

痛風の炎症を抑えるメカニズムを解明

-微小管を介した自然免疫の活性化が生活習慣病を引き起こす-

<概要>

栄養素の過剰摂取が引き金となり発症する生活習慣病(痛風、動脈硬化や2型糖尿病など)は、現代社会における重要な健康問題となっています。近年の研究により、生活習慣病の発症には自然免疫機構を介した炎症の誘導が深く関与することが明らかになってきました。自然免疫機構は、病原性微生物を排除するための感染防御機構としてよく知られていますが、過剰栄養摂取により生じる代謝物にも反応するために、強い炎症を引き起こして生活習慣病の発症要因になってしまいます。

大阪大学 免疫学フロンティア研究センター (WPI-IFReC) の齋藤達哉准教授、審良静男教授(センター長)らは、様々な自己成分による炎症の誘導に関与する自然免疫機構である NLRP3 インフラマソームの研究を行い、痛風が発症・炎症が進行するメカニズムの詳細を明らかにしました。

過剰栄養摂取により蓄積して痛風の発症要因となる尿酸結晶は、マクロファージなどの自然免疫担当細胞を強く刺激することにより、ミトコンドリアの損傷を引き起こします。ミトコンドリアの損傷は、健康・長寿に関与する SIRT ファミリーに属する微小管機能の調節酵素 SIRT2 の活性低下につながります。SIRT2 の活性低下は微小管を介したミトコンドリアの空間配置変動を引き起こし、損傷ミトコンドリアを介した NLRP3 インフラマソームの活性化が強く促進されます。痛風治療薬であるコルヒチンは、微小管を作用標的としてミトコンドリアの空間配置変動を阻害することにより、NLRP3 インフラマソームを介して発症する痛風の炎症症状を緩和すると考えられます。

<今後の展望>

本研究では、NLRP3 インフラマソームの新たな活性化経路を同定することにより、尿酸結晶が痛風を引き起こすメカニズムの詳細を明らかにしました。特に、NLRP3 インフラマソームの活性化における微小管の重要性を示す発見は、古くから痛風治療薬として用いられているコルヒチンが炎症性サイトカインの産生を抑制することにより痛風の症状を軽減することを示すものです。

コルヒチンは微小管の機能全般を阻害するので細胞・組織への傷害性が強く、治療薬としての使用頻度は減少しています。私たちが NLRP3 インフラマソーム活性化を促進する因子として同定した α チューブリンアセチル基転移酵素 MEC17 は、特定の微小管機能を調節する酵素であるため、コルヒチンに代わる副作用の少ない治療薬を開発する上での理想的な創薬標的と考えられます。また、NLRP3 インフラマソームは2型糖尿病や動脈硬化の発症にも関与することが知られており、MEC17 はこれらの生活習慣病における創薬標的としても期待されます。

詳細な解説

<はじめに>

自然免疫機構は、病原性微生物の構成成分を認識して炎症性サイトカインやインターフェロンの産生を誘導し、感染症から身を守る役割を担う重要な感染防御機構です。しかしながら、自然免疫機構には自己成分を認識して活性化し、炎症性疾患を発症させる“負”の側面があることが近年の研究から明らかになってきました。自然免疫機構は、過栄養摂取により蓄積する代謝物に反応して過度の炎症による組織傷害を引き起こし、現代病の代表格といえる生活習慣病の発症要因となります。特に、尿酸結晶、コレステロール結晶や遊離脂肪酸などの代謝物により活性化する自然免疫関連受容体であるNLRP3は、生活習慣病の治療標的として注目されています。

NLRP3インフラマソームと炎症性疾患

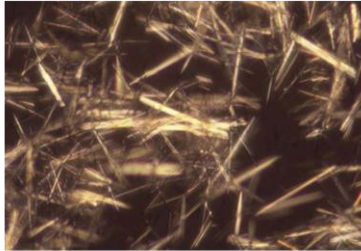
炎症誘導因子と炎症性疾患

- ・尿酸結晶 → 痛風
- ・コレステロール結晶 → 動脈硬化
- ・ヒト膜アミロイドポリペプチド → 2型糖尿病
- ・遊離脂肪酸 → 2型糖尿病
- ・βアミロイド → アルツハイマー病
- ・アスベスト・シリカ → 塵肺

