

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007 ～2008
 課題番号：19591700
 研究課題名（和文）正常下垂体および下垂体腺腫における AMF および受容体 mRNA 発現の意義
 研究課題名（英文） The expression of AMF and its receptor mRNA in normal pituitary and pituitary adenomas
 研究代表者
 岡 秀宏 (Oka Hidehiro)
 北里大学・医学部・講師
 研究者番号：60213914

研究成果の概要：

ヒト正常下垂体および下垂体腺腫において AMF および AMF-R は、悪性腫瘍のような浸潤能とは別に autocrine で腫瘍細胞制御を自ら行っている可能性が示唆された。腫瘍型では、AMF および AMF-R mRNA の発現順は、非機能性 > ACTH > GH > プロラクチノーマであった。特に、プロラクチノーマでは発現が他に比し優有意に低下しており、この腫瘍型のみ AMF および AMF-R の影響を受けにくい可能性が示唆された。一方、画像による海綿状脈洞浸潤と AMF および AMF-R 発現に相関性は認められなかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	500,000	150,000	650,000
2008 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,000,000	300,000	1,300,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：下垂体腺腫、AMF、受容体、遺伝子

1. 研究開始当初の背景

浸潤性下垂体腺腫は手術的に全摘出困難な場合が多く、治療上の大きな壁となっている。近年発見された Autocrine motility factor (AMF)/ Neuroleukin (NLK) は肺癌をはじめとする癌浸潤を促進させるサイトカインとして知られており、解糖系の一酵素である phosphohexose isomerase (PHI)

と相同するものと考えられている。また、その受容体である gp78 のクローニングも行なわれた。癌細胞は低酸素状態では転移・浸潤能の亢進が知られており HIF-1 誘導下に VEGF, angiogenin, IL-8 等の関与が報告されている。一方、AMF/NLK も PHI として機能していることから腫瘍浸潤に関与している可能性が示唆されている。しか

し、脳腫瘍、特に下垂体腺腫における浸潤と AMF/NLF およびその受容体 mRNA の役割については全く検討されていない。

2. 研究の目的

今回申請者は、先に報告した科学研究助成のデータを基に、海綿静脈洞等へ浸潤する下垂体腫瘍における AMF/NLK およびその受容体である gp78mRNA 発現を検討し、下垂体腺腫の腫瘍型と浸潤能および apoptosis 制御の相違について検討する。

3. 研究の方法

剖検時に得られたヒト正常下垂体組織 (5 例) および手術摘出により得られたヒト下垂体腺腫組織 (非機能性腺腫 : 20 例、プロラクチノーマ 10 例、成長ホルモン産生腺腫 10 例、副腎皮質刺激ホルモン産生腺腫 : 5 例) の凍結組織およびパラフィン切片を使用する。

(1) RT-PCR法

剖検時に得られた 5 mm 角のヒト正常下垂体組織の凍結組織、および、手術時に摘出した下垂体腺腫凍結検体から Isogen (和光純薬) を用い total RNA を抽出し、逆転写酵素を作用させ cDNA ライブラリーを作成する。既知 (Pathol Int 56: 510-515, 2006) の AMF および AMFR(gp78) のプライマーを用い、PCR にかけて (30-35 回)、プライマーではさんだ部分の DNA を増幅し、電気泳動によりその発現を調べる。

(2) 高感度 in situ hybridization (ISH) 法

ISH 法では、既に発表した論文 (Pathol Int 56: 510-515, 2006) を基に正常脳組織、肺癌組織を陽性コントロールとして用い、同時に正常下垂体および各下垂体腺腫のパラフィン切片を用いる。方法は申請者らが発表した論文と同様にプローブをハイブリダイズした後に、タイラマイドで増強後、DAB で

発色し、組織内での AMF および AMFR の発現分布および強度について house keeping gene である b-MG のドット数と AMF および AMF-R のドット数を比較計測した。

