

論文内容要旨

題目 下垂体腺腫における miRNA 解析

著者 小野 信二

内容要旨

下垂体腺腫は比較的高頻度に認められる脳腫瘍の一つで、ホルモンの過剰分泌を伴う機能性下垂体腺腫とホルモンの過剰分泌を伴わない非機能性腺腫に分類される。下垂体腺腫のほとんどは散発性で、家族性下垂体腺腫は稀である。散発性の腫瘍では、GH産生腺腫の約半数でGα蛋白質をコードする遺伝子の体細胞変異が認められる以外は、特定の遺伝子変異は報告されていない。そのため散発性腺腫の発症機序にエピゲノム制御、あるいは遺伝子の転写・翻訳後調節の破綻が関与していることが示唆される。

miRNAはmRNA発現制御に関わる機能分子であり、癌を始めとする様々な疾患で発現異常を示すことが報告されている。そこで、各タイプの下垂体腺腫で特徴的な発現を示すmiRNAの同定と、その機能解析を行い、下垂体腺腫発症へのmiRNAの関与を明らかにすることを目的とした（徳島大学病院倫理委員会承認番号 714）。

元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・銭志栄先生から提供されたマイクロアレイ解析のデータから、各タイプの腺腫で特徴的な発現を示す miRNA 候補を選別し、各タイプの下垂体腺腫でのそれらの miRNA 発現量を qRT-PCR で検証した。

GH 産生腺腫での miR-7, miR-495, miR-551b の高発現を、PRL 産生腺腫での miR-183 の低発現をそれぞれ認めた。ACTH 産生腺腫での miR-137 の高発現, miR-132, miR-183, miR-410, miR-495, miR-551b の低発現を認めた。FSH/LH 産生腺腫での miR-96, miR-137 の高発現, miR-410, miR-495 の低発現を認めた。ナルセル腺腫での miR-410, miR-495 の低発現を認めた。これらの各タイプの下垂体腺腫に特徴的な発現を示した miRNA の中で正常下垂体と ACTH 産生腺腫あるいは FSH/LH 産生腺腫間で顕著な発現量の差異が認められた miR-132, miR-137, miR-551b について以下の検討を行った。

マウスの各組織で miR-132, miR-137, miR-551b の発現量を検討したところ、これらの miRNA は他の組織に比べ、下垂体と脳での発現が高かった。また、miR-132 と miR-551b は種々の下垂体ホルモン産生細胞株では低発現であった。

ACTH産生腺腫で低発現を示したmiR-132およびmiR-551bを、ACTH産生細胞由来細胞株 AtT-20に過剰発現させると細胞増殖が抑制されたが、ヒト腎線維芽細胞株293FT細胞では認められなかったことから、これらのmiRNAはACTH産生細胞特異的に細胞増殖を抑制することが示唆された。

miR-551bの標的遺伝子候補を*in silico*解析により検討し、解析する候補遺伝子として *ERBB4*を選んだ。*ERBB4* mRNA発現量を確認すると、ACTH産生腺腫で*ERBB4*の高発現を認めた。293FT細胞にmiR-551bとルシフェラーゼ-*ERBB4* 3'UTRを含むレポータープラスミドを導入すると、ルシフェラーゼ活性が抑制されることを確認した。

慢性リンパ性白血病で miR-551b の低発現に *EGFEM1P* に存在する CpG アイランドのメチル化が関与していることが報告されているため、同部位のメチル化を確認したが、ACTH 産生腺腫においてメチル化はほとんど認められなかった。

以上の結果より、各タイプ腺腫間で miRNA 発現プロファイルが異なることが明らかとなった。また ACTH 産生腺腫では、miR-551b の発現低下による *ERBB4* の高発現が腫瘍発症に関与している可能性が示唆された。