 -adrenoceptors and improves resistance against apoptosis in coronary endothelial cells. *Mol Pharmacol* 63: 111–118
- Sellers RS, LeRoy BE, Blomme EA, Tannehill-Gregg S, Corn S, Rosol TJ (2004a) Effects of transforming growth factor- β 1 on parathyroid hormone-related protein mRNA expression and protein secretion in canine prostate epithelial, stromal, and carcinoma cells. *Prostate* 58: 366–373
- Sellers RS, Luchin AI, Richard V, Brena RM, Lima D, Rosol TJ (2004b) Alternative splicing of parathyroid hormone-related protein mRNA: expression and stability. *J Mol Endocrinol* 33: 227–241
- Shen X, Qian L, Falzon M (2004) PTH-related protein enhances MCF-7 breast cancer cell adhesion, migration, and invasion via an intracrine pathway. *Exp Cell Res* 294: 420–433
- Shukeir N, Arakelian A, Chen G et al. (2004) A synthetic 15-mer peptide (PCK3145) derived from prostate secretory protein can reduce tumor growth, experimental skeletal metastases, and malignancy-associated hypercalcemia. *Cancer Res* 64: 5370–5377
- Simpson EL, Mundy GR, D'Souza SM, Ibbotson KJ, Bockman R, Jacobs JW (1983) Absence of parathyroid hormone messenger RNA in nonparathyroid tumors associated with hypercalcemia. *N Engl J Med* 309: 325–330

- Sneddon WB, Magyar CE, Willick GE et al. (2004) Ligand-selective dissociation of activation and internalization of the parathyroid hormone (PTH) receptor: Conditional efficacy of PTH peptide fragments. *Endocrinology* 145: 2815–2823
- Southby J, O'Keeffe LM, Martin TJ, Gillespie MT (1995) Alternative promoter usage and mRNA splicing pathways for parathyroid hormone-related protein in normal tissues and tumors. *Br J Cancer* 72: 702–707
- Stewart AF, Insogna KL, Goltzman D, Broadus AE (1983) Identification of adenylate cyclase-stimulating activity and cytochemical glucose-6-phosphate dehydrogenase-stimulating activity in extracts of tumors from patients with humoral hypercalcemia of malignancy. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 1454–1458
- Strewler GJ, Stern PH, Jacobs JW et al. (1987) Parathyroid hormone like protein from human renal carcinoma cells. Structural and functional homology with parathyroid hormone. *J Clin Invest* 80: 1803–1807
- Stuart WD, Maeda S, Khera P, Fagin JA, Clemens TL (2000) Parathyroid hormone-related protein induces G1 phase growth arrest of vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279: E60–E67
- Sugihara A, Maeda O, Tsuji M et al. (1998) Expression of cytokines enhancing the osteoblast activity, and parathyroid hormone-related protein in prostatic cancers before and after endocrine therapy: An immunohistochemical study. *Oncol Rep* 5: 1389–1394
- Sutliff RL, Weber CS, Qian J, Miller ML, Clemens TL, Paul RJ (1999) Vasorelaxant properties of parathyroid hormone-related protein in the mouse: evidence for endothelium involvement independent of nitric oxide formation. *Endocrinology* 140: 2077–2083
- Suva LJ, Mather KA, Gillespie MT et al. (1989) Structure of the 5' flanking region of the gene encoding human parathyroid-hormone-related protein (PTHrP). *Gene* 77: 95–105
- Symons C, Fortune F, Greenbaum RA et al. (1985) Cardiac hypertrophy, hypertrophic cardiomyopathy, and hyperparathyroidism – an association. *Br Heart J* 54: 539–542
- Takasu H, Guo J, Bringhurst FR (1999) Dual signaling and ligand selectivity of the human PTH/PTHrP receptor. *J Bone Miner Res* 14: 11–20
- Tanaka N, Ohno S, Honda K et al. (2005) Cyclic mechanical strain regulates the PTHrP expression in cultured chondrocytes via activation of the Ca²⁺ channel. *J Dent Res* 84: 64–68
- Thiede MA (1989) The mRNA encoding a parathyroid hormone-like peptide is produced in mammary tissue in response to elevations in serum prolactin. *Mol Endocrinol* 3: 1443–1447
- Thiede MA, Harm SC, Hasson DM, Gardner RM (1991) In vivo regulation of parathyroid hormone-related peptide messenger ribonucleic acid in the rat uterus by 17 beta-estradiol. *Endocrinology* 128: 2317–2323
- Thomson M, McCarroll J, Bond J, Gordon-Thomson CD, Williams E, Moore GP (2003) Parathyroid hormone-related peptide modulates signal pathways in skin and hair follicle cells. *Exp Dermatol* 12: 389–395
- Torday JS, Sanchez-Esteban J, Rubin LP (1998) Paracrine mediators of mechanotransduction in lung development. *Am J Med Sci* 316: 205–208
- Tovar-Seplveda VA, Falzon M (2002) Parathyroid hormone-related protein enhances PC-3 prostate cancer cell growth via both autocrine/paracrine and intracrine pathways. *Regul Pept* 105: 109–120
- Tucci J, Russell A, Senior PV, Fernley R, Ferraro T, Beck F (1996) The expression of parathyroid hormone and parathyroid hormone-related protein in developing rat parathyroid glands. *J Mol Endocrinol* 17: 149–57
