

生体内脂質過酸化に及ぼすシイタケ菌糸体抽出物 (L.E.M.) の影響

中村リサ¹, 渡邊愛子^{*,1}
猪木彩子¹, 為定誠¹

(2004年3月29日受付; 2005年2月28日受理)

要旨: シイタケ菌糸体抽出物 (extract of cultured *Lentinus edodes* mycelia : L.E.M.) の生体内脂質過酸化に及ぼす影響を検討した。L.E.M. の抗酸化活性をチオシアネート法で測定した結果、リノール酸酸化に対する抑制効果が認められた。また、生体内の脂質過酸化反応に及ぼす影響を調べた。ラットに多価不飽和脂肪酸の多い魚油を過剰投与すると血清中の過酸化脂質が著しく増加したが、あらかじめ L.E.M. を投与することにより抑制された。また、過酸化処理したコーン油はラットに軽度肝障害を惹起させたが、L.E.M. は血清トランスアミナーゼ活性および過酸化脂質の上昇を有意に抑制し、軽度肝障害に対する防御効果を示した。L.E.M. は抗酸化作用を有することで生体内における過酸化脂質の生成を抑制し、脂質過酸化反応が誘導する軽度肝障害に対し有効であることが示唆された。

キーワード: シイタケ菌糸体抽出物 (L.E.M.), 過酸化脂質, 抗酸化作用, 肝臓, 肝障害

活性酸素やフリーラジカルによる脂質過酸化反応は、さまざまな疾患に密接に関連している¹⁾。

脂質は、生命の維持に不可欠の栄養素であり、細胞膜を構成する主要な物質であるが、活性酸素やフリーラジカルを受けて酸化され、過酸化脂質を生成することが知られている。好気性生物では、過酸化脂質生成の起因となる活性酸素やフリーラジカルがミトコンドリア、ミクロソーム、白血球膜などで常に生じており、生体にさまざまな酸化ストレスを与える。また、食品素材中には、過酸化脂質を含有するもの、代謝された際にフリーラジカルや過酸化脂質を生成するものが多数存在し、これらは体内での脂質の過酸化反応を促進する²⁻⁶⁾。連鎖反応を介して生じた過酸化脂質は、蓄積することにより生体膜障害を引き起こす。

生体には、もともと抗酸化物質をはじめとした種々の防御機構が備わっている⁷⁾。脂質代謝の中心ともいえる臓器が肝臓であるが⁸⁾、肝臓では特にフリーラジカルの消去機能が強く、過酸化脂質が生体内で無秩序な酸化障害に進まないように防止するといわれている⁹⁾。しかし、脂質を過剰に摂取することで消去機能を上回ってしまう場合がある。また、身体機能が不調であるときには、非酵素的にフリーラジカルを生じ、脂質が過酸化されやすい²⁾¹⁰⁾。無秩序に過酸化脂質が生成されると、生体膜の損傷やそれに伴って生じる二次的な障害のために、個体の

ホメオスタシス (恒常性) が乱れ、たとえば、動脈硬化、肝疾患、消化器疾患、糖尿病、皮膚疾患、炎症など、さまざまな病態として現れるといわれている⁹⁾。このため、生体内過酸化脂質を抑制することは、これらの疾患を予防・治療する手段として重要であり、多くの研究がなされてきた¹⁾。

シイタケ菌糸体抽出物 (extract of cultured *Lentinus edodes* mycelia : 以下 L.E.M. と略す) は、サトウキビの搾りかすであるバガスを主成分とした固体培地に、シイタケ菌を接種し、子実体発生直前まで培養し、熱水抽出した乾燥粉末である。これまで、L.E.M. は、抗ウイルス作用¹¹⁾¹²⁾、抗腫瘍作用¹³⁾¹⁴⁾、免疫調整作用¹⁵⁾ など多彩な生理活性を有することが報告されている。特に最近では、軽度の高脂血症を伴う肝障害、アルコール性肝障害および薬剤性肝障害に対する臨床効果が報告され¹⁶⁾、肝障害に対する有用性も期待されている。また、L.E.M. は、SOD 様活性、DPPH ラジカル消去活性、ラット肝ミトコンドリア膜の脂質過酸化抑制作用などの抗酸化作用を有すること、ラジカル性肝障害モデルであるラット四塩化炭素肝障害に対する防御効果が認められたことから、肝障害防御のメカニズムの一つとして抗酸化作用があげられ、さらには脂質過酸化抑制効果が示唆されている¹⁷⁾¹⁸⁾。

これまでに、軽度の高脂血症を伴う肝障害と診断され

* 連絡者・別刷請求先 (E-mail : ai.watanabe@kobayashi.co.jp)

¹ 小林製薬株式会社研究開発カンパニー (567-0057 大阪府茨木市豊川 1-30-3)

た者に対し L.E.M. を 3 カ月間摂取 (1,800 mg/日) させると、血清中の AST, ALT 値が有意に低下し、L.E.M. に肝機能改善効果のあることが示されている¹⁶⁾。

そこで、今回われわれは、その作用機序の一部を解明することを目的として、ラットに種々の脂質を大量投与することで生体内脂質過酸化を誘導し、肝障害を誘発させ、これに対する L.E.M. の効果について検討したので、ここに報告する。

実験方法

1. シイタケ菌糸体抽出物 (L.E.M.)

