

## 食品中の抗アレルギー成分の検索

加来志保子<sup>1</sup>、柚木真一<sup>2</sup>、大倉健一<sup>2</sup>、大司麻利子<sup>2</sup>、  
野中美智子<sup>2</sup>、菅野道廣<sup>1</sup>、立花宏文<sup>2</sup>、山田耕路<sup>2</sup>

### Food Components with Anti-allergy Potential

Shihoko Kaku<sup>1</sup>, Shin-ichi Yunoki<sup>2</sup>, Ken-ichi Ohkura<sup>2</sup>, Mariko Oji<sup>2</sup>,  
Michiko Nonaka<sup>2</sup>, Michihiro Sugano<sup>1</sup>, Hirofumi Tachibana<sup>2</sup>, Koji Yamada<sup>2</sup>

<sup>1</sup>熊本県立大学環境共生学部環境共生学科 食・健康環境学専攻

<sup>2</sup>九州大学大学院生物資源環境科学研究科

<sup>1</sup> Department of Environmental and Symbiotic Sciences, Study of Food and Health Environment, Prefectural University of Kumamoto

<sup>2</sup> Department of Bioscience and Biotechnology, Division of Bioenvironmental Sciences, Graduate School Kyushu University

To prevent and treat food allergy, we examined the effect of some foods and food components on immunoglobulin productivity and chemical mediator releasing activity. In an *in vitro* assay, various vegetable extracts enhanced IgA and IgG production, while suppressed IgE production by rat mesenteric lymph node lymphocytes, and the effect was the strongest in lily family vegetable extracts. In *in vivo* assays, dietary flavonoids such as quercetin and rutin and dietary fats containing  $\alpha$ -linolenic or  $\gamma$ -linolenic acids suppressed leukotriene B<sub>4</sub> and histamine release from rat peritoneal exudate cells. Moreover, a more stronger suppressing effect was observed when dietary fats and soy protein were fed simultaneously than when they were fed individually. Since the immunoregulatory effect of food components was observed *in vivo*, the dietary application of active factors to food allergy is promising.

### 1. 緒言

近年、食物および環境アレルギー患者数の増加および重篤化が社会問題となっている。アレルギーの原因物質は主としてタンパク質であるが、アレルギー患者数の増加にはアレルゲン摂取量だけでなく、アレルギー応答を調節する他成分の摂取量も関係するものと思われる<sup>1)</sup>。

アレルギー応答は通常I型からIV型の4つの型に分類されるが、食物および環境アレルギーに關与するのは主にI型アレルギーである。経口摂取されたアレルゲンの一部は未分解のまま腸管から吸収され、抗体産生が誘導される。IgEはI型アレルギー

の発症に深く関わっており、アレルゲンの侵入により生産された特異的 IgE は肥満細胞あるいは好塩基球と結合し、再度侵入したアレルゲンによって2つの IgE 分子が架橋されると、これらの細胞からヒスタミンやロイコトリエン等のメディエーターが放出される。これらのケミカルメディエーターは多様な機能亢進作用を發揮し、アレルギーの発症に至る。

一方、IgA は腸管内でアレルゲンと結合して生体内への吸収を阻害することにより、I 型アレルギー反応に対して抑制的に作用する。また、アレルゲン特異的 IgG は IgE と競合してアレルギー反応を抑制する減感作療法の主役を演じる抗体である (図1)。これらの免疫反応が食事成分により調節されることが明らかになりつつあり、生体の栄養・生理状態の修飾により抗体産生の調節あるいはケミカルメディエーターの放出抑制が可能となれば、アレルギー体質の改善および他の療法との併用による効果的な治療が可能となる。われわれはこれまで種々の食品成分の免疫調節機能について検討してきた。本論文は、それらの中から抗アレルギー作用を有すると考えられる食品成分のいくつかを紹介する。

