

論文の内容の要旨

論文題目 血中タンパク質 AIM の活性化機構に基づく新規診断薬および治療薬の創出

氏名 山崎 智子

当研究室で、その発見から機能解析まで 20 年に渡り研究を続けている血中タンパク質 AIM は、クッパー細胞をはじめとする組織マクロファージにより産生される分泌型タンパク質で、システインを豊富に含む約 100 アミノ酸からなる scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) ドメインが 3 つ連なった構造をしている。最近、AIM は、過剰な脂質、癌細胞、死細胞など生体にとっての異物・不要物の除去を促進することによって、肥満、脂肪肝、肝癌、急性腎障害、真菌性腹膜炎など様々な疾患の早期治癒を促すことが次々と明らかになってきた。また、組換え AIM タンパク質 (rAIM) を投与することによって、これらの疾患の治療を行うことができることも疾患モデルマウスを用い示してきた。興味深いことに、健常時は、AIM は IgM 五量体に結合し、不活性型として高濃度 (約 5 $\mu\text{g/ml}$) で血中に存在するが、特定の疾患時には、AIM が IgM 五量体から解離し、『活性型 AIM』となり AIM の持つ疾患抑制効果を発揮することが分かっている。

当研究室の最終目標は、このような AIM の疾患制御効果を基盤とした、様々な難治性疾患に対する新規治療法を開発することである。私は、この目標に向け、博士課程期間に、(1) 血中へ投与した AIM や IgM 五量体から解離した活性型 AIM の血中動態・代謝制御、(2) NASH 肝癌患者における特異的な AIM の活性化の解明と、その疾患バイオマーカーとしての臨床応用可能性の探求、そして、私自身の博士課程の総括的な研究として、(3) IgM に結合した不活性型 AIM を IgM 五量体から解離させ活性化する低分子化合物 (= AIM 活性化剤) の探索、の三つの研究を遂行した。以下にそれらの概要を記載する。

(1) AIM の血中代謝様式 (p46-) : IgM 五量体と結合していない AIM は、血中において何らかのプロテアーゼにより速やかに切断され、全長 AIM よりも 88 アミノ酸短い short AIM (sAIM) になることを明らかにした。健常時では、全長 AIM が尿中へ排泄されることはないが、プロテアーゼにより AIM が切断され sAIM になると、尿中へ選択的に排泄されることが分かった。また、sAIM は全長 AIM と異なり IgM 五量体への結合能を失っている一方で、sAIM は、尿細管管腔を閉塞させる死細胞に付着し、KIM-1 と介してそれらを近位尿細管上皮細胞に貪食・除去させる、という一連の腎障害の治癒メカニズムを推進することも明らかにし、sAIM は急性腎障害の治療剤として臨床応用できる可能性を示した。

(2) NASH 肝癌患者における AIM 活性化の発見とその臨床的意義 (p72-) : これまで AIM の IgM 五量体からの解離・活性化は急性腎障害時に特徴的に起こる事を明らかにしていたが、私は、こうした AIM の活性化が特異的な肝疾患においても生じることを、ヒ

ト患者血清の解析によって明らかにした。興味深いことに、肥満に起因する非アルコール性脂肪肝性疾患 (NAFLD) の中で、単純性脂肪肝 (NAFL) および脂肪性肝炎

(NASH) 患者は健常人と同じくほとんど AIM の活性化は認められなかったが、NASH 肝臓患者において、血中で AIM の活性化が顕著に起きていた。そこで、活性化 AIM 値の新規 NASH 肝臓診断マーカーとしての可能性を検討したところ、Cut off 値 1.6 $\mu\text{g/ml}$ では感度 88.5 %、特異度 86.4 %と、既存のウイルス性肝臓診断マーカーである DCP や AFP よりも優れた診断能を示し、これまで優れた診断マーカーが存在しなかった NASH 肝臓の新しいバイオマーカーとなり得る可能性が高く、現在すでに工業化を進めている。

(3) AIM 活性化低分子化合物の探索 (p92): rAIM タンパク質の投与が急性腎障害を始めとする様々な疾患に対する新たな治療戦略として有望である一方で、我々の血中には常時高濃度 (約 5 $\mu\text{g/ml}$) の AIM が IgM 五量体と結合し不活性型としてストックされている。私はこのことに着目し、IgM 五量体から AIM を効率よく解離させ、活性化させることによって、rAIM タンパク質の投与と同等の治療効果を得られるような、低分子化合物の開発を推進した。活性型ヒト AIM のみを認識する抗体を新たに作成し、その抗体を用いて Homogeneous Time Resolved Fluorescence (HTRF) 法による高速大量スクリーニング (High Throughput Screening; HTS) 系を構築した。これは、ヒト血清から単離した IgM-AIM complex と低分子化合物を反応させ、低分子化合物が AIM を活性化した場合のみ、抗体が活性型 AIM を認識し、抗体間で蛍光共鳴エネルギー転移が起き、AIM の活性化を検出ができる仕組みである。この系を用い、本学創薬機構の有する約 20 万個の低分子化合物をスクリーニングし、AIM 活性化能を持つ低分子化合物として、約 9000 個の候補化合物を得ることができた。今後は、これらの候補化合物の中から、AIM 活性化能の高い化合物をさらに絞り込み、確定ヒット化合物を得たいと考えている。

以上の様に、私は AIM を用いた治療法の基盤となる上記の研究に取り組み、(1) AIM の血中代謝動態を解明し、(2) ヒトの疾患時における AIM 活性化の新規知見として、NASH 肝臓患者における AIM の活性化の発見、及びその新規 NASH 肝臓診断マーカーとしての可能性を示し、(3) AIM 活性化能を持つ低分子化合物の探索を推進した。これらに加え、修士課程から携わってきた様々な臨床研究及び基礎研究の成果は、全て、AIM 活性化機構に基づく新規治療法の開発という大きな“海”に向かうものであった。今後、AIM 活性化機構を基盤とする治療法の実現に向け、候補低分子化合物の絞り込みやリード化合物の最適化、治療効果の証明、安全性の確認など、乗り越えるべき課題は多いが、課題を克服した暁には、様々な疾患に対する新規治療法として多くの人へ貢献するものとなることが強く期待される。