

アダプトゲン製薬株式会社  
岐阜県多治見市土山町1丁目90-1  
TEL：0572-56-1111  
FAX：0572-56-0002

## 試験成績書

試験項目：腫瘍細胞増殖抑制測定

検体：冬虫夏草 (NK3)

試験期間：平成24年8月6～25日

試験場所：アダプトゲン製薬(株) 研究所

# 冬虫夏草 (NK3) の Hep G2 ヒト肝ガン細胞 に対する増殖抑制の測定

## 《目的》

冬虫夏草 (NK3) の抗腫瘍効果を Hep G2 ヒト肝ガン細胞の増殖抑制率を測定することで検討する。

## 《材料と方法》

### 1. 冬虫夏草

検体名：冬虫夏草 (NK3)

部分名：子実体

産地：江田島&防府ミックス

収穫期：平成 24 年 5 月 8 日

### 2. 冬虫夏草エキスの調整

冬虫夏草乾燥粉末に 8 倍量の精製水に懸濁し、80℃、2 時間抽出熱水抽出した。その後ろ過滅菌までを行い固形分を 10% としたものを冬虫夏草エキスとした。

### 3. 癌細胞の調整

Hep G2 ヒト肝ガン細胞を 37℃/5%CO<sub>2</sub> インキュベーター中で 10%Fatal Bovine Serum (シグマ社製)、1% 非必須アミノ酸、1 mM ビルビン酸ナトリウム /MEM・E (大日本住友製薬社製) 培養液により継代培養した。対数増殖期にある同細胞を Trypsin-EDTA により培養フラスコから剥離した後、MEM・E 培養液で洗浄し、細胞数を 4×10<sup>5</sup>cell/ml となるように調整したものを、細胞浮遊液として用いた。

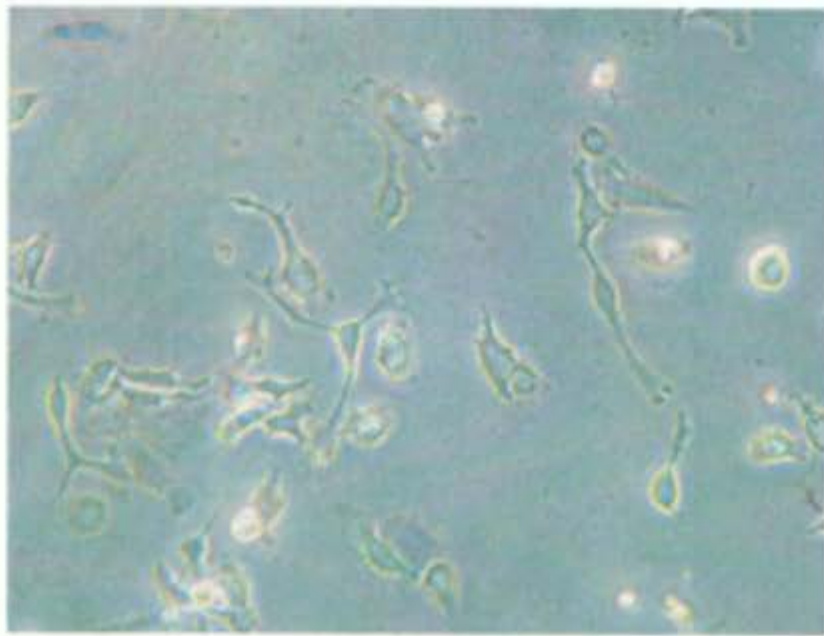
### 4. 細胞増殖の測定

調整済み細胞浮遊液を 96well cell culture plate 中に 100 μl ずつ分注して、冬虫夏草エキス成分が 0.1%、0.02%、0.005%となるよう調整した MEM・E 培養液を等量添加し、よく混和した後、37℃ /5%CO<sub>2</sub> インキュベーター中で 48 時間反応培養を行なった。培養終了後、Cell Counting Kit-8 (CCK-8) (同仁化学研究所社製) を各 well に 10 μl ずつ添加し、37℃/5%CO<sub>2</sub> インキュベーター中で 4 時間呈色反応した。マイクロプレートリーダーで各 well について 450nm の吸光度を測定し、事前に作成した検量線から細胞数を算出した。

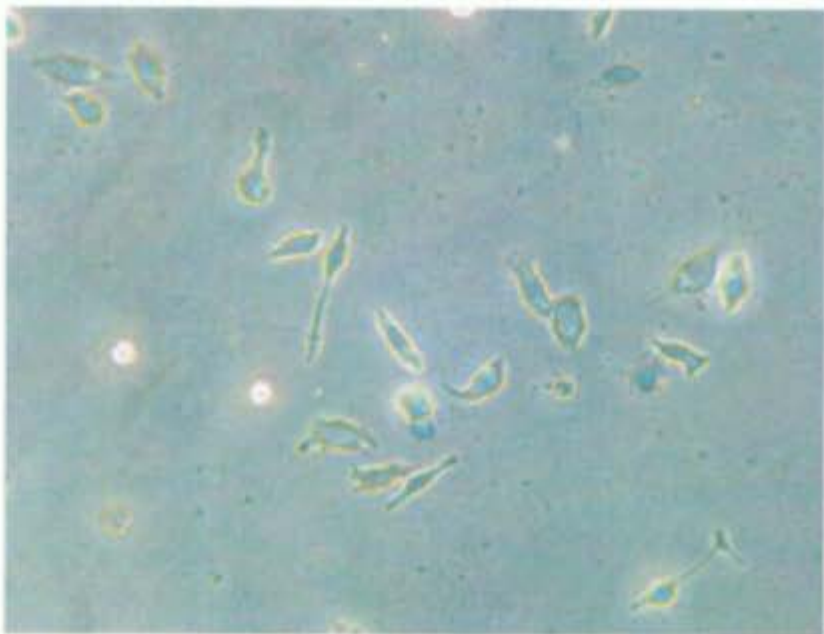
## 《結果及び考察》

Hep G2 ヒト肝ガン細胞の培養液に冬虫夏草 (NK3) エキス由来成分を加えて 48 時間培養後の細胞数と腫瘍細胞増殖抑制効果を Table.1、Fig.1 に示した。この結果から、冬虫夏草 (NK3) エキス由来成分は直接腫瘍細胞に作用し、細胞の壊死につながる効果を有していると示唆された。

今回の Hep G2 ヒト肝ガン細胞を用いた in vitro 試験で求められた腫瘍細胞増殖抑制率は冬虫夏草 (NK3) エキス成分を 0.005% 添加した群では 60.69%、0.02% 添加した群では 77.46%、0.1% 添加した群では 85.00% であり、顕著な腫瘍細胞抑制効果が認められた。



冬虫夏草エキス成分 0.005%添加



冬虫夏草エキス成分 0.02%添加



冬虫夏草エキス成分 0.1%添加

Fig.2 培養 48 時間後の細胞の様子

Table.1 冬虫夏草(NK3)エキス添加 48 時間培養後の細胞数

冬虫夏草(NK3)エキス成分濃度(%)	48 時間培養後の細胞数( $\times 10^4$ cell)
0.005	3.32
0.02	1.85
0.1	1.23
Control (無添加群)	8.19

