

家族性成長ホルモン産生腫瘍の基礎と臨床

吉本 勝彦*¹ 山田 正三*²

はじめに

下垂体腺腫が家族発生する疾患として、原因遺伝子が明らかにされている多発性内分泌腫瘍症1型 (MEN1), Carney complex, Pituitary adenoma predisposition, MEN4 (MEN1 異型とも呼ばれる). 原因遺伝子は *CDKN1B/p27^{KIP1}* があげられる. その他に, 原因遺伝子が未同定の家族性下垂体腺腫 (familial isolated pituitary adenomas, FIPA) や家族性成長ホルモン産生腺腫 (isolated familial somatotropinomas, IFS) がある. 本稿においては, 家族性に成長ホルモン (GH) 産生腺腫を生じる PAP と Carney complex について概説する.

1 Pituitary adenoma predisposition (PAP)

Aaltonen らのグループはフィンランド北部の家族性下垂体腺腫2家系の解析を行った. これらの家系にプロラクチノーマや GH 産生腺腫による先端巨大症や巨人症の症例が含まれているが, 浸透率は低い. これらの家系員に対して, 全ゲノム一塩基多型ゲノタイピングを行うことにより,

PAP 座位が 11q12-13 に位置することが示された. 遺伝子発現プロファイル解析により 13q13.3 に位置する *AIP* 遺伝子 [XAP2 (hepatitis virus B X-associated protein 2) あるいは ARA9 (aryl hydrocarbon receptor-associated protein 9) とも呼ばれる] が変異解析の第一候補に選ばれ, 検討した症例の多くで, *AIP* 遺伝子の胚細胞変異が PAP の表現型に寄与することが見いだされた¹⁾. 最初に報告されたナンセンス変異である p. Q14X の存在は完全に GH 産生腺腫症例と一致し, 3名のプロラクチノーマ症例でも認められた. 加えて, ナンセンス変異である p. R304X は GH 産生腺腫を有するイタリアの兄弟例に認められた. 下垂体腺腫における正常対立遺伝子の消失 (LOH) が認められることより, *AIP* はがん抑制遺伝子として作用していることが示唆される.

しかもフィンランド北部で散発性 GH 産生腺腫と診断された45例のうち, 7例に *AIP* の胚細胞変異を認めた. しかも, 発症が35歳以下の症例では, 40%に胚細胞変異が認められた. この結果は, 遺伝子変異を有していても, 多くの症例が臨床的には遺伝性ではないと診断されていることを示す. しかし, 我々の40例の散発性 GH 産生腺腫の解析においては, *AIP* 胚細胞変異を認めなかった²⁾. 最近の Raffin-Sansonn らのグループの報告では, 154例の散発性 GH 産生腺腫において5例に胚細胞変異が認められ, 5名の平均年齢は25歳で, 3名が巨人症を呈していた³⁾. また, Aaltonen らのグループは, 自験例と他の報告を

*¹ 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

*² 虎の門病院間脳下垂体外科

Katsuhiko Yoshimoto and Shozo Yamada: Clinical and molecular genetics of familial acromegaly. Department of Medical Pharmacology, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School.

集計し、25歳以下でGH産生腺腫と診断された症例では14.3%に、25歳以上で診断された症例では0.5%にAIP胚細胞変異がみられることを報告した⁴⁾。一方、散発性下垂体腺腫におけるAIPの体細胞変異は認められない^{2,6)}。

Beckersらのグループは、MEN1やCNCを有さないFIPA 73例のうち、11家系(15%)にAIP変異を認めた⁶⁾。変異が陽性の症例はいずれも腫瘍サイズが大きく、若年で発症が認められた。AIP変異陽性のほとんどはGH産生腺腫家系(16家系中8家系に陽性)であるが、家系内でGH産生腺腫とプロラクチノーマ(9家系中2家系に陽性)、プロラクチノーマと非機能性腺腫(9家系中1家系に陽性)の組合せも認められた。しかしながら16例のIFSの50%にはAIP変異を認めなかった。またKorbonitsらのグループは、FIPA 26家系のうち9家系にAIP変異を認めた⁵⁾。

