

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03446

研究課題名（和文）食細胞機構を用いた視機能劣化（アイフレイル）および眼疾患の制御

研究課題名（英文）Regulation of visual deterioration and ocular diseases using phagocytic mechanisms

研究代表者

新井 郷子（Arai, Satoko）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・准教授

研究者番号：60422276

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：血中タンパク質AIMは、死細胞デブリやDAMPsに結合し、マクロファージ等の貪食細胞に認識されることでこれら標的の貪食除去に寄与し、組織修復を促進する。本研究では、AIMの不要物除去機能の眼の恒常性維持への寄与を検討した。マウスにおけるレーザー虹彩切開術にて一過性に眼圧を上昇させたところ、野生型マウスでは、房水内に発生した虹彩色素上皮細胞のデブリが時間経過とともに除去され、眼圧は一過的に上昇した後回復するのに対し、AIM欠損マウスでは、眼圧が高いまま維持された。このことから、AIMは生理的に眼内に発生するデブリ等の不要物除去に貢献し、眼の恒常性維持に寄与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、AIMによる不要物除去促進機構の眼の恒常性維持における重要性を示すことができた。国内外を問わず、社会の高齢化が進み、眼は機能劣化が最も顕著に表出する器官として、医療的ニーズが高まっている。視力の維持は生活のクオリティにも直結するため、視機能を維持するための眼の恒常性維持機構の解明は今後の医療応用開発にも大きく貢献するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Blood protein AIM binds to dead cell debris and is recognized by phagocytic cells such as macrophages, thereby contributing to phagocytic removal of these targets and promoting tissue repair. In this study, we investigated the contribution of this function to the maintenance of ocular homeostasis. When intraocular pressure was transiently elevated by laser iridotomy in mice, debris of iris pigment epithelial cells generated in the aqueous humor was removed over time in wild-type mice, and the intraocular pressure recovered after a transient increase, whereas the intraocular pressure remained high in AIM-deficient mice. This suggests that AIM contributes to the removal of debris that occur physiologically in the eye, thereby contributing to the maintenance of ocular homeostasis.

研究分野：疾患生命科学

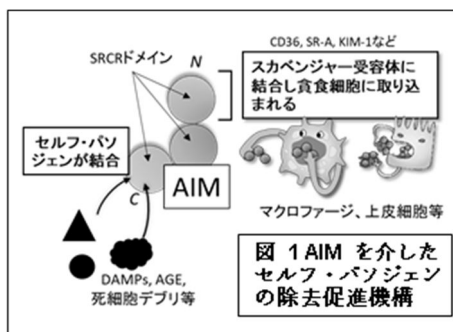
キーワード：アイフレイル 食細胞機構 AIM

1. 研究開始当初の背景

生体の各組織では日々の生命活動に伴い常時様々な自己由来の不要物が発生するが、一方でそれらを除去する食細胞機構が存在することで、組織・臓器・生体レベルでの恒常性が維持されている。本研究では、不要物の蓄積が元となり老化に伴う様々な病的症状を呈する代表的な器官として「眼」に着目し、眼球における食細胞機構の重要性と、その破綻が眼疾患に結びつく機序を明らかにする。その際、死細胞やそのデブリ等、生体内に発生する様々な不要物を吸着し食細胞によるそれらの除去を促す分子である血中タンパク質 Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM)の関りを明らかにし、食細胞機構を基軸としたアイフレイル(目の老化)および眼疾患の進行メカニズムを解明し、それらの制御へと発展させることを目的とする。

2. 研究の目的

AIMは、複数のシステイン残基を含有する scavenger receptor cysteine-rich (SRCR)ドメインが3つ連結した構造を持つ、約40 kDaの分泌型タンパク質である(図1)。肝臓や腹腔等、特定の組織組織マクロファージから産生・分泌され、通常血中では免疫グロブリン M (immunoglobulin M; IgM)に結合して安定化し、ヒト・マウスにおいて血清濃度約5 µg/mLで血液を循環している。我々は、AIMが、C末端のドメインの正電荷領域を介して死細胞やそのデブリ、死細胞から放出される damage-associated molecular patterns (DAMPs)等の自己由来の炎症性物質(ここではセルフ・パソジェンとよぶ)に結合し、自らがN末端のドメインを介してCD36やkidney injury molecule-1 (KIM-1)といったスカベンジャー受容体に認識され食細胞に取り込まれること



