

# 細胞死によって放出される細胞内核酸と細胞内タンパク質が引き起こす免疫反応

百田 匡寿, 石井 健

生体は“非自己”である病原体由来分子を自然免疫受容体によって認識し、外来性の脅威に対して適切な炎症と免疫応答を誘導している。一方、ネクロシスに代表される受動的な細胞死に伴って起こる“自己”由来の核酸や細胞内タンパク質の細胞外への流出も病原体由来分子と同様に自然免疫受容体を活性化し、炎症応答を誘導することが知られている。このような自己由来の免疫活性化物質の流出と炎症応答は、受動的な反応であると長い間考えられてきた。しかし、近年の細胞死研究の進歩により、生体はさまざまな細胞死を能動的に制御することにより、細胞内物質の流出とその後の炎症、免疫応答も制御していることが明らかとなってきた。本稿では、自然免疫受容体を活性化する自己成分とその放出源としての細胞死について、自然免疫学と細胞死研究の発展に沿って概説していく。

## 1. はじめに

病原体に特徴的な分子群は病原体関連分子パターン (pathogen-associated molecular patterns : PAMPs) といわれ、生体が備える Toll 様受容体 (Toll-like receptor : TLR) をはじめとするさまざまなパターン認識受容体 (pattern recognition receptors : PRRs) によって認識される。生体はこの PRRs による PAMPs の感知を“非自己”である病原体の侵入とみなし、“自己”である宿主を保護するために、サイトカインの分泌や免疫担当細胞の感染部位への遊走を特徴とした炎症応答を誘導する。この一連の反応は自然免疫応答といわれ、遊走してきたマクロファージや好中球による病原体の直接的な排除を活性化するのみならず、後の病原体特異的な獲得免疫の確立や障害を受けた組織の治癒にも必須の反応であることが明らかとなっている<sup>1)</sup>。一方、化学物質や放射線、さらには熱傷や虚血性疾患等、病原体由来の“非自己”成分が存在しない状態においても炎症反応が起こることは、臨床の現場で古くから知られていた。この無菌

性炎症は急性、慢性のどちらにおいてもさまざまな疾患の原因として重要な現象であるにもかかわらず、その発生機序については長い間不明であった。外来性の PAMPs の認識を主とする自然免疫の“非自己”理論 (Strange theory) では説明できないこの現象について、1994年にはMatzingerらがすでに自己-非自己ではなく“危険”自体を感知し免疫を誘導する“危険”理論 (Danger theory) を提唱していたが<sup>2)</sup>、1990年代後半から2000年初頭の多種多様な PRRs とそのリガンドである PAMPs の発見による“非自己”理論の急速な発展に埋もれ、単なる理論の一つとして忘れ去られようとしていた。しかし、能動的なネクロシス：ネクロプトーシスの発見に代表される近年の急速な細胞死研究の発展により、さまざまな細胞死の厳密な制御機構が明らかになるにつれ、その破綻によって生じる“自己”由来の成分もまた、PRRsに認識され“非自己”と同様に免疫応答を誘導することが明らかとなってきた<sup>3)</sup>。このような宿主の恒常性の破綻によって生じる自己由来の免疫原性物質をダメージ (もしくは危険) 関連分子パターン (damage or danger-associated molecular patterns : DAMPs) とすることで、前述の Danger theory が分子生物学レベルで証明されてきており、ひいては臨床症状の理解、治療への展望も開けてきている。

本稿では、どのような“自己”由来の成分がどのような状況下で“非自己”のように振る舞い、免疫系を活性化するかを、自然免疫学と細胞死研究の発展に沿って概説していく。

独立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所アジュバント開発プロジェクト (〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7-6-8)  
Immune responses of cell death derived intra-cellular DNA and proteins

Masatoshi Momota and Ken J. Ishii (Laboratory of Adjuvant Innovation National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, 7-6-8 Saito-Asagi, Ibaraki City, Osaka 567-0085, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2018.900690

© 2018 公益社団法人日本生化学会

## 2. 恒常性の破綻による PAMPs から DAMPs への変化

### a. PRRs による核酸の認識

植物や動物、ウイルスも含めた核酸に遺伝情報を保存する存在は、自己を定義する形質の複製と保持のため、それぞれ独自のシステムを発展させ、それにより多様な形態の核酸が自然界には存在している。この異なった形態の核酸の存在は自己と非自己を区別するには格好の標的であり、生物はこれらを認識する機構として PRRs を進化させてきた。2000 年の細菌やウイルスに特徴的な CpG モチーフを多く含む非メチル化 DNA (CpG-DNA) の TLR9 による認識機構の発見を皮切りに<sup>4)</sup>、TLR3 や retinoic acid-inducible gene I (RIG-I) や melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) による二本鎖 RNA (dsRNA) の認識、TLR7 による GU 配列を多く含む一本鎖 RNA の認識等、宿主にはほとんど存在せず、各種病原体に特徴的な核酸分子に対する特異的な受容体が次々と発見されてきた。さらには PRRs による PAMPs の認識について詳細な解析が進むにつれ、PRRs の発現部位が病原体の侵入経路に合わせて適切に制御されていることも明らかとなってきた。例として、TLR3, 7, 9 はウイルスや一部の細菌の侵入経路であるエンドソーム内で PAMPs と結合することで Myeloid differentiation primary response 88 (Myd88) や TIR-domain-containing adaptor-inducing interferon- $\beta$  (TRIF) といったアダプタータンパク質を介したシグナルを活性化し、病原体の侵入を迅速に感知していることが明らかとなっている<sup>1)</sup>。加えて、宿主内に存在するさまざまな自己 DNA に対しては、細胞質内外に恒常的に存在する DNA 分解酵素によりその総量と場所をコントロールすることで PRRs を介した自己核酸の誤認識が起これないようにしていることも示唆されている<sup>5)</sup>。実際に死細胞から放出される宿主由来の DNA であってもトランスフェクション試薬を用いて細胞内へ導入した場合、強い免疫応答が誘導されるが、DNA 切断酵素で処理した場合、その免疫活性化能は失われることが *in vitro* の実験で証明されている<sup>6)</sup>。これらの研究は自己核酸の影響を最小化することで宿主が病原体由来の“非自己”核酸の PRRs による認識を最大化していることの傍証として“Strange theory”を支持する一方、細胞死によって生じる自己核酸も PRRs を直接活性化できる証拠として“Danger theory”の一例として多く引用されてきた。

### b. アポトーシスの破綻とそれに伴う自己核酸による炎症反応の発見

Kerr らが 1972 年に核の収縮を伴うヒト組織の細胞死を発見してから約 50 年、アポトーシス (apoptosis) は最もよく研究された細胞死である。細胞がウイルスや細菌の感染、紫外線による核の損傷等の重度のストレスにさらされることで、システインプロテアーゼである種々の Caspase が活性化し、細胞内ではエンドヌクレアーゼによる細胞核 DNA の断片化、クロマチンや細胞質の凝集が引き起こ

され、特徴的な形態的变化を伴ったアポトーシスが誘導される<sup>7)</sup>。当初から Kerr が言及したように、この Caspase によって制御されたアポトーシスは感染細胞の除去や個体の恒常性維持のためにさまざまな臓器で日常的に起こっているにもかかわらず、炎症反応やそれに伴う組織の破壊はほとんど誘導しない。これはアポトーシスを起こした細胞が核内の核酸やミトコンドリア DNA、さらには細胞質内のさまざまなタンパク質を細胞外に放出することなく、速やかにマクロファージによって貪食されるからだと考えられている<sup>8, 9)</sup>。マクロファージに貪食された細胞のタンパク質や核酸はマクロファージのリソソーム内に存在するさまざまな酵素で分解され、新しい細胞の材料となる。特にリソソーム内に存在する DNA 分解酵素である DNase-II は、その欠損マウスモデルにおいて Type-I IFN や IL-6 の上昇とそれに伴う無菌性の多発性関節炎や貧血が観察されることから、死細胞の貪食とその後の DNA の分解がアポトーシスの非炎症性細胞死という特徴に重要であることが示唆されている<sup>10, 11)</sup>。このモデルマウスをはじめとして、全身性エリテマトーデス様の症状において、血中に多量のアポトーシス細胞や DNA が存在することは以前から知られていたが<sup>5, 12)</sup>、これらの分解されなかった自己 DNA がどのように炎症反応を誘導しているのかについては、近年まで正確には理解されていなかった。当初は自己の核酸が抗 DNA 抗体や high mobility group box protein 1 (HMGB-1) 等の核酸結合性のタンパク質と結合することでマクロファージや樹状細胞へ取り込まれ、リソソーム内の TLR9 を活性化しているものと考えられていたが<sup>13, 14)</sup>、同時に TLR9 非依存性の経路の存在も示唆されていた<sup>15, 16)</sup>。2009 年、細胞内の DNA 認識機構として新たに stimulator of interferon gene (STING) を介する経路が同定されると<sup>17)</sup>、続く 2013 年には細胞内 DNA を基質として cyclic GMP-AMP (cGAMP) を合成する酵素である cGAS が PRRs として同定された<sup>18)</sup>。cGAS は TLR9 と違い、CpG モチーフを含まない DNA も認識することが可能であるため、前述した TLR9 非依存的な自己核酸の認識と炎症に重要な役割を担っていることが考えられる。実際に STING や cGAS の欠損マウスでは前述した DNase-II 欠損マウスにおける関節炎が消失することから<sup>19, 20)</sup>、自己核酸の PRRs による認識が自己免疫疾患において重要であるということを実験的に証明した。さらに最新の研究では、酸化ストレスや紫外線による核膜やミトコンドリア膜の消失に伴う細胞質内への核酸の流出や、HMGB1 による細胞質内での DNA 構造の変化等も cGAS や TLR9 による自己核酸認識を強く誘導することが明らかとなってきた<sup>21-23)</sup>。これらアポトーシス研究に端を発する細胞内核酸の分解による恒常性維持についての理解と PRRs 欠損マウスによる自然免疫学の発展は、恒常性が破綻した“危険”な状態においては自己核酸も DAMPs として PRRs に認識され、病原体感染と同様に炎症応答を誘導することを明らかにした。