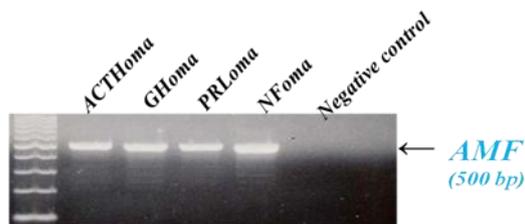
4. 研究成果

(1) RT-PCR 法

RT-PCR 法では、全ての腺腫型で AMF (図 1-A) および AMF-R (図 1-B) の発現を認めた。また、剖検時に得られた正常下垂体においても 5 検体すべてで AMF および AMF-R の発現を認めた。

(図 1-A)

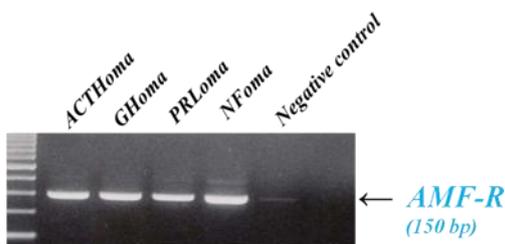
RT-PCR : AMF mRNA



ACTHoma: ACTH producing adenoma, GHoma: GH producing adenoma
PRLoma: Prolactinoma, NFoma: Nonfunctioning pituitary adenoma

(図 1-B)

RT-PCR : AMF-R mRNA

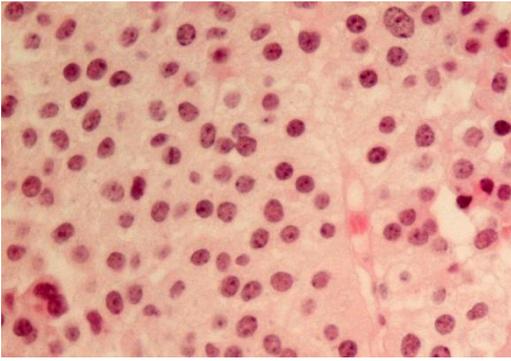


ACTHoma: ACTH producing adenoma, GHoma: GH producing adenoma
PRLoma: Prolactinoma, NFoma: Nonfunctioning pituitary adenoma

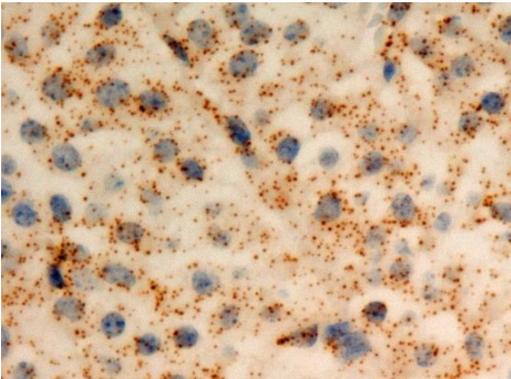
(2) 高感度 in situ hybridization (ISH) 法

高感度 In situ hybridization 法では、以下の図 1~5 のごとく非機能性腺腫で最も発現が強く、次いで ACTH 産生性、GH 産生性の順に発現を認め、プロラクチノーマでは他に比べ有意に AMF および AMF-R の発現が低下していた。

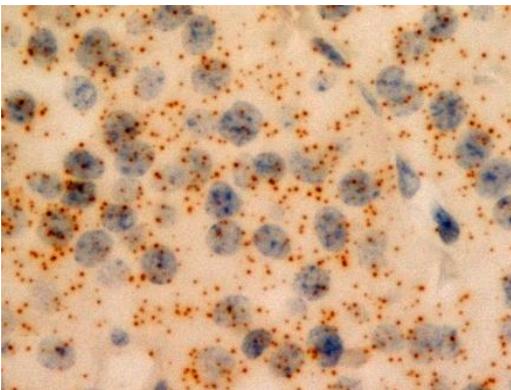
(圖 2 - A : Null cell adenoma : HE)



