

「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」
平成23年度採択研究代表者

濡木理

東京大学大学院理学系研究科
教授

慢性炎症による疾患発症機構の構造基盤

§1. 研究実施体制

(1)「構造生物学」グループ

- 研究代表者: 濡木 理 (東京大学大学院理学系研究科, 教授)
- 研究項目
- 慢性炎症による疾患発症機構の構造基盤の解明

(2)「青木」グループ

- ① 研究代表者: 青木 淳賢 (東北大学大学院薬学研究科, 教授)
 - ② 研究項目
- NPP6の機能解析
 - PS-PLA₁の機能解析
 - LysoPS受容体のLPS₂、LPS₃の機能解析

(3)「自然炎症」グループ

- 主たる共同研究者: 徳永 文稔 (群馬大学生体調節研究所, 教授)
- 研究項目
- 脱ユビキチン化酵素によるNF- κ B制御の分子基盤

§2. 研究実施の概要

脂質炎症グループは、

- 脂質メディエーターによる慢性炎症惹起機構の解明

本年度は慢性炎症でそのレベルが上昇することが知られているリゾホスファチジン酸 (LPA) の受容体を介した機能解析を行った。LPA受容体の一つLPA₆のノックアウトマウスでは、数少なく堅牢な血管が形成されており、結果としてLPA₆ノックアウトマウスではがんの増殖や虚血後の血液の再灌流が促進されていたことを明らかにした。

- 脂質代謝物による慢性炎症の制御

細胞の増殖に必須な成分であるコリンの産生を触媒するエクト型酵素NPP6のノックアウトマウスを解析し、本マウスが脂肪肝を示すことがわかった。また、肝臓中ではNPP6は、コリントランスポーターが発現していることが知られている類洞内皮細胞に発現していた。NPP6を発現していない細胞はNPP6の基質であるグリセロホスホリルコリン (GPC) を分解しコリン源として利用することができなかった。しかし、NPP6を強制発現させるとNPP6発現細胞はGPCを分解しコリン源として利用することが可能となった。またNPP6ノックアウトマウスは野生型マウスに比べてGPCを利用し難くなっていた。一方、NPP6濡木グループの解析により、NPP6はコリンを厳密に認識する分子機構を有していることも明らかとなった。以上のことよりNPP6は肝臓の類洞内皮細胞に発現し、GPCを分解することにより、肝臓におけるコリンの取り込み機能を持つことがはじめて明らかとなった。

自然炎症グループは、NF- κ Bという炎症シグナルに中心的な役割を果たすタンパク質の研究を行った。NF- κ Bは炎症や免疫に関与する多くの遺伝子発現を指揮し、その異常は癌、関節リウマチ、糖尿病、神経変性疾患など多くの病気に関連する。NF- κ Bシグナル経路には、ユビキチン化やリン酸化という機能変換修飾が重要である。本グループでは以前、「直鎖状ユビキチン鎖」という特殊な連結様式で数珠状に繋がったユビキチンがNF- κ B制御を司ることを明らかにしたが、今年度の研究では、この直鎖状ユビキチン鎖を分解することでNF- κ B活性の抑制に働く酵素 (CYLD) がどのようにユビキチンを認識して生理機能を調節するか解明した。Sato, Y. et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 22, 222-229, (2015)

構造生物学グループでは、上記脂質炎症グループ、自然炎症グループと共同研究し、炎症シグナル因子の分子機構を構造・機能の両面から検証・解明している。脂質炎症シグナルに関しては、オートタキシン (ATX) の阻害剤を立体構造に基づき設計・改良を行い、大手製薬会社と共同開発を進める一方で、肺線維症に著効を示すアプタマーとATXの複合体構造に基づき、その阻害機構を解明し、またLPA₆に関しては、3.4 Å分解能の反射を示す結晶の作成に成功した。また、GPCを分解し、フォスホコリンを合成し、脳や肝臓や腎臓にコリンを供給するEnpp6とフォスホコリンの複合体の結晶構造を解明し、酵素反応機構を明らかにした。また自然炎症シグナルに関しては、ウイルスや細菌由来の二本鎖DNAをパターン認識してcyclic dinucleotides (CDNs) を合成し、NF- κ Bシグナルを活性化するヒト由来cGASの立体構造を解明し、DNA結合に依存したCDNの合成機構を解明するとともに、cGASがNF- κ Bシグナルにも影響を及ぼすことを初めて明らかにした。また、cGASの合成するCDNを我々が2013年に構造を決定したEnpp1が加水分解することで、STING経路を負に制御していることが報告され、我々はEnpp1とcGAMP (cyclic-GMP-AMP) との複合体構造を2.1 Å分解能で決定した。さらに、CNDを認識してER上に存在する受容体STING依存的な経路を活性化し、I型インターフェロンの産生に関与する、DDX41の結晶化に成功し、分解能1.5 Åで構造を決定することに成功した。さらに、NEMOと競合することでNF- κ B活性化経路を負に制御し、筋萎縮性側索硬化症(ALS)の原因遺伝子でもあるoptineurin (OPTN) とテトラユビキチンの複合体の構造解析に成功し、OPTN

によるユビキチン結合機構を明らかにした。さらに、多くの慢性炎症の原因が遺伝子の変異であることが明らかになって来ているが、これを根本から治療するために、ゲノム編集ツール開発のプロジェクトを開始した。そして、次世代ゲノム編集ツールとして脚光を浴びているCRISPRの1つであるCas9とガイドRNA、ターゲットDNAの複合体装置の結晶構造を2.5Å分解能で決定し、Cas9がいかにガイドRNAを特異的に認識し、ターゲットDNAを受け入れ、これを切断するかといった分子機構を、世界に先駆けて解明した。さらに、PAM認識の異なる2種類の異なる生物種由来のCas9とガイドRNA、2本鎖ターゲットDNAの4者複合体の高分解能構造解析にも成功し、PAM認識機構の原理が解明されつつある。今後、立体構造に基づいてゲノム編集ツールを改善して行くことで、慢性炎症疾患遺伝子を含む、遺伝子疾患の治療に大きく貢献することが期待される。