

ミャンマー産生薬抽出物の選択的腫瘍細胞傷害スクリーニング Selective Tumor Cytotoxicity Screening of Extracts from Myanmar Herbal Medicine

永井 慶太¹, 細野 智史¹, ○早川 哲平², 深津 誠³, 浮谷 基彦³, 木代 祥子³, 仁科 淳良³
Keita Nagai¹, Satoshi Hosono¹, *Teppei Hayakawa², Makoto Fukatsu³, Motohiko Ukiya³, Sachiko Kishiro³,
and Atsuyoshi Nishina³

Abstract: Traditional medicine called 'Burma medicine' has been using in Myanmar for long time. In some countries, such as India or Thailand, many active herbal components have been analyzed. Since political or economical confusion sustained for long time, abundant herbal medicine in Myanmar had not been analyzed. Thus, it is useful to elucidate active components and those mechanisms of Myanmar herbal medicine for drug development. In this research, we used 57 herbal medicines of Myanmar for screening and suggested that some components exhibited notable selective tumor cytotoxicity.

I. 目的

ミャンマーでは、古くから伝統医学としてビルマ医学が発達しており、長年の政治的・経済的混乱により、ミャンマーでは西洋医学の発達が遅れているため、現在でも種々の生薬が多岐にわたって用いられてきている。これまでに、インドやタイなど周辺諸国の伝統医薬は、様々な成分の単離や活性評価がなされてきている。しかし、ミャンマーのそれは前述の事情から、化合物の単離・活性評価等に未着手部分が多いため、新規化合物並びに新規製剤開発のリード化合物となり得る化合物の存在が期待される。

そこで本研究では、ミャンマー産生薬に含まれる選択的腫瘍細胞傷害効果を有する新規化合物の単離並びに新規抗がん剤開発に有用なリード化合物の探索を目的とし、正常及び腫瘍細胞株の 50 % 生存濃度を指標として、ミャンマー産生薬抽出物のスクリーニングを行った。

II. 方法

1) ミャンマー産生薬抽出物

ミャンマー産生薬 57 種を対象とした。乾燥させた生薬をミキサーで粉碎し、*n*-ヘキサンに浸漬して抽出を行い、抽出液をろ過・乾燥して、*n*-ヘキサン抽出物を得た。同様の操作を酢酸エチル、メタノールを用いて順次行い、それぞれ酢酸エチル抽出物、メタノール抽出物を得た。

2) Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT)法による細胞傷害性評価

正常細胞モデルとしてヒト胎児肺線維芽細胞株 WI-38 細胞、腫瘍細胞モデルとして、ヒト肺基底上皮腺がん細胞株 A549 細胞、ヒト前骨髄球性白血病細胞株 HL60 細胞を用いた。

細胞(3×10^3 個/ well)を 96-well flat plate に播種して 24 時間培養した後、得られた抽出物(1, 10, 100 μ g/ mL)を添加して 5 % CO₂ incubator 中で 48 時間処理した。0.5 % MTT 溶液を加えて 3 時間反応させた後、HCl/ isopropanol を添加して反応を停止させた。570 nm 及び 630 nm における吸光度を分光光度計で測定して細胞生存率を求め、それらの数値から各々の細胞の 50 % 生存濃度を算出した。選択的腫瘍細胞傷害効果は、WI-38 細胞対 A549 細胞、WI-38 細胞対 HL60 細胞の 50 % 生存濃度をそれぞれ比較して評価した。

III. 結果及び考察

各細胞株における生薬抽出物の 50% 生存濃度は、Figure 1 の如く算出した。Figure 1 では、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を超えるものは、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ として表示した。WI-38 細胞の 50% 生存濃度が高く、A549 細胞又は HL60 細胞の 50% 生存濃度が低い場合、正常細胞への影響が小さく、且つ腫瘍細胞への細胞傷害効果が高いことになり、即ち選択的腫瘍細胞傷害効果が高い抽出物であるといえる。このような傾向は、WI38 細胞対 A549 細胞の比較において、*n*-ヘキサン抽出物 19 種、酢酸エチル抽出物 16 種、メタノール抽出物 1 種に、WI38 細胞対 HL60 細胞の比較において、*n*-ヘキサン抽出物 44 種、酢酸エチル抽出物 46 種、メタノール抽出物 34 種に、それぞれ認められた。特に、Jasmine (Sample No. 29) は、いずれの抽出物も選択的腫瘍細胞傷害効果が高いことが明らかになった。また、Sample No. 21~28, 30~32, 54, 55 の *n*-ヘキサン抽出物及び酢酸エチル抽出物に選択的腫瘍細胞傷害効果が高い傾向が認められた。しかし、すべてのメタノール抽出物の A549 細胞に対する効果は、Hara nut tree (Sample No. 22) にのみ認められた。

