

【目的】PM2.5 や排出ガスといった大気汚染物質の曝露による健康被害は国際的な社会問題となっているが、その詳細な機序は良く判っていない。環境微粒子の主成分はシリカ（二酸化珪素）および炭素であるが、それが生体内に入るとマクロファージなどの食食細胞に取り込まれる。最近の国内外の研究から一部の結晶粒子を食食したマクロファージでは炎症性細胞死（パイロトーシス）と NLRP3 インフラマソームの活性化が起きることが判ってきた。しかしながら、なぜマクロファージが細胞表面上で結晶粒子をこれほど効率よく認識するのか未だによく判っていない。我々はこれまでにシリカ受容体としてクラス B スカベンジャー受容体 SR-B1 を同定してきたが、SR-B1 は炭素微粒子を認識しないことも判明した。そこで本研究ではマクロファージによる炭素微粒子の認識機構を解析した。

【方法】炭素微粒子を認識する受容体の探索として、マウス線維芽細胞株 NIH-3T3 に種々のマクロファージ受容体の遺伝子を導入し、カーボンブラックナノ粒子（CBNP）あるいは多層カーボンナノチューブ（MWCNT）との結合能をフローサイトメトリー（FACS）による側方散乱光強度解析により測定した。マクロファージ細胞レベルでの MWCNT 毒性評価として、C57BL/6 マウス腹腔マクロファージによる炭素微粒子の認識能および IL-1 β 分泌をそれぞれ FACS および ELISA で測定した。マウス個体レベルでの MWCNT 毒性評価として、C57BL/6 マウス腹腔内に MWCNT を投与し、その 7 日後の横隔膜腹腔側中皮細胞層の肉芽腫病態を観察した。同定した炭素微粒子受容体 T cell mucin immunoglobulin (Tim) 4 の機能解析には、抗マウス Tim4 中和モノクローナル抗体 RMT4-54 を用いた。

【結果】スカベンジャー受容体、C 型レクチン、Fc 受容体、補体受容体、ホスファチジルセリン（PS）受容体といったマウスマクロファージ受容体の炭素微粒子（球状構造を示す CBNP と針状構造を示す MWCNT）の認識能を解析した結果、とりわけ PS 受容体の Tim4 がいずれの炭素微粒子も効率よく認識することが判明した。さらに Tim4 変異体を用いた解析から、Tim4 の細胞外領域 IgV ドメインに存在する芳香属アミノ酸クラスターが炭素微粒子との結合に必須であることが判明した。その一方で Tim4 は炭素を含まないアスベストは認識しなかった。これらの結果は、Tim4 は炭素微粒子受容体として機能し、その認識様式は、PS 認識様式とは異なり π - π 相互作用が重要であることを示唆する。RMT4-54 を用いた *in vitro* および *in vivo* 実験から、C57BL/6 マウス腹腔マクロファージは Tim4 を介して MWCNT を食食し、リソソーム障害を介して IL-1 β の分泌を誘導し、その結果、横隔膜の腹腔側の中皮細胞層に肉芽腫形成を起こすことが判明した。一方、CBNP も Tim4 を介してマクロファージに食食されるが、リソソーム障害が起きないため炎症を惹起しないことが判明した。これらの結果は、マクロファージは Tim4 を介して炭素微粒子を食食するが、その炎症応答は炭素微粒子の形状に起因することを示唆する。

Tim4 を介するマクロファージの多層カーボンナノチューブ（MWCNT）取り込み機構

