

イチジクの抗アレルギー作用に関する研究

鳥居貴佳*1、近藤徹弥*2、半谷朗*1、三井俊*3

Research on Anti-Allergic Effects of *Fig, Ficus carica*

Takayoshi TORII*1, Tetsuya KONDO*2, Akira HANYA*1 and Shun MITSUI*3

Food Research Center, AITEC*1*2*3

イチジクが有する抗アレルギー作用を効果的に利用するため、培養細胞を用いた β -ヘキソサミニダーゼ遊離阻害率を脱顆粒反応の指標として抗アレルギー作用を示す成分の特性を検討した。イチジク果汁をHP-20樹脂に添加して、80%メタノールで溶出することにより抗アレルギー成分を粗精製した。これをポリビニルポリピロリドンに接触させたところ、 β -ヘキソサミニダーゼ(β -HEX)遊離阻害率が低下した。このことからポリフェノールが β -HEXの遊離に関与していることが考えられた。また、沸騰水中で加熱処理したところ、 β -HEX遊離阻害率が未処理の試験区と比較して高くなった。

1. はじめに

現在、国民の3人に1人は花粉症などの何らかのアレルギーに罹患しており、大きな社会問題となっている。アレルギー治療は、患者に大きな身体的・経済的負担を強いている。近年、食品成分に免疫調整機能があることが明らかになり、さらに、果実等から抗アレルギー物質が単離されている。日常的に摂取する食品によりアレルギーの予防や症状を緩和することができれば、そのメリットは極めて大きいと考えられる。愛知県のイチジク収穫量は年間約5,000t、農業産出額は全国シェアの3割を占める¹⁾。生食用として消費される一方、規格外として取り扱われるイチジクも多量に発生し、その有効利用が求められている。そこで、我々はイチジクの抗アレルギー作用について検討した。イチジクに含まれる抗アレルギー物質を加工食品や素材として活用することにより、規格外品の有効利用が推進されると期待される。本研究ではイチジク抽出物を調製し、脱顆粒抑制の指標として β -ヘキソサミニダーゼ(β -HEX)遊離阻害率を測定した。さらにイチジク抽出物をポリビニルポリピロリドン(PVPP)処理および加熱処理を行い、 β -HEX遊離阻害作用の変化について検討した。

2. 実験方法

2.1 試料の調製

皮を剥いたイチジク(愛知県産、榊井ドーフィン)をジューサーでホモジナイズし、遠心分離(7,000rpm,30分)を行い、上清を回収した。合成吸着剤ダイヤイオン

HP-20(三菱化学(株)製)を充填したガラスカラム(ϕ 3cm \times 8cm)に回収した上清を添加した。カラムを蒸留水で洗浄後、80%メタノールを500mL添加し、吸着物を溶出させた。これをエバポレーターで濃縮した後、凍結乾燥を行ったものをメタノール抽出物とした。

2.2 ポリビニルポリピロリドン(PVPP)処理

2mLの試料溶液にPVPPを0.2g入れ、一晚室温で振とうした。その後、遠心分離(10,000rpm,5分)を行い、上清を回収した。

2.3 β -ヘキソサミニダーゼ遊離阻害率の測定

肥満細胞のモデルとしてラット好塩基球白血病細胞(RBL-2H3細胞)を使用した。ウシ胎児血清、ペニシリンG、ストレプトマイシン含有Minimum Essential Medium Eagle(シグマ社製)を用いて95% Air \cdot 5% CO₂、37°Cで培養を行った。細胞を播種し、ラットモノクローナル抗DNP-IgE抗体(IgEモデル)を培養液に加え、感作させた。細胞をタイロッド緩衝液で洗浄し、試料溶液に置換した。DNP-BSA(抗原モデル)を加え、細胞の脱顆粒を惹起させた。氷冷して反応を止めた後、上清を96ウェル平底マイクロプレートに移し、*p*-ニトロフェニル-N-アセチル- β -D-グルコサミドを加えて混和後37°Cで1時間反応させた。反応溶液に炭酸緩衝液(pH10)を加えて混和し、マイクロプレートリーダーにて吸光度405nmを測定した。以下の式により β -HEX遊離阻害率(%)を求めた。

$$\beta\text{-HEX遊離阻害率}(\%) = \{1 - (C-D) / (A-B)\} \times 100$$

*1 食品工業技術センター 応用技術室(現保蔵包装技術室) *2 食品工業技術センター 応用技術室(現分析加工技術室)

*3 食品工業技術センター 応用技術室(現発酵バイオ技術室)

- A : 陽性対照の吸光度 (試料の代わりにタイロード緩衝液を添加し、抗原刺激したもの)
- B : 陰性対照の吸光度 (試料と抗原の代わりにタイロード緩衝液を添加したもの)
- C : 検体の吸光度 (試料と抗原を添加したもの)
- D : 検体対照の吸光度 (試料を添加し、抗原の代わりにタイロード緩衝液を添加したもの)

