

# 担子菌由来物質による生活習慣病予防に関する研究

苔庵泰志\*, 西井孝文\*\*, 坂倉 元\*\*,  
久松 眞\*\*\*, 古市幸生\*\*\*

## Prevention of Life-Style Related Diseases by the Extract from Fruiting Bodies of Various Fungi

by Yasushi KOKEAN, Takafumi NISHII, Hajime SAKAKURA,  
Makoto HISAMATSU and Yukio FURUICHI

In the present study we have focused our attention on prevention for life-style related diseases of various fungi, Hatakeshimeji, Shiitake, Bunashimeji. Inhibitors of angiotensin converting enzyme (ACE) within Hatakeshimeji, were showed several peptides. Effect of inhibition for ACE activity on LD98-1 and LD99-12, Hatakeshimeji wild strain, were superior to standard strain, kameyama-1. Inhibition for ACE activity of Hatakeshimeji did not almost change by retort treatment for long time. On the other hand, this inhibitor of ACE activity decrease by fry treatment with cooking oil even for short time. Effect of some fungi diet on hepatic disorder and lipid metabolism in mouse was studied. Glutamic-pyruvic transaminase(GPT) activity of serum from the hepatic disorder mouse, decreased by Hatakeshimeji. Bunashimeji showed the effects of decrease on hepatic lipid contents.

Key word: life-style related disease, Hatakeshimeji, ACE, lipid metabolism

### 1. はじめに

担子菌類は真菌類に分類され、食用となる胞子嚢である子実体部分を、一般的に「きのこ」と呼んでいる。

これまでの研究で、きのこ類には様々な生理活性作用が知られており、生活習慣病予防にも効果が有ることが明らかとなってきた。三重県においても、南勢地区を中心として、ハタケシメジなど様々な種類のきのこが生産されており、生活習慣病予防に有効な作用を県内産きのこ類で明らかにすることにより、きのこ類の高付加価値化が図れる可能性が大きい。しかしながら、現在県内の生

産者では、きのこ栽培の最適化や、効率化に向けた取り組みは進めているものの、素材の持つ機能に関する取り組みはなされていない。

三重県では、全国に先駆けてハタケシメジ (*Lyophyllum decastes* Sing.) の人工栽培に成功し、県内の農家での栽培指導を行い、栽培普及に努めてきた。これまでの研究で、ハタケシメジには、抗腫瘍効果や血圧上昇抑制作用を始め様々な生理活性作用が認められている<sup>1)2)</sup>。そこで本研究では、県内産きのこを食材として簡便に生活習慣病予防を行い、県民の健康維持に寄与できる食品素材を提供するため、ハタケシメジを中心として、生活習慣病予防に関わる生理活性作用について詳細な検討を進めた。

- \* 工業研究部 生物食品グループ
- \*\* 林業研究部 研究グループ
- \*\*\* 三重大学 生物資源学部

### 2. 材料と実験方法

## 2. 1 原材料

ハタケシメジ，菌床栽培及び，原木栽培シイタケ子実体は科学技術振興センター林業研究部で栽培し，その他の子実体は市販のものを用いた．また，ハタケシメジ野生菌株はLDの連番とし，1998年に採取した株で有れば採取した順番にLD98-1，LD98-2のように命名した．

## 2. 2 方法

### 2. 2. 1 ハタケシメジ血圧上昇抑制物質の調製<sup>3,4)</sup>

ハタケシメジ子実体を凍結乾燥した後，粉碎機で粉末とした．凍結乾燥粉末10gを沸騰蒸留水300mlに加えて，10分間沸騰湯浴中で保持した．冷却後，アセトンを最終濃度75%となるように加え，高分子成分を沈殿除去した．遠心分離によって得られた上清は，ロータリーエバポレーターで濃縮し，血圧上昇抑制作用評価のための試料とした．

血圧上昇抑制作用の指標として，担子菌熱水抽出物を添加したときのアンジオテンシン変換酵素（ACE:angiotensin converting enzyme）阻害活性を評価した．ACE活性評価は，Cushmanらの方法<sup>5)</sup>に準じて行った．

