本態性高血圧自然発症ラットの血圧および血清脂質レベルに 及ぼす自己消化処理したシイタケの影響

渡辺敏郎^{*,**§}, 山田貴子^{*}, 石 知史^{**}, Mazumder Tapan Kumar^{**},
永井史郎^{**}, 辻 啓介^{*}

Effect of Autolyzed-Shiitake (*Lentinus edodes*) on Blood Pressure and Serum Fat Levels in Spontaneously Hypertensive Rats

Toshiro Watanabe^{*,**§}, Takako Yamada^{*}, Satoshi Ishi^{**}, Tapan Kumar Mazumder^{**},
Shiro Nagai^{**} and Keisuke Tsuji^{*}

^{*} School of Humanities for Environmental Policy and Technology, Himeji Institute of Technology,
Shinzaike-Honcho, Himeji, Hyogo 670-0092, Japan

^{**} YAEGAKI Technology Development Laboratories, YAEGAKI Bio-industry, Inc.,
Hayashida, Himeji, Hyogo 679-4298, Japan

The effect of shiitake (*Lentinus edodes*, LE) and autolyzed- (fermented-) shiitake (Autolyzed-LE) on blood pressure and serum fat levels of spontaneously hypertensive rats (SHR) were studied. Powdered LE or Autolyzed-LE was fed to SHR at the levels of 2% in a 1% NaCl (control) diet for 21 days. The blood pressure was measured by tail cuff. The animals of the Autolyzed-LE group showed significantly lower blood pressure compared to the control or LE group. The serum levels of total cholesterol (TC), triglyceride and phospholipid of the groups fed with LE and Autolyzed-LE were lower than those of the control group, and atherogenic index [(TC-HDL-C)/HDL-C] improved significantly in 21 days. It was suggested that the serum TC decline is the action of eritadenine that is contained in the shiitake. An inhibitory activity of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) was compared between of LE and Autolyzed-LE. The IC₅₀ of LE and Autolyzed-LE for ACE were 2500 and 490 µg/ml, respectively. Autolyzed-LE showed higher inhibitory activity than LE against the ACE. These phenomena suggested that the hypotensive action of Autolyzed-LE was due to concomitant ACE inhibitory activities of peptides and γ-aminobutyric acid contained in higher amounts during the autolysis of LE.

(Received May. 7, 2002 ; Accepted Jul. 29, 2002)

シイタケ (*Lentinus edodes*) は、東南アジアを中心に
広く分布し、わが国では春と秋に主に広葉樹の枯幹や倒
木などに発生する食用のキノコである。栽培には原木栽
培と菌床栽培の2種類があり、原木栽培はコナラやクヌ
ギなどの原木に植菌し、原木中の養分のみで栽培する。
一方、菌床栽培はオガクズに栄養体を混ぜ、シイタケを
生育させる人工栽培法で質・量とも安定的に生産できる

ことが特徴である。

シイタケにはいくつかの生理機能が知られているが、
例えば血中コレステロール低下作用があり、これは水溶
性区分に溶出するエリタデニンの作用であることが報告
されている^{1)~4)}。また、β-1,3-グルカン構造のレンチナ
ンは抗腫瘍活性^{5)~8)}があり、他にも抗ウイルス作用⁹⁾¹⁰⁾
を示す成分も単離されている。シイタケはビタミンDの

^{*} 姫路工業大学環境人間学部 (〒670-0092 兵庫県姫路市新在家本町1-1-12)

^{**} ヤエガキ醗酵技研株式会社 (〒679-4298 兵庫県姫路市林田町六九谷681)

