

2021. 2. 10

立命館大学

東北大学

科学技術振興機構(JST)

カーボンナノチューブの毒性発現機構の一端を解明

- 免疫細胞が病原体と誤認識して過剰応答 -

ポイント

- カーボンナノチューブ (CNTs) の研究と利用は年々急増している一方で、CNTs のアスベスト様の毒性が懸念されているが、その毒性発現機構は長い間不明であった。
- 世界で初めて CNTs を認識する免疫受容体を発見し、マクロファージ^{注1)} がその受容体を介して CNTs を取り込むことによって起きる炎症応答が CNTs 毒性発現の発端となることをマウス実験で明らかにした。
- CNTs 曝露による肺疾患の治療法の開発、および安全な CNTs の設計・開発につながることを期待される。

立命館大学薬学部の中山勝文教授、東北大学 大学院情報科学研究科の木下賢吾教授、大森聡博士研究員らの共同研究グループは、カーボンナノチューブ (CNTs) を認識する免疫受容体を発見しました。

CNTs はエレクトロニクス、エネルギー、バイオなど多岐にわたる分野での用途が期待されている次世代ナノ材料^{注2)} ですが、アスベストと同様に生体内に入るとマクロファージに効率良く取り込まれ、そのマクロファージ炎症応答により毒性を示すことが動物実験で報告されています。しかし、炭素のみで構成される CNTs がなぜマクロファージに取り込まれるのか、その毒性発現機構は長い間不明でした。

本研究グループは、マクロファージが Tim4 という免疫受容体を介して CNTs を捕獲して細胞内に取り込み、このマクロファージ炎症応答が引き金となって中皮腫様の病態が起きることをマウス実験から明らかにしました。

今後、CNTs により引き起こされうる肺疾患において Tim4 経路を阻害する治療法の開発や、Tim4 に結合しない毒性の低い CNTs の開発につながることを期待されます。

本研究成果は、JST 戦略的創造研究推進事業さがけ「マクロファージによる粒子状物質パターン認識機構の解明」(研究者：中山 勝文)の一環で得られたものであり、2021年2月9日(米国東部時間)発行の米国科学誌「Cell Reports」のオンライン版で公開されます。

＜研究の背景と経緯＞

カーボンナノチューブ（CNTs）は次世代ナノ材料であり、その用途は電池、航空機、医療など多岐にわたって期待されています。しかしながら、動物実験において一部の CNTs にアスベスト様の毒性が認められ、2019 年、国際化学物質事務局 ChemSec は CNTs をヒトに有害な物質と判断し、Substitute It Now（SIN）リストに加えたため、今後の CNTs の使用継続は世界的に大きな議論となっています。

CNTs は生体内に入ると主に免疫細胞のマクロファージに取り込まれます。本来マクロファージは体内に侵入した微生物などを捕食するなどして生体防御に重要な役割を担っていますが、アスベストやその類似構造を示す多層 CNTs（MWCNTs）を捕食した場合は、ストレスを強く感じ、そのストレス応答（NLRP3 インフラマソーム^{注3)} 活性化を介した IL-1 β ^{注4)} などの炎症性サイトカイン^{注5)} の分泌など）により、慢性炎症を引き起こすことが分かってきました。しかしながら、なぜマクロファージが CNTs を効率良く取り込むのかは依然として不明でした。

＜研究の内容＞

本研究では、マクロファージ受容体スクリーニングにより、CNT 受容体として Tim4 を同定しました。次にコンピューターシミュレーションにより、Tim4 の細胞外領域の芳香族アミノ酸クラスターと CNT の芳香環との間で安定した π - π 相互作用が形成されることが分かり、結合実験で Tim4 の芳香族アミノ酸クラスターが CNT 認識部位であることを明らかにしました。

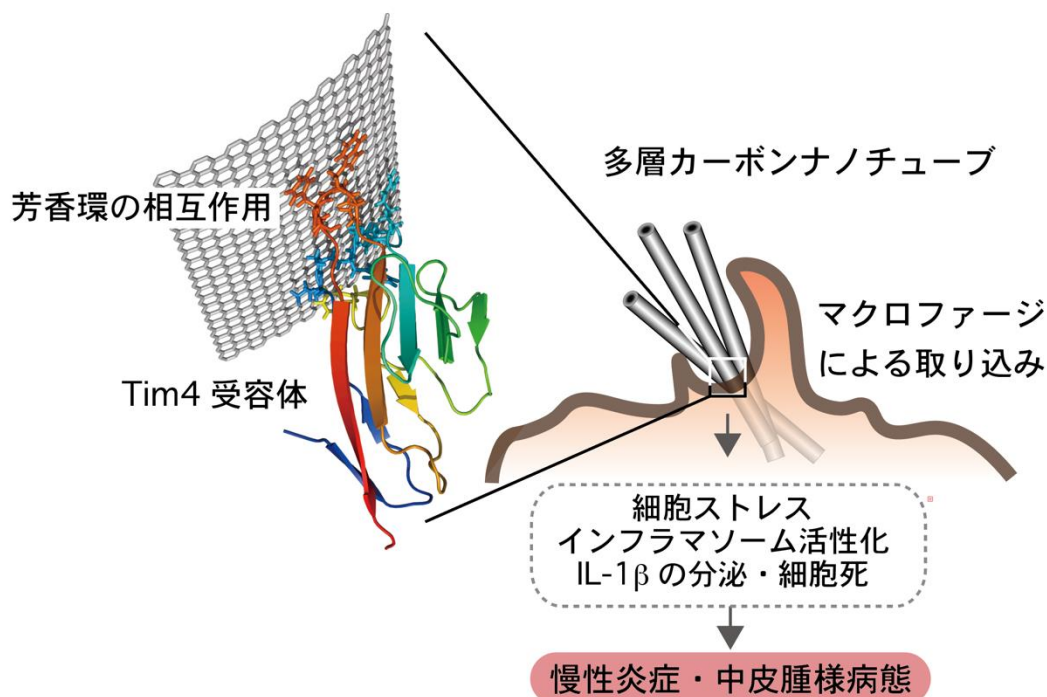
CRISPR/Cas9 システム^{注6)} を用いて Tim4 遺伝子を欠損させたり、あるいは抗 Tim4 モノクローナル抗体で Tim4 タンパク質を阻害させたりすると、マクロファージによる MWCNTs の取り込み量が抑えられました。これに伴って、それらマクロファージからの炎症性サイトカイン IL-1 β 分泌が抑制され、最終的に中皮腫様病態も軽減されました。これらの結果は、マクロファージは Tim4 を介して MWCNTs を認識していることを示唆します。一方で、マクロファージによるアスベストの認識には Tim4 は関与しないことも分かりました。

