

炎症メディエーターSTAT5安定評価系の構築 および抗炎症食品成分の探索・解析



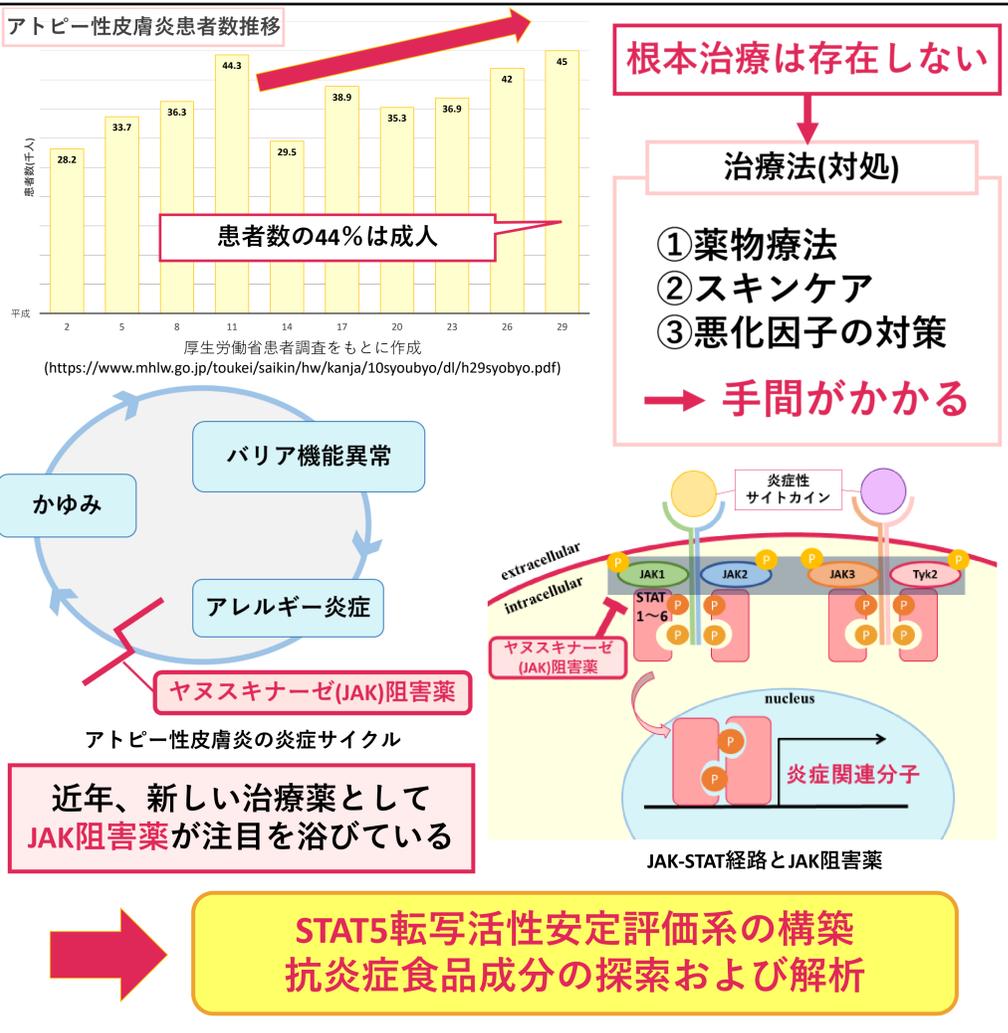
M54 生物学専攻 食品生理機能工学研究室 2166002 石流 愛梨

Abstract

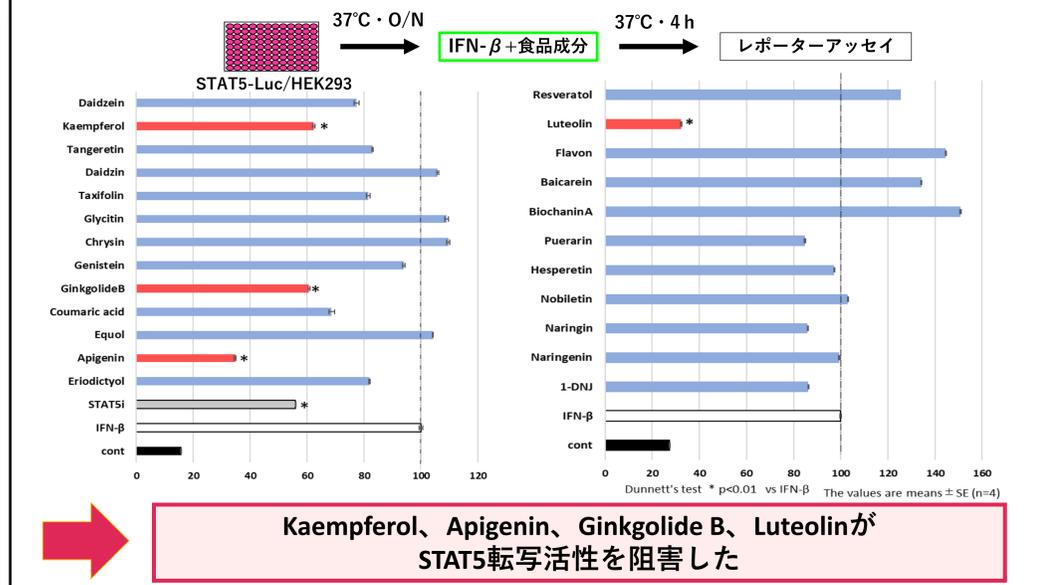
【目的】近年、アトピー性皮膚炎の患者数は増加傾向にあるが、薬剤塗布や保湿といった手間のかかる現在の治療法、治療費の負担などでQOLが低下しやすいといった点が問題となっている。一方、アトピー性皮膚炎の治療薬として、炎症性サイトカイン産生に関わるJanus kinase(JAK)カスケードを阻害することでこのサイクルを断ち切るJAK阻害薬が注目され、開発が進んでいる。本研究では、日常的に摂取する食品の中から症状の緩和に有効な成分を探索することを目的とし、JAK下流に位置する転写因子であるSignal Transducer and Activator of Transcription(STAT)ファミリーの中でも特にSTAT5に注目し、動物培養細胞を用いたSTAT5転写活性を安定に測定する評価系を構築し、さらに抗炎症作用を有する食品成分の探索・解析をおこなうこととした。

