

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

桜井 研三

主論文の題目

および

掲載・審査委員名

題目 Antenatal Glucocorticoid Administration Enhances Sarcoplasmic Reticulum Calcium Transport ATPase 2a and Phospholamban Expression in The Immature Fetal Rat Heart

(出生前グルココルチコイド投与によるラットの胎仔心筋小胞体蛋白発現の増強)

掲載誌 Journal of St. Marianna University 2013; 4: 69-80.

主査 吉尾博之

副査 熊井俊夫

副査 明石嘉浩

[論文の要旨・価値]

妊娠母体における出生前の母体に対するグルココルチコイド(GC)療法は、早産児の肺成熟を促進し出生時の呼吸窮迫症候群を中心とした呼吸循環を改善させることにより、早産児の短期的死亡率を低下させることが報告されている。出生前母体 GC 療法の呼吸器以外の臓器への影響についても種々検討されているが、胎児心機能への直接的な影響については十分に解明されていない。今回はその評価の一貫として出生前 GC 療法が、ラットの胎仔心筋収縮弛緩機能に与える影響について検討した。また心臓の収縮弛緩は、筋小胞体でのカルシウムイオンの出入りによって主に調節されており、特に筋小胞体 Ca^{2+} ATPase (SERCA2a) は重要な因子であり、その調節蛋白である phospholamban (PLB) とともに重要な役割を果たしていることが明らかになっている。そこで本研究では出生前 GC 投与が、ラットの胎仔心筋の SERCA2a や PLB 発現に影響を与えるかを検討した。方法:Wistar 系妊娠ラットの妊娠 17 日および 19 日にデキサメタゾン (DEX : 0.5, 1.0, 2.0mg/kg) を 2 日間投与し、妊娠 19 日および 21 日に帝王切開で取り出した胎仔ラット (早産胎仔群) および自然分娩させた日齢 1 の新生仔ラット (新生仔群) の心臓組織を実験に供した。心臓組織より蛋白を抽出して、胎仔 19 日、21 日、新生仔 1 日の SERCA2a と PLB の蛋白発現を免疫染色とウェスタンブロット法により比較検討した。また DEX の投与による心臓への作用が GC 受容体からの直接作用かを確認するため、ラット心筋培養細胞に DEX および GC 受容体阻害薬 (RU486) を添加し SERCA2a 蛋白発現や心筋細胞内カルシウム濃度を検証した。なお本研究は “guiding principles for the care and use of laboratory animals” (The Japanese Pharmacological Society) に準拠し、聖マリアンナ医科大学実験動物委員会による審査、承認を受けて行った (承認番号 1306005)。統計は Steel-Dwass の多重比較検定を用いた。結果: SERCA2a の蛋白発現は、胎仔 19 日で DEX 投与群の 1.0mg/kg (95.75±7.58%) と 2.0mg/kg (123.49±15.74%) において非投与群 (39.22±2.30%) と比較し有意に増強した ($P<0.05$)。胎仔 21 日では、DEX 投与群の 1.0mg/kg (170.72±5.51%) において非投与群 (67.75±6.69%) と比較し有意に増強した ($P<0.05$)。免疫組織染色では DEX 投与により胎仔 19 日と胎仔 21 日で右心室、左心室ともに SERCA2a の陽性細胞数が有意に増加した ($P<0.05$)。また PLB における蛋白発現は、胎仔 19 日と胎仔 21 日では DEX 1.0mg/kg (107.29±8.97%, 103.09±5.74%) と 2.0mg /kg (110.01±17.06%, 105.73±7.65%) の投与により非投与群 (69.92±8.81, 90.22±8.76%) と比較し有意に増強した ($P<0.05$)。免疫組織染色では DEX 投与により胎仔 19 日と胎仔 21 日で右心室、左心室ともに陽性細胞数が有意に増加した ($P<0.05$)。In vitro においては、新生仔 1 日初代培養心筋細胞に DEX を投与すると SERCA2a 陽性細胞数は有意に増加し ($P<0.05$)、GC 受容体阻害薬 (RU486) の投与によってそれらは有意に抑制された ($P<0.05$)。この時の細胞内カルシウム濃度も DEX 投与で有意な上昇を認め ($P<0.05$)、RU486 の投与によって有意に抑制された ($P<0.05$)。以上の結果から、出生前 GC 投与が早産仔のカルシウムイオン調節機能において、成熟新生仔レベルまで促進され得ることが期待され、早産仔の心不全予防に寄与する可能性が示唆された。

[審査概要]

プレゼンテーションは PC を用い、分かりやすく整理された内容で約 25 分間行われた。その後約 30 分間の質疑応答が行われ、細胞内 Ca イオン調節における SERCA2a と PLB の位置づけ、他の Ca イオン調節因子との関連、使用 GC 製剤の適格性、臨床応用を視野に入れた今後の展望性など申請者は概ね的確に回答した。また英文読解力も英文文献の一部を指定し、その場での和訳により十分な読解力があると判断した。申請者の研究に対する真摯な態度、研究能力、知識、人柄等総合的に判断した結果、極めて優秀で学位授与に十分値すると評価した。

(最終) 試験結果の要旨

[研究能力・学識等]

1) 専門的知識

早産児の心不全を中心とした病態生理、治療など基礎および臨床に通じた幅広い専門知識を有すると認められる。

2) 研究能力

本研究の長所、弱点など客観的に判断し、今後の研究プログラムを自ら設計できると判断できる。

3) 発表能力

発表内容のポイントを理解し、簡潔にまとめ上げる能力があり、質問に対しても臆することなく明快に回答できる。

4) 研究意欲

研究の問題点、今後の必要性を十分理解し、臨床に活かせようとする意欲を持っている。

5) 態度・人柄

研究に対する真摯な姿勢と礼儀正しい受け答えは学位授与に値する。