

成長ホルモン (GH) 産生腺腫における AIP 遺伝子異常の解析

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部分子薬理学分野	吉本勝彦
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部分子薬理学分野	岩田武男
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部分子薬理学分野	水澤典子
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部人体病理学分野	佐野壽昭
虎の門病院内分泌センター間脳下垂体外科	山田正三

はじめに

GH 産生腺腫の約半数に *Gsa* 変異¹⁾ が、また一部の GH 産生腺腫にがん抑制遺伝子のメチル化異常²⁾ が認められるが、残りの GH 産生腺腫の腫瘍化機構は全く不明である。家族性 GH 産生腺腫の原因遺伝子については、腫瘍におけるヘテロ接合性の消失 (LOH) の解析を手がかりに染色体位置が推測されてきた。その結果、第 11 染色体長腕 13 領域 (11q13) に共通した LOH を認めることより、同部位に原因遺伝子が局在すること、また同部位に位置する *MEN1* 遺伝子には胚細胞変異は認められないことが明らかにされていた^{3,5)}。最近、フィンランドの家族性 GH 産生腺腫家系の解析により 11q13 に位置する aryl hydrocarbon receptor interacting protein (AIP) 遺伝子が原因遺伝子であること、しかも孤発性 GH 産生腺腫と診断された症例においても高頻度に AIP 遺伝子の胚細胞変異が認められることが報告された⁶⁾。

本研究は、我が国における家族性 GH 産生腺腫家系 1 家系と孤発性 GH 産生腺腫の AIP 遺伝子変異を解析することにより、GH 産生細胞の腫瘍化機序を解明することを目的とする。

症例および研究方法

1. 家族性 GH 産生腺腫家系

本家系の臨床データについては報告済みである^{4,5)}。図 1 に示すように II-2、II-3 の兄弟、および母方の叔父である I-3 が巨人症の症候を示し、II-2、II-3 は下垂体腺腫摘出術を、I-3 は放射線照射を受けている。II-2 の GH 産生腺腫、II-3 の GH およびプロラクチン (PRL) 産生腺腫において、健康な父親由来の 11q13 の対立遺伝子の LOH を認めた。しかし、本家系においては *MEN1* の胚細胞変異は認められなかった。

2. 孤発性 GH 産生腺腫症例

先端巨大症あるいは巨人症の症候を示し、下垂体腺腫摘出術を受けた40例の臨床データを表1に示す。これらの症例において、家系員に下垂体腺腫は認められない。

3. GH産生腺腫および白血球からのゲノムDNA抽出およびAIP遺伝子解析用プライマーゲノムDNAの抽出は常法に従った。AIP遺伝子解析用プライマーは既報に従い、5種のプライマーペアを用いて、コーディング領域およびエクソン・イントロン境界域を含めて増幅した。

4. 塩基配列決定

各PCR産物を用いて直接塩基配列決定法により腺腫のAIP遺伝子の塩基配列を決定した。遺伝子変化が認められる場合には、対応する患者白血球の塩基配列変化を検討した。

結果

1. 家族性 GH 産生腺腫家系における AIP 遺伝子の胚細胞変異

本家系においてAIP遺伝子のエクソン3内でc.286-287delGTの胚細胞変異を認めた。この変異はフレームシフトをおこし、短縮型のAIP蛋白を生じることとなる。この変異は家系内の巨人症症例3名(II-2、II-3、I-3)のみならず、非先端巨大症・巨人症症例でも変異が認められなかった。しかし、この変異は健康な父親(I-1)では認められなかった。

2. 家族性 GH 産生腺腫の2個の腺腫における AIP 遺伝子の2つの対立遺伝子の不活化

2個の腺腫において、c.286-287delGTの胚細胞変異に加えて、野生型の対立遺伝子のLOHが認められた。この結果は、2個の腺腫ともに、AIP遺伝子は不活化し、野生型AIPが産生されないことを示している。

