

迅速な NLRP3 インフラマソーム活性化検出法の開発とこれを制御する生薬もしくは漢方の探索

申請代表者 河西 文武

富山県立大学・工学部・医薬品工学科

講師

所外共同研究者

所内共同研究者

■背景・目的

NLRP3 インフラマソームと呼ばれる細胞内分子の複合体が、痛風、動脈硬化、肥満といった無菌性炎症惹起に関わる重要な自然免疫経路として注目されている。本研究では過分極により蛍光を発する膜電位感受性色素を用いることで、従来 Western Blotting 等で評価していた NLRP3 インフラマソームの活性化を簡便かつ迅速に検出できるのではないかと考え、以下のような研究を計画した。1)マウスマクロファージ細胞株である J774 に膜感受性色素である DiBAC₄(3) を取り込ませる。2)本申請で提供された生薬および漢方を各 well に加える。3)NLRP3 インフラマソームのアゴニストである ATP もしくは Nano-Silica で NLRP3 インフラマソームの活性化を誘導する。4)膜電位変化により変化する蛍光強度を、マイクロプレートリーダーでモニターし、NLRP3 インフラマソーム活性化を抑制する阻害薬を同定する。これら一連の実験により新たな NLRP3 インフラマソームを制御する生薬もしくは漢方の同定を目的とした。

■結果・考察

生薬由来化合物セットは 10 μ M もしくは 30 μ M、生薬エキスセットおよび漢方方剤エキスセットは 10 μ g/mL もしくは 30 μ g/mL 濃度使用したところ、生薬由来化合物セットの No.23 (E)-Capsaicin、No.48 [6]-Gingerol、No.92 [6]-Shogaol 添加群で NLRP3 インフラマソームを活性化する傾向が見られた。これらは Transient Receptor Potential (TRP) V1 チャンネルのアゴニストであることが知られている。また TRPV1 チャンネルは酸性 pH 感受性のチャンネルであり、アシドーシスによる NLRP3 インフラマソーム活性化に関与するとの報告もある (Rajamaki et al., JBC, 288:13410-13419, 2013)。一方乾姜、六君子湯などには上記の[6]-Gingerol、[6]-Shogaol が含まれていることが知られているが、今回の生薬エキスセット、漢方方剤エキスセットに含まれる乾姜、六君子湯ではこれらに含まれる濃度の違いがあるためか NLRP3 インフラマソーム活性化の傾向は見られなかった。

■結論

本研究により NLRP3 インフラマソームの活性化を誘導する候補物質が新たに見つかった。今後は、IL-1 β を始めとする各種炎症性サイトカインの測定や動物実験の施行を含め検討を行うつもりである。また今回、候補に上がらなかった薬剤についても、引き継ぎ濃度の変更や、添加する細胞種を変更するなどしてスクリーニングについても詳細な検討を行う予定である。