

## 基于香蕈提取物的 NK（自然杀伤细胞）细胞活性临床试验

沟口将也<sup>1)</sup>、竹内惠美<sup>1)</sup>、江口文阳<sup>2)</sup>

Masaya Mizoguchi、Megumi Takeuchi、Fumio Eguchi

1) 株式会社 R I C O M 研究开发部

邮编 171-0022 东京都丰岛区南池袋 2-26-5

2) 东京农业大学地域环境科学部森林综合科学科

邮编 156-8502 东京都世田谷区樱丘 1-1-1

### 摘要

本试验以 10 名 50 岁 ~ 80 岁的受试者为对象，每天服用 2 支含有 200 mg 香蕈提取物的凝胶，探讨香蕈提取物增强 NK 细胞活性以及降低血氨浓度的作用。结果显示，与服用香蕈提取物之前相比，服用一个月后，受试者 NK 细胞活性显著增强，且血氨浓度显著降低。上述现象表明，通过服用香蕈提取物来降低血氨浓度，有可能增强 NK 细胞活性。

### 前言

生物体内存在多种免疫细胞，NK 细胞是淋巴细胞系统的免疫细胞之一，目前已知的能力是针对侵入体内的病毒与细胞等，通过引起细胞凋亡，或产生干扰素，抑制病毒繁殖<sup>1)</sup>。

我们身体的各项机能会随着年龄的增加而降低。NK 细胞的活性同样也会随着年龄的增加而降低，从而导致免疫力低下，对于病毒与细菌的抵抗能力降低而变得容易生病<sup>1)</sup>。尝试开展了使用食品成分的乳蛋白质<sup>2)</sup>、米曲霉<sup>3)</sup>、酸奶<sup>4)</sup>、黑醋<sup>5)</sup>提高免疫力的研究，并且确认这些物质切实具有提高身体免疫力的效果。

本试验中使用的食品成分香蕈提取物，是一种以自古以来就在全世界各地被广泛食用的蘑菇（标准中文名称：双孢蘑菇、学名：*Agaricus bisporus*）的子实体为原料的功能性食品。

迄今为止实施的人体临床试验已证明，服用香蕈提取物，具有减少血氨<sup>6)</sup>，以及减少肠内腐败产生的氨的作用<sup>7)</sup>。动物试验中已确认，通过对乳用小牛进行香蕈提取物的经口给药，可降低粪便中的氨浓度<sup>8)</sup>。上述结果表明，香蕈提取物具有减少血氨与肠内氨的作用。

另一方面，已知血氨会抑制免疫细胞的活性<sup>9)</sup>。本试验通过香薷提取物减少血氨的作用，评估NK细胞活性作用，并且探讨了香薷提取物的免疫激活作用。

## 1. 试验方法

### 1) 受试者的选择与排除基准

受试者对象为，在入住札幌市内的老人保健设施的50岁~80岁的中老年人中挑选10人作为本试验的受试者。此外，有以下病史及用药史者排除在本试验的试验对象外：1) 使用免疫抑制剂者，2) 可能患有慢性关节炎、风湿病等自我免疫疾病者，3) 患有肾脏疾病者，4) 患有肝脏疾病者。

### 2) 试验饮料与服用方法

试验饮料为添加了株式会社RICOM生产的香薷提取物粉末(BX100FPD)的凝胶饮料，每支容量160ml，香薷提取添加量为200mg。

服用方法为，每位受试者每天早晚各1次，每次服用1支含有香薷提取物的凝胶饮料，连续服用1个月。

### 3) 检查方法及检查项目

在开始服用试验饮料前以及开始服用1个月以后各1次，采集各受试者血液12ml，测量血氨浓度与NK细胞活性。

## 2. 检查项目

### 1) 血氨浓度

将用于氨浓度测量的1ml血液注入含有4ml脱蛋白质液的采血管内，然后使用奥田、藤井的“血氨直接比色定量法”的改良方法<sup>10)</sup>，测量血氨浓度。

### 2) NK细胞活性

使用离心分离法从采集自受试者的血液中收集单核细胞，并调配细胞浓度，以确保细胞生存率在95%以上。然后，使用进行过浓度调配的白血病细胞K562细胞作为靶细胞，使用铬法测量4小时NK细胞活性。将100 $\mu$ l的PBS(磷酸缓冲生理盐水)与K562细胞，按照50:1的比例在96孔微孔板中混合，并在含有5%CO<sub>2</sub>的空气中，保持在37℃4小时，然后收集上清液，使用伽玛计数器测量了放射活性。所有的分析均在n=3的条件下进行，

