

シイタケ菌糸体エキスの肝保護効果

八木 清仁*

[*Jpn J Cancer Chemother* 39(7): 1099-1102, July, 2012]

Liver Protective Effect of *Lentinula Edodes Mycelia* (LEM): Kiyohito Yagi (Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University)

Summary

The hot-water extracts of *Lentinula edodes mycelia* (LEM) contain carbohydrates, proteins, phenolic compounds, and lignin digest, which perform various physiological activities. LEM has hepatoprotective activities in animals with acute liver injury induced by concanavalin A or D-galactosamine. Moreover, LEM suppresses liver fibrosis and inflammation in mice with chronic liver injury induced by carbon tetrachloride. Vanillic acid and syringic acid contained in LEM also showed hepatoprotective activities in mice with acute and chronic liver injury, and low-molecular-weight lignin maintained the viability of primary cultured hepatocytes treated with carbon tetrachloride. LEM containing anti-oxidation and anti-inflammation activities might be used for alleviating side effects of chemotherapy and preventing the progression of liver cancer for patients with chronic hepatitis. **Key words:** *Lentinula edodes mycelia* (LEM), Hepatoprotective activity, Polyphenol

要旨 シイタケ菌糸体抽出物 (*Lentinula edodes mycelia*: LEM) は糖質、蛋白質、フェノール性化合物、リグニン分解物を含み、様々な生理作用を有している。LEMはコンカナバリンAやD-ガラクトサミン誘発実験の急性肝障害動物に対して肝保護効果を示した。また、四塩化炭素を長期投与したマウスに対しては肝線維化抑制および抗炎症作用を有していた。LEMに含まれるフェノール性化合物であるバニリン酸、シリンガ酸がLEMと同様に急性、慢性肝障害を抑制し、低分子量リグニンも肝細胞保護効果を示すことを明らかとした。LEMは抗酸化活性、抗炎症作用を有する有効成分が含まれ、薬物治療時の副作用軽減、持続的炎症から肝がんへの進行を抑制する効果が期待できる。

はじめに

「薬茸」として古来、珍重されてきたシイタケは健康食品として確固たる位置を占めており、このシイタケ子実体から抽出される多糖体レンチナンなどの有効成分が抗腫瘍作用、抗菌、抗ウイルス作用を示すことが見いだされている¹⁾。子実体とは異なる部位に糸状の菌糸体と呼ばれる組織が存在し、この部位に特徴的な有用成分が多く含まれ子実体形成に重要な役割を果たしている。このシイタケ菌糸体は固体培地を用いて培養が可能であり、その熱水抽出物中に様々な薬理作用を有する物質が含まれている。筆者らはこれまでシイタケ菌糸体抽出物 (*Lentinula edodes mycelia*: LEM) の肝臓に対する影響を検討し、肝保護作用を有することを見いだしたのでその一部を本総説で紹介する。

I. LEMとは

菌糸体は自然環境に影響されることなく、一定の環境下で培養することができ、LEMの工業的生産が可能となっている。培地の主成分はバガスと米糠であり、菌糸由来の酵素が固体培地を消化・分解し、それを栄養源として菌糸体が増殖する。培養後、培地ごと破碎して熱水抽出したものをLEM標品としている。成分分析の結果、LEMは糖質(約50%)、蛋白質(約25%)、抗酸化活性を有するフェノール性化合物(約3%)の他、リグニン分解物、微量の繊維質、脂質を含んでいることが示されている。以下にLEMの作用について記述する。

II. LEMの抗腫瘍効果

LEMはすでにかん患者に対して臨床応用がなされ、

* 大阪大学大学院薬学研究科・生体機能分子化学分野

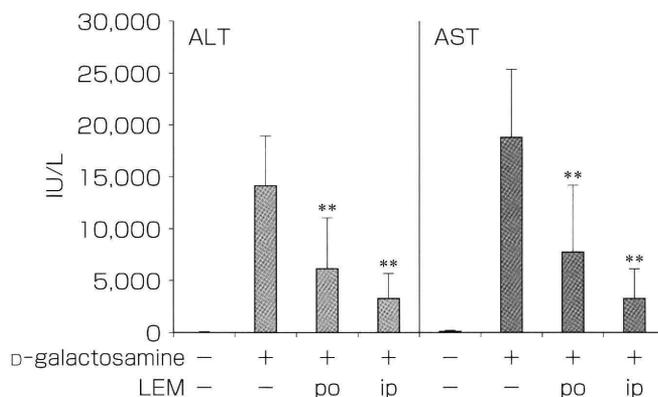


図1 GalN誘発肝障害ラットにおけるLEMの保護効果(文献⁶⁾より改変)
LEMを10日間、経口または腹腔内投与した後、GalNを投与し24時間後の肝障害マーカー血清ALT、ASTを測定した。(**:p<0.01)

