

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18854

研究課題名（和文）脂質の介する代謝異常による網膜変性機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of retinal degeneration mechanism due to lipid-mediated metabolic disorders

研究代表者

長田 秀斗（Osada, Hideto）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・研究員

研究者番号：50748770

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：代謝制御に寄与するアディポネクチン1型受容体(Adipor1)は機能阻害によって網膜色素変性症を呈することが知られているため、Adipor1ノックアウトマウスの網膜および血清を用いてリポミクス解析を行った。網膜では視細胞外節の形成に重要なDHAを含む脂質の著しい低下を認めた。一方で血清中の脂肪酸の顕著な変化は認めなかった。視細胞内節において発現が認められる脂肪酸伸長酵素Elovl2の発現が低下していた。同時に、脂質合成に関与する多くの遺伝子群の発現が変化しており、Adipor1ノックアウトマウス網膜における局所的な脂質動態の変化が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生活習慣病や臓器機能不全に由来する代謝異常は、糖尿病網膜症をはじめとする網膜の神経変性を引き起こすが、これらは不可逆的な変化であり現状治療法はない。網膜は脂質を多量に含有し、形態や光受容体という機能の維持には脂肪酸が必須であることが示唆されている。本研究では網膜変性時の全身および網膜局所の脂質動態の変化を解析することにより、脂質代謝の異常に伴う網膜変性の発症メカニズムを検討した。全身性に变化する物質をとらえることはできなかったものの、網膜局所の脂質動態変化と新たな網膜変性の発生機構を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：Lipid metabolism-related gene mutations can cause retinitis pigmentosa, a currently untreatable blinding disease resulting from progressive neurodegeneration of the retina. Here, we demonstrated the influence of adiponectin receptor 1 (ADIPOR1) deficiency in lipid metabolism and retinal neurodegeneration using Adipor1 knockout (KO) mice. Photoreceptors of KO mice were misaligned and their lipid composition, including DHA, which is critical in forming photoreceptor outer segments, was impaired in the retina. Importantly, the expression of Elovl2, an elongase of very long chain fatty acids, was significantly reduced, and lipogenic genes, which are induced under conditions of reduced endogenous DHA synthesis, were increased in KO mice. Therefore, ADIPOR1 in the retina appears to be indispensable for ELOVL2 induction, which is likely required in the retinal local lipid metabolism to supply sufficient DHA for appropriate photoreceptor function and survival.

研究分野：眼科学

キーワード：網膜色素変性症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病や臓器機能不全に由来する代謝異常は、糖尿病網膜症をはじめとする網膜の神経変性を引き起こすが、これらは不可逆的な変化であり現状治療法はない。網膜は脂質を多量に含有し、形態や光受容体という機能の維持には脂肪酸が必須であることが示唆されている。これら脂肪酸は食物由来であり、多くの臓器による代謝の過程を経て網膜に輸送されるが、肝臓や脂肪の疾患に端を発するような脂質代謝異常が網膜に与える影響を直接検討した研究は少なく、未だ不明な点が多い。また、遺伝子変異が原因と考えられる網膜色素変性症に関しても、原因遺伝子とされるものは複数あるがそのいくつかは網膜における機能を有していないことを示唆する知見が得られており、網膜以外の他の臓器異常による代謝動態の変化が網膜変性を引き起こす可能性が考えられている。

2. 研究の目的

本研究では全身の代謝異常に起因する網膜変性の発症機構に関して、組織間を仲介する遠隔メッセージ物質として脂質に着目し、全身性の代謝異常による網膜神経変性を脂質が仲介する機構を明らかにすることを目的とした。同時に脂質代謝関連異常によって生じる網膜色素変性症の発症メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 全身に広く発現し、代謝制御に寄与するアディポネクチン1型受容体 (Adiponectin receptor 1 : Adipor1) は機能阻害によって網膜色素変性症を呈することが知られている。まずこのマウスの網膜変性の開始時期を詳細に解析するため、組織学的な解析を行った。

(2) 次に網膜変性発症初期の Adipor1 ノックアウトマウスの網膜および血清を用いてリポドミクス解析を行った。

(2) Adipor1 ノックアウトマウスにおいて脂質代謝関連遺伝子の発現を解析した。 *in vivo* で得られた結果をもとに、 *in vitro* における Adipor1 機能阻害において脂質代謝関連遺伝子の発現を解析した。

