

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 (共通)

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16535

研究課題名（和文）AIMによる新規アルツハイマー病治療法開発に向けた基盤研究

研究課題名（英文）AIM/CD5L attenuates Amyloid beta at the Alzheimer's disease and prevents dementia

研究代表者

前原 奈都美（Maehara, Natsumi）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・助教

研究者番号：90783621

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）：アルツハイマー病は、認知症の原因の大半を占める疾患である。本研究では、AIMの『セルフパソジェン』除去作用に着目し、アルツハイマー病の原因であるアミロイドベータ（脳内のセルフパソジェン）がAIMによって除去されるかを検証した。アルツハイマー病のモデルマウスである5xFADマウスにおいて、アデノ随伴ウイルスベクターや、脳内においてAIMを強発現するトランスジェニックマウスを用いた実験から、AIMの存在下において、アミロイドベータの蓄積が減弱することを認めた。現在、同様の実験系において、認知機能（T迷路、バーンズ迷路、恐怖条件付け試験）のデータ解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知症は、個人および社会の負担が大きい疾患であり、アルツハイマー型認知症はその大半を占める。高齢化社会の加速により、今後の患者数増大が見込まれるが、未だ効果的な治療法は確立されていない。本研究結果から、生体由来のタンパク質であるAIMによる、副作用の少ない新規アルツハイマー治療法の開発基盤となりうる点において、社会的意義があると考ええる。また、これまで腎不全や肝細胞がん、腹膜炎などにおいて、セルフパソジェンの除去作用をもち、病態を改善させることが知られてきたAIMが、脳内においても同様の作用を持つことを明らかにした点において、学術的意義があると考ええる。

研究成果の概要（英文）：Amyloid-beta plaque, responsible for Alzheimer's disease along with tau-tangle, causes cognitive decline by inducing neurological cell death and inflammation. Recently, many studies focusing on Amyloid-beta accumulation have been conducted, however, any effective therapeutic application has not been established. Here, we examined whether Apoptosis Inhibitor of Macrophage (AIM), also called CD5L, can enhance removal of the Amyloid-beta plaque, which is the "self-pathogen" in brain. In 5xFAD mice, a mouse model of Alzheimer's disease, the accumulation of Amyloid-beta was suppressed by forced expression of AIM in brain by various techniques such like Adeno-associated virus (AAV) as well the transgenic mice that overexpress AIM in their brain. To determine whether this preventive function of AIM against plaque formation can suppress the cognitive decline in 5xFAD mice, we are trying to analyze the recognition function in the presence or absence of AIM in brain.

研究分野：病態医科学

キーワード：アルツハイマー病 アミロイドベータ AIM CD5L セルフパソジェン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会の中で、認知症患者数は増加し続けている疾患の一つであり、個々人の生活の質を低下させ、医療費などの社会的負担を増加させることから、その効果的な治療法の確立が望まれている。認知症の原因の大半を占めるのは、アルツハイマー病である。アルツハイマー病患者の脳では、老人斑という特別な病理像が認められる。老人斑は、アミロイドベータによって構成されており、神経細胞表面上に発現しているアミロイド前駆タンパク質 (Amyloid precursor protein ; APP) が、 α -および γ -セクレターゼにより切断されることで生じる。特に、42 番目のアミノ酸までで切断されたアミロイドベータ 42 は、重合体を形成しやすく、プラーク (老人斑) を形成する。アミロイドベータやそのプラークは、神経ネットワークの遮断や炎症の惹起による神経細胞死を引き起こし、認知機能の低下をきたす。以上のように、アルツハイマー病は、アミロイドベータという脳内の『セルフパソジェン』の蓄積が原因で発症する疾患である。現在、世界各国の研究機関が、アミロイドベータの中和や除去、プラーク形成の抑制を目指した治療法の開発に取り組んでいるが、未だ効果的な治療法は確立されていない。

