

当社と帯広畜産大学、東北大学、北海道大学及び山形大学との共同研究の成果が NatureResearch 社が刊行するオープンアクセスの学術誌「Scientific Reports」に掲載されました。

【タイトル】 Organogermanium suppresses cell death due to oxidative stress in normal human dermal fibroblasts.

【著者】 Tomoya Takeda, Sota Doiyama, Junya Azumi, Yasuhiro Shimada, Yoshihiko Tokuji, Hiroaki Yamaguchi, Kosuke Nagata, Naoya Sakamoto, Hisashi Aso & Takashi Nakamura

【掲載誌】 Scientific Reports 9, Article number:13637 (2019)

【URL】 <https://www.nature.com/articles/s41598-019-49883-7.pdf>

※本ニュースレターは、上記論文の内容を再構成したものです。

研究背景

ATP や細菌由来のリポ多糖である LPS で処理することで、細胞のインフラマソーム形成が活性化され、炎症促進物質である「IL-1 β 」の分泌が誘導されます。本研究では、ここにアサイゲルマニウムを添加し、IL-1 β 分泌量の変化を調べました。

研究内容

1. ヒトの正常皮膚線維芽細胞 (NHDFs) へのアサイゲルマニウムの取り込みを確認

まず、2種類の質量分析装置(LC-MS/MS装置、同位体顕微鏡)によって、細胞へのアサイゲルマニウムの取り込みについて調べました(右図参照)。

(A)ゲルマニウム元素の質量分析結果

M/Z=73.92 付近にゲルマニウムのピークを確認しました。

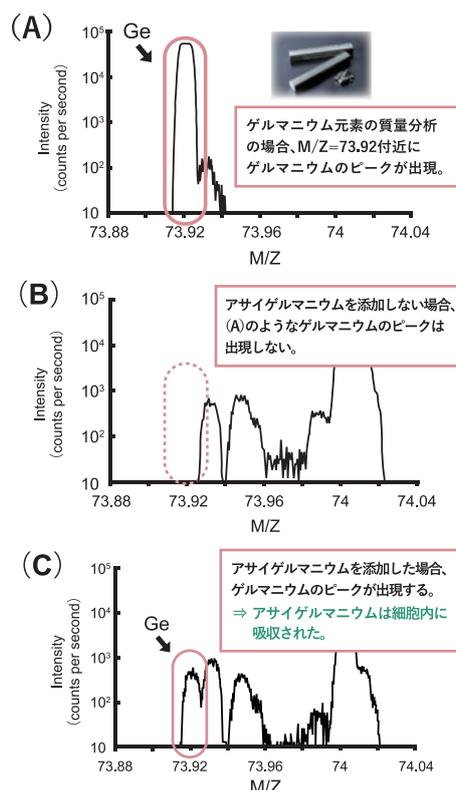
(B)アサイゲルマニウムを添加しない細胞の質量分析結果

(A)で確認されたようなゲルマニウムによるピークは見られませんでした。

(C)アサイゲルマニウムを添加した細胞の質量分析結果

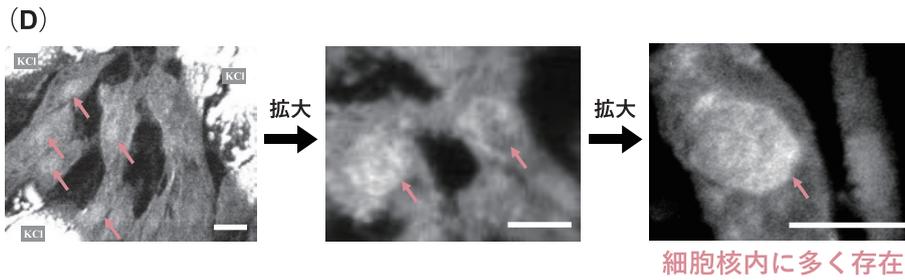
(A)で確認されたようなゲルマニウムによるピークを確認しました。

(A)~(C)の結果より、通常、生体内にはほとんどゲルマニウムは存在しないため、アサイゲルマニウム添加によって細胞内にゲルマニウムが取り込まれたことが示されました。