有用性が報告されている。Okunoらは進行した消化器がんの患者に対して化学療法とともにLEMを経口投与すると、化学療法による副作用が軽減されることを報告している²⁾。Yamaguchiらは乳がん、消化器がん患者に対して化学療法とLEMを併用した場合、QOL、免疫機能が改善したことを示した³⁾。またマウスを用いた実験より、LEMの抗がん活性のメカニズムに関して解析が進んでいる。TanakaらはB16メラノーマ移植マウスをモデルとして、LEM経口投与の抗腫瘍、CTL誘導、Treg抑制効果について検討を行った。その結果、腫瘍サイズの減少がみられ、その効果はT細胞欠損マウスでは観察されないことからT細胞依存の効果であり、さらにがん特異的CTLの誘導、担がんに伴うTregによる免疫抑制の軽減効果を有することが示唆された⁴⁾。したがって、LEMはがん治療において有用な経口 biological response modifier (BRM) となり得ることが期待できる。また *in vitro* の検討において、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞の増殖因子に対する走化性の抑制、ヒト肺腺がん株化細胞の管腔形成抑制効果を有し⁵⁾、LEMの血管新生抑制による抗がん効果も期待されるところである。

III. LEMの急性肝障害モデルにおける保護効果

筆者らはLEMの肝臓に対する保護効果を種々のモデルを用いて観察してきた。まずD-ガラクトサミン(GalN)を投与する急性肝障害モデルを用いた検討を行った⁶⁾。GalNの肝障害メカニズムは明らかではないが、肝細胞内でUTPが消費されUDP-ガラクトサミンを経てUDP-グルコサミンに変換された結果、UTP、UDP-グルコースが減少し、核酸代謝、糖代謝などが阻害され障害が起こるとされている。LEMを10日間、Wister系ラットに経口または腹腔内投与した後GalNを投与し、LEMの肝保護効果を観察した。結果を図1に示す。GalN投与24時間後に採血を行い肝障害マーカー

であるALT、AST活性を測定した。その結果、GalN投与でALT、ASTの顕著な上昇がみられたが、経口あるいは腹腔内にLEMを投与した群では非投与群に比べ有意な肝障害マーカーの減少が観察された。GalN処理により肝臓で合成される血清蛋白量が障害により有意に減少するが、LEM投与群ではその低下は軽微であった。これらの結果より、GalNによる肝障害に対してLEMは保護効果を有することが示された。保護効果のメカニズムは明らかではないが、GalNは肝細胞内で過酸化水素を産生するなど酸化ストレスにより細胞死を惹起するという報告があること、LEMは非常に強いラジカル消去活性を有することから抗酸化活性が寄与している可能性が考えられる。LEMは抗酸化活性に寄与しているポリフェノールを重量比で約3%含有しており、LEMのエタノール可溶画分をメタノールで抽出したポリフェノールを豊富に含む画分はLEMに比べ初代培養肝細胞に対して強い保護効果を有することから、ポリフェノールがGalN誘発肝障害に対する保護効果をもたらしていると考えられる。

続いて、免疫系の活性化を介して肝障害を惹起するコンカナバリンA(Con A)を投与する肝障害モデルを用いた検討を行った⁷⁾。Con Aをマウスに静注すると活性化T細胞が肝臓に浸潤し、TNF- α 、interferon- γ (IFN- γ)、IL-6などの炎症性サイトカインが上昇し肝細胞死が誘発されることが知られている。Con Aをマウスに静脈内投与し24時間後に血液をサンプリングしたところ、血清中のALT、ASTの顕著な上昇、TNF- α 、IFN- γ 、IL-6産生が観察された。LEMを同時に腹腔内に投与することにより、上記肝障害マーカー、炎症性サイトカイン産生量が有意に低下した。図2に肝組織のヘマトキシリン・エオシン染色像を示す。Con A投与により肝組織が著しくダメージを受け、LEM投与が保護効果をもたらすことが示された。LEMの経口投与によっても同様

している。感染者は慢性的な炎症が持続し、肝線維化、肝硬変を経て高率に肝がんを引き起こしている。LEMを摂取することにより炎症を軽減すれば、肝線維化を防ぐことができ肝がんの発生を抑えることが可能になると期待している。

V. 有効成分の解析

上述したとおり LEM にはポリフェノールをはじめとして種々の有効成分が含まれており、どの物質が効果を発現しているのか不明である。効果をもたらす分子の特定を目的として LEM を分画しフェノール性化合物の解析を行った結果、主要な化合物としてバニリン酸とシリリング酸が同定された。そこで、両物質の肝保護効果に関して検討を行った。図 4 に化学構造式を示す。Con A を用いた急性肝障害モデルマウス、四塩化炭素を用いた慢性肝障害マウスに対するバニリン酸、シリリング酸の効果を検討した結果、LEM と同様に急性肝障害および肝線維化に対して保護効果が示された。両物質は強いラジカル消去活性を有しているため、四塩化炭素の酸化ストレスに対して抗酸化作用を発現したと考えられる。同じくフェノール性化合物であるカフェイン酸やクルクミンは免疫制御および抗炎症作用を有している¹⁰⁾。免疫活性化を介する Con A 誘発肝障害を抑制するメカニズムは明らかではないが、その機構としては TNF- α によって活性化される NF- κ B 依存の遺伝子発現をカフェイン酸やクルクミンが抑制するためと考えられている¹¹⁾。カフェイン酸、クルクミンは NF- κ B の SH 基をアルキル化することにより阻害することが示唆されており、バニリン酸、シリリング酸の O-メトキシ基がアルキル化に関与しているのかもしれない。

