

P-E-1

ピクノジェノール^Rはマクロファージにおける TLR-4 を介する細胞内脂肪滴蛋白 ADRP の発現を抑制する

Pycnogenol^R suppresses the Toll-like receptor 4-mediated ADRP expression in macrophages

生山祥一郎, 谷 剣秋, 西村 純二

九州大学生体防御医学研究所・免疫病態学分野

Adipose differentiation-related protein (ADRP) is highly expressed in macrophages and human atherosclerotic lesions. The present study demonstrated that the Toll-like receptor 4-mediated ADRP expression was suppressed by Pycnogenol^R (Pyc) in macrophages. Lipopolysaccharide (LPS) enhanced the mRNA and protein of ADRP and lipid-droplet formation in RAW264.7 cells, all of which were suppressed by Pyc. The mechanisms of Pyc effect on the ADRP expression involved, 1) suppression of LPS-induced, Ets/AP-1-mediated enhancement of ADRP promoter activity, 2) suppression of the LPS-induced expression of inflammatory cytokines such as IL-6, IL-1 α and IFN- β , which could, in turn, stimulate the ADRP expression. Pyc suppressed enhancer activity of AP-1 and NF κ B, but it did not eliminate DNA binding of these factors, indicating that Pyc might modulate the transactivation process of these factors. Based on these results, it is implicated that Pyc could be useful for prevention of atherosclerosis.

【Disclosure】 Pycnogenol^R was generously provided by Horphag Research Ltd (Le Sen, France). There is no conflict of interest.

【目的】

Adipose differentiation-related protein (ADRP)は ubiquitous に発現する細胞内脂肪滴構成蛋白で、動脈硬化巣のマクロファージや肝細胞などにとくに強く発現している。細胞に ADRP を強制発現させると脂肪滴形成が亢進し、ノックアウトマウスやアンチセンス・オリゴヌクレオチドで発現を抑制したマウスでは肝の脂肪蓄積が抑制される。そこで ADRP mRNA の発現抑制は、動脈硬化や脂肪肝などの発症予防手段として応用できるのではないかと期待される。本研究ではマウスのマクロファージ系細胞 RAW264.7 を用いてピクノジェノール^R(Pyc)の ADRP 発現に及ぼす効果を検討した。

【利益相反】

ピクノジェノール^R 原末は Horphag Research Ltd (Le Sen, France)より提供されたが、発表者と提供企業との間に利益相反はない。

【方法と結果】

動脈硬化の発症・進展におけるマクロファージの活性化に Toll-like receptor (TLR)が関わることが知られている。TLR-4 のリガンドである LPS で細胞を刺激すると、ADRP の mRNA 発現は用量依存的に増加し、ADRP 蛋白の発現量も増加した。一方、Pyc は LPS による ADRP の mRNA 発現増加を用量依存的に減弱し、細胞内脂肪滴形成を抑制した。TLR-4 を介する細胞内情報伝達には redox-sensitive な転写調節因子である AP-1 や NF κ B が関わる。LPS 刺激は Ets/AP-1 複合配列を介して ADRP 遺伝子のプロモーター活性を増強した。また、LPS は RAW264.7 細胞で IL-6, IL-1 α および IFN- β の mRNA 発現を誘導したが、これらのサイトカインをこの細胞に添加すると ADRP mRNA 発現が増強した。Pyc は ADRP 遺伝子の Ets/AP-1 配列およびこれらのサイトカイン遺伝子に存在する NF κ B 配列のエンハンサー活性をいずれも抑制した。Ets/AP-1 配列あるいは NF κ B 配列をプローブにしたゲルシフトアッセイにおいては、LPS 刺激した核蛋白でこれらの転写因子の DNA 結合は増強したが、Pyc は DNA 結合には変化を及ぼさなかった。したがって、Pyc の作用はこれらの転写因子の転写活性化能を抑制する epigenetic な作用によるのではないかと推察された。

【結論】

健康食品として利用されている Pyc は in vitro においてマクロファージの ADRP 発現を抑制する。このような効果がヒトで確認できれば、動脈硬化の発症・進展予防に利用できる可能性がある。