

## 県内産農産物のHL60細胞増殖抑制活性\*

小村 美穂<sup>\*1</sup>・柚木崎千鶴子<sup>\*1</sup>・アショク・クマル・サーカー<sup>\*2</sup>・杉下 弘之<sup>\*3</sup>・岡部 玲二<sup>\*4</sup>

### Antitumor Activity of Agricultural Products in Miyazaki Prefecture

Miho KOMURA, Chizuko YUKIZAKI, Ashok. K. Sarker, Hiroyuki SUGISHITA and Reiji OKABE

県産農産物および県総合農業試験場で育成された24品種のニガウリについて、HL60細胞の増殖抑制活性を検討した。県産農産物については、バジル、ローズマリー、ペパーミント、スペアミント、レモンバーム等のシソ科ハーブ類、ブルーベリー葉、有色米、茶が強い活性を示した。そのほか活性の認められた作物には、ニガウリの胎座および種子、サトイモ皮、カンキツ未熟果果皮、ダイコン葉等の未利用部位が含まれることから、未利用資源の有効利用が期待された。24品種ニガウリについては、品種間差は認められなかったが、各部位において、可食部<胎座<種子の順にHL60細胞増殖抑制活性が高くなる傾向がみられた。

キーワード：農産物、ニガウリ、HL60細胞

#### 1 はじめに

近年の健康志向から、国民のライフスタイルは治療より予防を重視する方向に向かっており、「食」による疾病予防、副作用の少ない医薬品の開発が望まれている。しかし一方では、「食」の供給源となる宮崎県の農業も、輸入自由化による中国、東南アジア等からの農産物の増加で、価格の低迷・消費量の減少など深刻な問題を抱えている。

そこで、宮崎県を産地とした農産物の機能性を網羅的に評価することで、農産物の付加価値の向上・消費量の増大、さらには農産物の機能性を活かした高機能性食品を開発することで、食品産業を活性化することを目的としこの研究に取り組んだ。

本研究において、県産農産物および県総合農業試験場で育成された24品種ニガウリのHL60細胞増殖抑制活性を検討したので報告する。

\* バイオマーカーによる県産農産物の機能性評価に関する研究（第2報）

\* 1 食品開発部

\* 2 食品開発センター 客員研究員

\* 3 県総合農業試験場  
（現 宮崎県地域生活部西臼杵支庁）

\* 4 県総合農業試験場  
（現 宮崎県農政水産部東臼杵農林振興局）

#### 2 実験方法

##### 2-1 サンプルの調整

###### (a) 凍結乾燥粉末の調整

県総合農業試験場で栽培された農産物を収穫期にあわせて提供を受け、即日、可食部、非可食部の部位ごとに分けて真空凍結乾燥（FTS SYSTEM、Dura-Top MP & Dura-DRY MP）で乾燥を行った。乾燥試料は、超遠心粉砕器（MRK & RETSCH, EM-1型）で0.5mmのスクリーンを通して（一部糖分の多い試料は5mmスクリーン使用）粉砕した。

###### (b) HL60細胞増殖抑制試験用サンプルの調整

凍結乾燥試料1gに30mlの80%EtOHを加えてボルテックスで30秒攪拌し、NO.5Aの濾紙で吸引濾過後、エバポレーターで濃縮し、凍結乾燥抽出物を得た。抽出物はDMSOに再溶解し、供試サンプルとした。

##### 2-2 HL60ヒト白血病細胞培養条件

HL60ヒト白血病細胞（RCB0041）は（独）理化学研究所バイオリソースセンターより分譲を受けた。HL60細胞は10%ウシ胎児血清を含むRPMI1640培地で、37℃、5%CO<sub>2</sub>存在下、相対湿度100%の条件で培養した。

## 2-3 HL60細胞増殖抑制試験

測定培地中でサンプル終濃度が62.5、125、250、500  $\mu\text{g}$  (extract) / ml) になるようにPBS(-)で希釈し、1  $\mu\text{l}$  ずつ96穴プレートに分注した。ここに細胞懸濁液 ( $1 \times 10^5$  cells/ml) を99  $\mu\text{l}$  ずつ加えて混合し、48時間培養した。その後、テトラカラーワン試薬 (生化学工業) 10  $\mu\text{l}$  を加えてさらに4時間培養し、650nmの吸光度を参考波長として450nmの吸光度をマイクロプレートリーダー (ナルジェヌクインターナショナル、Immuno Mini NJ-2300) で測定した。その吸光度から生細胞数を測定することができる。測定は3連で行い、細胞にDMSO/PBS(-) 1  $\mu\text{l}$  を添加したものをcontrolとし、細胞増殖はcontrolの平均吸光度に対する百分率で算出した。また、対control%が50%の時のサンプル濃度を $\text{IC}_{50}$ として増殖抑制活性を示した。

