

綜 説

Nod 蛋白質と関連疾患 —その病態と分子メカニズム—

増本純也* 細田和貴 佐野健司
信州大学医学部附属病院臨床検査部

The Nod Proteins and Related Disorders —The Molecular Mechanism and Pathology—

Junya MASUMOTO, Waki HOSODA and Kenji SANO
Department of Laboratory Medicine, Shinshu University Hospital

Key words: innate immunity, nucleotide-binding oligomerization domain proteins, pattern recognition receptor, autoinflammatory syndrome

自然免疫, ヌクレオチド結合性多量体化ドメイン蛋白質, パターン認識受容体, 自己炎症性症候群

I はじめに

生物には、抗原特異的な免疫応答を司る獲得免疫系以外に、抗原非特異的な初期免疫応答を司る自然免疫系と呼ばれる機構が存在する。細胞表面での Toll-like receptor (TLR) がショウジョウバエの真菌に対する生体防御を担う分子として報告されたのを皮切りに、哺乳類でも自然免疫系のシグナル伝達に関与する分子が次々と発見されてきた。細胞内ではNODファミリー蛋白質 (Nucleotide-binding oligomerization domain proteins: NODs) と呼ばれる一連の分子群が、病原体に対するセンサーとして働いていると言われている。これらの分子の発見は、原因不明とされてきた疾患に解明の糸口を与えた。なかでも最近提唱されている自己炎症性疾患が、NODs のシグナル伝達系の異常によることが報告されたことで、急速にその発症メカニズムが明らかにされつつある。本稿では特に最近注目されている NODs に焦点を当て、その機能と疾患との関わりについて概説する。

II NODs の構造

NODs は基本骨格にヌクレオチド結合性多量体化ドメイン (Nucleotide-binding oligomerization domain:

Nod) を持ち、一部の細菌から動植物までよく保存された蛋白質ファミリーである。NODs は主として3つのドメインからなる。すなわち、アミノ末端に下流分子と結合するエフェクタードメイン、中央に Nod、カルボキシ末端に病原体を認識するためのセンサードメインを持つ (図1)¹⁾。NODs は近接活性化という共通の分子機構で下流分子の活性化を制御している²⁾。

III NODs のシグナル伝達経路

NODs は特定の病原体関連分子パターン (Pathogen-associated molecular patterns: PAMPs) を認識し、結合した下流実行分子を近接活性化させるというパターン認識受容体 (Pattern-recognition receptors: PRRs) として機能する。いくつかの NODs で、シグナル伝達経路が明らかにされてきた。例えば、細胞内因性アポトーシスで中心的な役割を果たす apoptotic protease activating factor 1 (Apaf-1) は、センサードメインの WD40Rs によってミトコンドリアからのチトクロム c を認識し、多量体化、エフェクタードメインであるカスパーゼリクルートメントドメイン (Caspase recruitment domain: CARD) で caspase-9 と結合、近接活性化する³⁾。同じくエフェクタードメインとして CARD を持つ、Nod1 や Nod2 では、センサードメインであるロイシンリッチリピート (Leucine rich repeat: LRR) がグラム陰性細菌ペ

*別刷請求先: 増本 純也 〒390-8621

松本市旭3-1-1 信州大学医学部附属病院臨床検査部

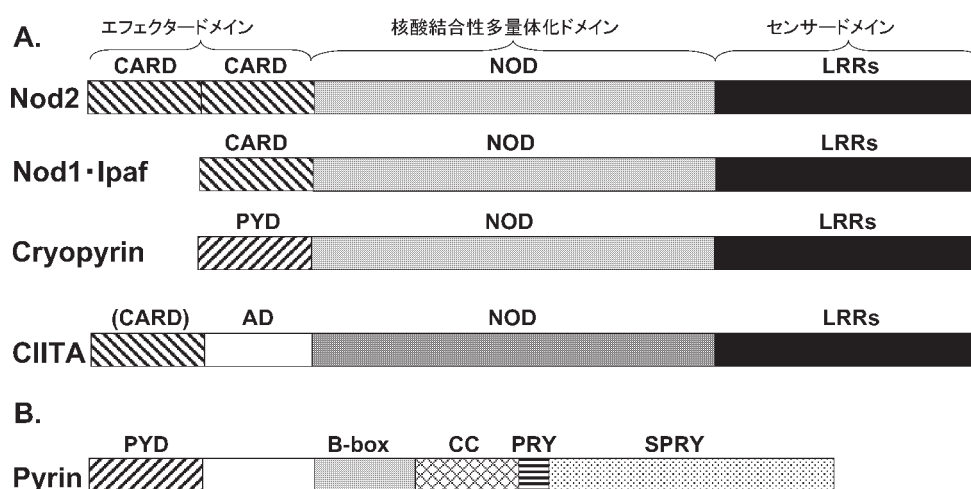


図1 NODsの基本構造

代表的な NODs の構造を示す。NOD は基本骨格として、アミノ末端側にエフェクタードメイン、中央にヌクレオチド結合性多量体化ドメイン、カルボキシ末端側に病原体認識に関わるセンサードメインをもつ。Nod2 はアミノ末端側に 2 つの CARD、中央に Nod、カルボキシ末端側に LRR を持つ。Nod1, Ipaf はアミノ末端側に 1 つの CARD、中央に Nod、カルボキシ末端側に LRR を持つ。Cryopyrin はアミノ末端側に PYD、中央に Nod、カルボキシ末端側に LRR を持つ。CIITA は、アミノ末端にスレオニン/プロリンリッチな AD、中央に NOD、カルボキシ末端側に LRR を持ち、樹状細胞でのみアミノ末端に CARD を持つ。

