

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09702

研究課題名（和文）加齢黄斑変性初期病態モデルにおける網羅的脂質代謝解析

研究課題名（英文）Lipidomic analysis in a mice model of early age-related macular degeneration

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）：加齢黄斑変性の初期病態として見られるbasal laminar depositを生じるLAMP2欠損マウスを用い、LC-MSを用いた網羅的脂質分析によって検討した。その結果、LAMP2欠損マウスでは、肝臓や網膜で遊離脂肪酸が増加する一方、トリグリセリドやリン脂質は減少することがわかった。高齢になるほどその傾向は顕著であった。また加齢黄斑変性の病態に重要な酸化ストレスに対する耐性についても検討したところ、野生型マウスではほとんど影響を及ぼさない低用量のヨウソ酸ナトリウムによる酸化ストレスでも、LAMP2欠損マウスでは明らかな網膜色素上皮細胞の変性をきたすことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの研究でLAMP2欠損マウスは加齢により加齢黄斑変性の特徴の一つであるドルーゼン様沈着物を呈することを報告していたが、今回の研究により、その病態には遊離脂肪酸とリン脂質の著明な変化が生じていることが明らかになった。遊離脂肪酸が上昇し、リン脂質が低下する現象はLAMP2欠損マウスにおけるエネルギー代謝異常が関与している可能性がある。また酸化ストレス忍容性の低下、炎症細胞浸潤も関与していることが明らかになった。これらの結果から、ドルーゼンなどの加齢黄斑変性の前駆病変、特に脂質老廃物が蓄積する病態における新たな分子機序を解明することができた。

研究成果の概要（英文）：LAMP2-deficient mice develop basal laminar deposits, which are the hallmark of early age-related macular degeneration. We conducted a comprehensive lipidomic analysis using LC-MS. The results revealed that in LAMP2-deficient mice, free fatty acids increased in the liver and retina, while triglycerides and phospholipids decreased. These trends were more pronounced with aging. Additionally, we examined the resistance to oxidative stress, which plays a crucial role in the pathology of age-related macular degeneration. Even with a low dose of sodium iodate, which have little impact on wild-type mice, caused significant degeneration of retinal pigment epithelial cells in LAMP2-deficient mice.

研究分野：眼科

キーワード：網膜 オートファジー リソソーム LAMP2 ダノン病 加齢黄斑変性 酸化ストレス 網羅的脂質分析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性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。初期病変として網膜色素上皮細胞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、後期加齢黄斑変性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かった。

これまでの我々の研究で加齢により減少するリソソーム膜タンパク LAMP2 を欠損したマウスでは、加齢黄斑変性の前駆病変で見られるドルーゼンに類似した老廃物が蓄積することがわかっていった。加齢黄斑変性は多因子疾患であり、その発症には遺伝的素因も関与する。近年のゲノムワイド関連解析で遺伝的リスク因子として補体関連遺伝子や脂質関連遺伝子が同定されていた。しかし、発症リスクとして最も有意な因子は加齢であり、どのような加齢のメカニズムによって、加齢黄斑変性で観察されるドルーゼンや網膜色素上皮細胞の変性が生じるのか、不明な点が多かった。

### 2. 研究の目的

加齢黄斑変性の前駆病変の病態を明らかにするために、リソソーム障害により前駆病変の一つであるドルーゼンに類似した病変を生じる LAMP2 欠損マウスを用いて、その病態の詳細を検討する。今回検討する因子として、加齢黄斑変性と関連の深い脂質代謝異常や酸化ストレスとの関係を検討することで、その病態の詳細を明らかにし、新たな治療標的探索を行うことが目的である。

### 3. 研究の方法

網羅的脂質分析 LAMP2 欠損マウスの肝臓、血漿、網膜組織を3ヶ月齢、6ヶ月齢で採取し、その脂肪酸組成を、液体クロマトグラフィー質量分析計により分析した。次に、LAMP2 欠損マウスにおける酸化ストレス耐性の変化を検討するため、網膜に酸化ストレスを誘導することができるヨウ素酸ナトリウムの静注モデルを用いて、実験を行った。3ヶ月齢の野生型マウスと LAMP2 欠損マウスにヨウ素酸ナトリウムの尾静注を行い、投与後 1, 3, 7 日後の網膜色素上皮細胞および網膜視細胞に変性が生じるか検討した。さらに網膜色素上皮細胞の変性に伴い、炎症細胞の増殖および浸潤が見られるかについてもフローサイトメトリーを用いて検討し、炎症性サイトカイン・ケモカインについては qPCR によって定量した。

### 4. 研究成果

その結果、LAMP2 欠損マウスでは、肝臓で遊離脂肪酸が増加する一方、トリグリセリドが減少することがわかった。6ヶ月齢になるとリン脂質の減少も観察された。網膜においても遊離脂肪酸が上昇しており、6ヶ月齢になると肝臓と同様にリン脂質の減少も観察された。一方で、血漿においてはトリグリセリド・リン脂質が減少しており、加齢に伴い、その傾向が強くなるのは、肝臓と網膜と同様であったが、遊離脂肪酸はむしろ顕著に低下していた。これらの変化は飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸、双方において生じていた。既報の LAMP2 欠損マウスにおける病態や考察を考

