【原 著】

ガゴメ昆布フコイダンときのこテルペンエキスの安全性評価： ラット薬物代謝酵素への影響

Safety Evaluation of Fucoidan from *Kjellmaniella Crassifolia* and Extract from *Hypsizigus Marmoreus*: Influence on the Activities and Gene Expressions of Rat Hepatic CYPs

大野木宏^{1,*}, 工藤庸子¹, 速水祥子¹, 滝本裕子², 鈴木里芳², 鈴木信孝²
Hiromu OHNOGI^{1,*}, Yoko KUDO¹, Shoko HAYAMI¹, Yuko TAKIMOTO²,
Riho SUZUKI², Nobutaka SUZUKI²

¹ タカラバイオ株式会社

² 金沢大学大学院医学系研究科 臨床研究開発補完代替医療学講座

【要 旨】

近年、食品成分と医薬品との相互作用の問題が注目され始めているが、未だ十分な情報がない。本研究では、ガゴメ昆布フコイダンときのこテルペンエキスの安全性を評価するために、薬物代謝酵素への影響について評価した。SD ラットにガゴメ昆布フコイダンまたはきのこテルペンエキスを蒸留水に懸濁し2,000 mg/kg/日の用量で4日間連続経口投与し、最終投与の翌日に肝臓を摘出し薬物代謝酵素 (CYP2C11, CYP2D, CYP2E1 および CYP3A2) の酵素活性測定と遺伝子発現解析を行った。対照には蒸留水を使用した。その結果、被験物質投与群と対照群との間に体重、肝臓重量、肝臓中の蛋白質質量、肝臓中の CYP 量に統計学的な差は認められなかった。また、肝臓の薬物代謝酵素の活性測定ならびに遺伝子発現解析の結果、被験物質投与群と対照群との間に統計学的な差は認められなかった。以上の結果から、ガゴメ昆布フコイダンならびにきのこテルペンエキスはラット肝臓の薬物代謝に影響を及ぼさないことが示された。

【キーワード】

フコイダン, きのこテルペン, 安全性, 薬物代謝酵素, CYP

はじめに

肝臓では第1相酵素の CYP (チトクロム P450) が医薬品などを酸化し水溶性を高めることによりその代謝、排泄に重要な働きを担っている。ヒトの CYP には CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 など数多くの分子種が存在し、このうち CYP3A4 が全体の30%を占め、およそ半数の医薬品の代謝に関与する^{1,2)}。また、CYP は肝臓の他に小腸にも分布しており医薬品の代謝に深く関与している。これまでに、医薬品の併用により薬物代謝酵素が影響を受け相互作用がおこることが多数報告されているが、最近では食品成分と医薬品との相互作用も知られるようになってきた^{3,4)}。例えば、イチョウ葉エキス、セントジョーンズワートなどは CYP の発現を誘導し活性を強めることにより数多くの医薬品の効果を減弱させることが知られている。また、グレープフルーツジュースは CYP3A4 の活性を強く阻害し、その酵素で代謝不活化されるカルシウム拮抗薬などの効果を強めることが知られている^{5,6)}。近年では、このような食品と医薬品との相互作用が徐々にわかってきたが、医薬品同士の相互作用に比べて未だその情報は限定的である。わが国において健康食品の摂取は増加を示し、特に高齢者においては

受理日: 2011年9月5日

* 〒520-2193 滋賀県大津市瀬田三丁目4番1号 タカラバイオ株式会社 Tel: 077-543-7201 Fax: 077-543-7238
E-mail: onogih@takara-bio.co.jp

