

自然免疫からみた運動の動脈硬化抑制機序の解明と動脈硬化性疾患治療への応用

福田大受

大阪公立大学大学院医学研究科 循環器内科

【研究の背景】

生活習慣の変化によって動脈硬化やインスリン抵抗性などの生活習慣病が増加している。特に動脈硬化に起因する血管病は、循環器病対策基本法の下、健康寿命延伸のために対策が急務とされている。動脈硬化の基盤病態は血管における慢性炎症である¹⁾が、その機序ならびに治療方法は十分に明らかになっていない。近年、慢性炎症の機序として、メタボリックストレスが関連した細胞老化によって遊離した核酸断片 (cell free DNA、cfDNA) が、マクロファージなどの炎症性細胞に発現する核酸受容体を活性化して誘導する自然免疫応答が注目されている²⁾。運動は生活習慣病や老化の予防効果が期待されているが、運動が cfDNA を介した炎症やそれに基づく動脈硬化に与える影響は検討されていない。

【目 的】

DNA 断片の分解を担う DNase IIa (DN2) と運動の関係に着目し、運動の cfDNA を介した自然免疫の異常活性化に対する抑制効果を検証する。

【方 法】

<1> マクロファージ特異的 DN2 欠損マウスを用いた検討

DN2-flox マウスと LysMCre マウス、Apolipoprotein E 欠損 (ApoE KO) マウスを交配し、マクロファージ特異的 DN2 欠損 ApoE KO (DN2^{MφKO}/ApoE KO) マウスを作製する。マウスを回転カゴ付きケージと通常のケージで飼育する群に分け、西洋食を 12 週間与える。運動による DN2 の変動が、動脈硬化や血管の炎症に与える影響を検討する。

<2> DN2 の強制発現がマクロファージの炎症性活性化に与える影響の検討

野生型マウスから採取した腹腔内マクロファージやマウスマクロファージ様細胞株である RAW264.7 細胞に、プラスミドを用いて DN2 を強制発現させ、TLR9 アゴニストなどによるマクロファージの炎症性活性化に与える影響を検証する。

【結 果】

<1> マクロファージ特異的 DN2 欠損マウスを用いた検討

予備検討では、自発運動した野生型マウスの骨髄細胞では DN2 の発現は増加していた。また、少数例であるが樹立した DN2^{MφKO}/ApoE KO マウスと対照群 (DN2^{MφFlox}/ApoE KO マウス) を比較すると、自発運動させない状況では、大動脈における動脈硬化病変の形成は同等であったが、自発運動群では、DN2^{MφKO}/ApoE KO マウスで抑制される傾向であった。

<2> DN2 の強制発現がマクロファージの炎症性活性化に与える影響の検討

腹腔内マクロファージや RAW264.7 細胞に、プラスミドを用いて DN2 の発現を増加させることができた。さらに、DN2 強制発現マクロファージにおいて、TLR9 アゴニスト (CpG-ODN1826) を作用させることで、TNF- α などの炎症性物質の発現が低下することが示された。

【考 察】

マウスを用いた検討では、予備検討において、ポジティブなデータは得られているが、同時に行っている肥満誘導性のインスリン抵抗性モデル(脂肪組織の慢性炎症が基盤病態と考えられている)では、飼料の違いや解析のタイミングで結果が一定しない傾向があり、動脈硬化モデルにおいても、再解析の必要性が考えられる。一方で、*in vitro*で行っているマクロファージに対する DN2 の過剰発現実験においては、DN2 の過剰発現が TLR9 アゴニストによる炎症惹起作用を減弱させることが確認されたことから、DN2 は cfDNA 等による炎症を収束させる効果があることが推測された。*In vitro* 実験の結果は、少なくとも部分的には DN2 が、cfDNA などの核酸受容体に対するアゴニストを分解することで、核酸受容体を介した炎症を制御できる可能性があり、新たな抗炎症治療の標的となることが示唆される。今後は、動物実験を継続することに加えて、当研究室で行っている OCT-polarimetry を用いた冠動脈疾患患者の前向きレジストリ研究のサンプルを用いて、cfDNA と血管の炎症や、プラークの不安定化・破綻との関連を検討する。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

一般的に虚血性心疾患などの動脈硬化性疾患の加療は、経皮的冠動脈形成術等の血管内治療が行われてきた。確かに急性冠症候群の予後は、早期の血管内治療が予後を改善したが、ある一定の割合で、再発や他病変の進行が生じうる。また、近年では、慢性冠症候群においては、早期からの血管内治療が必ずしも予後を改善しないという研究結果も出てきており³⁾、冠動脈疾患の加療については、変革期を迎えていると言っても過言でない。そこで重要になってくるのがリスク管理の強化と動脈硬化の基盤病態である慢性炎症に対する抗炎症治療の開発である。動脈硬化が血管の慢性炎症であることが明らかになって久しいが、有効な抗炎症治療方法は開発されていない。その点において、本研究結果は新たな抗炎症治療の標的を示唆するものである。また、cfDNA が新たな動脈硬化バイオマーカーとなる可能性も考えられる。以上から本研究結果は、臨床への貢献度も高いものと考えている。

【参考・引用文献】

1. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-126.
2. Fukuda D, et al. Emerging Roles of the Innate Immune System Regulated by DNA Sensors in the Development of Vascular and Metabolic Diseases. *J Atheroscler Thromb.* 2022;29:297-307.
3. Maron DJ, et al. Initial Invasive or Conservative Strategy for Stable Coronary Disease. *N Engl J Med* 2020;382:1395-1407.