

O-4-2

ヒト白血球活性酸素種産生系を応用した 各種物質作用のハイスループット解析・評価法

High-throughput Analysis System for Screening Materials' Actions
by Application of Reactive Oxygen Species (ROS) production by Human Leukocytes

○鈴木 洋子¹⁾, 鈴木 克彦^{1), 2)}

1) 早稲田大学 先端科学・健康医療融合研究機構 生命医療工学研究所, 2) 早稲田大学 人間科学学術院

We set up a screening system using 96-well microplates to estimate materials' actions (anti-oxidative, pro- or anti-inflammatory, and immunopotentiating activities) *in vitro* and *in vivo* by application of reactive oxygen species (ROS) generation by human leukocytes using whole blood of less than 50 µl/well. The samples to be examined were dispensed to each well of the microplate, and blood samples mixed with luminol or lucigenin were added. Then, stimulants were added and the responses were compared by concentrations and preincubation times of the materials. The results were reproducible, and this method can be applied for screening materials' actions of foods and drugs.

【目的】

各種健康食品や機能性食品の抗酸化、抗炎症、免疫賦活作用が注目されているが、その測定法については十分に確立されていない。本研究では、マイクロプレートを用いて全血で物質の作用を多条件同時に測定できるヒト白血球活性酸素種産生系を応用して、各種食品成分の作用解析のハイスループット化を目的とした。

【方法】

検査対象の健康食品成分を 96 ウェルマイクロプレートに分注し、ルミノールまたはルシゲニン（化学発光物質）と全血を等量混和して各ウェルに添加した後、任意の時間に刺激剤（PMA、ザイモザン等）を添加し、内部を 37℃に設定した化学発光プレートリーダーで刺激・応答性（活性酸素生成・消去反応）を比較した。測定時間は各ウェル 1 秒で、測定が一巡したところで自動攪拌し、2 分間隔でカイネティック測定した。

【結果】

ヒト白血球活性酸素種産生能には個人差があるが、各種物質の作用についても発現の強さには個人差が大きく現れた。化学発光プレートリーダーの導入により、各種物質の濃度やプレインキュベーションの時間を変えることで①刺激作用 ②プライミング作用 ③抗酸化作用 ④抗炎症作用を区別することが可能となった。

【結論】

各種物質の抗酸化、抗炎症、免疫賦活作用について、全血を用いたハイスループット解析・評価法により、多数の被験者や物質で各種測定を同時に比較検討することが可能となった。食品自体の持つ各種機能の *in vitro* 評価と、吸収された物質の *ex vivo* 評価の両面で *on site* で活性酸素の生成・消去反応を生体内により近い条件でみられるようになり、今後の食品機能評価に応用されることが期待される。