



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

Inflammasomin toiminta syövässä ja aineenvaihduntasairauksissa

Jasmin Garces Ibanez

Biologia

LuK-tutkielma

Laajuus: 6 op

10.2.2025

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

Pääaine: Biologia

Tekijä: Jasmin Garces Ibanez

Otsikko: Inflammationin toiminta syövässä ja aineenvaihduntasairauksissa

Ohjaaja: Tiina Henttinen

Sivumäärä: 19 sivua

Päivämäärä: 10.2.2025

Inflammationin ovat synnynnäisen immuunijärjestelmämme keskeinen osa ja niiden toiminta solustressin havaitsemisessa sekä tulehdusreaktioiden käynnistämisessä on välttämätöntä elimistömme normaalin toiminnan kannalta. Inflammationin aktivoituminen esimerkiksi aineenvaihdunnan sivutuotteista saa aikaan proinflammatoristen sytokiinien erityksen ja pyroptoosin, jotka puolestaan vahvistavat tulehdussignaalia ja houkuttelevat paikalle lisää immuunisoluja. Inflammationilla on sekä kanoninen että ei-kanoninen aktivaatioreitti, joita erilaiset patogeenit ja vaarasignaalit aktivoivat. Nämä aktivaatioreitit eivät toimi täysin toisistaan erillään, vaan ne tehostavat joissain tapauksissa toistensa toimintaa.

Useat tutkimukset viittaavat siihen, että inflammationin toiminnalla ja toimimattomuudella on vaikutuksia useisiin sairauksiin, kuten erilaisiin syöpiin ja metabolisiin sairauksiin. Inflammationin toiminnalla on monimutkainen asema eri sairauksissa ja siksi niiden tutkiminen on entistä tärkeämpää, jotta voidaan kehittää uusia, entistä tarkempia hoitomenetelmiä sairauksiin, joiden kehittymiseen inflammationilla on vaikutusta. Tällaisia sairauksia ovat muun muassa suolistosyövät, tyypin 2 diabetes, ylipaino sekä ateroskleroosi. Metabolisissa sairauksissa inflammationin krooninen aktivoituminen edistää matala-asteista tulehdusta ja samalla aineenvaihdunnan häiriöitä.

Avainsanat: ateroskleroosi, inflammasomi, metabolasairaudet, NLRP3-inflammasomi, syöpä

SISÄLLYS

1. Johdanto	1
2. Inflammasomit, synnynnäisen immunitetin reseptorit	2
2.1. Synnynnäisen immunitetin toiminta	2
2.2. Inflammasomien rakenne	4
2.3. Inflammasomin kanoninen aktivaatio	6
2.4. Inflammasomin ei-kanoninen aktivaatio	8
2.5. NLRP3 inflammasomi ja pyroptoosi	9
3. NLRP3 merkitys syövässä	10
3.1. Tuumorisuppressio	11
3.2. Syöpää lisäävät vaikutukset	13
4. NLRP3 aktivaatio metabolisissa sairauksissa	14
4.1. Diabetes ja ylipaino	14
4.2. Ikääntyneiden metabolasairaudet	17
4.3. Valtimonkovettumatauti eli ateroskleroosi	18
5. Yhteenveto	19
6. Lähteet	21

1. JOHDANTO

Immuunipuolustus on ihmiselle elintärkeä ja sen tasapainoinen toiminta on välttämätöntä, jotta elimistö pystyy reagoimaan oikealla tavalla patogeeneihin. Ilman kunnollista immuunijärjestelmää normaalisti vaaraton patogeeni voi aiheuttaa paljon haittaa yksilölle. Toisaalta liian voimakas tai väärin suunnattu reaktiokaan ei ole hyvä, sillä se voi laukaista kehossa esimerkiksi autoimmuunitauteja tai atopiasairauksia.

Synnynnäinen immuunipuolustus vastaa ensikäden puolustautumisesta ja se reagoi nopeasti, vaikkakin epäspesifisesti. Synnynnäisen immuunijärjestelmän toiminta perustuu kykyyn tunnistaa elimistössä olevia vieraita molekyylejä ja erilaisia patogeenien pintarakenteita. Synnynnäisen immunitetin soluja ovat fagosytoivat solut, joihin kuuluvat makrofagit, neutrofiilit sekä dendriittisolut. Synnynnäisen immunitetin soluissa voi osana perustunnistuskoneistoa aktivoitua inflammasomi, joka on solun sisällä oleva, useasta proteiinista koostuva kompleksi. Aktivoituminen tapahtuu solun saadessa solunsisäisiä vaarasignaaleja, jolloin inflammasomin aktivoituminen laukaisee reaktiosarjan, joka johtaa lopulta tulehdusta aiheuttavien sytokiinien vapauttamiseen ja tätä kautta tulehdusreaktioon. Tulehdusreaktio aikaansaa muun muassa kuumeen nousun.

Inflammasomien merkitys synnynnäisessä immuunipuolustuksessa sekä solukuolemassa on alettu ymmärtää vasta hiljattain. Inflammasomien toimintareitti ja niiden poikkeavan toiminnan aiheuttamat seuraukset erilaisissa sairauksissa tunnetaan melko hyvin. Vaikka inflammasomit poikkeavat toisistaan rakenteeltaan ja toimintaa aktivoivan ärsykkeen suhteen, niiden toimintamekanismit ovat samankaltaiset. Kaikki inflammasomit säätelevät kaspasi-1:n aktivoitumista, joka puolestaan johtaa tulehdusreaktion synnystä vastaavien interleukiini 1 β :n ja interleukiini 18:n muodostumiseen.

Tässä tutkielmassa keskityn tarkastelemaan NLRP3 inflammasomin toimintaa ja aktivaatiomekanismeja yleisellä tasolla. Lisäksi tarkastelen inflammasomin toiminnan vaikutuksia erilaisissa syövissä sekä aineenvaihduntasairauksissa.

2. INFLAMMASOMIT, SYNNYNNÄISEN IMMUNITEETIN RESEPTORIT

Synnyynnäisen immuunijärjestelmän toimintaan osallistuu useita erilaisia solutyyppejä, jotka tekevät jatkuvaa yhteistyötä pitääkseen patogeenien hyökkäykset hallinnassaan. Tärkeimpiä puolustussoluja ovat valkosolut, jotka voidaan jakaa fagosyytteihin, dendriittisoluihin, lymfositteihin sekä tulehdusreaktiota voimistaviin soluihin. Näissä soluissa on solunsisäisiä proteiinikomplekseja, inflammasomeja, joiden päätehtävänä on tulehdusvasteen säätely ja elimistön suojaaminen patogeeneilta sekä kudonsaatioilta. Esimerkiksi makrofageissa inflammasomeja käytetään apuna patogeenien tunnistamisessa ja niihin reagoimisessa. Dendriittisoluissa inflammasomit välittävät tulehdussignaaleja. Inflammasomit ovatkin välttämätön osa synnyynnäisen immunitietin infektioiden torjuntaa, sillä niiden avulla saadaan aikaan hyvin nopea ja voimakas tulehdusvaste.

NLRP3 inflammasomi, joka kuuluu NOD-hahmontunnistusreseptoriperheeseen (eng. NOD-like receptors, NLRs), on yksi parhaiten tutkituista inflammasomeista. NLRP3 on multiproteiinikompleksi, joka vastaa synnyynnäisen immuunijärjestelmän aktivaatiosta useiden eri ärsykkeiden kautta. Näitä ärsykejä ovat esimerkiksi erilaiset mikrobiärsykkeet, kuten bakteeriperäinen RNA tai lipopolysakkaridit (LPS) sekä ulkoiset ja sisäiset ärsykkeet, kuten kolesteroli, virtsahappo tai rasvahapot.

2.1. Synnyynnäisen immunitietin toiminta

Synnyynnäinen immuunivaste toimii ensikädessä mekaanisin ja kemiallisin estein. Esimerkiksi limakalvojen antimikrobiaaliset eritteet ja ihon oma normaalifloora estävät haitallisten bakteerien kasvua ja levittäytymistä, ja värekarvojen liike ja nestevirtaukset estävät bakteerien tarttumista pinnoille. Jos patogeeni onnistuu tunkeutumaan kehoon, synnyynnäisen immuunipuolustuksen soluista esimerkiksi makrofagit ja neutrofiilit tunnistavat patogeeneja hahmontunnistusreseptoreillaan. Hahmontunnistusreseptorit tunnistavat patogeenien toistuvia rakenteita, kuten nukleiinihappoja tai lipopolysakkarideja, mikä mahdollistaa lopulta tulehdusvasteen muodostumisen.

Synnyynnäiseen immunitettiin kuuluvat komplementtijärjestelmän tietyt osat, fagosyytit, granulositytit, syöttösolut ja NK-solut. Komplementti on ryhmä proteiineja, jotka auttavat kehoon tunkeutuneiden mikrobien torjunnassa ja välittävät tulehdusreaktiota. Komplementti poistaa yhdessä fagosyyttien kanssa vaurioituneita ja vanhentuneita soluja. Komplementti voi

aktivoitua kolmea reittiä pitkin. Klassinen reaktiotie aktivoituu IgM- ja IgG-vasta-aineiden välityksellä. Vasta-aineiden tartuttua kohderakenteisiinsa komplementin proteiinit aktivoituvat ja ne muodostavat membraaneja tuhoavan kompleksin (eng. the membrane attack complex, MAC). Vasta-aineiden lisäksi myös C-reaktiivinen proteiini (engl. C-reactive protein, CRP) aktivoi klassista tietä, erityisesti silloin kun vasta-aineita ei ole vielä muodostunut. Komplementti voi myös aktivoitua ilman vasta-aineita niin kutsuttua vaihtoehtoista reaktiotietä pitkin. Kolmas reitti eli niin sanottu lektiinitie ei myöskään tunnista vasta-aineita, vaan se aktivoituu mannoosia sitovan lektiinin sitoutumisella mikro-organismien pinnalla olevaan mannoosiin.

Komplementin komponentit osallistuvat myös opsonisaatioon, joka on tärkeä osa toimivaa immuniteettia. Komplementtiproteiinit C3b, C4b ja C1q osallistuvat opsonisaatioon, jossa patogeeni merkitään fagocytoosia varten. Opsonisaatiossa opsoniini sitoutuu patogeenin epitooppiin. Opsonisaatio tehostaa fagocytoosia, aiheuttaen kemotaksiksen, jonka avulla fagosyytit houkuttelevat kohti opsonoitua patogeneita.

