

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	小武家 和博
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項 2 項該当		
論文題目			
Calneuron 1 Increased Ca ²⁺ in the Endoplasmic Reticulum and Aldosterone Production in Aldosterone-Producing Adenoma (カルシウム結合タンパク Calneuron 1 は小胞体 Ca ²⁺ 増幅を介しアルドステロン産生腺腫におけるアルドステロン合成を促進する)			
論文審査担当者			
主 査	教授 木原 康樹	印	
審査委員	教授 今泉 和則		
審査委員	講師 小久保 博樹		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>原発性アルドステロン症(PA)は、心血管疾患の合併率が著しく高い重要な疾患である。近年、PAのうちアルドステロン産生腺腫(APA)にて <i>KCNJ5</i>, <i>ATP1A1</i>, <i>ATP2B3</i>, <i>CACNA1D</i> の遺伝子変異が同定され、細胞内 Ca²⁺シグナルの活性化により、アルドステロン合成酵素 (CYP11B2) の発現を促進することが明らかとなった。筆者らは、アルドステロン自律・過剰合成時の細胞内 Ca²⁺シグナル伝達を調節する鍵分子を同定し、その因子を制御することで PA の治療標的因子を同定できると考えた。APA や非機能性副腎皮質腺腫(NF)の腫瘍標本を用いた網羅的遺伝子発現解析から、calneuron 1 をコードする <i>CALN1</i> が <i>CYP11B2</i> と最も強い関連を示すことを見出したが、calneuron 1 の副腎皮質での発現やアルドステロン合成への関与は全く明らかでなかった。そこで、calneuron 1 を介したアルドステロン合成制御機構を解明することを本研究の目的とした。著者らは、当院で副腎摘出術を実施した APA と NF の腫瘍検体を対象に、網羅的遺伝子発現解析を行い、細胞内 Ca²⁺伝達に関わる構造(EF-hand)をもつ 155 分子から、CYP11B2 発現と最も関連する <i>CALN1</i> を同定した。免疫組織化学では、APA における CYP11B2 と calneuron 1 の発現部位は一致し、NF では両者の発現はみられず、副腎皮質球状帯にのみ calneuron 1 の発現を認めた。A-II 刺激下の副腎癌培養細胞株(HAC15)で、<i>CALN1</i> 発現は 1.7 倍に増加した。低濃度食塩で飼育したラットから摘出した副腎標本の免疫組織化学で、CYP11B2 と calneuron 1 の強発現を認めた。<i>CALN1</i> を過剰発現させると、<i>CYP11B2</i> mRNA 発現量は 5.8 倍に増加し、上清中のアルドステロン濃度は 11.2 倍に増加した。<i>CALN1</i> 発現を抑制すると、baseline では変化はみられなかったが、A-II 刺激後のアルドステロン合成は抑制された。APA モデルである <i>KCNJ5</i> 遺伝子変異導入細胞では calneuron 1 のノックダウンにより、アルドステロン合成は baseline の 70%に減少した。次に筆者らは GFP 融合 calneuron 1 と、細胞構造標識試薬を用いて小胞体に存在することをしめした。<i>CALN1</i> を導入した HAC15 において、細胞内 Ca²⁺濃度は有意に増加した。この HAC15 において ER への Ca²⁺取り込みを担う SERCA2 を抑制すると、calneuron1 により増幅されたアルドステロン合成は低下した。</p>			
<p>以上の結果から、著者らは APA や A-II 依存性アルドステロン過剰症において、小胞体における calneuron 1 の発現増加および Ca²⁺貯蔵増加を示し、<i>CALN1</i> 発現調節により、アルドステロン合成が制御されることを示した。本論文は calneuron 1 の、Ca²⁺濃度制御を介したアルドステロン合成調節機序解明の重要な情報であり評価される。</p>			
<p>よって審査委員会委員全員は、本論文が小武家和博に博士 (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>			

改行を変更しました。

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	小武家 和博
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目 Calneuron 1 Increased Ca ²⁺ in the Endoplasmic Reticulum and Aldosterone Production in Aldosterone-Producing Adenoma （カルシウム結合タンパク Calneuron 1 は小胞体 Ca ²⁺ 増幅を介しアルドステロン産生腺腫におけるアルドステロン合成を促進する）			
最終試験担当者			
主査	教授	木原 康樹	印
審査委員	教授	今泉 和則	
審査委員	講師	小久保 博樹	
〔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30年1月4日の第72回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年1月10日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 アルドステロン合成に関与する Ca シグナルを制御する分子として、EF ハンド構造を持つ分子に着目しているが、そのほかの Ca シグナルに関わる分子やその他の遺伝子群についてはターゲットとして検討しているか。 2 SERCA と calneuron 1 との相互作用について、直接的な結合などをみているか。SERCA と calneuron 1 との間で Ca イオンの受け渡しはされるのか。されないならば Ca イオンと calneuron 1 との結合は SERCA にどのように影響するか。 3 Calneuron 1 による ER カルシウム貯蔵増加については検討されているが、Ca シグナル形成には Ca 放出のメカニズムについては検討しているか。IP3R への calneuron 1 の作用などは検討されているか。 4 アルドステロンによる心血管系への障害のメカニズムを踏まえ、アルドステロン関連の従来治療薬・アルドステロン受容体拮抗薬の臨床的意義と、今回の研究結果から創薬される薬剤との臨床的意義は何か。 5 calneuron 1 のバリエーション 1 と 2 の間でのアルドステロン合成能の差が生じる理由について検討しているか。欠落する Exon1 に機能活性部位は含まれるか。 6 calneuron 1 の臓器特異性、既知の働きについてと、そこから考えられる創薬上の問題点についてどう把握しているか。 7 今後の calneuron 1 を用いた創薬研究の展望・課題について。 <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>			