

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

tion of action designed for maintenance treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Tiotropium is the first drug specifically developed for the treatment of COPD, but it is also amongst the most expensive drugs used for this condition. The clinical pharmacology of tiotropium and results from published controlled clinical trials are reviewed. It is concluded that tiotropium seems suitable as a symptomatic treatment for patients with moderate to severe COPD (typically a forced expiratory volume FEV₁ <50% of the predicted volume), who despite optimal use of short acting bronchodilators still suffer from severe symptoms.

Reprints: *Peter Lange*, Lungemedicinsk Klinik, H:S Hvidovre Hospital, DK-2650 Hvidovre.

Antaget den 6. marts 2003.

H:S Hvidovre Hospital, Lungemedicinsk Klinik.

Litteratur

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. 2001. www.goldcopd.com/ november 2002.
2. Casaburi R, Briggs DD Jr., Donohue JF et al. The spirometric efficacy of once-daily dosing with tiotropium in stable COPD: a 13-week multicenter trial. The US Tiotropium Study Group. *Chest* 2000;118:1294-302.
3. Casaburi R, Mahler DA, Jones PW et al. A long-term evaluation of once-daily inhaled tiotropium in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2002;19:217-24.
4. Van Noord JA, Bantje TA, Eland ME et al. A randomised controlled comparison of tiotropium and ipratropium in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. The Dutch Tiotropium Study Group. *Thorax* 2000;55:289-94.
5. Vincken W, van Noord JA, Greefhorst AP et al. Improved health outcomes in patients with COPD during 1 yr's treatment with tiotropium. *Eur Respir J* 2002;19:209-16.
6. Donohue JF, van Noord JA, Bateman ED et al. A 6-month, placebo-controlled study comparing lung function and health status changes in COPD patients treated with tiotropium or salmeterol. *Chest* 2002;122: 47-55.
7. O'Connor BJ, Towse LJ, Barnes PJ. Prolonged effect of tiotropium bromide on methacholine-induced bronchoconstriction in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:876-80.
8. Boehringer Ingelheim International GmbH (D). Spiriva (tiotropium) – product monograph. Danmark: Boehringer Ingelheim International GmbH, maj 2002.
9. Produktresumé for Spiriva, inhalationspulver i kapsler. www.laegemiddelstyrelsen.dk/ november 2002.
10. Littner MR, Ilowite JS, Tashkin DP et al. Long-acting bronchodilation with once-daily dosing of tiotropium (Spiriva) in stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1136-42.
11. Maesen FP, Smeets JJ, Sledsens TJ et al. Tiotropium bromide, a new long-acting antimuscarinic bronchodilator: a pharmacodynamic study in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Dutch Study Group. *Eur Respir J* 1995;8:1506-13.
12. Burge PS, Calverley PM, Jones PW et al. Randomised, double blind, placebo controlled study of fluticasone propionate in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease: the ISOLDE trial. *BMJ* 2000; 320:1297-303.

Den humane calciumfølsomme receptors rolle i sygdom og mål for terapi

Jacob Tfelt-Hansen & Peter Schwarz

Resumé

Den calciumfølsomme receptor (CaR) er en G-protein-koblet receptor, hvis vigtigste rolle det er at regulere parathyroideakirtlernes syntese og sekretion af parathyroideahormon (PTH). CaR er påvist ikke blot i glandulae parathyroidea, men også i såvel knogle, nyre- som tarmvæv; de tre hovedorganer i calciumhomeostasen hos mennesker. Det er påvist i flere væv, både i normalt og malignt væv, at CaR kan regulere såvel differentiering, proliferation som membranpotentialer. Mutationer i CaR kan medføre forstyrrelser i calciumhomeostasen og sygdom. Mutationer, der øger følsomheden, er årsag til en familiær form for hypokalcaemi, mens en nedsat følsomhed forårsager en tilstand med hyperkalcaemi. Helt nyt er fundet af autoimmune antistoffer imod CaR, der giver et klinisk billede, der ligner de inaktiverende CaR-mutationer. CaR er i sekundær hyperparatyroidisme blevet et behandlingsmål, hvor der udvikles nye farmaka til stimulation af den calciumfølsomme receptor med henblik på normalisering af calciumhomeostasen.

