

ID No.	3075
研究課題名	コレラ毒素の免疫アジュバント活性を制御する分子基盤の解明
研究代表者	改正 恒康(和歌山県立医科大学 先端医学研究所 生体調節機構研究部・教授)
研究組織 受入教員 研究分担者	三宅 健介(東京大学医科学研究所感染遺伝学分野・教授) 佐々木 泉 (和歌山県立医科大学先端医学研究所生体調節機構研究部・講師) 折茂 貴是 (和歌山県立医科大学先端医学研究所生体調節機構研究部・特別研究員) 柴田 琢磨(東京大学医科学研究所感染遺伝学分野・助教)
研究報告書	<p>コレラ毒素(Cholera toxin: CT)は、コレラ菌(<i>Vibrio cholerae</i>)から産生されるタンパク質複合体であり、毒素活性を持つAサブユニット(CTA)と細胞膜脂質GM1に結合しCTを細胞内に侵入させるBサブユニット(CTB)から構成される。CTA,CTBはそれぞれ免疫アジュバント活性を持つが、その作用機序はよくわかっていない。我々はこれまでに、組織常在腹腔マクロファージ(resident peritoneal macrophages: rPMs)において、CTBがリポ多糖(lipopolysaccharides: LPS)と協調して炎症性サイトカインIL-1βの産生を誘導すること、この誘導にNLRP3およびpyrinインフラマソームが関与することを明らかにした(Int Immunol 31:657, 2019)。また、CTも、CTBと同様の機序でIL-1βの産生を誘導することを見出した。しかし、CTBやCTが、どのようにインフラマソームを活性化するのは不明なままである。そこで本研究では、IL-1βの産生誘導を指標に、CTによる免疫アジュバント活性を制御する分子基盤の解明を試みた。</p> <p>まず、野生型マウスと細胞膜脂質GM1を欠損するマウス(β1,4-N-アセチルガラクトサミン転移酵素を欠損するマウス、以下GM1欠損マウス)に由来するrPMsについてRNAseq解析を行ったところ、CTの刺激によりGM1依存的に小胞体ストレス応答関連遺伝子群の発現が上昇することがわかった。このことから、CTは、rPMsにおいてGM1を介して細胞内に侵入後、小胞体ストレス応答を誘導することが予想された。そこで、rPMsにおけるCTの細胞内局在を検討したところ、GM1を介して細胞内に侵入したCTの大部分が小胞体に蓄積していた。小胞体ストレス応答は、小胞体での異常なタンパク質の蓄積に応答する機構であり、小胞体に局在する膜タンパクセンサーとしてIRE1α、PERK、ATF6が関与することが知られている。そこで、どのセンサーがCTによるIL-1β産生誘導に関与するかを、阻害剤を用いて検討したところ、IRE1αの阻害剤によりCTによるIL-1βの産生誘導が顕著に障害された。また、IRE1α欠損マウス由来のrPMsにおいても、CTによるIL-1β産生誘導が有意に障害された。これらの結果から、CTによるIL-1β産生誘導にIRE1αが関与することが明らかとなった。</p> <p>次に、細胞内代謝環境がCTの免疫アジュバント活性に関与する可能性を検討するため、マルチ</p>

オミックス解析を行った。その結果、CT刺激によりポリアミン代謝経路やグルタミン分解経路が誘導されることがわかった。そこで、これらの代謝経路が関与するかどうか、ポリアミン代謝酵素やグルタミン分解酵素の阻害剤により検討したところ、CTによるIL-1 β 生誘導は有意に障害された。以上の結果から、CTによるIL-1 β 産生誘導に、ポリアミン代謝経路やグルタミン分解経路が関与することが示唆された。