L.E.M. は溝口らの方法¹⁹⁾ を応用して作製した。

シイタケ菌をバガス (サトウキビの搾りかす) と脱脂米糠を含む固体培地に接種し、発芽前まで培養する。菌糸体が蔓延した固体培地を解束し、水および酵素 (セルラーゼ, プロテアーゼ) を 30-55°C の温度に保ちながら添加, 上記固体培地を摩砕する。次に, 90°C まで加熱することにより酵素を失活させるとともに滅菌し, 得られた懸濁液を濾過することによってシイタケ菌糸体抽出液を得る。これを殺菌, 濃縮, 凍結乾燥して粉末としたもの (L.E.M.) を用いた。L.E.M. は褐色粉末で, 吸湿性があり, 特異な味と臭いを有する。水に溶けるが, 微量の不溶物を含む。L.E.M. の一般成分分析を行った結果, 水分: 約 4.1%, タンパク質: 約 34%, 脂質: 約 0.9%, 糖質: 約 34%, 繊維: 約 0.6%, 灰分: 約 26.4% であった。さらに, L.E.M. に含まれる成分としてはポリフェノール: 約 3.3% が確認できている。また, L.E.M. は (株) M・O・N (東京) より入手した。

2. リノール酸の自動酸化に及ぼす L.E.M. の作用

2.1 材料の調製 試料溶液として, L.E.M. の 1.0, 0.5, 0.25 mg/mL 水溶液を作製した。また, コントロールとしてビタミン E (VE) の 0.25 mg/mL 溶液を作製した。リノール酸 (和光純薬工業(株)) 0.28 g を 99.5% エタノール 20 mL で溶解した後, 100 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0) で全量を 100 mL とし, 10 mM リノール酸溶液を作製した。塩化第一鉄試薬としては, 塩化バリウム (和光純薬工業(株)) 0.5 g, 硫酸第一鉄 (和光純薬工業(株)) 0.6 g を蒸留水 20 mL で溶解後, 濃塩酸 10 mL を添加, 攪拌し, 静置後の上清を用いた。

2.2 過酸化物の測定 リノール酸の酸化により生成した過酸化物をチオシアネート法²⁰⁾²¹⁾ を応用することにより測定した。すなわち, 試験管に 10 mM リノール酸溶液 3 mL と試料溶液を各 0.03 mL ずつ添加し, 50°C でインキュベートした。また, これらの反応液 0.1 mL を経時的に採り, 75% エタノール 4.7 mL の入った試験管に添加後, 攪拌混合した。さらに, 30% チオシアニドアンモニウム水溶液 0.1 mL と塩化第一鉄試薬 0.1 mL を加えて攪拌し, 3 分間放置発色させ, 500 nm における吸光度を測定した。ブランクとして, 10 mM リノール酸 3 mL とサンプル 0.03 mL を添加し, 4°C にて静置した

ものを用いた。

3. 各オイル投与による生体内脂質過酸化の誘導と L.E.M. の影響

3.1 実験動物 実験動物として, 11 週齢の Wistar 系雄性ラット (日本 SLC (株)) を供試した。室温 25±2°C, 湿度 50±5%, 12 時間の明暗サイクル (明期 8:00-20:00) 下で 1 週間予備飼育した後, ランダムに 6 群 (1 群 5 匹) に分けた。試験期間中の飼料 (マウス・ラット用固型飼料; ラボ MR ストック, 日本農産工業(株)) および水は自由摂取とした。

なお, 本試験は「小林製薬(株)動物実験委員会」の承認を得て, 「小林製薬(株)実験動物に関する指針」ならびに「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」(昭和 55 年 3 月総理府告示第 6 号) に準じて実施した。

3.2 オイルの調製 生体内脂質過酸化を誘導するオイルとして, 魚油²²⁾²³⁾ および過酸化コーン油²⁴⁾²⁵⁾ の 2 種類を準備した。

魚油は, DHA-46 (日本水産(株); DHA 46%, EPA 5.0% 含有) を使用した。多価不飽和脂肪酸の自動酸化を防ぐため, 窒素気流下にて遮光保存した。

過酸化コーン油は, コーン油 (和光純薬工業(株)) を 180°C にて 12 時間加熱して作製した。最初の 1 時間は酸素を注入しながら加熱し, それ以降はピペットでときどき空気を注入した。この操作により, コーン油の過酸化脂質量は 120.5 μM/mL から 1287.7 μM/mL に増加した。