近年の報告から、Apoptosis Inhibitor of Macrophage (AIM) による、死細胞やそのデブリ等、自己由来の不要物質である『セルフパソジェン』を除去する機能が注目されてきた。AIM はマクロファージ特異的な分泌型タンパク質であり、血中においては IgM 五量体と結合し、人間では男性平均 4.99 $\mu\text{g/ml}$ 、女性平均 6.03 $\mu\text{g/ml}$ 、マウスでは約 3 $\mu\text{g/ml}$ と、比較的高濃度で存在する。

AIM は『セルフパソジェン』の蓄積によって生じる様々な疾患の治療に関わることが報告されている。例えば、腎不全時に尿細管管腔内に生じる、または腹膜炎病態において蓄積する死細胞塊の除去促進が挙げられる (図 1)。

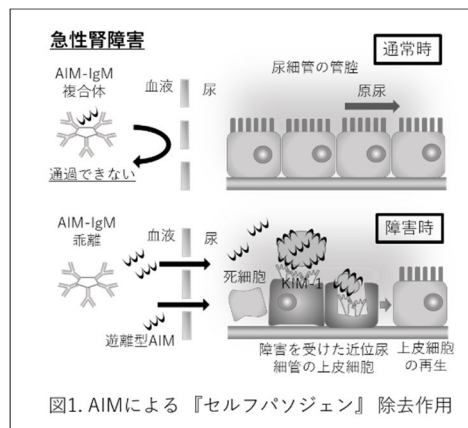


図1. AIMによる『セルフパソジェン』除去作用

2. 研究の目的

本研究の目的は、AIM の『セルフパソジェン』除去作用に着目し、アルツハイマー病の原因であるアミロイドベータ (脳内のセルフパソジェン) が AIM によって除去されるかを検証し、アルツハイマー病の予防・治療法の開発基盤となる知見を得ることである (図 2)。

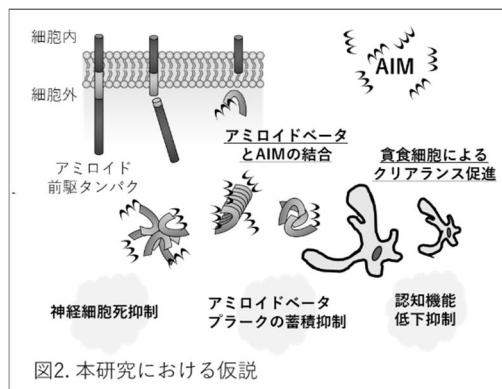


図2. 本研究における仮説

3. 研究の方法

1. アミロイドベータ蓄積時における AIM の発現

成体野生型マウスの *in situ* ハイブリダイゼーション法や免疫組織化学法により、成体野生型マウス及び 5xFAD マウスの脳を、生後 8 週齢、6 か月齢において解析した。

2. AIM によるアミロイドベータ除去

脳内における貪食細胞であるミクログリアを用い、リコンビナント AIM (rAIM) 添加の有無による、アミロイドベータモノマー、オリゴマーに対する貪食能への影響を検証した。

本実験に用いたミクログリアは、生後 1~3 日齢の AIM 欠損 (AIM KO) マウスの脳を採材し、トリプシン処理ののち、21 日間培養し、実験に用いた。

3. *in vivo* における AIM を介したアミロイドベータ除去作用の検証

脳内において高発現する PDGFB プロモーター下流において AIM を発現する PDGFB-AIM マウスと 5xFAD を交配した。6 か月齢の時点において、5xFAD マウスと PDGFB-mAIM/5xFAD マウスの脳組織切片を用いた免疫組織化学法により、アミロイドベータプラーク蓄積量を解析した。

4. AAV ベクターを用いた脳内 AIM 発現による Amyloid beta 除去作用の検証

アデノ随伴ウイルス (AAV5) ベクターを用い、5xFAD マウス脳内において、生後 10 週齢から AIM を過剰発現させ、15 週間後において、3-1. アミロイドベータ蓄積量、3-2. 認知機能の変化について解析した。

