

京都大学	博士（医学）	氏 名	方 仁 東
論文題目	Critical Roles of ASC Inflammasomes in Caspase-1 Activation and Host Innate Resistance to <i>Streptococcus pneumoniae</i> Infection (肺炎球菌感染に対するカスパーゼ 1 活性化応答および自然抵抗性における ASC インフラマソームの役割に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
インフラマソームは細胞質内の受容体タンパク質、アダプタータンパク質およびカスパーゼ 1 で構成される複合体である。インフラマソームを構成する受容体としては Nod-like receptor (NLR) ファミリーに属する NLRC4 や NLRP3、HIN-200 ファミリーに属する AIM2 (absent in melanoma 2) などが知られている。各受容体はそのリガンドや細胞内の変化を識別すると、受容体分子がオリゴマー化し、インフラマソームが形成されてカスパーゼ 1 が活性化される。活性型カスパーゼ 1 は炎症性サイトカインであるインターロイキン (IL) -1β と IL-18 の成熟化およびプログラム細胞死の一種であるピロトーシスを誘導する。特定のインフラマソームの形成には ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) と呼ばれるアダプタータンパク質が重要な役割を果たす。 肺炎球菌 (<i>Streptococcus pneumoniae</i>) は、グラム陽性双球菌である。肺炎、中耳炎の主要な原因菌であるだけでなく、髄膜炎や敗血症などの全身性重症感染症を引き起すことがあり、その病態形成機序を明らかにすることは感染防御の観点から重要である。肺炎球菌の莢膜は最も重要な病原因子であるが、本菌の産生する膜傷害毒素である pneumolysin (PLY) もほぼ全ての臨床分離株に認められることから、菌の病原性に重要な因子であることが示されている。また、この PLY は肺炎球菌感染後の炎症反応の誘導にも関与しており、マクロファージのカスパーゼ 1 活性化が PLY 依存的に誘導されることが明らかにされている。しかしながら、その詳細な機序については未だに明らかにされていない。そこで本研究では、肺炎球菌感染後のカスパーゼ 1 活性化および宿主感染防御におけるインフラマソームの関与について検討した。 NLRP3、NLRC4、カスパーゼ 1 または ASC 欠損マウスおよび野生型マウスからマクロファージを回収して肺炎球菌を感染させ、培養上清中に分泌された IL-1β と IL-18 を測定した。その結果、肺炎球菌感染で誘導されるこれらサイトカインの分泌は NLRC4 非依存的であったのに対して NLRP3 には部分的に依存し、カスパーゼ 1 および ASC には完全に依存していた。また、活性型カスパーゼ 1 やピロトーシスの誘導にもカスパーゼ 1 および ASC が必須であり、NLRP3 には部分的に依存し、NLRC4 に非依存的であった。この結果は、肺炎球菌感染で誘導されるカスパーゼ 1 活性化には NLRP3 以外のインフラマソームが介在していることを示唆する。そこで、AIM2 の関与について検討した。その結果、AIM2 欠損マクロファージまたは AIM2 の発現をノックダウンしたマクロファージでは、肺炎球菌感染後のカスパーゼ 1 活性化、IL-1β と IL-18 分泌、およびピロトーシス誘導が著明に抑制され、AIM2 が肺炎球菌の認識に関与することが示された。さらに解析を進めた結果、マクロファージに食食後、食胞にトラップされた肺炎球菌からは PLY と DNA が放出され、PLY が食胞膜を傷害することで DNA が細胞質に移行し、そこで細胞質内 DNA センサーとして機能する AIM2 が菌由来 DNA を認識してインフラマソーム形成を介したカスパーゼ 1 活性化が誘導されることが示された。 さらに、マウスを用いた感染実験モデルで肺炎球菌感染後のインフラマソーム形成がその後のサイトカイン産生応答や感染防御に関与するか否かについて検討を行った。マウスに肺炎球菌を経鼻感染させ、48 時間後の肺内菌数を調べたところ、野生型マウスと比較して ASC 欠損マウスと NLRP3 欠損マウスでは多数の菌が認められ、肺炎球菌感染に対する自然抵抗性にインフラマソームが重要であることが示された。 本研究では、肺炎球菌が AIM2 依存的にカスパーゼ 1 活性化を誘導することが示され、ASC を含むインフラマソームが肺炎球菌に対する宿主防御に働くことが明らかになった。			

（論文審査の結果の要旨） 本研究で申請者は、肺炎球菌 (<i>Streptococcus pneumoniae</i>) 感染後のインフラマソーム活性化機序と、宿主感染防御におけるインフラマソームの重要性を明らかにするために解析を行った。その結果、肺炎球菌感染で誘導されるカスパーゼ 1 の活性化には ASC が必須であることが示された。また、細胞質内異物識別受容体として NLRP3 が関与することが示されたが、それ以外に AIM2 が重要な役割を果たすことが明らかとなった。これらインフラマソーム形成を介したカスパーゼ 1 の活性化には肺炎球菌が産生する膜傷害毒素 PLY が重要であり、AIM2 は細胞質内 DNA センサーとして機能することが示されていることから、PLY がファゴソーム膜を傷害することで菌体由来 DNA が細胞質に移行し、AIM2 がそれを認識することで AIM2 インフラマソームが活性化されるものと考えられた。さらに、ASC 欠損マウスと NLRP3 欠損マウスが野生型マウスに比べて肺炎球菌感染に対してより感受性であることから、個体レベルの自然抵抗性にも ASC を介したインフラマソーム形成が重要な役割を果たすことが明らかとなった。 以上の研究成果は、病原細菌に対する自然免疫応答誘導機序の解明に貢献し、感染病態制御を目的とする宿主と病原細菌の相互関係の理解に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成25年8月5日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			