

論文要旨

大豆イソフラボンの肥満誘導性炎症制御メカニズムの検討

坂本 友里

インスリン抵抗性や2型糖尿病には脂肪組織における慢性炎症が深く関わっており、その慢性炎症には様々なサイトカインが関与している。さらに、核内転写因子である PPAR の発現や転写活性増加に伴う脂肪酸酸化や脂肪細胞分化促進は、インスリン抵抗性、慢性炎症改善作用として、今後の研究発展への可能性を秘めている。近年、大豆イソフラボンの主成分の一つである daidzein は PPAR の活性化剤としての作用を有することが報告されており、食餌誘導性肥満マウスの脂肪組織における PPAR γ の発現増加を介して、慢性炎症、インスリン抵抗性改善作用を発揮することが、我々の研究などで明らかとなってきた。しかしながら、その詳細なメカニズムは不明な部分が多い。そこで本論文では大きく研究を【研究1】および【研究2】の2つに分け、培養細胞を用いて daidzein の肥満状態における抗炎症作用について、詳細な分子メカニズムを検討することとした。

【研究1】では、脂肪細胞において daidzein が PPAR γ の制御を介してアディポカインの発現を変化させるのかについて明らかにすることを目的とした。3T3-L1 脂肪細胞を用いて PPAR γ やアディポカインの遺伝子発現量をリアルタイム PCR により、アディポカインのタンパク発現量を ELISA 法により解析を行った。さらに、3T3-L1 脂肪細胞または 293T 細胞を用いてレポーターアッセイを行い、daidzein による PPAR γ 転写活性について検討を行った。その結果、3T3-L1 脂肪細胞に daidzein を添加したところ、有意な PPAR γ の転写活性増加が認められ、脂肪細胞への分化を促進することが示された。また、daidzein は濃度依存的に adiponectin 発現量を増加させ、MCP-1 発現量を減少させた。さらにこの adiponectin の発現制御には PPAR γ が関与していることを示した。adiponectin の発現量の増加および MCP-1 の発現量の減少は、我々の先行研究である daidzein を摂餌させたマウスの脂肪組織においても同様に観察されており、daidzein は PPAR γ を介してアディポカインの発現を制御することで、脂肪細胞における肥満誘導性炎症を改善し、インスリン抵抗性を改善する可能性

が示唆された。

一方で、脂肪組織における慢性炎症は脂肪細胞だけでなく、マクロファージとの相互作用によるものであり、両者の相互作用における検討が必要であると考えられる。また、マクロファージにおいては、PPAR α の転写活性が増加することで炎症性サイトカインの発現が減少することが報告されている。さらに、炎症反応に関与する多くの遺伝子の発現を制御する経路として NF- κ B・MAPK シグナル経路が知られている。そこで【研究 2】では、脂肪細胞とマクロファージの相互作用において daidzein が抗炎症作用を呈するのか、またそのメカニズムに PPAR γ だけでなく PPAR α や NF- κ B・MAPK シグナル経路の制御が関与するかについて明らかにすることを目的とした。3T3-L1 脂肪細胞と RAW264 マクロファージの共培養、またはパルミチン酸や肥大した 3T3-L1 脂肪細胞の培養上清を負荷して炎症誘導を行った RAW264 マクロファージを用いて、炎症性遺伝子発現量をリアルタイム PCR により解析を行った。また daidzein とともに、PPAR に特異的な阻害剤 (GW6471; PPAR α 阻害剤、GW9662; PPAR γ 阻害剤) を添加し、併せて検討を行った。その結果 daidzein は、共培養により増加した MCP-1、IL-6 の発現量を有意に減少させた。同様に、炎症誘導を行った RAW264 マクロファージにおいて、daidzein は MCP-1、IL-6 の発現量を有意に減少させた。阻害剤を用いた検討では、daidzein の IL-6 の発現抑制には PPAR α が関与していることが示された。さらに、daidzein はパルミチン酸による JNK のリン酸化を有意に阻害した。以上より、daidzein は PPAR α ・PPAR γ を活性化し、JNK シグナル経路を阻害することで、脂肪細胞とマクロファージの相互作用におけるアディポカインの遺伝子発現を制御することが示唆された。

本研究で得られた結果は、daidzein が PPAR α 、PPAR γ 、JNK などが関与する複数の経路を介して脂肪細胞とマクロファージの相互作用による炎症性遺伝子発現を調節するということを明らかにした。特に、PPAR α 活性化を介したイソフラボンの抗炎症メカニズムは従来知られていない、新しい知見である。