

## 機能性食品としての“シメジ” (*Pleurotus ostreatus*) : 強力な抗血小板凝集及び降圧活性

須見 洋行・矢田貝智恵子\*・磯辺みどり\*・三宅 佐和\*・松原 主典  
赤木 玲子・池田己喜子・佐々木千佳子\*\*・石井 清美\*\*\*・藤岡 諄朗\*\*\*

**要旨** 7種類の市販キノコの10倍量の蒸留水抽出分画には強力な抗血小板凝集活性の含まれることが分かった。特に、菌床栽培の“シメジ” (*Pleurotus ostreatus*) 抽出液中には、反応系 ( $220 \times 10^6$ 血小板/ml) に対して1/40容量の添加で、ADP、コラーゲンあるいはトロンビンによる血小板凝集反応を50%以上阻害する強力な抗凝集活性のあることが分かった ( $IC_{50}$  = 約20~25  $\mu$ g/ml)。

8人の成人男女ボランティアにこのシメジ抽出液 (乾燥重量約1.7g/日) を一週間経けて経口投与した結果、血小板凝集能の低下 (最大凝集能61.5%から40.9%、 $p < 0.05$ ) が起こると共に、血圧降下傾向が認められた。

**キーワード** : 機能性食品、キノコ、血小板凝集、血圧

### はじめに

1980年ミネソタ大学のHammerschmidt<sup>6)</sup> は長年の経験で中華料理 (Ma-Pou-Toufu) を食べた患者で一過性に血液凝固の抑制がみられることを知り、その原因として (キノコ類、俗に“ブラックマッシュルーム”と呼ばれるキノコ) に含まれる核酸成分AMP、アデノシンなどによる血小板凝集抑制効果を報告した。本邦でも佐塚ら<sup>7)</sup> が最近、マンネンタケ (*Gamoderma lucidium*) 中のアデノシン誘導体5'-deoxy-5'-(methyl-sulfinyl) adenosineに強い抗凝集活性を認めている。マンネンタケにはその他、生理活性物質として経口下で血圧降下に働くものも知られている<sup>8,9)</sup>。しかし、こうした血液循環系に係わる研究はいずれも一部のキノコに限られたものであって、一般消費者が日常摂取する大量生産されるような種類のものではなかった。

本研究は、大量生産の可能な菌床栽培のキノコを中心に、それら抽出液の“血のめぐり”に与える影響について比較検討したものである。特に、一般に

“シメジ”と呼ばれているキノコの抽出物がin vitroのみならず経口投与した場合でも強い抗血小板凝集活性を持ち、また、血圧を下げる効果も認められたので報告する。

### 実験方法

#### 1) 材料

菌床栽培のシメジ (*Pleurotus ostreatus*) 及びシイタケ (*Lentinus edodes*) は浅野産業バイオ研究所より、また他のキノコ類としてマッシュルーム (*Agaricus bisporus*)、エノキタケ (*Flammulina velutipes*)、ナメコ (*Pholiota nameko*)、ブナシメジ (*Lyophyllum ulmarium*)、マイタケ (*Grifora frondosa*) を岡山市内で購入した。

これらのキノコの湿重量に対して10倍量の蒸留水を加え、10分間ミキサー処理後、ガーゼ濾過及び3,000rpm、10分間の遠心分離で得られた水可溶画分を実験試料とした。また、飲料用としては95℃、5分間の熱処理を行なった後に凍結保存したものを用時解凍して用いた。

## 2) 被験者

8人の成人ボランティア(男44~63才、女26~63才)に毎日、解凍した150ml(乾燥重量として約850mg)のシメジエキスを朝及び夕食後の2回飲ませた。投与前及び投与一週間経過後の採血及び各種検査はいずれも午前10時にスタートした。

## 3) 血小板凝集活性

3.8%チトラートを含むプラスチック製注射器を用いて採られた血液(全血)より1,000rpm、10分、及び3,000rpm、10分の遠心分離でPRP(多血小板血漿)及びPPP(少血小板血漿)を分離した。血小板凝集反応は血小板数 $220 \times 10^6 / \text{ml}$ で、Nikkou Bioscience社製アグリゴメーター(HEMA TRACER 601)を用いて測定した。血小板凝集惹起剤としてADP、トロンピン(シグマ社製)、及びコラーゲン(ホルム社製)を用いた。

