

## 2. ウイルス感染におけるインフラマゾーム

一戸 猛志<sup>1,2)</sup>, 岩崎 明子<sup>1)</sup>

1) エール大学医学部 免疫生物学部門

2) 日本学術振興会 海外特別研究員

NOD 受容体 (NOD-like receptors) は、微生物モチーフと危険シグナルを認識し、自然免疫応答に関わる細胞内パターン認識受容体ファミリーである。インフラマゾームは、NLRs, アダプタータンパク質と pro-caspase-1 からなる巨大タンパク質複合体で、caspase-1 を活性化して、炎症誘発性サイトカイン (IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-33) のプロセッシングと分泌, 細菌によって誘導される細胞死 (pyroptosis) を制御する。さまざまな NLRs からなるインフラマゾームの中でも、特に NLRP3 インフラマゾームは多くの刺激によって活性化される。最近の研究から、ある特定のウイルスも NLRP3 インフラマゾームを活性化することが明らかとなってきた。そこで本稿では、さまざまな刺激による NLRP3 インフラマゾーム活性化メカニズムを最新の知見を中心に概説する。さらに我々の研究で得られた知見を含め、インフルエンザウイルスに対する獲得免疫誘導におけるインフラマゾームの役割について考察する。

### はじめに

インフルエンザ感染症は毎年冬に流行が起り、高齢者での肺炎、幼児での脳症が致死的であり社会的な問題になっている。さらに我が国を含むアジア、ヨーロッパ、アフリカ各地で鳥インフルエンザウイルスが分離され、ヒトへの感染もインドネシア、ベトナム、エジプト、中国などにおいて多数報告されている。2003 年から現在までに、少なくとも世界中で 411 人の感染者が報告されており、致死率は 60% を超える。ほとんどの場合、ヒトへの感染は H5N1 に感染した家禽 (鶏や豚) との濃厚な接触によるものに限られているが、ヒトからヒトへの感染が疑われるケースも報告されており<sup>53)</sup>、ヒトでの増殖性を獲得した「新型イン

フルエンザウイルス」の世界的な大流行が危惧されている。このため毎年の季節性インフルエンザに対してだけではなく、新型インフルエンザに対する効果的なワクチンの開発が急務となっている<sup>16)</sup>。

インフルエンザウイルスは少なくとも 2 つの自然免疫システムによって認識される。Toll-like receptor (TLR) 7 はエンドサイトーシスを受けたインフルエンザウイルスのゲノム RNA をエンドゾーム内で認識する<sup>5, 34)</sup>。細胞質内センサー retinoic acid inducible gene I (RIG-I) は、感染細胞内のウイルスゲノム RNA を認識する<sup>26)</sup>。インフルエンザウイルスの認識に、多くの細胞は RIG-I 経路を使用するが、plasmacytoid DCs (pDCs) は TLR7 を使用する<sup>26)</sup>。樹状細胞によるこれらのウイルス認識システムは、感染初期のウイルス抑制に役立つだけではなく、その後の獲得免疫応答の誘導に極めて重要である<sup>19)</sup>。TLR-MyD88 シグナルは、インフルエンザウイルス特異的な CD4T 細胞応答と IgG2a, IgG2c 抗体応答の誘導に必要であるが、CTL (cytotoxic T lymphocyte) の誘導には必要ない<sup>13, 30)</sup>。RIG-I シグナルは、インフルエンザウイルス特異的な獲得免疫応答の誘導には関与しない<sup>30)</sup>。このことは、インフルエンザウイルス特異的な CTL の誘導には TLRs や RIG-I 以外の分子が関与していることを示唆している。これとは対

### 連絡先

Department of Immunobiology,  
Yale University School of Medicine,  
New Haven, CT 06520, USA.  
TEL: +1-203-785-2919  
FAX: +1-203-785-4972  
E-mail: takeshi.ichinohe@yale.edu  
akiko.iwasaki@yale.edu

