

スギ成分の分離・変換とそれらの生理機能評価Ⅱ

スギ材テルペノイドの抗変異原性の検討

水光正仁・榊原陽一（農学部）

要約

スギ材テルペノイドである Ferruginol とその関連化合物の食品科学分野への応用を想定し、食品としての機能性の一つとして抗変異原作用に関する評価を行った。その結果、スギ成分は直接変異原である 4-Nitroquinoline 1-Oxide (4NQO)、2-Nitrofluorene (2-NF)、2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF-2)、間接変異原である Trp-p-1 のいずれに対しても顕著な抗変異原性を示しませんでした。スギ成分が単独で変異原性を示さなかったことよりその安全性が確認された。

1・緒言

スギ材テルペノイドの食品科学分野への応用を想定し、スギ材テルペノイドに秘められた生体機能調節作用の一つとして抗変異原活性に着目し検討した。本研究室では、以前から食品中に含まれる抗変異原物質について研究を行い、宮崎特産の有色甘藷（アヤマラサキ）のアントシアニン系の色素に抗変異原作用があることを報告した。そこで、今回はスギ成分の抗変異原性について検討した。抗変異原性試験には *Salmonella typhimurium* TA98 を用いた Ames 法(1,2)により行った。

2・実験

スギ成分のサルモネラ菌に対する抗菌活性および変異原活性の検討

Ames 法による抗変異原試験を行うにあたり、スギ成分が *S. typhimurium* TA98 に対して抗菌活性及び変異原性を持たないことを確認するため以下の実験を行った。Ames 法はブレインキュベーション法を用いた。

スギ成分は DMSO を用い次の濃度に調製した。プレートあたり 500 n モル, 50n モル, 5n モル, 500p モル, 50p モル, 5 p モル。次に *S. typhimurium* TA98 を試験管に 100 μ l 分注し、上記濃度のスギ成分を加えた。37℃の水浴中で20分間ブレインキュベーションし、トップアガーを加え、最小グルコース寒天培地上に重層した。37℃で2晩インキュベートした後、プレート上の復帰コロニー数をカウントした。

直接変異原に対するスギ成分の抗変異原効果

今回、直接変異源としては 4-Nitroquinoline 1-Oxide (4NQO)、2-Nitrofluorene (2-NF)、2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF-2)の3種を用いた。4NQOは 0.2 μ g/plate 加えることで *S. typhimurium* TA98 に変異を与える。2-NFは 1 μ g/plate で *S. typhimurium* TA98 に変異を与える。AF-2は 0.1 μ g/plate で *S. typhimurium* TA98 に変異を与える。スギ成分を

加えることで、4NQO、2-NF、AF-2 によって誘起される変異を抑えることができるか実験を行った。

試験管に直接変異原とスギ成分及び菌懸濁液を加えた。コントロールには DMSO を加えた。37℃の水浴中で20分間プレインキュベーションし、トップアガーを加え、最小グルコース寒天培地上に重層した。37℃で2晩インキュベートした後、プレート上の復帰コロニー数をカウントした。

間接変異原 Trp-p-1 に対するスギ成分の抗変異原効果

Trp-p-1 は 0.0378 μ g/plate で *S.typhimurium* TA98 に変異を与える。間接変異原である Trp-p-1 は哺乳動物のもつ異化代謝第 I 相反応によって代謝活性化の後初めて変異原性を示す。Ames 法を行うにあたり、ラット肝ミクロソーム含有画分 S-9 を用い代謝活性化を行った。試験管にスギ成分、Trp-p-1、S-9 を分注し、37℃の水浴で30分間反応した。次に、*S.typhimurium* TA98 菌懸濁液を加え、37℃の水浴中で20分間プレインキュベーションした。トップアガーを加え、最少グルコース寒天培地上に重層し、37℃、2晩、倒置培養の後、復帰コロニー数をカウントした。