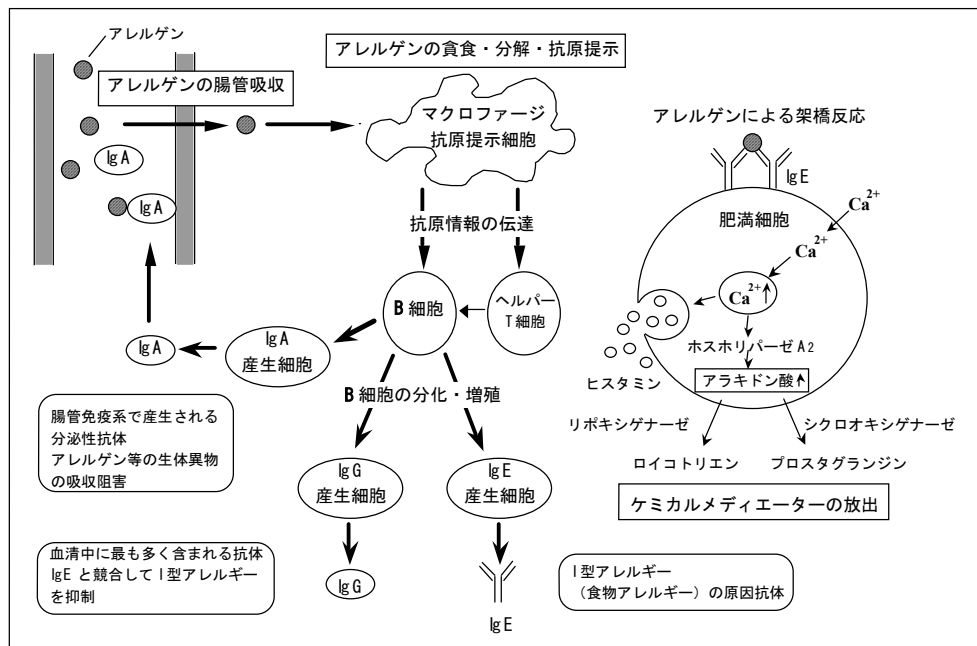


図1 I型アレルギー発症機構

## 2. 野菜抽出液の *in vitro* における抗体産生調節機能

野菜中には、抗変異原性<sup>2)</sup> および抗腫瘍活性<sup>3)</sup>を示す様々な生理活性物質が存在することが報告されている。また、ある種の野菜抽出液が免疫担当細胞株増殖作用<sup>4)</sup>、好中球集積作用<sup>5)</sup>および腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor; TNF) 産生促進活性<sup>6)</sup>などを発現することが報告されている。われわれは種々の野菜抽出液がラット腸間膜リンパ節 (mesenteric lymph node; MLN) リンパ球の抗体産生に及ぼす影響について検討した。

## 2-1 実験方法

野菜湿重量1gに対して10mlの生理リン酸緩衝液を添加してホモジナイズした後、8000xgで遠心分離して得られた上清を野菜抽出液原液とした。実験には、野菜抽出液原液および10倍希釈液（それぞれ野菜湿重量濃度10mg/mlおよび1mg/ml）を使用した。つぎに、9週齢の Sprague-Dawley 雄ラットの MLN よりリンパ球を分離し、細胞数を調整後、細胞培養用プレートに細胞懸濁液900 $\mu$ l（懸濁には10%ウシ胎児血清添加 RPMI 1640培地を使用した）、野菜抽出液100 $\mu$ l を添加し、5% CO<sub>2</sub> 通気下37°Cで24時間培養した。培養終了後、培養上清中の抗体量を酵素抗体法により測定した。

## 2-3 結果および考察

野菜抽出液が、ラットの MLN リンパ球の抗体産生に及ぼす影響について検討した結果、ユリ科野菜（長ネギ、ニラ、ニンニクおよびその芽、タマネギ、アロエ）が抗体産生能に最も強い影響を与えることが明らかとなった（表1）。これらの野菜は、IgA および IgG 産生を強く促進し、IgE 産生を強く抑制する傾向を示した。また、結果は示していないが、ユリ科以外の野菜抽出液では、シュンギク、ハクサイ、ブロッコリおよびモヤシが IgA 産生を促進し、ミツバ、シュンギク、ハクサイ、ブロッコリおよびカイワレダイコンは IgG 産生を促進した。一方、シソ、ツルムラサキおよびアルファルファには IgE 産生を抑制する傾向が認められた。これらの結果は、様々な野菜がそれぞれ異なった抗体産生調節因子を含むことを示している。