(D) 同位体顕微鏡による画像化

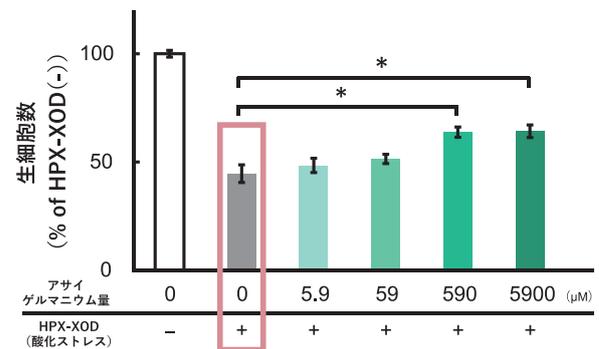
画像中の矢印が示すように、アサイゲルマニウムが細胞に取り込まれ、核内に多く存在していることが明らかになりました。



2. 酸化ストレスによる細胞死に対するアサイゲルマニウムの抑制効果に関する検討

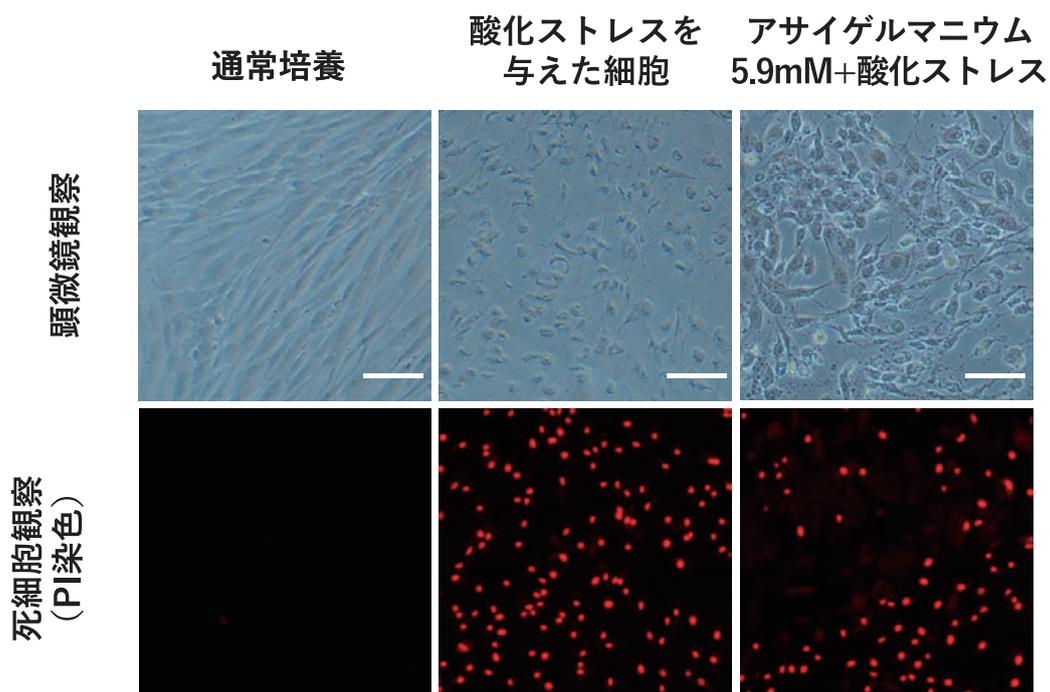
活性酸素は細胞にダメージを与え、細胞死の原因になることが知られています。細胞に酸化ストレスを与えると、右のグラフの通り、細胞数が減少してしまいました。

しかしながら、アサイゲルマニウムを添加することによって、濃度依存的に生細胞数の減少を抑えることがわかりました。



また、顕微鏡で観察すると、酸化ストレスを与えた細胞は変形し、死んでしまいますが、アサイゲルマニウムを添加しておくことによって、変形する細胞が減少することが確認されました。

さらに死細胞を特異的に赤く染めるPI(ヨウ化プロピジウム)染色を行うと、酸化ストレスによって死細胞が増えることが確認できます。しかし、アサイゲルマニウムを添加しておくことによって、死細胞の数が減少することが確認されました(下図参照)。