3・結果および考察

まずスギ成分のサルモネラ菌に対する抗菌活性および変異原活性について検討した。その結果、表1に示したように今回試験を行った濃度ではサルモネラ菌に対する抗菌活性を示さなかった。またスギ成分単独で変異原性を示さなかったことよりスギ成分の変異原性に関して安全性が確認された。

表1. *S.typhimurium* TA98 に対するスギ成分の影響

スギ成分 試料濃度 (mol/plate)	1		2		4		5		6		7		8	
500n	6±2	5±2	8±2	5±2	5±2	7±4	3±1							
50n	8±3	6±2	11±3	10±1	10±1	6±2	6±3							
5n	7±0	8±4	7±3	13±2	13±2	5±2	9±4							
500p	7±2	10±1	11±2	8±2	8±3	4±1	5±2							
50p	8±3	5±1	7±2	5±2	9±2	12±3	7±3							
5p	7±2	9±2	8±2	7±4	10±4	7±5	5±1							
Control	5±0		8±1		5±0									

次に直接変異原に対するスギ成分の抗変異原効果について検討した。今回、直接変異原として4-Nitroquinoline 1-Oxide (4NQO)、2-Nitrofluorene (2-NF)、2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF-2)の3種を用い実験を行った。その結果、表2に示したようにいずれの変異原に対しても顕著な抗変異原活性は認められなかった。

次に間接変異原に対するスギ成分の抗変異原効果について検討した。今回、間接変異原として Trp-p-1 を用い実験を行った。その結果、表3に示したようにいずれの変異原に対しても顕著な抗変異原活性は認められなかった。

表2. 直接変異原に対するスギ成分の効果

	Revertant colonies/plate		
	4NQO	2NF	AF-2
DMSO	121 ± 22	132 ± 23	115 ± 14
スギ成分 No.1	103 ± 3	129 ± 35	74 ± 20
スギ成分 No.2	80 ± 12	122 ± 20	93 ± 2
スギ成分 No.4	92 ± 22	113 ± 11	88 ± 18
スギ成分 No.5	119 ± 23	104 ± 10	87 ± 6
スギ成分 No.7	116 ± 31	123 ± 20	109 ± 4
スギ成分 No.8	117 ± 8	117 ± 17	103 ± 12

変異原として4NQO,2NF,AF-2を用いた
結果はプレートあたり復帰コロニー数±SD値で表した

表3. 間接変異原に対するスギ成分の効果

Control DMSO	Revertant colonies/plate	
	297 ± 16	343 ± 10
スギ成分 No.1	213 ± 26	
スギ成分 No.2	242 ± 31	
スギ成分 No.4	241 ± 21	
スギ成分 No.5		304 ± 23
スギ成分 No.7		329 ± 15
スギ成分 No.8		319 ± 18

変異原としてTrp-p-1を用いた
結果はプレートあたり復帰コロニー数の平均値±SD値で表した

4・結論

スギ材テルペノイドである Ferruginol とその関連化合物の食品としての機能性の一つとして抗変異原作用に関する評価を行った。その結果、スギ成分は直接変異原、間接変異原のどちらに対しても顕著な抗変異原性を示しませんでした。このことからスギ成分が変異原物質と調節相互作用して抗変異原性を示したり、変異原前駆物質の代謝活性化を阻害する可能性が少ないことが判明した。しかしながら、本研究において使用した変異原試験はサルモネラ菌を用いた Ames 法であり、将来、動物細胞培養系を用いた研究において新たな機能が発見される可能性まで否定するものではなく、少なくともスギ成分が単独で変異原性を示さなかったことよりその安全性が確認された。

引用文献

- (1) Drothy, M. and Bruce, M. "Revised methods for the Salmonella mutagenicity test" *Mutatin Res.* 113, 173-215 (1983)
- (2) 「抗変異原・抗発がん物質とその検索法」黒田行昭 編
講談社サイエンティフィック