- Uchida M, Yamamoto H, Nagai Y et al. (2001) Parathyroid hormone increases the expression level of matrix metalloproteinase-13 in vivo. *J Bone Min Res* 19: 207–212
- Usdin TB, Bonner TI, Harta G, Mezey E (1996) Distribution of parathyroid hormone-2 receptor messenger ribonucleic acid in rat. *Endocrinology* 137: 4285–4297
- Usdin TB, Hoare SR, Wang T, Mezey E, Kowalak JA (1999) TIP39: A new neuropeptide and PTH2-receptor agonist from hypothalamus. *Nat Neuroscience* 2: 941–943
- Usdin TB, Bonner TI, Hoare SR (2002) The parathyroid hormone 2 (PTH2) receptor. *Receptors Channels* 8: 211–218
- Usdin TB, Dobolyi A, Ueda H, Palkovits M (2003) Emerging functions for tuberoinfundibular peptide of 39 residues. *Trends Endocrinol Metab* 14: 14–19
- Vasavada RC, Garcia-Ocana A, Massfelder T, Dann P, Stewart AF (1998) Parathyroid hormone-related protein in the pancreatic islet and the cardiovascular system. *Recent Prog Horm Res* 53: 305–340
- Vilardaga JP, Krasel C, Chauvin S, Bambino T, Lohse MJ, Nissenson RA (2001) Internalization determinants of the parathyroid hormone receptor differentially regulate beta-arrestin/receptor association. *J Biol Chem* 277: 8121–8129
- Wenzel S, Schorr K, Degenhardt H et al. (2001) TGF- β 1 downregulates PTHrP in coronary endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol* 33: 1181–1190
- Werkmeister JR, Blomme EA, Weckmann MT et al. (1998) Effect of transforming growth factor-beta1 on parathyroid hormone-related protein secretion and mRNA expression by normal human keratinocytes in vitro. *Endocrine* 8: 291–299
- Williams ED, Leaver DD, Danks JA, Moseley JM, Martin TJ (1994) Effect of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) on the contractility of the myometrium and localization of PTHrP in the uterus of pregnant rats. *J Reprod Fertil* 102: 209–214
- Wlodek ME, Di Nicolantonio R, Westcott KT, Farrugia W, Ho PW, Moseley JM (2004) PTH/PTHrP receptor and mid-molecule PTHrP regulation of intrauterine PTHrP: PTH/PTHrP receptor antagonism increases SHR fetal weight. *Placenta* 25: 53–61
- Yamamoto M, Harm SC, Grasser WA, Thiede MA (1992) Parathyroid hormone-related protein in the rat urinary bladder: A smooth muscle relaxant produced locally in response to mechanical stretch. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 5326–5330
- Yamamoto S, Morimoto I, Zeki K et al. (1998) Centrally administered parathyroid hormone (PTH)-related protein(1–34) but not PTH(1–34) stimulates arginine-vasopressin secretion and its messenger ribonucleic acid expression in supraoptic nucleus of the conscious rats. *Endocrinology* 139: 383–388
- Yamamoto S, Morimoto I, Yanagihara N et al. (1997) Parathyroid hormone-related peptide-(1–34) [PTHrP-(1–34)] induces vasopressin release from the rat supraoptic nucleus in vitro through a novel receptor distinct from a type I or type II PTH/PTHrP receptor. *Endocrinology* 138: 2066–2072

- Yano S, Macleod RJ, Chattopadhyay N et al. (2004) Calcium-sensing receptor activation stimulates parathyroid hormone-related protein secretion in prostate cancer cells: Role of epidermal growth factor receptor transactivation. *Bone* 35: 644–672
- Yao A, Harada M, Matsueda S et al. (2005) New epitope peptides derived from parathyroid hormone-related protein which have the capacity to induce prostate cancer-reactive cytotoxic T lymphocytes in HLA-A2(+) prostate cancer patients. *Prostate* 62: 233–242
- Yasui T, Uemura H, Irahara M, Aono T (1997) Effects of transforming growth factor-beta on the production of parathyroid hormone-related peptide in a human ovarian cancer cell line in vitro. *J Obstet Gynaecol Res* 23: 231–238
- Ye Y, Wang C, Du P, Falzon M, Seitz PK, Cooper CW (2001) Overexpression of parathyroid hormone-related protein enhances apoptosis in the rat intestinal cell line, IEC-6. *Endocrinology* 142: 1906–1914
- Yoshizaki A, Nakayama T, Naito S, Sekine I (2004) Expression of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) and PTH/PTHrP-receptor (PTH/PTHrP-R) in gastrointestinal stromal tumours (GISTs), leiomyomas and schwannomas. *Scand J Gastroenterol* 39: 133–137
- Zajac JD, Callaghan J, Eldridge C et al. (1989) Production of parathyroid hormone-related protein by a rat parathyroid cell line. *Mol Cell Endocrinol* 67: 107–112
- Zhang B, Hosaka M, Sawada Y et al. (2003) Parathyroid hormone-related protein induces insulin expression through activation of MAP kinase-specific phosphatase-1 that dephosphorylates c-Jun NH2-terminal kinase in pancreatic beta-cells. *Diabetes* 52: 2720–2730
- Zondek H, Petrow H, Siebert W (1924) Die Bedeutung der Calciumbestimmung im Blute für die Diagnose der Niereninsuffizienz. *Z Klin Med* 99: 129–132