### 3. 非アポトーシス性細胞死によって生じる DAMPs

#### a. ネクロプトーシス

Kerrらによってアポトーシスが報告された翌年, SchweichelとMerkerらは, アポトーシスとは異なった形態学的特徴を示す細胞死が, 毒素処理によって誘導されることを報告した. 制御されたアポトーシスが細胞膜と核の収縮を特徴とする能動的で“静かな”細胞死であるのに対して, このような細胞膜の破壊によって生じる受動的な細胞死はネクローシス (necrosis) と呼ばれ, それに伴う制御されていない細胞内物質の放出が炎症を誘導するものと長い間考えられてきた. しかし, 1988年に腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor: TNF) 刺激によって, 古典的なアポトーシスと同時に核膜の損傷を伴わないネクローシス様細胞死が誘導されることが発見されてから, ネクローシス様細胞死の中にも制御された細胞死が存在するのではないかと考えられてきた. 実際にこのTNFによって誘導される膜の溶解を伴う細胞死は, アポトーシスには必須であるCaspaseの抑制下において特に強く誘導されることから<sup>24)</sup>, アポトーシスとは異なったシグナル伝達経路で制御された細胞死であることが明らかであった. 2005年にこの制御されたネクローシスの特異的阻害剤としてネクロスタチン-1が発見され<sup>25)</sup>, 続いて2008年にはそのターゲット分子としてreceptor-interacting serine/threonine protein kinase 1 (RIP1) が同定され<sup>26)</sup>, TNF依存的なネクローシスはキナーゼ依存的な細胞死であることが明らかになった. さらに, 続く研究で別のRIPキナーゼファミリー分子としてRIP3が同定され, RIP1とRHIMドメインを介して結合すること<sup>27-29)</sup>, その結合とRIP3のリン酸化がさらに下流のmixed lineage kinase domain-like (MLKL) の活性化と細胞膜の溶解を引き起こすこと等が次々と明らかになり, TNF依存的なネクローシスがアポトーシスとは別のキナーゼの活性化やアダプタータンパク質との複合体の形成を必要とする制御された細胞死であることが証明された<sup>30, 31)</sup>. このような制御された能動的なネクローシス様細胞死はアポトーシスにちなみ, “ネクロプトーシス (necroptosis)”と定義されるようになり, それに伴う細胞内物質の放出も, 適切な炎症応答のために厳密に制御されている可能性が示唆された. さらに, TNFによって誘導されるネクロプトーシスとアポトーシスの対比研究は, これら二つの経路がいくつかのタンパク質をアダプタータンパク質として共有していることも明らかにしてきた<sup>32)</sup>. 通常, TNFがその受容体であるTNFR1に結合すると, 細胞質内でRIP1, TRADD, TRAF2, cIAP, LUBACからなるcomplex Iと呼ばれる複合体を形成する. この複合体はRIP1のユビキチン化を促進し, さらに下流のTAK-1-TAB2-TAB3のシグナルを介して, 最終的にNF- $\kappa$ BとMAPKの活性化によるサイトカイン誘導と細胞の生存シグナルを活性化する<sup>33, 34)</sup>. 一方, smac模倣薬によるcIAPの阻害やCYLDによるRIP1による脱ユビキチン化によってcomplex Iが不安定な場合, もしくはFas

リガンドやTRAILによる刺激によってRIP1, cFLIP, FADD, Caspase-8からなるcomplex IIaを形成した場合には, Caspase-8依存的なアポトーシスが誘導される<sup>35)</sup>. さらにこのcomplex IIaにおいて, cFLIPやCaspase-8が何らかの理由で阻害されている場合, これらによって抑制されていたRIP1, RIP3の活性化に伴うcomplex IIb (またはネクロソーム) と呼ばれる複合体の形成が誘導され, ネクロプトーシスが誘導される<sup>36-38)</sup>. 実際にCaspase-8とFADD欠損マウスにおいてはRIP1依存的なネクローシスとそれに伴う炎症や発達不全によって胎生致死の表現型を示すが<sup>39, 40)</sup>, RIP1もしくはRIP3の遺伝子をさらに欠損させることでこれらのマウスの胎生致死の表現型は消失する<sup>41, 42)</sup>. 対してRIP1の欠損マウスではRIP3やMLKLの欠損によって回復する全身性の炎症と胎生致死が観察される<sup>43-45)</sup>. さらに発生段階以外でも, RIP3欠損マウスにおいてはTNFによる全身炎症応答が消失し<sup>46)</sup>, 薬剤誘導性RIP1欠損マウス<sup>47)</sup>や腸管や皮膚<sup>48, 49)</sup>等の組織特異的RIP1欠損マウスにおいてはRIP3依存性ネクロプトーシスの誘導と炎症応答が確認される. これらの遺伝子欠損マウスを用いた研究はRIP1-RIP3を中心としたネクロプトーシスとアポトーシスの相互制御の存在を明らかにし, その破綻がネクロプトーシスによる細胞内物質の放出と炎症反応を誘導しうることを実験的に証明した.

#### b. 病原体感染によって誘導されるネクロプトーシス

ここまではTNF刺激や遺伝子欠損マウス, Caspase阻害剤によって再現されたネクロプトーシスについて, その細胞死の分子基盤について述べてきた. しかしウイルスや細菌等の病原体の感染によってもアポトーシスと同時にネクローシス様の細胞死が誘導されることは古くから知られている. 特にウイルス感染においてはアデノウイルスのE3<sup>50)</sup>やマウスサイトメガロウイルスのvICA等<sup>51)</sup>, さまざまなウイルスタンパク質がCaspase-8を中心としたアポトーシス経路を阻害することが知られており, アポトーシス経路がウイルスの感染成立と宿主防御において中心的な役割を担っていることがわかってきたが, ネクローシス様細胞死についてはウイルス感染がもたらした強いストレスによる受動的な細胞死であるとみなされてきた. しかし前述したように, Caspase-8とRIP1-RIP3の相互的な制御によるネクロプトーシスの存在が明らかになるにつれ, 宿主はウイルスの感染によって引き起こされる抗アポトーシス状態を宿主の恒常性を脅かす“危険なもの”としてRIP1-RIP3依存的なネクロプトーシスと細胞内物質の放出, つまりDAMPsによって感知できるように進化してきたものと考えられるようになってきた<sup>52)</sup>. これを裏づけるように, 近年では病原体センサーである各種PRRsの刺激がCaspase-8抑制下では強くネクロプトーシスを誘導することが明らかになってきている. 例として, ウイルス感染によって生じるdsRNAを認識するTLR3, グラム陰性細菌の細胞壁に存在するリポ多糖 (LPS) を認識するTLR4はアダプ