表1 ユリ科野菜抽出液がラット腸間膜リンパ節リンパ球の抗体産生に及ぼす影響

	サンプル濃度 (mg/ml)	Ig 相対値			
		IgA	IgE	IgG	IgM
コントロール	0	1.00 $\pm$ 0.12 (13.43 $\pm$ 0.69)	1.00 $\pm$ 0.10 (3.57 $\pm$ 0.39)	1.00 $\pm$ 0.05 (16.42 $\pm$ 0.76)	1.00 $\pm$ 0.05 (9.06 $\pm$ 0.42)
長ネギ	1	1.80 $\pm$ 0.24**	0.47 $\pm$ 0.07**	1.27 $\pm$ 0.08**	1.16 $\pm$ 0.09**
	10	1.89 $\pm$ 0.20**	0.52 $\pm$ 0.13**	1.38 $\pm$ 0.04**	1.11 $\pm$ 0.04**
ニラ	1	3.50 $\pm$ 0.30**	0.71 $\pm$ 0.12**	1.82 $\pm$ 0.04**	1.48 $\pm$ 0.04**
	10	0.16 $\pm$ 0.06**	0.75 $\pm$ 0.07**	0.17 $\pm$ 0.02**	0.16 $\pm$ 0.06**
ニンニクの芽	1	1.47 $\pm$ 0.11**	0.65 $\pm$ 0.05**	1.06 $\pm$ 0.11	0.88 $\pm$ 0.08*
	10	0.05 $\pm$ 0.02**	0.69 $\pm$ 0.13**	0.08 $\pm$ 0.01**	0.08 $\pm$ 0.02**
ニンニク	1	0.70 $\pm$ 0.17*	0.71 $\pm$ 0.12**	0.49 $\pm$ 0.01**	0.34 $\pm$ 0.03**
	10	0.18 $\pm$ 0.04**	0.73 $\pm$ 0.12**	0.13 $\pm$ 0.01**	0.15 $\pm$ 0.02**
タマネギ	1	2.43 $\pm$ 0.27**	0.74 $\pm$ 0.12**	1.43 $\pm$ 0.07**	1.30 $\pm$ 0.10**
	10	0.80 $\pm$ 0.13*	0.71 $\pm$ 0.14**	0.70 $\pm$ 0.02**	0.55 $\pm$ 0.02**
アロエ	1	1.70 $\pm$ 0.18**	0.81 $\pm$ 0.14*	1.26 $\pm$ 0.10**	1.25 $\pm$ 0.07**
	10	1.36 $\pm$ 0.27*	0.61 $\pm$ 0.09**	1.16 $\pm$ 0.07**	1.13 $\pm$ 0.06**

データは平均値 $\pm$ SD。(コントロール ;n=6、サンプル添加区 ;n=4)。それぞれの値はコントロールに対する相対値であり、コントロールの実際の抗体濃度は ( ) 内に示した (単位は ng/ml)。アスタリスクはコントロールに対する有意差 (\*\* $p$ <0.01; \* $p$ <0.05)。

ニンニクなどのユリ科野菜は、血小板凝集抑制<sup>7)</sup>、腫瘍細胞の増殖抑制<sup>8)</sup> およびコレステロール合成の抑制<sup>9)</sup> といった特徴的な生理活性を持つことがこれまでに報告されている。これらユリ科野菜中の活性成分を分離同定していくことは、それらの抗体産生調節機能のメカニズムを解明するために必要である<sup>10)</sup>。

