

(Memoirs of the Faculty of Education and Human Studies)
 (Akita University (Natural Science))
 68, 7 - 16 (2013)

抗アレルギー作用を有する食品成分

－地域食資源の探索と必須脂肪酸バランス改善食品の効果－

池 本 敦

Antiallergic Potential of Food Components : Research on the Regional Edible Plants and Effect of the Food Improved in Essential Fatty Acid Balance

Atsushi IKEMOTO

Department of Family and Consumer Studies, Faculty of Education and Human Studies, Akita University

Abstract

Antiallergic potentials of food components from the edible plants collected in Akita Prefecture were evaluated using RBL-2H3 rat mast cells. Several extracts from the plants inhibited β -hexosaminidase secretion. Their antiallergic effects were confirmed by further experiment on histamine release in antigen-antibody-stimulated RBL-2H3 cells. We found that two methanol extracts from Junsai (water shield, *Brasenia schreberi*) and Tonbiri (belvedere fruit, *Kochia scoparia*) suppressed histamine release (IC_{50} , 250 μ g/ml, respectively). N-3 fatty acid such as α -linolenic acid has antiallergic effects through the competitive inhibition of n-6 fatty acid metabolism and production of eicosanoid such as leukotrienes. Therefore we searched α -linolenate-rich beans or nuts from the regional food resources. However we did not find α -linolenate-rich food materials more than perilla seed oil. We also made α -linolenate-rich ice cream supplemented with 10% (wt/wt) perilla oil and its antiallergic effect was evaluated using polymorphonuclear leukocytes from rats fed semipurified diets supplemented with the ice cream (20%, wt/wt). Compared with linoleate-rich ice cream supplemented with 10% (wt/wt) sesame oil, perilla ice cream significantly decreased both arachidonic acid content and leukotriene B_4 production in rat polymorphonuclear leukocytes. Thus, n-3 fatty acid-rich processed foods have antiallergic properties and essential fatty acid balance is important factor for the prevention of allergic symptoms.

Keywords : Allergy, Histamine, β -Hexosaminidase, Leukotriene, Linoleic acid, α -Linolenic acid

1. 緒言

我が国では、過去半世紀の間にアレルギー症患者が著しく増加し、その症状も悪化していることが指摘されている⁽¹⁾。これは日本だけではなく欧米諸国でも同様であり、アレルギー症は世界的な問題となっている。アレルギー過剰反応性には先進国共通の因子があり、環境因子・食事因子・遺伝因子の3つの因子が考えられる。環境因子と食事因子はアレルギーの原因物質であるアレルゲンの増加、食事因子と遺伝因子はアレルギー反応性の亢進につながる。

しかし、最近ではアレルゲンの増加だけが、アレルギー患者増加の原因ではないことが指摘されている⁽¹⁾。ドイツでは、大気汚染が解消するにつれて喘息患者が増加したり、食物アレルギーに関して、アレルゲンを含む食物を避けていても、また別のアレルギーが発生するという事例が挙げられている。つまり、アレルゲンを除去す

ることは治療の基本だが、それだけでは完全に症状を抑制することは難しい⁽²⁾。

また、半世紀では人の遺伝子は変化しないので、アレルギー症患者数の著しい増加は先天的な遺伝因子の変化によるものではなく、環境変化による身体のアレルギー反応性の亢進に起因することが考えられる。食生活においては、油脂や肉類の摂取増加の一方で、野菜や山菜の消費量はそれ程増加しておらず、野菜の抗ガン成分の摂取量の低下がガン死亡率の増加と関連している可能性が指摘されている⁽³⁾。そこで、本研究では、アレルギー反応を抑制する食品成分を地域の野菜・山菜等の植物資源から探索することを目的に研究を行った。

アレルギーと食生活は深い結びつきがあり、食生活の変化がアレルギーに与える影響は大きい。先進国共通のアレルギー反応性の亢進は、過去半世紀の間に起こった摂取食品の必須脂肪酸バランスの変化の結果であること

