

P-11

Inhibitory Effects of *Nelumbo nucifera* Extracts on Proliferation and Differentiation of 3T3-L1 Preadipocyte cell

○Rhyu Dong Young, Kim Min Suk, Min Oh Jin
Major in Medical Plant Resources, Mokpo National University, Korea

Obesity occurs from the imbalance between energy intake and energy expenditure that may lead to a pathologic growth of adipocyte and accumulation of fat in tissue. Obesity is a complex chronic disease that is suggested to cause other metabolic disorders, such as type 2 diabetes, hyperlipidemia, hypertension and arteriosclerosis. All parts of *Nelumbo nucifera* also have been used for various remedy purpose in Korea. Therefore, we examined the inhibitory effects of *Nelumbo nucifera* extracts (leaf, root, and seed) on the proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocyte using MTT assay and Oil Red O staining. 3T3-L1 preadipocyte were cultured in 96-well culture plates to examine the inhibitory effects of *Nelumbo nucifera* extracts on proliferation, and the various concentrations (50, 250, and 500 $\mu\text{g/ml}$) of *Nelumbo nucifera* extracts were added for 24h, 48h, and 72h. In differentiation experiment, growth-arrested 3T3-L1 preadipocyte were stimulated with 0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine (MIX), 5 $\mu\text{g/ml}$ insulin, and 1 μM dexamethasone in DMEM media containing 10% FBS (differentiation media, DM). During the induction of differentiation, *Nelumbo nucifera* extracts (10, 100, and 250 $\mu\text{g/ml}$) was added to the media at 0 day, and the fat droplet of adipocyte were stained by Oil Red O at 8 day. At the results, *Nelumbo nucifera* extracts significantly inhibited the proliferation of 3T3-L1 preadipocyte, and the leaf and root extracts of *Nelumbo nucifera* showed the significant changes on fat accumulations of adipocyte. Thus these data provide the evidences that *Nelumbo nucifera* extract have beneficial effects on proliferation of 3T3-L1 preadipocyte and fat accumulations of adipocyte.

P-12 ★

粘膜型マスト細胞に対する葛根湯の効果とその作用機序の検討

○末廣陽子、影山夏子、門脇 真
富山大学 和漢医薬学総合研究所 消化管生理学分野

【目的】食物アレルギーはヒトや病態モデルの病態解析により、IgE抗体価の上昇と、IgE抗体受容体を有し様々なアレルギー誘起物質を放出するマスト細胞の著しい増多が腸管で観察されていることから、腸管におけるマスト細胞がその病態形成において重要な役割を果たしていることが示唆されてきている。マスト細胞は大きく結合組織型と粘膜型に分類され、腸管粘膜に浸潤するのは粘膜型マスト細胞であるが、粘膜型マスト細胞の病態生理学的役割に関する研究は寄生虫感染症以外では非常に情報が乏しいまとなっている。これまで我々は、食物アレルギー病態モデルマウスの腸管で粘膜型マスト細胞の著しい増多が見られることを明らかにし、有効な治療薬が見出されていない本疾患において、病態モデルマウスで葛根湯が治療効果を示すことを報告している（投稿準備中）。今回我々は、葛根湯の作用機序を細胞レベルで検討するために、粘膜型マスト細胞の培養細胞系を用い、葛根湯の粘膜型マスト細胞に対する効果を調べた。【方法と結果】BALB/cマウスの大腿骨髄細胞に適宜サイトカインを含む培養液を加えて培養し、マスト細胞のマーカーであるc-kitおよび高親和性IgE受容体(Fc ϵ RI)と、粘膜型マスト細胞のマーカーであるマウスマスト細胞プロテアーゼ1を発現する粘膜型骨髄細胞由来マスト細胞(mBMMC)を得、mBMMCにおけるIgE介在性 β -hexosaminidase遊離に対する葛根湯の抑制効果を検討した。mBMMCに葛根湯(2 mg/ml)を含む培地で24時間前培養およびDNP特異的IgE抗体による感作を行い、DNP-BSA抗原を用いて脱顆粒を行ったところ、顕著な脱顆粒抑制作用が見られた。さらにFACS解析によって葛根湯処理で細胞表面のFc ϵ RI量が低下すること、蛍光カルシウム指示薬および高速CCDイメージングシステムを用いた細胞内カルシウムレベル変動解析によって、葛根湯がmBMMCの細胞内カルシウム濃度上昇を顕著に抑制することが明らかとなった。【考察】葛根湯は、mBMMC細胞膜表面上のIgE受容体数を減少させることにより、細胞内カルシウム濃度上昇を阻害してmBMMCの活性化を抑制し、アレルギー誘発物質の放出を抑える作用を持つことが示唆された。