

平成29年度 厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)
分担研究報告書

研究課題名:カーボンナノチューブ等の肺、胸腔及び全身臓器における有害性並びに発癌リスクの
新規高効率評価手法の開発

分担研究課題名: MWCNTs 肺内投与によって生じる活性カルボニル化合物とその生理活性
に関する研究

分担研究者 伴野 勸 静岡県立大学 食品環境研究センター

研究要旨

多層カーボンナノチューブ(MWCNT)曝露による発がんメカニズムの解明を目的として、がん原性物質であることが示唆されている活性カルボニル化合物(RCs)の網羅的解析を MWCNTs 肺内投与ラット肺組織を用いて行った結果、*cis*-4-decenal や 4-hydroxy-2-nonenal、4-hydroxy-2-hexenal(4-HHE)など種々の RCsが増加していた。また、RCsのDNA付加体が増加していることを確認した。さらに増加していた RCsの慢性炎症への関与について、マウスマクロファージ様細胞RAW264.7を用いて調べた結果、4-HHEはIL-6やiNOS、IL-12p40のmRNA発現増加が、*cis*-4-decenalはIL-12p40やIL-23p19など炎症関連遺伝子群の有意な発現増加が確認された。これらのことから、MWCNTs肺内投与によって生じるRCsはDNA付加体の形成など直接的な傷害性の他に炎症性サイトカインの産生増加を惹起することでMWCNTsの慢性炎症にも関与していることが示唆された。

A. 研究目的

多層カーボンナノチューブ(MWCNT)曝露による発がんメカニズムの解明を目的としてがん原性物質の探索を行った結果、これまでにMWCNTs曝露ラット肺組織において、アルデヒドやケトン基を有する活性カルボニル化合物(Reactive carbonyl species; RCs)、そのDNA付加体が数、濃度ともに増加することがわかってきた。そこで本研究では、MWCNTs曝露による発がん機構の解明を目的として、MWCNTs肺内投与によって増加したRCsの生理活性を調べることにした。

B. 研究方法

MWCNTs肺内投与で増加が確認された4-hydroxy-2-nonenal(4-HNE)、4-hydroxy-2-hexenal(4-HHE)、*cis*-4-decenalなど

のRCsをマウスマクロファージ様細胞であるRAW264.7に肺組織で確認された濃度で曝露し、IL-6、IL-12p40、TNF- α 、COX-2、iNOSなど炎症関連遺伝子群のmRNA発現量をReal Time qPCRで調べた。また、*cis*-4-decenalに関しては、NF- κ B luciferase assayを行った。

(倫理面への配慮)

本研究では、マウス由来培養細胞を用いており、倫理面で配慮が必要となるヒト由来細胞や動物等は使用していない。

C. 研究結果

マウスマクロファージ様細胞であるRAW264.7に4-HHEを曝露した結果、炎症関連遺伝子である対照群と比較してIL-6は4.7倍、iNOSは13.8倍、

IL-12p40 は 36.9 倍に増加していた。*cis*-4-Decenal に関しては、IL-6 や TNF- α 、COX-2、iNOS の発現の増加は確認できなかったが、IL-12p40 や IL-12p35、IL-23p19 の発現はそれぞれ曝露濃度依存的に増加していた。また、これまでに COX-2 の発現増加などが報告されている 4-HNE では、IL-6 が 2.7 倍、iNOS が 1.4 倍、COX-2 が 2.4 倍の発現増加が確認されたが、IL-12p40 に関しては、発現増加は認められなかった。

次に *cis*-4-decenal による IL-12p40 や IL-12p35 など発現誘導メカニズムの解明を目的に NF- κ B luciferase assay を行ったが、*cis*-4-decenal の曝露による NF- κ B シグナルは誘導されなかった。現在、他の IL-12p40、IL-12p35、IL-23p19 発現に関与する MAP kinase や CREB のシグナルパスウェイについて検討している。

D. 考察

本研究で 4-HHE や *cis*-4-decenal の曝露によって mRNA 発現が増加していた IL-12p40 はタンパク質としては IL-12p35 や IL-23p19 とヘテロダイマーを形成し、IL-12 や IL-23 として働くことが知られている。これらのタンパク質はマクロファージにおいて炎症シグナルによって発現増加し、T 細胞の分化に関与することで、免疫反応に重要な役割を担っている。特に IL-23 は、発がんの促進および増殖を促す環境づくりに関与することが分かっている。これらのことから、MWCNTs の曝露によって生じる 4-HHE や *cis*-4-decenal は DNA 傷害のみならず、発がんや進行に関与することが示唆された。

E. 結論

MWCNTs 肺内投与によって肺組織中で増加した RCs はアルデヒド基やケトン基を持つという特徴的な化学構造から、DNA に容易に付加反応することで、突然変異を誘導し、発がんにつながることを示唆されてきた。本研究ではさらに 4-HHE は IL-6 や iNOS、IL-12p40、*cis*-4-decenal は IL-12p40、IL-12p35、IL-23p19 の炎症関連遺伝子の発現を顕著に増加させたことから、MWCNTs 曝露によって生じる様々な

RCs は直接的な DNA 傷害の他にがん細胞が増殖しやすい環境作りにも関与している可能性が示唆された。

F. 健康危機情報

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし