

感染防御に寄与する酵素の制御機構を解明

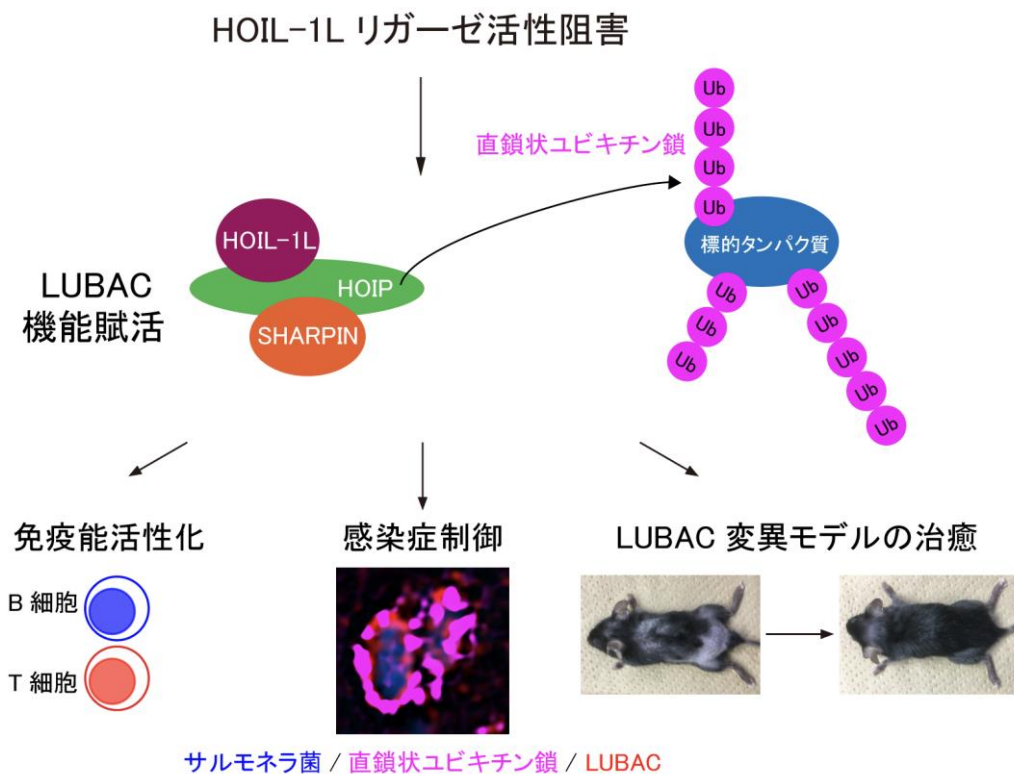
—感染症や免疫不全の新規治療ターゲットへ—

概要

京都大学大学院医学研究科 伏屋康寛 特定助教、岩井一宏 同教授、高橋良輔 同教授、キム ミンス 同特定准教授らの研究グループは、東京都医学総合研究所 大竹史明 研究員(現 星薬科大学 特任准教授)、佐伯泰 同副参事研究員らを中心としたグループと共に、免疫応答や細胞死制御に加え、感染防御に重要な役割を果たす複合体ユビキチンリガーゼ LUBAC¹⁾の新規活性制御機構を明らかにしました。

LUBAC は下図に示す様に 3 量体であり、直鎖状ユビキチン鎖を生成する HOIP に加え、HOIL-1L もユビキチンリガーゼ(E3)の酵素活性を有していますが、その役割は不明でした。今回我々は、HOIL-1L の E3 酵素活性は LUBAC の直鎖状ユビキチン鎖生成能を抑制しており、HOIL-1L の E3 活性を阻害すれば、LUBAC の機能を増強できることを見出しました。LUBAC は赤痢菌やレジオネラ菌などの細菌感染症やウイルス感染症制御に深く関わっており、LUBAC の機能低下は免疫不全を伴う自己炎症性症候群の原因となります。我々は、HOIL-1L の E3 酵素活性を阻害することでサルモネラ菌感染の抑制、LUBAC 機能不全による自己炎症性皮膚炎を治癒できることを明らかにしております。すなわち、HOIL-1L の酵素活性阻害は感染症の治療や免疫不全患者の治療につながる可能性を示唆しており、我々のグループでは HOIL-1L の E3 酵素活性阻害剤の開発に着手しております。

