

● 慢性炎症の病的意義

臓器連関と慢性炎症

* 東北大学大学院医学系研究科 糖尿病代謝内科学分野 ** 同 教授

高橋 圭* 片桐 秀樹**

要旨

代謝性疾患の背景に存在する慢性炎症は、単に局所で起結しているのではなく、諸臓器の連関を介した複合的な調節機構に支配されている。例えば、脂肪組織の慢性炎症は血管に端を発する連関の影響を受け、血管の慢性炎症は骨髄や肝臓に端を発する連関の影響を受けている。血管の慢性炎症には、時計機構を介する臓器連関も関与している可能性がある。臓器連関のさらなる探求は、慢性炎症や代謝性疾患の新規治療法開発につながりうる。

はじめに

代謝を担う種々の臓器における慢性炎症は、代謝性疾患やその合併症の一因であるため、慢性炎症を惹起する分子機構の解明は現代社会の課題とも言え、注目される研究分野となっている。臓器における慢性炎症を惹起させる因子の代表は過栄養で、この場合は脂肪毒性、ブドウ糖毒性、組織肥大に伴う低酸素などによって炎症経路が惹起され、局所で慢性炎症が進行することとなる。ところが、個体レベルでは臓器は相互に連携して機能しており¹⁾²⁾、昨今は臓器連関の重要性が認識されている。筆者らは、臓器連関が慢性炎症に及ぼす影響について研究を進めてきているの

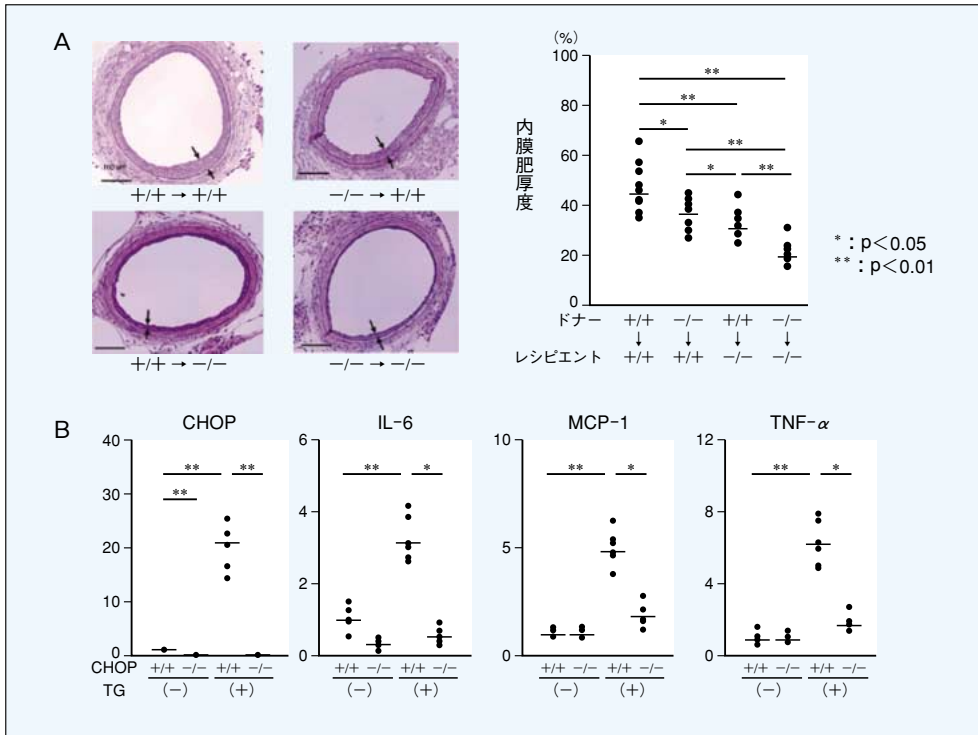
で、その一部を紹介する。

骨髄と血管における慢性炎症との連関

動脈硬化病変は、マクロファージが酸化 low density lipoprotein (酸化 LDL) を貪食した後に泡沫化し、線維化が促進されることで形成されるため、動脈硬化病変とは血管における慢性炎症の産物であると理解されている。C/EBP homologous protein (CHOP) は小胞体ストレス経路の下流に位置する転写因子で、動脈硬化病変において強く発現することが知られている³⁾。高コレステロール食を負荷したアポリポタンパク E (ApoE)^{-/-}マウスは、動脈硬化モデル動物として汎用されているが、あらかじめこのマウスの全身の CHOP を欠損させておくと、動脈硬化病変が軽減される⁴⁾。動脈硬化病変の軽減に寄与す