Den calciumfølsomme receptors rolle i calciumhomeostasen hos mennesker

Den calciumfølsomme receptor (CaR) hos mennesker, der er beslægtet med den metatropiske glutamatreceptor og den gamma-butyric-acid (GABA) receptor, blev fundet ved ekspressionskloningsteknik af *E.M. Brown et al* i 1993 [1]. CaR er en G-proteinkoblet receptor (GPKR), der er karakteriseret ved et stort ekstracellulært domæne bestående af ca. 600 aminosyrer samt et ca. 200 aminosyrer stort transmembrant domæne, der, som det er karakteristisk for GPKR, går syv gange igennem cellemembranen, og endelig et ca. 200 aminosyrer stort intracellulært domæne (**Fig. 1**). CaR virker som en »calcium-termostat« i parathyroideacellerne. CaR har en meget lav affinitet over for liganden, den ekstracellulære ioniserede calciumion (Ca²⁺_o), hvilket betyder, at CaR kan registrere meget små ændringer i Ca²⁺_o. Når Ca²⁺_o-koncentrationen stiger, hæmmer CaR parathyroideahormon (PTH)-sekretionen fra

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

glandulae parathyroidea ved hjælp af en hæmning i den cykliske adenosin monofosfat-produktion [2] (Fig. 2). Det deraf følgende lavere serum-PTH-niveau hæmmer den tubulære calciumreabsorptionen i nyrerne og osteoklasternes resorption af knoglematrix. Det Ca^{2+} -øgende hormon calcitonin stimuleres af CaR. I nyrerne har CaR, ud over en indirekte effekt via PTH, en egen funktion i flere segmenter i nefronet. I distale nyretubulus er CaR udtrykt basolateralt, og en hæmmende effekt på calciumreabsorptionen er påvist. I nyrenes samlerør i den indre marv er CaR udtrykt på den apikale cellevæg og virker ved at hæmme vandreabsorptionen ved højt calciumniveau i filtratet [3], hvilket kan tænkes at være en beskyttende mekanisme mod calciumholdige nyresten. Dette kan måske forklare hyperkalcæmiske patienters reducerede evne til at koncentrere urin.

Menneskets knogler indeholder over 99% af kroppens samlede calcium. Ud over at være støtteorgan og calciumreservoir har knoglerne rollen som medspiller i calciumhomeostasen. CaR er påvist i knoglernes osteoblaster og i osteoklaster. Det er vist, at øget Ca^{2+} hæmmer osteoklastaktiviteten og dermed knogleresorptionen, og det er samtidig vist, at øget Ca^{2+} hæmmer osteoblastaktiviteten og dermed knogleformationen. Om disse effekter er CaR-medieret er uklart. En rolle som lokal calciumregulator på knoglernes cellefunktion synes at være sandsynlig.

I calciumhomeostasen hos mennesker medvirker også mave-tarm-systemet, hvor tilstedeværelsen af CaR er påvist. Betydningen af CaR i mave-tarm-cellerne, kryptceller, fibroblaster og blodkar er ikke endeligt klarlagt.

Om end CaR's fuldstændige funktion i nyrevæv, mave-tarm-væv og gl. parathyroideavæv ikke er kendt, indtager CaR med sikkerhed en central rolle i kroppens calciumhomeostase.

CaR er påvist i en række væv, som ikke synes at deltage i calciumhomeostasen hos mennesker. Betydningen heraf er endnu ukendt og uden for denne oversigts fokus.

Celledifferentiering, -proliferation og apoptose samt sekretion af peptidhormoner er velbelyst. Vores gruppe arbejder på at belyse CaR's rolle i humoral hyperkalcæmi ved malignitet, hvor tidligere observationer fra vores gruppe har vist, at der er en calciumkoncentrationsafhængig parathyroideahormonrelateret peptid (PTHrP)-sekretion fra Leydig tumorceller [4, 5].

Sygdomme hvor den calciumfølsomme receptor spiller en rolle

CaR medvirker i patofysiologien ved flere kendte sygdomme. CaR's betydning kan være betinget af: 1) en eller flere mutationer i CaR, således at receptorens følsomhed over for Ca^{2+} ændres. Disse ændringer, der kan medføre såvel en opsom nedregulering af CaR-følsomheden, vil kunne medføre kendte sygdomme med ændringer i calciumhomeostasen (f.eks. familiær hypokalcæmi og familiær hypokalciurisk

hyperkalcæmi [FHH]). 2) Funktionelle autoantistoffer mod CaR, resulterende i syndromer, der ligner de syndromer, som de inaktiverende mutationer kan medføre. 3) CaR-polymorfier, der er fundet at have sammenhæng med ændringer i calciumhomeostasen og knoglehomeostasen og dermed knoglemassen (BMD).

