

論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨の公表

学位規則第 8 条に基づき、論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

フリガナ 氏名 (姓、名)	ゴトウ マヤ 後藤 真耶		授与番号 甲 1432 号
学位の種類	博士 (薬学)	授与年月日	2020 年 9 月 25 日
学位授与の要件	本学学位規程第 1 8 条第 1 項該当者 [学位規則第 4 条第 1 項]		
博士論文の題名	肝臓における Na ⁺ 依存性クエン酸トランスポーター (SLC13A5/NaCT) の病態生理的役割		
審査委員	(主査) 藤田 卓也 (立命館大学薬学部教授)	浅野 真司 (立命館大学薬学部教授)	
	桂 敏也 (立命館大学薬学部教授)		
論文内容の要旨	<p>クエン酸は脂質やコレステロールの炭素源であり、代謝エネルギー産生の基質にもなることから、肝臓におけるクエン酸回路中間体の中でも中心的な役割を担っている。肝細胞内へのクエン酸の供給は、主に Na⁺ 依存性クエン酸トランスポーター (NaCT) を介して血液中から肝臓に輸送される。近年、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) などの代謝性肝疾患患者の肝臓での脂肪蓄積と NaCT の発現亢進の関連性が示唆されている。2 型糖尿病発症時においても NaCT の発現が増大することが報告され、2 型糖尿病患者での高い NAFLD 発症率と NaCT との関連が注目されている。同様に、1 型糖尿病患者においても NAFLD の発症が高頻度で起こるが、その発症と NaCT 発現との関係については未だ不明であることから、1 型糖尿病モデルマウスを用いて NaCT の発現変動と脂肪蓄積の関連、高血糖時に活性化される protein kinase C (PKC) による NaCT の輸送機能制御に関して検討を行った。</p> <p>学位申請者は本論文中において、第 1 章では、Streptozotocin で惹起した 1 型糖尿病モデルマウスの肝臓における NaCT の発現変動を検討した。糖尿病モデルマウスにおける肝臓中の NaCT の発現量は、正常マウスと比較して有意に減少した一方で、遊離肝細胞を用いたクエン酸取り込み活性には有意な差が認められなかった。糖尿病モデルマウス肝臓では、NaCT と同じ SLC13A トランスポーターファミリーである NaDC3 の発現が代償的に増加しており、この発現がクエン酸取り込み量の維持に関与していることが示唆された。第 2 章では、高血糖時に様々な組織において活性化することが報告されている PKC による NaCT の輸送活性制御機構を、ヒト肝がん細胞株 HepG2 を用いて検討した。PKC 活性化薬 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) 刺激時のクエン酸輸送活性は、PMA の濃度依存的、時間依存的に有意に減少し、このクエン酸輸送活性の低下は、PKC 阻害剤 Gö 6983 の濃度依存的に回復したことから、NaCT の輸送活性は PKC により負に制御されていることを明らかにすることができた。</p>		

<p>論文審査の結果の要旨</p>	<p>クエン酸は、脂肪酸やコレステロールの炭素源であり、代謝エネルギー産生における基質となることから肝臓での トリカルボン酸 (TCA) 中間体の中でも中心的な役割を担っている。また、クエン酸は解糖系の抑制作用、糖新生の促進作用を有することから、様々な代謝経路への関与が示唆されている。ヒト血漿中のクエン酸の多くは肝臓において処理されることから、TCA 中間体を血漿中から肝細胞内に輸送する NaCT の輸送活性調節機構の解明は病態生理学的にも重要である。一方、NAFLD は、過度の飲酒習慣が無いにもかかわらずアルコール性脂肪性肝疾患と同様に肝細胞内への脂肪蓄積が認められる肝疾患であり、多くは肥満や糖尿病などの生活習慣病に起因する。NAFLD に対する有効な治療法ははまだ確立されていないが、その原因の一つとして、NAFLD の発症メカニズム、特に肝細胞への脂肪蓄積機構が十分に明らかにされていないことが挙げられる。学位申請者は、1型糖尿病モデルマウスを用いて、1型糖尿病時の肝臓における NaCT の活性変動に関して検討を行い、同病態時には NaCT の発現、輸送活性が低下する一方で、NaCT と同じトランスポーターファミリーに属する NaDC3 が代償的に発現することを示唆するデータを得た。さらに、糖尿時に活性が亢進する PKC による NaCT の輸送活性制御機構を速度論的に解析することにより、PKC の活性化により NaCT の基質親和性を変化させることなく最大輸送活性が有意に低下することを明らかにした。本研究成果は、糖尿病との関連が示唆されている NAFLD が、血液中から肝細胞への NaCT を介したクエン酸輸送調節機構が関与する可能性を示唆するものであり、NaCT をターゲットとした NAFLD 治療戦略を構築する上で有用な情報を提供できるものとして、高く評価できる。</p> <p>本論文の審査に関しては、2020年7月9日（木）に公聴会を開催し、学位申請者による論文内容の説明の後、審査委員は学位申請者に対する口頭試問を行った。各審査委員および公聴会参加者より、糖尿病モデルマウスにおける NaCT の発現解析に関する実験条件の設定、データ解析の方法、血漿中の脂質の変動に関する統計解析の妥当性に関しての意見、質問があった。また、HepG2 細胞での Na^+ 依存的クエン酸輸送の K_m 値と発現系における NaCT の K_m 値の乖離、PKC による V_{\max} 値の低下に関する考察についても説明を求められた。学位申請者の回答は、いずれの質問に対しても適切であった。</p> <p>以上により、公聴会での口頭試問結果を踏まえ、審査委員会は本論文が本研究科の博士学位論文審査基準を満たしており、博士学位を授与するに相応しい水準に達しているとの判断で一致した。</p>
<p>試験または学力確認の結果の要旨</p>	<p>本論文の公聴会は 2020 年 7 月 9 日（木）17 時 00 分から 18 時 00 分まで、カラーニングハウス II CII 講義室で行われた。</p> <p>学位申請者は、本学学位規程第18条第1項該当者であり、主査および副査は、論文内容および公聴会での質疑応答を通して、学位申請者が十分な学識と、博士学位に相応しい能力を有していることを確認した。</p> <p>以上の点を総合し、学位申請者：後藤 真耶に対して、本学学位規程第 18 条第 1 項に基づいて、博士（薬学 立命館大学）の学位を授与することが適当であると判断する。</p>