

市販きのこの血栓溶解活性

Fibrinolytic Activity of Commercial Fungi

(2019年3月29日受理)

河野 勇 人

Isato Kono

Key words : きのこ, 線溶活性

I. 緒 言

近年の生活習慣病の増加, 高齢化社会の進行, 医療費の増大等の社会的背景から, 食品による健康増進・疾病予防の関心が高まっている。生活習慣病のうち特に心臓病や脳卒中の原因となる動脈硬化性疾患の発症には, 老人性痴呆症, エコノミークラス症候群などと同様に, 血管内での血栓形成が関与していることが明らかにされている。この血栓性疾患は, 固まった血液を溶解する活性が低下することが原因であるとされている。経口摂取による血栓を溶解する食品として, 納豆やきのこ類が知られている。きのこ類は, 国内では約4000種類自生しており, そのうち食用とされるものは100種類, さらに人工栽培により市販されているきのこは約20種類であり, 広く消費されているきのこは10種類位に限られてくる¹⁻³⁾。

本研究では, 生活習慣病のうち特に心臓病や脳卒中の原因となる血栓の線溶活性について, 経口下で血中線溶亢進効果を有する食品素材の開発を目的に, 市販のきのこについて検討した。

II. 実 験 方 法

1. 使用材料および培地

きのこは, 市販のウスヒラタケ (*Pleurotus pulmonarius*), マッシュルーム (*Agaricus bisporus*), ハタケシメジ (*Lyophyllum decastes*), エノキタケ (*Flammulina velutipes*), エリンギ (*Pleurotus*

eryngii), マイタケ (*Grifola frondosa*), シイタケ (*Lentinus edodes*) を用いた。きのこは凍結乾燥し, その生理食塩水懸濁液のろ液を, サンプル液として用いた。

2. 線溶活性の測定

線溶活性の測定は, フィブリンプレート法, ならびにプラスミンに対して特異性の高い発色性合成基質を用いた直接フィブリン分解に働くプラスミン様の直接溶解活性, またプラスミノーゲンに特異的に働いてプラスミンに変換する間接溶解活性について検討した。

フィブリンプレート法は, 0.4%フィブリンノーゲン (プラスミノーゲン有/無) を0.05Mホウ酸-生食buffer (pH7.8) 10mlに溶解し, そこに牛トロンビン (プラスミノーゲンフリー) を50U/ml生食0.5ml添加して得られたフィブリンプレートを用いて測定した。なお標準物質として, ヒトプラスミンを用いた。直接溶解活性は, テストチームS-2251の基質液 (0.556mM) 0.9mlに, サンプル0.1mlを添加し, 37°C, 30分反応させ測定した。間接溶解活性は, Glu-プラスミノーゲン (0.14mg/ml) 0.05mlに, サンプル0.05mlを添加し, 37°C, 1時間後, 基質液0.9mlを添加し, 37°Cで30分反応させ測定した。なお, アミド分解活性を算出するにあたり, pNAのモル吸光係数を, $\epsilon_{405}=9620\text{M}$ として求めた。