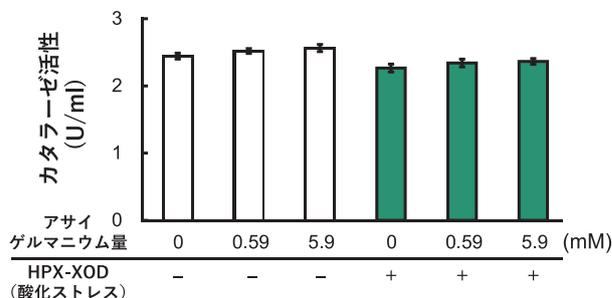
3. 酸化ストレスによる細胞死がアサイゲルマニウムによって抑制されるメカニズムを検討

活性酸素が発生した際、通常は活性酸素を消去する酵素であるカタラーゼが働いたり、例えばアスコルビン酸(ビタミンC)のような抗酸化成分は直接、活性酸素を消去したりします。

アサイゲルマニウムの場合には活性酸素を直接消去しないことは既報 (Takafumi Tezuka et al., *Advances in Enzyme Research*, 2017, 5, 13-23)にて確認されているため、カタラーゼ活性への影響を評価してみました。

その結果、右図のごとく、ヒトの皮膚線維芽細胞においては、アサイゲルマニウムの添加濃度に関わらず、カタラーゼ活性に変化がないことが確認されました。

上記の結果から、アサイゲルマニウムは全く別の経路に働きかけることで、酸化ストレスによる細胞死抑制効果を発揮していると考えられるため、さらに実験を行いました。



<実験①: DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子解析の実施>

皮膚線維芽細胞に酸化ストレスを与え、アサイゲルマニウムを加えた時の遺伝子発現について網羅的解析を実施した結果、下図の赤枠の通り、「酸化ストレスに応答する遺伝子」の発現が変化することを確認しました。

さらにアサイゲルマニウム添加によって、細胞死に関する「NR4A2」、炎症性サイトカインとして知られる「IL-6」、「CXCL2」の遺伝子の発現が抑制されていることも明らかになりました。

Table 2 Enriched GO terms for genes identified from the NHDFs exposed to oxidative stressed and treated with THGP

Gene Ontology (GO) term	Genes altered by 5.9 mM THGP	P-value	Genes			
GO:0045444 fat cell differentiation	3	0.010	IL6	NR4A1	NR4A2	
GO:0016477 cell migration	5	0.011	IL6	NR4A1	NR4A2	CXCL2 PRKG1
GO:0071383 cellular response to steroid hormone stimulus	3	0.015	IL6	NR4A1	NR4A2	
GO:0060326 cell chemotaxis	3	0.016	IL6	NR4A1		CXCL2
GO:0048870 cell motility	5	0.016	IL6	NR4A1	NR4A2	CXCL2 PRKG1
GO:0051674 localization of cell	5	0.016	IL6	NR4A1	NR4A2	CXCL2 PRKG1
GO:0071375 cellular response to peptide hormone stimulus	3	0.021	IL6	NR4A1	NR4A2	
GO:1901700 response to oxygen-containing compound	5	0.022	IL6	NR4A1	NR4A2	CXCL2 EDEM3
GO:1901653 cellular response to peptide	3	0.024	IL6	NR4A1	NR4A2	
GO:0040011 locomotion	5	0.026	IL6	NR4A1	NR4A2	CXCL2 PRKG1
GO:0033993 response to lipid	4	0.027	IL6	NR4A1	NR4A2	CXCL2
GO:0048545 response to steroid hormone	3	0.034	IL6	NR4A1	NR4A2	
GO:0043434 response to peptide hormone	3	0.039	IL6	NR4A1	NR4A2	
GO:0006928 movement of cell or subcellular component	5	0.043	IL6	NR4A1	NR4A2	CXCL2 PRKG1
GO:0045944 positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	4	0.043	IL6	NR4A1	NR4A2	
GO:1901652 response to peptide	3	0.046	IL6	NR4A1	NR4A2	