### 2. 2. 2 ACE活性阻害物質の精製

ゲルろ過および逆相クロマトグラフィーにより，ハタケシメジ熱水抽出物に含まれる血圧上昇抑制物質の精製を試みた．ゲルろ過はSephadex LH20を用いて蒸留水にて分離した．逆相クロマトはODSカラムを用い，トリフルオロ酢酸（TFA）0.05%を含む条件で，水とアセトニトリルの直線濃度勾配によって分離した．

### 2. 2. 3 菌株別血圧上昇抑制効果の検討

ハタケシメジ保存菌株14株及び，原木栽培シイタケ，菌床栽培シイタケ，ヒラタケ，ブナシメジ子実体をミルにて粉碎後，熱水抽出，濃縮し，血圧上昇抑制作用の評価に用いた<sup>1)</sup>．

### 2. 2. 4 調理加工による血圧上昇抑制効果の変化

食用油による揚げ処理，および高温高压（120℃，1kg/cm<sup>2</sup>）によるレトルト処理が，担子菌の持つ血圧上昇抑制作用に対してどのように影響す

るかを検討した．

### 2. 2. 5 マウスを用いた実験的肝機能障害に及ぼす担子菌の影響

四塩化炭素によって，人工的に肝機能障害を誘引したマウスに対して，ハタケシメジ及び原木栽培シイタケ粉末を投与したときの血中GOT，GPT，LDH，およびALP活性がどのように影響を受けるかを検討した．

実験動物は，6週令のICR雄性マウスを用い，コントロールにセルロース粉末，試験群は担子菌粉末15%を添加した飼料を与え，それぞれ2群ずつ，温度20±2℃，12時間の明暗周期で，飼料及び水は自由摂取で行った．

### 2. 2. 6 マウス脂質代謝に及ぼす担子菌の影響

担子菌を摂取することで，マウスの血中および肝臓脂質成分がどのように影響を受けるかを3種類の担子菌（ハタケシメジ，原木栽培シイタケ，ブナシメジ）を用いて検討した．

実験動物は，4週令のddy雄性マウスを用い，1週間の予備飼育の後，実験試料に切り替えた．実験飼料は，ラード，コレステロールを含む高コレステロール食とし，コントロール食にセルロース粉末，試験群に担子菌粉末を15%添加した飼料を与えて，3週間飼育した．飼育室は温度20±2℃，12時間の明暗周期で，飼料及び水は自由摂取とした．

## 3. 結果と考察

### 3. 1 ACE活性阻害物質の精製

図1に，ゲルろ過によるハタケシメジ熱水抽出物の溶出パターンを，表1に各溶出ピークのACE阻害活性を示した．

試料は，主要な9つのピークに分かれ，ACE阻害活性は各ピークに分散していた．ACE阻害活性はF-2がIC<sub>50</sub>値で1.7となり最も強く，次いでF-5が2.4であった．そこで，F-2のピークについて，分画した試験管ごとにF2-1～F2-6として詳細に分析した．この結果，F2-4はIC<sub>50</sub>値が0.38で最も強い阻害活性を示した．そこで，ODSカラムを用いた逆相クロマトグラフィーにより，さらに精製を進