慮すると、これらの結果は LAMP2 欠損による全身的なオートファジー異常とエネルギー枯渇によって、遊離脂肪酸の需要が増加し、血漿における遊離脂肪酸が枯渇した結果ではないかと推察された。

また加齢黄斑変性の病態に重要な酸化ストレスに対する耐性についても検討したところ、野生型マウスではほとんど影響を及ぼさない低用量のヨウソ酸ナトリウムによる酸化ストレスでも、LAMP2 欠損マウスでは明らかな網膜色素上皮細胞の変性をきたすことが明らかになった。これらの結果は網膜ミクログリア増殖とマクロファージ浸潤、サイトカイン・ケモカイン増加を伴っていることがわかった。

これまでの研究で高齢の LAMP2 欠損マウスは加齢黄斑変性の特徴の一つであるドルーゼン様沈着物を生じることが報告されていたが、今回の研究により、その病態には遊離脂肪酸とリン脂質の顕著なアンバランスがあることが明らかになった。遊離脂肪酸が上昇し、リン脂質が低下する現象は LAMP2 欠損マウスにおけるエネルギー代謝異常が原因となっている可能性がある。また酸化ストレス忍容性の低下、炎症細胞浸潤も関与していることが明らかになったことにより、ドルーゼンなどの加齢黄斑変性前駆病変の病態における新たな分子機序を解明することができた。遊離脂肪酸とリン脂質のアンバランスおよび酸化ストレス耐性の低下というメカニズムは加齢によるオートファジー低下における加齢性眼疾患における潜在的な病態を明らかにし、今後の治療標的になると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Notomi Shoji, Shiose Satomi, Fukuda Yosuke, Mori Kenichiro, Hashimoto Sawako, Kano Kumiko, Ishikawa Keijiro, Sonoda Koh-Hei	4. 巻 66
2. 論文標題 Characteristics of Retinal Pigment Epithelium Elevations Preceding Exudative Age-Related Macular Degeneration in Japanese	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ophthalmic Research	6. 最初と最後の頁 108 ~ 115
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000526445	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 Fukuda Yosuke, Notomi Shoji, Shiose Satomi, Kano Kumiko, Hashimoto Sawako, Fujiwara Kohta, Akiyama Masato, Ishikawa Keijiro, Hisatomi Toshio, Sonoda Koh-Hei	4. 巻 12
2. 論文標題 Differences in Central and Peripheral Choroidal Thickness among the Subtypes of Age-Related Macular Degeneration in an Asian Population	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 5364 ~ 5364
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm12165364	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 Fukuda Yosuke, Notomi Shoji, Shiose Satomi, Maehara Yusuke, Kiyohara Kohei, Hashimoto Sawako, Kano Kumiko, Ishikawa Keijiro, Hisatomi Toshio, Sonoda Koh-Hei	4. 巻 13
2. 論文標題 Wide-Field Choroidal Thickness Analysis after Half-Fluence Photodynamic Therapy Combined with Intravitreal Aflibercept Injection in Pachychoroid Neovascularopathy	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 1608 ~ 1608
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm13061608	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 呉冠男, 納富昭司, 徐梓茗, 福田洋輔, 前原裕亮, 陶妍, 趙寰宇, 村上祐介, 園田康平
2. 発表標題 LAMP2欠損は酸化ストレス誘発性RPE変性における感受性の増加をもたらす
3. 学会等名 第128回日本眼科学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Guannan Wu, Shoji Notomi, Ziming Xu, Yosuke Fukuda, Yusuke Maehara, Yan Tao, Huanyu Zhao, Yusuke Murakami, Koh-Hei Sonoda
2. 発表標題 LAMP2 Deficiency Enhances Susceptibility to Oxidative-Stress-Induced RPE Degeneration
3. 学会等名 The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual Meeting 2024
4. 発表年 2024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
研究分担者	石川 桂二郎 (Ishikawa Keijiro)  (00795304)	九州大学・医学研究院・助教  (17102)	
研究分担者	園田 康平 (Sonoda Koh-Hei)  (10294943)	九州大学・医学研究院・教授  (17102)	
研究分担者	中間 崇仁 (Nakama Takahito)  (30827556)	九州大学・医学研究院・共同研究員  (17102)	
研究分担者	武田 篤信 (Takeda Atsunobu)  (40560313)	九州大学・医学研究院・講師  (17102)	
研究分担者	久富 智朗 (Hisatomi Toshio)  (50404033)	福岡大学・医学部・准教授  (37111)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	村上 祐介  (Murakami Yusuke)  (50634995)	九州大学・大学病院・講師    (17102)	
研究分担者	長谷川 英一  (Hasegawa Eiichi)  (70636521)	九州大学・大学病院・助教    (17102)	

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