

グルココルチコイドがマクロファージにおけるスカベンジャー受容体 CD36 に及ぼす影響 The effect of glucocorticoid on scavenger receptor CD36 in macrophages

1K07A033-2
指導教員 主査 鈴木克彦

江口 大介
副査 坂本静男

【目的】

メタボリックシンドロームの新たな病態として非アルコール性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis : NASH) が提唱されている。NASH はアルコール性脂肪性肝炎と類似した病理所見を呈するが、病態形成機序が異なるとされている。NASH は、脂肪の蓄積のみならず、肝臓組織の繊維化、肝硬変、肝がんへと進展しうる。NASH の発症・進展には肝臓に脂肪が蓄積した状態 (1st hit)、さらにサイトカインや活性酸素などにより炎症が誘発された状態 (2nd hit) という two hit theory が広く支持されており、2nd hit の炎症の誘発により繊維化以降が進展するとされる。実際に、肥満マウスでは肝臓組織の炎症状態が亢進するとともに、繊維化マーカーの遺伝子発現が増加することが報告されている。また、肥満によって発現が増加するスカベンジャー受容体 CD36 が肝臓組織の炎症状態および繊維化に重要であることが明らかになった。一方で、NASH の予防に有効とされる運動トレーニングが肝臓組織の炎症状態を改善することや、脂肪肝を改善することが報告されている。さらに高脂肪食餌によってラットの肝臓の CD36 の発現が強まることが報告されている。加えて、運動により肥満マウスの肝臓組織における CD36 遺伝子発現が低下することも明らかにされている。しかし、そのメカニズムについてはまだ解明されていない。そこで本研究では、運動トレーニングによって誘導される副腎皮質ホルモン的一种であるグルココルチコイドを用いて肝臓での炎症の制御に関わるとされるマクロファージ細胞のスカベンジャー受容体 CD36 の発現に及ぼす影響を検討した。

【方法】

マウスマクロファージ細胞株 RAW 細胞を用いて、37°C、5% CO₂ の条件下で播種し、24 時間培養したのち、パルミチン酸、オレイン酸およびデキサメタゾンを追加した。一方、腹腔マクロファージを用いた検討では、C57BL/6J の 10 週齢のマウスに 12% のカゼインナトリウムを含んだ 1 ml PBS 溶液を腹腔内に投与し、3 日後に腹腔内を洗浄したのちマクロファージ細胞を採取し、37°C、5% CO₂ の条件のもとで 2 時間培養、洗浄しオレイン酸およびデキサメタゾンを追加した。脂肪酸は 10% BSA を含んだ DMEM 溶液に 7.5 mM の濃度になるように脂肪酸を追加し、2 時間攪拌することにより BSA と脂肪酸を結合させた。脂肪酸 100 μM の濃度になるように細胞へ追加した。同様にデキサメ

ゾンは 100 μM の濃度になるように追加した。細胞は 37°C、5% CO₂ の下、4 時間刺激した。細胞の遺伝子発現は quantitative RT-PCR 法、膜上の発現はフローサイトメトリー法により定量した。

【結果】

マクロファージ細胞株における炎症性サイトカイン (TNF-α) の遺伝子発現および CD36 の遺伝子発現においてオレイン酸、パルミチン酸、グルココルチコイド添加による変動はみられなかった。

一方、腹腔マクロファージ細胞を用いて検討した場合、RT-PCR 法を用いた CD36 mRNA 遺伝子発現はオレイン酸刺激によって増加したが、デキサメタゾン刺激によって減少した。また、フローサイトメトリー法を用いたマクロファージ細胞の膜上での CD36 発現はオレイン酸刺激により増加したが、デキサメタゾン刺激により抑制された。

【考察】

マクロファージ細胞株における TNF-α の遺伝子発現および CD36 の遺伝子発現はオレイン酸、パルミチン酸、グルココルチコイド添加による関連はみられなかった。細胞株は不死化しており、生体内もしくは生体内にきわめて近い細胞とは染色体の構成が大きく異なるため、脂肪酸やデキサメタゾンによる CD36 遺伝子やその関連遺伝子の転写に及ぼす機構が異なると考えられる。一方、腹腔マクロファージ細胞における CD36 遺伝子発現はオレイン酸刺激によって増加したが、デキサメタゾン刺激によって減少した。さらに、マクロファージ細胞における膜上での CD36 の発現もオレイン酸刺激により増加したが、デキサメタゾン刺激により減少した。脂肪酸はマクロファージにおける CD36 の発現の増強を促す。一方、デキサメタゾンはマクロファージにおける CD36 の発現を低下させる。これらのことから、デキサメタゾンは活性化マクロファージ細胞における CD36 発現の抑制に関与する可能性が示された。そして、デキサメタゾンによるマクロファージのスカベンジャー受容体 CD36 の発現の低下は、マクロファージからの炎症性サイトカインの産生に関与し、それに伴う炎症の改善に寄与していると考えられる。したがって、グルココルチコイドを産生する運動が、CD36 の発現の抑制を通じて、NASH の改善・予防に関与すると考えられる。