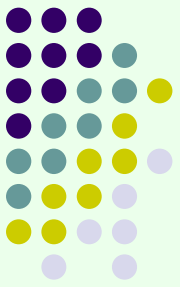


第64回日本栄養・食糧学会大会 発表用スライド



演題No: 3J-02a

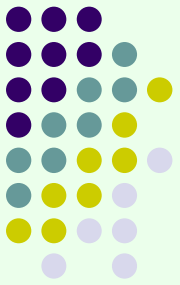
表題: イカ軟骨由来コンドロイチン硫酸による骨形成因子の産生に及ぼす効果

演者: ○谷 久典、服部隆史、大石一二三

日程: 2010.5/21～23 場所: アスティとくしま



ハイドロックス株式会社
HYDROX Inc.



試料の調製法

脱脂イカ頭部軟骨



プロテアーゼ消化



除タンパク



pH調整



清澄化



イオン交換



脱塩・濃縮 (10kDa)



凍結乾燥

分析方法

- (1) FACS Calliberによる細胞内サイトカインの検出
BMP
Osteocalcin
- (2) BIAcoreによる培養液中サイトカインの検出
BMP
Osteocalcin
- (3) Alizalin Red染色
- (4) ハイドロキシプロリンの測定
Woessner の方法



ハイドロックス株式会社
HYDROX Inc.

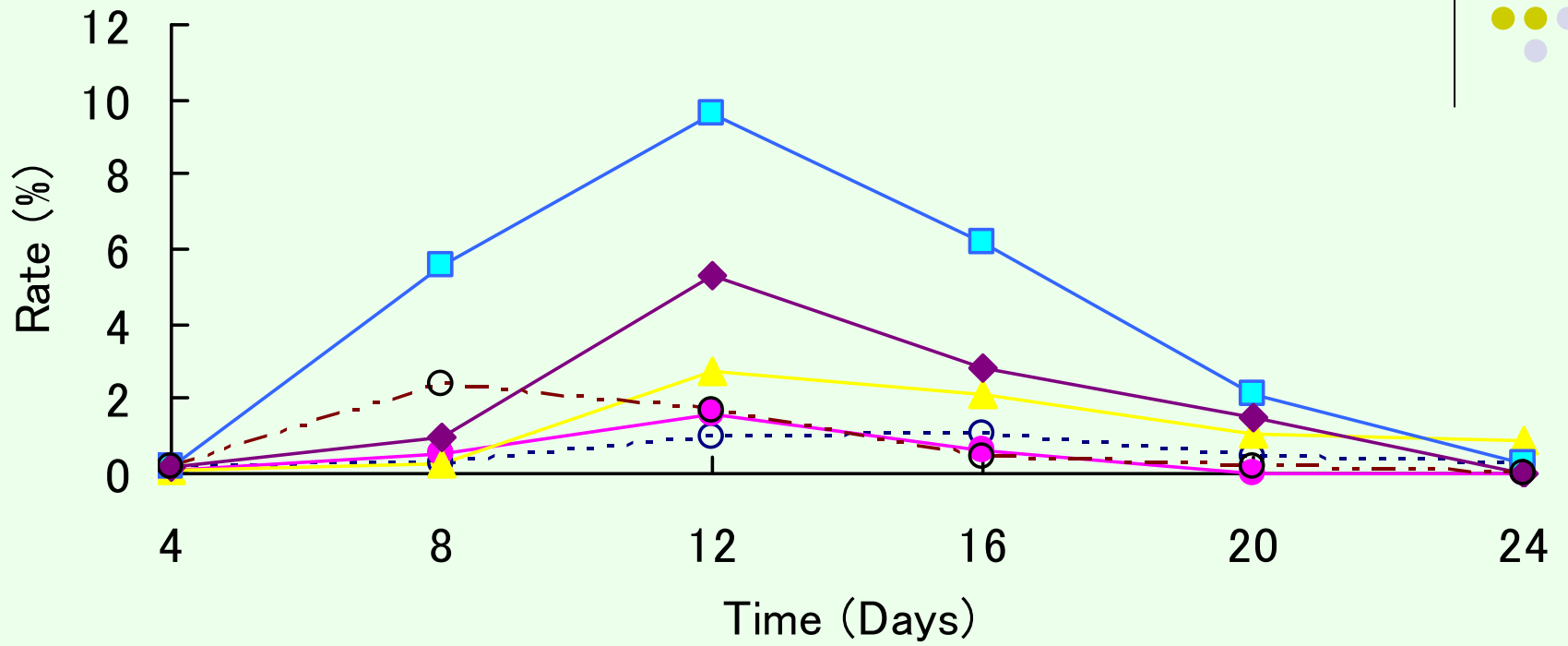
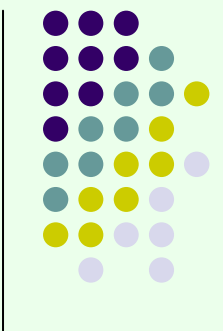


Fig. 1 The effect of chondroitin sulfate E on the intracellular BMP production

- 0 μ g/ml
- 12.5 μ g/ml
- ▲— 25 μ g/ml
- 50 μ g/ml
- ◆— 100 μ g/ml
- - -○- - - Hep. (20 μ g/ml)

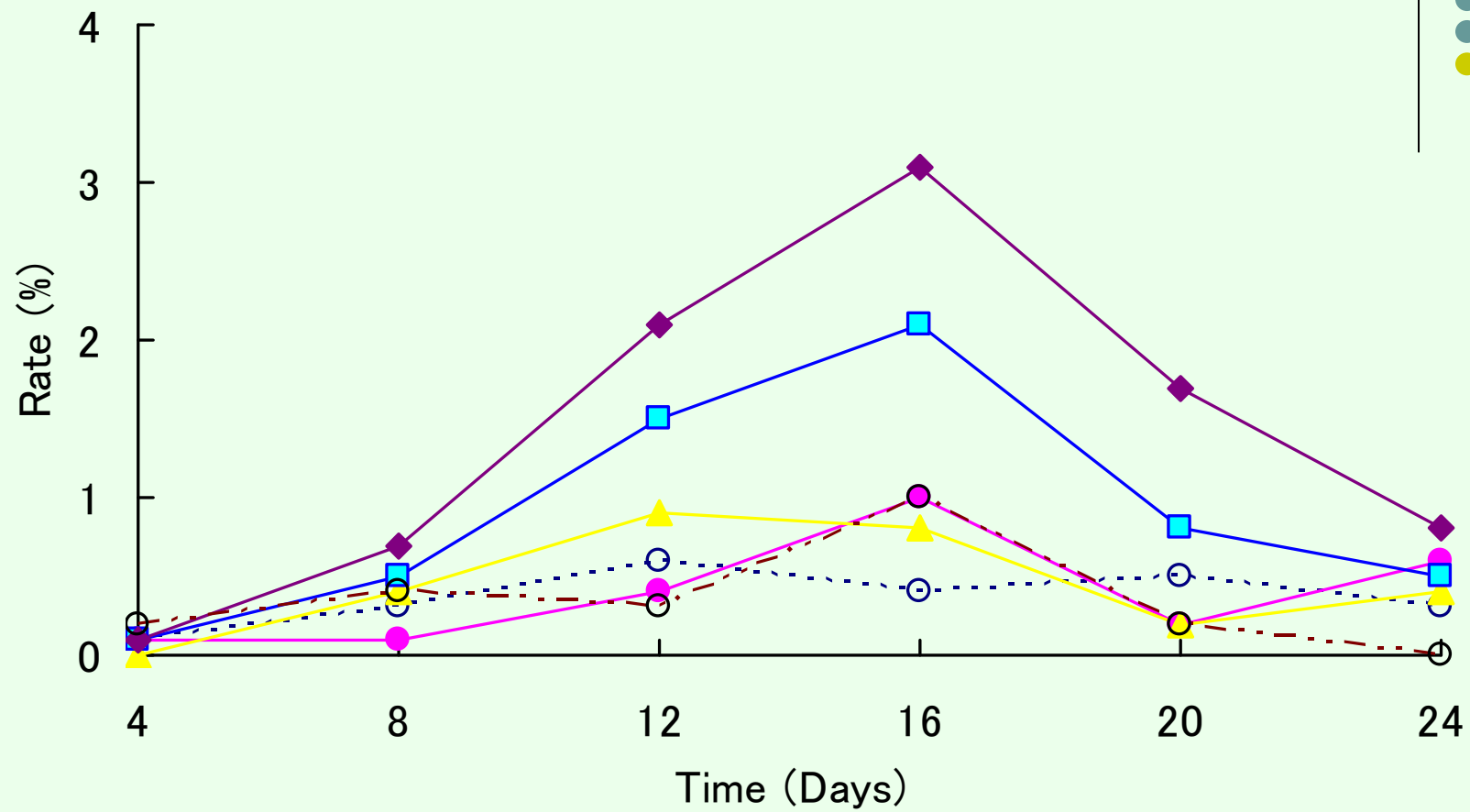
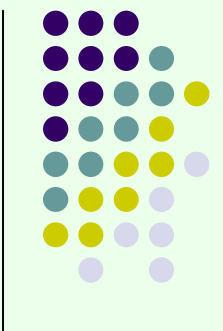
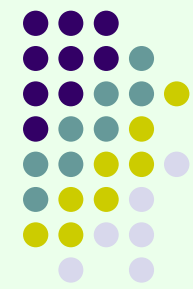


