

博士論文要旨

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

立命館大学大学院薬学研究科

薬学専攻博士課程

ゴトウ マヤ

後藤 真耶

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における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。血液中のクエン酸は、主に Na^+ 依存性クエン酸トランスポーター (NaCT) を介して肝臓に輸送されることが報告されている。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されている。また、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型糖尿病患者の高い NAFLD 発症率と NaCT との関連も注目されている。一方、1型糖尿病患者も NAFLD を高確率で併発するが、その発症と NaCT 発現との関係については未だ不明である。そこで本研究では、1型糖尿病発症時の肝臓における NaCT の発現変動と脂肪蓄積の関連性について、ストレプトゾトシン (STZ) 誘発性 1型糖尿病モデルマウスを用いて検討した。さらに、糖尿病の発症時に活性化されることが報告されている protein kinase C (PKC) による NaCT の輸送調節機構に関して検討を行った。

1型糖尿病モデルマウスにおける肝臓中 NaCT の発現量は、正常マウスと比較して mRNA レベル、タンパクレベル共に顕著に低下したが、コラゲナーゼ灌流により調製した単離肝細胞を用いたクエン酸取り込み活性には顕著な差は認められなかった。一方、作製したモデルマウス肝臓においては、NaCT のホモログである Na^+ 依存性ジ・トリカルボン酸トランスポーター3 (NaDC3) mRNA の顕著な発現亢進が認められたから、NaDC3 の代償的機能によりクエン酸取り込み量を維持していると考えられる。従って、NaCT の発現は 1型糖尿病の発症に伴い変動するものの脂質蓄積とは必ずしも関連しない可能性が示された。NaCT を発現しているヒト肝細胞株 HepG2 における 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た。また、PMA による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 により制御されていることが明らかとなった。

以上、本研究で得られた知見は、糖尿病に付随する代謝性肝疾患の発症メカニズムを解明し、その新規予防・治療戦略を構築する上で有益な情報を提供するものと思われる。

Abstract of Doctoral Dissertation

Pathophysiological roles of Na⁺-coupled citrate transporter (SLC13A5/NaCT) in liver

Doctoral Program in Pharmacy

Graduate School of Pharmacy

Ritsumeikan University

ゴトウ マヤ

GOTO Maya

Citrate plays a central role for TCA cycle intermediates in liver, because it is a carbon resource of lipids and cholesterol and is a substrate for metabolic energy production. Citrate is reported to be transported from blood to liver via Na⁺-coupled citrate transporter (NaCT) preferentially. Recently, it has been demonstrated that the hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) patients is related to the increased NaCT expression in liver. NaCT expression level is found to be increased in type 2 diabetes, therefore, NaCT is paid attention to the relationship for the high prevalence of NAFLD in type 2 diabetes patients. On the other hand, although type 1 diabetes is also frequently accompanied with NAFLD, it is still unclear whether NaCT is associated with hepatic lipid accumulation in type 1 diabetes. Therefore, I investigated the relationship between hepatic NaCT expression and lipid accumulation in streptozotocin (STZ) -induced type 1 diabetic mice. Furthermore, I studied to elucidate the regulatory mechanisms of functional NaCT expression by protein kinase C (PKC) which is reported to be activated in diabetes.

Hepatic mRNA and protein expression level of NaCT in type 1 diabetes mouse model was significantly reduced compared with non-treated mice. On the other hand, no significant difference was observed the Na⁺-dependent citrate uptake activity in isolated hepatocytes between STZ-treated mice and non-treated mice. In type 1 diabetes mouse model, hepatic mRNA expression of Na⁺-coupled dicarboxylate transporter 3 (NaDC3), a similar SLC13A family member, was significantly increased in compensation for reduction of NaCT mRNA. Thus, hepatic NaCT expression in type 1 diabetes mouse is likely not to be closely correlated to lipid accumulation. Next, I investigated the influence of protein kinase C (PKC), which is activated in diabetic patients, on the transport of citrate via NaCT in HepG2 cells. The NaCT-mediated citrate uptake in HepG2 cells was decreased by a PKC activator, phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), in a concentration- and time-dependent manner. In addition, the reduction of citrate uptake by PMA was reversed by a PKC inhibitor, Gö 6983. These results demonstrated that NaCT function in liver might be regulated by PKC.

In conclusion, these findings elucidate the pathophysiological role of NaCT in diabetes-associated hepatic metabolic disorders, and supply a useful information for therapeutic strategies.