3.3 ラット処置 各オイル (魚油, コーン油, 過酸化コーン油) は, 胃ゾンデを用いて 1 日 1 回 (9:30-10:30) ラットに強制的に経口投与し, これを 10 日間続けた。各オイルの投与量に関しては, 10, 16, 20 mL/kg/日 で予備実験を行い, 血清中 AST, ALT 値の十分な上昇が認められる, 魚油: 10 mL/kg/日, コーン油および過酸化コーン油: 20 mL/kg/日 を本試験の投与量とした²²⁻²⁷⁾。被験物質である L.E.M. は, 予備実験として 300, 600 mg/kg/日 を投与し, より効果の高かった 600 mg/kg/日 を本試験の投与量として設定した。L.E.M. は, 60 mg/mL の水懸濁液を作製し, 魚油または過酸化コーン油の投与 30 分前に経口投与し, 10 日間続けた。各群の投与物質および投与量を以下に示す。Normal 群: オイルを投与せずに飼育した。Fish oil 群: 水 10 mL/kg/日 を投与後, 魚油 10 mL/kg/日 を投与した。Fish oil+L.E.M. 群: L.E.M. 懸濁液 10 mL/kg/日 を投与後, 魚油 10 mL/kg/日 を投与した。Corn oil 群: 水 10 mL/kg/日 を投与後, コーン油 20 mL/kg/日 を投与した。Peroxidized oil 群: 水 10 mL/kg/日 を投与後, 過酸化コーン油 20 mL/kg/日 を投与した。Peroxidized oil+L.E.M. 群: L.E.M. 懸濁液 10 mL/kg/日 を投与後, 過酸化コーン油 20 mL/kg/日 を投与した。

ラットは, 各オイルの最終投与から 2 時間後, エーテル麻酔下で開腹し, 腹下大静脈から採血し, 血清中の脂

質値とトランスアミナーゼ値の測定を行った。また、肝臓は生理食塩水にて灌流した後摘出し、その重量を測定した。

3.4 血液学的検査 過酸化脂質は八木別法²⁸⁾により、AST および ALT は日本臨床化学会 (JSCC) 標準化対応法²⁹⁾³⁰⁾により測定した。

4. 統計処理

それぞれの測定結果は平均値±標準偏差 (mean±SD) で示し、各群間の有意差検定は Tukey の方法により行い、*p*<0.05 で有意とした。

実験結果

1. リノール酸の自動酸化に及ぼす L.E.M. の作用

リノール酸の酸化により生成した過酸化物を 500 nm における吸光度により測定した。インキュベート開始から 0, 24, 48, 72 時間後の吸光度を測定した結果、L.E.M. 未添加では 500 nm における吸光度は時間経過に伴い増加したのに対し、L.E.M. の添加により濃度依存的に吸光度の増加抑制が認められた。72 時間後の吸光度においては、L.E.M. 濃度 1.0 mg/mL では未添加に比べ約

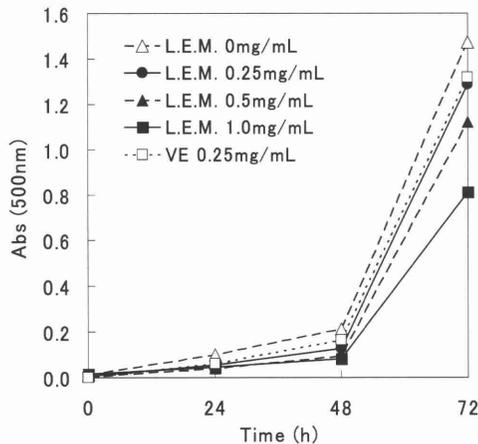


図 1 リノール酸の自動酸化に及ぼす L.E.M. の効果

リノール酸の酸化により生成した過酸化物を吸光度 (500 nm) により測定した。

45.1%, 0.5 mg/mL では約 23.8%, 0.25 mg/mL では約 12.6%の抑制率を示した (図 1)。

2. 脂質投与による生体内脂質過酸化に及ぼす L.E.M. の影響

2.1 体重変化および肝臓重量 10 日間の試験後のラット体重および肝臓重量の変化を表 1 に示す。

Fish oil 群, Fish oil+L.E.M.群, Corn oil 群, Peroxidized oil 群, Peroxidized oil+L.E.M. 群の 5 群では、Normal 群に比べ体重増加が少ない傾向にあり、特に Peroxidized oil 群では、Normal 群に比べ有意に体重増加割合が小さかった。

