

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18880

研究課題名(和文) リソソーム膜タンパクLAMP2の機能に着目した加齢黄斑変性の初期病態モデルの開発

研究課題名(英文) Role of LAMP2 in early pathogenesis of AMD: development of a new animal model

研究代表者

納富 昭司 (Notomi, Shoji)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：10836563

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)：網膜色素上皮細胞(RPE)は視細胞外節の老廃物を貪食するという重要な生理機能を持つ。RPEの老化現象として貪食の分解残渣を含むリポフスチンの蓄積が特徴的である。我々は老化に伴うリソソーム機能異常が初期加齢黄斑変性(AMD)で見られるRPE下沈着物形成に関与しているか検討した。AMD患者の眼組織標本でリソソーム膜タンパクLAMP2の発現が減少していること、LAMP2欠損マウスの眼ではRPE下沈着物や脂質蓄積などのAMD早期病変が生じること、LAMP2欠乏によってRPE細胞に鉄依存的な細胞死、フェロトーシスが生じることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢黄斑変性は我が国における高齢者の社会的失明原因として重要である。今回の研究で、加齢黄斑変性初期病変とオートファジーの関連を検討し、網膜色素上皮細胞におけるリソソーム膜タンパクLAMP2の重要性を明らかにすることで、新たな病態モデル動物を開発した。

研究成果の概要(英文)：Extracellular tissue debris accumulates with aging and in the most prevalent central-vision-threatening eye disorder, age-related macular degeneration (AMD). In this work, we discovered that lysosome-associated membrane protein-2 (LAMP2), a glycoprotein that plays a critical role in lysosomal biogenesis and maturation of autophagosomes/phagosomes, is preferentially expressed in the outermost, neuroepithelial layer of the retina, the retinal pigment epithelium (RPE), and contributes to the prevention of ultrastructural changes in extracellular basolaminar deposits including lipids and apolipoproteins. LAMP2 thus appears to play an important role in RPE biology, and its apparent decrease with aging and in AMD specimens suggests that its deficiency may accelerate the basolaminar deposit formation and RPE dysfunction seen in these conditions.

研究分野：眼科

キーワード：オートファジー リソソーム膜タンパク 加齢性神経変性

1．研究開始当初の背景

加齢黄斑変性（age-related macular degeneration: AMD）は網膜の中心部である黄斑部に変性が生じる疾患で、50歳以上の中高年における重要な視覚障害の原因である。初期病変として RPE の基底膜下にドルーゼンと呼ばれる脂質を含む老廃物の沈着が生じる。ドルーゼンの出現に伴い、網膜と脈絡膜の変性萎縮が進行し、後期 AMD になると脈絡膜血管新生が生じて網膜視細胞が障害される。近年、抗血管内皮細胞増殖因子薬の眼内投与により、脈絡膜新生血管を制御する治療が可能になったが、初期病変として見られるドルーゼンについては明確な介入治療はない。RPE は光受容を担う網膜視細胞の老廃物を貪食して分解するという役割を担っており、RPE のリソソーム機能は網膜の恒常性維持にとって重要と考えられる。我々は、加齢により減少するリソソーム膜タンパク LAMP2 に着目し、AMD における LAMP2 の役割を検討する研究計画を立てた。

2．研究の目的

本研究では、加齢による RPE の機能低下およびドルーゼン蓄積にオートファジーに重要なリソソーム膜タンパク Lysosomal associated membrane protein 2 (LAMP2) が関与しているかを検討する。LAMP2 は加齢によりその発現が減少することが示唆されているタンパクであるが網膜における加齢性変化および AMD 病態との関連は未知である。

3．研究の方法

- ・ AMD における LAMP2 発現解析

方法： ヒト正常眼および AMD の眼組織標本における LAMP2 の発現変化を免疫染色により評価する。

・ AMD 初期病態マウスモデルの評価

方法： LAMP2 欠損によりマウス眼の RPE 基底膜側にドルーゼン様の沈着物が生じるか検討する。AMD との相同性の観点からドルーゼンに含まれるリポタンパクやコレステロールなどが蓄積しているか、免疫組織化学等により検討する。

また高齢 LAMP2 欠損マウスの網膜の表現型や視機能を、眼科的検査機器を用いて解析する。具体的には、AMD の評価でも用いられる眼底自発蛍光撮影や光干渉断層計による生体での網膜厚解析、網膜電図による機能解析を行い、病態の相同性を検証する。