Ad 1. Mutationer i CaR

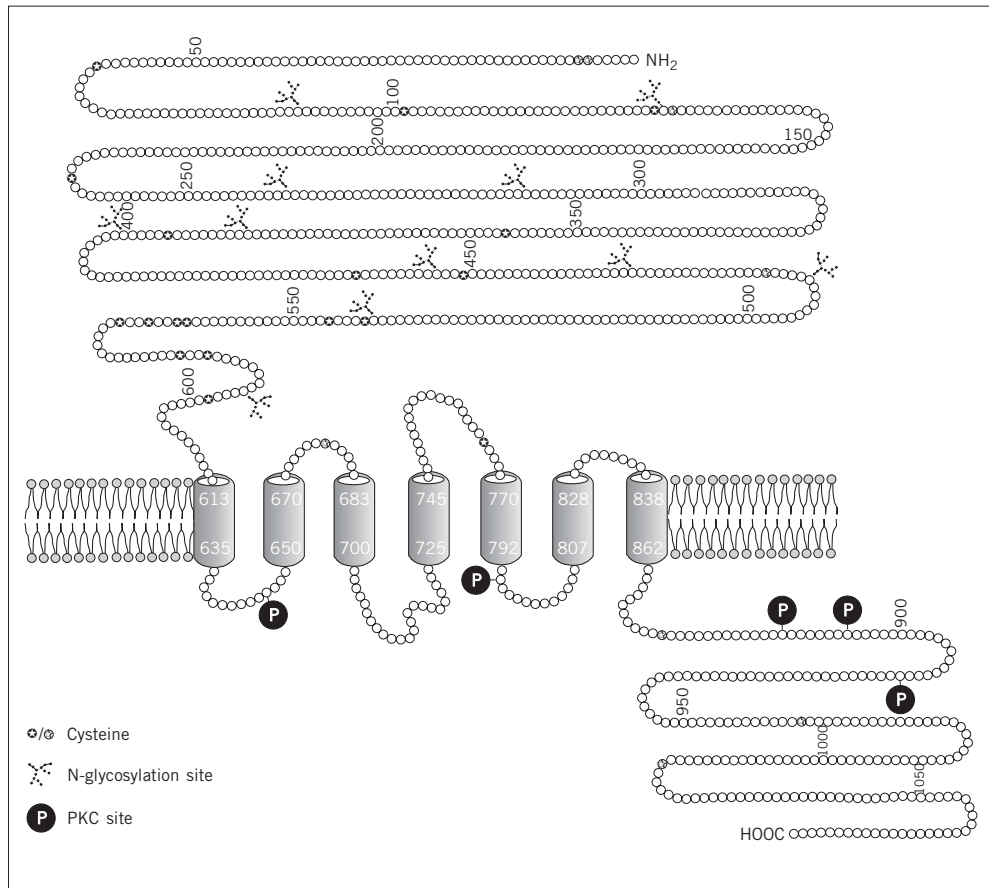
Mutationer, der medfører en nedsat følsomhed for Ca^{2+} i CaR, resulterer i to velbeskrevne sygdomme, familiær hypokalciurisk hyperkalcæmi (FHH) (online Mendelian inheritance in Man [MIM] # 145980) og neonatal svær hyperparatyroidisme (NSHPT) (MIM # 239200).