[§] 連絡先 (Corresponding author), watnb-ts@yaegaki.co.jp

前駆体であるエルゴステロールや食物繊維も豊富に含んでいることから有用な食材であることがいえる¹¹⁾。

わが国では高齢者人口が増加の一途にあり、一般に加齢とともに血圧が高くなることから、高血圧に対処する課題は重要であると考えられる。キノコには健康維持に有用な生理機能成分を含むものが多く、中でも霊芝¹²⁾¹³⁾、冬虫夏草¹⁴⁾、マイタケ^{15)~17)}、アガリクス茸^{18)~21)}では多数の研究結果が報告されている。また、わが国の食用キノコの中で、最も食されているシイタケも様々な機能性を有することで知られている^{1)~11)22)23)}。そこで、このシイタケを自己消化によりさまざまな有用成分の抽出率を高めることで、シイタケの機能性向上を目的としたキノコ粉末を作成した。本研究では、この自己消化処理したシイタケが本態性高血圧自然発症ラット (SHR) の血圧および血清脂質レベルに対してどのような影響を及ぼすかを検討した。

実 験 方 法

1. 実験試料

日本国内において栽培された乾燥シイタケ子実体の粉末品 (LE) 1 kg に 10 L の水を加えて 37℃ で 4 時間自己消化させた後、殺菌、凍結乾燥、粉碎により 980 g の自己消化シイタケ粉末品 (Autolyzed-LE) を得た。この LE および Autolyzed-LE の一般成分分析表を Table 1 に示したが、LE に比べて Autolyzed-LE は、食物繊維や β -グルカン含量がやや減少し、逆に遊離アミノ酸含量は増加した。その他の成分には大きな違いはなかった。

Table 1 Component concentration in LE and Autolyzed-LE

Contents (%)	LE*	Autolyzed-LE**
Carbohydrate	19.77	22.00
Protein	18.23	18.16
Fat	1.58	1.57
Dietary fiber	47.43	43.74
β -Glucan	27.22	21.90
Free amino acid	2.06	4.23
GABA	0.07	0.13
Ash	4.49	4.54
Moisture	8.50	9.99

Values are means of 3 estimates.

* LE : Fruit body of *Lentinus edodes*

** Autolyzed-LE : Autolyzed-*Lentinus edodes*

2. 遊離アミノ酸の測定

試料を 200~400 倍の水でけん濁した後、0.45 μ m のメンブランフィルター Dismic-13cp (Advantec 製) に通し、オルトフタルアルデヒド (OPA) ポストカラム誘導体化液体クロマトグラフ (OPA-HPLC) 法 (島津製 RF-535, カラム Shim-pack Amino-Na 100 mm $\times$ 6.0 mm) にてアミノ酸含量を測定した。各アミノ酸の検量線は 0.5 μ M ~ 25 μ M までの濃度範囲で作成した。

3. エリタデニンの確認

エリタデニンは、荒川らの方法²⁴⁾に準じて薄層クロマトグラフ (TLC) およびマトリックス支援イオン化-飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF-MS) によって確認した。すなわち TLC プレート (シリカゲル 60 F254, 関東化学) を 105℃ で 30 分間活性化させた後、 n -ブタノール : 酢酸 : 水 = 4 : 2 : 1 の混合溶媒で展開させ、紫外線 (UV-C, 254 nm) の照射により、Rf 0.33 付近に得られる鮮明な赤紫色のスポットとして識別した。この部分をかき取って水に溶解させ、マトリックスに α -シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸を用いて MALDI-TOF-MS によりエリタデニンの分子量を確認した。

4. 動物実験

(1) 実験動物の飼育方法および試料組成

実験動物は星野試験動物飼育所 (埼玉県八潮市) から入手した雄性 SHR を用いた。飼育及び保管に関しては総理府告示第 6 号 (昭和 55 年 3 月) の基準に沿っておこなった。飼料の基本組成は Table 2 に示したように AIN 組成に基づいた。血圧を上昇させるために飼料中に食塩を 1% 加え、LE および Autolyzed-LE は 2% 添加してサッカロースで 100% となるように調整した。また、実験飼料の給餌期間以外は、市販の固形飼料 CE-2 (日本クレア製) を与えた。固形飼料で 7 日間飼育後、試験飼料に切り替え 21 日間飼育した。飲料水はイオン交換水を用いて飼料とともに自由摂取とした。飼育室は、温度 23 $\pm$ 1℃、照明は 12 時間おきに自動的に明 (7 : 00 ~ 19 : 00) 暗に切り替わるように調整し、個別ケージで飼育した。