Fagosyytteihin eli syöjäsoluihin kuuluvia soluja ovat monosyytit, joista muodostuu kudoksissa aktiivisia makrofageja. Makrofageja esiintyy periaatteessa kaikissa kehon eri kudoksissa, ja ne ovat erikoistuneet erilaisiin tehtäviin, esimerkiksi maksan makrofagit eli Kupfferin solut poistavat maksaan tulevasta verestä mikrobeja. Makrofagit jaotellaan kahteen päätyyppiin, proinflammatorisiin M1-makrofageihin sekä tulehdusta estäviin M2-makrofageihin. Makrofagien fenotyyppi määräytyy soluja ympäröivän mikroympäristön perusteella. M1 makrofagit tuottavat tulehdusta edistäviä sytokiineja, kuten IL-1 β :tä, IL-6:ta, IL-12:ta, IL-23:ta ja TNF- α :a. Tulehdusta edistävä makrofagit tuottavat inflammasomien aktivoitumisen jälkeen tiettyjä sytokiineja, kuten IL-1 β ja houkuttelevat näiden sytokiinien avulla paikalle lisää immuunisoluja, kuten makrofageja.

Granulosyytit eli neutrofiilit, eosinofiilit ja basofiilit kuuluvat myös elimistön fagocytoiviin soluihin ja ne kykenevät nopeasti fagocytoimaan useimpia mikrobeja. Granulosyyttien sisällä on suuri määrä pieniä granuloita, jotka ovat täynnä entsyymejä, joita vapautetaan tulehduksen, allergisen reaktion tai astmaepisodin aikana. Neutrofiilit, jotka ovat tärkein ja yleisin valkosolutyypin, kiertävät jatkuvasti verenkierrossa. Tulehduksen aiheuttama kemokiinieritys houkuttelee neutrofiilit siirtymään nopeasti verenkierrosta tulehduspaikalle. Neutrofiilit osallistuvat tulehduksen torjuntaan muun muassa ekspressoimalla NLRP3 ja AIM2 inflammasomeja. Neutrofiilit ilmentävät ja varastoivat inflammasomin komponentteja sytoplasmassa, tertiäärisissä granuloissa ja erityisvesikkeleissä. Tällainen inflammasomin

komponenttien varastointi saattaa mahdollistaa inflammasomien tarkemman säätelyn neutrofiileille (Bakele ym., 2014).

2.2. *Inflammasomien rakenne*

Inflammasomit nimetään niiden perusyksikön muodostavan proteiinin mukaan. Inflammasomeista suurin osa muodostuu yhdestä tai kahdesta NLR-perheen jäsenestä. NLRC4:n muodostuminen edellyttää lisäksi vuorovaikutusta NLR-perheeseen kuuluvan NAIP-proteiinin kanssa. Muut kuin NLR-perheen inflammasomien perusyksikkö muodostuu jostakin toisesta proteiinista, esimerkiksi sytoplasmisen AIM2-reseptori (eng. Absent in Melanoma 2-like receptor, ALR) muodostaa inflammasomin. Tämä inflammasomi havaitsee sytosolista kaksijuosteista DNA:ta (dsDNA) ja se on hyvin tärkeä bakteeri-infektioita ja DNA-virusia vastaan puolustautumisessa.

NLRP3-inflammasomi koostuu kolmesta proteiinista; NLRP3 sensoriosasta, ASC:stä eli adaptoriosasta ja prokaspasi-1:stä eli efektoriosasta. NLRP3 sensoriosa koostuu aminoterminaalista pyriiniosasta (PYD), nukleotideja sitovasta ja oligomerisoivasta keskusosasta (eng. central nucleotide-binding and oligomerization domain, NACHT) sekä karboksiterminaalista, paljon leusiinia sisältävästä toisto-osasta (engl. leucine-rich repeat, LRR). Sensoriosa havaitsee erilaisia vaarasignaaleja, mikä aloittaa inflammasomin kokoamisen. LRR-osa on avainasemassa patogeenien tunnistuksessa, sillä se kykenee tunnistamaan mikrobien PAMP-rakenteita (eng. pathogen associated molecular pattern, PAMP) sekä solunsisäisiä vaarasignaaleja ja mikrobituotteita (Ng & Xavier, 2011). NACHT-osa toimii ATPaasina ja se sisältää ATP:n sitomiskohtia ja osallistuu ATP:n hydrolyysiin, jolla tuotetaan tarvittava energia konformaatiomuutoksiin, joista seuraa proteiinien oligomerisaatio. Tämä on hyvin tärkeä vaihe NLRP3:n itseassosioitumiselle, sillä ATP:n sitoutuminen saa aikaan NACHT-osan aktivoitumisen inaktiivisesta tilastaan. Kun NACHT-osa on aktivoitunut, se kykenee vuorovaikuttamaan muiden NACHT-osien kanssa. Tämä on tärkeä vaihe inflammasomin aktivaatiossa, sillä oligomerisaatiossa inflammasomi kootaan kokonaiseksi, toiminnalliseksi proteiini-kompleksiksi (Duncan ym., 2007).

NLRC4-inflammasomi on tällä hetkellä ainoa tunnettu NLRC-perheen jäsen, jonka tiedetään muodostavan inflammasomeja. NLRC4 proteiiniosa koostuu CARD-osasta, NACHT-osasta ja LRR-osasta. NAIP proteiini, joka toimii sensorina, koostuu NACHT-osasta, LRR-osasta sekä kolmesta aminoterminaalista BIR-osasta. NLRC4 muodostaa kompleksin NAIP-proteiinin

kanssa ja NLRC4:ää aktivoivat ligandit sitoutuvat NAIP-osiin eikä itse NLRC4:ään. NLRC4 reagoi rajallisempaan määrään ärsykeitä kuin esimerkiksi NLRP3. NAIP-proteiini sitoutuu PAMP-rakenteista ainoastaan T3SS-neulaproteiiniin. T3SS:lla, jota esiintyy useissa gramnegatiivisissa bakteereissa, bakteerit kykenevät injektoimaan efektorimolekyylejä isäntäsoluihin. Kun NAIP-proteiinien NACHT-osaan on sitoutunut T3SS:ää, tämä kompleksi oligomerisoituu NLRC4:n kanssa ja muodostaa levymäisiä rakenteita, jotka koostuvat NLRC4 monomeereistä (Yang ym., 2013). NLRC4:n aktivoitumisessa ainutlaatuinen piirre on sen kyky olla suoraan vuorovaikutuksessa prokaspasi-1:n kanssa CARD-CARD vuorovaikutuksella. Tässä tapauksessa NLRC4 aktivoi suoraan prokaspasiin pilkkoutumisen aktiiviseksi kaspasi-1:ksi. Kuitenkin, jos paikalla on myös adaptoriosa, NLRC4:n aloittama prokaspasiin aktivoituminen tehostuu. Adaptoriosa on homologinen muiden NLR-perheen ASC:ien kanssa.

Adaptoriosa koostuu PYD-osasta sekä karboksiterminaalista kaspasiin rekrytointiosasta (CARD.) Adaptoriosa toimii niin sanottuna siltana sensori- ja efektoriosan välillä. Sekä sensoriosassa että adaptoriosassa on PYD-osa ja näiden interaktio oligomerisaatiossa on tärkeä inflammasomin muodostumisen kannalta. PYD-osien vuorovaikutusten myötä useat adaptoriosat yhdistyvät yhdeksi isoksi makromolekyyliseksi. Tämän jälkeen adaptoriosan CARD-osa muodostaa CARD-CARD-vuorovaikutuksen efektoriosan eli prokaspasi-1:n kanssa, joka aikaansaa prokaspasi-1:n autoproteolyysin ja tämän jälkeen kaspasiin aktivoitumisen. Kypsä kaspasi-1 on entsyymaattisesti aktiivinen ja vapautuu inflammasomikompleksista. Prokaspasi-1 koostuu CARD:sta sekä kahdesta katalyyttisestä osasta, p20:stä ja p10:stä. Kaspasi-1 saa aikaan inflammasomin seuraavien vaiheiden vaikutukset aktivoimalla tulehdussytokiineja ja käynnistämällä pyroptoosin.

AIM2-inflammasomi koostuu kolmesta proteiinista, AIM2:sta, ASC:stä ja prokaspasi-1:stä. AIM2 proteiini koostuu kahdesta osasta, PYD:stä ja HIN-osasta, joka toisin kuin NLR:t, se kykenee sitoutumaan suoraan sytosoliseen dsDNA:han (Hornung ym., 2009). ASC-proteiini koostuu myös kahdesta osasta, PYD:stä ja CARD:sta. AIM2 on normaalisti autoinhibitorisessa muodossaan, jolloin AIM2:n osat ovat vuorovaikutuksessa keskenään. Autoinhibitorinen tila toimii säätelymekanismina estäen liiallisen immuunivasteen syntymisen esimerkiksi pienistä määristä nukleiinihappoa. HIN-osan sitoutuminen sytosoliseen dsDNA:han saa aikaan PYD:n syrjäyttämisen ja autoinhibition loppumisen, mikä tapahtuu dsDNA:n sokerifosfaattirungon lopettaessa vuorovaikutuksen. DNA:n sitoutuminen syrjäyttää ja vapauttaa PYD-osan, jolloin ASC:n ja AIM2:n PYD-PYD-osien välinen vuorovaikutus voi tapahtua. Tämä saa ASC:it

siirtymään prionimuotoonsa ja näin syntyy nopeasti suuria toiminnallisia polymeereja, jotka kykenevät aktivoimaan CARD-CARD-vuorovaikutuksella prokaspasi-1:n aktiiviseksi kaspasi-1:ksi. Prokaspasi-1 on rakenteeltaan samanlainen kuin NLRP3-inflammasomeilla, ja se koostuu CARD-osasta ja isosta p20-alayksiköstä sekä pienemmästä p10-alayksiköstä (Cai ym., 2014; Jin ym., 2012).

