

## 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 | 吉井 陽子 |
| 学位授与の条件   | 学位規則第 4 条第①・2 項該当 |    |       |
| 論文題目  |                   |    |       |
| Hypomethylation of CYP11B2 in Aldosterone- Producing Adenoma<br>(アルドステロン産生腺腫における CYP11B2 の低メチル化について)  |                   |    |       |
| 論文審査担当者   |                   |    |       |
| 主査 教授   | 今 泉 和 則           | 印  |       |
| 審査委員 教授   | 檜 山 英 三           |    |       |
| 審査委員 准教授  | 山 本 秀 也           |    |       |
| <p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>日本の高血圧患者はおよそ 4000 万人に上ると推定され，高血圧患者のうち少なくとも 10% が二次性高血圧であると報告されている。原発性アルドステロン症（primary aldosteronism, PA）はレニン・アンジオテンシン系とは独立した，アルドステロンの過剰かつ自律的な産生を示す代表的な二次性高血圧である。PA は本態性高血圧に比べて心血管疾患や慢性腎臓病の合併率が高く，アルドステロン合成・分泌の制御機構の解明は臨床的に極めて重要である。</p> <p>アルドステロンは CYP11B1, CYP11B2, StAR, HSD3B などの複数のステロイド合成酵素によって合成される。アルドステロンの自律・過剰分泌を認める PA の成因については長らく不明であったが，近年，アルドステロン産生腺腫（aldosterone-producing adenoma, APA）の約半数に KCNJ5, ATP1A1, ATP2B3, CACNA1D 遺伝子などの体細胞変異が同定され，これらの遺伝子変異が，Ca<sup>2+</sup>シグナル経路の活性化やアルドステロン合成の律速酵素である CYP11B2 の過剰発現をもたらすことが明らかになった。APA の半数ではこれらの体細胞変異が，アルドステロン過剰産生の原因であると考えられるが，残りの半数ではこれらの変異とは異なるメカニズムが存在する可能性がある。</p> <p>そのうちのひとつとして，我々は後天的なエピジェネティクスが関与している可能性を考えた。近年，転写因子などを介した古典的な遺伝子調節機構に加え，DNA の配列変化を伴わないエピジェネティックな遺伝子調節が，ホルモン合成，発癌，腫瘍増殖などに関わっていることが報告されている。エピジェネティック調節の一因である DNA プロモーター領域のメチル化は，シトシンのピリミジン環の 5 位炭素原子のメチル基の付加反応であり，プロモーター領域のメチル化シトシンは遺伝子発現の抑制に関与することが示されている。</p> <p>本研究では，アルドステロン合成・分泌の制御機構について，APA においてステロイド合成酵素の DNA メチル化率を同定し，APA の遺伝子変異が DNA メチル化に与える影響を検討することにより，エピジェネティックな遺伝子調節機構を解明することを目的として研究を行った。</p> <p>対象は当院で手術を施行した APA 35 例，非機能性副腎皮質腺腫（nonfunctioning adrenocortical adenomas, NF）12 例について，腫瘍組織から DNA を抽出し，DNA メチル化ビーズアレイ解析を用いて，ステロイド合成酵素（StAR, CYP11A1, HSD3B1, HSD3B2, CYP17A1, CYP21A2, CYP11B1, CYP11B2）におけるメチル化部位とメチル化率を同定した。APA では CYP11B2 の 7 箇所低メチル化を認め，NF に比べて CYP11B2 発現に有意な増加を認めた。CYP11B2 発現量と APA における各々の部位におけるメチル化率との関連については，APA のみを対象とした検討では有意な関連は示されなかった。しかし，APA と NF を含む全対象における検討では，プロモーター領域において CYP11B2 発現量とメチル化との有意な関連を認めており，CYP11B2 の発現量調整が個々のメチル化のみにより規定されるのではないことが示された。</p> <p>KCNJ5 遺伝子変異のある APA では，細胞内の Ca<sup>2+</sup>シグナル伝達を介して CYP11B2 の転写を促進するため，CYP11B2 の発現量が増加することが報告されている。本研究でも</p> |                   |    |       |

DNA メチル化と転写の関連について、KCNJ5 変異の有無と CYP11B2 のメチル化率との関連を検討したが、有意な関連を認めなかった。さらに、副腎皮質癌細胞株である HAC15 に KCNJ5 変異を導入した *in vitro* の検討でも、アルドステロン合成は有意に増加をしたが、CYP11B2 のメチル化には影響を与えなかった。

以上の結果より、著者らは APA において、DNA メチル化による CYP11B2 発現調節機構が存在し、CYP11B2 の発現量は CYP11B2 のメチル化状態と発現調整に関わる転写因子とを掛け合わせることによって規定されると考えられた。本論文は、APA におけるアルドステロン合成調節機構の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。

## 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 | 吉井 陽子 |
| 学位授与の条件  | 学位規則第4条第①・2項該当 |    |       |
| 論文題目   |                |    |       |
| Hypomethylation of CYP11B2 in Aldosterone- Producing Adenoma<br>(アルドステロン産生腺腫における CYP11B2 の低メチル化について)   |                |    |       |
| 最終試験担当者  |                |    |       |
| 主査 教授  | 今泉 和則          | 印  |       |
| 審査委員 教授  | 檜山 英三          |    |       |
| 審査委員 准教授   | 山本 秀也          |    |       |
| 〔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2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"> <li>1 コルチゾール産生腺腫（クッシング症候群）など PA 以外の副腎内分泌腫瘍におけるステロイド合成酵素のメチル化</li> <li>2 CYP11B2 以外のアルドステロン産生に関わるステロイド合成酵素の DNA メチル化</li> <li>3 CYP11B2 の脱メチル化機序</li> <li>4 KCNJ5 変異のある場合とない場合における CYP11B2 プロモーター制御に関わる転写因子の相違</li> <li>5 生理学的なアルドステロン産生調節におけるステロイド合成酵素の DNA メチル化</li> </ol> <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> |                |    |       |