FHH er en autosomal dominant sygdom, som skyldes en heterozygot mutation, som findes hos ca. 1 af 10.000 personer. Forskellige mutationer giver forskelle i den kliniske sværhedsgrad af hyperkalcæmien. Det typiske kliniske billede er en asymptomatisk hyperkalcæmi, der bliver fundet som et bifund ved screeningsblodprøver eller som screening af pårørende til patienter med den klinisk alvorlige NSHPT. Biokemisk findes en relativt høj serum-PTH-koncentration i forbindelse med patientens hyperkalcæmi, hvilket er udtryk for et ændret calcium-set-point (Fig. 2). Det lave calciumniveau i urinen er et nøglediagnostisk fund og er differentialdiagnostisk vigtigt over for primær hyperparatyroidisme (PHPT), hvor calcium ofte findes højt ved såvel serum- som urinbestemmelse. Den bedste parameter til at skelne FHH fra PHPT er ratioen mellem urincalcium-clearance og urinkreatinin-clearance (Ca/Cr). Er værdien under 0,01 bekræfter det FHH-diagnosen. FHH-patienterne er desuden ofte karakteriseret ved et let forhøjet serum-magnesium-niveau og normale serumværdier af fosfor og vitamin D. Det kliniske sygdomsforløb er oftest benignt; men patienterne bør følges regelmæssigt med bestemmelse af biokemi. Der findes ingen kurativ behandling; men alene symptomatisk behandling ved kliniske manifestationer (depression, obstipation).

NSHPT er den homozygote (mutationer i begge CaR-alleler) tilstand af FHH. Det kliniske forløb af NSHPT er helt anderledes dramatisk med en debut inden for de første seks levemåneder med en ofte livstruende PTH-afhængig hyperkalcæmi og svære knogleforandringer. Børnene trives dårligt, tager ikke på, ofte tager de dårligt føde til sig. NSHPT-børn har oftest hypotoni, polyuri og lider af dehydrering. Deres knoglesygdom viser sig ved, at de får osteopenia- og rachitislignende forandringer samt evt. multiple frakturer i brystkassen. Biokemisk har de hyperkalcæmi, hyperparatyroidisme og relativ hypokalciuri. Totalcalciumniveauet kan variere fra moderat forhøjet (3 mM) til 7,75 mM, i ekstreme tilfælde (referenceværdier: fra 2,3 til 2,7 mM). Serum-PTH er ofte ti gange højere end den øvre normalgrænse. Behandlingen er oftest total paratyroidektomi tidligt i det nyfødte barns liv [6]. Indledningsvist blev det anført i den klassiske definition af NSHPT, at NSHPT er den homozygote form af FHH. Imid-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Fig. 1. Schematic representation of the principal predicted topological features of the extracellular Ca^{2+} -sensing receptor cloned from human parathyroid glands. The extracellular domain contains 612 amino acids, and the transmembrane domain and intracellular c-tail each contains approximately 200 amino acids. Also shown are the PKC sites, the N-glycosylation site and the cysteine residues.



lertid er tilstanden mere kompleks idet der findes heterozygote patienter med et klinisk billede som NSPTH, mens resten af familien med samme mutation har klinisk FHH som vist af bl.a. *Schwarz et al* [7]. Klinisk er det overraskende, at voksne patienter med calciumniveauer på 3,75-4,25 mM med en genetisk homozygot konstellation er fundet asymptomatiske. Dette viser, at det kliniske spektrum af sygdomme med nedsat følsomhed i CaR er ganske bredt. Selv om en FHH-patient er fundet at være uden symptomer på sin hypercalcæmi, er den genetiske rådgivning omkring mutationer i CaR vigtig for kommende forældre med FHH.

Mutationer i CaR kan ligeledes medføre en tilstand med let hypocalcæmi, en ofte asymptomatisk tilstand, betegnet autosomal dominant hypoparathyroidisme (MIM# 601298). Patienterne bliver tilfældigt opdaget ved biokemisk screening, hvor der bliver fundet mild til moderat hypocalcæmi og samtidig en ufysiologiske lav serum-PTH-koncentration (Fig. 2) i det nedre normalområde. Samtidig kan der påvises en relativ eller regulær hypercalcuri. Bestemmelsen af urincalcium-clearance og urinkreatinin-clearance (Ca/Cr)-ratioen er også her af værdi og synes diagnostisk at være mere sikker end den absolutte urincalciumkoncentration. Autosomal dominant hypoparathyroidisme kan klinisk vise sig med symptomer på hypocalcæmi, herunder kramper eller renale

komplikationer såsom nyresten, nefrokalcinose eller nyreinsufficiens. Behandlingen er i langt de fleste tilfælde konservativ, men tilstanden kan være vigtig at diagnosticere, da iatrogen calcium- og vitamin D-tilskud med henblik på korrektion af tilstanden kan medføre nyrekomplikationer.

