

実験報告書

株式会社ゲノム創薬研究所研主任研究員 片岡啓子

2011年11月18日

カイコ筋収縮による、冬虫夏草成分の自然免疫促進活性の評価

要旨

カイコ筋収縮法において、冬虫夏草由来の検体 NtHa(FD)および NaBbr に自然免疫促進活性があることを見いだした。

導入

生物の免疫機構には、自然免疫と獲得免疫がある。自然免疫とは、抗体によらずに生体内の異物（細菌・ウイルス・癌細胞）を速やかに排除する防御機構であり、昆虫から哺乳動物に至るまで生物が共通にもっている。弊社は、東京大学大学院薬学系研究科の関水研究室との共同研究により、自然免疫の活性化に伴い、カイコの筋収縮が起こることを発見した（文献1、2）。そのメカニズムは、カイコの免疫細胞の受容体に自然免疫活性化物質が結合すると活性酸素種（ROS）が産生され、体液中のセリンプロテアーゼに作用し、これがカイコの麻痺ペプチド（BmPP）を活性化して、筋収縮をひき起こすというものである。カイコ筋収縮を指標とした自然免疫活性化物質の試験法は、マクロファージなどの培養細胞のサイトカイン産生を指標とする従来の方法とは異なり、LPS と呼ばれるグラム陰性細菌外膜の免疫活性化物質に反応しないため、検体中にごく微量混在する細菌により陽性となることなく、優れた手法である（文献3）。本研究では、カイコ幼虫の筋収縮系を用いて、冬虫夏草成分に自然免疫促進活性があるか否かを検討した。

材料

冬虫夏草成分

株式会社モノリスから供与された、下記の冬虫夏草成分を用いた。

CpGa 20mg/ml

NaBba 20mg/ml

NaBbr 20mg/ml

NaGa 20mg/ml

NtHa(FD) 20mg/ml

方法

抗生物質を含む餌を4～5日与えたカイコ5齢幼虫の断頭標本に対して、冬虫夏草成分粉末の水懸濁液、またはオートクレーブ熱水抽出液50 μ lを注射し、筋収縮値（contraction value； $C = ([\text{収縮前の長さ}] - [\text{収縮後の長さ}]) / [\text{収縮前の長さ}]$ ）を測定した（文献1）。さらにC値を縦軸に、検体の投与量を横軸にしたグラフを作成し、得られた用量応答曲線から $C = 0.15$ （これを1unitと定義）を与える検体量を求め、検体1mg当りの活性を算出した。コントロールには0.9%生理食塩水50 μ l、あるいは空気200 μ lを注射した。

結果

NaBbrの水懸濁液、NtHa(FD)の熱水抽出液をカイコ断頭標本に注射したところ、複数のサンプル量で、筋収縮が見られた（表1）。他のサンプルにおいても、NtHa(FD)を除く全てについて、容量が1点だけであるが、明確な筋収縮（C値が0.15以上）が見られた。

表1 冬虫夏草由来物質の自然免疫促進活性

検体	検体1mg当りの活性 (units/mg)	
	水懸濁液	熱水抽出液
CpGa	(1)	(3)
NaBba	(1)	(2)
NaBbr	6	(3)
NaGa	(1)	(4)
NtHa(FD)	<1	>17

注 ()付きの活性は $C = 0.15$ を超える濃度が複数なかったもの。

考察

NaBbrの水懸濁液、NtHa(FD)の熱水抽出液には、自然免疫促進活性物質が存在している、と考えられる。他のサンプルについても、活性があると期待されるが、最終的な結論を得るためには追試が必要である。

冬虫夏草について英語論文で明確な免疫活性を示した例はなく、本研究で得られた結果は新規である。

文献

1、Ishii K., Hamamoto H., Kamimura M. and Sekimizu K. (2008) Activation of the silkworm cytokine by bacterial and fungal cell wall components via a

reactive oxygen species-mechanism, *J. Biol. Chem.*, **283**, 2185-2191.

2、Ishii K, Hamamoto H, Kamimura M, Nakamura Y, Noda H, Imamura K, Mita K, Sekimizu K.(2010) Insect cytokine paralytic peptide (PP) induces cellular and humoral immune responses in the silkworm *Bombyx mori*, *J. Biol. Chem.*, **285**, 28635-28642.

3、特願 2007-102918 (平成 19 年 4 月 10 日) 「自然免疫機構を活性化／抑制する作用を有する物質の評価方法及びスクリーニング方法、並びに、自然免疫機構を活性化／抑制するための薬剤、食品及びそれらの製造方法」(株)ゲノム創薬研究所、東京大学、イマジン・グローバル・ケア (株).





