

クルクミンはダウンヒル走行運動後のマウスの骨格筋における NADPH-oxidase および MCP-1 の遺伝子発現を抑制する

スポーツ医科学研究領域

5009A025-9 加藤 孝基

研究指導教員：鈴木 克彦 准教授

【背景】

ダウンヒル走行運動は筋組織の損傷や運動パフォーマンスの低下を引き起こす。ダウンヒル走行運動後、筋組織では炎症性サイトカインや活性酸素の産生が増加することが知られている。また、これらの炎症反応には好中球やマクロファージなどの免疫細胞が関与していることが明らかになっている。

天然ウコンの成分であるクルクミンは抗炎症作用や抗酸化作用を示すことが知られている。近年、クルクミンはダウンヒル走行運動後においてマウス骨格筋の炎症反応を抑制することが報告された。したがって、炎症反応同様に活性酸素産生を抑制する可能性が考えられる。しかしながら、その作用機序は明らかにされていない。クルクミンは、細胞培養実験においてマクロファージの浸潤を誘導する MCP-1 の産生を抑制することが報告されている。したがって、ダウンヒル運動後の炎症反応抑制にはマクロファージの浸潤と活性酸素産生の抑制が関与している可能性が考えられる。

【目的】

本研究では、マウスを用いてクルクミンを経口投与し、ダウンヒル運動後の骨格筋組織の炎症反応、酸化ストレスおよび免疫細胞浸潤に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】

10 週齢の C57B/6J マウスを、安静+クルクミン非投与群 (n=12)、安静+クルクミン投与群 (n=12)、ダウンヒル運動+クルクミン非投与群 (n=14)、ダウンヒル運動+クルクミン投与群 (n=14) に無作為に分けた。ダウンヒル運動は傾斜-14%、22m/min の条件にて 150 分間負荷した。クルクミン摂取群は、イソフルラン麻酔下で、マウス 1 匹あたりクルクミン成分 3mg を含む PBS を 200 μ l 経口投与し、クルクミン非投与群には PBS を 200 μ l 経口投与した。運動群は、運動直後に投与した。クルクミン及び PBS 投与 24 時間後に採血し、腓腹筋を摘出した。筋損傷の程度を定量するために血漿中の Creatine Kinase (CK) 活性を測定した。また、摘出した筋組織から総タンパク質を抽出し、

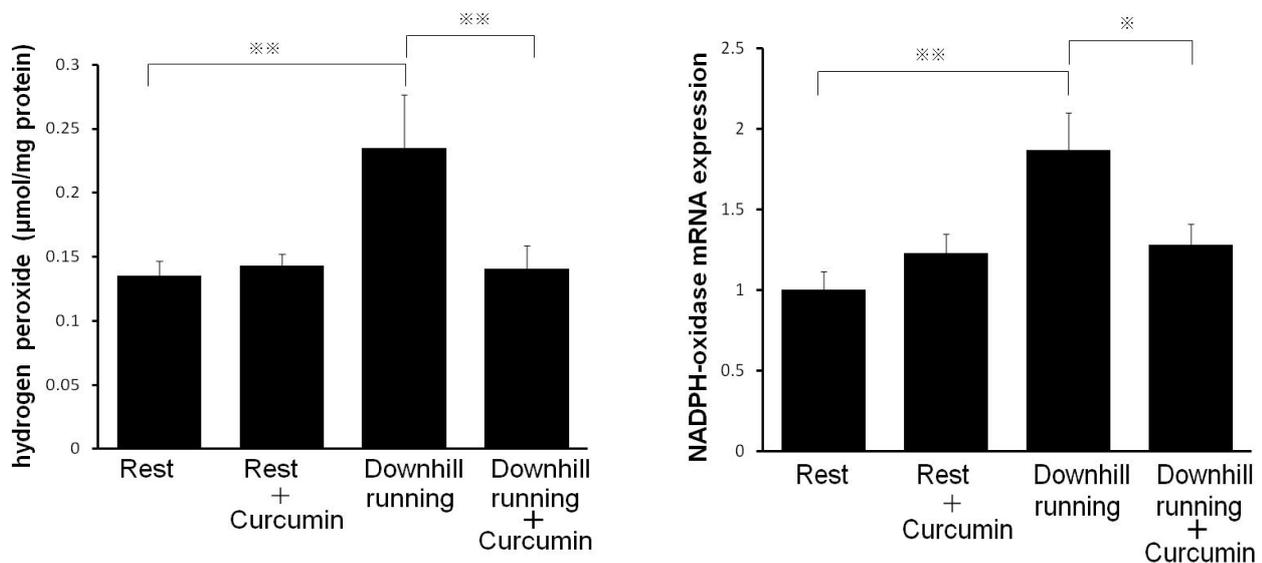


Fig.1 Effects of downhill running and curcumin administration on hydrogen peroxide concentration and NADPH-oxidase mRNA expression in gastrocnemius muscle of mice. means \pm SEM. *P<0.05, **P<0.01

Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)により骨格筋組織内の tumor necrosis factor (TNF)- α 、interleukin (IL)-6、monocyte chemotactic protein (MCP)-1、Myeloperoxidase (MPO)のタンパク質濃度を測定した。hydrogen peroxide 濃度は、Hydrogen Peroxide Assay Kit を用いて測定した。炎症性サイトカイン、nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)-oxidase、MCP-1、F4/80 の遺伝子発現は、腓腹筋から総 RNA を抽出し、real-time PCR 法により定量した。結果は、平均値±標準誤差で表した。統計処理は二元配置分散分析を行い、Post hoc 検定は Turkey' s test を使用した。また、有意水準は 5%未満とした。

【結果】

血漿の CK 活性はダウンヒル運動の有意な影響がみられた。一方で、クルクミン投与の影響はみられなかった。腓腹筋の TNF- α 、IL-6 のタンパク質濃度はダウンヒル運動およびクルクミン投与の影響はみられなかった。また、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-12 の遺伝子発現もダウンヒル運動およびクルクミン投与の影響はみられなかった。hydrogen peroxide 濃度および NADPH-oxidase の遺伝子発現はダウンヒル運動により有意に増加し、ダウンヒル運動群においてクルクミン投与により有意に減少した (Fig.1)。MCP-1 の遺伝子発現およびマクロファージ浸潤を示す F4/80 の遺伝子発現はダウンヒル運動により有意に増加し、ダウンヒル運動群

においてクルクミン投与により有意に減少した

(Fig2)。好中球の脱顆粒を示す MPO 濃度は、ダウンヒル運動による変化はみられなかったが、ダウンヒル運動群においてクルクミン投与により有意に増加した。

【考察】

クルクミン投与により、ダウンヒル運動後の酸化ストレス状態が改善することが示された。また、クルクミン投与により、ダウンヒル運動後の骨格筋の MCP-1 遺伝子発現の抑制を介してマクロファージの浸潤が抑制される可能性が示唆された。組織に浸潤したマクロファージは、酸化酵素の NADPH-oxidase を活性化し、hydrogen peroxide を生成することが知られている。したがって、クルクミン投与によるダウンヒル運動後の hydrogen peroxide 濃度および NADPH-oxidase の遺伝子発現の抑制は、マクロファージの浸潤抑制が関与している可能性が考えられる。

【結論】

炎症性サイトカインは、ダウンヒル運動およびクルクミンの影響を受けないことが示された。一方、クルクミンは、ダウンヒル運動後におけるマウス骨格筋の hydrogen peroxide 濃度および NADPH-oxidase の遺伝子発現の増加を抑制することが明らかになった。さらに、クルクミンはダウンヒル運動後の MCP-1 および F4/80 の遺伝子発現を抑制することが明らかになった。

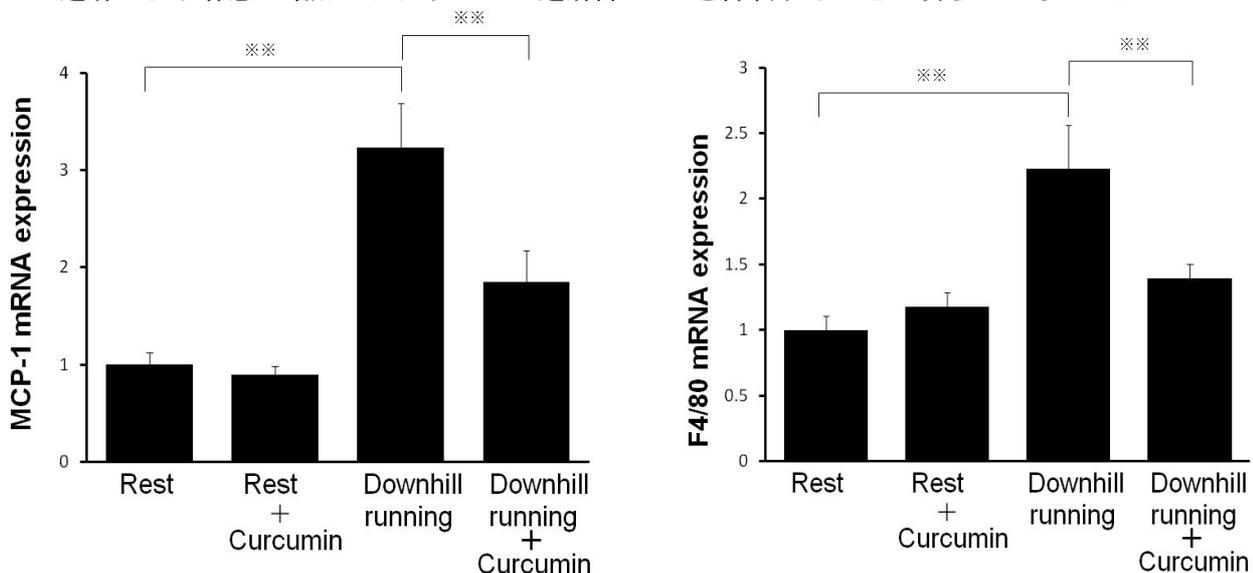


Fig.2 Effects of downhill running and curcumin administration on MCP-1 mRNA expression and F4/80 mRNA expression in gastrocnemius muscle of mice. means \pm SEM. ***P<0.01