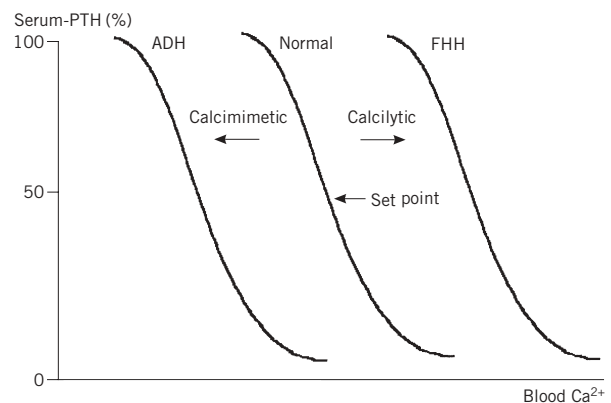


Fig. 2. Sigmoid relation between the blood Ca^{2+} and the serum PTH levels in eucalcemia, in familial hypocalcemic hypercalcemia (FHH) and in autosomal dominant hypoparathyroidism (ADH) and the therapeutic effect of the calcimimetic (shifting set point to the left) and the calcilytic (shifting set point to the right). The set point is defined as the calcium level which inhibits the PTH secretion to 50% of the maximal secretion.

En løbende opdateret database for mutationer i CaR findes på hjemmesiden www.data.mch.mcgill.ca/casrdb/

Ad 2. Autoimmun sygdom

Idiopatisk hypoparathyroidisme (IHP) er en sygdom med hypokalcæmi pga. lav PTH-sekretion af ukendt årsag. Man har i flere studier fundet, at en del IHP-tilfælde skyldes autoimmune antistoffer mod CaR. De autoimmune antistoffer virker som antagonist på receptoren, hvilket medfører en øget hæmning af PTH-sekretionen fra parathyroideakirtlerne på samme måde som virkningen af en inaktiverende mutation i CaR. *Blizzard et al* har vist, at 28 ud af 74 patienter med IHP havde antistoffer mod CaR. I et helt nyt arbejde fra vores gruppe er det fundet, at et klinisk billede lig FHH skyldes autoimmune antistoffer, og samtidig er det fundet, at der var en association til andre autoimmune sygdomme som coeliaki og Hashimotos thyriditis.

Ad 3. CaR-polymorfier

Polymorfier er mutationer i CaR-genet, mutationer, der resulterer i ændringer i en enkelt aminosyrer. Aminosyreændringen er umiddelbart uden betydning for receptorens funktion. Fundet af tre sådanne benigne polymorfier har betydet øget forskningsfokus på CaR mhp. at belyse betydningen af disse fund. I to canadiske studier fandt man en ændring i et intracellulært domæne, aminosyren A986S, hvor aminosyren alanin er byttet ud med aminosyren serin hos 16% af den canadiske befolkning. Denne polymorfi medfører, at Ca^{2+}_o er 0,02 mM højere hos denne gruppe end hos baggrundsbefolkningen [8]. I et svensk studie vises det, at den samme polymorfi ligeledes giver anledning til et forhøjet Ca^{2+}_o -niveau hos unge kvinder. Forfatterne kunne dog ikke finde nogen sammenhæng med knoglemassen (BMD). En sammenhæng mellem en polymorfi og lav BMD er dog påvist i et arbejde af *Tsukamoto et al*, hvor man hos en gruppe ældre japanske postmenopausale kvinder i alderen 73 år \pm 6 år med en CaR-polymorfi fra 12 CA til 20 CA gentagelser fandt en korrelation til en lavere BMD. Betydningen af den lavere BMD i dette studie er ikke belyst; studier af frakturincidens skal belyse den kliniske betydning af dette fund.