Fig. 2 The effect of chondroitin sulfate E on the intracellular osteocalcin production

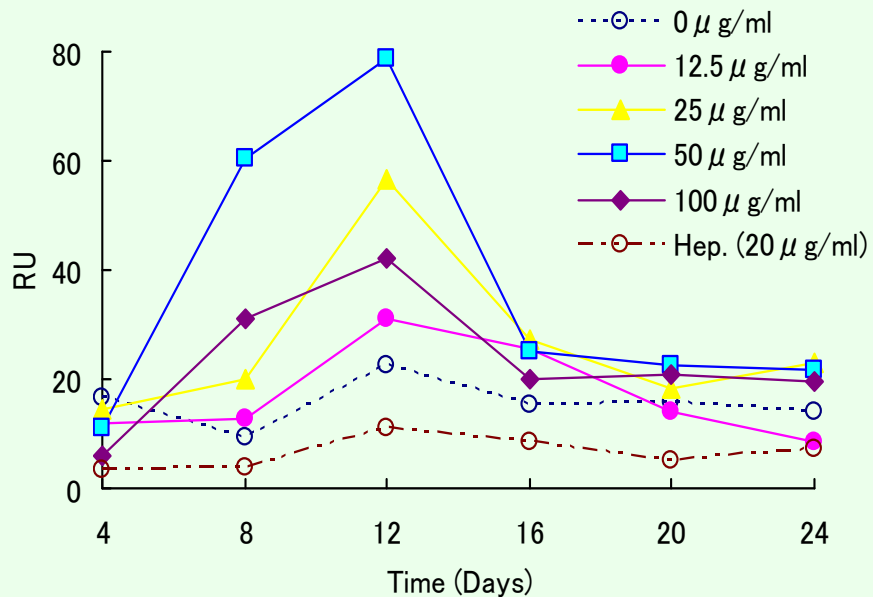
- 0 $\mu\text{g/ml}$
- 12.5 $\mu\text{g/ml}$
- ▲— 25 $\mu\text{g/ml}$
- 50 $\mu\text{g/ml}$
- ◆— 100 $\mu\text{g/ml}$
- -○- - Hep. (20 $\mu\text{g/ml}$)



ハイドロックス株式会社
HYDROX Inc.



