京都大学	博士（　医　学）	氏　名	田　巻　庸　道
論文題目	Metastasis-associated protein, S100A4 mediates cardiac fibrosis potentially through the modulation of p53 in cardiac fibroblasts （癌転移関連タンパク S100A4 は、心臓線維芽細胞の p53 の機能調節により心臓線維化を制御する）		

（論文内容の要旨）

癌転移関連タンパク S100A4 は、カルシウム結合タンパクであり、カルシウムと結合することでコンフォメーションを変化させ、標的タンパクと結合し、その機能を調整する。S100A4 は、種々の癌における転移と関連しており、予後不良のマーカーである。一方で、S100A4 は、腎臓や肺・肝臓などの臓器の線維化のマーカーとしても知られている。S100A4 の標的分子の一つに癌抑制遺伝子 p53 があり、S100A4 は、p53 の DNA 結合を抑制することでその機能を抑制することが報告されている。しかしながら、心筋における S100A4 の機能は明らかにされておらず、本研究では、心臓線維化における S100A4 の役割を p53 との関係に着目して検討した。

ダール・ラット高血圧性心疾患モデルにおいて、S100A4 は代償性心肥大期より発現が亢進しており、心不全への移行に伴い更に発現が増加した。S100A4 は主として筋線維芽細胞に発現していた。

次に、培養心臓線維芽細胞において S100A4 の機能を検討した。siRNA により S100A4 をノックダウンすると、細胞増殖とコラーゲンの発現が抑制された。免疫沈降にて S100A4 と p53 の結合が認められ、免疫染色にても S100A4 と p53 は共に核に存在することが認められた。S100A4 のノックダウンは、p53 下流遺伝子の p21 と Mdm2 の発現を亢進し、p53 のノックダウンにより S100A4 のノックダウンによる細胞増殖およびコラーゲン発現の抑制が打ち消された。このことより、S100A4 による細胞増殖とコラーゲン発現は、p53 の抑制によると考えられ、また S100A4 が p53 と結合することでその機能を抑制することが示唆された。

最後に、S100A4 の機能を S100A4 ノックアウトマウスにて検討した。S100A4 ノックアウトマウスは、以前の報告通り、ベースラインでは表現型を認めなかった。S100A4 ノックアウトマウスに大動脈縮窄手術による圧負荷を行ったところ、野生型マウスと同等の肥大反応を認めたが、筋線維芽細胞の増殖・コラーゲンの発現が抑制され、心臓線維化が抑制された。DNA マイクロアレー解析にて、S100A4 ノックアウトマウスでは、野生型マウスと較べて、左室心筋の p53 関連遺伝子の発現がシャム手術群も大動脈縮窄手術群も有意に変化していた。また、異なる心臓線維化モデルであるアンギオテンシン II 持続投与モデルにても、S100A4 ノックアウトマウスでは、野生型マウスと比較して心肥大の程度は変化ないが、心臓線維化は抑制された。

以上の結果より、S100A4 は、線維芽細胞の p53 の機能を制御し、細胞増殖とコラーゲンの発現制御という 2 つの異なったメカニズムを介し、心臓線維化を促進すると考えられる。S100A4 の阻害は、心臓線維化の抑制を介し、新たな心肥大および心不全の治療になる可能性が示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

S100A4 タンパクは癌転移に関わるのみならず、臓器の線維化のマーカーとしても知られている。また、S100A4 は癌抑制遺伝子 p53 の機能を抑制することが報告されている。本研究では、心臓線維化における S100A4 の役割を p53 との関係に着目し解明を試みた。

ダール・ラット高血圧性心疾患モデルにおいて、S100A4 は、心臓線維芽細胞に発現しており、代償性左室肥大から心不全への移行に伴い発現が増加した。培養心臓線維芽細胞において、siRNA により S100A4 発現をノックダウンすると、その細胞増殖とコラーゲン発現が抑制された。S100A4 のノックダウンの効果は、p53 のノックダウンにより打ち消されること、両者は線維芽細胞内で Ca 存在下に結合していることより、S100A4 は p53 の機能抑制を介し細胞増殖促進とコラーゲン発現亢進を来すと考えられた。更に S100A4 ノックアウトマウスに大動脈縮窄による圧負荷を行ったところ、心筋内において線維芽細胞の増殖・コラーゲンの発現が抑制され、線維化が抑制されていた。DNA マイクロアレー解析においては、S100A4 ノックアウトマウスでは、左室心筋の p53 関連遺伝子発現が有意に変化していた。また、アンギオテンシン II 持続投与モデルにおいても、S100A4 ノックアウトマウスでは、心臓線維化は抑制された。

以上より、S100A4 は、心臓線維芽細胞の p53 の機能を制御し、細胞増殖とコラーゲンの発現制御という 2 つのメカニズムを介し、心臓線維化を促進すると考えられた。

本研究は、心不全および心臓リモデリングにおける心臓線維化の機序解明に貢献し、新規心不全治療の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（　医学　）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成２５年　３月１１日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降