

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	松村 誠也
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 H558R, a common SCN5A polymorphism, modifies the clinical phenotype of Brugada syndrome by modulating DNA methylation of SCN5A promoters (SCN5A 遺伝子多型の H558R は SCN5A 遺伝子プロモーター領域のメチル化を抑制することでブルガダ症候群の表現形を修飾する)			
論文審査担当者			
主査	教授	末田 泰二郎	印
審査委員	教授	東 幸仁	
審査委員	講師	小久保 博樹	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>ブルガダ症候群は致死的不整脈を引き起こし, 健常若年者の心臓突然死の 4-12%を占める疾患である。主な原因遺伝子は, ヒト心筋 Na⁺チャネル α サブユニットをコードする SCN5A 遺伝子であるが, 遺伝子変異が同定されるのはブルガダ症候群の 20~30%である。ブルガダ症候群は不完全浸透の常染色体優性遺伝であるがその多様な浸透率のメカニズムについては不明な点が多い。過去の報告では, その浸透率は遺伝子変異と共存する遺伝子多型によるものと言われている。SCN5A 遺伝子多型の内, 比較的頻度の高い H558R(c.1673, A>G, rs1805124)は遺伝子調節にかかわっていると報告されている。H558R が存在すると SCN5A 遺伝子変異保因者のブルガダ症候群の心電図変化や臨床的表現形が改善するという報告や, 実験レベルでは SCN5A 遺伝子変異により引き起こされたナトリウムチャネルの機能低下を改善する報告などがあるが, その保護的修飾のメカニズムや臨床的な予後との関係については解明されていない。</p> <p>H558R がブルガダ症候群に与える影響とそのメカニズムを明らかにすることを目的に研究を行った。1995 年 5 月から 2014 年 11 月の間にブルガダ症候群と診断された 100 名(平均年齢 45±14 歳, 男性 91 名)と, 正常コントロール群 1875 名(平均年齢 54±18 歳, 男性 1546 名)を対象として, 末梢血白血球から DNA を抽出し, H558R のタイピングを行い, ブルガダ症候群患者と正常コントロール群で比較検討を行った。当院心臓血管外科で大動脈瘤手術を施行された患者 30 名(平均年齢 67±12 歳, 男性 17 名)の右房筋から total RNA およびゲノム DNA を抽出し H558R の有無と SCN5A 遺伝子発現量及び, SCN5A 遺伝子プロモーター領域のメチル化との関係について解析を行った。ブルガダ症候群患者においては, H558R の有無と, 心室細動, 失神の既往や 12 誘導心電図, 平均加算心電図, 電気生理学的検査の各所見の関係について比較検討を行った。</p> <p>H558R の頻度は正常コントロール群と比較してブルガダ症候群患者で有意に低く, ブルガダ症候群患者のうち, 心室細動の既往のある患者群では H558R の保因者はおらず, 心室細動の既往のない患者群と比べて有意に H558R の頻度が低い結果となった。ブルガダ症候群患者で H558R 保因者 9 名と非保因者 91 名で比較したところ, 保因者では心室細動および失神の既往のある患者はおらず, 12 誘導心電図所見は保因者では薬物負荷がない状態でも type1 心電図を認める患者が非保因者と比べて有意に少なく(33.3% vs. 74.7%, P = 0.01), 前胸部誘導(V1 および V2)での ST 上昇も軽微であった (V1: 1.7±0.5 mV vs.</p>			

2.8±1.4 mV, P = 0.0003, V2: 2.4±1.3 mV vs. 4.2±1.8 mV P = 0.0038)。その他心電図所見, 平均加算心電図所見, 電気生理学的検査所見は 2 群間で有意差は認めなかった。右房筋を用いた患者では, 30 名中 10 名で H558R を認め, いずれもヘテロ接合型であった。右房筋での SCN5A 遺伝子発現量は H558R 保因者で非保因者と比べて有意に多く (0.98 ± 0.14 vs. 0.83 ± 0.19, P = 0.04), プロモーター領域のメチル化は H558R 保因者で有意に抑制されていた。(0.7±0.2% vs. 1.6±0.1%, P = 0.004)。また, SCN5A の mRNA 発現量とメチル化率には負の相関を認めた (r = -0.38, P = 0.04)。さらに, H558R 保因者で右房筋での A アレル(wild)と G アレル(pathogenic)の発現比はゲノム DNA では等しい一方, mRNA においては A アレルが G アレルより発現比が高く, H558R 保因者では SCN5A 遺伝子のアレル不均衡を認めた。

今回の研究では, H558R は SCN5A 遺伝子発現量やメチル化を修飾するところで, 遺伝子変異のないブルガダ症候群患者においても心室細動発生に対して保護的に働くことが示唆された。多くの基礎実験でも, H558R が Na⁺チャネル異常を改善させることが示されているが, そのメカニズムについては十分に解明されていない。今回の研究では, H558R があると SCN5A 遺伝子発現量が多いことが示され, 発現量が多いことが保護的作用に関与していると考えた。また, アレル不均衡の結果から, 遺伝子変異と H558R が同じアレルに存在した場合, 変異アレルの発現量が抑制されることで変異の効果が抑制される可能性が考えられる。ブルガダ症候群は思春期以前に発症することがまれな疾患であり, 年齢とともに増加する他の疾患と同様に, エピジェネティクスの関与も考えられる。DNA メチル化は遺伝子発現を調節していることが知られており, H558R 保因者ではプロモーター領域のメチル化が抑制されることで, SCN5A 遺伝子発現量が増加しているものと考えられる。H558R が存在する塩基配列付近はメチル化のホットスポットとして知られ, ブルガダ症候群との関連が指摘されている。遺伝子本体とプロモーター領域のメチル化は逆相関することが報告されていること, R558(CGC)は H558(CAC)よりメチル化されやすいことから, H558R の存在とプロモーター領域のメチル化抑制に関連があると考えられる。

以上の結果から, 本論文は心筋組織を用いることにより, H558R がブルガダ症候群において保護的に作用するメカニズムの一端を示した。H558R とプロモーター領域メチル化との直接的な関係性についてはさらなる研究が必要であるが, 本研究はブルガダ症候群のリスク層別化において重要な知見を提供したとともに, ブルガダ症候群の発症メカニズム解明において有用な研究と考える。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。

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	松村 誠也
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 H558R, a common SCN5A polymorphism, modifies the clinical phenotype of Brugada syndrome by modulating DNA methylation of SCN5A promoters (SCN5A 遺伝子多型の H558R は SCN5A 遺伝子プロモーター領域のメチル化を抑制することでブルガダ症候群の表現形を修飾する)			
最終試験担当者			
主 査	教授	末田 泰二郎	印
審査委員	教授	東 幸仁	
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 2 月 1 日の第 73 回広島大学研究科発表会(医学)及び平成 30 年 2 月 5 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 H558R ヘテロ接合型での allelic imbalance 2 H558R の保護的作用と、その臨床応用 3 H558R と DNA アセチル化 4 ブルガダ症候群の原因が右室流出路心外膜側にある理由 5 心房筋と心室筋での SCN5A 発現量、メチル化の相違 <p>これらに対し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>			