




琉球大学学術リポジトリ

GRIM-19は結核菌のZn²⁺メタロプロテアーゼの標的であり、NLRP3インフラマソームの活性化に必須である

メタデータ	言語: en 出版者: 琉球大学 公開日: 2022-06-10 キーワード (Ja): キーワード (En): inflammasome, interleukin-1 β , macrophages, mitochondria, Mycobacterium tuberculosis 作成者: 藏根, 友美 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002018035

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	藏根 友美
論文審査委員	審査日	令和 4年 2月 7日	
	主査教授	山下 暁朗	
	副査教授	黒柳 秀人	
	副査教授	大野 真治	
(論文題目)			
GRIM-19 is a target of mycobacterial Zn ²⁺ metalloprotease 1 and indispensable for NLRP3 inflammasome activation (GRIM-19は結核菌の Zn ²⁺ メタロプロテアーゼの標的であり、NLRP3 インフラマソームの活性化に必須である)			
(論文審査結果の要旨)			
【研究の背景とその目的】			
結核菌はマクロファージ(Mφ)に感染する細胞内寄生性細菌であり、その排除には炎症性サイトカインの Interleukin (IL) -1β が重要である。一方で、結核菌はエフェクタータンパク質である Zn ²⁺ metalloprotease 1 (Zmp1)を分泌して IL-1β の産生を阻害することで、Mφ 内での殺菌を回避することが報告されている。しかしながら、Zmp1 による IL-1β 産生阻害の具体的な分子機序は不明であったため、本研究ではこれを解明することを目的とした。			
【研究方法と結果】			
結核菌ワクチン株 BCG の野生 (WT) 株は J774.1 マウス Mφ 株の IL-1β 産生を誘導しないが、Zmp1 欠損 (Δzmp1) 株は IL-1β 産生を誘導した。この Zmp1 と会合する宿主タンパク質を同定するため、酵母 two-hybrid スクリーニングを行い、ミトコンドリア電子伝達系 Complex I の必須サブユニットの一つである GRIM-19 を分離した。CRISPR/Cas9 法により GRIM-19 遺伝子を破壊した (GRIM-19-KO) J774.1 では Δzmp1-BCG 感染による IL-1β 産生が消失した。また、結核菌による IL-1β 産生誘導に重要な NLRP3 インフラマソームに対する選択的活性化刺激である LPS+ATP 等に対しても、GRIM-19-KO J774.1 は IL-1β 産生が消失するとともに、インフラマソームによる Caspase-1 の活性化と ASC speck の形成、また NLRP3 センサー分子の活性化に必要なミトコンドリア由来活性酸素種(mtROS)の産生も低下した。さらに、GRIM-19-KO-J774.1 では WT-J774.1 と比べて定常状態の Complex I 活性およびミトコンドリア膜電位(ΔΨm)が低下しており、同様に HEK293T 細胞に Zmp1 を強制発現させても ΔΨm が低下することが明らかとなった。以上の結果より、結核菌 Zmp1 は宿主 GRIM-19 に結合し、mtROS などの NLRP3 活性化に必要な分子の生成を抑制することにより、感染 Mφ の IL-1β 産生を抑制すると考えられた。			
【研究成果の意義と学術的水準】			
本研究によって、結核菌感染時の NLRP3 インフラマソーム活性化の制御機構について新たな知見が提供された。この研究成果は Zmp1 と GRIM-19 の相互作用を阻害する新たな抗結核薬の開発に寄与し得るものである。			
以上の結果から、本研究論文は学位授与に十分値するものと判断した。			

- 備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 3 *印は記入しないこと。

(別紙様式第8号)

最終試験結果の要旨

報告番号	*課程博第	号	氏名	藏根 友美
論文審査委員	審査日	令和 4年 2月 7日		
	主査教授	山下 暁朗		(印)
	副査教授	黒柳 秀人		(印)
	副査教授	大野 真治		(印)
<p>(最終試験結果の要旨)</p> <p>GRIM-19 is a target of mycobacterial Zn²⁺ metalloprotease 1 and indispensable for NLRP3 inflammasome activation (GRIM-19 は結核菌の Zn²⁺ メタロプロテアーゼの標的であり、NLRP3 インフラマソームの活性化に必須である)</p> <p>最終試験は口頭による公開討論によって行い、以下の点を確認した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 提出論文の内容、意義についてよく理解していること。 2. 研究の目的と方法について十分理解し、熟知していること。 3. 研究結果について正しく理解していること。 4. 関連する内外の研究をよく把握していること。 5. 研究成果の展望について確かな見解を有していること <p>具体的には、「Zmp1 のプロテアーゼ活性は NLRP3 活性化抑制に必要なか」、「GRIM-19 欠損細胞に菌は感染しているのか」、「GRIM-19 以外の Zmp1 結合タンパク質を分離できたか」などの点について質問した。</p> <p>これらの関連する質問に対して十分な回答が得られたため、本学大学院博士課程を修了することに値すると判断し、よって、最終試験判定は合格とした。</p>				

- 備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
 2 *印は記入しないこと。