

# マウスならびにヒト健常人における *Agaricus brasiliensis* KA21 の免疫修飾活性

劉影<sup>1)</sup> 福渡靖<sup>1)</sup> 奥村康<sup>2)</sup> 竹田和由<sup>2)</sup>, 石橋健一<sup>3)</sup>, 古川麻衣<sup>3)</sup>, 大野尚仁<sup>3)</sup> 森和<sup>4)</sup> 高明<sup>4)</sup> 元井益郎<sup>5)</sup>

所属

- 1) 未病医学研究センター
- 2) 順天堂大学医学部免疫学講座
- 3) 東京薬科大学薬学部免疫学教室
- 4) 鈴鹿医療科学大学鍼灸学部
- 5) 東栄新薬株式会社

## 概要

自然露地栽培 *Agaricus basiliensis* KA21 (*Agaricus blazei*) 子実体のマウスモデルおよびヒトボランティアにおける免疫修飾活性を検討した。抗腫瘍, 白血球増加, 肝障害緩和, エンドトキシンショック緩和効果がマウスにおいてみられた。ヒトにおいては, 体脂肪率, 内臓脂肪率, 血中コレステロールレベル, 血糖レベルが減少し, NK 細胞活性が上昇した。よって, *Agaricus basiliensis* 子実体は健康促進食品として有用であることが示唆された。

代替医療は、「現代西洋医学領域において、科学的未検証および臨床未応用の医学・医療体系の総称」(日本補完代替医療学会)と定義されている。代替医療の範囲は広く、世界の伝統医学・民間療法をはじめ、保険適用外の新治療法をも含んでいる。人口比率からみると現代西洋医学を利用している人は意外に少なく、世界保健機構(WHO)は世界の健康管理業務の65%から80%を「伝統的医療」と分類している。「未病」は健常人と病人の境界である臨床検査データを持つ半健康人であることを意味する言葉として最近確立された。未病人口への食習慣についての教育は公衆衛生の維持に重要である。

近年、日本においても代替医療を利用する人が増加しつつあり、アミノ酸、脂質、糖質、植物、海藻、昆虫、細菌、酵母、キノコなどの健康食品が主要なものとして挙げられる。有名な健康食品として、シイタケ、霊芝、マイタケなどがあるが、最近注目されているものの一つに *Agaricus brasiliensis* (別名: *Agaricus blazei*) が挙げられる。*A. blazei* には、肥満・高血圧・糖尿病などの生活習慣病の改善効果、抗炎症作用、抗腫瘍効果、発癌抑制作用、免疫賦活作用などがあると報告されている。しかしながら、それらは多くの動物検討報告かごく少ない臨床検討報告である。

キノコの多くは *macrofungi* と呼ばれ、高等微生物、担子菌に分類される。担子菌は菌糸、孢子、子実体など様々な形態を生活環境の中に有する高等微生物である担子菌を食品に利用するとき、子実体のみならず菌糸体も流通している。生産の安定性を考えると菌糸体にメリットがあるが、成分は子実体と菌糸体で著しく異なる。さらに子実体についても、天然に発生したものを野山で収穫する最も原始的なものから、自然露地栽培、ハウス栽培と様々な形態がある。

本研究で使用した *A. brasiliensis* KA21 はブラジルにおいて自然露地栽培された子実体である。子実体はそれらの酵素活性を維持するため、60度以下の低温度によって通風機によって乾燥された。我々は最近、子実体多糖類の構造と抗腫瘍活性を検討し、活性には高分岐 1,3-β-glucan が重要な役割を担っていることが明らかとなった。また、冷水、熱水抽出物(AgCWE と AgHWE)を調製し、マウス糖尿病モデル C57Bl Ksj-db/db で検討を行い、AgCWE がこのモデルに対し強い薬理

学的作用を見せることが見出された。これらの事実は、冷水抽出物と熱水抽出物の薬理作用が異なることを強く示唆している。また、冷水抽出物にポリフェノールオキシダーゼとペルオキシダーゼなどの酵素を含んでいることを示した。表1に一般的な成分を示す。多量のたんぱく質、食物繊維を含む。ビタミンについては、多量の VB1, VB2, VB6, ナイアシン, パントテン酸, 葉酸, ビオチン, ビタミン D を含む。ミネラルは、多量の鉄, カリウム, リン, マグネシウム, 亜鉛, 銅を、そしてその他としてマンガン, セレンを含有している。また、太陽光の下で栽培したことにより高いビタミン D を含有するものである。

**Table 1. Composition of *A. brasiliensis* KA21**

Energy	288.00 kcal
Protein	38.50 g
Fat	2.60 g
Carbohydrate	27.70 g
β-glucan	12.4 g
Fiber	20.60 g
Sodium	8.40 mg
Calcium	22.50 mg
Iron	10.10 mg
Potassium	2920.00 mg
Phosphorus	952.00 mg
Magnesium	96.50 mg
Zinc	7.87 mg
Copper	7.67 mg
Manganese	0.825 mg
Iodine	0
Selenium	88.00 μg
Arsenicum	0.48 ppm
Cadmium	2.01 ppm
Plumbum	0.13 ppm
Hydrargyrum	0.18 ppm
Total chromium	0 μg
Vitamin in A (total caronene)	0
Vitamin B (total caronene)	
Vitamin B1 (Thiamin)	0.63 mg
Vitamin B2 (Riboflavin)	3.04 mg
Vitamin B6	0.54 mg
Vitamin B12	0 μg
Niacin	33.50 mg
Pantothenic acid	22.90 mg
Folic acid	230.00 μg
Biotin	123.00 μg
Total vitamin C (Total c acid)	0 mg
Vitamin D	56.7 μg
Vitamin E (Total tocopherol)	0
Vitamin K1 (oquinone)	0
Agaritine	15.3 ppm

*Note:* In 100 g dry weight, measured by Japan Food Research laboratories.

Agaritine was measured by MASIS laboratories by HPLC method.

国民に対する食品安全性の達成、維持のために、食品に関連した法律は、厳密にコントロールされてきている。最近、国立がんセンター東病院の医師らは、*A.blazei* 抽出物の服用による重篤な肝障害 3 例を報告している。彼らは同等検閲臨床試験により、*A.blazei* 抽出物を含んだ多くの代替医療を厳格にそして科学的にデザインされた評価する必要があることを述べている。ごく最近、実験動物における遺伝毒性誘発から、*A. blazei* 由来の健康食品が撤退した。厚生労働省は、ただ 1 製品のケースであり、その分子メカニズムは調査中であると報告した。また、他の関連製品がそのような毒性を示さなかったことも同時に報告された。*Agaritin* は *Agaricus bisporus* などで、よく知られている *agaricaceae* の毒性代謝産物であり、*agaritin* 量と毒性の関係は注目すべきである。ともかく、*macrofungi* 由来製品の安全性と同様に機能、特に *agaricaceae* など可能な限り綿密に検討されなければならない。

従って、*A.blazei* を含む代替医療を安全に効果的に利用するにあたって、様々は情報を収集し選択することが重要であり、相補・代替医療利用者に選択する余地を与えるためにも、その効果を科学的に実証することが大切である。そこで、基礎的研究では、正常マウス、腫瘍モデル動物、薬剤誘発モデル動物を対象とし、乾燥した *A. blazei* (King・*Agaricus*21 菌を菌株としたブラジル産露地栽培アガリクス)の抽出エキスを作成し、その経口投与による作用を様々な評価系で検討した。臨床的研究では、*A. blazei*(上記と同様のアガリクスの錠剤を使用)投与前後の体重・BMI・体脂肪率・内臓脂肪値・血液・生化学的検査(総蛋白・血糖値・コレステロール値・中性脂肪値・GOT・GPT・ $\gamma$ -GTP 値)、免疫機能に及ぼす効果について検討し、さらには長期投与による安全性臨床試験を実施した。

## 方法

### ***A. brasiliensis* 子実体:**

King・Agaricus 21 菌(独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに登録済み, 受託番号;FERM P-17695)を菌株として使用し, ブラジル・スザーノ地方で生産された自然露地栽培子実体を収穫し, 60 度で低温乾燥したものを使用した.