2.3. Inflammasomin kanoninen aktivaatio

Kanoninen inflammasomin aktivaatio tapahtuu kaspasi-1:n välityksellä ja tätä aktivaatioreittiä käyttävät NLRP-inflammasomit, AIM2 sekä NLRC4-inflammasomi. Aktivaatio on tarkkaan säädelty kaksivaiheinen prosessi, joka alkaa alustusvaiheella (eng. Priming step), jossa inflammasomin komponenttien NLRP3, kaspasi-1 sekä pro-IL-1 β ilmentyminen lisääntyy (Bauernfeind ym., 2009). Lisääntynyt ilmentyminen alkaa, kun jokin hahmontunnistusreseptori (engl. Pattern recognition receptors, PRR) tunnistaa konservoituneita eli niin kutsuttuja mikrobien patogeeniassosioituneita molekyyliarakenteita eli PAMpeja tai vaaraa hälyttäviä molekyyliarakenteita (eng. Damage associated molecular pattern, DAMP). Hahmontunnistusreseptoreita on karakterisoitu tällä hetkellä neljä eri luokkaa; transmembraaniset Tollin kaltaiset reseptorit (eng. Toll-like receptors, TLR) ja C-tyypin lektiinireseptorit (eng. C-type lectin receptors, CLRs) sekä sytoplasmiset nukleotideja sitovat oligomerisaatiodomeenia sisältävät proteiinit (eng. Nucleotide-binding oligomerization domain containing protein, NOD) ja retinohappoindusoidut geenireseptorit (eng. Retinoic acid-inducible gene-I-like receptors, RLRs).

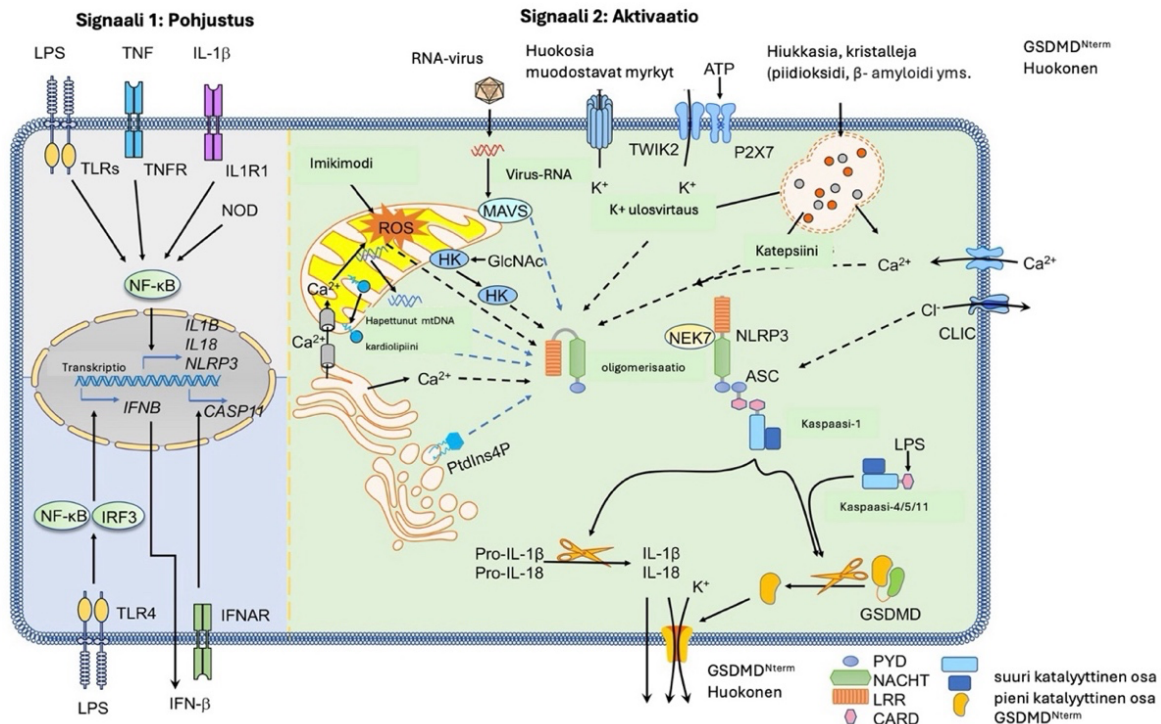
Makrofageissa pelkkä NLRP3 aktivaattorien esiintyminen ei ole tarpeeksi tehokas signaali aloittamaan inflammasomin aktivaatiota, vaan siihen tarvitaan alustusvaiheen tapahtumat. Alustusvaiheen välttämättömyys viittaa siihen, että makrofagit tarvitsevat jonkinlaisen signaalin osoittamaan infektiosta ennen kuin ne aistivat varsinaiset vaarasignaalit ympäristöstään. Tällainen signaali voi olla esimerkiksi lipopolysakkaridi (LPS). LPS on ihmisen immuunijärjestelmää aktivoiva endotoksinen molekyyli, joita on muun muassa gramnegatiivisten bakteerien ulkokalvolla. LPS:n toiminta inflammasomin alustusvaiheessa on välttämätöntä, jotta adaptoriproteiini ASC pystyy muodostumaan. LPS:n sitoutuminen hahmontunnistusreseptoriin aktivoi signaalinvälitystien, joka johtaa transkriptiofaktori NF- κ B:n aktivaatioon. NF- κ B saa aikaan NLRP3:n ja pro-IL-1 β :n geenien transkription (Bauernfeind ym., 2009.) Alustusvaiheessa tapahtuu myös posttranslacionaalaisia muokkauksia,

muun muassa NLRP3 deubikitiinylaatio, jossa ubikitiiniketju poistetaan NLRP3:sta ja samalla NLRP3 oligomerisoituu ja aktivoituu.

Jos elimistössä ei ole alustusvaiheen aktivaation aiheuttavia mikrobirakenteita, inflammasomin ilmentyminen voi alkaa myös sytokiinien, kuten tuumorinekroositekijän (eng. tumor necrosis factor, TNF) ja IL-1 β :n signaloinnin myötä. Näiden sytokiinien tuotanto johtaa NF- κ B:n aktivaatioon ja spesifisten geenien transkriptioon (Franchi ym., 2009; Xing ym., 2017). NF- κ B:n aktivaatio on todettu olevan välttämätön osa alustusvaihetta, mutta se ei yksinään ole riittävä NLRP3:n aktivaatioon, minkä vuoksi tarvitaan toinen ärsyke, joka voi olla esimerkiksi ATP:n tai kiteiden aiheuttama vaurio (eng. crystal-induced damage) (Bauernfeind ym., 2009). Alustusvaihetta seuraa aktivaatiovaihe, joka saa aikaan inflammasomin muodostumisen (kuva 1).

NLRP3 inflammasomi aktivoituu ulkoisen ärsykkeen aiheuttamissa tulehduksissa, kuten bakteeri-, virus- ja sieni-infektioissa ja tulehdustiloissa, joiden välittäjinä toimivat sekä sisäiset DAMP-rakenteet että ympäristön ärsytystä aiheuttavat aineet. Aktivaattoreita yhdistää se, että ne kaikki aiheuttavat solulle stressiä, jonka NLRP3 inflammasomi havaitsee. Inflammasomilla on useita aktivaattorimekanismeja, joiden toiminta on monimutkaista eikä tarkkaa tietoa aktivaattoreiden yhteistoiminnasta vielä ole.

Kaliumionien ulosvirtaus on välttämätön inflammasomin aktivaatiolle. Kaliumionien ulosvirtaus vaikuttaa suoraan IL-1 β :n maturaatioon sekä vapautumiseen (Perregaux & Gabel, 1994). Sytokiinien erityis ei kuitenkaan ole kaliumioneista riippuvaista (Walev ym., 1995). Myös kloridin ulosvirtauksen tiedetään lisäävän ATP:stä riippuvaista IL-1 β :n eritystä ulos solusta. Kloridin ulosvirtaus saattaa siis olla olennainen osa NLRP3:n aktivaatiota. ATP on myös osa NLRP3 aktivaattoreita ja ATP:n tiedetään saavan aikaan IL-1 β :n vapautumisen solusta (Sadatomi ym., 2017).



Kuva 1. NLRP3 inflammasomin pohjustusvaihe ja aktivaatio. Pohjustusvaihe saadaan aikaan erilaisten sytokiinien tai PAMP:en avulla, joka johtaa inflammasomin komponenttien transkriptionaaliseen säätelyyn. Aktivaatiovaihe alkaa jonkun PAMP:in tai DAMP:in aloittamana, kuten ATP:n, RNA-viruksen tai piidioksidin. Inflammasomin muodostuminen aktivoi kaspasi-1:n, joka pilkkoo pro-IL1β:tä ja pro-IL-18:ta. Myös kaasdermiini D (GSDMD) pilkkoutuu ja asettuu kalvoon muodostaen huokosia ja käynnistäen pyroptoosin. (Muokattu Swanson ym., 2019)

2.4. Inflammasomin ei-kanoninen aktivaatio

Ei-kanonisten inflammasomien toiminta ja signaalireitit ovat edelleen heikosti tunnettuja, verrattuna kanoniseen signaalireittiin, joka tunnetaan jo varsin hyvin. Ei-kanoniset inflammasomit suojaavat yksilöä eri gramnegatiivisilta bakteereilta sekä solunulkoisilta että -sisäisiltä. Ihmisellä ei-kanoniset inflammasomit eivät käytä kaspasi-1:tä, vaan kaspasi-4 ja -5:ttä, jotka ovat homologisia proteiineja hiiren kaspasi-11:n kanssa. Kaspasi-4 ja -5 toimivat samanaikaisesti niin reseptorina kuin efektorina. Nämä kaspasit havaitsevat sytosolisen LPS:n, joka toimii ligandina kaspasille. LPS:n tunnistus onnistuu guanylaattia sitovien proteiinien (eng. guanylate-binding proteins, GBPs) avulla. Sytosoliin päässeiden gramnegatiivisten bakteerien pintaan kiinnittyvät ensin GBP1, minkä jälkeen GBP2, GBP3 ja BBP4 kiinnittyvät myös muodostaen rakenteen, joka mahdollistaa prokaspasi-4/5/11 rekrytoitumisen bakteerin

pinnalle, jota seuraa kaspasiin vuorovaikutus LPS:n kanssa ja kaspasiin aktivoituminen. Bakteerien pinnan muuntaminen monia aktivaatioon tarvittavia proteiineja samanaikaisesti sitovaksi signaalialustaksi kaspasiaktivaatiota varten johtaa gasdermiini-d:stä riippuvaiseen pyroptoosiin ja proinflammatorisen sytokiinin IL-18 tuotantoon (Wandel ym., 2020).