3. 抗酸化活性の測定

抗酸化活性は, ESR分析で行い, スーパーオキシドアニオン消去作用, ならびにヒドロキシルラジカル消去作用を測定した。

スーパーオキシドアニオンは以下の方法で測定した。

1Mリン酸緩衝液20 μ lに8.5mM-DETAPAC 10 μ l, 2mMヒポキサンチン50 μ lならびにDMPD 20 μ lを添加混合し, これに, 測定サンプル20 μ lと水30 μ l (またはSOD st) を添加後, 0.4U/mlキサンチンオキシダーゼ50 μ lを注入し, 直ちにこの混合溶液を扁平セルに取り, 1分後, 掃引した。ESRの測定は以下の条件で行った。Power:8 mW, Center Field:336.0 mT, Sweep Width:5 mT, Sweep Time:30 sec, Modulation Width:0.079 mT, Gain:1.0 \times 1000, Time Constant:0.1 sec, A/D Gain:3。なお, スーパーオキシドアニオン消去作用は, SOD様活性で求めた。ヒドロキシルラジカルは以下の方法で測定した。0.2mM FeSO₄35 μ l, 0.1mM DETAPAC 35 μ l, ならびに1/10 DMPD 20 μ lを添加混合し, これに測定サンプル 40 μ lを添加後, 1mM H₂O₂ 70 μ lを混合し, 直ちに扁平セルに移し, 1分後, 掃引した。ESRの測定は以下の条件で行った。Power:8mW, Center Field: 336.0mT, Sweep Width:5mT, Sweep Time:1分, Modulation Width:0.079mT, Gain:5.0 \times 100, Time Constant:0.1秒, A/D Gain:3。なお, ヒドロキシルラジカル消去活性は, DMSO換算により求めた。

III. 実験結果および考察

1. サンプル液の線溶活性結果

各サンプルの線溶活性結果を, フィブリンプレート法 (Fig. 1), 直接溶解活性 (Fig. 2) ならびに間接溶解活性 (Fig. 3), として以下に示した。

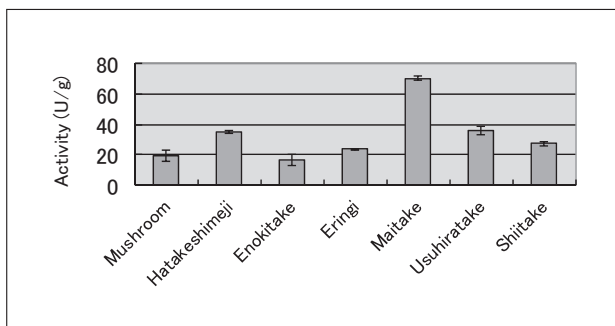


Fig.1 Fibrinolytic activity

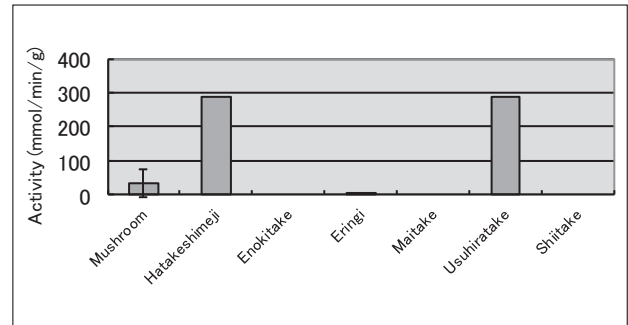


Fig.2 Plasmin like activity

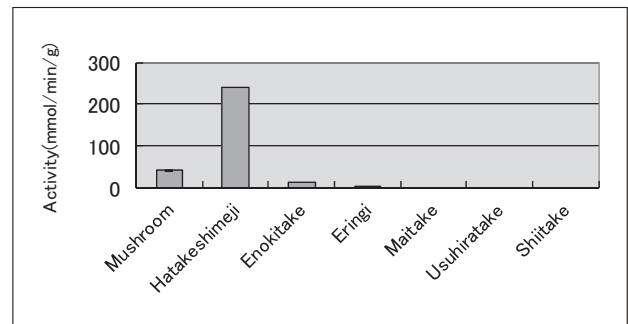


Fig.3 Plasminogen activate like activity

Fig. 1のフィブリンプレート法を用いた線溶活性の測定では, 用いたサンプルのいずれも活性が認められた。きのこ類には線溶活性が認められる結果が報告されており, この結果からもそれが裏付けられた。

線溶活性のうち, Fig. 2の直接溶解活性では, 特にウスヒラタケ, ハタケシメジに高い活性が認められ, マッシュルームやエリンギにも活性が認められた。きのこ類の中でも, これらのきのこに血栓を溶解するプラスミン様物質の存在が考えられた。

また線溶活性のうち, Fig. 3の間接溶解活性では, ハタケシメジが最も活性が高く, マッシュルームやエノキタケ, エリンギも活性が認められた。これらは, 血栓を間接的に溶解するプラスミノーゲンを活性化物質の存在が考えられた。ハタケシメジは, 直接溶解活性と間接溶解活性の両方とも高い活性が認められ, 血栓溶解物質の検討が望まれる。

