

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

リソソーム破裂によって活性化する TAK1-JNK 経路は  
NLRP3 Inflammasome の活性化を制御する

氏 名 岡田 匡央

細胞内小器官リソソームは、細胞内で膜状に取り囲んだ生体高分子の分解や消化を担う器官であるが、決して安定的な構造を保った小器官ではない。多様なストレスに応答して、リソソーム膜は不安定化・破裂し、リソソーム内容物の細胞質への放出（Lysosome Rupture）が引き起こされる。特にマクロファージにおいては、食食依存的に Lysosome Rupture が引き起こされる。例えば、病原性細菌の一つリステリア菌を食食した際には、細菌の産生する膜溶解性の毒素が、リソソーム膜に穴を開ける。この際に Lysosome Rupture が引き起こされる。また、シリカやアスベスト、尿酸 Na 結晶のような結晶状の構造物をマクロファージが食食した際にも、結晶が針のようにリソソーム膜を物理的に突き破ることによって、Lysosome Rupture が引き起こされる。Lysosome Rupture は、細胞質に放出されたカテプシン依存的に、細胞死や NLRP3 Inflammasome の活性化を引き起こすことから、マクロファージにおける Lysosome Rupture は感染症や塵肺症、痛風症といった多様な疾患の原因となることが強く示唆されている。このように Lysosome Rupture の免疫学的意義は非常に高い一方で、その詳細な分子メカニズムには未解明な点が数多く残されている。ここでは、ストレス応答性 MAPK に着目し、①Lysosome Rupture 依存的にストレス応答性 MAPK が活性化する、②またもし活性化するのであれば、何らかの機構により細胞死や NLRP3 Inflammasome の活性化に寄与する、という仮説に基づき解析した。

その結果、Lysosome Rupture 依存的に p38 MAPK、JNK が活性化する可能性を見出した。またここで活性化した JNK が、NLRP3 Inflammasome の活性化を制御していることを見出した。次に、JNK の活性化を指標とした、MAP3K に対する網羅的な siRNA スクリーニングにより、JNK の活性化を制御する MAP3K として、TAK1 を同定した。JNK は、NLRP3 Inflammasome のアダプタータンパク質 ASC の多量体化を制御することで、NLRP3 Inflammasome、及び AIM2 Inflammasome の活性化を制御することが報告されている。実際に、TAK1-JNK 経路の阻害が、Lysosome Rupture 誘導性の NLRP3 Inflammasome の活性化、及び、ASC の多量体化を抑制していることを明らかとした。

一方で、JNK 阻害による Inflammasome 活性の抑制効果は、NLRP3 Inflammasome の活性化の抑制において強く認められることから、TAK1-JNK 経路による NLRP3 Inflammasome 特異的な活性化機構の存在を考えた。最近の知見によりミトコンドリアから放出される因子が NLRP3 Inflammasome の活性化因子として機能することが明らかとなりつつある。JNK は、Bax など Bcl-2 family protein の機能制御によりミトコンドリアを介したアポトーシス誘導に強く関与することが知られている。また ASC も Bax と相互作用し、細胞死の誘導に関与することが報告されていた。そこで、JNK によるミトコンドリア傷害もまた、NLRP3 Inflammasome の活性化に関与すると考え、検証した。その結果、ミトコンドリア由来の ROS と思われる細胞質 ROS の産生量が、TAK1-JNK 経路の阻害により部分的に減弱することが見出された。更に、ASC、Bax の Lysosome Rupture 依存的なミトコンドリアへの移行が JNK 阻害により部分的に減弱しており、かつ Bax の移行阻害ペプチドの処置が、NLRP3 Inflammasome の活性化を抑制していることを見出した。このことは、ミトコンドリア由来のアポトーシスが NLRP3 Inflammasome の活性化のシグナルとして機能することを支持するとともに、JNK はアポトーシス関連タンパク質の機能制御を介して NLRP3 Inflammasome の活性化に寄与するという新しい知見を提唱していると言える。

近年の報告において、Inflammasome 活性化過程での  $\text{Ca}^{2+}$  の役割が示唆されている。リソソーム破裂における  $\text{Ca}^{2+}$  の関与を検証した結果、 $\text{Ca}^{2+}$  が TAK1-JNK 経路の活性化に必要であり、 $\text{Ca}^{2+}$  によって活性化するキナーゼとして CaMKII が TAK1-JNK 経路の上流として機能している可能性を見出した。実際に、リソソーム破裂依存的な NLRP3 Inflammasome の活性化に関しても、CaMKII が特異的に制御している可能性を見出した。

このことはストレス応答性 MAPK 経路の活性化による、古典的なアポトーシス経路を介したミトコンドリア傷害が、ROS の細胞質への放出を促進することで、NLRP3 Inflammasome の活性化に寄与する新しい機構が存在していることを示唆している。