

## **STUDIO DELL'INFLAMMASOMA NLRP3 E RUOLO DELLA PROTEINA NLRP12 NEL SUO ASSEMBLAGGIO IN RISPOSTA AD ALLERGENI DA CONTATTO DI DIVERSA POTENZA**

Lossani C., Pisapia M., Papale A., Viscardi V., Galbiati V., Corsini E.

*Disfeb, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia*

L'inflammasoma Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3) è un complesso proteico multimerico formato da NLRP3, dalla proteina adattatrice ASC e dalla caspasi-1. Stress, patogeni e sostanze tossiche sono in grado di attivare l'inflammasoma, portando all'attivazione della caspasi-1 e alla successiva maturazione dell'interleuchina-18 (IL-18) e interleuchina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ).

Da studi precedenti condotti nel nostro laboratorio è stato dimostrato che NLRP12 è un regolatore negativo dell'attivazione dell'inflammasoma: in seguito ad esposizione ad allergeni da contatto classificati come forti ed estremi, quali p-fenilendiammina (PPD) e 2,4-dinitroclorobenzene (DNCB) rispettivamente, in una linea cellulare di cheratinociti umani NCTC2544 si osserva una riduzione nell'espressione di NLRP12 correlata ad un'attivazione della caspasi-1 e conseguente produzione di IL-18 matura.

In questo studio abbiamo voluto valutare mediante analisi Western blot l'espressione delle proteine che compongono l'inflammasoma NLRP3, l'attivazione della caspasi-1 e mediante co-immunoprecipitazione la localizzazione di NLRP12 all'interno dell'inflammasoma. Entrambi gli allergeni da contatto sono stati in grado di attivare la caspasi-1 con cinetiche differenti ricollegabili alla loro diversa potenza in vivo: con DNCB in grado di attivare più rapidamente la caspasi-1 e la produzione di IL-18. Lo scopo dei successivi esperimenti di co-immunoprecipitazione è stato quello di studiare il possibile legame tra NLRP12 e caspasi-1, ASC e NLRP3, utilizzando specifici anticorpi. I risultati ottenuti indicano che in seguito ad esposizione ad allergeni di diversa potenza (PPD, DNCB) per tempi diversi (3 e 24h) le proteine che formano l'inflammasoma si legano a NLRP12 con cinetiche differenti. In particolare, in seguito ad esposizione di 3h a PPD e DNCB tutte le proteine dell'inflammasoma risultano assemblate. In seguito, invece, ad esposizione di 24h con PPD e DNCB ASC e caspasi-1, rispettivamente, non risultano assemblate al complesso.

In conclusione, i risultati suggeriscono che allergeni di diversa potenza attivano con cinetiche diverse l'inflammasoma NLRP3 e conseguente la produzione di IL-18.