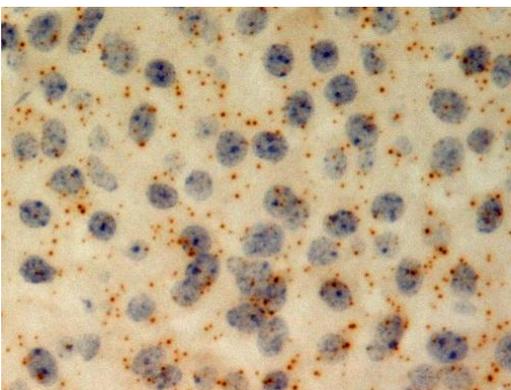
(圖 2 - B : Null cell adenoma : b-MG)



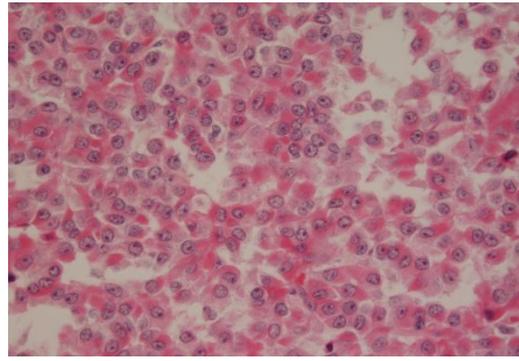
(圖 2 - C : Null cell adenoma : AMF)



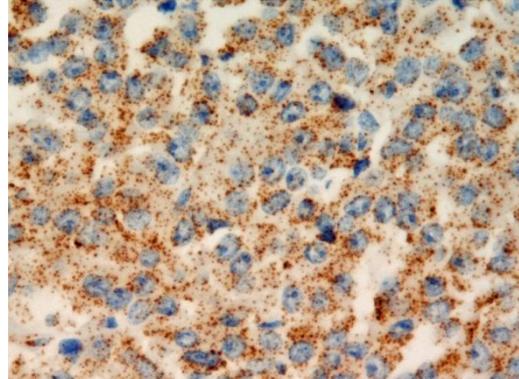
(圖 2 - D : Null cell adenoma : AMF-R)



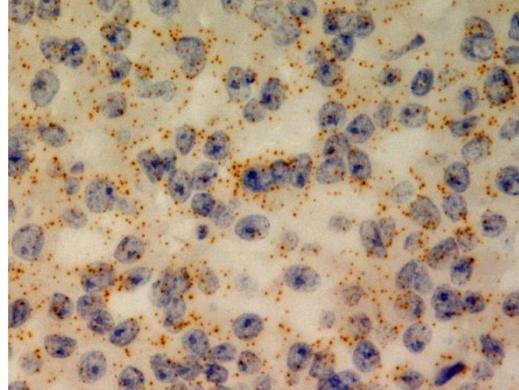
(圖 3 - A : GH 產生腺腫 : HE)



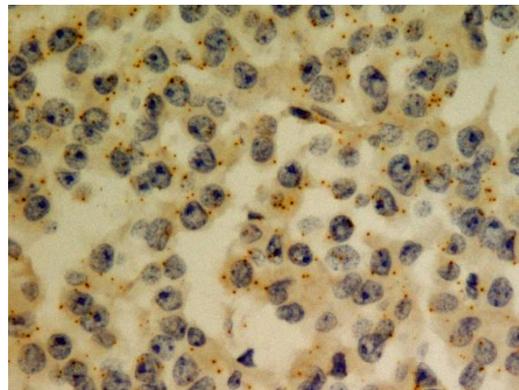
(圖 3 - B : GH 產生腺腫 : b-MG)



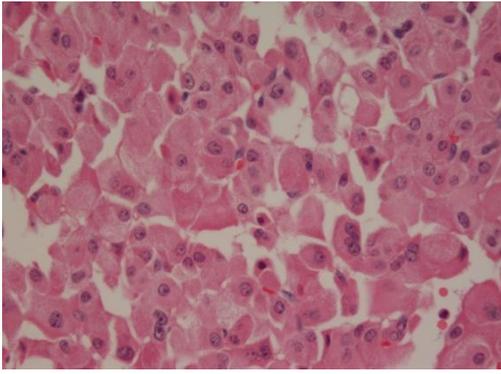
(圖 3 - C : GH 產生腺腫 : AMF)



