

## ネコに腎不全が多発する原因を究明 —ネコでは AIM が急性腎不全治療に機能していない—

### 1. 発表者：

宮崎 徹（東京大学大学院医学系研究科 附属疾患生命工学センター  
分子病態医科学部門 教授）

### 2. 発表のポイント：

- ◆血液中のタンパク質 AIM（apoptosis inhibitor of macrophage；CD5Lとも呼ばれる）は急性腎不全を治療させる機能を持つ（注1：過去の主な文献1-6）が、ネコ AIM は急性腎不全時に機能せず、そのためにネコでは正常な治療・回復が障害されていることを見出した。
- ◆ネコ型 AIM に起因する急性腎不全の治療障害は、AIM タンパク質の投与によって治療できた。
- ◆本研究は、これまで謎であった、ネコで高頻度に腎不全が生じる原因を解明し、ネコの腎不全の革新的治療法の開発につながるるとともに、ヒトにおいても、AIM による急性腎不全の治療や慢性化の予防への期待と現実性をさらに高めるものであると考えられる。

### 3. 発表概要：

少子化や人口の老齢化も一因となり、愛玩動物（ペット）の数は近年急激に増加している。特にネコの保有率は、日本やアメリカを含む多くの地域で犬を抜いて第一位となり、現在日本では1千万頭を超えている。興味深いことに、ネコは腎不全が原因で死亡する率が、他の動物に比べて突出して高いことが以前から知られていた。

腎臓は血液中の老廃物をろ過し、尿として排泄する重要な器官であり、腎臓の機能が低下すると、血液中に老廃物が溜まり、身体の色々な臓器の働きに支障をきたす。色々な原因により腎臓が障害され、急速に腎機能が低下する状況を急性腎障害というが、ネコでは5-6歳頃に尿管結石や腎炎などによる急性腎障害に罹った後、腎機能が完全に回復しないまま慢性腎不全、尿毒症となり15歳前後でなくなるケースが多い。しかしながら、これまでなぜネコで腎機能が回復せず、最終的に致死性の腎不全に至ってしまうのかは謎であり、そのために腎不全に対する確かな治療法もなかった。

最近、東京大学大学院医学系研究科の宮崎徹教授らの研究グループは、自ら発見したタンパク質 AIM が、直接腎臓に働きかけ急性腎障害を治療させることを明らかにし、Nature Medicine 誌に発表した（文献6）。急性腎不全が生じると、腎臓の中の尿の通り道（尿細管という）に“ゴミ”（細胞の死骸）が詰まり、そのことが腎機能の低下を招く引き金となることが知られているが、腎臓の機能が低下すると、通常血

液中に存在する AIM が活性化し、尿中に移行してゴミを掃除する役目を果たす。それにより迅速に尿細管の詰まりが解消され、その結果、腎機能は速やかに改善することを明らかにしていた。

今回本研究グループは、ネコの AIM はマウスやヒトの AIM と異なる特徴を持ち、急性腎障害が生じてでも活性化せず尿中に移行もしないことを見出した。したがって、ネコは血液中に AIM をじゅうぶん持っているにもかかわらず、急性腎障害が生じてでも腎臓の機能は回復せず、そのまま慢性腎不全へと進行してしまう可能性が高いことが明らかになった。

それをより詳細に確かめるために、AIM をマウス型からネコ型に変えたマウス (AIM ネコ化マウス) を作製し急性腎障害を起こした。すると予想通り、尿細管中に詰まったゴミは掃除されることなく、腎臓の機能は著しく悪化し続け多くが死んでしまう。そして急性腎障害を起こした AIM ネコ化マウスに、マウスの AIM を静脈注射することで、尿細管の詰まりは劇的に解消され、腎機能が速やかに改善し致死率は著しく低下することを見出した (注: 致死率は 100 %であったものが、AIM 投与により 20 %となった)。すなわちネコの場合も、ヒトやマウスの場合 (文献 6) と同じように AIM を投与することで急性腎不全を速やかに改善させ、慢性化する危険を回避することが可能であると考えられる。

本研究結果により、これまで謎であったネコの腎不全の原因の解明が大きく進み、AIM により急性腎障害から良好に回復させうる可能性が示された。また、急性腎障害を治癒した後も、定期的に AIM を投与し腎臓のゴミを掃除することにより、慢性化のリスクを低下させ、ネコの健康寿命を大きく延長できる可能性がある。さらに本研究成果は、前回の論文 (文献 6) と合わせ、ヒト患者においても、AIM による急性腎不全の治療や慢性化の予防への期待と現実性をさらに高めるものであると考えられる。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 革新的先端研究開発支援事業 (AMED-CREST) の研究開発領域「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出」 (研究開発総括: 永井 良三) における研究開発課題「生体内の異物・不要物排除機構の解明とその制御による疾患治療」 (研究開発代表者: 宮崎 徹) の一環で行われた。なお、本研究開発領域は、平成 27 年 4 月の日本医療研究開発機構の発足に伴い、国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) より移管されている。

本研究成果は、2016 年 10 月 12 日 (英国夏時間) に「Scientific Reports」オンライン版で公開された。

#### 4. 発表内容:

世界的な少子化や人口の高齢化も一因となり、愛玩動物 (ペット) の数は急激に増加するなか、ネコの保有率は日本やアメリカを含む多くの地域で犬を抜いて第一位で

あり、現在日本では1千万頭を超えている。以前より、ネコは腎不全が原因で死亡する率が、他の動物に比べて突出して高いことが知られていた。ネコは5-6歳頃に尿管結石や腎炎などによる急性腎障害に罹った後、腎機能が完全に回復しないまま慢性腎不全、尿毒症となり15歳前後でなくなるケースが多い。しかしながら、これまでなぜネコで腎機能が回復せず慢性化し、最終的に致死性の末期腎不全に至ってしまうのかは謎であり、そのために腎不全に対する確かな治療法もなかった。

急性腎障害 (acute kidney injury; AKI) は、腎虚血、水腎症、腎炎、敗血症、腎毒性のある薬剤など、多彩な原因によって発症する。自然軽快する場合もあるが、長期の入院を必要とし死亡率も高い。何よりもAKI患者は、慢性腎不全を発症するリスクが高まるため、AKIの積極的な治療が望ましいが、これまで実用化に至った治療法はなかった。AKIの重要な病理学的特徴の一つは、壊死した近位尿細管上皮細胞が脱落し、その死細胞塊 (デブリ) が管腔内を閉塞することである。それが二次的に腎実質の炎症や線維化を惹起すると共に、糸球体機能を低下させることが知られている。最近本研究グループは、血中タンパク質 AIM (apoptosis inhibitor of macrophage ; CD5Lとも呼ばれる。過去の主な文献1-6) が、AKIの治癒メカニズムに決定的な役割を果たしていること、それゆえ、AIMによってAKIを治療できる可能性があることをNature Medicine誌に発表した (文献6)。今回の研究では、ネコのAIMを単離・解析することによって、ネコに腎不全が多発し高い死因になっている原因の一つは、AIMの機能不全であることを明らかにした。

健康時、AIMは血液中でIgM五量体と結合して存在している (文献5, 6)。IgM五量体は巨大な分子量の複合体 (> 1000 kDa) であるため、AIMは尿中に排泄されることはない。しかし、AKIが発症すると、全身性にAIMが急速にIgM五量体から解離し、単体のAIM (フリーAIM) となる。フリーAIMは40 kDa以下の分子量であるため糸球体を通り、尿中に移行する。そして尿中のAIMは、AKIによって生じた近位尿細管を閉塞しているデブリに付着する。AIMが付着したデブリは、AKI時に近位尿細管上皮細胞が強く発現するkidney injury molecule-1 (KIM-1)という膜タンパク質を介して近位尿細管上皮細胞に貪食され、その結果管腔の閉塞が解消される (文献6)。これらの現象は、虚血再灌流 (ischemia/reperfusion; IR) でAKIを発症させたマウスでも、ヒトAKI患者でも共通して認められた (文献6)。

しかしネコAIMは、IgMとの結合親和性がマウスの約1000倍高く、AKI時にIgMから解離しないことが、実際のネコで確認された。したがって、ネコはマウスやヒトよりむしろ高い血中濃度でAIMを有しているにもかかわらず、AKI時に尿中に移行しない。そのために、ネコでもKIM-1の発現や、KIM-1を介したAIMの取り込みは正常であるにもかかわらず、管腔内デブリの除去は著しく不全となり、近位尿細管の閉塞が解消されず、AKIからの回復が障害されるのである (図1)。ネコAIMがIgMとの結合親和性が著しく高い理由として、IgMとの結合に重要なC末端側のドメ

