

# 琉球大学学術リポジトリ

## 亜熱帯生物資源の選択的細胞毒性試験によるスクリーニング

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: 花城, 薫, 吉田, 安彦, 豊川, 哲也, 鎌田, 靖弘, 岩崎, 公典, 屋, 宏典, 比嘉, 敏勝 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016697">http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016697</a>

## 講演名： 亜熱帯生物資源の選択的細胞毒性試験によるスクリーニング

演 者：○花城薫<sup>1</sup>、吉田安彦<sup>1</sup>、豊川哲也<sup>2</sup>、鎌田靖弘<sup>2</sup>、岩崎公典<sup>3</sup>、屋宏典<sup>3</sup>、比嘉敏勝<sup>1</sup>

1：(株) トロピカルテクノセンター 2：沖縄県工業技術センター 3：琉球大学遺伝子実験センター

### 目 的

沖縄県は熱帯・亜熱帯地域に位置し、他府県とは異なる生物が多数生息している。これらの豊富な生物資源を有効利用し産業化するためには、それぞれの生物に秘められた効能を探し出すことが重要であり、実際ウコンやモズク等に様々な生理活性（効能）の存在が確認され、それらの商品価値を高めることができた。

一方、日本人の主な死因の一つである、がんについて国民の関心は非常に高く、亜熱帯生物資源の中からがんの予防、増殖抑制、治療に効果のあるものが探索できれば資源の有効利用が図れると考えた。

本研究では、「沖縄らしさ」をキーワードに選定した植物・海藻等の抽出液をヒト細胞培養液に添加し、ヒト正常細胞には毒性を示さず、ヒトがん細胞にのみ毒性を示す（選択的細胞毒性）生物資源を探索することを目的とした。

### 方 法

実験材料には、沖縄県工業技術センターが所有する薬草・海藻等の抽出液約700種のうち、「沖縄らしさ」をキーワードに157種を選択してそれを用いた。

薬草などのすでに乾燥品として入手した試料は適当な大きさに細切れにしたのち、遠心粉碎機にて粉碎し0.5mmのメッシュを通過した画分を抽出操作に供した。野菜や果実などの生鮮品は、適当な大きさに細切れにし、凍結乾燥後遠心粉碎機にて粉碎した。海藻類など塩蔵品として入手した試料は、十分量の蒸留水で数回塩抜きした後、凍結乾燥し粉碎した。このようにして粉末化させた試料を抽出用試料として用いた。

今回選択的細胞毒性試験で用いた試料は、以上のようにして調整され保存されていた抽出液を濃縮したものである。その濃縮方法は、保存抽出液を5ml分取し、乾固させる。乾固物を1mlのPBS(-) (pH7.4)で再び溶かし、0.45 $\mu$ mの滅菌フィルターで濾過滅菌し、これを添加サンプルとした。

CCD-27SK（皮膚正常細胞）、A-431（皮膚がん細胞）、CS-Hc（肺正常細胞）、HepG2（肝がん細胞）、WI-38（肺正常細胞）、A549（肺がん細胞）、以上6種類を使用した。

本研究では、MTTアッセイ法を用いて正常細胞の生存率とがん細胞の生存率を比較することによって、がん細胞に対する選択的細胞毒性を示す素材をスクリーニングした。

MTTアッセイの試薬にはプロメガ CellTiter 96 Non-Radioactive Cell Proliferation Assay Cat.No.G4100(Dye Solution 75ml, Stop Solution 500ml)を用い、吸光度の測定にはマイクロプレートリーダーを使用した。

最初に157種類のサンプルを検体数=1、希釈系列=8でアッセイし、有望なものをいくつか選択した（一次スクリーニング）。一次スクリーニングで選択されたものを検体数=8、希釈系列=5で二次スクリーニングした。

結果

CCD-27SK（皮膚正常細胞）と A-431（皮膚がん細胞）については検体数 = 1，希釈系列 = 8 で一次スクリーニングし、選択的細胞毒性を示す可能性がある素材を陸生植物 4 種、水生植物 1 1 種、その他 1 種、計 1 6 種得た。一次スクリーニングで得られた 1 2 種類を検体数 = 8，希釈系列 = 5 で二次スクリーニングしたところ、選択的細胞毒性を示した素材を陸生植物 3 種、水生植物 7 種、その他 1 種、計 1 1 種得た。1 1 種の素材を表 1 に示す。また、マクリとクビレツタについては生存率を比較した図 1 と図 2 を示す。