肝臓は、特に Fish oil 群で肥大化し、ラット体重あたりの肝臓の割合 (相対肝重量) が大きく、Normal 群に比べ有意に増加した。しかし、Fish oil+L.E.M. 群ではその肝臓の肥大化を有意に抑制した。一方、Peroxidized oil 群では Normal 群, Corn oil 群に比べ、相対肝重量が増加傾向にあり、L.E.M. 投与 (Peroxidized oil+L.E.M. 群) により増加を抑制する様相にあったものの、有意な差は認められなかった。

2.2 血清中の過酸化脂質量 血清中の過酸化脂質量を、図 2 に示す。

Corn oil 群および Peroxidized oil 群では、血清中の過酸化脂質量がそれぞれ 4.6±1.6 nmol/mL, 5.9±0.9 nmol/mL となり、Normal 群 1.8±0.2 nmol/mL に比べ有意に増加した。これに対し、Peroxidized oil+L.E.M. 群では 1.3±0.8 nmol/mL を示し、過酸化脂質の増加を有意に抑制、Normal 群と同等の過酸化脂質量を示した。

また、Fish oil 群においても、血清中の過酸化脂質量は著しく増加し、Fish oil+L.E.M. 群では、それを抑制する様相にあった。

2.3 血清トランスアミナーゼ 血清トランスアミナーゼ (AST, ALT) の値を、図 3 に示す。

Peroxidized oil 群では、Normal 群に比べて血清中の AST, ALT 値の有意な増加が認められた。Corn oil 群ではこれらの血清値の大きな上昇は認められなかった。

Peroxidized oil+L.E.M. 群では、これらの血清値の上昇

表 1 ラットの体重および肝臓重量に対する L.E.M. の効果

	Body weight (g)		Final BW /Initial BW (%)	Liver weight (g)	Liver weight /BW (%)
	Initial	Final			
I Normal	233±11	258±13	110±5 ^a	10.7±1.2	4.17±0.41 ^a
I Fish oil	226±11	245±10	108±2 ^a	12.7±1.4	5.16±0.42 ^b
I Fish oil+L.E.M.	224±8	238±8	106±1 ^a	10.1±0.8	4.28±0.43 ^a
II Normal	233±11	258±13	110±5 ^a	10.7±1.2	4.17±0.41 ^a
II Corn oil	224±9	239±13	107±2 ^{ab}	9.5±0.9	3.95±0.27 ^a
II Peroxidized oil	229±9	238±10	104±2 ^b	10.6±0.7	4.46±0.28 ^a
II Peroxidized oil+L.E.M.	229±15	243±13	106±2 ^{ab}	10.5±0.2	4.32±0.22 ^a

結果は平均値±標準偏差 (mean±SD) で示す (n=5)。^{a,b}異なるアルファベットの付いた数値間は 5%水準で有意差を示す。

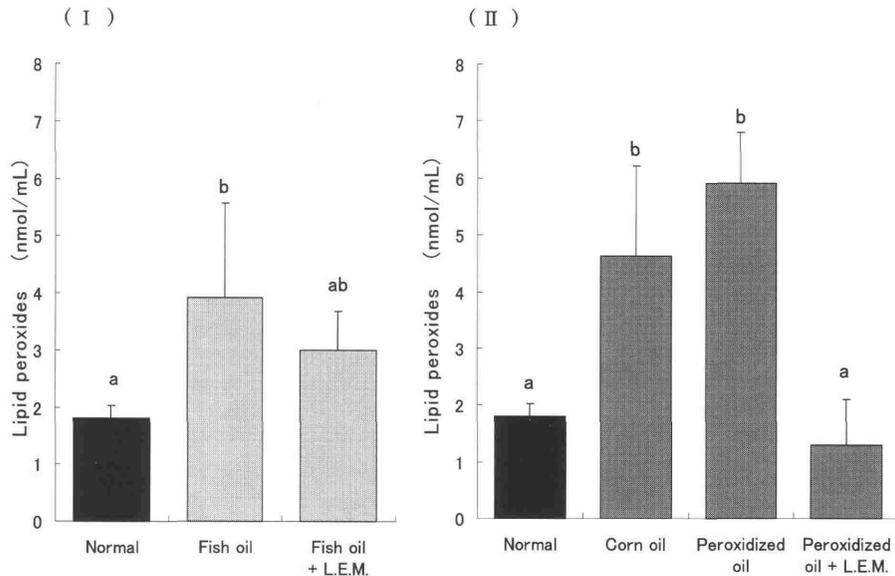


図2 血清過酸化脂質に対するL.E.M.の効果

(I) Fish oil系, (II) Corn oil系。Normal: オイル無投与群, Fish oil: 魚油 (10 mL/kg/日)・水 (10 mL/kg/日) 投与群, Fish oil+L.E.M.: 魚油 (10 mL/kg/日)・L.E.M. 懸濁液 (10 mL/kg/日) 投与群, Corn oil: コーン油 (20 mL/kg/日)・水 (10 mL/kg/日) 投与群, Peroxidized oil: 過酸化コーン油 (20 mL/kg/日)・水 (10 mL/kg/日) 投与群, Peroxidized oil+L.E.M.: 過酸化コーン油 (20 mL/kg/日)・L.E.M. 懸濁液 (10 mL/kg/日) 投与群。結果は平均値±標準偏差 (mean±SD) で示す ($n=5$)。^{a,b}異なるアルファベットの付いた群間は5%水準で有意差を示す。