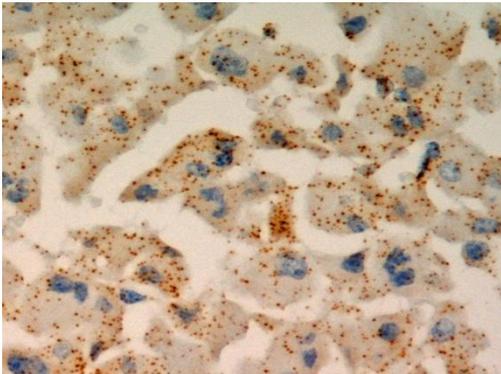
(圖 3 - D : GH 產生腺腫 : AMF-R)



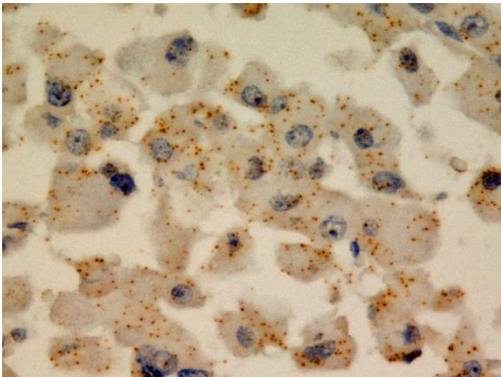
(圖 4 - A : ACTH 產生腺腫 : HE)



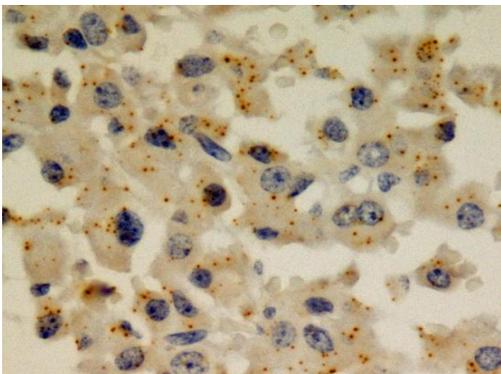
(圖 4 - B : ACTH 產生腺腫 : b-MG)



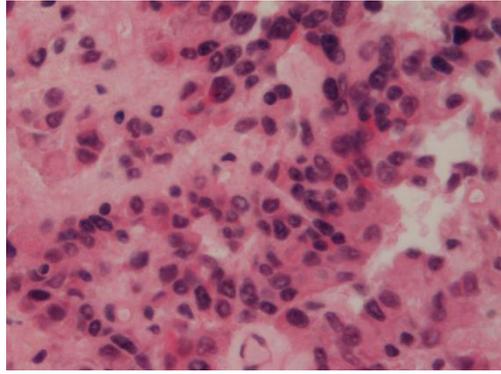
(圖 4 - C : ACTH 產生腺腫 : AMF)



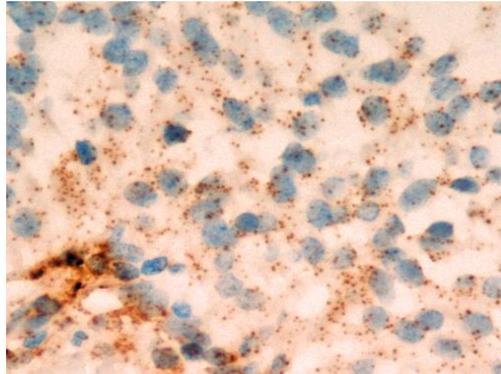
(圖 4 - D : ACTH 產生腺腫 : AMF-R)



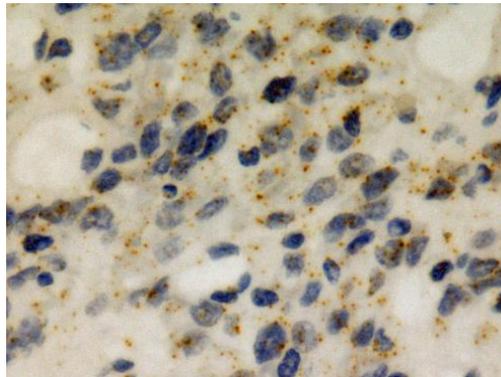
(圖 5 - A : PRL 產生腫瘍 : HE)



