

## インフラマソームを介した炎症誘導機序の解明と治療標的分子の同定

原 英樹

慶應義塾大学医学部 微生物学免疫学

### 【研究の背景】

自然免疫機構であるインフラマソームは、外因性の微生物成分、および内因性の異常代謝産物などを細胞内で感知する異物認識機構である(図1)。インフラマソームの主な構成因子は、細胞内受容体、アダプター分子 ASC、タンパク分解酵素カスパーゼ1前駆体であり、カスパーゼ1の活性化を介して炎症性サイトカインであるIL-1 $\beta$ やIL-18の産生および炎症性細胞死パイロトーシスを誘導する。あらゆる臓器でインフラマソームは活性化しうるため、脳梗塞やアルツハイマー病、動脈硬化、糖尿病など様々な疾患の発症および重症化に関与する。われわれは独自の研究から、黄色ブドウ球菌やリステリアなどの感染症においてインフラマソーム応答が活性化すると病態が重症化することを世界に先駆けて突き止めた<sup>1)</sup>。

インフラマソームの細胞内受容体としては、これまでに7種類の分子が同定されており、それぞれ異なるリガンドを認識することが明らかとなってきた。一方で、細胞内受容体より下流のシグナル経路を制御する分子機構はいまだ不明な点が多い。

### 【目 的】

インフラマソームは脳神経系疾患や感染症、自己免疫疾患などの重症化に関与する。本研究はいまだ不明な点が多いインフラマソームの制御機序を解明することでインフラマソーム関連疾患の治療標的分子を探索することを目的とする。

### 【方 法】

研究計画①:インフラマソーム応答の制御に関わる分子の同定

通常、ASCは細胞質内に発現しているが、細胞内受容体と会合することで劇的な局在変化を起こし、核の近傍に凝集体(ASC speckと呼ぶ)を形成する(図2)。そこでインフラマソーム活性化時にASCと会合する分子を調べたところ、いくつかのタンパクが候補として挙がってきた(未発表データ)。そこでLPSでプライミングしたマクロファージで分子の挙動を調べるために免疫染色を行った。また、候補分子に特異的な阻害剤で1時間処理し、NLRP3インフラマソーム活性化剤であるnigericinで刺激後、インフラマソーム応答の指標となるIL-1 $\beta$ の産生をELISAで検出した。結果は統計解析を行い、有意差が $p < 0.05$ を\*で示す。

研究計画②:ASCのリン酸化がインフラマソーム関連疾患の病態形成に与える影響

われわれがASCの制御機構について検討を行ったところ、インフラマソーム活性化時にASCがリン酸化修飾を受けていることが判明した<sup>2)</sup>。そこで、あるリン酸化部位に変異を加えたASCを発現するマクロファージ株を作製し、NLRP3インフラマソーム活性化剤であるnigericinおよびAIM2インフラマソームの活性化剤であるpoly(dA:dT)で刺激後、インフラマソームの活性化の指標としてIL-1 $\beta$ の産生をELISAで測定した。さらに、病態への関与を調べるために、同変異を加えた遺伝子組換えマウスを作製した。*Listeria monocytogenes*(リステリア)感染はインフラマソーム応答により増悪化することから<sup>1)</sup>、リステリアを経静脈感染後、臓器をホモジナイズしBHI寒天培地で培養することで生菌数を測定した。

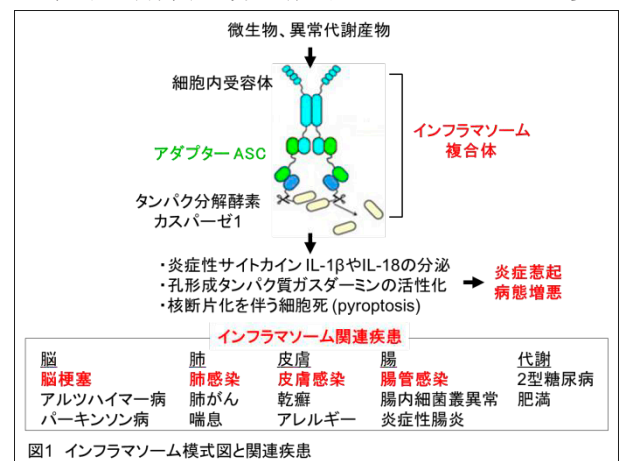
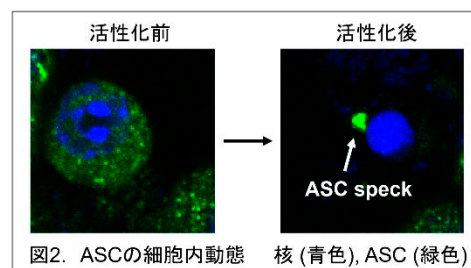