を有意に抑制していた。

また, Fish oil 群でも, 血清中の AST, ALT 値に上昇が認められた。これに対し, Fish oil+L.E.M. 群では血清中への AST の流出を抑制する傾向にあり, ALT の流出に関しては有意な抑制効果を示した。

考 察

今回われわれは, 生体内脂質過酸化に対し, L.E.M. がどのような作用を及ぼすのか検討した。

まず, L.E.M. 自体が不飽和脂肪酸に与える影響を *in vitro* にて検討した。不飽和脂肪酸の内, 体内では, ビスアリル位水素 (二重結合にはさまれたメチレン基の水素) をもつアラキドン酸やリノレン酸, リノール酸は自動酸化されやすいといわれている¹⁾。そこで, 中でも自動酸化機構が比較的単純な様相を呈するリノール酸に着目し, 試験を行った結果, L.E.M. は, リノール酸酸化を濃度依存的に抑制することが明らかとなった。

続いて, 魚油および過酸化油投与による生体内脂質過酸化に及ぼす L.E.M. の影響を *in vivo* にて検討した。

魚油は, 1970年代のはじめ Dyerberg *et al.* の疫学調査に始まり, 現在では血漿脂質低下作用や動脈硬化予防作用など, その有効性が多数報告されているが, 一方で魚油は多価不飽和脂肪酸を多く含むため, 過剰摂取により, 過酸化脂質の生成・蓄積, 脂肪酸バランスの乱れを引き起こし, 生体調節機能への障害や, 膜透過性, 酵素活性に影響を及ぼすといわれている³¹⁻³³⁾。特に, 過酸化

脂質の生成・蓄積による肝臓への影響は大きいと考えられる。

そこで, 本研究において, ラットに魚油を大量経口投与したところ, 血清中の過酸化脂質量が著しく増加し, 血清トランスアミナーゼ活性の上昇が認められた。今回, 組織学的な検討を行っていないため, 魚油投与による肝機能障害あるいは脂肪肝の惹起とは断定できないものの, 魚油投与により肝臓内で大量に生成された過酸化脂質が肝細胞に障害を与え, AST, ALT 流出の要因となっていることが考えられた。これに対し, L.E.M. をあらかじめ投与することにより, 過酸化脂質の生成・蓄積を抑制し, 肝細胞膜障害を抑制, 血清中への AST, ALT の流出を阻止する効果が認められた。魚油の過剰摂取による血清および肝臓への過酸化脂質の蓄積は, α -トコフェロールの含量に影響を受けることなどから, 抗酸化剤の有用性が報告されている³⁴⁾。以上の結果より, L.E.M. は, 魚油過剰摂取により誘発される脂質過酸化反応に対し, 抗酸化作用によって肝細胞膜の過酸化を抑制し, 肝細胞を保護することが示唆された。

一方, 過酸化処理したコーン油は, ラットに大量投与すると脂肪肝および軽度肝障害を誘発することが報告されている²⁴⁻²⁷⁾。この組織障害性の発現機構については未だ明確になっていないが, 摂取された脂質過酸化物は, 一部はそのままの形で, また一部は消化管内で代謝分解を受けてアルデヒド類となり体内に吸収されると考えられている³⁵⁾。