本研究成果は、2020年5月12日に国際学術誌「Nature Cell Biology」のオンライン版に掲載されました。



1. 背景

複合体ユビキチンリガーゼ(E3)酵素である LUBAC は、直鎖状ユビキチン鎖を特異的に生成することで刺激依存的な NF- κ B²⁾の活性化亢進、プログラム細胞死の抑制に対して中核的な機能を果たしており、それらを介して赤痢菌やレジオネラ菌などの細菌感染やウイルス感染を抑制します。NF- κ B は免疫応答に重要な役割を果たす転写因子で、LUBAC の機能低下は免疫不全を伴う自己炎症性症候群を発症します。LUBAC は直鎖状ユビキチン鎖生成活性を持つ HOIP と、HOIL-1L、SHARPIN の 3 サブユニットから構成され、HOIP のみならず HOIL-1L も E3 酵素活性を有しますが、その機能は不明でした。

2. 研究手法・成果

HOIL-1L の E3 酵素活性の機能解明をすすめる為に E3 活性を消失した HOIL-1L 変異体を細胞に導入したところ、LUBAC の活性中心である HOIP によって生成される直鎖状ユビキチン鎖が著増して、細胞死抑制と NF- κ B 活性化機能が顕著に亢進したので、HOIL-1L の酵素活性は LUBAC の機能を抑制すると考えられました。そこで、その分子メカニズムの解明をすすめたところ、HOIL-1L が LUBAC のすべてのサブユニットに一つユビキチンを付け (モノユビキチン化)、HOIP が HOIL-1L によって結合されたユビキチンを認識して、LUBAC 上に直鎖状ユビキチン鎖を形成することが判りました。LUBAC のサブユニットが直鎖状ユビキチン化されれば LUBAC の機能が低下することは知られていたため、HOIL-1L の E3 酵素活性は、HOIP が LUBAC を直鎖状ユビキチン化する「きっかけ」を作ることで LUBAC の直鎖状ユビキチン鎖生成を抑制することを明らかにしました。したがって、HOIL-1L の酵素活性が消失すれば、LUBAC が直鎖状ユビキチン化されなくなるので、LUBAC の機能が活性化されます。

LUBAC は感染防御、細胞死抑制などに関与しています。そこで、HOIL-1L の E3 活性を消失している細胞に細胞内寄生菌であるサルモネラ菌を感染させたところ、サルモネラ菌の周囲を直鎖状ユビキチン鎖が取り囲むことで(図 1)、サルモネラ菌の増殖を抑制(図 2)し、HOIL-1L の酵素活性の欠失は感染によって誘導される細胞死を抑制しました。さらに、我々が作製した HOIL-1L の E3 活性を欠損したマウスは、元気に生まれてきて発達発育も正常ですが、全身の臓器で直鎖状ユビキチン鎖が著明に増加しており、LPS / D-GalN 投与で生じる急性の肝細胞死が顕著に抑制されていました。また LUBAC のサブユニットの 1 つである SHARPIN が欠損した cpdm³⁾ マウスは LUBAC の機能低下により皮膚炎が生じますが、HOIL-1L の E3 活性を欠失して LUBAC の機能を亢進させると cpdm マウスの皮膚炎をほぼ完治できることも明らかにしました(図 3)。