(1) Time course



(2) Total volume

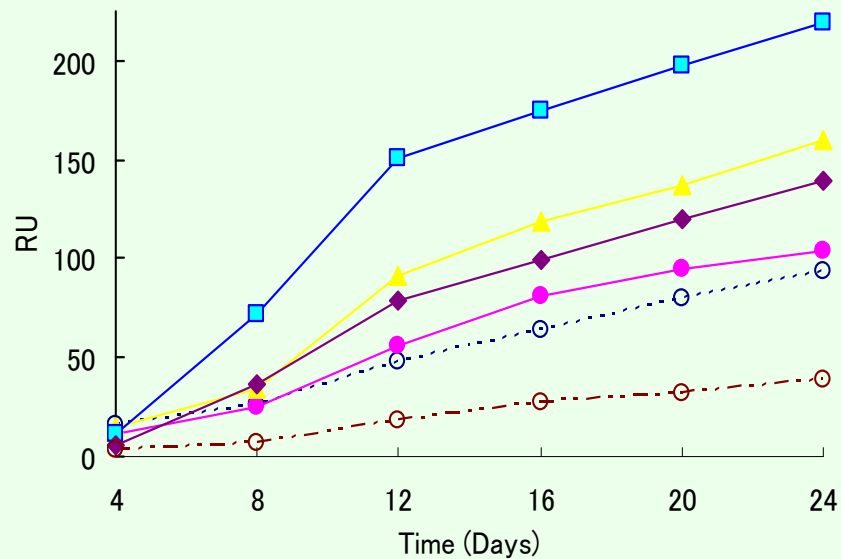


Fig. 3 The effect on BMP production by chondroitin sulfate E



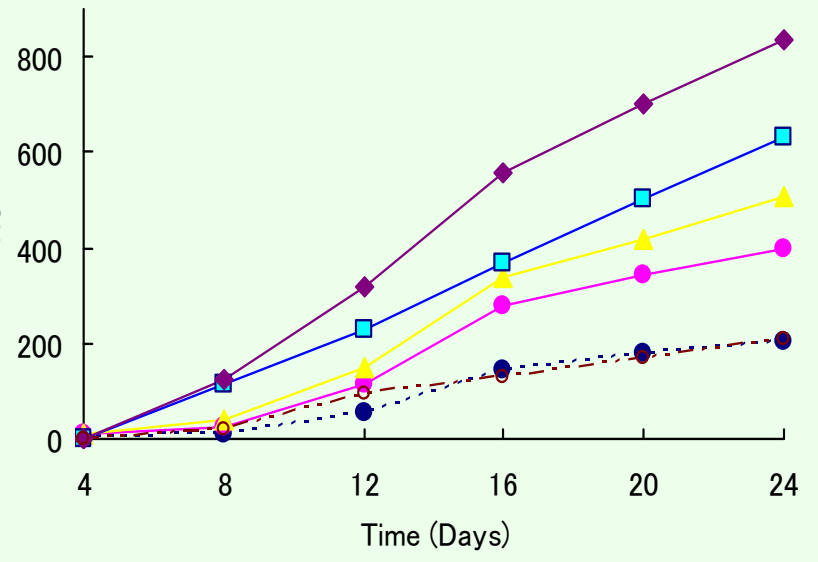
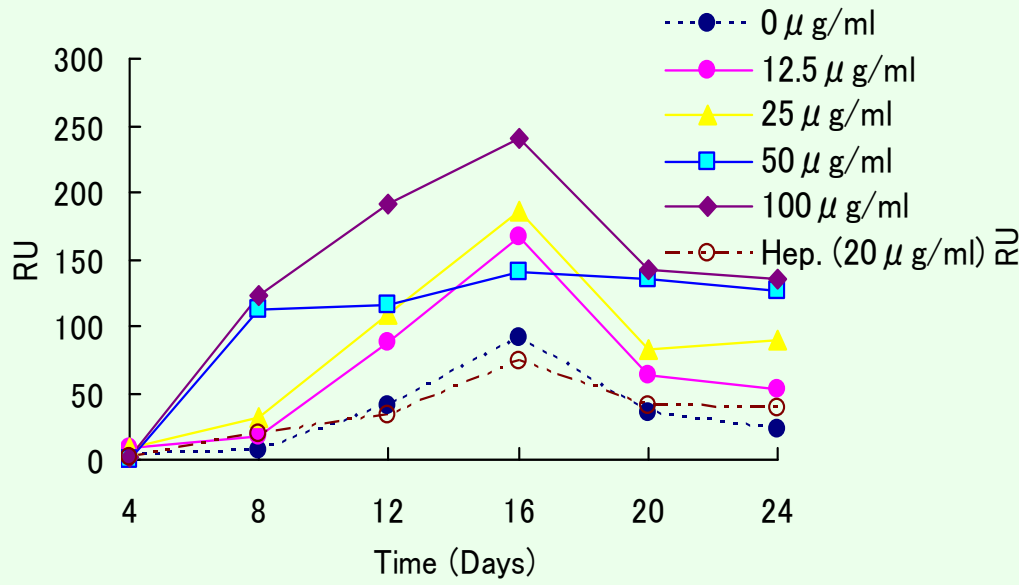
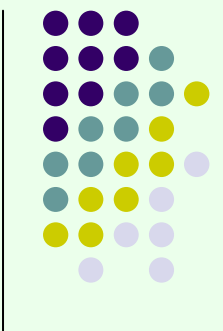
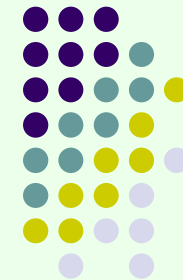


