

綜 説

ASC と PYRIN ファミリー; 新しいインターロイキン 変換酵素活性化経路

相 良 淳 二

信州大学大学院医学研究科加齢適応医科学系専攻分子細胞学部門分子腫瘍学分野

ASC and PYRIN Family; A Novel Signal Pathway for Interleukine Converting Enzyme Activation

Junji SAGARA

*Department of Molecular Oncology, Institute on Aging and Adaptation,
Shinshu University Graduate School of Medicine*

Key words: apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC), interleukine converting enzyme (ICE), caspase-1, PYRIN domain (PYD), familial Mediterranean fever (FMF)

アポトーシス関連スペック様カード蛋白質, インターロイキン変換酵素, カスパーズ-1, パイリン領域,
家族性地中海熱

I はじめに

インターロイキン変換酵素は IL-1 β と IL-18 前駆体のプロセッシングに関係する免疫学上重要な酵素であるが、「細胞死」の世界ではカスパーズ-1 (caspase-1) と呼ばれている。カスパーズという呼び方はアポトーシスに関係する一群の蛋白質分解酵素に与えられた名称である。同一の蛋白質分解酵素が「免疫」と「細胞死」の世界で別の呼び方をされる背景にはどのような理由があるのだろうか。最近の免疫学のトピックスの一つは、我々のグループ (信州大学, 谷口俊一郎研究室) がアポトーシスを促進する蛋白質として発見した apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC) が、インターロイキン変換酵素の活性化に関係することが明らかにされたことである。ASC の発見とその後の展開を概説しながら、新しい自然免疫の世界について紹介したい。

II 細胞死と免疫のクロストーク

ネクローシスが炎症を伴う細胞死であるのに対して、アポトーシスは炎症を起こさない「静か」な死という

概念が広く生物学者に浸透している。例えば、人間の胎児期に存在する指の間の薄い細胞層 (水かき) は発生とともに「静か」にアポトーシスを起こしてなくなってしまう。しかし、分子レベルでの研究が進むにつれて、多くのアポトーシス調節蛋白質の仲間が炎症反応誘導の主役である NF- κ B (転写因子) 活性化に関係することが明らかになってきた。この事実は、ある一群の免疫制御機構はアポトーシスと協調的に進化してきたことを反映しているのではないだろうか。

発生や成長過程で起こるアポトーシスでは炎症を伴うことはないが、生体で日常的に起こるアポトーシスではむしろ炎症と密接に関係している場合が多い。例えば、病原体感染によってダメージを受けた細胞はアポトーシスを起こすが、感染した細胞はただ「静か」に死ぬだけではなく、危険信号を発信して周りの細胞に注意を喚起する。本綜説の中心テーマである IL-1 β および IL-18 はアポトーシスを起こす細胞から放出される危険信号の一つだと考えられる。

III 結合モチーフ CARD を持つ新しい細胞質蛋白質 ASC の発見

新しい発見は偶然の要素が重なりあってなされることがある。その偶然をいかに捕らえるかが研究者の重要な資質の一つではないだろうか。増本純也博士 (現

別刷請求先: 相良 淳二 〒390-8621

松本市旭 3-1-1 信州大学大学院医学研究科

加齢適応医科学系専攻分子腫瘍学分野

信大附属病院臨床検査部)が我々の研究室の大学院生の時に発見したのがASCである。最初の研究目的は、癌細胞の核の異形性の原因を調べるために癌化に伴って変化する核構造蛋白質を発見することであった。そのためにヒト白血病細胞HL-60の核構造蛋白質に対してたくさんのモノクローナル抗体を作ったのだが、その中の一つのモノクローナル抗体が細胞内で特異な挙動を示す蛋白質発見のきっかけとなった。

