



Title	PGL-III, a Rare Intermediate of Mycobacterium leprae Phenolic Glycolipid Biosynthesis, Is a Potent Mincle Ligand
Author(s)	石塚, 茂宜
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/93045
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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	石塚 茂宜
論文題名 Title	PGL-III, a Rare Intermediate of <i>Mycobacterium leprae</i> Phenolic Glycolipid Biosynthesis, Is a Potent Mincle Ligand (らい菌のフェノール糖脂質生合成における微量中間体PGL-IIIはMincleに対する強力なリガンドである)
論文内容の要旨	
〔目 的 (Purpose)〕	
ハンセン病は現在でも世界で年間約20万人の新規患者を数える感染症である。ハンセン病の原因菌であるらい菌は、他の抗酸菌と同様、細胞壁に豊富な脂質を有している。そのなかでも、PGL-I(フェノール糖脂質-I) はらい菌特有のメジャーな糖脂質として研究が進んでおり、免疫抑制作用を持つことが報告されている。一方で、らい菌が潜在的に有する免疫賦活脂質に関する研究は十分にはなされていない。本研究では、らい菌と宿主免疫の相互作用に対する理解を深めるために、らい菌脂質中から免疫を賦活化する成分とその受容体を特定することを目的とした。	
〔方法ならびに成績 (Methods/Results)〕	
らい菌に対する免疫応答は、種々のパターン認識受容体がらい菌の構成成分を認識することを起点とする。らい菌は細胞壁に豊富な糖脂質を有することから、糖脂質を認識する受容体ファミリーとして報告されているC型レクチン受容体 (C-type lectin receptor: CLR) がらい菌を認識する主要な受容体の1つではないかと考えた。らい菌を認識する受容体を特定するために、様々なCLRをそれぞれ発現したレポーター細胞のライブラリーをらい菌由来の脂質で刺激した。その結果、自然免疫受容体の一つであるMincle (macrophage-inducible C-type lectin) が反応を示したことから、らい菌の菌体中にはMincleに対するリガンドが存在することが考えられた。続いて、このリガンドを明らかにするために、Mincleを発現したレポーター細胞と薄層クロマトグラフィーを用いて精製した活性成分に対して質量分析を行ったところ、PGL-Iと類似した微量成分がMincleに対してリガンド活性を有することがわかったが、全構造を同定するには至らなかった。そこで、NMR分析による構造同定を試みた。しかし、NMR分析による構造同定には大量の活性脂質を得る必要があったため、in vitroで大量に培養が可能な<i>Mycobacterium marinum</i>に、PGL-I合成に関わる6種類の糖転移酵素を過剰発現させ、PGL-I生合成経路を再構成することで中間体の解析を試みた。生合成されたいくつかのPGL-I中間体のうち、Mincleに対して活性があった脂質についてNMRで分析を行い、PGL-IIIと呼ばれる糖脂質であることを明らかにした。実際に、PGL-IIIの合成品でも、レポーター細胞やプライマリー細胞に対して、活性を持つことが確認された。この活性は既知のMincleリガンドであるTDM (トレハロースジミコール酸) と比較して強かった。さらに、これまでのMincleリガンドの構造活性相関に当てはまらない、三糖をもつ糖脂質であったことから、両者がどのように相互作用しているのかを明らかにするため、PGL-IIIの糖鎖部分が保存された水溶性の分子とMincleとの共結晶のX線構造解析を行なった。その結果、1分子のPGL-IIIが2分子のMincleを、糖を介した結合とアシル鎖を介した結合により架橋するように結合することが明らかとなった。また、Mincleを欠損したマウス (Rag1^{-/-}Mincle^{-/-}) では、コントロール (Rag1^{-/-}) と比較して、らい菌排除のエフェクターとして報告されていた一酸化窒素の合成酵素をコードする<i>Nos2</i>の発現が低く、菌の排除が遅れていた。	
〔総 括 (Conclusion)〕	
らい菌に含まれる微量な糖脂質であるPGL-IIIがMincleを効率よく重合化することで強力なリガンド活性を示すことが強く示唆された。また、Mincleを介したこの経路は、一酸化窒素の産生により、らい菌感染に防御的に働くことが示唆された。したがって、PGL-IIIからPGL-Iへの変換を担う酵素 (ML2346またはML2347) を阻害する化合物は、本来であればPGL-Iに素早く変換されるPGL-IIIを菌体内に蓄積させると考えられることから、新しい抗らい菌薬への応用が期待できる。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		石 塚 茂 宜	
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	山 崎 晶
	副 査	大阪大学教授	高 瀬 尚
	副 査	大阪大学教授	鈴 木 一 博

論文審査の結果の要旨

ハンセン病の原因菌であるらい菌は、免疫応答を起こしにくく潜伏感染を引き起こすことが知られていたが、その詳細な仕組みは不明であった。申請者は、らい菌が自然免疫受容体Mincleに対する強力なリガンドであるPGL-III（フェノール性糖脂質-III）を、微量ながら潜在的に有していることを明らかにした。これに対し、PGL-IIIがメチル化を受けることで生合成される免疫抑制脂質PGL-Iは菌体に豊富に含まれていることから、らい菌はPGL-IIIを素早くPGL-Iに変換することでMincleに対するリガンド活性を失わせ、免疫から逃れていることが考えられた。以上のように本論文では、らい菌の免疫回避機構の一端が明らかとなった。この機構を阻害することでらい菌の免疫に対する感受性を高めて菌の排除を促進する、新しい治療戦略へ応用できる可能性がある。よって、上記の研究業績は学位の授与に値すると認める。