

天然メシマコブ子実体のマウス皮膚における発癌プロモーション抑制効果

安川 憲^{*a}, 北中 進^a, 高橋宏之^b, 平山秀樹^b, 重本桂^b^a 日本大学薬学部, ^b 日本生薬(株)Inhibitory Effect of Natural Fruit Body of *Phellinus linteus* on Tumor Promotion in Mice SkinKen Yasukawa^{*a}, Susumu Kitanaka^a, Hiroyuki Takahashi^b, Hideki Hirayama^b
and Katsura Shigemoto^b^a College of Pharmacy, Nihon University, 7-7-1, Narashinodai, Funabashi-shi, Chiba 274-8555, Japan^b Nihon Shoyaku Co. Ltd., Rokuban-cho 2, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0085, Japan

(Received February 8, 2006)

The natural fruit body of *Phellinus linteus* was used as a supplemental herb for cancer in Japan and Korea. Oral administration of hot water extract plus alkali water extract of *P. linteus* suppressed the tumor promotion by 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate in mice following initiation by 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene.

Keywords: *Phellinus linteus*, TPA, tumor promotion, two-stage carcinogenesis

癌の予防は、今世紀に人類が達成しなければならない重要な課題の一つである。様々な疫学調査により、発癌要因の大半は、生活環境、生活習慣に由来するものであることが指摘され、中でも食生活、喫煙が大きな要因として注目されている。¹⁾ 発癌過程は、大きく二つのステージ、即ちイニシエーションとプロモーションに分けられることが知られている。²⁾ 癌を抑制するには、長期間を要しある程度可逆的といわれるプロモーション過程を目標とするのが現実的といわれている。³⁾ 癌予防物質の探索には、幾つかの方法が知られているが、第一段階として 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA)と 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)を用いたマウス皮膚発癌実験を用いることが多い。⁴⁾ 我々は、食用・薬用茸から抗発癌プロモーターを探索してきた。⁵⁻⁸⁾ メシマコブ (*Phellinus linteus*) は、韓国において人工培養に成功し癌治療薬として使用されている。我国においても、健康食品として癌に対して使用する人が少なくない。今回、メシマコブの熱水・アルカリ抽出エキスの経口投与が、DMBAとTPAによるマウス皮膚二段階発癌を抑制したので報告する。

材料と方法

1. 天然メシマコブ混合エキス製造法 メシマコブ A (PL-A; 四川省産) 及びメシマコブ B (PL-B; 福建省産) の切裁品をそれぞれ熱水にて抽出後残渣を分離し、これに水酸化ナトリウム水溶液を加えて更に加熱抽出した。残渣を分離して上澄を得、pH を調整して中和後に減圧濃縮→エタノール沈殿化→沈殿を水洗して、洗液を先の上澄液に合わせた。減圧濃縮後凍結乾燥して乾燥粉末を得た。乾燥粉末は、オリエンタル酵母(株)において餌粉末に PL-A は 0.7%, 2.1%, PL-B は 1.5%, 4.5% の濃度で調整した。
2. 実験動物 7 週齢の ICR 雌性マウス(株日本エスエルシーから購入)を、室温 25±1 °C、湿度 50±10% の SPF 飼育室で 8 時より 20 時まで照明をつけて飼育した。
3. 二段階発癌実験 1 群 15 匹のマウスの背部の毛を電気バリカンで刈り、DMBA 50 µg を 100 µL の acetone 溶液として塗布しイニシエートした。その 1 週間後より TPA 1 µg を 100 µL の acetone 溶液として週 2 回の塗布を 20 週間行った。PL-A 及び PL-B の配合飼料は、イニシエートの 1 日後より自由摂取させた。抑制効果は、発生する腫瘍の数を調べ、対照群と比較した。薬物の塗布には、