## 3 結果及び考察

### 3-1 県産農産物のHL60細胞増殖抑制活性

県産農産物のHL60細胞増殖抑制試験の結果を表1に示した。 $\text{IC}_{50}$ の値が、100  $\mu\text{g}$  / ml以下を示すものを強い作用、100  $\mu\text{g}$  / ml以上300  $\mu\text{g}$  / ml未満を中程度の作用、300  $\mu\text{g}$  / ml以上500  $\mu\text{g}$  / ml未満を弱い作用、500  $\mu\text{g}$  / ml以上の場合を今回の試験では効果なしとした。強い作用を持つ作物は、バジル、ローズマリー、ペパーミント、スペアミント、レモンバーム等のシソ科ハーブ類、ブルーベリー葉、有色米、茶であった。また活性の認められた作物には、ニガウリの胎座・種子、サトイモ皮、カンキツ未熟果果皮、ダイコン葉などの未利用部位が含まれることから、未利用資源の有効利用が期待される。

### 3-2 ニガウリ24品種のHL60細胞増殖抑制活性

総合農業試験場で育種された24品種ニガウリ可食部、胎座および種子のHL60細胞増殖抑制活性 ( $\text{IC}_{50}$ 値) を表2に示した。また、それらを集計して部位ごとの品種間差、部位間差を比較し、

表1 県内産農産物のHL60細胞増殖抑制活性

強い作用
100 $\mu\text{g}$ / ml以下 バジル、ローズマリー、ペパーミント、スペアミント、レモンバーム、ブルーベリー葉 有色米、茶
中程度の作用
100 $\mu\text{g}$ / ml 以上300 $\mu\text{g}$ / ml未満 ステビア、トウガラシ種子、サトイモ皮、ハウレンソウ、柑橘未熟果果皮、 ニガウリ可食部・胎座・種子
弱い作用
300 $\mu\text{g}$ / ml以上500 $\mu\text{g}$ / ml未満 ブルーベリー可食部、ナス、サトイモ可食部、茎葉利用カンショ葉・茎、エンドウ豆、 ニラ、レタス、ダイコン葉、有色カンショ
効果なし
500 $\mu\text{g}$ / ml以上 マンゴー果皮、キンカン可食部・種子(2)、日向夏可食部、果皮、有色ピーマン(3) パプリカ可食部・胎座、トウガラシ可食部、カボチャ可食部・胎座・種子、イチゴ メロン可食部・胎座種子、ミニトマト、ズッキーニ、キュウリ、スイートコーン (可食部・芯) 大豆(3)、エンドウ茎葉・サヤ、コマツナ、タマネギ可食部・葉、ニンジン可食部・葉 ダイコン可食部、タケノコ、ワラビ

( ) は品種数を示す

図1 (a, b, c)、図2に示した。なお、品種間差については、その由来から、A：佐土原3号とその親系統、B：紡錘形品種、C：紡錘形新育成品種、D：円筒形品種、E：白色果、F：イボなし果の6グループとした。(S-PL-1は1品種のため排除)

その結果、図1のとおり各部位において品種間差は認められず、可食部、胎座に比較し種子の活性に大きなばらつきがみられた。実際、果実の肥大に合わせた収穫を行ったため、種子の熟度にばらつきがあったことが原因のひとつではないかと推測された。サンプル収穫の基準を設けて確認する必要があると思われる。

部位間差については、図2に示すとおり、有意差は認められなかったが、可食部<胎座<種子の順にHL60細胞増殖抑制活性が高くなる傾向がみられた。また、種子においては表2に示すとおりIC<sub>50</sub>値が100 μg/ml以下と比較的活性の高いものも確認された。

表2 24品種ニガウリのHL60細胞増殖抑制活性

分類	品種	部位別IC <sub>50</sub> 値 (μg/ml)		
		可食部	胎座	種子
A	佐土原3号	176	179	84
	TGL	242	265	76
	041-2	224	170	154
B	えらぶ	225	186	38
	けらま	171	148	35
	ゴーヤ節成	286	286	264
	パワフル	219	206	45
C	041-2×PL-5	317	133	184
	宮崎N1号	255	240	61
	PL-5	443	153	116
	緑馬	224	196	68
D	宮崎こいみどり	220	228	500
	宮崎緑	163	220	38
	2221	162	194	82
	7211	124	108	284
	宮崎青長	309	243	114
	さつま大長	220	161	170
	佐土原白長	153	142	38
E	W-PL-1	228	161	43
	W-PL-2	354	205	40
	W-PL-3	156	147	182
F	T-PL-2	315	243	94
	T-PL-3	273	171	500
	S-PL-1	170	101	105