(2) 血圧測定と血清脂質測定方法

血圧は飼育初日および 7 日間ごと午前 9 : 00 より各群より 1 匹ずつ無作為に選り、無加温型非観血式血圧計 Model MK-2000 (室町機械製) を用いて、23℃ 以上の室温で尾動脈圧の収縮期および拡張期血圧を無麻酔下の間接 (カフ) 法により測定した。血液は血圧測定後、毎回ただちに尾部より採血し、血清脂質 (総コレステロール (TC)、高密度リポ蛋白質コレステロール (HDL-C)、ト

リグリセリド (TG), リン脂質 (PL)) は協和メデックス製キット酵素法により定量した. TC から HDL-C を差し引き, 超低比重リポ蛋白質コレステロール (VLDL-C) + 低比重リポ蛋白質コレステロール (LDL-C) とした. HDL-C と VLDL-C + LDL-C の比から動脈硬化指数 (AI) を算出した.

5. アンジオテンシン-I 変換酵素阻害実験

アンジオテンシン-I 変換酵素 (ACE) 阻害実験は, ヒプリルヒスチジルロイシン (HHL) を基質に ACE により酵素反応させ, 生成した馬尿酸を定量することにより測定した²⁵⁾. すなわち ACE (Sigma 製, ウサギ肺由来, 5.5 units/mg-protein) を含む 125 mM ホウ酸ナトリウム緩衝液 (pH 8.3) を 50 μ l と試料 (0.5 M NaCl を含む上記緩衝液にけん濁した LE および Autolyzed-LE) 60 μ l を試験管に取り, 37°C で 3 分間予備加熱した後, 6.5 mM の HHL 溶液を 300 μ l 添加し, 1 時間酵素反応させた. 1M の HCl を 200 μ l 加え反応を停止し, 酢酸エチルを 0.8 ml 加え, 遊離した馬尿酸を抽出した. 抽出液 0.5 ml をエバポレーターで蒸発乾固した後, それを蒸留水 0.5 ml に溶解して 228 nm で吸光度を測定し, ACE 活性阻害濃度 (IC₅₀) を算出した.

6. 統計処理

各群とも平均値±標準偏差 (SD) で示し, 群間の有意差検定には, 市販のソフトウェア「StatView J5.0」を用いて Tukey-Kramer の多重比較検定をおこない, $p < 0.05$ で判定した.

Table 2 Composition of tested diets

Constituents (%)	Control	LE	Autolyzed-LE
Casein	22	22	22
Lard	10	10	10
Mineral mixture*	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture*	1	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
Sodium chloride	1	1	1
Cellulose**	3	3	3
LE	—	2	—
Autolyzed-LE	—	—	2
Saccharose	59.3	57.3	57.3

15 week old 18 male SHR divided into 3 groups.

* AIN-96TM mixture

** PC-200 (Danisco Cultor Japan Ltd.)

実験結果

1. LE および Autolyzed-LE の遊離アミノ酸含量

LE および Autolyzed-LE の遊離アミノ酸含量を調べた結果を Fig. 1 に示した. Autolyzed-LE は, LE を自己消化させたことから LE が有するプロテアーゼなどの酵素反応により遊離アミノ酸含量が大きく増加した. なかでもバリン, ロイシン, イソロイシン, フェニルアラニンが顕著に増加し, 血圧降下に有効とされる GABA も自己消化により倍増した.