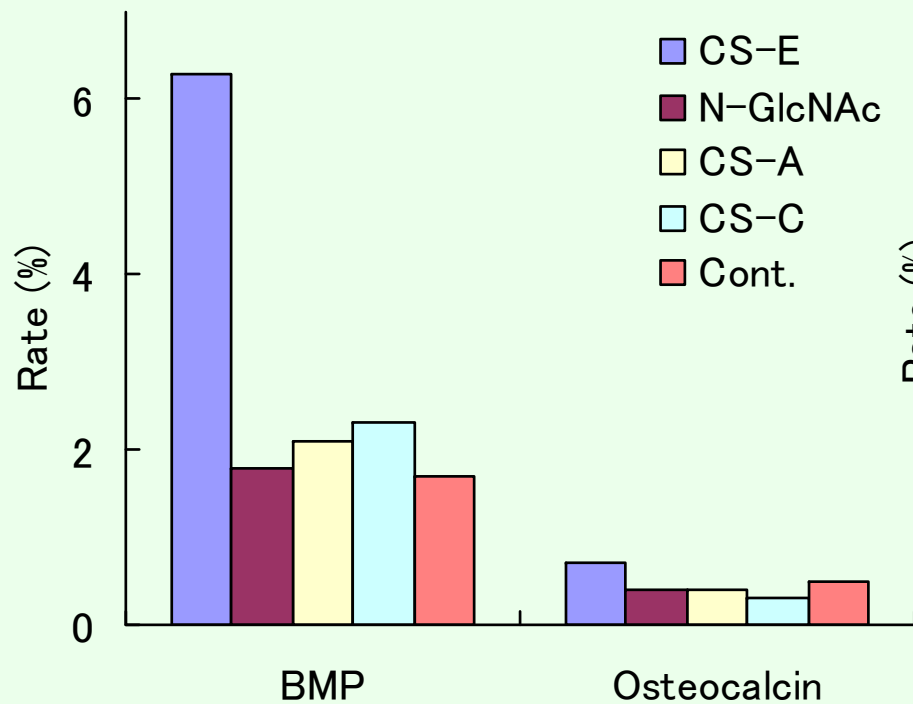
Fig. 4 The effect on ostocalcin production by chondroitin sulfate E



ハイドロックス株式会社
HYDROX Inc.