医薬品の服用頻度も増えることから、様々な食品成分と医薬品とのいわゆる“飲みあわせ”に関する情報を広く集めてゆく必要がある。

フコイダンは、褐藻類に含まれる多糖類であり、硫酸化されたフコースを主要構成糖とする。われわれは、函館近海に生育する食用の昆布のガゴメ昆布 (*Kjellmaniella crassifolia*) が F-, U-, G-フコイダンの3種類のフコイタンを含有することを化学構造解析により明らかにし⁷⁾、さらに免疫活性化作用や抗腫瘍作用、血栓形成抑制作用などの多様な機能性を有することを明らかにしている⁸⁻¹¹⁾。きのこテルペン (*Hypsiziprenol*) は白榆木茸属キノコのブナシメジ (*Hypsizigus marmoreus*) に特徴的に含まれる苦味成分であり、担がん動物に対する抗腫瘍作用や培養がん細胞に対する強いアポトーシス誘導作用が報告されている¹²⁻¹⁴⁾。われわれは、これら食品由来成分の抗腫瘍作用を中心とした機能性研究を進めるとともに、安全性についても研究を行い、ガゴメ昆布フコイタンやきのこテルペン含有エキス（以下、きのこテルペンエキスと表記）が細菌を用いた復帰突然変異試験や培養細胞を用いた染色体異常試験、マウスを用いた小核試験などの各種遺伝毒性試験において問題がないことを報告している¹⁵⁾。さらに、健康成人に対するヒト試験において、ガゴメ昆布フコイタンやきのこテルペンエキスを配合した飲料の4週間の摂取が血液成分検査、血液性化学検査、尿検査などに悪影響を与えないことが確認された¹⁶⁾。本研究では、ガゴメ昆布フコイタンやきのこテルペンエキスの安全性についてさらに情報を得るために、ラットの薬物代謝酵素に及ぼす影響について検討を行った。

材料と方法

被験物質

ガゴメ昆布フコイタンは TaKaRa コンブフコイタン (タカラバイオ社製) を用いた。ガゴメ昆布フコイタンは乾燥ガゴメ昆布破砕物を原料に、塩化カルシウム存在下で熱水抽出を行い、限外濾過により低分子成分を除いた後、濃縮・殺菌・凍結乾燥を行い粉末化した。調製した TaKaRa コンブフコイタンの主要成分含量の分析結果は、フコース (38.6%)、硫酸基 (30.6%)、ウロン酸 (4.7%)、カルシウム (4.3%)、水分 (2.4%) であった。きのこテルペンエキスはブナシメジ (K-3128 株) の乾燥粉砕物を原料にアルカリ性熱水抽出後、濃縮・殺菌・凍結乾燥を行い粉末化した。調製したきのこテルペンエキス粉末中のきのこテルペン含量は 11.3 mg/g であった。

動物

SD ラット (6 週齢, 雄, 15 匹) は日本チャールズリバー社から購入し、CRF-1 (オリエンタル酵母工業社製) で、 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60\pm 15\%$ で個別飼育した。1 週間の馴化後、体重を測定して対照群、ガゴメ昆布フコイタン投与群、きのこテルペンエキス投与群の3群に各群5匹ずつ分けた。ガゴメ昆布フコイタン、きのこテルペンエキスは蒸留水に懸濁しそれぞれ1日目から4日目まで、1日1回、2,000 mg/kg の用量で強制経口投与した。対照群には蒸留水を投与した。5日目に体重を測定後、ジエチルエーテル麻酔下で放血安楽死後に肝臓を摘出した。肝臓重量を測定後、0.2 g 程度を mRNA 発現測定用に RNA later (Ambion 社製) に浸漬し 4°C で保存し、残りは酵素活性測定用に液体窒素で瞬間冷凍して -80°C で保存した。

ミクロソームの調製

肝臓を解凍し、氷冷下で肝臓をハサミで細切した後、肝臓重量の3倍量の冷 0.15 M KCl を加えホモジナイザーでホモジナイズし3分割した。各懸濁液を 4°C で $9,000\times g$ 、10 分間遠心分離後、上清をさらに 4°C で $105,000\times g$ 、60 分間遠心分離した。得られたミクロソームペレットを冷緩衝液 (120 mM リン酸カリウム緩衝液 pH 7.4・0.12 mM EDTA) に再懸濁し、チューブに分注後、使用時まで冷凍保存した。