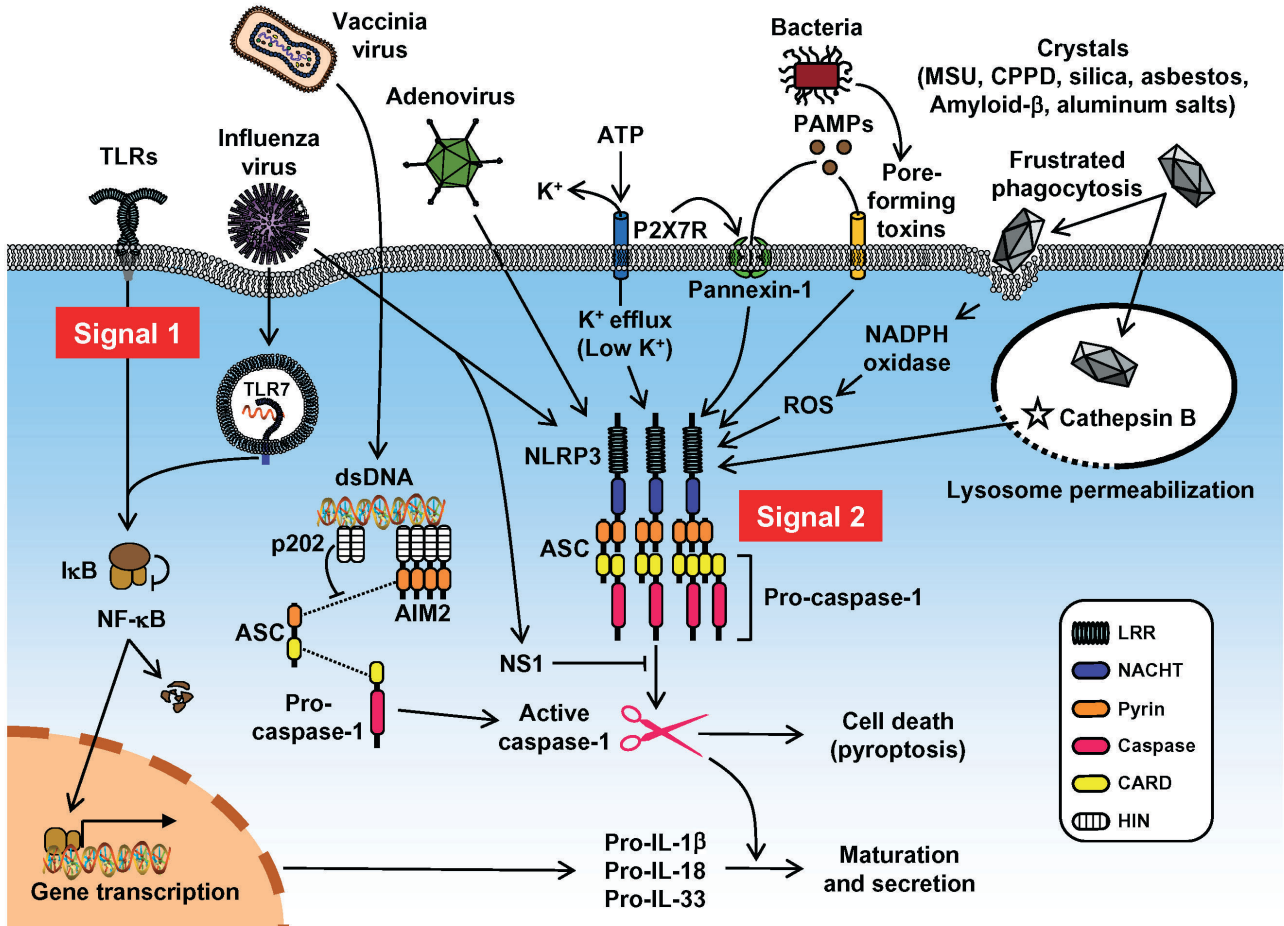


図1 NLRP3 インフラマゾームの活性化と炎症誘発性サイトカインのプロセッシング

Caspase-1は炎症性サイトカインのプロセッシングと分泌、さらに細胞死を制御する。Caspase-1の活性化には少なくとも2つのステップが必要である。TLRsからの刺激(シグナル1)は、NF- $\kappa$ Bを活性化して炎症誘発性サイトカインの前駆体(pro-IL-1 $\beta$ /-18/-33)の転写・翻訳を誘導する。もうひとつのステップはインフラマゾームによるcaspase-1の活性化である。NLRP3インフラマゾームは、さまざまな刺激物(シグナル2)によって活性化しうる。インフルエンザウイルスによるNLRP3インフラマゾームの活性化には、ウイルスゲノムRNAだけでは不十分で、ウイルスの複製が必須である。インフルエンザウイルスNS1タンパク質はcaspase-1の活性化を抑制する。アデノウイルス(dsDNAウイルス)はNLRP3インフラマゾームを活性化するが、トランスフェクション試薬によりdsDNAを細胞内に導入するとNLRP3非依存的にcaspase-1が活性化する。HIN-200ファミリーのAIM2はHINドメインで細胞質内のdsDNAに結合し、pyrinドメインを介してアダプタータンパク質のASCに結合し、ASCのCARDドメインを介して、pro-caspase-1をリクルートする。Vaccinia virusは、AIM2依存的にcaspase-1を活性化する。細胞外のATPは、P2X7受容体の構造変化を起こし、チャネルが開くと細胞内のカリウム(K<sup>+</sup>)を流出させ(potassium efflux)、NLRP3インフラマゾームを活性化する。さらにpannexin-1による細孔を広げPAMPsの細胞質への転移を起こしNLRP3インフラマゾームを活性化する。孔形成細菌毒素(pore-forming bacterial toxins)も同じくPAMPsの細胞質への転移を起こしNLRP3インフラマゾームを活性化する。結晶粒子がfrustrated phagocytosisをうけるとROSを誘導しNLRP3インフラマゾームを活性化する。また食後は、リソソーム膜の結合性を不安定化し、カテプシンBの作用によりNLRP3インフラマゾームを活性化する。TLRs, toll-like receptors; NF- $\kappa$ B, nuclear factor  $\kappa$ B; ssRNA, single-stranded RNA; dsDNA, double-stranded DNA; AIM2, absent in melanoma 2; ASC, apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD; NS1, non-structural protein 1; NLRP3, NLR protein 3; MSU, monosodium urate; CPPD, calcium pyrophosphate dehydrate; ROS, reactive oxygen species; NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; LRR, leucine-rich repeat; CARD, caspase recruitment domain; HIN, hematopoietic interferon-inducible nuclear protein

照的に、NOD-like receptors (NLRs) のインフルエンザウイルス認識と獲得免疫誘導における役割は未知である。

### インフラマゾーム

NLR ファミリーは、細胞質に存在し、Toll-like receptors (TLRs) や、retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I)-like receptors (RLRs) と同じように、自然免疫に関与する分子群で、細胞内パターン認識受容体の大きなファミリーを形成する<sup>54)</sup>。NLRs はさまざまなダメージ関連分子パターン<sup>28)</sup> (damage-associated molecular patterns, DAMPs) と病原体関連分子パターン (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) によって活性化され<sup>40, 42, 44)</sup>、活性化するとアダプタータンパク質の ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) を介して、pro-caspase-1 (カスパーゼ 1 前駆体) を集合させ、巨大タンパク複合体のインフラマゾーム (inflammasome) を形成する (図 1)。NLR ファミリーの NLR protein 3 (NLRP3) (NALP3, Cryopyrin, CIAS1, PYPAF1 としても知られている<sup>51)</sup> はもっとも良く研究されている NLR のひとつで、DAMPs (ATP や尿酸結晶) や PAMPs (細菌 RNA やペプチドグリカン) などによって活性化される<sup>25, 35, 39)</sup>。活性化後 NLRP3 は、アダプタータンパク質の ASC を介して pro-caspase-1 を集合させる。オリゴマー化した pro-caspase-1 は、自己分解を起こし、10KDa と 20KDa のサブユニットからなる、活性型ヘテロダイマーを形成する。活性化カスパーゼ 1 は、炎症誘発性サイトカイン IL-1 $\beta$ 、IL-18、IL-33 の前駆体を切断して成熟化する<sup>31)</sup>。これらサイトカインは、いまだによく理解されていないメカニズムにより細胞質から細胞外へと分泌される<sup>27)</sup> (図 1)。活性型 IL-1 $\beta$  の分泌には少なくとも 2 つのステップが必要である<sup>40, 42)</sup>。ひとつは TLRs からの刺激 (シグナル 1) で、これにより pro-IL-1 $\beta$  が細胞質内で作られる。もうひとつは、インフラマゾームの活性化 (シグナル 2) で、これにより caspase-1 が pro-IL-1 $\beta$  を切断する (図 1)。成熟 IL-1 $\beta$  は、感染局所への炎症細胞の遊走など、さまざまな免疫応答に関与する。また細菌によって活性化したカスパーゼ 1 は、pyroptosis や pyronecrosis と呼ばれる細胞死にも関与する<sup>52)</sup>。

