

状を訴えることもある。腹膜炎による急性の腹痛は、腹水や腹膜刺激症状等の所見を伴うこともあり、急性腹症との鑑別が重要である。女性の場合、生理で誘発されることもあり、激しい下腹部に限局した腹膜炎症状を呈することもある。滑膜炎は、膝関節、足関節などの下肢の単関節で発症することが多く、組織学的には、滑膜組織への好中球浸潤を特徴とする。関節炎発作は、発熱発作と同様に、数日以内で消退することが多いが、筆者らは遷延する関節炎（関節水腫）を呈した症例を経験している¹¹⁾。また頻度は少ないが、心外膜炎、無菌性髄膜炎、丹毒様紅斑などの随伴症状がみられることもある。

FMF の診断

FMF の診断には、Tel-Hashomer criteria（表 1）が海外では用いられているが¹²⁾、後述する不完全型 FMF の識別には有用であるが、漿膜炎発作を限局型、非限局型に分類するなど難解な点も多い。著者らは、FMF の全国疫学調査で FMF 典型例の抽出するため、本邦例の臨床的特徴をふまえ Tel-Hashomer criteria をもとに簡便な診断基準を作成した（表 2）。本診断基準は、FMF に特徴的な周期性発熱を主症状に加え、漿膜炎、滑膜炎などの随伴症状、発作時の急性期蛋白の上昇、コルヒチンによる症状の改善など副項目のどれか 1 項目満たしている場合、FMF と診断する診断基準である、FMF のスクリーニングに有用と思われるが、感染症、自己

表 1 家族性地中海熱の臨床的診断基準（Tel-Hashomer criteria）

Major criteria
1-4. 典型的発作
1. 腹膜炎（非限局性）
2. 胸膜炎（片側性）、または心膜炎
3. 単関節炎（股関節、膝関節、足関節）
4. 発熱のみ（38℃ 以上）
Minor criteria
1-2. 不完全な発作は、下記の部位のひとつ以上を含む
1. 胸膜炎、または心膜炎
2. 単関節炎（股関節、膝関節、足関節）
3. 労作後の下肢痛
4. コルヒチンの良好な反応性

Major criteria の 1 項目以上、または、Minor criteria の 2 項目以上で診断。典型的 FMF 発作は 38℃ 以上の発熱を伴う 12 時間～3 日間続き、同じ型の発作を 3 回以上繰り返す。不完全な発作とは、以下の 1～2 項目において典型的な発作とは異なる。①発熱が 38℃ 未満、②発作期間が 6 時間～1 週間、③腹痛発作の間に、腹膜炎所見がないか、限局性の腹膜炎、④上記の関節以外に関節炎を認める。

免疫疾患、腫瘍などの鑑別は必要である。

本邦 FMF 症例の臨床的特徴

著者らは、平成 21 年度、厚生労働省難治性克服研究事業奨励分野の研究として FMF の全国疫学調査を行ったのでその結果をふまえ本邦症例の臨床像について解説する。

〈患者数〉

平成 21 年度「特定疾患の疫学に関する研究班」との協同で、FMF の全国調査を行った。全国の病院の中から内科（膠原病内科）、小児科、リウマチ科を有する医療機関を選び、無作為に抽出し調査医療機関を決定した。前述の FMF の診断基準を満たす FMF 患者の有無について、一次調査を行い（回答率 61.3%）、推計した患者総数は 292 人（95% 信頼区間：187 人～398 人）であった。診療科別の推計

表 2 家族性地中海熱の診断基準（Tel-Hashomer criteria を改変）

必須項目
12 時間から 3 日間続く 38 度以上の発熱を 3 回以上繰り返す
補助項目
1. 発熱時の随伴症状として、
a 非限局性の腹膜炎による腹痛
b 胸膜炎による胸背部痛
c 関節炎（股関節、膝関節、足関節）
d 心膜炎
e 精巣漿膜炎
f 髄膜炎による頭痛
a～f のいずれかを伴う
2. 発熱時に CRP や血清アミロイド A (SAA) など炎症検査所見の著明な上昇を認めるが、発作間歇期にはこれらは消失する
3. コルヒチンの予防内服によって発作が消失あるいは軽減する

必須項目と、補助項目のいずれかを 1 項目以上認める場合に診断ただし、感染症、自己免疫疾患、腫瘍などの発熱の原因となる疾患を除外する（備考：必須項目、あるいは補助項目のどれか一項目以上有する症例は疑い症例とする）

表 3 本邦における家族性地中海熱の推計患者数

	推計患者数 ± 標準誤差	(95% 信頼区間)
内科（膠原病科）	129 ± 45	(40-218)
小児科	118 ± 27	(65-172)
リウマチ・アレルギー科	45 ± 10	(27-64)
計	292 ± 54	(187-398)

表4 本邦 FMF 症例の発症年齢 (n=134)

発症年齢	男 (n=59)		女 (n=75)		Total (n=134)		
	n	%	n	%	n	%	
0-9	9		25		34	25.4	62.7%
10-19	22		28		50	37.3	
20-29	14		9		23	17.2	37.3%
30-39	6		3		9	6.7	
40-49	3		6		9	6.7	
≥50	5		3		8	6.0	
発症年齢	22.5±14.4		17.2±15.7		19.6±15.3		
診断時年齢	30.8±18.7		27.0±18.3		28.7±18.5		
発症から診断までの期間	8.3±8.9		9.7±9.6		9.1±9.3		

表5 本邦 FMF 症例の各種臨床症状の頻度と海外症例との対比

臨床症状 (%)	日本	トルコ	イスラエル	アラブ
患者数	134	2838	470	175
発熱	95.5	92	100	100
腹痛	62.7	93	95	94
胸痛	35.8	31	43	32
関節痛	31.3	47	75	33
皮疹	7.5	21	4	3
アミロイドーシス	3.7	13	27	3
文献		13	14	15

値は、内科（膠原病内科）129人、小児科118人、リウマチ・アレルギー科45人であった（表3）。

〈本邦 FMF 症例の臨床像の解析〉

二次調査で臨床情報が得られた134名において臨床像を解析した。その結果、発症年齢が19.6±15.3歳と海外症例に比べ高く、発症から診断まで平均9.1年要していることが判った（表4）。主な症状は、発熱（95.5%）、腹痛（腹膜炎症状）（62.7%）、胸痛（胸膜炎症状）（35.8%）、関節炎（滑膜炎）（31.3%）、皮疹（7.5%）であった。海外症例に比べ¹³⁻¹⁵⁾、腹膜炎症状（腹痛）の頻度が低いことがわかった（表5）。治療に関しては、92%の症例にコルヒチンが投与されており、コルヒチンの有効率は91.8%であった。

〈遺伝子変異型と表現型〉

MEFV遺伝子検査がなされていた症例は、126名（94%）であった。その内訳は、exon10変異例（55.4%）、exon10以外の変異例は（31.3%）であり、M694I, E148Q変異の複合ヘテロ接合体、M694Iの

表6 本邦 FMF 症例の MEFV 遺伝子変異型 (n=126)

Mutation	Number of patient	
	n	%
M694I/M694I	8	6.3
M694I/normal	16	12.7
M694I/E148Q	25	19.8
M694I/L110P	2	1.6
M694I/E148Q/L110P	14	11.1
M694I/E148Q/E148Q/L110P/L110P	1	0.8
M680I/E148Q/L110P	1	0.8
E148Q/E148Q	1	0.8
E148Q/E148Q/L110P	2	1.6
E148Q/E148Q/P369S/R408Q	2	1.6
E148Q/normal	8	6.3
E148Q/L110P	7	5.6
E148Q/R202Q	2	1.6
E148Q/G304R	1	0.8
E148Q/S503C	1	0.8
E148Q/L110P/R202Q	1	0.8
E148Q/R369S/R408Q	5	4.0
E148Q/R202Q/R369S/R408Q	1	0.8
E148Q/G304R/R369S/R408Q	1	0.8
R202Q/normal	1	0.8
S503C/normal	1	0.8
E84K/normal	3	2.4
P369S/R408Q	5	4.0
(-)	17	13.5
Total	126	

ヘテロ接合体が半数近くを占めており、M694Iのホモ接合体は全体の6%にすぎなかった（表6）。exon10変異例は、漿膜炎の頻度が有意に高いことが判った。またexon10以外の変異例は、漿膜炎の頻度が低いのに対し、関節痛の頻度が高く、遺伝子変異型と表現型（臨床症状）に関連があることが示された。（表7）

表7 MEFV 遺伝子変異と臨床症状の相関

臨床症状	Total (n=126)	MEFV 遺伝子 exon10 に変異あり n=67 (%)	MEFV 遺伝子 exon10 に変異なし n=59 (%)	p 値
腹痛	79(62.7)	50(74.6)	29(49.2)	0.001
胸痛	48(38.1)	40(59.7)	8(13.6)	0.0001
関節痛	41(32.5)	15(22.4)	26(44.1)	0.021
筋痛	15(11.9)	7(10.4)	8(13.6)	0.641
アミロイドーシス	5(4.0)	3(4.5)	2(3.4)	0.560
発症年齢	19.1±15.1	17.9±11.6	20.6±18.3	0.915
男/女	53/73	34/33	19/40	0.035
家族歴	32(25.4)	24(35.8)	8(13.6)	0.004

治 療

FMF の治療の中心はコルヒチン投与であり¹⁶⁾, コルヒチンの投与は, 小児例においても, 症状の改善, アミロイドーシスの予防のために考慮されるべきである. 小児におけるコルヒチンのは 0.01~0.02 mg/kg/day で開始し, 無効な場合は 0.03 mg/kg/day まで増量する. 成人においては, 1 mg/day (1 日 2~3 回の分割投与が望ましい) が至適投与量であるが, 本邦例においては, 0.5 mg/day と比較的少ない投与量でも改善がみられることがある. 一方, 1 mg/day のコルヒチンで, 症状の改善がみられない場合は, 2.5 mg/day まで増量して見る必要がある. コルヒチン治療で改善がみられない場合やコルヒチンが副作用のため使用できない場合は, 代替治療が必要である. その場合, 治療効果が確認されている薬剤は, TNF- α , IL-1 β などを阻害する生物学的製剤である.

