

肝癌抑制タンパク質AIMの活性化機構解明とそのNASH肝癌に対する臨床応用

Elucidation of the mechanism required for AIM activation, and its therapeutic application to NASH-induced hepatocellular carcinoma

課題番号：16H06389

宮崎 徹 (MIYAZAKI, TORU)

東京大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要（4行以内）

血中タンパク質 AIM は IgM 五量体に結合して不活性化されているが、解離して活性型となると NASH 肝癌抑制効果を発揮する。本研究では IgM から AIM を解離させる活性化メカニズムを明らかにし、内在性 AIM の活性化による NASH 肝癌治療を目指すと共に、血中の活性型 AIM 量と疾患の関連性を見出すことで、新しい NASH 肝癌の早期診断法の樹立を目的とする。

研究分野：消化器内科学

キーワード：NASH 肝癌、AIM、脂肪肝、IgM

1. 研究開始当初の背景

近年、肝炎ウイルス感染性肝癌が減少する一方で、生活習慣病に起因する非アルコール性脂肪肝炎 (Nonalcoholic steatohepatitis; NASH) 患者が増加しており、その一部は肝癌へ進行することから NASH に対する治療法や早期診断法の対策が求められている。これまでのマウスを用いた研究により NASH 肝癌において癌抑制効果をもつことが既に明らかになっている apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) は、血中では IgM 五量体に結合することで不活性化されているが、解離して活性型となると癌抑制効果を発揮すると考えられている。また、ヒトを対象としたコホート研究においては、肝機能の悪化と血中総 AIM 値に正の相関があり、AIM と肝疾患の関連性が示唆されると共に、予備的な研究において、NASH 肝癌患者では活性型 AIM の増加が認められ、NASH から肝癌への移行には活性型 AIM が密接に関連している可能性が示唆されていた。

2. 研究の目的

本研究では IgM から AIM を解離させる活性化メカニズムを明らかにし、内在性 AIM の活性化による NASH 肝癌治療を目指す。同時に、ヒト患者における血中活性型 AIM 量と疾患の関連性を見出すことで、新しい NASH 肝癌の早期診断法の樹立を目指す。

3. 研究の方法

A. AIM 活性化のメカニズム探索

AIM は通常時は IgM に結合することで不活性化されているが、NASH 肝癌や急性腎障

害などの特定の疾患時には何 IgM から解離して活性型となる。この活性システムを利用し、AIM 活性化による肝癌治療を可能にするために、IgM から AIM を解離する活性化メカニズムを明らかにする。そのために、AIM と IgM の結合様式の解明を試みた。

B. AIM の活性化による NASH 肝癌治療の検討（創薬化を目指して）

将来的な創薬化の実現を視野に入れ、AIM の活性化 (IgM からの解離) を誘導できる低分子化合物の取得を目指し、東京大学の創薬機構と連携し、低分子化合物ライブラリのスクリーニングを行った。

C. ヒト患者検体を用いた AIM の網羅的解析と診断法の樹立

単純性脂肪肝 (Non-alcoholic fatty liver; NAFL)、NASH、NASH 肝癌患者について血中 AIM 関連値の測定を行い、AIM と病態の関連性を解析し、NASH 肝癌の早期診断法の樹立に取り組んだ。

4. これまでの成果

A. AIM 活性化のメカニズム探索

電子顕微鏡解析による結合様式の解明

IgM の Fc 領域 (IgM-Fc) の五量体と AIM の複合体についてネガティブ染色を行い、電子顕微鏡を用いた単粒子画像解析を行うことで、AIM と IgM の結合様式を明らかにすることに成功した。その結果、IgM がこれまで考えられてきた正五角形をベースとした五量体ではなく、六量体の一つを欠いたような約 50° の大きな空間をもつ非対称構造であることが判明し、AIM はその空間にはまり込む形で結合していることを明らかにした (図)。さらに、

AIMとIgMの結合には、それぞれに存在する遊離システイン残基同士による「ジスルフィド結合」と、別の接触面における「静電相互作用」が必要であることを見出した。この発見は、AIMとIgMの結合様式を明らかにしただけでなく、これまで正五角形と考えられてきたIgMの真の構造を明らかにした点においても非常にインパクトが高い。