## 4) 凝血融解時間試験(WBCLT)

全血を用いた希釈凝血融解時間をChohanらの方法(1975)で測定した。

## 5) トロンボエラストグラフィ(TEG)

トロンボエラストグラフィ装置(Hellige社、独)のセル内に全血0.35mlを添加し記録されるパターンよりk、 $\gamma$ 、ma値を計測した。

## 6) その他の検査

安静臥位で血圧及び心電図をNEC Bioview 3000を用いて測定した。また、凍結保存した血漿あるいは血清の総コレステロール(TCHO)、トリグリセライド(TG)、HDL、過酸化脂質(PL)、尿酸(UA)、GOT、GPT、 $\gamma$ GTP、LDH、血糖(BS)などの一般血液検査は常法に従い財団法人医師会西宮健康開発センターで測定した。

## 結 果

7種類の食用キノコ類(シメジ、シイタケ、マツシユルム、エノキタケ、ナメコ、ブナシメジ及びマイタケ)の水抽出液中にはいずれもかなり強い抗血小板凝集活性が認められた(表1)。特に、シメジとシイタケはこの反応系( $220 \times 10^6$ 血小板/ml)に対して1/40量という非常に少量の添加でも約50%阻害という強い活性を示すことが分かった(図1)。

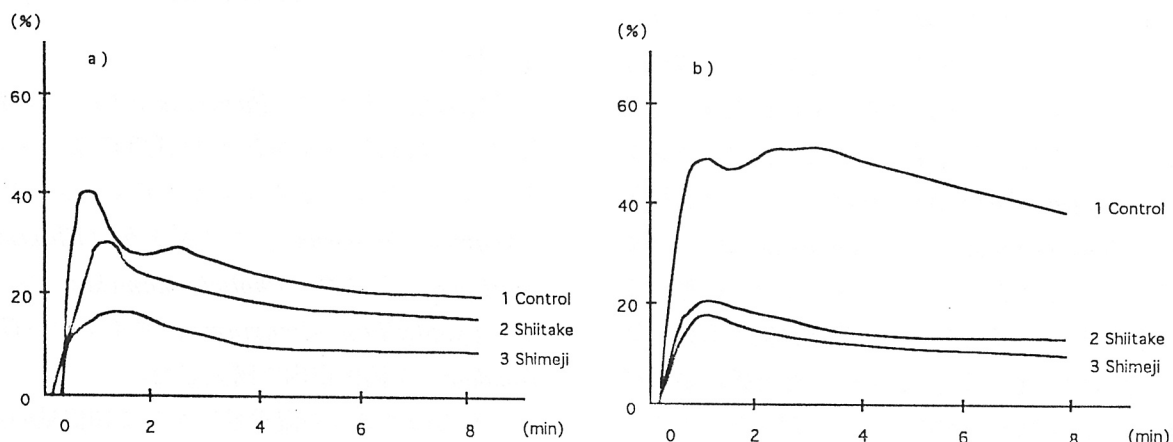


Fig. 1 Typical aggregation patterns of PRP strongly inhibited by mushroom extracts

After preincubation of  $200 \mu\text{l}$  human PRP ( $220 \times 10^6 / \text{ml}$ ),  $5 \mu\text{l}$  saline and  $5 \mu\text{l}$  shimeji or shiitake extract ( $3.8\text{--}5.1 \text{mg} / \text{ml}$  saline) for 3 min at  $37^\circ\text{C}$ , the final concentration of  $2 \mu\text{M}$  ADP was added for platelet aggregation (two different persons, a and b).

**Table 1 Inhibitory effect of mushroom extracts on platelet aggregation**

	%inhibition of Max agg. 5 min reaction
Shimeji ( <i>Pleurotus ostreatus</i> )	96.6
Shiitake ( <i>Lentinus edodes</i> )	95.2
Bunashimeji ( <i>Lyophyllum ulmarium</i> )	57.1
Maitake ( <i>Grifola frondosa</i> )	52.2
Nameko ( <i>Pholiota nameko</i> )	10.7
Mushroom ( <i>Agaricus bisporus</i> )	9.9
Enokitake ( <i>Flammulina velutipes</i> )	6.0

After preincubation of 200  $\mu$ l human PRP ( $220 \times 10^6$ /ml), 20  $\mu$ l of mushroom extract for 3 min at 37°C, the final concentration of 2  $\mu$ M ADP was added for platelet aggregation. Max aggregation of the control (containing no extract) was 76.2%