2. LE および Autolyzed-LE の投与における SHR の体重および摂食量の変化

15 週齢の SHR を 1 群 6 匹となるようにコントロール群, LE 群および Autolyzed-LE 群の 3 群に分け試験した. 実験終了時の体重はコントロール群では 343±14 g, LE 投与群では 358±16 g, Autolyzed-LE 投与群では 352±13 g であった. このように, LE および Autolyzed-LE の投与において SHR の体重が著しく変化することは認められなかった. また摂食量においても各群とも大きな

Fig. 1 Determination of free amino acids in LE and Autolyzed-LE by HPLC analysis

Fluorescence detection using OPA post-column reaction HPLC system conditions was as follows: column, Shim-pack Amino-Na 100 mm×6.0 mm; flow rate, 0.6 ml/min; column temperature, 60°C; detection, Ex 350 nm, Em 450 nm. Data are mean±SD from three determinations.

変化は認められなかった。

3. LE および Autolyzed-LE の投与における SHR の血圧変動

LE および Autolyzed-LE を食餌成分として投与した SHR の 21 日間にわたる収縮期血圧および拡張期血圧の経時変化を Fig. 2 に示した。コントロール群の収縮期血圧値に対して、LE 投与群の血圧値はコントロール群とほぼ同様の傾向が見られたが、Autolyzed-LE 投与群では 7 日後からコントロール群および LE 投与群に対して血圧値を有意に低下させた。また、その後の更なる血圧低下は見られず、最終的にはコントロール群で 199 ± 18 mmHg, LE 投与群で 189 ± 12 mmHg, Autolyzed-LE 投与群で 168 ± 8 mmHg となった。拡張期血圧も収縮期血圧と同様に LE 投与群ではコントロール群と同様に血圧値に有意な差は認められなかった。そして、Autolyzed-LE 投与群では 7 日後からコントロール群および LE 投与群に対して血圧値を有意に低下させた。

4. LE および Autolyzed-LE の投与における SHR

Fig. 2 Changes of systolic and diastolic blood pressure in SHR fed 1% NaCl diets supplemented with LE or Autolyzed-LE

Vertical bars represent the mean $\pm$ SD for 6 male rats. Values in same period not followed by the same alphabetical letter are significantly different ($p < 0.05$).

の血清脂質レベルの変化

Table 3 に SHR の尾部からの採血による血清脂質レベルの変化について調べた結果を示した。試験を開始して 7 日目で LE および Autolyzed-LE 投与群はコントロール群に比べて TC, HDL-C, AI, TG, PL の値を有意に低下させ、試験終了の 21 日目まで同様の有意差を示した。

5. LE および Autolyzed-LE 中に存在するエリタデニンの確認

TLC により LE および Autolyzed-LE の熱水抽出液を展開したところ主な成分が 2 種類得られた。これらの成分を MALDI-TOF-MS により分子量を調べ、構造解析したところ Rf 0.33 に展開した成分はエリタデニン (分子量, 253) であり, Rf 0.68 に展開した成分はアデノシン (分子量, 267) であることがわかった (Fig. 3)。また, TLC の結果より, エリタデニンおよびアデノシン含量は LE, Autolyzed-LE ともにほぼ同程度であった。

6. LE および Autolyzed-LE の ACE 活性阻害

LE および Autolyzed-LE の ACE 活性阻害濃度を調べたところ, LE の IC_{50} 値は $2500 \mu\text{g/ml}$, Autolyzed-LE の IC_{50} 値は $490 \mu\text{g/ml}$ であり, Autolyzed-LE は LE に比べて約 5 倍活性が高かった。そこで, Autolyzed-LE 中のタンパク・ペプチド含量を調べた。Autolyzed-LE を水でけん濁して, その上清中の全アミノ酸と遊離アミノ酸を測定し, 全アミノ酸から遊離アミノ酸を差し引くことでタンパク・ペプチド含量とした。その結果, タンパク・ペプチド含量の割合は 54% を占めることがわかった。