### 3. フラボノイドの *in vivo* におけるケミカルメディエーター放出抑制作用

フラボノイドは種々の野菜や果物に存在する生理活性成分であり、それらのもつ抗酸化作用、抗菌作用および抗腫瘍作用などが注目されている<sup>11)</sup>。これらの活性発現にはフラボノイドのラジカルスカベンジャー活性が関与していると考えられている。また、フラボノイドは *in vitro* においてラット腹腔滲出細胞 (peritoneal exudate cells; PEC) のケミカルメディエーター放出能を低下させることにより、抗アレルギー作用を発現する可能性が報告されている<sup>12)</sup>。これらフラボノイドの *in vivo* における効果を明らかにするため、ケルセチンおよびその配糖体ルチン (図2) の摂取がラット PEC のケミカルメディエーター放出能に及ぼす影響について検討した。

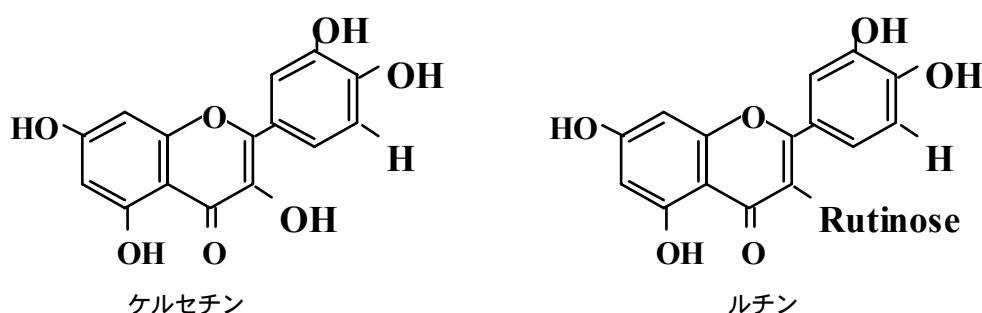


図2 ケルセチンおよびルチンの構造

#### 3-1 実験方法

4週齢の Sprague-Dawley 雄ラットにケルセチンを0.5%あるいはルチンを1.0%添加したAIN-93G 準拠食を3週間摂食させた。これらのラットよりPEC を分離し、5 $\mu$ M のカルシウムイオノフォア A23187で37 $^{\circ}$ C、20分間刺激した後放出されるヒスタミン量を蛍光法で、ロイコトリエン B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法で測定した。

#### 3-2 実験結果および考察

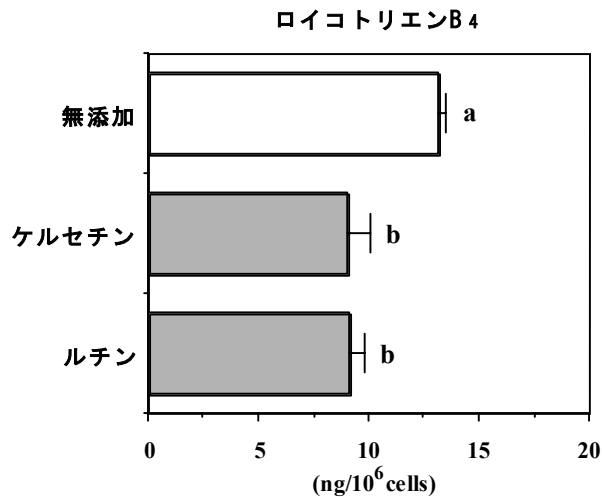
まず、ヒスタミン放出については、A23187刺激により放出されたヒスタミン量がケルセチン群で有意に低下した。無刺激で自然遊離するヒスタミン量および細胞内総ヒスタミン量は3群間で有意差は認められなかった。したがって、ヒスタミン放出率がケルセチン群で有意に低下したことは、ケルセチン摂取が、外的刺激により引き起

こされるヒスタミンの放出を抑制したことを示唆している (表2)。また、ラット PEC からの LTB<sub>4</sub> 放出量はフラボノイド摂食群で有意に低下した (図3)。

**表2 フラボノイド摂食がラット腹腔滲出細胞のヒスタミン放出能に及ぼす影響**

	ヒスタミン (ng/10 <sup>6</sup> cells)			放出率 (%)
	無刺激	A23187刺激	細胞内総量	
無添加	244±17	568±10 <sup>a</sup>	609±28	89±5 <sup>a</sup>
ケルセチン	208±7	423±8 <sup>b</sup>	560±23	62±4 <sup>b</sup>
ルチン	199±24	506±33 <sup>a</sup>	543±19	87±6 <sup>a</sup>

