

別記様式第 6 号 (第 16 条第 3 項, 第 25 条第 3 項関係)

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	一町 澄宜
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1, 2 項該当		
論文題目 Aberrant G protein-receptor expression is associated with DNA methylation in aldosterone-producing adenoma (アルドステロン産生腫瘍において異所性 G タンパク受容体の発現は DNA メチル化と関連している)			
論文審査担当者			
主査	教授 田代 聡	印	
審査委員	教授 稲葉 俊哉		
審査委員	准教授 大上 直秀		
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>原発性アルドステロン症 (PA) は二次性高血圧の原因として最も多く, 自律性の過剰なアルドステロン合成・分泌を伴う。PA は主にアルドステロン産生腫瘍 (APA) と特発性アルドステロン症に分類される。これまでの研究より, 50-80% の APA に KCNJ5, ATP1A1, ATP2B3, CACNA1D, CTNNB1 の体細胞変異が見られ, アルドステロン過剰産生に関与していることが明らかになっている。他方, APA では異所性 G タンパク共役受容体 (GPCR) が発現し, その作動薬や阻害薬がアルドステロン合成に影響することもよく知られている。しかし, 異所性 GPCR がなぜ発現増加しているか, その調節機構については明らかではない。近年, DNA 配列の変化を伴わないエピジェネティックな修飾が癌や腺腫, 生活習慣病の進展に関与することが指摘されている。DNA メチル化はエピジェネティックな修飾の一つであり, プロモーター領域の低メチル化は転写因子の結合を促進させる。副腎において, DNA メチル化は胎児の副腎発達や副腎皮質癌の進展に関わる可能性が報告されている。著者らのグループはこれまで, アルドステロン合成の律速酵素である CYP11B2 が APA において低メチル化されていることを報告した。以上の知見より, 著者らは APA における異所性 GPCR の発現に DNA メチル化が関与していると仮説をたて, APA における異所性 GPCR の mRNA 発現量と DNA メチル化との関連を明らかにすることを本研究の目的とした。</p> <p>著者らは, DNA メチル化アレイ (Infinium HumanMethylation450 BeadChip) とマイクロアレイ (SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K Ver. 2.0) を用いた統合解析を 35 例の APA 組織と 12 例の非機能性副腎皮質腺腫 (NFA) 組織において行い, APA 群で 192 の GPCR 関連遺伝子中 62 遺伝子においてプロモーター領域が低メチル化していること発見した。さらに HTR4, MC2R, TACR1, GRM3, PTGER1 の 5 遺伝子において, APA 群では NFA 群に比較し DNA 低メチル化かつ mRNA の発現増加を認めた。リアルタイム PCR を用いた検討では, HTR4, PTGER1 はそれぞれ 9.3 倍, 6.6 倍と APA 群において有意に発現が上昇していた。HTR4 プロモーターの推定メチル化部位は 3 カ所, PTGER1 は 4 箇所の推定メチル化部位を認めた。これらのメチル化部位のうち, HTR4 の転写開始点 (TSS) から 229 塩基対上流にある DNA メチル化率, 及び PTGER1 の TSS から 666 塩基対上流にある DNA メチル化率が, 各遺伝子 mRNA 発現量と有意な逆相関を示した。APA はアルドステロン過剰合成をもたらす KCNJ5 や ATP1A1 の体細胞変異がみられるが, これらの変異と DNA メチル化率に関連を認めなかった。</p> <p>以上より, APA において GPCR 関連遺伝子のプロモーター領域は, 高頻度に低メチル化していることがわかった。つまり APA では GPCR が低メチル化されることで転写されやすい状態にあることが明らかになった。HTR4 や PTGER1 のリガンドは副腎組織においてアルドステロン合成を促進することが報告されており, HTR4 と PTGER1 は低メチル化を介し APA で発現増加し, 両者は APA においてアルドステロン合成の促進に関与しているかもしれない。また, これら DNA メチル化は既知の遺伝子変異とは独立した機序で起こることが推測された。</p> <p>以上の結果から, 本論文は APA における異所性 GPCR 発現の分子機序解明に重要な情報であり高く評価される。よって審査委員会委員全員は, 本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。</p>			

別記様式第7号（第16条第3項関係）

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	一町 澄宜
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目 Aberrant G protein-receptor expression is associated with DNA methylation in aldosterone-producing adenoma (アルドステロン産生腫瘍において異所性Gタンパク受容体の発現はDNAメチル化と関連している)			
最終試験担当者			
主査	教授 田代 聡	印	
審査委員	教授 稲葉 俊哉		
審査委員	准教授 大上 直秀		
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成29年11月2日の第71回広島大学研究科発表会（医学）及び平成29年11月13日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 これまで報告されているイオンチャネルの遺伝子変異や今回検討したDNAメチル化は、アルドステロン産生腺腫の腫瘍増殖にどのような関連があるか？ 2 DNAメチル化を検出する方法として、いくつか方法がある中でメチル化ビーズアレイを選択した理由は何か？ 3 腫瘍サンプルの検体採取はどのような方法で行ったか？ 4 今回の検討ではアルドステロン産生腺腫と非機能性副腎皮質腺腫を比較しているが、腫瘍部と非腫瘍部の比較も重要ではないか？ 5 解析した二つの遺伝子（HTR4・PTGER1）の発現量によって臨床的特徴に違いはあったか？ 6 今回得られた知見については、どのような臨床応用が考えられるか？ <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			