考 察

本研究においてシイタケを自己消化させることによって遊離アミノ酸の増加が確認できた。これはシイタケ中のプロテアーゼが作用したためと思われた。また Table 1 に示したように, GABA についてもその濃度を増加させることができた。我々は, アガリクス茸が有しているグルタミン酸脱炭酸酵素 (GAD) 活性によりアガリクス茸に GABA を高濃度 (2% 以上) に蓄積できることを報告しているが²⁶⁾, シイタケの GAD はアガリクス茸に比べてその活性が弱いためアガリクス茸ほど多量の GABA を蓄積できなかったことが考えられた。しかしながら, 血圧降下作用を有する GABA 含有食品素材は発芽玄米や紅麹など数多くあるが, いずれも GABA 含有量は 0.02~0.05% であり, Autolyzed-LE 中の GABA 含有量のほうがそれらよりも多いことが示された。

Autolyzed-LE および LE が SHR の血圧に対してどのような影響を与えるのか調べたところ、コントロール群に対して Autolyzed-LE と LE 投与群は体重変化や摂食量に大きな差は認められなかった。しかしながら、Autolyzed-LE 投与群は血圧値を有意に低下させた。シイタケの血圧降下作用は既に報告されているが²⁷⁾、それはシイタケ粉末を飼料中に 5% 添加しており、本研究ではシイタケ粉末を 2% 添加した条件で実験をおこない、シイタケを自己消化させることの優位性を示した。これは Autolyzed-LE に含まれる GABA やその他の成分が血圧値の降下に作用していることが考えられた。LE および Autolyzed-LE にはシイタケ特有の核酸成分が含まれている。TLC と MALDI-TOF-MS の結果からそれらはエリタデニン²⁸⁾ とアデノシンであることが確認された。アデノシンは血管拡張による血圧降下作用のあることが報告されており²⁹⁾³⁰⁾、降圧作用の要因になってい

ることが考えられた。同時に ACE 阻害活性について調べたところ、LE に比べて Autolyzed-LE は約 5 倍活性が高かった。これは自己消化によりプロテアーゼが作用することで、ペプチド成分が増加し、ACE の阻害活性が向上したと考えられた。つまり、Autolyzed-LE の水溶性区分の全アミノ酸から遊離アミノ酸を差し引いたところタンパク・ペプチド含量の割合は 54% と多く、これにより Autolyzed-LE 中に存在するペプチドなどの降圧成分が血圧降下作用に深く関与していることが示唆された。以上のことから自己消化処理したシイタケは GABA による降圧作用、シイタケに含まれる水溶性の核酸成分、そして ACE 阻害活性成分などが協働的に関与して、SHR の血圧を低下させたことが支持された。

LE および Autolyzed-LE が SHR の血清脂質レベルに対する影響を調べた結果、両群とも血清中の TC、特に (VLDL+LDL) -C と TG、PL の値を有意に低下さ

Table 3 Analytical results of serum lipid levels in SHR fed 1% NaCl diets supplemented with LE or Autolyzed-LE

