

論文審査の結果の要旨

氏名 中村 遼

本論文は2章構成で、全体の序論、第1章および第2章、全体の考察、結論、図表、文献からなっている。第1章と第2章については、それぞれ序論、材料と方法、結果、考察からなっており、第1章では心臓発生におけるクロマチンリモデリング因子 Baf60c の発現と心臓成熟期におけるクロマチン環境変化について、第2章では心臓再生に焦点を当て、心臓再生時における Baf60c の発現および機能の一端について解析した結果を述べている。

本論文では、Baf60c の発現解析およびエピジェネティクス解析を通して、高い再生能力をもつ新生仔マウスおよび有尾両生類アホロートル(メキシコサンショウウオ; *Ambystoma mexicanum*)における心臓再生機構の一端を明らかにした。魚類や有尾両生類は有用な再生モデル動物として知られており、その心臓は成体においても高い再生能力をもつことが報告されている。一方、再生能力が低いと考えられてきた哺乳類の心臓に関しては、生後直後の新生仔マウスならば再生可能であることが報告された。しかし成体においては再生することができず、このことが心筋梗塞後の心機能回復の大きな妨げになっている。心臓再生能をもたらす因子とその再生機構の詳細は、依然として謎に包まれたままである。

先行研究により、転写活性型クロマチンリモデリング複合体である SWI/SNF-BAF 型複合体が心臓発生とヒト心疾患に関与することが示され、さらに、その構成因子の一つである Baf60c が、心臓発生初期に心臓特異的に発現し、中胚葉性細胞から心筋への分化を誘導することが報告された。しかし、心臓成熟・心臓再生におけるクロマチンリモデリング因子をはじめとしたエピジェネティック因子の作用機序はほとんど明らかにされていない。以上から、論文提出者は Baf60c に着目し、心臓再生時における Baf60c の発現と機能について解析を行った。

第1章では、免疫組織学的解析およびクロマチン免疫沈降法を用いて、マウス発生期における Baf60c の発現様式と心臓成熟期におけるクロマチン環境変化について検討した。その結果、Baf60c は心臓発生初期に高く発現し、成体になるに従って減少する傾向にあること、および、心臓発生・心臓再生に重要な因子である転写因子 *Gata4* やサルコメア因子 *Tnnt2* の制御領域が心臓成熟に伴って閉じられていくことが示された。

第2章では、高い再生能力をもつ新生仔マウスと有尾両生類アホロートルの心臓再生

時における Baf60c の発現解析と、新生仔マウスの心筋細胞および生体心臓を用いた Baf60c の阻害実験を行った。心臓再生の解析を行うにあたり、論文提出者は、心臓の左心室側の心室先端部を切除するモデルを用いて解析を進めた。Baf60c の発現様式を精査した結果、Baf60c の発現は、新生仔マウスとアホロートルの心臓において保存されており、心室先端部切除後に発現上昇することが明らかとなった。さらに両者の心臓再生時において、一過的な細胞増殖が起こることが明らかとなった。また、新生仔マウスを用いた解析により、心室先端部切除後に発現上昇する Baf60c の多くは、切除部位周辺の心筋細胞および繊維芽細胞に局在することが示された。心臓再生時に Baf60c の発現上昇と一過的な細胞増殖が起こることが示されたため、Baf60c が心筋細胞増殖へ及ぼす影響について新生仔マウスの心筋を用いて、Baf60c に対する siRNA 投与により Baf60c の発現を抑制する実験を行った。その結果、Baf60c の発現を抑制した心筋細胞において、増殖能をもつ心筋細胞数が減少することが明らかとなった。次に、心臓再生時における Baf60c の機能を調べるため、生体心臓を用いた Baf60c の阻害実験を行った。新生仔マウスの心室先端部へ siRNA を投与後、先端部を切除し、その後の再生過程を観察した。その結果、Baf60c の発現を抑制した心臓では繊維化が進行する傾向があることが明らかとなった。また、クロマチン免疫沈降法を用いた解析により、再生に重要な遺伝子群(*Gata4*, *Tnnt2*, *Vegfa*)の転写が抑制されていることが明らかとなった。この結果は、Baf60c の発現量の低下が心臓再生能力の低下に直接的に関与する可能性を示唆している。

本研究は心臓再生におけるエピジェネティック制御機構の一端を明らかにし、エピジェネティック因子 Baf60c が心臓再生能力と関与する可能性を初めて示した。以上のように、再生研究にエピジェネティクスという最新の知見を取り入れ、新たな切り口から再生機構の理解を目指した本研究は評価できると考える。

なお本論文の第 1 章の一部および第 2 章の一部は、小柴和子氏、土屋恵氏、小島瑞代氏、宮澤明日香氏、伊藤航平氏、小川英知氏、竹内純氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。