制癌剤でHL-60細胞を処理すると、速やかにアポトーシスを起こす。その蛋白質は増殖状態では細胞全体に均一に存在するのだが、細胞がアポトーシスを起こす過程で細胞質の1点に集まってスペック (speck) と名付けた凝集塊を作る。その蛋白質のcDNAを取って塩基配列を決定してみると、195アミノ酸からなる新しい蛋白質で、C末には約90アミノ酸からなるcaspase-recruitment domain (CARD) が存在した。CARDはアポトーシス・シグナル経路の調節蛋白質やカスパーに存在する結合モチーフで、同じ結合モチーフを持つ蛋白質同士の結合 (CARD-CARD) に関係する重要な領域である。さらに、RNAiを用いてこの蛋白質の発現量を減らすとHL-60細胞のアポトーシスが抑えられることを示した。以上の観察から、この新しい蛋白質に対してASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) という名前を与えた¹⁾。

IV 新しい結合モチーフ PYRIN domain (PYD) の発見

先に述べたように、ASCのC末にはCARDが存在するが、N末側には約90アミノ酸からなる未知領域が存在した。相同検索を詳しくやってみると、この未知領域は家族性地中海熱 (familial Mediterranean fever; FMF) の原因遺伝子産物であるpyrinのN末領域と高い相同性を示すことが分かった。FMFは地中海沿岸国に多い病気で、好中球の機能亢進に起因する炎症疾患である。我々はこの未知領域には何か重要な機能があるのではないかと予想し、最初の論文でpyrin-like domain (PYD) と呼んだ。

幾つかのCARD蛋白質 (Bcl10やRAIDD) を発現すると、発現細胞の中で細胞骨格によく似た線維状の構造をつくることが知られている。この線維構造はCARDどうしの規則的な重合反応によってできる特徴的な構造である。ASCのCARD部分を発現してみると、発現細胞の中で線維を形成した。この結果から

ASCのCARDも同種結合活性 (CARD-CARD) を持つ結合ドメインであることが明らかになった²⁾³⁾。

次に、ASCのPYD部分を発現したところ、CARDと同様に発現細胞の中で線維構造ができた。この現象はPYDにも重合能力が存在することを示している。さらに、PYD同士の結合は免疫沈降実験でも確認することができた。これらの結果から、PYDは同種結合活性 (PYD-PYD) を持つ新しい結合モチーフであることを2001年に報告した²⁾。その後、PYDは新しい結合モチーフであるという世界的なコンセンサスが得られた⁴⁾⁻⁶⁾。なお、PYDをPAADまたDAPINと呼ぶ欧米のグループもあるが、現在ではPYDという呼び方が世界で広く用いられているようである。

V ASCはアダプター分子である

多くのシグナル伝達経路では、受容体と下流の実行分子 (キナーゼや蛋白質分解酵素など) の間にアダプターまたはドッキング蛋白質と呼ばれる分子が介在する。アダプター分子は2種類の結合ドメインを持ち、一つの結合ドメインで受容体と結合し、もう一方で実行分子と結合する。アダプター分子を介することによって複数の受容体が一つの実行分子を共有することができる。逆に、一つの受容体が複数の実行分子を活用することも可能となる。

上で述べたように、ASCはPYDとCARDという二つの結合モチーフを持つことから考えて、何らかのシグナル経路のアダプター分子ではないかと予想した。つまり、ASCはPYD蛋白質とCARD蛋白質から構成されるシグナル伝達経路の仲介者である。後述するように、ASCと結合する主要なCARD蛋白質はカスパー-1で、ASCと結合する重要なPYD蛋白質は受容体型のPYRINファミリー蛋白質達だろうと考えている (図1, 表1)。

VI PYRIN ファミリーの発見

ASCとPYDの報告を契機として欧米のバイオインフォマティクスの専門家グループによる遺伝子ハンティングが行われた。ASCとpyrin以外にもN末にPYDを持つ蛋白質が多数発見され、予想以上に大きなファミリーであることが明らかとなった (表1)。PYRINファミリーは「細胞死」と「免疫」の制御に関係する新しい分子群で、その異常は自己免疫病やリウマチの原因やリスク因子になっている⁷⁾⁻¹⁰⁾。例えば、pyrinが家族性地中海熱と呼ばれる遺伝性の炎症疾患