【方法・結果】STAT5応答配列を含むレポーターベクターをHEK293細胞にトランスフェクションした後、抗生物質Hygromycinによる薬剤選抜をおこなった。さらに限界希釈法を用い、レポーターアッセイによりSTAT5転写活性の高いシングルクローンを選抜・測定の実験条件を検討し、STAT5転写活性を安定に測定できる細胞株である1-B-9株を獲得するに至った。次に構築した評価系を用いて、食品成分がSTAT5転写活性に及ぼす影響を検討したところ、いくつかの化合物がSTAT5阻害活性を有することが示された。そこでマクロファージモデル細胞を用いて、食品成分がIFN- β によるIL-6 mRNA発現および分泌亢進に及ぼす影響をreal-time PCRおよびELISA法を用いて検討した。その結果、LuteolinはIFN- β によるIL-6 mRNA発現および分泌亢進を有意に抑制し、RNA干渉法によりこれがSTAT5を介していることが確認された。Luteolinの抗炎症作用における構造活性相関を確認するため、Luteolinの構造類似体であるChrysoeriol、Diosmetinを用いてIL-6 mRNA発現亢進に及ぼす影響を確認したところ、ともに阻害活性を示した。このことから、LuteolinのSTAT5下流IL-6 mRNA発現亢進はフラボン骨格B環4位のOH基またはOCH₃基が重要であることが確認された。Western blot法を用いてIFN- β によるSTAT5リン酸化および総タンパク量の増加について検討したところ、Luteolinはどちらも抑制する効果が確認された。以上、本研究よりLuteolinはアトピー性皮膚炎の緩和・緩解期の持続に有用となる可能性が示された。

