

	つまぬま	いたる
氏名	妻	沼 到
学位	博 士	(医学)
学位記番号	新大博(医)	第1681号
学位授与の日付	平成17年	9月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当	
博士論文名	Demonstration of hydroxyindole-O-methyltransferase (HIOMT) mRNA expression in pineal parenchymal tumors: Histochemical in situ hybridization (松果体実質腫瘍に於ける HIOMT mRNA の発現に関する研究)	
論文審査委員	主査	教授 高橋 均
	副査	教授 田中 隆一
	副査	教授 西澤 正豊

#### 博士論文の要旨

【目的】松果体実質腫瘍 (pineal parenchymal tumors) は、病理組織学的に松果体細胞腫 (pineo-cytoma) と松果体芽腫 (pineoblastoma) に大別される稀な腫瘍群である。Pineocytoma は組織学的に正常松果体に類似し、松果体細胞がその発生起源と考えられているが、pineoblastoma は原始神経外胚葉腫瘍 (primitive neuroectodermal tumor) と同様の組織像を呈し、その細胞起源は不明確である。中でも pineoblastoma は小児に好発し、集学的治療を行っても早期に髄腔内播種を来し、ほとんどの症例は診断から2年以内に死亡する。播種性病変の早期診断は容易ではなく、これらの臨床上的問題点を克服するための手段の一つとして、松果体実質腫瘍に特徴的に発現されるタンパク質即ち腫瘍マーカーの開発が重要と考えられる。Hydroxyindole-O-methyltransferase (HIOMT) は、メラトニン生合成の最終段階を触媒する酵素で、松果体・網膜に発現が確認されている。メラトニン分泌量には大きな日内変動があるにも拘わらず、正常人に於ける HIOMT の血中・髄液中濃度の日内変動は少ないことが知られており、腫瘍マーカーに用いるに好都合である。そこで我々は、松果体実質腫瘍組織に於ける HIOMT の発現を HIOMT mRNA に特異的な oligonucleotide probe を用いた in situ hybridization 法により、一部症例では northern blot 解析および RT-PCR 法により解析した。

【方法】手術により摘出された3例の pineoblastoma, 5例の pineocytoma の腫瘍組織を対象とした。① HIOMT mRNA に特異的な oligonucleotide probe を作成し、 $[^{35}\text{S}]\text{dATP}$  で標識し、全症例につき in situ hybridization を施行した。② HIOMT 遺伝子エクソン9の一部を標的とした DNA probe を作成し  $[^{32}\text{P}]\text{dATP}$  で標識し、pineocytoma, pineoblastoma 各1例の腫瘍組織より抽出した RNA につき northern blot 解析を施行した。

③ ② と同一の症例に関し RT-PCR 法，増幅産物に対する塩基解析を行い，alternative splicing のパターンを正常松果体の場合と比較した。

【結果】① In situ hybridization 法により，pineoblastoma の 3 例中 2 例，pineocytoma の 5 例全例に於いて，正常松果体に比べて弱いものの HIOMT mRNA の発現が確認された。Pineoblastoma の 1 例，pineocytoma の 2 例ではシグナルはほとんどの腫瘍細胞に明瞭に認められたが，pineoblastoma の他の 1 例，pineocytoma の 1 例ではシグナルを認めた細胞は散見されるのみであった。また pineocytoma の他の 2 例では，微弱なシグナルを一部の細胞で認めた。② Northern blot 解析を行い得た pineoblastoma，pineocytoma の各 1 例に於いて，HIOMT mRNA の発現を認めた。③ RT-PCR 法では，pineoblastoma，pineocytoma いずれに於いても alternative splicing による 3 種類のサイズの HIOMT mRNA が増幅され，増幅産物に対する塩基解析により正常松果体と同一の alternative splicing が起こっていることが確認された。

【考察】本研究は，メラトニン合成酵素である HIOMT の松果体実質腫瘍に於ける発現を in situ で初めて証明したものである。過去に pineoblastoma ならびに pineocytoma が HIOMT 酵素活性を有する事を証明した報告が数編あるが，腫瘍組織に正常松果体が混在していた可能性が否定できない。それ故松果体実質腫瘍細胞そのものでの発現を in situ で確認し得たことは意義深いと考える。HIOMT が pineocytoma のみならず，より未分化で増殖能の高い pineoblastoma にも発現していることは，HIOMT が松果体実質細胞の機能維持に不可欠であること，pineoblastoma が松果体実質細胞を起源とする腫瘍であり，他の primitive neuroectodermal tumor とは一線を画す腫瘍であることを示唆すると同時に，HIOMT が松果体実質腫瘍の診断，病態の追跡に有用な腫瘍マーカーとして機能しうる可能性を秘めていると考える。

#### 論文審査の要旨

申請者らは，松果体実質腫瘍である pineocytoma と pineoblastoma の細胞起源を探る目的で，正常松果体に発現することが知られているメラトニン合成酵素である HIOMT の松果体実質腫瘍における発現を in situ hybridization 法などを用いて検討した。方法は，手術により摘出された 5 例の pineocytoma および 3 例の pineoblastoma の腫瘍組織を対象とし，HIOMT mRNA に特異的な oligonucleotide probe を用いて in situ hybridization を行った。その結果，pineocytoma 5 例全例および pineoblastoma 3 例中 2 例において，HIOMT mRNA の発現が確認された。Pineocytoma の 2 例および pineoblastoma の 1 例では，シグナルはほとんど全ての腫瘍細胞に明瞭に認められたが，その他の例では一部の細胞で散見されるか，微弱なシグナルを認めるのみであった。

以上，本研究はメラトニン合成酵素である HIOMT の松果体実質腫瘍細胞における発現を in situ ではじめて証明したこと，また，その起源が不明確であった

pineoblastoma が松果体細胞を起源とする腫瘍であり、他の primitive neuroectodermal tumor とは一線を画す腫瘍であること、HIOMT が松果体実質腫瘍の診断に有用なマーカーとなりうることを示した点に学位論文としての価値を認める。