HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	心内膜炎関連口腔連鎖球菌によるIL-1β産生誘導活性
Author(s)	佐伯, 歩; 柴田, 健一郎
Citation	北海道歯学雑誌, 38(1), 56-58
Issue Date	2017-09
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/67308
Type	journal article
File Information	38_01_06_Saeki.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北海道歯誌　38：56−58，2017.

最新の歯学

心内膜炎関連口腔連鎖球菌によるIL-1β産生誘導活性

IL-1β-inducing activity of oral streptococcus causing infective endocarditis

北海道大学大学院歯学研究院　口腔医学部門　口腔病態学分野　口腔分子微生物学教室

佐伯　歩　　柴田健一郎

はじめに

口腔常在菌である*Streptococcus sanguinis*は感染性心内膜炎（Infective endocarditis；IE）の代表的な起因菌として注目されている[1, 2]．多くの場合，IEは何らかの基礎心疾患を有する患者が何らかの原因，たとえば歯科治療を含めた小手術などにより菌血症を起こした際に発症する[1, 3, 4]．IEの病因論は不明な点が多いが，菌体ならびに炎症性サイトカインの一つであるinterleukin (IL)-1が内皮細胞のtissue factor活性を亢進し，血小板を凝集させ，心内膜に付着することが一因であると考えられている[5-8]．本稿では，Il-1β産生制御に関する最近の研究と*S. sanguinis*が樹状細胞やマクロファージにIL-1βの産生を誘導するメカニズムについて我々の知見を紹介する．

IL-1βならびにIL-18産生に必須であるインフラマソーム

IL-1βの産生は自然免疫応答の重要なパートであり，病原体感染時の宿主防御において重要な役割を担う[9, 10]．一方で，最も強力な内因性発熱物質の一つであり組織障害を引き起こす潜在性も有しており，その産生は厳密に制御されている[11]．ほとんどのサイトカインは，合成されると速やかに，通常の分泌タンパクと同様に小胞体/ゴルジ体を経て細胞外に分泌される．しかし，IL-1βとIL-18は生物活性のない前駆体として合成され，インフラマソームと呼ばれる細胞内センサーにより活性化されたcaspase-1によって切断されることではじめて生物活性を有する成熟型となり，細胞外へ分泌される．インフラマソームは Nod-like receptor (NLR)（あるいはabsent in melanoma (AIM)-2 やpyrinの場合もある），アダプター分子（apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD；ASC）ならびにpro-caspase-1からなる細胞質内タンパク質複合体であり，病原体関連分子パターン（pathogen associated molecular patterns；PAMPs）や，宿主の異常時に産生・放出される自己成分（danger/damage associated molecular patterns；DAMPs）を認識することにより活性化され，pro-caspase-1を活性化型のcaspase-1に変換する[11-16]．これまでに，NLRP1，NLRP3，NLRC4，AIM2，pyrinの５種類のレセプタータンパクがインフラマソームを形成することが明らかにされている．さらに，まだ十分に特徴付けられた経路ではないが，NLRP6，NLRP7，NLRP12，retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)，interferon-γ (IFNγ)-inducible protein 16 (IFI16) が，caspase-1の活性化を誘導することが報告されている[17, 18]．

*S. sanguinis*によるNLRP3インフラマソーム活性化

NLRP3インフラマソームは最もよく研究され，多くの細菌や真菌やウイルスや原虫，細胞外ATP，孔形成毒素，RNA-DNAハイブリッド，結晶や粒子状物質（尿酸結晶，シリカ，アスベスト，アラムなど），など多種多様の刺激により活性化されることが知られている[15, 17]．そこで我々は，*S. sanguinis*がNLRP3インフラマソームを活性化してIL-1βの産生を誘導するかどうかを検証した．標的細胞はA/J マウス由来樹状細胞株であるXS-106細胞，さらに，C57BL/6 (B6)マウスあるいはcaspase-1，NLRP3ならびにASCノックアウトマウス（caspase-1-KO，NLRP3-KO，ASC-KO）から調製した骨髄細胞を，L929細胞培養上清存在下で分化誘導したマクロファージ（BMMs）を用いた．NLRP3特異的なsiRNAを安定発現するXS-106細胞を樹立し，*S. sanguinis*で刺激したところ，IL-1β産生量は野生型のXS-106細胞に比べて有意に低下した．さらに，*S. sanguinis*はB6由来のBMMsに対して強いIL-1β産生活性を示したが，caspase-1-KO，NLRP3-KOならびにASC-KO由来のBMMsに対しては殆ど活性を示さなかった．これらの結果から，*S. sanguinis*はマウス樹状細胞ならびにマウスマクロファージにおいてNLRP3インフラマソームを介してIL-1βの産生を誘導することが明らかになった．さらにそのメカニズムについて検証したところ，菌体の貪食に伴い細胞外へATPが放出され，ATPやADPのレセプター