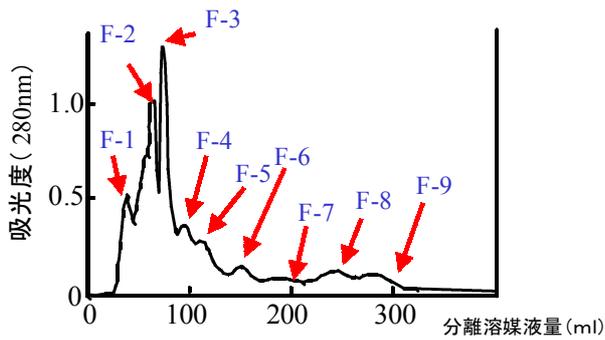


図1 Sephadex LH20によるハタケシメジ熱水抽出物のゲルろ過

表1 ゲルろ過ピークのACE阻害活性

ピーク番号	IC <sub>50</sub> (mg/ml)	タンパク質量(mg)/ピーク
F-1	2.5	5.9
F-2	1.7	6.5
-----		
F2-1	0.78	1.2
F2-2	1.0	1.1
F2-3	0.76	1.0
F2-4	0.38	1.0
F2-5	0.60	1.0
F2-6	1.9	0.85
-----		
F-3	6.2	7.5
F-4	3.4	3.3
F-5	2.4	3.0
F-6	不検出	1.2
F-7	不検出	0.84
F-8	不検出	1.7
F-9	不検出	0.85

めた(図2)。精製の結果、F2-4についても複数成分の混合物であることが明らかとなった。このうち、6番目のピークについては、プロテシキセンサーでの分析の結果、PEEの配列からなるペプチドであるということが判明した。

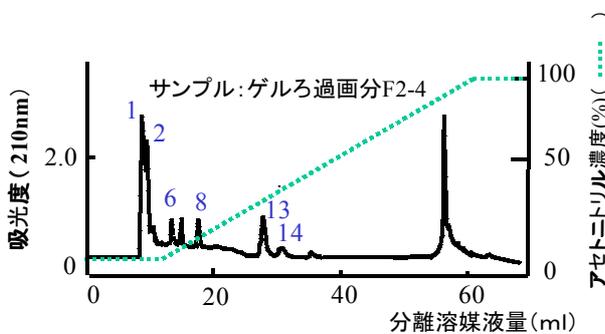


図2 逆相クロマトグラフィーによるACE活性阻害物質の精製

### 3.2 菌株別血圧上昇抑制効果の検討

菌株別担子菌のACE阻害活性を表2に示した。LD98-1, LD99-12はビン栽培の時にそれぞれIC<sub>50</sub>値が0.38, 0.61となり、標準株として用いた亀山1号よりも優れた値を示した。また、ヒラタケやエノキタケ、シイタケでは、良好な結果は得られなかった。

担子菌は、野生の菌株を人工栽培に供しても栽培方法によっては、子実体をうまく形成しないこ

表2 菌株別ACE阻害活性

担子菌の種類・菌株	(IC <sub>50</sub> :mg/ml)	
ハタケシメジ	ビン栽培	菌床埋込栽培
-----		
亀山1号		
(1回目収穫)	1.9	0.61
(2回目収穫)	—	1.5
LD 98-1	0.38	0.92
LD 99-12	0.61	1.8
LD 96-2	1.1	—
LD 96-3	1.5	—
LD 96-4	1.5	—
LD 96-5	1.3	—
LD 96-6	—	0.93
LD 96-7	1.7	—
LD 96-8	—	1.2
LD 96-10	2.4	—
LD 97-1	—	1.9
LD 97-2	1.9	—
LD 98-4	1.1	—
LD 99-4	—	1.6
-----		
ヒラタケ	2.2	—
エノキタケ	>10	—
-----		
シイタケ	原木栽培	菌床栽培
	3.5	2.8

ともあるため、子実体を形成した菌株についてのみACE阻害活性の評価試験に供した。

### 3.3 調理・加工によるACE活性阻害作用の変化

レトルト処理によるACE阻害活性を表3に示した。レトルト処理時間を長くすると固形分のACE阻害活性は弱くなる傾向を示したが、エキス分については、ほとんど変化が認められなかった。しかしながら、レトルト処理による顕著なACE阻害活性の変化は認められなかった。

食用油での揚げ処理によるACE阻害活性の変化を表4に示した。同一乾物重量当たりでは、揚げ

処理によってACE阻害活性が弱くなることが明らかとなった。このことから、油処理によって、担子菌が含むペプチド等の有効成分が分解され、ACE阻害活性が低下したと考えられる。

