

靈芝 (*Ganoderma lucidum*, 子実体) の研究 (第5報)¹⁾
肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用について

野上真里, 久保道徳^{*,a}, 木村浩二, 高橋正興^b

^a近畿大学薬学部, ^b共立薬品工業株式会社

Studies on *Ganoderma lucidum*. V.¹⁾

Inhibitory Activity on the Release of Histamine from the Isolated Mast Cells

MARI NOGAMI, MICHINORI KUBO,^{*,a} HIROJI KIMURA and MASAOKI TAKAHASHI^b

^aFaculty of Pharmaceutical Sciences, Kinki University,

3-4-1, Kowakae, Higashiosaka, Osaka 577, Japan

^bKyoritsu Yakuhin Kogyo Co., Ltd.,

1085, Shimizudani, Takatori-cho, Takaichi-gun, Nara 635-01, Japan

(Received November 8, 1985)

In order to evaluate the quality of "Reishi," the fruit body of *Ganoderma lucidum*, various "Reishi" samples from different localities and origins were assayed for the effect on allergic responses. Some of these "Reishi" showed inhibitory activity on histamine-release from the isolated mast cells in rats, which was comparable to that of Disodium cromoglycate (DSCG). Of these, "Reishi-No. 9" cultivated in Nara prefecture was found to be the most active species.

Keywords—histamine release; mast cell; *Ganoderma lucidum*

靈芝は *Ganoderma lucidum* (FR.) KARST. マンネンタケの子実体で、中国やわが国で民間薬的に用いられてきた生薬である。著者らはすでに、小田原栽培品靈芝および京都府栽培品靈芝について薬効を証明すべく、薬理的検討を加え、京都府栽培品靈芝に緩和な血圧降下作用²⁾、実験的 DIC に対する予防効果¹⁾を認め、小田原栽培品靈芝に実験的高脂血症に対する有効性³⁾および実験的 DIC に対する有効性¹⁾を認め報告した。

しかし、他の生薬にも多く例をみるごとく、栽培地による薬効の差が、臨床上、問題になりつつある。

そこで、小田原栽培品、京都府栽培品をはじめ、広島県栽培品、長野県栽培品、奈良県栽培品、新潟県栽培品、宮崎県栽培品、会津市栽培品について、まず、今回は抗アレルギー作用の研究の一端としてラット腹腔肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用を指標に薬効の差を検討した。

また、同一地で栽培された異なる菌株より得られた靈芝の薬効の差を知る目的で、奈良県にて栽培された10種(10株)の靈芝についても同様の検討を加えた。

実験の部

1. 実験材料

靈芝は、小田原栽培品、京都府栽培品、広島県栽培品、長野県栽培品、奈良県栽培品、新潟県栽培品、宮崎県栽培品、会津市栽培品を用い、それぞれ水で3回煮沸抽出し、抽出液をただちに凍結乾燥した。

2. 実験動物

Wistar 系雄性ラットを用いた。飼育環境は 23±2°C, 60±5%の恒温恒湿の部屋で、実験に供するまでに1週間予備飼育した。

3. 実験方法

a) ラット腹腔肥満細胞の調製

Uvnäs らの方法⁴⁾に準じて調製した。ラットを断頭瀉血したのち、10 U/ml のヘパリンを含む Hanks 液 10 ml

TABLE I. Inhibitory Effect on Histamine Release Induced by Compound 48/80 from Rat Peritoneal Mast Cells

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)
Odawara city	500	47.8 \pm 5.8
	100	21.1 \pm 4.8
Kyoto pref. ^a	500	44.8 \pm 4.2
	100	16.4 \pm 3.2
Nagano pref.	500	53.1 \pm 3.3
	100	19.6 \pm 2.6
Niigata pref.	500	51.2 \pm 3.8
	100	30.7 \pm 4.5
Hiroshima pref.	500	39.8 \pm 5.5
	100	24.9 \pm 3.5
Nara pref.	500	72.2 \pm 3.4
	100	45.3 \pm 3.3
Aizu city	500	32.5 \pm 3.3
	100	11.9 \pm 3.7
Miyazaki pref.	500	35.7 \pm 3.9
	100	16.8 \pm 2.6
DSCG	500	66.0 \pm 2.9
	100	50.2 \pm 3.3

^a prefecture

All values represent mean \pm s.e. from 5 tubes.

