

総説

自然免疫センサーとしてのパターン認識受容体の 病態生理学的意義

森 秀治^{1,2)}*, 渡邊 政博¹⁾, 豊村 隆男¹⁾

¹⁾ 就実大学薬学部, ²⁾ 就実大学大学院医療薬学研究科

Pathophysiological roles of pattern recognition receptors as sensors in innate immunity

Shuji Mori^{1,2)}*, Masahiro Watanabe¹⁾, Takao Toyomura¹⁾

¹⁾ *School of Pharmacy, Shujitsu University*

²⁾ *Graduate School of Clinical Pharmacy, Shujitsu University*

(Received 16 October 2015; accepted 4 November 2015)

Abstract: The innate immune system is known to be an essential component of the inflammatory response against a variety of pathogen stimuli. In particular, Toll-like receptors and Nod-like receptors are the representative sensors based upon pattern recognition mechanism. In similar to pathogen-associated molecular patterns (Pamps), damage-associated molecular patterns (Damps), which is actively secreted by innate immune cells and/or released passively by injured or damaged cells in response to infection or injury, stimulate pattern recognition receptors, and induce pro-inflammatory responses. In this paper, we highlight the pathophysiological roles of pattern recognition receptors, and discuss their potential as therapeutic targets.

Keywords: inflammasome; innate immunity; sterile inflammation; NLR (Nod-like receptor); TLR (Toll-like receptor)

急性炎症と慢性炎症

近年, 慢性炎症という概念が, 多くの生活習慣病の発症や増悪化に共通する病態基盤として位置付けられるようになり, 新たな創薬標的として

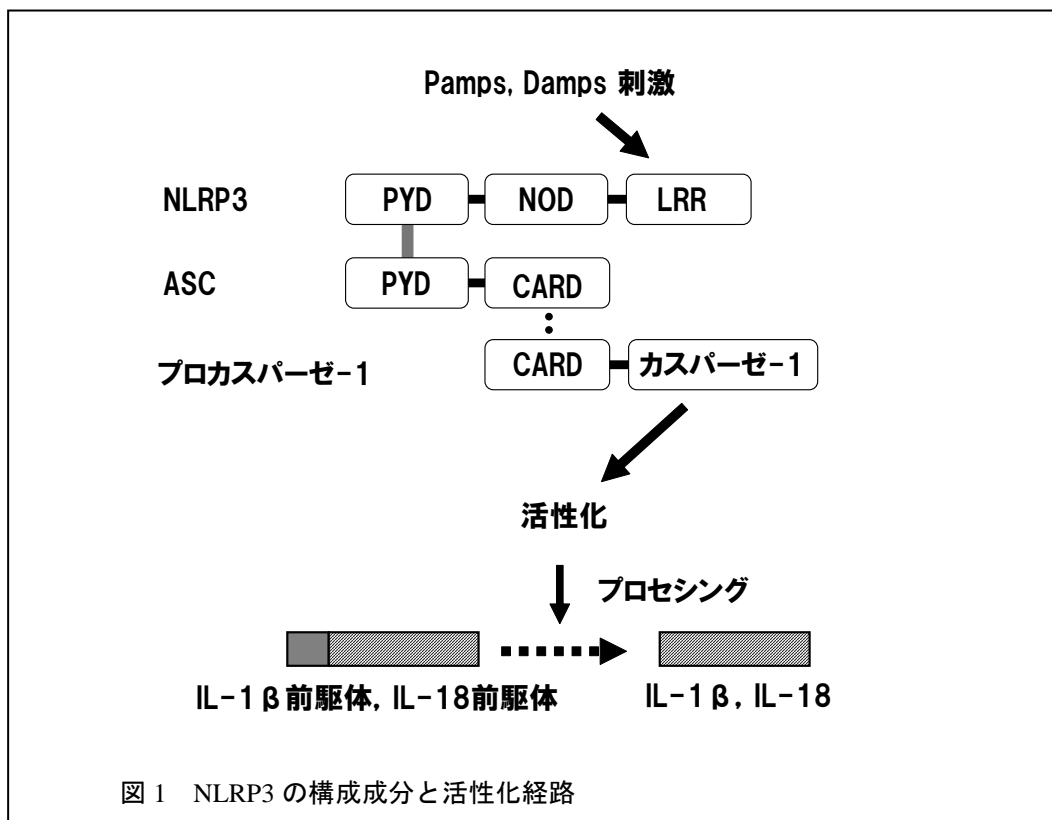
の観点からも注目されている¹⁻³⁾. 炎症反応は急性炎症と慢性炎症に大別され, 一般に急性炎症は発赤・発熱・腫脹・疼痛といった4つの古典的症候によって特徴付けられる生体応答とされ, 生体