ASC と PYRIN ファミリー

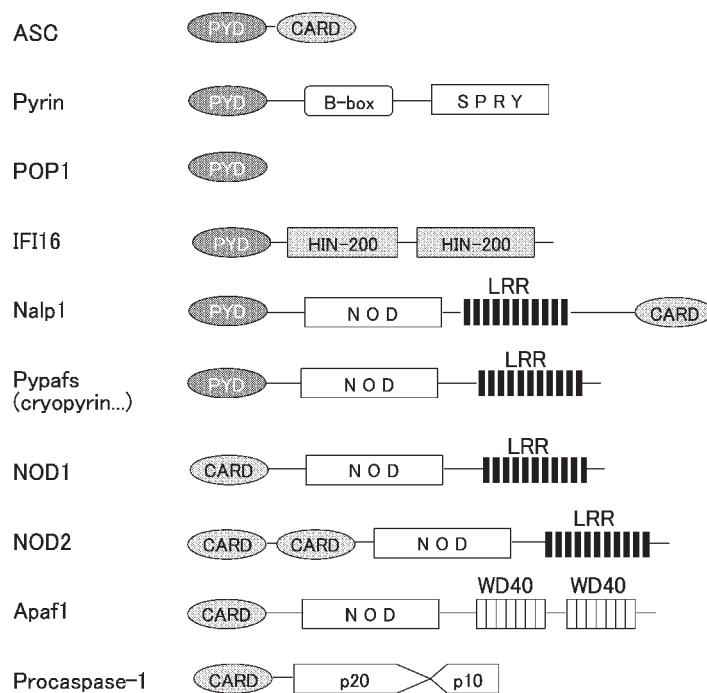


図1 PYDファミリーと関連蛋白質のドメイン構造

NOD, ヌクレオチド結合と多量体化に関係する領域; LRR, ロイシン・リッチ・リピート; HIN-200, インターフェロンで誘導される一群の蛋白質に存在する200アミノ酸からなるリピート; WD40, WD40リピート; p20/p10, 蛋白質分解の触媒領域; B box/SPRY, 保存された配列

表1 主なヒトのPYRINファミリー蛋白質

タンパク質名	疾患との関係	結合タンパク質	機能, その他
ASC, TMS1	腫瘍特異的な遺伝子のメチル化	ASC, caspase-1, Bax, Ipaf	Caspase-1の活性化, 細胞死の促進, NF- κ B活性化の調節
POP1, ASC2		ASC	ASCの機能阻害, デコイ
Pyrin	家族性地中海熱	ASC	ASCの阻害または促進, 細胞死の促進
NALP1, DEFCAP		ASC, caspase-1	ASCと協同してcaspase-1を活性化, 細胞死の促進
Cryopyrin, Pypaf1	家族性寒冷蕁麻疹	ASC	ASCと協同してcaspase-1とNF- κ Bの活性化
Pypaf5, Nalp6		ASC	同上
Pypaf7		ASC	同上
Mater, Pypaf8	マウスの不妊と関連		
Pynod		ASC	ASCの機能阻害
IFI16	乳癌などで発現低下	BRCA1	インターフェロンで誘導, 増殖抑制, p53シグナル経路
AIM2	悪性黒色腫で発現低下		インターフェロンで誘導, 増殖抑制

の原因遺伝子産物であることは既に述べたが、もう一つ、cryopyrin と呼ばれる蛋白質は家族性寒冷蕁麻疹や Muckle-Wells 症候群の原因遺伝子産物である¹¹⁾⁻¹⁴⁾。免疫との関係で注目されるグループはインターフェロンで誘導される一群の蛋白質の存在である(表1)。この分子群はインターフェロンによる増殖抑制作用と関係していると考えられている。他に、POP1/ASC2 と呼ばれる ASC の PYD 領域に対するデコイが存在する。この分子は ASC の生理作用を阻害している¹⁵⁾。

VII ASC と細胞内の病原体パターン認識受容体 (pattern recognition receptor ; PRR)