4. 研究成果

これまでに Adipor1 ノックアウトマウスでは全身性の代謝異常および網膜変性が報告されてきた。そこで Adipor1 ノックアウトマウスにおいて網膜変性以前から、各臓器で脂質の恒常性にどのような変化があるかを詳細に明らかにするため、まず網膜変性開始のタイミングを詳細に検討した。 Adipor1 ノックアウトマウスでは3週齢から視細胞死を伴う変性が確認され、顕著な視機能低下を認めた。さらに電子顕微鏡による観察によって網膜発達の初期である14日齢ですでに視細胞外節の顕著な変性を認めた(図1)。

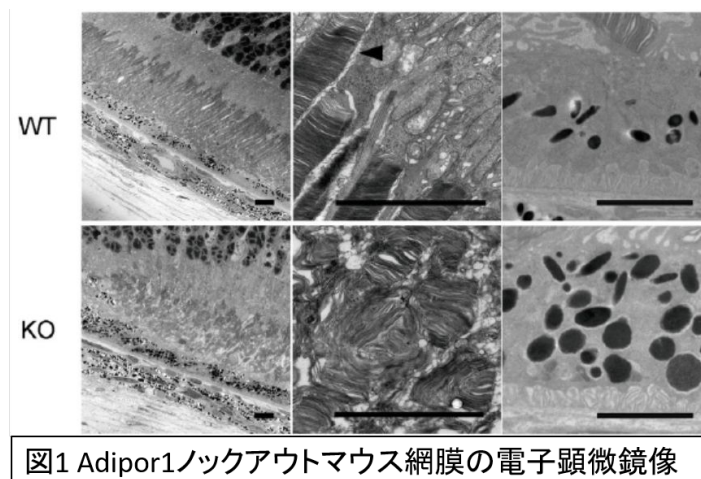


図1 Adipor1ノックアウトマウス網膜の電子顕微鏡像

そこで14日齢マウスの網膜および血液のリポドミクス解析を行った。しかしながら、血液中の脂肪酸の顕著な変化は認めなかった。一方で網膜では視細胞外節の形成に重要なドコサヘキサエン酸(DHA)を含有する脂質の著しい低下を認めた(図2)。DHA以外の脂肪酸を含む脂質の顕著な量的変化は認めなかった。そこで網膜におけるDHA減少の機構に関して詳細に検討すべく、2週齢マウス網膜における脂質合成関連遺伝子群の発現量を検討した。脂肪酸伸長酵素 Elovl2 の発現が低下していた(図3)。同時に、脂質合成に関与する多くの遺伝子群の発現が変化しており、Adipor1 ノックアウトマウス網膜における局所的な脂質動態の変化が示唆された。

in vitro においても Adipor1 機能阻害によって Elovl2 mRNA の発現低下と脂質合成遺伝子群の発現上昇が認められた。したがって、網膜の Adipor1 は視細胞の機能と生存のために十分な

DHA を供給するために必要と思われる Elovl2 の発現誘導に寄与しており、局所的な脂質代謝の変化によって網膜特異的な細胞変性を生じるというメカニズムが示唆された。

