

環境応答機構の破綻がもたらす炎症誘導による血管内皮機能障害の機序解明

市原佐保子

自治医科大学医学部 環境予防医学講座

【研究の背景】

循環器疾患は、遺伝因子と環境因子の相互作用によって発症する多因子疾患である。これまでに、PM2.5(微小粒子状物質)と心血管疾患の発症や死亡率との相関関係に加え、飲料水中のヒ素曝露量と冠動脈疾患の罹患率との関連性、カドミウムの曝露と頸動脈におけるアテローム硬化性プラークの大きさとの相関関係が報告され、環境による生体影響に対する新たな視点として、環境化学物質による心血管系臓器への影響が注目され、そのリスク評価や毒性機序の解明が待たれている。我々は、物理化学的環境要因として、微小粒子に着目し、粒子曝露による心血管疾患の発生機序を検討するために、酸化金属粒子工場調査を実施し、超微小粒子濃度と心拍変動との関連を解析し、環境中の超微小粒子濃度の上昇が自律神経機能に影響を及ぼすことを報告した¹⁾。また、酸化金属ナノ粒子等は、動脈硬化の最初の過程である単球の血管内皮細胞への接着と侵入を亢進させ、その誘因として遊走因子や接着分子が増加するなど、動脈硬化の進展に炎症誘導機構が関与していることを明らかにした^{2,3)}。これまでに、アスベストやケイ素などによる肺の炎症反応においてインフラマソームが重要な役割を果たすことがわかってきた。また、最近、インフラマソームは動脈硬化の形成にも関与していることが明らかになった。今後、環境要因による炎症誘導機構に着目した心血管疾患の病態発現機構の解明が望まれている。

【目 的】

血管疾患は、喫煙、運動不足、不健康な飲食などが原因であり、個人の生活習慣の改善により予防可能な疾患の一つであると考えられているが、近年、大気汚染や土壌汚染などの原因となる環境化学物質が心血管疾患の発症を増加させているとの指摘もある。本研究では、環境要因による炎症作用に注目し、インフラマソームのアダプタータンパク質:ASC の調整機構を解明し、インフラマソーム構成タンパクを介した血管における炎症誘導機構を明らかにすることを目的とする。

【方 法】

① 動脈硬化モデル動物を使用したインフラマソームを介した血管に対する影響評価

我々は、すでに凝集したナノマテリアルを動物投与用に液中で分散させる技術を確立しているため⁴⁾、現在、国内外の橋梁・トンネルや家屋等の建設現場に、ひび割れたコンクリートを補強する目的で使用されている『繊維補強コンクリート』に含まれるカーボンナノチューブ(CNT)を液中分散させ、動脈硬化症モデルマウスである ApoEKO マウスに、1週間に1回咽頭内投与し、8週間後に大動脈弓を採取し、オイルレッド染色にて動脈硬化性プラーク病変の程度を評価した。また、胸部大動脈における、インフラマソーム構成タンパクである NLRP3・SREBP2・MCP-1・ICAM-1 遺伝子の発現を解析した。

② インフラマソームのアダプタータンパク質:ASC の調整機構の解明

ヒト臍帯静脈血管内皮細胞(HUVECs)を培養し、長さの違う2種類の上記CNTを投与し、インフラマソーム構成因子であるASCを蛍光色素で免疫染色し、ASCスペック形成への影響を検討した。また、カスパーゼ1およびインターロイキン1-betaの活性を分析した。

【結 果】

CNT は、short と long の長さの違う 2 種類を、0, 10, 40 μ g の濃度で 1 週間に 1 回、連続 8 週間、咽頭吸引法により ApoEKO マウスに投与した。その結果、CNT の高濃度投与にて、ApoEKO マウスの大動脈弓における粥腫面積が増加した。また、インフラマソームの中心的構成因子である NLRP3 の発現と、サイトカイン (MCP-1) および炎症性因子 (ICAM-1) の発現は、長い CNT の高濃度投与群で有意に増加していた。培養細胞の実験では、HUVECs への CNT の高濃度投与で、ASC の細胞内での凝集が促進していた。Western blot 解析により、CNT 投与によるカスパーゼ 1 およびインターロイキン 1-beta のレベルの有意な増加を確認した。

【考 察】

本研究結果より、CNT の高濃度の曝露は、インフラマソームを構成する連結因子である ASC の細胞内での凝集を促進し、インフラマソームを活性化させ、動脈硬化を惹起する可能性が示唆された。心血管疾患は、死因の中で大きな比重を占め、遺伝要因および環境要因の解明が待たれているが、環境要因としては、これまで喫煙以外の環境化学物質の関与について十分な研究はされていない。本研究では、物理化学的環境要因として環境中に飛散するナノサイズの物質の血管系への影響に注目し、血管内皮障害におけるインフラマソームのアダプタータンパク質:ASC の関与を明らかにした。最近、心血管疾患や生活習慣病・老化では、炎症がゆるやかに進行する慢性炎症が共通の基盤病態であると言われているため、炎症応答に重要なインフラマソーム制御の役割の解明は、環境要因による毒性評価に役立つのみならず、生活習慣による循環器疾患の病態解明や発症予防法の確立に発展すると考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

食生活、喫煙、行動をはじめとする環境要因に加え、環境化学物質や新規化学物質による循環器系への影響が注目され、「Environmental Cardiology」(環境心臓病学)という新しい学際分野が提唱されている。本研究の遂行により、心血管システムにおける炎症誘導による動脈硬化発生病序の理解が可能となる。また、血管内皮細胞障害を惹起する炎症誘導機構の解明は、他の環境ストレスによる心血管系をはじめとする各臓器の炎症反応の発生病序の理解につながり、生活習慣病全般の一次・二次予防の推進に寄与すると期待できる。

【参考・引用文献】

- 1) Ichihara S, Li W, Omura S, Fujitani Y, Liu Y, Wang Q, Hiraku Y, Hisanaga N, Wakai K, Ding X, Kobayashi T, Ichihara G. Exposure assessment and heart rate variability monitoring in workers handling titanium dioxide particles—a pilot study. *J Nanopart Res* 2016;18:52.
- 2) Suzuki Y, Tada-Oikawa S, Ichihara G, Yabata M, Izuoka K, Suzuki M, Sakai K, Ichihara S. Zinc oxide nanoparticles induce migration and adhesion of monocytes to endothelial cells and accelerate foam cell formation. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014;278:16-25.
- 3) Suzuki Y, Tada-Oikawa S, Hayashi Y, Izuoka K, Kataoka M, Ichikawa S, Wu W, Zong C, Ichihara G, Ichihara S. Single- and double-walled carbon nanotubes enhance atherosclerogenesis by promoting monocyte adhesion to endothelial cells and endothelial progenitor cell dysfunction. *Part Fibre Toxicol* 2016;13:54.
- 4) Wu W, Ichihara G, Suzuki Y, Izuoka K, Oikawa-Tada S, Chang J, Sakai K, Miyazawa K, Porter D, Castranova V, Kawaguchi M, Ichihara S. Dispersion method for safety research on manufactured nanomaterials. *Ind Health* 2014;52:54-65.