↓

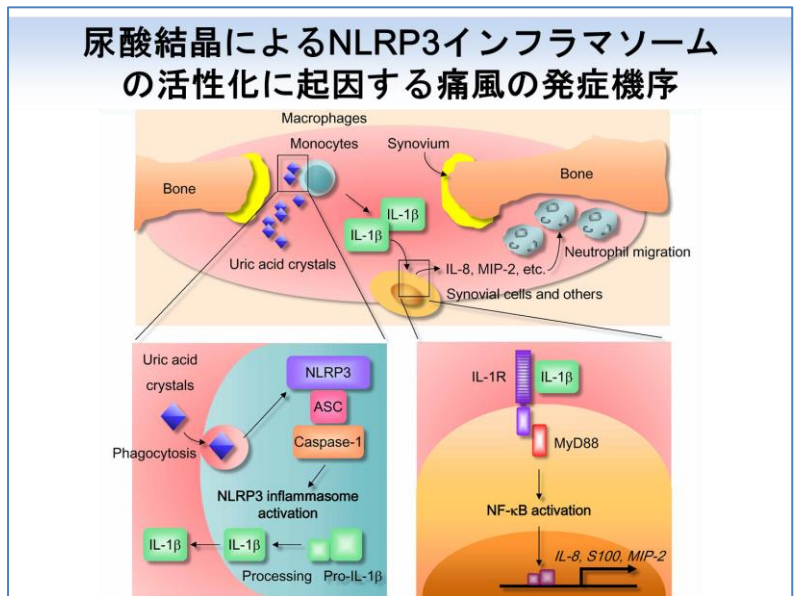
貪食細胞のリソソーム膜に障害を与えて
NLRP3インフラマソームを介した
炎症性サイトカインIL-1の産生を誘導する

痛風の原因となる尿酸結晶



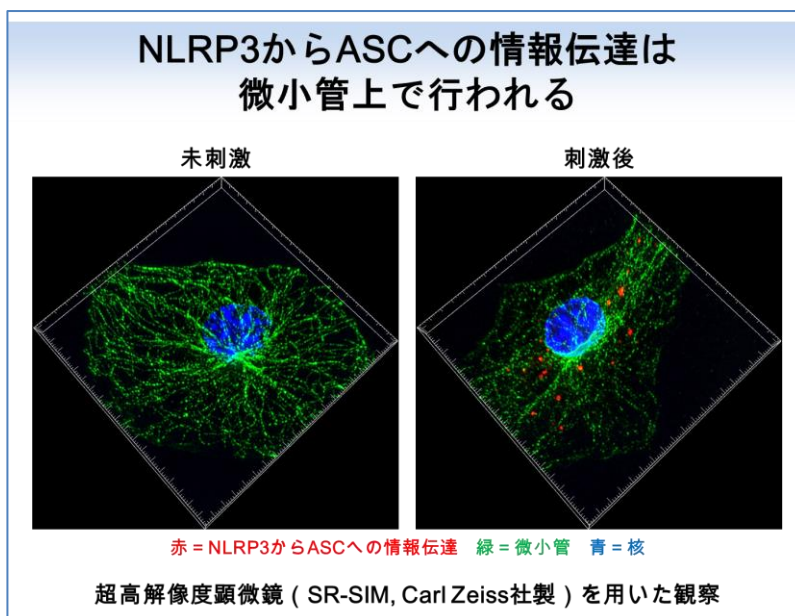
Best Practice & Research Clinical Rheumatology 23 (2009) 161–192.