データは平均値±SE。異なる文字間に有意差あり ( $p < 0.05$ )。



**図3 フラボノイド摂食がラット腹腔滲出細胞の LTB<sub>4</sub> 放出能に及ぼす影響**  
データは平均値±SE (n=5)。異なる文字間に有意差あり ( $p < 0.05$ )。

LTB<sub>4</sub> は、アラキドン酸を基質として産生されるケミカルメディエーターであり、気管支筋収縮、白血球活性化などの生理作用を持つため、生体の炎症反応に対し促進的に作用する。肥満細胞および好塩基球からの LTB<sub>4</sub> 産生は、細胞膜リン脂質から切り出されたアラキドン酸にリポキシゲナーゼが作用して起こる (図1)。ケルセチンは、5-リポキシゲナーゼの活性を強く阻害するとされており<sup>13)</sup>、今回の実験で認められたフラボノイド摂取による LTB<sub>4</sub> 放出量の減少は、リポキシゲナーゼ活性の阻害によるものと思われる。また、ケルセチンがヒトの腸および肺の肥満細胞のヒスタミン放出を抑制した<sup>14)</sup> との報告もあり、ケルセチンを抗炎症剤として投与する試みもなされている<sup>15)</sup>。

4. *In vivo* における多価不飽和脂肪酸の LTB<sub>4</sub> 放出抑制作用

*n*-6系多価不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid; PUFA) であるリノール酸 (linoleic acid; LA) と *n*-3系 PUFA である  $\alpha$ -リノレン酸 ( $\alpha$ -linolenic acid; ALA) は、哺乳動物では生合成することが出来ないため、食品から摂取することが必要な必須脂肪酸である。これらの脂肪酸は、生体内で長鎖不飽和化酵素反応を受け、LA は、 $\gamma$ -リノレン酸 ( $\gamma$ -linolenic acid; GLA)、ジホモ- $\gamma$ -リノレン酸 (dihomo- $\gamma$ -linolenic acid; DGLA)、アラキドン酸 (arachidonic acid; AA) へと変換される。ALA も同様に長鎖不飽和化され、エイコサペンタエン酸 (eicosapentaenoic acid; EPA)、ドコサヘキサエン酸 (docosahexaenoic acid; DHA) へと代謝される。これらの PUFA はリン脂質の構成成分として生体膜に組み込まれる。組織の生体膜に保持されている PUFA は、何らかの刺激により活性化されたホスホリパーゼ A<sub>2</sub>によって切り出され、リン脂質から遊離する。これら PUFA のうち、DGLA、AA および EPA からはプロスタグランジンやロイコトリエンなど、様々な組織で重要な生理作用を発現する種々のメディエーターが産生される (図4)。そこで、食餌脂肪として *n*-6系 PUFA である LA を豊富に含