LEM は前述のとおり糖質を主体とする混合物でバニリン酸、シリリング酸含量がそれぞれ 378, 450 μ g/g と微量であることから、他の有効成分の存在を予想し分画を行った。その結果、平均分子量 2,753, リグニン 49%, 糖質 36% を含む分画にラット初代肝細胞に対する保護効果があることを見いだした。さらに低分子量リグニンは非常に高いスーパーオキシドディスムターゼ活性を有し、抗酸化活性を示すことが明らかとなった¹²⁾。したがって、ポリフェノールの他にこの低分子量リグニンが LEM の示す肝保護活性の有効成分であることが示唆された。今後、このリグニンの化学構造の決定、他の生理作用の解析が LEM の肝炎治療や薬物治療時の肝保護への応用に向けて必要と考えている。

おわりに

LEM は筆者らの検討により実験的肝障害モデル動物

に対して肝保護効果が示され、他の研究者により抗腫瘍効果が多数報告されてきた。HCV 感染者の持続的な炎症を経口投与により抑制し肝がんに行進する過程を阻止すること、薬物治療時の副作用を肝保護効果により制御することができれば非常に有益である。今後有効成分の特定、メカニズムの解析を重ねることにより、LEM の適用範囲をさらに拡大させることができると考えている。

文 献

- 1) Chihara G: Recent progress in immunopharmacology and therapeutic effects of polysaccharides. *Dev Biol Stand* **77**: 191-197, 1992.
- 2) Okuno K and Uno K: Efficacy of orally administered *Lentinula edodes* mycelia extract for advanced gastrointestinal cancer patients undergoing cancer chemotherapy: a pilot study. *Asian Pac J Cancer Prev* **12**(7): 1671-1674, 2011.
- 3) Yamaguchi Y, Miyahara E and Hihara J: Efficacy and safety of orally administered *Lentinula edodes* mycelia extract for patients undergoing cancer chemotherapy: a pilot study. *Am J Chin Med* **39**(3): 451-459, 2011.
- 4) Tanaka K, Ishikawa S, Matsui Y, et al: Oral ingestion of *Lentinula edodes* mycelia extract inhibits B16 melanoma growth via mitigation of regulatory T cell-mediated immunosuppression. *Cancer Sci* **102**(3): 516-521, 2011.
- 5) Matsui Y, Kawanishi T, Yamasaki H, et al: Inhibitory effect of *Lentinus edodes* mycelia on angiogenesis. *Biotherapy* **18**(6): 543-547, 2004.
- 6) Watanabe A, Kobayashi M, Tamesada M, et al: Protection against D-galactosamine-induced acute liver injury by oral administration of extracts from *Lentinus edodes* mycelia. *Biol Pharm Bull* **29**(8): 1651-1654, 2006.
- 7) Itoh A, Isoda K, Kondoh M, et al: Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on concanavalin A-induced liver injury. *Biol Pharm Bull* **32**(7): 1215-1219, 2009.
- 8) Itoh A, Isoda K, Kondoh M, et al: Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on CCl₄-induced liver injury. *Biol Pharm Bull* **33**(6): 983-987, 2010.
- 9) Akamatsu S, Watanabe A, Tamesada M, et al: Hepatoprotective effect of extracts from *Lentinus edodes* mycelia on dimethylnitrosoamine-induced liver injury. *Biol Pharm Bull* **27**(12): 1957-1960, 2004.
- 10) Marquez N, Sancho R, Macho A, et al: Caffeic acid phenethyl ester inhibits T-cell activation by targeting both nuclear factor of activated T-cells and NF- κ B transcription factors. *J Pharmacol Exp Ther* **308**(3): 993-1001, 2004.
- 11) Aggarwal S, Ichikawa H, Takada Y, et al: Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates expression of cell proliferation and antiapoptotic and metastatic gene products through suppression of I κ B α kinase and Akt activation. *Mol Pharmacol* **69**(1): 195-206, 2006.
- 12) Yoshioka Y, Kojima H, Tamura A, et al: Low-molecular-weight lignin-rich fraction in the extract of cultured *Lentinula edodes* mycelia attenuates carbon tetrachloride-induced toxicity in primary cultures of rat hepatocytes. *J Nat Med* **66**(1): 185-191, 2012.