

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：16301
研究種目：奨励研究
研究期間：2023～2023
課題番号：23H05323
研究課題名 近位依存性ピオチン標識酵素によるNLRP3インフラマソーム活性化に関する分子の同定

研究代表者

金子 直恵 (KANEKO, Naoe)

愛媛大学・医学系研究科・技術専門職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000円

研究成果の概要：NLRP3インフラマソームは、遺伝性炎症疾患やメタボリックシンドロームなど、様々な疾患への関与が報告されている細胞内タンパク質複合体であるが、その調節機構については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、NLRP3インフラマソーム活性化のメカニズムの全体像を明らかにすることを目的として、近位依存性ピオチン標識酵素AirIDを用いて、細胞内でNLRP3と相互作用するタンパク質を網羅的に探索した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昨年度までに我々は、ヒトの約2万種類のタンパク質アレイを用いてNLRP3インフラマソームの活性化に影響を及ぼすタンパク質を同定し、cryopyrin-associated nano enhancer (CANE)と名付けた。それに加えて近位依存性ピオチン標識酵素AirIDを用いてNLRP3インフラマソーム活性化のメカニズムの全体像を明らかにすることで、NLRP3インフラマソームが関与する疾患の発症機序ならびに治療薬の開発につながる可能性がある。

研究分野：免疫学

キーワード：インフラマソーム 近位依存性ピオチン標識酵素 炎症

1. 研究の目的

インフラマソームは、炎症性サイトカインである IL-1 β や IL-18 の産生を誘導することで、炎症反応を惹起する細胞内複合体の総称で、分子パターンを認識する Nod-like receptors (NLR)s、IL-1 β 前駆体を切断して活性化する酵素である caspase-1、それらのアダプター分子としてはたらく ASC により構成されている。多くの NLRs が、遺伝性炎症疾患やメタボリックシンドロームと関連していることが報告されている。

本研究では、近位依存性ビオチン標識酵素 AirID (ancestral BirA for proximity-dependent biotin identification)を利用して、細胞内で NLRP3 と相互作用する新規タンパク質を網羅的に探索し、候補分子を含む他のどのような分子群と協働して NLRP3 の活性化を調節しているのかというメカニズムの全体像を明らかにすることを目的とする。

2. 研究成果

これまでに、NLRP3 インフラマソームが関与するとされている疾患に対する、新たな治療標的を探索する目的で、ヒトの約 2 万種類のタンパク質をアレイ化した 20K-HUPA (20K-Human Protein Array) を用いて、無細胞の条件下で NLRP3 と相互作用する新規タンパク質を網羅的に探索した。その結果、NLRP3 インフラマソームの活性化に影響を及ぼすタンパク質 cryopyrin-associated nano enhancer (CANE)を同定し、米国免疫学会の学会誌である Journal of immunology に発表した。

これに加えて本年度は、細胞内において基質としてビオチンと ATP だけで近接タンパク質のビオチン標識が行える酵素 AirID を用いて、NLRP3 インフラマソーム活性化のメカニズムの全体像を明らかにすることを試みた。

AirID を融合させた NLRP3 を HEK293T にて発現させ、NLRP3 に近接してきたタンパク質について、徳島大学の小迫英尊教授が開発したタマビジン 2-REV を用いた質量分析により同定を依頼し、選定した。

今後、20K-HUPA のデータと AirID を融合させたタンパク質のデータを組み合わせて解析を進めていく予定である。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kaneko Naoe, Kurata Mie, Yamamoto Toshihiro, Sakamoto Akimasa, Takada Yasutsugu, Kosako Hidetaka, Takeda Hiroyuki, Sawasaki Tatsuya, Masumoto Junya	4. 巻 213
2. 論文標題 CANE, a Component of the NLRP3 Inflammasome, Promotes Inflammasome Activation	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.2300175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金子直恵、倉田美恵、山本敏弘、竹田浩之、澤崎達也、増本純也
2. 発表標題 NLRP3インフラマソームの機能を調節する新規分子の同定
3. 学会等名 第46回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名