Aaltonenらのグループは、multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA)法を用いて、一つのエクソンあるいは複数のエクソンにまたがるゲノムDNA欠失の有無を解析した。AIP遺伝子の変異が陰性である21家系のうち、1.5 kbの欠失によるエクソン2の欠失(非機能性腺腫2例、GH産生腺腫1例)、5.8 kbの欠失によるエクソン1および2の欠失(GH産生腺腫2例)を示す家系が認められた⁷⁾。MLPAは遺伝子に対して特異的に結合する2種のオリゴヌクレオチドプライマー(ユニバーサルプライマー配列やエクソンごとに異なるサイズ調節配列を含む)を作製し、標的遺伝子にハイブリダイズさせ、リガーゼ反応により連結した後、複数のエクソンそれぞれにおける連結されたプライマーに対して、ユニバーサルプライマーを用いて1つのチューブ内で増幅し、電気泳動後、フラグメント解析を行うもので、欠失、増幅を定量的に解析できる新しい方法である。このような方法を用いてもAIP遺伝子の変異が陰性のIFS家系では、別の原因遺伝子が関与している可能性がある。また、Aaltonenらのグループは、2008年6月までに報告されたAIP

胚細胞変異を文献7のSupplemental Table 2にまとめているので、参考にして頂きたい。

Aaltonenらのグループは、下垂体腺腫におけるAIPの免疫組織化学を実施した結果、変異が認められない38例のうち36例で陽性(核および細胞質が陽性)、変異が認められる12例(このうち9例がp.Q14X)のうち9例が陰性であることより、免疫組織化学陰性例を胚細胞変異検索の対象とすることを提唱している⁸⁾。Korbonitsらのグループによる検討では、検討した変異陽性(p.R304Xおよびc.794_823dup)の4例の腺腫いずれも免疫組織化学陽性(細胞質が陽性、正常下垂体細胞においても細胞質が陽性)であった⁸⁾。この差異は変異の部位や用いる抗体のエピトープ認識部位による可能性がある。また、Korbonitsらのグループは、正常下垂体ではAIPはGH産生細胞とプロラクチン細胞にのみ陽性で、しかも分泌顆粒内の存在を示している⁵⁾。この細胞内局在の意義については、今後の検討が必要である。

AIP遺伝子は11q13.3に位置し、6エクソンより構成され、330個のアミノ酸からなる蛋白をコードする。アミノ末端にFKBPホモロジー領域があり、C端側には蛋白間相互作用を担うtetra-tripeptide repeats (TPR)が3個存在する。AIPは細胞質でarylhydrocarbon receptor (AhR)と相互作用する(図1)。多くのimmunophilinはFK506のような免疫抑制薬にてpeptidyl-propyl cis-trans isomerase (PPIase)活性が抑制されるが、AIPのFKBPホモロジー領域はisomerase活性やFK506に対する親和性を有さない。ダイオキシンやその類似化合物が結合するAhRは転写因子で多くの生体異物代謝酵素を調節する。AIPはAhRの細胞内局在を制御し、AhRの核・細胞質間の細胞内移動を調節している。またAhRは生体異物代謝酵素を調節以外にretinoblastoma蛋白(pRb)との相互作用による細胞周期の制御や、リガンド依存性にユビキチンリガーゼであるCullin 4Bと結合してエストロゲン受容体 α の分解を促進する作用を有する。AIPはHSP90、

