

琉球大学学術リポジトリ

[報文]紅麴の抗酸化作用に関する研究

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 中西, 久治, 照屋, 輝一, 小山, 智之, 与那嶺, 正人, 横枕, 貴弘, 安仁屋, 洋子, NAKANISHI, Hisaharu, TERUYA, Kiichi, KOYAMA, Tomoyuki, YONAMINE, Naoto, YOKOMAKURA, Takahiro, ANIYA, Yoko メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016570

紅麹の抗酸化作用に関する研究

中西久治*・照屋輝一*・小山智之**
与那嶺正人**・横枕貴弘**・安仁屋洋子**

*株式会社トロピカルテクノセンター・**琉球大学医学部

Antioxidative Action of Benikoji Extracts

Hisaharu NAKANISHI*, Kiichi TERUYA*, Tomoyuki KOYAMA**,
Naoto YONAMINE**, Takahiro YOKOMAKURA**, Yoko ANIYA**

**Tropical Technology Center Ltd.*

5-1 Suzaki Gusikawa, city, Okinawa, 904-22

***Faculty of Medicine, University of the Ryukyus*

207 Uehara Nishihara-cho, Okinawa, 903-01

緒言

酸素を利用して生きている好氣的生物は、一方で、酸素代謝物として有害な活性酸素を発生しており、今日、この活性酸素が癌、虚血性疾患、炎症などの病因となることが知られている。また、ある種の薬剤は活性酸素を発生することにより有害作用を引き起こし、医薬としての応用が制限されている。従って、活性酸素を消去する抗酸化剤は、種々の疾病の予防や治療、薬剤の副作用の軽減に大きく寄与することが予想される。我々は、沖縄県で古くから食用として利用されている紅麹菌（*Monascus* 属菌）について抗酸化作用を調べ、抗酸化作用を有する紅麹菌が種々の疾病の予防、治療薬および薬剤副作用の軽減剤として利用可能かどうかを検討した。

実験方法

1. 試料の調整

TTCの保有する紅麹菌43株をプラスチックケールで製麹し、培養終了後凍結乾燥し粉碎した。この麹粉末1gに0.05M Tris-HCl(pH 7.4)緩衝液

4mlを加え37℃で60分加温振盪後9,000×gで30分間遠心分離し、その上清を紅麹抽出物として *in vitro* の試験に用いた。動物実験には、水で抽出した紅麹抽出物を Sephadex G-75でゲルろ過し、抗酸化作用のある成分を分取し、DPPHラジカルスカベンジャー作用を50%に調節した溶液をG-75画分として用いた。

2. 抗酸化作用の測定

DPPHラジカルスカベンジャー作用：100 μ M DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) エタノール溶液に紅麹抽出物を加え、30秒後の517nmにおける吸光度を測定した。本測定は試料無添加のDPPHラジカルの吸光度を100%とし、試料添加後のDPPHラジカルの減少率を求めた。

3. 動物実験

(1) 実験動物：Sprague-Dawley系雄性ラット（体重150~170g）を日本SLC(株)より購入し、実験に用いた。

(2) 薬剤投与方法：肝障害誘発剤には四塩化炭素 (CCl₄)、アセトアミノフェン (AAP) を使用した。CCl₄の場合は、ラットにフェノバルビタール (75mg/kg) を1日1回2日間腹腔内

*沖縄県具志川市字州崎5-1

投与後、CCl₄ (0.8ml/kg) を腹腔内に投与し1時間後に肝臓を摘出した。AAPの場合は、ラットに3-methylcholanthrene (MC, 25mg/kg) を腹腔内投与24時間後にAAP (180mg/kg) を腹腔内投与し、3時間後に肝臓を摘出した。紅麹抽出物 (G-75画分, 4ml/kg) はCCl₄及びAAP投与1時間と12時間前に腹腔内投与した。

(3) 細胞画分の調製及び活性測定：ラットの肝臓を1.15% KClで灌流後に摘出し、1.15% KClとともに氷冷下ホモジナイズした。グルタチオン (GSH) 量の測定には、このホモジネート画分を用いた。このホモジネート画分を9,000×g, 4°C, 30分間遠心分離し、更にその上清を105,000×g, 4°C, 60分間遠心分離した上清をサイトゾール画分とした。サイトゾール画分はグルタチオン転移酵素 (GST) 活性、GSHperoxidase (GSHpx) 活性の測定に用いた。沈殿は0.15M Tris-HCl (pH 8.0) 緩衝液に懸濁後、105,000×g, 4°C, 60分間遠心分離し、得られた沈殿をミクロソーム画分として脂質過酸化物量 (LPO)、アニリン水酸化 (AN) 活性の測定に用いた。