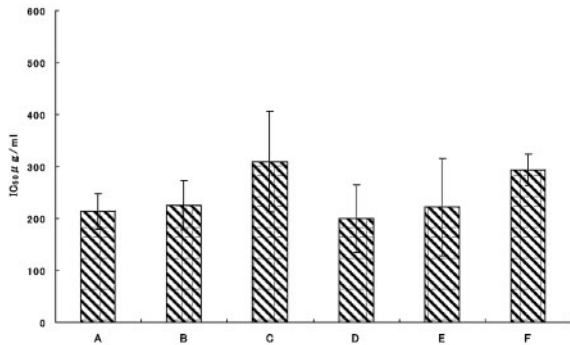


図1-a 品種間差 可食部

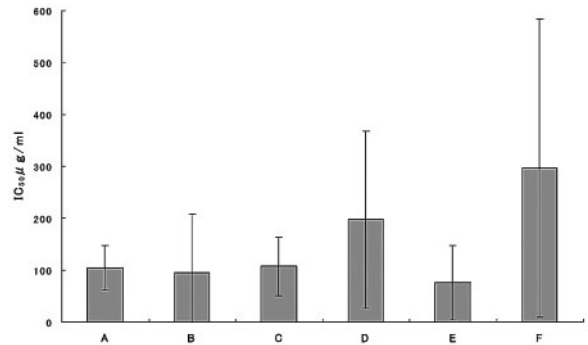


図1-c 品種間差 種子

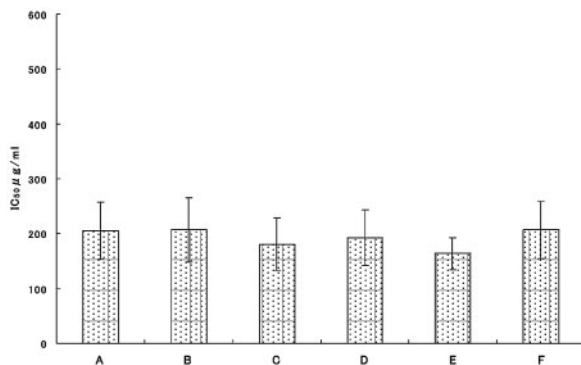


図1-b 品種間差 胎座

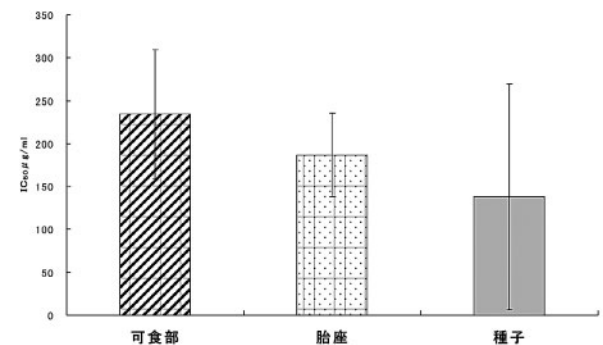


図2 部位間差 (可食部・胎座・種子)

#### 4 まとめ

県産農産物および県総合農業試験場で育成された24品種のニガウリについて、HL60細胞の増殖抑制活性を検討した結果は以下のとおりであった。

- 1) バジル、ローズマリー、ペパーミント、スペアミント、レモンバーム等のシソ科ハーブ類、ブルーベリー葉、有色米、茶はHL60細胞の増殖を強く抑制した。
- 2) 活性の認められた作物には、ニガウリの胎座・種子、サトイモ皮、カンキツ未熟果果皮、ダイコン葉等の未利用部位が含まれることから、未利用資源の有効利用が期待される。
- 3) 24品種のニガウリのHL60細胞増殖抑制活性については、品種間差は認められなかったが、各部位間で、可食部<胎座<種子の順にHL60細胞増殖抑制活性が高くなる傾向にあった。

#### 5 参考文献

- 1) 新本洋士；食品機能研究法，光琳，p.275-278，(2000)
- 2) 豊川哲也，鎌田靖弘，山城利枝子，比嘉賢一，吉田安彦，花城薫，沖縄県工業技術センター研究報告，第3号，p91-95(2001)
- 3) 新本洋士，鈴木雅博，木村俊之，山岸賢治，日本食品科学工学会誌，48-10，p787-790(2001)
- 4) 江藤公美，岩下恵子，武井利之，八巻幸二，篠原和毅，小堀真珠子，日本食品科学工学会誌，49-4，p250-256(2002)