肝臓ミクロソームの蛋白質含量と CYP 含量の測定

肝臓ミクロソームの蛋白質含量は Protein Assay Dye Reagent Concentrate (Bio-Rad Laboratories 社製) を用いてプロトコルに従ってプレートリーダーで測定した。標準物質としてウシ血清アルブミンを用いた。肝臓ミクロソームの CYP 含量はミクロソーム (2 mg protein, 20% グリセロール・リン酸緩衝液 pH 7.4) に 8 mg のハイドロサルファイトナトリウムを加え 450 nm および 490 nm の吸光度を CO ガス通気前後に測定し、下式から算出した。

$$\text{CYP (nmol/mg protein)} = [(\Delta\text{OD}_{450} - \Delta\text{OD}_{490}) \times 1000 / 91] / \text{蛋白質濃度 (mg protein/ml)}$$

ΔOD_{450} : CO ガス通気前後の OD_{450} における吸光度差

ΔOD_{490} : CO ガス通気前後の OD_{490} における吸光度差

テストステロン水酸化酵素活性の測定

ミクロソーム 0.2 mg に NADPH-Regenerating System (終濃度 2.5 mM β -NADPH, 25 mM グルコース-6-リン酸, 2 U/ml グルコース-6-リン酸脱水素酵素および 10 mM MgCl_2)、テストステロン (終濃度 0.2 mM) を加え 37°C

下で30分間反応した。反応停止後、4°Cで10,500×g、5分間遠心分離し上清をHPLC分析用試料とした。HPLC分析にはCAPCELL PAK C18 UG120 (4.6 mm I.D. × 150 mm, 資生堂社製)を使用し、移動相として水・メタノールおよびテトラヒドロフランによるグラディエント溶出を行った。検出波長は245 nmで行い、6β-ヒドロキシテストステロンと16α-ヒドロキシテストステロンの生成量から各テストステロン水酸化酵素活性(CYP3A2およびCYP2C11)を算出した。

デキストロメトルファン O-脱メチル化酵素活性の測定

ミクロソーム 0.5 mg に NADPH-Regenerating System およびデキストロメトルファン (終濃度 0.01 mM) を加え 37°C 下で 30 分間反応した。反応停止後、4°C で 10,500×g、10 分間遠心分離し上清を HPLC 分析用試料とした。HPLC 分析には Wakosil-II 5 C18 HG (4.6 mm I.D. × 150 mm, 和光純薬社製)を使用し、移動相として 20 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 3.5)・アセトニトリル (70:30) 混液にて溶出を行った。検出波長は 280 nm で行い、デキストロメトルファンの生成量からデキストロメトルファン O-脱メチル化酵素活性 (CYP2D) を算出した。

クロルゾキサン水酸化酵素活性の測定

ミクロソーム 0.5 mg に NADPH-Regenerating System およびクロルゾキサン (終濃度 0.1 mM) を加え 37°C 下で 15 分間反応した。反応停止後、4°C で 10,500×g、10 分間遠心分離し上清を HPLC 分析用試料とした。HPLC 分析には Lichrosorb RP-8 (4.0 mm I.D. × 250 mm, ジーエルサイエンス社製)を使用し、移動相として 0.5% リン酸溶液・アセトニトリル (70:30) 混液にて溶出を行った。検出波長は 287 nm で行い、6-ヒドロキシクロルゾキサンの生成量からクロルゾキサン水酸化酵素活性 (CYP2E1) を算出した。

mRNA 発現量の測定

肝臓組織からの total RNA は RNAiso plus (タカラバイ

オ社製)を用い、試薬のプロトコルに準じて精製した。得られた total RNA は SYBR PrimeScript RT-PCR Kit II (Perfect Real Time, タカラバイオ社製)と Thermal Cycler Dice Real Time System (タカラバイオ社製)を用いて逆転写反応及びリアルタイム RCR を行った。各サンプルの CYP 遺伝子発現量は GAPDH を内部標準遺伝子として補正算出した。以下に CYP ならびに GAPDH のプライマー配列を示す。CYP2C11 (forward 5'-ggcaagaggaccattgagga-3'; reverse 5'-ggagcacagcccaggataaa-3'), CYP2D2 (forward 5'-tgagtggcgagagcagagac-3'; reverse 5'-atgctgggattgaaggatg-3'), CYP2E1 (forward 5'-actggggaatggggaaca-3'; reverse 5'-cagaaatgtgggtcaaaagg-3'), CYP3A2 (forward 5'-attcctgggcca aaacctct-3'; reverse 5'-tgtccatgatggcaacaca-3'), GAPDH (forward 5'-gacaacttggcatcgtgga-3'; reverse 5'-atgcaggatgatg ttctgg-3')