<実験②: 細胞死関連遺伝子・炎症性サイトカイン遺伝子の個別評価>

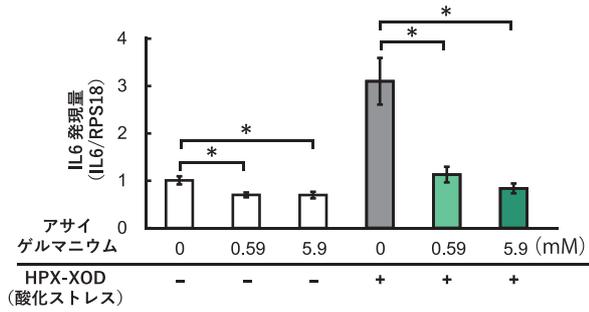
「PCR法」という手法によって、個別の遺伝子について発現や増減などの変動を調べました。

その結果、いずれの遺伝子も酸化ストレスを与えると発現が上昇しますが、アサイゲルマニウムを添加することによって、濃度依存的に発現が抑制される結果となりました(①~③)。

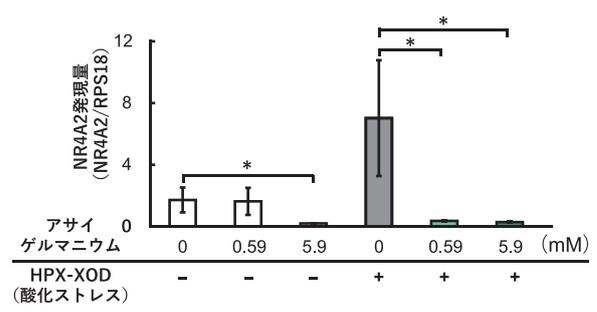
また、IL-6についてはELISA法によってタンパク質の量まで測定を行い、タンパク質レベルでも、アサイゲルマニウムがIL-6の産生を抑制していることを確認しました(④)。



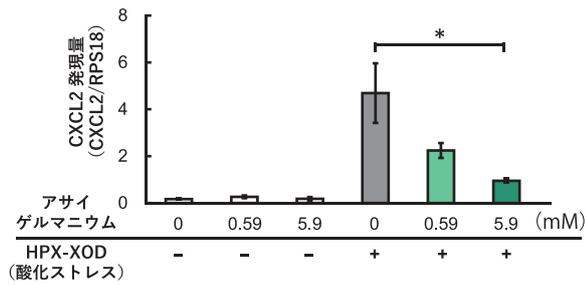
①IL6の遺伝子発現



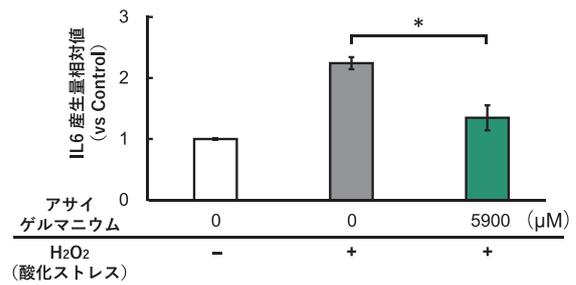
②NR4A2の遺伝子発現



③CXCL2の遺伝子発現



④IL6のたんぱく質の量



これらの結果からアサイゲルマニウムは細胞死を誘導する因子や炎症を促進する因子に働きかけることによって、細胞死を抑制していることが示されました。これは既存の化粧品素材の抗酸化メカニズムとは全く異なる経路で、抗酸化性を発揮することを示しています。

まとめ

本研究により、

- ① 世界で初めて、アサイゲルマニウムが細胞内に取り込まれることを可視化しました。
- ② アサイゲルマニウムは酸化ストレスによる細胞死を抑制し、さらに酸化ストレスで誘導される炎症性サイトカインの産生も抑制していたことが明らかになりました。
- ③ アサイゲルマニウムは、既存の抗酸化成分とは全く異なるメカニズムで抗酸化作用を発揮していることが示されました。

今後はこの研究結果を基に、アサイゲルマニウムが細胞死を抑制するメカニズムをより詳細に探究していきたいと考えています。

※アサイゲルマニウムは、化粧品における「全成分表示名称」では「レパゲルマニウム」と記載されています。

お問い合わせ



株式会社

浅井ゲルマニウム研究所

ASAII Germanium Research Institute Co., Ltd.

〒215-0004 神奈川県川崎市麻生区万福寺
1-1-1 新百合ヶ丘シティビルディング 3F
TEL: 044-954-2101 FAX: 044-954-2066

無断複写・無断転載禁止