以上より、複数のミャンマー産生薬抽出物が選択的腫瘍細胞傷害効果を示すことが明らかになり、有用な化合物の単離の可能性が示唆された。今後、これらの抽出物から成分の探索を進めることで、有用な活性成分の単離・構造活性の同定が期待される。

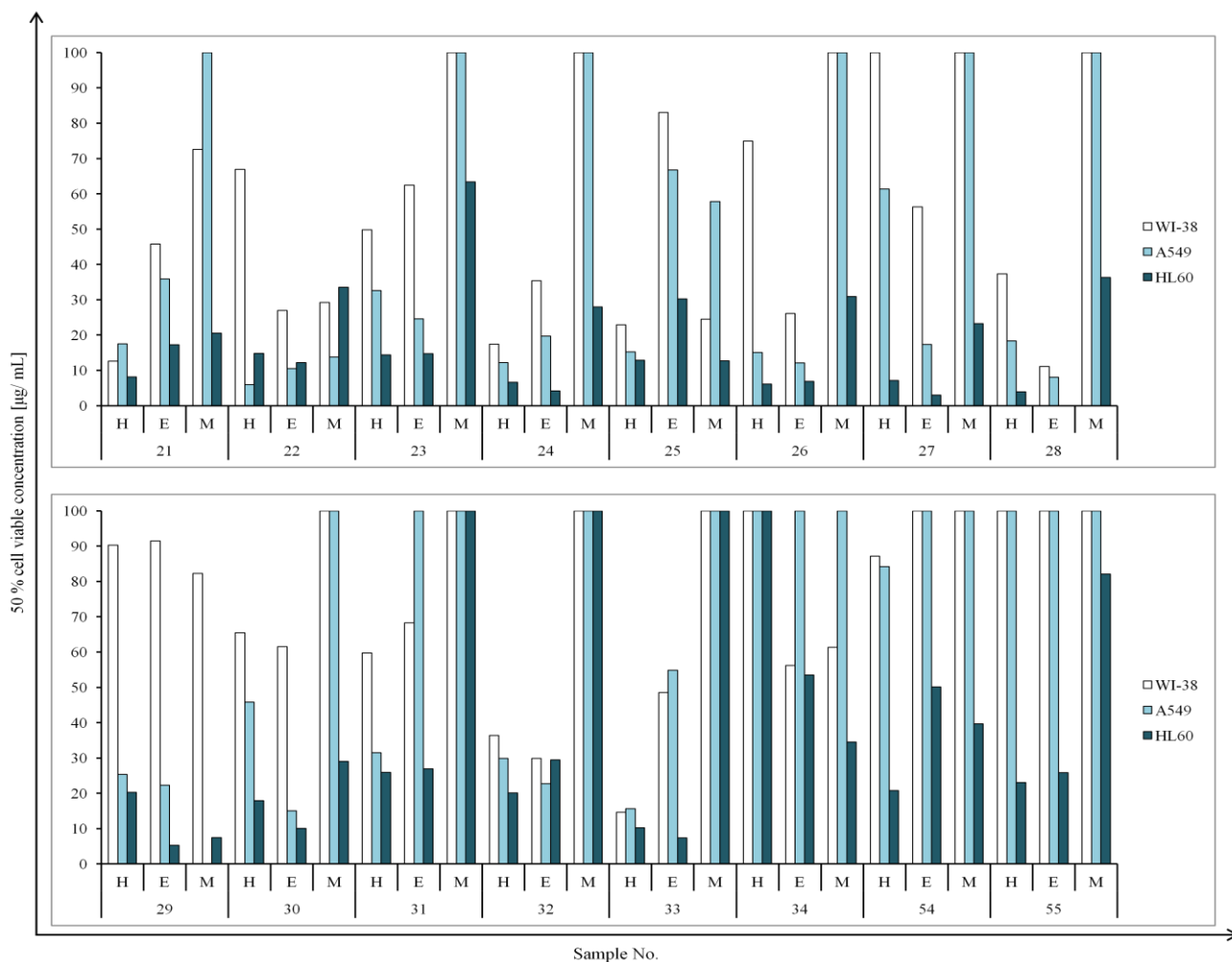


Figure 1. Screening of Myanmar herbal medicine extracts.

171 of Myanmar herbal extracts had tested. This figure shows in part, especially some effective extracts. Selective tumor cytotoxicity is evaluated with comparison of 50% cell viable concentration between normal and tumor cell lines. One sample contains 3 bars for each extract (H: *n*-hexane, E: ethyl acetate, and M: methanol extract) that indicate the 50% cell viable concentration of WI-38, A549, and HL60 cell line, respectively. 50% cell viable concentration excess 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ showed as 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in this figure. There are no data for methanol extract of No. 29 for A549 cell line.