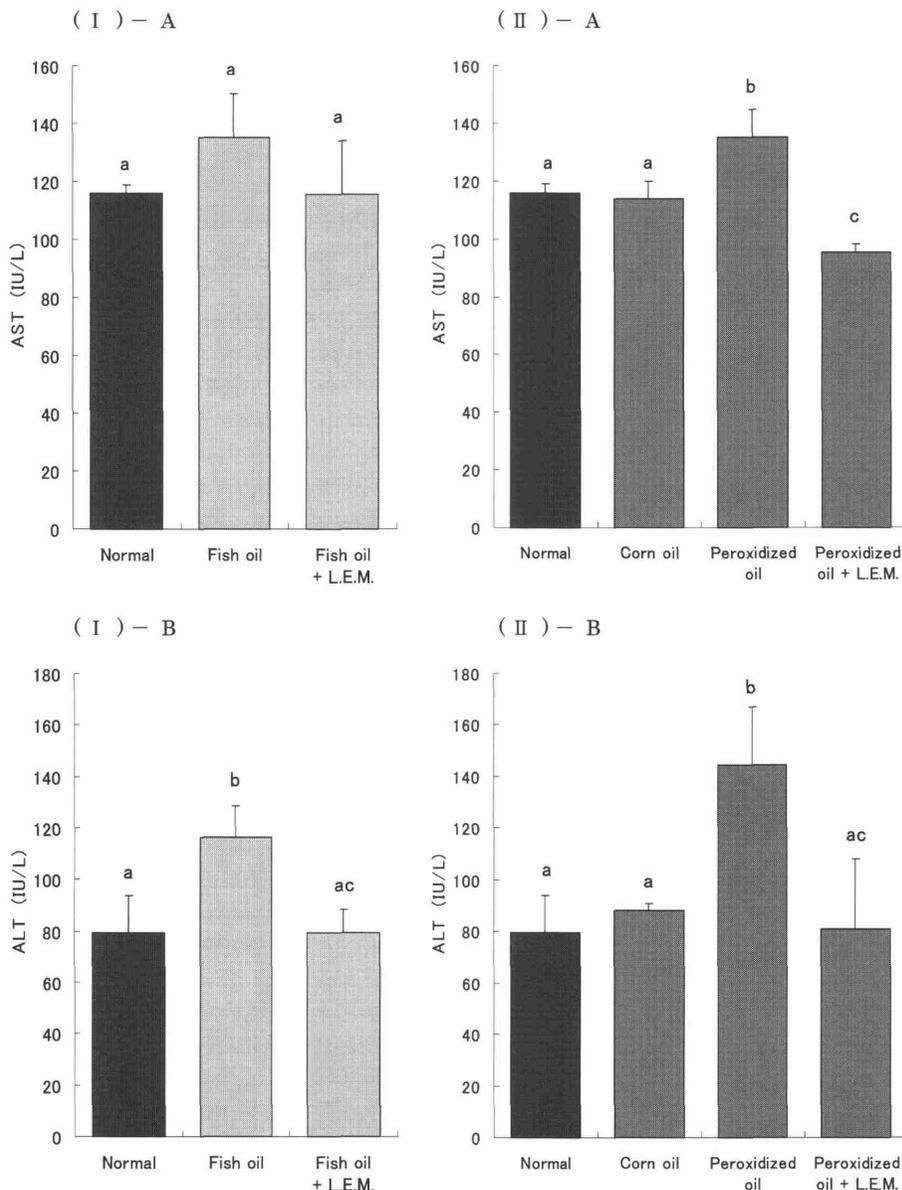


図 3 血清トランスアミナーゼに対する L.E.M. の効果
 (I) Fish oil 系, (II) Corn oil 系, (A) AST, (B) ALT。Normal: オイル無投与群, Fish oil: 魚油 (10 mL/kg/日)・水 (10 mL/kg/日) 投与群, Fish oil+L.E.M.: 魚油 (10 mL/kg/日)・L.E.M. 懸濁液 (10 mL/kg/日) 投与群, Corn oil: コーン油 (20 mL/kg/日)・水 (10 mL/kg/日) 投与群, Peroxidized oil: 過酸化コーン油 (20 mL/kg/日)・水 (10 mL/kg/日) 投与群, Peroxidized oil+L.E.M.: 過酸化コーン油 (20 mL/kg/日)・L.E.M. 懸濁液 (10 mL/kg/日) 投与群。結果は平均値±標準偏差 (mean±SD) で示す (n=5)。^{a,b,c}異なるアルファベットの付いた群間は5%水準で有意差を示す。

本研究では、過酸化コーン油の投与によって軽度肝障害が惹起されたが、L.E.M. 投与により血清中のトランスアミナーゼ、過酸化脂質量に有意な改善効果が認められた。さらに、生成したアルデヒド類は酸化を受けることで障害性を発揮するが³⁵⁾、L.E.M.の抗酸化作用によってこの酸化反応を抑制し、肝細胞の障害を抑制したと示唆される。

寺田らは、L.E.M. が二価鉄の酸化作用および三価鉄還元作用を有することを報告している¹⁸⁾。この結果は、L.E.M. が食餌からの摂取あるいは体内で生成する過酸

化脂質に対し、細胞障害性をもつラジカルへの代謝を抑制すること、また、脂質過酸化の連鎖反応を抑制することを示唆している。

また、L.E.M. の成分分析については現在進めているところであるが、L.E.M. はポリフェノール(3.3%)を含有していることが確認できている。ポリフェノールにはフリーラジカルの酸化を抑制する効果があり³⁶⁾、われわれは、このポリフェノールが L.E.M. の抗酸化活性あるいは、肝保護効果に関連しているのではないかと考えているが、これについては今後さらなる検討が必要である。

