

## Crassostera gigas extract (JCOE) による胃粘膜上皮細胞 保護作用と細胞内グルタチオンの役割

吉川 敏一, 内藤 裕二, 増井 康治, 朴 義男  
藤井 貴章, 吉田 憲正, 近藤 元治  
京都市立医科大学第一内科

虚血性疾患, 炎症性疾患をはじめとした多くの疾患病態に活性酸素の関与が指摘されている。活性酸素による膜傷害, 蛋白傷害, DNA 傷害などがそれら疾患病態の中心をなすものとして研究が進み, 近年ではそれら活性酸素による傷害を予防あるいは阻止する天然抗酸化物質に興味もたれている。Helicobacter pylori や非ステロイド系抗炎症薬による胃粘膜傷害の機序にも酸素由来フリーラジカルの関与が指摘され<sup>1)</sup>, その産生源として組織に浸潤した炎症細胞, なかでも好中球が考えられている<sup>2)</sup>。活性化好中球は, スーパーオキシド, 過酸化水素を産生し, またミエロペルオキシダーゼによる酵素反応により次亜塩素酸を産生する。これら活性酸素種は本来, 生体防御反応として産生されるものであるが, 過剰な産生は生体組織に酸化ストレスを引き起こし, 胃粘膜傷害を引き起こすことも知られている。

JCOE (Crassostera gigas extract) は日本クリニックによって製造された牡蛎肉エキスの純正抽出パウダーであるが, その保有する微量栄養素がガン予防やアドリマイシンによる細胞傷害の予防に有効であることを示唆する研究が開始されている。われわれも, 基礎実験においてJCOE水溶液が活性酸素であるスーパーオキシド, ヒドロキシルラジカルを消去する作用があることをすでに報告している<sup>3)</sup>。本研究においては, 活性酸素による胃粘膜培養細胞傷害に対するJCOEの有効性について検討した。

### 実験方法

培養細胞としてラット胃粘膜上皮細胞株 RGM-1 (RCB-0846, 理研細胞銀行) を用いた。RGM-1 細胞は DMEM/F12 混合 (1:1) 培地で, 20% 牛胎児血清, 100U/ml ペニシリン, 100U/ml ストレプトマイシン, 0.25 µg/ml アンフォテリシン添加のうえ培養した。96穴プレートに細胞を48時間培養後, JCOE あるいは対照液を添加, 1あるいは24時間後に培養液を Hanks balanced buffered solution に置換後, 過酸化水素を添加し, 4時間後に細胞生存率を評価した。細胞生存率は WST-1 assay (DOJIN Co.) により測定した。また, 内因性グルタチオンの影響を検討するためにグルタチオン合成の律速酵素である  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase の阻害剤 buthionine sulfoximine (BSO, 100 µM, 24時間前処置) の影響をも検討した。

結 果

1) JCOE 溶液 (1000 $\mu\text{g/ml}$ ) 添加後, 1時間ならびに24時間後に RGM-1 細胞の生存率を検討したが, JCOE 溶液単独では生存率に影響を与えなかった。

2) 過酸化水素添加4時間後に生存率を検討したが, 濃度依存性 (0.1-1mM) に障害性を認めた。

3) JCOE 溶液 (100, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$ ) による前処置では, 0.1M 過酸化水素による細胞障害に1時間前処置では障害軽減作用は認めなかったが, 24時間前処置では濃度依存性に障害を軽減し, 1000 $\mu\text{g/ml}$  による24時間前処置では過酸化水素による障害はほぼ完全に抑制された (図1)。

4) JCOE 溶液 (1000 $\mu\text{g/ml}$ ) 中に含まれる glutamic acid (27.8 $\mu\text{g/ml}$ ) ならびに taurine (51.1 $\mu\text{g/ml}$ )