にとって有害な刺激(例えば病原微生物や毒素など)が、生体に侵入・形成されてきた際に生じる局所的な組織反応と捉えられている^{4,5)}。急性炎症の進行過程に共通する現象として、サイトカイン・ケモカインをはじめとする様々な炎症性因子による炎症細胞の組織局所への遊走と浸潤、血管拡張と透過性の亢進、炎症進行に続く反応の中和、組織再生と修復に基づく損傷治癒が認められ^{6,7)}、これらの現象の進行過程が上記の4症候として現れることとなる。

その一方で、慢性炎症は慢性的な感染持続、修復されない組織障害、食食困難で持続的に存在する異物などが引き金となって生じることが知られており、慢性炎症の原因が取り除かれない場合や長期間にわたって継続的に曝露されている場合あるいは自己免疫的機序が成立している場合には、炎症が容易に慢性化し、時間経過に伴って徐々に組織損傷を招き、これによって生活習慣病や動脈硬化、アルツハイマー型認知症などの神経変性疾患などの数多くの疾病の病態基盤を形成

していくことになる。しかしながら、現時点で炎症の慢性化・遷延化、炎症の収束機序についての分子的理解は十分に進んでは言えず、数多くの不明な点が残されているのが現状である。また、炎症部位へ浸潤して来る細胞についても両者には差異が認められ、急性炎症では主として好中球の浸潤が、慢性炎症ではマクロファージの浸潤が特徴的とされており、その病態生理学的意義についても今後の解明が待たれるところである。

慢性炎症の起因物質として、病原微生物や毒素などの外因的因子については、これまでに十分に認知されているものの、感染や異物侵入が無関係と思われる動脈硬化のような炎症病態において、どのような機序で慢性炎症が惹起・成立するのかについては、長い間、全く不明であった。現在、感染や異物侵入が無関係と思われる炎症は、無菌性炎症(sterile inflammation)と呼称され、近年の数多くの精力的研究の結果、生体内に元々存在していた内因性の因子が、無菌性炎症の原因刺激になることが明らかとなってきた⁸⁾。即ち、生体が



何らかの損傷を受けた場合に、ダメージを受けた組織や細胞自身から細胞内成分が放出され、この中の一部が炎症性シグナル因子として働くことで周囲の免疫細胞などを刺激・活性化し、結果として炎症病態の形成・増悪化に繋がっていくという反応過程が存在することが報告されている⁹⁾。慢性炎症の成立に伴って、生体内では組織線維化、継続的な免疫細胞浸潤、無秩序な血管新生といった組織リモデリング(組織の不可逆的な機能欠損と形態変化)が生じてしまい、最終的には全身性に生活習慣病などの発症リスクを高めることに繋がっていく。

慢性炎症の鍵となる自然免疫系

哺乳類をはじめとする高等生物の免疫系は、自然免疫(innate immunity)ならびに獲得免疫(acquired immunity)に大別され、高等生物では両免疫系が協調し互いを補うことによって、生体防御機構が成立している。獲得免疫は、リンパ球(即ち、B細胞およびT細胞)が主たる担当細胞として働き、リンパ球の異物に対する認識特異性が高いために多種多様な異物の中から選択的な異物排除を可能にすると共に、記憶細胞の存在に基づく免疫学的記憶能力も有することから、高度な生体防御系と位置付けられる。一方、自然免疫は昆虫以上の生物が持つ生体防御機構であり、食細胞・抗原提示細胞である樹状細胞、マクロファージや好中球が主たる担当細胞である。免疫反応の成立には、獲得免疫が数日を要するのに対して自然免疫は極めて早く、抗原侵入から数時間以内に免疫系が作動する。これは自然免疫の誘導には、獲得免疫のように抗原特異的なリンパ球の増殖を必要としないことが大きな理由とされている。病原微生物などの異物が侵入すると、最初に病原微生物を異物として認識したマクロファージや好中球などの食細胞による貪食が生じ、続いて活性化マクロファージによる炎症性サイトカインの産生亢進、血管内皮細胞の活性化、炎症局所へ