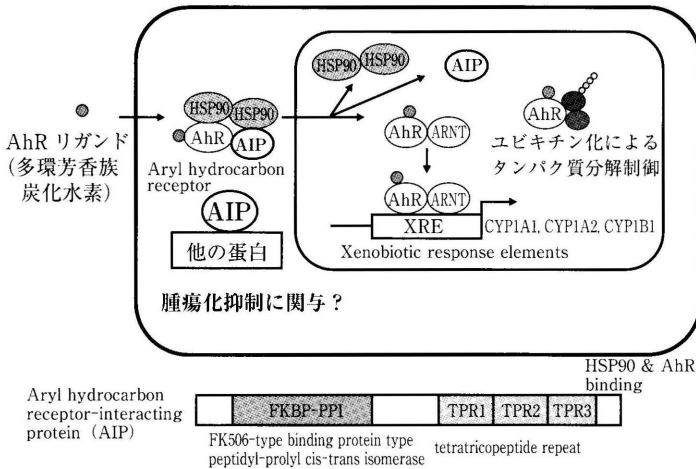


図1 AIPの構造と機能

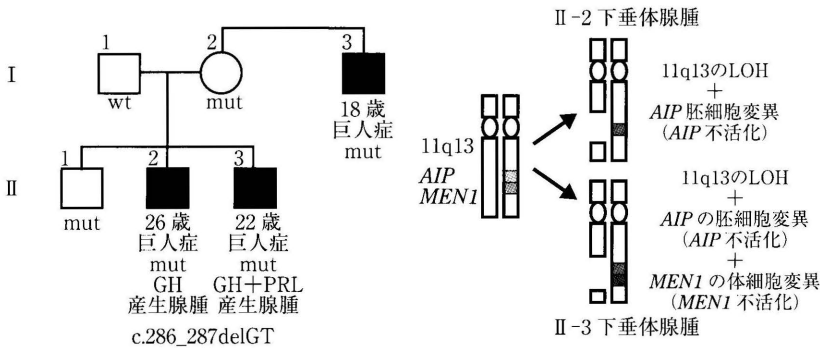


図2 家族性GH産生腺腫家系におけるAIPの変異と下垂体腺腫におけるAIPの不活化

phosphodiesterase 4A5 (PDE4A5) (相互作用により PDE4A5 活性が抑制される), phosphodiesterase 2A (PDE2A) (相互作用により AhR の核への以降が抑制される), peroxisome proliferation-activated receptor- α (PPAR- α), survivin, translocase of the outer membrane of mitochondria 20 (TOMM20), β thyroid receptor (THR β 1), Epstein-Barr virus encoded nuclear protein EBNA-3 などと相互作用することが報告されている。Korbonitsらのグループは、野生型 AIP を HEK293 細胞, GH3 細胞, TIG-1 細胞に導入すると細胞増殖を抑制すること, p. R304X や p. C238Y 変異を有する AIP には細胞増殖抑制作用は認められないことを報告している⁶⁾。また、酵母 two-

hybrid system を用いた PDE4A5 との相互作用の検討では、5 種の変異を導入した AIP はいずれも相互作用を示さなかった。しかしながら、AIP がどのような機序でがん抑制作用を有するのか、また下垂体のみで腫瘍が発生するのか不明である。

Aip ホモノックアウトマウスは、頭部や四肢への血流減少が原因と考えられる胎生致死を示す⁹⁾。その他、両大血管右室起始症、心室中隔欠損症、心膜浮腫を伴う。この結果は AIP が心臓の発生に重要な役割を果たしていることを示唆する。また AIP 発現量を低下させたマウスでは、*Ahr* ノックアウトマウスで認められる静脈管開存を有する¹⁰⁾。この結果は、発生における AhR のシグナルに AIP が必須であることを示す。

我々は、巨人症を呈する兄弟例の下垂体腺腫について解析し、2人の腫瘍ともに11q13の共通した対立遺伝子のLOHを認めた¹¹⁾。しかも欠失したアレルは健康な父親由来で、残存した対立遺伝子(変異型原因遺伝子の存在が予想される)は巨人症を示した母方の叔父が有していた対立遺伝子と同一であった。*MEN1*を含む領域にLOHがあることから、*MEN1*が同定された際に変異を検討したが、*MEN1*胚細胞変異は認められないことより、*MEN1*近傍の遺伝子が関与していることが予想された¹²⁾。Frohmanらのグループも、8家系の家族性GH産生腺腫における腫瘍のLOH解析から、11q13.3の約2.21 Mb内に原因遺伝子が存在する可能性を示した¹³⁾。原因遺伝子が*AIP*であることが明らかにされた後、本家系について解析すると*AIP*の胚細胞変異(c.286_287delGT)が検出された²⁾(図2)。この家系においても、遺伝子変異を有する母親や長兄にはGH産生腺腫の症候が認められず、浸透が不完全であることを示している。また、三男の下垂体腺腫に*MEN1*の体細胞変異が認められた。この腫瘍では*AIP*および*MEN1*がともに不活化されていることを示す。

2 Carney complex

Carney complex (CNC) は皮膚色素沈着、心臓や皮膚の粘液腫、神経鞘腫や、副腎皮質の原発性色素沈着性結節性病変(primary pigmented nodular adrenocortical disease:PPNAD)、大細胞石灰型セルトリ細胞腫、乳腺の粘液腫様線維腺腫、甲状腺濾胞腺腫などの他に10~20%の頻度で先端巨大症を生じる疾患で、常染色体優性遺伝の形式をとる^{14, 15)}。CNCの約70%の症例が家族性を示す。これまでに約500例の報告があり、うち43%が男性で57%が女性である。散発性の心粘液腫は40~60歳の女性が多く、左房に発生するのに対し、CNCでは性差なく若年者でも発症し、心臓のいずれの房室にも生じうる。死因の半数は心粘液腫による。CNCで最も高頻度に見られる内分泌腫瘍はPPNADで約25%の患者に発