### NLRP3 と ASC インフラマゾーム

NLRP3 はもともと、低張液でヒトの単球を溶解した際の抽出液に見られるインフラマゾームの構成成分として見つかった<sup>38)</sup>。その後、NLRP3 インフラマゾームは、LPS, Muramyl dipeptide (MDP: 細菌のペプチドグリカンに存在する構造)、細菌 RNA、合成二本鎖 RNA poly (I:C)、イミダゾキノリン R837/R848 (抗ウイルス薬) などを過剰量刺激した際に、活性化することが示された<sup>22, 24, 25, 36, 37, 41)</sup>。興味深いことに、二本鎖 DNA (dsDNA) ウイルスであるアデノウイルスによるインフラマゾームの活性化は、

NLRP3 と ASC 依存的であったが、トランスフェクションによって導入された細胞質内の dsDNA は、NLRP3 非依存的に caspase-1 を活性化した<sup>41)</sup> (図 1)。ごく最近、4 つのグループによって、細胞質内 dsDNA によるインフラマゾーム活性化に関わる分子として、pyrin ドメインを持ち HIN-200 ファミリー (hematopoietic interferon-inducible nuclear protein) の AIM2 (absent in melanoma 2) が同定された<sup>1, 9, 14, 45)</sup> (図 1)。AIM2 の C 末端 HIN ドメインは dsDNA に結合する。また N 末端は Pypin ドメインを介して ASC と結合し、pro-caspase-1 のオリゴマー化を引き起こす。もうひとつの HIN-200 ファミリーである、p202 は HIN ドメインのホモ二量体で、dsDNA による caspase-1 活性化のドミナントネガティブ分子として働いている<sup>45)</sup> (図 1)。NLRP3 インフラマゾームのひとつの特徴は、DAMPs (ATP や尿酸結晶)、孔形成毒素 (pore-forming toxin)、アスベストやシリカなどの粒子状物質によって活性化されることである<sup>6, 35, 39, 50)</sup>。Kahlenberg らによる、ATP の短時間の刺激で、LPS による caspase-1 の活性化を増強するという発見は、NLRP3 インフラマゾーム活性化のメカニズムに、大きな手がかりを与えた<sup>21)</sup>。細胞外の ATP は、イオンチャネル型プリン受容体 (P2X) P2X7 の構造変化を起こす。この構造変化によりチャネルが開いて、カリウム (K<sup>+</sup>) が流出し、細胞膜の脱分極を引き起こす<sup>10, 46)</sup> (図 1)。さらに細胞外の ATP は、pannexin-1 の細孔を広げ<sup>23, 43)</sup>、細胞内小胞から細胞質へ MDP の転移を起こし、NLRP3 依存的に caspase-1 を活性化する<sup>36)</sup>。しかし孔形成細菌毒素 (pore-forming bacterial toxins) による NLRP3 インフラマゾームの活性化は、pannexin-1 に依存しない<sup>23)</sup> (図 1)。ゆえに、病原体の感染などにより損傷した細胞から放出される ATP は、pannexin-1 の開口を引き起こし、病原体関連分子 (DAMPs) を細胞外 (細胞内小胞) から宿主細胞質内へ転移させ、病原体に対する自然免疫応答の発動に役立っているものと考えられる (図 1)。

### ウイルス感染とインフラマゾーム

細菌感染によるインフラマゾームの役割についてはよく理解されているが、ウイルス感染におけるインフラマゾームの知見は限られている<sup>17, 20, 22, 41)</sup>。Kanneganti らは、センダイウイルスとインフルエンザウイルスが、ATP で 30 分間刺激したマクロファージにおいて NLRP3 インフラマゾームを活性化することを示した<sup>22)</sup> (しかしこの場合、ATP によってシグナル 2 を外部から供給しているので、ウイルスそのものがインフラマゾームを活性化しているかどうかは不明)。Muruve らは、アデノウイルスが NLRP3, ASC, caspase-1 依存的にインフラマゾームを活性化することを明らかにした<sup>41)</sup> (図 1)。しかし、合成二本鎖 RNA poly (I:C) のトランスフェクションや、レオウイルス (二本鎖 RNA ウイルス)、水泡性口内炎ウイルス (一本鎖 RNA ウ

