

**【目的】**細胞死は従来「プログラムされた自然死」apoptosis と「破壊的な死」necrosis に分類されてきた。近年、細胞死の分子メカニズムの解明が進むことにより、プログラム細胞死には様々なタイプが存在することが明らかになりつつある。中でも pyroptosis は分子複合体インフラマソームの形成により生じる活性型 caspase-1 により誘導され、マクロファージからの IL-1 の分泌による炎症反応を伴うユニークな細胞死である。

本研究では NLRP3 インフラマソームに着目しマクロファージのプログラム細胞死の制御機序の解明を目指した。アクチン結合因子 gelsolin が NLRP3 の結合因子であることを見出し、本研究では gelsolin を軸とした解析を進めた。

**【方法】**マウス骨髄細胞よりマクロファージを分化誘導し、LPS で刺激した後に免疫沈降法と proximity ligation assay にて NLRP3 と gelsolin の結合を確認した。CRISPR/Cas9 によりマウスマクロファージ株 J774-1 細胞より *gelsolin* 遺伝子 (*Gsn*) のノックアウト細胞クローンを樹立した。LPS と nigericin の刺激によりこの細胞クローンの NLRP3 インフラマソームを活性化させた後に、apoptosis、インフラマソーム活性による caspase-1 の活性化さらに LDH による細胞死を評価した。

ミトコンドリアは NLRP3 インフラマソーム形成と共に apoptosis 起動の場である。そこでインフラマソーム活性時に gelsolin がミトコンドリアに結合するか否か、加えて *Gsn* 欠損により NLRP3 のミトコンドリアへの結合性が変化するか否かを共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

ミトコンドリア由来活性酸素種 (ROS) はプログラム細胞死の誘導因子として知られている。そこで *Gsn* 欠損が NLRP3 インフラマソーム誘導時の ROS 産生に影響を与えるか否か、MitoSOX で細胞をラベルしフローサイトメーターで ROS 産生を評価した。

**【結果】**マクロファージでは LPS 刺激により NLRP3 の発現が誘導されることが知られている。免疫沈降法と proximity ligation assay いずれにおいても NLRP3 と gelsolin の結合が認められた。即ち、インフラマソーム形成前には NLRP3 は gelsolin と結合して存在することが明らかとなった。

また *Gsn* 欠損 J774-1 細胞では LPS / nigericin 刺激に対してより強い caspase-1 と caspase-3 の活性化、IL-1 の産生、更にはより多くの細胞死と ROS 産生が見出されたことから、gelsolin は pyroptosis と apoptosis の 2 種類のプログラム細胞死を制御していることが見出された。NLRP3 インフラマソーム活性化刺激は gelsolin のミトコンドリアへの結合を誘導し、*Gsn* 欠損により NLRP3 のミトコンドリアへの結合がより強く観察されたことから、インフラマソーム形成時において gelsolin はミトコンドリアに結合することにより、NLRP3 インフラマソーム形成 (pyroptosis 誘導と IL-1 産生) と apoptosis 誘導を共制御していることが示唆された。

Gelsolin は NLRP3 インフラマソーム形成と apoptosis 誘導を共制御する

