



NewsLetter

自治医科大学 地域医療オープン・ラボ

2018
Jan.
特別号

NLRP3インフラマソームを負に制御する 新たなE3ユビキチンリガーゼ

分子病態治療研究センター 炎症・免疫研究部の川島晃博士研究員（現・帝京大学）、高橋将文教授、構造生化学部門の多胡憲治講師らは、危険シグナルのセンサー分子であるNLRP3に結合してインフラマソームと呼ばれる自然炎症経路の活性化およびその下流にある炎症性サイトカインであるインターロイキン-1 β （IL-1 β ）産生を負に制御する新たなE3ユビキチンリガーゼARIH2を同定しました。今回、その研究成果がJournal of Immunology（199:3614-22, 2017）誌に掲載されましたので、高橋教授に研究の意義と経緯を伺いました。

Q1. NLRP3インフラマソームとは？

近年、心筋梗塞や動脈硬化といった心血管病やメタボリック症候群といった生活習慣病に炎症反応が関わっていることがわかってきました。炎症とは、細菌やウイルスといった病原体が体に侵入して感染が起こったときに、病原体を排除しようとして起こる生体反応なのですが、病原体が直接的に関与しない心血管病や生活習慣病といった疾患でも重要な働きをしていることが明らかになってきました。このような病原体の関与しない炎症を“無菌性炎症”と呼ぶのですが、この無菌性炎症を引き起こす経路の一つがNLRP3インフラマソームです。

NLRP3インフラマソームは、いろいろな炎症刺激（危険シグナルと呼ばれます）によって細胞内に形成されるタンパク質の複合体で、危険シグナルのセンサー分子であるNLRP3とアダプター分子であるASC、そしてカスパーゼ-1と呼ばれる酵素によって形成されます。インフラマソームが形成されるとカスパーゼ-1が活性化し、IL-1 β の前駆体（pro-IL-1 β ）が切断されて成熟型になり放出されます。IL-1 β といえば、炎症性サイトカインという炎症を引き起こす因子の代表格ですから、これが放出されると強い炎症が引き起こされます。私たちの研究室では、これまでで心血管病や腎臓病など、いろいろな疾患におけるNLRP3インフラマソームの役割を研究してきました。

Q2. E3ユビキチンリガーゼとは？

正常な状態に細胞を維持していくためには、必要なタンパク質を作るだけでなく、不要なタンパク質を分解・除去する必要があります。このタンパク質の分解は、主に2つの機構によって調節されています。一つが2016年に大隅教授がノーベル賞を受賞したことで知られる“オートファジー”で、もう一つが“ユビキチン-プロテアソーム系”です。ちなみに、このユビキチン-プロテアソーム系も2004年にノーベル化学賞を受賞しています。ユビキチン-プロテアソーム系は、ユビキチン化修飾と呼ばれるユビキチン鎖で目印を付けたタンパク質をプロテアソームという酵素複合体によって選択的に分解する機構です。このユビキチン鎖を付ける時には、E1（ユビキチン活性化酵素）、E2（ユビキチン結合酵素）、E3（ユビキチンリガーゼ）の3つの酵素群が働いて、E3リガーゼによって識別される標的タンパク質にユビキチン鎖が結合します。そして、このユビキチン鎖をプロテアソームと呼ばれるプロテアーゼ複合体が認識して分解するわけです。近年、このユビキチン-プロテアソーム系は不要なタンパク質の除去のみならず、シグナル伝達やDNA修復など、いろいろな働きをしていることもわかってきました。

Q3. 今回の研究の成果を教えてください。

NLRP3インフラマソームを調節している分子を探索するため、マクロファージという免疫細胞にNLRP3インフラマソームを形成させ、その複合体を単離しました。そして、このインフラマソーム複合体に含

まれる新規分子について、質量分析法を用いて解析し、E3リガーゼであるARIH2 (Ariadne homolog 2) を同定しました。Ariadne (アリアドネ) とは、ギリシャ神話の女神の一人であり、勇者セテウスに糸玉を渡して、迷宮ラビュリントスでの怪物ミノタウロス退治を助けた神話が有名であり、“アリアドネの糸”という言葉が“問題解決の鍵”として使われています。

ARIH2がNLRP3と結合することを確認した後、一部を欠損させたNLRP3を作ってどこの部分に結合するかを検証したところ、NACHTドメイン (アミノ酸220-575) と呼ばれる重合化に重要な部分に結合することがわかりました。一方、ARIH2のRING2ドメインに変異 (C300A) を入れるとユビキチン化が起きなくなることから、RING2を介してユビキチン化することもわかりました。ユビキチン鎖にはK11、K48、K63、M1 (K: リジン、M: メチオニン) などいくつかの種類がありますが、ARIH2のユビキチン化はK48とK63の両方が関与していることも明らかになりました。さらに、ARIH2のインフラマソーム活性化への影響を検証するため、ARIH2を欠損あるいは高発現させて調べたところ、ARIH2欠損ではインフラマソームの活性化が増強するとともに、危険シグナルによるIL-1 β 産生もさらに増強しますが、一方でARIH2高発現ではインフラマソームの活性化やIL-1 β 産生は有意に減弱することがわかりました。これらの結果から、私たちの同定したARIH2は、ユビキチン鎖のK48/K63を介してNLRP3インフラマソームの活性化を負に制御していることがわかり、NLRP3インフラマソームの新たな活性化制御機構を明らかにすることができました (図1)。

Q4. 今後の展開について教えてください。

今後、やらなければいけない課題は2つあります。一つ目は、生体においてARIH2がどのような働きをしているかを明らかにすることです。残念ながら、マウスでARIH2を欠損させると胎生期に死んでしまい、生体での解析ができません。そこで、私たちは、Cre-loxPシステムという手法を使って、新たにARIH2を出生後に欠損させることができるマウスや、マクロファージなど特定の細胞でのみ欠損させることができるマウスを作製して検討を行っています。一方、これらのマウスを用いることで、インフラマソームに限らないARIH2の新たな生体での役割がわかってくる可能性もあります。二つ目の課題は、ARIH2によるNLRP3インフラマソーム調節の分子機構の解明です。NLRP3インフラマソームは、痛風や動脈硬化、心筋梗塞、メタボリック症候群といった無菌性炎症が関わる様々な疾患で重要な働きをしていますので、この調節機構の解明は新たな治療標的の同定や治療法の開発に大きく貢献することが期待されます。



図1. NLRP3インフラマソームの活性化機構 (A) とARIH2の働き (B)