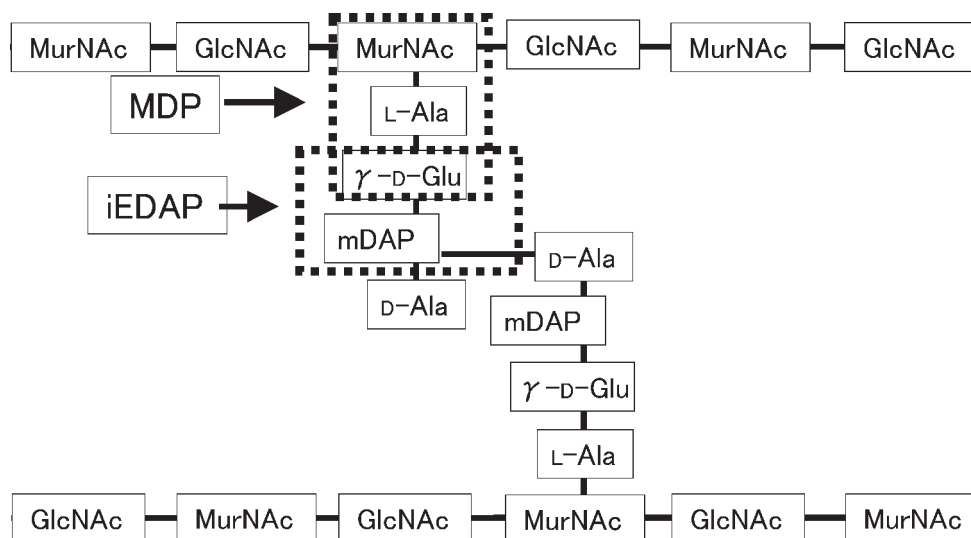


図2 Nod1, Nod2 の認識するグラム陰性菌ペプチドグリカンの構造

ペプチドグリカンは N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) と N-アセチルムラミン酸 (MurNAc) からなる単位二糖が β 1 \rightarrow 4 結合でつながったグルカン鎖とその間を架橋するペプチドからなる。ペプチド部分の最初の 2 アミノ酸残基と MurNAc をあわせた部分をムラミルジペプチド (MDP) と呼び、Nod2 による認識のコアとなる。これに対して、Nod1 は iEDAP という 2 アミノ酸残基を認識する。

ペプチドグリカンの特定の成分を認識する。Nod1 が D-glutamyl-*meso*-diaminopimelic acid (iEDAP) を、Nod2 が Muramyl dipeptide (MDP) をそれぞれ認識する (図 2)⁴⁾⁻⁷⁾ と、Apaf-1 と同様の機構で多量体化、CARD により、下流分子 RICK と結合する¹⁾。RICK は下流の IKK 複合体を近接活性化させ²⁾、NF- κ B の阻害分子 I- κ B をリン酸化してユビキチン化による分解へと導き、遊離された NF- κ B は核に移行して、

炎症反応を惹起するための転写を開始する (図 3)⁸⁾。エフェクタードメインとして CARD の垂系ドメインであるパイリンドメイン (PYD) を持つ cryopyrin は、PYD により、下流分子 apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC) と結合する⁹⁾¹⁰⁾。ASC は PYD と CARD を持つアダプター分子で¹¹⁾、CARD により procaspase-1 と結合し近接活性化させ、最終的に IL-1 β の産生を促す¹²⁾⁻¹⁵⁾。

