

好中球機能測定によるポリフェノールの抗酸化作用の *in vivo* 評価

スポーツ医科学研究領域
5009A059-7 泊 美樹

(指導教員) 鈴木 克彦 准教授

背景・目的

活性酸素が体内で過剰に産生されると、細胞内外で酸化ストレスが誘導され、老化現象やがん、生活習慣病などの様々な疾病の発生や進行に大きな影響を及ぼす。今日、予防医学の観点から健康食品やサプリメントなどへの関心が高まってきている。本研究では特に抗酸化作用が強いことで知られるポリフェノールに着目し、好中球機能測定法を用いて活性酸素消去作用の検討を行った。ポリフェノール含有のサプリメントも多く一般に普及しているが、どのようなポリフェノールをどの程度摂取すればよいのか、また治療効果はあるのかなど、まだよくわかっていないことも多い。健康食品・サプリメントの中から有効性の高いものを発見し有用性を科学的に証明していくことは、今後ますます重要になってくると考えられる。ポリフェノールのもつ生理機能を分子レベルで明らかにし、様々な機能性、特にがんや糖尿病、動脈硬化などの生活習慣病の予防効果は得られるのか、試験管レベルから個体レベル、さらには臨床レベルまで検証していくことが今後の研究に期待される。

今回、試験管内あるいは生体内において強い抗酸化作用、抗炎症作用などを示すとされているポリフェノールの一種であるクルクミンを使用し、抗酸化作用を *in vitro* と *in vivo* の両面から比較検討することにした。

実験方法

< *in vitro* >

健常者 6 名から末梢血を採取し、マイクロチューブ中に 37℃ で加温したハイドロゲルに、全血、クルクミン、ルミノールを混和したものを添加し、ゲル中に好中球を浸潤させ、ルミノール依存性化学発光で活性酸素産生量を測定した。濃度をそれぞれ 800ng/ml, 400ng/ml, 200ng/ml, 100ng/ml, 50ng/ml、対照として HBSS（細胞培養液：濃度 0）の 6 段階に設定し、20 分後、40 分後、60 分後と経時的に測定した。また、60 分後の遊走細胞を回収し血球計算盤を用いて細胞数を測定し、好中球の遊走能を検討した。

< *in vivo* >

研究参加に同意を得られた健常者 6 名から末梢血を採取後、クルクミンカプセル 30mg、または 90mg（推奨量内）を摂取してもらった。クルクミンを摂取した後、1 時間、2 時間、3 時間、6 時間目に採血し、血液：ルミノールが 1:1 になるように混合し、ゲルの上に添加した。時間ごとに採取したそれぞれの血液を、サンプルを添加した直後から 20 分ごとに 60 分まで化学発光量を測定した。また、60 分後の遊走細胞を回収し血球計算盤を用いて細胞数を測定し、好中球の遊走能を検討した。

結果・考察

<in vitro>

活性酸素産生量については、40 分後、60 分後において 800ng/ml、400ng/ml、200ng/ml、100ng/ml の濃度で HBSS（濃度 0）に比べ有意に抑制された（図 1）。また、ゲル中の遊走細胞数に関しては、有意な影響は認められなかった。よって、クルクミンは好中球の遊走能に影響を与えることなく抗酸化作用を示し、好中球の産生した活性酸素を消去した可能性が考えられる。

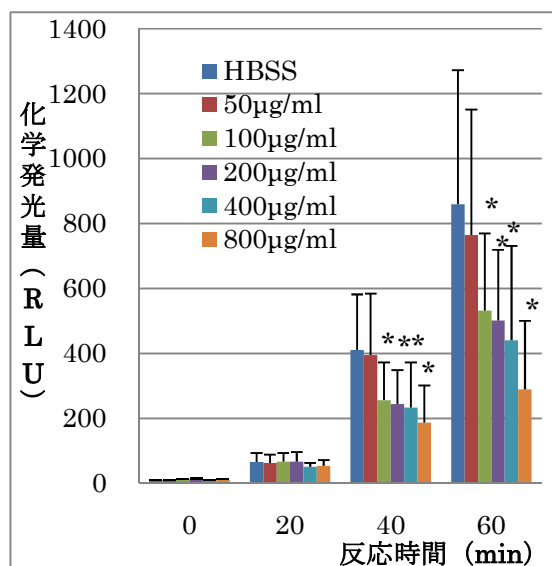


図 1. クルクミン濃度と活性酸素産生量
n=6（結果は平均値±標準偏差で示した）

* : $p < 0.01$ vs HBSS

（二元配置分散分析の多重比較検定）

<in vivo>

30mg 摂取・90mg 摂取において摂取前（pre）に比べ活性酸素産生量は有意ではないが増加し、抗酸化作用は認められなかった。ゲル中の遊走細胞数に関しては、影響は認められなかったため、好中球の機能は傷害されなかったと考えられる。

今回の *in vivo* 実験で活性酸素産生量が

抑制されなかったのは、経口摂取されたクルクミンが体内で吸収・代謝され抱合体となり、被験者全員が健常者であったため、ほとんどが排出されたことによると考えられる。また、活性酸素産生量が増加したのは、好中球の日内変動も一因と考えられる。

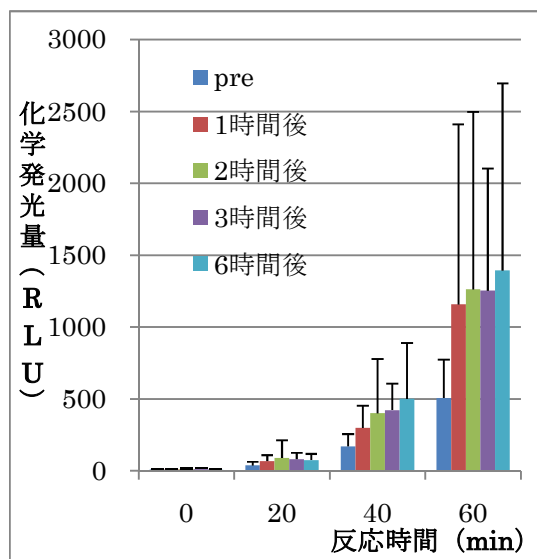


図 2. クルクミン摂取後（90mg/ml）の活性酸素産生量

n=6（結果は平均値±標準偏差で示した）

結論

今回、クルクミンを用い *in vitro* と *in vivo* での抗酸化作用に関する検討を行った。その結果、*in vitro* では濃度依存的な活性酸素消去能がみられたが、*in vivo* では活性酸素消去作用はみられず *in vitro* とは対称的な結果が得られた。今回は被験者が健常者であったため、有効な結果が得られなかった可能性もある。今後は、加齢による動脈硬化のリスクが高い中高年者や、激しい運動による炎症反応を日常的に経験するスポーツ選手に適用し、動脈硬化の予防や運動による酸化ストレスの予防について効果とメカニズムを検討する。