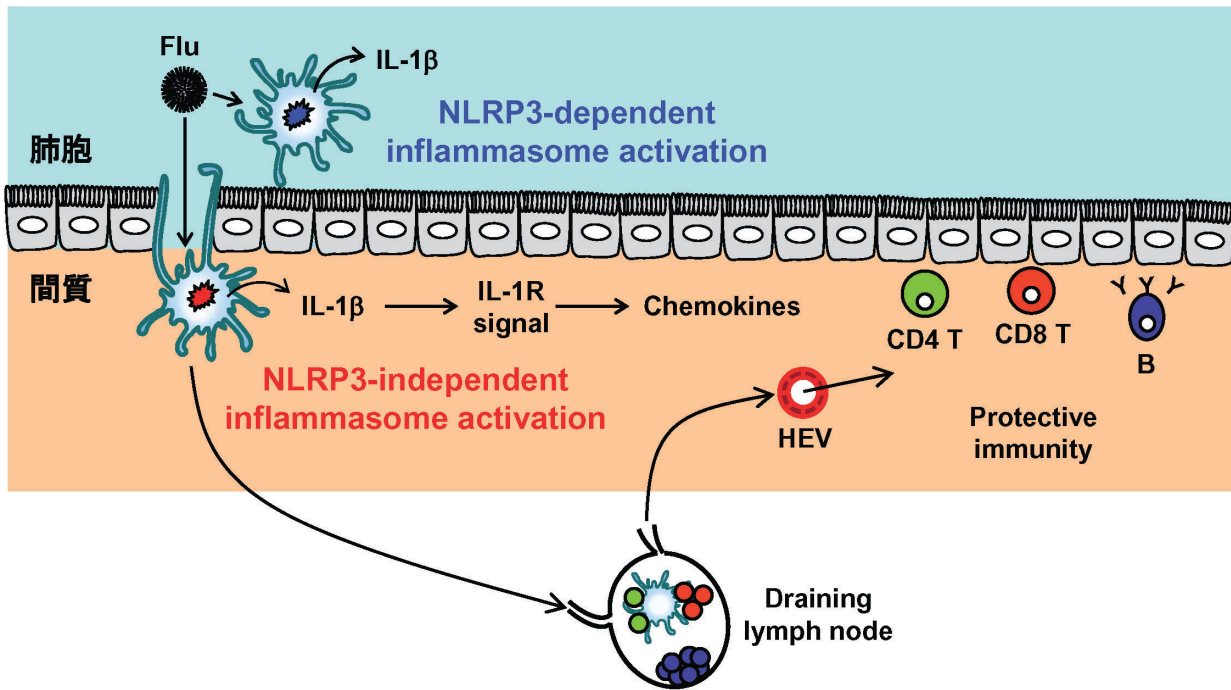


図2 インフラマゾームによるインフルエンザウイルス特異的獲得免疫応答の制御

インフルエンザウイルスの感染により、肺胞マクロファージはNLRP3依存的にIL-1 $\beta$ を産生する。間質に存在する細胞は、NLRP3非依存的にIL-1 $\beta$ を産生する。骨髄移植キメラマウスを用いた解析から、間質に存在する造血細胞のNLRP3非依存的なインフラマゾームの活性化が、その後のウイルス特異的な獲得免疫応答の誘導に必須であることが明らかとなった。これらの結果は、TLR経路に加えて、インフラマゾームが、インフルエンザウイルスに対する獲得免疫の誘導に中心的な役割を果たしていることを示している。HEV, high endothelial venule

イルス)の感染では、インフラマゾームは活性化しなかった<sup>41)</sup>。Johnstonらは、粘液腫ウイルス(二本鎖DNAウイルス)のPYDドメイン含有タンパク質(M13L)が、宿主のASCタンパク質のPYDドメインと結合し、caspase-1の活性化と炎症反応、感染細胞のアポトーシスを抑制していることを明らかにした<sup>20)</sup>。Hournungらは、Vaccinia virus(dsDNA)がAIM2依存的にcaspase-1を活性化していることを示した<sup>14)</sup>(図1)。

我々は、インフルエンザウイルスをマウスへ感染させると、肺でNLRP3/ASC/caspase-1依存的なインフラマゾームの活性化を引き起こすことを明らかにした<sup>17)</sup>。肺において、インフルエンザウイルスの最初の標的細胞は上皮細胞であると考えられ、ここでいったんウイルスが増殖し、引き続き肺胞マクロファージや樹状細胞などへ感染を引き起こすと考えられる<sup>32)</sup>。これら標的となりうる細胞でのインフルエンザウイルスによるインフラマゾームの活性化を調べると、樹状細胞やマクロファージでは、IL-1 $\beta$ の分泌はNLRP3とcaspase-1に依存していた。しかし初代肺臓維芽細胞では、IL-1 $\beta$ の分泌はNLRP3非依存的でcaspase-1依存的であった。これらの結果から、肺胞や間質に存在する

細胞の種類によってインフルエンザウイルスを認識するNLRインフラマゾームが異なっている可能性が考えられる(図2)。次にインフルエンザウイルスの感染のどのステップが、インフラマゾーム活性化に必要なのかを調べると、細胞への吸着(65℃不活化ウイルス)、融合(56℃不活化ウイルス)、ウイルスRNAの翻訳(UV不活化ウイルス)が必要であることが分かった<sup>17)</sup>。さらにインフルエンザウイルスのどの成分がNLRP3インフラマゾームを活性化しているのかを明らかにするため、インフルエンザウイルスからウイルスゲノムRNAを精製し、細胞へトランスフェクションした。しかし生ウイルスの感染と比べると、ごく僅かなIL-1 $\beta$ の分泌しか認められなかった<sup>17)</sup>。このことはウイルスゲノムRNAに加えて、他の因子がインフラマゾームの活性化に必要であることを示唆している。インフルエンザウイルスも宿主応答に対抗すべく、caspase-1の活性化抑制する戦略を持ち合わせている。Stasakovaらは、初代ヒトマクロファージに、NS1のRNA結合領域を欠損したインフルエンザウイルス(PR8/NS1del40-80)を感染させると、野生型PR8ウイルスと比較して、大量のIL- $\beta$ とIL-18を誘導することを発見した<sup>49)</sup>。さらにNS1欠損ウ

イルスは、迅速に感染細胞のアポトーシスを誘導する (図 1)。これらの知見は、インフラマゾームが細菌感染だけでなく、ウイルス感染に対しても、何らかの役割を果たしていることを強く示唆している。