キーワード：臓器連関、慢性炎症、CHOP、NF- κ B、時計機構

図1 骨髄における CHOP の欠損は炎症反応を減弱させる (文献⁵⁾より引用改変)



CHOP : C/EBP homologous protein, IL-6 : interleukin-6, MCP-1 : monocyte chemotactic protein-1, TNF- α : tumor necrosis factor- α , TG : thapsigargin

るのは、血管内皮細胞における CHOP 欠損である可能性と、血球細胞における CHOP 欠損である可能性が想定された。そこで、筆者らは骨髄移植実験を行った。これは、レシピエントマウスに放射線を全身照射して骨髄機能を破壊し、ドナーマウスから抽出した骨髄細胞を移植するもので、移植を受けたマウスはドナー由来の血球と、レシピエントすなわち自らの血管内皮を有することとなる。すると、レシピエントが CHOP^{+/+} であるか CHOP^{-/-} であるかは独立して、ドナーが CHOP^{-/-} であれば、移植を受けたマウスの動脈硬化病変が軽減された (図 1 A)。このことから、CHOP を発現する骨髄由来細胞は、血管壁における慢性炎症の形成に関与すると考えられる。さらに、CHOP^{+/+} マウスからマクロファージを回収し、これに小胞体ストレス誘

導物質である thapsigargin を添加すると、マクロファージの CHOP 発現は著増し、interleukin-6 (IL-6) や monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) や tumor necrosis factor α (TNF- α) などの炎症性サイトカインの発現も増加した (図 1 B)。CHOP^{-/-} マウスから回収したマクロファージに thapsigargin を添加しても、予想どおり CHOP の発現は見られず、炎症性サイトカインの発現もほとんど上昇しなかった。したがって、骨髄由来細胞であるマクロファージは、CHOP が介在する経路を通じて、血管壁における慢性炎症に関与していると言える⁵⁾。

肝臓と血管における慢性炎症との関連

酸化 LDL 受容体の 1 つに lectin-like ox-LDL receptor-1 (LOX-1) があり、血管内

皮細胞や動脈硬化病変のマクロファージなどで発現していることが知られている。筆者らは、アデノウイルスベクターを用いて LOX-1 を ApoE^{-/-} マウスの肝臓で過剰発現させ、酸化 LDL を肝細胞に取り込ませることで、酸化 LDL の血中濃度を低下させることに成功した⁶⁾。この実験では、酸化 LDL 以外の脂質成分の血中濃度は変化していないことから、肝臓に取り込まれたのは酸化 LDL ののみであると言える。肝臓特異的 LOX-1 過剰発現マウスでは、対照群マウスに比して動脈硬化病変が軽減しており、動脈における MCP-1 や IL-6 などの炎症性サイトカインの発現が低下していた。以上から、肝臓で LOX-1 を発現させると、血中の酸化 LDL 低下を介して血管壁の慢性炎症、すなわち動脈硬化病変の軽減に寄与する⁷⁾ことが明らかとなった。

血管と脂肪組織における慢性炎症との関連

Nuclear Factor- κ B (NF- κ B) 経路は、炎症反応やインスリン抵抗性において中心的な役割を果たす経路である。NF- κ B は、細胞質において I κ B と結合することで核内への移動が抑制されているが、炎症シグナルなどの刺激により I κ B が分解されると NF- κ B は核内へ移動し、炎症性サイトカインや接着因子などの発現を亢進することで炎症反応が増幅される。筆者らは、分解を受けにくい抑制型変異 I κ B を血管内皮特異的に発現させたマウス (E-DN I κ B マウス) を用いた実験から、非肥満マウスで血管内皮特異的に NF- κ B シグナルを抑制すると、血管壁における炎症や動脈硬化病変の縮小につながることを見いだした⁸⁾ (図 2 A)。続いて、血管内皮特異的な NF- κ B シグナル抑制の影響を肥満マウスでも検討した。KKA^y マウスは肥満モデルマウスで、その白色脂肪組織にはマクロファージが浸潤しているが、KKA^y マウスの NF- κ B シグナルを血管内皮特異的に抑制させ