イン中に正の電荷をもつアミノ酸が、ネコ AIM だけで密集していることが一つの原因として考えられた。事実、これらのアミノ酸をアラニンに置換したネコ AIM は IgM との結合親和性が優位に低下した。

実際の AKI におけるネコ AIM の効果を直接調べるために、マウス AIM をネコ AIM に置換したマウス (AIM ネコ化マウス) を作製した。このマウスと野生型 (すなわち AIM はマウス型) マウスに IR による AKI を惹起すると、野生型マウスでは AIM は IgM より解離し尿中に移行するが、AIM ネコ化マウスでは、実際のネコと同様に、AIM は IgM から解離せず尿中に移行しなかった。その結果、野生型マウスでは、腎機能は速やかに改善し IR 後 5 日目までの死亡率も低い (< 20%) が、AIM ネコ化マウスでは、腎機能は著しく悪化し術後 3 日以内に全例死亡してしまった。IR 後 3 日目の腎臓の組織学的解析では、野生型マウスでは尿細管中デブリの除去が進み、近位尿細管の閉塞が解消されつつあったが、AIM ネコ化マウスではデブリ除去が著しく悪く、近位尿細管は完全に閉塞したままであった。すなわち、AIM ネコ化マウスは、本物のネコと同様に AIM が IgM から解離せず尿中に移行しないため、尿細管中デブリの除去が進まず、腎機能が回復しないのである。これはすなわち、AIM を持っていない AIM 欠損マウスと全く同様の症状である (文献 6)。

AKI を発症した AIM ネコ化マウスにマウス AIM を投与すると、デブリの除去を誘起することによって腎機能は速やかに改善し、生存率も著しく上昇した。すなわち、AIM 投与がネコ AKI の治療法として有効であり、ひいてはネコの慢性腎不全への移行を阻止する可能性が高いことが示唆された。今回はマウス AIM を投与したが、ヒト AIM もネコ AIM もフリーであれば、デブリに付着し KIM-1 によって正常に取り込まれるので、同様の治療効果があると考えられる。

本研究によりこれまで謎であったネコの腎不全の原因を解明し、ネコの腎不全の治療・予防法確立に大きな進展をもたらすものと期待される。同時に、前回の論文 (文献 6) と合わせ、ヒト患者においても、AIM による急性腎不全の治療や慢性化の予防への期待と現実性をさらに高めるものであると考えられる。

#### 文献：

1. Miyazaki, T. et al. *J. Exp. Med.* 189: 413-422 (1999)
2. Kurokawa, J. et al. *Cell Metab.* 11: 479-492 (2010)
3. Maehara, N., et al. *Cell Rep.* 9: 61-74 (2014).
4. Arai, S. & Miyazaki, T. *Semin. Immunopathol.* 36: 3-12 (2014). Review.
5. Arai, S. et al. *Cell Rep.* 3: 1187-1198 (2013).
6. Arai, S., Kitada, K. et al. *Nat. Med.* 22: 183-193 (2016).

#### 5. 発表雑誌：

雑誌名 : Scientific Reports (2016年10月12日オンライン版)

論文タイトル : Impact of feline AIM on the susceptibility of cats to renal disease

著者 :

(東京大学) 杉澤良一、平本絵美莉 (以上、co-first author)、松岡茂、高井亮輔、山崎智子、森伸子、新井郷子、宮崎徹 (corresponding author)

(北里大学) 岩井聡美

(日本獣医生命科学大学) 岡田ゆう紀、新井敏郎

(熊本大学) 竹田直樹、山村研一

## 6. 問い合わせ先

東京大学大学院医学系研究科 附属疾患生命工学センター 分子病態医科学部門

教授 宮崎 徹 (みやざき とおる)

電話 : 03-5841-1436 Fax : 03-5841-1438

Email : tm@m.u-tokyo.ac.jp

<AMED 事業に関すること>

国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)