FMF の病態を考えると IL-1 β の阻害が理想的であるが, 本邦においては TNF 阻害剤であるインフリキシマブの奏効例がすでに報告されている¹⁷⁾. アナキンラなどの IL-1 β 阻害薬の FMF に対する有効性は, すでに海外で報告されている^{18,19)}.

合併症, 予後

FMF の予後に影響する重大な合併症, 遷延する炎症に続発する AA アミロイドーシスである. 全国調査の結果でも 134 名中 5 名 (約 4%) にアミロイドーシスの合併がみられ, 5 名中 1 名は, 末期腎不全を呈していた. アミロイドーシス合併頻度は, コルヒチンの投与開始時期が遅れている本邦の状況を考慮しても, 海外症例に比べ, 明らかに低い. その原因として, 日本には, 重症例に多くアミロイ

ドーシス合併にも関連があると考えられている M694V 変異例がみられないことが原因のひとつと考えられ, 遺伝子変異型と重症度の関連が示唆される. アミロイドーシスを合併した本邦の FMF 症例の発症から治療開始までの平均期間は, 20.1±4.5 年と長く, アミロイドーシスの合併予防には, FMF の早期治療, 早期治療介入が必要と考えられる.

不完全型 FMF の存在

典型的な FMF は, 発熱発作, 漿膜炎発作が半日~3 日以内のことが多い. 一方, 不完全型 FMF は, 発熱期間が典型例と異なり, 数時間以内であったり, 4 日以上持続したり, 38°C 以上の発熱がみられないこともある. また, 漿膜炎発作が典型的でなく, 関節痛, 筋肉痛などの非特異的の症状がみられることがある^{20,21)}. これら病像を呈する症例は不完全型 FMF (FMF variant) である可能性があり, MEFV 遺伝子変異検査が診断の補助となる. FMF variant では, MEFV 遺伝子 exon10 の変異は少なく exon1 (E84K), exon2 (E148Q, L110-E148Q, R202Q-G304R), exon3 (P369S-R408Q), exon5 (S503C) の変異を伴っていることがある. これら FMF variant においてもコルヒチン投与により症例の改善を認めることがあり, 診断的治療を兼ねてコルヒチンの投与が望まれる.

おわりに

今回の全国調査の結果から, 本邦において一定数の FMF 症例が存在し, その臨床的特徴も明らかになった. 本邦症例は, 海外例に比べ遺伝子変異型が異なっており, 腹膜炎, アミロイドーシスの頻度も低いことが判った. 本邦 FMF 症例の重症度は, 海

外症例に比べて、低いと考えられるが、治療介入が遅れると、アミロイドーシスなど生命予後に関わる合併症が発生する可能性があり、早期診断、早期治療介入が望まれる。また非特異的症状を呈する不完全型 FMF の存在が示唆されており、その実態を明らかにする必要があると考えられる。

謝辞：「家族性地中海熱の全国調査」にご協力いただいた先生方に、感謝申し上げます。

本研究は、「厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業」によって行われました。

文 献

- 1) The International FMF Consortium. : Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell*. **90** : 797–807, 1997.
- 2) Hayashi, A., et al. : Periodic fever suppressed by reserpine. *Lancet*. **1** : 592, 1976.
- 3) Shinozaki, K., et al. : Familial Mediterranean fever in 2 Japanese families. *J Rheumatol*. **29** : 1324–1325, 2002.
- 4) Tsuchiya-Suzuki, A., et al. : Clinical and genetic features of familial Mediterranean fever in Japan. *J Rheumatol*. **36** : 1671–1676, 2009.
- 5) van de Veerdonk, F. L., et al. : Inflammasome activation and IL-1 β and IL-18 processing during infection. *Trends Immunol*. **32** : 110–116, 2011.
- 6) Masters, S. L., et al. : Horror autoinflammaticus : the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease (*). *Annu Rev Immunol*. **27** : 621–668, 2009.
- 7) Chae, J. J., et al. : Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. *Mol Cell*. **11** : 591–604, 2003.
- 8) Chae, J. J., et al. : Gain-of-function Pyrin mutations induce NLRP3 protein-independent interleukin-1 β activation and severe autoinflammation in mice. *Immunity*. **34** : 755–768, 2011.
- 9) Wittkowski, H., et al. : S100A12 is a novel molecular marker differentiating systemic-onset juvenile idiopathic arthritis from other causes of fever of unknown origin. *Arthritis Rheum*. **58** : 3924–3931, 2008.
- 10) Migita, K., et al. : Expression of CD64 on polymorphonuclear neutrophils in patients with familial Mediterranean fever. *Clin Exp Immunol*. **164** : 365–372, 2011.
- 11) Migita, K., et al. : Protracted synovitis without systemic manifestations in familial Mediterranean fever (FMF). *Clin Exp Rheumatol*. **28** : S99, 2010.
- 12) Livneh, A., et al. : Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum*. **40** : 1879–1885, 1997.
- 13) Tunca, M., et al. : Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey : results of a nationwide multicenter study. *Medicine*. **84** : 1–11, 2005.
- 14) Sohar, E., et al. : Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature. *Am J Med*. **43** : 227–253, 1967.
- 15) Barakat, M. H., et al. : Familial Mediterranean fever (recurrent hereditary polyserositis) in Arabs—a study of 175 patients and review of the literature. *Q J Med*. **60** : 837–847, 1986.
- 16) Ben-Chetrit, E., et al. : Familial Mediterranean fever. *Lancet*. **351** : 659–664, 1998.
- 17) Nakamura, A., et al. : Successful treatment with infliximab and low-dose methotrexate in a Japanese patient with familial Mediterranean fever. *Intern Med*. **46** : 1247–1249, 2007.
- 18) Kuijk, L. M., et al. : Effective treatment of a colchicine-resistant familial Mediterranean fever patient with anakinra. *Ann Rheum Dis*. **66** : 1545–1546, 2007.
- 19) Alpay, N., et al. : Efficacy of anakinra treatment in a patient with colchicine-resistant familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int*. [Epub ahead of print], 2010.
- 20) Ryan, J. G., et al. : Clinical features and functional significance of the P369S/R408Q variant in pyrin, the familial Mediterranean fever protein. *Ann Rheum Dis*. **69** : 1383–1388, 2010.
- 21) Ben-Chetrit, E., et al. : The spectrum of *MEFV* clinical presentations—is it familial Mediterranean fever only? *Rheumatology*. **48** : 1455–1459, 2009.

特集：自己炎症疾患の新しい知見

総 説

『インフラマソーム』

増本純也

“The inflammasomes”

Junya MASUMOTO

Department of Molecular Pathology, Shinshu University Graduate School of Medicine

(Received August 1 2011)

summary

Inflammation is a host adaptational response to cell injury caused by various exogenous and endogenous stimuli. IL-1 β , which is an important proinflammatory cytokine secreted at the site of cellular injury, plays an important role in inflammation. Inflammasome is an intracellular multi-protein complex that mediates caspase-1-dependent processing of IL-1 β . In this review, inflammasome function and its dysregulation are discussed in relation to autoinflammatory diseases.

Key words—Inflammasome; interleukin-1 β ; autoinflammatory disease

抄 録

炎症は傷害に対する生体の防御的な反応である。この生体の防御反応には様々な因子が関与していると考えられるが、多様な生理活性を持つ炎症性サイトカインのひとつであるインターロイキン 1 β (IL-1 β) は特に重要な役割を担っていると考えられている。インフラマソームは、この IL-1 β 産生を制御する細胞内の蛋白質複合体である。本項では自己炎症疾患を理解するという観点から、研究成果が蓄積されてきたインフラマソームの機能とその制御異常について簡単に解説する。

I. はじめに

病理学総論的に、炎症は細胞傷害に対する防御的な生体の適応反応のひとつであり、細胞傷害因子や傷害を受けた組織を排除し、組織を修復する役割をもつ¹⁾。炎症局所では、傷害因子による組織細胞傷害に対する防御反応と組織の修復反応の計時的な変化がおこっている。この炎症を引き起こす原因については、大きく、物理学的因子、化学的因子、生物学的因子が挙げられ、その他に栄養障害、代謝障害、加齢や酸素欠乏などが加えられる¹⁾。

物理学的因子には、機械的な圧力、熱、電気、放射線などが知られている。化学的因子には、様々な化学物質、活性酸素種、石綿（アスベスト）や二酸化珪素（シリカ）などの金属結晶などが知られている。生物学的因子には、細菌、ウィルスなどの病原体が知られている。その他の因子としては、異常代

謝産物の細胞内への蓄積や、細胞内の電解質異常などがある¹⁾。最近、これらの細胞傷害因子によって傷害細胞内に発生した特有の分子パターンは DAMPs (Damage associated molecular pattern molecules)、細菌やウィルスなどの病原体成分特有の分子パターンは PAMP (pathogen associated molecular pattern molecules) として捉えられるようになってきた^{2,3)}。

一方で、これらの細胞傷害因子は、炎症以外にも、肥大、過形成、化生、などの進行性病変や、変性、萎縮、細胞死などの退行性病変の原因となる⁴⁾。これらの病理組織学的変化は、様々な細胞傷害因子によるストレスに対して恒常性を維持するために生体が適切に応答した結果である^{1,5)}。

このような生体の応答には様々な因子が関与していると考えられるが、なかでも多様な生理活性を持つ炎症性サイトカインのひとつであるインターロイキン-1 β (IL-1 β) の役割は重要であると考えられる⁶⁾。この IL-1 β の前駆体からの切断による活性化

に深く関与しているのがインフラマソームである⁷⁾.

