

令和6年6月11日
愛媛大学

プロテインアレイを用いた大規模探索で NLRP3 インフラマソーム活性化の新たな調節因子を発見 ～希少難病の病態解明に期待～

愛媛大学大学院医学系研究科解析病理学講座の金子直恵技術専門職員とプロテオサイエンスセンターの竹田浩之准教授、澤崎達也教授、増本純也教授らと徳島大学先端酵素学研究所の小迫英尊教授の研究グループは、愛媛大学独自の開発技術であるコムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術により合成された、ヒト由来の約20,000種類のタンパク質アレイを用いた大規模探索で、NLRP3 インフラマソーム活性化の新たな調節因子、CANE (cryopyrin-associated nano enhancer)を発見しました。

NLRP3 インフラマソームが恒常的に活性化して炎症発作が起こるクリオピリン関連周期熱症候群(CAPS)は、NLRP3 をコードする遺伝子 *CIAS1* に変異が入ることにより発症することが報告されていますが、一部、変異が認められない患者も存在しており、発症機序については未だ不明な点が多い希少難病のひとつです。今回の発見によって、CAPS の病態解明だけでなく、NLRP3 が関与することが報告されている動脈硬化症、糖尿病、アルツハイマー病などの生活習慣病に対する創薬への応用が期待されます。

本研究成果は、米国免疫学会誌「The Journal of Immunology」に掲載され、オンライン版で公開されました(令和6年5月25日(日本時間))。

つきましては、是非、取材くださいますようお願いいたします。

掲載誌: Journal of Immunology DOI: 10.4049/jimmunol.2300175

題名: CANE, a Component of the NLRP3 Inflammasome, Promotes Inflammasome Activation

和訳題名: NLRP3 インフラマソームの構成因子である CANE はインフラマソームの活性化を促進する

主な著者:

愛媛大学大学院医学系研究科 解析病理学講座 技術専門職員 金子 直恵(かねこ なおえ)

同プロテオサイエンスセンター 基盤技術開発領域プロテオ創薬科学部門 准教授 竹田 浩之(たけだ ひろゆき)

同プロテオサイエンスセンター 基盤技術開発領域無細胞生命科学部門 教授 澤崎 達也(さわさき たつや)

同プロテオサイエンスセンター 病理学部門(兼医学系研究科解析病理学講座) 教授 増本 純也(ますもと じゅんや)

徳島大学先端酵素学研究所 教授 小迫 英尊(こさこ ひでたか)

責任著者:

愛媛大学プロテオサイエンスセンター 病理学部門(兼医学系研究科解析病理学講座) 教授 増本 純也

本件に関する問い合わせ先

愛媛大学大学院医学系研究科解析病理学

増本 純也

電話: 089-960-5977

Mail: masumoto@m.ehime-u.ac.jp

※送付資料5枚(本紙を含む)

【研究の背景と経緯】

NLRP3(別名 Cryopyrin)インフラマソームは、“非自己”である細菌やウイルス由来の異物や、そのような外来の刺激によるストレスに対する細胞応答の結果、生じた“自己”由来の代謝産物を認識することにより活性化するタンパク質複合体です。これらの異物を認識する NLRP3、炎症性サイトカインである IL-1 β を活性化する caspase-1 と、それらのアダプター分子である ASC から構成されており、活性化型 IL-1 β を産生することで炎症を惹起し、生体内の恒常性を保っています。NLRP3 をコードする遺伝子 *CIAS1* に変異が入ると、上記のような異物がないにも関わらず、NLRP3 インフラマソームが持続的に活性化して炎症発作が起こる、クリオピリン関連周期熱症候群(CAPS)という希少難病の原因となることが報告されています(図1)。しかしながら、変異が認められない症例も存在しており、発症機序については未だ不明な点が多く残されています。そこで私たちは、NLRP3 インフラマソームの活性化を制御する未知のタンパク質が存在するのではないかと、という仮説を立て、NLRP3 と相互作用するタンパク質の網羅的探索を行いました。