の免疫担当細胞の誘導などの現象が経時的に進行することで、最終的に異物排除が行われる。自然免疫における異物認識の過程で、マクロファージや樹状細胞にはT細胞受容体やB細胞受容体のような特異的認識機構は存在せず、その代わりとして病原体に特有の共通構造(共通パターン)を異物として認識することが明らかとなってきた¹⁰⁻¹²⁾。自然免疫系における異物排除に関わる共通パターンについて、現在、主に病原体由来で外因性のものをPamps(pathogen-associated molecular patterns)、生体内に元来存在していた内因性のもの及び生体内に取り込まれた外因性のもの(アスベストや二酸化珪素など)をDamps(damage-associated molecular patterns)と呼んで区別されている^{13,14)}。PampsならびにDampsは、共にマクロファージや樹状細胞に発現しているパターン認識受容体(pattern recognition receptors)を刺激することで、自然免疫における異物認識機構が働くことになる。以下に、パターン認識受容体による異物認識機構の詳細を示す。

表1 NRP3 インフラマソームを刺激する代表的DampsとPamps

代表的な刺激物質

Damps

炎症性微小粒子
尿酸結晶
コレステロール結晶
二酸化珪素
水酸化アルミニウム
アスベスト
細胞外ATP

Pamps

微生物感染・細菌毒素
大腸菌
化膿レンサ球菌
カンジタ真菌

自然免疫における Toll 様受容体の関与

先に述べたように、自然免疫においてマクロファージや樹状細胞は、病原菌などの異物に共通する立体構造（共通パターン）を認識する。病原細菌のような外因性のものを **Pamps** と呼び、代表例としてはグラム陰性菌の内毒素として古くから知られるリポ多糖や細菌の非メチル化 CpG-DNA、フラジェリン、リポタイコ酸などが挙げられる¹⁵⁾。現在、**Pamps** はマクロファージや樹状細胞に存在する Toll 様受容体 (Toll-like receptors, TLRs) を主に刺激し、細胞内シグナル伝達を媒介して細胞の賦活化を引き起こすことが知られている。このようなパターン認識機構を介した生体防御機構は、昆虫からヒトまで幅広く様々な生物種で観察されるため、進化論的にも高度に保存された生命の存続にとっても非常に重要なシステムと言える。当初、Toll は昆虫 (ショウジョウバエ) の背腹軸の形成に関わる遺伝子として報告されたが¹⁶⁾、本遺伝子が真菌に対する免疫反応を担う重要な役割を果たすことが見出され、この知見に基づいて哺乳類における Toll 様の生体防御を担う遺

伝子の探索競争が繰り返され、1997 年に Toll 様受容体が発見されるに至った¹⁷⁾。Toll 様受容体は、連続した複数個のロイシンリッチリピートを有する細胞外ドメイン、1 回膜貫通ドメイン、シグナル伝達に必要な細胞内ドメインから成り、**Pamps** 刺激に伴って Toll 様受容体は 2 量体を形成し、これが引き金となって活性化シグナルを細胞内へと伝えることとなる¹⁸⁾。

一方、**Pamps** が存在しない無菌的条件下においても、生体内に元来存在している内因性成分が Toll 様受容体を刺激することが、最近の研究によって明らかとなってきた。これらの因子は死細胞や損傷細胞から放出され **Damps** と総称されている。加えて、現在ではアスベストのように生体内に取り込まれた外因性因子についても Toll 様受容体を刺激するものが存在することが明らかにされている。通常、**Damps** が Toll 様受容体などのパターン認識受容体を刺激することで炎症を誘導し、これによって生体内で死を迎えた細胞や組織を処理し、結果的に組織再生や恒常性の維持が円滑に働くように機能していると考えられて