	Day 1	Day 7	Day 14	Day 21
TC (mg/dl)				
Control	69.4 ± 2.3	94.1 ± 3.5 ^a	90.0 ± 3.4 ^a	106.4 ± 6.7 ^a
LE	72.0 ± 6.3	62.4 ± 9.9 ^b	62.4 ± 8.2 ^b	68.9 ± 7.3 ^b
Autolyzed-LE	69.9 ± 4.9	62.5 ± 6.9 ^b	61.2 ± 4.9 ^b	64.7 ± 4.5 ^b
HDL-C (mg/dl)				
Control	59.1 ± 8.0	61.4 ± 2.1 ^a	54.0 ± 2.7 ^a	58.0 ± 8.4 ^a
LE	61.8 ± 5.5	46.2 ± 3.2 ^b	43.2 ± 1.3 ^b	46.9 ± 3.5 ^b
Autolyzed-LE	64.9 ± 4.1	48.7 ± 3.0 ^b	45.1 ± 2.2 ^b	46.1 ± 3.5 ^b
AI*				
Control	0.23 ± 0.15	0.61 ± 0.07 ^a	0.66 ± 0.11 ^a	0.86 ± 0.20 ^a
LE	0.18 ± 0.09	0.33 ± 0.15 ^b	0.43 ± 0.19 ^b	0.47 ± 0.13 ^b
Autolyzed-LE	0.14 ± 0.04	0.33 ± 0.09 ^b	0.39 ± 0.06 ^b	0.41 ± 0.08 ^b
TG (mg/dl)				
Control	87.0 ± 18.0	372.3 ± 71.3 ^a	287.0 ± 91.0 ^a	395.7 ± 48.1 ^a
LE	85.4 ± 19.0	242.7 ± 70.0 ^b	148.8 ± 44.5 ^b	135.1 ± 58.9 ^b
Autolyzed-LE	87.7 ± 9.8	197.9 ± 52.0 ^b	168.8 ± 13.7 ^b	107.1 ± 10.1 ^b
PL (mg/dl)				
Control	142.9 ± 7.2	205.0 ± 13.7 ^a	202.9 ± 11.9 ^a	213.3 ± 17.6 ^a
LE	135.2 ± 8.3	151.9 ± 24.7 ^b	128.1 ± 13.7 ^b	139.6 ± 10.6 ^b
Autolyzed-LE	141.6 ± 8.9	141.3 ± 8.2 ^b	133.2 ± 7.6 ^b	141.2 ± 12.5 ^b

* Atherogenic index : [(TC-HDL-C)/HDL-C]

Data represent in mean ± SD for 6 male rats.

^{a, b} Means within the same horizontal column that do not share a common superscript letter were significantly different ($p < 0.05$).

せた。シイタケ中の血清脂質レベルを低下させる成分としてエリタデニンが報告されている^{1)~4)}。本実験では、Fig. 3に示したようにLEおよびAutolyzed-LEともにエリタデニンの存在が確認され、TLCの結果からその含量はほぼ同程度であった。これによりLEおよびAutolyzed-LE投与群がSHRの血清脂質レベルを低下させたのはエリタデニンの作用であることが考えられた。

以上、本研究の結果から、Autolyzed-LEの摂取によりSHRの血圧は降下し、それはシイタケを自己消化により得られた複数の降圧成分が協働的に関与し、またエリタデニンの作用で血清脂質レベルを低下させることがわかった。

要 約

自己消化処理したシイタケが本態性高血圧自然発症

ラット (SHR) の血圧に対してどのような影響を及ぼすかを検討した。シイタケを自己消化させることにより遊離アミノ酸含量が増加した。また、 γ -アミノ酪酸 (GABA) についても自己消化によりその含量が増加した。自己消化処理したシイタケ (Autolyzed-LE) および処理前のシイタケ (LE) を飼料中へ2%添加した場合には、SHRに対してAutolyzed-LE投与群がコントロール群に比べて有意に血圧を降下させた。しかし、LE群はコントロール群に比べて血圧降下作用を示さなかった。Autolyzed-LEおよびLEにはエリタデニンやアデノシンが存在することが確認された。次にAutolyzed-LEとLEについてアンジオテンシン-I変換酵素 (ACE) 活性阻害効果を調べたところ、LEに比べてAutolyzed-LEのACE阻害活性は5倍高かった。これによりAutolyzed-LEの血圧降下作用はGABA、アデノシン、ACE阻害活性成分などの相互作用により起

Fig. 3 Identification of eritadenine and adenosine by using TLC and MALDI-TOF-MS

(A) LE, (B) Autolyzed-LE. TLC conditions were as follows: plate, silica gel 60 F254; solvents, n-butanol: acetic acid: water=4:2:1; UV irradiation, UV-C (254 nm).

MALDI-TOF-MS conditions were as follows: matrix, α -cyano-4-hydroxycinnamic acid; mode, reflector; ionization, positive.