症し、クッシング症候群を呈する。CNCに伴う全ての腫瘍は不完全な浸透率を示すが、色素沈着は完全な浸透率を示すので、診断に有用である。

臨床的に明らかな先端巨大症は成人CNC患者の約10%に認められる¹⁶⁾。巨人症はまれである。高GH・プロラクチン・IGF-1血症が、腫瘍の存在が画像診断にて明らかでない時点でも認められ、79%の症例に認められる。しかもGHの過剰分泌は11~27歳と若年より生じる。先端巨大症の診断時の平均年齢は35.8歳であった。本疾患における先端巨大症は緩徐に進行し、悪性化することは稀である。先端巨大症の症候はCushing症候群の手術後に、初めて明らかになることが多い。またソマトスタチンアナログでコントロールできる症例が多いという特徴を有する。またGHおよびプロラクチン産生細胞の過形成を基盤に腺腫が発生していると考えられる¹⁶⁾。この変化は*MEN1*に伴う下垂体腺腫には認められない。また、過形成や腫瘍中に正常細胞が巻き込まれていることがある。しかも多中心性に腺腫が発生している症例が報告されている。

CNCの原因遺伝子として17q24に位置する原因遺伝子はcAMP-dependent protein kinase A $R1\alpha$ regulatory subunit (*PRKARIA*)^{17, 18)} および2p16に局在する未知の遺伝子の存在が知られている。*PRKARIA* 遺伝子は11個のエクソンよりなる。*PRKARIA* はprotein kinase Aのホロ酵素を形成する調節サブユニットの4種($R1\alpha$, $R1\beta$, $R2\alpha$, $R2\beta$)のうちの1つ($R1\alpha$)である。細胞内cAMP濃度が増加すると調節サブユニットが活性化し、その結果ホロ酵素が解離し、触媒サブユニットが作用する。*PRKARIA*の機能消失によりprotein kinase Aの恒常的な過剰シグナルとなる(図3)。*PRKARIA*に点突然変異や小さな挿入・欠失は約65%の患者に認められ、現在までに約60種の変異が報告されている(図4)。最近、広範にわたる*PRKARIA*の欠失例が2例報告された¹⁹⁾。

PRKARIA 変異の約90%はpremature stop

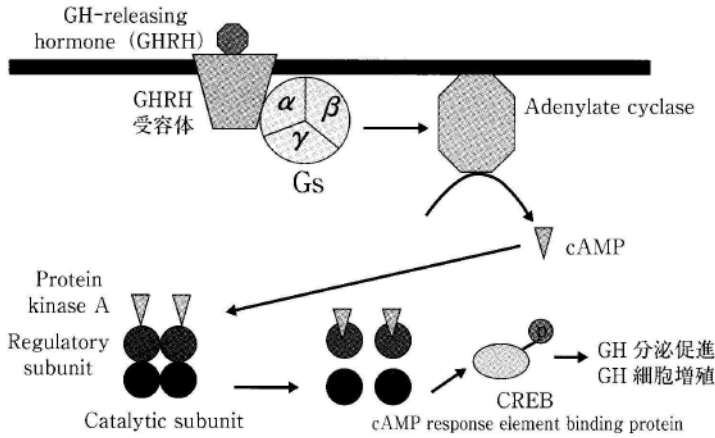


図3 GH 産生細胞におけるシグナル伝達機構

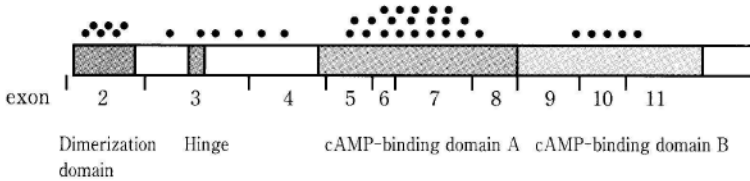


図4 cAMP-dependent protein kinase A R1 α regulatory subunit (PRKARIA) の構造と CNC 症例に認められる変異の部位

codon を生じる変異で, nonsense-mediated mRNA decay (NMD) の機構により, mRNA は速やかに分解される. そのため, 「正常量の半分では正常な機能を維持できないハプロ不全を生じて腫瘍化する」という考え方と, 一部の腫瘍では LOH が認められることから「従来のがん抑制遺伝子の概念に沿った2つの対立遺伝子の機能消失による腫瘍化」という考え方があり, 一致した見解は得られていない. NMD を受けない変異は異常蛋白を生じる. このような例が7例認められているが, これらの変化により cAMP や調節サブユニットの結合が低下し, protein kinase A の活性上昇につながる事が示されている²⁰⁾.