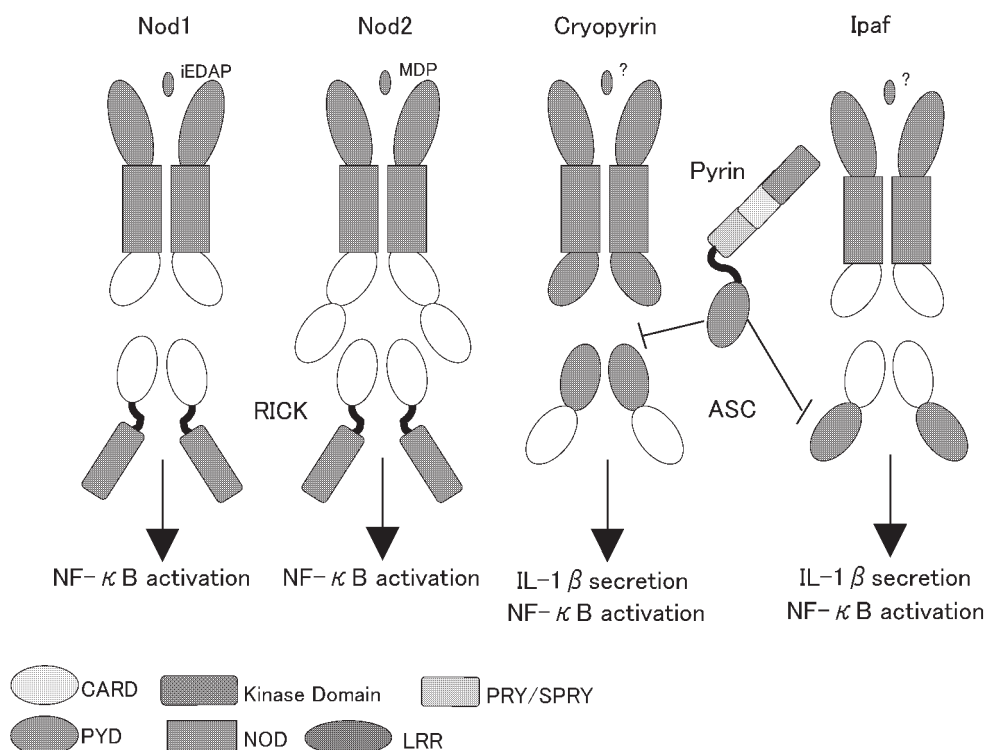


図3 NODsによる近接活性化モデル

Nod1, Nod2は、リゾチームなどの分解酵素で分解されたペプチドグリカン分解物を認識する。Nod1がiEDAP, Nod2がMDPをLRRでそれぞれ認識すると自己多量体化しRICKを介して、IKK複合体を作る。するとNF-κBを抑制していたI-κBがリン酸化分解され、NF-κBが活性化される(図中詳細省略)。Cryopyrin, Ipafも同様の機構で自己多量体化するとASCと結合する。ASCはCARDによりprocaspase 1(IL-1β変換酵素)を近接活性化し、IL-1βの産生を促す(図中詳細省略)。NF-κBの活性化も同時に引き起こされる。ゼブラフィッシュASCもPYDにより炎症性カスパーゼCaspase 1の活性化を促す⁴⁸⁾。ASCとIpafのノックアウトマウスでは、サルモネラ菌に応答したカスパーゼ1の活性化およびIL-1βの産生が起らなくなることが示されていることから⁴⁹⁾、cryopyrin, Ipafも何らかの細菌成分をリガンドとして認識している可能性が高い。

表1 ヒトNOD蛋白質

蛋白質名	別名	染色体位置	ED	SD	下流分子	リガンド	生理機能	疾患名
Apaf-1		12q23	CARD	WD40Rs	Caspase9	チトクロームc	カスパーゼ活性化	
Nod1	CARD4	7p14	CARD	LRRs	RICK	iEDAP	NF-κB活性化	
Nod2	CARD15,IBD1	16q12	CARD×2	LRRs	RICK	MDP	NF-κB活性化	Crohn病,Blau症候群
Ipaf	CARD12,CLAN	2p22	CARD	LRRs	ASC,Caspase1		カスパーゼ活性化	
Cryopyrin	NALP3,PYPAF1,CIAS1	1q44	PYD	LRRs	ASC	LPS?	カスパーゼ活性化	FCU,NWS,CINCA
NALP2	PYPAF2	19q13	PYD	LRRs	ASC			
NOD12	PYPAF3,NALP7	19q13	PYD	LRRs				
PAN2	PYPAF4,NALP4	19q13	PYD	LRRs				
PYPAF5	NALP6	11p15	PYD	LRRs	ASC		NF-κB活性化	
NOD17	PYPAF6,NALP11	19q13	PYD	LRRs				
PYPAF7	Monach1,NALP12	1219q13	PYD	LRRs	ASC		NF-κB活性化,MHC-I発現	
Mater	PYPAF8,NALP5	19q13	PYD	LRRs				
NOD16	NALP8	19q13	PYD	LRRs				
NOD6	NALP9	19q13	PYD	LRRs				
NOD8	NALP10	11p15	PYD	None				
NOD14	NALP13	19q13	PYD	LRRs				
NOD5	NALP14	11p15	PYD	LRRs				
NOD27		19q13	PYD	LRRs				
NAC	DEFCAP,NALP1,CARD7	17p13	PYD	LRRs	ASC,Caspase-4,5		カスパーゼ活性化	
CHITA		16p13	AD	LRRs	RFX5,CBF,NF-Y,CREB		MHC-II発現	BLSII
NAIP		5q13	BIR×3	LRRs				
NOD3		16p13	χ	LRRs				
NOD9		11q23	χ	LRRs				