CaR som muligt terapeutisk mål

Kloningen af CaR og de efterfølgende studier af CaR's betydning for calciumhomeostasen har medført, at der er blevet udført studier inden for medicinsk behandling af calciummetabolisk dysfunktion. De farmakologiske produkter betegnes calcimimetika, og de virker som agonister på CaR. Tre studier af farmakologiske produkter betegnet NPS R-467, NPS R-568 og AMG 073 foreligger. Alle tre farmaka virker som allosteriske modulatorer på det CaR-transmembrane domæne. Calcimimetikas rolle som fremtidig medicinsk behandling af primær hyperparatyroidisme (PHPT) og sekundær hyperparatyroidisme (SHPT) synes at være lovende. PHPT er karakteri-

seret ved PTH-overproduktion, som oftest er forårsaget af et benignt adenom eller sjældnere af hyperplasi af hovedcellerne i parathyroideakirtlerne. Det skal her nævnes, at CaR er fundet nedreguleret i hovedcellerne ved såvel PHPT som ved SHPT. Betydningen af disse observationer debatteres aktuelt. Ved både PHPT og SHPT er calcium-*set-point* forrykket mod højre (Fig. 2). Forsøgsmedicinen NPS R-568 er i et korttidsstudie undersøgt på 20 postmenopausale kvinder med PHPT.

Undersøgelsens resultater viser, at serum-PTH-koncentrationen dosisafhængigt kan sænkes med op til 51%. I en kasuistisk meddelelse er der berettet om en ældre mandlig patient med parathyroideakarcinom, der blev behandlet med NPS R-568. Behandlingen har fundet sted i mere end 600 dage og viser en reduktion i serumtotalcalciumniveauet til et klinisk acceptabelt niveau uden samtidige uacceptable bivirkninger. SHPT på uræmisk baggrund menes at være forårsaget af lavt 1,25(OH)₂-vitamin-D, fosfatretention og deraf følgende hypokalcæmi. I et studie er effekten af NPS R-568 undersøgt ved to dages behandling af syv hæmodialysepatienter med kendt uræmibetinget SHPT.

Resultaterne i dette studie har vist et fald i serum-PTH-koncentrationen hos såvel syv patienter behandlet med en lav dosis NPS R-568 (40-80 mg) som hos syv patienter behandlet med en høj dosis (120-200 mg). Efter to timers behandling steg serum-PTH-koncentrationen gradvist igen, men forblev signifikant under basisniveauet. *Goodmann et al* fulgte 21 patienter i hæmodialyse i en randomiseret, dobbeltblindet, placebokontrolleret undersøgelse i 15 dage. Patienterne blev behandlet med NPS R-568 én gang dagligt [9]. Dette studie viste også et hurtigt fald i serum-PTH med en reduktion på op til 78%. Serum-PTH før den daglige dosis NPS R-568 faldt signifikant gennem de første ni dage for derefter at være stabil de sidste seks døgn af undersøgelsen. Intolerable bivirkninger optrådte imidlertid hos godt 25% af patienterne. Fem af 21 patienter trak sig ud af undersøgelsen på grund af hypokalcæmisymptomer [9]. *Goodmann et al's* konklusion er, at calcimimetika skal optitreres for at undgå en for kraftigt indsættende effekt af farmakonet og dermed intolerable bivirkninger. Præparaterne NPS R-467 og NPS-568 er førstegenerationscalcimimetika, der ud over ovennævnte mulige bivirkninger også er vist at blive langsomt metaboliseret hos 6% af befolkningen. Disse personer (*slow-metabolisers*) metaboliserer stofferne langsommere end resten af befolkningen pga. normal variation i leverens nedbrydningszymer, cytochrom P₄₅₀. Over for NPS R-467 og NPS-568 står forsøgsstoffet AMG 073, der ikke metaboliseres vha. de samme leverenzymmer og derfor ikke er fundet hos slow-metabolisers i befolkningen.

I et nyligt publiceret studie med 52 patienter med SHPT på uræmisk baggrund viste man, at AMG 073 har samme serum-PTH-koncentrationssænkende effekt som NPS R-568 [10].

I studiet vistes det således, at serum-PTH-koncentrationen

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

faldt med op til 55% af udgangsniveauet. Calcium × fosfatproduktet, som menes at give mange af komplikationerne til SHPT på uræmisk baggrund, faldt ligeledes signifikant.

Konklusion

Kloningen af CaR er en milepæl i forståelsen af den normale calciumhomeostase. Samtidig har fundet af CaR medført en øget forståelse af, hvilke patofysiologiske forhold der medvirker ved calciummetabolisk sygdom.

Med kloningen af CaR er der skabt mulighed for udvikling af førstegenerationscalcimimetika der i nær fremtid vil kunne indgå som medicinsk behandlingstilbud til patienter med PHPT. Hvorvidt disse farmaka sammen med 1,25(OH)₂-vitamin-D også vil kunne få en plads i forebyggelsen af SHPT synes at ligge lidt længere ude i fremtiden.