タータンパク質であるTRIFを介してType-I IFNや各種サイトカイン遺伝子の発現を誘導する分子だと考えられてきたが<sup>1)</sup>、近年の研究によりTRIFに存在するRHIMドメインがpoly (I:C)やLPSの刺激によりRIP1-RIP3との結合を誘導し、Caspase阻害剤の存在下ではネクロプトーシスを強く誘導することが明らかになった<sup>53-55)</sup>。さらに、細胞内のDNAを感知するPRRsと考えられていたZBP1もRHIMドメインを持ち、実際のウイルス感染においてはRIP3を介した細胞死を誘導するセンサー分子として働いていることが最近の研究から明らかとなってきた<sup>56-60)</sup>。興味深いことに、DNAウイルスであるマウスサイトメガロウイルスとRNAウイルスであるインフルエンザウイルスの両方でZBP1依存的な細胞死が確認されているにもかかわらず、同じRNAウイルスである水疱性口内炎ウイルス、さらに紫外線で不活化したウイルスやpoly (I:C)、dsDNAではZBP1依存的な細胞死は誘導されない。ZBP1はPKRやADAR1と同様、核酸結合性のあるZαドメインを持ち、その部位が細胞死誘導に重要であることから、ウイルス増殖に伴って生じるdsRNAを感知していると考えられているが、ZBP1とウイルスタンパク質の結合も同様に報告されており、その特異的なリガンドについてはいまだ議論の残る部分である<sup>58-60)</sup>。さらにZBP1やRIP3欠損マウスに対するインフルエンザ感染実験では、用いるインフルエンザ株の違いや、独立したグループの実験でそれぞれ異なる結果が報告されており、その生理学的意義についてもいまだ議論が行われている<sup>57, 58, 61, 62)</sup>。しかし、すでに1型単純ヘルペスウイルスのICP6やマウスサイトメガロウイルスのvIRA等、RHIMドメインを持ち、RIP1-RIP3経路に干渉するウイルスタンパク質も同定されてきていることから、ネクロプトーシスがアポトーシスと同様、宿主防御において重要な役割を担っていることが強く示唆されている<sup>63)</sup>。他のPRRsであるTLR1/2, TLR7, TLR9の刺激によっても非アポトーシス性の細胞死が確認されており<sup>55, 64, 65)</sup>、TRIF-RHIMドメインを介さないネクロトーシス様細胞死の存在も示唆されている。このようなRHIMドメインを介さないネクロプトーシスに関してはまだ不明な点が多いものの、すでにIFNAR1とIFNGR1によるネクロプトーシスの誘導が報告されていることから<sup>66-68)</sup>、RIG-IやMDA5, STING等の細胞内に存在するその他のPRRsを介したIFNとTNFの分泌も感染細胞やその周囲の細胞をネクロプトーシス感受性にシフトさせている可能性が示唆されている<sup>69-71)</sup>。実際にインフルエンザウイルス感染においてZBP1はType-I IFNによってその遺伝子発現が強く誘導され、それによってネクロプトーシスを亢進させているものと考えられている<sup>72, 73)</sup>。

### c. パイロプトーシスとネットーシス

ウイルスや細菌感染によって生じる細胞内dsDNAのabsent in melanoma 2 (AIM2)による認識、細胞外のATPや細胞膜の損傷に伴うカリウム流入や活性酸素種 (ROS)、そ

れに伴うミトコンドリアの損傷、細菌感染や粒子状物質等のさまざまな刺激によるNACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3 (NLRP3)の活性化はTLRとは異なった細胞内PRRs経路であり、下流のインフラマソームと呼ばれるタンパク質複合体を介して炎症性Caspaseを活性化する。ヒトではCaspase-1/4/5、マウスにおいてはCaspase-1/11からなるこれら炎症性Caspaseは、LPSやウイルス感染によって誘導された細胞内のpro-IL-1βとpro-IL-18を切断することでこれらのサイトカインの活性化と細胞外への分泌を促し炎症応答を誘導する<sup>74)</sup>。またこの炎症性Caspaseは同時にGSDMDというタンパク質も切断し、切断されたGSDMDが細胞膜の脂質と結合することによって膜の溶解を伴う細胞死も誘導する。これらインフラマソームと炎症性Caspaseの活性化によって誘導される細胞死はパイロプトーシス (pyroptosis)と呼ばれ、ネクロプトーシスと同様、PAMPsの刺激によって誘導される膜の溶解を伴った制御された細胞死である<sup>75)</sup>。この膜の溶解によって、Caspaseによって切断を受けた活性化IL-1βやIL-18のみならず、HMGB1やIL-1α等のさまざまな細胞内物質が放出され、それがDAMPsとなって周辺細胞に働きかけ炎症応答を引き起こす<sup>76)</sup>。

細菌やウイルス感染によって誘導されるその他の細胞死として、核膜の消失と核酸の細胞外への放出を伴うネットーシス (NETosis)についても、ROSによるミエロペルオキシダーゼ (myeloperoxidase : MPO)、好中球エラスターゼ (neutrophil elastase : NE)やpeptidyl arginine deiminase, type IV (PAD4)等の細胞内に存在するタンパク質の活性化を必要とする制御された細胞死としてよく研究されている。当初、好中球で報告された細胞外へ放出される核酸はneutrophil extracellular traps (NETs)と呼ばれ、細菌の運動阻害やNETsに付属するカルパインやエラスターゼ等のプロテアーゼによる細菌や細菌毒素の無毒化により宿主防御に重要であると考えられていたが、続く研究により放出された核酸を含むこれらの分子が同時にDAMPsとして炎症を誘導していることも明らかになってきた。特にNETsに特徴的なNEやPAD4によって変化したヒストンを含むDNAは細胞内へ取り込まれやすく、TLR9によるサイトカイン分泌を誘導すること、さらにはROSによって酸化されたDNAはDNaseに抵抗性を示し、STING経路をより強く活性化することからもNETosisが核酸DAMPsの放出源としても重要であることが強く示唆されている<sup>77)</sup>。実際のインフルエンザウイルスやセンダイウイルス感染、細菌感染において、DNase処理やNE, PAD4の遺伝子欠損によって炎症症状や組織傷害が低下することからも、NETsによって生じるDAMPsが感染部位の炎症応答の一翼を担っていることが示唆されている。このような病原体感染においてNETsを誘導するPRRsとしては、LPSによるTLR2/4, HIV感染におけるTLR7、細菌の細胞壁由来成分のDectin-2による認識等が報告されているが、それ以外のPRRsの関与や、NETs誘導の詳細な機構についてはまだ不



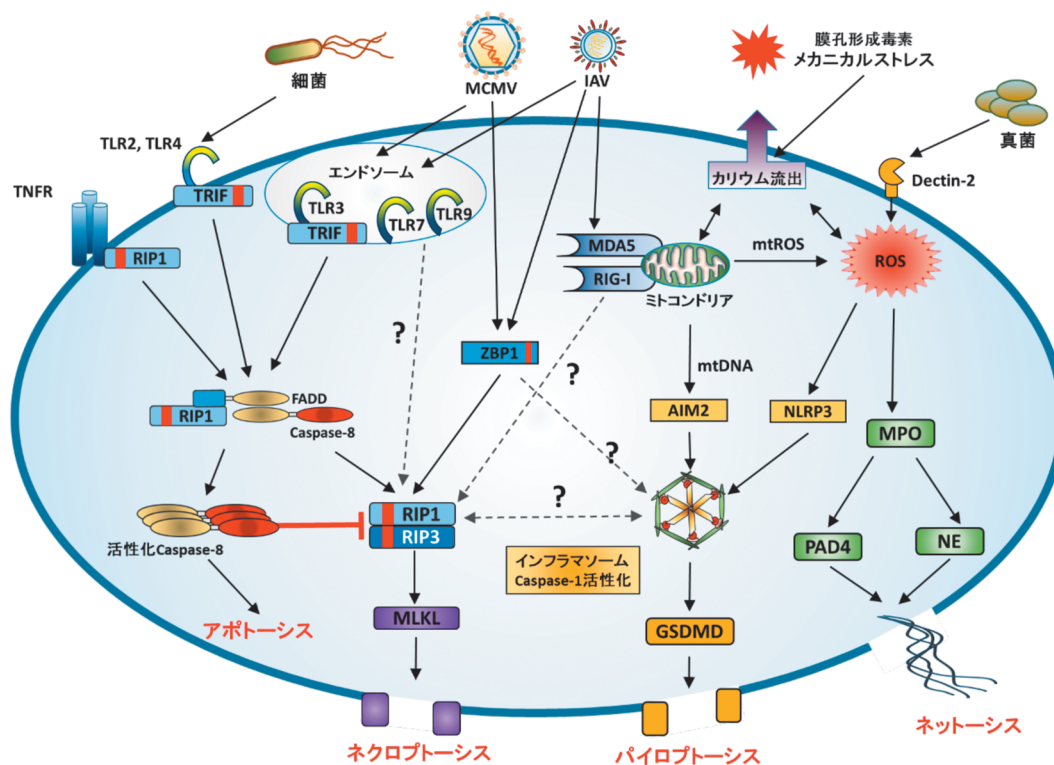


図1 PRRsの刺激によって誘導されるさまざまな細胞死  
IAV：インフルエンザA型ウイルス，MCMV：マウスサイトメガロウイルス，ROS：活性酸素種．RIP1，RIP3，TRIF，ZBP1内部に示した帯状の部分RHIMドメインを表す．