統計解析

対照群と被験物質投与群との比較は、Dunnett 法により統計解析した。有意水準は両側検定で 5%未満とした。

結 果

体重、肝臓重量、肝臓ミクロソームの蛋白質含量と CYP 含量

表 1 に、各群の摂取前後の体重ならびに肝臓重量、肝臓ミクロソームの蛋白質含量と CYP 含量を示した。対照群では 1 日目から 5 日目の間に平均 195.6 g から 237.6 g まで 42.0 g の体重増加が認められた。ガゴメ昆布フコイダン投与群では平均 195.4 g から 239.4 g まで 44.0 g の増加、きのこテルペンエキスを投与した群では平均 195.4 g から 237.0 g まで 41.6 g の増加がそれぞれ認められた。5 日目の体重において、対照群と被験物質投与群との間に統計学的な差は見られなかった。各群の肝臓重量ならびに体重当たりの肝臓重量比を表 1 に示した。ガゴメ昆布フコイダン投与群では 11.8 g (体重比 4.94%)、きのこテルペンエキスを投与した群では 11.1 g (体重比 4.71%) でありいず

表 1 体重、肝臓重量、肝臓ミクロソームの蛋白質ならびに CYP 含量

	対照群	ガゴメ昆布フコイダン 投与群	きのこテルペンエキスを 投与群
体重 (g)			
0 日目	195.6±2.2	195.4±2.3	195.4±2.4
5 日目	237.6±3.3	239.4±3.2	237.0±3.7
肝臓重量 (g)	11.6±0.2	11.8±0.3	11.1±0.1
肝臓/体重比 (%)	4.88±0.08	4.94±0.07	4.71±0.06
肝臓ミクロソーム蛋白質含量 (mg/g liver)	38.6±0.8	37.3±0.9	36.7±2.5
肝臓ミクロソーム CYP 含量 (nmol/mg protein)	0.37±0.04	0.39±0.05	0.49±0.04

数値は平均値±標準誤差, N=5

図1 カゴメ昆布フコイダンのラット肝臓CYPの活性に及ぼす影響
 数値は平均値±標準誤差, N=5
 Control: 対照群, GKF: カゴメ昆布フコイダン投与群, KTE: きのこテルペンエキス投与群

れも対照群（肝臓重量 11.6 g, 体重比 4.88%）との間に統計学的な差は見られなかった。また、肝臓ミクロソームの蛋白質含量と CYP 含量を測定した結果、いずれにおいても対照群と被験物質投与群との間に統計学的な差は認められなかった。

CYP 酵素活性

図1に肝臓中の CYP2C11, CYP2D, CYP2E1 および CYP3A2 の活性測定の結果を示した。CYP2C11 活性（テストステロン 16 α -水酸化酵素活性; nmol/mg protein/min）は対照群 0.84 ± 0.13 , カゴメ昆布フコイダン投与群 0.94 ± 0.18 , きのこテルペンエキス投与群 1.13 ± 0.18 であった。CYP2D（デキストロメトルファン O-脱メチル化酵素活性; pmol/mg protein/min）は対照群 205.9 ± 21.5 , カゴメ昆布フコイダン投与群 204.8 ± 13.3 , きのこテルペンエキス投与群 211.0 ± 17.6 であった。CYP2E1 活性（クロルゾキサソニル水酸化酵素活性; nmol/mg protein/min）は対照群 0.59 ± 0.05 , カゴメ昆布フコイダン投与群 0.70 ± 0.05 , きのこテルペンエキス投与群 0.69 ± 0.04 であった。また、CYP3A2 活性（テストステロン 6 β -水酸化活性; nmol/mg protein/min）は対照群 1.39 ± 0.16 , カゴメ昆布フコイダ

図2 カゴメ昆布フコイダンのラット肝臓CYPのmRNA発現に及ぼす影響
 数値は平均値±標準誤差, N=5
 Control: 対照群, GKF: カゴメ昆布フコイダン投与群, KTE: きのこテルペンエキス投与群