并且活性值以平均值计算。使用(测量值 - 自发活性值) / (最大值 - 自发活性值) × 100 的公式，计算了细胞损伤性比例。

### 3. 统计分析

血氨浓度以及细胞活性方面，进行正态性检验发现，两者的数据分布呈正态分布，因此，使用“对应的 t 检验”进行了统计分析。所有的统计处理均将 5% 作为显著性水平。

### 4. 结果

#### 1) NK 细胞活性的分析结果

10 名受试者服用香蕈提取物前以及服用 1 个月以后的 NK 细胞活性 (%) 的个人的数值、平均值以及标准偏差的比较如表 1 所示，个人的 NK 细胞活性变化以及平均值如图 1 所示。与服用前相比，所有受试者的 NK 细胞活性在 1 个月后均增加，并且确认平均值从服用前的 26.55% 显著增加至服用 1 个月后的 40.92% ( $P < 0.01$ )。

#### 2) 血氨浓度的分析结果

10 名受试者的香蕈提取物服用前与服用 1 个月后的血氨浓度的个人的数值、平均值以及标准偏差的比较如表 2 所示，个人的血氨浓度的变化以及平均值如图 2 所示。与服用前相比，90% 的受试者的血氨浓度在服用 1 个月后呈降低态势，平均值从服用前的  $131.5 \mu\text{g/dL}$  变为服用后的  $107.7 \mu\text{g/dL}$ ，呈显著降低 ( $P < 0.01$ )。

表1 NK细胞活性的变化

|      |    | 服用前   | 服用后   |
|------|----|-------|-------|
| 1    | ST | 42.17 | 57.03 |
| 2    | KS | 23.33 | 44.07 |
| 3    | NY | 30.13 | 65.10 |
| 4    | OF | 17.10 | 26.13 |
| 5    | OS | 34.07 | 52.10 |
| 6    | SG | 19.33 | 30.13 |
| 7    | KS | 10.03 | 18.07 |
| 8    | KA | 22.07 | 32.23 |
| 9    | NR | 25.13 | 37.03 |
| 10   | SK | 42.20 | 47.27 |
| 平均值  |    | 26.55 | 40.92 |
| 标准偏差 |    | 10.57 | 14.79 |

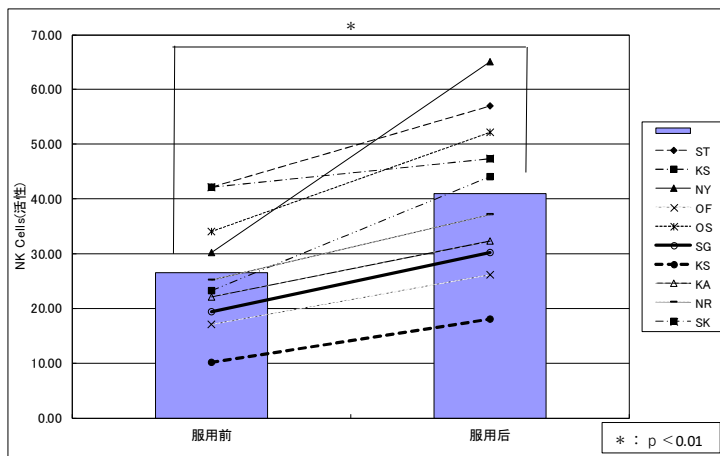


图1 香草提取物的服用前后NK细胞活性的变化

表2 血氨 ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ) 的变化

|      |    | 服用前   | 服用后   |
|------|----|-------|-------|
| 1    | ST | 109   | 109   |
| 2    | KS | 141   | 128   |
| 3    | NY | 98    | 91    |
| 4    | OF | 165   | 149   |
| 5    | OS | 110   | 98    |
| 6    | SG | 134   | 88    |
| 7    | KS | 95    | 90    |
| 8    | KA | 158   | 116   |
| 9    | NR | 171   | 88    |
| 10   | SK | 134   | 120   |
| 平均值  |    | 131.5 | 107.7 |
| 标准偏差 |    | 27.71 | 20.55 |