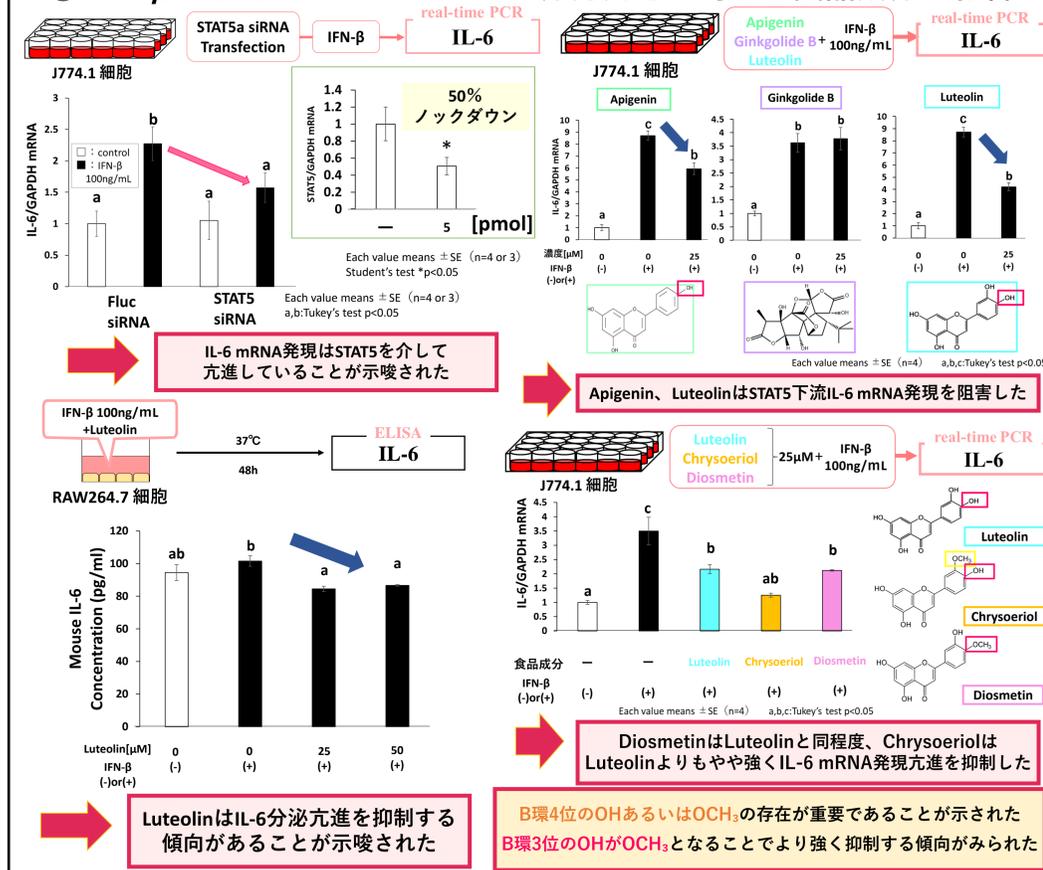
Introduction



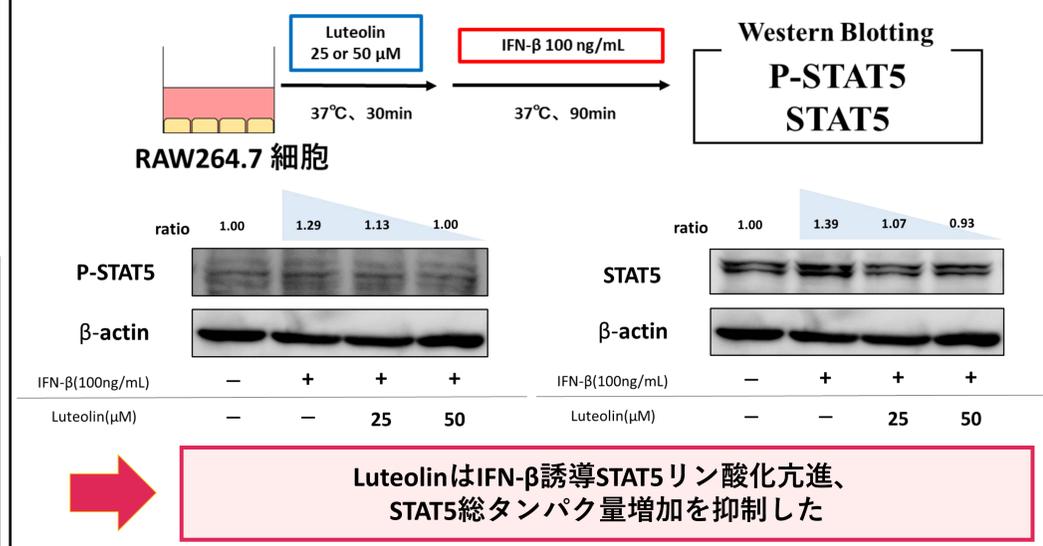
②構築した系を用いた食品成分のスクリーニング



③IFN- β によるIL-6 mRNA発現・分泌亢進に対する食品成分の影響