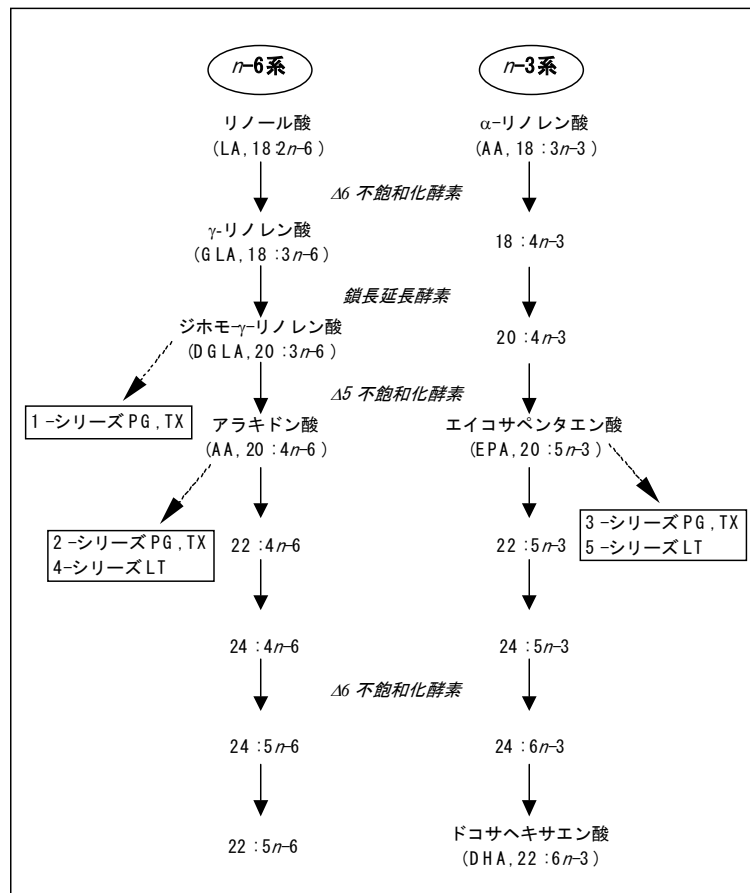


図4 *n*-6系および *n*-3系多価不飽和脂肪酸の長鎖不飽和化反応とエイコサノイドの産生  
PG: プロスタグランジン TX: トロンボキサン LT: ロイコトリエン

むサフラワー油 (safflower oil; SAF)、GLA を豊富に含むボラージュ油 (borage oil; BOR)、あるいは *n*-3系 PUFA である ALA を豊富に含むペリラ油 (perilla oil; PER) と、食餌タンパク質としてカゼイン (CAS) あるいは大豆タンパク質 (SOY) をそれぞれ組み合わせてラットに投与し、PEC の LTB<sub>4</sub> 放出能に及ぼす影響について検討した。

#### 4-1 実験方法

4週齢 Sprague-Dawley 雄ラットに食餌脂肪として SAF、BOR あるいは PER を10%、食餌タンパク質として CAS あるいは SOY を20%含む AIN-93G 準拠食を3週間摂食させた。断頭屠殺後 PEC を分離し、5 $\mu$ M のカルシウムイオノフォア A23187で37 $^{\circ}$ C、20分間刺激して放出された LTB<sub>4</sub> 量を HPLC 法で測定した。また、PEC 細胞膜リン脂質の脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーで測定した。

#### 4-2 結果および考察

図5より SAF>BOR>PER の順に PEC の LTB<sub>4</sub> 放出量が減少した。また、大豆タンパク質摂食群では、カゼインタンパク質摂食群と比べ LTB<sub>4</sub> 放出量が低い傾向が認められた。LTB<sub>4</sub>は細胞膜リン脂質からホスホリパーゼ A<sub>2</sub>によって切り出された AA を基質にして産生される。PEC 細胞膜の総リン脂質の AA の割合も LTB<sub>4</sub>と同様に低下する傾向を示し、細胞膜リン脂質中の AA 割合の変化が、PEC の LTB<sub>4</sub> 放出量に影響を及ぼす可能性が示された<sup>12, 16)</sup>。

*n*-3系 PUFA のラット LTB<sub>4</sub> 産生抑制機構は、それらが組織リン脂質の脂肪酸組成を変化させ、AA の割合を減少させることによりエイコサノイド産生を抑制するとの報告があり<sup>16, 17)</sup>、今回の実験もこれを裏付ける結果となった。また、AA と同じ *n*-6系 PUFA である GLA を豊富に含む BOR も、PER ほどではないが LTB<sub>4</sub> 放出を低下させた。これについては、GLA より生じる DGLA および DGLA の代謝産物である 15-hydroxyicosatrienoic acid が LTB<sub>4</sub> および 20-OH-LTB<sub>4</sub> の形成を阻害するとの報告もあり<sup>18)</sup>、細胞膜リン脂質の AA 割合の減少とあいまって LTB<sub>4</sub> 放出を低下させたと考えられる。