II. インフラマソームの発見

インフラマソームは、Nod-like receptor (NLR), Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC), カスパーゼ 1 (別名インターロイキン-1 β 変換酵素 ICE) からなるのが、プロトタイプである。21世紀のはじめに、Martinon らが、NLR のひとつである NLRP1, ASC とカスパーゼ 1 の複合体を報告したのが最初である⁷⁾。Srinivasula らは、FK-506-binding protein (FKBP) というタグを付けた ASC を AP1510 という薬剤で強制的に多量体化して IL-1 β を産生させるカスパーゼ 1 との複合体をインフラマソームと呼んだ⁸⁾。私たちもほぼ同様のシステムによって PYD を持つ蛋白質を AP1510 によって近接させて IL-1 β 産生の有無を確認している⁹⁾。このようにして、インフラマソームは ASC の近接によってカスパーゼ 1 を活性化し IL-1 β 産生を促す細胞内のシグナロソームとして知られるようになった。

III. インフラマソームの構成分子と機能

1. Nod-like receptor (NLR)・ASC・カスパーゼ 1

Nod-like receptor (NLR) は、N 末端側に同じドメイン同士が結合しやすい性質を持つ同種結合ドメインであるパイリンドメイン (PYD) かカスパーゼリクルートメントドメイン (CARD) を持ち、中央に ATPase 活性を持つと予想される配列 (Walker's A- and B-Box) を含むドメインである核酸結合性多量体化ドメイン (NOD), C 末端側にロイシンの豊富な繰返し配列であるロイシンリッチリピート (LRR) を持つ¹⁰⁾。ASC は、N 末端に PYD, C 末端に CARD を持つ。PYD を持つ蛋白質と CARD を持つ蛋白質を結合させるアダプターとして機能している¹¹⁾。カスパーゼ 1 は、ペプチド配列のアスパラギン酸残基の C 末端側を切断する、活性中心にシステインを持つ蛋白質分解酵素で、炎症性サイトカインとして知られている IL-1 β 前駆体を切断して活性型の IL-1 β に変換する。また IL-1 β フェミリーに属する IL-18 前駆体もカスパーゼ 1 によって切断される¹²⁾。この際、細胞死も観察され、ピロプトーシス (pyroptosis) と呼ばれる^{4,13)}。

2. インフラマソームの機能

インフラマソームの構造は、Apaf-1 (Apoptosis protease activating factor-1), カスパーゼ 9 (Apaf-3), ATP の加水分解によるアポトソーム形成と基本的に同じである。アポトソームはアポトーシスの際に形成されるシグナロソームである。Apaf-1 は N 末端側に CARD, 中央に NOD, C 末端側に WD40 リピートという構造を持つ最初に発見された NLR である (図 1A)。ミトコンドリア傷害により放出された酸化還元酵素であるチトクローム c (Apaf-2) と ATP がそれぞれ Apaf-1 の WD40 リピートと NOD に存在する ATPase 活性を持つ部位に捕捉されると 7 量体を形成し、カスパーゼ 9 が活性化し、カスパーゼ 3 を切断することによってアポトーシスが誘導される¹⁴⁾。Apaf-1 との相同性を基に多くの NLR が同定され¹⁰⁾、他方でクローン病や Blau 症候群, Chronic infantile neurological cutaneous and articular (CINCA) 症候群の疾患連鎖解析からその責任遺伝子がそれぞれ *IBD1*, *CIAS1* でありその転写産物がそれぞれ、Nod2 と Cryopyrin (NLRP3) であったことから、本特集のテーマである自己炎症疾患の原因として注目が集まることとなった¹⁵⁻¹⁸⁾。自己炎症疾患は、自己抗体や自己反応性 T 細胞の増加を伴わない周期熱症候群として提唱された¹⁹⁾。この自己炎症疾患のプロトタイプである家族性地中海熱の疾患連鎖解析から責任遺伝子 *MEFV* の遺伝子産物 Pyrin が同定された^{20,21)}。Pyrin は、後に ASC やカスパーゼ 1 と相互作用することでインフラマソームの活性を制御する分子であることがわかった^{22,23)}。また Pyrin と相互作用する CD2-binding protein 1 (CD2BP1)/proline serine threonine phosphatase-interacting protein 1 (PSTPIP1) の変異は PAPA 症候群の原因であることが明らかになった^{24,25)}。

この NLR は、細胞膜上に存在する Toll-like receptor (TLR) や C-type lectin-like receptor (CLR), DNA ヘリカーゼの構造を持ちウィルス認識に関わる RIG-1-like receptor (RLR) と同じように細胞内の病原体を認識する細胞内の病原体パターン認識受容体 Pattern recognition receptor (PRR) として知られている¹⁰⁾ (高岡晃教先生の項参照)。Nod1 と Nod2 は RICK をアダプター分子として I- κ B kinase (IKK) α , IKK β , IKK γ と複合体を形成し、NF- κ B を活性化する (図 1B)。先に発見された Nod1 や Nod2 のシグナロソームは、ASC を中心に

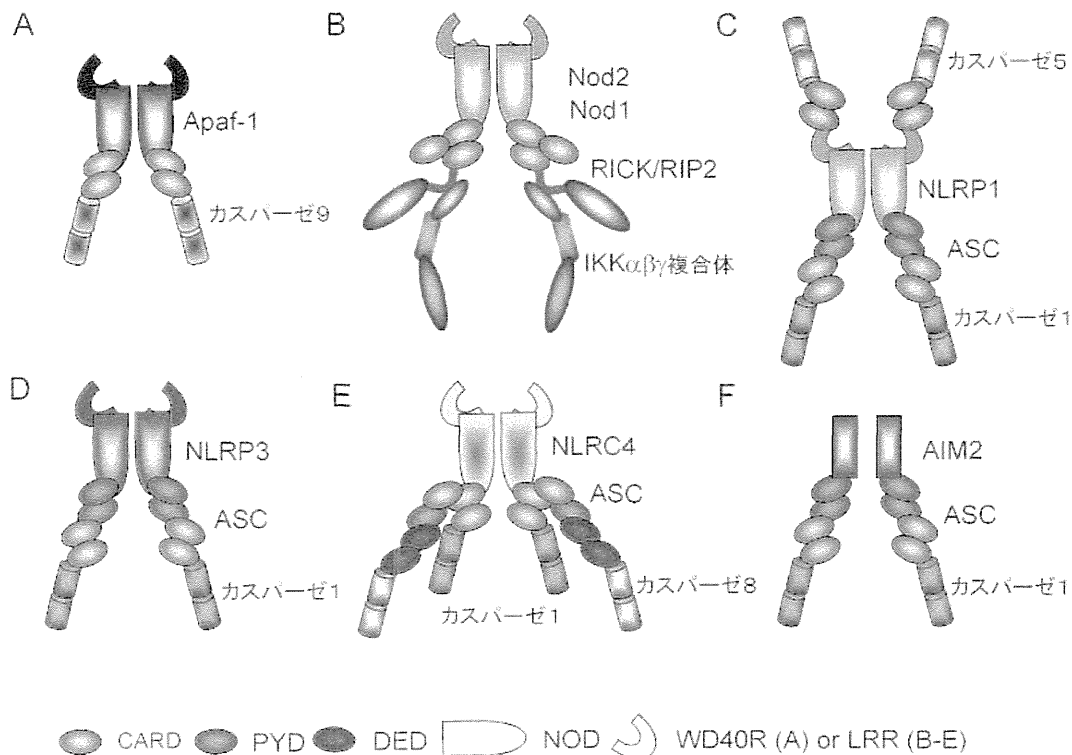


図1 アポトソーム・ノッドソーム・インフラマソームの模式図

A. アポトソーム (Apoptosome) は主に Apaf-1 とカスパーゼ9 からなる。細胞傷害によりミトコンドリアから細胞質に遊離されたチトクローム c が WD40 リビートで認識されると多量体化し、カスパーゼ3 が活性化され、細胞のアポトーシスが誘導される。B. ノッドソーム (Nodosome) は、主に Nod1 あるいは Nod2, RICK (RIP2) と IKK α , IKK β , IKK γ からなるシグナロソーム (Signalosome) で、細菌ペプチドグリカンの一部の構造である iEDAP (Nod1 リガンド), MDP (Nod2 リガンド) を認識すると多量体化し NF- κ B を活性化する。C. NLRP1 インフラマソームは、NLRP1, ASC, カスパーゼ1 と C 末端側の CARD を介したカスパーゼ5 からなる。炭素菌の毒素 (リーサルトキシン) などを認識すると多量体化し、IL-1 γ 前駆体の切断による活性化とカスパーゼ5 の活性化に関わる。D. NLRP3 インフラマソームは、NLRP3, ASC, カスパーゼ1 からなる。表1に示したような多種多様な細胞傷害因子によって多量体化し、IL-1 β 前駆体の切断による活性化に関わる。NLRP3 の NOD の変異は、クワイオパイリン関連周期熱症候群 (CAPS) の原因となる。NLRP3 の異常な活性化はクワイオピリノパチー (cryopyrinopathy) の原因となる (本文参照)。E. NLRC4 インフラマソームは、NLRC4, ASC, カスパーゼ1 からなり、ASC を介してさらにカスパーゼ8 を連結する。細菌の鞭毛蛋白質であるフラジェリンを認識して多量体化し、IL-1 β 前駆体の切断による活性化と細胞死に関わる。F. AIM2 インフラマソームは、AIM2, ASC, カスパーゼ1 からなり、ウィルスなどの2重鎖DNAを認識すると多量体化し、IL-1 β 前駆体の切断による活性化に関わる。

持つインフラマソームに対して、ノッドソームと言われることもある²⁶⁾。現在までのところ、インフラマソームを形成することが報告されている NLR は他に NLRP1 (Defcap-L / CARD7), NLRP2 (Pypaf2), NLRP3 (Cryopyrin/Pypaf1), NLRP6 (Pypaf5), NLRC4 (Ipaf) があり、NLR 以外では AIM2 が報告されている。それぞれの名前を冠して以下のようなインフラマソームがよく研究されている^{13,27)}。