ン投与群 1.73 ± 0.20 , きのこテルペンエキス投与群 1.60 ± 0.14 であった。いずれの酵素活性においても対照群と被験物質投与群との間に統計学的な差は認められなかった。

CYP の mRNA 発現

図2に肝臓中の CYP2C11, CYP2D, CYP2E1 および CYP3A2 の mRNA 発現の結果を示した。対照群の CYP/GAPDH 量を 1 としたとき、カゴメ昆布フコイダン投与群の CYP2C11, CYP2D, CYP2E1 および CYP3A2 の相対比は、それぞれ 0.81 ± 0.09 , 1.14 ± 0.12 , 1.13 ± 0.17 および 0.73 ± 0.11 であった。また、きのこテルペンエキス投与群の CYP2C11, CYP2D, CYP2E1 および CYP3A2 の相対比は、それぞれ 1.17 ± 0.09 , 1.21 ± 0.05 , 1.09 ± 0.09 および 1.07 ± 0.17 であった。いずれの CYP の mRNA 発現においても対照群と被験物質投与群との間に統計学的な差は認められなかった。

考 察

近年の健康食品の需要の高まりに応じてその安全性に関する情報も強く求められているが、食品成分と医薬品との相互作用に関する情報は極めて少ない。われわれはガゴメ昆布フコイダンときのこテルペンエキスの安全性に関する情報を得るため、本研究においてラットの肝臓薬物代謝酵素への影響を調べた。その結果、体重、肝臓重量において対照群と被験物質群との間に統計学的な差は見られなかった。われわれの予備的なラットへの強制単回投与試験では、ガゴメ昆布フコイダンおよびきのこテルペンエキスは2,000 mg/kgの経口投与において全く異常が認められなかった（データ未掲載）。これらの結果から、ガゴメ昆布フコイダンときのこテルペンエキスは毒性が低いことが改めて示された。

医薬品の代謝にはCYPが重要な働きを担っており、ヒトではCYP3A4によりおよそ50%の医薬品が代謝され、次いで、CYP2D6（30%）とCYP2C9/10（10%）が関与するという報告がある²⁾。CYPには種差が存在し、例えばヒトのCYP3A4のテストステロン6 β -水酸化活性はラットにおいてはCYP3A2が働きを担う¹⁷⁾。本研究においてラット肝臓中のCYP2C11, CYP2D, CYP2E1およびCYP3A2の活性を調べた結果、対照群と被験物質群との間に統計学的な差は認められなかった。従って、ガゴメ昆布フコイダンならびにきのこテルペンエキスが肝臓の薬物代謝酵素の活性を阻害または誘導しないと考えられた。さらに、上記の4種の酵素の遺伝子発現解析においても対照群と被験物質群との間に統計学的な差は認められなかったことから、遺伝子発現レベルにおいても薬物代謝酵素に影響を及ぼさないことが示された。

これまでの研究において、イチョウ葉エキスやセントジョーンズワートがヒトやげっ歯類のCYPの活性やmRNA発現に影響を与えることが報告されている。イチョウ葉は記憶改善や脳血管障害の予防などに世界で広く利用されているが、ヒトにおいてはワーファリンとの併用において出血傾向を示すことが報告されている。杉山らは、Wistarラットへのイチョウ葉エキス（100 mg/kg）の5日間の経口投与により対照に比べて肝臓ミクロソームのCYP含量が1.7倍に増加し、CYPの酵素活性においてもCYP1A1で約2.1倍、CYP2Bで約8.7倍、CYP2C9で約2.7倍、CYP2E1で1.3倍、CYP3Aで2.6倍と著しく増加することを報告している¹⁸⁾。イチョウ葉エキスにおける関与成分としては、テルペノイドのbiobalideが明らかになっておりラットへの投与において種々のCYPの酵素活性やmRNA発現の上昇が報告されている^{19,20)}。また、セントジョーンズワートは抗うつ作用を持つことか