細胞表面に存在する Toll-like 受容体 (toll-like receptor ; TLR) は、病原体の LPS やプロテオグリカンなどの PAMP を認識する受容体である。TLR が PAMP を認識すると、そのシグナルは細胞内のアダプター分子である MyD88 や TRAF6 を介して NF- κ B 活性化機構を刺激する。TLR シグナル経路の研究によって自然免疫における PAMP 認識機構の研究の大筋が完了するかに見えた。しかし、ここ数年の「細胞死」の研究の中から、細胞内部にも PAMP を認識する受容体が存在する可能性が指摘され、免疫学最大のトピックスになっている。

NOD1 と NOD2 はアポトーシス制御分子の遺伝子ハンティングによって NF- κ B を活性化する細胞質蛋白質としてクローニングされたものである。この二つの分子の構造上の特徴は、N 末から CARD-NOD-LRR というドメイン構造を持つことである(図1)。2003年、NOD1 および NOD2 は細菌の特定のプロテオグリカン構造を認識して NF- κ B を活性化することが報告された¹⁶⁾⁻¹⁸⁾。この驚くべき結果は細胞内にも PRR が存在することを示唆するものであった。ここで PYRIN ファミリーを見てみると、NOD1/2 と良く似た分子群の存在に気付く。図1で Pypafs と示したものがそれに相当する。Pypaf という名前は PYD と Apaf1 (NOD1 や NOD2 と基本構造は同じ)を合わせた造語である。この世界では研究グループによって別の名前が付けられる傾向があり、Pypaf の場合も Nalp または NAC という呼び方をされる場合もある。現在、ヒトだけでも10種類以上の Pypaf 蛋白質が存在する。表1に示した PYD 蛋白質の内、cryopyrin, Pypaf5, Pypaf7, Mater がそれに相当する。幾つかの Pypaf 蛋白質は ASC と結合して、NF- κ B やカスパー-1 の活性化を協同的に促進することが既に報告されている¹⁹⁾⁻²¹⁾。

この方面の最大の課題は、「Pypaf 分子が NOD1/2 のように受容体なのか」、もしそうならば、「どんな

表2 ASC 結合蛋白質およびカスパー-1 (caspase-1) 活性化に関する蛋白質

タンパク質名	結合タンパク質	機能, 疾患
Caspase-1 (ICE)	ASC, Caspae-11, Ipaf,	IL-1 β と IL-18前駆体のプロセッシング, 神経などの細胞死
Ipaf	ASC, Caspase-1, NOD1, NOD2	NF- κ B および caspase-1 の活性化
NOD1	RICK, Caspase-1, Ipaf1,	細菌成分の細胞内センサー RICK を介して NF- κ B の活性化
NOD2	RICK, Ipaf1, Caspase-1	細菌成分の細胞内センサー RICK を介して NF- κ B の活性化 クローン病, ブラウ病の原因遺伝子産物
RICK (RIP2)	NOD1, NOD2, ASC cIAP-1, TRAF-1,-2,-5,-6	IKK をリン酸化し, 最終的に NF- κ B を活性化
IKK	NIK, I κ B, ASC	I κ B をリン酸化して最終的に NF- κ B を活性化 (ASC は IKK を阻害)
Caspase-11 (マウス)	caspase-1	エンドトキシン・ショック caspase-1 の活性化, 細胞死
Bax	Bax, Bcl-10, Bcl-xL, Bid, ASC	p53依存的にミトコンドリア経路のアポトーシスを促進する
Caspase-8	FADD, ASC	Fas 依存性アポトーシス・シグナル経路の重要なカスパー

