

**P-185**  
(219)

マウスマクロファージにおけるシイタケ菌糸体由来リグニン配糖体のシグナル伝達経路の DNA マイクロアレー解析

○坂上 宏<sup>1,2</sup>、May Maw The<sup>2</sup>、河野 みち代<sup>2</sup>、友村 美根子<sup>2,3</sup>、友村 明人<sup>3</sup>、榑田 達矢<sup>4</sup>、牧野 徹<sup>5</sup> (明海大 歯 薬理、<sup>2</sup>明海大 歯 MPL、<sup>3</sup>明海大 歯 生化、<sup>4</sup>(株) ナラプロ・テクノロジー、<sup>5</sup>(株) ヒューマラボ)

【目的】我々は、これまでに、リグニン配糖体の多彩な生物活性について報告してきた (Sakagami et al, Pharmacol & Therapeut, in press, 2010)。今回、シイタケ菌糸体培養抽出物 (LEM) 由来リグニン配糖体の作用点を明らかにするために、マウスマクロファージ様細胞 J774.1 を用いた DNA マイクロアレー解析を行った。【方法】リグニン配糖体は、アルカリ抽出と酸沈殿法を組み合わせることで調製した。LEM およびリグニン配糖体の化学組成は、HPLC を用いて解析を行った。LPS の汚染は、lipid A-特異的な発色法を用いて検討した。TNF $\alpha$  の定量は、ELISA 法を用いて行った。RNA を抽出し、アレイ・ハイブリダイゼーション、発現変動遺伝子の抽出、階層的遺伝子クラスタリング、主成分分析を行った。【結果と考察】7 種のリグニン配糖体画分のうち、Fr4 は最大の抗 HIV 活性および TNF $\alpha$  産生を誘導した。Fr4 は、リグニンの前駆体から成り、タンニン類、フラボノイド類を含まないこと、また、LPS の汚染は、0.0395  $\mu$ g/mL 程度であった。Fr4 は、免疫応答に関連した遺伝子発現に影響を与えるが、LPS と比べて、それほど多くの遺伝子発現には影響しないことが示唆された。

**P-186**  
(220)

紫外線照射による口腔癌細胞死の誘導とビタミン C の保護効果

○南部 俊之<sup>1</sup>、佐藤 和恵<sup>2</sup>、坂上 宏<sup>3</sup>、嶋田 淳<sup>1</sup> (明海大 歯 口外 I、<sup>2</sup>昭大 医 解剖、<sup>3</sup>明海大 歯 薬理)

【目的】我々は、ヒト口腔扁平上皮癌細胞が紫外線照射に対して、ヒト口腔正常組織細胞に比べて遥かに高い感受性を示すことを報告した。紫外線により誘発する細胞死の特性を明らかにするために、各種抗酸化剤の紫外線保護効果を比較検討した。【方法】ヒト口腔扁平上皮癌細胞 (HSC-2) は、DMEM+10% FBS 中で培養した。紫外線照射するために、細胞を 96-microwell plate に播き、48 時間培養してプレートに付着させた。様々な濃度の被検物質を含むリン酸緩衝液 PBS(-)100 あるいは 200  $\mu$ l に置換後、プレートの蓋を外し、プレートを UV ランプ (波長 260nm) 20.5 cm 離れた位置に置き、1 あるいは 2 分間紫外線照射した。新鮮培地に置換して、24 時間培養後、相対的生細胞数は MTT 法により検討した。紫外線による細胞傷害を抑制する活性は、未照射の細胞数に対する細胞の割合 (%) で表示した。【結果と考察】陽性対照で使用したビタミン C は、濃度依存的に保護効果を示し、至適濃度は、0.31-5 mM であった。この濃度範囲では、紫外線による細胞傷害をほぼ 100% 抑制した。縮合型の EGCG は、若干の UV 保護効果を示したが、没食子酸、N-acetyl-L-cysteine、カタラーゼは不活性であった。ビタミン C は、過酸化水素、O<sub>2</sub> 以外のラジカル、おそらく、一重項酸素を消去して保護作用を示すことが示唆された。今後、アンチエイジング作用のある物質を探索するために、正常細胞に対する保護効果を示すか否かを検討する予定である。

