

(様式4) (Form4)

学位論文の内容の要旨

Dissertation Abstract

スマン シェスタ

SUMAN

SHRESTHA

印

(学位論文のタイトル) Title

Circulating FABP4 is eliminated by the kidney via glomerular filtration followed by megalin-mediated reabsorption

(循環血液中のFABP4は、糸球体で濾過され、メガリンによる再吸収を介して腎臓より除去される)

(「論文目録(様式3)」の主論文の部分を記載する。英文の場合は和訳をつける。)

For English paper, Japanese title is necessary.

(学位論文の要旨) 2,000字程度、A4判 (approx. 800 Words in English /A4 size)

【背景】

Fatty Acid Binding Protein 4 (FABP4) はFABPファミリーに属するタンパクであり、脂肪細胞やマクロファージに高発現する。FABP4は、飽和または不飽和脂肪酸、エイコサノイドや他の脂質等の脂溶性リガンドに可逆的に結合し、細胞レベルで脂質輸送・応答に関与している。循環血液中のFABP4は、肥満に関連した代謝性疾患と相関することが報告されており、代謝性疾患や様々な心血管疾患のバイオマーカーにもなり得る。血中のFABP4レベルは主に、1) 脂肪細胞による合成、2) 脂肪分解を介した血中への分泌の増加、3) 腎臓を介した除去、の3つの因子により調整される。このうちFABP4合成および分泌促進機構については数多く報告されているが、FABP4除去のメカニズムについての詳細は検討されていない。腎機能と血中FABP4との関連については、血液透析患者において血中FABP4レベルが対照群の20倍に増加すること、糸球体ろ過率(GFR)と血中FABP4との間に逆相関がみられることが示されている。また、同じファミリーに属するFABP1は、腎臓よりクリアランスされ、近位尿細管上皮細胞によりメガリンを介して再吸収されることが報告されている。メガリンは近位尿細管上皮細胞刷子縁膜上に発現する多種のリガンドに対するエンドサイトーシス受容体であり、多くのリガンドの再吸収に関与することが知られている。

【目的】

本研究では、腎臓による血中FABP4のクリアランスメカニズムの詳細を明らかにすることを目的とした。血中FABP4が腎臓の糸球体により原尿中にろ過され、近位尿細管上皮細胞上に発現するメガリンを介して再吸収されること、正常な腎機能が血中FABP4クリアランスに重要であることを明らかにすることを計画した。

【方法】**¹²⁵I標識FABP4の体内分布実験**

¹²⁵I-FABP4を健常マウスに尾静脈より投与し、投与10分、1時間、3時間、6時間後における各臓器の重量および放射能を測定した。

蛍光免疫染色実験

蛍光色素であるAlexa Fluor 647 (AF647) で標識したヒトFABP4または生理食塩水を健常マウス尾静脈より投与、10分後に腎臓を摘出し、パラフィン包埋した。近位尿細管上皮細胞マーカーであるLTLを用いて蛍光二重染色を行った。

腎摘出および腎障害モデルにおける血中FABP4と生化学パラメーターの測定

片腎または両腎を摘出したモデルマウスおよび疑似手術マウスから、手術して6、12、24時間後に血液を採取した。また片腎マウスの腎臓に対して虚血再灌流を行い、その1日後およびアドレナリン受容体 β 3阻害剤であるCL316,243を腹腔内投与し、10、20分後に血液を採取した。さらにメガリンノックアウトマウスから血液および尿（24時間蓄尿）を採取した。採取した血液および尿サンプルを用いて、血中のFABP4、グリセロール、クレアチニンの定量を行った。

水晶振動子マイクロバランス (QCM) 測定

QCMを用いてFABP4とメガリンの結合を検出した。

【結果】

¹²⁵I標識FABP4の体内分布実験

¹²⁵I-FABP4は、投与10分後には肝臓や心臓よりも腎臓において有意に高く集積し ($p < 0.001$)、その後腎臓の集積も急速に低下した。

蛍光免疫染色実験

AF647-FABP4は、近位尿細管上皮細胞マーカーであるLTL染色陽性の細胞膜表面付近に強い集積を示した。またAF647-FABP4陽性の粒子が膜下の細胞質にも認められており、エンドサイトーシス小胞であることが示唆された。これらの結果から、血中FABP4は糸球体から原尿中に濾過され、原尿中のFABP4は近位尿細管上皮細胞で再吸収されることが示された。

腎摘出および腎障害モデルにおける血中FABP4と生化学パラメーターの測定

両腎摘出マウスにおいて、血中FABP4は手術6時間後に顕著に増加し、その後減少した。片腎摘出マウスにおいても手術6時間後に血清FABP4の上昇が認められたが、24時間後には正常値に戻った。これらのデータから、血中FABP4のクリアランスに腎臓が主要な役割をはたすことが示された。

片腎マウス+虚血再灌流モデルにおいて、CL316,243（脂肪融解促進薬）の投与後に、血清FABP4が健常腎マウスに比べて有意に上昇した。これらの結果から、腎機能障害と脂肪融解促進の相加作用により、血中FABP4レベルがより顕著に上昇することが示された。

メガリンノックアウトマウスにおいて、尿中のFABP4レベルが顕著に上昇した。それに伴い、メガリンノックアウトマウスの血中FABP4レベルは対象マウスに比べて優位に減少した。これらのデータから、メガリンが原尿中のFABP4の再吸収に関与することが示された。

水晶振動子マイクロバランス (QCM) 測定

QCM測定により、FABP4とメガリンの結合が確認された。

【結語】

以上の結果より、血中FABP4は腎臓の糸球体から原尿中にろ過され、メガリンとの結合を介して近位尿細管上皮細胞で再吸収されることで血中より除去されることが示された。したがって、既存の報告と合わせると、血中のFABP4レベルは、1) 脂肪細胞によるFABP4分泌速度と、2) 腎臓からの除去速度のバランスによって制御されると考えられる。