表 1 皮膚がん細胞に対して選択的毒性を示した素材

アマチャヅル	ヒオウギ・根	ダイトウワダン・茎	マクリ（海人草）
クビレツタ・可食部	パピラソソ	アカバウミウチワ	クビレオゴノリ・無囊果
ヒメモサヅキ	イソスギナ	夜光貝・内臓	

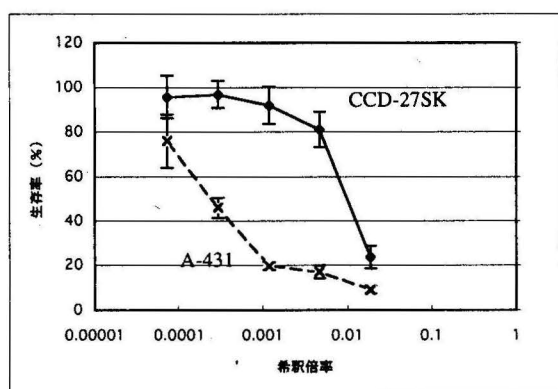


図 1 マクリ粗抽出液の皮膚由来細胞に与える影響  
CCD-27SK：正常細胞，A-431：がん由来細胞

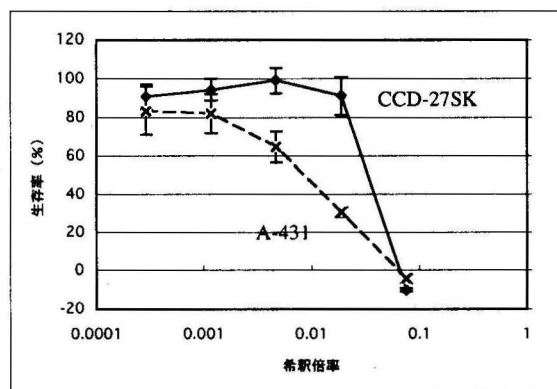


図 2 クビレツタ粗抽出液の皮膚由来細胞に与える影響  
CCD-27SK：正常細胞，A-431：がん由来細胞

CS-Hc Cells（正常肝細胞）と HepG2（肝癌細胞）については、検体数 = 1，希釈系列 = 8 で一次スクリーニングし、選択的細胞毒性を示す可能性がある素材を陸生植物 1 3 種、水生植物 1 種、その他 1 種、計 1 5 種得た。一次スクリーニングで得られた 1 5 種類を検体数 = 8，希釈系列 = 5 で二次スクリーニングしたところ、選択的細胞毒性を示したモモタマナ・幹 1 種得た。その生存率比較した結果を図 3 に示す。

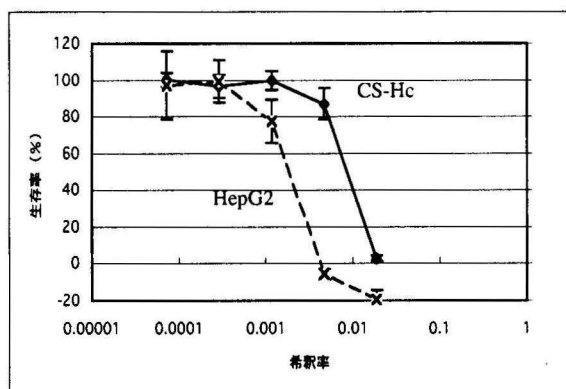


図 3 モモタマナ（幹）粗抽出液の皮膚由来細胞に与える影響  
CS-Hc：正常細胞，HepG2：がん由来細胞

WI-38（正常肺細胞）と A549（肺癌細胞）については、検体数 = 1，希釈系列 = 8 で一次スクリーニングし、選択的細胞毒性を示す可能性がある素材を陸生植物 1 種、水生植物 3 種、計 4 種得た。現在検体数 = 8，希釈系列 = 5 で 2 次スクリーニング中である。