ら欧米では精神安定の目的に用いられているが、最近ではアミトリプチン、ミダゾラム、シクロスポリン、テオフィリンなど数多くの医薬品の作用を強めることが報告されている^{3,4)}。Cantoniらはセントジョーンズワートエキス（300 mg/kg）ならびに抗うつ作用の主要成分であるHyperforin（18.1 mg/kg）をCDマウスに4日間経口投与したところ、肝臓のCYP3A蛋白質量が増加しCYP3A活性がそれぞれ2.2倍、1.8倍上昇したと報告している²¹⁾。今回の試験においてガゴメ昆布フコイダンときのこテルペンエキスは2,000 mg/kgという高用量でも肝臓の活性、遺伝子発現に影響を与えなかったことから、おそらくこれらの摂取において薬物代謝酵素への影響は低いと考えられた。本試験で評価の対象にした4種のラット肝臓のCYPはヒトにおいて医薬品の代謝に関与する主要なCYPにそれぞれ相同すると考えられる酵素である。従って、今回の結果はヒトの薬物代謝酵素への影響について推察する基礎情報になると考えられるが、ヒトとラットの種差を含めて今後ヒトでの安全性も評価してゆく必要がある。さらに、CYPは肝臓だけでなく小腸にも存在し経口投与された医薬品の代謝にも関与していることが知られている。実際に、グレープフルーツジュースに含まれるフラノクマリン類は肝臓ではなく小腸のCYP3A4に強く作用してその活性を阻害することでカルシウム拮抗薬の血中濃度を上昇させることが知られている^{5,6,22)}。従って、経口摂取されたガゴメ昆布フコイダンやきのこテルペンエキスの小腸のCYPへの影響なども今後研究を進める必要がある。

ガゴメ昆布は松前漬やとろろ昆布として古くから食されてきており、きのこテルペンの原料であるブナシメジもわが国において長い食経験を有する。これらの食品を原料に加工製造されたフコイダンやきのこテルペンエキスの安全性は基本的に高いものと考えられるが、薬物代謝機能が低下した高齢者や病人が医薬品と機能性食品成分を同時に摂取する機会は今後ますます増えると考えられることから、引き続き多面的な検証を進め食品と医薬品との相互作用に関する安全性情報を集めることが重要である。

参 考 文 献

- 1) Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, et al. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals : Studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270: 414-423.
- 2) Guengerich FP. *In vivo* techniques for studying drug metabolism.

