

脂肪細胞とマクロファージの共培養系を用いた脂肪組織炎症の解析

生命科学院 生命システム科学コース 消化管生理学研究室
長坂 悠生

【背景・目的】我々の研究室では、*Lactobacillus plantarum* No.14 株 (LP14) の経口投与が食餌誘導性肥満モデルマウスにおける白色脂肪細胞サイズの増大を抑制することを明らかにした (Takemura *et al.* 2010 *Exp Biol Med*)。また、2 型糖尿病モデルマウス (KK/Ta) においても体脂肪蓄積およびインスリン抵抗性の進展が抑制されることを観察した (Okubo *et al.* submitted)。これらの知見は LP14 が抗肥満およびインスリン抵抗性抑制作用を有する可能性を示唆しているが、その作用機構は明らかではない。本研究では、LP14 が示すインスリン抵抗性抑制作用の機構を明らかにする一環として、「LP14 の菌体成分が肥満に伴って惹起される脂肪組織における炎症を抑制する」という仮説を立て、脂肪細胞とマクロファージの共培養系を用いて脂肪組織炎症の解析を行った。

【材料・方法】 実験 1: マウス前駆脂肪細胞株 3T3-L1 を定法により成熟脂肪細胞へ分化させた。3T3-L1 細胞とマウス単球マクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞が相互に接触する共培養を施行した。共培養 48 時間後に細胞を回収して RNA を抽出した。脂肪組織における炎症に関わるアディポカインの遺伝子発現を RT-qPCR 法により解析した。 実験 2: 実験 1 と同様に 3T3-L1 細胞と RAW264.7 細胞の共培養を施行した。さらに共培養系に MRS 培地、LP14 あるいは *L. plantarum* 基準株 (JCM1149T; LPT) 加熱死菌体を添加し、培養を行った。培養 48 時間後に炎症性アディポカインについて、培養上清中のタンパク濃度は ELISA 法により、また遺伝子発現は RT-qPCR 法により解析した。 実験 3: 実験 1 と同様に 3T3-L1 細胞と RAW264.7 細胞の共培養を施行した。さらに共培養系に MRS 培地、LP14 あるいは LPT 培養上清を添加し、培養を行った。培養 48 時間後に炎症性アディポカインの培養上清中のタンパク濃度を ELISA 法により測定した。

【結果・考察】 実験 1 では、3T3-L1 細胞と RAW264.7 細胞の共培養により炎症性変化が誘導されることを観察した。したがって、この共培養系が生体における肥満に伴って惹起される脂肪組織の炎症を再現していると考えた。実験 2 では、加熱死菌体が共培養系における炎症応答を惹起することを観察したが、LP14 は LPT と比較して炎症応答の誘導活性が低いことが示された。実験 3 では、LP14 培養上清が共培養系における TNF- α 産生を抑制することが示された。すなわち、本菌株が炎症応答を抑制している可能性が示唆された。したがって、LP14 が示すインスリン抵抗性抑制作用の機構の一部として、LP14 による菌体外成分が TNF- α 産生の減少を介して、脂肪組織の炎症を抑制することが関与する可能性がある。