NLRP3は、シグナル伝達因子ASCと共にNLRP3インフラマソームと呼ばれる複合体を形成して、プロテアーゼCaspase-1を介した炎症性サイトカインIL-1βやIL-18の成熟と産生を誘導します。このNLRP3インフラマソームの活性化は、マクロファージなどの貪食細胞において強く誘導されます。尿酸結晶やコレステロール結晶などを貪食した細胞においては、取り込まれた粒子の鋭利な部分によりリソソーム膜が損傷するため、リソソーム内容物が細胞内へ流入してミトコンドリアの損傷が起こります。貪食細胞から産生されたIL-1/IL-18は、周囲の細胞によるさらなるサイトカイン・ケモカイン産生やT細胞などの免疫細胞活性化を誘導するため、強い炎症を誘導して組織傷害を引き起こします。私たちはNLRP3インフラマソームの活性化に起因する炎症性疾患の研究に取り組んでおり(Saitoh et al., *Nature*, 2008)、現在はNLRP3インフラマソームを制御する化合物の同定とその作用機序の解明を行うことにより生活習慣病の治療法を開発することを目指しています。



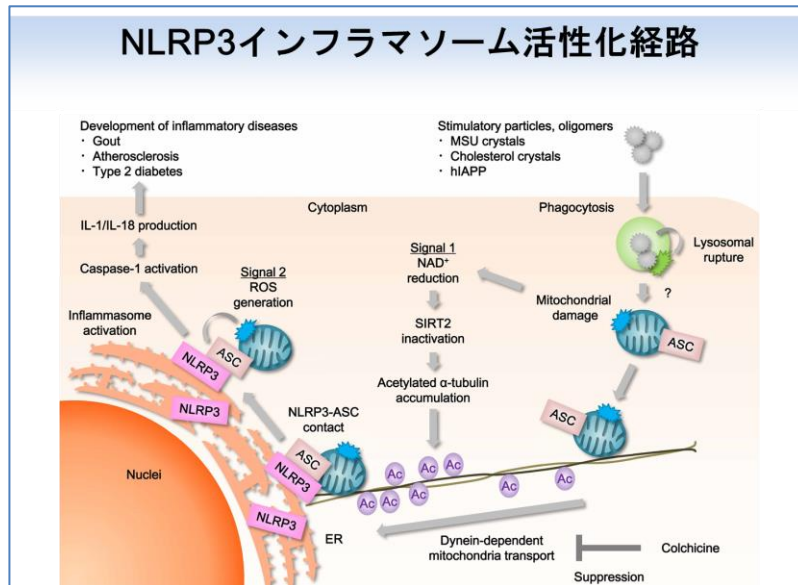
<本論>

まず初めに私たちは、化合物ライブラリーを元に、NLRP3 インフラマソームの活性化を抑制する化合物の探索を行いました。解析の結果、痛風治療薬として用いられているチューブリン重合阻害剤であるコルヒチンが、尿酸結晶刺激による NLRP3 インフラマソームの活性化を抑制することを発見しました。チューブリンは、細胞形態維持や細胞内物資輸送を行う細胞骨格である微小管の構成因子です。そこで、NLRP3 インフラマソームを介した炎症応答において微小管が果たす役割の解明に取り組みました。これまでに私たちは、核・分泌顆粒・リソソーム(Saitoh et al., *Cell Host Microbe*. 2012)、脂肪滴(Saitoh et al., *Immunity*. 2011)、小胞体・ゴルジ体(Saitoh et al., *PNAS*. 2009)、オートファゴソーム(Saitoh et al., *Nature*. 2008)に関する研究を通じて、オルガネラが自然免疫の制御に関わることを示してきました。また海外の研究グループから、NLRP3 インフラマソームの構成因子は刺激に応じて小胞体とミトコンドリアの近接領域に局在する、との報告もなされています。



そこで私たちは、オルガネラの細胞内配置に関わる微小管の役割に着目することになりました。NLRP3とASCの細胞内局在を解析した結果、尿酸結晶刺激に応じて微小管を介したミトコンドリアの小胞体近傍へと移動・集積が誘導され、ミトコンドリア上のASCと小胞体上のNLRP3が近接することによりNLRP3インフラマソームが活性化することが明らかになりました。また、コルヒチンは微小管を介してNLRP3とASCが接近することを阻害することによりNLRP3インフラマソームを介した炎症を緩和することも明らかになりました。