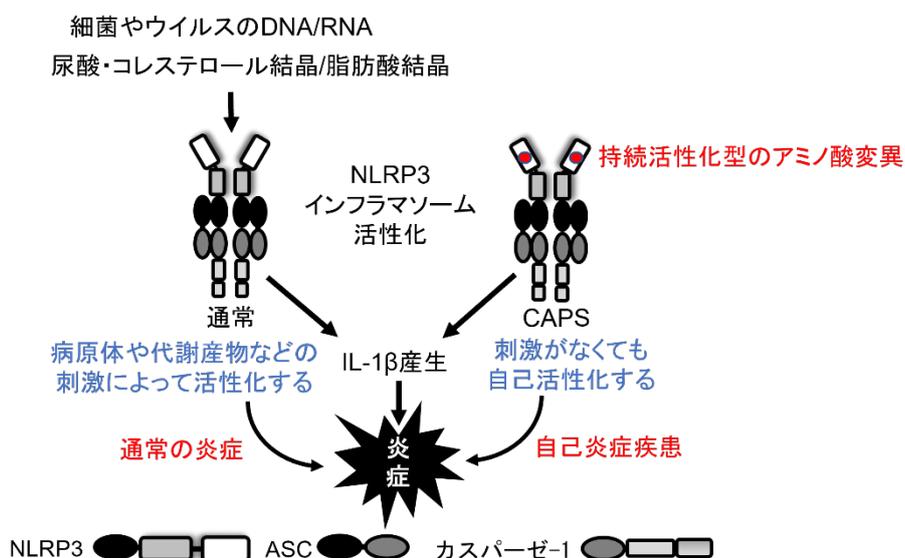


図1.通常のNLRP3インフラマソーム活性化とクリオピリン関連周期熱症候群 (CAPS)でのNLRP3インフラマソーム活性化の模式図

【研究の内容】

研究グループは、愛媛大学独自の開発技術であるコムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術により合成された、ヒト由来の約 20,000 種類のタンパク質アレイを用いた大規模探索で、NLRP3 インフラマソーム活性化の新たな調節因子を発見し、CANE (cryopyrin-associated nano enhancer) と命名しました。

単球性白血病細胞株である THP-1 細胞由来のマクロファージを、NLRP3 インフラマソームを活性化することが報告されているナイジェリシンで刺激すると、“speck(スペック)”と呼ばれる凝集塊が形成されることが知られていますが、蛍光免疫染色によって CANE は NLRP3 とともにスペ

ックに局在することが観察されました(図2矢印)。また、THP-1 細胞で発現している CANE を、モノクローナル抗体を用いて低下させると、IL-1 β の活性化が抑制されました。

次に、人為的にヒト CANE を発現させた CANE トランスジェニックマウスを作製し(図3左)、解析すると、皮下脂肪組織炎などの CAPS モデルマウスと似た表現型を示しました(図4左)。さらに、このトランスジェニックマウスの骨髄由来マクロファージをナイジェリシンで刺激すると、野生型のマウスよりも IL-1 β の産生が亢進しました。

これらの知見から、CANE は NLRP3 インフラソームの活性化を調節する因子であり、CAPS 発症の一因となる可能性が示唆されました。今回の発見によって、CANE を標的とした新たな治療法の開発が期待できます。さらに NLRP3 は、CAPS だけでなく、動脈硬化症、糖尿病、アルツハイマー病などの生活習慣病に関与することも報告されているため、これらの疾患に対する創薬への応用が期待されます。

