OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Lysosomal protein Lamtor1 controls innate immune responses via nuclear translocation of transcription factor EB
Author(s)	葉山, 善友
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/70683
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

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　葉山　善友

	（職）	氏　名
論文審査担当者		
主　査	大阪大学教授	熊ノ郷 淳
副　査	大阪大学教授	竹田 潔
副　査	大阪大学教授（特任）	豊福 利喜

論文審査の結果の要旨

アミノ酸センサーとして知られるLamtor1(p18)はリソソームに局在し、mTORC1の活性化を介してマクロファージのM2分化に重要である事が分かっていた。同時にLamtor1の欠損下ではマクロファージのM1化が亢進することも示されていたが、その詳細な機序は不明であった。葉山氏は、Lamtor1欠損下でmTORC1の活性が低下し、結果的にTFEBの核内移行が亢進すること、その際、TFEBはこれまで報告されていたリソソーム関連分子以外に、代表的なM1関連遺伝子である、IL-6やTNFといった炎症性サイトカインの転写も調節していることを初めて明らかにした。これら一連の研究成果は学位に値するものと認める。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	葉山　善友
論文題名 Title	Lysosomal protein Lamtor1 controls innate immune responses via nuclear translocation of transcription factor EB （リソソーム蛋白p18はTFEBの核内移行を制御することで自然免疫を調節する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

これまでの研究において、Lamtor1(p18)がmTORC1の活性化を介して、マクロファージにおけるM2分化に非常に重要である事が分かった。一方でLamtor1欠損マクロファージではM1化が亢進することも分かっていたが、その詳細な機序は不明であった。また、他の研究で、アミノ酸の飢餓が自然免疫を活性化させるという報告もあった。
今回我々はLamtor1欠損マクロファージを使用し、Lamtor1を含む、アミノ酸-mTORC1の経路がどのように自然免疫を調節しているのか、改めてその機序に迫ろうと研究を開始した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

in vitroの実験ではマウス骨髄細胞を抽出し、m-CSFでマクロファージを分化誘導し、実験に使用した。M1分化にはLPSを刺激剤として使用した。mTOR阻害剤であるトリン刺激、アミノ酸飢餓、Lamtor1欠損時いずれにおいてもM1化が亢進することが判明した。そこで我々はmTORによるリン酸化のターゲット分子であり、近年リソソーム合成に重要であるとされている転写因子TFEBに着目した。Lamtor1欠損マクロファージではmTORC1の活性低下によるTFEBの核内移行が亢進し、それに伴いリソソーム合成も亢進している事が判明した。
そこで我々はmTORC1活性低下時の自然免疫亢進に、TFEBが関与しているのではないかと考えた。マクロファージの不死化細胞であるRAW細胞でTFEBのKDを行ったところ、TFEBをKDしたRAW細胞ではLPS刺激時の炎症性サイトカインの産生が低下した。同様の実験をLamtor1欠損マクロファージにおいても行ったところ、TFEBをKDさせたLamtor1欠損マクロファージにおいてもサイトカインの産生が低下し、同時にTFEBターゲット遺伝子の発現も低下した。さらにTFEBが転写因子としてIL-6やTNFといったサイトカインのプロモーター領域に結合するかを、ルシフェラーゼアッセイやChIP-PCRで確認したところ、TFEBがこれらのサイトカインのプロモーター領域に結合することが証明された。
次にin vivoにおいてもLamtor1欠損マウスでTFEBの核内移行が亢進しているかを見た。In vivoにおいて我々は組織在住マクロファージである肺胞マクロファージに着目した。肺胞マクロファージにおいてもやはりLamtor1欠損マウスでTFEBの核内移行は亢進しており、LPSを気管内投与したところ、Lamtor1欠損マウス肺胞空内で過剰な炎症性サイトカインの産生が確認された。別の方法で、ブレオマイシンを気管内投与使用した急性肺障害モデルでも検討したが、こちらの場合でもLamtor1欠損マウス肺胞空内に過剰な炎症性サイトカインの産生を認め、同時に炎症性細胞浸潤も顕著であった。また死亡率、体重減少ともにブレオマイシン投与Lamtor1欠損マウスで亢進していた。

〔総　括(Conclusion)〕

Lamtor1は細胞内（リソソーム膜上）でアミノ酸を感知し、mTORC1を活性化させるのに重要な分子である。
マクロファージにおいてLamtor1が欠損すれば、mTORC1の活性が低下し、結果的にTFEBの核内移行が亢進する。
TFEBはこれまで言われていたリソソーム関連分子以外に、IL-6やTNFといった炎症性サイトカインの転写も調節する事が分かった。
以上から、Lamtor1欠損、アミノ酸飢餓時を含むmTORC1活性低下時に、TFEBの核内移行亢進が亢進し、過剰な炎症性サイトカイン産生の一要因になる事が分かった。