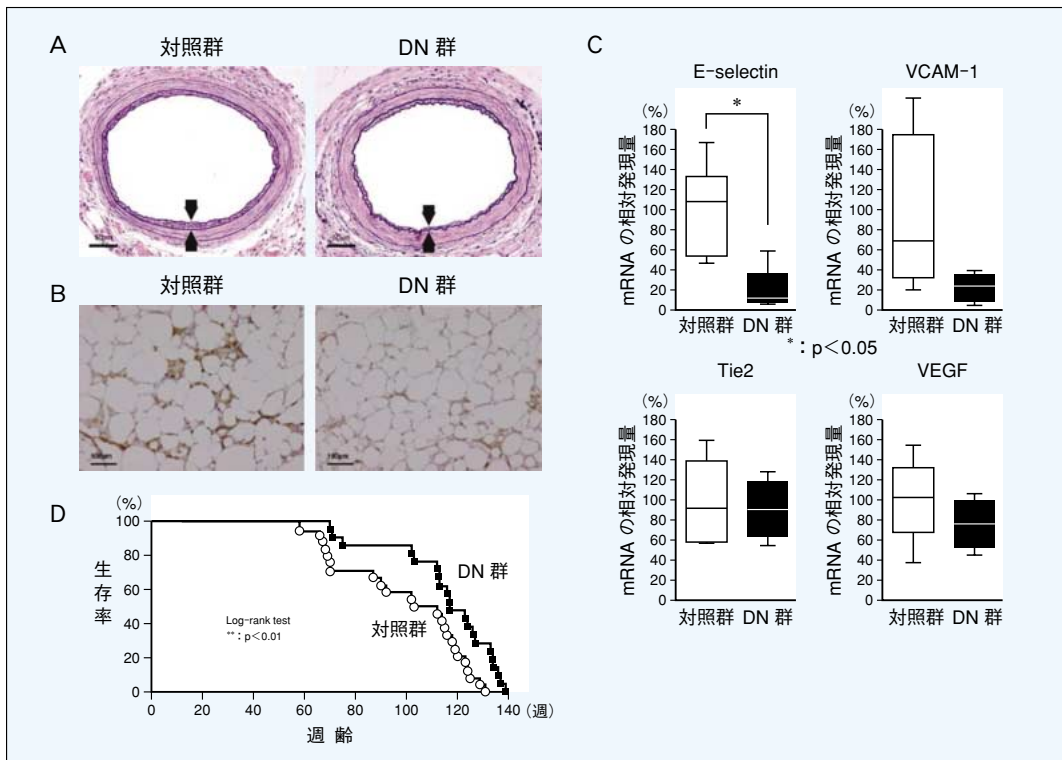
たところ、脂肪組織のマクロファージ浸潤が軽減されていた (図 2 B)。このことは、マクロファージが肥満応答性に脂肪組織へ誘導される過程には、血管内皮における NF- κ B シグナルの存在が重要な役割を担っていることを示すものである。次に、このマウスにおいて脂肪組織のマクロファージ浸潤が軽減している原因を検討した。E-selectin と vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) はいずれも細胞接着分子で、血管内皮細胞に発現し、白血球が血管から組織へと遊走する過程に関与するが、血管内皮特異的 NF- κ B シグナル抑制マウスでは、脂肪組織における E-selectin と VCAM-1 の発現が低下していた。一方、血管新生マーカーである Tie2 や、血管内皮増殖因子である vascular endothelial growth factor (VEGF) の発現は低下していなかった (図 2 C)。すなわち、脂肪組織のマクロファージ浸潤が軽減していた原因は、脂肪組織における血管新生そのものが抑制されていたからではなく、脂肪組織に分布する血管での細胞接着分子の発現が低下し、それゆえ血管から組織へのマクロファージ浸潤が低下したから、と言える。興味深いことに、血管内皮特異的 NF- κ B シグナル抑制マウスは、平均寿命と最長寿命が長く、活動時間帯の活動量も多く、健康寿命の延伸を示した (図 2 D)。これらのことから、血管内皮細胞における NF- κ B シグナルは、脂肪組織における慢性炎症の軽減のみならず、寿命にも大きな役割を持つと考えられる⁹⁾。