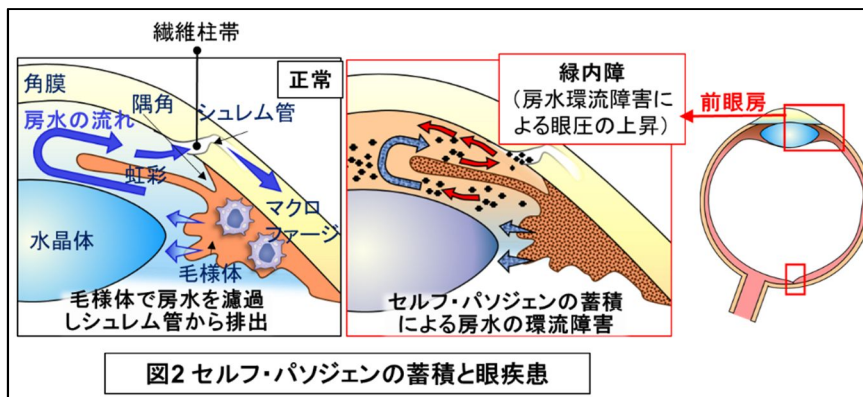
ことで、これらのセルフ・パソジェンの除去を促進する機能を有することを示した。このAIMによるセルフ・パソジェン除去機能が病態改善という面で最も発揮される代表的な疾患としては急性腎障害 (acute kidney injury; AKI) が挙げられるが、最近ではAKIだけでなく真菌性腹膜炎や脳梗塞等、様々な組織・臓器においてもセルフ・パソジェンの除去を介して疾患治癒に寄与することが示されており、AIMが末梢組織の恒常性維持に重要であることが示唆されている。

本研究の目的は、高齢化に伴い、機能劣化が顕著な器官である目について、その老化症状や種々の眼疾患を「食細胞機構の破綻」という視点でとらえ、病態の発症・進行メカニズムを明らかにすることである。AIMのセルフ・パソジェン除去機能は、上述のように、特定の組織や臓器に依らないため、アイフレイルや種々の眼疾患においても生理的に関与している可能性があるとともに、治療的なアプローチも期待できる。緑内障をはじめとした眼疾患の多くは病態メカニズムが未解明であり、そのため根本的な治療法がなく対症療法に留まっており、予防・治療法の開発に対する社会的なニーズが非常に大きいことから、本研究で得られる医学的知見は有用性が大きいと考えられる。

3. 研究の方法

高齢化に伴う代表的な眼疾患は緑内障、白内障、加齢性黄斑変性症であり、各病態において眼組織における不要物の除去は病態抑制に重要であると考えられる。実際に、前眼房の房水の排出を担う線維柱帯は、房水に含まれる老廃物の除去を担っており、その変性は眼圧の上昇に繋がることから、緑内障の原因と成り得る。房水は、血管を持たない角膜や水晶体、硝子体へ栄養分や酸素を供給するためのリンパ液であり、毛様体の血管から滲出され、シュレム管から外部へ流出する(図2)。老化をはじめとした何らかの原因で食細胞機構が劣化し、房水にセルフ・パソジェンが蓄積すると房水環流障害を引き起こすことが考えられる。

そこで、本研究では、眼内における繊維柱帯細胞による房水中の不要物の除去にAIMが生理的に関与する



るかについて、下記の方法で検討を行った。

(1) in vitro における線維柱帯細胞の貪食能の検討

ヒト線維柱帯細胞を初代培養系にて樹立し、デブリの貪食能を検討した。

(2) 眼組織における AIM の局在の確認

野生型マウスの眼組織について、抗 AIM 抗体を用いて AIM の局在を確認した。

(3) レーザー虹彩切開術 (Laser iridotomy: LI) による眼圧上昇モデルマウスにおける AIM の役割の解析

マウスに一過性眼圧上昇モデルである LI を施術し、AIM の有無による眼圧の上昇への影響を検討した。

4. 研究成果

(1) in vitro における線維柱帯細胞の貪食能の検討

ヒト線維柱帯 (Trabecular meshwork; TM) 細胞を初代培養系にて樹立した。TM 細胞が虹彩色素上皮 (iris pigment epithelium; IPE) 細胞のデブリの貪食能を有するかどうか、そして、組換え AIM タンパク質 (recombinant AIM; rAIM) の添加が TM 細胞のデブリの貪食に影響するかを共焦点顕微鏡による観察で確認した。その結果、デブリを貪食した TM 細胞の割合は時間の経過とともに増加し、TM 細胞はデブリ貪食能を有することが示された。さらに、rAIM を添加した群では貪食細胞の割合が増加し、貪食されるデブリのサイズも大きくなる傾向が見られた。AIM とデブリの共局在が観察されたことから、AIM はデブリの表面に結合してヒト TM 細胞の貪食を促進すると考えられた。

(2) 眼組織における AIM の局在の確認

野生型およびコントロールとして AIM 欠損マウスの眼球の組織切片を作製し、AIM および成熟マクロファージとミクログリアのマーカーである F4/80 の抗体を用いて蛍光免疫染色を行った。AIM は毛細血管、TM、網膜に局在していることが観察された。TM の AIM は F4/80 の局在と一致しており、常在マクロファージが産生する AIM が観察されたものと考えられた。これらのことから、AIM が生理的に眼の恒常性維持に AIM が生理的に関与していることが示唆された。