### 壊死細胞と好中球の浸潤

NLRP3 インフラマゾームを活性化する刺激物のひとつに尿酸結晶がある。尿酸は、壊死した細胞から放出される内在性の危険シグナル (DAMPs) で、樹状細胞を成熟させ、抗原と共にマウスへ接種すると CD8T 細胞応答を亢進する<sup>47)</sup>。その後、尿酸ナトリウム (monosodium urate, MSU) 結晶と、ピロリン酸カルシウム (calcium pyrophosphate dehydrate, CPPD) 結晶が、NLRP3 インフラマゾームの刺激物であることが報告された<sup>39)</sup> (図 1)。ASC 欠損マウスへ尿酸結晶を腹腔内投与した際、好中球の遊走が損なわれていたことから、NLRP3 インフラマゾームの自然免疫反応への関与が示唆された<sup>39)</sup>。Chen らは、尿酸による腹膜炎モデルと似た、痛風モデルで、間質細胞 (stromal cell) の IL-1R が欠損していると、好中球の遊走が損なわれていて、痛風の症状が抑えられていることを見出した<sup>4)</sup>。痛風は、関節とその周囲に尿酸ナトリウム (MSU) 結晶が沈着して、好中球が浸潤してきて起こる自己炎症疾患である。痛風の発症には、尿酸結晶による caspase-1 の活性化が、重要な役割を果たしているようである。これらの知見と一致して、痛風患者に IL-1Ra (IL-1R antagonist) を与えると、症状が軽減した<sup>48)</sup>。しかし caspase-1 欠損細胞は、壊死細胞に対する CXCL1 の発現が正常であったことから、NLRP3 インフラマゾームは CXCL1 の発現には関与しない<sup>7)</sup>。さらに壊死細胞は IL-1 $\alpha$  を放出し、IL-1R を介して、好中球が腹腔へ遊走するのを助けている<sup>7)</sup>。このように、細胞壊死による好中球の浸潤には、尿酸結晶によって NLRP3 依存的に産生される IL-1 $\beta$  と、壊死細胞自身から放出される IL-1 $\alpha$  によって活性化される IL-1R シグナルが重要な役割を果たしている。実際にウイルス感染局所で、このような経路が自然免疫細胞の浸潤に役割を果たしているか興味深い。最近、マウスへインフルエンザウイルスを感染させた際の、肺へのリンパ球の浸潤は、ASC, caspase-1, IL-1R 依存的で、NLRP3 非依存的であることが分かった<sup>17)</sup>。これについては後述する。

### 結晶による NLRP3 インフラマゾームの活性化

NLRP3 インフラマゾームを活性化する刺激物とする物質として、シリカ、アスベスト<sup>3, 6, 15)</sup>、水酸化アルミニウム<sup>8, 11, 29, 33)</sup>、アルツハイマー病に関与する  $\beta$ アミロイド繊維<sup>12)</sup> があるが (図 1)、これらの粒子、結晶、繊維がどのように NLRP3 インフラマゾームを活性化するかはいまだ明らかではない。しかし、これらの物質が特異的に NLRP3 インフラマゾームによって認識されているわけではない。結晶構

造の貪食による NLRP3 の活性化メカニズムは、現在少なくとも以下のような 2 つのモデルが考えられている。

#### 1) Frustrated phagocytosis と ROS

MSU, alum, シリカ, アスベストなどの粒子・結晶は、マクロファージなどが貪食するには大き過ぎるためにファゴソームを形成せずに細胞表面にとどまる、いわゆる frustrated phagocytosis を誘導することがあり (図 1)、細胞骨格フィラメントの形成を引き起こす<sup>2)</sup>。ファゴサイトーシスの過程で生じる細胞骨格フィラメントの形成を、cytochalasin D や colchicine で阻害すると、粒子による IL-1 $\beta$  の誘導が損なわれる<sup>6, 8, 39)</sup>。これらの結果は、粒子、結晶のファゴサイトーシスや frustrated phagocytosis の過程が、NLRP3 の活性化に関与していることを示唆している。マクロファージをアスベストや MSU で刺激すると、活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) の産生を引き起こす<sup>6)</sup> (図 1)。この ROS の産生には、微生物の貪食によって活性化される酵素 NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) が関わっている可能性がある。実際に ROS や NADPH の抑制剤は、MSU, シリカやアスベストによるインフラマゾームの活性化も抑制する<sup>6)</sup>。これらのことから、結晶の貪食により発生する ROS が、直接的または間接的に NLRP3 インフラマゾームによって認識されている可能性がある。H5N1 型鳥インフルエンザウイルスは、マウス肺胞マクロファージとヒト PBMC から ROS を誘導する<sup>18)</sup>、NLRP3 インフラマゾームを活性化するインフルエンザウイルスやアデノウイルスが、ROS による NLRP3 インフラマゾームの活性化経路に関わっているかどうかは不明である。

#### 2) リソソーム膜の透過性とカテプシン B

シリカ、アルミニウム塩、 $\beta$ アミロイド繊維を貪食すると、リソソーム膜の透過性が増す<sup>15, 55)</sup> (図 1)。これによりカテプシン B が細胞質へ放出され、NLRP3 を活性化する (カテプシン B による NLRP3 の活性化メカニズムは不明)。シリカはカテプシン B 依存的に caspase-1 を活性化するが、ATP によるそれはカテプシン B に依存しない<sup>15)</sup>。非常に興味深いことに、浸透圧や化学物質 ( $\gamma$ -leucyl- $\gamma$ -leucine methyl ester) で、リソソーム膜の結合性を壊すと、結晶粒子がなくても NLRP3 を活性化する<sup>15)</sup>。このことは、シリカなどの結晶は、NLRP3 がリソソーム膜の結合性を認識することにより、間接的に認識されている可能性がある。しかし NLRP3 インフラマゾームの活性化とリソソーム膜の透過性、カテプシン B の相互作用について不明な点が多く残されており、さらに明らかにする必要がある。また NLRP3 インフラマゾームを活性化するウイルスが、このようなリソソーム膜の結合性の崩壊とカテプシン B の経路に関係しているのかは、非常に興味深い点である。これらの