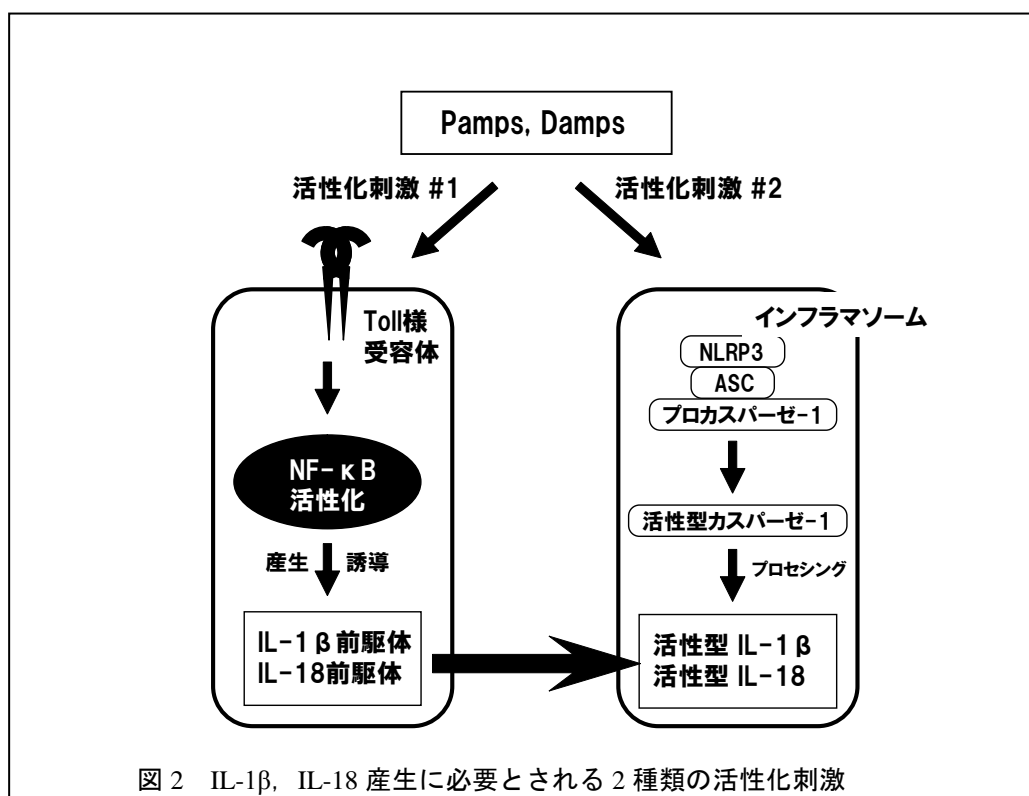


図2 IL-1β, IL-18 産生に必要なとされる 2 種類の活性化刺激

いる。しかしながら、重度の外傷や微生物感染などによって、生体内で膨大な数の死細胞が発生する事態になると大量の Damps が放出されることとなり、これが過剰な免疫・炎症反応の亢進を生み出し、結果として組織再生機構の異常や炎症の遷延化につながっていくものと考えられる。今日、Toll 様受容体に関する膨大な量研究知見が蓄積され、既に多数の優れた総説が報告されており¹⁹⁻²³⁾、本総説で取り上げられなかった内容については、それらを参考にされることをお薦めする。

NOD 様受容体を介したインフラマソームの自然炎症への関与

自然免疫の活性化に伴って炎症性サイトカインの産生が誘導され、これが周囲の細胞を活性化し生体防御における重要な役割を担っていることは周知の事実である。中でもインターロイキン-1 β (IL-1 β) とインターロイキン-18 (IL-18) は代表的な炎症性サイトカインであり、両者ともマクロファージなどの細胞内で初めに前駆体として生合成され、次に切断酵素によって活性化体に変換される。この切断に深く関与しているタンパク質複合体がインフラマソームである^{24,25)}。即ち、インフラマソームは、細胞内に形成されるタンパク質複合体であり、IL-1 β 前駆体や IL-18 前駆体の切断酵素であるカスパーゼ-1の自己活性化を誘導することが主な機能である。インフラマソームは、2002年に Martinon によって存在が報告され²⁶⁾、Damps 刺激を認識する Nod 様受容体 (Nucleotide binding oligomerization domain-like receptor, NLR)、アダプターとして働く ASC (Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain)、そしてプロカスパーゼ-1の3つで構成されている。これまでに NLR の違いによって、NLRP1 インフラマソーム、NLRP3 インフラマソーム、NLRC4 インフラマソーム、NLRP6

インフラマソーム、AIM インフラマソームなどが報告されており、現在のところ最も研究がなされ無菌性炎症への関わりが示されているのは NLRP3 インフラマソームである (図 1)。

