

論 文 内 容 要 旨

題 目

Anti-Inflammatory and Protective Effects of *Juncus effusus* L. Water Extract on Oral Keratinocytes

(口腔上皮細胞に対する*Juncus effusus* L.水抽出物の抗炎症及び保護効果)

著 者

Akihiro Wada, Keiji Murakami, Yumi Ishikawa, Takashi Amoh, Kouji Hirao,  
Yuki Hosokawa, Daisuke Hinode, Yoichiro Miyake, Hiromichi Yumoto

内容要旨

【目的】

歯肉や口腔粘膜上皮は、歯周病原細菌や様々な化学物質に対する最前線の物理的バリアとして機能すると共に、歯周病の発症や進行における局所的な免疫応答を調節する役割を担っている。

現在の歯周病の予防や治療においては、歯周組織の保護や歯周病原細菌の増殖抑制のためのオーラルケア製品として様々な薬剤が使用されている。特に、エタノールは含嗽薬などの口腔ケア製品の成分として含まれているが、エタノールとその代謝物であるアセトアルデヒドが口腔がんのリスクを高めることを示す報告もあり、含嗽薬の成分として他の化合物を使用することが薦められている。すなわち、免疫反応や炎症を抑制し、口腔上皮を保護することができるエタノール不含の新しいオーラルケア製品の開発が必要であると考えられている。

イグサ(*Juncus effusus* L.)は、古くから利尿剤、解熱剤や鎮痛剤などとして一般的に使用され、粉末の安全性が高いことも確認されており、既に食品添加物としても応用されている。最近の研究では、LPS で刺激したマウスマクロファージやマウス浮腫モデルを用いた *in vitro* 及び *in vivo* 研究において、*J. effusus* の茎からのエタノール抽出物の抗炎症効果が報告されている。

そこで、本研究では、イグサ粉末のオーラルケア製品への応用を目指して、*J. effusus* L.からの水抽出物の口腔上皮細胞における抗炎症効果および保護効果に加えて、含嗽薬に含まれる消毒剤や止血剤の存在下での抗炎症効果を調べることを目的とした。

【方法】

口腔上皮細胞として、不死化ヒトケラチノサイト細胞株(RT-7細胞)を使用し、Keratinocyte SFMで培養した。10 g のイグサ*J. effusus* L.粉末を100 mLの超純水に加えて60°Cで5時間加熱処理後、1,200 gで15分間遠心分離して得られた上清を0.45 µmフィルターでろ過し、

さらに減圧下で20倍に濃縮したものを未希釈*J. effuses* L.水抽出物して使用した。対象として、Epigallocatechin gallate (EGCG)を用いた。口腔上皮細胞への刺激因子として、TLR2リガンドである*P. gingivalis* LPSおよびPam3CSK4とTLR4リガンドである*Escherichia coli* LPSを使用した。また、含嗽剤含有成分として、Cetylpyridinium chloride (CPC)、Benzethonium chloride (BTC) (共に消毒剤)とTranexamic acid (CA : 止血剤)を用いた。RT-7細胞培養上清中のIL-8およびCCL20の濃度はELISAにて定量し、ケモカインの産生はHuman Chemokine Antibody Array 1を用いて解析した。また、TLR2リガンドのRT-7細胞への結合は、蛍光標識Pam3CSK4を2時間作用させ、洗浄後、RT-7細胞に結合したPam3CSK4の蛍光レベルを測定した。細胞毒性については、細胞培養上清中のLactate dehydrogenase (LDH)のレベルをLDH Cytotoxicity Assay kitにて定量した。すべての統計分析は、Student *t*検定を用い、P値が0.05未満を有意差ありと判断した。

#### 【結果】

*J. effuses* L.水抽出物での口腔上皮細胞株 RT-7 の前処理は、*P. gingivalis* LPS による数種のケモカイン産生を有意に抑制し、*P. gingivalis* LPS に加えて TLR2 リガンドである Pam3CSK4 による IL-8 と CCL20 の産生も濃度依存的に抑制し、その効果は EGCG より強かった。*J. effuses* L.水抽出物での前処理は、RT-7 細胞への Pam3CSK4 (TLR2 リガンド) の結合を有意に抑制した。また、*J. effuses* L.水抽出物での前処理は、TLR4 リガンドである *E. coli* LPS 刺激による IL-8 と CCL20 の産生も濃度依存的に抑制した。さらに、*J. effuses* L.水抽出物での RT-7 細胞の前処理は、0.005%の CPC または BTC 刺激による細胞障害を抑制すると共に、BTC や TA の存在下でもそのケモカイン産生抑制作用が認められた。

#### 【考察】

イグサ水抽出物による口腔上皮細胞の前処理が、細菌由来物質によって誘発される炎症反応を抑制することや化学物質に対する細胞保護効果を有することが明らかとなった。これらの本研究結果より、イグサ水抽出物は、歯周病などの口腔感染症の予防や口腔粘膜上皮の機能を維持するための口腔ケア製剤に有用であることが示唆された。