こっていることが考えられた。Autolyzed-LE および LE を食餌成分として SHR に与えた結果、血清総コレステロール (TC)、特に (VLDL+LDL) -C、トリグリセリド (TG)、動脈硬化指数、リン脂質 (PL) の値が有意に低下した。これはシイタケに含まれるエリタデニンの作用であることが考えられた。

文 献

- 1) Takashima, K., Sato, C., Sasaki, Y., Morita, T. and Takeyama, S., Effect of eritadenine on cholesterol metabolism in the rat. *Biochem. Pharmacol.*, **23**, 433-438 (1974).
- 2) Okumura, K., Matsumoto, K., Fukamizu, M., Yasuo, H., Taguchi, Y., Sugihara, Y., Inoue, I., Seto, M., Sato, Y., Takamura, N., Kanno, T., Kawazu, M., Mizoguchi, T., Saito, S., Takashima, K. and Takeyama, S., Synthesis and hypocholesterolemic activities of eritadenine derivatives. *J. Med. Chem.*, **17**, 846-855 (1974).
- 3) 徳田節子, 鈴木 紳, 金田尚志, 食用きのこ類の白ネズミコレステロール代謝に及ぼす影響 (第 10 報) シイタケの血漿コレステロール低下機構 (IV) C14-エリタデニンの白ネズミ体内でのゆくえ, 栄養と食糧, **29**, 95-101 (1976).
- 4) 伊東牧子, 川田澄子, 山本信子, 遠藤仁子, 萩原美恵子, 原見彩子, 大村京生, ラットの血漿および肝脂質におよぼすエリタデニン投与の影響, 栄養と食糧, **34**, 65-69 (1981).
- 5) Maeda, Y.Y., Chihara, G. and Ishimura, K., Unique increase of serum proteins and action of antitumour polysaccharides. *Nature*, **252**, 250-252 (1974).
- 6) Sasaki, T., Takasuka, N., Chihara, G. and Maeda, Y.Y., Antitumor activity of degraded products of lentinan: Its correlation with molecular weight. *Gann*, **67**, 191-195 (1976).
- 7) 宮崎利夫, 真菌多糖類と免疫活性. 化学と生物, **17**, 749-752 (1979).
- 8) 林 良輔, 落合武徳, 渡辺一男, 竜 崇正, 西島浩, 浅野武秀, 大塚雅昭, 坂本 薫, 清水 謙, 古川隆男, 渡辺義二, 鈴木孝雄, 菊池俊之, 佐藤博, 中村雅一, 持続動注による免疫化学療法が著効を示した末期胃がんの一例. がんの臨床, **26**, 933-936 (1980).
- 9) 都丸敬一, 宇田川 晃, 担子菌類子実体抽出液の抗菌物ウイルス性. 植物防疫, **29**, 17-19 (1975).
- 10) 竹原 学, 杭田 要, 森 寛一, シイタケウイルス様粒子の抗ウイルス作用. 医学と生物学, **98**, 273-276 (1979).
- 11) Kurasawa, S., Hayashi, J. and Sugahara, T., Studies on dietary fiber of mushrooms and edible wild plants. *Nutr. Rep. Int.*, **26**, 167-173 (1982).
- 12) 南雲英樹, 荻田善一, 岡田知佐子, 松下 功, 松野 明, 辻 陽雄, 霊芝成分の免疫機能調節作用に及ぼす影響について. 和漢医薬学会誌, **7**, 282-283 (1990).
- 13) 伊藤 均, 桐ヶ谷紀昌, 霊芝由来・抗腫瘍性多糖体の細胞内皮系機能賦活作用. 医学と生物学, **127**, 345-348 (1993).
- 14) Kuo, Y.C., Tsai, W.J., Wang, J.Y., Chang, S.C., Lin, C.Y. and Shiao, M.S., Regulation of bronchoalveolar lavage fluids cell function by the immunomodulatory agents from *Cordyceps sinensis*. *Life Sci.*, **68**, 1067-1082 (2001).
- 15) Adachi, K., Nanba, H. and Kuroda, H., Potentiation of host-mediated antitumor activity in mice by β -glucan obtained from *Grifola frondosa* (maitake). *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 262-270 (1987).
- 16) 河岸洋和, キノコ由来の細胞機能調節物質, 農化, **68**, 1671-1677 (1994).
- 17) Kurushima, H., Kodama, N. and Nanba, H., Activities of polysaccharides obtained from *Grifola frondosa* on insulin-dependent diabetes mellitus induced by streptozotocin in mice. *Mycoscience*, **41**, 473-480 (2000).
- 18) Mizuno, M., Morimoto, M., Minato, K. and Tsuchida, H., Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 434-437 (1998).
- 19) Mizuno, M., Minato, K., Ito, H., Kawade, M., Terai, H. and Tsuchida, H., Anti-tumor polysaccharide from the mycelium of liquid-cultured *Agaricus blazei* Mill. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **47**, 707-714 (1999).
- 20) 菊川忠裕, 江口文陽, 安部千之, 吉本博明, 桧垣宮都, 新規抗炎症物質: 2 系の間接炎モデルマウスに対する *Agaricus blazei* Murri (CJ-01) の影響. 炎症, **19**, 261-267 (1999).
- 21) 渡辺敏郎, 山田貴子, 田中仁子, 姜 聖花, Mazumder, T.K., 永井史郎, 辻 啓介, 高血圧自然発症ラットにおける γ -アミノ酪酸蓄積アガリクス茸の血圧降下作用. 食科工, **49**, 166-173 (2002).
- 22) 杉山公男, 赤地利幸, 村松敬一郎, シイタケ摂取によるメチル化反応の抑制と血漿コレステロール低下作用との関係. 必須アミノ酸研究, **139**, 1-5 (1994).