以上、抗アレルギー作用を有するいくつかの食品および食品成分について述べたが、これら食品成分を実際に摂取する場合は単独摂取することは殆どない。Gu らは、 $\alpha$ -トコフェロールとゴマ由来のリグナン類であるセサミンを同時摂取することにより、ラット肺組織のロイコトリエン放出が相乗的に低下することを見いだしている<sup>19)</sup>。また、前述した BOR や PER の LTB<sub>4</sub> 産生抑制効果は食餌タンパク質として大豆タンパク質を同時に投与するとさらに増強された (図5)。このような食品成分の複合作用および加工や調理に伴う生理活性の変化について今後検討していく必要がある。

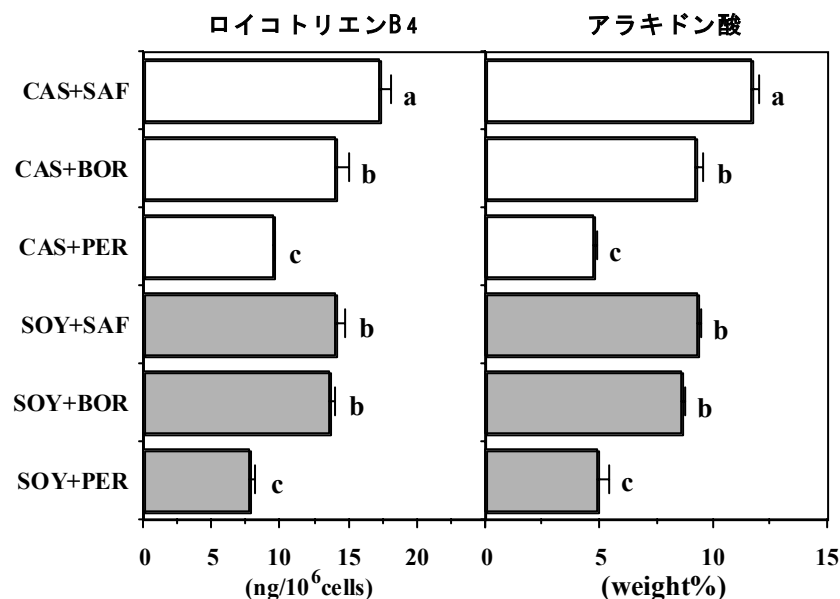


図5 食餌脂肪および食餌タンパク質がラット腹腔滲出細胞のLTB<sub>4</sub>放出能および細胞膜リン脂質のアラキドン酸含量に及ぼす影響  
データは平均値±SE (n=5)。異なる文字間に有意差あり (p<0.05)。

## 5. 要約

食物アレルギーの予防および治療を目的として、いくつかの食品成分の抗体産生調節およびケミカルメディエーター放出抑制作用について検討した。種々の野菜抽出液がラット腸間膜リンパ節リンパ球の抗体産生に及ぼす影響を *in vitro* で検討した結果、ユリ科野菜が IgA および IgG 産生を強く促進し、IgE 産生を強く抑制することから、野菜抽出液の中で最も強い抗体産生調節機能を有することが明らかとなった。また、*in vivo* では、フラボノイドや多価不飽和脂肪酸をラットに摂食させることにより腹腔滲出細胞からのロイコトリエンやヒスタミンなどのケミカルメディエーター放出が抑制されることが明らかとなった。さらに、不飽和脂肪酸と大豆タンパク質を同時に投与すると抑制効果が増強されることが示された。これらの結果は、食品成分の免疫調節機能が摂食実験系で発現することを示しており、今後の臨床応用が期待される。

## 参考文献

- 1) 加来志保子、山田耕路: *生物機能研究会誌*, 2, 12-17 (1998).
- 2) Shinohara, K., Kuroki, S., Miwa, M., Kong, Z-L., and Hosoda, H.: Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. *Agric Biol. Chem.*, 52, 1369-1375 (1988).
- 3) Shu, X-O, Zheng, W., Potischman, N., Brinton, L. A., Hatch, M. C., Gao, Y-T., and Frandmeni, J. F. Jr.: A population-based case control study of dietary factors and endometrial cancer in Shanghai, People's Republic of China. *Am. J. Epidemiol.*, 137, 155-165 (1993).
- 4) Kong, Z-L., Murakami, H., and Shinohara, K.: Effect of dialyrate fractions of spinach on growth of human-derived cells. *Cytotechnology*, 7, 113-119 (1991).