が分かってきた⁽⁴⁾。必須脂肪酸であるリノール酸 (18:2n-6) と α -リノレン酸 (18:3n-3) は、それぞれ n-6 系 (ω 6)・n-3 系 (ω 3) と呼ばれ、両系列の脂肪酸は生体内では相互変換されず、その代謝は互いに競合的である。n-6 系列のリノール酸から生合成されるアラキドン酸 (20:4n-6) は、プロスタグランジンやロイコトリエン、トロンボキサンなど強い生理活性をもつエイコサノイドの前駆体であり、炎症やアレルギー反応、血栓形成などを促進するオータコイド (ホルモン様物質) として作用する。一方で、n-3 系列の α -リノレン酸から生合成されるエイコサペンタエン酸 (EPA, 20:5n-3) は、アラキドン酸と比較してエイコサノイド生合成の基質となりやすく、生理活性もアラキドン酸由来のエイコサノイドの数十～数百分の一である。以上のことから、n-6 系脂肪酸由来のエイコサノイドの過剰産生が関与する各種慢性疾患の予防・抑制に、n-3 系脂肪酸は重要な栄養学的意義を持っている⁽⁵⁾。さらに、 α -リノレン酸から生合成されるドコサヘキサエン酸 (DHA, 22:6n-3) は、生体内では脳に濃縮されており、脳機能に重要な役割を果たしている^(6,7)。

アレルギー反応を抑制する食品の例として、 α -リノレン酸 (18:3n-3) の豊富なエゴマ油・シソ油が挙げられる。これまでの研究で、摂取油脂のリノール酸 (18:2n-6) を減らし、 α -リノレン酸 (18:3n-3) を増やすと、IgE が少し多く生産されるが、ケミカルメディエーターの生産量・活性が大幅に低下することが示されている⁽¹⁾。また、現在では乳幼児の約 3 割がアトピー性皮膚炎と診断される一方で、昭和 30 年代には 1 割程度と少なかったことから、当時の和食に戻してアトピー性皮膚炎を治療しようとする取り組みがある。この伝統和食にリノール酸 (18:2n-6) 系を減らし、 α -リノレン酸 (18:3n-3) を増やす食事療法を追加して実施したところ、食事介入を始めてから約 1 年から 2 年で、アレルギーの原因となる好酸球の数が低下し、皮膚炎面積重傷度指数も大幅に低下した⁽⁸⁾。つまり、摂取油脂のリノール酸 (18:2n-6) を減らして α -リノレン酸 (18:3n-3) 系列を増やすとアレルギー反応性が大幅に減少することから、 α -リノレン酸を多く含んだ食品が抗アレルギーに有効であると言える。

アレルギー反応は、食物の特定成分や花粉・ダニなどのアレルゲンと呼ばれる原因物質が体内に入ると、マクロファージ等の細胞に貪食され分解さ、分解産物の抗原が細胞表面に提示されことから始まる。その情報が T 細胞系に伝わり、B 細胞から IgE などの抗体が放出される。抗体はアレルゲンに結合し、毒性を中和する。再度アレルゲンが体内に入ると、この抗原と結合した IgE がマスト細胞に結合し、活性化されたマスト細胞がケミカ

ルメディエーター (化学伝達物質) を産生する。これが組織に伝わり、くしゃみや鼻水・皮膚のかゆみなどのアレルギー反応が起こる。これら反応は本来は生体防御反応であるが、過剰になると様々な弊害が生ずる。

本研究では、マスト細胞から放出されるケミカルメディエーターを抑制する食品成分を評価することを目的に、ラット由来マスト細胞株の RBL-2H3 を実験に用いた。この細胞を IgE で刺激すると活性化され、 β -ヘキソサミニダーゼやケミカルメディエーターであるヒスタミンを分泌する。そこで、この細胞に様々な食品成分を添加し、ケミカルメディエーターを抑制する食品素材を探索した。

また、 α -リノレン酸 (18:3n-3) はリノール酸 (18:2n-6) の代謝に拮抗することでアラキドン酸 (20:4n-6) 由来のロイコトリエン類などのケミカルメディエーターの産生を抑制する。このような高い抗アレルギー性を有する α -リノレン酸 (18:3n-3) の豊富な食品素材を見出すために、油脂含量の高い豆類や種実類等を地域から収集し、脂肪酸組成を分析した。

最後に、n-3 系脂肪酸を強化した食品の有効性を検証した。 α -リノレン酸 (18:3n-3) の豊富なエゴマ油を使用したアイスクリームを作製し、リノール酸 (18:2n-6) の豊富なゴマ油を使用した場合と比較して、抗アレルギー性がどの程度高いかを解析するために、ラットを用いた給餌実験を行った。多形核白血球を採取し、ミカルメディエーターであるロイコトリエン類の産生を比較したので報告する。

2. 実験材料及び研究方法

2-1 各種地域食資源からの抽出物の調製

食品 10 g に溶媒 (①熱水、② 70% エタノール、③ メタノール) 20 ml を加え、乳鉢で細かくすりつぶした。①の場合は、100 °C で 10 分加熱した。その後、3000 rpm で 10 分間遠心分離し、上層を濾紙で濾過し回収した。同様の操作を再度行った後、ロータリーエバポレータによる減圧乾固と凍結乾燥を行い、溶媒を留去後、乾固重量を測定して固形物濃度を抽出溶媒で 0.1 mg/ml に調製した。

