

■受領No.1346

ゲートウェイ反射と炎症回路に基づいた外来微粒子に対する生体応答の解析

代表研究者

上村 大輔 北海道大学遺伝子病制御研究所 講師



1. 研究目的

大気汚染が深刻化する現代社会において、PM2.5は、結晶性シリカなどと同様の発がん性リスクが最も高いグループ1に分類された。ディーゼル排気微粒子や黄砂などについても同様の懸念がある。特に日本では、自国のみならず近隣国からの有害微粒子の飛来がニュースにも取り上げられ、微粒子による健康被害は国民の関心事項になっている。このような微粒子の体内への取り込みの主な経路は、吸入による呼吸器への暴露である。実際に、結晶性シリカによるじん肺、肺がんのリスクは以前より指摘されている。しかし、微粒子の吸入からじん肺や肺がんなどの呼吸器疾患の発症までは長期間を要すること、そして臓器・細胞レベルでの微粒子認識機構やそれに対する生体応答機構などがあまり理解されていないことが、微粒子による肺疾患の効果的な治療法開発の妨げとなっていると考えられる。本提案では、これら微粒子による影響が大きい呼吸器を研究対象として、「炎症回路」および「ゲートウェイ反射」という独自の視点から疾患モデルを利用した遺伝子レベルの網羅的研究、イメージング研究などを行い、微粒子による呼吸器炎症・発がん機構をより深く理解することを目的とする。これは、将来的に新たな治療法開発に繋がり、ヒトと社会に大きく貢献する。

2. 研究内容

我々の研究室では、慢性炎症性疾患の根底にある炎症誘導機構の分子メカニズムとして「炎症回路」

を、そして固有の神経活性化によって炎症回路を介して局所炎症応答が制御されるという「ゲートウェイ反射」を発見している。炎症回路は、活性化した免疫細胞から産生されるIL-17、IFN γ やTNF α といったサイトカインなどが、血管内皮細胞や気管支上皮細胞などの非免疫細胞に作用して生じる転写因子NF- κ BとSTAT3の同時活性化によって、IL-6、ケモカイン、増殖因子などを局所に非免疫細胞から大量発現させる機構である。炎症回路は、関節リウマチモデル、多発性硬化症モデルなど数多くの疾患動物モデルの慢性炎症病態の誘導に不可欠であり、また慢性炎症性疾患の臨床検体においても炎症回路の活性化している証拠を我々は得ている。一方でゲートウェイ反射は、特異的な神経回路活性化が、特異的な血管の状態を炎症回路の活性化を介して機能的に変化させ、免疫細胞を臓器局所へ侵入させる機構である。神経細胞による炎症回路への増強効果は、神経伝達物質であるノルエピネフリンやATPによる非免疫細胞内のNF- κ B活性化増強作用が深く関連している。このような背景のもと、呼吸器に深刻なダメージをもたらす微粒子が、炎症回路活性化を介して肺に炎症病態やその後の線維化、そして腫瘍形成を促進するのではないかと仮定した。

空気中の微粒子は、呼吸によって取り込まれた後、肺胞マクロファージによって主に感知されると考えられているが、肺の上皮細胞など非免疫細胞の役割を検討するために、ヒト肺気管支上皮細胞株を用いて、結晶シリカが炎症応答を直接惹起するかどうか実験を行った。その結果、結晶シリカは、濃度依存的にヒト肺気管支上皮細胞株からIL-6産生を誘導し、そしてTNF α 存在下では、IL-6産生量がさらに増大した(図1)。この結果は、気管支上皮細胞を含む肺の非免疫細胞が肺の局所炎症に関与する可能性、そしてTNF α などの炎症性サイトカイン存在下ではさらにその炎症応答が増強する可能性を示唆している。

次に、マウスにおいて、結晶シリカの暴露が、肺の炎症に続く腫瘍化を誘導するのか検討した。我々は、IL-6 受容体に変異を導入することで IL-6 シグナル伝達のネガティブフィードバック機構が欠損し炎症回路が増強している F759 ノックインマウス (F759 マウス) を用いることで、肺の炎症から線維化や腫瘍化までをより早期に観察できるのではないかと考えた。実際に、F759 マウスに結晶シリカを点鼻することによって、肺に強い炎症を誘導することができた (図 2)。点鼻によってどのように結晶シリカが肺の内部に分布しているか、組織透明化法 CUBIC を用いて検討した。蛍光標識シリカを点鼻後、肺を透明化して、シート型蛍光顕微鏡によって観察した。その結果、点鼻によるシリカは、比較的大きな気管支までに局限することがわかった (図 3)。これは液体による暴露のためと考えられた。汚染大気や粉塵は、吸入によってより細かい気管支まで到達することから、結晶シリカ懸濁液をミスト化して噴霧暴露することを次に検討した。

