

## 孤発性下垂体腺腫におけるマイクロサテライト解析による 第11染色体のヘテロ接合性消失の検出

吉本勝彦\*<sup>1</sup> 田中知里\*<sup>1</sup> 木村建彦\*<sup>2</sup> 岩花弘之\*<sup>1</sup>  
山田正三\*<sup>4</sup> 佐野壽昭\*<sup>3</sup> 板倉光夫\*<sup>1</sup>

\*<sup>1</sup>徳島大学医学部臨床分子栄養学

\*<sup>2</sup>同 第一内科 \*<sup>3</sup>同 第一病理

\*<sup>4</sup>虎の門病院脳神経外科

### はじめに

下垂体腫瘍は家族性発症が認められない孤発性腺腫がほとんどを占める。遺伝性を示す多発性内分泌腫瘍症1型(MEN1)に伴う下垂体腫瘍は全体の約1%程度で、さらに副甲状腺腫瘍や膵内分泌腫瘍を伴わず下垂体腺腫のみが家族性発症を示す家族性下垂体腫瘍は非常に稀である<sup>1)</sup>。

MEN1型の原因遺伝子は第11染色体長腕(11q13)に位置することが明らかにされ<sup>2)</sup>、MEN1型患者の下垂体腫瘍、副甲状腺腫瘍、および膵内分泌腫瘍に、原因遺伝子部位を含む第11染色体のヘテロ接合性の消失(LOH)が確認されている<sup>3,4)</sup>。このようにMEN1型原因遺伝子は癌抑制遺伝子として作用していると考えられるが、まだ単離されていない。また家族性下垂体腫瘍に関しても原因遺伝子座位は明らかにされていない<sup>5)</sup>。

これまでに孤発性副甲状腺腫瘍および孤発性膵内分泌腫瘍の約1/3において第11染色体のLOHが認められるとの報告があるが、孤発性下垂体腫瘍のLOHの頻度は、サザン法を用いた解析により2/26個(8%)<sup>6)</sup>および16/88個(18%)<sup>7)</sup>と報告されている。そこで孤発性下垂体腺腫および家族性下垂体腫瘍における第11染色体のLOHを、MEN1型原因遺伝子が存在する11q13領域に焦点を当て、同領域に位置する10個のマイクロサテライトマーカーを用いて詳細に検討した。

### 対象および方法

**対象** 手術により得られた孤発性下垂体腺腫31個(GH産生腺腫10個、GH/PRL産生腺腫2個、PRL産生腺腫6個、TSH産生腺腫2個、ACTH産生腺腫1個、非機能性腺腫10個)および家族性下垂体性巨人症を示した兄弟におけるGH産生腺腫2個の計33個の腫瘍について解析した。

**方法** 腫瘍組織および患者白血球よりDNAを抽出し、第11染色体長腕13領域(11q13)に位置する10種のマイクロサテライトマーカー(セントロメア側-D11S480, D11S457, D11S449, PYGM, D11S1783, D11S913, D11S1889, D11S987, D11S534, D11S527-テロメア側)を用い、腫瘍組織におけるLOHの有無について検討した。蛍光標識プライマーを用いてマイクロサテライトマーカーをPCRで増幅後、DNA自動シーケンサーおよびGENESCAN 672ソフトウェア(Perkin-Elmer社)によって、電気泳動および増幅DNA断片の解析を行った。患者白血球DNAに対して腫瘍組織で消失したアレルの相対的蛍光強度が50%以下を示したものをLOHと判定した。

### 結果

31個の孤発性下垂体腺腫のうち、6個の腺腫に11q13領域のLOHを認めた。症例12においてはD11S480からD11S527にわたる広範な領域にLOHが存在すると考えられた。一方、症例

表1 孤発性下垂体腺腫における 11q13 領域の LOH

座位	症 例					
	3	8	9	12	13	14
D 11 S 480	ni	LOH	ni	LOH	ni	ni
D 11 S 457	LOH	R	R	ni	R	R
D 11 S 449	R	ni	R	LOH	R	R
PYGM	R	R	R	LOH	LOH	ni
D 11 S 1783	ni	ni	ni	ni	ni	ni
D 11 S 913	LOH	LOH	ni	ni	R	R
D 11 S 1889	LOH	R	R	LOH	LOH	R
D 11 S 987	ni	R	LOH	LOH	R	R
D 11 S 534	R	R	R	LOH	ni	R
D 11 S 527	R	R	R	LOH	R	LOH

3, 8, 9; GH 産生腺腫 LOH, ヘテロ接合性の消失  
 12; GH/PRL 産生腺腫 R, ヘテロ接合性の保持  
 13, 14; PRL 産生腺腫 ni, ホモ接合性のため情報が得られない