戦略推進部 研究企画課

TEL : 03-6870-2224 FAX : 03-6870-2243

Email : kenkyuk-ask@amed.go.jp

<広報に関すること>

東京大学医学部・医学系研究科 総務係

TEL : 03-5841-3304 FAX : 03-5841-8585

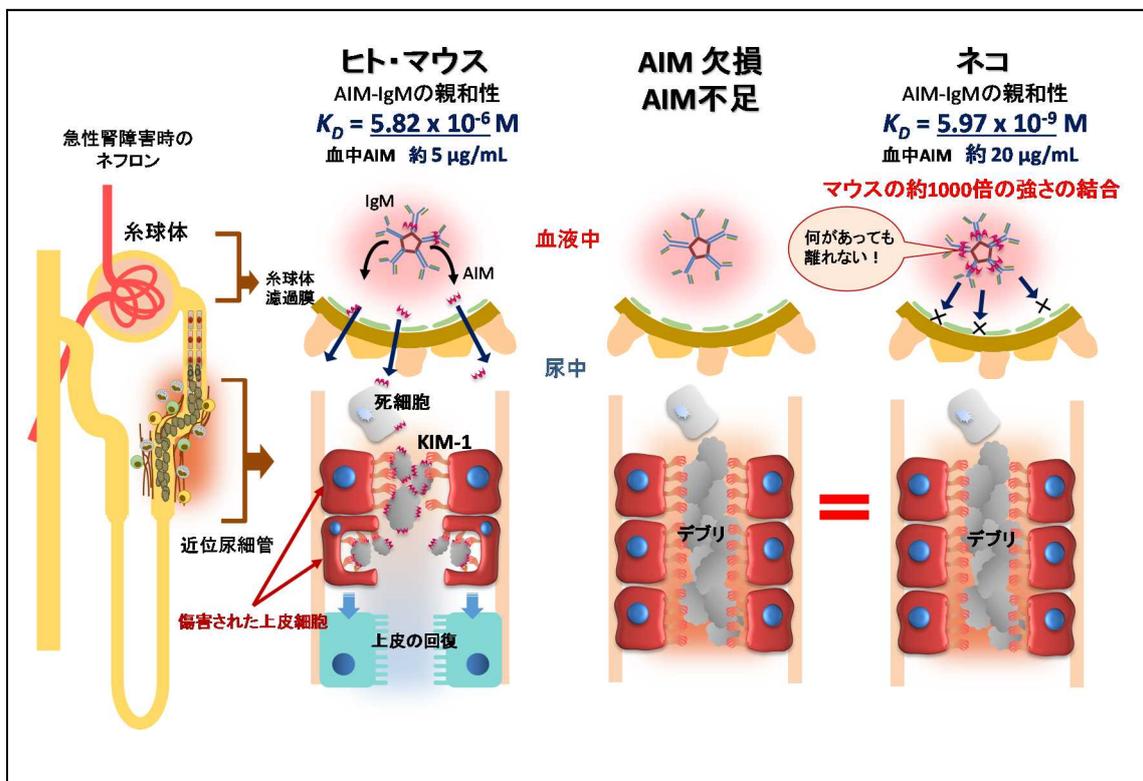
Email : ishomu@m.u-tokyo.ac.jp

## 7. 用語解説 :

(注1) AIM (Apoptosis Inhibitor of Macrophage) :

当初マクロファージから分泌され、細胞のアポトーシス(細胞死)を抑制する分子として東京大学大学院医学系研究科の宮崎徹教授が発見したもの。その後の研究で、作用する細胞の種類などの違いによりアポトーシス抑制以外にもさまざまな作用があることが明らかになった。

8. 添付資料：



(図1) AKI時、ヒト・マウスでは血中でAIMがIgM五量体から解離し、糸球体濾過膜を越え、近位尿細管中に詰まった死細胞デブリに付着する。管腔側に発現したKIM-1を介して、近位尿細管上皮細胞がAIMを付着したデブリを貪食する。その結果、管腔の閉塞は解消され、尿細管上皮も回復し、腎機能も改善する(左端)。一方、ネコでは血中AIM値はヒトやマウスより高値であるが、IgMとの結合親和性がマウスの約1000倍強いため、AKI時にAIMはIgMから解離できず、尿中への移行もない。その結果KIM-1は発現しているものの、デブリにAIMが付着しないので、近位尿細管細胞はデブリを貪食・除去することができず、詰まりは解消しない。そのため腎機能は回復せず、死亡あるいは慢性腎不全化する(右端)。結果として、ネコはAIMを有しているにもかかわらず、AIMが欠損している状況(中央)と同じ転帰をとる(Scientific Reports 本論文より引用・改変)。