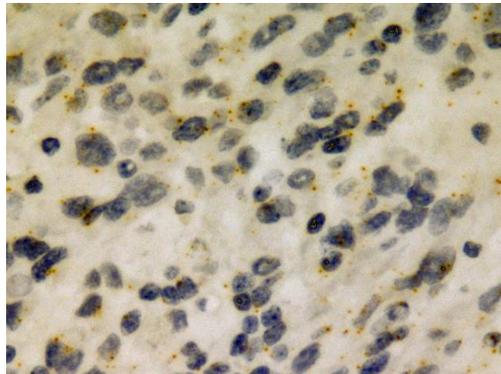
(圖 5 - B : PRL 產生腺腫 : b-MG)



(圖 5 - C : PRL 產生腺腫 : AMF)



(圖 5 - D : PRL 產生腺腫 : AMF-R)



b-MG と AMF および AMF-R のドット数の比は、非機能性腺腫では AMF/b-MG が 76%、AMF-R/b-MG が 58%であった。GH 産生下垂体腺腫では AMF/b-MG が 51%、AMF-R/b-MG が 19%であった。ACTH 産生腺腫では AMF/b-MG が 61%、AMF-R/b-MG が 21%であった。PRL 産生腺腫では AMF/b-MG が 33%、AMF-R/b-MG が 7%で、他の腺腫型に比し、有意に AMF、AMF-R の発現とも低い傾向にあった。

画像による浸潤性下垂体腺腫と AMF、AMF-R の発現に相関は認められなかった。

以上の結果より、ヒト正常下垂体および下垂体腺腫において AMF および AMF-R は、悪性腫瘍のような浸潤能とは別に autocrine で腫瘍細胞制御を自ら行っている可能性が示唆された。腫瘍型では、AMF および AMF-R mRNA の発現順は、非機能性 > ACTH > GH > プロラクチノーマであった。特に、プロラクチノーマでは発現が他に比し優有意に低下しており、この腫瘍型のみ AMF および AMF-R の影響を受けにくい可能性が示唆された。

一方、画像による海綿状脈洞浸潤と AMF および AMF-R 発現に相関性は認められなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Utsuki S, Oka H, Miyajima Y, Shimizu S, Suzuki S, Fujii K: Auditory alert system for fluorescence-guided resection of gliomas, *Neurol Med Chir (Tokyo)* 48: 95-98, 2008 査読あり
- ② Shimizu S, Osawa S, Utsuki S, Oka H,

Fujii K: Course of the bony canal associated with high-positioned supraorbital foramina: an anatomic study to facilitate safe mobilization of the supraorbital nerve. *Minim Invasive Neurosurg* 51: 119-123, 2008 査読あり

- ③ Shimizu S, Utsuki S, Suzuki S, Oka H, Yamada M, Fujii K: Modified irrigation hose placement in draping for craniotomy: provision of a free space for surgeons: technical note, *Minim Invasive Neurosurg* 51: 124-125, 2008 査読あり
- ④ Shimizu S, Miyazaki T, Suzuki S, Yamada M, Satoshi U, Oka H, Fujii K: Supratentorial craniotomy using a threadwire saw: technical note, *Neuro Med Chir (Tokyo)* 48: 191-194, 2008 査読あり

[図書] (計 5 件)

- ① 岡 秀宏、藤井清孝：腫瘍外出血をきたした聴神経鞘腫の手術；小脳橋角部腫瘍（聴神経腫瘍）；脳腫瘍実践ケーススタディ第 1 巻、田中聡、秋元治朗編、エスアップ社、pp124-127、2008
- ② 岡 秀宏、藤井清孝：第三脳室発生の頭蓋咽頭腫の診断と手術；間脳下垂体腫瘍（頭蓋咽頭腫）；脳腫瘍実践ケーススタディ第 1 巻、田中聡、秋元治朗編、エスアップ社、pp108-111、2008
- ③ 岡 秀宏、藤井清孝：壊死性下垂体腫瘍の診断と治療；間脳下垂体腫瘍（下垂体腺腫）；脳腫瘍実践ケーススタディ第 1 巻、田中聡、秋元治朗編、エスアップ社、pp104-107、2008
- ④ 岡 秀宏、藤井清孝：Eloquent area に発生した神経膠腫に対する覚醒下開頭腫