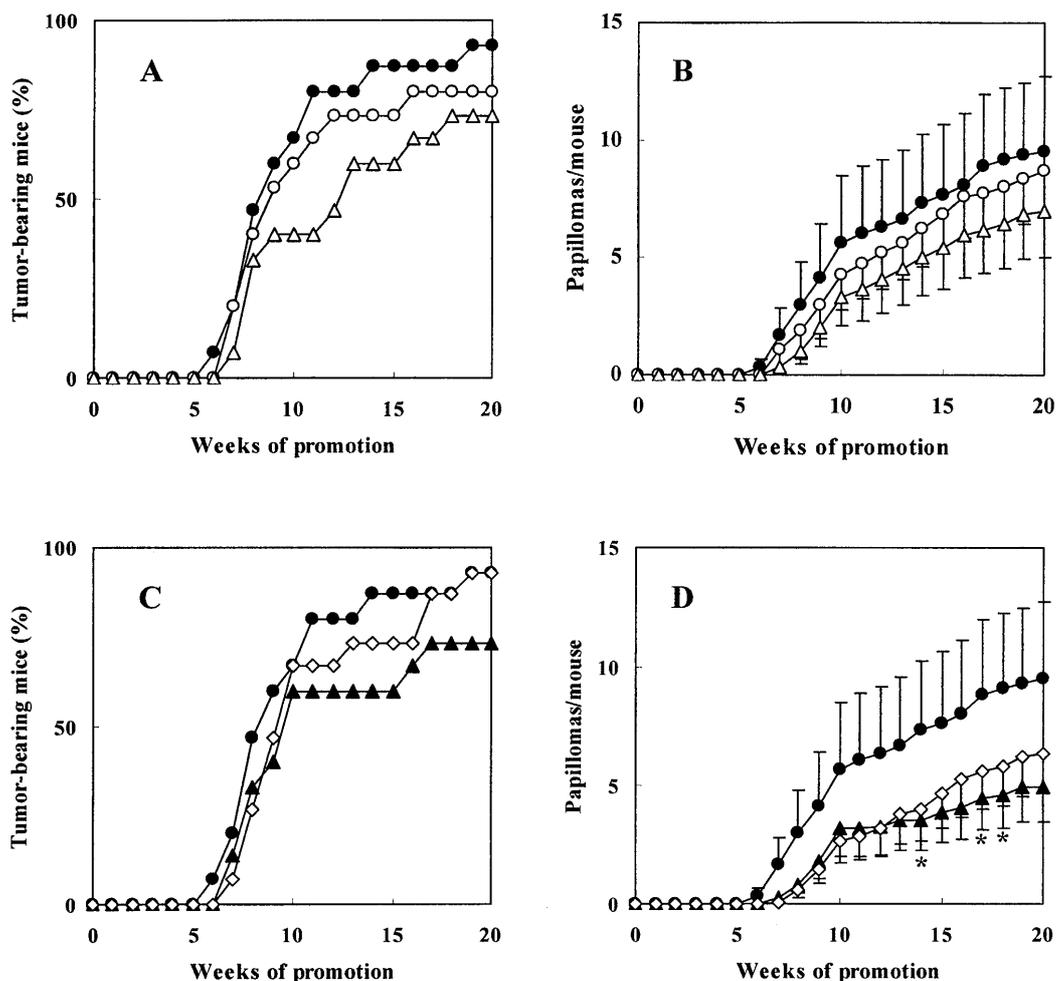


Fig. 1. Inhibitory effect of diet containing of water extract of *Phellinus linteus* (PL-A and PL-B) on the promotion of skin papillomas produced by TPA following DMBA initiation in mice. A, C: Percentage of tumor-bearing mice; B, D: average number of tumors per mouse. ●, DMBA + TPA with basal diet; ○, DMBA + TPA with diet containing 0.7% extract of PL-A; △, DMBA + TPA with diet containing 2.1% extract of PL-A; ▲, DMBA + TPA with diet containing 1.5% extract of PL-B; ◇, DMBA + TPA with diet containing 4.5% extract of PL-B. $n=15$. * $p < 0.05$.

マイクロピペットを用いた。

4. 統計処理 有意差検定のための統計処理は、腫瘍の発現率では Wilcoxon ext テストを、腫瘍の平均腫瘍数では Student's t テストを用いた。

結果・考察

キノコ類は、食用及び薬用に広く使用されている。我国で機能性食品として使用されているキノコは、アガリクス、冬虫夏草、メシマコブ、サルノコシカケ等多数のものがあり、抗腫瘍や免疫増強等を目的としている。この中で使用頻度が高いメシ

マコブ(四川省産及び福建省産)について、癌予防を目的とした 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA) と 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) によるマウス皮膚二段階発癌実験に対する抑制効果を検討した。