On myös osoitettu, että kaspasi-11 edistää NLRP3-inflammasomin aktivaatiota makrofageissa ja tehostaa siten epäsuorasti pro-IL-1 β :n ja IL-18:n prosessointia. Proinflammatorinen kaspasi-11 pystyy käynnistämään kaspasi-1-riippumattoman makrofagien kuoleman ja kaspasi-1-riippuvaisen IL-1 β - ja IL-18-tuotannon (Kayagaki ym., 2011). Huomionarvoista on, että aktiivinen kaspasi-4 voi edistää alustusvaiheen NLRP3-inflammasomin aktivoitumista ilman, että kanonista NLRP3:n aktivoivaa ärsykettä tarvitaan. Tarkkaa kaspasi-4:n reittiä ei kuitenkaan ole vielä saatu selvitettyä (Kajiwara ym., 2014).

2.5. 1NLRP3 inflammasomi ja pyroptoosi

Sytokiinien tuotannon lisäksi NLRP3 inflammasomin aktivaatio johtaa myös pyroptoosiin eli ohjelmoidun solukuoleman tulehdukselliseen muotoon. Pyroptoosia ilmenee useimmiten solunsisäisten patogeenien aiheuttamien infektioiden yhteydessä. Pyroptoosissa solukalvolle muodostuu huokosia, solu turpoaa ja solukalvo repeää. Samalla solusta vapautuu ympäristöön muun muassa tulehdussytokiineja, jotka voimistavat tulehdusreaktiota entisestään. Tällä tavoin pyroptoosilla pyritään infektion torjuntaan, sillä sytokiinien vapautus houkuttelee paikalle muita immuunisoluja.

Pyroptoosissa ja etenkin huokosten muodostumisessa oleellisia tekijöitä ovat kaspasi-1 ja gasdermiini D (eng. gasdermin D, GSDMD). Kaspasi-1:n aktivoituminen johtaa gasdermiini D:n proteolyttiseen aktivaatioon. Kaspasi pilkkoo ja poistaa GSDMD:stä karboksyterminaalisen pään, ja vapauttaa samalla pilkotun aminoterminalisen osan, joka muodostaa solukalvolle huokosrakenteen. Tiedetään, että huokosten muodostuminen on osa pyroptoosia. GSDMD ei kuitenkaan osallistu vain pyroptoosin käynnistämiseen, vaan se vaikuttaa myös IL-1 β aktiiviseen eritykseen solusta ulos (W. He ym., 2015).

3. NLRP3 MERKITYS SYÖVÄSSÄ

Immuunijärjestelmä on yhteydessä moniin syövän kehittymisen ja etenemisen vaiheisiin. Immuunijärjestelmä pyrkii immuunivalvonnalla tuhoamaan syöpäsoluja jo ennen niiden kehittymistä kasvaimiksi, mutta joskus syöpäsolut pystyvät muuntumaan ja välttämään immuunivalvonnan, mikä johtaa kasvaimen kehitykseen. Syöpäsolut menettävän normaalin kasvun hallinnan ja niiden apoptoosi estyy, mikä aiheuttaa solujen rajoittamattoman jakautumisen ja kasvaimen muodostumisen.

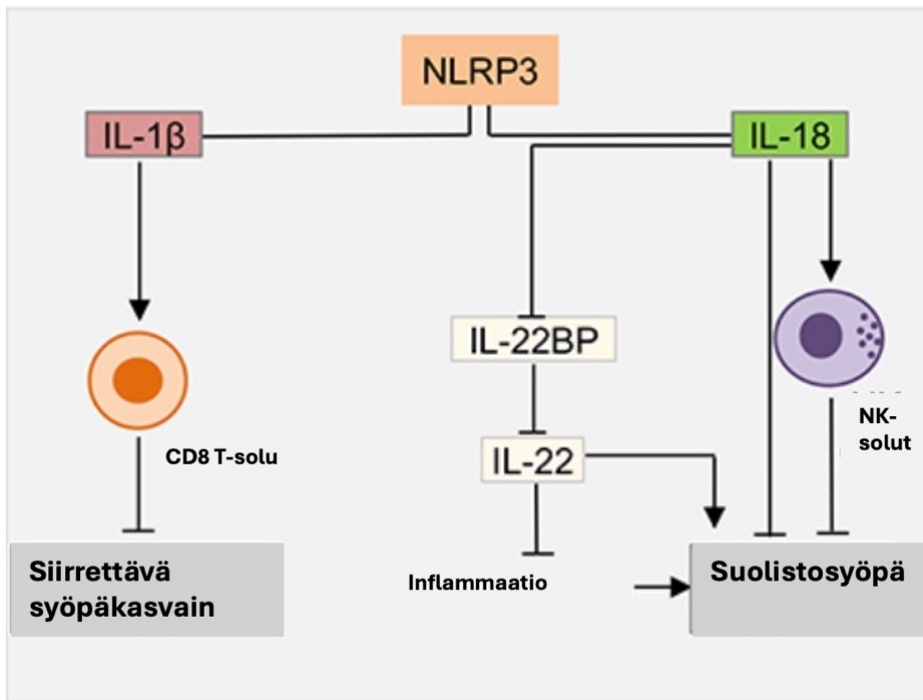
Syöpäsolujen muodostuminen on monimutkainen tapahtuma, joka aiheutuu useiden mutaatioiden kertymisestä geeneihin, jotka säätelevät solujen kasvua ja erilaistumista. Mutaatioita aiheutuu sekä kasvunrajoitegeeneihin että syöpää synnyttäviin geeneihin eli onkogeeneihin. Syöpäkasvain sisältää syöpäsolujen lisäksi myös syövän mikroympäristön (eng. tumor microenvironment, TME), joka koostuu myös terveistä soluista, kuten eri immuunisoluista, jotka edistävät tai hidastavat kasvaimen kasvua. Mikroympäristöön kuuluu lisäksi soluvälialinetta, joka vaikuttaa solujen signaalointiin ja kasvaimen muodostumiseen, sekä tukisoluja kuten endoteelisoluja, jotka osallistuvat kasvaimen verisuonten muodostumiseen eli angiogeneesiin. Angiogeneesin aktivoitumisen seurauksena ja uusien verisuonten muodostuttua, kasvaimen ravinteiden ja hapen saanti helpottuu ja tämä mahdollistaa kasvaimen kasvun ja etäpesäkkeiden leviämisen.

On jo pitkään tiedetty, että kehon krooninen tulehdustila kuten autoimmuunisairaus tai mikrobi-infektio edistävät syövän kehittymistä sekä leviämistä. Pitkäaikainen tulehdus altistaa soluja DNA-vaurioille ja solujen proliferaatiolle, mitkä puolestaan kasvattavat mutaatoriskiä entisestään. Syöpäsolut erittävät sytokiineja ja kasvutekijöitä, mikä luo kasvaimelle suotuisan mikroympäristön. Useissa tutkimuksissa on huomattu, että ei-steroidiset tulehduskipulääkkeet estävät uusien kasvainten syntyä sekä vähentävät syolistosyövän kuolleisuutta. Tulehduskipulääkkeiden säännöllisellä käytöllä on myös havaittu olevan suolistosyöpäriskiä alentava vaikutus (Chan ym., 2007; Koehne & Dubois, 2004). Tulehduksen alentaminen voi siis vähentää kasvaimen kasvua vähentämällä mikroympäristön kasvaimelle suotuisia oloja. Inflammasomien toiminta monien pahanlaatuisten kasvainten toiminnassa on kompleksinen, sillä inflammasomit sekä edistävät että estävät kasvainten kasvua, riippuen eri inflammasomeista ja siitä, miten ja missä vaiheessa syövän syntyä ne vaikuttavat.

3.1. Tuumorisuppressio

Tulehduksellisiin suolistosairauksiin (eng. inflammatory bowel disease, IBD), joihin kuuluvat esimerkiksi haavainen paksusuolentulehdus sekä Crohnin tauti, liittyy suurentunut riski sairastua paksu- ja peräsuolisyöpään. Paksusuolensyöpään menehtyminen on yleensä seurausta etäpesäkkeiden leviämisestä pääasiassa maksaan. On huomattu, että NLRP3 inflammasomilla voi olla suojaava vaikutus muun muassa kroonisen paksusuolentulehduksen ja krooniseen paksusuolentulehdukseen liittyvässä paksusuolensyövässä (eng. colitis associated cancer, CAC) (Allen ym., 2010). Inflammasomin heikentynyt toiminta syöpäsolussa voi johtaa lisääntyneeseen haavaiseen paksusuolentulehdukseen sekä kroonisesta paksusuolentulehduksesta johtuvaan syöpään. NLRP3 inflammasomin ilmentymisen ja samalla IL-1 β :n tuotannon vähenemisen on huomattu lisäävän alttiutta sairastua Crohnin tautiin (Villani ym., 2009).

NLRP3 ilmentyminen saa normaalitilanteessa aikaan IL-18 tuotannon, jolloin inflammasomin toiminta on paksusuolensyövässä suojaavaa, sillä IL-18 kontrolloi etäpesäkkeiden kasvua edistämällä maksan NK-solujen kypsymistä ja käynnistämällä Fas-välitteisen sytotoksisuuden. Kuitenkin, jos inflammasomin toiminta heikkenee ja IL-18 tuotanto vähenee, erityisesti paksusuolensyövän etäpesäkkeiden leviäminen maksaan pahenee, sillä NK-solujen kypsyminen ja käynnistyminen estyy (Dupaul-Chicoine ym., 2015). IL-18 saa aikaan myös IL-22BP:n vähenemisen. Koska IL-22BP toimii antagonistina IL-22:lle, IL-22BP:n väheneminen lisää proinflammatorisen IL-22:n muodostumista tulehduksessa (kuva 2). Kun tulehdus saadaan hallintaan ja toipuminen alkaa, IL-22BP:n tuotanto puolestaan lisääntyy, jolloin IL-22 toiminta vähenee. Tämä IL-22BP:n säätely on ratkaisevan tärkeää IL-22:n vaikutusten kontrolloimiseksi (Huber ym., 2012).