ことは、ROS 経路によるインフラマゾームの活性化メカニズムとの関連も含めて、さらに明らかにする必要がある。

### インフルエンザウイルス特異的獲得免疫応答の誘導におけるインフラマゾームの役割

インフルエンザウイルスに対する獲得免疫誘導における NOD-like receptors (NLRs) の役割を明らかにする為に、我々はマウスのインフルエンザ感染モデルを用いた。インフルエンザウイルスをマウスへ経鼻感染させると、NLRP3 非依存的で ASC, caspase-1, IL-1R 依存的にリンパ球が肺へ遊走してくることを明らかにした<sup>17)</sup>。インフルエンザウイルス特異的な CD4, CD8T 細胞応答, 上気道粘膜の IgA 抗体応答と全身の IgG 抗体応答は、ASC, caspase-1, IL-1R 欠損マウスで損なわれていたが、NLRP3 欠損マウスでは野生型マウスと同程度であった。その結果、ASC, caspase-1, IL-1R 欠損マウスは、野生型と NLRP3 欠損マウスに対しては非致死量のインフルエンザウイルスに対して致死的で、肺からのウイルスの排除にかかる時間も遅れていた。さらに骨髄移植キメラマウスを用いた実験から、間質細胞ではなく造血細胞側の caspase-1 インフラマゾームの活性化が、ウイルス特異的な防御免疫の誘導に必要であることが明らかとなった (図 2)。これらの結果は、TLR 経路に加えて、ASC インフラマゾームが、インフルエンザウイルスに対する獲得免疫の誘導に中心的な役割を果していることを示している。今後、IL-1 $\beta$  によるインフルエンザウイルス特異的な獲得免疫誘導メカニズムの詳細 (間質での IL-1 $\beta$  分泌とその反応性に関わる細胞の同定や、IL-1R シグナルによる獲得免疫誘導メカニズム) を明らかにすることで、より効果的なインフルエンザワクチンのデザインに役立つことが期待される。

### おわりに

インフラマゾームという概念が生まれてから 10 年も経たないうちに、そのリガンド、活性化メカニズム、免疫疾患や病原体認識における役割など非常に多くの理解が深まった。NLRs は当初、細菌の認識に関わる自然免疫受容体と考えられてきたが、最近では NLRP3 においては、ある特定のウイルスや、内因性の危険シグナル (DAMPs) なども、NLRP3 インフラマゾームを活性化するものとして認識されている。これらのことを総合すると TLRs や RLRs が、ウイルスや細菌特有の分子パターン (PAMPs) を認識しているのとは対照的に、NLRP3 インフラマゾームは、不特定の刺激物による宿主の恒常性の変化を認識するための受容体として進化してきた可能性がある。ウイルス感染におけるインフラマゾームの研究は始まったばかりで、それぞれのウイルスがどのようにインフラマゾームを活性化しているのかなどは、いまだに不明な点が多く残されている。これらは今後さらに大きく発展する研究分野であり、ウイル

スの病原性の理解、ウイルス疾患の予防や治療、新しいワクチン開発へつながることが期待される<sup>16)</sup>。

### 謝 辞

本稿で紹介した筆者らの研究 (インフルエンザウイルスに対する獲得免疫誘導のインフラマゾームの役割) は、エール大学医学部免疫生物学部門 Dr. Richard Flavell ラボとの共同研究で行われ、貴重なノックアウトマウスを多く提供していただきました。また同ラボの小倉裕範先生 (現、琉球大学医学研究科病原因子解析学分野) には、NLR について多くのことをご教授いただきました。改めてここに深謝いたします。

### 参考文献

- 1) Burckstummer, T., C. Baumann, S. Bluml, E. Dixit, G. Durnberger, H. Jahn, M. Planyavsky, M. Bilban, J. Colinge, K. L. Bennett, and G. Superti-Furga. 2009. An orthogonal proteomic-genomic screen identifies AIM2 as a cytoplasmic DNA sensor for the inflammasome. *Nat Immunol* 10:266-72.
- 2) Cannon, G. J., and J. A. Swanson. 1992. The macrophage capacity for phagocytosis. *J Cell Sci* 101 (Pt 4):907-13.
- 3) Cassel, S. L., S. C. Eisenbarth, S. S. Iyer, J. J. Sadler, O. R. Colegio, L. A. Tephly, A. B. Carter, P. B. Rothman, R. A. Flavell, and F. S. Sutterwala. 2008. The Nalp3 inflammasome is essential for the development of silicosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:9035-40.
- 4) Chen, C. J., Y. Shi, A. Hearn, K. Fitzgerald, D. Golenbock, G. Reed, S. Akira, and K. L. Rock. 2006. MyD88-dependent IL-1 receptor signaling is essential for gouty inflammation stimulated by monosodium urate crystals. *J Clin Invest* 116:2262-71.
- 5) Diebold, S. S., T. Kaisho, H. Hemmi, S. Akira, and C. Reis e Sousa. 2004. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science* 303:1529-31.
- 6) Dostert, C., V. Pettrilli, R. Van Bruggen, C. Steele, B. T. Mossman, and J. Tschopp. 2008. Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. *Science* 320:674-7.
- 7) Eigenbrod, T., J. H. Park, J. Harder, Y. Iwakura, and G. Nunez. 2008. Cutting edge: critical role for mesothelial cells in necrosis-induced inflammation through the recognition of IL-1 alpha released from dying cells. *J Immunol* 181:8194-8.
- 8) Eisenbarth, S. C., O. R. Colegio, W. O'Connor, F. S. Sutterwala, and R. A. Flavell. 2008. Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature* 453:1122-6.
- 9) Fernandes-Alnemri, T., J. W. Yu, P. Datta, J. Wu, and E. S. Alnemri. 2009. AIM2 activates the inflammasome and cell death in response to cytoplasmic DNA. *Nature*.
- 10) Ferrari, D., C. Pizzirani, E. Adinolfi, R. M. Lemoli, A. Curti, M. Idzko, E. Panther, and F. Di Virgilio. 2006.