次に私たちは、微小管上においてミトコンドリアの輸送を促進する因子の同定に取り組みました。細胞骨格を介した細胞内物資輸送は、キネシン、ダイニン、ミオシンといったモータータンパク質により行われます。モータータンパク質の中でもダイニンは、微小管中心方向への物資輸送に関わることが知られています。このダイニンに対する特異的な阻害剤を用いた解析から、尿酸結晶刺激に応じたミトコンドリアの移動とNLRP3-ASCの近接には、ダイニンが深く関わることを明らかになりました。急性痛風マウスモデルにおいてダイニン阻害剤を投与すると、尿酸結晶により誘導される炎症性サイトカインIL-1 β の産生が顕著に減少します。



続いて私たちは、微小管を介したミトコンドリアの輸送が尿酸結晶刺激により亢進するメカニズムについての解析を行いました。微小管を介した細胞内物資輸送には、 α -チューブリンの翻訳後修飾が深く関わることが知られています。そこで α -チューブリンの翻訳後修飾に着目して解析を進めたところ、尿酸結晶の刺激に応じてアセチル化された α -チューブリンの量が増加することを見出しました。 α -チューブリンのアセチル化転移酵素である MEC17 がミトコンドリアの移動と NLRP3-ASC の近接に関わることから、アセチル化 α -チューブリンが NLRP3 インフラマソームの活性化を促進することも明らかになりました。さらに私たちは、尿酸結晶刺激に応じてアセチル化 α -チューブリンの量が増加するメカニズムについての解析を行いました。 α -チューブリンの脱アセチル化を行う酵素として、健康・長寿に関わる SIRT ファミリーに属する SIRT2 が同定されています。SIRT2 が機能するためには Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)が必要となりますが、尿酸結晶で刺激した細胞においてはミトコンドリアが傷害を受けて細胞内 NAD レベルが低下するため、SIRT2 の活性が失われた状態になります。この SIRT2 の失活によりアセチル化 α -チューブリンが蓄積し、微小管上のダイニン依存的なミトコンドリアの輸送と NLRP3-ASC の近接が引き起こされるために、NLRP3 インフラマソームが活性化すると考えられます。

<おわりに>

本研究により、NLRP3 インフラマソームの活性化は、以前から知られている NLRP3 を直接的に刺激する経路に加えて、NLRP3 インフラマソームの形成を促進する微小管を介した経路が活性化することにより、効率よく誘導されることが明らかになりました。また、コルヒチンは NLRP3 インフラマソームの活性化を抑制することにより、尿酸結晶に起因する痛風の疾患症状を緩和することも明らかになりました。微小管は様々な細胞応答に関わる鍵となる器官であるために、その機能全般を阻害するコルヒチンには細胞・組織の傷害を惹起する副作用があります。私達が NLRP3 インフラマソーム活性化の促進因子であることを見出した MEC17 は、 α -チューブリンのアセチル化という特定の翻訳後修飾を司る酵素であるため、微小管を標的とし、かつ副作用の少ない痛風治療薬を開発するための有力な創薬標的と考えられます。今後は、尿酸結晶によってミトコンドリア傷害が引き起こされる分子機序を解明すると共に、微小管を標的として特異的に NLRP3 インフラマソームの活性化を抑制する手法の開発に取り組んでいきます。

<謝辞>

本研究には、理化学研究所 NPDepo(斎藤臣雄博士・長田裕之博士)から供与された化合物ライブラリーを使用しました。また本研究は、内閣府／日本学術振興会・最先端研究開発支援プログラム、科学研究費助成事業特別推進研究および戦略的創造研究推進事業 CREST の支援を受けて行われました。

<掲載論文・雑誌>

欧文タイトル:

“Microtubule-driven spatial mitochondria arrangement promotes NLRP3-inflammasome activation”

邦文タイトル:

「微小管を介したミトコンドリアの空間配置調節は NLRP3 インフラマソームの活性化を促進する」

雑誌:*Nature Immunology*