以上の結果を考慮すると、L.E.M. は、①不飽和脂肪酸の酸化を抑制し過酸化脂質の生成を抑制すること、②経口摂取や新たに生成した過酸化脂質に対して連鎖反応を抑制すると同時に障害性のあるラジカルへの代謝を抑制すること、③L.E.M.の抗酸化作用によりアルデヒド類などの酸化を抑制することから、生体内脂質過酸化がもたらす肝障害を防御することが明らかとなった。

文 献

- 1) 内山 充, 松尾光芳, 嵯峨井勝 (1988) 過酸化脂質と生体. 学会出版センター, 東京.
- 2) 篠 囿彦 (1984) 健康食品のカテゴリー. *New Food Industry* **26**, 59-67.
- 3) 小島義樹, 黒田圭一, 鄭 承鏞, 印南 敏 (1982) 週齢の異なる高コレステロール血症ラットの血清及び肝臓の脂質成分に及ぼす魚油投与の影響. 国立栄養研究所研究報告 **31**(19), 19-24.
- 4) Yasuda S, Watanabe S, Kobayashi T, Okuyama H (1997) Docosahexaenoic acid-rich fish oil does not enhance the elevation of serum transaminase and liver triacylglycerol induced by carbon tetrachloride in mice. *Lipid* **32**: 1249-55.
- 5) Morimoto M, Zern MA, Hagbjörk AL, Ingelman-Sundberg M, French SW (1994) Fish oil, alcohol, and liver pathology: role of cytochrome P450 2E1. *Proc Soc Exp Biol Med* **207**: 197-205.
- 6) 島田修史, 安田 寛, 武森重樹 (1988) ミクロソーム. 蛋白質 核酸 酵素 **33**(16), 2737-43.
- 7) 織田敏次, 鈴木 宏, 岡 博 (1980) 肝臓の病気. 中外医学社, 東京.
- 8) 板倉弘重 (2002) アンティ・オキシダントの展望. 栄養-評価と治療 **19**, 293-8.
- 9) 二木鋭雄, 島崎弘幸, 美濃 真 (1996) 抗酸化物質. 学会出版センター, 東京.
- 10) 鈴木秀和, 末松 誠, 加藤真三, 石井裕正, 土屋雅春 (1991) 肝疾患とフリーラジカル. *J Act Oxyg Free Rad* **2**, 601-7.
- 11) Tochikura TS, Nakashima H, Ohashi Y, Yamamoto N (1988) Inhibition (*in vitro*) of replication and of the cytopathic effect of human immunodeficiency virus by an extract of the culture medium of *Lentinus edodes* mycelia. *Med Microbiol Immunol* **177**: 235-44.
- 12) Sorimachi K, Niwa A, Yamazaki S, Toda S, Yasumura Y (1990) Anti-viral activity of water-solubilized lignin derivatives *in vitro*. *Agric Biol Chem* **54**: 1337-9.
- 13) Sugano N, Hibino Y, Choji Y, Maeda H (1982) Anticarcinogenic actions of water-soluble and alcohol-insoluble fractions from culture medium of *Lentinus edodes* mycelia. *Cancer Lett* **17**: 109-14.
- 14) Sugano N, Choji Y, Hibino Y, Yasumura S (1985) Anticarcinogenic action of an alcohol-insoluble fraction (LAP1) from culture medium of *Lentinus edodes* mycelia. *Cancer Lett* **27**: 1-6.
- 15) 市川裕三, 溝口靖紘, 小林絢三, 森沢成司 (1991) 腹腔滲出マクロファージの細胞内遊離カルシウムイオン濃度に及ぼす椎茸菌糸体培養抽出物 (LEM) の影響. 和漢医薬学会誌 **8**, 162-6.
- 16) 梶本修身, 山口康代, 竹内豊実, 難波俊夫, 島田あかね, 松本和雄, 清水隆之, 岩野正宏, 高橋 励 (2000) シイタケ菌糸体抽出物における境界域および軽度肝機能障害に対する臨床的検討. 日本臨床栄養学会雑誌 **22**, 22-31.
- 17) 織田真智子, 大島佳奈, 東野英明, 中村リサ, 為定誠 (2003) 脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) に対する椎茸菌糸体抽出物の作用. 新薬と臨床 **52**, 1504-12.
- 18) 寺田 弘, 大原豊実, 山口康代, 上田太郎, 浅野健治 (2001) 椎茸菌糸体抽出物の四塩化炭素肝障害に対する防御効果. 新薬と臨床 **50**, 655-64.
- 19) Mizoguchi Y, Katoh H, Kobayashi K, Yamamoto S, Morisawa S (1987) Protection of liver cells against experimental damage by extract of cultured *Lentinus edodes* mycelia (LEM). *Gastroenterol Jpn* **22**: 459-64.
- 20) Gow-Chin Yen, Chiu-Luan Hsieh (1997) Antioxidant Effects of Dopamine and related compounds. *Biosci Biotechnol Biochem* **61**: 1646-49.
- 21) Tsuda T, Osawa T, Nakayama T, Kawakishi S, Ohshima K (1993) Antioxidant activity of pea bean (*Phaseolus vulgaris* L.) extract. *J Am Oil Chem Soc* **70**: 909-13.
- 22) Chung SY, 小島義樹, 黒田圭一, 西出英一, 印南敏 (1984) 魚油投与ラットにおける過酸化脂質の生成とその防止に関する研究. 栄養学雑誌 **42**, 31-41.
- 23) 小島義樹, 細山田康恵, 黒田圭一 (1995) EPA およびDHA濃縮油投与ラットの体内過酸化脂質生成. 千葉県立衛生短期大学紀要 **14**(2), 9-13.
- 24) 木村善行, 奥田拓道, 有地 滋 (1983) カキ (*Ostrea gigas* Thunb.) 肉エキス ('オイスタゲン') の脂質代謝に及ぼす影響. 基礎と臨床 **17**, 3241-44.
- 25) 木村善行, 奥田拓道, 毛利和子, 奥田拓男, 有地 滋 (1984) 過酸化脂質投与ラットの脂質代謝障害に及ぼす各種茶抽出物の影響. 日本栄養・食糧学会誌 **37**, 223-32.
- 26) 大南宏治, 松岡栄子, 奥田拓道 (1985) 高脂血症に及ぼす大柴胡湯の作用. 薬理と治療 **13**, 5091-5.
- 27) 松岡栄子, 奥田拓道 (1986) 過酸化脂質投与によるラットに及ぼすコンコンプルと反鼻の影響. 基礎と臨床 **20**, 3002-4.
- 28) 八木國夫 (1997) 血清脂質ヒドロペルオキシドの簡易測定法. 臨床化学 **26**, 82-8.
- 29) 日本臨床化学会 (1989) ヒト血清中酵素活性測定の勧告法. 臨床化学 **18**, 226-49.
- 30) 日本臨床化学会 (1989) ヒト血清中酵素活性測定の勧告法. 臨床化学 **18**, 250-62.
- 31) Klaus Eder (1999) The effects of a dietary oxidized oil on lipid metabolism in rats. *Lipids* **34**: 717-25.
- 32) 細山田康恵, 小島義樹 (1997) ラット血清および肝臓中の鉄濃度の低下におよぼす多価不飽和脂肪酸摂取の影響. 千葉県立衛生短期大学紀要 **16**(1), 1-5.
- 33) 浦田尚巳 (1992) 魚油摂取ラットにおけるエンドト