- The P2X7 receptor: a key player in IL-1 processing and release. *J Immunol* 176:3877-83.
- 11) Franchi, L., and G. Nunez. 2008. The Nlrp3 inflammasome is critical for aluminium hydroxide-mediated IL-1beta secretion but dispensable for adjuvant activity. *Eur J Immunol* 38:2085-9.
  - 12) Halle, A., V. Hornung, G. C. Petzold, C. R. Stewart, B. G. Monks, T. Reinheckel, K. A. Fitzgerald, E. Latz, K. J. Moore, and D. T. Golenbock. 2008. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta. *Nat Immunol* 9:857-65.
  - 13) Heer, A. K., A. Shamshiev, A. Donda, S. Uematsu, S. Akira, M. Kopf, and B. J. Marsland. 2007. TLR signaling fine-tunes anti-influenza B cell responses without regulating effector T cell responses. *J Immunol* 178:2182-91.
  - 14) Hornung, V., A. Ablasser, M. Charrel-Dennis, F. Bauernfeind, G. Horvath, D. R. Caffrey, E. Latz, and K. A. Fitzgerald. 2009. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature*.
  - 15) Hornung, V., F. Bauernfeind, A. Halle, E. O. Samstad, H. Kono, K. L. Rock, K. A. Fitzgerald, and E. Latz. 2008. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat Immunol* 9:847-56.
  - 16) Ichinohe, T., A. Iwasaki, and H. Hasegawa. 2008. Innate sensors of influenza virus: clues to developing better intranasal vaccines. *Expert Rev Vaccines* 7:1435-45.
  - 17) Ichinohe, T., H. K. Lee, Y. Ogura, R. Flavell, and A. Iwasaki. 2009. Inflammasome recognition of influenza virus is essential for adaptive immune responses. *J Exp Med* 206:79-87.
  - 18) Imai, Y., K. Kuba, G. G. Neely, R. Yaghubian-Malhami, T. Perkmann, G. van Loo, M. Ermolaeva, R. Veldhuizen, Y. H. Leung, H. Wang, H. Liu, Y. Sun, M. Pasparakis, M. Kopf, C. Mech, S. Bavari, J. S. Peiris, A. S. Slutsky, S. Akira, M. Hultqvist, R. Holmdahl, J. Nicholls, C. Jiang, C. J. Binder, and J. M. Penninger. 2008. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell* 133:235-49.
  - 19) Iwasaki, A., and R. Medzhitov. 2004. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol* 5:987-95.
  - 20) Johnston, J. B., J. W. Barrett, S. H. Nazarian, M. Goodwin, D. Ricciuto, G. Wang, and G. McFadden. 2005. A poxvirus-encoded pyrin domain protein interacts with ASC-1 to inhibit host inflammatory and apoptotic responses to infection. *Immunity* 23:587-98.
  - 21) Kahlenberg, J. M., K. C. Lundberg, S. B. Kertesz, Y. Qu, and G. R. Dubyak. 2005. Potentiation of caspase-1 activation by the P2X7 receptor is dependent on TLR signals and requires NF-kappaB-driven protein synthesis. *J Immunol* 175:7611-22.
  - 22) Kanneganti, T. D., M. Body-Malapel, A. Amer, J. H. Park, J. Whitfield, L. Franchi, Z. F. Taraporewala, D. Miller, J. T. Patton, N. Inohara, and G. Nunez. 2006. Critical role for Cryopyrin/Nalp3 in activation of caspase-1 in response to viral infection and double-stranded RNA. *J Biol Chem* 281:36560-8.
  - 23) Kanneganti, T. D., M. Lamkanfi, Y. G. Kim, G. Chen, J. H. Park, L. Franchi, P. Vandenabeele, and G. Nunez. 2007. Pannexin-1-mediated recognition of bacterial molecules activates the cryopyrin inflammasome independent of Toll-like receptor signaling. *Immunity* 26:433-43.
  - 24) Kanneganti, T. D., M. Lamkanfi, and G. Nunez. 2007. Intracellular NOD-like receptors in host defense and disease. *Immunity* 27:549-59.
  - 25) Kanneganti, T. D., N. Ozoren, M. Body-Malapel, A. Amer, J. H. Park, L. Franchi, J. Whitfield, W. Barchet, M. Colonna, P. Vandenabeele, J. Bertin, A. Coyle, E. P. Grant, S. Akira, and G. Nunez. 2006. Bacterial RNA and small antiviral compounds activate caspase-1 through cryopyrin/Nalp3. *Nature* 440:233-6.
  - 26) Kato, H., S. Sato, M. Yoneyama, M. Yamamoto, S. Uematsu, K. Matsui, T. Tsujimura, K. Takeda, T. Fujita, O. Takeuchi, and S. Akira. 2005. Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response. *Immunity* 23:19-28.
  - 27) Keller, M., A. Ruegg, S. Werner, and H. D. Beer. 2008. Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion. *Cell* 132:818-31.
  - 28) Kono, H., and K. L. Rock. 2008. How dying cells alert the immune system to danger. *Nat Rev Immunol* 8:279-89.
  - 29) Kool, M., V. Petrilli, T. De Smedt, A. Rolaz, H. Hammad, M. van Nimwegen, I. M. Bergen, R. Castillo, B. N. Lambrecht, and J. Tschopp. 2008. Cutting edge: alum adjuvant stimulates inflammatory dendritic cells through activation of the NALP3 inflammasome. *J Immunol* 181:3755-9.
  - 30) Koyama, S., K. J. Ishii, H. Kumar, T. Tanimoto, C. Coban, S. Uematsu, T. Kawai, and S. Akira. 2007. Differential role of TLR- and RLR-signaling in the immune responses to influenza A virus infection and vaccination. *J Immunol* 179:4711-20.
  - 31) Kuida, K., J. A. Lippke, G. Ku, M. W. Harding, D. J. Livingston, M. S. Su, and R. A. Flavell. 1995. Altered cytokine export and apoptosis in mice deficient in interleukin-1 beta converting enzyme. *Science* 267:2000-3.
  - 32) La Gruta, N. L., K. Kedzierska, J. Stambas, and P. C. Doherty. 2007. A question of self-preservation: immunopathology in influenza virus infection. *Immunol Cell Biol* 85:85-92.
  - 33) Li, H., S. B. Willingham, J. P. Ting, and F. Re. 2008. Cutting edge: inflammasome activation by alum and alum's adjuvant effect are mediated by NLRP3. *J Immunol* 181:17-21.
  - 34) Lund, J. M., L. Alexopoulou, A. Sato, M. Karow, N. C. Adams, N. W. Gale, A. Iwasaki, and R. A. Flavell. 2004. Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:5598-603.
  - 35) Mariathasan, S., D. S. Weiss, K. Newton, J. McBride,