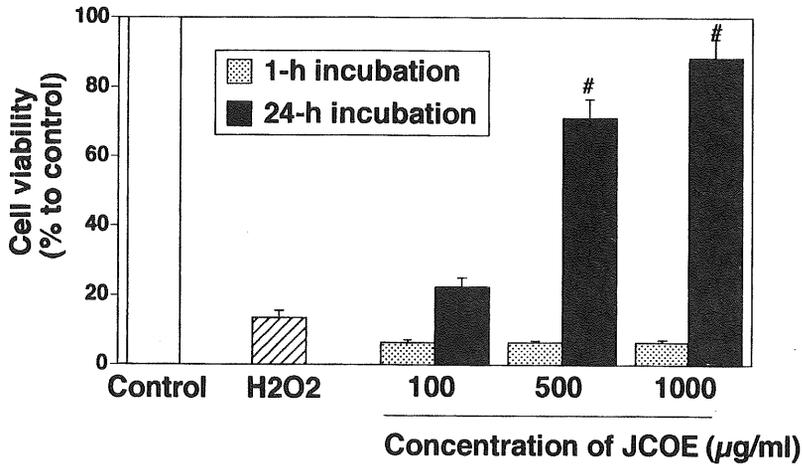


図1 過酸化水素による細胞障害に対する JCOE の効果 (#P < 0.05 vs H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 単独群)

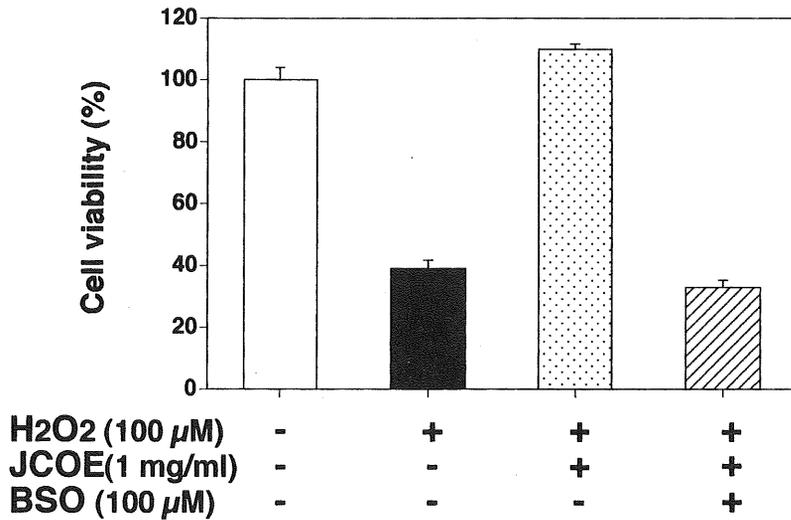


図2 BSO 前処置の JCOE 細胞保護作用に及ぼす影響 buthionine sulfoximine (BSO)

の影響を検討したが、24時間前処置により過酸化水素による細胞障害に対して軽減作用は認められなかった。

5) 過酸化水素細胞障害に対する JCOE の細胞保護作用は、BSO (100 $\mu$ M) の JCOE との同時投与により完全に消失した (図 2)。

## 結 論

JCOE は過酸化水素による細胞障害に対して、障害抑制効果を示す。その細胞保護作用は、JCOE の1時間前処置ではほとんど見られず、24時間前処置で著明に観察されたことより、JCOE そのものがあるヒドロキシルラジカルなどの活性酸素消去作用による可能性は低いと考えられた。また、グルタチオン合成酵素阻害剤により JCOE の細胞保護作用が消失したことより、その作用は内因性グルタチオンの合成亢進を介した作用であるものと考えられた。

## 文 献

- 1) 吉川敏一, 内藤裕二, 吉田憲正: 非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) による胃粘膜傷害の病態とその対策, 日整会誌, 70: 269-273, 1996.
- 2) 吉川敏一, 内藤裕二: 胃粘膜傷害とフリーラジカル, 病理と臨床, 13: 1321-1325, 1995.
- 3) Yoshikawa, T., Naito, Y., Masui, Y., Fujii, T., Boku, Y., Nakagawa, S., Yoshida, N. and Kondo, M.: Free radical scavenging activity of *Crassostera gigas* extract (JCOE), Biomed. Pharmacol. 1997 ; in press