2.4 ポリフェノールの測定

フェノール試薬、10%炭酸ナトリウム溶液、蒸留水および試料溶液を混合し、暗所で1時間放置後に760nmにおける吸光度を測定した。なお、標準物質としてタンニン(和光純薬(株)製)を用いた。

3. 実験結果

3.1 PVPP処理による β -HEX遊離阻害率の変化

生果2.7kgのイチジクをHP-20カラムクロマトグラフィーにより粗精製を行い、1.7gのメタノール抽出物を得た。この抽出物を2mg/mLになるようにRBL-2H3細胞に添加したところ、無添加の試験区と比較して β -HEXの遊離が約80%阻害された。そこで、メタノール抽出物に含まれる β -HEXの遊離を阻害する成分について検討を行った。1mg/mLになるように調製したメタノール抽出物をPVPPで処理し、その上清(PVPP(+))について β -HEX遊離阻害率を測定したところ、未処理(PVPP(-))と比較して阻害率は約1/2に低下した(図2A)。また、ポリフェノール濃度を測定したところ、未処理と比較して約1/3に低下した。これらの結果から、ポリフェノールが β -HEX遊離阻害作用を有していると考えられた(図2B)。すでに茶葉に含まれるカテキン²⁾やみかんに含まれるヘスペリジン³⁾など、ポリフェノールには抗アレルギー作用を有するものがあることが報告されている。今後はイチジクポリフェノールの精製と他の抗アレルギー作用を有するポリフェノールと比較を行う。

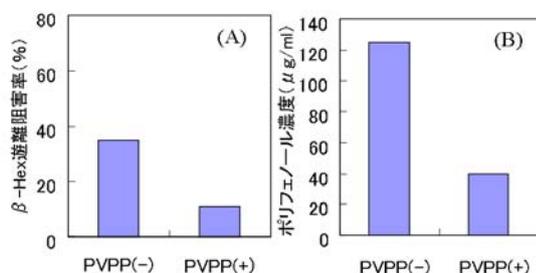


図2 PVPP処理による β -HEX遊離阻害率(A)とポリフェノール濃度の変化(B)

3.2 メタノール抽出物の加熱時間による β -HEX遊離阻害率の変化

メタノール抽出物の加熱処理が β -HEX遊離阻害活

性に与える影響について検討した。1mg/mLになるように調製したメタノール抽出物を沸騰水中で20及び60分間加熱した。加熱後の試料をRBL-2H3細胞に添加し、 β -HEX遊離阻害率の測定を行ったところ、加熱時間が長くなるとともに β -HEX遊離阻害率が上昇した(図3)。べにふうき緑茶中のメチル化カテキンは加熱による異性化により、肥満細胞からのヒスタミン放出抑制効果が高くなることが報告されている⁴⁾。イチジクメタノール抽出物においても、 β -HEXの遊離を阻害する物質の本体がポリフェノールである可能性が高く、加熱による β -HEX遊離阻害率の上昇の原因の一つとしてポリフェノールの異性化も考えられる。今後、活性物質本体の同定や加熱による変化などについての検討が必要である。

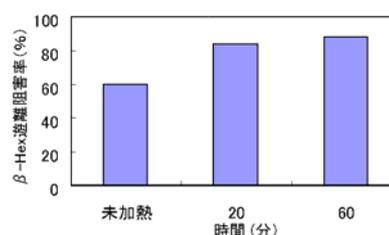


図3 加熱処理が β -HEX遊離阻害率に及ぼす影響

4. 結び

イチジクに含まれる抗アレルギー物質の特性についてラット好塩基球様白血病細胞を用いた脱顆粒抑制試験を用いて以下の点を明らかにした。

- ・ イチジク果汁に含まれるHP-20樹脂吸着画分のメタノール抽出物は β -HEXの遊離を阻害した。
- ・ β -HEXの遊離阻害成分にはポリフェノールが含まれている。
- ・ メタノール抽出物を加熱することにより β -HEX遊離阻害率が上昇した。

文献

- 1) 愛知県のいちじく生産の概要(愛知県庁)
www.pref.aichi.jp/cmsfiles/contents/0000026/26324/ichijiku.pdf
- 2) M. Maeda-Yamamoto, N. Inagaki, J. Kitaura, T. Chikumoto, H. Kawahara, Y. Kawakami, M. Sano, T. Miyase, H. Tachibana, H. Nagai and T. Kawakami: *J. Immunol.*, **172**, 4486(2004).
- 3) S. Kobayashi and S. Tanabe: *Int.J.Mol.Med.*, **17**, 511 (2006).
- 4) M. Maeda-Yamamoto, H. Nagai, Y. Suzuki, K. Ema, E. Kanda and H. Mitsuda: *Food Sci. Technol.Res.*, **11**,248 (2005).