

Title	Rubicon Inhibits Autophagy and Accelerates Hepatocyte Apoptosis and Lipid Accumulation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice
Author(s)	田中, 聡司
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61581
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	田中 聡司
論文題名 Title	Rubicon Inhibits Autophagy and Accelerates Hepatocyte Apoptosis and Lipid Accumulation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice (非アルコール性脂肪性肝疾患マウスモデルにおいてRubicon蛋白発現増加が肝細胞オートファジーを抑制しアポトーシス・脂肪蓄積を促進する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>非アルコール性脂肪性肝疾患 (Non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) は、内臓脂肪蓄積やインスリン抵抗性を背景として発症するメタボリック・シンドロームの肝病変と考えられている。近年、NAFLDは最も多くみられる慢性肝疾患であり、先進国では人口の約30%が罹患し増加傾向にある。NAFLDは重症化すると非アルコール性脂肪性肝炎 (Non-alcoholic steatohepatitis; NASH) と呼ばれ肝硬変や肝癌に進展し、NAFLD全体の10-20%を占める。また、オートファジーは細胞内成分を分解するシステムで、細胞内の不要物を分解することにより浄化作用を持つ。近年、様々な疾患においてオートファジーの機能が低下していることが確認されており、細胞内浄化作用が抑制され細胞内に不要物が溜まることで疾患の発症につながる可能性が示唆されている。これまで、NAFLDにおいてもオートファジーが抑制されていることが報告されてきたが、その分子メカニズムについては未だ明らかではない。そこで本研究では、オートファジーを抑制するタンパク質であるRubiconに着目し、脂肪酸を投与したヒト培養肝癌細胞や、高脂肪食を摂取しNAFLDを発症したマウス体内の肝細胞において、Rubiconとオートファジーや肝細胞死 (アポトーシス) との関連を検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>ヒト肝癌細胞株 (HepG2) やマウス肝細胞株 (CL2) に飽和脂肪酸であるパルミチン酸 (PA) を投与すると、オートファゴソームとライソソームの融合を負に制御するRubicon蛋白は投与2時間後より増加し、投与3時間後よりLC3-II及びP62蛋白の蓄積を認めてオートファジー後期段階が抑制された。またIRE1-JNK及びPERK-CHOP経路を含む小胞体 (ER) ストレス蛋白の活性化を伴って、投与8時間後よりAnnexin-V陽性・7-AAD陰性細胞が増加しアポトーシスが誘導された。PA投与時にRubiconをknockdownするとオートファジー抑制は解除され、脂肪的蓄積、ERストレス蛋白活性化及びアポトーシスは抑制された。PA投与でRubicon蛋白の遺伝子発現は変わらなかったが、パルス・チェイス・アッセイによりPA投与によるRubicon蛋白分解遅延を認めた。</p> <p>野生型 (WT) マウスに高脂肪食を投与すると、1ヶ月後から肝臓でRubicon発現増加を伴うオートファジー抑制を認め、3ヶ月以降でERストレス応答、肝細胞アポトーシス亢進及びALT値の上昇を認めた。肝細胞特異的Rubiconノックアウトマウスを作成し高脂肪食を4ヶ月投与すると、同腹のWTマウスに比して肝臓におけるオートファジー抑制及びERストレス応答は軽減し、肝細胞アポトーシスは抑制され、血清ALT値は有意に低下した。</p> <p>また、ヒト切除肝非腫瘍部検体を用いてRubicon蛋白量を検討したところ、脂肪性肝疾患症例では非脂肪性肝疾患症例に比して有意な増加を認めた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>NAFLD病態形成において、過剰脂肪酸はRubiconの蛋白分解を阻害してオートファジーを抑制し、ERストレス応答活性化を介して肝細胞アポトーシスを誘導した。Rubiconの機能抑制を標的としたオートファジー誘導がNAFLDに対し肝内脂肪を減少させ、肝障害を軽減させる新規治療法となる可能性が示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 田中 聡司	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 竹原 聡一郎
	副 査 大阪大学教授 田中 聡司
	副 査 大阪大学教授 下村 行一郎
論文審査の結果の要旨	
<p>本研究において、脂肪酸を投与したヒト培養肝細胞 (HepG2: ヒト肝癌由来細胞) や、高脂肪食 (32%脂肪含有、4ヶ月) を与えたマウスの肝細胞では、Rubiconの発現が上昇してオートファジーが抑制されることを見出した。また、肝細胞特異的Rubiconノックアウトマウスを作成することにより、マウス肝臓内の脂肪蓄積と細胞死が軽減され、脂肪肝の増悪はRubiconの発現上昇を介したオートファジー機能の低下が原因で起こっていることを明らかにした。また、非アルコール性脂肪性肝疾患の患者肝臓においてもRubiconの発現が上昇していることを確認した。</p> <p>本研究成果により、今まで有効な薬物治療が存在しなかった非アルコール性脂肪肝炎に対して、Rubiconを標的とした治療薬の開発が期待される。これにより非アルコール性脂肪肝炎から重症化する肝硬変や肝がんの発症を抑制することも期待される。以上より、本研究は博士 (医学) の学位授与に値する。</p>	