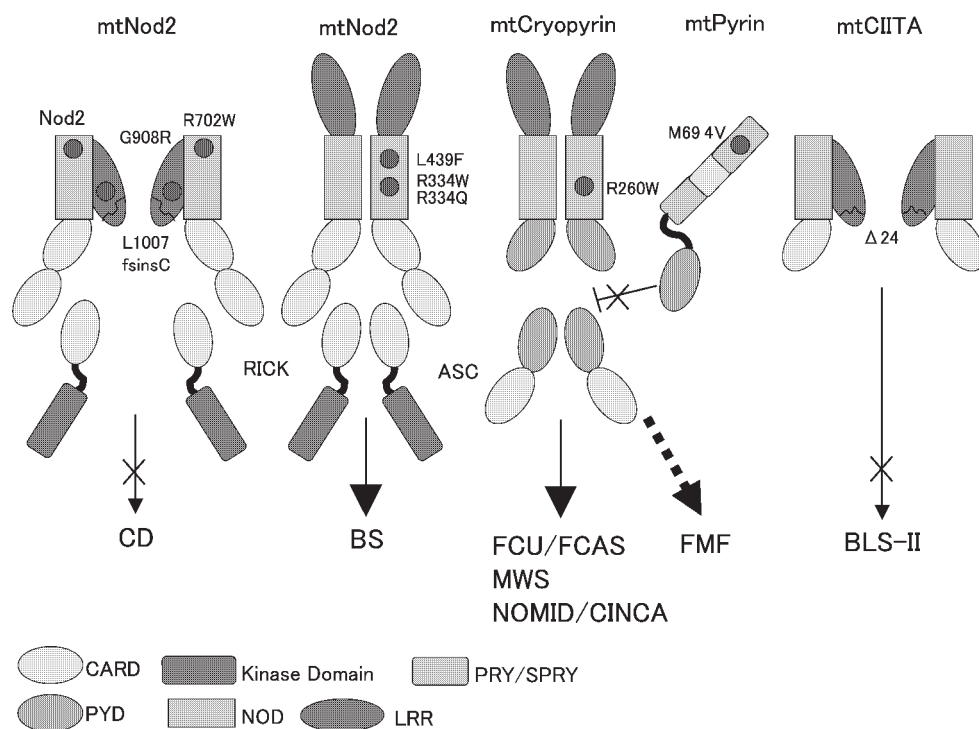


図4 NODs 関連疾患の分子メカニズム

Nod2の多型のうち Crohn 病と関連する主要3多型 R702W, G908R, L1007fsinsC (●) Blau 症候群で認められる多型 R334W, R334Q, L439F (●) を示した。Crohn 病では Nod2 の LRR 部位 (あるいは近く) に多型があり、細菌ペプチドグリカン構成する MDP に応答できない。そのため、Nod2-RICK 系以外のシグナル伝達系が不適切に活性化され、Crohn 病を発症すると考えられる。Blau 症候群では、Nod に多型がある。この多型を持つ Nod2 はリガンドの有無にかかわらず、持続的活性化型で、慢性炎症を引き起こす。FCU/FCAS, MWS, NOMID/CINCA では、cryopyrin の NOD に多数の多型が認められ、いずれも持続的活性化型変異である。変異 cryopyrin (例: R260W (●)) は ASC を介して持続的に炎症を引き起こすシグナルを送り続ける。FMF では、Pyrin に変異があり (例: M694V (●)), cryopyrin と ASC の相互作用を阻害できない。このため惹起された炎症が遷延する。BLS II では変異 CIITA によって細菌成分に反応できない。そのため MHC クラス II の発現シグナルが弱くなるか消失する。

このとき IL-1 β の産生とは独立に NF- κ B の活性化も認められた⁹⁾¹⁰⁾。家族性地中海熱の責任遺伝子 *MEFV* の転写産物である pyrin は cryopyrin と ASC の PYD による結合を競合的に阻害することで、これらの炎症性シグナル伝達を阻害している¹⁰⁾。エフェクタードメインに CARD を持つ Ipaf は、ASC の CARD に結合し、cryopyrin と同様に NF- κ B の活性化と IL-1 β の分泌を促している¹⁶⁾。この Ipaf による炎症性シグナルも pyrin によって阻害される¹⁷⁾。樹状細胞に発現する NODs である CIITA は転写開始点のスイッチングによりエフェクタードメインの CARD をアミノ末端に持つ。この CARD と下流のセリン/プロリンリッチ部位 (Activating domain: AD) を介して主要組織適合抗原クラス II 複合体 (MHC-II) 遺伝子群の発現を制御する。CIITA は DNA に直接結合せず、DNA に結合した複数の転写調節因子を近接活性化することでその活性を調節する¹⁸⁾。このように、NODs においては、多量体化という共通の分子機構

を使って下流分子の近接活性化を促している。現在ヒトでは23種類の NODs が発現しており (表1)¹⁾。それらの認識する PAMPs や疾患との関わりが注目されている。

IV NODs と疾患との関わり

A Nod2 と Crohn 病・Blau 症候群

Crohn 病は回腸末端部を主病変部位とする炎症性腸疾患である。Crohn 病の原因としてサイトカインの異常や腸内細菌叢の異常等が疑われていたが、その病態メカニズムは不明のままであった。連鎖解析によって、Crohn 病と最も関連する分子は遺伝子座16q13 の *IBD1* のコードする Nod2 で、Nod2 の変異が Crohn 病の患やすさと強い関連を示すと同時に、変異 Nod2 は MDP による NF- κ B を活性化できないことが明らかになった¹⁹⁾⁻²²⁾ (図4)。Nod2 は、Nod1 との相同性を指標に見出された NODs の1つである (図1)。特に頻度の高い3つの *NOD2* 遺伝子読み枠内の多型

(L1007fsinsC, G908R, R702W) が最初に同定された。その後、欧米人の25-50%の患者が *NOD2* 多型を少なくとも1つの対立遺伝子に持つことがわかった²⁰⁾²³⁾⁻²⁷⁾。*NOD2* 多型が1つある場合と対立遺伝子座にもこれらの変異が1つ以上ある場合を比較すると、対照群に較べて Crohn 病発症率が約2倍、約20-50倍、それぞれ高くなる¹⁹⁾²⁰⁾²³⁾⁻²⁵⁾。さらに詳しい統計解析から、前述の *NOD2* の主要3多型を持つ Crohn 病患者は、回腸主病変型で、対照群と比べ若年で発症する傾向にあり、重症化しやすいことがわかった²³⁾⁻²⁵⁾。一方で、この *NOD2* 多型は結腸・肛門病変、関節炎や喫煙との関連ははっきりしない²⁴⁾⁻²⁷⁾。これらのことは Nod2 の機能欠損が回腸末端部の働きに影響を与えることを示唆している。