これら2種のキノコ抽出液の凝集阻害活性を比較した結果が表2であるが、ADP、コラーゲン、トロンビンなどいずれの凝集惹起物質を用いてもシメジはシイタケより約2倍強い阻害活性を示すことが分かった。これら抽出物はうすい黄褐色、粘張性の液体（乾燥重量は3.8~5.7mg/ml）であったが、いずれも阻害活性は95°C以下では、1時間加熱処理しても失活することはなかった。

機能的食品素材として実際に重要なのは in vivo でも効果があるかということである。そこで、in vitroで最も活性の強かったシメジ抽出液加熱物（乾燥重量=約5.7mg/ml）を8人の成人男女へ経口投

与してみた。即ち、空腹時に同抽出液150mlを毎日食後2回、1週間続けて飲ませた結果、表3に示すように採取された血液の血小板凝集能は8人中6人が低下すること、最大凝集率の平均値は61.5%から40.9%（ $p < 0.05$ ）に有意に減少することが分かった。また、同時に血圧測定値も減少傾向を示し、特に最高血圧の平均値は130.8mmHgから125.5mmHg（ $p < 0.1$ ）に変化した（表4）。

一方、一般血液検査値（表5）、あるいは図表には示していないがWBC、LT、心電図及びTEGパターンに変化は認められなかった。

**Table 2 Effect of mushroom extracts on platelet aggregation**

	Platelet aggregation (Max agg. %)		
	ADP (2 $\mu$ M)	Collagen (0.3 $\mu$ g/ml)	Thrombin (0.08U/ml)
Control	52.2 $\pm$ 10.9	43.2 $\pm$ 20.8	58.0 $\pm$ 28.3
+ "Shimeji" ( <i>Pleurotus ostreatus</i> )	20.0 $\pm$ 7.3	9.5 $\pm$ 3.1	34.8 $\pm$ 12.3
+ "Shiitake" ( <i>Lentinus edodes</i> )	38.3 $\pm$ 9.2	17.2 $\pm$ 5.0	43.5 $\pm$ 18.1

After preincubation of 200  $\mu$ l human PRP ( $220 \times 10^6$ /ml), 5  $\mu$ l saline and 5  $\mu$ l mushroom extract for 3 min at 37°C, ADP, collagen or thrombin was added for platelet aggregation. Values are the mean $\pm$ SD (n=6).

**Table 3 Platelet aggregation (3 $\mu$ M ADP)**

Cases	Sex/Age/wt.	Platelet aggregation (Max agg. %)			
		Before	2 hr	4 hr	1 week after
1 FT	M/63/65	72	70	53	27
2 SK	M/44/62	71	43	23	23
3 YS	M/62/75	55			31
4 OK	M/53/69	38			7
5 AM	F/49/54	77			76
6 KH	F/26/61	75			77
7 NK	F/63/48	90			72
8 AS	F/36/54	14			14

Mean $\pm$ SD                      61.5 $\pm$ 24.7 %                      40.9 $\pm$ 29.2 %  
└──────────┬──────────┘ p<0.05

**Table 4 Blood pressure**

Cases	Sex/Age/wt.	Before		1 week after	
		Systolic	Diastolic	Systolic	Diastolic
1 FT	M/63/65	137	75	125	72
2 SK	M/44/62	129	78	119	76
3 YS	M/62/75	131	88	121	83
4 OK	M/53/69	124	74	119	75
5 AM	F/49/54	125	72	135	75
6 KH	F/26/61	119	61	119	66
7 NK	F/63/48	159	79	150	71
8 AS	F/36/54	122	62	116	60

Mean $\pm$ SD    130.8 $\pm$ 12.7mmHg    125.5 $\pm$ 11.5mmHg  
└──────────┬──────────┘ 73.6 $\pm$ 8.9mmHg    72.2 $\pm$ 6.9mmHg  
└──────────┬──────────┘ p<0.1

**Table 5 Laboratory data**

Control values	TCHO mg/dl	TG mg/dl	HDL mg/dl	PL nmol/l	UA mg/dl	GOT IU/l	GPT IU/l	$\gamma$ GTP IU/l	LDH IU/l	BS mg/dl
Male (M)	130 -238	30 -140	40 -65	< 1.3	3.0 -8.0	7-36	5-39	0-48	210 -460	60 -110
Female (F)	130 -238	30 -140	48 -73	< 1.3	1.9 -6.5	7-36	5-39	0-40	210 -460	60 -110

