OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Activation of DNA damage response and cellular senescence in cardiac fibroblasts limit cardiac fibrosis after myocardial infarction
Author(s)	柴本, 将人
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72492
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）　柴本　将人

	（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	高島 大二
	副　査　大阪大学教授	松村 泰志

論文審査の結果の要旨

分裂細胞におけるDNA損傷応答（DDR）の活性化や細胞老化はがんの抑制機構としてよく知られており、近年組織の線維化においてもこれらが抑制的に働くと報告されている一方で、心臓の線維化におけるDDRの活性化や細胞老化の役割は明らかではない。著者らはマウス心筋梗塞モデルにおいて経時的に心臓線維芽細胞のDNA損傷応答（DDR）が活性化し細胞老化が誘導されていることを見出し、さらに老化した心臓線維芽細胞は自身の増殖停止に加えて、周囲の正常心臓線維芽細胞の増殖を抑制していることを明らかにした。またDDRの活性化と細胞老化を抑制することで心筋梗塞後の線維化の増悪が認められることから心臓線維芽細胞におけるDDRの活性化、および細胞老化が心臓線維化の制御に寄与していると考えられ、心筋梗塞後の左室リモデリングに対する新たな治療のターゲットとなる可能性が示唆された。これらの知見は学位に値するものと認める。

論　文　内　容　の　要　旨

Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	柴本　将人
論文題名 Title	Activation of DNA damage response and cellular senescence in cardiac fibroblasts limit cardiac fibrosis after myocardial infarction（心臓線維芽細胞におけるDNA損傷応答の活性化と細胞老化は心筋梗塞後の心臓線維化を抑制する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

心筋梗塞後の組織修復過程である心臓の線維化は心臓の強度を保つために必要であるが、過剰な線維化は左室リモデリングの進行や心不全の悪化の原因となる。心臓の線維化を促進するメカニズムは多数報告されている一方で、促進された線維化を制御するメカニズムについては明らかにはなっていない。DNA損傷応答(DDR)の活性化や細胞老化はがんの抑制機構としてよく知られているが、近年肝臓において、肝障害後に起こる線維芽細胞の細胞老化が組織の線維化を抑制するという報告がなされている。そのため我々は心臓の線維化の制御において心臓線維芽細胞の細胞老化がどのような役割を果たしているかを検証した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

まず左冠動脈を結紮したマウス心筋梗塞モデルを作成し、心筋梗塞後の心臓線維芽細胞においてDNA損傷応答（DDR）の活性化や細胞老化が誘導されているかどうかを検証した。DDR活性化のマーカーであるγH2AXの免疫染色では境界領域と梗塞領域でγH2AX陽性細胞は心筋梗塞後3日から増加し7日でピークとなった。また梗塞後7日でのsenescent-associated β-galactosidase(SA-βgal)染色では境界領域と梗塞領域でSA-βgal陽性細胞が増加していた。また心臓線維芽細胞の増殖をM期のマーカーであるpHH3の免疫染色で評価したところ、心筋梗塞後4日で増殖のピークとなっていた。以上から心筋梗塞後では心臓線維芽細胞においてDDRの活性化や細胞老化が誘導されており、さらにそれぞれの経時的な変化から増殖の抑制にDDRの活性化と細胞老化が関与していることが示唆された。次に、胎児マウスから心臓線維芽細胞を単離し放射線を照射した老化心臓線維芽細胞モデルを作成した。過去に老化細胞が周囲の細胞にサイトカイン分泌などで周囲の細胞に影響を与えることが報告されているため、まずboyden chamber systemを用いて老化心臓線維芽細胞と正常心臓線維芽細胞と共培養し傍分泌効果を検証したところ特に正常心臓線維芽細胞の増殖に変化は認めなかった。次に老化心臓線維芽細胞と正常心臓線維芽細胞と混合培養したところ、老化心臓線維芽細胞が周囲の正常心臓線維芽細胞の増殖を抑制していることから、老化心臓線維芽細胞は接触分泌を介して周囲の細胞の増殖を抑制していることが明らかになった。またDDRにおいて中心的な役割をはたしている核内プロテインキナーゼataxia telangiectasia mutated (ATM) を心臓線維芽細胞でノックダウンすると細胞老化が誘導されにくくなり、さらに混合培養での周囲の正常心臓線維芽細胞の増殖抑制効果が減弱することを見出した。最後に、ATMをヘテロ欠損させたマウスを用いて検討した結果、ATMヘテロ欠損マウスにおいて心臓線維芽細胞の増殖が抑制されず心筋梗塞後の線維化の増悪が認められた。

〔総　括(Conclusion)〕

心臓線維芽細胞におけるDDRの活性化、および細胞老化が心筋梗塞後の心臓線維化の制御に寄与していることが明らかとなり、心筋梗塞後の左室リモデリングに対する新たな治療のターゲットとなる可能性が示唆された。