明な点が多い(図1)。

PAMPsによって誘導されるネクロプトーシスを含めたこれらの制御された非アポトーシス性細胞死はRIP1/RIP3-MLKL，炎症性Caspase-GSDMD，ROS-MPO/PAD4というようにそれぞれ異なった経路の活性化により膜溶解性の細胞死が引き起こされる。しかし，独立したグループがそれぞれ異なった実験条件で，RIP1-RIP3依存性，非依存性のネットーシス，RIP1やROSによるインフラマソームの活性化，ROSによるRIP1の活性化を伴うネクロプトーシス等を報告しており，これら非アポトーシス性細胞死の正確な分類やその生理学的意味についてはまだ不明な点が多い<sup>76, 78, 79)</sup>。PAMPs以外でもAlumに代表される微小粒子によって誘導される細胞死もDAMPsの放出源として重要であることが知られているが<sup>80)</sup>，特に肺胞マクロファージにおいてRIP3依存的な細胞死がその後の免疫反応に重要であることが我々のグループの研究により明らかとなり<sup>81)</sup>，臓器や細胞種の違いも細胞死とDAMPsが引き起こす免疫応答にとって重要な要素であると考えられる。さらにはPAMPsが誘導したTNFによるネクロプトーシスの亢進，IFNによるZBP1やNLRP3の発現上昇，膜溶解性によって生じる細胞外HMGB1やIL-1によるネットーシスの誘導<sup>82, 83)</sup>等も報告されていることから，PAMPsとDAMPsが相互にPRRsシグナルを活性化させることでポジティブフィードバックループを形成し，組織炎症や自己免疫疾患の発症に寄与していることが強く示唆されている(図1, 2)。

#### 4. 核酸以外のDAMPs

##### a. 細胞内タンパク質とATP

自己核酸細胞死によって細胞外に放出された核酸がDAMPsとして炎症応答を誘導するのと同様に，いくつかの細胞内タンパク質も細胞外ではDAMPsとして振舞うことが知られている。中でもHMGB1はほとんどの細胞で発現しており，その細胞内の機能からDNA結合性も持つため，DAMPsとして特に重要なタンパク質である。HMGB1は核内移行シグナル配列を持ち，核内でDNAシャペロンとしてDNAの安定やさまざまな遺伝子の転写活性を制御している。しかしPAMPsやIFN刺激によるJAK/STAT1経路の活性化はこの核内移行シグナルのアセチル化を誘導し，それによって核内移行シグナルを無効化されたHMGB1は細胞質内にとどまるようになる<sup>84)</sup>。このアセチル化HMGB1を含んだ細胞は，PAMPsやROS，毒素によって強いストレスを受けた場合，パイロプトーシスやネクロプトーシスによる膜溶解によって細胞外に放出される<sup>85)</sup>。細胞外に放出されたHMGB1はRAGEやTLR4と直接結合することにより，NF- $\kappa$ B経路やネットーシスの誘導，DNAとの結合によるTLR9による認識の促進<sup>14)</sup>，CXCL12との結合によるケモカインの安定化<sup>86)</sup>等を介して，免疫細胞の遊走やサイトカイン分泌，さらなる細胞死を誘導することにより炎症応答を増幅するDAMPsとして振舞うようになる。事実，敗血症やLPSショックにおける全身性炎症，虚血性再灌流障害，リウマチ等のさまざま

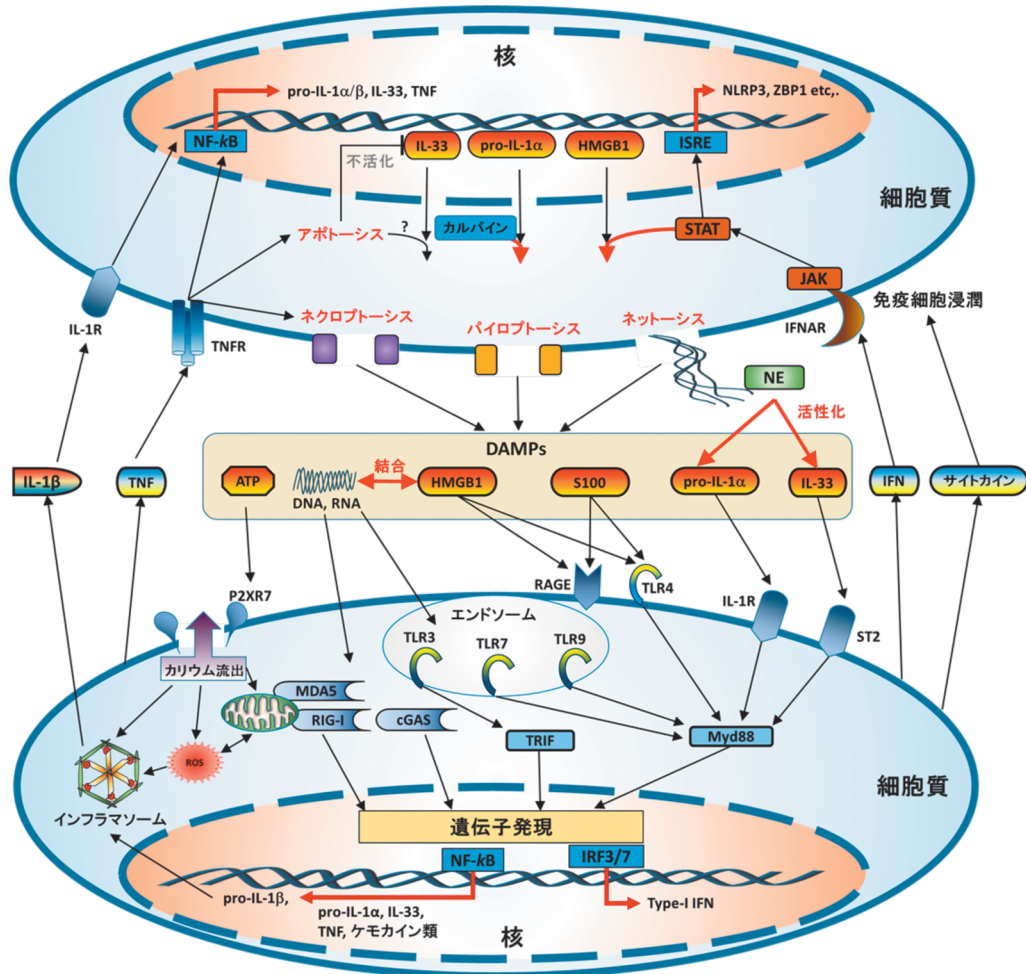


図2 細胞死によって生じるDAMPsとその受容体としてのPRRs

なモデルマウスにおいて、HMGB1の中和抗体の投与はその症状を劇的に緩和することから、HMGB1が炎症を増幅するDAMPsとして重要であることが示唆されている<sup>87, 88)</sup>。さらに、細胞内タンパク質であるS100もHMGB1と同様の経路を活性化するDAMPsとして報告されている。現在25種が同定されているS100タンパク質のうち、S100A7, A8, A9とS100A8, A9, A12がそれぞれRAGEとTLR4に特異的に結合するリガンドとしてNF-κBの活性化やサイトカイン分泌、炎症応答やアレルギー疾患への関与が報告されている一方、その他のS100タンパク質がGPCR, EGFRやFGFR1とも結合することも報告されており、これらのDAMPsとしての働きについてはいまだ不明点が多い<sup>89, 90)</sup>。

タンパク質以外では、細胞内に存在するATPも細胞死によって細胞外に放出され、DAMPsとして振る舞うことが知られている。細胞外に放出されたATPはP2受容体ファミリーの一つであるP2XR7と結合することで細胞膜上のイオンチャンネルが開き、細胞内へのカルシウムの流入とカリウムの流出を引き起こす。この細胞内外のイオンバランスの変化はNLRP3インフラマソームを強く活性化し、IL-1βの切断と活性化を誘導する<sup>91)</sup>。さらに同じP2受容体ファミリーであるP2YR2とATPの結合はアポトーシ

ス細胞の除去や細胞分裂の促進等により障害を受けた組織の治癒を亢進させる一方、好中球や好酸球炎症、IL-33やIL-8による慢性炎症、組織の繊維化、アレルギー疾患の原因となりうるということが報告されている<sup>92, 93)</sup>。