### **成分分析:**

Agaritin 以外の成分は, 日本科学技術庁, 資源調査会の推薦する標準プロトコルを使い, 日本食品分析センターにて, 測定, 解析された. Agaritin 濃度は MASIS 社によって HPLC/MS/MS によって測定された.

### ***A.blazei* 熱水抽出物(AgHWE)、冷水抽出物(AgCWE)の調製:**

KA21(それぞれ 100g)を粉碎し, 生理食塩水(大塚製薬)に 0.1g/mL で懸濁し, オートクレーブ(120°C, 20min)処理または冷水抽出(4°C, 1day)を行い遠心分離後上清を集め, AgHWE 並びに AgCWE を調製した.

### **マウスへの経口投与:**

*A.blazei* の熱水抽出物(AgHWE), 冷水抽出物(CWE)を 2 週間経口投与し, 細胞数および細胞ポピュレーションが変化するかどうかを検討した。

#### 腫瘍モデルマウス:

ICRmiceにS-180( $1 \times 10^6$ /mouse)をday0に鼠経部にs.c.投与し, AgHWE, CWEを35日間連日p.o.投与した. スタンダード $\beta$ -glucan, sonifilan (SPG)はday7, 9, 11にi.p.投与した. 35日後に屠殺し, 固形癌の重量を測定した.

#### 刺激マウスでの炎症性サイトカイン産生:

Balb/c マウスをスタンダードな $\beta$ -glucan, *Sparassis crispa* 由来 SCG を day0 に1次刺激として ( $200 \mu$ g/mouse)を i.p.投与し, 同日から AgHWE、CWE を1週間経口投与した. 1週間後 LPS( $10 \mu$ g/mouse)を i.v.投与し, LPS 投与 90 分後に血清を回収し, ELISA 法により血清中の TNF- $\alpha$  および IL-6産生量を測定した.

#### コンカナバリン A (ConA) 誘発肝障害モデルマウス:

AgHWE または AgCWE を 7 日間経口投与した. 最終投与後, 肝障害を誘発するため ConA を静脈内投与した. ConA 投与後 3 時間後の血清 IL-6, 24 時間後の GOT, GPT を測定した.

#### ヒトでの臨床研究:

研究対象は、明らかな基礎疾患がなく、医薬品を服用していないボランティア 31 名である. 試験参加者に対して、インフォームドコンセントを行い、書面にて試験内容を確認し、検査データの利用について承諾を得た. 対象群は、*A. blazei* の通常量服用群 20 名 (対象群1, 対象群 2) と 3 倍量服用群(安全性臨床試験群)11 名 (対象群 1) に層別した.

#### 対象群1

2004年5月31日～11月26日の6ヶ月間、安全性臨床試験群11名(年齢 $43.6 \pm 12.6$ , 男6名, 女5名)に*A. blazei*の通常服用の3倍量である1日30粒(3回に分けて, それぞれ錠剤には300mgの*A. brasiliensis*を含んでいる)を6ヶ月間服用させ, 自覚的体調変化, 肝機能(GOT・GPT・ $\gamma$ -GTP), 腎機能(BUN, クレアチニン), 栄養状態(総蛋白)の測定, 分析を行った.

#### 対象群2

2005年4月12日～7月8日の3ヶ月間、通常量服用群12名(年齢 $45.3 \pm 8.1$ , 男9名, 女3名)に*A. blazei*錠剤を1日10粒(2回に分けて)服用させ, 体重・BMI・体脂肪率・内臓脂肪値・血液生化学的検査(総蛋白・血糖値・コレステロール値・中性脂肪値・GOT・GPT・ $\gamma$ -GTP値)を測定した.

#### 対象群3

2005年5～8月の3ヶ月間、通常量服用群8名(年齢 $22.3 \pm 0.5$ , 男6名, 女2名)の免疫機能(NK細胞数, NK細胞活性)を測定した. 免疫機能の測定方法は, 二重盲検方式で被験者8名を*A. blazei*錠剤飲用群とプラセボ飲用群に分け, 7日間試験を1日10粒(2回に分けて)飲用後, 末梢血中のNK細胞数およびNK活性を測定した. 次に2ヶ月の期間を置き, 7日間飲用試験を逆にして同様の試験(クロスオーバー方式)を行った. 測定にあたって, 末梢血中の細胞分画の解析を行い, CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>の単核球をNK細胞とした. NK活性は, 標的細胞としてK562を用いて, 適法に従い, 51Crを用いた4時間 assay で Effector/Target ratio (E/T)=20 および 10 (単核球とK562の混合比が20または10)で測定した.

#### 統計処理:

有意差検定は一標本 t 検定 (paired t-test) で評価した.  $P < 0.05$  を有意とみなした.



## 結果

### [1]安全性評価に対する *A. brasiliensis* KA21 の化学分析

動物およびヒトにおける検討を始める前に、化学的組成、栄養素を Table 1 に示した。最近、毒性化合物である Agaricacease “Agaritrine”がラットに腫瘍促進作用を示したことより注目を浴びている。*A. brasiliensis* KA21 の Agaritrine 量を測定したところ、15.3ppmと低値であった。ヒ素、カドニウム、鉛、水銀などの重金属は検出限度より低かった。300 種の農薬についても検討したが、検出できなかった。(data not shown)。

*A. brasiliensis* KA21 の $\beta$ -glucan 含量は 12.4g/100g であることが日本食品分析センターにて測定された。我々はすでに KA21 の多糖画分の構造について詳細に解析している。免疫修飾作用を示す $\beta$ -グルカンの主要な構造は高分岐 $\beta$ -1,3 グルカン断片を伴った $\beta$ -1,6 グルカンである。

ビタミン D は macrofungi のよく知られているビタミンであり、KA21 は 56.7 $\mu$ g/100g 含んでいる。同一の株の室内(ハウス)栽培の子実体ではビタミンD含量は検出できなかった。(data not shown)。ビタミン D 濃度は太陽光暴露に依存していることがよく知られている。KA21 のビタミン D は太陽光の下での露地栽培条件をよく反映している。