小型鼻部ばく露吸入実験装置を導入し、結晶シリカ懸濁液もしくはタバコ有害物質 NNK と結晶シリカの混合懸濁液をミスト化して F759 マウス

に吸入暴露した。吸入暴露 1 日後に、肺の RNA を抽出し、定量的 PCR によって IL-6 およびケモカイン CCL2 の発現を測定し、炎症回路の活性化状態を解析した。結晶シリカ噴霧によって、肺の IL-6 および CCL2 レベルが有意に増加した。NNK との混合暴露では、IL-6 および CCL2 レベルの発現上昇がやや減少した (図 4)。これは、NNK が肺胞マクロファージにおいてサイトカイン発現を減少させるという過去の報告と同様の抑制効果と考えられる。これまでに 8 ヶ月にわたり、2-4 週間に 1 度の暴露を繰り返したが、現時点では、炎症像は認められるものの、腫瘍形成には至っていない。腫瘍化にはより長期の時間経過や遺伝子変異などの因子が必要と考えられる。

3. 発表 (研究成果の発表)

Daisuke Kamimura, Motoo Katabami, Ichiro Kinoshita, Hirotohi Akita, Masaaki Murakami.
Involvement of the inflammation amplifier in lung tumorigenesis by crystalline silica.

第37回札幌国際がんシンポジウム (札幌、2018年7月)

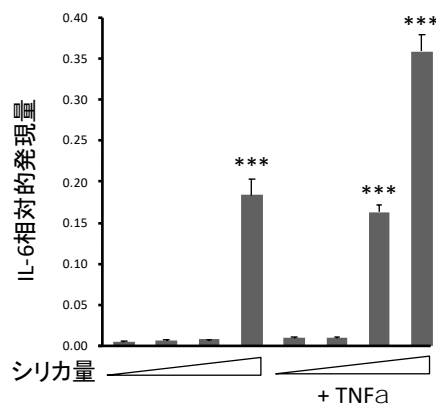


図 1 気管支上皮細胞株のシリカ応答性

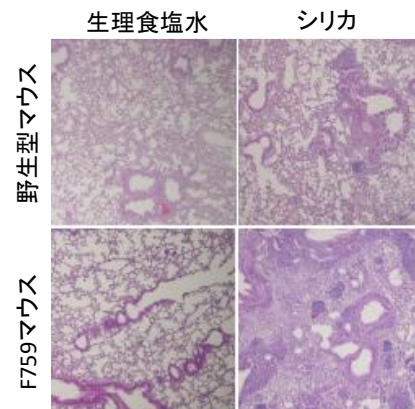


図 2 点鼻によるシリカ暴露後の肺の組織像

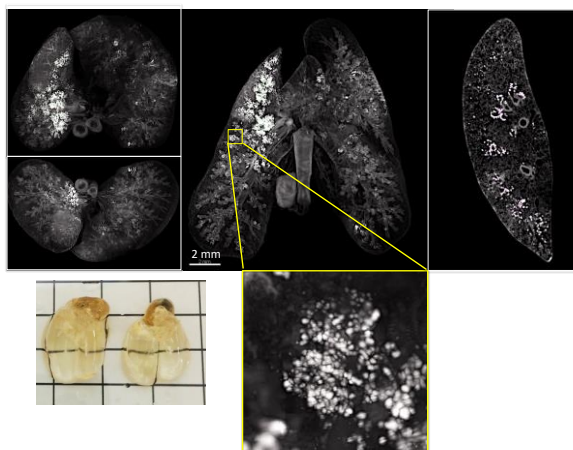


図 3 CUBIC 透明化法による蛍光シリカの局在観

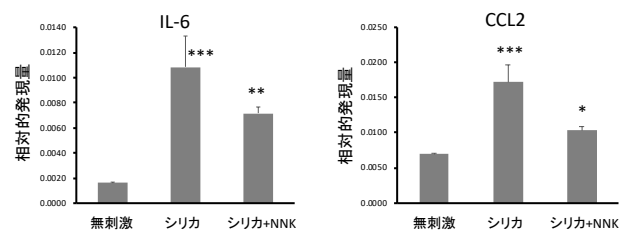


図 4 定量的 PCR による肺の IL-6 および CCL2 発見量