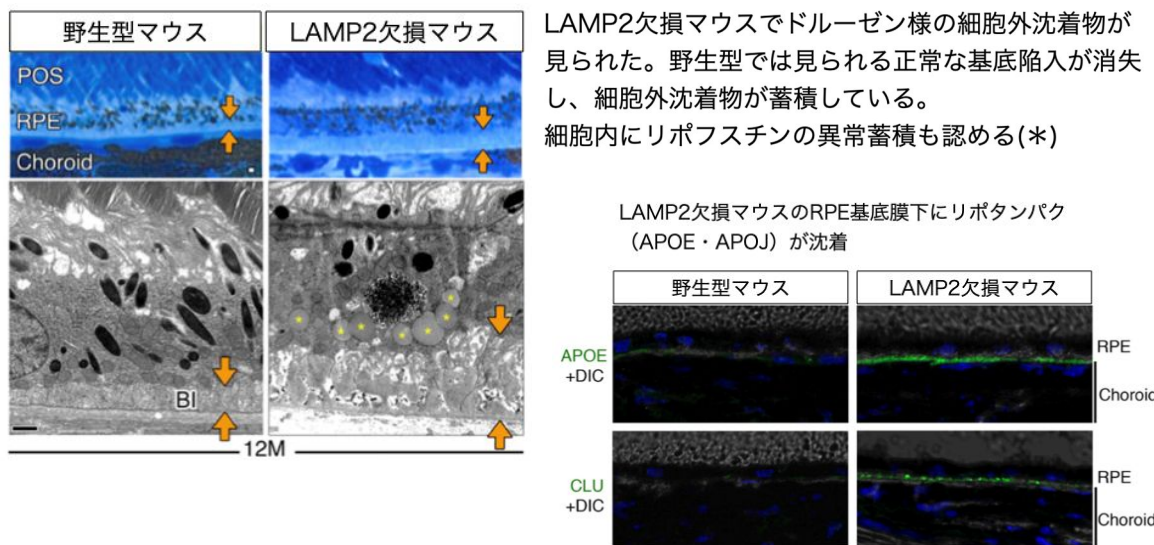
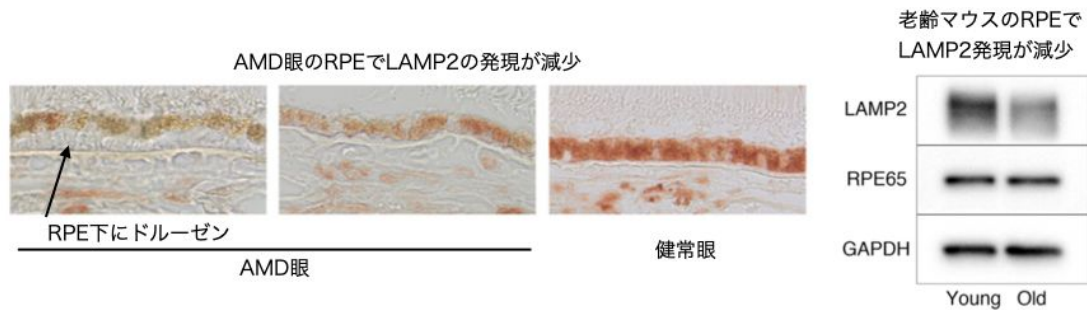
LAMP2 欠損マウス由来の RPE 初代培養を用いて *in vitro* でもドルーゼン様沈着物が生じるかを検討し、その分子メカニズムを解析する。

4 . 研究成果

今回の研究で我々は AMD 患者の眼組織標本でリソソーム膜タンパク LAMP2 の発現が減少していること、LAMP2 欠損マウスの眼では RPE 下沈着物や脂質蓄積などの AMD 早期病変が生じること、LAMP2 欠乏によって RPE 細胞に鉄依存的な細胞死、フェロトーシスが生じることを明らかにした。

我々は AMD におけるリソソーム機能の研究で下記の事項を明らかにした

- ・AMD患者の眼組織標本でリソソーム膜タンパク Lysosome-associated membrane protein 2 (LAMP2)の発現が減少していること
- ・LAMP2欠損マウスの眼ではRPE下沈着物や脂質蓄積などのAMD早期病変が生じること
- ・LAMP2欠乏によってRPE細胞に鉄依存的な細胞死、フェロトーシスが生じること



これらの結果より、我が国における高齢者の社会的失明原因として重要な眼疾患である

AMDの病態において、RPE細胞におけるリソソーム膜タンパク LAMP2の重要性を

発見し、新たな病態モデル動物を開発することができた。

参考文献

・ Notomi S, Vavvas DG et al. Genetic LAMP2 deficiency accelerates the age-associated formation of basal lamina deposits in the retina. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019; 116(47):23724-23734.

・ Lee JJ, Notomi S (3番目), Vavvas DG* et al. Lysosome-associated membrane protein-2 deficiency increases the risk of reactive oxygen species-induced ferroptosis in retinal pigment epithelial cells. Biochem Biophys Res Commun. 2020;521(2):414-419.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shoji Notomi, Demetrios G Vavvas	4. 巻 116(47)
2. 論文標題 Genetic LAMP2 Deficiency Accelerates the Age-Associated Formation of Basal Lamina Deposits in the Retina	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci U S A	6. 最初と最後の頁 23724-23734
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.1906643116.	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 該当する

1. 著者名 Lee JJ, Notomi S et al.	4. 巻 521
2. 論文標題 Lysosome-associated membrane protein-2 deficiency increases the risk of reactive oxygen species-induced ferroptosis in retinal pigment epithelial cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 414-419
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.10.138.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔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 納富 昭司
2. 発表標題 リソソーム膜タンパクLAMP2欠損マウスにおける色素上皮下沈着物の解析
3. 学会等名 第124回日本眼科学会総会
4. 発表年 2020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
---------	---------