これらのデータより、*A. brasiliensis* KA21 は動物、ヒト研究において、化学的、分析的に安全であることが示された。

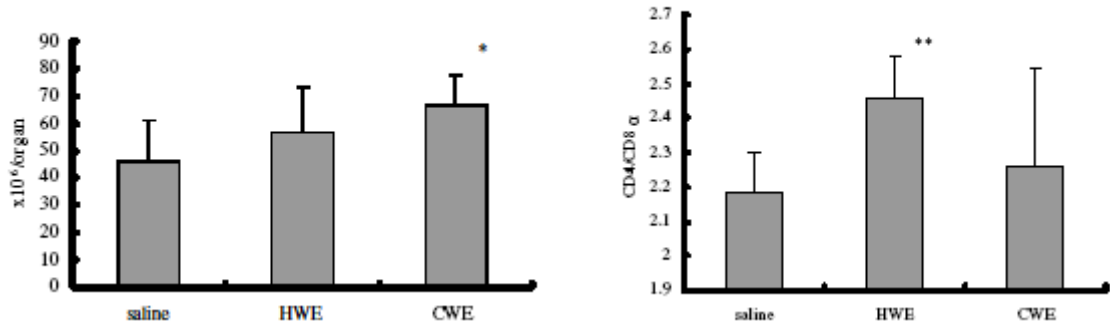
### [2]実験動物におけるパラメーターと効果

#### (1)正常マウスにおける効果

正常マウス(C3H/HeN)に *A. blazei* の熱抽出物(AgHWE)、冷水抽出物(AgCWE)を 20mg/mouse の用量で2週間経口投与したところ、細胞数において胸腺で変化がなかったが(data not shown)、脾臓は CWE 投与群において増加した。(Figure 1)

また細胞を CD4/CD8  $\alpha$ ,  $\alpha$   $\beta$  /  $\gamma$   $\delta$ , CD3/B220 で2重染色し、フローサイトメーターで測定し、各

比率を計算したところ、胸腺では顕著な差は見られなかったが (data not shown), 脾臓において CD4+ の比率が AgHWE 投与群において有意に増加した。(Figure 1)



(figure1)

## (2) 腫瘍モデル動物における AgCWE, AgHWE 経口投与の効果

S-180 固形腫瘍における *A. brasiliensis* の抗腫瘍効果を検討した。35 日間の AgCWE, AgHWE の経口投与により、腫瘍成長が抑制された。(Table 2)

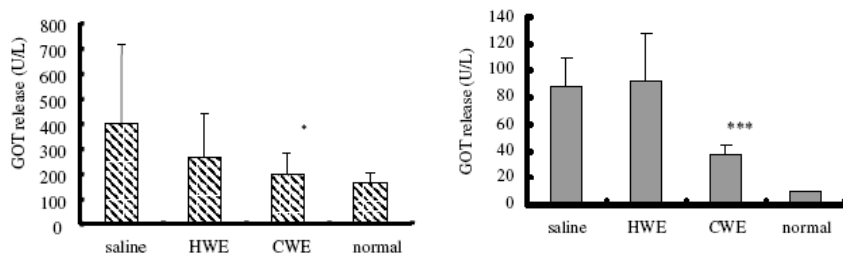
**Table 2.** Antitumor effect of *A. brasiliensis* extracts on solid form of Sarcoma 180 in ICR mice

Name	Dose (mg)	Times	Route	CR/n	Tumor weight mean/SD (g)	% Inhibition	t-test
Control				0/12	8.6 ± 4.3	0.0	
SPG	0.1	3	i.p.	7/11	0.4 ± 1.1	95	<0.001
Control				0/10	15.0 ± 6.5	0	
AgCWE	2	35	p.o.	0/10	9.6 ± 6.5	36	<0.05
AgHWE	2	35	p.o.	0/10	7.9 ± 2.5	47	<0.01

Note: Dose, per mouse; times, day 7, 9, 11; CR/n, Number of tumor free mice/total mouse. SPG, Standard β-glucan as positive control.

### (3) コンカナバリン A 誘発肝障害に対する AgCWE, AgHWE 経口投与による保護作用

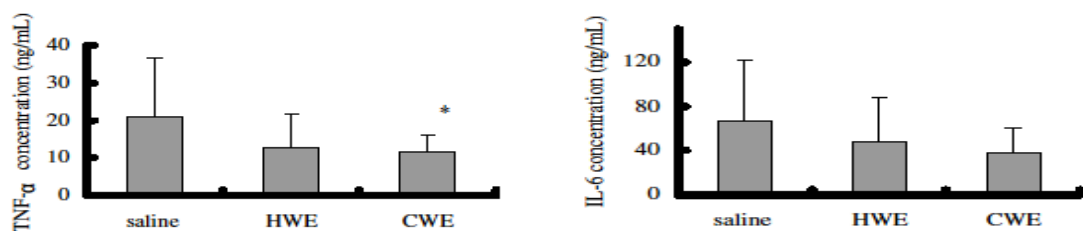
植物レクチンである ConAをマウスに腹腔内投与すると、急性肝障害を起こすことができる。AgCWE ならびに AgHWE をあらかじめ経口投与し、ConA による肝障害を惹起した。また肝臓組織障害の指標となる GOT・GPT 値が冷水ならびに熱水抽出物前投与によって低下する傾向にあることがわかった。冷水抽出物前投与群では有意に GOT の低下した。(Figure 2) 複数の投与形態、複数の系統のマウスを用いて実施したが、いずれの場合も低下傾向を示した。これらの結果から、本研究で使用した *A.blazei* にはマウス肝障害保護作用があることがわかった。



(figure 2)

### (4) LPS 誘発多臓器不全に対する *A. brasiliensis* 経口投与の保護作用

重症感染において多臓器不全を誘発する細菌内毒素LPS投与によるサイトカイン産生を指標に、冷水ならびに熱水抽出物の肝保護作用を検討した。LPS投与によって産生されるTNFならびにIL-6は、冷水抽出物前投与群では有意に低下しており、また熱水抽出物の前投与で低値を示した。(Figure 3) *A.brasiliensis* は臓器保護におけるサイトカイン産生レベルをコントロールすることが示された。



(figure 3)

### [3] 臨床検討

#### (1) *A. brasiliensis* の安全性

健常人 13 名に King・Agaricus 21 菌を菌株としたブラジル産自然露地栽培 *A. brasiliensis* 錠剤を通常量, 3 ヶ月間摂取させた. 摂取前, 摂取後に体重・腹囲・BMI・体脂肪率・内臓脂肪値を測定し, 採血を行い, 血液生化学的検査(総蛋白・血糖値・コレステロール値・中性脂肪値・GOT・GPT・ $\gamma$ -GTP 値)を測定した. 体重, 腹囲, BMI, 体脂肪率の有意な変化は見られなかった. ほとんどが基準値の範囲で変化し, 大きな変化は観察されなかった.

さらに *A. brasiliensis* KA21 の安全性を検討するため, 3 倍量長期(6 ヶ月)11 名摂取させた. 摂取前後の問診による自覚症状, 採血による血液生化学検査, 肝機能検査, 腎機能検査をすることによりさらに詳細に解析した(Table 3). 三倍量を長期に摂取した場合においても, 肝機能検査値(GOT, GPT,  $\gamma$ -GTP)は摂取前後で有意な変化はなかった. また, 尿素窒素, クレアチニン値は正常値の範囲であり, 腎機能にも影響を与えないことが示された. 特別な有事事象は認められなかった.