#### b. IL-1ファミリーサイトカイン

通常状態では核内に存在し、細胞外に放出されることでDAMPsとして振る舞うタンパク質としてIL-1αとIL-33がよく研究されている。これらは前述のIL-1β, IL-18とともにIL-1ファミリーサイトカインに属し、免疫細胞の浸潤やサイトカイン増幅による炎症応答の開始と持続に重要なサイトカイン群である。すでにパイロプトーシスの項で述べたように、IL-1βとIL-18はPAMPsによる前駆体の発現誘導と炎症性Caspaseによる切断が必要であるサイトカインであるのに対し、IL-1αは生物活性を持つ前駆体(pro-IL-1α)が細胞内に恒常的に発現しており、細胞死に伴って速やかに放出されるDAMPsとして特に無菌炎症において重要なサイトカインである<sup>94)</sup>。pro-IL-1αにはCaspase-1の切断部位は存在しないものの、膜の溶解を伴う細胞死によって細胞外に放出された後にNK細胞が放出するgranzyme B、マスト細胞のchymase、好中球のNE等、さまざまな細胞由来のタンパク質分解酵素によって切断を受け



ることその生物活性がさらに上昇する<sup>95)</sup>。また、定常状態ではpro-IL-1 $\alpha$ は核移行シグナルを持ちそのほとんどは核内に存在しているが、細胞質内のカルパインによって切断されることで、核移行配列が切り離され細胞内にとどまるようになる。このカルパインによる細胞内の局在と活性の変化はHMGB1と同様、細胞死に伴うDAMPsとしてのIL-1 $\alpha$ の分泌と活性を制御しているものと考えられている。さらに、LPSを代表とするさまざまなPRRsの刺激やTNFにより細胞内のpro-IL-1 $\alpha$ の量が増えるのみならず、生物活性を持つ膜結合型IL-1 $\alpha$ の細胞表面への発現も著しく上昇することから、無菌性炎症だけではなく病原体感染が誘導する炎症応答においても重要なサイトカインであることが示唆されている<sup>96)</sup>。これらのIL-1 $\alpha$ に特徴的な制御機構は、IL-1 $\alpha$ がIL-1 $\beta$ と同じ受容体を介したシグナルを活性化するにも関わらず、生体内では異なった生理活性を示すことをよく説明している<sup>97,98)</sup>。

IL-33も核移行シグナルとクロマチン結合部位を持つタンパク質で、IL-1 $\alpha$ と同様にさまざまな細胞で活性を持った状態で恒常的に発現している。また、分泌シグナルも持たないため、ネクロプトーシスのような細胞死によって受動的に細胞外へと流出すると考えられているが<sup>99)</sup>、ATP刺激によっても細胞外へ分泌されることも報告されているため<sup>92)</sup>、その細胞内局在と放出についてはいまだ不明な点が多い。しかし核移行シグナルを欠損したIL-33の遺伝子導入マウスでは、血中で多くのIL-33が検出され、その受容体であるST2を介した致死性の炎症反応が誘導されることから<sup>100)</sup>、核外に放出されることによって炎症を誘導するDAMPsであると考えられている。IL-33もIL-1 $\alpha$ と同様、細胞外へ放出された後、chymaseやNE等、炎症担当細胞が分泌するプロテアーゼで切断されることでその活性が著しく上昇する<sup>101)</sup>。一方、細胞内ではアポトーシスにおいて活性化するCaspase-3, 7によってIL-33の活性部位が切断され、その炎症誘導能は消失する<sup>102)</sup>。IL-33の受容体であるST2の活性化はTH2やT-reg, ILC2細胞の活性化、IL-5, IL-13の分泌誘導等、2型免疫反応を強く誘導することから、特に喘息やアトピー性皮膚炎、乾癬等のアレルギー疾患においてその誘発因子として数多く報告されている<sup>103)</sup>。このようなIL-1 $\alpha$ による好中球の遊走<sup>94)</sup>、ネトーシス由来の各種プロテアーゼによるIL-36を含むIL-1ファミリーサイトカインの切断と活性上昇も報告されており<sup>95)</sup>、この経路においても炎症部位においてポジティブフィードバックループが形成されることを強く示唆している(図2)。

## 5. おわりに

近年の細胞死研究の発展によって明らかとなったこれらの異なった細胞死はDAMPsを量的、質的にコントロールし、宿主の状況に合わせて適切な炎症応答を誘導しているものと予想される。その中でPRRsはIFNやTNFを介して“非自己”の存在を感知し、さらにその下流である制御さ

れた細胞死とDAMPsの放出を“危険”シグナルとして増幅することで宿主の炎症反応を制御している。実際にこれまで紹介してきたHMGB1によるネトーシスの誘導やCaspaseや好中球由来のプロテアーゼによるIL-1ファミリーサイトカインの活性化は、炎症部位において異なった細胞が異なったDAMPsの放出を誘導し、それらがポジティブフィードバックループを形成していることを強く示唆している。しかし、生体内ではこれらのPRRsやRIP3に代表される細胞死関連タンパク質、プロテアーゼ群はそれぞれの細胞種でその発現量が異なっており、いまだ生体内でのDAMPsが誘導する炎症反応の全貌は明らかではない。特にDAMPsに対する負の制御機能についてはほとんど明らかになっておらず、臨床応用に向けての大きな壁となっている。複雑に絡み合う細胞死とDAMPsの分子生物学的機構の解明とそれを基盤とした新たな創薬開発のためには、細胞死関連分子の特異的阻害剤や臓器特異的、細胞特異的なコンディショナルノックアウトマウスを用いたさらなる研究が必要である。

## 文 献

- 1) Takeuchi, O. & Akira, S. (2010) Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, **140**, 805–820.
- 2) Matzinger, P. (1994) Tolerance, danger, and the extended family. *Annu. Rev. Immunol.*, **12**, 991–1045.
- 3) Jounai, N., Kobiyama, K., Takeshita, F., & Ishii, K.J. (2012) Recognition of damage-associated molecular patterns related to nucleic acids during inflammation and vaccination. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **2**, 168.
- 4) Hemmi, H., Takeuchi, O., Kawai, T., Kaisho, T., Sato, S., Sanjo, H., Matsumoto, M., Hoshino, K., Wagner, H., Takeda, K., et al. (2000) A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*, **408**, 740–745.
- 5) Napirei, M., Karsunky, H., Zevnik, B., Stephan, H., Mannherz, H.G., & Mörry, T. (2000) Features of systemic lupus erythematosus in Dnase1-deficient mice. *Nat. Genet.*, **25**, 177–181.
- 6) Ishii, K.J., Suzuki, K., Coban, C., Takeshita, F., Itoh, Y., Matoba, H., Kohn, L.D., & Klinman, D.M. (2001) Genomic DNA released by dying Cells induces the maturation of APCs. *J. Immunol.*, **167**, 2602–2607.
- 7) Elmore, S. (2007) Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.*, **35**, 495–516.
- 8) Kurosaka, K., Takahashi, M., Watanabe, N., & Kobayashi, Y. (2003) Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. *J. Immunol.*, **171**, 4672–4679.
- 9) Green, D.R., Ferguson, T., Zitvogel, L., & Kroemer, G. (2009) Immunogenic and tolerogenic cell death. *Nat. Rev. Immunol.*, **9**, 353–363.
- 10) Yoshida, H., Okabe, Y., Kawane, K., Fukuyama, H., & Nagata, S. (2004) Lethal anemia caused by interferon- $\beta$  produced in mouse embryos carrying undigested DNA. *Nat. Immunol.*, **6**, 49–56.
- 11) Kawane, K., Ohtani, M., Miwa, K., Kizawa, T., Kanbara, Y., Yoshioka, Y., Yoshikawa, H., & Nagata, S. (2006) Chronic polyarthritis caused by mammalian DNA that escapes from degradation in macrophages. *Nature*, **443**, 998–1002.
- 12) Williams, R.C. Jr., Malone, C.C., Meyers, C., Decker, P., & Muller, S. (2001) Detection of nucleosome particles in serum