表3 レトルト処理によるACE阻害活性

(IC <sub>50</sub> :mg/ml)		
処理時間	エキス分	固形物
10分	2.5	1.0
20分	2.3	3.0
処理前:0.98		

表4 揚げ処理がACE阻害活性に及ぼす影響

(乾物濃度:35mg/ml)		
処理時間(分)	タンパク濃度(mg/ml)	阻害率(%)
処理前	10	93.4
0.5	4.5	63.4
1	5.0	69.0
2	5.2	63.8
3	5.2	72.0

### 3.4 マウスを用いた実験的肝機能障害に及ぼす担子菌の影響

人工肝機能障害誘発マウスの、血中に含まれる酵素活性(LDH:lactate dehydrogenase, ALP:alkaline phosphatase, GOT:glutamic-oxaloacetic transferase, GPT:glutamic-pyruvic transaminase)を、正常マウスと比較した結果を図3に示した。CCl<sub>4</sub>-が正常マウス, CCl<sub>4</sub>+が肝機能障害マウスの結果である。これらの酵素活性は肝機能障害が起こると上昇することが知られている。統計的処理はDuncanの多重比較法に従った。

LDH活性は、原木栽培シイタケ群がセルロース群に比べてやや低くなったが、有意な差は認められなかった。ALP活性は四塩化炭素を投与した3群間で有意差は認められず、原木栽培シイタケ群が他の2群と比べてやや低くなった。

GOT活性は、各群でのばらつきが大きく3群において有意差は認められなかった。

GPT活性は、ハタケシメジ群がセルロース群に比べて有意に低くなった。GPTの上昇はGOTと異な

り肝機能障害時に特異的であるため、この結果はハタケシメジが実験的肝機能障害を軽減する作用を持っていることを示唆している。

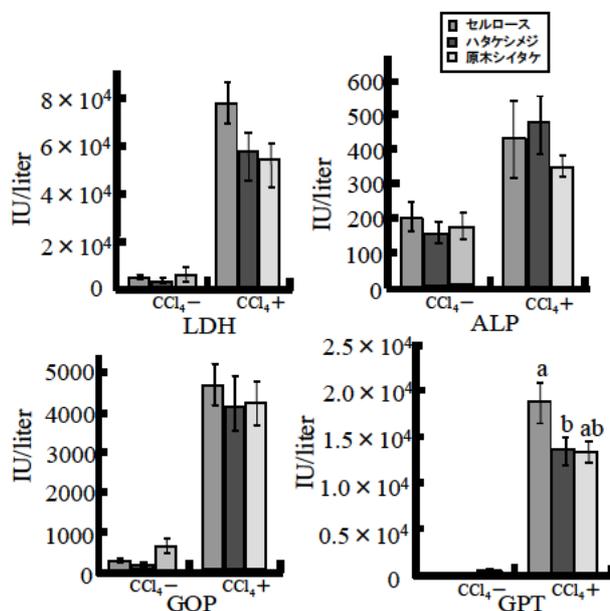


図3 人工肝機能障害誘発マウスの血中酵素活性値は平均値±標準誤差(n=6~7)で示した。a, bの値は3群間での有意差を示している(p<0.05)

LDH:lactate dehydrogenase

ALP:alkaline phosphatase

GOT:glutamic-oxaloacetic transferase

GPT:glutamic-pyruvic transaminase

### 3.5 マウス脂質代謝に及ぼす担子菌の影響

マウス肝臓及び血中の脂質含量を図4に示した。上段が血中, 下段が肝臓の脂質含量である。

血中では、総コレステロールおよびリン脂質は、原木シイタケ群で有意に低くなった。これは、シイタケに含まれるエリタデニンによるものと考えられる。トリグリセライドにおいては、4群間に有意差は認められなかった。

肝臓中では、総脂質、総コレステロール、リン脂質およびトリグリセライドはブナシメジ群で有意に低くなり、著しい低下が認められた。ハタケシメジ群は有意な差は認められなかった。原木シイタケ群は、トリグリセライドが有意に上昇した。これは、血清において総コレステロールおよびリ