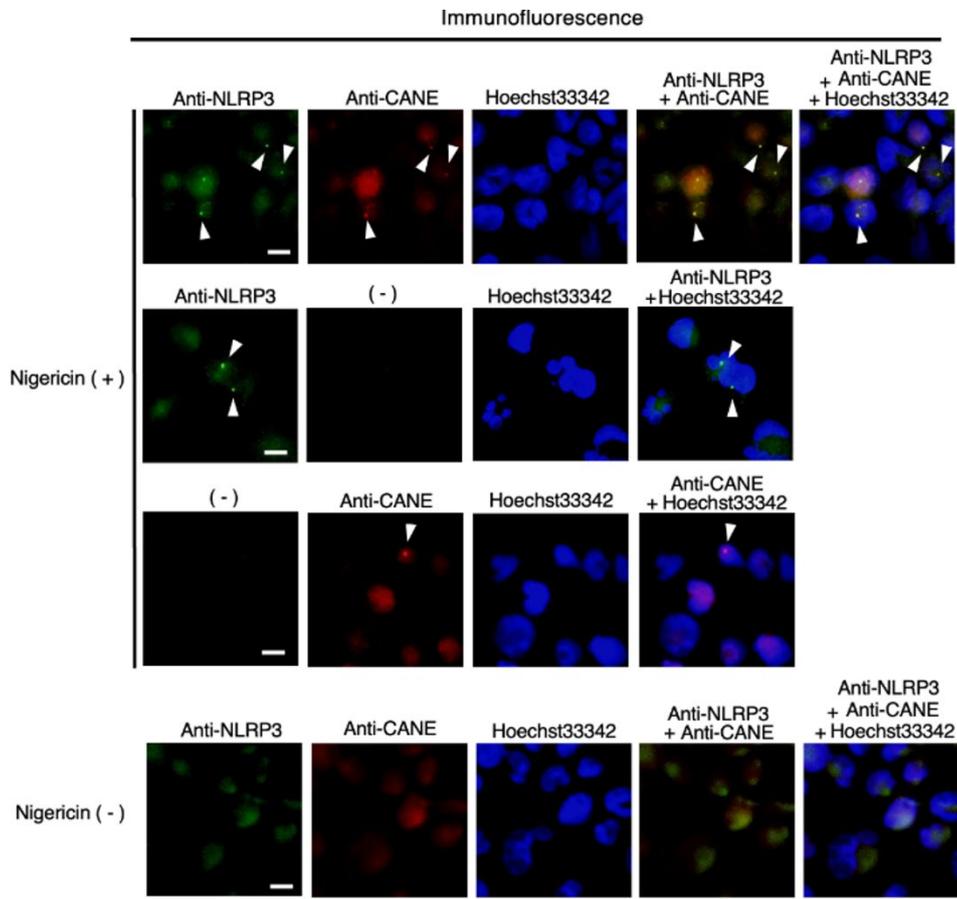


図2.THP-1細胞由来マクロファージの”speck”に凝集する新規タンパク質CANE



図3. CANEを恒常的に発現するトランスジェニックマウスは毛羽だった外観を示す

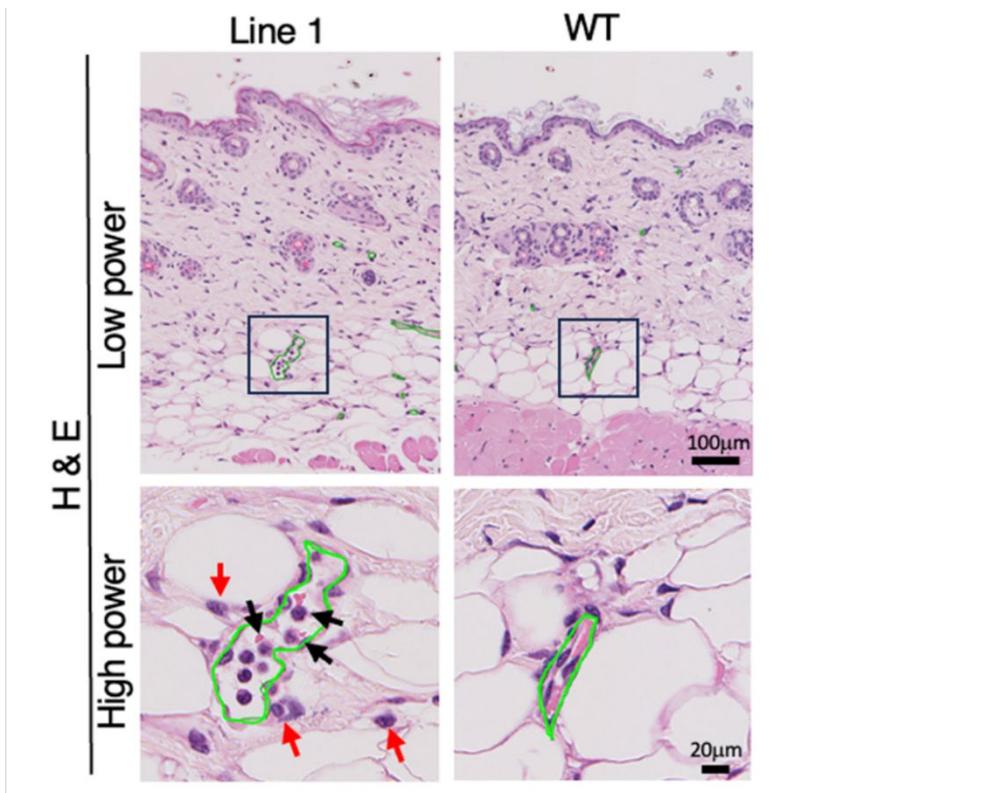


図4. CANEを恒常的に発現するトランスジェニックマウスは皮下脂肪織炎を示す

【用語説明】

ナイジェリシン

カリウム (K) イオンの膜透過性を亢進する物質のひとつ。

細胞内の K イオンが細胞外へ流出すると、NLRP3 インフラマソームにより感知されるため、NLRP3 インフラマソームを活性化させて実験を行う際によく用いられる。

モルフォリノアンチセンスオリゴ

RNA に強く結合することにより、遺伝子の発現を特異的に阻害できる DNA。

皮下脂肪組織炎

皮膚は外界に近い順に表皮、真皮、皮下組織、脂肪織からなっている。皮下脂肪織炎は皮下組織を中心にした真皮、皮下組織、脂肪織の炎症である。主に好中球の浸潤がみられることが多い。

【まとめ】

今回の研究成果により、

- 1) ヒト由来の約 20,000 種類のタンパク質アレイを用いた大規模探索で、NLRP3 インフラマソーム活性化の新たな調節因子、CANE (cryopyrin-associated nano enhancer)を発見したこと。
 - 2) 希少難病である CAPS のうち NLRP3 に変異のない症例の原因の可能性があること。
 - 3) NLRP3 が関与することが報告されている動脈硬化症、糖尿病、アルツハイマー病などの生活習慣病に対する創薬にもつながる可能性があること。
- などが示されました。