**Table 3. Safety of *A. brasiliensis* KA21 in human volunteers**

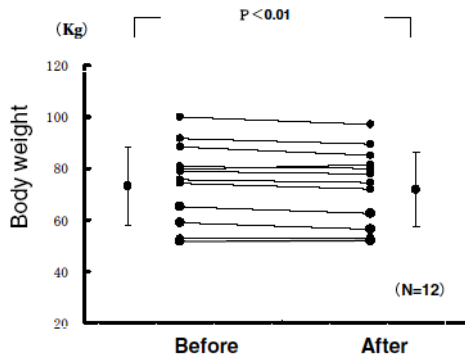
Biochemical parameters	Before (mean $\pm$ SD)	After (mean $\pm$ SD)	Statistics ( <i>P</i> -value)
Total protein (g dl <sup>-1</sup> )	7.50 $\pm$ 0.16	7.41 $\pm$ 0.25	0.31
BUN (mg dl <sup>-1</sup> )	15.81 $\pm$ 5.93	13.45 $\pm$ 2.25	0.12
Creatinine (mg dl <sup>-1</sup> )	0.92 $\pm$ 0.21	0.90 $\pm$ 0.20	0.19
GOT ( $\mu$ l <sup>-1</sup> )	18.8 $\pm$ 4.75	19.8 $\pm$ 4.40	0.10
GPT ( $\mu$ l <sup>-1</sup> )	15.7 $\pm$ 6.90	16.3 $\pm$ 4.90	0.52
$\gamma$ -GTP ( $\mu$ l <sup>-1</sup> )	35.4 $\pm$ 29.6	35.9 $\pm$ 30.1	0.89

(*N* = 11).

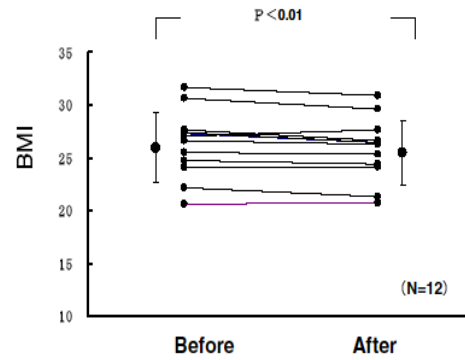
#### (2) 肥満, 糖尿病関連生化学パラメーターに与える *A. brasiliensis* の効果

*A. brasiliensis* は半健康人と思われる成人男女 12 名に, 通常量摂取 3 ヶ月試験を行い, 体重, 腹囲, BMI, 体脂肪率を測定し, 血液生化学検査を行った. 体重, BMI の有意な低下が観察され

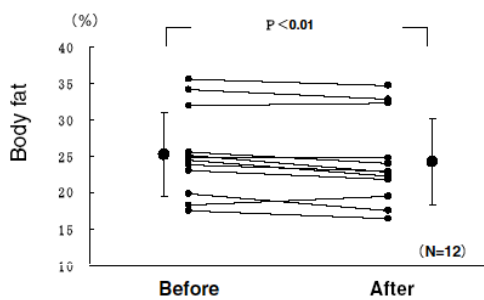
た (Figures 4, 5). 投与後, 有意な体脂肪率 ( $p < 0.01$ ), 内臓脂肪率 ( $p < 0.01$ ) の減少がみられた (Figures 6, 7). 総タンパク量は増加した (Figure 8). 血糖値が投与後, 有意に減少した (Figure 9).



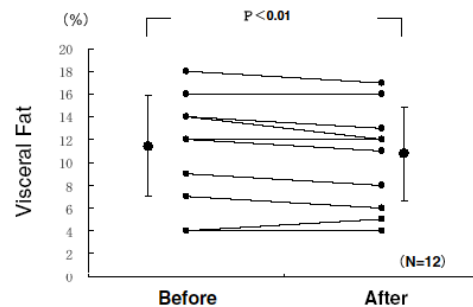
(figure 4)



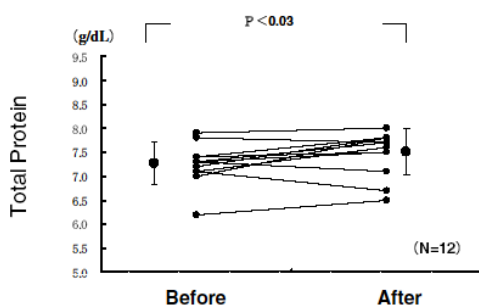
(figure 5)



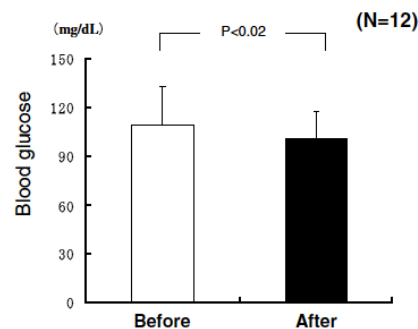
(figure 6)



(figure 7)



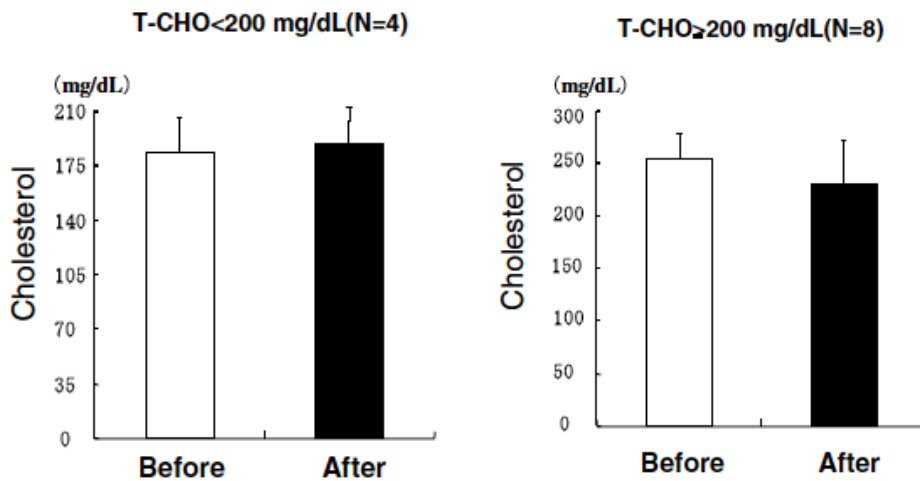
(figure 8)



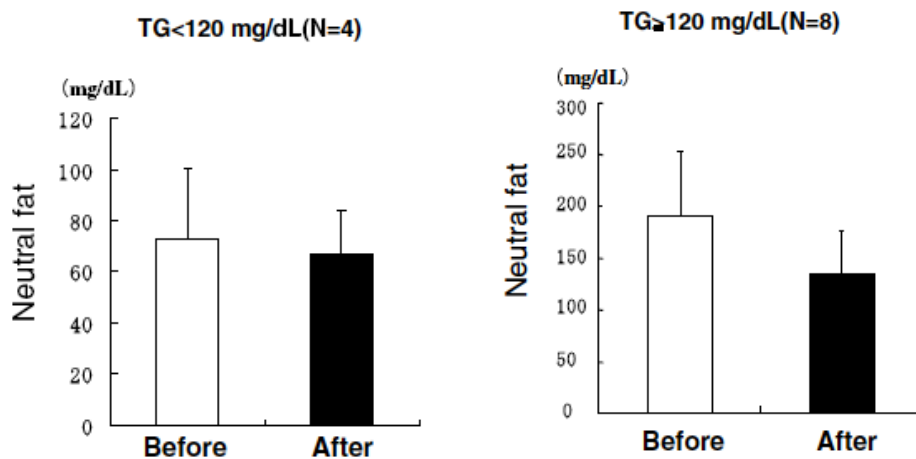
(figure 9)

さらにより詳細にデータを解析するために, 対象群を正常値群 ( $T-CHO < 200\text{mg/dL}$ ) と未病値群 ( $T-CHO \geq 200\text{mg/dL}$ ) に層別し, 比較した.  $T-CHO < 200\text{mg/dL}$  群は投与前後で

変化はみられなかったが、T-CHO  $\geq$  200mg/dL 群は投与後、低下傾向がみられた (Figure 10). 対象群を正常値群 (TG < 120mg/dL) と未病値群 (TG  $\geq$  200mg/dL) に層別し、比較した. TG < 200mg/dL 群は投与前後で変化はみられなかったが、TG  $\geq$  120mg/dL 群は、投与後、低下傾向がみられた (Figure 11).



