

クルクミンは C2C12 筋管細胞において LPS 誘導性 TNF- α 産生を抑制する
Curcumin suppresses LPS-stimulated TNF- α production in C2C12 myotube cells

1K8A206-8

指導教員 鈴木克彦 准教授

溝上 翼

副査 赤間高雄 教授

【目的】

運動誘発性骨格筋損傷は、炎症性サイトカインや活性酸素の産生などの炎症反応および酸化ストレスを引き起こすことが知られている。興味深いことに、運動誘発性骨格筋損傷後にはエンドトキシン濃度が上昇することが明らかにされている。エンドトキシンは lipopolysaccharide (LPS) によって構成されており、TNF- α や IL-6 などの炎症性サイトカインを産生する。したがって運動誘発性骨格筋損傷に伴って上昇する炎症性サイトカインの産生には LPS の関与が考えられる。

骨格筋における活性酸素は主にミトコンドリアにおける電子伝達系で産生されるが、骨格筋損傷時には、TNF- α や白血球の浸潤が NADPH oxidase を活性化することが明らかになっている。さらに NADPH oxidase が活性化することによって過酸化水素の産生が誘導され、過酸化水素は TNF- α などの炎症性サイトカインの産生を促進することが明らかになっている。

抗炎症・抗酸化作用を示すクルクミンがダウンヒル運動後の骨格筋内における TNF- α や IL-6 などの炎症性サイトカイン濃度を抑制すると報告されている。また、クルクミンはマウスマクロファージ細胞株において LPS 誘導性 IL-6 の産生および遺伝子発現を抑制することが明らかになっている。しかしながら、クルクミンが骨格筋細胞において LPS 誘導性サイトカインおよび活性酸素産生に及ぼす影響は明らかにされていない。そこで、本研究ではマウス筋芽細胞株 C2C12 細胞を用いてクルクミン添加が LPS 誘導性の TNF- α および過酸化水素の産生に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】

マウス筋芽細胞株 C2C12 細胞は 10% ウシ血清を含んだ DMEM を用いて、37°C、5% CO₂ の条件下で継代培養した。その後 2% ウマ血清を含んだ DMEM を用いて 37°C、5% CO₂ の条件下において筋管細胞に分化させた。LPS およびクルクミンを添加し、6 時間培養した。培養上清中の TNF- α および MCP-1 タンパク濃度を ELISA を用いて測定した。また、細胞から RNA を抽出した後に遺伝子発現量を real-time PCR を用いて定量した。培養上清中の過酸化水素濃度は鉄イオンの酸化に伴う色素の呈色反応を用いて蛍光強度を解析した。

【結果】

細胞培養上清中の TNF- α 濃度は LPS 無刺激条件と比較して LPS 刺激条件で有意な高値を示した。また TNF- α 濃度は LPS 刺激条件と比較してクルクミンを添加したすべての濃度条件において有意な低値を示した。

細胞培養上清中の過酸化水素濃度は、LPS 無刺激条件と比較して LPS 刺激条件においては有意な影響を示さなかった。しかしながら、クルクミン添加すべての濃度条件において LPS 刺激条件と比較して有意な低値を示した。さらに、クルクミン添加 1 μ M 条件と比較してクルクミン添加 20 μ M 条件では有意な低値を示した。

細胞培養上清中の MCP-1 濃度および遺伝子発現は LPS 無刺激条件と比較して LPS 刺激条件で有意な高値を示した。しかしながら、LPS 刺激条件と比較してクルクミン添加すべての濃度条件において有意な影響はみられなかった。

【考察】

本研究では C2C12 筋管細胞の TNF- α 産生は、LPS 刺激によって誘導され、クルクミンの添加によって抑制されることが明らかになった。クルクミンは抗炎症作用が示されており、本研究においても LPS 誘導性の TNF- α 産生を抑制したことからクルクミンは骨格筋組織に対しても抗炎症作用が生じるのではないかと考えられる。

加えて、C2C12 筋管細胞の上清中の過酸化水素濃度は、LPS 添加による増加は示されなかった。しかしながら、クルクミン添加によって過酸化水素濃度が減少することが明らかになった。クルクミンは様々な活性酸素種に及ぼす抗酸化作用が示されており、C2C12 筋管細胞においても培養上清中の過酸化水素を消去した可能性が示唆されたが、クルクミンの骨格筋における抗酸化作用の誘導については、今後さらなる検討が必要である。

【結論】

クルクミンは C2C12 筋管細胞において LPS 誘導性 TNF- α 産生を抑制することが示され、骨格筋細胞においても抗炎症作用が示されると考えられる。また、クルクミンが骨格筋細胞における活性酸素種に及ぼす抗酸化作用については今後さらなる検討が必要である。