

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	心筋及び肝組織培養モデルにおける概日リズム導入と薬物応答解析
Title(English)	Introduction of circadian rhythm and analysis of drug responses in cardiomyocyte and hepatic culture models
著者(和文)	QiZhen
Author(English)	Zhen Qi
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12065号, 授与年月日:2021年9月24日, 学位の種別:課程博士, 審査員:田川 陽一,山村 雅幸,廣田 順二,立花 和則,秦 猛志
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12065号, Conferred date:2021/9/24, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第		号	学位申請者氏名	Qi Zhen	
論文審査 審査員		氏 名	職 名		氏 名	職 名
	主査	田川 陽一	准教授	審査員	秦 猛志	准教授
	審査員	山村 雅幸	教授			
		廣田 順二	教授			
		立花 和則	准教授			

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「Introduction of circadian rhythm and analysis of drug responses in cardiomyocyte and hepatic culture models」と題し、以下の6章より構成され、英文で記述されている。

第一章「Introduction」では、論文の背景と目的を紹介している。地球上の生物の代謝を含む多くの生理機能は、概日リズムの影響を受ける。これまで概日リズムに焦点を当てた薬物毒性試験は、細胞培養系では不可能なため、動物実験に頼らざるを得なかった。そこで、本論文では、フォルスコリン刺激または Shield1 依存性人工転写因子を発現する系を構築することにより、概日リズム依存的な薬物代謝の培養モデルを確立することを目的としている。

第二章「Synchronization of circadian rhythm for mouse ES cell-derived cardiomyocytes」では、マウス胚性幹 (ES) 細胞由来心筋組織の生理的応答の概日リズムを同期するためにフォルスコリン刺激の条件を検討している。ES 細胞由来心筋組織の概日リズムの同期は、フォルスコリンの単回刺激では不十分であったが、24 時間ごとの反復刺激により確立できた。このことは概日リズムを有する動物個体と同様に ES 細胞由来心筋組織の培養においても時間依存的生理現象の解析を可能としたと結論している。

第三章「Hepatic function upregulated hepatoma cell culture model with circadian rhythm and time-dependent drug toxicity」では、ドキシサイクリン存在下で成熟肝細胞に似た肝機能を示すことができる細胞株 Hepa8f5 に対して、24 時間ごとのフォルスコリン反復刺激による概日リズム依存の肝機能発現解析をおこなっている。フォルスコリン刺激後の Hepa8f5 では、個体と同様に時計遺伝子 *Per1* と *Bmal1* の発現が逆位相の 24 時間周期の振動を示し、それらの振動は 72 時間維持できることを確認している。さらに、薬物代謝遺伝子 *Cyp2e1*、*2a4* と *2b10* の発現も 24 時間周期の振動を示し、これらの代謝酵素に対応するアセトアミノフェン、クマリン、シクロホスファミドの肝毒性においても時間依存的な結果を示すことができている。肝癌細胞株を用いて概日リズム依存的な肝機能解析に成功したと結論している。

第四章「Study of circadian rhythm development in embryoid body differentiation processes」では、Shield1 依存性人工転写因子 (ATF)、*CMVneo*、および *AcGPF* の発現ベクターを導入したマウス ES 細胞 (ES^{ATF}) を樹立し、ES 細胞から肝組織までの分化段階において、概日リズムの発現開始について検討をおこなっている。ES 細胞から分化初期においては Shield1 添加により一時的に人工転写因子を活性化しても、*Per1* の発現に有意な振動は観察できなかったが、肝組織へ分化した段階では Shield1 添加により *Per1* の発現振動が確認できた。以上より、ES 細胞が肝組織分化していく過程で概日リズムは開始されることが示唆できたとしている。

第五章「Liver culture model with circadian rhythm for drug screening」では、ES^{ATF} 由来肝組織に 24 時間ごと Shield1 反復刺激により、概日リズムのある毒性試験の可能性について検討している。Shield1 の適切な暴露条件を見出すことにより、時計遺伝子群や肝細胞特異的な代謝酵素遺伝子の 24 時間周期の振動を示し、アセトアミノフェンやシクロホスファミドの毒性レベルも代謝遺伝子発現振動に対応していることを確認している。人工転写因子遺伝子導入したマウス ES 細胞から分化誘導した肝組織において、概日リズム依存的な薬物代謝の培養モデルの確立に成功したと結論している。

第六章「Conclusion and forecast」では、総括として本研究の結果をまとめるとともに、今後の展望を述べている。

以上を要するに、本論文は、心筋及び肝組織培養モデルにおいて、概日リズムに対応した薬物代謝・毒性試験の系を確立したものであり、動物実験代替法や毒性学など、理学的貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。