(figure 10)



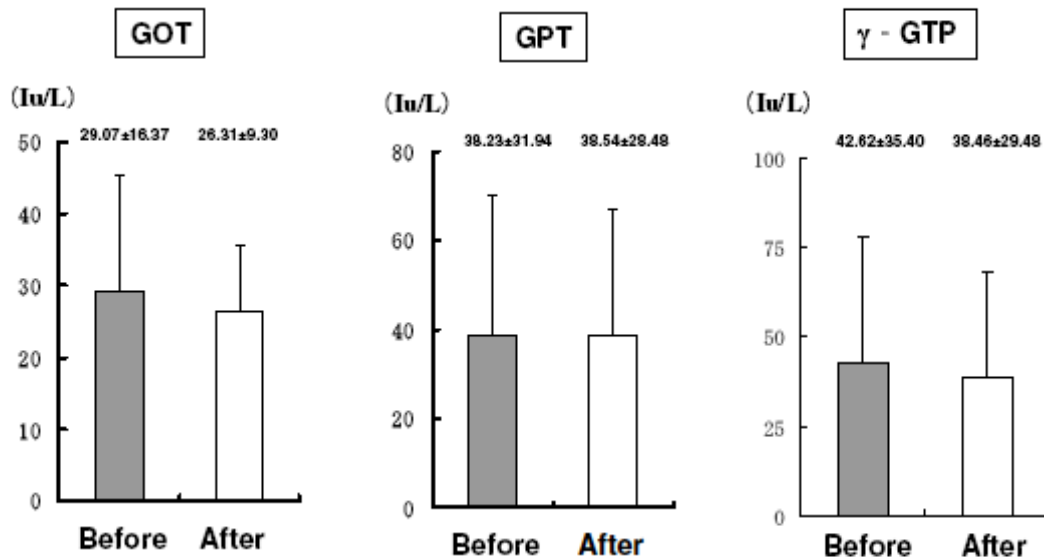
(figure 11)

### (3) *A. brasiliensis* の肝機能改善

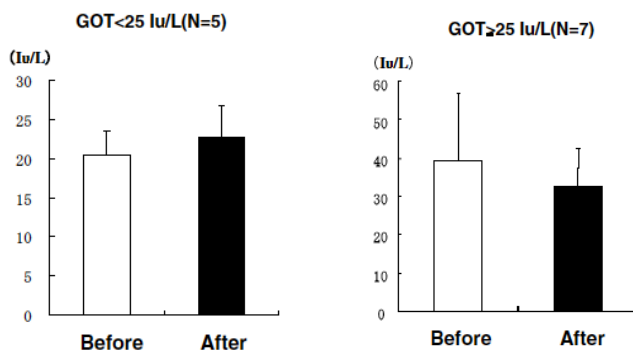
肝機能を検討するため、GOT、GOT、GPT、 $\gamma$ -GTPを測定、比較した。A.blazei 投与前後のGOT、GPT、 $\gamma$ -GTPは変化がみられなかった (Figure 12). 次に、対象群を正常値群と未病値群

に層別し、投与前後の変化を検討した。正常値群(GOT<25Iu/L)は投与後の平均値がやや増加した。未病値群(GOT>=25Iu/L)の平均値は投与前に比べ低下したが、統計的に有意な差が認められなかった(Figure 13)。正常値群(GPT<25Iu/L)は投与後の平均値が増加した。未病値群(GPT>=25Iu/L)の平均値は投与前に比べ、やや低下したが、統計的に有意な差が認められなかった(Figure 14)。正常値群( $\gamma$ -GTP<30Iu/L)は投与後の平均値がやや低下した。未病値群( $\gamma$ -GTP>=30Iu/L)の平均値は投与前とほぼ同じ数値を示した(Figure 15)。

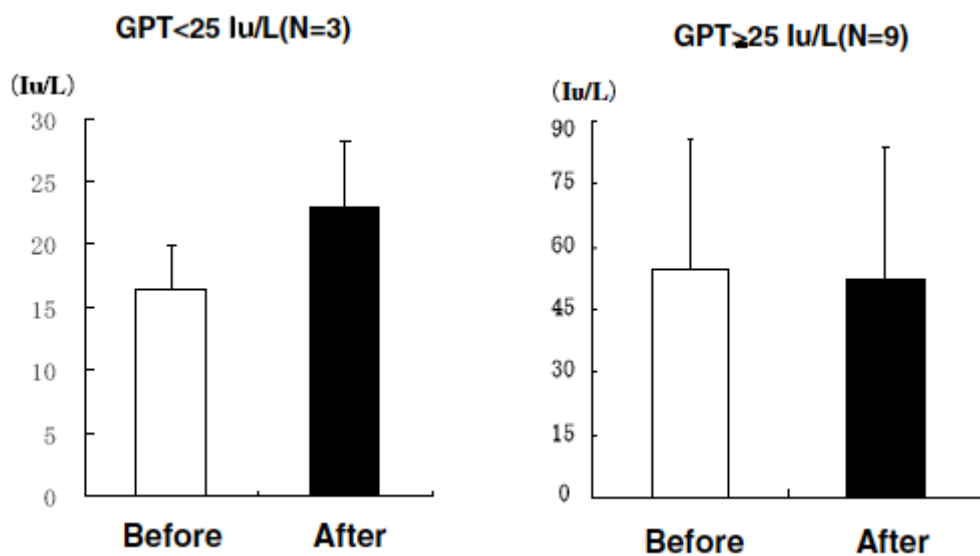
これらの結果より、生活習慣病に対する脂質、血糖レベルの減少することが明らかとなった。さらには、肝機能を改善したことは注目すべきである。



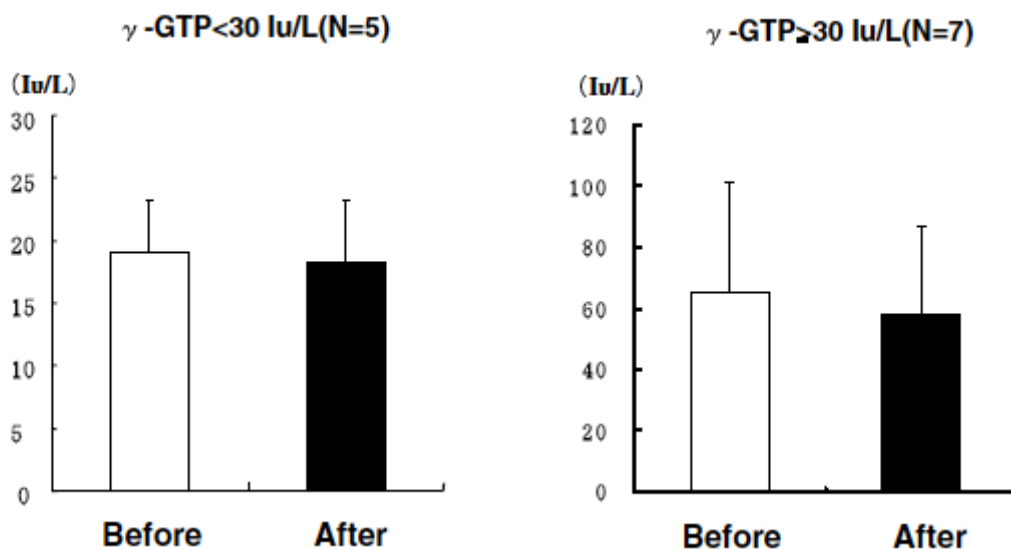
(figure 12)



