

論 文 内 容 要 旨

題 目

6-Shogaol Inhibits Advanced Glycation End-Products-Induced IL-6 and ICAM-1
Expression by Regulating Oxidative Responses in Human Gingival Fibroblasts

(ショウガオールはヒト歯肉線維芽細胞において酸化ストレス反応の調節を介して
AGEs 誘導性のIL-6 およびICAM-1 産生を抑制する)

著 者

野中 康平

内容要旨

【目的】

歯周病は糖尿病合併症のひとつであり，糖尿病関連歯周炎では歯周組織に重度の炎症と破壊を生じる場合がある。最終糖化産物(Advanced glycation end-products: AGEs)は糖尿病合併症の起因物質であり，糖尿病患者の歯肉組織に蓄積することが知られている。著者らは、AGEs がヒト歯肉線維芽細胞(HGFs)において，AGEs 受容体(RAGE), MAPK および NF- κ B シグナルを介して炎症関連因子である IL-6 と ICAM-1 の産生を増加させることを以前に報告した(Nonaka *et al.* J Periodontal Res. 2017)。一方，ショウガオールは生姜の主要成分のひとつで，抗酸化作用や生体内での AGEs 合成抑制作用を有することなどから糖尿病合併症予防に注目されているが，歯周組織における作用については不明である。本研究では，ショウガオールが糖尿病関連歯周炎の病態に及ぼす影響を調べるために，ショウガオールが HGFs における酸化ストレス反応および AGEs 誘導性炎症反応に与える影響とその調節機構について検討した。

【材料および方法】

細胞は ATCC 社から購入した HGFs 株(CRL-2014®)を用いた。AGEs は Takeuchi (Mol Med. 2000)らの方法で調製し，ショウガオールは Wako 社から購入したものをを用いた。細胞障害作用を調べるために，HGFs 株にショウガオールを 2.5~15 μ M の濃度で作用させ，添加 48 時間後の細胞生存率と細胞形態について調べた。また，AGEs とショウガオールが酸化ストレス反応に及ぼす影響を調べるために，HGFs に AGEs(500 μ g/ml)とショウガオール(2.5~15 μ M)を添加し，12, 24, 48 時間後の活性酸素種(Reactive oxygen species; ROS)産生を調べた。さらに，ショウガオール(5, 10 μ M)で HGFs を前処理後に AGEs(500 μ g/ml)を作用させ，代表的な抗酸化酵素の Heme Oxygenase-1 (HO-1) の産生と NAD(P)H quinone dehydrogenase 1 (NQO1) の活性を調べた。そして，ショウガオールが AGEs 誘導性の RAGE 発現及び MAPK, NF- κ B のリン酸化に及ぼす影響について調べるために，ショウガオール(10 μ M)で前処理した HGFs に AGEs(500 μ g/ml)を添加し，

Western blot 法で調べた。最後に、ショウガオールが AGEs 誘導性の IL-6 と ICAM-1 産生に及ぼす影響について調べるために、ショウガオール(5, 10 μ M)で前処理した後に AGEs(500 μ g/ml)と代表的な ROS 阻害剤である N-Acetyl-L-Cysteine (NAC; 1mM)を添加し、IL-6 と ICAM-1 の発現抑制効果を ELISA 法で比較した。各群における有意差は、ANOVA Tukey-HSD 分析を用い、P 値が 0.05 未満を有意差ありと判定した。

【結果および考察】

ショウガオール(2.5~15 μ M)の HGFs に対する細胞障害性は認められなかった。AGEs によって ROS の産生は経時的に増加し、添加後 12 時間以降ではショウガオールが AGEs 誘導性の ROS 産生を抑制した。また、AGEs は HO-1 産生には影響を与えなかったが、NQO1 活性を抑制した。一方、ショウガオールは HO-1 産生を増加させ、AGEs により抑制された NQO1 活性をコントロールレベルまで回復させた。また、ショウガオールは AGEs 誘導性の RAGE 発現、MAPK (p38, ERK) と NF- κ B (p65) のリン酸化を抑制した。そして、ショウガオールは、AGEs 誘導性 IL-6 と ICAM-1 産生を ROS 阻害剤と同程度に抑制した。これらの結果から、ショウガオールが HGFs において AGEs 誘導性の酸化ストレス反応を調節し、RAGE, MAPK 及び NF- κ B シグナルの抑制を介して AGEs 誘導性炎症関連因子の発現を抑制することが示された。ショウガオールが HGFs においても抗酸化作用および抗炎症作用を有することから、生姜が糖尿病関連歯周炎の病態改善に有用である可能性が示唆された。