IV. 代表的なインフラマソーム

1. NLRP1 インフラマソーム

NLRP1 は Martinon らによって初めてインフラマソームという用語を使って報告された分子である⁷⁾。それ以前に NLRP1 は DEFCAP-L という名前でカスパーゼ9を介してアポトーシスを誘導する

と報告されている²⁸⁾。NLRP1 は図1Cのような構造を持ち、LRR より C 末端側にも CARD を持つ (図1C)。その CARD によるカスパーゼ2, 5, 9 との結合により細胞死を誘導すると報告された²⁹⁾。NLRP1 遺伝子に変異を持つ自己炎症疾患はいまのところ報告されていない。特異性のある PAMPs の一つは炭疽菌のリーサルトキシン (LT), ペプチドグリカンのムラミルジペプチド (MDP) で、Apaf-1 と同じように dNTP/NTP を必要とする^{29,30)} (表1)。

2. NLRP3 インフラマソーム

これまで、最もよく研究されているインフラマソームで図1Dのような構造を持つ。NALP3 は、細胞自身の持つ細胞傷害因子や細胞外からもたらされる傷害因子によって活性化される。細胞自身の持

表1 インフラマソームを活性化する因子（文献27より改変引用）

インフラマソーム名	活性化因子
NALP1 インフラマソーム	PAMPs（生物学的細胞傷害因子） 炭素菌 リーサルトキシン（LT） ムラミルジペプチド（MDP）
NLRP3 インフラマソーム	PAMPs（生物学的細胞傷害因子） ウィルス核酸 センダイウィルス ワクシニアウィルス インフルエンザウィルス アデノウィルス 脳心筋炎ウィルス 真菌類 カンジタ 出芽酵母 アスペルギルス 細菌類/毒素 黄色ブドウ球菌 ヘモリシン溶血素 リステリア菌 リステリオリシンO 偽膜性大腸炎菌 トキシゲンA 破傷風菌 テタノリシン溶血素 Aeromonas hydrophila アエロリシン 肺炎桿菌 大腸菌 歯周病菌 赤痢菌 淋菌 DAMPs（化学的細胞傷害因子） ATP ヒアルロン酸 ブドウ糖 コレステリン結晶 尿酸ナトリウム結晶 ピロリン酸カルシウム二水和物結晶 イミダゾキノリン化合物 皮膚刺激性芳香族化合物 トリニトロクロロフェノール トリニトロクロロベンゼン ジニトロフルオロベンゼン 金属（粉末）化合物 石綿 二酸化硅素 アルム（水酸化アルミニウム） DAMPs（物理学的細胞傷害因子） 紫外線 放射線
NLRC4 インフラマソーム	PAMPs（生物学的細胞傷害因子） フラジェリン 赤痢菌 サルモネラ菌 緑膿菌 レジオネラ菌
AIM2 インフラマソーム	PAMPs（生物学的細胞傷害因子） 2重鎖DNA ワクシニアウィルス サイトメガロウィルス リステリア菌
NLRP6 インフラマソーム	PAMPs（生物学的細胞傷害因子） バクテロイデス

つ傷害因子としては、傷害を受けた細胞からのATP、痛風の原因である尿酸ナトリウム結晶、偽痛風の原因であるピロリン酸カルシウム二水和物結晶、動脈硬化の原因であるコレステリン結晶、アミロイドーシスやアルツハイマー病などの神経変性疾患の原因である β アミロイド、細胞外基質であるヒアルロン酸などが報告されている³¹⁻³⁵。細胞外からもたらされる傷害因子としては、抗体作成のための免疫の際アジュバントとして使われるアルム（Alum）や石綿肺、珪肺、塵肺の原因となる石綿、二酸化硅素結晶、金属粉末などが報告されている³⁶⁻³⁸。皮膚炎の原因となるUV、放射線、皮膚刺激性化合物なども活性化因子として報告され^{39,40}、病原微生物としては多数の細菌やウィルスなどがその活性化に関わると報告されている（表1）。これらの多くはノックアウトマウスなどを使った実験によっていて、分子間相互作用などの直接結合の報告は現在までのところない。これらの活性化のメカニズムには図2に示すようなモデルが提唱されている。通常は上記のように振る舞っているNLRP3インフラマソームであるが、このインフラマソーム形成の自由エネルギーが小さくなるような変異が、そのコードする遺伝子であるCIAS1に認められると、クライオパイリン関連周期熱症候群（CAPS）という自己炎症疾患の原因となる⁴¹。

3. NLRC4 インフラマソーム

NLRC4 (Ipaf) は図1Eに示すようにN末端にCARDを持つNLRである。この点ではNod1やNod2と同じだが、CARDの特異的結合相手はASCである⁴²。NLRC4はASCを介さずともカスパーゼ1と結合するが、THP-1という単球系白血病の培養細胞を使うと、導入したNLRC4をAP1510という薬剤で強制的に多量体化したときのみIL-1 β が産生され、そのときのみ内在性のASCとの結合が見られた（未発表）。NLRC4はASCのPYDと、カスパーゼ8の2つのDEDを介して結合し、アポトーシスが誘導されると共に、切断されたDEDによるNF- κ Bの活性化が見られる。このNF- κ Bの活性化はPyrinによって阻害される^{43,44}。細胞によってはピロプトーシスという細胞死が見られる^{45,46}。NLRC4の特異的なPAMPsは細菌の鞭毛を構成する蛋白質であるフラジェリンで、表1にまとめたような細菌の認識に関わっていると報告されている^{47,48}。

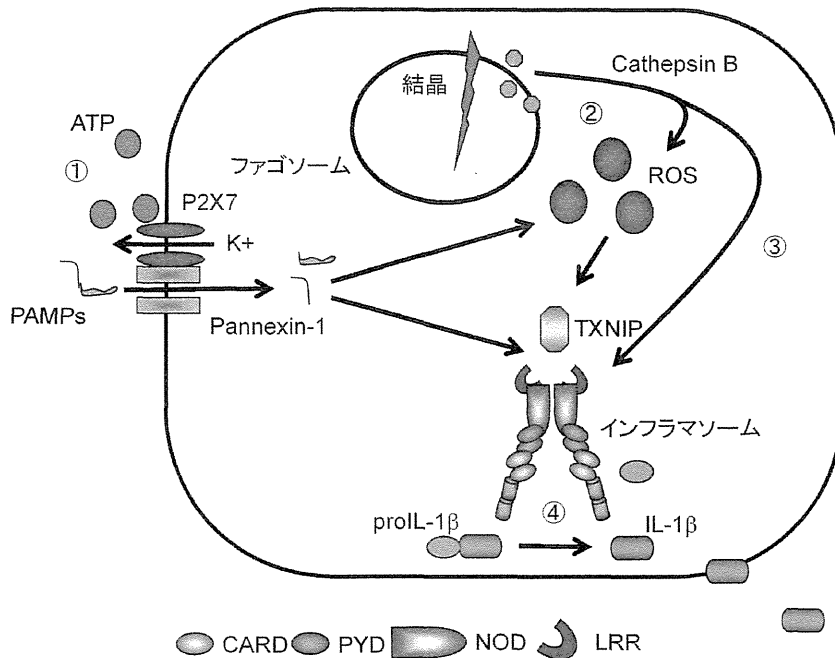


図2 NALP3 インフラマソーム活性化のモデル

表3に示すようにたくさんの活性化因子があるにも関わらず NALP3 インフラマソームに直接結合して活性化するリガンドの証明はなされていない。そこで以下のようなモデルが考えられている。①ATPの受容体であるP2X7とリンクしたカリウムチャネルを介したカリウムイオンの流出 (potassium efflux) と Pannexin-1 のキャップ形成による PAMPs の流入。②結晶などを貪食しても消化できないこと (frustrated phagocytosis) によるストレスが NADH 酸化酵素を介して活性酸素種 (ROS: reactive oxygen species) を発生させ、抗酸化蛋白質であるチオレドキシニンに捉えられ、遊離した TXNIP (Thioredoxin interacting protein) とともに NLR3 インフラマソームが形成される。③リソソームから遊離した Cathepsin B によって NLR3 インフラマソームを形成させる。④NLR3 インフラマソーム形成によってカスパーゼ1が活性化し、IL-1 β 前駆体が IL-1 β にプロセッシングされる。

4. AIM2 インフラマソーム

AIM2 (PYHIN4) の名前は Absent in melanoma 2 に由来し、IFN- γ で誘導される HIN200 ファミリーとして知られていた蛋白質で唯一 PYD を持つ蛋白質である⁴⁹⁾。図1Fのような構造を持つ。HIN は造血系細胞で発現し、インターフェロン誘導性で、核移行性の 200 アミノ酸からなるドメインを持つという意味である。カスパーゼは単に凝集しただけでは活性化せず、AP1510 などの多量体化試薬などできれいに配列させたときに近接活性化する⁵⁰⁾。NLR は NOD という多量体化ドメインによって、分子が円形に 7 個配列してカスパーゼ1を活性化するが、AIM2 の多量体形成の機序は不明である。特異性のある PAMPs は 2 重鎖の DNA と報告されている。ポックスウイルス科のワクシニアウイルス、ヘルペスウイルス科のサイトメガロウイルスに対する生体防御に関わると報告されている。ただし、同じヘルペスウイルス科でも口唇ヘルペスの原因となる単純ヘルペスウイルスの 1 型には反応しないと報告されている。これらについてもウイルスのどのような分子が直接インフラマソームと相互作用するのかわかっていない。認識するウイルスや細菌を表1