NLRP3 インフラマソームは、PYD (Pyrin domain)、NOD (Nucleotide binding oligomerization domain) と LRR (Leucine-rich domain) の3つのドメインから成る Nod 様受容体 (NLRP3 と称される)²⁷⁾、ならびに PYD と CARD (Caspase activation and recruitment domain) の2つのドメインから成る ASC (Apoptosis-associated speck-like protein containing a carboxy-terminal CARD)²⁸⁾、更には CARD とカスパーゼ-1から成るプロカスパーゼ-1²⁹⁾の3因子が複合体を形成することによって構成されている。NLRP3 の LRR ドメインに Damps シグナル刺激が加わることによって Nod 様受容体と ASC に存在する PYD 同士が結合し、引き続いて ASC 中の CARD とプロカスパーゼ-1中の CARD が互いに結合し、最終的にカスパーゼ-1が活性型に変化する。活性化カスパーゼ-1は、IL-1 β 前駆体や IL-18 前駆体を限定的に分解 (プロセッシング) することで、両者を活性体へと変化させる。これまでの研究によって、NLRP3 インフラマソームを刺激する Damps として、痛風に関連する尿酸結晶、動脈硬化に関わるコレステロール結晶、生活環境中の炎症惹起物質として知られるアスベストやシリカ、組織損傷を受けた細胞から放出される細胞外 ATP、更には細菌毒素や水酸化アルミニウムなどが知られており³⁰⁻³²⁾ (図 2)、これまで謎であった痛風、アスベスト肺、珪肺症、動脈硬化などの多くの無菌性炎症の発症・増悪化機構を、インフラマソームの発見によって分子レベルで理解することが可能になった点は極めて興味深い知見と言える。

また、NLRP3 インフラマソームの介した IL-1 β や IL-18 の活性化には、前もってこれらの前駆体の産生誘導が必要であるが、これには

NLRP3 インフラマソーム活性化経路とは別に、Damps や Pamps による Toll 様受容体刺激に基づいた NF- κ B 活性化の経路が必要であると考えられており、自然免疫系の成立維持にとって極めて重要な炎症性サイトカインである IL-1 β や IL-18 の産生制御には、NOD 様受容体を中心としたインフラマソーム活性化経路と共に、Toll 様受容体活性化経路という2つのシグナルが協働することが必要であることが判明している(図3)。既に、インフラマソーム形成過程での異常がいくつかの遺伝性疾患の原因となることが明らかにされており、クライオピン関連周期熱症候群、家族性地中海熱、家族性寒冷蕁麻疹などへの関与が報告されている³³⁾。

これまでに述べた知見は、自然免疫を駆動するインフラマソームをはじめとする様々な機能分子の形成過程やシグナル伝達を制御することが疾患治療や予防に繋がっていくことを示唆するものであり、これらを新たな分子標的治療とした今後の発展が大いに期待される研究領域である。

引用文献

- 1) Shaw AC., Goldstein DR., Montgomery RR.: Age-dependent dysregulation of innate immunity., *Nat Rev Immunol*, 13 (12) 875-887 (2013)
- 2) Medzhitov R.: Origin and physiological roles of inflammation., *Nature*, 454 (7203) 428-435 (2008)
- 3) Qian C, Liu J, Cao X.: Innate signaling in the inflammatory immune disorders., *Cytokine Growth Factor Rev*, 25 (6) 731-738 (2014)
- 4) Scrivo R, Vasile M, Bartosiewicz I, Valesini G.: Inflammation as "common soil" of the multifactorial diseases., *Autoimmun Rev*, 10 (7) 369-374 (2011)
- 5) Medzhitov R.: Inflammation 2010: new

