The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome
Author(s)	Misawa, Takuma
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/26287
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

[Format-P02]

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

〔論文題名：Thesis Title〕 Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria promotes activation of the NLRP3 inflammasome （微小管を介したミトコンドリアの局在変化はNLRP3インフラマソームの活性化を促進する）

専攻名 Division ： 予防環境医学　　学位申請者 Name ： 三澤 拓馬

〔目 的(Purpose)〕

インフラマソームと呼ばれる蛋白質複合体は様々なストレスを感知し、プロテアーゼCaspase-1を活性化させることで、炎症性サイトカインIL-1βの産生を誘導することが明らかになっている。インフラマソームを構成する因子の中でもNOD-like receptorに分類されるNLRP3は、インフルエンザウィルスやリステリアなどの病原体、刺激性粒子であるシリカやアスベスト、そして生体内代謝物である尿酸結晶やコレステロール結晶をストレスとして認識し、下流のアダプター分子であるASCと結合することで、NLRP3インフラマソームを形成する。NLRP3インフラマソームの過剰な活性化は、肺炎・痛風・動脈硬化・糖尿病など様々な炎症性疾患を引き起こすことが報告されている。このことから、NLRP3インフラマソームの活性を適切なレベルに調節することで、これら疾患の症状を大幅に改善できることが示唆された。そこで、本研究では理化学研究所より供与を受けた天然化合物ライブラリーを用いてスクリーニング系を構築し、NLRP3インフラマソームの新規制御分子の探索を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

スクリーニングを行った結果、微小管重合阻害剤であるコルヒチンがNLRP3インフラマソーム依存的なIL-1βの産生を顕著に抑制することを発見した。このことから、微小管はNLRP3インフラマソームの活性制御に関与していることが示唆された。未刺激条件下のマクロファージ内において、ASCは主にミトコンドリア、そしてNLRP3は主に小胞体に局在しており、両者はほとんど接近していない。一方で、NLRP3インフラマソームの活性を誘導するとミトコンドリアが核周囲の小胞体と非常に近接した局在パターンを示し、その結果ASCおよびNLRP3の接近が促進されることが明らかとなった。上記の観察結果、およびミトコンドリアの局在変化は主に微小管依存的に起こるという過去の報告から、ASCとNLRP3の接近は微小管によって制御されていることが示唆された。事実、コルヒチン処理によって微小管構造を破壊すると、ミトコンドリアと小胞体の接近、すなわちASCとNLRP3の接近は大幅に抑制されていた。これらのことから、微小管依存的なミトコンドリアの輸送がASCとNLRP3の接近をもたらし、その後のNLRP3インフラマソームの形成を促進していることが明らかとなった。

微小管の構成因子であるαチューブリンは様々な翻訳後修飾を受け、細胞内の物質輸送を活発にしていることが知られている。近年の研究から、アセチル化されたαチューブリンはミトコンドリアと小胞体の接近頻度を高めていることが明らかとなった。これまでに得られた結果および上記の知見から、NLRP3インフラマソーム活性化時においてもαチューブリンがアセチル化されていることが示唆された。検証の結果、NLRP3インフラマソームの活性を誘導したマクロファージ内においてアセチル化されたαチューブリンの蓄積が観察された。一方、RNA干渉法を用いてαチューブリンのアセチル化酵素であるMEC17の発現量を低下させると、アセチル化されたαチューブリンの蓄積およびミトコンドリアと小胞体の近接が顕著に抑制されるとともに、NLRP3インフラマソーム依存的なIL-1βの産生量も有意に減弱した。これらのことから、NLRP3インフラマソームの活性を誘導すると、マクロファージ内においてMEC17を介したαチューブリンのアセチル化が促進され、ミトコンドリア上のASCと小胞体上のNLRP3の接近頻度が向上し、NLRP3インフラマソームの形成並びにその後の活性が促進されていることが明らかとなった。

〔総 括(Conclusion)〕

コルヒチンは昔から痛風の治療薬として臨床の場で使用されてきた。臨床上、痛風は関節内および関節周囲の空間において炎症性細胞である好中球の著しい浸潤を伴うことが知られている。好中球はマクロファージにより産生されるIL-1βによって炎症部位へ誘導されるが、これまでの認識においてコルヒチンは好中球の移動能を抑制することで抗炎症効果を発揮していると考えられてきた。一方、本研究ではコルヒチンがマクロファージにおける微小管依存的なNLRP3インフラマソーム活性を阻害することで、IL-1βの産生を抑制し、その後の炎症を抑えるという新たな効果を発見した。加えて、本研究で得られた成果は微小管およびその修飾因子が種々の炎症性疾患に対する有力な創薬標的分子になり得ることを示唆するものでもある。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　三澤　拓馬

		(職)	氏　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	審良静男
	副　査	大阪大学教授	吉森保
	副　査	大阪大学教授	熊ノ郷淳

論文審査の結果の要旨

マクロファージをはじめとした免疫担当細胞は、刺激性粒子や病原体などの危険信号を感知して、サイトカインInterleukin(IL)-1βを産生し、炎症反応を惹起する。近年の解析から、インフラマソームと呼ばれる蛋白質複合体が様々なストレスを感知し、プロテアーゼCaspase-1を活性化させることで、IL-1βの産生を誘導することが明らかになっている。インフラマソームを構成する因子の中でもNOD-like receptorに分類される NALP3(正式名称 ： NLRP3)は、インフルエンザウィルスやリステリアなどの病原体、刺激性粒子であるシリカやアスベスト、そして生体内代謝物である尿酸結晶やコレステロール結晶をストレスとして認識し、下流のアダプター分子であるASC(正式名称 ： PYCARD)と結合することで、NALP3インフラマソームを形成する。NALP3 インフラマソームの過剰な活性化は、肺炎・痛風・動脈硬化・糖尿病など様々な炎症性疾患を引き起こすことが報告されている。このことから、NALP3 インフラマソームの活性を適切なレベルに調節することで、これら疾患の症状を大幅に改善できることが示唆された。そこで、三澤君は化合物ライブラリーを用いたスクリーニング系を考案し、NALP3インフラマソームの活性制御機構の解明に尽力した。その結果、NALP3インフラマソームが微小管によって制御されているという新たな概念の構築に成功した。具体的には、ミトコンドリアの傷害に伴う細胞内NAD^+量の低下がNAD^+依存性脱アセチル化酵素SIRT2を不活化し、その結果微小管の構成因子であるαチューブリンのアセチル化が促進され、ミトコンドリア上のASCと小胞体上のNALP3の接近頻度が向上し、その後のNALP3インフラマソームの形成および活性化が促進されていた。このことは、微小管やその修飾因子が上記炎症性疾患に対する新たな薬剤ターゲットになりうることを示すものであり、大きな発展性および新規性に富んだ発見であると言える。痛風や糖尿病は近年爆発的に患者数が増加している疾患である。そのような背景から考えても、これまでの研究を更に昇華していくことは、炎症性疾患発症のメカニズムに対する理解を深めると共に、それら疾患に対する治療法の発展に大きく寄与できるため、意義がある。上記のことから、三澤君は学位の授与に十分値すると考えられる。