

審査の結果の要旨

氏名 前川 滋克

本研究は副腎性クッシング症候群において発症に深く関係する遺伝子を見出すため、全エクソンシーケンシングの結果をもとに機能解析を行い、下記の結果を得ている。

1. 8例で全エクソンシーケンシングを行った結果、8例中4例でcAMP依存性プロテインキナーゼA (PKA) の触媒サブユニットであるPRKACAの変異を発見した。その全てがp.L206Rを引き起こす同一カ所の変異であった。さらにGNAS p.R201Cの変異も同定した。
2. 全65例に症例数を増やしサンガー法によるダイレクトシーケンシングをした結果、PRKACAはPRKACA p.L206Rの変異は34例 (52.3%) に認めた。GNAS遺伝子の変異は11例 (16.9%) で認め、変異の内訳はR201C、R201Hであった。これらPRKACAとGNASはどちらもcAMP/PKA関連遺伝子であり、両者の変異は症例間で完全に排他的であった。
3. PRKACAとGNASの変異と臨床所見の比較の結果、PRKACA変異を持つ群では両遺伝子の変異を持たない群 (WT) と比べ、1mgデキサメタゾン抑制試験の結果が優位に高値であった ($p=2.60 \times 10^{-3}$)。また、PRKACA変異のある腺腫はWTと比べ優位に腫瘍径が小さかった。以上より、PRKACA変異のある腺腫の細胞はコルチゾールの産生能が高いと考えられた。さらに、サブクリニカルクッシング症候群の患者ではPRKACAとGNASのいずれかの変異を持つ症例は1例ずつしかおらず、臨床所見を伴うクリニカルなクッシング症候群ではいずれかの変異を有する症例は75%と高値であった。
4. HEK293T 細胞に mock、PRKACA WT、PRKACA Mutant のそれぞれを強制発現させた細胞および精製した純度の高いタンパクを用いた共免疫沈降法によって、PRKACA の p.L206R 変異は PRKAR1a との結合を阻害していることを証明した。次に、PKA のアッセイキットによって PKA の活性を調べ Mutant 群では PKA 活性の亢進しており、その活性は cAMP 濃度に依存しないことを実証した。PKA 阻害剤を用いた PKA 活性アッセイの結果でも、Mutant 群は制御ユニットと結合しない遊離状態にあることが示された。

以上、本論文は副腎性クッシング症候群において、半数以上に認められるPRKACA p.L206R変異は制御ユニットと結合できずに遊離しておりcAMP非依存性のPKA活性を持つことを明らかにした。本研究は副腎性クッシング症候群において、発症に関わると考えられる機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、博士論文の水準を十分満たし学位の授与に値するものと考えられる。