血液は断頭による切り口から採血し、血清中のGOT活性、GST (SGST) 活性を測定した。

結果

(1) 抗酸化作用の確認

紅麹菌43株 (*M. anka* 7株、*M. purpureus* 5株、*M. kaoliang* 6株、*M. albidus* 2株、*M. rubiginosus* 1株、*M. major* 1株、*M. pilosus* 2株、*M. pubigerus* 1株、*M. serorubescens* 2株、*M. ruber* 5株、*M. paxii* 1株、*M. fuliginosus* 2株、*M. vitreus* 2株、*M. araneosus* 1株、*M. floridanus* 2株、*Monascus sp.* 3株) について抗酸化作用の有無を調べた結果、Table 1 に示す10株にDPPHスカベンジャー作用 (DPPHラジカルの減少率が20%以上) が認められた。このうち*M. anka* IFO 6085 について脂質過酸化反応を調べた結果、本反応も抑制した。動物実験には、抗酸化作用の強い*M. anka* IFO 6085の紅麹抽出物を用いた。

Table 1 Strains with DPPH radical scavenging action

Strains	
<i>M. anka</i>	IFO 4478
<i>M. anka</i>	IFO 6085
<i>M. anka var. rubellus</i>	IFO 5965
<i>M. purpureus</i>	IFO 4513
<i>M. pilosus</i>	IFO 4520
<i>M. albidus</i>	IFO 4489
<i>M. rubiginosus</i>	IFO 4484
<i>M. ruber</i>	IFO 4492
<i>M. ruber</i>	IFO 31842
<i>M. vitreus</i>	IFO 4532

(2) 紅麹抽出物 (G-75画分) のCCl₄ による肝毒性の軽減作用

CCl₄ を投与するとGSH量やGSTc活性は著明に低下し、LPOは有意に増加したが、麹抽出物をCCl₄ 投与前に2回投与するとこれらの変化は抑制された (Fig. 1)。

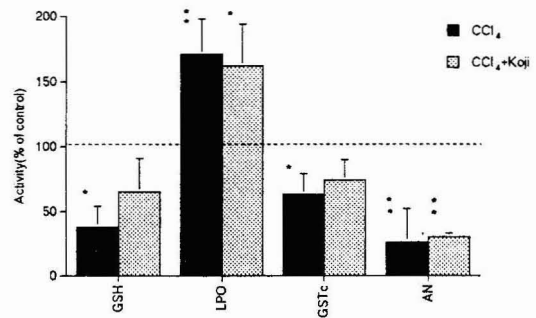


Fig. 1 Effect of benji koji extracts on CCl₄-induced hepatotoxicity

*P<0.05, **P<0.01 control vs treated

(3) 紅麹抽出物 (G-75画分) のAAPによる肝毒性の軽減作用

Fig.2 に示すようにAAPにより血清中のGOT、GST (SGST) 活性が顕著に増加しており、肝障害が起こっていることが分かる。紅麹抽出物 (G-75画分) を予め投与した群では、AAPによるSGST、GOT活性の増加は抑制された。

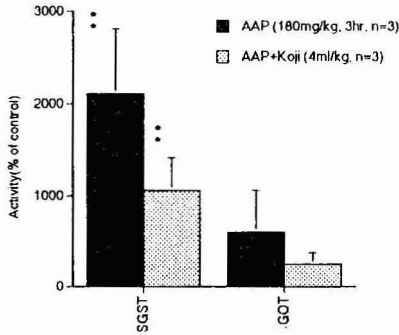


Fig.2 Effect of beni koji extracts on acetaminophen-induced liver toxicity
*P<0.05 control(n=3) vs treated

(4) 紅麹抽出物 (G-75画分) の毒性

Fig.3 に示すように血清中の酵素、GSH関連諸酵素活性はほぼコントロールレベルであった。AN活性は79%と減少したが、GSHは140%と増加しており、紅麹抽出物 (G-75画分) による肝毒性はほとんど無いと考えられる。