- キシンの影響。近畿大学医学雑誌 **17**(1), 131-41.
- 34) 赤沢典子 (1983) ラットの生体内過酸化脂質と臓器の組織に及ぼすビタミン E 欠乏および魚油給与の影響。家政学雑誌 **34**, 133-9.
- 35) 金沢和樹 (1993) 脂質過酸化生成物の生体への影響と生理活性。J Act Oxyg Free Rad **4**, 262-70.
- 36) 津志田藤二郎 (2003) 農産物・食品に存在するポリフェノールの構造と機能。日本食品新素材研究会誌 **6**(2), 45-53.

J Jpn Soc Nutr Food Sci **58** : 217-223 (2005)

Research Note

Effect of Extract of Cultured *Lentinus edodes* Mycelia on Lipid Peroxidation *in vivo*

Risa Nakamura,¹ Aiko Watanabe,^{*1} Ayako Inoki,¹ and Makoto Tamesada¹

(Received March 29, 2004; Accepted February 28, 2005)

Summary : We studied the effect of an extract of cultured *Lentinus edodes* mycelia (LEM) on lipid peroxidation *in vivo*. The antioxidative effect of LEM was measured by the thiocyanate method. LEM was found to have a suppressive effect on the oxidation of linoleic acid. We also studied the effect on lipid peroxidation *in vivo*. When fish oil containing a large amount of polyunsaturated fatty acid was given in excess to rats, the amount of lipid peroxide increased markedly in the serum. On the other hand, when LEM was given beforehand, it suppressed this increase of serum lipid peroxide. Administration of peroxidized corn oil to rats induced mild hepatic damage. However, administration of LEM significantly suppressed the increases in serum transaminase activity and lipid peroxides, thus showing a preventive effect against mild hepatic damage. It is suggested that because of its antioxidative effect, LEM can suppress the formation of lipid peroxides *in vivo*, and prevent mild hepatic damage induced by lipid peroxidation.

Key words : extract of cultured *Lentinus edodes* mycelia (LEM), lipid peroxides, antioxidative effect, liver, hepatic damage

* Corresponding author (E-mail: ai.watanabe@kobayashi.co.jp)

¹ KOBAYASHI Pharmaceutical Co., Ltd. R&D Company, 1-30-3 Toyokawa, Ibaraki, Osaka 567-0057, Japan