に示した^{51~53)}。

5. NLRP6 インフラマソーム

NLRP6 インフラマソームは NF- κ B の活性化と IL-1 β のプロセッシングに関わると報告された。最近の報告で、NLRP6 が腸内の嫌気性菌であるバクテロイデスの認識に関わり、腸内フローラの恒常性の維持に関わっている可能性が示唆された⁵⁴⁾。

V. インフラマソームを制御する分子

インフラマソームと直接相互作用してその活性を制御する分子が知られている。Pyrin-domain only protein (POP) 1 や POP2 は ASC の PYD と、PYD を持つ上流の NLR との結合を阻害してインフラマソーム活性を制御している。また、粘液種ウイルスや線維腫ウイルスの作る蛋白質にも PYD のみを持つものがあり、インフラマソーム活性を抑制している。CARD-only protein (COP), ICEBERG, INCA, カスパーゼ 12S は、ASC とカスパーゼ1の CARD を介した結合を阻害してインフラマソーム活性を抑制する⁵⁵⁾。NLRP7 (Pypaf3), NLRP10 (PYNOD) や NLRP12 (Pypaf7) も同様にインフ

ラマソームの活性を負に制御すると報告されている。Pyrin は PYD を介して ASC とカスパーゼ 1 の結合を阻害し、PRY/SPRY ドメインがカスパーゼ 1 に結合しその活性を負に制御する^{56~58}。

VI. インフラマソーム病

慢性的に上記のインフラマソームを活性化する傷害因子が細胞内に留まると、インフラマソームの持続活性化が起こると予想される。これを自己炎症疾患と同様の自己炎症的機序による疾患と理解する考え方が提唱されている⁴¹。尿酸ナトリウム結晶による痛風、ピロリン酸カルシウム二水和物結晶による偽痛風、二酸化硅素結晶や石綿の肺への吸入によっておこる珪肺、石綿肺、コレステリン結晶による動脈粥状硬化症などは、それらを貪食したマクロファージの中で分解されない傷害因子が長期間留まることによって活性酸素種が産生され、持続的にインフラマソームを活性化するという自己炎症的機序により引き起こされるという考え方は理解しやすい。このような自己炎症的機序によるインフラマソームの活性化による疾患はインフラマソーム病 (Inflammasomopathy) と定義され、メタボリックシンドロームの一つとして知られる 2 型糖尿病の進展にも関与すると報告されている (表 2)。2 型糖尿病では、高濃度の糖負荷によって、インスリンを分泌する膵 β 細胞の活性酸素種 (ROS) が誘導され、抗酸化蛋白質である Thioredoxin-interacting protein (TXNIP) に捕捉されることで、NLRP3 インフラマソームが活性化されると説明されている。ストレス応答によって細胞内で産生される活性酸素種 (ROS) は、同様の機序でそれぞれの疾患の責任細胞内で NLRP3 インフラマソームを活性化し、アミロイドーシス、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) との関連が報告されるなど、大きな広がりを見せている^{34,59}。これら様々な因子によるインフラマソームの活性化は獲得免疫を立ち上げるためのアジュバントとしても機能し、自己免疫疾患との関わりも指摘されつつある⁶⁰。内因 (遺伝子性や遺伝性) によるインフラマソーム病は自己炎症疾患に分類される。これらについては表 3 に簡単にまとめた。

VII. おわりに

インフラマソームについて簡単に解説した。生体と相互作用する細胞傷害因子は多種多様である。加えて様々な自然免疫に関わるレセプターや転写因子

表 2 外因によるインフラマソーム病に分類される疾患 (文献 59 より改変引用)

症 候 名	疾患関連因子
痛風	尿酸ナトリウム血漿 (MSU)
偽痛風	ピロリン酸カルシウム結晶 (CPPD)
線維症	
肺線維症	
肝線維症	
後腹膜線維症	造影強調剤 (ガドリニウム)
硬化性胆管炎	
腎硬化症	石綿 (アスベスト)
強皮症	二酸化硅素 (シリカ)
石綿肺	β アミロイド
珪肺	高血糖
アルツハイマー病	複合要因
2 型糖尿病	コレステリン結晶
Schnitzler 症候群	
粥状硬化症	

MSU : Monosodium urate
CPPD: Calcium pyrophosphate dihydrate

表 3 内因 (遺伝子性あるいは遺伝性) によるインフラマソーム病 (自己炎症疾患) に分類される疾患 (文献 59 より改変引用)

症 候 名	疾患関連蛋白質
Cryopyrinopathy	NALP3/Cryopyrin
Cryopyrin 関連周期熱症候群 (CAPS)	
家族性寒冷蕁麻疹	
Muckle-Wells 症候群	
CINCA/NOMOD 症候群	
家族性地中海熱	Pyrin
PAPA 症候群	CD2BP1 (PSTPIP1)
Majeed 症候群	Lipin-2
高 IgD 症候群	メバロン酸キナーゼ (MVK)
反復性胞状奇胎	NLRP7 (Pypaf3)
DIRA 症候群	IL-1Ra

CAPS : Cryopyrin associated periodic syndrome
CINCA : Chronic neurologic cutaneous and articular syndrome
NOMID : Neonatal-onset multisystem inflammatory disease
PAPA : Pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum and acne
CD2BP1 : CD2-binding protein 1
DIRA : Deficiency in IL-1 receptor antagonist

などの発現組織の違いとシグナル伝達のクロストークにより、生体は複雑な傷害に適応する。そのため、インフラマソームは細胞傷害因子を検知するシステムのひとつでありながら、その異常によって多様な臨床症状を示す自己炎症疾患の原因となると考えられる。また細胞内に蓄積される細胞傷害因子は自己炎症的機序によるインフラマソーム病の原因となる。このようにインフラマソームは、今後、炎症を誘導するシグナロソームという概念を超え、多彩

な病理組織学的変化を誘導するシグナロソームとしてますます重要になってくると思われる。

さいごに、たいへん残念なお知らせがある。このインフラマソームの提唱に重要な貢献をしたローゼンヌ大学の Jürg Tschopp 教授が 3 月に突然亡くなられた^{61,62}。ミーティングでまたお会いできることを楽しみにしていたのに、たいへん悲しい出来事であった。この分野のみならず、サイエンスにとってたいへん大きな損失であり、深く哀悼の意を表す。

文 献

- 1) Kuma V, Abbas AK, Fausto N. : Robbins Basic Pathology 8th edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, 2007.
- 2) McDermott MF, Tschopp J. : From inflammasomes to fevers, crystals and hypertension : how basic research explains inflammatory diseases. *Trends Mol Med* **13** : 381–388, 2007.
- 3) Medzhitov R, Janeway CA Jr. : Innate immunity : the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* **91** : 295–298, 1997.
- 4) Kroemer G, et al. : Classification of cell death : recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ* **16** : 3–11, 2009.
- 5) Medzhitov R : Inflammation 2010 : new adventures of an old flame. *Cell* **140** : 771–776, 2010.
- 6) Mizel SB : The interleukins. *FASEB J* **3** : 2379–2388, 1989.
- 7) Martinon F, Burns K, Tschopp J. : The inflammasome : a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- β . *Mol Cell* **10** : 417–426, 2002.
- 8) Srinivasula SM, et al. : The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *J Biol Chem* **277** : 21119–21122, 2002.
- 9) Dowds TA, et al. : Cryopyrin-induced interleukin 1β secretion in monocytic cells : enhanced activity of disease-associated mutants and requirement for ASC. *J Biol Chem* **279** : 21924–21928, 2004.
- 10) Inohara N, Núñez G. : NODs : intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis. *Nat Rev Immunol* **3** : 371–382, 2003.
- 11) Masumoto J, et al. : ASC, a novel 22-kDa protein, aggregates during apoptosis of human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *J Biol Chem* **274** : 33835–33838, 1999.
- 12) Martinon F, Tschopp J. : Inflammatory caspases : linking an intracellular innate immune system to autoinflammatory diseases. *Cell* **117** : 561–574, 2004.
- 13) Schroder K, Tschopp J. : The inflammasomes. *Cell* **140** : 821–832, 2010.
- 14) Li P, et al. : Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* **91** : 479–489, 1997.
- 15) Hugot JP, et al. : Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* **411** : 599–603, 2001.
- 16) Ogura Y, et al. : A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* **411** : 603–606, 2001.
- 17) Miceli-Richard C, et al. : CARD15 mutations in Blau syndrome. *Nat Genet* **29** : 19–20, 2001.
- 18) Feldmann J, et al. : Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome is caused by mutations in *CIAS1*, a gene highly expressed in polymorphonuclear cells and chondrocytes. *Am J Hum Genet* **71** : 198–203, 2002.
- 19) McDermott MF, et al. : Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell* **97** : 133–144, 1999.
- 20) International FMF Consortium : Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. The International FMF Consortium. *Cell* **90** : 797–807, 1997.
- 21) French FMF Consortium : A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* **17** : 25–31, 1997.
- 22) Masumoto J, et al. : ASC is an activating adaptor for NF- κ B and caspase-8-dependent apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* **303** : 69–73, 2003.
- 23) Dowds TA, et al. : Regulation of cryopyrin/Pypaf1 signaling by pyrin, the familial Mediterranean fever gene product. *Biochem Biophys Res Commun* **302** : 575–580, 2003.
- 24) Wise CA, et al. : Mutations in CD2BP1 disrupt binding to PTP PEST and are responsible for PAPA syndrome, an autoinflammatory disorder. *Hum Mol Genet* **11** : 961–969, 2002.
- 25) Shoham NG, et al. : Pyrin binds the PSTPIP1/CD2BP1 protein, defining familial Mediterranean fever and PAPA syndrome as disorders in