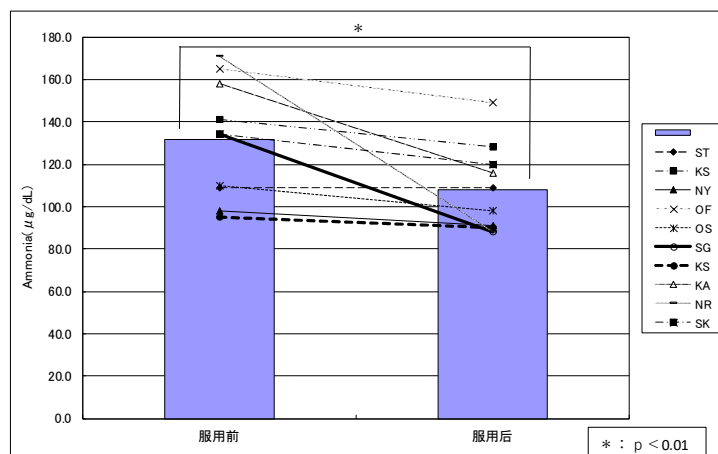


图2 香草提取物的服用前后的血氨浓度的变化

## 5. 思考

NK 细胞会产生  $\gamma$  型干扰素 ( $\text{INF}-\gamma$ ) 以及肿瘤坏死因子 ( $\text{TNF}-\alpha$ ), 抑制病毒的繁殖, 激活巨噬细胞等的吞噬细胞, 进行生物体的自我防御, 并且排出异物<sup>1)</sup>。

另外, 在体内产生各种细胞因子, 用于细胞的相互刺激与联系<sup>1)</sup>。

因此, 可以通过增加 NK 细胞的数量及提高其活性的方式, 提高免疫力, 即使病毒侵入体内也可降低患病的风险<sup>11)</sup>。

另一方面, 观察表明在存在有氨的条件下, 巨噬细胞等免疫细胞的活性降低。<sup>12)</sup>

一般认为氨在普遍毒性方面, 对于裸露粘膜具有刺激性, 可导致咳嗽、结膜炎、支气管炎, 且含量在 2,500 ppm 时会导致生命危险<sup>13)</sup>。

体内的氨是饮食摄入的蛋白质分解而产生的，被肠道吸收后以血氨形态存在。一般情况下，血氨会被肝脏分解，但是随着肝功能的下降，血氨浓度会逐步升高<sup>14)</sup>。有报告显示，本试验中使用的香蕈提取物，在经口给药以后，体现出降低血氨<sup>6)</sup>、减少肠内腐败产生的氨的作用<sup>7)</sup>。服用香蕈提取物1个月以后，血氨浓度显著降低。最终令NK细胞活性与服用香蕈提取物之前相比显著提高。综上所述可知，服用香蕈提取物，可降低血氨浓度，从而增加NK细胞活性。此外，本试验中未提及NK细胞以外的其他免疫细胞，但有报告显示，与蘑菇同属的姬松茸子实体提取物可以激活辅助性T细胞<sup>15) 16)</sup>，因此推测香蕈提取物或许也具备激活T细胞的潜力。香蕈提取物是一种食品原料，因此为了提高身体免疫力，最好在每天的饮食生活中持续服用。

## 结 语

以入住老人保健设施的中老年人为对象，每天早晚各1次，每次服用1支含有香蕈提取物200mg的凝胶饮料（以香蕈提取物计400mg/天），服用1个月以后，比较了在服用开始前采集的血液与在服用1个月后采集的血液中的NK细胞活性与血氨浓度。

结果显示，服用香蕈提取物以后，NK细胞活性由26.55%显著增加为40.92%，血氨浓度从131.5  $\mu$ g/dL显著减少为107.7  $\mu$ g/dL。

## 致 谢

在此谨向实施本试验时（1999年）提供指导的东札幌医院的石谷邦彦医师，老人保健设施的设施负责人近藤敦、副设施长长谷川美荣子以及作为志愿者参加试验的各位受试者深表谢意。