NOD2 と Crohn 病との関連が注目される一方で、Blau 症候群との関連も報告された。この Blau 症候群の原因遺伝子座は連鎖解析によって16p12-q21にマッピングされ²⁸⁾²⁹⁾、その遺伝子も *NOD2* であることが明らかになった³⁰⁾。Blau 症候群では Nod2 の Nod の位置に (R334Q, R334W and L469F) のミスセンス変異が起きている³⁰⁾。HEK293T 細胞でこれらの変異 Nod2 を強制発現系させると、NF- κ B の持続的な活性化が見られた²¹⁾²²⁾(図4)。Blau 症候群の Nod2 変異は Nod にのみ限局しており、これは Crohn 病患者の Nod2 変異が LRR とその近傍に集中していることと対照的である。最近本邦信州大学眼科学 Kurokawa ら³¹⁾から症例報告があり、提示された症例すべてに R334W の変異が認められた。本邦での報告が出たことにより、今後本邦での診断例が増える可能性がある。乾癬性関節炎 (Psoriatic arthritis: PsA) は乾癬 (Psoriasis) に伴って発症する関節炎で乾癬患者の1/3に発症すると言われる。PsA の患者にも Nod2 の Crohn 病型変異である R702W, L1007fsinsC, and G908R の多型が優位に高いと報告された³²⁾。一方で、乾癬とは関係しないという報告もある³³⁾³⁴⁾。

B Cryopyrin と家族性寒冷蕁麻疹・Muckle-Wells 症候群・NOMID/CINCA 症候群

家族性寒冷蕁麻疹 (Familial cold urticaria: FCU) は正式名 (Familial cold autoinflammatory syndrome: FCAS) と呼ばれる全身性炎症性疾患である。寒冷曝露後の発疹、関節痛、発熱、結膜炎を特徴とする。Muckle-Wells syndrome (MWS) は、FCU とほぼ同様の臨床症状を示すが、寒冷曝露を必ずしも必要としない。また、時にⅧ神経麻痺による聴力の低下を伴

う。連鎖解析とポジショナルクローニングによってこれら2つの良く似た臨床症状を示す疾患は染色体1q44に存在する *CIAS1* 遺伝子産物 cryopyrin の変異によることが明らかになった³⁵⁾⁻³⁷⁾。NOMID/CINCA (Neonatal onset multisystem inflammatory disease/Chronic infantile neurologic cutaneous and articular syndrome) 症候群は、生後すぐ発症する蕁麻疹様の発疹と発熱を特徴とし、多発性の炎症性変化を示す。眼症状ではぶどう膜炎、乳頭浮腫に伴う視野狭窄、骨遠位端の過形成、慢性無菌性髄膜炎および肝脾腫を伴う。NOMID/CINCA 症候群も *CIAS1* の変異であることが示された³⁸⁾。*CIAS1* の遺伝子産物 cryopyrin はカルボキシ末端に PYD を持つ NODs である (図1)。上記3つの遺伝子変異は多様性があるが、すべて Nod の部分に集中している。これらの変異 cryopyrin を HEK293T 細胞に ASC とともに発現させると、持続的に ASC と相互作用すると同時に NF- κ B の活性化が認められた (図4)。我々は単球系の細胞株である THP-1 を使った実験で強制的な近接による ASC との結合が caspase-1 の活性化を促し、IL-1 β の持続的産生を引き起こすことを明らかにした¹⁴⁾。実際 *CIAS1* に変異を持つ患者のマクロファージは、無刺激の状態でも LPS 刺激時と同様の IL-1 β の分泌を示すと同時に、RNA レベルで IL-3, 5, 6 の上昇、慢性的な血中 CRP の上昇や ESR の延長所見を示した¹⁵⁾³⁹⁾。

C Pyrin と家族性地中海熱

Pyrin は NODs ではないが、NODs のシグナル伝達経路を阻害する分子で、その変異が、家族性地中海熱 (familial Mediterranean fever: FMF) と関連している。FMF は、劣性遺伝性の自己炎症性疾患で、間欠熱、漿膜炎、関節炎、発疹を特徴とする。詳細な連鎖解析によってその原因遺伝子は染色体16p13の *MEFV* と同定され、その遺伝子産物は Pyrin (marinostrin) と命名された⁴⁰⁾⁴¹⁾。Pyrin のカルボキシ末端側は SSB/Ro などの核抗原にも含まれる核マトリクス関連 DNA 結合性蛋白質の Ro/RET finger 蛋白質ファミリーと相同である⁴²⁾。Pyrin はこのカルボキシ末端側に PRY-SPRY ドメイン、中央に B-Box-coiled-coil モチーフを持ち、アミノ末端側に PYD を持つ。Pyrin の主要な5つの変異 (M694V, V726A, M680I, M694I, E148Q) のうち E148Q をのぞく4つは PRY-SPRY ドメインに集中しているが、PRY-SPRY ドメインの機能はいまだ不明のままである。

もう1つの変異 E148Q は *MEFV* の第2エクソンにありマイナー変異を含めてもこれら2つの部位に変異は集中している⁴³⁾。Pyrin は cryopyrin や Caspase-8 と ASC の結合を競合的に阻害することで炎症性シグナルを制御している¹⁰⁾¹⁷⁾。Pyrin のノックアウトマウスのマクロファージは、LPS 刺激に対する Caspase-1 の活性化が顕著で、IL-1 β の分泌が亢進していた⁴⁴⁾。したがって FMF におけるこれらの変異は機能的欠損と考えられる。最近本邦でも初めて家族性地中海熱の症例報告が信州大学小児科 Shinozaki ら⁴⁵⁾からあり、いずれも M694I 変異であった。本邦での最初の診断例が報告されたことにより、Blau 症候群同様、本邦での診断例が増えることが予想される。また、FMF の患者は、血管炎、ベーチェット病、炎症性腸疾患、を発症しやすいという報告があり⁴³⁾、これらの炎症性疾患に共通の分子メカニズムが潜んでいるものと考えられる。

