

P-B-1

薬草温熱療法の作用機序へのアプローチ

ーその1：薬草中ジテルペノイドの表皮細胞におけるHSP70誘導促進作用ー

Novel Approach to the Mechanism of Herbal Thermo-therapy

ーInduction of HSP70 in Human HaCat Keratinocytes by Diterpenoids in Medicinal Herbsー

○小川 弘子¹⁾, 八塚 幸枝¹⁾, 許 鳳浩¹⁾, 上馬場 和夫¹⁾,
横澤 隆子²⁾, 趙 慶利³⁾, 御影 雅幸⁴⁾

1) 富山大学和漢医薬学総合研究所未病研究部門, 2) 富山大学和漢医薬学総合研究所薬効解析部,

3) 富山大学医学薬学研究部放射線基礎医学, 4) 金沢大学大学院自然科学研究科

Geranylgeraniol (GGOH), acyclic diterpenoid, is known to induce apoptosis for various tumor derived cell lines. We had reported that GGOH related compounds existed in medicinal herbs. In traditional medicine, herbal thermo-therapy (HTT), like herbal sauna, herbal bath, and herbal oil massage, is often utilized as anti-aging therapy, however, there are little reports on its effectiveness and mechanism. In this study, GGOH content in herbal essential oils was measured, and the induction of HSP70 by GGOH in human keratinocytes was examined, approaching to the mechanism of HTT. GGOH content in herbal essential oils was measured by LC/MS. The induction of HSP70 in human monocytic cell line U937 and human HaCaT keratinocyte cell line, treated with GGOH 10-30nM, farnesol 100nM, and curcumin 10-100 μ M, was assessed by western blotting. GGOH was contained in various herbal essential oils. GGOH induced apoptosis in U937 cell lines on the order of 10 nM, while it showed the induction of HSP70 in HaCaT cell lines. These results suggested that HTT could be effective for thermal sensitization and cancer prevention by percutaneous application.

【目 的】

非環式ジテルペノイドのゲラニルゲラニオール (GGOH) は、各種の腫瘍由来細胞株に対してアポトーシスを誘導することが知られている。我々はこれまでにGGOHなどの関連物質が薬草中に含まれていることを確認し報告した。伝統医学の抗加齢治療では、薬草サウナや薬浴、薬用オイルマッサージなどの「薬草温熱療法Herbal Thermo-Therapy (HTT)」が頻用されているが、その有効性や作用機序についてはほとんど研究がなされていない。これまでの研究により非環式イソプレノドのなかにHSP70誘導能が高い化合物が含まれる可能性があることから、本研究では、精油中のGGOH含量を調べ、さらに正常表皮細胞を用いてGGOHの温熱増感作用について観察し、HTTの作用機序への関与について検討した。また、既にリンパ球や表皮細胞に対してHSP70誘導促進作用をもつことが報告されているクルクミンとも比較した。

【方 法】

- 1) 精油中GGOH測定：約40種類の市販精油を、エタノールで希釈し、逆相C18カラムを用いたESI法によるLC/MS分析を行った。
- 2) 温熱増感作用：U937細胞株（ヒトリンパ腫細胞）及び HaCaT細胞株（ヒト正常表皮細胞）を用い、GGOH 10-30nM, ファルネソール (FOH) 100nM, クルクミン10-100 μ M をそれぞれ処理し、温熱刺激 (37℃と41℃, 30分) 後、6時間培養し、HSP70産生量をウエスタンブロット法にて測定した。

【結 果】

- 1) フランキンセンス、ジャスミン、レモングラス、ローズなどの精油中には、1mlあたり数100 μ gオーダーのGGOHが含有されていた。ただし、検出限界以下の精油も半数以上あった。
- 2) U937細胞株ではクルクミン10 μ MでHSP70誘導を促したが、GGOHは10nMオーダーでアポトーシスを惹起したため力価を比較することはできなかった。しかし、HaCaT細胞株ではGGOHは10nMオーダーでHSP70誘導を促進した。クルクミン100 μ MのHSP70誘導促進作用に比べ、GGOHは約10000倍以上の力価を持つことが示された。

【結 論】

薬草温熱療法 (HTT) は、薬草中ジテルペノイドGGOHなどの経皮投与により温熱治療の増感作用、さらには癌予防などに有効となる可能性が示唆された。