

バイアリニンAの抽出法とその生理作用に関する研究

乗鞍 敏夫*、松江一

1) 青森県立保健大学 栄養学科

Key Words ①ポタンイボタケ ②抗がん作用 ③HepG2 ④Caco2

I. はじめに

青森県は海と山に囲まれた天然資源の宝庫であり、有用な遺伝資源が数多く潜んでいると予想される。我々はこれまでに、青森県産資源(38種類)の抗がん作用をスクリーニングしたところ、ポタンイボタケ(図1 *Thelephora aurantiotincta*)のエタノール抽出物(以下TAE)に強い活性があることを明らかとしている。

II. 目的

TAEの活性成分を単離・同定する。さらに、正常細胞への毒性評価をする。

III. 研究方法

1. 抗がん作用の評価

継代培養したヒト肝がん細胞(以下 HepG2)とヒト大腸がん細胞(Caco2)を実験に供した。これらの細胞を 24 時間の前培養を行った後、各濃度の試料を添加した DMEM 培地に交換して、48 時間の本培養を行った。本培養終了後の生存細胞数の指標を Neutral Red 法で評価した。

2. 生理活性物質の分画・単離

- 1) TAE を Sep-Pak C₁₈ に添加した後、MeOH/水の混合溶媒を用いた溶出を行い、TAE1~4 の 4 つのフラクションに分画した。
- 2) TAE3 をシリカゲルに添加した後、酢酸エチル/ヘキサンの混合溶媒を用いた溶出を行い、TAE3-1~4 の 4 つのフラクションに分画した。
- 3) TAE3-3 を HPLC とフラクションコレクターを用いて、TAE3-3-1~4 の 4 つのフラクションに分画した。

3. 生理活性物質の構造同定

質量分析および ¹H-NMR と ¹³C-NMR 分析を行った。

4. 正常細胞に対する毒性評価

ヒト正常肝細胞を実験に供した。抗がん作用の評価と同様に Neutral Red 法で評価した。

IV. 結果・考察

- 1) TAE1~4 のうち、TAE3 が最も強い抗がん作用(HepG2)を示した(表 1)。
- 2) TAE3-1~4 のうち、TAE3-3 が最も強い抗がん作用(HepG2)を示した(表 1)。
- 3) TAE3-3-2 および TAE3-3-3 を純物質として得た(図 2)。これらの単離物質が最も強い抗がん作用(HepG2)を示した(表 1)。
- 4) 質量分析と NMR 分析により、TAE3-3-2 は Telephantin-E の構造異性体である新規物質であり Telephantin-O(図 3)と命名した。TAE3-3-3 は、Vialinin-A(図 4)であった。
- 5) Telephantin-O と Vialinin-A は、HepG2 のみならず Caco2 の生細胞数を減少される生理活性を示した(表 2,3)。

Telephantin-O と Vialinin-A は、抗がん作用を示した濃度で、ヒト正常肝細胞に毒性を示さなかった(表 4)。



図1 ボタンイボタケ

表1 抗がん作用(HepG2)の評価

試料	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	生細胞数 (% of Control)
TAE	5	88.46 \pm 0.77
	10	80.22 \pm 2.37
TAE1	5	92.87 \pm 7.21
	10	91.43 \pm 8.59
TAE2	5	97.86 \pm 7.13
	10	98.38 \pm 6.38
TAE3	5	72.14 \pm 11.17
	10	34.39 \pm 1.42
TAE4	5	101.50 \pm 4.07
	10	97.98 \pm 1.44
TAE3-1	5	103.88 \pm 7.57
	10	102.94 \pm 0.98
TAE3-2	5	102.35 \pm 1.52
	10	86.40 \pm 2.40
TAE3-3	5	42.02 \pm 5.41
	10	27.78 \pm 1.30
TAE3-4	5	105.06 \pm 2.60
	10	92.00 \pm 5.18
TAE3-3-1	5	83.17 \pm 1.51
	10	57.14 \pm 3.06
TAE3-3-2	5	45.89 \pm 1.39
	10	37.57 \pm 2.40
TAE3-3-3	5	39.12 \pm 1.57
	10	25.65 \pm 0.39
TAE3-3-4	5	88.75 \pm 2.65
	10	66.93 \pm 3.31