3. 波及効果、今後の予定

本研究によって、HOIL-1L の E3 酵素活性を欠失させれば、感染防御や免疫応答に重要な役割を果たしている LUBAC ユビキチンリガーゼの機能を亢進させることができることが明らかになりました。近年、LUBAC は赤痢菌やレジオネラ菌等の細菌に加え、種々のウイルスに対する感染抑制にも関わっていることも明らかになっています。今回の我々の結果をあわせると HOIL-1L の E3 酵素活性を阻害することで LUBAC の機能を活性化することができ、それは感染症や免疫不全症の治療につながる可能性もあると考え、HOIL-1L の活性阻害剤の開発に向けて着手しております。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は東京都医学総合研究所と共同で行われたものです。本研究プロジェクトは、日本学術振興会・新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー：拡大するタンパク質制御システム」、日本学術振興会・基盤研

究 A 「直鎖状ポリユビキチン鎖生成リガーゼの機能とその異常による疾患発症機構」、日本学術振興会・基盤研究 S 「直鎖状ユビキチン鎖を生成する LUBAC リガーゼの統括的研究」、日本学術振興会・新学術領域研究 「ケモテクノロジーを利用したユビキチン鎖の機能解析と制御」、日本学術振興会・基盤研究 C 「病原細菌がハイジャックするユビキチン修飾システム」、日本学術振興会・新学術領域研究 「ケモテクノロジーが拓くユビキチンニューフロンティア」の支援を受けて行われました。

<用語解説>

1. LUBAC : Linear Ubiquitin chain Assembly Complex の略語。直鎖状ユビキチン鎖を特異的に生成する唯一のユビキチンリガーゼ複合体。活性中心を有する HOIP とアクセサリ分子である HOIL-1L, SHARPIN からなり、3 者で安定に存在する。

2. NF- κ B : 転写因子として働くタンパク質複合体であり、炎症応答の中核として機能する。

3. cpdm マウス : chronic proliferative dermatitis mouse の略。LUBAC のアクセサリ分子である SHARPIN を欠失したことにより、LUBAC が不安定化することで細胞死が亢進し慢性増殖性皮膚炎を始めとした全身臓器の炎症症状や種々の免疫異常を呈する。

<研究者のコメント>

LUBAC ユビキチンリガーゼ複合体には直鎖状ユビキチン鎖を生成する HOIP のみならず、HOIL-1L にも E3 リガーゼ酵素の活性があることは分かっておりましたが、その生理的意義は不明でした。本研究は、なぜ一つの E3 複体内に全く別の 2 つの E3 が共存しているのか？という疑問から始まりました。そこで HOIL-1L の E3 活性は LUBAC の機能を抑制していること、また HOIL-1L の酵素活性を欠失させれば、LUBAC の機能を賦活化できることを明らかにしました。近年 LUBAC は各種細菌、ウイルスの感染制御に関わることが報告されおり、LUBAC の機能低下は免疫不全の原因となります。今後 HOIL-1L の E3 酵素活性を抑制し LUBAC の機能を賦活化することができれば、各種感染症や免疫不全症の治療に繋がるのではないかと考え、HOIL-1L E3 酵素阻害剤の開発に着手しております。また LUBAC の活性亢進がインフルエンザウイルスの感染を抑制することが示唆されていますので、同じ RNA ウイルスである新型コロナウイルス (SARS-CoV2) 感染にも HOIL-1L E3 活性阻害剤が治療効果を発揮してくれないかと期待しております。

<論文タイトルと著者>

タイトル : The HOIL-1L ligase modulates immune signaling and cell death via mono-ubiquitination of LUBAC (HOIL-1L は LUBAC をモノユビキチン化することで免疫応答と細胞死を制御する)

著者 : Yasuhiro Fuseya, Hiroaki Fujita, Minsoo Kim, Fumiaki Ohtake, Akira Nishide, Katsuhiko Sasaki, Yasushi Saeki, Keiji Tanaka, Ryosuke Takahashi, & Kazuhiro Iwai