SK (M)	TCHO	TG	HDL	PL	UA	GOT	GPT	$\gamma$ GTP	LDH	BS
Before	131	79	48	3.8	4.2	16	23	178	214	80
2 hr after	128	75	48	3.9	4.2	18	21	174	216	71
4 hr after	135	66	50	3.4	4.2	16	21	181	208	72
1 week after	114	66	46	3.3	4.5	16	18	147	209	76

FT (M)	TCHO	TG	HDL	PL	UA	GOT	GPT	$\gamma$ GTP	LDH	BS
Before	132	88	25	2.5	3.3	14	14	16	172	96
2 hr after	135	98	27	2.7	3.5	14	13	16	177	59
4 hr after	146	110	26	2.9	3.7	14	13	17	192	69
1 week after	131	79	26	2.5	3.3	15	13	15	187	90

OK (M)	TCHO	TG	HDL	PL	UA	GOT	GPT	$\gamma$ GTP	LDH	BS
Before	134	50	39	1.0	2.8	9	6	9	139	64
1 week after	129	40	40	1.5	3.1	10	5	9	131	57

YS (M)	TCHO	TG	HDL	PL	UA	GOT	GPT	$\gamma$ GTP	LDH	BS
Before	120	70	31	0.8	3.4	22	15	21	215	84
1 week after	122	65	35	1.4	4.0	18	13	22	207	70

AM (F)	TCHO	TG	HDL	PL	UA	GOT	GPT	$\gamma$ GTP	LDH	BS
Before	119	26	46	0.8	2.3	12	7	11	204	67
1 week after	110	24	48	0.8	2.7	9	4	8	186	69

KH (F)	TCHO	TG	HDL	PL	UA	GOT	GPT	$\gamma$ GTP	LDH	BS
Before	128	42	37	1.0	3.0	8	7	8	172	69
1 week after	123	52	43	0.7	2.8	8	5	7	194	52

NK (F)	TCHO	TG	HDL	PL	UA	GOT	GPT	$\gamma$ GTP	LDH	BS
Before	158	40	38	0.9	3.5	14	11	8	236	69
1 week after	154	71	40	1.0	3.7	14	13	9	239	65

AS (F)	TCHO	TG	HDL	PL	UA	GOT	GPT	$\gamma$ GTP	LDH	BS
Before	112	72	25	0.7	2.5	14	6	6	176	68
1 week after	125	86	29	0.9	3.2	17	11	6	198	65

### 考 察

“シメジ”は“シイタケ”と共に一般庶民にとっては最もポピュラーなキノコであるが、今回初めてそれらに強力な血小板凝集阻害活性の含まれることを明らかにした。特に、シメジから10倍量の蒸留水によって抽出されたものはヒトPRPのADP、コラーゲン、トロンビンによる凝集を1/40量の添加でほぼ50%阻害したが、これは乾燥重量から計算するとIC<sub>50</sub>=約20~25 $\mu$ g/mlに相当する極めて強い活性である。しかも、興味あるのはこれまでシイタケなどで報告されてきた抗凝集物質アデノシンな

どが in vitroでは作用しても in vivo(経口)では効かないのとは異なり<sup>13)</sup>、この活性物質が経口下でもヒト血小板に対して抗凝集能を示すことである。また、今回用いたシメジ抽出液には弱いながらも同時に降圧効果も認められた。

実験的高血圧ネズミ(SHR)を用いた大熊、家森らの研究<sup>15)</sup>では、高血圧に加えて特に血小板凝集能の高いもの(SHR-SP)が脳卒中を起こすことが明らかにされている。最近のシメジエキスで明らかにされている線溶亢進効果<sup>16)</sup>とも考え合わせると、理論的に“シメジ”は脳卒中予防に効果的かもしれない。作用機序については今後さらに検討

を要するが、いずれにせよ、同活性物質は大量生産のできる安価、且つ安全性の高い成人病予防目的の機能性食品素材として今後大いに応用開発が期待できよう。

### 付 記

本研究内容の一部は The International Congress on Fibrinolysis (Leuven 1994) 及び第42回日本食品科学工学会 (名古屋1995) で発表した。