**P-187**  
(221)

フッ化ナトリウム及びフッ化カリウムによる Ca-及び Na,K-ATPase 活性抑制

○鈴木 邦明<sup>1</sup>、手塚 拓馬<sup>2</sup>、山村 浩史<sup>2</sup>、吉村 善隆<sup>1</sup>、出山 義昭<sup>1</sup> (北大 院歯 口腔病態 細胞分子薬理、<sup>2</sup>歯 6 年生)

う蝕予防に使用されるフッ化物の急性毒性の機構に関しては不明な点が多い。そこで、ラット脳のミクロソームを用いて、Ca-ATPase 及び Na,K-ATPase に対するフッ化カリウム (KF) 及びフッ化ナトリウム (NaF) の作用を調べた。1. KF は Ca-ATPase 活性を濃度に依存して抑制し、アルミニウム (Al) は濃度に依存してその抑制を増強した。2. 100  $\mu$ M Al 存在下では、マグネシウム (Mg) は濃度に依存して KF による Ca-ATPase 活性の抑制を増強した。3. 10 mM Mg 存在下では、Al は濃度に依存して KF による Ca-ATPase 活性の抑制を増強した。Ca-ATPase 活性はフッ素によって抑制され、Al 及び Mg はその抑制を増強することが明らかになった。次に、4. KF は Na,K-ATPase 活性を濃度に依存して抑制し、Al は濃度に依存してその抑制を増強した。5. NaF は Na-ATPase 活性を濃度に依存して抑制し、Al は濃度に依存してその抑制を増強した。フッ素は Na,K-ATPase 活性のみでなく、従来抑制しないと考えられていた Na-ATPase 活性も抑制し、Al はその抑制を増強することが明らかになった。以上の結果は、Al は Ca-ATPase 及び Na,K-ATPase のフッ素に対する親和性を増大して ATPase 活性の抑制を増強することを示唆する。

**P-188**  
(222)

歯肉線維芽細胞を用いた *in vitro* 実験系に対する黄連湯の抗炎症作用の検討

○荒 敏昭<sup>1</sup>、服部 敏己<sup>1</sup>、王 宝禮<sup>2</sup> (松歯大 歯科薬理、<sup>2</sup>歯科医学教育開発室)

**【目的】**

歯肉炎は細菌の菌体外成分の刺激によって生体の細胞がプロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)、炎症性サイトカインなどを産生することにより発症する。歯周病の治療において炎症症状が著しい場合には抗炎症薬を併用することがある。本研究では、急性胃炎・口内炎に対して使用される黄連湯の抗炎症作用を歯肉線維芽細胞を用いて検討した。

**【対象および方法】**

ヒト歯肉線維芽細胞 (HGFs) を *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS (10 ng/ml) および黄連湯 (0.01-1 mg/ml) を組み合わせて 24 時間刺激し、PGE<sub>2</sub> 産生量を ELISA で測定した。また、HGFs を LPS で 8 時間刺激し、ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) およびシクロオキシゲナーゼ (COX)-2 の発現量を検討した。さらに、COX 活性および cPLA<sub>2</sub> リン酸化、ERK リン酸化に対する黄連湯の作用を検討した。

**【結果と考察】**

黄連湯は LPS 刺激により HGFs から産生される PGE<sub>2</sub> 量を減少させた。黄連湯は COX 活性に影響を与えなかったが、LPS 刺激による COX-2 の発現量を増加させた。また、黄連湯は LPS 刺激による cPLA<sub>2</sub> および ERK リン酸化を抑制した。これらの結果から黄連湯が歯周病においても抗炎症作用をもつこと、またその作用機序は、ERK 系の活性化を抑制することで cPLA<sub>2</sub> 活性化を抑制し、PGE<sub>2</sub> の産生量を低下させることであると考えられた。さらに、この作用機序は現在使用されている抗炎症薬は異なっており、新たな作用機序をもつ抗炎症薬であると考えられる。