

37

マイタケ子実体 MD 分画の一酸化窒素
産生誘発と抗腫瘍作用に関する研究

○今西信子 (富山医薬大・医・和漢診療) 三善郁代 (名大附属病院看護部) 大平安夫・渡辺雅孝・武山雅英 (雪国まいたけ研究開発室) 鴻巣聡子・田沢賢次・落合宏 (富山医薬大・医・看護学科)

〔目的〕マクロファージ (Mφ) が産生した一酸化窒素 (NO) の抗腫瘍作用に着目し、マイタケ子実体 MD 分画 (MDF) の Mφ における誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) 発現誘発作用とその癌細胞の生残率に及ぼす影響を検討した。

〔方法〕①細胞：Mφはマウス由来RAW264.7細胞 (RAW)、標的癌細胞としてヒト肝癌由来 huH-1 細胞 (huH-1)を用いた。②薬剤：MDF、およびNO合成阻害剤 L-NAME を溶解後濾過滅菌し用いた。③iNOS mRNA 発現検出とNO定量：RAWを種々濃度MDF存在下で培養後、適時細胞よりRNAを抽出し、RT-PCR法でiNOSおよびGAPDHのmRNA発現を調べた。培養上清中のNO量はNOx-HPLCシステムで測定した。④huH-1の生残率の測定：トランスウエルの下層にhuH-1を接種し、種々濃度のMDFで培養した。これに上層RAW存在群(R+)と非存在群(R-)、L-NAME (10 mM) 添加群(L+)と非添加群(L-)を作製した。48時間培養後、MTT方法によりhuH-1の生残細胞数を半定量化した。

〔結果〕①MDFのiNOS発現誘発：24時間刺激RAWからのiNOSバンドは30~300 μg/mlの濃度範囲で検出された。経時的変化(100 μg/ml)をみると、12時間から検出されはじめ、24時間をピークとして漸次減少、48時間でも僅かながら検出された。②産生NO量：無刺激RAW培養上清では3 μM程度であったが、MDF (100 μg/ml) 刺激細胞では、24時間(6.5 μM)から50時間(9.8 μM)へと有意に増加した。③MDFのhuH-1の生残率におよぼす影響：R-群では、L+/-に拘らず、対照細胞(MDF 0 μg/ml)の生残率と有意差は無かった。一方、R+・L-群では、対照細胞に比し濃度依存的にいずれの濃度においても有意に減少し、R+・L+群では生残率の回復を認めた。

〔考察〕今回の研究から、MDFにはRAW細胞に対してiNOS mRNA 発現誘発作用を示すことが明らかにされた。また、それにより産生されたNOがMDFの有する抗腫瘍作用の一旦を担っていることが示唆された。