4-1. アミロイドベータ蓄積量の解析

AAV5-none/mAIM 投与 15 週間後、脳組織を採材した。採材した脳組織は、qPCR 法を用いた AIM

の発現解析、および免疫組織化学法 (AIM、アミロイドベータ) や定量的 PCR 法 (炎症マーカー) によって解析した。その結果、AAV5-none と比較して、AAV5-mAIM 投与群において、AIM の発現を認め、アミロイドベータの蓄積が減弱することを示した。

4-2. 認知機能の解析

AAV5-none/mAIM 投与 15 週間後より、T 迷路、バーンズ迷路、恐怖条件付け試験を組み合わせ、解析した。

5. AIM を用いた新規アルツハイマー治療法開発

脳血液関門が崩壊していると考えられる生後 52 週齢の 5xFAD マウスに対し、リコンビナント AIM (rAIM) を投与し、脳内に rAIM が到達するかを検証した。rAIM 投与 1 時間後に脳組織を採材し、免疫組織化学法 (AIM) により解析した。

4. 研究成果

1. アミロイドベータ蓄積時における AIM の発現

成体野生型マウスの脳組織を用いた *in situ* ハイブリダイゼーション法により、AIM は発現していないことが明らかになった。また、免疫組織化学法による解析の結果、6 カ月齢の 5xFAD マウスの脳においても、AIM タンパクの顕著な増加は認められなかった。

2. AIM によるアミロイドベータ除去メカニズムの解明

リコンビナント AIM (rAIM) 添加の有無による、アミロイドベータオリゴマーに対する貪食能への影響を、フローサイトメトリー法を用いて解析した。その結果、アミロイドベータオリゴマーに rAIM を添加することで、ミクログリアによる貪食が促進されることを明らかにした。

3. AIM を介したアミロイドベータ除去作用による治療効果の検証

生後 6 カ月齢の時点において、5xFAD マウスと PDGFB-mAIM/5xFAD マウスの脳組織切片を用いた免疫組織化学法により、アミロイドベータプラーク蓄積量を解析した。その結果、PDGFB-mAIM/5xFAD において、アミロイドベータプラークの蓄積量が減少することを認めた。

4. AIM を介した Amyloid beta 除去作用による治療効果の検証

アデノ随伴ウイルス (AAV5) ベクターを用い、5xFAD マウス脳内において、生後 10 週齢から AIM を過剰発現させ、15 週間後における 1-1. アミロイドベータ蓄積量、1-2. 認知機能の変化について解析した。

4-1. アミロイドベータ蓄積量の解析: AAV5-none/mAIM 投与 15 週間後の脳組織を qPCR 法および免疫組織化学法 (AIM、アミロイドベータ) によって解析した。その結果、AAV5-none と比較して、AAV5-mAIM 投与群において、AIM の発現を認め、アミロイドベータの蓄積が減弱することを示した。

4-2. 認知機能の解析: AAV5-none/mAIM 投与 15 週間後より行った、T 迷路、バーンズ迷路、恐怖条件付け試験については、現在解析中である。

5. AIM を用いた新規アルツハイマー治療法開発

脳血液関門が崩壊していると考えられる生後 52 週齢の 5xFAD マウスに対し、リコンビナント AIM (rAIM) を投与し、脳内に rAIM が到達するかを検証した。rAIM 投与 1 時間後に脳組織を採材し、免疫組織化学法 (AIM) により解析した結果、投与した AIM の脳内への到達は認められなかった。この結果より、AIM タンパクを末梢から脳内へ移行させるためには、受容体介在性トランスサイトーシスの応用や、高分子ミセル技術などを用いた、脳血液関門を通過させることのできる DDS 技術を取り入れる必要があると考える。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------