D CIITA とヒト組織適合抗原クラスII欠損症

樹状細胞でのみエフェクタードメインとしてアミノ末端側に CARD を持つ CIITA は、DNA 非結合型の転写活性化調節分子で、文字通り免疫応答における抗原提示に関与する MHC-II 遺伝子の発現を制御する。DNA に直接に結合せずに、MHC プロモーター結合分子 CBP, RFX5, NF- κ B, CREB に結合することで転写制御に関わる。CIITA はグアノシン三リン酸 (GTP) 結合タンパク質であり、GTP 結合がタンパク質の転写活性に直接的な効果を与える。GTP 結合を減少するような、CIITA における変異は、転写活性化能を減少させるため、ヘルパーT細胞に対する抗原提示能が低下し、免疫不全症を発症する¹⁸⁾。CIITA のノックアウトマウスはほぼ同様の免疫不全症を発症した⁴⁶⁾。

V おわりに

原因不明とされてきた自己炎症性疾患の原因が、分子レベルで明らかにされたことで、各疾患に対する治療法は様変わりすることになるだろう。これまでは、ステロイド剤や NSAID などの非特異的免疫抑制剤による対症療法によらざるを得なかった治療が、これらの NODs を標的とした疾患特異的な治療に代わることが期待される。NODs の機能欠損に起因する疾患であれば、正常な遺伝子を補充するという遺伝子治療を選択することもできるだろう。実際 Tumor necrosis factor α (TNF α) や Interleukin-1 (IL-1) を標的とした治療が効果をあげている現状⁴⁷⁾を鑑み、NODs のそれぞれが関与する疾患の分子メカニズムが明らかにされることによって、将来疾患特異的な治療法を選択することが可能になるとと思われる。蛇足ではあるが、家族性地中海熱、Blau 症候群には de novo 変異は報告されていない。前述したようにこの2つの疾患が信州大学から相次いで報告されたことは、長野県に欧州の血が脈々と受け継がれていることを示しているのかも知れない。

VI 謝 辞

本稿での知見の一部は、財団法人臨床病理学国際交流基金および財団法人持田記念医学薬学振興財団からの助成によりました。また、知見の一部は信州大学大学院医学研究科加齢適応分子腫瘍学谷口俊一郎教授、相良淳二助教授、臨床検査医学勝山 努教授、病理学中山 淳教授、ミシガン大学医学部病理学 Gabriel Núñez 教授、Deborah L. Gumucio 教授、猪原直弘主任研究員らの御指導の下で行われたものであり、ここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) Inohara N, Núñez G: NODs: intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis. *Nat Rev Immunol* 3: 371-382, 2003
- 2) Inohara N, Koseki T, Lin J, del Peso L, Lucas PC, Chen FF, Ogura Y, Núñez G: An induced proximity model for NF- κ B activation in the Nod1/RICK and RIP signaling pathways. *J Biol Chem* 275: 27823-27831, 2000
- 3) Zou H, Li Y, Liu X, Wang X: An APAF-1, cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9. *J Biol Chem* 274: 11549-11556, 1999
- 4) Girardin SE, Boneca IG, Carneiro LA, Antignac A, Jehanno M, Viala J, Tedin K, Taha MK, Labigne A, Zähringer U, Coyle AJ, DiStefano PS, Bertin J, Sansonetti PJ, Philpott DJ: Nod1 detects a unique muropeptide from gram-negative bacterial peptidoglycan. *Science* 300: 1584-1587, 2003
- 5) Chamailard M, Hashimoto M, Horie Y, Masumoto J, Qiu S, Saab L, Ogura Y, Kawasaki A, Fukase K, Kusumoto