- J Pharmacokinet Biopharm 1996; 24: 521–533.
- 3) Delgado R, Westlake ACG. Herbal interactions involving cytochrome P450 enzyme. Toxicol Rev 2004; 23: 239–249
 - 4) Hu Z, Yang X, Ho PCL, et al. Herb-drug interactions. Drugs 2005; 65: 1239–1282.
 - 5) Saden K, Dickinson L, Koo S, et al. Grapefruit-drug interactions. Drugs 2010; 70: 2373–2407.
 - 6) Tassaneeyakul W, Guo LQ, Fukuda K, et al. Inhibition selectivity of grapefruit juice components on human cytochrome P450. Arch Biochem Biophys 2000; 378: 356–363.
 - 7) 酒井 武, 加藤郁之進. 海藻由来フコイダンとそのオリゴ糖の構造と生物活性. バイオサイエンスとインダストリー. 2002; 60: 23–26.
 - 8) 水谷滋利, 廣田有花, 出口寿々ら. ガゴメ昆布フコイダンの機能性. New Food Industry 2008; 50: 22–34.
 - 9) 水谷滋利, 酒井 武, 加藤郁之進. ガゴメ昆布 (*Kjellmaniella crassifolia*) フコイダンの抗がん作用. Food Style 21 2008; 12: 73–75.
 - 10) 水谷滋利. ガゴメ昆布 (*Kjellmaniella crassifolia*) フコイダンの免疫活性化作用. Food Style 21 2010; 14: 29–31.
 - 11) 加藤郁之進, 酒井 武, 佐川裕章. フコイダンの機能性とその効果. ジャパンフードサイエンス. 2000; 39: 43–47.
 - 12) 水谷滋利, 河合高志, 榎 竜嗣ら. プナシメジ (*Hypsizigus marmoreus*) から分離されたテルペンの腫瘍成長抑制作用. 日食科工会誌. 2006; 53: 55–61.
 - 13) 水本裕子, 大野木宏, 水谷滋利ら. プナシメジ由来ポリテルペンの HL-60 白血病細胞におけるアポトーシス誘導機構. 日食科工会誌. 2008; 55: 612–618.
 - 14) 水本裕子, 大野木宏, 水谷滋利ら. プナシメジ由来 Hypsiziprenol A₉ による cAMP 経路の抑制を介した HL-60 白血病細胞のアポトーシス誘導. 日本きのこ学会誌. 2008; 16: 143–148.
 - 15) 大野木宏, 滝本裕子, 鈴木里芳ら. ガゴメ昆布 (*Kjellmaniella crassifolia*) 由来フコイダンの遺伝毒性試験による安全性の評価. 日本補完代替医療学会誌. 2011; 8: 61–65.
 - 16) 大野木宏, 中出祐介, 滝本裕子ら. ガゴメ昆布フコイダンの健康成人における安全性. 日本補完代替医療学会誌. 2011; 8: 45–53.
 - 17) Imaoka S, Yamada T, Hiroi T, et al. Multiple forms of human P450 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*. Biochem Pharmacol 1996; 51: 1041–1050.
 - 18) 杉山朋美, 篠塚和正, 佐野敦士ら. 種々のイチョウ葉エキスとプロアントシアニジンのラット肝臓 Cytochrome P450 に対する影響. 食衛誌. 2004; 45: 295–301.
 - 19) Taki Y, Yamazaki Y, Shimura F, et al. Time-dependent induction of hepatic cytochrome P450 enzyme activity and mRNA expression by bilobalide in rats. J Pharmacol Sci 2009; 109: 459–462.
 - 20) Deng Y, Bi HC, Zhao LZ, et al. Induction of cytochrome P450s by terpene trilactones and flavonoids of the *Ginkgo biloba* extract EGb 761 in rats. Xenobiotica 2008; 38: 465–481.
 - 21) Cantoni L, Rozio M, Mangolini A, et al. Hypeforin contributes to the hepatic CYP3A-inducing effect of *Hypericum perforatum* extract in the mouse. Toxcol Sci 2003; 75: 25–30.
 - 22) Lown KS, Bailey DG, Fontana RJ, et al. Grapefruit juice increases felodipine oral availability in humans by decreasing intestinal CYP3A protein expression. J Clin Invest 1997; 99: 2545–2553.

ABSTRACT

Safety Evaluation of Fucoidan from *Kjellmaniella Crassifolia* and Extract from *Hypsizigus Marmoreus*: Influence on the Activities and Gene Expressions of Rat Hepatic CYPs

Hiromu OHNOGI¹, Yoko KUDO¹, Shoko HAYAMI¹, Yuko TAKIMOTO², Riho SUZUKI², Nobutaka SUZUKI²

¹ TAKARA BIO INC.

² Department of Complementary and Alternative Medicine Clinical Research and Development,
Kanazawa University Graduate School of Medical Science

Object: Gagome kombu (*Kjellmaniella crassifolia*) is the edible brown seaweed and contains fucoidan, a sulfated polysaccharide, abundantly. Bunashimeji (*Hypsizigus marmoreus*) is the popular Japanese mushrooms and contains polyterpenes as the bitter substance. Previously, we investigated the bioactive functions (e.g. anti-tumor action) and the safety of fucoidan from Gagome kombu (GKF) and the extract from Bunashimeji (KTE: Kinoko terpene extract). In this study, we evaluate the influence of GKF and KTE on hepatic cytochrome P450 (CYP).

Methods: Male SD rats were divided into three groups (n = 5). 2,000 mg/kg of GKF and KTE were given orally once daily for 4 days.

Result: There were no difference in activities and mRNA expressions of hepatic CYPs (CYP2C11, CYP2D, CYP2E1 and CYP3A1) among all groups.

Conclusion: These results indicated GKF and KTE did not influence the rat hepatic CYPs.

Key words: Gagome kombu fucoidan, Kinoko terpene extract, safety, drug-metabolizing enzyme, CYP