B. AIMの活性化によるNASH肝臓治療の検討（創薬化を目指して）

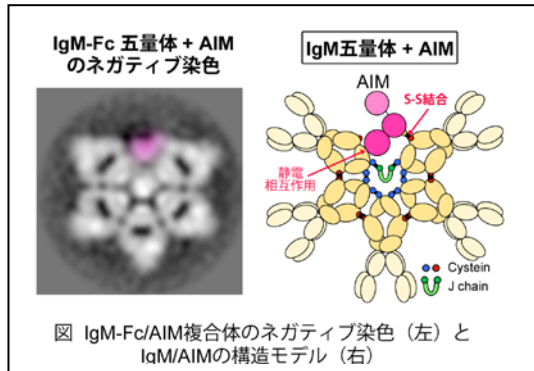


図 IgM-Fc/AIM複合体のネガティブ染色（左）とIgM/AIMの構造モデル（右）

AIMを活性化する低分子化合物の探索

体内に大量に存在する不活性型AIMの活性化による疾患治療を達成することを念頭に、創薬化の実現を視野に入れ、AIMの活性化（IgMからの解離）を誘導できる低分子化合物の取得を目指し、東京大学の創薬機構と連携し、低分子化合物のスクリーニングを行った。活性型のAIMのみを認識する抗体セットを樹立し、それを用いて均一系時間分解蛍光（HTRF）法を用いたハイスループットスクリーニング系を確立した。この系で創薬機構の有する22万個の低分子化合物のスクリーニングを行い、二次スクリーニングを経て、現在までに1個の確定ヒット化合物を取得した。

C. ヒト患者検体を用いたAIMの網羅的解析と診断法の樹立

NAFL、NASH（肝臓無）、NASH肝臓患者の3群において、血中AIMについて解析を行った。その結果、NASH肝臓患者において、活性型AIM値の有意な上昇を認め、これによる肝臓診断は、感度・特異度共に85%以上であり、既存の肝臓マーカーであるAFP等と比較して非常に好成績であった。このことから、活性型AIM値が、新しいNASH肝臓の診断マーカーとして大きく期待され、現在、本研究で樹立したヒト活性型AIMのみを認識する抗体セットを用いて、NASH肝臓の診断薬の開発・工業化を進めている。

5. 今後の計画

今後はAIMのX線結晶構造解析およびIgMのクライオ電子顕微鏡解析を進め、さらなる詳細なAIMやIgMあるいは複合体の構造決定を行い、結合・解離の作用点の解明や、機能性との関連性および活性化メカニズムを明らかにしていく予定である。また、引き

続き創薬機構と連携し最終的に、3-4種のヒット化合物を得ることを目標とする。ヒト患者の解析においては、肝臓治療の前後における活性型AIM値の変化の解析を行い、NASH肝臓において活性型AIMが増加する理由やメカニズムの解明に役立つ研究を行う予定である。さらに、NASH患者における大規模な前向き研究を行い、活性型AIMの増加と癌の発生・成長との関連を見出すなど、より癌の早期発見に役立つような臨床研究を進める予定である。

6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

- Komatsu G, Nonomura T, Sasaki M, Ishida Y, Arai S, Miyazaki T. AIM-deficient mouse fed a high-trans fat, high-cholesterol diet: a new animal model for nonalcoholic fatty liver disease. *Exp Anim.* 2018. doi: 10.1538/expanim.18-0108.
- Hiramoto E, Tsutsumi A, Suzuki R, Matsuoka S, Arai S, Kikkawa M, Miyazaki T. The IgM pentamer is an asymmetric pentagon with an open groove that binds the AIM protein. *Sci Adv.* 4:eaau1199, 2018.
- Sugisawa R, Komatsu G, Hiramoto E, Takeda N, Yamamura KI, Arai S, Miyazaki T. Independent modes of disease repair by AIM protein distinguished in AIM-felinated mice. *Sci Rep.* 8:13157, 2018.
- Miyazaki T, Yamazaki T, Sugisawa R, Gershwin ME, Arai S. AIM associated with the IgM pentamer: attackers on stand-by at aircraft carrier. *Cell Mol Immunol.* 15:563-574, 2018.
- Sugisawa R, Komatsu G, Hiramoto E, Takeda N, Yamamura KI, Arai S, Miyazaki T. Independent modes of disease repair by AIM protein distinguished in AIM-felinated mice. *Sci Rep.* 8:13157, 2018.
- Koyama N, Yamazaki T, Kanetsuki Y, Hirota J, Asai T, Mitsumoto Y, Mizuno M, Shima T, Kanbara Y, Arai S, Miyazaki T, Okanoue T. Activation of apoptosis inhibitor of macrophage is a sensitive diagnostic marker for NASH-associated hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol.* 53:770-779, 2018.
- Ozawa T, Maehara N, Kai T, Arai S, Miyazaki T. Dietary fructose-induced hepatocellular carcinoma development manifested in mice lacking apoptosis inhibitor of macrophage (AIM). *Genes Cells.* 21:1320-1332, 2016.

7. ホームページ等

なし