### 文 献

- 1) Sumi,H., Hamada,H., Tsushima H., Mihara,H. and Muraki,H. (1987). A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean food in the Japanese diet. *Experientia*, 43: 1110-1111.
- 2) Sumi,H., Hamada,H., Nakanishi,K. and Hiratani, H. (1990). Enhancement of the fibrinolytic activity in plasma by oral administration of Nattokinase. *Acta Haematol.*, 84: 139-143.
- 3) 須見洋行 (1993). 食品由来の新しい線溶関連物質. *バイオサイエンスとインダストリー*, 51: 826.
- 4) Nakajima,N., Taya,N. and Sumi,H. (1993). Potent fibrinolytic enzyme from the lyetate of *Katsuwonus pelamis* dygestine tract: puification and characterization. *Biosci.Biotech.Biochem.*, 57: 1604-1605.
- 5) Sumi,H., Nakajima,N. and Mihara,H. (1992). Fibrinolysis relating substances in marine creatures. *Comp.Biochem.Physiol.*, 102B: 163-167.
- 6) Hammerschmidt,D.E. (1908). Chinees food and platelets. *New Eng.J.Med.*, 303: 756-757.
- 7) 佐塚正樹・福原文雄・河岸洋和・川嶋 朗・富田多嘉子 (1992). マンネンタケに含まれる血小板凝集阻害物質. *農化*, 66: 2Ga14.
- 8) 有地 滋・谿 忠人・久保道德・松田秀秋・吉村成年・桐ヶ谷紀昌 (1979). 霊芝 (*Ganoderma lucidum*, 子実体) の研究. *基礎と臨床*, 13: 4239-4253.
- 9) 林 秀雄, 村尾澤夫 (1992). キノコの化学・生化学. (水野 卓・川合正充編. p.125-126. 学会出版センター)
- 10) Tissot,J.D., Schneider,P., Hauert,J., Ruegg,M., Kruithof,E.K.O.and Bachmann,F. (1982). Isolation from human plasma of a plasminogen activator identical to urinary high mole weight urokinase. *J.Clin.Invest.*, 70: 1320-1323.
- 11) Milstone,H. (1941). A factor in normal human blood which participates in streptococcal fibrinolysis. *J.Immunol.*, 42: 109-116.
- 12) Astrup,T. and Müllertz,S. (1952). The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Archs Biochem.Biophys.*, 40: 346-351.
- 13) Dawichi,D.D., Agarwal,K.C. and Parks,R.E. (1982). Role of adenosine uptake and metabolism by blood cells in the antiplatelet actions of dipyridamole, dilazep and nitrobenzylthioinosine. *Biochem. Pharmacol.*, 34: 3965-3972.
- 14) Chohan,I.S., Vermylen,J., Singh,I., Balakrishnan, K., Verstraete,M. (1975). Sodium acetate buffer - A diluent of choice in the clot lysis time technique. *Thrombos.Diathes.Haemorrh.(Stuttg.)*, 33: 226-229.
- 15) Okuma, M. and Yamori, Y. (1976). Platelet survival studies in strokeprone spontaneously hypertensive rats (SHR-SP). *Stroke*, 7: 60-67.
- 16) Sumi,H. Matsubara,K. Yatagai,C. Ishii,K. and Fujioka,T. (1994). Strong anti-platelet aggregation and fibrinolysis potentiating activities in mushroom extracts. *Fibrinolysis*, 8: 74.

## A Functional Food “SHIMEJI” (*Pleurotus ostreatus*): Strong Anti-Platelet Aggregation and Hypotensive Activities in Water-Soluble Fraction

HIROYUKI SUMI, CHIEKO YATAGAI\*, MIDORI ISOBE\*, SAWA  
MIYAKE\*, KIMINORI MATSUBARA, REIKO AKAGI, MIKIKO IKEDA,  
CHIKAKO SASAKI\*\*, KIYOMI ISHII\*\*\*, TOMOO FUJIOKA\*\*\*

*Department of Nutritional Science, Faculty of Health and Welfare Science, Okayama Prefectural University,  
111 Kuboki, Soja-shi, Okayama 719-11, Japan.*

*\*Science and Standard Committee of Japan Technology Transfer Association (JTTAS), 4-2 Kouji-machi,  
Chiyoda, Tokyo 102, Japan.*

*\*\*Department of Clinical Chemistry, Nishinomiya Health Care Research Center, 8-3 Samedono,  
Nishinomiya-shi, Hyogo 662, Japan.*

*\*\*\*Biotechnology Research Center, Asano Industrial Co. Ltd., 3-26 Tamahara, Tamano-shi, Okayama 706,  
Japan.*

**Key words:** Functional food, Mushroom, Platelet aggregation, Blood pressure