- K. O'Rourke, M. Roose-Girma, W. P. Lee, Y. Weinrauch, D. M. Monack, and V. M. Dixit. 2006. Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. *Nature* 440:228-32.
- 36) Marina-Garcia, N., L. Franchi, Y. G. Kim, D. Miller, C. McDonald, G. J. Boons, and G. Nunez. 2008. Pannexin-1-mediated intracellular delivery of muramyl dipeptide induces caspase-1 activation via cryopyrin/NLRP3 independently of Nod2. *J Immunol* 180:4050-7.
- 37) Martinon, F., L. Agostini, E. Meylan, and J. Tschopp. 2004. Identification of bacterial muramyl dipeptide as activator of the NALP3/cryopyrin inflammasome. *Curr Biol* 14:1929-34.
- 38) Martinon, F., K. Burns, and J. Tschopp. 2002. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell* 10:417-26.
- 39) Martinon, F., V. Petrilli, A. Mayor, A. Tardivel, and J. Tschopp. 2006. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 440:237-41.
- 40) Meylan, E., J. Tschopp, and M. Karin. 2006. Intracellular pattern recognition receptors in the host response. *Nature* 442:39-44.
- 41) Muruve, D. A., V. Petrilli, A. K. Zaiss, L. R. White, S. A. Clark, P. J. Ross, R. J. Parks, and J. Tschopp. 2008. The inflammasome recognizes cytosolic microbial and host DNA and triggers an innate immune response. *Nature* 452:103-7.
- 42) Ogura, Y., F. S. Sutterwala, and R. A. Flavell. 2006. The inflammasome: first line of the immune response to cell stress. *Cell* 126:659-62.
- 43) Pelegrin, P., and A. Surprenant. 2006. Pannexin-1 mediates large pore formation and interleukin-1beta release by the ATP-gated P2X7 receptor. *Embo J* 25:5071-82.
- 44) Petrilli, V., C. Dostert, D. A. Muruve, and J. Tschopp. 2007. The inflammasome: a danger sensing complex triggering innate immunity. *Curr Opin Immunol* 19:615-22.
- 45) Roberts, T. L., A. Idris, J. A. Dunn, G. M. Kelly, C. M. Burnton, S. Hodgson, L. L. Hardy, V. Garceau, M. J. Sweet, I. L. Ross, D. A. Hume, and K. J. Stacey. 2009. HIN-200 proteins regulate caspase activation in response to foreign cytoplasmic DNA. *Science* 323:1057-60.
- 46) Saleh, M., and D. R. Green. 2007. Caspase-1 inflammasomes: choosing between death and taxis. *Cell Death Differ* 14:1559-60.
- 47) Shi, Y., J. E. Evans, and K. L. Rock. 2003. Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. *Nature* 425:516-21.
- 48) So, A., T. De Smedt, S. Revaz, and J. Tschopp. 2007. A pilot study of IL-1 inhibition by anakinra in acute gout. *Arthritis Res Ther* 9:R28.
- 49) Stasakova, J., B. Ferko, C. Kittel, S. Sereinig, J. Romanova, H. Katinger, and A. Egorov. 2005. Influenza A mutant viruses with altered NS1 protein function provoke caspase-1 activation in primary human macrophages, resulting in fast apoptosis and release of high levels of interleukins 1beta and 18. *J Gen Virol* 86:185-95.
- 50) Sutterwala, F. S., Y. Ogura, M. Szczepanik, M. Lara-Tejero, G. S. Lichtenberger, E. P. Grant, J. Bertin, A. J. Coyle, J. E. Galan, P. W. Askenase, and R. A. Flavell. 2006. Critical role for NALP3/CIAS1/Cryopyrin in innate and adaptive immunity through its regulation of caspase-1. *Immunity* 24:317-27.
- 51) Ting, J. P., R. C. Lovering, E. S. Alnemri, J. Bertin, J. M. Boss, B. K. Davis, R. A. Flavell, S. E. Girardin, A. Godzik, J. A. Harton, H. M. Hoffman, J. P. Hugot, N. Inohara, A. Mackenzie, L. J. Maltais, G. Nunez, Y. Ogura, L. A. Otten, D. Philpott, J. C. Reed, W. Reith, S. Schreiber, V. Steimle, and P. A. Ward. 2008. The NLR gene family: a standard nomenclature. *Immunity* 28:285-7.
- 52) Ting, J. P., S. B. Willingham, and D. T. Bergstralh. 2008. NLRs at the intersection of cell death and immunity. *Nat Rev Immunol* 8:372-9.
- 53) Wang, H., Z. Feng, Y. Shu, H. Yu, L. Zhou, R. Zu, Y. Huai, J. Dong, C. Bao, L. Wen, H. Wang, P. Yang, W. Zhao, L. Dong, M. Zhou, Q. Liao, H. Yang, M. Wang, X. Lu, Z. Shi, W. Wang, L. Gu, F. Zhu, Q. Li, W. Yin, W. Yang, D. Li, T. M. Uyeki, and Y. Wang. 2008. Probable limited person-to-person transmission of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus in China. *Lancet* 371:1427-34.
- 54) Werts, C., S. E. Girardin, and D. J. Philpott. 2006. TIR, CARD and PYRIN: three domains for an antimicrobial triad. *Cell Death Differ* 13:798-815.
- 55) Willingham, S. B., and J. P. Ting. 2008. NLRs and the dangers of pollution and aging. *Nat Immunol* 9:831-3.



# Inflammasomes in viral infection

**Takeshi ICHINOHE<sup>1,2)</sup> and Akiko IWASAKI<sup>1)</sup>**

1) Department of Immunobiology, Yale University School of Medicine, 300 Cedar Street,  
TAC S655B New Haven, Connecticut 06520 USA

2) JSPS Postdoctoral Fellow for Research Abroad

E-mail: akiko.iwasaki@yale.edu

The NOD-like receptors (NLRs) are a family of intracellular sensors of microbial motifs and damage-associated signals that have emerged as being a crucial component of the innate immune responses and inflammation. The inflammasome is a multiprotein complex, which include NLRs, their adaptor proteins and pro-caspase-1, that stimulates caspase-1 activation to promote the processing and secretion of proinflammatory cytokines interleukin  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), IL-18 and IL-33, as well as “pyroptosis”, a form cell death induced by bacterial pathogens. Among the various inflammasomes, the NLRP3 inflammasome is triggered by diverse set of molecules and signals. Recent reports indicate that infection by certain viruses also results in inflammasome activation. Here, we review our current understanding of the mechanism by which various stimuli activate inflammasomes. Further, we discuss the role of inflammasomes in the induction of adaptive immunity against influenza virus infection.