- and plasma from patients with systemic lupus erythematosus using monoclonal antibody 4H7. *J. Rheumatol.*, **28**, 81–94.
- 13) Means, T.K., Latz, E., Hayashi, F., Murali, M.R., Golenbock, D.T., & Luster, A.D. (2005) Human lupus autoantibody–DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9. *J. Clin. Invest.*, **115**, 407–417.
  - 14) Tian, J., Avalos, A.M., Mao, S.Y., Chen, B., Senthil, K., Wu, H., Parroche, P., Drabic, S., Golenbock, D., Sirois, C., et al. (2007) Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE. *Nat. Immunol.*, **8**, 487–496.
  - 15) Boulé, M.W., Broughton, C., Mackay, F., Akira, S., Marshak-Rothstein, A., & Rifkin, I.R. (2004) Toll-like receptor 9-dependent and -independent dendritic cell activation by chromatin-immunoglobulin G complexes. *J. Exp. Med.*, **199**, 1631–1640.
  - 16) Ishii, K.J. & Akira, S. (2006) Innate immune recognition of, and regulation by, DNA. *Trends Immunol.*, **27**, 525–532.
  - 17) Ishikawa, H., Ma, Z., & Barber, G.N. (2009) STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity. *Nature*, **461**, 788–792.
  - 18) Sun, L., Wu, J., Du, F., Chen, X., & Chen, Z.J. (2013) Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the Type-I interferon pathway. *Science*, **339**, 786–791.
  - 19) Ahn, J., Gutman, D., Saijo, S., & Barber, G.N. (2012) STING manifests self DNA-dependent inflammatory disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 19386–19391.
  - 20) Gao, D., Li, T., Li, X.D., Chen, X., Li, Q.Z., Wight-Carter, M., & Chen, Z.J. (2015) Activation of cyclic GMP-AMP synthase by self-DNA causes autoimmune diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, E5699–E5705.
  - 21) Fang, C., Wei, X., & Wei, Y. (2016) Mitochondrial DNA in the regulation of innate immune responses. *Protein Cell*, **7**, 11–16.
  - 22) Andreeva, L., Hiller, B., Kostrewa, D., Lässig, C., de Oliveira Mann, C.C., Jan Drexler, D., Maiser, A., Gaidt, M., Leonhardt, H., Hornung, V., et al. (2017) cGAS senses long and HMGB/TFAM-bound U-turn DNA by forming protein–DNA ladders. *Nature*, **549**, 394–398.
  - 23) Glück, S., Guey, B., Gulen, M.F., Wolter, K., Kang, T.W., Schmacke, N.A., Bridgeman, A., Rehwinkel, J., Zender, L., & Ablasser, A. (2017) Innate immune sensing of cytosolic chromatin fragments through cGAS promotes senescence. *Nat. Cell Biol.*, **19**, 1061–1070.
  - 24) Vercaamen, D., Beyaert, R., Denecker, G., Goossens, V., Van Loo, G., Declercq, W., Grooten, J., Fiers, W., & Vandenabeele, P. (1998) Inhibition of caspases increases the sensitivity of L929 cells to necrosis mediated by tumor necrosis factor. *J. Exp. Med.*, **187**, 1477–1485.
  - 25) Degterev, A., Huang, Z., Boyce, M., Li, Y., Jagtap, P., Mizushima, N., Cuny, G.D., Mitchison, T.J., Moskowitz, M.A., & Yuan, J. (2005) Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat. Chem. Biol.*, **1**, 112–119.
  - 26) Degterev, A., Hitomi, J., Gernscheid, M., Ch'en, I.L., Korkina, O., Teng, X., Abbott, D., Cuny, G.D., Yuan, C., Wagner, G., et al. (2008) Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins. *Nat. Chem. Biol.*, **4**, 313–321.
  - 27) He, S., Wang, L., Miao, L., Wang, T., Du, F., Zhao, L., & Wang, X. (2009) Receptor interacting protein kinase-3 determines cellular necrotic response to TNF- $\alpha$ . *Cell*, **137**, 1100–1111.
  - 28) Zhang, D.-W., Shao, J., Lin, J., Zhang, N., Lu, B.J., Lin, S.C., Dong, M.Q., & Han, J. (2009) RIP3, an energy metabolism regulator that switches TNF-induced cell death from apoptosis to necrosis. *Science*, **325**, 332–336.
  - 29) Vandenabeele, P., Declercq, W., Van Herreweghe, F., & Vanden Berghe, T. (2010) The role of the kinases RIP1 and RIP3 in TNF-induced necrosis. *Sci. Signal.*, **3**, re4.
  - 30) Sun, L., Wang, H., Wang, Z., He, S., Chen, S., Liao, D., Wang, L., Yan, J., Liu, W., Lei, X., et al. (2012) Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase. *Cell*, **148**, 213–227.
  - 31) Zhao, J., Jitkaew, S., Cai, Z., Choksi, S., Li, Q., Luo, J., & Liu, Z.G. (2012) Mixed lineage kinase domain-like is a key receptor interacting protein 3 downstream component of TNF-induced necrosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 5322–5327.
  - 32) Vandenabeele, P., Galluzzi, L., Vanden Berghe, T., & Kroemer, G. (2010) Molecular mechanisms of necroptosis: An ordered cellular explosion. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 700–714.
  - 33) Silke, J. & Brink, R. (2009) Regulation of TNFRSF and innate immune signalling complexes by TRAFs and cIAPs. *Cell Death Differ.*, **17**, 35–45.
  - 34) O'Donnell, M.A., Hase, H., Legarda, D., & Ting, A.T. (2012) NEMO inhibits programmed necrosis in an NF $\kappa$ B-independent manner by restraining RIP1. *PLoS ONE*, **7**, e41238.
  - 35) Tenev, T., Bianchi, K., Darding, M., Broemer, M., Langlais, C., Wallberg, F., Zachariou, A., Lopez, J., MacFarlane, M., Cain, K., et al. (2011) The ripoptosome, a signaling platform that assembles in response to genotoxic stress and loss of IAPs. *Mol. Cell*, **43**, 432–448.
  - 36) O'Donnell, M.A., Perez-Jimenez, E., Oberst, A., Ng, A., Masmoumi, R., Xavier, R., Green, D.R., & Ting, A.T. (2011) CASPASE 8 inhibits programmed necrosis by processing CYLD. *Nat. Cell Biol.*, **13**, 1437–1442.
  - 37) Lin, Y., Devin, A., Rodriguez, Y., & Liu, Z. (1999) Cleavage of the death domain kinase RIP by Caspase-8 prompts TNF-induced apoptosis. *Genes Dev.*, **13**, 2514–2526.
  - 38) Feng, S., Yang, Y., Mei, Y., Ma, L., Zhu, D.E., Hoti, N., Castaneres, M., & Wu, M. (2007) Cleavage of RIP3 inactivates its caspase-independent apoptosis pathway by removal of kinase domain. *Cell. Signal.*, **19**, 2056–2067.
  - 39) Yeh, W.-C., de la Pompa, J.L., McCurrach, M.E., Shu, H.B., Elia, A.J., Shahinian, A., Ng, M., Wakeham, A., Khoo, W., Mitchell, K., et al. (1998) FADD: Essential for embryo development and signaling from some, but not all, inducers of apoptosis. *Science*, **279**, 1954–1958.
  - 40) Kang, T.-B., Ben-Moshe, T., Varfolomeev, E.E., Pewzner-Jung, Y., Yagov, N., Jurewicz, A., Waisman, A., Brenner, O., Haffner, R., Gustafsson, E., et al. (2004) Caspase-8 serves both apoptotic and nonapoptotic roles. *J. Immunol.*, **173**, 2976–2984.
  - 41) Kaiser, W.J., Upton, J.W., Long, A.B., Livingston-Rosanoff, D., Daley-Bauer, L.P., Hakem, R., Caspary, T., & Mocarski, E.S. (2011) RIP3 mediates the embryonic lethality of caspase-8-deficient mice. *Nature*, **471**, 368–372.
  - 42) Zhang, H., Zhou, X., McQuade, T., Li, J., Chan, F.K., & Zhang, J. (2011) Functional complementation between FADD and RIP1 in embryos and lymphocytes. *Nature*, **471**, 373–376.
  - 43) Rickard James, A., O'Donnell, J.A., Evans, J.M., Lalaoui, N., Poh, A.R., Rogers, T., Vince, J.E., Lawlor, K.E., Ninnis, R.L., Anderton, H., et al. (2014) RIPK1 regulates RIPK3-MLKL-driven systemic inflammation and emergency hematopoiesis. *Cell*, **157**, 1175–1188.
  - 44) Dillon Christopher, P., Weinlich, R., Rodriguez, D.A., Cripps, J.G., Quarato, G., Gurung, P., Verbist, K.C., Brewer, T.L., Llammbi, F., Gong, Y.N., et al. (2014) RIPK1 blocks early postnatal lethality mediated by caspase-8 and RIPK3. *Cell*, **157**, 1189–



