

論 文 内 容 要 旨

Reactive oxygen species scavenging activity of *Jixueteng* evaluated by electron spin resonance (ESR) and photon emission.

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

抗加齢歯科医学講座 高道麻臣

(指 導： 高橋 俊介 准教授)

論文内容要旨

鶏血藤 (ケイケツトウ : *Jixueteng*) は *Spatholobus suberectus* DUNN の茎を乾燥させた生薬であり、循環改善、鎮痛、赤血球および白血球の増産等の薬理作用を有する漢方薬である。通常 15~60g を 2~3 回に分けて服用し、味は苦がみがある甘さで、薬性はおだやかであり、2~3 ヶ月連続服用しても一般に副作用は見られない。

これまでにわれわれは、鶏血藤による口腔内常在菌に対する強い局所性抗感染効果や歯周病原菌の 1 つである *Porphyromonas gingivalis* による歯槽骨の吸収抑制作用を報告した。しかし、口腔領域での臨床応用はまだ無く、とくに炎症部における活性酸素種 (ROS) に対する効果についても不明である。本研究は、鶏血藤の ROS 消去活性を測定し、歯科臨床への応用の可能性を検討することを目的として行った。

20%weight/volume 鶏血藤は 95°C で 3 時間加熱した後に濾紙を用いて濾過し、これを 20% 水抽出液とした。鶏血藤と同様の循環器系への作用をもち、著名な漢方薬である川芎 (センキュウ : *Cnidium officinale*)、丹参 (タンジン : *Salvia miltiorrhiza*) の水抽出物を比較対象群として用い、これら 3 種を生薬群とした。それらの ROS 消去能を電子スピン共鳴 (ESR) 法で測定するとともに、XYZ 微弱発光法を用いて抗酸化能を測定し、その結果を比較検討した。また抗酸化試薬である没食子酸と鉄キレーターである deferoxamine (DFX), ラジカルスカベンジャーである superoxide dismutase(SOD), CoQ10 を参照群として用いた。

ESR 法では生薬群と参照群によるヒドロキシラジカル ($\text{HO}\cdot$) とスーパーオキシド ($\text{O}_2\cdot^-$) の消去活性を測定した。 $\text{HO}\cdot$ は FeSO_4 に過酸化水素 (H_2O_2) を添加することにより発生させた。リン酸緩衝液 (PBS, pH7.0,) に鶏血藤、川芎、丹参の水抽出液と 10^{-4}M FeSO_4 を加え、8.8M DMPO (5.5-Dimethyl-1-Pyrriline-N-Oxide) を添加したのちに、 10^{-4}M H_2O_2 を加えて反応を開始させ、1 分後に ESR にて消去活性を測定した。また、参照群として DFX および CoQ10 を用いた。 $\text{O}_2\cdot^-$ は xanthine oxidase に hypoxanthine を添加して発生させた。PBS に 0.01U/ml xanthine oxidase、鶏血藤、丹参、川芎水抽出液と 0.2mM DTPA、8.8M DMPO を添加したのちに 10^{-5}M hypoxanthine を加えて反応を開始させ、1 分後に ESR にて消去活性を測定した。また、参照群として $\text{O}_2\cdot^-$ の消去剤である SOD(0.01U~1000U/ml) および CoQ10 を用いた。

XYZ 化学発光法では、X は活性酸素発生物質を示すが、今回の実験では H_2O_2 と $\text{HO}\cdot$ を用いた。 $\text{HO}\cdot$ は H_2O_2 に FeSO_4 を添加することにより発生させた。Y は活性酸素消去物質を示し、今回の実験では生薬群と抗酸化試薬である没食子酸を用いた。Z はアクセラレーターを示し、本実験ではアセトアルデヒド/飽和炭酸水素カリウムを用いた。これら XYZ を混合して生じる化学発光は微弱発光システムを用いて計測された。

$\text{O}_2\cdot^-$ と $\text{HO}\cdot$ の ESR シグナルは各生薬 (2.0~8.0%) 濃度依存性に抑制され、8% 鶏血藤の抑制率が最も高かった。また、XYZ 微弱発光法においては、 H_2O_2 と $\text{HO}\cdot$ の消去能を示す発光強度も各生薬 (2.0~8.0%) 濃度依存性に増大し、ESR 法での結果と同

様 8% 鶏血藤で最も増大した。これらの結果は、鶏血藤の水溶性成分に強い ROS 消去能、および $O_2^{\cdot-}$ や HO^{\cdot} に対する抗酸化作用を有することを示している。

以上の結果より、鶏血藤は ROS 関連疾患、とくに炎症性疾患に対する治療薬として有効であり、口腔内での局所応用ができる可能性が示唆された。