

流れストレスによる遺伝子の発現メカニズムにおける活性酸素の寄与

高部稚子¹、藤栄治²、野口範子^{1, 3}

¹ 東京大学先端科学技術研究センター、² 筑波大学社会医学系、³ 同志社大学工学部

動脈硬化は血管に脂質や細胞成分等が蓄積し血流を妨げる現象であり、脳卒中や心筋梗塞等の深刻な疾病を引き起こす。動脈硬化の発症・進展には、酸化変性を受けた血中の低比重リポタンパク（酸化 LDL）の関与が数々の知見から示唆されているが、それに加えて、血管内皮細胞に常に与えられる血流による流れストレスも重大な影響を与えられていると考えられている。一般的に、動脈硬化巣は曲部や分岐部等の乱流部に形成されやすく、それに対し、流れが一定の層流に晒される部位は動脈硬化が形成されにくい箇所として位置づけられている（図1）。

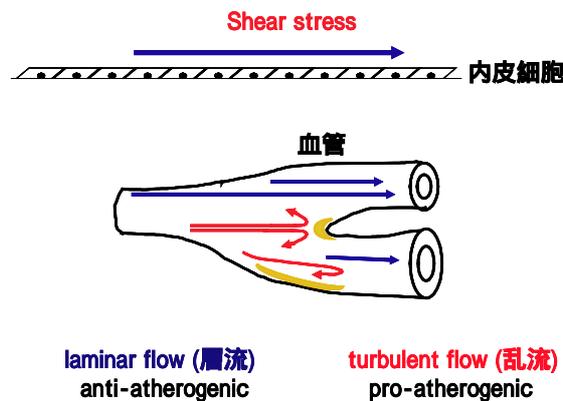


図1 血管内における血流モデル

本研究では、ヒト血管内皮細胞である Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) を用い、層流下において、体内に取り込まれた異物を解毒する解毒代謝経路の第2相で働く遺伝子群が誘導されることを明らかにした。これらの遺伝子、hemeoxygenase 1 (HO-1), sequestosome 1 (SQSTM1), NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (NQO1), solute carrier family 7 No. 11 (SLC7A11), そして glutamate-cysteine ligase modifier subunit (GCLM)は、いずれも転写因子 Nrf2 が各遺伝子上流にある antioxidant response element (ARE)に結合することにより発現することが報告されている遺伝子である。そこで、流れストレスとこれらの遺伝子の発現メカニズムについて検討を行った。

まず、siRNA法を用いて Nrf2 の発現をノックダウンすると、流れストレスによるこれらの遺伝子群の誘導は有意に抑制された。このことから、流れストレスによるこれらの遺伝子の発現機構において、Nrf2 が主たる転写因子であることが確認された。Nrf2 は酸化ストレスによって核移行することが知られているため、次に細胞内の酸化状態についての検討を行った。DCFH-DAを用いた蛍光顕微鏡観察により、本実験の条件下で活性酸素が生成していることが明らかとなった。このうち、一酸化窒素 (NO) の関与について検討を行ったところ、流れストレスによる培養液中への NO の放出は、流れストレスの強度依存的に高くなることが明らかとなった。しかし、細胞内の NO 合成に関わる eNOS のノックダウンや、競合阻害剤である L-NAME を用いても、Nrf2 で制御される遺伝子の流れストレスによる誘導は抑制できなかった。その一方で、スーパーオキシドを生成することが知られている NADPH oxidase の阻害剤; diphenyliodonium (DPI) や xanthine oxidase の阻害剤; oxypurinol、過酸化脂質による酸化を抑制する diphenyl-1-pyrenylphosphine (DPPP) が著しい誘導抑制を示したことから、これら Nrf2 制御遺伝子は NO ではなくスーパーオキシド、あるいはスーパーオキシド由来の過酸化水素、そしてこれらにより引き起こされる脂質酸化生成物による発現調節を受けている可能性が示唆された。