Kuva 2. NLRP3 saa aikaan IL-18 tuotannon, mikä suojaa krooniseen paksusuolentulehdukseen liittyvää paksusuolensyöpää vastaan, alentamalla IL-22BP:n määrää sekä säätelemällä NK-solujen toimintaa. IL-1β:n erityis lisää CD8-solujen toimintaa ehkäisten syöpää siirrettävissä syöpäkasvaimissa (Muokattu Sharma & Kanneganti, 2021).

NLR-perheen jäsen, NOD1-reseptori, säätelee paksusuolen syövän kasvainten syntyä. NOD1-reseptorin vähentynyt ilmentyminen häiritsee Wnt-signaalointia ja lisää tulehduksen aiheuttamien kasvaimien muodostumista. NOD1:n puuttuminen johtaa muun muassa lisääntyneeseen suolen pintaepiteelin apoptoosiin, joka johtaa suolen lisääntyneeseen läpäisevyyteen. Lisääntyneen läpäisevyyden seurauksena bakteereita pääsee siirtymään epiteelin läpi, mikä johtaa proinflammatoristen sytokiinien lisääntyneeseen tuotantoon ja tulehduksen syntymiseen. Tämä puolestaan johtaa suurentuneeseen solujen proliferaatioon, mikä altistaa kasvainten synnylle (Chen ym., 2008).

NLRP3 inflammasomilla on todettu olevan kasvainten syntyä ehkäisevä vaikutus heptosellulaarisessa karsinoomassa (HCC) eli maksasolusyövässä. HCC on lähes aina seurausta jostakin maksasairaudesta, kuten alkoholin käyttöön liittyvästä maksavauriosta. Inflammasomin aktivoituminen aikaansaa maksatulehduksen ja inflammasomin tehtävänä on korjata tulehdustila ja saada aikaan apoptoosi vaurioituneissa soluissa. Kuitenkin jatkuva tulehdus ja inflammasomin aktivoituminen aiheuttavat massiivisia solukuolemia, joita korjataan fibroosilla eli arpeutumisella ja maksasolujen proliferaatiolla. Jatkuva maksasolujen proliferaatio aiheuttaa mutaatioiden kerääntymisen maksasoluihin, joka johtaa dysplasiaan ja

lopulta kasvaimen kehittymiseen. Tulehduksen aikana inflammasomin määrä on siis koholla, mutta kasvaimessa inflammasomin ilmentyminen puolestaan on häiriintynyt. Maksasolusyövistä kärsivillä potilailla huomattiin, että inflammasomin ilmentyminen oli joko kokonaan loppunut tai vähentynyt verrattuna terveisiin yksilöihin. Erityisesti potilailla, joilla maksasolusyöpä oli edennyt pitkälle, inflammasomin täysi puutos oli yleistä. Myös muiden NLRP3 inflammasomin komponenttien, kuten adaptoriosan, kaspasi-1:n ja IL-1 β :n ilmentyminen on puutteellista HCC-soluissa verrattuna terveeseen maksakudokseen (Wei ym., 2014).

3.2. Syöpää lisäävät vaikutukset

Syöpäsoluja ympäröivä mikroympäristö on olennaisessa osassa kasvaimen kehittyessä pahanlaatuisiksi. Rintasyöpä on yksi syöpätyyppi, mihin inflammasomi vaikuttaa syöpää edistävasti. Rintasyövän kehityksessä on huomattu, että NLRP3 inflammasomin muodostumisen estyminen alentaa kasvaimen kasvua ja etäpesäkkeiden määrää. Toisaalta inflammasomin aktivaatio edistää kasvaimen kasvua ja etäpesäkkeiden muodostumista. Inflammasomin aktivoituminen ja IL-1 β :n tuotanto kasvaimen makrofageissa muodostavat tulehduksellisen mikroympäristön, mikä puolestaan edistää rintasyövän etenemistä. IL-1:n luonnollisella antagonistilla, IL-1R:llä on saatu vähennettyä rintasyöpäkasvainten kasvua ja etäpesäkkeiden syntyä, mikä viittaa siihen, että inflammasomin aiheuttama sytokiinituotanto liittyy vahvasti syövän syntyyn. Tällä hetkellä ei kuitenkaan tiedetä inflammasomin kasvaimen ja etäpesäkkeiden kasvua ja syntyä edistävää mekanismia. (Guo ym., 2016.)

Fibroblastit ovat kudoksen eheydestä huolehtivia soluja, joiden aktivoituminen on keskeistä kudonvauriossa, tulehduksessa ja haavan paranemisessa. Vaurioituneissa kudoksissa fibroblastit aktivoituvat, proliferoituvat ja aloittavat immuunisolujen toimintaa aktivoivien sytokiinien ja kemokiinien tuotannon. Syöpään liittyvät fibroblastit (eng. cancer-associated fibroblast, CAF) ovat osa kiinteän kasvaimen mikroympäristöä ja niitä esiintyy myös kasvaimessa. CAF:ien toimivat DAMP-sensoreina ja ne reagoivat kudonvaurioon, joka lopulta johtaa NLRP3:n muodostumiseen ja IL-1 β :n eritykseen. CAFien sytokiini-eritys helpottaa etäpesäkkeiden muodostumista, erityisesti keuhkoihin muodostuvien etäpesäkkeiden, sillä IL-1 β :n erityksellä edistää endoteelisolujen adheesiokykyä ja lisää syöpäsolujen levittäytymiskykyä. Samalla IL-1 β muuttaa immuunisolujen ympäristöä enemmän kasvainta sietäväksi. CAF:ssa on myös huomattu eroja terveiltä potilailta otetun kudoksen ja syöpäpotilailta otetun

kasvainkudoksen välillä. CAF:t siis luultavasti kehittyvät yhdessä kasvainten kanssa. (Ershaid ym., 2019.)

Inflammasomin toiminta on hyvin monimutkaista ja pro- ja antituumorinen vaikutus eri syövässä ja eri syövän vaiheissa tarvitsee edelleen lisätutkimusta. Inflammasomilla on kuitenkin syöpää edistävä vaikutus useissa eri syöpätyypeissä, myös sellaisissa, joissa inflammasomin vaikutus voi myös joissain tilanteissa olla kasvaimen kehitystä estävä. Esimerkiksi suolistosyövässä inflammasomilla voi olla kasvaimen kehitystä estävä vaikutus silloin, kun inflammasomi aktivoituu suoliston kudoksen vaurion aikana. Toisaalta, jos inflammasomi toimii kontrolloimattomasti, se edistää kasvaimen kasvua. Tämä inflammasomin suojaava ja edistävä vaikutus eri syövän vaiheissa voisi johtua siitä, että samat reitit, jotka ovat tärkeitä haavan paranemisen kannalta, voivat myös edistää kasvainten syntyä. (Huber ym., 2012.)

4. NLRP3 AKTIVAATIO METABOLISISSA SAIRAUKSISSA

Metabolinen oireyhtymä on kaikkialla maailmassa yleistynyt oireyhtymä, johon liittyy samanaikaisia häiriöitä muun muassa verensokeriarvoissa, veren rasva-arvoissa ja verenpaineessa. Vatsaonteloon kertyvä viskeraalinen rasvakudos ja ihonalainen rasva ovat erilaisia, sillä viskeraalinen rasva vapauttaa aineenvaihduntatuotteita suoraan verenkiertoon ja samalla kerää tulehdussoluja, jotka erittävät sytokiineja häiriten maksan toimintaa. Viskeraalisen rasvan aineenvaihdunta on myös nopeampaa, mikä aiheuttaa aineenvaihduntatuotteiden, kuten adipokiinien ja vapaiden rasvahappojen vapautumisen verenkiertoon. Samalla maksaan kertyy rasvaa, joka voi pahimmassa tapauksessa johtaa maksan sairastumiseen.

Synnynnäisen immuunijärjestelmän aiheuttamat tulehdusprosessit voivat johtaa elinten toimintahäiriöihin ja insuliiniresistenssiin. Metabolinen oireyhtymä aiheuttaa monia erilaisia sairauksia, kuten kakkostyypin diabetesta, liikalihavuutta ja sydän- ja verisuonitauteja. Immuunijärjestelmämme ja aineenvaihduntajärjestelmämme yhteistoiminta on tärkeää, jotta aineenvaihdunnan homeostasia saataisiin pidettyä yllä.

4.1. Diabetes ja ylipaino

Insuliiniresistenssin kehitys on keskeinen metabolinen häiriö, joka vaikuttaa tyypin 2 diabeteksen syntyyn ja liikalihavuuden syntyyn. Insuliiniresistenssin takia rasvasolujen

reagoiti insuliinin lähettämään signaalin, jonka pitäisi estää lipolyysi, on heikentynyt, mikä johtaa vapaiden rasvahappojen määrän kohoamiseen plasmassa. Vapaat rasvahapot puolestaan toimivat vaarasignaaleina, jotka voivat aktivoida inflammasomin toiminnan ja proinflammatoristen sytokiinien erityksen. Insuliiniresistenssi aiheuttaa myös mitokondrion toiminnan heikentymisen. Lihavuudesta johtuva krooninen tulehdus johtuu ensisijaisesti tulehdusta estävien M2-makrofagien fenotyypin muuttumisesta tulehdusta edistäviksi M1-makrofageiksi ja niiden hakeutumisesta rasvakudokseen, jossa ne vapauttavat proinflammatorisia sytokiinejä rasvakudokseen ja rekrytoivat proinflammatorisia immuunisoluja. Rasvasolujen insuliiniresistenssin kehittymisen on huomattu liittyvän makrofagin erittämien mediaattorien toimintaan, joka johtaa häiriöihin rasvahappojen synteesissä, jota tarvitaan glukoosin muuntamiseen varastolipidiksi (Pekala ym., 1983).

Useat tutkimukset ovat osoittaneet, että tulehduksen ja insuliiniresistenssin synnyn välillä on yhteys. Esimerkiksi proinflammatorisen sytokiinin TNF- α määrä lisääntyy valkoisessa rasvakudoksessa sekä verenkierrossa ylipainoisilla. TNF- α :n on huomattu estävän tiettyjen tärkeiden geenien ilmentymistä rasvasoluissa, kuten GLUT4:n, joka toimii glukoosin sisäänottajana soluun. TNF- α :n määrän lisääntymisen on todettu vaikuttavan antagonisesti myös PPAR- γ (eng. peroxisome proliferator-activated receptor gamma) reseptorin toimintaan. PPAR- γ säätelee rasvahappojen varastointia ja glukoosimetaboliaa. TNF- α :n toimintaa insuliiniresistenssin synnyssä tukee myös se, että TNF- α reseptorien poistaminen ylipainoisilta koe-eläimiltä vähensi riskiä sairastua ylipainon aiheuttamaan insuliiniresistenssiin. (Moller, 2000.)

IL-1 β :n ja NLRP3 inflammasomin määrä viskeraalisessa rasvakudoksessa lisääntyy kehonpainon kasvaessa. Rasvakudoksessa tällä on yhteys insuliiniresistenssin kehittymiseen. Rasvaisen ruokavalion aiheuttama liikalihavuus aiheuttaa merkittävää kaspasi-1:n aktivoitumista sekä rasvakudoksessa että maksassa, mikä puolestaan johtaa proinflammatoristen interleukiinien kuten IL-1 β :n eritykseen ja tätä kautta insuliiniresistenssin kehittymiseen. NLRP3:n poistaminen osittain vähensi ylipainosta johtuvaa kaspasi-1:n aktivoitumista viskeraalisessa rasvassa, ihonalaisessa rasvassa ja maksassa, mutta ei munuaisissa. Kaspasi-1 aktivoituu ylipainossa NLRP3-inflammasomista riippuvaista mekanismeja pitkin, mutta esimerkiksi munuaisissa tämä prosessi ei riipu NLRP3-inflammasomista ja on siten kudosspesifinen. On kuitenkin tärkeää muistaa, että NLRP3:n poistaminen ei kokonaan estä kaspasi-1:n aktivaatiota, mikä viittaa siihen, että muutkin inflammasomit vaikuttavat tähän mekanismiin. (Vandanmagsar ym., 2011.)

Korkearasvainen ruokavalio lisää makrofagien määrää rasvakudoksessa ja samalla indusoi tulehdusta, mikä puolestaan johtaa inflammasomin aktivaatioon ja kaspasi-1:n tuotantoon. Makrofagien osittainen poisto rasvakudoksesta ei kuitenkaan muuttanut kaspasi-1:n ilmentymistä, mikä viittaa siihen, että kaspasi-1 ilmentyy muissakin soluissa, esimerkiksi rasvasoluissa (Stienstra ym., 2010). Stienstra ym. osoittivat tutkimuksessaan, että kaspasi-1:n toiminnan poistaminen rasvakudoksesta aiheutti morfologisia muutoksia rasvakudoksessa, esimerkiksi rasvasolujen koko sekä kokonaisrasvamassan pieneni verrattuna yksilöihin, joilla kaspasi-1 toiminta oli normaalia. Morfologisten muutosten lisäksi he havaitsivat, että GLUT4 glukoosikuljettajan, PPAR γ :n (eng. peroxisome proliferator-activated receptor gamma) sekä adiponektiinin määrät kohosivat, mikä puolestaan johti insuliiniherkkyyden lisääntymiseen ja tehostuneeseen glukoosin sisäänottoon rasvakudoksessa. Kaspasi-1:n inhibitio ylipainoisilla yksilöillä lisäsi myös insuliiniherkkyyttä, mikä viittaa siihen, kaspasi-1:n inhibitio voisi olla potentiaalinen hoitokeino esimerkiksi tyypin 2 diabeteksessä. Kaspasi-1:n inhibition huomattiin myös vaikuttavan insuliiniherkkyyden lisääntymisen myötä yksilön painoon. Vaikka yksilöiden päivittäinen ruoan saanti oli sama, niillä joilla kaspasi-1:n tuotanto oli estetty, paino kasvoi suhteessa vähemmän kuin yksilöillä, joilla kaspasiin tuotantoa ei estetty. Tämä selittyy sillä, että kaspasi-1:n toiminnan estäminen lisäsi rasvahappojen käyttöä energialähteenä. Rasvahappojen tehokkaampi käyttö on seurausta mitokondrioiden toiminnan tehostumisesta. (Stienstra ym., 2010.)

Tyypin 2 diabeteksessä sekä ylipainoisilla yksilöillä NLRP3 aktivoituu vapaille rasvahapoille, joita vapautuu rasvakudoksesta lipolyysin aikana. Vapaat rasvahapot lisäävät insuliiniresistenssiä ja inflammasomin toimintaa. DAMP:t tunnistavat vapaat rasvahapot, joka johtaa inflammasomien muodostumiseen. Makrofagien altistuminen keramideille johtaa kaspasi-1:n aktivoitumiseen ja tätä kautta IL-1 β :n eritykseen. Tätä kaspasi-1:n aktivaatiota ei kuitenkaan pääse tapahtumaan, jos NLRP3-inflammasomia ei ole paikalla eli tämäkin reitti on NLRP3 riippuvainen. Kaiken kaikkiaan NLRP3-inflammasomista riippuvainen IL-1 β ja IL-18 erityys vasteena lihavuuteen liittyviin vaarasignaaleihin, joita solut saavat, osallistuu krooniseen proinflammatorisen tilan kehittymiseen, joka lopulta johtaa heikentyneeseen insuliiniherkkyyteen (Vandanmagsar ym., 2011.)

4.2. Ikääntyneiden metabolasairaudet

Yksilöiden immuunivaste heikkenee iän myötä, mikä altistaa muun muassa autoimmuunisairauksille ja syöville. Ikääntyessä inflammasomien toiminnan säätely heikkenee, eikä synnynnäinen immuunijärjestelmä kykene ylläpitämään sytokiinitasapainoa ja hallitsemaan tulehdusta enää yhtä tehokkaasti, mikä johtaa matala-asteiseen tulehdukseen. Tämä tulehdustila aiheuttaa ja pahentaa monia ikään liittyviä tarttumattomia sairauksia, kuten metabolasairauksia. Yksi syy siihen, miksi NLRP3 inflammasomin toiminnan säätely muuttuu ikääntyessä tehottomammaksi, on inflammasomia deasetyloivan SIRT2 entsyymin ekspresion väheneminen ikääntymisen myötä. Tämä johtaa inflammasomivälitteisen tulehduksen liialliseen pitkittymiseen makrofageissa, sekä insuliiniresistenssin syntyyn (He ym., 2020.)

Metabolasairauksiin sairastumisen riskiä nostavat erityisesti lihaksen ja rasvakudoksen hormonitoiminnan muutokset, jotka johtavat myokiinien ja adipokiinien säätelyhäiriöihin aiheuttaen kudoksen toimintahäiriöitä, lisääntyntä insuliiniresistenssiä ja heikentynyttä lipolyysiä. Katekoliamiinien aloittama lipolyysi (eng. catecholamine-induced lipolysis) vapaiksi rasvahapoiksi varastorasvoista johtuu siitä, että katekoliamiinien tarkoituksena on valmistaa ihmiskehoa fyysiseen toimintaa ja tämä tapahtuu muun muassa veren glukoosipitoisuuden nousulla. Lipolyyttinen toiminta vasteena katekoliamiineille heikkenee ikääntymisen myötä jopa puoleen siitä, mitä sama vaste on nuoremmilla yksilöillä. Tämä selittynee siten, että hormoneille herkän lipaasikompleksin aktivoituminen heikentyy iäkkäillä henkilöillä. Tämä voisi myös selittää sen, miksi iäkkäillä ihmisillä liikunnan seurauksena lipolyysi on myös heikompaa kuin nuoremmilla yksilöillä (Lönnqvist ym., 1990).

Adrenergiset reseptorit sitoutuvat moniin katekoliamiineihin, kuten noradrenaliiniin ja adrenaliiniin, ja vaikuttavat fyysistä suorituskkyä parantavasti. β -adrenoreseptorin, joka on yksi adrenergisistä reseptoreista, toiminnassa ei ole huomattu mitään eroa ikääntyneillä ihmisillä eli katekoliamiinisignointi on normaalia. Onkin epäselvää, millä mekanismeilla lipolyysi heikkenee iän myötä. Myöskään liikunnan aikaisessa plasman noradrenaliinin määrässä ei ole osoitettu eroa iäkkäiden ja nuorten välillä (Lönnqvist ym., 1990), joten noradrenaliinimäärä ei selittä heikentynyttä lipolyysiä liikunnan aikana. Heikentynyt vapaiden rasvahappojen tuotanto iäkkäillä selittää sitä, miksi iäkkäillä on kohonnut viskeraalisen rasvan tuotanto, alhaisempi liikuntakyky ja heikentynyt kyky selviytyä nälkiintymisestä (Gerber ym., 1999).

4.3. *Valtimonkovettumatauti eli ateroskleroosi*

Ateroskleroosi etenee hitaasti vuosien aikana, kun valtimon seinämiin kertyy kolesterolia ja samalla seinämät kalkkeutuvat. Kolesterolia aiheuttaa valtimon seinämiin paikallisia kovettumia eli plakkeja, jotka voivat aiheuttaa tukoksia. Ateroskleroosille altistaa muun muassa diabetes, ylipaino sekä insuliiniresistenssi.

Tollin kaltaisten reseptorien (TLR) toiminta on yhteydessä ateroskleroosin kehittymiseen. Erityisesti TLR2 ja TLR4 reseptorit ovat tärkeitä, sillä nämä reseptorit tunnistavat kolesterolin. Valtimon seinämien plakeissa olevista makrofageista on osoitettu runsaasti TLR4:ää. On osoitettu, että jos TLR4:n määrää väheni, plakissa esiintyvien makrofagien määrä väheni huomattavasti (Giamarellos-Bourboulis ym., 2009). Myös monosyyttejä tulehduspaikalle houkuttelevan MCP-1 kemokiinin määrä plakissa oli huomattavasti vähäisempi, mikä selittää makrofagien vähyyden. Myös lipidipitoisuuden huomattiin vähenevän plakeissa, mikä puolestaan johti plakkien vakautumiseen. TLR4:n puutos vähensi siis ateroskleroosin kehittymistä samalla vakauttaen plakkeja, mikä vähensi verisuonen repeytymisen riskiä.

