

## 論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

山本 信

主論文の題目

題目 Prorenin Receptor and ERK are Associated with Kidney Development in the Fetal Rat Administered Prenatal Glucocorticoid (プロレニン受容体とERKは出生前グルコルチコイド投与における胎児ラット腎の発達に関与する)

および

掲載誌・審査委員名

掲載誌 Journal of St.Marianna University 2018; 9: 63-71

主査 船橋 利也

副査 鈴木 真奈絵

副査 長谷 都

[論文の要旨・価値] 妊娠母体への出生前グルコルチコイド(GC)は胎児の肺や種々の臓器で成熟を促進することが知られている。一方、腎の発達において、プロレニン受容体 (PRR) は extracellular signal-regulated kinase (ERK) を介して成熟に関与することが知られている。そこで本研究では、出生前にデキサメサゾン (DEX) を投与して、PRR や ERK の発現、腎の成熟に与える影響について検討を行った。[方法・対象] 妊娠 17-19 日のラットに 2 日間 DEX (1.0 mg/kg, 2.0 mg/kg) の投与を行い、帝王切開にて胎仔腎を採取した。対照群にはごま油のみを投与した。腎臓組織はホルマリン固定し免疫組織染色を行い、PRR、ERK、p-ERK 発現の局在および画像解析にて蛋白発現量として免疫陽性の面積を測定した (Image J, winROOF)。また、in vitro の実験として HEK293 細胞に異なる濃度の DEX (0.03-100  $\mu$ M) を添加して 24 時間培養を行い、mRNA、蛋白発現量、細胞機能の評価を PCR、ウェスタンブロット、細胞生存試験 (MMT assay) により行った。動物実験は聖マリアンナ医科大学実験動物委員会の承認を得て行った (承認 1802011 号)。統計は JMP software (13.2.1) を使用し Dunnett 検定を用いて行った。[結果] 免疫組織染色において、対照群では、nephrogenic zone とよばれる腎皮膜直下の未成熟糸球体の集合した組織の間質に、ERK の発現が多く認められた。DEX 投与群では、髄質側の間葉細胞または糸球体のメサンギウム領域が染色された。p-ERK は ERK の結果と同じように、対照群では髄質全体に弱い陽性を呈する一方、DEX 投与群では尿細管に限局して染色される傾向があった。PRR は、対照群では広範な部位において弱い免疫陽性を示したが、DEX 投与群では尿管芽、集合管に限局して免疫陽性の細胞が認められた。HEK293 細胞を用いた実験では、DEX の高濃度で有意な細胞生存率の低下が認められた。また、DEX 投与群で ERK1/2 の蛋白発現量の増加が認められた。PRR は mRNA、蛋白発現ともに有意な変化が認められなかった。[考察] in vitro、in vivo の両面から DEX 投与は ERK の発現を増加させることを確認し、従って DEX は ERK のシグナルを介して尿管芽の発生に関わり、腎の成熟を促進させる可能性が示唆された。今後は、その仮説を証明するために、尿細管に限局した定量的な検討や ERK と PRR の関係などを検討していきたい。

以上、本研究は、腎の発達には PRR および ERK の発現が重要であるが、出生前 GC 投与は PRR を介して ERK の発現を増加させ、胎児腎臓の成熟を促す可能性が考えられ、臨床上重要であり、学位に値すると判断した。

[審査概要] 主査 1 名副査 2 名、その他 10 名位の陪席のもと、研究の背景の説明、今回の研究に関して、パワーポイントを用いてプレゼンテーションがあった。よくまとまっており、方法の説明、解析、研究の問題点、今後の臨床応用など、大変わかりやすいものであった。引き続いて質疑応答があり、本研究の問題点を含めて、今後の発展性、など多岐にわたる質問がなされたが、的確に答え、満足 of いく回答がなされた。真摯な態度で答弁し、また、今後の臨床応用なども加えて、さらなる発展が期待される。

## 最終試験結果の要旨

[研究能力・専門的学識・外国語 (英語) 試験等の評価] 英語能力は、原著論文が英語であること、その場で、引用文献の abstract を読んで和訳してもらったこと、から判断して十分であると判断した。