

## 肥満型糖尿病モデル TSOD マウスにおける CYP の発現変化

○工藤敏之<sup>1</sup>、嶋田 努<sup>2</sup>、齋藤奈緒子<sup>1</sup>、鈴木 亘<sup>2</sup>、五十嵐信智<sup>1</sup>、伊藤清美<sup>1</sup>、油田正樹<sup>2</sup>、杉山 清<sup>1</sup>

<sup>1</sup>星薬科大学 薬理学教室、<sup>2</sup>武蔵野大学薬学部 生薬療法学教室

【目的】臨床において、主要な薬物代謝酵素であるチトクロム P450 (CYP) の発現が肥満や糖尿病により変化することが知られている。肥満型糖尿病モデル動物である TSOD マウスが漢方薬などの抗肥満効果の研究に用いられているが、この動物の薬物動態学的な特徴は明らかになっていない。本研究では、TSOD マウスと対照動物である TSNO マウスの肝臓における主要な CYP の発現を比較検討した。

【方法】1、3、7ヶ月齢の雄性 TSOD マウスおよび TSNO マウスを用いた。それぞれのマウスにおいて、体重の測定、X線CTによる脂肪重量の測定、採血、肝臓摘出を行った。採取した血液から血漿を分離し、グルコース、インスリン、総コレステロール、トリグリセリド、レプチンおよびアディポネクチンの濃度を測定した。肝臓からRNAを抽出し、real-time RT-PCR 法を用いて Cyp1a1、Cyp1a2、Cyp2c29、Cyp2c37、Cyp2d9、Cyp2e1、Cyp3a11、Cyp3a13、Cyp4a10 および Cyp4a14 の mRNA を定量した。さらに、7ヶ月齢の TSOD マウスおよび TSNO マウスの肝臓ミクロソーム画分における各 CYP 分子種のタンパク質発現量をウェスタンブロッティングにより測定した。

【結果・考察】体重、脂肪重量および各血液検査値を測定した結果、TSOD マウスの7ヶ月齢において、肥満や糖尿病に関連する病態が十分に進行しているものと考えられた。Real-time RT-PCR の結果、TSOD マウスの肝臓では TSNO マウスと比較して、検討した多くの CYP 分子種の発現が低下していた。ウェスタンブロッティングの結果から、TSOD マウスの肝臓における Cyp1a、Cyp2e および Cyp4a の発現量はタンパク質レベルでも TSNO マウスより有意に低く、また Cyp3a の発現量は有意に高いことが確認された。TSOD マウスにおいて、特異な CYP 発現変動が見られたことから、これらの CYP 分子種で代謝される薬物の体内動態が正常動物とは異なる可能性があり、漢方薬の評価や医薬品開発においてモデル動物を使用する際に、このような CYP の発現変動を考慮する必要があると考えられる。

## シイタケ菌糸体抽出物の経口投与によるマクロファージの活性化作用と活性成分の探索

○小嶋宏明<sup>1</sup>、中島怜美<sup>2</sup>、赤木淳二<sup>1</sup>、為定 誠<sup>1</sup>、亀井加恵子<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>小林製薬株式会社 中央研究所、<sup>2</sup>京都工芸繊維大学大学院 工芸科学研究科 応用生物学専攻

【目的】シイタケ菌糸体抽出物 (extract of cultured *Lentinula edodes* mycelia : L.E.M.) は、バガスと米糠からなる固形培地でシイタケ菌を培養し、発芽前に熱水抽出した乾燥粉末である。L.E.M.には抗腫瘍作用や免疫調節作用があり、それには免疫細胞の活性化が関与していることが報告されている。今回我々は、L.E.M.の免疫細胞に対する作用を解明するために、マクロファージを用いて、サイトカインの産生や食食能に及ぼす影響を検証した。また、これら作用に関与する成分を明らかにするため、L.E.M.の分画を行った。

【方法】マウスマクロファージ細胞株 (RAW264.7) に L.E.M. を添加して培養後、産生される腫瘍壊死因子 (TNF- $\alpha$ ) 量を ELISA により定量した。また、Wistar ラットから採取した腹腔マクロファージに L.E.M. を添加し、インターロイキン (IL)1 $\beta$  量を定量した。

次に Wistar ラットに、L.E.M. を7日間経口投与し、7日目に腹腔マクロファージを採取して光学顕微鏡下でラテックスビーズ食食能を評価した。L.E.M.の活性成分の探索は、RAW264.7に対する TNF- $\alpha$  産生量を指標に行った。L.E.M. を80%EtOH 沈澱後、イオン交換、ゲルろ過クロマトグラフィーで分画を行い、高い産生が認められた画分について、平均分子量測定、糖組成分析、メチル化分析、IR 分析、NMR 分析を行った。

【結果と考察】RAW264.7とラット腹腔マクロファージに L.E.M. を添加すると、これら細胞のサイトカインの産生が増加した。また、Wistar ラットに L.E.M. を経口投与することにより、腹腔マクロファージの食食能が亢進することが確認された。このことから L.E.M. は、マクロファージに対するサイトカイン産生の増加作用や食食能の亢進作用を有しており、経口摂取により免疫細胞を活性化して生体の免疫系活性化に作用することが示唆された。

また活性成分の探索では、RAW264.7の TNF- $\alpha$  産生の増加量を指標として L.E.M. を分画し、LEP1-IA2 画分を得た。この画分の分析を行った結果、平均分子量26万の  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) 分岐  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)glucan であることがわかった。これにより L.E.M. 中の  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) 分岐  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) glucan などの多糖体が、免疫細胞を活性化して生体の免疫系に作用している可能性が考えられた。