マウスの背部に DMBA を塗布することによりイニシエートし、その1週後より TPA を週 2 回の塗布を 20 週間行いプロモートした。その結果、発癌対照群は 6 週目に最初の腫瘍が発現し、20 週では 93% のマウスに腫瘍が発現した。メシマコブ経口投与群では、7 週目に最初の腫瘍が発現し 20 週では PL-A 0.7% 投与群では 80%、PL-A 2.1% 投与群では 73%、PL-B

1.5%投与群では73%, PL-B 4.5%投与群では93%のマウスに腫瘍が発現した。20週における平均腫瘍数では, 発癌対照群の9.5個に対し, PL-A 0.7%投与群 8.7個, PL-A 2.1%投与群 7.0個, PL-B 1.5%投与群 4.9個, PL-B 4.5%投与群 6.3個であった。それぞれの抑制率は, PL-A 0.7%投与群が 8%, PL-A 2.1%投与群 26%, PL-B 1.5%投与群 48%, PL-B 4.5%投与群 34%であった。マウスの体重は, 実験中において各群の間で有意な差は無かった。発癌対照群の50%腫瘍発現が8.3週であったのに対し, PL-A 2.1%投与群では12.3週と50%腫瘍発現が4週間遅延された。その他の投与群 PL-A 0.7%, PL-B 1.5%及び PL-B 4.5%では1週の遅延が見られた。癌の予防を考える時, 癌の発生を完全に抑制することは難しいが, 癌の発生を遅延させることは健康寿命を延長することにつながる。PL-A 2.1%経口投与により, 50%腫瘍発現までの期間が約1.5倍に延長されたこと, 及び PL-B 1.5%投与群で平均腫瘍数が半減したことは癌予防に有望なものと考えられる。

メシマコブには, 芳香族化合物⁹⁾及び多糖類¹⁰⁾等が含有されている。多糖類には多くの生理活性が報告されており, その中には癌予防に関連するものもある。¹¹⁾また, メシマコブの含有多糖は, 免疫能を活性化して抗腫瘍活性と転移抑制を示すことが報告されている。^{12,13)}発癌におけるプロモーション過程では, 局所における免疫応答が低下することが報告されている。¹⁴⁻¹⁶⁾発癌過程における免疫応答では, 細胞性免疫が重要であり, B-細胞や T-細胞群とそれらが産生する情報伝達物質が重要な役割をしている。メシマコブ含有多糖は, 宿主の免疫能を活性化して発癌を抑制しているものと考えられる以下の様な多くの報告がある。即ち, T-細胞を刺激して B-細胞の増殖を活性化するように作用する。^{17,18)}免疫担当細胞の一つであるマクロファージの一酸化窒素生産を上昇させ癌細胞の溶解死を増強させる。^{19,20)}癌化による細胞免疫の攪乱・崩壊に対して防御的な作用, 癌細胞に対してアポトーシスの誘導や細胞周期を停止することが報告されている。^{21,22)}発癌プロモーター活性が知られている tumor necrosis factor- α (TNF- α)²³⁾生産を抑制することも確認されている。²²⁾皮膚の免疫担当細胞として重要な樹状細胞に対して, メシマコブ含有多糖は IL-12 の生産を増すことにより免疫力を増強する。²⁴⁻²⁶⁾この様な研究報告から, メシマコブの経口投与では, 含有成分である多糖が, 宿主の免疫能を賦活させて発癌を抑制していると考えられる。