Summary

Jacob Tfelt-Hansen & Peter Schwarz:

The human calcium-sensing receptor's role in illness and targets for therapy.

Ugeskr Læger 2003;165:2283-7.

The role of the calcium-sensing receptor (CaR), a G-protein-coupled receptor, is that of a calcium thermostat. The receptor regulates the synthesis and the secretion of the parathyroid hormone. The CaR is expressed not only in the parathyroid glands but also in the gut, the kidneys, and the bone cells. These three organs are the major components in the calcium homeostasis. The CaR regulates cell differentiation, proliferation, and membrane potentials in many other tissues both normal and malignant. Functionally important mutations in the CaR lead to changes in the calcium homeostasis and diseases. Mutations which improve the sensitivity lead to a familial form of hypocalcemia, while mutations which decrease the sensitivity cause hypercalcemia. Interestingly, reports on autoimmune antibodies causing a state of hypercalcemia have just been published. In secondary hyperparathyroidism the CaR has now become a target for treatment.

Reprints: *Peter Schwarz*, Klinisk Biokemisk Afdeling 339, H:S Hvidovre Hospital, DK-2650 Hvidovre. E-mail: Schwarz@dadlnet.dk

Antaget den 30. januar 2003.

Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA, Brigham & Women's Hospital, Endocrine and Hypertension Division, og H:S Hvidovre Hospital, Forskningsenheden for Osteoporose og Metaboliske Knoglesygdomme, Klinisk Biokemisk Afdeling og Endokrinologisk Klinik.

Vi takker Den Tværfaglige Styregruppe for Kræftens Bekæmpelse, Finsenscentret, H:S Rigshospitalet, for økonomisk støtte.

Nedentående oversigt bygger på en større litteraturgennemgang end litteraturlistens ti numre. En fuldstændig referenceliste kan rekvireres fra forfatterne.

Litteratur

1. Brown EM, Gamba G, Riccardi D et al. Cloning and characterization of an extracellular Ca(2+)-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature* 1993;366:575-80.
2. Tfelt-Hansen J, Schwarz P, Tørring O. PTH and ionized calcium changes to

oral calcium and D-vitamins in healthy premenopausal women. *Scand J Clin Lab Invest* 2001;61:395-400.

3. Sands JM, Naruse M, Baum M et al. Apical extracellular calcium/polyvalent cation-sensing receptor regulates vasopressin-elicited water permeability in rat kidney inner medullary collecting duct. *J Clin Invest* 1997; 99:1399-405.
4. Sanders JL, Chattopadhyay N, Kifor O et al. Extracellular calcium-sensing receptor (CaR) expression and its potential role in parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) secretion in the H-500 rat Leydig cell model of humoral hypercalcemia of malignancy. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;269:427-32.
5. Tfelt-Hansen J, MacLeod RJ, Chattopadhyay N et al. Calcium-sensing receptor stimulates PTHrP secretion by PKC dependent p38 pathway. *J Bone Miner Res* 2002; 17, (suppl 1), M444, S494.
6. Cole DE, Janicic N, Salisbury SR et al. Neonatal severe hyperparathyroidism, secondary hyperparathyroidism, and familial hypocalciuric hypercalcemia: multiple different phenotypes associated with an inactivating Alu insertion mutation of the calcium-sensing receptor gene. *Am J Med Genet* 1997;71:202-10.
7. Schwarz P, Larsen NE, Lonborg Friis IM et al. Familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism associated with mutations in the human Ca2+-sensing receptor gene in three Danish families. *Scand J Clin Lab Invest* 2000;60:221-7.
8. Cole DE, Vieth R, Trang HM et al. Association between total serum calcium and the A986S polymorphism of the calcium-sensing receptor gene. *Mol Genet Metab* 2001;72:168-74.
9. Goodman WG, Frazao JM, Goodkin DA et al. A calcimimetic agent lowers plasma parathyroid hormone levels in patients with secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2000;58:436-45.
10. Goodman WG, Hladik GA, Turner SA et al. The Calcimimetic Agent AMG 073 Lowers Plasma Parathyroid Hormone Levels in Hemodialysis Patients with Secondary Hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:1017-24.