

Title	Autophagy sequesters damaged lysosomes to control lysosomal biogenesis and kidney injury
Author(s)	Maejima, Ikuko
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/26292
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

〔論文題名 : Thesis Title〕

Autophagy sequesters damaged lysosomes to control lysosomal biogenesis and kidney injury

(オートファジーは損傷リソソームを隔離することで高尿酸血性腎症の病態悪化抑制に貢献する)

専攻名 : 予防環境医学専攻
Division

学位申請者 : 前島 郁子
Name

〔目的(Purpose)〕

リソソームは生体内において尿酸結晶などの結晶物、細菌毒素、脂質や薬剤などで損傷されることが報告されている。リソソームの損傷は、細胞ストレスや炎症反応を引き起こし、深刻な場合には細胞死を誘導する。しかしながら、これまで損傷リソソームがどのように除去されているのかは不明であった。一方、オートファジーは細胞内分解系の一つであり、オートファゴソームと呼ばれる2重膜によって細胞質中のタンパク質やオルガネラを隔離し、リソソームと融合することで内容物を分解する。オートファジーは栄養飢餓や細菌感染などで誘導され、栄養源確保や有害物の除去など細胞保護的に機能する。そこで今回我々は損傷リソソームの除去にオートファジーが関与している可能性について検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

損傷膜のマーカーである Galectin-3 (Gal3) を安定発現するマウス胎児繊維芽細胞 (MEF) を作成し、まず損傷リソソームがオートファジーの標的になるのかを検討した。リソソームを特異的に損傷する薬剤である LLome で処理を行うと、選択的オートファジーの指標である ユビキチンと p62 が Gal3 陽性リソソームと共局在し、そこに LC3 も局在することを見出した。これにより、損傷リソソームは選択的オートファジーの標的であることが示唆された。実際、光子・電子相関顕微鏡法 (CLEM) により、LLome 処理を行った細胞で LC3 と Gal3 が共局在するところを電子顕微鏡観察したところ、一重膜小胞が典型的なオートファゴソーム構造である二重膜構造体によって隔離されている様子が多数観察された。次に、損傷リソソーム除去へのオートファジーの関与を検討するために、短時間の薬剤処理によって一時的に損傷リソソームを発生させた。すると、正常なマウス繊維芽細胞 NIH3T3 細胞では経時的に Gal3 陽性リソソームが減少したのに対し、オートファジー能を欠損させた Atg4B^{C74A} 安定過剰発現 NIH3T3 細胞では Gal3 陽性リソソームはほとんど減少しなかった。さらに、オートファジー欠損細胞では損傷リソソームが減少しないにも関わらず細胞全体のリソソーム数に変化がなかったことから、細胞がリソソーム損傷から回復するためにはオートファジーによる損傷リソソームの隔離が必要であることが明らかとなった。

次に、オートファジーによる損傷リソソーム除去の生理的意義を検討するために、急性高尿酸血性腎症に着目しマウス個体を用いて解析した。マウスに尿酸を投与し高尿酸血症を誘発させると、腎近位尿細管細胞においてユビキチン陽性リソソームが出現し、LC3 が共局在している様子が観察された。一方、オートファジーに必須の因子である Atg5 を近位尿細管特異的に欠損させた Atg5 コンディショナルノックアウトマウスに尿酸投与を行ったところ、ユビキチンのリソソームへの局在は見られたものの LC3 の局在化は観察されなかった。腎機能への影響を評価するために、腎組織傷害部位の半定量的なスコア化と血漿中の尿素窒素およびクレアチニンの測定を行ったところ、尿酸を投与した近位尿細管特異的 Atg5 ノックアウトマウスにおいてこれらの有意な上昇が認められた。

〔総括(Conclusion)〕

損傷リソソームはオートファジーによって隔離される。オートファジーは高尿酸血症により損傷したリソソームを隔離することで、高尿酸血性腎症の病態悪化抑制に貢献している。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 前島 郁子

論文審査担当者	(職) 氏 名
主 査	大阪大学教授 吉森 保
副 査	大阪大学教授 目加田 英輔
副 査	大阪大学教授 岡田 雅人

論文審査の結果の要旨

リソソームは、細胞外から取り込まれた結晶や病原体など様々な要因により膜に損傷を受けることがある。リソソームが損傷した場合に、細胞がどのように対処しているのかはこれまで知られていなかった。本研究では、細胞内浄化システムであるオートファジーに着目し解析を行った結果、損傷リソソームが選択的にオートファジーに隔離されることが示された。損傷リソソームが隔離されると新たにリソソームが形成され、リソソームの量的質的恒常性が維持される。さらに高尿酸血症を誘発したマウスの近位尿細管において損傷リソソームがオートファジーの標的となっており、このとき、近位尿細管特異的にオートファジーを欠損させたマウスでは高尿酸血性腎症が悪化することが示された。本研究は、損傷したリソソームをオートファジーが処理していることを世界に先駆け示したのみならず、in vivoでの生理的な意義まで明らかにしており、博士（医学）の学位授与に値するものと認める。