謝辞

本研究の一部は, 文部科学省 学術フロンティア推進事業

(平成14年度～平成18年度)によったことを記して謝意を表します。

引用文献

- 1) Doll R., Peto R., "The cause of cancer," Oxford Univ. Press Inc., N.Y. (1981).
- 2) Fujiki, H., Suganuma, M., Sugimura, T., *Environ. Carcinog. Revs. (J. Environ. Sci. Health.)*, **C7**, 1-51 (1989).
- 3) Akihisa T., Yasukawa K., "Studies in Natural Products Chemistry, Vol. 25, Bioactive Natural Products, Part F," ed. by Atta-ur-Rahman, Elsevier, Amsterdam, 2001, pp. 43-87.
- 4) Akihisa T., Yasukawa K., Tokuda H., "Studies in Natural Products Chemistry, Vol. 29, Bioactive Natural Products, Part J," ed. by Atta-ur-Rahman, Elsevier, Amsterdam, 2003, pp. 73-126.
- 5) Yasukawa K., Aoki T., Takido M., Ikekawa T., Saito H., Matsuzawa T., *Phytother. Res.*, **8**, 10-13 (1994).
- 6) Yasukawa K., Kanno H., Kaminaga T., Takido M., Kasahara Y., Kumaki K., *Phytother. Res.*, **10**, 367-369 (1996).
- 7) Kaminaga T., Yasukawa K., Takido M., Tai T., Nunoura Y., *Phytother. Res.*, **10**, 581-584 (1996).
- 8) Kaminaga T., Yasukawa K., Kanno H., Tai T., Nuboura Y., Takido M., *Oncology*, **53**, 382-385 (1996).
- 9) Nagatsu A., Itoh S., Tanaka R., Kato S., Haruna M., Kishimoto K., Hirayama H., Goda Y., Mizukami H., Ogihara Y., *Tetrahedron Lett.*, **45**, 5931-5933 (2004).
- 10) Song K.S., Cho S.M., Lee I.K., Kim H.M., Han S.B., Ko K.S., Yoo I.D., *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 2105-2108 (1995).
- 11) Suga T., Shiio T., Maeda Y.Y., Chihara G., *Cancer Res.*, **44**, 5132-5137 (1984).
- 12) Nakamura T., Matsugo S., Uzuka Y., Matsuo S., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**, 868-872 (2004).
- 13) Han B.-H., Lee C.-W., Jeon Y.-J., Hong N.-D., Yoo I.-D., Yang K.-H., Kim H.-M., *Immunopharmacology*, **41**, 157-164 (1999).
- 14) Takeuchi M., Fujiki H., Nitta K., *Jpn. J. Exp. Med.*, **56**, 131-134 (1986).
- 15) Yasukawa K., Takido M., Takeuchi M., Sato Y., Nitta K., Nakagawa S., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 774-776 (1990).
- 16) Yasukawa K., Yu S.-Y., Takido K., *J. Tradit. Med.*, **13**, 180-184 (1996).

- 17) Kim H.-M., Han S.-B., Oh G.-T., Kim Y.-H., Hong D.-H., Hong N.-D., Yoo I.-D., *Int. J. Immunopharmacol.*, **18**, 295–303 (1996).
- 18) Kim G.-Y., Park S.-K., Lee M.-K., Lee S.-H., Oh Y.-H., Kwak J.-Y., Yoon J.-K., Yoon S., Lee J.-D., Park Y.-M., *Int. Immunopharmacol.*, **3**, 1281–1292 (2003).
- 19) Kim G.-Y., Oh Y.-H., Park Y.-M., *BBRC*, **309**, 399–407 (2003).
- 20) Kim G.-Y., Choi G.-S., Lee S.-H., Park Y.-M., *J. Ethnopharmacol.*, **95**, 69–76 (2004).
- 21) Li G., Kim D.-H., Kim T.D., Park B.-J., Park H.-D., Park J.-I., Na M.-K., Kim H.-C., Hong N.-D., Lim K., Hwang B.-D., Yoon W.-D., *Cancer Lett.*, **216**, 175–181 (2004).
- 22) Kim G.-Y., Roh S.-I., Park S.-K., Ahn S.-C., Oh Y.-H., Lee J.-D., Park Y.-M., *Biol. Pharm. Bull.*, **26**, 1418–1423 (2003).
- 23) Suganuma M., Okabe S., Sueoka E., Komori A., Uda N., Isono K., Fujiki H., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **122**, 621–627 (1995).
- 24) Park S.-K., Kim G.-Y., Lim J.-K., Kwak J.-Y., Bae Y.S., Lee J.-D., Oh Y.-H., Ahn S.-C., Park Y.-M., *BBRC*, **312**, 449–458 (2003).
- 25) Kim G.-Y., Oh W.-K., Shin B.-C., Shin Y.-I., Park Y.-C., Ahn S.-C., Lee J.-D., Bae Y.-S., Kwak J.-Y., Park Y.-M., *FEBS Lett.*, **576**, 391–400 (2004).
- 26) Kim G.-Y., Han M.-G., Song Y.-S., Shin B.-C., Shin Y.-I., Lee H.-J., Moon D.-O., Lee C.-M., Kwak J.-Y., Bae Y.-S., Lee J.-D., Park Y.-M., *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 1656–1662 (2004).