

論 文 審 査 の 要 旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

中村 悠城

主論文の題目
および
掲載・審査委員

題 目 Yap Contributes to Cardiomyocyte Proliferation in the Fetal Rat Heart Epicardium with Antenatal Glucocorticoid Administration
(Yap は出生前グルココルチコイド投与によるラット胎仔心臓の心外膜における心筋細胞増殖に寄与する)

掲載誌 Journal of St. Marianna University 2020; (in press)

主査 明石 嘉浩
副査 出雲 昌樹
副査 有戸 光美

[論文の要旨・価値] (目的)心筋細胞増殖に寄与するとされる出生前 dexamethasone (DEX) 投与が、心筋細胞増殖のシグナル伝達系である Hippo 経路の転写共役因子 Yap と、神経・筋接合部形成に必須な分子 Agrin への作用について、胎仔心筋細胞を用いて明らかにする。(方法) 8 週齢の Wistar 系ラットの妊娠 17 日目と 19 日目に DEX を (0.5, 1.0, 2.0mg/kg) 2 日間連続投与する群と非投与群を作成し、妊娠 19 日目 (19F) と 21 日目 (21F) に帝王切開で胎仔と、19 日目から 2 日連続で DEX 投与後に自然分娩させた新生仔 (1N) の心臓をそれぞれ摘出。心筋の免疫組織化学染色を行い、細胞周期調節因子である cyclin D1、細胞増殖マーカーである Ki-67 と Yap の局在を両心室の乳頭筋レベルで、心外膜 (Epi)、心内膜 (End) からそれぞれ 200 μ m と心筋中間層 (M) から両側へ 100 μ m の 3 層に分け、区画毎の核内陽性細胞率を算出した。Agrin 蛋白発現はウェスタンブロット法で評価した。(結果) 19F, 21F, 1N における Epi の Cyclin D1 (23, 46, 48%) と Ki-67 (20, 45, 50%) は共に漸増し、19F の Epi における Cyclin D1 と Ki-67 は、DEX 投与下で用量依存的に増加し、両者に正の相関関係 ($R^2=0.53$, $p<0.01$) が認められたが、End と M では相関を認めなかった。21F では全ての部位で DEX の用量に関わらず変化や相関を認めなかった。19F, 21F の Yap 活性は Epi と End で DEX 用量依存的な増加が見られないものの、cyclin D1 と Ki-67 との間にはそれぞれ正の相関関係を認めた。Agrin は 19F で DEX 用量依存的に増加を示したが ($p<0.05$)、21F では増加を認めなかった。(考察) Epi の cyclin D1 と Ki-67 の相関や Yap との相関は Epi 心筋細胞増殖の活性化と考えられ、DEX 投与下の Agrin の増加が Yap 核内移行を促進した可能性があり、今後の直接的な機構解明が必要である。(結論) 出生前 DEX 投与は胎仔心外膜側の心筋細胞増殖を促進し、Yap 活性化が出生前の心臓の発達に寄与する可能性が示唆された。

[審査概要] 審査は 2021 年 1 月 22 日に主査・副査 2 名および 6 名の陪席のもとで行われた。PC を用いた約 20 分間のプレゼンテーションでは研究に至る経緯から方法、考察まで大変わかり易くまとめられていた。引き続き約 45 分間の質疑応答が行われ、Yap の標的遺伝子の存在、cyclin D1 の意義と役割、cyclin D1 と Ki-67 を選んだ理由、乳頭筋レベルの 3 断面の定義、Agrin のウェスタンブロットの結果の理解、今後の Yap 阻害薬を用いた研究の可能性に至るまで、質問内容は多岐にわたったが、申請者はいずれの質問にも的確に回答し、今後の研究意欲も示した。本研究において申請者本人が試験計画、データ取得、解析、論文執筆を担当した。

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] 研究発表と質疑応答から、申請者は当該研究領域に関する専門的知識を有し、十分な研究能力と発表能力があると判断した。更に語学力については当該論文の引用文献の要約をその場で和訳させ、十分な英語読解力を有すると判断した。申請者の研究に対する真摯な態度、研究能力、知識、語学力、人柄等総合的に判断した結果、いずれも優れており、中村悠城君は学位授与に十分値すると判断した。