(figure 13)



(figure 14)



(figure 15)

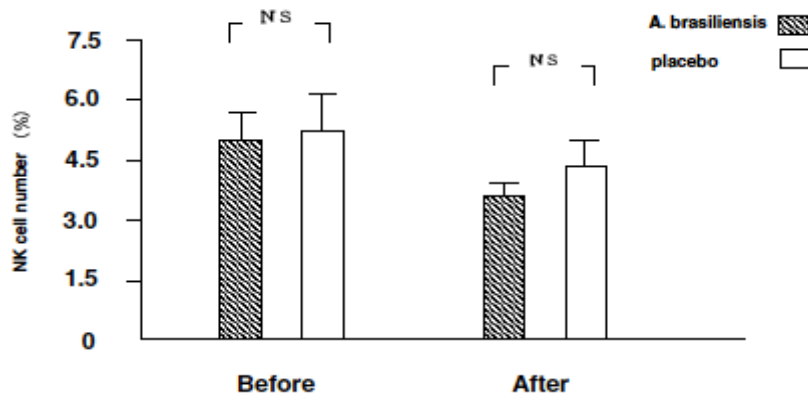
#### (4) *A. brasiliensis* のNK細胞の修飾活性

免疫機能における *A. brasiliensis* KA21 の効果を検討するため、NK細胞数ならびにNK活性について8人を対象にダブルブラインド試験を行った。通常量もしくはプラセボ7日間投与の末梢血におけるNK細胞数、NK活性を検討した。



### 1) *A. brasiliensis* のNK細胞数に及ぼす効果

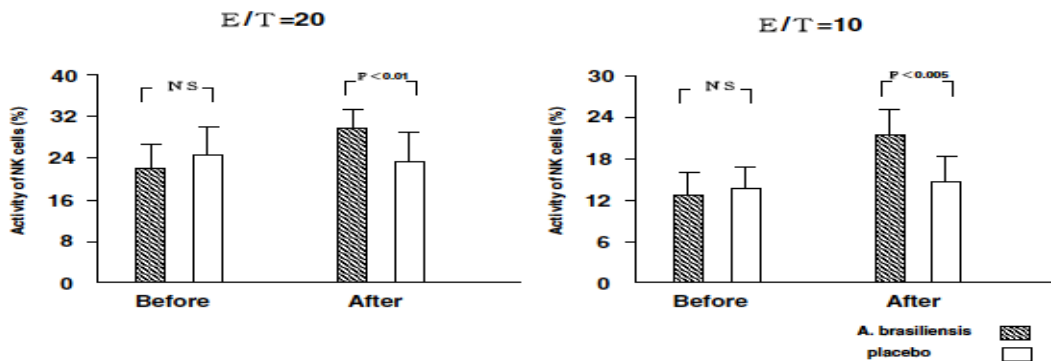
投与前後でNK細胞数の比較、及び *A. blazei* 投与群とプラセボ群との群間比較を行ったが、統計的に有意な差が認められなかった (Figure 16)



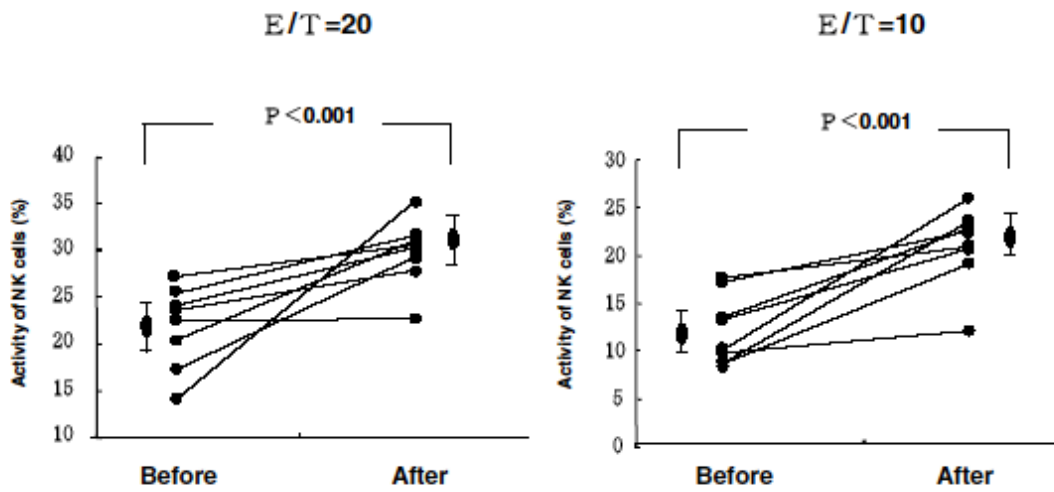
(figure 16)

### 2) *A. brasiliensis* のNK細胞活性に及ぼす効果

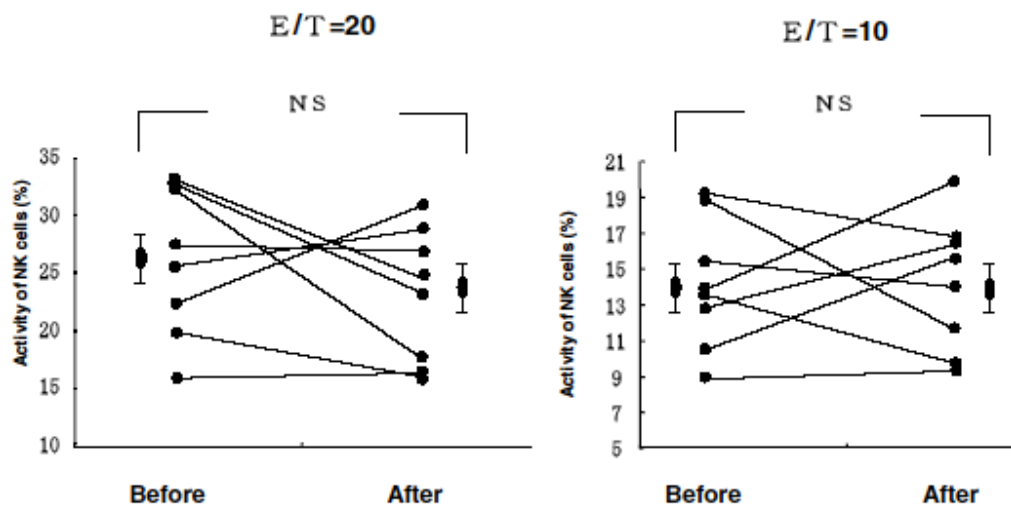
投与前は *A. brasiliensis* 群とプラセボ群の間に有意な差が認められなかった。飲用後はE/T=20%群は $P < 0.01$ 、E/T=10%群は $P < 0.001$ で、ともに群間に有意差が認められた。NK細胞の活性が有意に増加した (Figure 17)。NK 活性個々の変化を示した (Figure 18)。 *A. brasiliensis* 投与後、E/T=20%群は $P < 0.001$ 、E/T=10%群は $P < 0.001$ でともに有意に上昇した。プラセボ投与群は飲用後、NK細胞活性の有意な増加が認められなかった (Figure 19)。