- the same pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100** : 13501–13506, 2003.
- 26) Tattoli I, et al. : Nod1 and Nod2 control bacterial infections and inflammation. *Semin Immunopathol* **29** : 289–301, 2007.
- 27) Davis BK, Wen H, Ting JP. : The Inflammasome NLRs in Immunity, Inflammation, and Associated Diseases. *Annu Rev Immunol* **29** : 707–735, 2011.
- 28) Hlaing T, et al. : Molecular cloning and characterization of DEFCAP–L and –S, two isoforms of a novel member of the mammalian Ced–4 family of apoptosis proteins. *J Biol Chem* **276** : 9230–9238, 2001.
- 29) Boyden ED, Dietrich WF. : Nalp1b controls mouse macrophage susceptibility to anthrax lethal toxin. *Nat Genet* **38** : 240–244, 2006.
- 30) Faustin B, et al. : Reconstituted NALP1 inflammasome reveals two-step mechanism of caspase–1 activation. *Mol Cell* **25** : 713–724, 2007.
- 31) Mariathasan S, et al. : Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. *Nature* **440** : 228–232, 2006.
- 32) Martinon F et al. : Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* **440** : 237–241, 2006.
- 33) Duewell P, et al. : NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature* **464** : 1357–1361, 2010. Erratum in : *Nature* **466** : 652, 2010.
- 34) Halle A, et al. : The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid– β . *Nat Immunol* **9** : 857–865, 2008.
- 35) Yamasaki K, et al. : NLRP3/cryopyrin is necessary for interleukin–1 β (IL–1 β) release in response to hyaluronan, an endogenous trigger of inflammation in response to injury. *J Biol Chem* **284** : 12762–12771, 2009.
- 36) Hornung V, et al. : Silica crystals and aluminium salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat Immunol* **9** : 847–856, 2008.
- 37) Dostert C, et al. : Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. *Science* **320** : 674–677, 2008.
- 38) Eisenbarth SC, et al. : Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature* **453** : 1122–1126, 2008.
- 39) Feldmeyer L, et al. : The inflammasome mediates UVB-induced activation and secretion of interleukin–1 β by keratinocytes. *Curr Biol* **17** : 1140–1145, 2007.
- 40) Watanabe H, et al. : Activation of the IL–1 β -processing inflammasome is involved in contact hypersensitivity. *J Invest Dermatol* **127** : 1956–1963, 2007.
- 41) Kastner DL, Aksentijevich I, Goldbach-Mansky R. : Autoinflammatory disease reloaded : a clinical perspective. *Cell* **140** : 784–790, 2010.
- 42) Poyet JL, et al. : Identification of Ipaf, a human caspase–1-activating protein related to Apaf–1. *J Biol Chem* **276** : 28309–28313, 2001.
- 43) Masumoto J, et al. : ASC is an activating adaptor for NF– κ B and caspase–8-dependent apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* **303** : 69–73, 2003.
- 44) Hasegawa M, et al. : ASC-mediated NF– κ B activation leading to interleukin–8 production requires caspase–8 and is inhibited by CLARP. *J Biol Chem* **280** : 15122–15130, 2005.
- 45) Mariathasan S, et al. : Differential activation of the inflammasome by caspase–1 adaptors ASC and Ipaf. *Nature* **430** : 213–218, 2004.
- 46) Suzuki T, et al. : Differential regulation of caspase–1 activation, pyroptosis, and autophagy via Ipaf and ASC in Shigella-infected macrophages. *PLoS Pathog* **3** : e111, 2007.
- 47) Miao EA, et al. : Cytoplasmic flagellin activates caspase–1 and secretion of interleukin 1 β via Ipaf. *Nat Immunol* **7** : 569–575, 2006.
- 48) Franchi L, et al. : Cytosolic flagellin requires Ipaf for activation of caspase–1 and interleukin 1 β in salmonella-infected macrophages. *Nat Immunol* **7** : 576–582, 2006.
- 49) DeYoung KL, et al. : Cloning a novel member of the human interferon-inducible gene family associated with control of tumorigenicity in a model of human melanoma. *Oncogene* **15** : 453–457, 1997.
- 50) Chang DW, et al. : Oligomerization is a general mechanism for the activation of apoptosis initiator and inflammatory procaspases. *J Biol Chem* **278** : 16466–16469, 2003.
- 51) Fernandes-Alnemri T, et al. : AIM2 activates the inflammasome and cell death in response to cytoplasmic DNA. *Nature* **458** : 509–513, 2009.
- 52) Fernandes-Alnemri T, et al. : The AIM2 inflammasome is critical for innate immunity to Francisella tularensis. *Nat Immunol* **11** : 385–393,

- 2010.
- 53) Rathinam VA, et al. : The AIM2 inflammasome is essential for host defense against cytosolic bacteria and DNA viruses. *Nat Immunol* **11** : 395–402, 2010.
- 54) Elinav E, et al. : NLRP6 inflammasome regulates colonic microbial ecology and risk for colitis. *Cell* **145** : 745–757, 2011.
- 55) Stehlik C, Dorfleutner A. : COPs and POPs : modulators of inflammasome activity. *J Immunol* **179** : 7993–7998, 2007.
- 56) Kinoshita T, et al. : PYPAF3, a PYRIN-containing APAF-1-like protein, is a feedback regulator of caspase-1-dependent interleukin-1 β secretion. *J Biol Chem* **280** : 21720–21725, 2005.
- 57) Lich JD, Ting JP. : Monarch-1/PYPAF7 and other CATERPILLER (CLR, NOD, NLR) proteins with negative regulatory functions. *Microbes Infect* **9** : 672–676, 2007.
- 58) Wang Y, et al. : PYNOD, a novel Apaf-1/CED4-like protein is an inhibitor of ASC and caspase-1. *Int Immunol* **16** : 777–786, 2004.
- 59) Meissner F, Molawi K, Zychlinsky A. : Mutant superoxide dismutase 1-induced IL-1 β accelerates ALS pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107** : 13046–13050, 2010.
- 60) Masters SL, et al. : Horror aut inflammaticus : the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. *Annu Rev Immunol* **27** : 621–668, 2009.
- 61) Dixit V. : Jürg Tschopp (1951–2011). *Nature* **472** : 296, 2011.
- 62) O’Neill LA. : Retrospective. Jürg Tschopp (1951–2011). *Science* **332** : 679, 2011.

連載 自己炎症症候群の多様性

第 1 回

インフラマソーム

増本純也* 竹中裕史* 杉山梨乃*

炎症は傷害に対する生体の防御的な反応である。この生体の防御反応にはさまざまな因子が関与していると考えられるが、多様な生理活性をもつ炎症性サイトカインの一つであるインターロイキン(IL)-1 β はとくに重要な役割をになっていると考えられている。インフラマソームは、このIL-1 β 産生を制御する細胞内の蛋白質複合体である。本稿では、自己炎症症候群の多様性を理解するという観点から、さまざまな研究成果が蓄積されつつあるインフラマソームについて紹介し、その機能と拡大する関連疾患について簡単に解説する。

はじめに

炎症は傷害に対する生体の防御的な反応である。これは病理学総論における炎症の定義である。炎症局所では、傷害因子による組織細胞傷害に対する生体の防御的な修復反応の経時的な変化が起こっている。この炎症を引き起こす原因には、物理学的因子、化学的因子、生物学的因子などがある。物理学的因子には、機械的な圧力、電位、放射線などが知られている。化学的因子には、さまざまな化学物質、活性酸素種、石綿(アスベスト)や二酸化硅素(シリカ)などの金属結晶などが知られている。生物学的因子には、細菌、ウイルスなどの病原体が知られている¹⁾。最近、これらの細胞傷害因子によって傷害細胞内に発生した特有の

分子パターンは damage associated molecular pattern molecules (DAMPs)、細菌やウイルスなどの病原体成分特有の分子パターンは pathogen associated molecular pattern molecules (PAMP) としてとらえられるようになってきた²⁾³⁾。

一方で、これらの細胞傷害因子は、炎症以外にも、化生、過形成、肥大、線維化などの進行性病変や、変性、萎縮、壊死やアポトーシスなど(最近ではピロプトーシスやオートファジーなど多くの細胞死形態も含まれるであろう)の細胞死を含む退行性病変、代謝異常、循環障害といったさまざまな病理組織学的変化の原因となる⁴⁾。これらの病理組織学的変化は、さまざまな細胞傷害因子によるストレスに対して恒常性を維持するために生体が適切に応答した結果である¹⁾⁵⁾。

このような生体の応答にはさまざまな因子が関与していると考えられるが、多様な生理活性をもつ炎症性サイトカインのひとつであるインターロイキン(IL)-1 β が重要な役割をになっていることは、その発見の歴史からみても明らかである⁶⁾。

Key Words

インフラマソーム
インターロイキン-1 β
自己炎症症候群

* MASUMOTO Junya, TAKENAKA Hirofumi, SUGIYAMA Rino/信州大学医学部 病理組織学講座

この IL-1 β の前駆体からの切断による活性化に深く関与しているのがインフラマソームである⁷⁾。

1. インフラマソームとは

インフラマソームは、Nod-like receptor (NLR), apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC), カスパーゼ 1 (別号インターロイキン 1 β 変換酵素: ICE) からなるのが、プロトタイプである。Martinon らが、NLR の一つである NLRP1 で示したのが最初である⁷⁾。Srinivasula らは、FK-506-binding domain (FKBP) というタグを付けた ASC を API510 という薬剤で強制的に多量体化して IL-1 β を産生させるカスパーゼ 1 との複合体をインフラマソームとよんだ⁸⁾。われわれもほぼ同様のシステムによって PYD をもつ蛋白質を片端から API510 によって近接させて IL-1 β 産生の有無を確認している⁹⁾。このようにして、インフラマソームは ASC の近接によってカスパーゼ 1 を活性化し IL-1 β 産生を促す細胞内の蛋白質複合体として知られるようになった。

