



Title	Search for drugs that inhibit pyroptosis-driven inflammation and analysis of their mechanisms of action
Author(s)	潘, 逸羲
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/101940">https://doi.org/10.18910/101940</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 潘 逸 義 )	
論文題名	Search for drugs that inhibit pyroptosis-driven inflammation and analysis of their mechanisms of action (パイロトーシスを介した炎症応答を抑える薬剤の探索と作用機序の解析)
論文内容の要旨	
<p>Humans are constantly exposed to various industrial, environmental, and endogenous particles that result in inflammatory diseases. For example, the inhalation of particles comprising crystalline silica, such as yellow dust and PM2.5, results in pneumoconiosis and allergies. Moreover, metabolic crystalline particles like monosodium urate (MSU) crystals, which are generated in the body owing to overnutrition, cause gout. After being engulfed by immune cells, viz. macrophages, such particles are present in phagosomes. Phagosomes containing particles mature into phagolysosomes through fusing with lysosomes. Eventually, particles lead to phagolysosomal dysfunction, inducing pyroptosis, a form of cell death accompanied by the release of inflammatory mediators, including members of the interleukin (IL)-1 family. Phagolysosomal dysfunction results in the activation of the nod-like receptor family pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammasome, an immune complex that induces cell death and release of IL-1<math>\beta</math> upon exposure to various external stimuli. However, several particles, such as silica particles (SPs) and MSU crystals, still induce cell death and release of other inflammatory mediators, such as IL-1<math>\alpha</math>, even if the NLRP3 inflammasome-associated response is inhibited; this indicates that such inhibition is not always effective in treating diseases induced by particles. Therefore, the discovery of drugs suppressing particle-induced NLRP3-independent pyroptosis is warranted.</p> <p>In this study, I screened the compounds that can inhibit SP-induced cell death and IL-1<math>\alpha</math> release using a high-content imaging-based system. Furthermore, I used RAW264.7, a mouse macrophage cell line which lacks the NLRP3 inflammasome, to avoid the effect of NLRP3 inflammasome-mediated response. As a result, I found that several Src family kinase (SFK) inhibitors, including dasatinib, effectively suppressed SP-induced cell death and IL-1<math>\alpha</math> release in both RAW264.7 cells and mouse primary macrophages. Furthermore, dasatinib also suppressed pyroptosis induced by other particles, such as yellow dust and MSU crystals. However, it did not suppress pyroptosis induced by non-particles, such as adenosine triphosphate, indicating that dasatinib specifically suppresses particle-induced pyroptosis. Mechanistically, dasatinib reduced SP-induced phagolysosomal dysfunction without affecting the phagocytosis of SPs. Additionally, dasatinib administration strongly suppressed the increase in IL-1<math>\alpha</math> levels and neutrophil counts in the lungs after intratracheal SP administration. In conclusion, dasatinib suppresses particle-induced pyroptosis and can be used to treat relevant inflammatory diseases.</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 潘 逸 義 )			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	齊藤 達哉
	副 査	教授	堤 康央
	副 査	教授	藤尾 慈

## 論文審査の結果の要旨

現代社会において、人々は環境由来の微粒子、工業製品由来の微粒子、内因性の微粒子など、様々な微粒子に晒されながら生活を営んでいる。黄砂やPM2.5のような結晶性シリカを含む微粒子の吸入は、じん肺やアレルギーを引き起こす。また、栄養過多によって体内で生成される尿酸ナトリウム（MSU）結晶のような代謝物結晶は、痛風などの生活習慣病の原因となる。健康被害を起こすような微粒子には、免疫細胞であるマクロファージ等にファゴサイトーシスによって取り込まれる性質がある。ファゴサイトーシスされた微粒子は、ファゴソームを経由してファゴリソソームに到達し、ファゴリソソームの機能不全を引き起こす。ファゴリソソームが機能不全に陥ったマクロファージでは、インターロイキン-1（IL-1）ファミリーを含む炎症性メディエーターの放出を伴う細胞死であるパイロトーシスが誘導される。微粒子は、パイロトーシスを介して過度な炎症を惹起し、発赤、熱感、腫脹、疼痛を伴う組織の機能障害をひき起こすため、種々の疾患の発症要因となる。

潘氏は、博士後期課程において、微粒子によるマクロファージのパイロトーシスを阻害する化合物を同定し、当該化合物の作用機序の解明やマウス病態モデルにおける効果の検証を行った。潘氏の行った研究の成果は、下記（１）～（７）の通りである。

（１）細胞死のイメージングおよびIL-1産生に対する免疫学的解析を基盤とする化合物スクリーニングを行い、FDA承認薬ライブラリーおよびファイザー社ライブラリーの中から、非晶質シリカにより誘導されるマウスマクロファージ細胞株のパイロトーシスを阻害する化合物として、dasatinibをはじめとする複数のSrcファミリーチロシンキナーゼ（SFK）阻害剤を同定した。

（２）dasatinibは、非晶質シリカによりNLRP3（nod-like receptor family pyrin domain containing 3）インフラマソーム非依存的に誘導されるマウスプライマリーマクロファージのパイロトーシスを阻害することを明らかにした。

（３）dasatinibは、非晶質シリカにより誘導されるヒト単球細胞株のパイロトーシスを阻害することを明らかにした。

（４）dasatinibは、非晶質シリカだけでなく、黄砂やMSU結晶により誘導されるマウスプライマリーマクロファージのパイロトーシスを阻害することを明らかにした。

（５）dasatinibは、マウスプライマリーマクロファージにおいて、非晶質シリカによるファゴリソソームの機能障害の誘導を妨げることで、パイロトーシスを阻害することを明らかにした。

（６）マウスプライマリーマクロファージにおいて、リン酸化SFKは非晶質シリカを内包するファゴソームと共局在し、ファゴリソソームとは共局在しないため、SFKはファゴソームにおいてパイロトーシスの制御に関わる（も

しくはSFKはファゴリソームにおいてパイロトーシスを制御するが安定性が極めて低い) ことを示唆するデータを得た。

(7) dasatinibは、非晶質シリカを経気管投与するじん肺モデルマウスにおいて、IL-1の産生、好中球の遊走、呼吸器の障害など、炎症の症状を和らげることを明らかにした。

潘氏の研究は、微粒子によるマクロファージのパイロトーシスを阻害する化合物を同定したことに加えて、マウスモデルにおいてじん肺の症状を和らげる化合物を同定し、パイロトーシスの誘導メカニズムの一端を解明したものである。今後、dasatinibによりリン酸化が妨げられるタンパク質の中からパイロトーシスの誘導に関わるタンパク質を同定することで、パイロトーシスの制御メカニズムの理解や新たな阻害剤の開発が進むことが期待される。

以上より、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。