(figure 17)



(figure 18)



(figure 19)

## 考察

日本は急速に超高齢化社会になり、労働力、消費および税収の減少、近隣アジア諸国間との国際競争の増大などの問題が出現している。高齢患者数の劇的な増加が必然的であることから、社会保障制度は財政的負担を期待している。遺伝的背景がライフスタイルに関連した条件と糖尿病、高脂血症および癌などの疾患に関与していると言われている一方で、その他のいくつかのファクタ

一もそれらの発生を決定する;ライフスタイルはそのような条件と病気発症に密接に関連している。一方で、未来には著しく上昇する医療費を減らす必要がある。健全なライフスタイルを行わない人々を援助するために医療費を支払うべきかどうかについて議論がある。病気ではないけど健康でもない人、いわゆる「半健康人」、「未病」の数は加速的に増えている。ストレスで積み込まれた日常生活において通常の食習慣を維持するのは難しい。機能性食品を食べることによる食事改善は、ライフスタイルに関連した病気の発病の防止にだけでなく、半健康人の健康改良に寄与するようである。

日本には多くの機能性食品があり、それらは消費者にとって高価である。よって、正確な様々の情報は、それぞれ消費者にとって最もよい食品を選ぶために必要である。味だけでなく安全性、コストパフォーマンス、機能性のエビデンスなどのすべてのパラメーターを公にすることが重要である。

キノコは健康に有益であるものとして数百年の間、東洋医学の一部を担ってきた。キノコの医学的性質について最も伝統的な知識は極東、日本、中国、韓国およびロシアに由来する。最も明確なエビデンスは、*Lentimula edodes* からのレンチナン、*Schizophyllum commune* からのソニフィラン、*Coriorus versicolor* からのクレスチンが免疫刺激を介した抗ガン剤として承認されていることである。非常に多くのキノコ製品が健康促進食品として市場に並び、それらの製品の基本的、臨床的研究は継続的に行われている。

現在、世界に約 80,000 の真菌類が存在している。未発見の種を含めると約 1,500,000 の種が存在していることが推測される。五訂増補日本食品標準成分表において、36 食品がキノコとして分類されている。キノコの代表的な栄養構成成分は繊維、グルコースと糖アルコール、有機酸、脂肪酸、無機物質、ビタミン、遊離アミノ酸、苦味、辛味成分、香気成分、酵素、生体防御性物質、薬理的活性物質、毒性成分などを含む。さらに、カビと酵母はいくつかの発酵食品と関係がある。酒、味噌、醤油、チーズ、およびかつお節を含むさまざまな食品は真核微生物の助けによって製造さ

れる。また、真菌類は、ペニシリンのような薬や薬の原料として使われる多くの2次代謝産物を産生する。

食用キノコについて、あるものは生で消費され、培養された菌糸体並びに培養液は処理後にサプリメントとして存在する。それらが同一菌類由来であるにも関わらず、子実体と同じ成分を含んでいるという証拠はない。1980年代の初期、我々は*G. frondosa*子実体、菌糸および発酵製品の高分子成分を比較するために、動物実験を行った。それぞれ抽出物の成分に含まれている量と質が異なっていたことは活性に反映された。*G. frondosa*は日本で、そして他の国でよく研究されている。興味深いことに、主な活性成分が研究グループに依存して異なる。製品レベルでのキノコと菌糸を比較において、生きた真菌類は乾製品とは異なることが見出された。安定供給の観点から、乾製品は望ましいが、乾燥方法によって成分が変わる。真菌の種類が異なるならば成分が異なるだろう。1つのキノコは食品または他の製品として処理される時に大いに変わる可能性がある。成分や特に動物実験など薬理学的作用を議論、評価する場合は、詳細な条件下で比較対象を管理する必要がある。

Agaritin (N-( $\gamma$ -L(+)-glutamyl)-4-hydroxymethylphenylhydrazine)は *Agaricus* (*A. bisporus* 類縁) に属するキノコ子実体に同定された。agaritin が代謝される際に生じる 4-hydroxymethyl-benzenediazonium ion が変異原性を持つと考えられている。Agaritin は通常 fresh weight で 200~400mg/kg で含まれ、dry weight で 1000-2500mg/kg 含まれていると報告されている。最近、*A. blazei* 中にも *A. bisporus* とほぼ同程度 (112-1836 $\mu$ g/g) dry weight で含まれていることが報告された。今回我々が検討に用いた *A. blazei* KA21 には 15.3ppm と非常に少なく、それらの範囲の 10-100 分の 1 の量であった。アガリチン含量は処理過程によって著しく異なることが知られている。家庭での処理 (茹でる、揚げる、電子レンジ加熱、乾燥) は 50% またはそれ以上まで *A. bisporus* の agaritin 含量を減少させる。また、最近、アガリチンは水中で酸素依存的に分解されることが示されている。アガリチンの毒性、発癌性について長い間議論されてきた。しかしながら、結論ははまだ

に議論的になっている。Tothらは *A. bisporus* での phenylhydrazine とその関連化合物についての発癌性の可能性について検討している。それらの検討において phenylhydrazine とその関連化合物は Swiss albino マウスにおいて発癌性を示した。Agaritin のみの検討では陰性であった。これらの結果は発癌性のデータ解釈を混乱させた。また、それら検討は保守的なリスクモデルであった。疫学的なデータ無しに、ヒトにおける agaritin の発がん性の評価について行うことはできない。

私達は様々な観点から *A. brasiliensis* KA21 を分析し、 $\beta$ -グルカン、制がん性の化合物のポリフェノールオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、 $\beta$ -1,3-グルカナーゼなどの酵素を報告した。*A. brasiliensis* KA21 の $\beta$ -グルカン含量は 12.4g/100g であることが日本食品分析センターにて測定された。我々はすでに KA21 の多糖画分についての構造をすでに検討している。免疫修飾活性を示す $\beta$ -グルカンの主要構造は高分岐 $\beta$ -1,3-グルカン断片を伴った $\beta$ -1,6-グルカンであると決定された。熱水抽出、冷アルカリ抽出、熱アルカリ抽出の調製、それら画分の多糖構造について分析した。非常に興味深いことに、すべての画分において $\beta$ -1,6-グルカンを主要結合とする同様な構造の特徴を示した。それらのデータから、*A. brasiliensis* の主要多糖成分は $\beta$ -1,6-グルカンであり、これまでの検討結果と一致した。しかしながら、抗腫瘍活性には $\beta$ -1,6-グルカンに加え $\beta$ -1,3-グルカンが必要であることを述べた。その結論は一時的なものであり、ヒトにおける構造活性相関が必要であるだろう。