本研究は、世界で初めて CNT 受容体を同定したものです。Tim4 は 2007 年に大阪大学の長田重一教授の研究グループにより発見されたホスファチジルセリン（PS）^{注7)} 受容体ですが、今回の実験で Tim4 の PS 認識部位と CNT 認識部位とは異なることが明らかになりました。本研究で見いだした CNT 受容体が PS 受容体、つまりアポトーシス細胞を認識する受容体と同一であったことから、免疫システムが次世代ナノ材料を病原体として見誤って過剰に応答している可能性が考えられます。

＜今後の展開＞

中皮腫はアスベスト曝露およそ 20 年後に発症する疾患であり、CNTs 曝露されたヒトにおいて中皮腫が発症するかはまだ分かっていません。しかしながら米国の CNTs を扱う工場の複数の作業員に肺疾患が既に認められており、その安全対策が急務とされています。本研究成果は、今後 CNTs 曝露による肺疾患において Tim4 経路を阻害する治療の開発、および Tim4 に結合しない安全な CNTs の設計・開発につながることで期待されます。

<参考図>



体内に入った多層カーボンナノチューブは主に免疫細胞のマクロファージに取り込まれ、炎症性サイトカインIL-1 β 分泌や細胞死により炎症を引き起こし、それが肺疾患の発症につながる。Tim4 受容体はマクロファージ細胞表面上に発現し、カーボンナノチューブの認識に関わる。なお、Tim4 はアスベストを認識せず、マクロファージによるアスベスト取り込み機構は未だに不明である。

<用語解説>

注1) マクロファージ

免疫細胞の一つで、体内に侵入した微生物や体内で発生したアポトーシス細胞などの病原体を捕食するなどして生体防御に重要な役割を担う。その一方で、過剰な炎症を引き起こし、病気の発症に関わることもある。

注2) ナノ材料

粒径が 100 nm 以下の材料を示し、次世代の産業基盤技術として、幅広い分野での活用が期待されている。

注3) NLRP3 インフラマソーム

さまざまな細胞内ストレスによって形成される炎症惹起タンパク質複合体であり、この活性化によって IL-1 β が分泌される。

注4) IL (インターロイキン) -1 β

免疫細胞から産生される液性因子（サイトカイン）で炎症を誘発する。

注5) 炎症性サイトカイン

免疫細胞から産生される液性因子で炎症を誘発する。

注6) CRISPR/Cas9 システム

Cas9 がガイド RNA と結合した複合体であり、ガイド RNA の一部と相補的な DNA を

選択的に切断する。標的 DNA と相補的な配列をもつガイド RNA を用いることにより、容易にゲノム DNA の塩基配列を改変することが可能である。

注 7) ホスファチジルセリン (PS)

細胞膜リン脂質成分であり、生細胞では細胞質側に存在するが、アポトーシスに陥ると細胞表面に露出するようになる。マクロファージは Tim4 などの PS 受容体を介してアポトーシス細胞を認識して除去する。

<論文タイトル>

“Tim4 Recognizes Carbon Nanotubes and Mediates Phagocytosis Leading to Granuloma Formation”

(Tim4 はカーボンナノチューブを認識して細胞内に取り込み、肉芽腫形成に関与する)
doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108734

<お問い合わせ先>

<研究に関すること>

中山 勝文 (ナカヤマ マサフミ)

立命館大学 薬学部 免疫微生物学研究室 教授

〒525-8577 滋賀県草津市野路東 1-1-1

Tel : 077-599-3264

E-mail : mnakayam[at]fc.ritsumei.ac.jp

<JST の事業に関すること>

保田 睦子 (ヤスダ ムツコ)

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーション・グループ

〒102-0076 東京都千代田区五番町 7 K's 五番町

Tel : 03-3512-3526 Fax : 03-3222-2067

E-mail : presto[at]jst.go.jp

<報道担当>

立命館大学 BKC リサーチオフィス 研究広報

〒525-8577 滋賀県草津市野路東 1-1-1 防災システムリサーチセンター3F

Tel : 077-561-2802

E-mail : morimi-a[at]st.ritsumei.ac.jp

東北大学 大学院情報科学研究科 広報室

〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3-09

Tel : 022-795-4529

E-mail : koho[at]is.tohoku.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

〒102-8666 東京都千代田区四番町 5 番地 3

Tel : 03-5214-8404 Fax : 03-5214-8432

E-mail : jstkoho[at]jst.go.jp