図1 インフラマソーム模式図と関連疾患

## 【結 果】

研究計画①: インフラマソーム応答の制御に関わる分子の同定

ASC と会合する候補分子として、ある分子(発表前なのでタンパク質 A とする)のインフラマソーム応答への関与を調べたところ、インフラマソーム活性化後の ASC とタンパク質 A が細胞内で共局在していることが判明した(未発表データ)。そこで、タンパク質 A 特異的な阻害剤でマクロファージを処理したところ、濃度依存的に IL-1 $\beta$  の産生量が減少した(図3)。一方で、コントロール阻害剤では IL-1 $\beta$  の産生に影響がないことから、タンパク質 A が特異的に ASC 介してインフラマソーム応答を制御していることが示された。



研究計画②: ASC のリン酸化がインフラマソーム関連疾患の病態形成に与える影響

ASC のリン酸化候補アミノ酸の 1 つに変異を加えたマクロファージ株(発表前なので ASC 変異体とする)を nigericin で刺激したところ、野生型と比較して IL-1 $\beta$  産生が有意に減少した(未発表データ)。また、poly(dA:dT)で刺激した場合も IL-1 $\beta$  産生が低下したことから、本リン酸化は NLRP3 や AIM2 インフラマソームに共通する重要な翻訳後修飾であることが判明した。また個体レベルで検討するために、同アミノ酸変異を有する遺伝子改変マウスにリステリアを感染させたところ、野生型マウスと比較して臓器内における菌の増殖が有意に低下した(未発表データ)。以上の結果から、細胞内受容体を介した異物認識に加えて、ASC の翻訳後修飾もインフラマソームの活性化に必須であることが明らかとなった。

## 【考 察】

インフラマソームは炎症性サイトカインの産生と細胞死を制御することで脳神経系疾患や自己免疫疾患、感染症など様々な疾患の病態形成に関わる。今回の研究から、細胞内受容体によるリガンド認識に加えて、アダプター分子 ASC が翻訳後修飾を受けることでインフラマソーム応答を制御する共通システムが存在することが明らかとなった。また、リン酸化とは異なるタンパク質 A を介した ASC の新規制御機構も明らかとなった。今後、インフラマソームの制御に関わる詳細なメカニズムを解明し、これらを標的とした阻害化合物を設計することで、インフラマソームを介した炎症応答を効率的に抑制することが可能になると考えられる。

以上のような研究の進展に大なる援助をいただいた先進医薬研究振興財団に心より感謝申し上げます。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究で検討した感染症だけでなく、上述した脳神経系疾患や自己免疫疾患など幅広い疾病の重症化にインフラマソームは関わる。しかしながら、インフラマソーム阻害薬はいまだ実用化されていない。本研究の知見などを基に ASC を標的としたインフラマソーム阻害薬を開発することで多岐にわたる疾患の新規治療法に応用できることが期待される。

## 【参考・引用文献】

1. \*Hara H, Seregin SS, Yang D, Fukase K, Chamaillard M, Alnemri ES, Inohara N, Chen GY and Núñez G: The NLRP6 inflammasome recognizes lipoteichoic acid and regulates Gram-positive pathogen infection. Cell 175: 1651-1664, 2018.
2. Hara H, Tsuchiya K, Kawamura I, Fang R, Hernandez-Cuellar E, Shen Y, Mizuguchi J, Schweighoffer E, Tybulewicz V and Mitsuyama M. Phosphorylation of the adaptor ASC acts as a molecular switch that controls the formation of speck-like aggregates and inflammasome activity. Nat. Immunol. 14: 1247-1255, 2013.