(1) 4 days



(2) 12 days

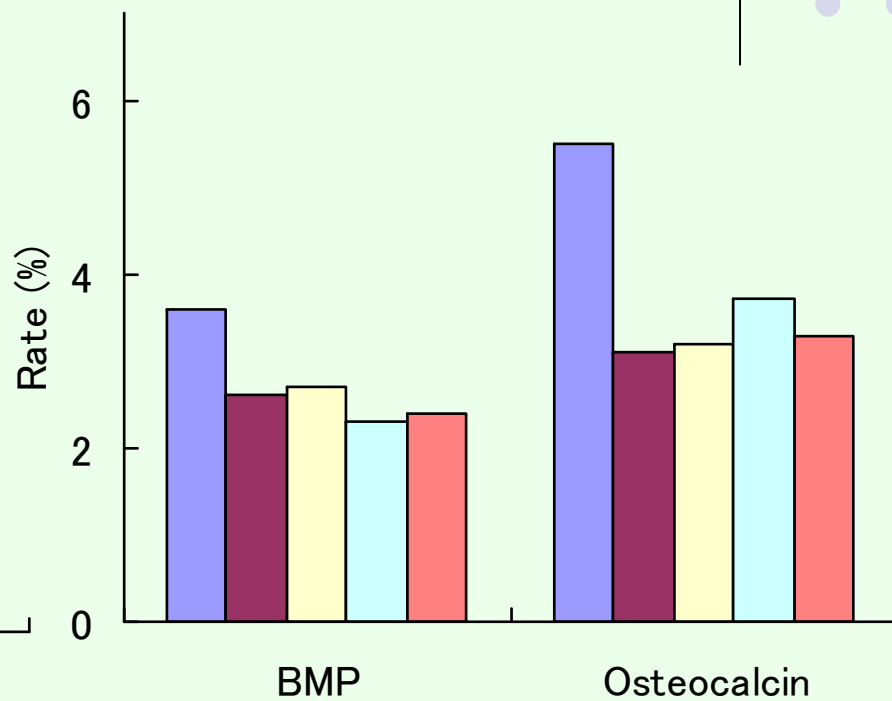


Fig. 5 The effect of various sulfated GAGs on osteocalcin and BMP production



ハイドロックス株式会社
HYDROX Inc.