- 1202.
- 45) Kaiser, W.J., Daley-Bauer, L.P., Thapa, R.J., Mandal, P., Berger, S.B., Huang, C., Sundararajan, A., Guo, H., Roback, L., Speck, S.H., et al. (2014) RIP1 suppresses innate immune necrotic as well as apoptotic cell death during mammalian parturition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 7753–7758.
- 46) Duprez, L., Takahashi, N., Van Hauwermeiren, F., Vandendriessche, B., Goossens, V., Vanden Berghe, T., Declercq, W., Libert, C., Cauwels, A., & Vandenabeele, P. (2011) RIP kinase-dependent necrosis drives lethal systemic inflammatory response syndrome. *Immunity*, **35**, 908–918.
- 47) Roderick, J.E., Hermance, N., Zelic, M., Simmons, M.J., Polykratis, A., Pasparakis, M., & Kelliher, M.A. (2014) Hematopoietic RIPK1 deficiency results in bone marrow failure caused by apoptosis and RIPK3-mediated necroptosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 14436–14441.
- 48) Dannappel, M., Vlantis, K., Kumari, S., Polykratis, A., Kim, C., Wachsmuth, L., Eftychi, C., Lin, J., Corona, T., Hermance, N., et al. (2014) RIPK1 maintains epithelial homeostasis by inhibiting apoptosis and necroptosis. *Nature*, **513**, 90–94.
- 49) Takahashi, N., Vereecke, L., Bertrand, M.J., Duprez, L., Berger, S.B., Divert, T., Gonçalves, A., Sze, M., Gilbert, B., Kourula, S., et al. (2014) RIPK1 ensures intestinal homeostasis by protecting the epithelium against apoptosis. *Nature*, **513**, 95–99.
- 50) Chen, P., Tian, J., Kovetski, I., & Bruder, J.T. (1998) Interaction of the adenovirus 14.7-kDa protein with FLICE inhibits fas ligand-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.*, **273**, 5815–5820.
- 51) Skaletskaya, A., Bartle, L.M., Chittenden, T., McCormick, A.L., Mocarski, E.S., & Goldmacher, V.S. (2001) A cytomegalovirus-encoded inhibitor of apoptosis that suppresses caspase-8 activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 7829–7834.
- 52) Mocarski, E.S., Upton, J.W., & Kaiser, W.J. (2012) Viral infection and the evolution of caspase 8-regulated apoptotic and necrotic death pathways. *Nat. Rev. Immunol.*, **12**, 79–88.
- 53) He, S., Liang, Y., Shao, F., & Wang, X. (2011) Toll-like receptors activate programmed necrosis in macrophages through a receptor-interacting kinase-3-mediated pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 20054–20059.
- 54) Seya, T., Shime, H., Takaki, H., Azuma, M., Oshiumi, H., & Matsumoto, M. (2012) TLR3/TICAM-1 signaling in tumor cell RIP3-dependent necroptosis. *Oncotarget*, **1**, 917–923.
- 55) Kaiser, W.J., Sridharan, H., Huang, C., Mandal, P., Upton, J.W., Gough, P.J., Sehon, C.A., Marquis, R.W., Bertin, J., & Mocarski, E.S. (2013) Toll-like receptor 3-mediated necrosis via TRIF, RIP3, and MLKL. *J. Biol. Chem.*, **288**, 31268–31279.
- 56) Upton Jason, W., Kaiser William, J., & Mocarski Edward, S. (2012) DAI/ZBP1/DLM-1 complexes with RIP3 to mediate virus-induced programmed necrosis that is targeted by murine cytomegalovirus vIRA. *Cell Host Microbe*, **11**, 290–297.
- 57) Kuriakose, T., Man, S.M., Subbarao Malireddi, R.K., Karki, R., Kesavardhana, S., Place, D.E., Neale, G., Vogel, P., & Kanneganti, T.D. (2016) ZBP1/DAI is an innate sensor of influenza virus triggering the NLRP3 inflammasome and programmed cell death pathways. *Sci. Immunol.*, **1**, aag2045.
- 58) Thapa, R.J., Ingram, J.P., Ragan, K.B., Nogusa, S., Boyd, D.F., Benitez, A.A., Sridharan, H., Kosoff, R., Shubina, M., Landsteiner, V.J., et al. (2016) DAI senses influenza A virus genomic RNA and activates RIPK3-dependent cell death. *Cell Host Microbe*, **20**, 674–681.
- 59) Kesavardhana, S., Kuriakose, T., Guy, C.S., Samir, P., Malireddi, R.K.S., Mishra, A., & Kanneganti, T.D. (2017) ZBP1/DAI ubiquitination and sensing of influenza vRNPs activate programmed cell death. *J. Exp. Med.*, **214**, 2217–2229.
- 60) Maelfait, J., Liverpool, L., Bridgeman, A., Ragan, K.B., Upton, J.W., & Rehwinkel, J. (2017) Sensing of viral and endogenous RNA by ZBP1/DAI induces necroptosis. *EMBO J.*, **36**, 2529–2543.
- 61) Nogusa, S., Thapa, R.J., Dillon, C.P., Liedmann, S., Oguin, T.H. 3rd, Ingram, J.P., Rodriguez, D.A., Kosoff, R., Sharma, S., Sturm, O., et al. (2016) RIPK3 activates parallel pathways of MLKL-driven necroptosis and FADD-mediated apoptosis to protect against influenza A virus. *Cell Host Microbe*, **20**, 13–24.
- 62) Xu, Y.-L., Tang, H.L., Peng, H.R., Zhao, P., Qi, Z.T., & Wang, W. (2017) RIP3 deficiency ameliorates inflammatory response in mice infected with influenza H7N9 virus infection. *Oncotarget*, **8**, 27715–27724.
- 63) Mocarski, E.S., Guo, H., & Kaiser, W.J. (2015) Necroptosis: The Trojan horse in cell autonomous antiviral host defense. *Virology*, **479–480**, 160–166.
- 64) Lalanne, A.I., Moraga, I., Hao, Y., Pereira, J.P., Alves, N.L., Huntington, N.D., Freitas, A.A., Cumano, A., & Vieira, P. (2010) CpG inhibits Pro-B cell expansion through a cathepsin B-dependent mechanism. *J. Immunol.*, **184**, 5678–5685.
- 65) Kim, S.J. & Li, J. (2013) Caspase blockade induces RIP3-mediated programmed necrosis in toll-like receptor-activated microglia. *Cell Death & Disease*, **4**, e716.
- 66) Thapa, R.J., Nogusa, S., Chen, P., Maki, J.L., Lerro, A., Andrade, M., Rall, G.F., Degterev, A., & Balachandran, S. (2013) Interferon-induced RIP1/RIP3-mediated necrosis requires PKR and is licensed by FADD and caspases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, E3109–E3118.
- 67) Robinson, N., McComb, S., Mulligan, R., Dudani, R., Krishnan, L., & Sad, S. (2012) Type I interferon induces necroptosis in macrophages during infection with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Nat. Immunol.*, **13**, 954–962.
- 68) McComb, S., Cessford, E., Alturki, N.A., Joseph, J., Shutinski, B., Startek, J.B., Gamero, A.M., Mossman, K.L., & Sad, S. (2014) Type-I interferon signaling through ISGF3 complex is required for sustained Rip3 activation and necroptosis in macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, E3206–E3213.
- 69) Brault, M., Stetson, D.B., & Oberst, A. (2016) Type I interferon and TNF signaling plays key synergistic role in programmed necrosis. *J. Immunol.*, **196**(1 Supplement): 202.217.
- 70) Schock, S.N., Chandra, N.V., Sun, Y., Irie, T., Kitagawa, Y., Gotoh, B., Coscoy, L., & Winoto, A. (2017) Induction of necroptotic cell death by viral activation of the RIG-I or STING pathway. *Cell Death Differ.*, **24**, 615–625.
- 71) Brault, M., Olsen, T.M., Martinez, J., Stetson, D.B., & Oberst, A. (2018) Intracellular nucleic acid sensing triggers necroptosis through synergistic Type I IFN and TNF signaling. *J. Immunol.*
- 72) Kuriakose, T., Man, S.M., Subbarao Malireddi, R.K., Karki, R., Kesavardhana, S., Place, D.E., Neale, G., Vogel, P., & Kanneganti, T.D. (2016) ZBP1/DAI is an innate sensor of influenza virus triggering the NLRP3 inflammasome and programmed cell death pathways. *Sci. Immunol.*, **1**, aag2045.
- 73) Kuriakose, T., Zheng, M., Neale, G., & Kanneganti, T.-D. (2018) IRF1 is a transcriptional regulator of ZBP1 promoting NLRP3 inflammasome activation and cell death during influenza virus infection. *J. Immunol.*, **200**, 1489–1495.
- 74) He, Y., Hara, H., & Núñez, G. (2016) Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation. *Trends Biochem. Sci.*, **41**, 1012–1021.
- 75) Shi, J., Zhao, Y., Wang, K., Shi, X., Wang, Y., Huang, H., Zhuang, Y., Cai, T., Wang, F., & Shao, F. (2015) Cleavage of

- GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, **526**, 660–665.
- 76) de Vasconcelos, N.M., Van Opdenbosch, N., & Lamkanfi, M. (2016) Inflammasomes as polyvalent cell death platforms. *Cell. Mol. Life Sci.*, **73**, 2335–2347.
  - 77) Gehrke, N., Mertens, C., Zillinger, T., Wenzel, J., Bald, T., Zahn, S., Tüting, T., Hartmann, G., & Barchet, W. (2013) Oxidative damage of DNA confers resistance to cytosolic nuclease TREX1 degradation and potentiates STING-dependent immune sensing. *Immunity*, **39**, 482–495.
  - 78) Pasparakis, M. & Vandenabeele, P. (2015) Necroptosis and its role in inflammation. *Nature*, **517**, 311–320.
  - 79) Desai, J., Mulay, S.R., Nakazawa, D., & Anders, H.-J. (2016) Matters of life and death. How neutrophils die or survive along NET release and is “NETosis” = necroptosis? *Cell. Mol. Life Sci.*, **73**, 2211–2219.
  - 80) Marichal, T., Ohata, K., Bedoret, D., Mesnil, C., Sabatel, C., Kobiyama, K., Lekeux, P., Coban, C., Akira, S., Ishii, K.J., et al. (2011) DNA released from dying host cells mediates aluminum adjuvant activity. *Nat. Med.*, **17**, 996–1002.
  - 81) Kuroda, E., Ozasa, K., Temizoz, B., Ohata, K., Koo, C.X., Kanuma, T., Kusakabe, T., Kobari, S., Horie, M., Morimoto, Y., et al. (2016) Inhaled fine particles induce alveolar macrophage death and interleukin-1 $\alpha$  release to promote inducible bronchus-associated lymphoid tissue formation. *Immunity*, **45**, 1299–1310.
  - 82) Meher, A.K., Spinosa, M., Davis, J.P., Pope, N., Laubach, V.E., Su, G., Serbulea, V., Leitinger, N., Ailawadi, G., & Upchurch, G.R. Jr. (2018) Novel role of IL (Interleukin)-1 $\beta$  in neutrophil extracellular trap formation and abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **38**, 843–853.
  - 83) Papayannopoulos, V. (2017) Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat. Rev. Immunol.*, **18**, 134–147.
  - 84) Lu, B., Antoine, D.J., Kwan, K., Lundbäck, P., Wähämaa, H., Schierbeck, H., Robinson, M., Van Zoelen, M.A., Yang, H., Li, J., et al. (2014) JAK/STAT1 signaling promotes HMGB1 hyperacetylation and nuclear translocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 3068–3073.
  - 85) Lu, B., Nakamura, T., Inouye, K., Li, J., Tang, Y., Lundbäck, P., Valdes-Ferrer, S.I., Olofsson, P.S., Kalb, T., Roth, J., et al. (2012) Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release. *Nature*, **488**, 670–674.
  - 86) Schiraldi, M., Raucchi, A., Muñoz, L.M., Livoti, E., Celona, B., Venereau, E., Apuzzo, T., De Marchis, F., Pedotti, M., Bachi, A., et al. (2012) HMGB1 promotes recruitment of inflammatory cells to damaged tissues by forming a complex with CXCL12 and signaling via CXCR4. *J. Exp. Med.*, **209**, 551–563.
  - 87) Ugrinova, I. & Pasheva, E. (2017) Chapter two-HMGB1 protein: A therapeutic target inside and outside the cell. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, ed Donev R (Academic Press), Vol 107, pp 3–76.
  - 88) Lu, B., Wang, C., Wang, M., Li, W., Chen, F., Tracey, K.J., & Wang, H. (2014) Molecular mechanism and therapeutic Modulation of HMGB1 release and action: An updated review. *Expert Rev. Clin. Immunol.*, **10**, 713–727.
  - 89) Xia, C., Braunstein, Z., Toomey, A.C., Zhong, J., & Rao, X. (2017) S100 proteins as an important regulator of macrophage inflammation. *Front. Immunol.*, **8**, 1908.
  - 90) Donato, R., Cannon, B.R., Sorci, G., Riuizi, F., Hsu, K., Weber, D.J., & Geczy, C.L. (2013) Functions of S100 proteins. *Curr. Mol. Med.*, **13**, 24–57.
  - 91) Couillin, I., Gombault, A., & Baron, L. (2013) ATP release and purinergic signaling in NLRP3 inflammasome activation. *Front. Immunol.*, **3**, 414.
  - 92) Kouzaki, H., Iijima, K., Kobayashi, T., O’Grady, S.M., & Kita, H. (2011) The danger signal, extracellular ATP, is a sensor for an airborne allergen and triggers IL-33 release and innate Th2-Type responses. *J. Immunol.*, **186**, 4375–4387.
  - 93) Eltzschig, H.K., Sitkovsky, M.V., & Robson, S.C. (2012) Purinergic signaling during inflammation. *N. Engl. J. Med.*, **367**, 2322–2333.
  - 94) Chen, C.-J., Kono, H., Golenbock, D., Reed, G., Akira, S., & Rock, K.L. (2007) Identification of a key pathway required for the sterile inflammatory response triggered by dying cells. *Nat. Med.*, **13**, 851–856.
  - 95) Clancy, D.M., Sullivan, G.P., Moran, H.B.T., Henry, C.M., Reeves, E.P., McElvaney, N.G., Lavelle, E.C., & Martin, S.J. (2018) Extracellular neutrophil proteases are efficient regulators of IL-1, IL-33, and IL-36 cytokine activity but poor effectors of microbial killing. *Cell Reports*, **22**, 2937–2950.
  - 96) Di Paolo, N.C. & Shayakhmetov, D.M. (2016) Interleukin 1 $\alpha$  and the inflammatory process. *Nat. Immunol.*, **17**, 906–913.
  - 97) Groß, O., Yazdi, A.S., Thomas, C.J., Masin, M., Heinz, L.X., Guarda, G., Quadroni, M., Drexler, S.K., & Tschopp, J. (2012) Inflammasome activators induce interleukin-1 $\alpha$  secretion via distinct pathways with differential requirement for the protease function of caspase-1. *Immunity*, **36**, 388–400.
  - 98) Rider, P., Carmi, Y., Guttman, O., Braiman, A., Cohen, I., Voronov, E., White, M.R., Dinarello, C.A., & Apte, R.N. (2011) IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  recruit different myeloid cells and promote different stages of sterile inflammation. *J. Immunol.*, **187**, 4835–4843.
  - 99) Rickard, J., O’Donnell, J.A., Evans, J.M., Lalaoui, N., Poh, A.R., Rogers, T., Vince, J.E., Lawlor, K.E., Ninnis, R.L., Anderton, H., et al. (2014) RIPK1 regulates RIPK3-MLKL-driven systemic inflammation and emergency hematopoiesis. *Cell*, **157**, 1175–1188.
  - 100) Bessa, J., Meyer, C.A., de Vera Mudry, M.C., Schlicht, S., Smith, S.H., Iglesias, A., & Cote-Sierra, J. (2014) Altered sub-cellular localization of IL-33 leads to non-resolving lethal inflammation. *J. Autoimmun.*, **55**, 33–41.
  - 101) Lefrançois, E., Roga, S., Gautier, V., Gonzalez-de-Peredo, A., Monsarrat, B., Girard, J.P., & Cayrol, C. (2012) IL-33 is processed into mature bioactive forms by neutrophil elastase and cathepsin G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 1673–1678.
  - 102) Lüthi, A.U., Cullen, S.P., McNeela, E.A., Duriez, P.J., Afonina, I.S., Sheridan, C., Brumatti, G., Taylor, R.C., Kersse, K., Vandenabeele, P., et al. (2009) Suppression of interleukin-33 bioactivity through proteolysis by apoptotic caspases. *Immunity*, **31**, 84–98.
  - 103) Liew, F.Y., Girard, J.-P., & Turnquist, H.R. (2016) Interleukin-33 in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.*, **16**, 676–689.



## 著者寸描

## ●百田 匡寿（ももた まさとし）

独立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所アジュバント開発プロジェクト特任研究員，修士。

■略歴 1982年福岡県生まれ，2008年九州大学大学院医学系研究科終了，同年から13年まで(株)医学生物学研究所に勤務後，13年に大阪大学大学院医学系研究科入学，17年より現職。

■研究テーマと抱負 ウイルス免疫とワクチン開発の研究者を志し，石井健教授の指導を受けるために一般企業を退職し大阪大学に入学，現在は肺における好中球やマクロファージの細胞死と炎症の関係に興味を持ち研究を進めている。

■ウェブサイト <http://www.nibiohn.go.jp/adjuvant/index.html>

■趣味 リクガメの飼育。