時計機構が結ぶ臓器関連

動脈硬化性疾患発症の危険因子として、喫煙の習慣や代謝性疾患の既往が以前から知られているが、最近では新たな危険因子として時計機構の変調が注目されている。なぜなら、睡眠時間の短縮や交代制の勤務などが、心筋梗塞や脳血管障害などの発症増加と関連して

図2 血管内皮細胞における NF- κ B 経路遮断は炎症反応を減弱させ、健康寿命を伸ばす

(文献⁸⁾⁹⁾より引用改変)



DN 群：血管内皮特異的 NF- κ B 経路抑制群。

B：脂肪組織を MOMA2 抗体で染色した画像。MOMA2 はマクロファージのマーカーである。

VCAM：vascular cell adhesion molecule, VEGF：vascular endothelial growth factor

いるからである¹⁰⁾。時計機構の変調が、心血管疾患の発症に直接的に影響を与える要因、例えば血圧や心拍数の日内変動に変化を及ぼしうことは容易に想起されるが、それらのみならず、臓器連関を通じて動脈硬化病変の形成そのものにも影響を与えることを示唆する知見が報告されるようになった(図3)。

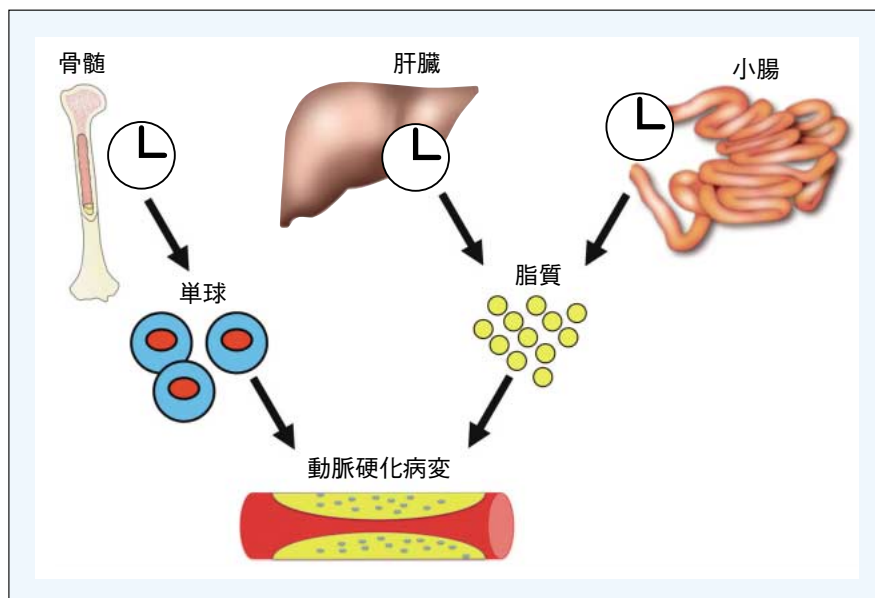
時計機構を変調させる因子

時計機構の本質は、時計遺伝子群による遺伝子の転写と制御を約 24 時間の周期で繰り返す細胞自律的なフィードバックループである。時計遺伝子群は Clock, Bmal1, Rev-erba など構成される。時計機構はほとん

どすべての組織において機能しており、ヒトにおいてもその存在が確認されている。時計機構の変調とは、遺伝子の発現位相が変移することと定義されている。時計機構を変調させる因子は数多く知られており、高脂肪食負荷¹¹⁾ やストレス¹²⁾ など、筆者らが発見したものも含まれる。現代社会で暮らすヒトの時計機構は、睡眠時間の短縮や交代制勤務のみならず、飽食やストレスによっても影響を受けている可能性が示唆される。

骨髄における時計機構

血中の単球数には日内変動があり、ヒトでもマウスでも活動時間帯(ヒトでは明期、マウスでは暗期)よりも非活動時間帯が多い¹⁰⁾。

図3 慢性炎症における時計機構を介した臓器連関 (文献¹⁰⁾より引用改変)

この日内変動は骨髄細胞の *Bmal1* に支配されている¹³⁾。単球は細胞表面マーカーに応じてサブセットに分けることができ、マウスの場合、*Ly-6C^{high}* 単球は *Ly-6C^{low}* 単球に比して血管外に遊走してマクロファージに分化したり、炎症性サイトカインを分泌したりする傾向が強い¹⁴⁾。*Ly-6C^{high}* 単球は、明期（非活動期）には暗期の2倍も血中に存在するが、*Ly-6C^{low}* 単球数には日内変動がなく¹³⁾、マウスにおける血中の単球数の日内変動は、炎症への反応性が高い *Ly-6C^{high}* 単球数の日内変動を反映しているものと考えられる。骨髄における時計機構の変調は、単球の数の違いのみならず、質の違いを通して慢性炎症の惹起につながりうることを示唆され、興味深い。