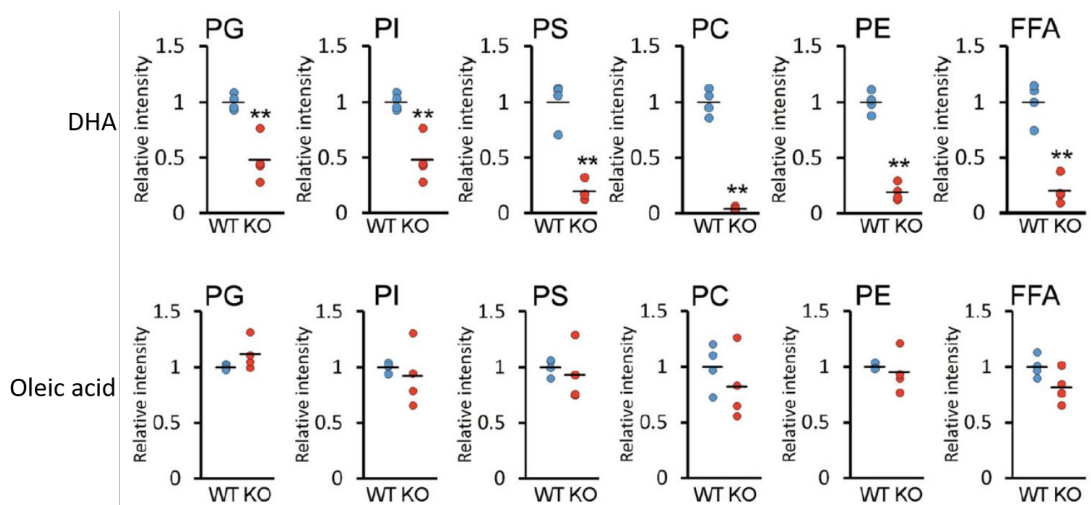


図2 Adipor1ノックアウトマウスでは網膜におけるDHA含有脂質が低下

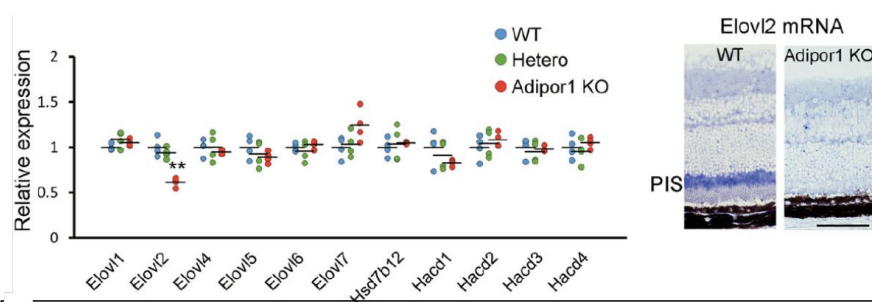


図3 Adipor1ノックアウトマウス網膜におけるElovl2の発現量が低下

・得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

本研究で得られた結果から推測される Adipor1 の機能は、既知の Adipor1 シグナリングとは異なるものであり、広く知られたアディポサイトカインであるアディポネクチンの新規の機能の存在を示唆するものである。網膜という神経組織における機能の解析は脳や他の神経系組織におけるアディポネクチンシグナル研究にも役立つような有意義なものであると考えられる。また、網膜色素変性症の原因遺伝子として近年ヒトにおいても報告された Adipor1 の機能欠損による網膜色素変性症のメカニズムを解析したことは臨床的にも有用な結果となると考えられる。

・今後の展望

本研究は特に網膜における Adipor1 の機能に着目し解析を行った。本研究から得られた知見により、網膜特異的な Adipor1 の機能の存在が示唆された。本研究では全身性の代謝変化との関連性を見出すことはできなかったものの、網膜変性を引き起こす新たなメカニズムとして Adipor1-Elovl2 との関連性を示すことができ、これらを介した新たな網膜色素変性症の発症メカニズムの解析が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Osada Hideto, Toda Eriko, Homma Kohei, Guzman Naymel A., Nagai Norihiro, Ogawa Mamoru, Negishi Kazuno, Arita Makoto, Tsubota Kazuo, Ozawa Yoko	4. 巻 12
2. 論文標題 ADIPOR1 deficiency-induced suppression of retinal ELOVL2 and docosahexaenoic acid levels during photoreceptor degeneration and visual loss	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Death & Disease	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41419-021-03741-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Homma Kohei, Toda Eriko, Osada Hideto, Nagai Norihiro, Era Takumi, Tsubota Kazuo, Okano Hideyuki, Ozawa Yoko	4. 巻 41
2. 論文標題 Taurine rescues mitochondria-related metabolic impairments in the patient-derived induced pluripotent stem cells and epithelial-mesenchymal transition in the retinal pigment epithelium	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Redox Biology	6. 最初と最後の頁 101921 ~ 101921
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.redox.2021.101921	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nagai Norihiro, Kawashima Hirohiko, Toda Eriko, Homma Kohei, Osada Hideto, Guzman Naymel A., Shibata Shinsuke, Uchiyama Yasuo, Okano Hideyuki, Tsubota Kazuo, Ozawa Yoko	4. 巻 3
2. 論文標題 Renin angiotensin system impairs macrophage lipid metabolism to promote age-related macular degeneration in mouse models	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-020-01483-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hirohiko Kawashima, Yoko Ozawa, Eriko Toda, Kohei Homma, Hideto Osada, Toshio Narimatsu, Norihiro Nagai, Kazuo Tsubota	4. 巻 34(4)
2. 論文標題 Neuroprotective and vision-protective effect of preserving ATP levels by AMPK activator.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 5016-5026
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.201902387RR	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hideto Osada, Hirohiko Kawashima, Eriko Toda, Kohei Homma, Mamoru Ogawa, Makoto Arita, Kazuo Tsubota, Yoko Ozawa
2. 発表標題 Retinal degeneration in adiponectin receptor 1 deficient mice
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------