

## O-4-2

### ハイドロゲルを用いた新規好中球機能測定法を応用した 各種物質の抗酸化作用と抗炎症作用の解析・評価

Analysis and Evaluation of Materials' Action on Anti-oxidation and Anti-inflammation by Novel Assay  
for Neutrophil Chemotaxis and Chemiluminescence using Thermoreversible Hydrogel

菅間 薫<sup>1)</sup>, 鈴木 克彦<sup>1,2)</sup>, 内藤 博章<sup>1)</sup>, 三浦 茂樹<sup>3)</sup>, 吉岡 浩<sup>3)</sup>, 森 有一<sup>3)</sup>

早稲田大学 1) 人間科学学術院, 2) スポーツ科学学術院, 3) 理工学術院

We analyzed and evaluated materials' anti-oxidative and anti-inflammatory effects by novel assay for oxygen radical production and migration capability of neutrophils using thermoreversible hydrogel. Whole blood sample was mixed with luminol, and added by substances (final conc. vitamin C: 0~1mg/ml, hydrocortisone: 0~10<sup>-5</sup>M). Then, dispensed on each hydrogel in the tubes, emitted chemiluminescence and migrated neutrophils were measured to compare the effects by concentrations and preincubation times of the materials. Both vitamin C and hydrocortisone of higher concentrations inhibited chemiluminescence. The number of migrated neutrophils was constant by concentrations of vitamin C but decreased by hydrocortisone of higher concentrations. These results suggest that this novel assay system can be applied for screening materials' actions by confirming different actions to neutrophils.

#### 【目的】

今日, わが国における三大死因である悪性新生物(癌), 虚血性心疾患, 脳血管疾患の発症・進展に, 生体内の酸化ストレスや炎症反応が重要な役割を演じていることが報告されつつある。一方, 各種健康食品や薬物の抗酸化, 抗炎症作用への注目も高まりつつあるが, それらの機能や効果を評価する測定方法は, 十分に確立されていないのが現状である。そこで本研究では, ヒト全血を用いた熱可逆ハイドロゲルによる好中球機能測定法(鈴木克彦ら, 特開 2008-107210)を応用して, 各種物質の作用解析と機能評価を行うことを目的とした。

#### 【方法】

全血と 2.5mM ルミノール(Sigma)溶液を等量混和したものに, ビタミンC(株式会社高砂ケミカル)溶液を 0~1 mg/ml, またはハイドロコルチゾン(Sigma)溶液を 0~10<sup>-5</sup> M になるように加え, チューブに充填されたハイドロゲル(メピオール社)上に添加し, 好中球の活性酸素産生量を反映するルミノール依存性化学発光強度(RLU)の各濃度間の経時変化をルミノメーター(マイクロテックニチオン社)で測定した。さらに, 90 分測定後, ゲル中への遊走好中球数を測定した。

#### 【結果】

ビタミンC, ハイドロコルチゾンのいずれの濃度においても経時的に RLU は増加したが, 高濃度になるに従い, その増加量は抑制された。しかし遊走好中球数による評価では, ビタミンC では濃度による細胞数の変化は認められなかったのに対し, ハイドロコルチゾンでは濃度が増加するに従い細胞数が減少した。

#### 【結論】

ハイドロゲルを用いた好中球機能測定法により, 抗酸化作用をもつビタミンC と抗炎症作用をもつハイドロコルチゾンは, ともに活性酸素産生能を抑制するが, 好中球遊走能に対しては前者は不変で, 後者は抑制作用が認められた。このことより各種物質の抗酸化作用, 抗炎症作用を分別する評価法として本測定法が有用である可能性が示された。