であるP2XあるいはP2Yレセプターのシグナルが重要な役割を果たしていることが示唆された[19]．

ピロプトーシス

これまで細胞死は，形態学的特徴により，プログラムされた細胞死であるアポトーシスと病理的細胞死であるネクローシスに分類されてきた．近年，プログラムされた細胞死の中にもネクローシス様形態をとり，caspase-1依存的であり，IL-1β，IL-18などの炎症性サイトカインの放出を特徴とする，ピロプトーシスとよばれる細胞死の存在が明らかになった[20-23]．他の多くのサイトカインとは異なりIL-1β，IL-18はsignal peptideを持たず，小胞体/ゴルジ体経路によらない非典型的な経路で細胞外に分泌される[24, 25]．その一つの分泌メカニズムとして，ピロプトーシスにより細胞外へ放出されることが明らかになってきたことから，*S. sanguinis*による刺激でXS106細胞に細胞死が誘導されているかを検証した．*S. sanguinis*で刺激後，細胞外へのlactate dehydrogenaseの放出ならびに細胞をAnnexin-VとPropidium iodideで染色しフローサイトメーターで分析した結果，ネクローシス様の細胞死が誘導されていることがわかった．さらにcaspase-1 mRNAのサイレンシングにより，細胞死が有意に抑制された．以上のことから*S. sanguinis*はcaspase-1依存的なIL-1βの放出を伴ったネクローシス様細胞死であるピロトーシスを誘導した[19]．

お　わ　り　に

インフラマソームの制御メカニズムは近年明らかにされつつあるが，未だ不明な点も多い．今後，*S. sanguinis*がNLRP3インフラマソームを活性化してIL-1βの産生を誘導するより詳細な分子機構ならびに生体内での関与を明らかにすることで，本菌によるIEの病因論解明ならびに新たな予防法，治療法の開発につなげていきたい．

参　考　文　献

1) Douglas CW, Heath J, Hampton KK, Preston FE : Identity of viridans streptococci isolated from cases of infective endocarditis. Journal of medical microbiology. 39 : 179-182, 1993.
2) Di Filippo S, Delahaye F, Semiond B, Celard M, Henaine R, Ninet J, Sassolas F, Bozio A : Current patterns of infective endocarditis in congenital heart disease. Heart. 92 : 1490-1495, 2006.
3) Moreillon P, Que YA : Infective endocarditis. Lancet. 363 : 139-149, 2004.
4) Bashore TM, Cabell C, Fowler V, Jr. : Update on infective endocarditis. Current problems in cardiology. 31 : 274-352, 2006.
5) Camerer E, Kolsto AB, Prydz H : Cell biology of tissue factor, the principal initiator of blood coagulation. Thrombosis research. 81 : 1-41, 1996.
6) Veltrop MH, Beekhuizen H, Thompson J : Bacterial species- and strain-dependent induction of tissue factor in human vascular endothelial cells. Infection and immunity. 67 : 6130-6138, 1999.
7) Steffel J, Luscher TF, Tanner FC : Tissue factor in cardiovascular diseases : molecular mechanisms and clinical implications. Circulation. 113 : 722-731, 2006.
8) Hahn CL, Best AM, Tew JG : Rapid tissue factor induction by oral streptococci and monocyte-IL-1beta. Journal of dental research. 86 : 255-259, 2007.
9) Dinarello CA : Biologic basis for interleukin-1 in disease. Blood. 87 : 2095-2147, 1996.
10) Franchi L, Munoz-Planillo R, Nunez G : Sensing and reacting to microbes through the inflammasomes. Nature immunology. 13 : 325-332, 2012.
11) Mariathasan S, Monack DM : Inflammasome adaptors and sensors : intracellular regulators of infection and inflammation. Nature reviews Immunology. 7 : 31-40, 2007.
12) Martinon F, Mayor A, Tschopp J : The inflammasomes : guardians of the body. Annual review of immunology. 27 : 229-265, 2009.
13) Davis BK, Wen H, Ting JP : The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. Annual review of immunology. 29 : 707-735, 2011.
14) Lamkanfi M, Dixit VM : Inflammasomes and their roles in health and disease. Annual review of cell and developmental biology. 28 : 137-161, 2012.
15) Latz E, Xiao TS, Stutz A : Activation and regulation of the inflammasomes. Nature reviews Immunology. 13 : 397-411, 2013.
16) Lamkanfi M, Dixit VM : Mechanisms and functions of inflammasomes. Cell. 157 : 1013-1022, 2014.
17) Broz P, Dixit VM : Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. Nature reviews Immunology. 16 : 407-420, 2016.
18) de Torre-Minguela C, Mesa Del Castillo P, Pelegrin P : The NLRP3 and Pyrin Inflammasomes: Implications in the Pathophysiology of Autoinflammatory Diseases. Frontiers in immunology. 8 : 43, 2017.
19) Saeki A, Suzuki T, Hasebe A, Kamezaki R, Fujita M, Nakazawa F, Shibata KI : Activation of nucleotide-binding domain-like receptor containing protein 3 inflammasome in dendritic cells and macrophages by

Streptococcus sanguinis. Cellular microbiology. 19 : 2017.
20) Ting JP, Willingham SB, Bergstralh DT : NLRs at the intersection of cell death and immunity. Nature reviews Immunology. 8 : 372-379, 2008.
21) Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT : Pyroptosis: host cell death and inflammation. Nature reviews Microbiology. 7 : 99-109, 2009.
22) Lamkanfi M, Dixit VM : Manipulation of host cell death pathways during microbial infections. Cell host & microbe. 8 : 44-54, 2010.
23) Miao EA, Rajan JV, Aderem A : Caspase-1-induced pyroptotic cell death. Immunological reviews. 243 : 206-214, 2011.
24) Keller M, Ruegg A, Werner S, Beer HD : Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion. Cell. 132 : 818-831, 2008.
25) Giuliani AL, Sarti AC, Falzoni S, Di Virgilio F : The P2X7 Receptor-Interleukin-1 Liaison. Frontiers in pharmacology. 8 : 123, 2017.