

論文内容要旨

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)

Molecular and Cellular Endocrinology, 2017, in press.

主指導教員：服部 登教授

(医歯薬保健学研究科 分子内科学)

副指導教員：浅野 知一郎教授

(医歯薬保健学研究科 医化学)

副指導教員：米田 真康講師

(病院 内分泌・糖尿病内科)

一町 澄宜

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

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。私たち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、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、本研究では 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目的とした。

私たちは、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を見出した。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。

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。これらの知見は 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る。