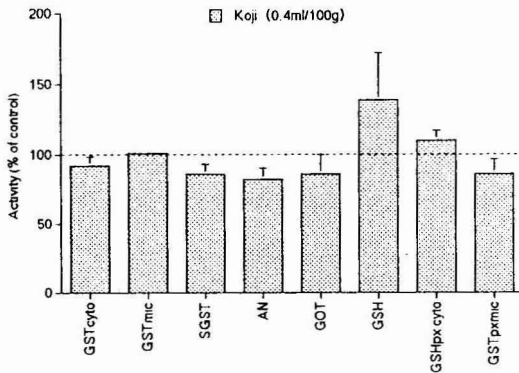


Fig.3 Effect of beni koji extracts on drug metabolizing enzymes

考 察

CCl4は肝臓の薬物代謝酵素 (チロクロムP450) で活性化を受け、ラジカルを生成し、脂質過酸化反応を起こすことにより肝障害を起こすことが知られている。GSHは、CCl4由来のラジカルをスカベンジすることにより消費され減少するが、紅麹抽出物 (G-75画分) 投与によりGSHの減少が抑制されたのは、GSHの代わりに紅麹抽出物 (G-75画分) がラジカルスカベンジャー作用を発揮したことによると考えられる。

解熱鎮痛剤として知られているAAPはチトク

ロムP-450で代謝されて生じる親電子性の中間代謝物N-acetyl-p-benzoquinoneimine (AAPQI) により肝障害を示す薬物である。少量の場合はAAPQIのGSH抱合を受け、解毒される。しかし、多量に投与した場合AAPQIのGSH抱合が飽和し、過剰となったAAPQIが細胞内高分子と結合することにより細胞壊死を引き起こし、肝毒性を示す。紅麹抽出物 (G-75画分) 投与により血中GOT、GSTの増加は抑制傾向を示している。従って、全体としては紅麹抽出物 (G-75画分) の投与はAAPの肝障害を軽減することが示唆された。

これらの研究から、紅麹抽出物は抗酸化作用、ラジカルスカベンジャー作用を有し肝毒性を軽減することが示された。また、紅麹抽出物自身の毒性もほとんどないことから、肝障害の予防や治療薬としての利用が可能と考えられた。

要 約

紅麹の乾燥粉末の抽出物を用いDPPHラジカルスカベンジャー作用を調べた結果、紅麹菌43株のうち10株に抗酸化作用が確認できた。さらにM. anka IFO 6085, M. anka IFO 4478について脂質過酸化反応を調べた結果、これら紅麹抽出物は脂質過酸化反応も抑制することが確認できた。

M. anka IFO 6085の紅麹抽出物をSephadex G-75のカラムクロマトグラフィーにより分画した活性画分 (G-75画分) をラットに投与し、四塩化炭素やアセトアミノフェンによる肝障害が軽減されるかを検討した。四塩化炭素では、紅麹抽出物 (G-75画分) の投与によりGSHの低下が顕著に抑制された。また、アセトアミノフェンでのSGST、GOT活性の増加を顕著に抑制した。更に、紅麹抽出物自身の毒性はほとんど見られなかった。

以上のことより、これら紅麹は強い抗酸化作用とラジカルスカベンジャー作用を有し、肝毒性の予防や治療薬としての利用が可能と考えられた。

参考文献

- 1) 1995：平成6年度地域基盤技術研究開発事業報告書，97-101
- 2) 1996：平成7年度地域基盤技術研究開発事業報告書，81-86
- 3) Song-chow Lin, Chun-ching Lin, Yun-ho Lin and Chin-jung Yao, 1994: Hepatoprotective effects of Taiwan folk medicine: *Ixeris chinensis* (Thunb.) Nak. on experimental liver injuries, *American Journal of Chinese Medicine*, 22 (3-4), 243-245
- 4) Rudolf Reter and Raymond F. Burk, 1988: Formation of glutathione adducts of carbon tetrachloride metabolites in a rat liver microsomal incubation system, *Biochemical Pharmacology*, 37, 2, 327-331
- 5) Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR and Brodie BB, 1973: Acetaminophen-induced hepatic necrosis II. Role of covalent binding in vivo, *J Pharmacol Exp Ther*, 187, 195-202