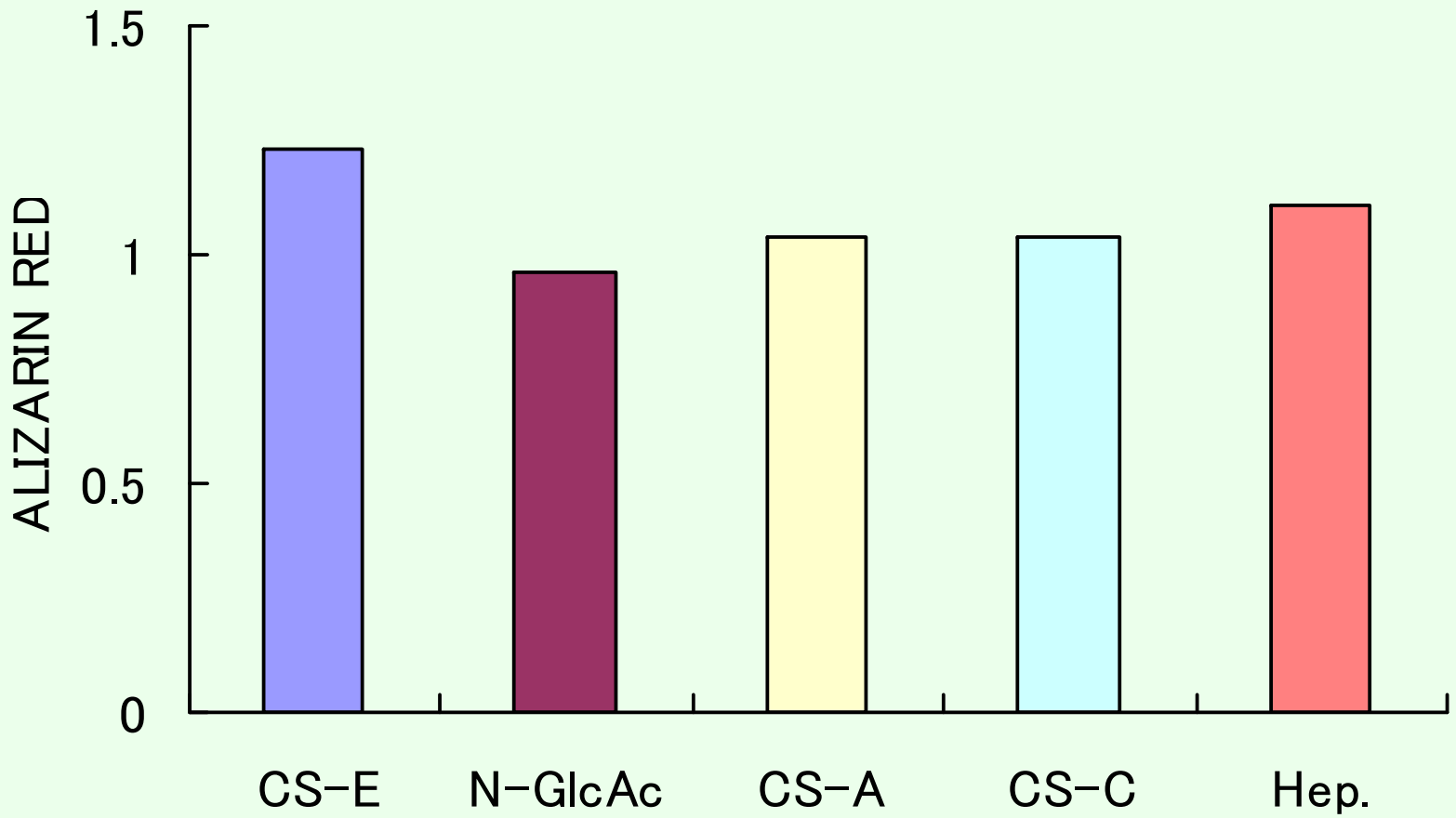
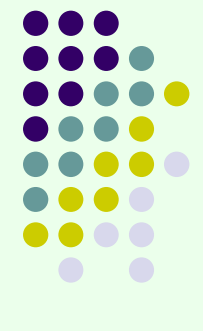


Fig.6 Effects of various sulfated GAGs on mineralization (13 days)



ハイドロックス株式会社
HYDROX Inc.