此外，本试验于1999年实施，并且未公布试验内容。香蕈提取物是一种食品成分，需要在平时摄取，以维持健康，因此决定作为论文紧急汇总以后加以介绍。

## 引用文献

- 1) Yoshikazu Nishikawa : Natural Killer Cells and Food Ingredients, The Japanese Society of Nutrition and Dietetics, 62(3), 129-144(2004)
- 2) Koji Yamauchi, Tetsuya Kuhara : Influence of milk proteins on the intestinal immune system, Milk Science, 56, (4), 119-208(2008)
- 3) Koji Ikeda, Takayuki Nakano, Yonemoto Shunichi, Makoto Fujii, De-Xing HOU, Yoshimoto Makoto, Kurata Rie, Takamine Kazunori, Toshihiko Kazunuma : Physiological activities of a rice-koji beverage made from the distilled residue of sweetpotato shochu : Enhancement of a biological defense ability (NK activity), J. Brew. Soc. Japan., 107(11), 875-881(2012)
- 4) Jun Hemmi, Seiya Makino, Hiroshi Karino, Yukio Asami: Development of Yogurt with Immunomodulatory Effects and Its Application to Other Physiological Effects, Journal of Japanese Society of Nutrition and Food Science, 71(2), 99-102(2018)
- 5) Tomoko Ueno : The Functionality of Kurozu and Kurozumoromimatsu, Journal of the Brewing Society of Japan, 106(4), 183-189(2001)
- 6) Jiro Abe, Kanaya Kiyoshi, Shunkoh Toyoshima : Bio-M(Champignon Extract) no keikouseishu no rinsyourei, 36th tohokurinsyoeiseikensagakka abstract, 121(1995)
- 7) Jun Nishihira, Mie Nishimura, Aiko Tanaka, Hiroyo Kagami-katsuyma, Akihiro Yamaguchi, Toshio Taira : Effects of 4-week continuous ingestion of champignon extract on bowel movements and intestinal putrefaction products: a randomized, placebo-controlled, double-blinded, parallel-group comparative trial, Functional Foods in Health and Disease, 8(5), 280-291(2018)
- 8) Atsune Takahashi, Tomohide Tanaka, Sei Takahashi : Effect of oral administration of mushroom extract

- to dairy calves, *Animal husbandry*, 45(5), 595-598 (1991)
- 9) Luo C, Shen G, Liu N, Gong F, Wei X, Yao S, Liu D, Teng X, Ye N, Zhang N, Zhou X, Li J, Yang L, Zhao X, Yang L, Xiang R, Wei YQ : Ammonia drives dendritic cells into dysfunction., *J Immunol.*, 193(3), 1080-1089 (2014)
- 10) Hiromichi Okuda, Setsuro Fujii : *Kecchuu ammonia chokusetuhisyokuteiryohou*, *The Medical Frontline*, 21(3), 622-627 (1966)
- 11) Parham P: Innate immunity: The unsung heroes, *Nature*, 423, 20 (2003)
- 12) Stanislaw P. Targowski, Wlodzimierz Klucinski, Salah Babiker, Brian J. Nonnecke: Effect of ammonia on in vivo and in vitro immune responses, *Infection and Immunity*, 43(1), 289-293 (1984)
- 13) Yasuo Ono: *Dokugekibutu toriatukai no tebiki*, Jiji Press Ltd., P336 (2018)
- 14) Kitani Takeo : *kansikkanto ammonia taisya*, *The Japanese journal of gastro-enterology*, 56(1), 38-49 (1959)
- 15) Fumio Eguchi: "Kinoko wo kagakusuru-siitake kara *Agaricus blazei* made-" , *CHIJIN SHOKAN CO., LTD.*, 2001, pp. 55-76
- 16) Shizuo Yamada, Kentaro Natsume, Syuji Maruyama, Kazufumi Hirano, Tomomi Oki, Ryohei Kimura, Fumio Eguchi, Tomomi Sugiyama, Keizo Umegaki, Yasuo Watanabe: Effects of hot water extract from cultured *Agaricus blazei* (CJ-01) fruiting bodies on neurotransmitter receptors, transporters and hepatic drug-metabolizing enzymes, *J. Trad. Med.*, 20(5), 221-229 (2003).