



Title	ヒト近位尿細管上皮細胞の脂肪滴に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	三浦, 佑介
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(保健科学)
Dissertation Number	甲第13633号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74027
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yusuke_Miura_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（保健科学）

氏名：三浦佑介

審査委員	主査	教授	齋藤 健
	副査	特別招へい教授	千葉仁志
	副査	教授	恵 淑萍

学位論文題名

ヒト近位尿細管上皮細胞の脂肪滴に関する研究

当審査は平成 31 年 1 月 23 日実施の公開発表にて行われた（出席者 29 名）。

慢性腎臓病は世界的に増加傾向にあり，その早期発見・早期治療は関心の高い問題である。近年は，糖尿病性腎症で腎細胞に脂質の蓄積が見られるなど腎と脂肪滴の関係性が注目されつつある。近位尿細管上皮細胞に脂肪滴が形成されることで，炎症，線維化，ROS の発生，アポトーシスなどに関与することが度々報告されている。しかし，脂肪滴形成時における分子種レベルでの詳細な脂質変動解析は未開拓である。病態に特異的な脂質分子が発見できれば，治療の標的になり得るため，今後の発展が期待される状況にある。分析対象となった脂質の一つはコレステリルエステル（CE）であり，先行研究である尿中の分析において，腎疾患患者に特異的に検出されていた。もう一つの脂質はカルジオリピン（CL）であり，CL の酸化や組成の変化はミトコンドリア障害に関与するとされている。本論文はヒト腎近位尿細管上皮細胞由来である HK-2 細胞を用いて，液体クロマトグラフィー質量分析（LC/MS）法により脂肪滴の CE と CL を分析することで，細胞内脂質代謝に関する有益な知見を得ることを目的としたものである。さらに臨床応用として，糖尿病性腎症患者の尿を用いて，LC/MS 法による CE の分析から早期発見のバイオマーカーを探索したものである。

脂肪滴の解析では，HK-2 細胞に 6 種類の脂肪酸を添加し，脂肪滴の形成を一般的な手法である Oil Red O 染色により検出していた。CE の定量は著者が確立した半網羅的な LC/MS 分析法で行っており，内部標準物質に化学合成した重水素標識体を利用している。CE の重水素標識体は一般的に入手が困難であり，独創的な分析手法である。また，CL と

その過酸化脂質である CLOOH について、高分解能質量分析装置を用いて網羅的に半定量的な分析を行っており、分子種の詳細なプロファイルが判別できる手法である。脂肪滴の形成と CE や CL 分子種の変動を各種脂肪酸添加群ごとに比較していた。加えて、Oil Red 染色量、CE、CL の相関関係から 3 者の関連性を評価していた。これらの結果を元に文献的な情報を交えて論理的な考察を展開していた。不飽和脂肪酸が脂肪滴を生成しやすく、脂肪滴生成による酸化ストレスの発生が CL の減少および CLOOH の増加につながり、ミトコンドリア障害を引き起こすと推察されていた。これらの成果は、脂肪滴と腎障害の病態の関連性を解明するうえで、さらなる発展性の期待できる内容であった。

また、臨床応用として糖尿病性腎症の病期別に尿中 CE を測定し、既存の方法であるアルブミンクレアチニン比のデータと診断効率を示す ROC 曲線を用いて比較していた。総 CE はコントロールと糖尿病性腎症 1 期で差がない一方で、CE の不飽和脂肪酸の分子種に有意差が認められるという新たな知見が得られた。質量分析で分子種を測定する利点が見られ、酵素法では評価することのできないものであり、将来的な臨床応用が期待される成果であった。

これを要するに、著者は化学合成、質量分析による定量法の確立、細胞実験による脂質分析、臨床検体の脂質分析と多岐に渡る研究を行った。その成果として、近位尿細管上皮細胞に形成された脂肪滴における CE および CL の変動について新たな知見を得られた。さらに早期糖尿病性腎症患者の尿において、質量分析による CE 分子種の定量が有用であることが示され、今後の臨床化学分野の発展に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士(保健科学)の学位を授与される資格あるものと認める。