2. インフラマソームと関連分子

1) NLR・ASC・カスパーゼ 1

NLR は、N 末端側に同じドメイン同士が結合しやすい性質をもつ同種結合ドメインであるパイリンドメイン (PYD) かカスパーゼリクルートメントドメイン (CARD) をもち、中央に ATPase 活性をもつと予想される配列 (Walker's A- and B-Box) を含むドメインである核酸結合性多量体化ドメイン (NOD), C 末端側にロイシンの豊富なくり返し配列であるロイシンリッチリピート (LRR) をもつ¹⁰⁾。ASC はわれわれが発見した蛋白質で、N 末端に PYD, C 末端に CARD をもつ。PYD をもつ蛋白質と CARD をもつ蛋白質を結合させるアダプターとして機能している¹¹⁾。カスパーゼ 1 は、ペプチド配列のアスパラギン酸残基の C 末端側を切断する、活性中心にシステインをもつ蛋白

質分解酵素で、炎症性サイトカインとして知られている IL-1 β 前駆体を切断して活性型の IL-1 β に変換する¹²⁾。

2) 病原体パターン認識受容体としてのインフラマソーム

この構造は、apoptosis protease activating factor-1 (Apaf-1), カスパーゼ 9 (Apaf-3), ATP の加水分解によるアポトソーム形成と基本的に同じである。アポトソームは内因性のアポトーシスの際に形成される蛋白質複合体である。Apaf-1 は N 末端側に CARD, 中央に NOD, C 末端側に WD40 リピートという構造をもつ最初に発見された NLR である (図 1A)。ミトコンドリア傷害により放出された酸化還元酵素であるチトクローム C (Apaf-2) と ATP がそれぞれ Apaf-1 の WD40 リピートと NOD に存在する ATPase 活性をもつ部位に捕捉されると 7 量体を形成し、カスパーゼ 9 が活性化し、カスパーゼ 3 を切断することによってアポトーシスが誘導される¹³⁾。Apaf-1 との相同性をもとに多くの NLR が同定され¹⁰⁾、他方でクローン病や Blau 症候群、Chronic infantile neurological cutaneous and articular (CINCA) 症候群の疾患連鎖解析からその責任遺伝子がそれぞれ *IBDI*, *CISAI* でありその転写産物がそれぞれ、Nod2 と Cryopyrin (NLRP3) であったことから、本連載のテーマである自己炎症症候群の原因として注目が集まることとなった^{14)~17)}。自己炎症症候群は、自己抗体や自己炎症性 T 細胞の増加を伴わない周期熱症候群として定義された¹⁸⁾。この自己炎症症候群のプロトタイプである家族性地中海熱の疾患連鎖解析から責任遺伝子 *MEFV* の遺伝子産物 Pypin が同定され¹⁹⁾²⁰⁾、後に ASC やカスパーゼ 1 と相互作用することでインフラマソームの活性を制御する分子であることがわかった²¹⁾²²⁾。また Pypin と相互作用する CD2-binding protein 1 (CD2BP1)/proline serine threonine phosphatase-interacting protein 1

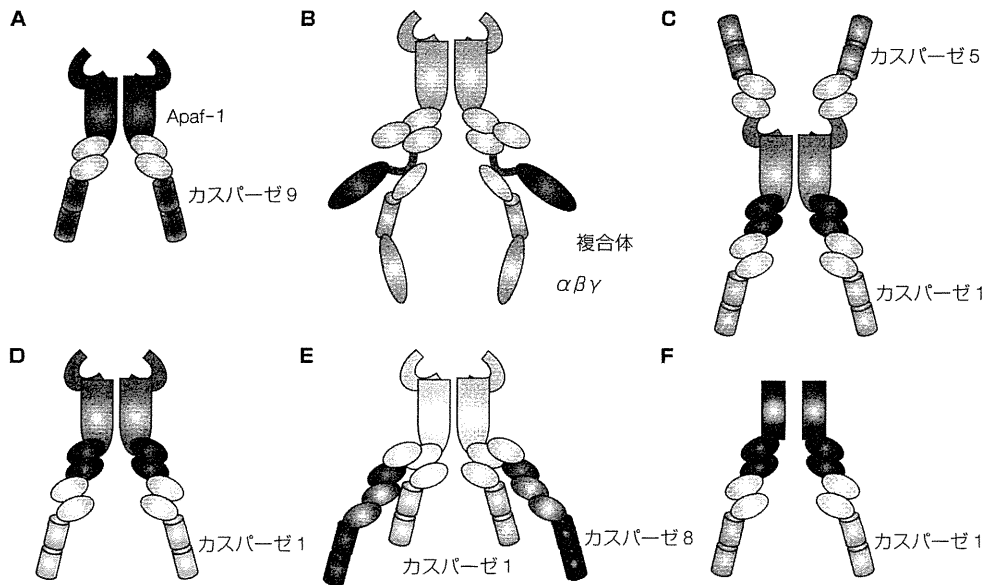


図 1. アポトソーム・ノッドソーム・インフラマソームの模式図

- A : アポトソーム (Apoptosome) は Apaf-1 とカスパーゼ 9 からなり、ミトコンドリア傷害によって遊離した酸化還元酵素であるチトクローム c を WD40 リピートで認識すると多量体化しカスパーゼ 3 を活性化しアポトーシスを誘導する。
- B : ノッドソーム (Nodosome) は Nod1 あるいは Nod2, RICK (RIP2) と IKK α , IKK β , IKK γ からなるシグナル伝達複合体 (Signalosome) で、細菌ペプチドグリカンの構造である iEDAP (Nod1 リガンド), MDP (Nod2 リガンド) を認識すると多量体化し NF- κ B を活性化する。
- C : NLRP1 インフラマソーム (本文参照)。
- D : NLRP3 インフラマソーム (本文参照)。
- E : NLRP4 インフラマソーム (本文参照)。
- F : AIM2 インフラマソーム (本文参照)。

(PSTPIP1) の変異は PAPA 症候群の原因であることが明らかになった²³⁾²⁴⁾。

この NLR は、細胞膜上に存在する Toll-like receptor (TLR) や C-type lectin-like receptor (CLR), DNA ヘリカーゼの構造をもちウイルス認識にかかわる RIG-1-like receptor (RLR) と同じように細胞内の病原体を認識する細胞内の病原体パターン認識受容体 pattern recognition receptor (PRR) として知られるようになり、これまでに 30 種類ほど同定されている¹⁰⁾。Nod1 と Nod2 は RICK をアダプター分子として I- κ B kinase (IKK) α , IKK β , IKK γ と複合体を形成し、NF- κ B を活性化する (図 1B)。先に発見された Nod1 や Nod2 も炎症にかかわるわけだが、提唱されたのが先であるインフラマソームに対してノッド

ソームといわれることもある²⁵⁾。インフラマソームを形成する NLR はほかに NLRP1 (Defcap-L/CARD7), NLRP2 (PYPAF2), NLRP3 (Cryopyrin/Pypaf1), NLRP6 (Pypaf5), NLRP4 (Ipaf) があり、NLR 以外では AIM2 が報告されている。それぞれの名前を冠して以下のようなインフラマソームがよく研究されている²⁶⁾。

3. 代表的なインフラマソーム

1) NLRP1 インフラマソーム

NLRP1 は Martinon らによってはじめてインフラマソームという用語を使って報告された分子である⁷⁾。当初 DEFCAP-L という名前でアポトーシスを誘導すると報告された²⁷⁾。NLRP1 は図 1C のような構造をもち、LRR より C 末端側に

も CARD をもつ(図 1C)。その CARD によるカスパーゼ 2,5,9 との結合により細胞死を誘導すると報告された²⁷⁾。細胞死を誘導して胎生致死になるためか NLRP1 遺伝子に変異をもつ自己炎症症候群は知られていない。特異性のある PAMPs の一つは炭疽菌のリーサルトキシン(LT)、ペプチドグリカンのムラミルジペプチド(MDP)で、Apaf-1 と同じように dNTP/NTP を必要とする²⁸⁾²⁹⁾(表 1)。

2) NLRP3 インフラマソーム

これまで、最もよく研究されているインフラマソームで図 1D のような構造をもつ。NALP3 は、細胞自身のもつ細胞傷害因子や細胞外からもたらされる傷害因子によって活性化される。細胞自身のもつ傷害因子としては、傷害を受けた細胞からの ATP、痛風の原因である尿酸ナトリウム結晶、偽痛風の原因であるピロリン酸カルシウム二水和物結晶、動脈硬化の原因であるコレステリン結晶、アミロイドーシスやアルツハイマー病などの神経変性疾患の原因である β アミロイド、細胞外基質であるヒアルロン酸などが報告されている^{30)~34)}。細胞外からもたらされる傷害因子としては、抗体作成のための免疫の際アジュバントとして使われるアルム(Alum)や石綿肺、珪肺、塵肺の原因となる石綿、二酸化硅素結晶、金属粉末などが報告されている^{35)~37)}。皮膚炎の原因となる UV、放射線、皮膚刺激性化合物なども活性化因子として報告され^{38)~39)}、病原微生物としては多数の細菌やウイルスなどがその活性化にかかわると報告されている(表 1)。これらの多くはノックアウトマウスなどを使った実験によっていて、分子的な直接結合の報告は現在までのところない。これらの活性化のメカニズムには図 2 に示すようなモデルが提唱されている。通常は上記のように振る舞っている NLRP3 インフラマソームであるが、この活性化の閾値が小さくなるような変異が、そのコードする遺伝子である *CIAS1* に認められると、クラ

イオパイリン関連周期熱症候群(Cryopyrin associated periodic syndrome : CAPS)という自己炎症症候群の原因となる⁴⁰⁾。