- 5) Yamazaki, M., and Nishimura, T.: Induction of neutrophil accumulation by vegetable juice. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 150-151 (1992).
- 6) Yamazaki, M., Ueda, H., Fukuda, K., Okamoto, M., and Yui, S.: Priming effect of vegetable juice on endogenous production of tumor necrosis factor. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 149 (1992).
- 7) Ariga, T., Oshiba, S., and Tamada, T.: Platelet aggregation inhibitor in garlic. *Lancet*, *i*, 150-151 (1981).
- 8) Welch, C., Wuarin, L., and Sidell, N.: Antiproliferative effect of the garlic compound S-allyl cysteine on human neuroblastoma cells in vitro. *Cancer Lett.*, **63**, 211-219 (1992).
- 9) Sendl, A., Schliack, M., Loser, R., Stanislaus, F. and Wagner, H.: Inhibition of cholesterol synthesis in vitro by extracts and isolated compounds prepared from garlic and wild garlic. *Atherosclerosis*, **94**, 79-95 (1992).
- 10) Kaku, S., Yamada, K., Hassan, N., Watanabe, T., and Sugano, M.: Effect of vegetable extracts on immunoglobulin production by mesenteric lymph node lymphocytes of Sprague-Dawley rats. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 558-560 (1997).
- 11) Formica, J. V., and Regelson, W.: Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Fd Chem. Toxic.*, **33**, 1061-1080 (1995).
- 12) Yamada, K., Matsuo, N., Shoji, K., Mori, M., Ueyama, T., Yunoki, S., Kaku, S., Oka, S., Nishiyama, K., Nonaka, M., Tachibana, H., and Sugano, M.: In vitro and in vivo effects of fatty acids and phenolic compounds on chemical mediator release from rat peritoneal exudate cells. *ACS Symposium Series*, **701**, 198-208 (1998).
- 13) Moroney, M. A., Alcaraz, H. J., Forder, R. A., Carey, F., and Hoult, R. S.: Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. *J. Pharm. Pharmacol.*, **40**, 787-792 (1988).
- 14) Fox, C. C., Wolfe, E. J., and Kagey-Sabotica, A.: Comparison of human lung and intestinal mast cells. *J. Allergy Clin. Immun.*, **81**, 89-94 (1980).
- 15) Mizui, T., Sato, H., and Hirose, F.: Effect of antiperoxidative drugs on gastric damage induced ethanol in rats. *Life Sci.* **41**, 766-783 (1987).
- 16) Oh-hashii, K., Takahashi, T., Watanabe, S., Kobayashi, T., Okuyama, H., Hata, N., and Misawa, Y.: Effect of a high linoleate oil with a low linoleate, high  $\alpha$ -linolenate oil, as compared with supplementing EPA or DHA, on reducing lipid mediator production in rat polymorphonuclear leukocytes. *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 558-564 (1998).
- 17) Inui, K., Fukuta, Y., Ikeda, A., Kameda, H., Kokuba, Y., and Sato, M.: The effect of  $\alpha$ -linolenic acid-rich emulsion on fatty acid metabolism and leukotriene generation of the colon in a rat model with inflammatory bowel disease. *Ann. Nutr. Metab.*, **40**, 175-182 (1996).
- 18) Chilton-Lopez, T., Surette, M. E., Swan, D. D., Fonteh, A. N., Johnson, M. M., and Chilton, F. H.: Metabolism of gammalinolenic acid in human neutrophils. *J. Immunol.*, **156**, 2941-2947 (1996).
- 19) Gu J-Y., Nonaka M., Yamada K., Yoshimura K., Takasugi M., Ito Y., and Sugano M.: Effects of Sesamin and  $\alpha$ -tocopherol on the production of chemical mediators and Immunoglobulins in Brown-Norway rats. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1855-1858 (1994).