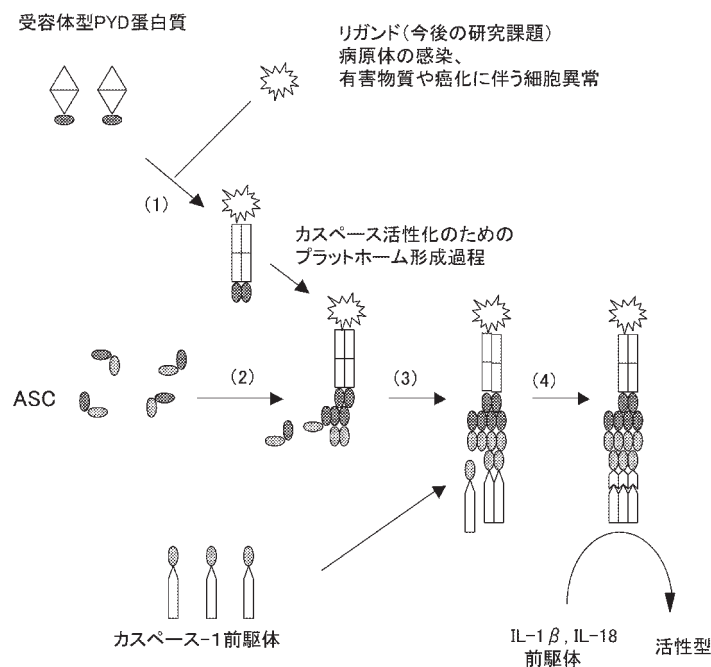


図2 ASC をアダプターとするカスパー-1 (ICE) 活性化経路

受容体型 PYD 蛋白質にリガンドが結合すると構造変化を起こしてオリゴマーが形成される(1)。受容体オリゴマーを核として PYD 依存性に ASC が多量体を形成する(2)。CARD-CARD 結合によって前駆体カスパー-1 が多量体に組み込まれ(3)、活性型に変換する(4)。活性化されたカスパー-1 は IL-1 β および IL-18 前駆体を切断して活性型に変換する。

PAMP を認識するか」ということが今後の研究テーマの中心になるだろう²²⁾²³⁾。

VIII ASC によるカスパー-1 活性化経路

ASC がカスパー-1 活性化経路のアダプター分子であることが、最近の研究から明らかになってきた^{24)–26)}。ASC 以外にも、カスパー-1 の活性化に関係する蛋白質が報告されているが(表2)、その活性化機構は不明なままで確定されたとは言い難い。それに対して、ASC 欠損マウスによる最終確認が残されているが、ASC によるカスパー-1 活性化作用に関しては多くの研究室が追試に成功しており、ほぼ間違いないものと考えている。従来、カスパー-1 活性化蛋白質と報告されたものの中には、ASC と結合して協同的にカスパー-1 を活性化しているものが多いのではないかと我々は想像している。

プロカスパー-8 およびプロカスパー-9 活性化では「近接活性化モデル」が提唱されている。「近接活性化モデル」ではアダプター分子を介するプロカスパーの多量体化が重要である。プロカスパーが集合することによって互いの触媒部分が近付いて自己触媒的に切断活性化する。ASC によるカスパー-1 の

活性化も「近接活性化モデル」で説明できる。まず ASC は PYD 依存性に多量体化を形成し、そこにプロカスパー-1 が CARD を介してリクルートされる。その結果、プロカスパー-1 同士の触媒部分が「近接化」して、自己触媒的に活性型の p20 と p10 に切断/活性化されるというモデルが予想されている(図2)。

IX ASC によるアポトーシス制御機構

HL-60細胞の ASC の発現量を RNAi で低下させるとアポトーシスが抑制されることから、ASC には何らかのアポトーシス・シグナル経路に対して促進的に働くのではないかと予想した¹⁾。その後の研究結果は、ASC が広範なアポトーシス・シグナル経路と関係する可能性を示唆している。例えば、ASC はカスパー-9 依存性に細胞死を促進するという報告があると思えば、カスパー-8 を介して細胞死を促進するという報告もある²⁷⁾²⁸⁾。また、NF- κ B 活性化経路の上位キナーゼである IKK を ASC が阻害することによって、間接的に細胞死を促進するという報告もある²⁹⁾。NF- κ B 活性化と細胞死は相反する生理作用があり、NF- κ B が活性化されると細胞死が抑制され、NF-

α Bの活性化が抑制されると細胞死が促進される。その他にASCのアポトーシス促進作用に対するカスパー-1の関与が考えられる。しかし、カスパー-1はIL-1 β とIL-18のプロセシング酵素で、細胞死に対して主導的に作用するとは一般的に考えられていない。しかし、神経細胞の死においてはカスパー-1が主導的に細胞死を促進するという報告もあり、細胞の種類によってはASCによるカスパー-1活性化がアポトーシス促進作用と関係するかもしれない³⁰⁾。また最近、p53/BaxとASCとの関連が指摘されており、この場合はp53/Bax系からミトコンドリア-Apaf-1-カスパー-9のシグナル経路の関与が考えられる³¹⁾。