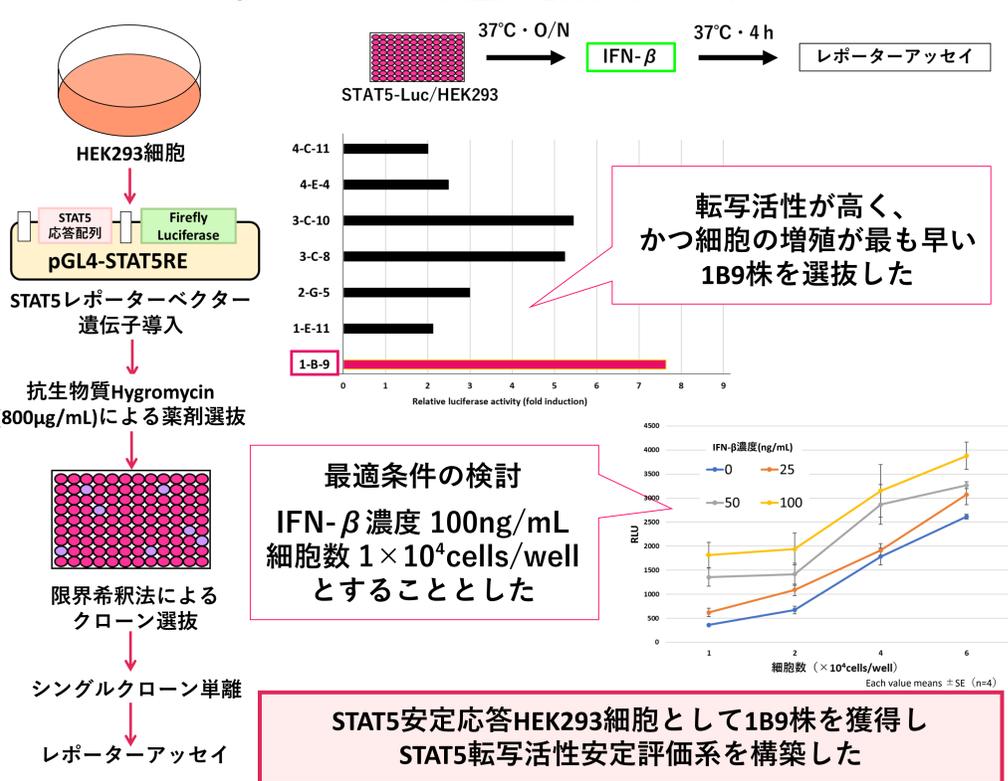


④LuteolinがSTAT5リン酸化・タンパク量増加に及ぼす影響



Methods and Results

① STAT5転写活性安定評価系の構築



Conclusion