を腹腔内に注入した。90秒間腹部を静かにマッサージしたのち、切開して腹腔内液を採取した。採取液を Buffer-salt solution (PBS) に溶解した Ficoll の40%溶液に重層し、室温で30分間放置した後、1,200 rpm, 10分間遠心分離した。Ficoll 層上に残った白濁層を集め、PBS にて洗浄を3回行い、再び PBS に浮遊させ、肥満細胞数が、 2.9×10^6 cells/ml となるように調製した。

b) 肥満細胞からのヒスタミン遊離の測定

肥満細胞浮遊液 1.8 ml を 37°C, 10分間、ブレインキューベートした後、PBS に溶解した被検液 0.1 ml と compound 48/80 (10 $\mu\text{g/ml}$) を 0.1 ml 加え、さらに10分間インキューベートした。氷冷によって反応を停止し、5°C, 1,200 rpm, 5分間遠心分離後、上清中のヒスタミン含量を Shore らの方法⁵⁾ に従って蛍光法により測定した。なお、陽性コントロールとして、disodium cromoglycate (DSCG) を用いた。抑制効果は、緩衝液添加 tube のヒスタミン量に対する検体添加 tube のヒスタミン量を算出して inhibition rate で表した。

実験結果

a) 各地産の霊芝の熱水抽出エキスの肥満細胞からのヒスタミン遊離に対する作用

正常ラット腹腔から分離した肥満細胞からの compound 48/80 によるヒスタミン遊離に対する抑制効果を検討した結果を TABLE I に示した。各地産ともに、30~50%の抑制効果を示したが、奈良県産霊芝は、他の産地のものに比べ、1.5倍以上の活性を有していた。

b) 奈良県にて栽培された10種の霊芝の熱水抽出エキスの肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制活性

a) と同様にして正常ラット腹腔肥満細胞からのヒスタミン遊離に対する抑制効果について、10種の奈良県栽培霊芝を用いて検討した。その結果を TABLE II に示したが、TABLE I で最も強い活性を有していた奈良県産霊芝 No. 9 が最強の効果を有しており、同一産地の No. 1~No. 11 の他のものは、30~50%の抑制活性であった。

TABLE II. Inhibitory Effect on Histamine Release Induced by Compound 48/80 from Rat Peritoneal Mast Cells

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)
No. 1	500	40.1 \pm 3.6
No. 2	500	31.3 \pm 3.3
No. 3	500	40.8 \pm 4.5
No. 4	500	33.9 \pm 4.4
No. 6	500	37.1 \pm 3.3
No. 7	500	51.3 \pm 2.6
No. 8	500	33.4 \pm 2.8
No. 9	500	75.2 \pm 3.3
No. 10	500	33.6 \pm 3.3
No. 11	500	49.7 \pm 3.7

All samples were cultured in Nara prefecture.

All values represent mean \pm s.e. from 5 tubes.

結論および考察

霊芝は、本報の第1, 第3, 第4報で報告したごとく、血圧降下作用、高脂血症改善作用、血栓症予防作用について、その薬理的な効果は、産地のちがいにより差異がある。

今回は、さらにこの産地による差異を明確に、しかも手早く確認する手段として肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用を指標に検討した。

肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用は抗炎症剤のスクリーニングにおいて、膜安定化作用としてもとえられているが、I型アレルギー反応においては、第一義的に起こる反応であり、多くの抗アレルギー剤の一次スクリーニングに用いられている。

そこで、各地産の霊芝の肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用を比較検討した結果、すべての霊芝に抑制効果が認められ、これは、霊芝中に含まれる苦味をもつトリテルペノイド成分の *ganoderic acid*⁶⁾ に肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用のあることが報告されている⁷⁾ ことに帰属しているものと思われる。しかし、奈良県産霊芝に、他の産地のものより例外的に強いヒスタミン遊離抑制作用が認められたことから、産地による活性の差が認められた。そこで、奈良県にて栽培された10種の霊芝について同様の検討を加えたところ、強い活性を有していたのは、最初に検討した一種のみであり、他の9種は、他の産地のものと同程度であった。したがって、肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制効果に関しては、産地による差よりもむしろ、菌株による差が大きく関与しているものと考えられ、さらに、奈良県に産する霊芝(栽培品 No.9)は、トリテルペノイド以外の成分により、活性を発現しているものと推定され、目下、有効成分を確認している。また、種々のアレルギー性疾患モデルに対しても強い有効性が認められ、次報に詳述する。

引用文献および注

- 1) 前報：久保道徳，松田秀秋，野上真里，有地 滋，高橋 猛，薬誌，103, 871 (1983).
- 2) 有地 滋，谿 忠人，久保道徳，松田秀秋，吉村成年，桐ヶ谷紀昌，基礎と臨床，13, 4239 (1979).
- 3) 久保道徳，松田秀秋，田中基晴，木村善行，谿 忠人，有地 滋，奥田拓道，桐ヶ谷紀昌，基礎と臨床，14, 2455 (1980).
- 4) B. Uvnäs, I. L. Thon, *Exp. Cell. Res.*, 18, 512 (1959).
- 5) P. A. Shore, A. Burkhalter, V. H. Cohn, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 127, 182 (1959).
- 6) T. Kubota, Y. Asaka, I. Miura, H. Mori, *Helv. Chim. Acta*, 65, 611 (1982).
- 7) 徳本和佳子，坂本季代恵，藤井美智子，平井裕子，神田博史，山崎和夫，日本薬学会 104 年会講演要旨集，p. 151 (1984).