掲載誌 : Nature Cell Biology DOI : 10.1038/s41556-020-0517-9

<参考図表>

サルモネラ菌 / 直鎖状ユビキチン鎖 / LUBAC

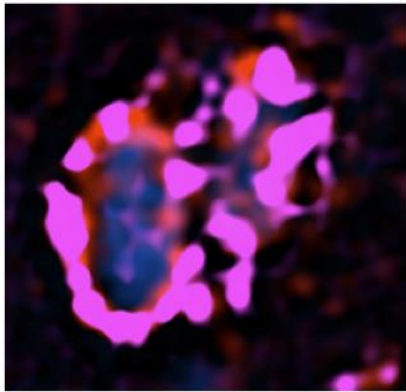


図1 サルモネラ菌に LUBAC が集積し直鎖状ユビキチン鎖を付けている

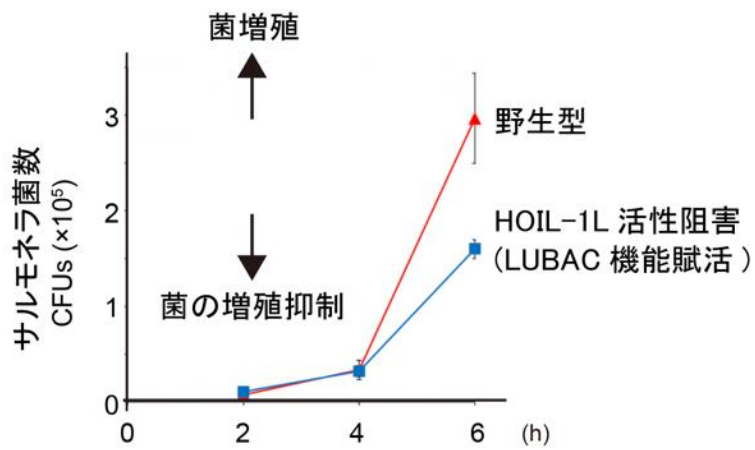


図2 LUBAC 機能賦活でサルモネラ菌の増殖抑制

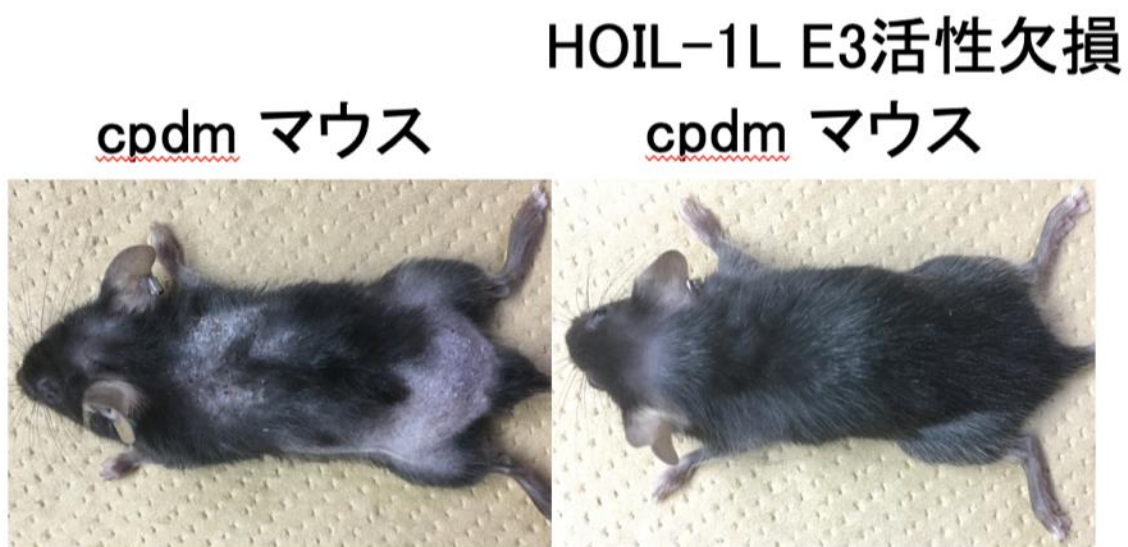


図3 HOIL-1L の E3 酵素活性を欠損させることで cpdm マウスの皮膚炎が治癒する