以上のようにASCによるアポトーシス促進作用は非常に複雑で、結論を出すにはさらなる研究が必要であるというのが結論である。ただ私見を述べさせていただければ、複雑に見える原因はASCが多くの蛋白質と相互作用する能力(広いスペクトラム)を有することに起因するのではないかと考えている。現在報告されているだけでも10種類以上の蛋白質と相互作用する可能性が示されている(表1, 2)。ASCは種々のシグナル経路の交差点に位置して、直接または間接的にアポトーシス制御に関係しているのではないだろうか。

X 正常組織におけるASCの発現パターンと炎症による発現誘導

ASCの発現を免疫組織染色で調べたところ、幾つかの興味ある傾向が見られた。正常組織では分化した細胞に発現が高く、未分化な細胞には発現が少ない。腸はASCの発現が高い組織の一つであるが、その分布を詳しく見ると成熟した上皮細胞に発現が高く、クリプト層(増殖層)では発現が少ない。また表皮でも基底層(増殖層)に少なく、ケラチノサイトに非常に高い発現が観察される³²⁾。感染防御という観点からすると、外界と接して、常に感染の危険に曝されている細胞に高い発現が見られる。また、末梢血単球、胸腺、脾臓などの免疫関連の細胞や臓器に発現が高い。ASCが感染防御に関係する可能性を考えるならば、この発現パターンは合目的ではないだろうか。

もう一つ重要な現象は、普段は発現が少なく、組織でも炎症や細胞死によってASCの発現が強くと誘導されることである³³⁾。虫垂炎や肝炎などの炎症組織でASCの発現が顕著に増加する。以上の観察結果はASCが生体防御上、重要な働きをしていることと密

接に関係しているだろう。

XI 癌細胞におけるASCの発現低下とASC遺伝子メチル化による発現抑制

癌化では遺伝子変異による癌抑制遺伝子の発現抑制や機能喪失が重要であることが良く知られている。しかし最近、遺伝子変異を伴わない変化(エピジェネティック)によって癌抑制遺伝子の発現が抑制される現象が注目されている。それが癌特異的な遺伝子のメチル化である。現在、世界中の研究者によって癌特異的にメチル化される遺伝子の探索研究が精力的に行われているが、ASC遺伝子もメチル化のターゲットであるという驚くべき結果が得られた。

我々の報告よりも1年遅れて、「乳癌でASC遺伝子が癌特異的にメチル化されてASCの発現が抑制される現象」が米国のEmory大学のVertino博士のグループから報告された³⁴⁾。彼らは発見の経緯からASCをTMS1(Target of methylation-induced silencing-1)と呼んでいる。ASC遺伝子がメチル化されると、ヒストンの脱アセチル化と染色体の構造変化が起こり、ASCの発現が抑えられる。我々も悪性黒色腫においてASC遺伝子がメチル化されて発現低下が起こることを明らかにした³⁵⁾。また最近、子宮癌においても同様の結果が報告された³⁶⁾。癌細胞におけるASCの発現低下はどのような意味があるのであろうか。上で述べたように、ASCは免疫およびアポトーシスと関係することを考えると、ASC遺伝子のメチル化は癌化に対して促進的に働く可能性が考えられる。この仮説を検証するためにはASC欠損マウスによる検証が必要であり、この方面での今後の進展が期待される。

XII おわりに

家族性地中海熱(FMF)は地中海沿岸国では非常にポピュラーな病気であるが、ASCの発見当時、日本国内では1例の報告もなかった。ASCの研究報告に対して欧米の研究者からは強い反響があったにもかかわらず、国内の研究者の関心を引くことはなかった。しかし最近、信州大学で国内初のFMFの例が報告され、現在もその数が増えているという³⁷⁾。ASCとPYRINファミリーは全く新しい自然免疫制御系で、今後、研究の飛躍が期待される研究分野である。また、この分野は原因不明の免疫疾患の原因解明のためにも重要であり、国内的な研究者間の連携が期待される。