3. 孤発性 GH 産生腺腫症例における AIP 遺伝子変異

40例の孤発性GH産生腺腫においてはAIP遺伝子の体細胞変異は認められなかった。しかし、既報の一塩基多型であるc.516C>Tを12例の患者において検出した。その

他、3種の遺伝子変化 (c.135C>T、c.145G>A、c.1053G>C) を認めたが、この変化はいずれも患者白血球で認められた。c.135C>Tはアミノ酸の置換を伴わない変化で1例に認められた。c.1053G>Cは3' 非翻訳領域における変化で2例に認められた。c.145G>Aの変化は28歳の巨人症症例(表1のNo. 35)に認められ、V 49 Mのアミノ酸置換を伴う。この症例においてはGH産生腺腫の明らかな家族歴はない。また、本症例のGH産生腺腫において野生型の対立遺伝子は保持されていた。

考察

2006年にフィンランドのグループにより、pituitary adenoma predisposition (PAP)と命名された疾患(家族性にGH産生腺腫、GH・PRL産生腺腫およびPRL産生腺腫を来すが、低い浸透率を示す疾患である。本疾患は臨床的には、従来から提唱されていた家族性GH産生腺腫と同一あるいは一部重なる疾患である可能性が高い。)において、AIP遺伝子にQ14Xのナンセンス変異が認められた。この変異は家系内の健康人には認められず、下垂体腺腫を有する症例にのみ認められた⁶⁾。

本研究で検出されたc.286-287delGTの胚細胞変異は家系内の3名の巨人症症例の他に、血清GHおよびIGF-1値が正常である母親や長兄(図1のI-2およびII-1)に認められた。この結果は、本家系における11q13領域のハプロタイプ解析の結果と一致している。また、胚細胞変異を有していても症候を示していない点で、VierimaaらのPAPにおける低浸透率と一致している。AIP遺伝子と表現型に関して年齢に応じた正確な評価が求められる。

本研究で解析した2つの腺腫ともにAIPの胚細胞変異とLOHが認められることから、AIPの機能消失が、本家系におけるGH産生腺腫の発症に関与していると考えられる。

AIPはhsp90とaryl hydrocarbon receptorと結合して、この複合体の安定性を高める⁷⁾。またphosphodiesteraseやsurvivinと結合することが知られているが、どのような機序で癌抑制に作用しているかは不明である。

Vierimaaらは孤発性GH産生腺腫症例の解析において16%に、特に35歳以下の症例においては40%にAIP遺伝子の胚細胞変異を認めている⁶⁾。そこで我が国における孤発性GH産生腺腫の40症例について解析したところ、1例にV 49 Mの変化を認めたのみである。この変化がAIPの機能喪失に関与しているか否かは今後の検討課題である。

以上、家族性GH産生腺腫1家系においてAIPの胚細胞変異を認めた。2つの腺腫で

はいずれも AIP 遺伝子の不活化が確認された。40 例の孤発性 GH 産生腺腫においては、AIP 遺伝子の体細胞変異および胚細胞変異を認めないことより、我が国の孤発性 GH 産生腺腫においては AIP は腫瘍化に関与していない可能性が高い。