- S, Valvano MA, Foster SJ, Mak TW, Núñez G, Inohara N: An essential role for NOD1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid. *Nat Immunol* 4: 702-707, 2003
- 6) Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, Fukase K, Inamura S, Kusumoto S, Hashimoto M, Foster SJ, Moran AP, Fernandez-Luna JL, Núñez G: Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem* 278: 5509-5512, 2003
 - 7) Girardin SE, Boneca IG, Viala J, Chamaillard M, Labigne A, Thomas G, Philpott DJ, Sansonetti PJ: Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J Biol Chem* 278: 8869-8872, 2003
 - 8) Karin M, Ben-Neriah Y: Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF- κ B activity. *Annu Rev Immunol* 18: 621-663, 2000
 - 9) Manji GA, Wang L, Geddes BJ, Brown M, Merriam S, Al-Garawi A, Mak S, Lora JM, Briskin M, Jurman M, Cao J, DiStefano PS, Bertin J: PYPAF1, a PYRIN-containing Apaf1-like protein that assembles with ASC and regulates activation of NF- κ B. *J Biol Chem* 277: 11570-11575, 2002
 - 10) Dowds TA, Masumoto J, Chen FF, Ogura Y, Inohara N, Núñez G: Regulation of cryopyrin/Pypaf1 signaling by pyrin, the familial Mediterranean fever gene product. *Biochem Biophys Res Commun* 302: 575-580, 2003
 - 11) 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: 33835-33838, 1999
 - 12) Srinivasula SM, Poyet JL, Razmara M, Datta P, Zhang Z, Alnemri ES: The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *J Biol Chem* 277: 21119-21122, 2002
 - 13) Martinon F, Burns K, Tschopp J: The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cells* 10: 417-426, 2002
 - 14) Dowds TA, Masumoto J, Zhu L, Inohara N, Núñez G: Cryopyrin induced IL-1 β secretion in monocytic cells: Enhanced activity of disease-associated mutants and requirement for ASC. *J Biol Chem* 279: 21924-21928, 2004
 - 15) Agostini L, Martinon F, Burns K, McDermott MF, Hawkins PN, Tschopp J: NALP3 forms an IL-1 β -processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder. *Immunity* 20: 319-325, 2004
 - 16) Poyet JL, Srinivasula SM, Tnani M, Razmara M, Fernandes-Alnemri T, Alnemri ES: Identification of Ipaf, a human caspase-1-activating protein related to Apaf-1. *J Biol Chem* 276: 28309-28313, 2001
 - 17) Masumoto J, Dowds TA, Schaner P, Chen FF, Ogura Y, Li M, Zhu L, Katsuyama T, Sagara J, Taniguchi S, Gumucio DL, Núñez G, Inohara N: ASC is an activating adaptor for NF- κ B and caspase-8-dependent apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 303: 69-73, 2003
 - 18) Steimle V, Otten LA, Zufferey M, Mach B: Complementation cloning of an MHC class II transactivator mutated in hereditary MHC class II deficiency (or bare lymphocyte syndrome). *Cell* 75: 135, 1993
 - 19) Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G: Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411: 599-603, 2001
 - 20) Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Núñez G, Cho JH: A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411: 603-606, 2001
 - 21) Chamaillard M, Philpott D, Girardin SE, Zouali H, Lesage S, Chareyre F, Bui TH, Giovannini M, Zaehring U, Penard-Lacronique V, Sansonetti PJ, Hugot JP, Thomas G: Gene-environment interaction modulated by allelic heterogeneity in inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 3455-3460, 2003
 - 22) Tanabe T, Chamaillard M, Ogura Y, Zhu L, Qiu S, Masumoto J, Ghosh P, Moran A, Predergast MM, Tromp G, Williams CJ, Inohara N, Núñez G: Regulatory regions and critical residues of NOD2 involved in muramyl dipeptide recognition. *EMBO J* 23: 1587-1597, 2004
 - 23) Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJ, Mirza MM, Mascheretti S, Fisher S, Frenzel H, King K, Hasselmeyer A, MacPherson AJ, Bridger S, van Deventer S, Forbes A, Nikolaus S, Lennard-Jones JE, Foelsch UR, Krawczak M,

- Lewis C, Schreiber S, Mathew CG : Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *Lancet* 357 : 1925-1928, 2002
- 24) Hampe J, Grebe J, Nikolaus S, Solberg C, Croucher PJ, Mascheretti S, Jahnsen J, Moum B, Klump B, Krawczak M, Mirza MM, Foelsch UR, Vatn M, Schreiber S : Association of NOD2 (CARD 15) genotype with clinical course of Crohn's disease : a cohort study. *Lancet* 359 : 1661-1665, 2002
- 25) Vermeire S, Wild G, Kocher K, Cousineau J, Dufresne L, Bitton A, Langelier D, Pare P, Lapointe G, Cohen A, Daly MJ, Rioux JD : CARD15 genetic variation in a quebec population : prevalence, genotype-phenotype relationship, and haplotype structure. *Am J Hum Genet* 71 : 74-83, 2002
- 26) Ahmad T, Armuzzi A, Bunce M, Mulcahy-Hawes K, Marshall SE, Orchard TR, Crawshaw J, Large O, de Silva A, Cook JT, Barnardo M, Cullen S, Welsh KI, Jewell DP : The molecular classification of the clinical manifestations of Crohn's disease. *Gastroenterology* 122 : 854-866, 2002
- 27) Cuthbert AP, Fisher SA, Mirza MM, King K, Hampe J, Croucher PJ, Mascheretti S, Sanderson J, Forbes A, Mansfield J, Schreiber S, Lewis CM, Mathew CG : The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. The molecular classification of the clinical manifestations of Crohn's disease. *Gastroenterology* 122 : 867-874, 2002
- 28) Tromp G, Kuivaniemi H, Raphael S, Ala-Kokko L, Christiano A, Considine E, Dhulipala R, Hyland J, Jokinen A, Kivirikko S, Korn R, Madhatheri S, McCarron S, Pulkkinen L, Punnett H, Shimoya K, Spotila L, Tate A, Williams CJ : Genetic linkage of familial granulomatous inflammatory arthritis, skin rash, and uveitis to chromosome 16. *Am J Hum Genet* 59 : 1097-1107, 1996
- 29) Wang X, Kuivaniemi H, Bonavita G, Williams CJ, Tromp G : High-resolution physical map for chromosome 16q12.1-q13, the Blau syndrome locus. *BMC Genomics* 3 : 24, 2002
- 30) Miceli-Richard C, Lesage S, Rybojad M, Prieur AM, Manouvrier-Hanu S, Hafner R, Chamaillard M, Zouali H, Thomas G, Hugot JP : CARD15 mutations in Blau syndrome. *Nat Genet* 29 : 19-20, 2001
- 31) Kurokawa T, Kikuchi T, Ohta K, Imai H, Yoshimura N : Ocular manifestations in Blau syndrome associated with a CARD15/Nod2 mutation. *Ophthalmology* 110 : 2040-2044, 2003
- 32) Rahman P, Bartlett S, Siannis F, Pellett FJ, Farewell VT, Peddle L, Schentag CT, Alderdice CA, Hamilton S, Khraishi M, Tobin Y, Hefferton D, Gladman DD : CARD15 : a pleiotropic autoimmune gene that confers susceptibility to psoriatic arthritis. *Am J Hum Genet* 73 : 677-681, 2003
- 33) Borgiani P, Vallo L, D'Apice MR, Giardina E, Pucci S, Capon F, Nistico S, Chimenti S, Pallone F, Novelli G : Exclusion of CARD15/NOD2 as a candidate susceptibility gene to psoriasis in the Italian population. *Eur J Dermatol* 12 : 540-542, 2002
- 34) Nair RP, Stuart P, Ogura Y, Inohara N, Chia NV, Young L, Henseler T, Jenisch S, Christophers E, Voorhees JJ, Núñez G, Elder JT : Lack of association between NOD2 3020InsC frameshift mutation and psoriasis. *J Invest Dermatol* 117 : 1671-1672, 2001
- 35) Dode C, Le Du N, Cuisset L, Letourneur F, Berthelot JM, Vaudour G, Meyrier A, Watts RA, Scott DG, Nicholls A, Granel B, Frances C, Garcier F, Edery P, Boulinguez S, Domergues JP, Delpech M, Grateau G : New mutations of CIAS1 that are responsible for Muckle-Wells syndrome and familial cold urticaria : a novel mutation underlies both syndromes. *Am J Hum Genet* 70 : 1498-1506, 2002
- 36) Hoffman HM, Mueller JL, Broide DH, Wanderer AA, Kolodner RD : Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. *Nat Genet* 29 : 301-305, 2001
- 37) Hoffman HM, Gregory SG, Mueller JL, Treserras M, Broide DH, Wanderer AA, Kolodner RD : Fine structure mapping of CIAS1 : identification of an ancestral haplotype and a common FCAS mutation, L353P. *Hum Genet* 112 : 209-216, 2003
- 38) Feldmann J, Prieur AM, Quartier P, Berquin P, Certain S, Cortis E, Teillac-Hamel D, Fischer A, de Saint Basile G : Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome is caused by mutations in CIAS1, a gene highly expressed in polymorphonuclear cells and chondrocytes. *Am J Hum Genet* 71 : 198-203, 2002 (Note : Erratum : *Am*