文 献

- 1) Masumoto J, Taniguchi S, Ayukawa K, Kishino T, Niikawa N, Hidaka E, Katsuyama T, Higuchi T, Sagara J : ASC, a novel 22-kDa protein containing a caspase recruitment domain (CARD), forms a speck during apoptosis of human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *J Biol Chem* 274 : 33835-33838, 1999
- 2) Masumoto J, Taniguchi S, Sagara J : Pypin N-terminal homology domain and caspase recruitment domain - dependent oligomerization of ASC. *Biochem Biophys Res Commun* 280 : 652-655, 2001
- 3) Masumoto J, Taniguchi S, Nakayama K, Ayukawa K, Sagara J : Murine ortholog of ASC, a CARD-containing protein, self-associates and exhibits restricted distribution in developing mouse embryos. *Exp Cell Res* 262 : 123-133, 2001
- 4) Richards N, Schaner P, Diaz A, Stuckey J, Shelden E, Wadhwa A, Gumucio DL : Interaction between pypin and the apoptotic speck protein (ASC) modulates ASC-induced apoptosis. *J Biol Chem* 276 : 39320-39329, 2001
- 5) Fairbrother WJ, Gordon NC, Humke EW, O'Rourke KM, Starovasnik MA, Yin JP, Dixit VM : The PYRIN domain : a member of the death domain-fold superfamily. *Protein Sci* 10 : 1911-1918, 2001
- 6) Liu T, Rojas A, Ye Y, Godzik A : Homology modeling provides insights into the binding mode of the PAAD/DAPIN/pypin domain, a fourth member of the CARD/DD/DED domain family. *Protein Sci* 12 : 1872-1881, 2003
- 7) Bertin J, DiStefano PS : The PYRIN domain : a novel motif found in apoptosis and inflammation proteins. *Cell Death Differ* 7 : 1273-1274, 2000
- 8) Martinon F, Hofmann K, Tschoop J : The pypin domain : a possible member of the death domain-fold family implicated in apoptosis and inflammation. *Curr Biol* 11 : R118-120, 2001
- 9) Staub E, Dahl E, Rosenthal A : The DAPIN family : a novel domain links apoptotic and interferon response proteins. *Trends Biochem Sci* 26 : 83-85, 2001
- 10) Pawlowski K, Pio F, Chu Z, Reed JC, Godzik A : PAAD - a new protein domain associated with apoptosis, cancer and autoimmune diseases. *Trends Biochem Sci* 26 : 85-87, 2001
- 11) The French FMF Consortium : A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* 17 : 25-31, 1997
- 12) 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
- 13) Hoffman HM, Mueller JL, Broide DH, Wanderer AA, Kolodner RD : Mutation of a new gene encoding a putative pypin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. *Nat Genet* 29 : 301-305, 2001
- 14) 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
- 15) Stehlik C, Krajewska M, Welsh K, Krajewski S, Godzik A, Reed JC : The PAAD/PYRIN-only protein POP1/ASC2 is a modulator of ASC-mediated nuclear-factor-kappa B and pro-caspase-1 regulation. *Biochem J* 373 : 101-113, 2003
- 16) Girardin SE, Boneca IG, Carneiro LA, Antignac A, Jehanno M, Viala J, Tedin K, Taha MK, Labigne A, Zahringer 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
- 17) Chamaillard 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, Nunez G, Inohara N : An essential role for NOD1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid. *Nat Immunol* 4 : 702-707, 2003
- 18) Tanabe T, Chamaillard M, Ogura Y, Zhu L, Qiu S, Masumoto J, Ghosh P, Moran A, Predergast MM, Tromp G, Williams CJ, Inohara N, Nunez G : Regulatory regions and critical residues of NOD2 involved in muramyl dipeptide recognition. *EMBO J* 23 : 1587-1597, 2004
- 19) 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-kappa B. *J Biol Chem* 277 : 11570-11575, 2002