表2 家族性下垂体性巨人症における 11q13 領域の LOH

座位	症 例	
	兄 (GH 産生腺腫)	弟 (GH 産生腺腫)
D 11 S 480	ni	ni
D 11 S 457	R	LOH
D 11 S 449	R	LOH
PYGM	LOH	LOH
D 11 S 1783	ni	ni
D 11 S 913	ni	ni
D 11 S 1889	ni	ni
D 11 S 987	ni	ni
D 11 S 534	LOH	LOH
D 11 S 527	LOH	LOH

LOH, ヘテロ接合性の消失  
 R, ヘテロ接合性の保持  
 ni, ホモ接合性のため情報が得られない

9 のように D 11 S 987 に限局して LOH が認められる腫瘍や、症例 14 のように MEN 1 型原因遺伝子が存在する領域とは少し離れた D 11 S 527 のみに LOH を示す腫瘍が認められた (表 1)。

家族性下垂体性巨人症を示した GH 産生腺腫においては、兄の腺腫では PYGM から D 11 S 527 に、弟の腺腫では D 11 S 457 から D 11 S 527 にわたる領域に LOH が認められた (表 2)。

### 考 察

下垂体腺腫のように手術で得られる腫瘍組織量

が限られている場合には、サザン法にて多数の遺伝子座位における LOH を検討することは不可能である。しかし PCR 法を用いたマイクロサテライト解析により、少量の DNA を用いて多数の遺伝子座位を解析することが可能となった。

マイクロサテライトマーカーを用いた検討により、孤発性下垂体腺腫のうち 6/31 個 (19%) に 11q13 領域の LOH の存在を認めた。この頻度はサザン法による Boggild らの結果 (18%) とほぼ一致している。しかし彼らの結果では 16 個とも 11q13 領域の広い範囲で LOH が存在するが、我々の検討では広範囲に LOH が認められるのは症例 12 のわずか 1 例のみであった。本方法において、腫瘍組織に混入している正常組織のために LOH の存在が見逃されている可能性は否定できない。しかし蛍光標識マイクロサテライト解析は、従来の放射性同位元素標識に比べて定量性に優れているため、正常組織由来のシグナルを正確に定量することが可能である。複数のマイクロサテライトマーカーを用いた詳細な検討にもかかわらず、孤発性下垂体腺腫においては、孤発性の副甲状腺腫瘍や膵内分泌腫瘍ほど LOH の頻度は高くないことが明らかにされた。このように一部の孤発性下垂体腺腫においては、MEN 1 型原因遺伝子あるいは、その近傍に位置する他の癌抑制遺伝子の不活化が腫瘍化に関与している可能性が示唆された。

また家族性下垂体腫瘍において、兄弟の GH 産

生下垂体腺腫ともに11q13領域のLOHの存在が明らかにされた。本家系では父、母ともに健康であるが、母方の伯父に巨人症が認められる。本家系の11q13領域のハプロタイプ解析により、父親由来のアレルが消失していることが明らかにされた。それゆえ、残存している母親由来の11q13領域のアレル遺伝子異常が存在することが想定されるが、この点については今後の検討が必要である。家族性下垂体腫瘍はMEN1型の部分症なのか、それともMEN1型原因遺伝子とは異なる遺伝子が関与しているのかは現時点では不明であるが、少なくともこれらの症例の腫瘍形成にMEN1型原因遺伝子あるいは、11q13に位置する他の癌抑制遺伝子の不活化が関与している可能性が示唆された。

### 最後に

下垂体の腫瘍化にGs $\alpha$ 遺伝子変異や浸潤化にH-ras遺伝子やPKC遺伝子の変異、あるいは13

qにおけるLOHが関与していることが明らかにされているが、今回、一部の孤発性下垂体腺腫や家族性下垂体腫瘍にMEN1型の原因遺伝子が存在する11q13領域のLOHが認められた。今後、MEN1型原因遺伝子が単離されれば、さらに同遺伝子と孤発性下垂体腫瘍や家族性下垂体腫瘍との関連が解明されるものと期待される。

### 文 献

- 1) 吉本勝彦, 他: 日本臨床, 53: 2691, 1995.
- 2) Larsson, C., et al.: Nature, 332: 85, 1988.
- 3) Yoshimoto, K., et al.: Jpn. J. Cancer Res., 82: 886, 1991.
- 4) Shintani, Y., et al.: Endocrine J., 42: 331, 1995.
- 5) Benlian, P., et al.: Eur. J. Endocrinol., 133: 451, 1995.
- 6) Bystrom, C., et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87: 1968, 1990.
- 7) Boggild, M. D., et al.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 78: 387, 1994.