瘍摘出術；グリオーマ（覚醒下開頭腫瘍摘出術）；脳腫瘍実践ケーススタディ第1巻、田中聡、秋元治朗編、エスアップ社、pp32-35、2008

- ⑤ 岡 秀宏、藤井清孝：ラトケ嚢胞、佐伯直勝編、「脳神経外科 エキスパートガイドランス 2.間脳下垂体」、中山書店、pp275-282、2008

〔学会発表〕（計 12 件）

- ① 岡 秀宏、宇津木聡、安井美江、藤井清孝：下垂体腺腫における Autocrine mortility factor (AMF) mRNA およびその受容体遺伝子 mRNA 発現、第 19 回日本間脳下垂体腫瘍学会、2009.02.28、東京
- ② 岡 秀宏、宇津木聡、清水 暁、山崎友也、小泉寛之、大澤成之、安井美江、藤井清孝：AT/RT の insulin および IGF-1 受容体発現と治療の展望、26 回日本脳腫瘍学会、2008.12.02、松山
- ③ Hidehiro Oka, Kiyotaka Fujii: Endoscopic Neurosurgery: its anatomy and surgery, 2008 吉林中日神経外科学会、2008.11.12、長春、中国
- ④ 岡 秀宏、藤井清孝、Bernd W. Scheithauer: 胎児性脳腫瘍における外科病理：Atypical Teratoid / Rhabdoid Tumor を中心に、第 13 回日本外科病理学会学術集会、2008.09.27、東京
- ⑤ Hidehiro Oka, Satoshi Utsuki, Kiyotaka Fujii: Autocrine mortility factor mRNA and its receptor mRNA expression in human pituitary adenomas, The congress of Neurosurgeons, 2008.09.22、Orlando

- ⑥ 岡 秀宏、宮島義輝、宇津木聡、安井美江、藤井清孝：中枢神経系悪性リンパ腫と Epstein-Barr virus の関連性：in situ hybridization 法による検討、第 9 回日本分子脳神経外科学会、2008.08.30、京都
- ⑦ Hidehiro Oka, Kiyotaka Fujii: Clinical features of atypical teratoid / rhabdoid tumor in Japan, 13th International symposium on pediatric neuro-oncology, 2008.07.01, Chicago
- ⑧ 岡 秀宏、宇津木聡、清水 暁、中原邦晶、藤井清孝：Atypical Teratoid / Rhabdoid Tumor の集学的治療の現状と展望：全国調査結果から、第 36 回日本小児神経外科学会、2008.05.29、東京
- ⑨ 岡 秀宏、柿沼廣邦、岩渕啓一、原 敦子、宇津木聡、藤井清孝、岡安 勲、川野信之：脳腫瘍術中迅速診断の正診率向上のために、第 26 回日本脳腫瘍病理学会、2008.05.23、東京
- ⑩ 岡 秀宏、藤井清孝：Atypical Teratoid / Rhabdoid Tumor (AT/RT)：WHO2000 に含まれた新胎児性脳腫瘍と最新知見、第 15 回メイヨーニューロサイエンスフォーラム、2008.03.22、京都
- ⑪ 岡 秀宏、宇津木聡、清水 暁、谷崎義徳、藤井清孝：Atypical Teratoid / Rhabdoid Tumor の最新知見、第 25 回日本脳腫瘍学会、2007.12.11、東京
- ⑫ 岡 秀宏、藤井清孝：Atypical Teratoid / Rhabdoid Tumors (AT/RTs)：本邦における AT/RT の現状と最新知見、第 8 回多摩脳腫瘍研究会、立川、2007.10.20

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡 秀宏 (Oka Hidehiro)
北里大学・医学部・講師
研究者番号：60213914