文献

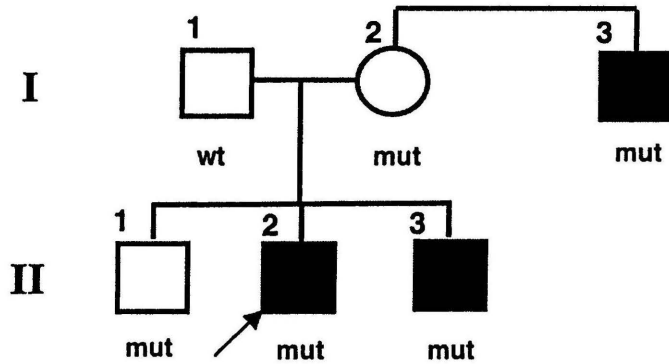
1. Yamasaki, H., Mizusawa, N., Nagahiro, S., Yamada, S., Sano, T., Itakura, M. & Yoshimoto, K. (2003) GH-secreting pituitary adenomas infrequently contain inactivating mutations of PRKAR1A and LOH of 17q23-24. *Clin Endocrinol (Oxf)* 58: 464-470.
2. Qian, Z.R., Sano, T., Yoshimoto, K., Yamada, S., Ishizuka, A., Mizusawa, N., Horiguchi, H., Hirokawa, M. & Asa SL. Inactivation of RASSF1A tumor suppressor gene by aberrant promoter hypermethylation in human pituitary adenomas. (2005) *Lab Invest* 85: 464-473.
3. Soares, B.S., Eguchi, K. & Frohman, L.A. (2005) Tumor deletion mapping on chromosome 11q13 in eight families with isolated familial somatotropinoma and in 15 sporadic somatotropinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 6580-6587.
4. Yamada, S., Yoshimoto, K., Sano, T., Takada, K., Itakura, M., Usui, M. & Teramoto, A. (1997) Inactivation of the tumor suppressor gene on 11q13 in brothers with familial acrogigantism without multiple endocrine neoplasia type 1. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 239-242.
5. Tanaka, C., Yoshimoto, K., Yamada, S., Nishioka, H., Ii, S., Moritani, M., Yamaoka, T. & Itakura, M. (1998) Absence of germline mutations of the multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) gene in familial pituitary adenoma in contrast to MEN1 in Japanese. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 960-965.
6. Vierimaa, O., Georgitsi, M., Lehtonen, R., Vahteristo, P., Kokko, A., Raitila, A., Tuppurainen, K., Ebeling, T.M., Salmela, P.I., Paschke, R., Gundogdu, S., De Menis, E., Makinen, M.J., Launonen, V., Karhu, A. & Aaltonen, L.A. (2006) Pituitary adenoma predisposition caused by germline mutations in the AIP gene. *Science* 312: 1228-1230.
7. Carver, L.A. & Bradfield, C.A. (1997) Ligand-dependent interaction of the aryl hydrocarbon receptor with a novel immunophilin homolog in vivo. *J Biol Chem* 272: 11452-11456.

表 1 孤発性 GH 産生腺腫の臨床所見

症例 No.	性	診断時年齢	GH($\mu\text{g/l}$)	PRL($\mu\text{g/l}$)	Hardy 分類
1	male	48	32.5		II-O
2	male	71	38.2		I-O
3	male	56	24		I-O
4	male	32	14		I-O
5	female	79	13		I-O
6	female	54	795.2		III-C
7	female	20	134.6		IV-B
8	female	33	33.7	21.8	III-B
9	female	31	2.2		III-B
10	female	29	135.2		IV-B
11	male	40	34.2		III-B
12	female	41	29.1		IV-B
13	female	26	16		III-C
14	male	34	22		III-O
15	female	26	23		II-O
16	female	28	78		III-C
17	female	65	4.7		I-O
18	female	36	46	26.1	III-B
19	male	42	11		III-O
20	male	46	47		III-A
21	male	38	80		III-A
22	male	73	9		I-O
23	male	25	78.5		II-A
24	male	43	22		III-A
25	male	59	67		II-A
26	female	30	38		IV-B
27	male	63	17		III-A
28	male	28	60	38.3	III-A
29	male	42	112		III-O
30	female	45	5.7		II-O
31	female	64	22		II-O
32	male	48	43		III-O
33	male	56	35.9		II-A
34	female	67	104	42.4	III-O
35	male	28	80	24.8	III-O
36	male	63	7.8		I-O
37	male	51	7.1		I-O
38	male	47	370		III-O
39	male	38	28	28	III-O
40	female	70	25		III-A

図 1

家族性 GH 産生腺腫家系



家族性 GH 産生腺腫家系の家系図。

家系員について、世代はローマ数字で、個人はアラビア数字で示している。男性は四角、女性は丸で示している。発端者は矢印で、黒塗りのシンボルは患者を、白塗りのシンボルは無症候の人を示す。AIP 遺伝子において、変異をみとめたものを mut、野生型のものを wt で示す。