

## Ca/Mg および海洋深層水が線維芽細胞に及ぼす影響

○山田勝久, 鈴木正宏, 野村道康, 柴田雄次, 今田千秋 (㈱DHC, 東京海洋大学)

### 目的

ヒトの健康への利用では, 海洋深層水 (DSW) に豊富に含まれるミネラル類の特徴 (Ca/Mg 含有比が陸水と逆転する) について非常に興味を持たれるところであるが, その摂取意義を考慮した基礎的な研究報告は未だ少ない. なお, ヒトの健康と Ca/Mg 摂取比の関係については, Karppanen *et al.* (1978)の研究が有名である. 彼らは食事から摂取する Ca/Mg 比が増大すると, 虚血性心疾患による死亡リスクが上昇することを世界的規模の研究で明らかにした. 彼らの報告に端を発して今日に至るまで, ヒトや動物による研究報告は数多く見られるが, 生体を構成する最小単位である細胞に関する研究は殆ど見られない. そこで本研究では, ヒト由来の培養線維芽細胞 (以降, NB1RGB) を用いて Ca/Mg 比が細胞活性に及ぼす影響と細胞活性が低下する Ca/Mg 比における DSW 添加効果について調査することを目的とした.

### 方法

NB1RGB を培養シャーレでコンフルエント状態まで培養後, 常法で細胞を剥離して新しい培養シャーレ 2 枚に継代した. この操作を重ねて継代回数とした. なお NB1RGB の培養は, 全て 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> の条件で行い, 細胞の増殖及び前培養は 10 %FBS 含有イーグル MEM 培地を用いた. 上述の NB1RGB を 96 穴マイクロプレートに 2×10<sup>4</sup> 個/穴になるように播種し, 1 日間前培養を行った. 前培養後, 培地中の Ca 濃度が, 概ね健常なヒトの血清中の濃度の範囲 (2.0~3.5 mM) となるように CaCl<sub>2</sub> を用いて調製後, 各 Ca 濃度における Ca/Mg 添加比が 0~4 となるように MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O で調整

して 1 日間培養した. なお細胞活性は MTT 還元法により測定した. さらに Ca/Mg 添加比の増大とともに細胞活性の低下が見られる継代回数が 19 回の NB1RGB を用いて各 Ca/Mg 比における DSW 添加 (終濃度, 0.5%) の影響を調べた.

### 結果および考察

継代回数が 10 回及び 12 回の NB1RGB では, Ca 濃度の増加および Ca/Mg 添加比に関わらず高い細胞活性が確認された. しかし, 継代回数が 14 回以上では Ca 濃度に関わらず Ca/Mg 添加比の増大に伴って細胞活性が低下し, Ca/Mg  $\geq 2$  では細胞活性がほぼ消失した. そこで継代回数が 19 回の NB1RGB を用いて, 各 Ca/Mg 添加比における DSW 添加の影響を調査した結果, Ca/Mg  $\leq 2$  において DSW の添加が細胞活性の低下を抑止する効果が観察された.

本研究に供した NB1RGB は分裂寿命を有する正常細胞であり, その継代回数はすなわち細胞の老化を意味するとされている. 本研究において継代回数が多い老化した細胞は Ca/Mg 添加比の増大に伴って細胞活性が顕著に低下したことから, 若い細胞では全く影響のない Ca/Mg 比であっても, 老化した細胞にとっては致命的な負荷因子となる可能性が示唆された. さらに老化した NB1RGB で DSW の添加効果を調査した結果, DSW 添加により Ca/Mg  $\leq 2$  の範囲ではあったが, 細胞活性の低下を抑止する効果が確認された.

### 参考文献

Karppanen, H., R. Pennanen and L. Passinen (1978) Minerals, coronary heart disease and sudden coronary death. *Adv. Cardiol.*, 25, 9-24.