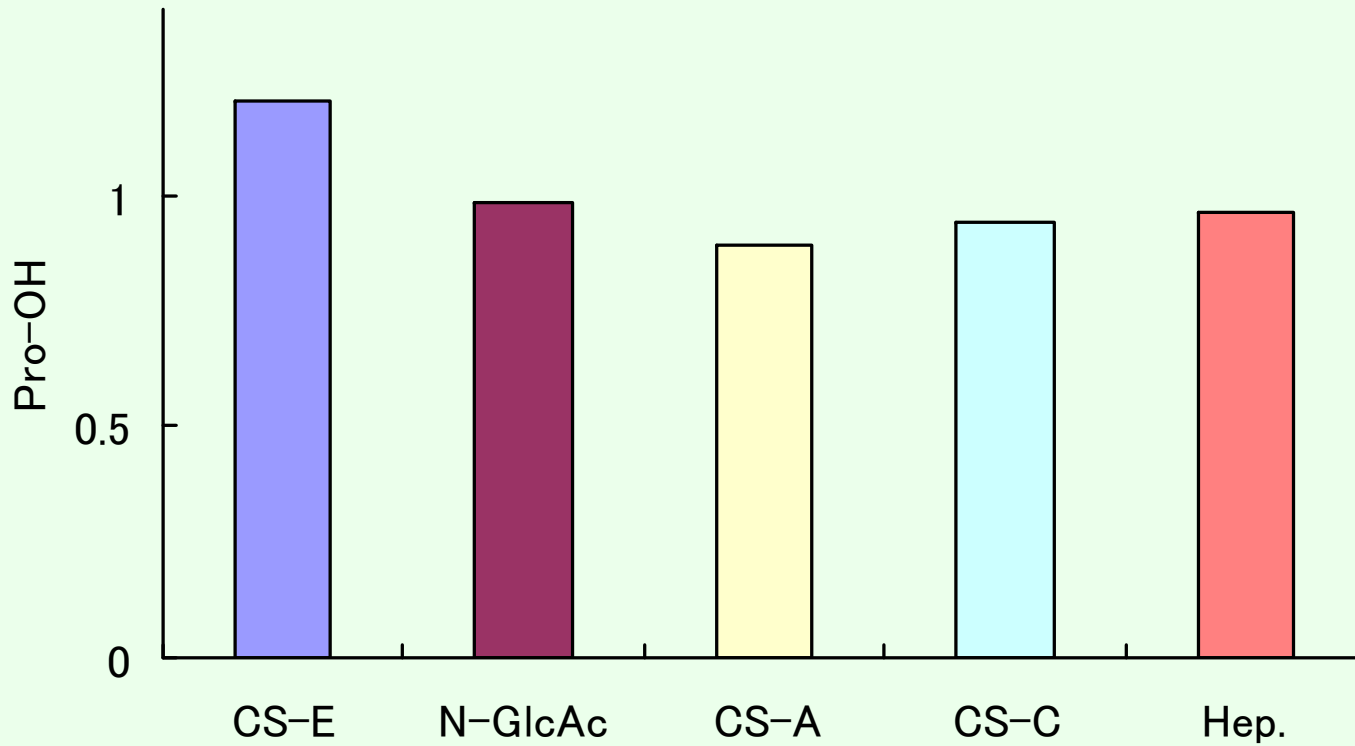
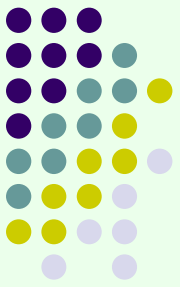
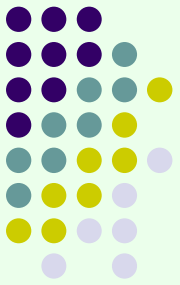


Fig. 7 Effects of various GAGs on the collagen deposition (13 days)





Conclusion

CS-Eの骨芽細胞に及ぼす効果を3T3-E1培養細胞を用いて検討した。

- (1) CS-Eを添加する事で細胞内BMP及びオステオカルシン量が増加し、12日目の50 μ g/ml添加でBMPの、16日目の100 μ g/ml添加でオステオカルシンの産生量が最も高かった。
- (2) 培養上清中のBMP及びオステオカルシン量もCS-Eを添加する事で増加した。
- (3) 13日目において、細胞内カルシウム量及びヒドロキシプロリン量がCS-Eを添加する事で最も高かった。
- (4) BMP、及びオステオカルシン産生に作用できるコンドロイチン硫酸はEのみであった。

以上の結果からイカ頭部軟骨由来CS-Eは骨芽細胞より骨形成因子の産生を誘導し、骨芽細胞の分化を促進することが示され、変形性膝関節症の進行を抑制する事が示唆された。



ハイドロックス株式会社
HYDROX Inc.