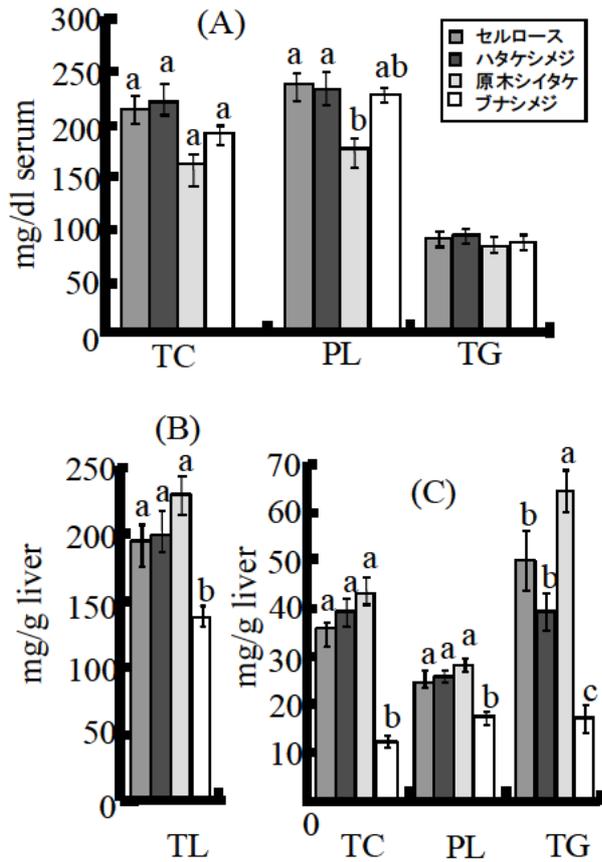


図4 血清および肝臓脂質量  
(A)血清脂質量, (B)(C)肝臓脂質量  
値は平均値±標準誤差(n=12)で示した  
a, b, cの値は4群間での有意差を示している  
( $p < 0.05$ )

TL:total lipid, TC:total cholesterol, PL:  
phospholipids, TG:triacylglycerols

ン脂質が低下していることから、脂質が肝臓に蓄積している可能性を示している。

#### 4. まとめ

きのこが有する、生活習慣病予防効果等の生理機能について明らかにするための検討を行った。その結果以下のことが明らかとなった。

(1) ハタケシメジに含まれる血圧上昇抑制物質は、熱水抽出物中に複数含まれており、その主な

成分はペプチドで、今回その一部の精製を行った。

(2) ハタケシメジ野生菌株14株から血圧上昇抑制作用の強い菌株のスクリーニングを行い、LD98-1およびLD99-12は、これまで県内で栽培普及してきた亀山1号より優れていることがわかった。

(3) ハタケシメジの持つ血圧上昇抑制作用は、レトルト処理では処理前と処理後に大きな変化が認められなかった。しかしながら、油による揚げ処理では、その作用は短時間でも低下した。

(4) 四塩化炭素を用いて人工的に肝機能障害を誘発したマウスの血中GPT活性は、ハタケシメジ投与により有意に低下した。

(5) 高コレステロール食を与えたマウスに対する検討では、原木栽培シイタケが血清コレステロールを低下させ、肝臓コレステロールを上昇させる作用を示した。また、ブナシメジには、肝臓コレステロールを著しく低下させる作用があることが示唆された。一方で、ハタケシメジには有意な効果は認められなかった。

#### 参考文献

- 1) 苔庵泰志ほか：“ハタケシメジの投与が高血圧自然発症ラットの血圧に及ぼす影響”。日本食品科学工学会誌, 49, 126 (2002)
- 2) 卯川裕一ほか：“ハタケシメジのアンジオテンシンI変換酵素阻害活性および抗腫瘍活性”。日本食品科学工学会誌, 48, 58 (2001)
- 3) 津田真由美ほか：“北海道産キノコのアンジオテンシン変換酵素阻害活性”。北海道林産試験場報, 14, 10 (2000)
- 4) Ohtsuru, M. et al.：“Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from pepsin digest of *Mitake*(*Grifola frondosa*)”. Food Sci. Res., 6, 9 (2000)
- 5) Cushmann, D.W. et al.：“Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung”. Biochem. Pharmacol., 20, 1637 (1971)