

Title	Antioxidant Role of Autophagy in Maintaining the Integrity of Glomerular Capillaries
Author(s)	松田, 潤
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67117
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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 松田 潤		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 猪 阪 喜 隆
	副 査	大阪大学教授 吉 森 保
	副 査	大阪大学教授 野々村 祝夫
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>オートファジーは細胞内の主要な分解機構であり、細胞内の恒常性維持に貢献している。申請者は、生体における内皮細胞オートファジーの役割を詳細に検討した。本研究では、糸球体内皮細胞が高いオートファジー活性を持つこと、内皮細胞特異的オートファジー不全マウスにおいて腎糸球体糸球体特異的に表現型が出現すること、活性酸素種除去剤により同マウスの糸球体病変が改善することを証明した。以上より、内皮細胞オートファジーは、糸球体を酸化ストレスから保護し、糸球体糸球体の統合性維持に必須であることが明らかとなった。血管内皮障害は慢性腎疾患の成因として重要であり、内皮細胞のオートファジー活性を調節することにより、今後各種糸球体疾患の治療に繋がる可能性を示した新規性の高い研究であり、学位に値すると考える。</p>		

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	松田 潤
論文題名 Title	Antioxidant Role of Autophagy in Maintaining the Integrity of Glomerular Capillaries (内皮細胞オートファジーは酸化還元作用を介して腎糸球体係蹄の統合性維持に寄与する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 オートファジーは細胞内の主要な分解機構であり、飢餓状態において細胞内エネルギーを確保し、傷害を受けた細胞内小器官のターンオーバーを担うことで、細胞内の恒常性維持に貢献している。これまで主にヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いた実験系において、内皮細胞のオートファジーが一酸化窒素合成酵素 (eNOS) の発現や酸化還元バランスの制御を介して内皮機能に関与することが知られている。本研究では、生体における内皮細胞オートファジーの役割を明らかにする。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 まず 24 時間の絶食負荷を行った 8 週齢野生型マウスを 2 群に分け、一方の群にオートファジー阻害薬であるクロロキンを投与し、腎構成細胞間のオートファジーフラックスを比較した。糸球体内皮細胞では近位尿細管細胞と同様にクロロキン投与群においてオートファゴソーム数が有意に増加することから、糸球体内皮細胞が高いオートファジーフラックスを持つことが明らかとなった。 次に、血管内皮および造血幹細胞特異的オートファジー不全マウス (TIE2-Cre;Atg5flox マウス、以下 K0 マウス) を作成した。ウェスタンブロッティングにて K0 マウス糸球体において ATG5 発現が低下し、免疫組織染色にてオートファジー基質である p62 が糸球体内皮細胞へ蓄積することから、内皮細胞のオートファジー欠損を確認した。K0 マウス糸球体では 4 週齢以降係蹄がやや開大し、電子顕微鏡にて一部の糸球体内皮細胞の窓消失とそれに近接するポドサイトの足突起癒合を認めた。更に、8 週齢以降糸球体内皮細胞の剥離、基底膜の肥厚およびメサンギウム基質の増生を伴った分葉状構造を呈した。一方で、他臓器の血管には明らかな異常を認めず、表現型は糸球体係蹄に特異的であった。免疫組織染色およびウェスタンブロッティングにて、K0 マウス糸球体における酸化ストレス亢進が示唆された。 K0 マウスは 4 週齢以降顕在化する造血幹細胞の分化障害によって次第に汎血球減少を呈し、12 週齢までに全例が死亡する。そこで申請者らは、4 週齢の K0 マウスおよび対照マウスに野生型マウスの正常骨髄を移植し、12 ヶ月齢まで観察した。骨髄移植後 K0 マウスにおいても糸球体特異的に表現型を認め、12 ヶ月齢では有意な腎機能低下、尿蛋白の増加、硬化糸球体の増加および間質線維化の増悪を認めた。免疫組織染色にて、骨髄移植後 K0 マウス糸球体における内皮細胞傷害および糖鎖不全を認めた。電子顕微鏡にてより広範なポドサイトの足突起癒合と内皮細胞の剥離が観察された。以上より K0 マウスの糸球体係蹄異常は血球系細胞ではなく、内皮細胞自身の異常に由来することが示された。 酸化ストレスの亢進が K0 マウスの糸球体病変に及ぼす影響を検証すべく、申請者らは活性酸素種除去剤である N-アセチルシステイン (NAC) を生後から K0 マウスに投与した。NAC 負荷によって、8 週齢 K0 マウス糸球体における糸球体腫大や係蹄の開大は軽減し、免疫組織染色にて内皮細胞傷害の改善および糖鎖不全の回復を認めた。一方、K0 マウスにおける汎血球減少は NAC 投与でも不変であり、糸球体病変と血球の分化障害は独立していると考えられた。	
〔総括(Conclusion)〕 内皮細胞のオートファジーは、糸球体を酸化ストレスから保護し、糸球体係蹄の統合性維持に必須であることが明らかとなった。血管内皮障害は慢性腎疾患の成因として重要であることから、今後内皮細胞のオートファジー活性を調節することにより、各種糸球体疾患の治療が可能になると期待される。	