- 23) Lelik, L., Vitanyi, G., Lefler, J., Hegoczky, J., Nagy-Gasztonyi, M. and Vereczkey, G., Production of the mycelium of shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom and investigation of its bioactive compounds. *Acta Aliment.*, **26**, 271-277 (1997).
- 24) 荒川信彦, 向山晴美, 中井 恵, 中島和男, 田辺修, 稲垣長典, エノキタケ中の血漿コレステロール低下因子の分画. 栄養と食糧, **30**, 35-38 (1977).
- 25) Cushman, D.W. and Cheung, H.S., Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.*, **20**, 1637-1648 (1971).
- 26) 姜 聖花, 渡辺敏郎, Mazumder T.K., 永井史郎, アガリクス自己消化による GABA 高含有素材の開発. バイオインダストリー, **19**, 25-31 (2002).
- 27) Kabir, Y., Yamaguchi, M. and Kimura, S., Effect of shiitake (*Lentinus edodes*) and maitake (*Grifola frondosa*) mushroom on blood pressure and plasma lipids of spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **33**, 341-346 (1987).
- 28) Vitanyi, G., Lelik, L., Bihatsi, K.E., Lefler, J., Nagy, G.M. and Vereczkey, G., Determination of eritadenine in extracts from shiitake mushroom by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid commun. Mass spectrum.*, **12**, 120-122 (1998).
- 29) Seemann, W.R., Mathias, K., Roeren, T.H., Urban, Y.B. and Kopp, K.H., Adenosine and diltiazem. A new therapeutic concept in the treatment of intestinal ischemia. *Invest. Radiol.*, **20**, 166-170 (1985).
- 30) Phillis, J.W. and Delong, R.E., The role of adenosine in cerebral vascular regulation during reductions in perfusion pressure. *J. Pharm. Pharmacol.*, **38**, 460-462 (1986).

(平成 14 年 5 月 7 日受付, 平成 14 年 7 月 29 日受理)