表2 抗がん作用(HepG2)の評価

試料	濃度 (μM)	生細胞数 (% of Control)
Telephantin-O (TAE3-3-2)	2	99.71 \pm 1.95
	4	87.96 \pm 0.68
	8	53.91 \pm 3.34
Vialinin-A (TAE3-3-3)	2	98.92 \pm 5.14
	4	77.98 \pm 4.12
	8	38.85 \pm 5.14

表3 抗がん作用(Caco2)の評価

試料	濃度 (μM)	生細胞数 (% of Control)
Telephantin-O (TAE3-3-2)	2	99.71 \pm 1.95
	4	87.96 \pm 0.68
	8	53.91 \pm 3.34
Vialinin-A (TAE3-3-3)	2	98.92 \pm 5.14
	4	77.98 \pm 4.12
	8	38.85 \pm 5.14

表4 正常ヒト肝細胞への毒性評価

試料	濃度 (μM)	生細胞数 (% of Control)
Telephantin-O (TAE3-3-2)	2	96.79 \pm 2.53
	4	99.16 \pm 2.11
	8	97.18 \pm 2.94
Vialinin-A (TAE3-3-3)	2	100.30 \pm 2.10
	4	99.65 \pm 2.68
	8	99.90 \pm 2.47

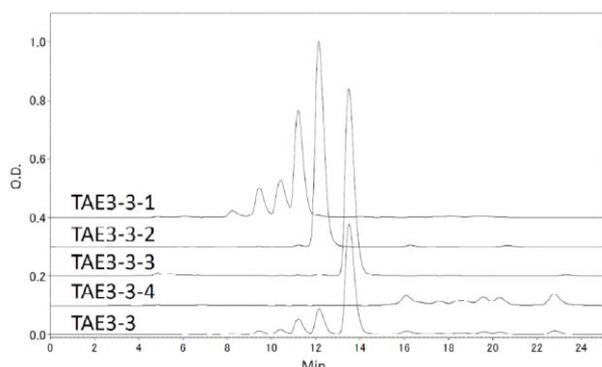


図2 HPLCを用いた分画

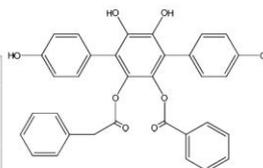


図3 Telephantin-Oの構造式

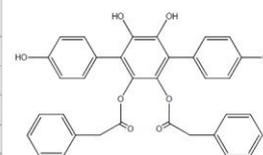


図4 Vialinin-Aの構造式

V. 発表

特許出願：抗腫瘍剤、カスパーゼ阻害剤、イボタケ属担子菌抽出物およびその製造方法，乗鞍敏夫 他,特願 2010-179878

展示会：乗鞍 敏夫，がん特異的な生理活性を持つボタンイボタケ由来の新規物質 イノベーションジャパン 2011 大学見本市 2011 年 9 月

論文：T. Norikura, K. Fujiwara, T. Narita, S. Yamaguchi, Y. Morinaga, K. Iwai, H. Matsue, Anticancer activities of telephantin O and vialinin-A isolated from thelephora aurantiotincta., *J. Agri. Food Chem.*, 59, 6974-6979, (2011)

学会：T. Norikura, K. Fujiwara, S. Yamaguchi, Y. Morinaga, K. Iwai, H. Matsue, Isolation and Identification of Thelephantin O and Vialinin A with Anticancer Activity from *Thelephora aurantiotincta*, ICoFF 2011, 2011 年 11 月 Poster award 受賞