Stratakisらのグループは, 先端巨大症を示した CNC 症例における PRKARIA 変異を検討した¹⁶⁾. その結果, 17例が短縮型蛋白を生じる変異であった. 他の5例は異常蛋白を生じる変異であった.

3症例では変異を確認できなかった. また CNC 症例の下垂体腫瘍においては PRKARIA の正常対立遺伝子の欠失が認められた. 一方, 散発性 GH 産生腺腫においては PRKARIA の体細胞変異は認められない²¹⁾.

Prkar1a 欠損マウスは胎生致死を示す. Prkar1a 欠損ヘテロマウスにおいては, 下垂体を含めた内分泌腫瘍の発生はみられなかったが, CNC 男性症例で認められる精子成熟不全や心拍数変動の減少が認められた. しかし, ラット GHRH 受容体遺伝子プロモーターを用いて, Prkar1a を下垂体特異的に不活化させると, プロラクチノーマが発生した²²⁾. 腫瘍においては GH, プロラクチン, TSH 陽性細胞が認められ, 血清 GH レベルも上昇していた. Prkar1a 遺伝子を完全に消失させることが腫瘍形成に必要であることを示している. また, 心筋細胞特異的に Prkar1a を不活化させる

と胎生 11.5~12.5 日に死亡するが、心筋細胞が減少して心筋壁が薄くなり心拡張が認められた。さらに粘液腫様病変も認められた²³⁾。

おわりに

家族性 GH 腺腫は、少なくとも *AIP* と *PRKARIA* の 2 種の遺伝子と関わっている。遺伝子検査で変異陽性のキャリアは、効率的で非侵襲的な臨床的フォローが可能となる。血清 GH・プロラクチン・IGF-1 値の定期的測定や場合によっては下垂体 MRI なども有用である。*MEN1* 変異陽性症例では生化学的異常が認められてから、臨床的に明らかな病変がみられるのに約 10 年を要するとされているが、PAP の場合には仮に遺伝子診断を行って陽性と診断されても、その低い浸透率を考慮すると、現時点では将来の臨床症状発症の有無を正確に予測するのは困難である。

文 献

- 1) Vierimaa, O., et al. : Science, 312 : 1228, 2006.
- 2) Iwata, T., et al. : Clin. Endocrinol. (Oxf), 66 : 499, 2007.
- 3) Cazabat, L., et al. : Eur. J. Endocrinol., 157 : 1, 2007.
- 4) Georgitsi, M., et al. : Clin. Endocrinol. (Oxf), 69 : 621, 2008.
- 5) Leontiou, C. A., et al. : J. Clin. Endocrinol. Metab., 93 : 2390, 2008.
- 6) Daly, A. F., et al. : J. Clin. Endocrinol. Metab., 92 : 1891, 2007.
- 7) Georgitsi, M., et al. : J. Clin. Endocrinol. Metab., 93 : 4146, 2008.
- 8) Georgitsi, M., et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104 : 4101, 2007.
- 9) Lin, B. C., et al. : J. Biol. Chem., 282 : 35924, 2007.
- 10) Lin, B. C., et al. : Mol. Pharmacol., 74 : 1367, 2008.
- 11) Yamada, S., et al. : J. Clin. Endocrinol. Metab., 82 : 239, 1997.
- 12) Tanaka, C., et al. : J. Clin. Endocrinol. Metab., 83 : 960, 1998.
- 13) Soares, B. S., et al. : J. Clin. Endocrinol. Metab., 90 : 6580, 2005.
- 14) Wilkes, D., et al. : Lancet Oncol., 6 : 501, 2005.
- 15) Bertherat, J. : Orphanet J. Rare Dis., 1 : 21, 2006.
- 16) Boikos, S. A., et al. : Pituitary, 9 : 203, 2006.
- 17) Kirschner, L. S., et al. : Nat. Genet., 26 : 89, 2000.
- 18) Casey, M., et al. : J. Clin. Invest., 106 : R31, 2000.
- 19) Horvath, A., et al. : Clin. Cancer Res., 14 : 388, 2008.
- 20) Greene, E. L., et al. : Hum. Mutat., 29 : 633, 2008.
- 21) Yamasaki, H., et al. : Clin. Endocrinol. (Oxf), 58 : 464, 2003.
- 22) Yin, Z., et al. : Mol. Endocrinol., 22 : 380, 2008.
- 23) Yin, Z., et al. : Circulation, 117 : 1414, 2008.