2. 抗酸化活性の測定

線溶活性が比較的高いウスヒラタケ, マッシュルーム, ハタケシメジ, シイタケの各抗酸化活性結果を, Fig. 4 (スーパーオキシドアニオン消去作用) とFig. 5 (ヒドロキシルラジカル消去作用) に示した。

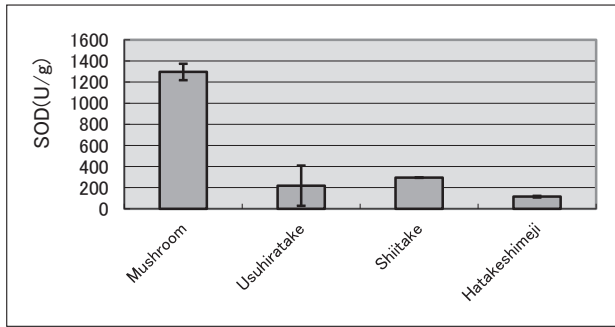


Fig.4 Scavenging activity of fungi on the superoxide anion radical

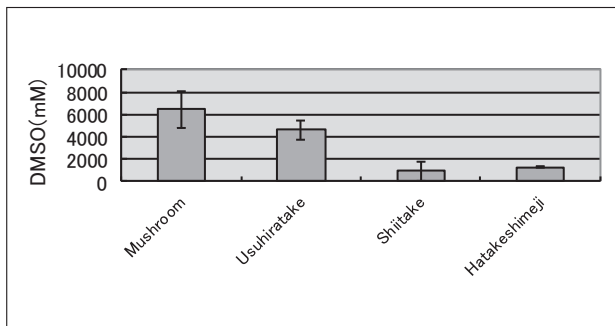


Fig.5 Scavenging activity of fungi on the hydroxyl radical

これらの結果より、測定したいずれのきのこも抗酸化活性が認められ、特にマッシュルームに高い活性が認められた。血栓の形成は、血管内皮細胞の酸化障害により引き起こされる。抗酸化活性の高い食材を摂取することで、血栓形成を防ぐ可能性がある。

生活習慣病のうち、特に心臓病や脳卒中の原因となる動脈硬化性疾患の原因として血栓症があり、これは深部静脈血栓症（エコノミークラス症候群）や老人性ボケの原因でもある。血栓性の疾患は、固まった血液を溶解する活性の低下が原因であるとされている^{4,5)}。血栓を溶解する臨床薬として、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼなどがあるが、血中半減期が短く、長時間点滴をする必要がある。経口摂取による血栓を溶解する食品として、納豆のナットウキナーゼがあるが、嗜好品であるため摂取する人は限定される。

今回市販のきのこの線溶活性を検討し、その中からウシヒラタケ、マッシュルーム、ハタケシメジ、シイタケが有効な食材として考えられた。これらの食材は広く利用されている食品であり、これらを摂取することで血中の線溶活性が高まり、血栓症を改善する可能性が考えられた。

IV. 要 約

生活習慣病のうち、特に心臓病や脳卒中の原因となる血栓の線溶活性について、経口下で血中線溶亢進効果を有する食品素材の開発を目的に、市販のきのこについて線溶活性を検討した。その結果、ウシヒラタケ、マッシュルーム、ハタケシメジ、シイタケに線溶活性、抗酸化活性が認められ、有効な食材として考えられた。

参 考 文 献

- 1) 瀬口正晴, 八田一: 食品学各論第3版, 化学同人 (2016)
- 2) 吉田勉: わかりやすい食物と健康2第3版, 三共出版 (2016)
- 3) 中山勉, 和泉秀彦: 食品学II改訂第3版, 南江堂 (2017)
- 4) 吉川敏一: フリーラジカルの科学, 講談社サイエンティフィック (2002)
- 5) 河野勇人: 血管内皮機能の改善効果を有する食品素材の開発, 醸協 107, 750 (2012)

