

学位論文の内容の要旨

(植原 良太) 印

(学位論文のタイトル)

Fyn directly phosphorylates Tgm2 and is involved in the development of diabetic kidney disease by modulating autophagy and p53 expression

「FynはTgm2を直接リン酸化することでオートファジーを調節し、p53を介した糖尿病性腎臓病の進展に関与する」

【目的と背景】

糖尿病とその合併症は世界で急激に増加傾向であり、その主要な合併症の1つである糖尿病性腎臓病 (DKD) は末期腎不全の第1位の原因疾患である。近年、DKDの障害部位として近位尿細管が注目されつつある。またその成因としてオートファジー機構も注目されてきている。我々はノックアウトマウスや阻害薬を用いた解析で、非受容体型チロシンキナーゼFynが糖尿病やメタボリック症候群の病態に関与する事を報告してきた。また骨格筋においてはFynがオートファジー機構を調節し、その損耗に関係する事を近年報告してきた。しかしFynの調節機構は明らかではなく、さらに筋肉以外の組織でも同様のオートファジー機構が存在し、各種病態に関与している可能性は否定できないと考えられる。そのためDKDにおける尿細管障害にFynによるオートファジー調節機構が関与するかに関して検討を行うこととした。

【方法と結果】

①近位尿細管細胞株 (HK2) を各種炎症サイトカインで刺激すると、糖尿病性腎臓病に関わるとされるIL6でFynの下流であるSTAT3がリン酸化され、オートファジーが抑制された。②HK2にてFynをノックダウンするとIL6依存性のオートファジー活性の再活性化を認めた。③Fynの下流を探索するために骨格筋特異的Fynトランスジェニックマウスの筋肉にて、チロシン残基がリン酸化されている分子を質量分析法により網羅的に解析を行なった。すると、Beclin1に結合し、その架橋反応を調節することでオートファジーを調節するとされているTransglutaminase2 (Tgm2-WT) の369番目と617番目のチロシン残基がリン酸化されていることが判明した。④in vitroの系で、FynがTgm2を直接リン酸化することを確認した。⑤細胞内でFynを過剰発現するとTgm2はリン酸化された。一方で、上記のリン酸化部位をフェニルアラニンに置換した変異体 (Tgm2-YF) はされないことが判明した。⑥HK2でTgm2-WTを過剰発現するとオートファジー活性の低下を認め、Tgm2-YFを過剰発現するとオートファジー活性の再活性化を認めた。⑦Tgm2の過剰発現の系でBeclin1の架橋反応を確認したが変化を認めなかった。⑧近年、Tgm2の新たなオートファジー調節機構としてTgm2ががん抑制遺伝子でありDKDの発症に関わるとされるp53のオートファゴソームへの輸送を調節しているとされる報告があった。そのためHK2でTgm2をノックダウンもしくは過剰発現したところp53タンパク量の低下、もしくは増加を認めた。⑨高脂肪食を給餌したマウスの腎臓においてTgm2の発現とリン酸化の上昇を認め、オートファジーの

低下とそれに伴うと思われるp53の発現上昇を認めた。⑨野生型マウス(WT)とFynノックアウトマウス(FynKO)にストレプトゾシン(STZ)を投与した糖尿病誘発マウスモデル(WT-STZ, FynKO-STZ)を作成し⑧と同様の検討を行ったところ、WT-STZに比してFynKO-STZの腎臓においてオートファジー活性上昇とそれに伴うと思われるp53の発現低下を認めた。

【結論】

以上の結果より、腎臓の近位尿細管細胞において、Fynが直接のターゲット分子であるTgm2のリン酸化を介してオートファジーを調節しp53のタンパク量を規定していることで糖尿病性腎臓病の発症に関わることが示唆された。この調節機構は血糖を介さないものであり、糖尿病性腎臓病の新たな治療ターゲットの解明につながる可能性がある。またFynはチロシンキナーゼであり、阻害薬なども数多く上市しているため、創薬などへの応用も十分考えられ、糖尿病性腎臓病治療に大きく貢献することができると考えられる。