

|         |   |         |        |    |    |
|---------|---|---------|--------|----|----|
| 氏名（本籍）  | 大塚 茂男（茨城県）  |         |        |    |    |
| 学位の種類   | 博士（医学）  |         |        |    |    |
| 学位記番号   | 博甲第 7036 号  |         |        |    |    |
| 学位授与年月  | 平成 26 年 3 月 25 日  |         |        |    |    |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当  |         |        |    |    |
| 審査研究科   | 人間総合科学研究科   |         |        |    |    |
| 学位論文題目  | SQSTM1/p62/A170 regulates pulmonary inflammation induced by legionella infection by modulating inflammasome activity<br>(SQSTM1/p62/A170 はインフラマソーム活性を調節することによりレジオネラ感染による肺炎症を制御する) |         |        |    |    |
| 主       | 査   | 筑波大学教授  | 医学博士   | 高橋 | 智  |
| 副       | 査   | 筑波大学准教授 | 医学博士   | 竹内 | 薫  |
| 副       | 査   | 筑波大学准教授 | 医学博士   | 鬼塚 | 正孝 |
| 副       | 査   | 筑波大学講師  | 博士（医学） | 下條 | 信威 |

## 論文の内容の要旨

### （目的）

Sequestosome1/A170/p62 (SQSTM1)はシグナル伝達、細胞浸潤、オートファジー、炎症といった様々な細胞内活動に関与すると考えられる多機能タンパクである。SQSTM1 は環境ストレスに応答してマクロファージで発現するが、病原体をはじめとした様々な刺激に対する宿主応答における役割は明らかにされていない。本論文では *L. pneumophila* 感染後の宿主応答における SQSTM1 の役割を明らかにする目的で実験を行った。

### （対象と方法）

著者は野生型及び SQSTM1 欠損マクロファージを用いて、*L. pneumophila* 感染後の生存率、菌の増殖、培養上清中の炎症性サイトカイン濃度測定、細胞内 mRNA およびタンパク発現量について検討した。NLRP3 インフラマソーム活性化因子として ATP およびシリカを用いて野生型及び SQSTM1 欠損マクロファージを刺激し、培養上清中の炎症性サイトカイン濃度測定、細胞内 mRNA およびタンパク発現量について検討した。SQSTM1 の作用機序を明らかにするために、SQSTM1 と NLRP3、IPAF、ASC、caspase-1 との共免疫沈降を実施した。野生型及び SQSTM1 欠損マウスを用いて、*L. pneumophila* 感染後の生存率、菌の増殖、肺病理所見、気管支肺胞洗浄

液(BALF)中の炎症細胞数および分画、BALF 中の炎症性サイトカイン濃度について検討した。野生型及び SQSTM1 欠損マウスを用いて、LPS 気管内投与後の肺病理所見、気管支肺胞洗浄液(BALF)中の炎症細胞数および分画について検討を行った。

#### (結果)

SQSTM1 欠損マクロファージでは *L. pneumophila* 感染後の生存率、菌の増殖は野生型マクロファージと差を認めなかったが、培養上清中の IL-1 $\beta$ , IL-18 濃度は有意に上昇し、また、caspase-1 活性が有意に亢進していた。SQSTM1 欠損マクロファージでは野生型マクロファージと比較して ATP およびシリカ刺激により培養上清中の IL-1 $\beta$  濃度の有意な上昇を認めた。SQSTM1 と強制発現させた IPAF または NLRP3 はお互いに共免疫沈降された。同様に野生型マクロファージ内で SQSTM1 により NLRP3 は共免疫沈降されたが、ASC と caspase-1 は共免疫沈降されなかった。*L. pneumophila* 気管内投与後の SQSTM1 欠損マウスでは野生型マウスと比較して生存率、菌の増殖には差を認めなかったが、病理所見上明らかな急性肺炎症の亢進を認めた。また、SQSTM1 欠損マウスでは野生型マウスと比較して BALF 中の好中球数および IL-1 $\beta$  の有意な上昇を認めた。SQSTM1 欠損マウスでは LPS 気管内投与でも同様に野生型マウスと比較して急性肺炎症の程度が強くなり、また、BALF 中の好中球数が有意に増加していた。

#### (考察)

SQSTM1 はマクロファージ内でインフラマソーム構成タンパクの一つである Nod-like receptor(NLR)と直接結合することでインフラマソームの活性化を抑制すると考えられた。インフラマソーム活性化抑制は IL-1 $\beta$  をはじめとする炎症性サイトカイン産生の抑制を通して、炎症反応にネガティブフィードバックをかけ、過剰な炎症を抑制することにつながると考えられた。この機序を介して、SQSTM1 は病原体や異物等により惹起される急性肺炎症が過剰になることを抑制していると考えられた。

### 審査の結果の要旨

#### (批評)

本論文において SQSTM1 の持つインフラマソーム活性化抑制機能を明らかにしたことは、炎症コントロールが必要な病態に対する新たな治療戦略を提供する意味で意義深いと考えられる。

平成 25 年 12 月 27 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。