The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	DNA single-strand break-induced DNA damage response causes heart failure
Author(s)	肥後, 友彰
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67043
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）肥後　友彰

		（職）	氏　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	坂田泰史
	副　査	大阪大学教授	根岸徹
	副　査	大阪大学教授	高島成二

論文審査の結果の要旨

DNA損傷応答（DDR）は通常分裂細胞においてDNA損傷に対し誘導されるゲノム恒常性維持機構であるが、慢性心不全患者の心臓組織では非分裂細胞である心筋細胞において、その活性化が観察される。しかしながら、心筋細胞においてDDR活性化を誘導するDNA損傷の種類、またその病態的意義は不明であった。今回、圧負荷誘導性慢性心不全モデルマウスを作製し心筋細胞のDNA損傷解析を行ったところ、圧負荷後の心筋細胞において未修復のDNA一本鎖切断（SSB）が蓄積していることが確認された。さらにSSB修復タンパクXRCC1、DDRエフェクタータンパクATMのノックアウトマウスを用いた解析から、心筋細胞における未修復SSB蓄積は持続的DDR活性化を誘導し、それがNF-kB経路を介して心筋細胞の炎症性遺伝子発現を上昇させることで心臓の炎症・心不全進展を促進することを明らかにした。これらの結果は心筋細胞におけるSSB蓄積や過剰なDDR活性化の抑制が心不全の新たな治療ターゲットとなり得ることを示唆しており、学位論文に値する。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	肥後　友彰
論文題名 Title	DNA single-strand break-induced DNA damage response causes heart failure （DNA一本鎖切断蓄積により誘導されるDNA損傷応答が心不全を促進する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

DNA損傷応答（DDR）は通常DNA二本鎖切断（double-strand break: DSB）によって誘導され、細胞周期を停止させDNA修復を促進する一方で、DNA損傷が顕著な場合はアポトーシスや細胞老化を誘導することで分裂細胞におけるゲノム恒常性維持に重要な役割を果たしている。DDR活性化は終末期心不全患者の心筋細胞でも観察されるが、非分裂細胞である心筋細胞においてDDRが活性化することの病態生理学的意義は明らかになっていない。そこで本研究では不全心筋細胞においてDDRを活性化するDNA損傷の種類､DDR活性化が心不全の病態に及ぼす影響について検討を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

我々はまず、胸部大動脈縮窄術（TAC）による圧負荷誘導性慢性心不全モデルマウスを作製し、これらマウスの心筋細胞においてDNA損傷の評価を行った。TAC後､コメットアッセイによって1心筋細胞毎のDNA損傷を解析したところ、DSBではなくDNA一本鎖切断（single-strand break: SSB）が増加しており、不全心筋細胞において未修復のSSBが蓄積していることが示唆された。分裂細胞において未修復のSSBは複製フォークの停止を介してDSBへと移行し、これらが修復されない場合は細胞死を引き起こすため、未修復SSB蓄積は神経細胞・心筋細胞などの非分裂細胞に特徴的な現象であると考えられる。次に我々は心筋細胞における未修復SSBが心不全の病態に及ぼす影響を検討するため、SSB修復に必須の蛋白XRCC1を心筋細胞特異的に欠損させたマウス（XRCC1 CKOマウス）を作製したところ、TAC手術後、これらマウスの心筋細胞ではコントロールマウスに比べてSSBが多く蓄積しており､それと同時に著明な心不全の進行が確認された。そのメカニズムを解析するため、培養心筋細胞を用いてSSB蓄積心筋細胞モデルを作製したところ、これら心筋細胞ではDDRが持続的に活性化していた。老化細胞では持続的なDDR活性化により細胞周期が停止するのみならず､遺伝子発現パターンが変化し周囲に様々なサイトカインを分泌するSASP (senescence-associated secretory phenotype)と呼ばれる表現型を獲得することが知られている。心筋細胞においても､SSB蓄積により誘導される持続的DDR活性化はNF-kB経路を介して心筋細胞の炎症性サイトカイン遺伝子発現を上昇させ、SASP様表現型獲得を促進していた。持続的DDR活性化、NF-kB活性化および炎症性遺伝子発現上昇はTAC後、コントロールマウスと比べXRCC1 CKOマウスの心筋細胞で顕著であり､またこれらの心臓組織では炎症が強く誘導されていた。SSB蓄積によって活性化されたDDRがTAC後の心臓炎症および心不全進展の原因となっているかを確認するため、最後に我々はXRCC1 CKOマウスとDDRエフェクター蛋白であるATMのヘテロノックアウトマウスを交配し、XRCC1/ATM ダブルノックアウトマウス（XRCC1/ATM DKOマウス）を作製した。これらマウスではXRCC1 CKOマウスと比べ、TAC後心筋細胞における炎症性遺伝子発現上昇・心臓の炎症が回復しており、左室機能低下および心不全進展も著明に抑制されていた。

〔総　括(Conclusion)〕

我々は今回、圧負荷誘導慢性心不全モデルマウスの心筋細胞において未修復のSSBが蓄積しており、未修復SSB蓄積が持続的DDR活性化を介して心臓の炎症および心不全進展を促進していることを明らかにした。心筋細胞におけるSSB蓄積や過剰なDDRの抑制が新たな心不全治療のターゲットとなる可能性がある。