- adventures of an old flame., *Cell*, 140 (6) 771-776 (2010)
- 6) Kolaczowska E, Kubes P.: Neutrophil recruitment and function in health and inflammation., *Nat Rev Immunol*, 13 (3) 159-175 (2013)
- 7) Caielli S, Banchereau J, Pascual V.: Neutrophils come of age in chronic inflammation., *Curr Opin Immunol*, 24 (6) 671-677 (2012)
- 8) Chen GY, Nuñez G.: Sterile inflammation: sensing and reacting to damage., *Nat Rev Immunol*, 10 (12) 826-837 (2010)
- 9) Vénéreau E, Ceriotti C, Bianchi ME.: DAMPs from Cell Death to New Life., *Front Immunol*, 6 1-11 (2015)
- 10) Pandey S, Singh S, Anang V, Bhatt AN, Natarajan K, Dwarakanath BS.: Pattern Recognition Receptors in Cancer Progression and Metastasis., *Cancer Growth Metastasis*, 8 25-34 (2015)
- 11) Kumagai Y, Akira S.: Identification and functions of pattern-recognition receptors., *J Allergy Clin Immunol*, 125 (5) 985-992 (2010)
- 12) Takeuchi O, Akira S.: Pattern recognition receptors and inflammation., *Cell*, 140 (6) 805-820 (2010)
- 13) Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT.: PAMPs and DAMPs: signals that spur autophagy and immunity., *Immunol Rev*, 249 (1) 158-175 (2012)
- 14) Bianchi ME.: DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger., *J Leukoc Biol*, 81 (1) 1-5 (2007)
- 15) Kawai T, Akira S.: The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors., *Nat Immunol*, 11 (5) 373-384 (2010)
- 16) Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart

- JM, Hoffmann JA.: The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults., *Cell*, 86 (6) 973-983 (1996)
- 17) Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr.: A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity., *Nature*, 388 (6640) 394-397 (1997)
- 18) Choe J, Kelker MS, Wilson IA.: Crystal structure of human toll-like receptor 3 (TLR3) ectodomain., *Science*, 309 (5734) 581-585 (2005)
- 19) Kawai T, Akira S.: Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity., *Immunity*, 34(5) 637-650 (2011)
- 20) Gay NJ, Symmons MF, Gangloff M, Bryant CE.: Assembly and localization of Toll-like receptor signalling complexes., *Nat Rev Immunol*, 14(8) 546-558 (2014)
- 21) Kollmann TR, Levy O, Montgomery RR, Goriely S.: Innate immune function by Toll-like receptors: distinct responses in newborns and the elderly., *Immunity*, 37(5) 771-783 (2012)
- 22) De Nardo D.: Toll-like receptors: Activation, signalling and transcriptional modulation., *Cytokine*, 74(2) 181-189 (2015)
- 23) Kawasaki T, Kawai T, Akira S.: Recognition of nucleic acids by pattern-recognition receptors and its relevance in autoimmunity., *Immunol Rev*, 243 (1) 61-73 (2011)
- 24) Davis BK, Wen H, Ting JP.: The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases., *Annu Rev Immunol*, 29 707-735 (2011)
- 25) Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, Flavell R.: Inflammasomes in health and disease., *Nature*, 481 (7381) 278-286 (2012)
- 26) Martinon F, Burns K, Tschopp J.: The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta., *Mol Cell*, 10 (2) 417-426 (2002)
- 27) Inohara N, Nuñez G.: NODs: intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis., *Nat Rev Immunol*, 3 (5) 371-382 (2003)
- 28) Masumoto J, Taniguchi S, Ayukawa K, Sarvotham H, Kishino T, Niikawa N, Hidaka E, Katsuyama T, Higuchi T, Sagara J.: ASC, a novel 22-kDa protein, aggregates during apoptosis of human promyelocytic leukemia HL-60 cells., *J Biol Chem*, 274 (48) 33835-33838 (1999)
- 29) Martinon F, Tschopp J.: Inflammatory caspases: linking an intracellular innate immune system to autoinflammatory diseases., *Cell*, 117 (5) 561-574 (2004)
- 30) Martinon F1, Pétrilli V, Mayor A, Tardivel A, Tschopp J.: Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome., *Nature*, 440 (7081) 237-41 (2006)
- 31) Mariathasan S, Weiss DS, Newton K, McBride J, O'Rourke K, Roose-Girma M, Lee WP, Weinrauch Y, Monack DM, Dixit VM.: Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP., *Nature*, 440 (7081) 228-232 (2006)
- 32) Duewell P1, Kono H, Rayner KJ, Sirois CM, Vladimer G, Bauernfeind FG, Abela GS, Franchi L, Nuñez G, Schnurr M, Espevik T, Lien E, Fitzgerald KA, Rock KL, Moore KJ, Wright SD, Hornung V, Latz E.: NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals., *Nature*, 464 (7293) 1357-1361 (2010)
- 33) Masters SL, Simon A, Aksentijevich I, Kastner DL.: Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease., *Annu Rev Immunol*, 27 621-668 (2009)