自然露地栽培では、ビタミン D を豊富に含んでいた。Vitamin D は macrofungi のよく知られたビタミンであり、KA21 は 56.7 $\mu$ g/100g dry weight で含まれていた。菌糸体や中国から輸入した *A. blazei* 子実体では 0.7 $\mu$ g/100g と検出限度の低値であった。それらの製品のビタミン D の違いは屋外の太陽光下での培養であることをよく反映している。ビタミン D 含量と太陽光暴露の関係はこれまでに多くの macrofungi で検討されてきている。日本健康食品規制の定義に基づいて、1.5 $\mu$ g/100g (=60 I.U./100g) 以上のビタミン D を含むものは高ビタミン D 含有食品と定義づけられる。ビタミン、ミネラルなどの微量栄養素は老廃物代謝を促進、糖質、脂質と介した細胞活性化、インシ

ユリン耐性の改善する。繊維，不飽和脂肪酸は血圧を低下させ，脱コレステロールの促進をする。

KA21 は他の微量栄養素も含んでおり，様々な理由から健康によいとされる。

一方で，柴胡の活性物質分析において，我々は酵素によるポリフェノールの重合化が強い免疫増強効果を有していることを見出した。*A. brasiliensis* は多くのポリフェノール重合化に関与する酵素を有しており，酵素による重合化ポリフェノールも活性物質である。我々の臨床検討において，体重，BMI，体脂肪率，内臓脂肪率，血糖レベルの減少は注目すべきであり，血中コレステロールレベル，血中中性脂肪レベル，GOT，GPT， $\gamma$ -GTP の減少傾向が未病人群で認められた。これまでの結果によると，本菌成分中における，すべての多糖，酵素，ビタミン，ミネラルは生化学検査値の正常化に関与していると考えられた。

マウスの免疫機能について検討した。正常マウスに冷水抽出物(AgCWE)と熱水抽出物(HWE)を2週間連日経口投与し，免疫担当細胞の量とポピュレーションを比較したところ，AgHWE 投与群においては脾臓の CD4+T 細胞の比率が上昇し，AgCWE 投与群においては脾臓の細胞数が増加することが明らかになった。さらに，AgCWE，AgHWE は抗腫瘍活性を示し，ConA 誘発肝障害を防ぎ，LPS によるサイトカイン産生抑制を示した。通常，生体は外部侵入異物，あるいは自己由来の異物を排除しており，抗原が血中に大量に侵入すると過敏な免疫反応を起こし，死に至ることがある。しかし，経口投与による抗原の大量な侵入においては経口免疫寛容が働き，免疫反応が起こらないように調節されている。経口免疫寛容は，外部抗原の侵入により産生された脾臓や鼠経部リンパ節の抗原特異的 CD4+T 細胞のアポトーシスにより誘導されると植田らは報告している。本実験において，AgHWE 投与によって CD4+T 細胞の比率は上昇したが，これは総量の増加であり，恐らくは，特定のクローンの増殖としてはあたらぬであろうことから経口免疫寛容に関わるものではないと思われる。CD4+T 細胞は T 細胞抗原刺激によって，I 型ヘルパー T 細胞(Th1)、2型ヘルパー T 細胞(Th2)に分類され，抗腫瘍効果においては Th1 が重要であると考えられている。Th1 は激しく局所に浸潤し，自ら強い cytotoxicity およびサイトカイン産生を示し，IFN- $\gamma$  産生能を有した

CTL を局所で誘導することによって、腫瘍の完全退縮を誘導すると考えられている。 *A. blazei* は抗腫瘍効果を示すことが知られており、CD4+T 細胞の増加もこれにつながる可能性がある。 正常なマウスへの *A. blazei* の経口投与により免疫細胞に変化が見られたことから普段から飲用することは、免疫調節不全に対する予防効果が期待される。

*A. brasiliensis* は多臓器不全と関連する、高サイトカイン血症に伴う臓器障害を抑制した。 LPS 誘発サイトカイン産生のようなこれらのモデルにおいて、 *A. brasiliensis* は過度のサイトカイン産生を制御した。 *A. brasiliensis* 免疫系を促進するだけでなく、制御することが示唆された。

本研究における評価系の中で移植腫瘍に対する抗腫瘍効果では、腹水癌マウスに AgHWE、CWE 投与したものでは効果が見られなかった。 一方、固形癌マウスにおいて AgHWE1、2、3 投与群ではそれほど効果は見られなかったが、アルカリ抽出画分において強い活性がみられた。 その中でも特に、AgHAS の高濃度 i.p. 投与群においては 99% と顕著な抗腫瘍効果が見られた。

免疫機能における *A. brasiliensis* の効果において、ヒト末梢単核球細胞に対する NK 細胞の割合、NK 活性を検討した。 1 週間投与後の NK 細胞数は *A. brasiliensis* 群、プラセボ群においても有意な変化がなかった。 一方、NK 活性では *A. brasiliensis* 群において有意に増加した。 個々のケースについて検討した場合、 *A. brasiliensis* 投与により、数には違いがなかったにも関わらず、NK 活性が上昇することが示された (Figure 18)。

NK 細胞は自然免疫において重要な役割を担っており、ヒト、動物において NK 活性測定は広く検討されている。 様々なリンパ球、抗体を含んだ液性因子、補体、サイトカインと同様に NK 細胞は免疫機能に効果を示す。 *Macrofungi* が NK 活性を高めるという報告はこれまでにいくつか報告されている。

*A. brasiliensis* による NK 活性上昇の程度は、個体間によって様々であった。 最近、個々において、有効性と副作用の現れる範囲が異なることが明らかになってきた。 これは薬物代謝酵素群、CYP-関連遺伝子の多型によって説明される。 一方、多くの免疫関連疾患原因遺伝子、あるものは

多型が明らかとなってきた。 *A. barasiliensis* 効果の個体差には多形が関与している可能性がある。

Dectin-1 は最近、キノコの主要構成成分である、細胞壁β-グルカンに対する受容体であることが同定された。 *A. barasiliensis* の効果と受容体遺伝子多型はおそらく関連して可能性がある。さらなる解析が必要である。

ごく最近、実験動物における遺伝毒性の誘発によるため、 *A. blazei* 由来の健康食品の一つが回収された。厚生労働省はこの一つのケースにおける分子メカニズムを調査中である。今回の臨床検討によれば、KA21はヒト健康においてとても安全であった。我々は薬理学的作用と同様にビタミン D などの成分は同一の菌であっても培養上条件によって影響を受けることを述べた。さらに、処理過程においてタンパクは分解などの影響されている可能性がある。 *agaricaceae* は機能性食品の多くの種類に含まれており、さらに検討していく必要がある。今回検討したキノコの *agaricaceae* は安全であり、ヒトの健康に有用であることがわかった。

## 結論

- 1)モデルマウスを用いた基礎的研究では、抗腫瘍効果、癌抑制効果、炎症性サイトカインの抑制効果、肝臓の保護作用をもつことが客観的に明らかとなった。この作用には、ヘルパーT細胞の比率増加、およびNK細胞活性の増強が関係していると示唆された。
- 2)ヒトを対象とした臨床的研究では、体重・BMI・体脂肪率・内臓脂肪値・血糖値を有意に低下させ、肥満を改善する効果が見られた。また未病人(半健康人)の血中コレステロール値、中性脂肪値を適度に下げ、肝機能を調整し、免疫機能を賦活する効果が認められた。