2-2 抗原抗体刺激による RBL-2H3 細胞からの β -ヘキソサミニダーゼ分泌の測定

ラット由来マスト細胞株である RBL-2H3 は、Eagle's Minimal Essential Medium (日水) を基礎培地として用い、37 °C、5% CO₂ の条件の下で培養した。3 日に 1 回の頻度で 1/10 希釈して継代した。

β -ヘキソサミニダーゼ分泌の測定のために 96 well plate で培養した細胞に 40 μ l の anti-DNP-IgE を加え、37 °C、5% CO₂ の条件下で 24 時間培養した。食品抽出

物（終濃度 100 $\mu\text{g/ml}$ ）や脂肪酸（終濃度 50 μM ）を添加する場合は anti-DNP-IgE と同時に添加した。その後 200 μl の PBS で 2 回洗浄し、45 μl の releasing mixture (116.9 mM NaCl, 5.4 mM KCl, 0.8 mM MgSO_4 , 5.6 mM glucose, 25 mM HEPES, 2.0 mM CaCl_2 , 1 mg/ml BSA) を加えた。10 分間インキュベート後、5 μl の 100 $\mu\text{l/ml}$ DNP-BSA in releasing mixture を加え、10 分間インキュベートした。10 分間氷冷後、上清 30 μl を回収した。60 μl の substrate solution (5 mM 4-nitrophenyl N-acetyl- β -D-glucosaminide, 50 mM クエン酸 pH 4.5) を加え、30 秒攪拌した。インキュベーターに入れ 30 分保温した後、150 μl の stop buffer (0.1 M NaHCO_3 pH 10.0) を加えた。30 秒攪拌した後、マイクロプレートリーダーで 405 nm の吸光度を測定した。

2-3 抗原抗体刺激による RBL-2H3 細胞からのヒスタミン放出の測定

β -ヘキソサミニダーゼ分泌の結果を踏まえ、抗アレルギー性が有望な食品を選択し、抗原抗体刺激による RBL-2H3 細胞からのヒスタミン放出を測定した。RBL-2H3 細胞に 40 μl の anti-DNP-IgE を加え、37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 の条件下で 24 時間インキュベートした。食品抽出物（終濃度 100 $\mu\text{g/ml}$ ）を添加する場合は anti-DNP-IgE と同時に添加した。その後、200 μl の PBS で 2 回洗浄し、108 μl の食品抽出物を添加した releasing mixture (116.9 mM NaCl, 5.4 mM KCl, 0.8 mM MgSO_4 , 5.6 mM glucose, 25 mM HEPES, 2.0 mM CaCl_2 , 1 mg/ml BSA) を加え、10 分間インキュベートした。その後、12 μl の 100 $\mu\text{g/ml}$ DNP-BSA in releasing mixture を加え、60 分間インキュベートした。10 分間氷冷後、上清 100 μl を回収した。培養上清のヒスタミンの測定は、ヒスタミン EIA キット (SPI-BIO) を用いて行った。

2-4 脂肪酸組成の測定

Bligh と Dyer の方法により各種食品または細胞から脂質の抽出を行った⁽⁹⁾。各種食品または細胞のホモジネート 400 μl に内部標準として 20 μl の 3 mg/ml ヘプタデカン酸 (17:0) を添加し、1 ml MeOH, 0.5 ml CHCl_3 を加え、2 分間攪拌し、さらに 0.5 ml 1 M KCl, 0.5 ml CHCl_3 を入れて 2 分間攪拌した。2000 rpm で 5 分間遠心した後、下層を抽出した。さらに残った上層に 1 ml CHCl_3 を加え、2 分間攪拌後、5 分間遠心して下層を抽出した(抽出は計 3 回)。抽出した脂質を窒素乾固し、1 ml の 5% HCl-MeOH を加え、100 $^{\circ}\text{C}$ で 1 時間加熱して、脂肪酸をメチルエステル誘導体に変換した。室温に戻した後、1 ml H_2O , 2 ml 石油エーテルを加え、2 分間攪拌した後、2000 rpm で 5 分間遠心し、上層を抽

出した。さらに残った下層に 2 ml 石油エーテルを加え、2 分間攪拌後、5 分間遠心して上層を抽出した(抽出は計 3 回)。抽出したものを窒素乾固し、硫酸ナトリウムで脱水した石油エーテルで溶解し、脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフィー GC-14A (島津製作所, キャピラリーカラム: DB225, J&W SCIENTIFIC) で分析した。