3) NLRC4 インフラマソーム

NLRC4(Ipaf)は図 1E に示すように N 末端に CARD をもつ NLR である。この点では Nod1 や Nod2 と同じだが、CARD を介して ASC と結合する⁴¹⁾。NLRC4 は ASC を介さずともカスパーゼ 1 と結合するが、THP-1 という単球系白血球の培養細胞を使うと導入した NLRC4 を AP1510 という薬剤で強制的に多量体化したときのみ IL-1 β が産生され、そのときのみ内在性の ASC との結合がみられた(未発表)。NLRC4 は ASC の PYD とカスパーゼ 8 の二つの DED を介して結合し、アポトーシスが誘導されるとともに、切断された DED による NF- κ B の活性化がみられる。この NF- κ B の活性化は Pyrin によって阻害される⁴²⁾⁴³⁾。細胞によってはピロプトーシスという細胞死がみられる⁴⁴⁾⁴⁵⁾。NLRC4 の特異的な PAMPs は細菌の鞭毛を構成する蛋白質であるフラジェリンで、表 1 にまとめたような細菌の認識にかかわっていると報告されている⁴⁶⁾⁴⁷⁾。

4) AIM2 インフラマソーム

AIM2(PYHIN4)の名前は Absent in melanoma 2 に由来し、インターフェロン(IFN)- γ で誘導される HIN200 ファミリーとして知られていた蛋白質で唯一 PYD をもつ蛋白質である⁴⁸⁾。図 1F のような構造をもつ。HIN は造血系細胞で発現し、IFN 誘導性で、核移行性の 200 アミノ酸からなるドメインをもつという意味である。カスパーゼは単に凝集しただけでは活性化せず、AP1510 などの多量体化試薬などできれいに配列させたときに近接活性化する⁴⁹⁾。NLR は NOD という多量体化ドメインをもつので、分子がきれいに配列してカスパーゼ 1 を活性化することが想像できるが、AIM2 の多量体形成の機序は謎である。特異性の

表 1. インフラマソームを活性化する因子 (Davis BK *et al*, 2011²⁶⁾ より引用)

インフラマソーム名	活性化因子
NALP1 インフラマソーム	PAMPs(生物学的細胞傷害因子) 炭素菌 リーサルトキシン(LT) ムラミルジペプチド(MDP)
NLRP3 インフラマソーム	PAMPs(生物学的細胞傷害因子) ウイルス核酸 センダイウイルス ワクシニアウイルス インフルエンザウイルス アデノウイルス 脳心筋炎ウイルス 真菌類 カンジタ 出芽酵母 アスペルギルス 細菌/毒素 黄色ブドウ球菌 ヘモリシン溶血素 リステリア菌 リステリオリシン O 偽膜性大腸炎菌 トキシン A 破傷風菌 テタノリシン溶血素 <i>Aeromonas hydrophila</i> アエロリシン 肺炎桿菌 大腸菌 菌周病菌 赤痢菌 淋菌 DAMPs(化学的細胞傷害因子) ATP ヒアルロン酸 ブドウ糖 コレステリン結晶 尿酸ナトリウム結晶 ピロリン酸カルシウム二水和物結晶 イミダゾキノリン化合物 皮膚刺激性芳香族化合物 トリニトロクロロフェノール トリニトロクロロベンゼン ジニトロフルオロベンゼン 金属(粉末)化合物 石棉 二酸化硅素 アルム(水酸化アルミニウム) DAMPs(物理学的細胞傷害因子) 紫外線 放射線
NLRC4 インフラマソーム	PAMPs(生物学的細胞傷害因子) フラジェリン 赤痢菌 サルモネラ菌 緑膿菌 レジオネラ菌
AIM2 インフラマソーム	PAMPs(生物学的細胞傷害因子) 2重鎖 DNA ワクシニアウイルス サイトメガロウイルス リステリア菌

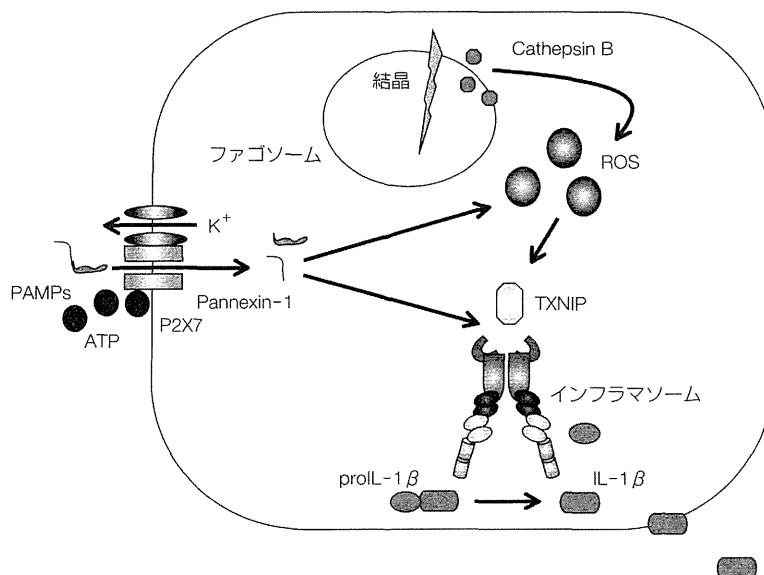


図 2. NALP3 インフラマソーム活性化のモデル

表 3 に示すように多くの活性化因子があるにもかかわらず NALP3 インフラマソームに直接結合して活性化するリガンドの証明はなされていない。そこで以下のようなモデルが考えられている。1) ATP の受容体である P2X7 とリンクしたカリウムチャネルを介したカリウムイオンの流出と Pannexin-1 のキャップ形成による PAMPs の流入。2) 結晶などを貪食しても消化できないこと (frustrated phagocytosis) によるストレスが NADH 酸化酵素を介して活性酸素種 (ROS) を発生させ、抗酸化蛋白質であるチオレドキシニンに捉えられ、遊離した Thioredoxin interacting protein (TXNIP) とともに NLRP3 インフラマソームが形成される。3) リソソームから遊離した CathepsinB が NLRP3 インフラマソームを形成させる。

ある PAMPs は 2 重鎖の DNA と報告されている。ポックスウイルス科のワクシニアウイルス、ヘルペスウイルス科のサイトメガロウイルスに対する生体防御にかかわると報告されている。ただし、同じヘルペスウイルス科でも口唇ヘルペスの原因となる単純ヘルペスウイルスの 1 型には反応しないと報告されている。認識するウイルスや細菌を表 1 に示した^{50)~52)}。

4. インフラマソームの形成を阻害する分子

インフラマソームと直接相互作用してその活性を負に制御する蛋白質が知られている。Pyrin-domain only protein (POP)1 や POP2 は ASC の PYD と、PYD をもつ上流の NLR との結合を阻害してインフラマソーム活性を制御している。また、粘液種ウイルスや線維腫ウイルスのつくる蛋

白質にも PYD のみをもつものがあり、インフラマソーム活性を抑制している。CARD-only protein (COP), ICEBERG, INCA, CASP12S は、ASC とカスパーゼ 1 の CARD を介した結合を阻害してインフラマソーム活性を抑制する⁵³⁾。NLRP7 (Pypaf3), NLRP10 (PYNOD) や NLRP12 (Pypaf7) も同様にインフラマソームの活性を負に制御すると報告されている^{54)~56)}。Pyrin は PYD を介して ASC とカスパーゼ 1 の結合を阻害し、PRY/SPRY ドメインがカスパーゼ 1 に結合しその活性を負に制御する。

5. インフラマソーム病

慢性的に上記のインフラマソームを活性化する傷害因子が細胞内に留まると、インフラマソームの持続活性化が起こると予想される。これを自己

表 2. 外因によるインフラマソーム病に分類される疾患 (Masters SL *et al.*, 2009⁵⁷⁾より改変引用)

症候名	疾患関連因子
痛風	尿酸ナトリウム結晶 (MSU)
偽痛風	ピロリン酸カルシウム結晶 (CPPD)
線維症	
肺線維症	
肝線維症	
後腹膜線維症	
硬化性胆管炎	
腎硬化症	造影強調剤 (ガドリニウム)
強皮症	
石綿肺	石綿 (アスベスト)
珪肺	二酸化珪素 (シリカ)
アルツハイマー病	β アミロイド
2 型糖尿病	高血糖
Schnitzler 症候群	複合要因
粥状硬化症	コレステリン結晶

MSU : monosodium urate, CPPD : calcium pyrophosphate dihydrate

炎症症候群と同様の自己炎症的機序による疾患と理解する考え方が広まりつつある⁴⁰⁾。尿酸ナトリウム結晶による痛風、ピロリン酸カルシウム二水和物結晶による偽痛風、二酸化珪素結晶や石綿の肺への吸入によって起こる珪肺、石綿肺、コレステリン結晶による動脈粥状硬化症などは、それらを貪食したマクロファージのなかで分解されない傷害因子が長期間留まることによって活性酸素種が産生され、持続的にインフラマソームを活性化するという自己炎症的機序により引き起こされるという考え方は理解しやすい。このような自己炎症的機序によるインフラマソームの活性化による疾患は外因(後天的)によるインフラマソーム病 (inflammasomopathy)と定義され、メタボリックシンドロームとも関連の強い2型糖尿病の進展にも関与するなど多くの疾患の原因として広がりを見せつつある(表2)。2型糖尿病では、高濃度の糖負荷によって、インスリンを分泌する膵 β 細胞の活性酸素種(ROS)が誘導され、抗酸化蛋白質で

ある Thioredoxin-interacting protein (TXNIP)に捕捉されることで、NLRP3 インフラマソームが活性化されると説明されている。またインフラマソームの活性化は獲得免疫を立ち上げるためのアジュバントとしても機能し、慢性炎症性疾患とのかかわりも指摘されつつある⁵⁷⁾。内因(遺伝性)によるインフラマソーム病は自己炎症症候群に分類される。これについては表3に簡単にまとめている。それぞれのエキスパートの先生方による連載でさらに深い解説がなされると思われる。

■ おわりに

インフラマソームについて簡単に解説した。生体と相互作用する細胞傷害因子は多種多様である。加えてさまざまな自然免疫にかかわる受容体や転写因子などの発現組織の違いとシグナル伝達のクロストークにより生体は複雑な傷害に適応する。そのため、インフラマソームは細胞傷害因子を検知するシステムの一つでありながら、その異常に