TLR4:n lisäksi myös MYD88:n (eng. myeloid differentiation primary response 88) ilmentymisen estäminen vähensi ateroskleroosin kehittymistä. MYD88 rooli liittyy immuunisolujen aktivointiin TLR:ien kautta, sillä se on TLR:ien signaalintireitin adaptoriproteiini. On osoitettu, että samoin kuin TLR4:n poistaminen, myös MYD88:n ilmentymisen estäminen aiheutti plakin lipidipitoisuuden vähenemisen sekä makrofagien määrän vähenemisen (Giamarellos-Bourboulis ym., 2009). MYD88:n poistaminen vaikutti myös proinflammatoristen IL-12:n sekä MCP-1 tulehdussytokiinin määrään verenkierrossa, joiden määrät vähenivät huomattavasti verrattuna henkilöihin, joilla MYD88 määrää ei ollut vähennetty. MYD88:n tai TLR4:n määrien vähentäminen ei kuitenkaan johtanut seerumin kolesterolin tai lipoproteiinien vähenemiseen, eli ateroskleroosilta suojaava vaikutus ei perustu lipidimuutokseen, vaan nimenomaan paikallisen tulehduksen vähenemiseen sekä plakin koostumuksen vakauttamiseen.

NLRP3 aktivoituu ateroskleroosissa kolesterolikiteiden (eng. cholesterol crystals) vaikutuksesta. Kolesterolikiteiden laukaisema NLRP3 inflammasomin aktivaatio saa aikaan inflammasomista riippuvaisen IL-1 β tuotannon kaspasi-1:n avulla ja tulehduksen synnyn. On havaittu, että makrofageilla, jotka olivat aiemmin fagosytoineet kolesterolikiteitä, vain osa kiteistä oli fagolysosomaalisen kalvon sisällä ja osalta tämä kalvo puuttui ja kiteet sijaitsivat

sytosolissa. Tämä viittaa siihen, että kiteet aiheuttavat makrofageissa fagolysosomin repeämisen. Fagolysosomin muodostuminen on fagosyyteillä tapahtuva fuusioituminen, joka tapahtuu fagosomin ja lysosomin fuusioituessa solusyönnin aikana. Fagolysosomien muodostuminen on välttämätöntä, jotta patogeenit voidaan tuhota fagosyytin sisällä. Kolesterolikiteet siis aktivoivat NLRP3 inflammasomia aikaansaamalla lysosomaalisia vaurioita (Düwell ym., 2010).

Jos hiirille syötettiin korkeakolesterolista ruokavaliota, kolesterolikiteitä saatiin ilmaantumaan jo kahden viikon jälkeen. Kiteiden syntyminen ja immuunisolujen kerääntyminen paikalle lisääntyivät jos korkeakolesterolista ruokavaliota jatkettiin. Jos inflammasomin toiminta estettiin, korkeakolesterolinen ruokavalio aiheutti huomattavasti vähemmän ateroskleroosin syntyä verrattuna yksilöihin, joilla inflammasomin toiminta oli täysin normaalia. NLRP3 inflammasomi on siis ateroskleroosin synnyssä tärkeä tekijä ja aktivoituminen tapahtuu kolesterolikiteiden toimiessa vaarasignaaleina. (Düwell ym., 2010.)

Kaulavaltimon ateroskleroosissa esiintyvissä plakkimuodostumissa ilmentyy voimakkaasti NLRP3 inflammasomin komponentteja, kuten kaspasi-1, IL-1 β , IL-18 ja NLRP3. Valtimoissa, joissa ei ole ateroskleroosia, lisääntynyttä ilmentymistä ei havaittu. NLRP3 inflammasomin suurentunut määrä pystyttiin paikallistamaan makrofageihin ja vaahtosoluihin (eng. foam cells). Vaahtosolut ovat makrofageja, jotka ovat täyttyneet LDL-kolesterolipisaroilla ja muuttuneet liikuntakyvyttömiksi. Nämä vaahtosolut lopulta rikkoutuvat ja kuolevat, jääden plakkiin kiinni ja tehden siitä epästabiilin. Ajan myötä makrofagien liiallinen kuolema hankaloittaa niiden poistamista fagosytoosilla. Vaahtosolujen kasauma suonon seinämässä näkyy ensin pienenä rasvakeräymänä, mutta pidempään jatkuessa rasvakeräymä kehittyy rasvajuovaksi. Nämä rasvajuovat ovat ateroskleroosin esiasteita, eli ne voivat vielä hävitä elintapoja muuttamalla. Näyttäisi siltä, että NLRP3-inflammasomin toiminta kiihdyttäisi kolesterolikiteiden muodostumista sekä aiheuttaisi plakin epästabiilisuutta ja lisäisi repeämisriskiä (Shi ym., 2015).

5. YHTEENVETO

Inflammasomeja havaittiin ensimmäisen kerran vasta vuonna 2002, minkä jälkeen niiden erilaisia tehtäviä ja toimintaa synnyntäisessä immuunipuolustuksessa on tutkittu aktiivisesti. Ensimmäisenä karakterisoitiin NLRP1-inflammasomi, minkä jälkeen muita NLR-perheen inflammasomeja löydettiin nopeasti lisää. Vasta 2008 karakterisoitiin ensimmäinen NLR-perheeseen

kuulumaton inflammasomi. Tämä selittää sen, miksi NLR-perheen inflammasomeja on tutkittu huomattavasti enemmän ja niiden toiminnasta onkin paljon enemmän tutkimustietoa.

Perinteisesti inflammasomien toimintaa on tutkittu makrofageissa, sillä niiden rooli synnynnäisessä immuunipuolustuksessa ja inflammasomin aktivaatiossa on hyvin merkittävä. Tutkimukset ovat lisänneet ymmärrystämme monien eri sairauksien syntymekanismeista, kuten eri metabolia sairauksien ja kroonisen tulehduksen yhteydestä, johon inflammasomien aiheuttama tulehdus liittyy. Perustutkimuksen määrä on edelleen liian vähäistä ja siksi ei edelleenkään täysin tunneta inflammasomien toimintamekanismeja. On epäselvää, miten inflammasomi voi samanaikaisesti lisätä ja vähentää sairastumisriskiä eri syövissä ja metabolia sairauksissa. Ongelmaksi muodostuu myös se, että useat eri inflammasomit toimivat samoissa taudeissa ja niiden toiminta on usein päällekkäistä. Inflammasomien toimintaan vaikuttavien kohdistettujen lääkkeiden kehittäminen voi olla tulevaisuudessa hyvinkin lupaava lääkekehityskohde, kun tutkimustietoa saadaan lisää.

6. LÄHTEET

- Allen, I. C., TeKippe, E. M., Woodford, R.-M. T., Uronis, J. M., Holl, E. K., Rogers, A. B., Herfarth, H. H., Jobin, C., & Ting, J. P.-Y. (2010). The NLRP3 inflammasome functions as a negative regulator of tumorigenesis during colitis-associated cancer. *Journal of Experimental Medicine*, 207(5), 1045–1056. <https://doi.org/10.1084/jem.20100050>
- Bakele, M., Joos, M., Burdi, S., Allgaier, N., Pöschel, S., Fehrenbacher, B., Schaller, M., Marcos, V., Kümmerle-Deschner, J., Rieber, N., Borregaard, N., Yazdi, A., Hector, A., & Hartl, D. (2014). Localization and Functionality of the Inflammasome in Neutrophils. *Journal of Biological Chemistry*, 289(8), 5320–5329. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.505636>
- Bauernfeind, F. G., Horvath, G., Stutz, A., Alnemri, E. S., MacDonald, K., Speert, D., Fernandes-Alnemri, T., Wu, J., Monks, B. G., Fitzgerald, K. A., Hornung, V., & Latz, E. (2009). Cutting Edge: NF- κ B Activating Pattern Recognition and Cytokine Receptors License NLRP3 Inflammasome Activation by Regulating NLRP3 Expression. *The Journal of Immunology*, 183(2), 787–791. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901363>
- Cai, X., Chen, J., Xu, H., Liu, S., Jiang, Q.-X., Halfmann, R., & Chen, Z. J. (2014). Prion-like Polymerization Underlies Signal Transduction in Antiviral Immune Defense and Inflammasome Activation. *Cell*, 156(6), 1207–1222. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.01.063>
- Chan, A. T., Ogino, S., & Fuchs, C. S. (2007). Aspirin and the Risk of Colorectal Cancer in Relation to the Expression of COX-2. *New England Journal of Medicine*, 356(21), 2131–2142. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa067208>
- Chen, G. Y., Shaw, M. H., Redondo, G., & Núñez, G. (2008). The Innate Immune Receptor Nod1 Protects the Intestine from Inflammation-Induced Tumorigenesis. *Cancer Research*, 68(24), 10060–10067. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2061>
- Duewell, P., Kono, H., Rayner, K. J., Sirois, C. M., Vladimer, G., Bauernfeind, F. G., Abela, G. S., Franchi, L., Núñez, G., Schnurr, M., Espevik, T., Lien, E., Fitzgerald, K. A., Rock, K. L., Moore, K. J., Wright, S. D., Hornung, V., & Latz, E. (2010). NLRP3 inflammasomes are required for

- atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature*, 464(7293), 1357–1361.
<https://doi.org/10.1038/nature08938>
- Duncan, J. A., Bergstralh, D. T., Wang, Y., Willingham, S. B., Ye, Z., Zimmermann, A. G., & Ting, J. P.-Y. (2007). Cryopyrin/NALP3 binds ATP/dATP, is an ATPase, and requires ATP binding to mediate inflammatory signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(19), 8041–8046. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611496104>
- Dupaul-Chicoine, J., Arabzadeh, A., Dagenais, M., Douglas, T., Champagne, C., Morizot, A., Rodrigue-Gervais, I. G., Breton, V., Colpitts, S. L., Beauchemin, N., & Saleh, M. (2015). The Nlrp3 Inflammasome Suppresses Colorectal Cancer Metastatic Growth in the Liver by Promoting Natural Killer Cell Tumoricidal Activity. *Immunity*, 43(4), 751–763.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.08.013>
- Ershaid, N., Sharon, Y., Doron, H., Raz, Y., Shani, O., Cohen, N., Monteran, L., Leider-Trejo, L., Ben-Shmuel, A., Yassin, M., Gerlic, M., Ben-Baruch, A., Pasmanik-Chor, M., Apte, R., & Erez, N. (2019). NLRP3 inflammasome in fibroblasts links tissue damage with inflammation in breast cancer progression and metastasis. *Nature Communications*, 10(1), 4375.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-12370-8>
- Franchi, L., Eigenbrod, T., & Núñez, G. (2009). Cutting Edge: TNF- α Mediates Sensitization to ATP and Silica via the NLRP3 Inflammasome in the Absence of Microbial Stimulation. *The Journal of Immunology*, 183(2), 792–796. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900173>
- Gerber, J. G., Detmar-Hanna, D., & Zahniser, N. R. (1999). Lack of an Effect of Age on α -Adrenoceptor—Mediated Lipolysis in Isolated Human Adipocytes. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 54(2), B71–B77.
<https://doi.org/10.1093/gerona/54.2.B71>
- Giamarellos-Bourboulis, E. J., Mouktaroudi, M., Bodar, E., Van Der Ven, J., Kullberg, B.-J., Netea, M. G., & Van Der Meer, J. W. M. (2009). Crystals of monosodium urate monohydrate enhance lipopolysaccharide-induced release of interleukin 1 β by mononuclear cells through a caspase 1-

- mediated process. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 68(2), 273–278.
<https://doi.org/10.1136/ard.2007.082222>
- Guo, B., Fu, S., Zhang, J., Liu, B., & Li, Z. (2016). Targeting inflammasome/IL-1 pathways for cancer immunotherapy. *Scientific Reports*, 6(1), 36107. <https://doi.org/10.1038/srep36107>
- He, M., Chiang, H.-H., Luo, H., Zheng, Z., Qiao, Q., Wang, L., Tan, M., Ohkubo, R., Mu, W.-C., Zhao, S., Wu, H., & Chen, D. (2020). An Acetylation Switch of the NLRP3 Inflammasome Regulates Aging-Associated Chronic Inflammation and Insulin Resistance. *Cell Metabolism*, 31(3), 580-591.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.01.009>
- He, W., Wan, H., Hu, L., Chen, P., Wang, X., Huang, Z., Yang, Z.-H., Zhong, C.-Q., & Han, J. (2015). Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion. *Cell Research*, 25(12), 1285–1298. <https://doi.org/10.1038/cr.2015.139>
- Hornung, V., Ablasser, A., Charrel-Dennis, M., Bauernfeind, F., Horvath, G., Caffrey, Daniel. R., Latz, E., & Fitzgerald, K. A. (2009). AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature*, 458(7237), 514–518.
<https://doi.org/10.1038/nature07725>
- Huber, S., Gagliani, N., Zenewicz, L. A., Huber, F. J., Bosurgi, L., Hu, B., Hedl, M., Zhang, W., O'Connor, W., Murphy, A. J., Valenzuela, D. M., Yancopoulos, G. D., Booth, C. J., Cho, J. H., Ouyang, W., Abraham, C., & Flavell, R. A. (2012). IL-22BP is regulated by the inflammasome and modulates tumorigenesis in the intestine. *Nature*, 491(7423), 259–263.
<https://doi.org/10.1038/nature11535>
- Jin, T., Perry, A., Jiang, J., Smith, P., Curry, J. A., Unterholzner, L., Jiang, Z., Horvath, G., Rathinam, V. A., Johnstone, R. W., Hornung, V., Latz, E., Bowie, A. G., Fitzgerald, K. A., & Xiao, T. S. (2012). Structures of the HIN Domain:DNA Complexes Reveal Ligand Binding and Activation Mechanisms of the AIM2 Inflammasome and IFI16 Receptor. *Immunity*, 36(4), 561–571.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.02.014>

- Kajiwara, Y., Schiff, T., Voloudakis, G., Gama Sosa, M. A., Elder, G., Bozdagi, O., & Buxbaum, J. D. (2014). A Critical Role for Human Caspase-4 in Endotoxin Sensitivity. *The Journal of Immunology*, *193*(1), 335–343. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1303424>
- Kayagaki, N., Warming, S., Lamkanfi, M., Walle, L. V., Louie, S., Dong, J., Newton, K., Qu, Y., Liu, J., Heldens, S., Zhang, J., Lee, W. P., Roose-Girma, M., & Dixit, V. M. (2011). Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature*, *479*(7371), 117–121. <https://doi.org/10.1038/nature10558>
- Koehne, C.-H., & Dubois, R. N. (2004). COX-2 inhibition and colorectal cancer. *Seminars in Oncology*, *31*, 12–21. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2004.03.041>
- Lönnqvist, F., Nyberg, B., Wahrenberg, H., & Arner, P. (1990). Catecholamine-induced lipolysis in adipose tissue of the elderly. *Journal of Clinical Investigation*, *85*(5), 1614–1621. <https://doi.org/10.1172/JCI114612>
- Moller, D. E. (2000). Potential Role of TNF- α in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *11*(6), 212–217. [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(00\)00272-1](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00272-1)
- Ng, A., & Xavier, R. J. (2011). Leucine-rich repeat (LRR) proteins: Integrators of pattern recognition and signaling in immunity. *Autophagy*, *7*(9), 1082–1084. <https://doi.org/10.4161/auto.7.9.16464>
- Pekala, P., Kawakami, M., Vine, W., Lane, M. D., & Cerami, A. (1983). Studies of insulin resistance in adipocytes induced by macrophage mediator. *The Journal of Experimental Medicine*, *157*(4), 1360–1365. <https://doi.org/10.1084/jem.157.4.1360>
- Perregaux, D., & Gabel, C. A. (1994). Interleukin-1 beta maturation and release in response to ATP and nigericin. Evidence that potassium depletion mediated by these agents is a necessary and common feature of their activity. *Journal of Biological Chemistry*, *269*(21), 15195–15203. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)36591-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)36591-2)

- Sadatomi, D., Nakashioya, K., Mamiya, S., Honda, S., Kameyama, Y., Yamamura, Y., Tanimura, S., & Takeda, K. (2017). Mitochondrial function is required for extracellular ATP-induced NLRP3 inflammasome activation. *Journal of Biochemistry*, mvw098. <https://doi.org/10.1093/jb/mvw098>
- Sharma, B. R., & Kanneganti, T.-D. (2021). NLRP3 inflammasome in cancer and metabolic diseases. *Nature Immunology*, 22(5), 550–559. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-00886-5>
- Shi, J., Zhao, Y., Wang, K., Shi, X., Wang, Y., Huang, H., Zhuang, Y., Cai, T., Wang, F., & Shao, F. (2015). Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 526(7575), 660–665. <https://doi.org/10.1038/nature15514>
- Shi, X., Xie, W.-L., Kong, W.-W., Chen, D., & Qu, P. (2015). Expression of the NLRP3 Inflammasome in Carotid Atherosclerosis. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 24(11), 2455–2466. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.03.024>
- Stienstra, R., Joosten, L. A. B., Koenen, T., Van Tits, B., Van Diepen, J. A., Van Den Berg, S. A. A., Rensen, P. C. N., Voshol, P. J., Fantuzzi, G., Hijmans, A., Kersten, S., Müller, M., Van Den Berg, W. B., Van Rooijen, N., Wabitsch, M., Kullberg, B.-J., Van Der Meer, J. W. M., Kanneganti, T., Tack, C. J., & Netea, M. G. (2010). The Inflammasome-Mediated Caspase-1 Activation Controls Adipocyte Differentiation and Insulin Sensitivity. *Cell Metabolism*, 12(6), 593–605. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.11.011>
- Vandanmagsar, B., Youm, Y.-H., Ravussin, A., Galgani, J. E., Stadler, K., Mynatt, R. L., Ravussin, E., Stephens, J. M., & Dixit, V. D. (2011). The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nature Medicine*, 17(2), 179–188. <https://doi.org/10.1038/nm.2279>
- Villani, A.-C., Lemire, M., Fortin, G., Louis, E., Silverberg, M. S., Collette, C., Baba, N., Libioulle, C., Belaiche, J., Bitton, A., Gaudet, D., Cohen, A., Langelier, D., Fortin, P. R., Wither, J. E., Sarfati, M., Rutgeerts, P., Rioux, J. D., Vermeire, S., ... Franchimont, D. (2009). Common variants in

- the NLRP3 region contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nature Genetics*, *41*(1), 71–76.
<https://doi.org/10.1038/ng.285>
- Walev, I., Reske, K., Palmer, M., Valeva, A., & Bhakdi, S. (1995). Potassium-inhibited processing of IL-1 beta in human monocytes. *The EMBO Journal*, *14*(8), 1607–1614.
<https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb07149.x>
- Wandel, M. P., Kim, B.-H., Park, E.-S., Boyle, K. B., Nayak, K., Lagrange, B., Herod, A., Henry, T., Zilbauer, M., Rohde, J., MacMicking, J. D., & Randow, F. (2020). Guanylate-binding proteins convert cytosolic bacteria into caspase-4 signaling platforms. *Nature Immunology*, *21*(8), 880–891. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0697-2>
- Wei, Q., Mu, K., Li, T., Zhang, Y., Yang, Z., Jia, X., Zhao, W., Huai, W., Guo, P., & Han, L. (2014). Deregulation of the NLRP3 inflammasome in hepatic parenchymal cells during liver cancer progression. *Laboratory Investigation*, *94*(1), 52–62.
<https://doi.org/10.1038/labinvest.2013.126>
- Xing, Y., Yao, X., Li, H., Xue, G., Guo, Q., Yang, G., An, L., Zhang, Y., & Meng, G. (2017). Cutting Edge: TRAF6 Mediates TLR/IL-1R Signaling-Induced Nontranscriptional Priming of the NLRP3 Inflammasome. *The Journal of Immunology*, *199*(5), 1561–1566.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700175>
- Yang, J., Zhao, Y., Shi, J., & Shao, F. (2013). Human NAIP and mouse NAIP1 recognize bacterial type III secretion needle protein for inflammasome activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(35), 14408–14413. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306376110>