OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Lipophagy maintains energy homeostasis in the kidney proximal tubule during prolonged starvation
Author(s)	南, 聡
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69411
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

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）南　聡

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	猪阪　善隆
副　査	大阪大学教授	吉森　保
副　査	大阪大学教授	下村　伊一郎

論文審査の結果の要旨

オートファジーは細胞内自己分解機構であり飢餓に対抗する。腎近位尿細管は脂質を主要なエネルギー源とし、飢餓時には遊離脂肪酸を取り込み、一旦脂肪滴として隔離した後、脂肪滴分解によりエネルギーを獲得する。申請者は、飢餓下における腎オートファジーと脂質代謝の関連を詳細に検討した。本研究では、オートファジーが脂肪滴を選択的に分解するリポファジーの存在を尿細管で明らかとし、また飢餓にて誘導されたリポファジーにより生成された遊離脂肪酸はミトコンドリアに移行しエネルギー源となることを証明した。一方で近位尿細管特異的オートファジー不全マウスでは肝臓でのケトン体産生亢進により尿細管細胞でのエネルギー欠乏を代償する機序を証明した。以上より、近位尿細管リポファジーは飢餓時のエネルギー恒常性維持に働くことが明らかとなった。脂肪滴の形成やエネルギー枯渇は急性腎障害、慢性腎不全など様々な病態で認められるため、今後リポファジーの活性の調節は各種腎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。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	南　聡
論文題名 Title	Lipophagy maintains energy homeostasis in the kidney proximal tubule during prolonged starvation (オートファジーによる脂肪滴分解（リポファジー）は、近位尿細管において飢餓時のエネルギー恒常性を維持する)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

一般に飢餓時においては脂肪組織で脂質の分解が起こり、遊離脂肪酸が血中に放出される脂肪動員が生じる。この遊離脂肪酸は末梢組織において取り込まれるがそのままの状態では細胞毒性を発揮するため「脂肪滴」の形で一旦貯蔵される。その後必要に応じて細胞質リパーゼなどにより再分解されミトコンドリアでのβ酸化を経て、エネルギー源となる。一方、オートファジーは飢餓で強く誘導され、細胞質成分を分解することでエネルギーを獲得する機構である。その過程では隔離膜が細胞質やオルガネラの一部を取り囲みオートファゴソームが形成されそこにリソソームが融合しオートリソソームが形成されることで取り込まれた内容物が分解される。近年、オートファジーは脂肪滴の分解(いわゆる“リポファジー”)、形成いずれにも関与することが報告された。腎臓、特に近位尿細管において、脂質は重要なエネルギー源であることが知られているが、腎臓オートファジーと脂質代謝の関連は明らかでない。今回、近位尿細管において脂肪滴とオートファジーが飢餓時のエネルギー代謝に果たす役割について検討を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

野生型マウスに24-48時間飢餓をかけると、近位尿細管の基底側に脂肪滴が観察され、脂肪滴の一部はオートファゴソームマーカーであるLC3と共局在していた。次に超遠心にて脂肪滴分画を精製しwestern blottingを行ったところ脂肪滴分画にはLC3が豊富に存在していた。また電子顕微鏡による近位尿細管の観察で脂肪滴の一部をオートファゴソームが取り囲んでいる像、また隔離膜が脂肪滴表面に沿うように伸長している像が観察された。更に近位尿細管培養細胞において、蛍光標識脂肪酸を用いたpulse chase assayから、血清飢餓条件下で脂肪滴に取り込まれていた標識脂肪酸がオートファゴソームによりリソソームに運ばれ分解される、“リポファジー”が存在することが明らかとなった。オートファジー不全近位尿細管培養細胞を用いた検討では野生型近位尿細管培養細胞に比して、脂肪滴を適切に分解できず、脂肪滴蓄積や脂肪酸のミトコンドリアへの移行の障害を認め、その結果ATP産生低下、飢餓ストレスに対する脆弱性を呈していた。続いて、近位尿細管特異的オートファジー不全マウス($Atg5^{F/F}$;KAPマウス)に48時間飢餓をかけると、野生型マウスに比し、近位尿細管において著明な脂肪蓄積、また腎臓β酸化の低下を認めた。一方で$Atg5^{F/F}$;KAPマウスにおいて腎組織中ATPは、野生型マウスと同等に保たれていた。そこで$Atg5^{F/F}$;KAPマウスにおける脂質利用障害を代償する機構を検索するために全身代謝を検討したところ飢餓時の$Atg5^{F/F}$;KAPマウスの血中ケトン体濃度は、野生型マウスに比し有意に上昇していた。ケトン体は肝臓でのβ酸化の結果産生されることが知られており実際飢餓時の$Atg5^{F/F}$;KAPマウスでは肝臓でのβ酸化が亢進していた。そこで飢餓時の肝臓でのケトン体産生を亢進することが知られているホルモンであるFGF21に着目した。In situ hybridization法から尿細管でのFGF21産生が明らかとなった。更に飢餓時の$Atg5^{F/F}$;KAPマウスにおいて、腎におけるFGF21発現、血中FGF21濃度は、野生型マウスに比し上昇しており、血中ケトン体値と有意に相関した。更に、腎におけるFGF21の役割を検討すべく、近位尿細管特異的FGF21・Atg5欠損マウス($Fgf21^{F/F}$, $Atg5^{F/F}$;KAP マウス)に48時間飢餓をかけると、血中FGF21濃度は$Atg5^{F/F}$;KAPマウスに比し低下したが、血中ケトン体値上昇・肝臓におけるβ酸化亢進は同等であった。以上より腎臓でのFGF21がそれ単独で肝臓ケトン体産生を亢進しているという可能性は否定的であった。

〔総　括(Conclusion)〕

リポファジーは近位尿細管において飢餓時のエネルギー恒常性維持に働くこと、オートファジー不全尿細管細胞がいまだ詳細不明の機序で肝ケトン体産生亢進によってエネルギー枯渇を代償することが明らかとなった。