

Title	The lysosomal Ragulator complex activates NLRP3 inflammasome in vivo via HDAC6
Author(s)	辻本, 考平
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/91803
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	辻本考平
論文題名 Title	The lysosomal Ragulator complex activates NLRP3 inflammasome <i>in vivo</i> via HDAC6 (Ragulator complexはHDAC6との相互作用を介してNLRP3インフラマソームの活性を制御する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>インフラマソームは感染や傷害に伴う細胞内の危険シグナルに応答して形成される細胞内のタンパク複合体である。その活性化には様々なオルガネラが共同して制御していることが知られているがその詳細は明らかではない。リソソームは従来は細胞内での単なる分解の場として考えられていたが、近年ではアミノ酸やイオンの貯蔵庫やmTORを中心とした栄養センサーのハブとしての機能など、その機能の多様性に注目されている。リソソームの多彩な機能を生み出す分子的背景としてリソソーム上のタンパク複合体であるRagulator複合体が挙げられる。Ragulator複合体は元々はmTORC1をリソソーム上に繋留するのに必要なタンパク複合体として同定されたが、炎症制御や細胞の運動、また細胞死など様々な機能を有することが報告されている。その一方でRagulator複合体がNLRP3インフラマソームの活性化に関与しているかについては明らかではなく、その関与を明らかにすることを目的とした。</p>	
<p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>Ragulator complexはLamtor1からLamtor5までのタンパク複合体として形成され、その中でもLamtor1を欠損させるとRagulator complex全体の安定性が失われることが先行研究で判明している。我々はマクロファージ特異的にLamtor1を欠損させたマウスを用いて、マウス痛風関節炎モデルやLPSやAlumによる腹膜炎モデルによる生体内でのNLRP3インフラマソーム活性を評価した。するとLamtor1欠損マウスにおいてはいずれのモデルにおいてもNLRP3インフラマソームの活性が低下することを見出した。骨髄由来マクロファージ、腹腔常在マクロファージ、ヒト単球様細胞株であるTHP-1細胞を用いた実験でもLamtor1を欠損させるとNLRP3インフラマソームの活性が低下することを見出した。これらの現象の原因を明らかにするためにLamtor1が相互作用する分子を免疫沈降法および質量分析法などを用いて探索したところ、Lamtor1がNLRP3およびHDAC6とそれぞれ結合していることを見出した。これらの相互作用は免疫沈降法のみならずYeast-two hybrid法、nano-Bret法、PLA法などその他のmodalityにおいても確認できた。一方でHDAC6をノックダウンするとLamtor1-NLRP3間の相互作用が減弱したことから、Lamtor1-HDAC6間の結合がLamtor1-NLRP3の結合を協調していると推測された。リソソーム上に存在できないLamtor1の点変異体はHDAC6と結合するにも関わらずNLRP3インフラマソームが活性化しないことから、Lamtor1はNLRP3/HDAC6をリソソーム上に局在させる役割を果たしていると考えられた。Lamtor1-HDAC6間の相互作用の重要性を調べるために、天然物ライブラリーを用いた阻害剤スクリーニングを行ったところ、合成型ビタミンEであるDL-all-rac-α-TocopherolがLamtor1-HDAC6間の結合を阻害し、<i>in vitro</i>でも<i>in vivo</i>においてもNLRP3インフラマソームの活性を低下させることが判明した。α-Tocopherolは抗酸化作用を有していることが知られているが、天然型のビタミンEであるD-α-Tocopherolではその阻害効果が減弱したことから、DL-all-rac-α-Tocopherolによるインフラマソーム活性阻害効果は抗酸化作用のみならずLamtor1-HDAC6間の相互作用の阻害によるものと考えられた。</p>	
<p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>以上の結果よりRagulator complexがHDAC6との相互作用を介してNLRP3インフラマソーム活性化を制御している事が明らかとなった。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 辻本 考平			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	熊 郷 淳 星 名
	副 査	大阪大学教授	蔭 平 子 若 名
	副 査	大阪大学教授	竹 田 潔 若 名
論文審査の結果の要旨			
<p>インフラマソームは感染や傷害に伴う細胞内の危険シグナルに応答して形成される細胞内のタンパク複合体である。本論文ではmTORC1をリソソームに繫留する事で知られるRagulator複合体に着目し、複合体の安定化に必須の構成タンパク質であるLamtor1をマクロファージ特異的に欠損させると痛風関節炎モデルなどの病態モデルでNLRP3インフラマソーム活性が低下する事を示した。骨髄由来マクロファージやヒト単球様細胞株(THP-1細胞)を用いた実験でもLamtor1を欠損させるとNLRP3インフラマソームの活性が低下することを示した。これらの背景にはLamtor1がNLRP3およびHDAC6と結合し、HDAC6との結合がLamtor1-NLRP3の結合を協調しているというモデルを提唱した。また、化合物スクリーニングによりDL-all-rac-α-TocopherolがLamtor1-HDAC6間の結合を阻害し、NLRP3インフラマソームの活性を低下させることを示した。これらの結果はNLRP3インフラマソーム活性化の機序を明らかにし、今後の創薬への可能性も秘めた重要な知見であることから博士(医学)の学位授与に値すると思われる。</p>			