- J Hum Genet 71 : 1258, 2002)
- 39) Aksentijevich I, Nowak M, Mallah M, Chae JJ, Watford WT, Hofmann SR, Stein L, Russo R, Goldsmith D, Dent P, Rosenberg HF, Austin F, Remmers EF, Balow JE Jr, Rosenzweig S, Komarow H, Shoham NG, Wood G, Jones J, Mangra N, Carrero H, Adams BS, Moore TL, Schikler K, Hoffman H, Lovell DJ, Lipnick R, Barron K, O'Shea JJ, Kastner DL, Goldbach-Mansky R: de novo cias1 mutations, cytokine activation, and evidence for genetic heterogeneity in patients with neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID) a new member of the expanding family of pyrin-associated autoinflammatory diseases. *Arthritis Rheum* 46 : 3340-3348, 2002
 - 40) The International FMF Consortium : Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell* 90 : 797-807, 1997
 - 41) The French FMF Consortium : A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* 17 : 25-31, 1997
 - 42) Isomura T, Tamiya-Koizumi K, Suzuki M, Yoshida S, Taniguchi M, Matsuyama M, Ishigaki T, Sakuma S, Takahashi M : RFP is a DNA binding protein associated with the nuclear matrix. *Nucleic Acids Res* 20 : 5305-5310, 1992
 - 43) Hull KM, Shoham N, Chae JJ, Aksentijevich I, Kastner DL : The expanding spectrum of systemic autoinflammatory disorders and their rheumatic manifestations. *Curr Opin Rheumatol* 15 : 61-69, 2003
 - 44) Chae JJ, Komarow HD, Cheng J, Wood G, Raben N, Liu PP, Kastner DL : Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. *Mol Cells* 11 : 591-604, 2003
 - 45) Shinozaki K, Agematsu K, Yasui K, Nagumo H, Naitoh H, Naganuma K, Komiyama A : Familial Mediterranean fever in 2 Japanese families. *J Rheumatol* 29 : 1324-1325, 2002
 - 46) Chang CH, Guerder S, Hong SC, van Ewijk W, Flavell RA : Mice lacking the MHC class II transactivator (CIITA) show tissue-specific impairment of MHC class II expression. *Immunity* 4 : 167-178, 1996
 - 47) Hoffman HM, Patel DD : Genomic-based therapy : targeting interleukin-1 for autoinflammatory diseases. *Arthritis Rheum* 50 : 345-349, 2004
 - 48) Masumoto J, Zhou W, Chen FF, Su F, Kuwada JY, Hidaka E, Katsuyama T, Sagara J, Taniguchi S, Ngo-Hazelett P, Postlethwait JH, Núñez G, Inohara N : Caspy, a zebrafish caspase, activated by ASC oligomerization is required for pharyngeal arch development. *J Biol Chem* 278 : 4268-4276, 2003
 - 49) Mariathasan S, Newton K, Monack DM, Vucic D, French DM, Lee WP, Roose-Girma M, Erickson S, Dixit VM : Differential activation of the inflammasome by caspase-1 adaptors ASC and Ipaf. *Nature* (in press), 2004

(H 16. 4. 13 受稿)