

## 【要約】

### **Identification of novel gene alterations in adrenocortical carcinoma and its contribution to cancer progression through ferroptosis**

(副腎皮質癌における新規遺伝子変異の同定とferroptosisを介した癌進展への寄与)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：横手幸太郎教授)

志賀 明菜

## 【目的】

副腎皮質癌 (Adreno cortical carcinoma: ACC) は年間発症率 1-2/100 万人の非常に稀な悪性内分泌疾患である。外科手術による腫瘍の完全除去が唯一の根治術であり、再発例、転移例では様々な療法を組み合わせて治療を行うものの、5 年生存率は 35% 以下と極めて予後不良である。ACC における薬物治療として、ミトタンとエトポシド・ドキソルビシン・シスプラチニ (EDP) の併用療法が一般的に用いられており、近年ではターゲットセラピーや、免疫チェックポイント阻害剤などを用いた様々な治験が行われているが期待されたような結果は得られていない。また、近年 ACC では *TP53*, *CTNNB1* 異常の高率な合併などが認められるものの、未だ不十分であり、更なる新規の鍵分子や経路の同定と治療法の開発が求められている。この様な背景から本研究ではゲノムワイド解析を用いて ACC における新規遺伝子変異検索を行った。更にその作用分子メカニズムを明らかとするとともに副腎癌における新たな治療標的としての可能性につき検討を行った。

## 【方法】

2008 年～2018 年の間に当院にて手術又は生検を行った ACC 11 例を対象に腫瘍のゲノム DNA を抽出し、副腎癌関連新規遺伝子変異を同定する目的で全エクソームシークエンスを行った。更に、RNA 抽出可能であった 9 例の total RNA を抽出し、RNA シークエンス解析を行うとともに新規同定遺伝子の作用分子メカニズム解析を行った。そして、ヒト副腎皮質癌由来細胞 H295R を用いて新規同定遺伝子をサイレンシングし副腎癌細胞の増殖・浸潤に及ぼす影響を Cell growth assay, colony forming assay, Wound healing assay で評価した。

## 【結果・考察】

全エクソームシークエンスでは既存の報告と一致して全例に何らかの染色体数異常を認め、特に 5,6,9,19 番染色体の増幅と 1p,3,22 番染色体の欠失は半数以上の症例で認められた。更に既知の遺伝子異常である、*TP53*, *BR1*, *APC*, *CTNNB1* 遺伝子異常を認めた。一方で新規

遺伝子異常として *CTNNB1* 遺伝子の Exon3 の deletion に加えて、*FBXW7* 遺伝子変異を認めた。

*CTNNB1* Exon3 領域にはリン酸化部位が集中しており、リン酸化を受けた  $\beta$  カテニンはユビキチン化により分解される。一方で分解を逃れると  $\beta$  カテニンは核内へ移行し、Tcf/Lef と複合体を形成する事で各種転写因子の発現を促し、組織の増殖・腫瘍化を促進する。副腎組織を用いて  $\beta$  カテニン免疫染色を行なった所、*CTNNB1* E3 deletion 症例では有意に  $\beta$  カテニンの核内移行を認めた。更に  $\beta$  カテニンの下流遺伝子である *AXIN2* の発現も有意に上昇していた事から *CTNNB1* deletion は  $\beta$  カテニンを活性化する事が明らかとなった。一方、*FBXW7* はユビキチン化関連遺伝子でありその変異は  $\beta$  カテニンを活性化することが判明した。更に H295R 細胞で *FBXW7* をサイレンシングすると Cell growth assay, colony forming assay, Wound healing assay で副腎癌細胞の増殖・浸潤が増悪することが示された。更に *CTNNB1* E3 deletion や *FBXW7* 遺伝子変異を有する副腎癌症例は有意に生存曲線が低下していた。

### 【結論】

副腎癌新規同定遺伝子異常として *CTNNB1* E3 deletion と *FBXW7* 遺伝子変異を同定した。いずれも  $\beta$  カテニンの活性化を調整し、予後不良化と関わっていることが明らかとなり、新たな予後予測因子、更には新規治療標的となる可能性が示唆された。