

様式4)

様学位論文の内容の要旨

サントス サブコタ 印

(学位論文のタイトル)

Whole-Exome Sequencing Study of Thyrotropin-Secreting Pituitary Adenomas

(TSH産生下垂体腫瘍の全エクソン解析)

(学位論文の要旨)

【目的】 TSH産生下垂体腫瘍は全下垂体腫瘍の3%と非常に稀な疾患である。一部の症例は多発性内分泌腫瘍症1型の一症状として認められること、また、甲状腺ホルモン受容体β遺伝子変異が原因となっている可能性が報告されているが、これらの異常が発見されるのはごく一部の腫瘍に限定され、多くの腫瘍において遺伝子変異が原因となるかさえ明らかとなっていない。近年、次世代シーケンサーを用いた全エクソン解析により、成長ホルモン(GH)産生下垂体腫瘍のひとつの原因遺伝子としてG蛋白質結合受容体であるGPR101遺伝子変異が、ACTH産生下垂体腫瘍に脱ユビキチン化酵素であるUSP8遺伝子変異が次々と明らかとされた。本論文では、全エクソン解析とコピー数多型解析を用いて、TSH産生下垂体腫瘍における疾患の原因となる遺伝子レベルでの異常を明らかとすることを目的とした。【方法】1) 同意の得られたTSH産生下垂体腫瘍12例を対象とした。2) ランダムに選別した8例の腫瘍検体より抽出したDNAを、ゲノムワイドSNPアレイ法を用いて、コピー数多型解析を行なった。3) コピー数多型解析の結果から、コピー数変化のないヘテロ接合性の消失(copy neutral Loss of Heterozygosity: cnLOH)を伴わない、あるいはごく小さなcnLOHを伴う4例の腫瘍検体から抽出したDNA、並びに白血球から抽出したDNAペアを、次世代シーケンサーを用いて全エクソン解析を行い、腫瘍細胞特異的な遺伝子体細胞変異を検索した。結果をデータベースと照合し、新規の遺伝子変異候補の絞り込みを行なった。4) 発見された新規遺伝子変異候補については、キャピラリーシーケンサーを使用したダイレクトシーケンス法で確認を行なった。5) 4)で確認できた遺伝子変異候補について、全エクソン解析を行なわなかった残りの8例の腫瘍検体DNAを用いて再発性の確認を行なった。【結果】1) 散発性TSH産生下垂体腫瘍8例のコピー数多型解析の結果、8例中5例では1つ以上の常染色体短腕(p)、長腕(q)の全体に及ぶ大きなコピー数の増加が認められた。頻度が高い部位として、4p、5p、7p、19pは4例でコピー数の増加が見られ、4q、15q、16p、19p、21qは3例でコピー数の増加が認められた。また、染色体腕全長に及ばない限局性のコピー数の増加が106領域に認められた。2) 染色体全長に及ぶcnLOHが、8例中5例で認められ、残りの4例のうち3例では、cnLOHは認められず、1例は極めて短い範囲にcnLOHが認められた。部位としては、1番染色体と8番染色体の短腕にのみ、複数の症例に共通してcnLOHが見られた。3) 大きなcnLOHを伴わない4検体の全エクソン解析では、新規遺伝子体細胞変異の頻度は、既報のその他の下垂体腫瘍同様に低頻度であり、平均1.5個/腫瘍にとどまり、高頻度で体細胞変異が検出される悪性腫瘍とは大きく異なっていた。下垂体腫瘍発生に関わる既知の遺伝子変異は認めなかったが、TSH産生下垂体腫瘍の新規原因遺伝子変異候補が6遺伝子(CWH43、ZSCAN23、SYTL3、ASTN2、R3DHM2、SMOX)に発見された。これらの変異は孤発性であり、全症例数12例で検索を行なったが、症例間で共通するものはなかった。4) 全エクソン解析とコピー数多型解析結果を融合すると、CWH43遺伝子が存在する4pは8例中4例、ASTN2遺伝子がある9番染色体は3例、R3DHM2遺伝子が存在する12番染色体とSMOX遺伝子がある20番染色体は2例でコピー数が増加していた。また、ZSCAN23遺伝子がある6番染色体は、1例にcnLOHが認められた。唯一、CWH43遺伝子変異は遺伝子変異とコピー数の増加が同時に起こっていた。【考察】本論文では、TSH産生下垂体腫瘍の疾患原因遺伝子の新規体細胞変異を6種類発見した。12例における再発性の検討

では、再発性を示す体細胞変異は認めなかったが、これまでに腫瘍化に関連することが報告され、酸化的DNA損傷に関わるSMOX、Rab蛋白質発現制御に関与するSYTL3が含まれていた。さらに、コピー数多型解析では、TSH産生下垂体腫瘍では、これまで報告されているその他の下垂体腫瘍と比較して高頻度にコピー数の増加が見られる領域があり、症例間で共通する領域に、下垂体腫瘍との関連が報告されているUSP8遺伝子が存在する15qや、GH産生下垂体腫瘍で高頻度に変異が発見されるGNAS遺伝子が存在する20pが含まれていた。さらに、複数の症例でcnLOHが認められた1番染色体短腕には、20%以上の下垂体腫瘍でプロモーターのメチル化により発現が抑制されているCDKN2C遺伝子が存在し、cnLOHは遺伝子のメチル化の複製を生じることが報告されており、腫瘍発症に関与している可能性が考えられた。本論文では、TSH産生下垂体腫瘍の発症原因を絞り込むことはできなかったが、新たな遺伝子変異を始め、TSH産生下垂体腫瘍の特徴的な遺伝子コピー数の異常、cnLOHを網羅的に明らかとし、腫瘍発症へ関与する可能性を示した。【結論】1) TSH産生下垂体腫瘍に新規体細胞変異が6遺伝子に認められ、症例間で再発性は認めず、高頻度で発見される遺伝子変異ではないが、新規の疾患発症の原因遺伝子変異である可能性が考えられた。2) TSH産生下垂体腫瘍では、染色体の広範に及ぶコピー数の減少よりコピー数の増加や、cnLOHが高頻度に発見され、腫瘍発症の原因となりうることが明らかとなった。