2-5 ラットを用いた給餌実験

α -リノレン酸 (18:3n-3) の豊富なエゴマ油又はリノール酸 (18:2n-6) の豊富なゴマ油を重量比 10% 添加したアイスクリームを作製し、ラットへの給餌実験で抗アレルギー作用を評価した。

4 週齢の雄性 Wistar 系ラットに、無脂肪精製飼料にアイスクリームを重量比 20% 添加し、4 週間与えた。組成は重量比で、コーンスターチ 39.0%, ミルクカゼイン 20.8%, セルロース 6.9%, スクロース 4.3%, オカノール (炭水化物混合物) 1.8%, ミネラル混合物 5.1%, ビタミン混合物 1.2%, DL-メチオニン 0.3%, 塩化コリン 0.5%, そしてアイスクリーム 20.0% である。ゴマアイス群は 8 匹, エゴマアイス群は 7 匹飼育した。飼育は室温 23 $^{\circ}\text{C}$, 湿度 50% で保持されたクリーン環境下で行い、自由摂食・摂水とした。

2-6 ラットからの多形核白血球の採取とロイコトリエン産生の測定

10% カゼインをラットの体重 100 g 当たり 5 ml 腹腔内投与し、多形核白血球を誘導した。カゼイン投与 16 時間後、20 ml の PBS で腹腔を 2 回洗って多形核白血球を回収し、細胞を Ficol 重層遠心法で精製した⁽¹⁰⁾。

多形核白血球を Hanks 液中に 3×10^7 cells/ml で懸濁し、37 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分間、1 μM のカルシウムイオノフォア (A23187) で刺激した。刺激後得られた上清に内部標準としてプロスタグランジン (PG) B_2 を添加してロイコトリエンを抽出後、UV 検出器を装着した HPLC にて測定した⁽¹¹⁾。

3. 実験結果

3-1 各種食品抽出物が RBL-2H3 細胞の抗原抗体刺激による β -ヘキソサミニダーゼ分泌に及ぼす影響

地域から収集した各種食資源から 3 種類の溶媒 (①熱水, ②70% エタノール, ③ MeOH) による抽出物を作成した。①が最も極性の高い水溶性成分が抽出され、③が最も低極性で脂溶性の高い成分が抽出される。②はその中間的性質を示す。15 種類の食素材から合計 45 種類の抽出物を成し、終濃度 100 $\mu\text{g/ml}$ の処理が RBL-2H3 細胞の抗原抗体刺激による β -ヘキソサミニダーゼ分泌に及ぼす影響を調べた (図 1)。

