

京都大学	博士（医学）	氏名	小笠原 辰樹
論文題目	Genetic analysis of pheochromocytoma and paraganglioma complicating cyanotic congenital heart disease (チアノーゼ性先天性心疾患に伴う褐色細胞腫及びパラガングリオーマの遺伝学的解析)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>褐色細胞腫・パラガングリオーマ (pheochromocytoma/paraganglioma: PPGL) は副腎髄質あるいは傍神経節に発生するカテコールアミン産生腫瘍である。PPGLは遺伝的素因と関連が深く、PPGL 症例の約 30%に胚細胞遺伝子変異を認める。一方で、慢性的な低酸素環境への暴露も PPGL 発症リスクを上昇させることが知られており、例えばチアノーゼ性先天性心疾患 (cyanotic congenital heart disease: CCHD) 患者は PPGL を比較的高頻度に合併する。近年の報告にて CCHD に PPGL を合併した (CCHD-PPGL) 患者 5 人のうち 4 人に、HIF2α をコードする <i>EPAS1</i> 遺伝子における機能獲得型の体細胞変異を認め、同変異が CCHD-PPGL の腫瘍化に重要な役割を担っていることが示唆された。しかし、少数例の検討にとどまること、また CCHD-PPGL の臨床的特徴である多発腫瘍例における解析が不十分なことから、CCHD-PPGL の腫瘍発生機構については未だ不明な点が多い。このことを調べるために、多発腫瘍を有する 3 人を含む CCHD-PPGL 患者 7 人から、腫瘍組織 15 個及び各症例の正常組織 7 個を収集し、全エクソン解析を行った。加えて、それら 7 人のうち 1 人からは前腫瘍病変と考えられる副腎髄質過形成 (adrenal medullary hyperplasia: AMH) 組織 1 個が得られ、併せて解析の対象とした。</p> <p>対象となった 7 人の初回 PPGL 診断時の年齢中央値は 26 歳で、そのうち 6 人は低酸素血症が PPGL 診断時まで持続していた。CCHD-PPGL の腫瘍遺伝子変異量は中央値 0.18 mut/Mb と低く、CCHD と関連しない PPGL (non-CCHD-PPGL) と同程度であった。一方で、PPGL/AMH サンプル 16 個のうち 15 個 (94%) に機能獲得型の <i>EPAS1</i> 体細胞変異を認めた。コピー数解析では全ての PPGL/AMH サンプルにコピー数変化を認め、特に 11 番染色体短腕の欠失 (81%)、2 番染色体短腕の重複 (25%) は non-CCHD-PPGL と比較して有意に高頻度であった。一方、若年多発例が多いにもかかわらず、既知の PPGL 関連遺伝子の胚細胞変異を認める症例はなかった。またモザイク <i>EPAS1</i> 変異の評価のため、各症例の正常組織を対象としたアンプリコンシーケンスを行ったが、モザイク変異は同定されなかった。多発腫瘍を有する 3 例の検討では、<i>EPAS1</i> 変異を認めなかった 1 個の腫瘍を除き、全ての多発腫瘍において異なる <i>EPAS1</i> 変異による平行進化が観察され、<i>EPAS1</i> 変異を有するクローンが、おそらく低酸素環境に起因して、強力に陽性選択されることが示唆された。興味深いことに、それら 3 例のうち 1 例は 12 歳時に CCHD に対する根治術により低酸素血症が改善していたにもかかわらず、30 歳及び 35 歳時にそれぞれ <i>EPAS1</i> 変異を有する多発 PPGL の発生を認めた。このことから、CCHD による低酸素環境は幼少期における <i>EPAS1</i> 変異を有するクローンの陽性選択には重要であるが、その後の PPGL 発生の過程において、低酸素環境そのものは最早必要ではない可能性が示唆された。</p> <p>本研究では、多発腫瘍例を含む CCHD-PPGL の網羅的遺伝学的解析によって、CCHD-PPGL のコピー数変化の特徴、及び多発腫瘍の発生メカニズムについての新たな知見を得た。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

チアノーゼ性先天性心疾患 (CCHD) 患者では比較的高頻度に褐色細胞腫・パラガングリオーマを合併する (CCHD-PPGL) が、その発症機序については不明な点が多い。このことを調べるために、本研究では多発腫瘍を有する 3 人を含む CCHD-PPGL 患者 7 人由来の正常・腫瘍由来 DNA を用いた全エクソン解析を行った。変異解析では 1 つの腫瘍を除いて全腫瘍で HIF2 α をコードする *EPAS1* 遺伝子における機能獲得型の体細胞変異を認めた一方、既知の PPGL 関連遺伝子の胚細胞変異を認める症例はなかった。モザイク *EPAS1* 変異の有無を評価するため、各症例の正常組織を対象としたアンプリコンシーケンスを行ったが、モザイク変異は同定されなかった。コピー数解析では全腫瘍にコピー数変化を認め、特に 11 番染色体短腕の欠失、2 番染色体短腕の増幅は CCHD と関連しない PPGL と比較して有意に高頻度であった。多発腫瘍を有する 3 例の検討では、全例において異なる *EPAS1* 変異による平行進化が観察されたことから、慢性的な低酸素環境下では副腎髄質・傍神経節組織において *EPAS1* 変異を有するクローンが選択されることが示唆された。

以上の研究は、慢性的な低酸素暴露による副腎髄質・傍神経節におけるクローン選択についての新たな知見をもたらし、CCHD-PPGL の発症機序解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 4 年 12 月 19 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降