- 20) Wang L, Manji GA, Grenier JM, Al-Garawi A, Merriam S, Lora JM, Geddes BJ, Briskin M, DiStefano PS, Bertin J: PYPAF7, a novel PYRIN-containing Apaf1-like protein that regulates activation of NF-kappa B and caspase-1-dependent cytokine processing. *J Biol Chem* 277 : 29874-29880, 2002
- 21) Grenier JM, Wang L, Manji GA, Huang WJ, Al-Garawi A, Kelly R, Carlson A, Merriam S, Lora JM, Briskin M, DiStefano PS, Bertin J: Functional screening of five PYPAPF family members identifies PYPAPF5 as a novel regulator of NF-kappaB and caspase-1. *FEBS Lett* 530 : 73-78, 2002
- 22) Inohara N, Nunez G: NODs: intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis. *Nat Rev Immunol* 3 : 371-382, 2003
- 23) Tschopp J, Martinon F, Burns K: NALPs: a novel protein family involved in inflammation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4 : 95-104, 2003
- 24) 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
- 25) 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
- 26) Stehlik C, Lee SH, Dorfleutner A, Stassinopoulos A, Sagara J, Reed JC: Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain is a regulator of procaspase-1 activation. *J Immunol* 171 : 6154-6163, 2003
- 27) McConnell BB, Vertino PM: Activation of a caspase-9-mediated apoptotic pathway by subcellular redistribution of the novel caspase recruitment domain protein TMS1. *Cancer Res* 60 : 6243-6247, 2000
- 28) Masumoto J, Dowds TA, Schaner P, Chen FF, Ogura Y, Li M, Zhu L, Katsuyama T, Sagara J, Taniguchi S, Gumucio DL, Nunez G, Inohara N: ASC is an activating adaptor for NF-kappa B and caspase-8-dependent apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 303 : 69-73, 2003
- 29) Stehlik C, Fiorentino L, Dorfleutner A, Bruey J, Ariza EM, Sagara J, Reed JC: The PAAD/PYRIN-family protein ASC is a dual regulator of a conserved step in NF-kB activation pathways. *J Exp Med* 196 : 1605-1615, 2002
- 30) Zhang WH, Wang X, Narayanan M, Zhang Y, Huo C, Reed JC, Friedlander RM: Fundamental role of the Rip2/caspase-1 pathway in hypoxia and ischemia-induced neuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 : 16012-16017, 2003
- 31) Ohtsuka T, Ryu H, Minamishima YA, Macip S, Sagara J, Nakayama KI, Aaronson SA, Lee SW: ASC is a Bax adaptor and regulates the p53-Bax mitochondrial apoptosis pathway. *Nat Cell Biol* 6 : 121-128, 2004
- 32) Masumoto J, Taniguchi S, Nakayama J, Shiohara M, Hidaka E, Katsuyama T, Murase S, Sagara J: Expression of apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain, a pyrin N-terminal homology domain-containing protein, in normal human tissues. *J Histochem Cytochem* 49 : 1269-1275, 2001
- 33) Shiohara M, Taniguchi S, Masumoto J, Yasui K, Koike K, Komiyama A, Sagara J: ASC, which is composed of a PYD and a CARD, is up-regulated by inflammation and apoptosis in human neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun* 293 : 1314-1318, 2002
- 34) Conway KE, McConnell BB, Bowring CE, Donald CD, Warren ST, Vertino PM: TMS1, a novel proapoptotic caspase recruitment domain protein, is a target of methylation-induced gene silencing in human breast cancers. *Cancer Res* 60 : 6236-6242, 2000
- 35) Guan X, Sagara J, Yokoyama T, Koganehira Y, Oguchi M, Saida T, Taniguchi S: ASC/TMS1, a caspase-1 activating adaptor, is downregulated by aberrant methylation in human melanoma. *Int J Cancer* 107 : 202-208, 2003
- 36) Terasawa K, Sagae S, Toyota M, Tsukada K, Ogi K, Satoh A, Mita H, Imai K, Tokino T, Kudo R: Epigenetic inactivation of TMS1/ASC in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 10 : 2000-2006, 2004
- 37) 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

(H 16. 5. 31 受稿)