

血管内皮細胞における自然免疫機構が糖尿病性血管機能障害の発症に与える影響の検討

福田大受

徳島大学大学院医歯薬学研究部 心臓血管病態医学分野

【研究の背景】

高血糖が原因で生じる血管の無菌性慢性炎症が、糖尿病性血管障害の初期段階である血管内皮機能障害を引き起こすが、その機序の解明は不十分である。近年、障害を受けた細胞から遊離する内因性リガンドが慢性炎症を惹起し、生活習慣病など様々な病態に関与する事が明らかになってきた。我々も、これまでに肥満脂肪細胞由来の遊離 DNA 断片が、DNA 断片認識受容体の 1 つである Toll 様受容体 (TLR) 9 を活性化し、脂肪組織の炎症やインスリン抵抗性の発症に関与する事を報告してきた。細胞内 DNA 断片認識受容体には、TLR9 以外にも stimulator of IFN gene (STING) も知られるが、STING の糖尿病性血管内皮機能障害への関与は検討されていない。

【目 的】

糖尿病性血管内皮機能障害の発症における、血管内皮細胞の細胞内核酸センサー STING の役割を検討する。

【方 法】

- 1) STING 欠損が血管弛緩反応に与える影響の検討
野生型 (WT) マウスと STING 欠損 (KO) マウスにストレプトゾトシン (STZ) を腹腔内投与することで糖尿病を誘導し、大動脈リング標本を用いて血管内皮依存性血管弛緩反応と血管内皮非依存性血管弛緩反応を、それぞれアセチルコリン (Ach) とニトログリセリン (SNP) を作用させることで比較検討する。また、WT マウスと STING KO マウスから大動脈リング標本を採取し、STING アゴニストである cGAMP とともに培養し、血管弛緩反応を検討する。また、採取した大動脈における RNA 発現を定量的 RT-PCR (qPCR) で、蛋白発現を western blot で解析する。
- 2) STING がヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) の炎症性活性化に与える影響の検討
HUVEC に STING アゴニストである cGAMP を作用させ、HUVEC における炎症性物質の発現やシグナルを検討する。

【結 果】

- 1) 糖尿病は血管における STING の発現を増加させる
STZ により糖尿病を発症させた野生型マウスでは、通常血糖マウスと比較して、大動脈における STING の発現が RNA レベルと蛋白レベルの両方で有意に増加していた。
- 2) STING の欠損は糖尿病性血管内皮機能障害の発症を抑制する
STZ 投与によって、WT マウスと STING KO マウスともに、同程度の血糖上昇を認め、脂質レベルにも差は認められなかった。糖尿病 WT マウスは、正常血糖 WT マウスと比較して、有意に、アセチルコリン誘導性の内皮依存性血管弛緩反応が悪化していたが、STING KO マウスでは、同様の血管内皮機能障害は認められなかった。一方、血管内皮非依存性血管弛緩反応は、両系統で変化は見られなかった。また、ex vivo で STING アゴニストである cGAMP と

大動脈リング標本を培養すると、cGAMP を作用させた WT マウス由来の大動脈は、内皮依存性血管弛緩反応が悪化したが、STING KO マウス由来の大動脈標本では、同様の所見は認められなかった。

3) STING は血管内皮細胞の炎症性活性化を促進する

HUVEC を cGAMP で刺激すると、vascular cell adhesion molecule-1 (VCMA-1) や monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)、Interferon- β (IFN- β) などの炎症性物質の発現が有意に増加した。また、cGAMP の刺激により、TANK-binding kinase 1 (TBK-1) のリン酸化と IRF-3 のリン酸化が生じることがわかった。さらに、TBK-1 の阻害薬の存在下で、上述の炎症性物質の発現が抑制されることから、TBK-1-IRF-3 シグナルの活性化が、STING を介した血管内皮細胞の炎症性活性化に関与することが示唆された。

【考 察】

血管内皮細胞は、血管だけでなく全身の恒常性維持に重要である。近年では血管内皮細胞の自然免疫への関与も報告されているが、疾患病態との関係は明らかにはなっていない。我々の研究結果は、STING の欠損により、糖尿病性血管内皮機能障害の発症や血管内皮細胞の炎症性活性化が抑制されることを示唆しており、本研究によって、「細胞内 DNA 断片認識受容体である STING が、高血糖下で遊離した DNA 断片を認識し、血管内皮細胞の慢性炎症を惹起することで糖尿病性血管内皮機能障害を発症させる」という糖尿病性血管内皮機能障害の新規メカニズムを明らかにすることができた。今後は、糖尿病性血管障害の発症リスクや治療効果判定に応用可能な新規バイオマーカーとしての STING 活性化メカニズムの可能性を検討するだけでなく、STING を標的とした血管内皮細胞の慢性炎症の抑制を介した、糖尿病性血管内皮機能障害の新規治療方法開発を目指す予定である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

生活習慣の変化により、世界中で糖尿病が増加している。我が国も例外ではなく、特に申請者の所属先がある徳島県は、糖尿病の有病率が高く、糖尿病死亡率も高い状態が続いている。糖尿病の最大の合併症は血管病であり、その予防こそが、糖尿病患者の予後改善に重要である。しかし、現在の血糖降下を主体とする糖尿病治療では、その予防・改善効果は不十分である。本研究の実現により、糖尿病性血管障害の発症に関する新規メカニズムを解明することは、新しい治療方法の開発につながる可能性があり、現代人類の最大の健康問題の解決方法の開発に発展することが期待される。