

Title	Autophagic Renovation of Mitochondria in the Kidney Copes with Metabolic Acidosis
Author(s)	難波, 倫子
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34276
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	難波 倫子
論文題名 Title	Autophagic Renovation of Mitochondria in the Kidney Copes with Metabolic Acidosis (腎臓におけるオートファジーはミトコンドリアの品質管理を介して代謝性アシドーシスに対して防御的な役割を有する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>代謝性アシドーシスは慢性腎不全の主要な合併症の一つである。中でも近位尿細管細胞内のミトコンドリアにおけるアンモニア産生は、代謝性アシドーシスに対して最も早期に生じる重要な代償反応である。一方、オートファジーは細胞内の主要な分解機構であり、不要な蛋白の分解、再生の過程に関与するだけでなく、ミトコンドリアなど細胞内小器官の品質管理にも関わることが知られている。申請者はアシドーシス時に近位尿細管細胞においてオートファジーが亢進されることを見出したことを契機に、オートファジーが傷害ミトコンドリアを取り除くことで、酸塩基平衡に対する代償反応を促進するという仮説を立て、この仮説を証明する事を本研究の目的とした。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>オートファジー関連分子のひとつであるLC3をGFPで標識したGFP-LC3マウスに酸負荷を加えたところ、オートファゴソームに相当するLC3のdotがコントロールに比べて有意に増加していた。また、近位尿細管細胞では酸負荷によりオートファジーの選択的基質であるp62の分解が促進したことから、酸負荷によってオートファジーが亢進することが示された。続いて、近位尿細管選択的オートファジー不全マウスを作成し、そのマウスからオートファジー不全近位尿細管細胞を単離し、培養細胞株を樹立した(以下、オートファジー不全マウスおよび細胞とする)。オートファジー不全マウスに酸負荷を行うと、コントロールマウスに比べてアシドーシスが顕著となった。さらに、酸負荷に対する代償反応であるアンモニアの産生減少を伴っており、このことがアシドーシス増悪の原因と推測された。近位尿細管細胞において、アンモニアは主にミトコンドリアで産生されるが、オートファジー不全マウスの腎組織では、COX染色、SDH染色の染色性が低下しており、ミトコンドリア機能の低下が示唆された。酸負荷により、これらの所見は増悪した。マウスの腎組織の電顕所見では、オートファジー不全マウスで酸負荷により著明なミトコンドリアの形態異常を認めた。オートファジー不全細胞でも、動物モデル同様、コントロール細胞に比べて酸負荷に対するアンモニアの産生は低下していた。また、オートファジー不全細胞では、ミトコンドリア膜電位の低下や呼吸機能の低下などミトコンドリア機能の低下を示唆する所見を認めており、これらは酸負荷によりさらに増悪することが示された。ミトコンドリアとオートファジーの関連を示すために、近位尿細管培養細胞に酸負荷を行うと、オートファジーの選択的分解基質であることを示すユビキチンがLC3、ミトコンドリアと共局在することを認めた。この結果は、酸負荷により機能が低下したミトコンドリアがオートファジーにより選択的に分解(ミトファジー)されることを示すものと考えられた。さらに、ミトコンドリア移植を行うサイブリッドを用いた実験を行い、オートファジー不全細胞由来のミトコンドリアをオートファジーが機能している細胞に移植したところ、酸負荷に対するアンモニア産生の代償性の増加や、膜電位などのミトコンドリア機能の改善が認められた。これらの結果から、腎近位尿細管細胞においてオートファジーは、酸負荷により障害されたミトコンドリアを分解することで、ミトコンドリア機能の恒常性維持に貢献しており、これが酸塩基平衡に対する代償反応を維持するうえで重要な役割を有することが示された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>本研究は酸負荷がもたらすミトコンドリア機能異常を介した細胞障害の機序を明らかにし、さらにオートファジーがミトコンドリアの品質管理を通じて、酸負荷による細胞障害に対抗することを証明した。オートファジーがアシドーシスに対する代償反応といった細胞の生理的な機能にも重要であることが示された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 難波 倫子	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 梁木 宏 史
	副 査 大阪大学教授 吉森 保
	副 査 大阪大学教授 熊ノ郷 淳
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>代謝性アシドーシスは慢性腎不全の主要な合併症の一つであり、近位尿細管細胞のミトコンドリアにおけるアンモニア産生は代謝性アシドーシスに対する最も重要な代償反応である。オートファジーは細胞内の主要な分解機構であるが、細胞内小器官の品質管理も行っている。申請者はアシドーシス下に近位尿細管細胞においてオートファジーが亢進していることを見出し、代謝性アシドーシスの際にオートファジーが果たす役割を検討した。近位尿細管選択的オートファジー不全マウス、ならびにオートファジー不全近位尿細管細胞では酸負荷によりミトコンドリア機能が障害されることを明らかにし、酸負荷による傷害ミトコンドリアをオートファジーが分解することでミトコンドリア機能を保ち、代謝性アシドーシスに対する代償反応を維持することを示した。本研究は酸負荷がもたらすミトコンドリア機能異常を介した細胞障害の機序を明らかにし、オートファジーがミトコンドリアの品質管理を通じて、酸負荷による細胞障害に対抗することを証明した最初の論文であり、学位に値すると思われる。</p>	