(3) レーザー虹彩切開術 (Laser iridotomy: LI) による眼圧上昇モデルマウスにおける AIM の役割の解析

LI は、マウスの眼の虹彩の周辺領域にレーザーを照射することで、虹彩色素上皮 (iris pigment epithelial; IPE) 細胞のデブリを生じさせ、一過的に眼圧を上昇させる病態モデルである。野生型マウスと AIM 欠損マウスに LI を施術し、経時的に眼圧の測定を行った。野生型マウスは、LI 後 1 時間で眼圧が上昇し、3 時間後には回復した。一方で、AIM 欠損マウスでは LI 後、3 時間、6 時間ともに眼圧上昇が持続し、野生型マウスと比較して回復が有意に遅延した。このことから、内因性の AIM が LI によって生じたデブリの TM による除去を促進していることが示唆された。さらに、これらの組織において、IPE 細胞などの上皮細胞に特異的なマーカータンパク質である汎サイトケラチンに対する抗体を用いてその局在を LI 前と後の眼組織で確認することで、LI により前房内に放出された IPE 細胞の貪食除去の時間経過を野生型マウスと AIM 欠損マウスで比較検討を行った。野生型マウスでは、LI 後に、汎サイトケラチンのシグナルの TM への集積が認められ、6 時間後に消失した。また、サイトケラチンと内因性 AIM の共局在が認められた。一方で、AIM 欠損マウスでは、6 時間後でもそのシグナルが残存しており、12 時間後に消失するという顕著な除去遅延が認められた。

このことから、内因性の AIM は LI によって生じたデブリに結合し、TM による貪食除去を促進することで、眼圧の上昇の回復に寄与するが、AIM を欠損する場合はその機構がはたらかず、眼圧の上昇が回復しないことが示唆された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Maehara N, Taniguchi K, Okuno A, Ando H, Hirota A, Li Z, Wang CT, Arai S, Miyazaki T.	4. 巻 36
2. 論文標題 AIM/CD5L attenuates DAMPs in the injured brain and thereby ameliorates ischemic stroke.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 109693
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.109693	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 Wang CT, Tezuka T, Takeda N, Araki K, Arai S, Miyazaki T.	4. 巻 16
2. 論文標題 High salt exacerbates acute kidney injury by disturbing the activation of CD5L/apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) protein.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0260449
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0260449	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 Matsuura Kyohei, Maehara Natsumi, Hirota Aika, Eguchi Ayaka, Yasuda Keisuke, Taniguchi Kaori, Nishijima Akemi, Matsunashi Nobuyuki, Shiga Yoshiyuki, Ishii Rumi, Iguchi Yasuhiro, Tanabe Kazunari, Arai Satoko, Miyazaki Toru	4. 巻 5
2. 論文標題 Two independent modes of kidney stone suppression achieved by AIM/CD5L and KIM-1	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03750-w	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6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 根本 穂高, 本庄 恵, 新井 郷子, 宮崎 徹, 相原 一
2. 発表標題 Apoptosis inhibitor of macrophage(AIM)の線維柱帯細胞貪食能への関与
3. 学会等名 第126回日本眼科学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前原奈都美, 谷口香織, 新井郷子, 宮崎徹
2. 発表標題 AIM/CD5LによるDAMPsの除去を介した脳梗塞の病態改善
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ching Ting Wang, 手塚哲史, 竹田直樹, 荒木喜美, 新井郷子, 宮崎徹
2. 発表標題 高塩負荷は血中タンパク質AIM/CD5Lの活性化を妨げることにより急性腎障害を悪化させる
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 新井郷子
2. 発表標題 マクロファージ由来タンパク質AIMのセルフ・パソジェン除去機能を介した炎症収束～急性腎障害から脳梗塞まで～
3. 学会等名 千葉大学リーディング研究育成プログラム「希少・難治性疾患に対する革新的治療創生研究シンポジウム」(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 新井郷子
2. 発表標題 A role of the phagocytic removal system in resolution of inflammation and its therapeutic implication
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 新井 郷子
2. 発表標題 血中タンパク質AIMを用いた難治性慢性疾患に対する治療的・診断的応用
3. 学会等名 日本生理学会 第100回記念大会
4. 発表年 2023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	相原 一 (AIHARA MAKOTO) (80222462)	東京大学・医学部附属病院・教授 (12601)	

	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
研究協力者	根本 穂高 (NEMOTO HOTAKA)	東京大学・医学部附属病院 (12601)	
研究協力者	本庄 恵 (HONJO MEGUMI)	東京大学・医学部附属病院・准教授 (12601)	
研究協力者	宮崎 徹 (MIYAZAKI TORU)		

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
---------	---------