

【目的】 病原体成分をパターン認識受容体により感知した自然免疫機構は、適切なレベルのサイトカインやインターフェロンを産生することにより、生体を防御する。一方で、病原体が制御できる範囲を超えて増殖した際に、過剰な病原体成分に晒された自然免疫機構は、サイトカインストームなどの過度の炎症を惹起して組織障害を引き起こす。さらに、過度に摂取した栄養成分の代謝物や死細胞から放出された刺激性成分などに反応した自然免疫機構は、生活習慣病や急性組織障害などの発症要因となる。NLRP3 インフラマソームは、このような正負の両面性を有する代表的な自然免疫機構であり、様々な疾患の発症に深く関わっている。本研究では、NLRP3 インフラマソームの活性化を促進することが知られている活性酸素種に着目し、制御機序の解明と制御化合物の同定に取り組んだ。

【方法】 本研究には、生後 6~9 週齢の C57BL/6 マウスを用いた。骨髄由来マクロファージは、C57BL/6 マウスの後肢から造血幹細胞を単離した後、Macrophage colony stimulating factor を加えた RPMI 培地で培養を行うことにより分化誘導した。腹腔マクロファージは、チオグリコレートを投与した C57BL/6 マウスから単離した。Interleukin (IL)-1β は、ELISA により測定した。好中球の数は、フローサイトメーターにより CD11b(+)Ly6g(+)細胞を検出して測定した。ミトコンドリア由来の活性酸素種のレベルは、フローサイトメーターにより MitoSOX を検出して測定した。アセトアミノフェン誘導性肝炎や尿酸結晶/シリカ粒子誘導性腹膜炎などのマウス実験は、過去の論文を参考に行った。

【結果】 NLRP3 インフラマソームをより特異的に、より強力に抑制する化合物を求めて、スクリーニングを行った。最終的に、グラム陽性細菌であるストレプトマイセス属が産生する抗生物質として知られている Nanaomycin A およびその類似体を、NLRP3 インフラマソームを阻害する化合物として同定した。そこで、Nanaomycin A の作用機序解明と有用性検証を行い、以下 1~3 の成果を得た。1. Nanaomycin A は、ATP や尿酸結晶で刺激したマクロファージにおいて、活性酸素種の産生を抑制し、NLRP3 インフラマソームを介した IL-1β の放出を阻害する。2. Nanaomycin A は、ATP による NLRP3 インフラマソームの活性化が引き起こすアセトアミノフェン誘導性肝炎マウスモデルにおいて保護的に働く。3. Nanaomycin A は、尿酸結晶などの腹腔内投与が引き起こす痛風マウスモデルにおいて、治療効果を示さない。

NLRP3 インフラマソームの活性化と化合物による抑制

