



CCNB2 and AURKA overexpression may cause atypical mitosis in Japanese cortisol-producing adrenocortical carcinoma with TP53 somatic variant

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2021-04-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 池谷, 章 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003824

博士（医学） 池谷 章

論文題目

CCNB2 and *AURKA* overexpression may cause atypical mitosis in Japanese cortisol-producing adrenocortical carcinoma with *TP53* somatic variant

（*CCNB2* と *AURKA* の過剰発現は *TP53* 体細胞変異を有する日本人コルチゾール産生副腎皮質がんにおいて異常核分裂像を惹起する可能性がある）

論文の内容の要旨

[はじめに]

副腎皮質がん（ACC）は 0.7-2.0/100 万人と発症頻度は稀ではあるが、5 年生存率 35%程度と悪性度の高いがんである。ACC に対する薬物療法の効果は限定的であり十分には確立していない。なかでもコルチゾール産生 ACC は予後不良であることが報告されている。また、近年の遺伝子および分子学的解析において、ACC は *TP53* および *CTNNB1* 体細胞変異の頻度が高く、これらの変異を有する ACC 症例も予後不良と報告されている。しかし、コルチゾール産生 ACC および *TP53*、*CTNNB1* 体細胞変異を有する ACC 症例が予後不良となる機序については未だ十分に解明されていない。これらの研究は欧米を中心とした海外からの報告であり、日本人 ACC を症例集積しての検討は極めて少ない。今回の研究において、まず日本人コルチゾール産生 ACC 7 症例を対象に次世代シーケンシング（NGS）を用いたターゲットディープシーケンシングを行い、海外症例の既報との相違を検証した。次に、NGS で得られた体細胞変異所見と臨床・病理所見との比較検討を行い、コルチゾール産生 ACC の予後不良機序について解析し、治療応用の可能性について検討した。

[患者ならびに方法]

浜松医科大学臨床研究倫理委員会の承認の下（No.17-260）、1993 年 7 月から 2019 年 2 月に浜松医科大学医学部附属病院で ACC と診断され、手術を施行されたコルチゾール産生 ACC 7 症例の腫瘍検体と 7 症例中 2 症例の血液検体から抽出した DNA を用いた。既報を参照として ACC と関連があると報告されている *TP53*-*RB1* 系および *WNT* 系に関与する遺伝子と、予後不良に関連があると報告された ACC の driver gene を含む合計 12 遺伝子を解析対象として選択し、Polymerase Chain Reaction (PCR)にて増幅したうえで Miseq を用いてターゲットシーケンシングを行った。解析には MuTect2 を用い、同定された変異と臨床、病理所見との比較検討を行った。検討から得られた仮説の追加検証を The Cancer Genome Atlas (TCGA)データを用いて施行した。この際、新たな関連因子候補として浮上した *CCNB2* 及び *AURKA* に対し、自験コルチゾール産生 ACC 7 症例と対象としてコルチゾール産生副腎皮質腺腫（ACA） 7 症例より抽出した RNA を用い、リアルタイム定量 PCR（RT-qPCR）で *CCNB2* 及び *AURKA* mRNA 発

現について検証を行った。

[結果]

コルチゾール産生 ACC 7 症例の NGS 解析で 6 種の病原性変異と *PRKAR1A* (NM_002734.4):c.545C>A (p.T182K) という新規 variant of uncertain significance が同定された。同定された体細胞変異と病理所見を比較検討したところ、「*TP53* 体細胞変異症例では異常核分裂像が出現しやすい」という傾向を認めた。自験例のみでは症例数不足であったため、TCGA データを用い追加検証を実施し、本研究による仮説通り *TP53* 体細胞変異症例では異常核分裂像が高頻度に認められた ($P < 0.001$)。既報より異常核分裂像に細胞分裂 M 期の異常が関与することを推測し、M 期の制御分子のうち既報で ACC において mRNA 過剰発現が報告されているものについて TCGA データ解析を実施した。その結果、*CCNB2* と *AURKA* mRNA 発現が *TP53* 体細胞変異症例 ($P < 0.001$, $P < 0.001$)、異常核分裂像を呈する症例 ($P = 0.012$, $P = 0.018$) でともに有意に高値であった。自験コルチゾール産生 ACC 7 症例の *CCNB2*、*AURKA* mRNA 発現を ACA 7 症例と比較したところ、*TP53* 体細胞変異と異常核分裂像を共に呈する症例では ACA と比較して *CCNB2* は 21.7-31.3 倍、*AURKA* は 8.3-16.2 倍とそれぞれの mRNA 発現が高値であった。

[考察]

本研究では、コルチゾール産生 ACC において *CTNNB1*、*ZNRF3*、*PRKAR1A* といったコルチゾール産生に関与する遺伝子の体細胞変異が TCGA データと比較して高頻度であった。この理由として我々の解析症例のコルチゾール産生能が高かった可能性が考えられたが、TCGA データにコルチゾール値が未収載なため詳細な検討は行えなかった。今回新規に同定した *PRKAR1A*:c.545C>A (p.T182K) 体細胞変異は、機能解析が未実施であり、variant of uncertain significance と定義されるが、既報で *PRKAR1A* は ACC の driver gene の 1 つとされ、この変異と同部位の cAMP 結合部位のミスセンス変異がプロテインキナーゼ A 活性を高め、Carney complex の原因となることが報告されており、c.545C>A (p.T182K) も病原性変異である可能性が高いと考えた。ACC において *CCNB2*、*AURKA* mRNA の過剰発現がみられることはすでに報告されていたが、今回の研究では *TP53* 体細胞変異症例において特に高値であり、異型核分裂像が高頻度に出現することをはじめて報告した。*TP53* 体細胞変異症例では、*CCNB2*、*AURKA* mRNA 過剰発現による細胞分裂 M 期の異常により、異常核分裂像が惹起されることが推測された。*TP53* 体細胞変異 ACC 症例では *CCNB2*、*AURKA* が治療ターゲットとなりうる可能性が示された。

[結論]

本研究は ACC おける *TP53* 体細胞変異と異常核分裂像の関連をはじめて報告した研究である。*TP53* 体細胞変異 ACC 症例では *CCNB2* および *AURKA* の過剰発現により異常核分裂像が惹起されることが推測され、現在各種がんで臨床試

験が進行している AURKA 阻害薬が ACC の新規治療薬として選択肢となり得る。