脂質制御における時計機構

Clock 変異マウスでは、小腸上皮からの脂質吸収に必須な役割を果たす分子である ApoB などの発現が変調しており、小腸上皮における脂質吸収が野生型マウスの3倍である¹⁵⁾。このマウスは血中脂質濃度が高く、動

脈硬化病変の形成も促進されている。*Rev-erba* 欠損マウスでは脂質合成に寄与する分子の発現が肝臓で変調しており、実際に血中 LDL 濃度が高い。以上から、脂質の吸収や生合成を担う臓器における時計機構の変調は、血中脂質濃度の上昇を通じて慢性炎症を進行させることが示唆される。

おわりに

慢性炎症の研究の発展に伴い、局所における炎症機構の解明や制御のみならず、臓器連関を通じた個体レベルでの炎症機構の重要性が認識されるようになった。今後は、現時点では明らかとなっていない臓器連関の存在の発見とその分子機構の解明や、それらを応用した新規治療法が開拓されていくことが期待される。

文 献

- 1) Tsukita S, et al: Hepatic glucokinase modulates obesity predisposition by regulating BAT thermogenesis via neural signals. *Cell Metab* 16 (6): 825–832, 2012.
- 2) Chiba Y, et al: Dapagliflozin, a Sodium–Glucose Co–Transporter 2 Inhibitor, Acutely Reduces Energy Expenditure in BAT via Neural Signals in Mice. *PLoS One* 11 (3): e0150756, 2016.
- 3) Zhou J, et al: Activation of the unfolded protein response occurs at all stages of atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E–deficient mice. *Circulation* 111 (14): 1814–1821, 2005.
- 4) Thorp E, et al: Reduced apoptosis and plaque necrosis in advanced atherosclerotic lesions of Apoe^{−/−} and Ldlr^{−/−} mice lacking CHOP. *Cell Metab* 9 (5): 474–481, 2009.
- 5) Gao J, et al: Involvement of endoplasmic stress protein C/EBP homologous protein in atherosclerosis acceleration with augmented biological stress responses. *Circulation* 124 (7): 830–839, 2011.
- 6) Ishigaki Y, et al: Impact of plasma oxidized low–density lipoprotein removal on atherosclerosis. *Circulation* 118 (1): 75–83, 2008.
- 7) Ishigaki Y, et al: Circulating oxidized LDL: a biomarker and a pathogenic factor. *Curr Opin Lipidol* 20 (5): 363–369, 2009.
- 8) Saito T, et al: Importance of endothelial NF–kappaB signalling in vascular remodelling and aortic aneurysm formation. *Cardiovasc Res* 97 (1): 106–114, 2013.
- 9) Hasegawa Y, et al: Blockade of the nuclear factor–kappaB pathway in the endothelium prevents insulin resistance and prolongs life spans. *Circulation* 125 (9): 1122–1133, 2012.
- 10) McAlpine C S, et al: Circadian Influence on Metabolism and Inflammation in Atherosclerosis. *Circ Res* 119 (1): 131–141, 2016.
- 11) Kaneko K, et al: Obesity alters circadian expressions of molecular clock genes in the brainstem. *Brain Res* 1263: 58–68, 2009.
- 12) Takahashi K, et al: Chronic mild stress alters circadian expressions of molecular clock genes in the liver. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 304 (3): E301–309, 2013.
- 13) Nguyen K D, et al: Circadian gene Bmal1 regulates diurnal oscillations of Ly6C(hi) inflammatory monocytes. *Science* 341 (6153): 1483–1488, 2013.
- 14) Yang J, et al: Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomark Res* 2 (1): 1, 2014.
- 15) Pan X, et al: Impaired cholesterol metabolism and enhanced atherosclerosis in clock mutant mice. *Circulation* 128 (16): 1758–1769, 2013.

Inter–organ Communication Involved in Chronic Inflammation

Kei Takahashi, Hideki Katagiri

Department of Metabolism and Diabetes, Tohoku University Graduate School of Medicine