



Title	Endogenous activation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha in proximal tubule cells in counteracting phosphate toxicity
Author(s)	勝間, 勇介
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/98661">https://hdl.handle.net/11094/98661</a>
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 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

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	勝間 勇介
論文題名 Title	Endogenous activation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha in proximal tubule cells in counteracting phosphate toxicity (近位尿細管細胞におけるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 $\alpha$ の内因性活性化はリン毒性に対抗する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>肉類や加工食品の摂取量増加に伴い、現代人はリン過剰摂取を引き起こしやすく、主な排泄経路である腎臓はリン負荷に晒されやすい。リン負荷が腎傷害を引き起こす機序についてはこれまでにいくつか報告があるが、腎臓が日常的にリン負荷に晒されることを考慮すると、傷害に対する内因性対抗機序を備えていなければ機能維持が困難な可能性がある。しかしながらそのような対抗機序について報告はなく、本研究ではその解明を目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>野生型マウスを正リン群・高リン群(各0.83%、3.0%リン給餌)に分け、高リン群で腎間質線維化が生じる前段階のストレス代償期における腎構成細胞の変化をSingle cell RNA-sequencing (scRNA-seq) 解析で検討した。scRNA-seq解析により、高リン群の近位尿細管細胞(PTECs)クラスターにおいてperoxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR-<math>\alpha</math>)経路/脂肪酸<math>\beta</math>酸化 (FAO)の活性化が示唆された。免疫染色やwestern blotでも、高リン群の腎臓においてPPAR-<math>\alpha</math>やFAOの律速酵素であるcarnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A)の発現上昇を確認した。またFAO蛍光指示薬を使用して尿細管のFAO化活性を可視化したところ、高リン群の腎臓で活性化していた。</p> <p><i>Ppara</i> KOマウスを使用した検討では、KOマウスではリン負荷によりWTマウスと比べてリン負荷による腎間質線維化が増悪した。これらの結果から、リン負荷により誘導されたPTECsのPPAR-<math>\alpha</math>経路/FAOの活性化はリン負荷による腎毒性を軽減していることが示唆された。</p> <p>培養PTECsを用いた実験では培地のPi濃度を正リン、高リンに分けPPAR-<math>\alpha</math>/FAO関連遺伝子の発現を確認した。その結果、高リン群でこれらの遺伝子発現が上昇していた。次にリンがPTECsのFAOに与える影響をミトコンドリア酸素消費量 (OCR)の変化で検証した。培地のPi濃度を正リン、高リンの2群に分け、FAO阻害剤であるエトモキシルの添加の有無により4群に分けた。その結果、高リン群ではエトモキシル添加によりOCRが有意に抑制され、高リン条件下でPTECsはFAOに依存を強めることが示唆された。さらに正リン、高リン条件下で培養したPTECsのFAOをエトモキシルにより阻害、オレイン酸により活性化させてMTS assayでcell viabilityを評価した。その結果、正リン条件下ではFAO活性の如何に関わらずPTECsのviabilityは保たれたが、高リン条件下では、viabilityがエトモキシルにより低下、オレイン酸により改善した。以上から高リン環境が直接的に近位尿細管の代謝プログラミングを誘導して、FAOを活性化させることが判明した。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>本研究では、PTECsにおけるPPAR-<math>\alpha</math>の内因性活性化がリン毒性に対抗することを実証した。代表的な腎傷害モデルである片側尿管結紮や虚血再灌流とは異なり、リンは必須のミネラルであり日常的に摂取されるため、生体はリン負荷による腎間質線維化を回避する内因性機構を備えていた。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 勝間 勇介

	(職)	氏名	
論文審査担当者	主査	大阪大学教授	羅阪善隆
	副査	大阪大学教授	山本 浩一
	副査	大阪大学教授	竹原 徹也

## 論文審査の結果の要旨

腎臓は主要なリン排泄経路であるため、日常的にリン負荷に晒されることを考慮すると、リン毒性に対する内因性対抗機序を備えていなければ機能維持が困難な可能性がある。しかしながらそのような対抗機序について報告はなく、本研究で検証した。野生型マウスを正リン群・高リン群に分け、高リン群で腎間質線維化が生じる前段階のストレス代償期における腎構成細胞の変化をSingle cell RNA-sequencing解析で検討したところ、高リン群の近位尿細管細胞(PTECs)クラスターにおいてPPAR- $\alpha$ 経路/脂肪酸 $\beta$ 酸化(FAO)の活性化が示唆された。*Ppara* KOマウスを使用した検討により、PTECsのPPAR- $\alpha$ 経路/FAOの活性化はリン負荷による腎毒性を軽減することが示された。培養PTECsを用いた実験ではPTECsが高リン環境下でPPAR- $\alpha$ 経路/FAOを活性化させることが示された。本研究はリン負荷に晒された腎臓が単に傷害されるだけでなく、PPAR- $\alpha$ の内因性活性化を介してリン毒性に対抗するという新たな知見を含んでおり、学位に値するものと認める。