

$\beta_2$  アドレナリン受容体は NF- $\kappa$ B の活性化を調節し、一酸化窒素の産生を制御する

木崎 節子<sup>1</sup>、中野 法彦<sup>1</sup>、櫻井 拓也<sup>1</sup>、今泉 和彦<sup>2</sup>、大野 秀樹<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>杏林大学医学部、<sup>2</sup>早稲田大学人間科学学術院)

$\beta_2$ -Adrenergic receptor regulates NF- $\kappa$ B activation and NO production

Takako Kizaki<sup>1</sup>, Norihiko Nakano<sup>1</sup>, Takuya Sakurai<sup>1</sup>, Kazuhiko Imaizumi<sup>2</sup>, and Hideki Ohno<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Kyorin University, School of Medicine, and <sup>2</sup>Faculty of Human Sciences, Waseda University)

【はじめに】神経・内分泌・免疫系は密接なネットワークを形成し、生体の恒常性維持に貢献している。免疫系から放出されるサイトカインが誘発する発熱、摂食抑制、徐波睡眠増加は、生体防御反応の一環であることは良く知られている。一方、ストレスにより産生されるホルモンや神経伝達物質による免疫機能の修飾について、その生物学的意義や調節機構の多くがまだ解明されていない。運動トレーニングは交換神経系を活発にすることから、本研究では、運動トレーニングが免疫機能に与える影響をマクロファージに発現している  $\beta_2$  アドレナリン受容体 ( $\beta_2$ AR) に焦点をあて検討した。加えて、特に感染防御における運動効果を明らかにしていくことを目的とし、 $\beta_2$ AR と細菌の細胞壁を構成するリポポリサッカライド (LPS) の受容体である Toll 様受容体 (TLR4) のクロストークを解析した。

【方法と結果】運動トレーニングの影響：BALB/c マウスに3週間のトレッドミルトレーニングを行った。対照群と比べて、トレーニング群のマウスの腹腔マクロファージには  $\beta_2$ AR の発現量の低下が見られ、一方、IL-12 と一酸化窒素 (NO) の産生能が亢進していた。テトラサイクリン (Tet) オペレーター配列をもつベクターと Tet リプレッサー発現ベクターを利用した哺乳類細胞発現システムを用いて、マクロファージ細胞株・RAW264 の  $\beta_2$ AR の発現量を変化させた。 $\beta_2$ AR 過剰発現マクロファージ細胞株における IL-12 の mRNA とタンパク質発現量は、ベクターのみをトランスフェクトしたコントロール細胞株と比べて有意に低下した。トランスフェクトした  $\beta_2$ AR の発現を低下させると、LPS 刺激による IL-12 と NO 産生量に有意な回復が見られた。これらの結果は、運動トレーニングによる  $\beta_2$ AR の発現量の低下は、IL-12 が誘導するタイプ1ヘルパーT細胞が制御する細胞性免疫反応を増強すると共に、NO 産生能の亢進により感染防御能を高めることが示唆された。LPS 刺激によるマクロファージの  $\beta_2$ AR 発現変化：RAW264 を LPS 刺激し、 $\beta_2$ AR の mRNA とタンパク質レベルを解析した。いずれも著しい低下が認められ、これは LPS 刺激による誘導型 NO 合成酵素 (NOS II) の発現誘導と逆相関していた。LPS

刺激による  $\beta_2$ AR の発現抑制機構の存在と、 $\beta_2$ AR の NO 産生調節への関与が示唆された。 $\beta_2$ AR 強発現株の樹立と解析： $\beta_2$ AR 強発現細胞株(RAWar)を樹立し、LPS 応答における  $\beta_2$ AR 発現抑制の役割を検索した。RAWar 細胞には NF- $\kappa$ B の活性化抑制と NOS II 発現量の著しい低下が認められた。 $\beta_2$ AR の発現抑制は  $\beta$ -arrestin 2 の発現抑制を伴っていた。一方、 $\beta$ -arrestin 2 は、細胞質の I $\kappa$ B $\alpha$  を安定化し分解を阻害することによって NF- $\kappa$ B の活性化を抑制していることが示唆された。LPS による  $\beta_2$ AR 発現調節機構の解析： $\beta_2$ AR 遺伝子の 133bp 上流には、機能不明遺伝子 LOC225609 が逆向きに位置している。レポーターアッセイにより LPS 刺激後にみられる  $\beta_2$ AR 発現低下は、その遺伝子領域によって制御されていることがわかった。RT-PCR 法により RAW264 におけるその遺伝子の転写が認められ、 $\beta_2$ AR 遺伝子と同様に LPS 刺激により転写抑制が起こっていることが確認された。さらに、その抑制は両遺伝子間にある 133bp 領域で制御されていた。TLR4 と  $\beta_2$ AR 情報伝達系のクロストークの解析：TLR4 の下流には少なくとも2つの情報伝達系 (MyD88 依存性と TRIF 依存性) の存在が知られている。そこで、それぞれの siRNA によりその発現をノックダウンした RAW264 細胞を LPS 刺激し、 $\beta_2$ AR 発現量変化を解析した結果、 $\beta_2$ AR 発現抑制が TRIF 依存性情報伝達系により制御されていることが明らかとなった。さらに、TRIF 依存性情報伝達系を使う TLR4 と TLR3 刺激による NO 産生は、ノルエピネフリン (NE) の影響は受けませんが、MyD88 依存性情報伝達系のみを使う TLR9 刺激による NO 産生には、NE による抑制が認められた。

〔考察〕 $\beta_2$ AR は I $\kappa$ B $\alpha$  の安定化と分解阻害を行っている  $\beta$ -arrestin 2 の発現調節を行うことによって NF- $\kappa$ B の活性化を調節していて、TRIF 依存性の  $\beta_2$ AR と  $\beta$ -arrestin 2 の発現抑制により、TRIF 依存性 I $\kappa$ B $\alpha$  の分解と NF- $\kappa$ B の活性化が促進されることが示唆された。加えて、TRIF 依存性の  $\beta_2$ AR と  $\beta$ -arrestin 2 の発現抑制は、ストレスなどによる  $\beta_2$ -AR からの抗炎症性シグナルを回避する機構であることが推察された。