

論 文 内 容 要 旨

題 目

Effects of erucin on inflammatory mediators and antioxidant enzymes' expression in TNF- $\alpha$ -stimulated human oral epithelial cells  
(TNF- $\alpha$ で刺激されたヒト口腔上皮細胞の炎症性メディエーターならびに抗酸化タンパク質発現に対するエルシンの影響)

著 者

Masahiro Shimoyama, Yoshitaka Hosokawa, Ikuko Hosokawa, Kazumi Ozaki, Keiichi Hosaka

内容要旨

歯周炎は歯周病原性細菌によって引き起こされる炎症性疾患であり、歯周炎病変局所における炎症性メディエーターの過剰産生が歯周組織の破壊を引き起こすことが明らかとされている。また、歯周炎病変局所に浸潤したマクロファージなどの白血球によって産生されるインターロイキン (IL) -1 $\beta$  や腫瘍壊死因子 (TNF) - $\alpha$  などの炎症性サイトカインが、歯肉上皮細胞や歯肉線維芽細胞などの歯周組織構成細胞を刺激してさらなる炎症性メディエーターを産生することが報告されている。IL-6 は破骨細胞の分化に関与することで歯槽骨の吸収を引き起こすことが示唆されており、CXC ケモカインリガンド (CXCL) 10 も歯周炎病変局所における Th1型ヘルパーT細胞 (Th1細胞) の浸潤と蓄積を引き起こすことで歯周組織の破壊に関与していると考えられている。また、血管細胞接着分子 (VCAM)-1 は、歯周炎病変局所における白血球の局在に関与し、白血球の活性化を引き起こすことが示唆されている。タンパク質や核酸の変性を引き起こす活性酸素やフリーラジカルによって引き起こされる酸化ストレスは、歯周炎の発症や増悪に関与していることが報告されている。ヘムオキシゲナーゼ (HO)-1とNAD(P)Hキノンデヒドロゲナーゼ (NQO) 1はヒト細胞が産生する抗酸化酵素であり、その産生を促進する生理活性物質を発見することが歯周炎治療につながる可能性が考えられる。エルシンはルッコラなどのアブラナ科植物に含まれる生理活性物質で、イソチオシアネート類に分類される。エルシンは、抗がん作用や抗炎症作用など、さまざまな生理活性作用を持つことが報告されており、抗炎症作用ではエルシンはリポ多糖 (LPS) によって誘導されるマクロファージにおけるTNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、およびシクロオキシゲナーゼ (COX) -2の発現を抑制することが明らかとされている。しかしながら、歯周組織構成細胞に対するエルシンの影響を調べた報告はなく、歯周炎治療にエルシンを使用しようとする試みもない。本研究の目的は、歯周炎治療にエルシンを用いるための基礎的研究として、エルシンの抗炎症作用に着目し、炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$  刺激によって口腔上皮細胞に誘導される炎症性メディエーターおよび抗酸化タンパク質の発現に対するエルシンの影響を明らかとすることとした。また、TNF- $\alpha$  刺激によって活

性化される口腔上皮細胞のシグナル伝達経路に対するエルシンの影響も検討することとした。

本実験では、ヒト口腔上皮由来細胞（TR146細胞）を培養し使用した。まず、エルシンのTR146細胞に対する影響をみるために細胞毒性試験を行った。次に、TR146細胞をエルシン存在下あるいは非存在下にて24時間TNF- $\alpha$ 刺激を行い、IL-6、CXCL10産生をELISA法にて、VCAM-1、HO-1、NQO1発現をwestern blot法にて解析した。さらに、TR146細胞をエルシンで1時間前処理を行ってから、TNF- $\alpha$ 刺激を行い、細胞内シグナル伝達因子の活性化をwestern blot法にて解析した。

細胞毒性試験によりエルシンは1.5625～50 $\mu$ Mまでの濃度においてTR146細胞に対して細胞毒性は認められないことが明らかとなった。エルシンは、TNF- $\alpha$ が誘導したTR146細胞のIL-6およびCXCL10産生を濃度依存的に抑制することが明らかとなった。エルシンはTNF- $\alpha$ が誘導したVCAM-1発現を25 $\mu$ Mおよび50 $\mu$ Mで抑制することが明らかとなった。また、エルシンは抗酸化タンパク質であるHO-1、NQO1発現を増強することが明らかとなった。さらに、エルシンはnuclear factor (NF)- $\kappa$ B 経路、signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) 経路、p70 Ribosomal Protein Kinase (p70S6K) およびS6 Ribosomal Protein (S6) 経路活性化を抑制することが明らかとなった。

これらの結果より、ヒト口腔上皮細胞に対してエルシンはIL-6、CXCL10、VCAM-1などの炎症性メディエーターの産生を抑制し、さらにHO-1、NQO1などの抗酸化タンパク質発現を増強することで過剰な炎症反応を抑制する可能性が示唆された。