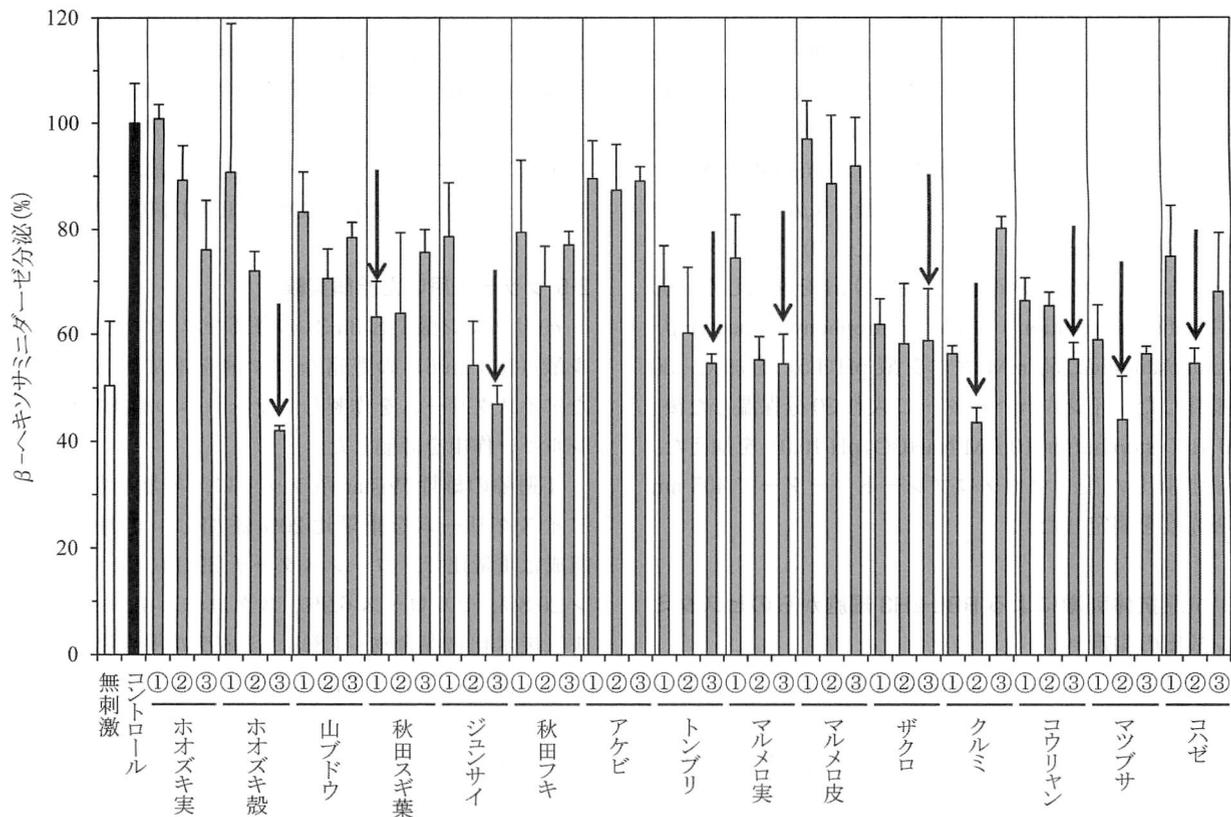


図1. 各種食品抽出物がRBL-2H3細胞の抗原抗体刺激による β -ヘキソサミニダーゼ分泌に及ぼす影響

値は緩衝液中に分泌された β -ヘキソサミニダーゼの量をコントロールに対してパーセント計算したものであり、4回の実験による平均値+標準偏差を表す。①、②及び③はそれぞれ熱水、70%エタノール及びメタノール抽出物を表し、それぞれ100 μ g/mlの終濃度で細胞を処理した。矢印は、抑制効果が顕著であった食品の抽出物を示した。

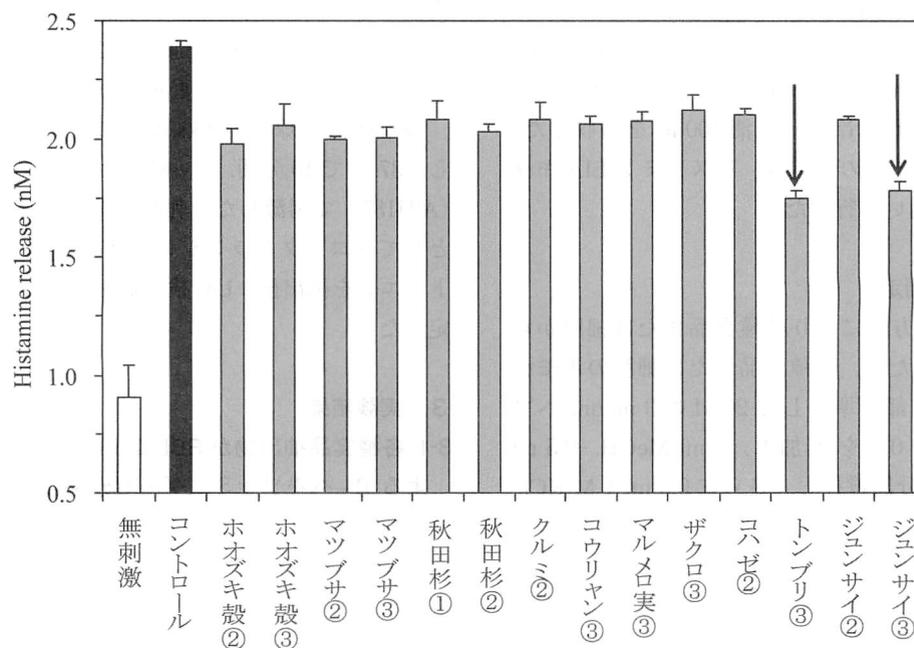


図2. 各種食品抽出物がRBL-2H3細胞の抗原抗体刺激によるヒスタミン放出に及ぼす影響

値は緩衝液中に放出されたヒスタミンの濃度を表し、4回の実験による平均値+標準偏差を表す。①、②及び③はそれぞれ熱水、70%エタノール及びメタノール抽出物を表し、それぞれ100 μ g/mlの終濃度で細胞を処理した。矢印は、抑制効果が顕著であった食品の抽出物を示した。

無刺激と比較して、抗原抗体刺激を行ったコントロールでは、 β -ヘキソサミニダーゼの分泌が約2倍に増加した。同条件下で、図1の矢印で示した食品抽出物に顕著な β -ヘキソサミニダーゼ分泌抑制作用が観察された。すなわち、ホオズキ殻③(42.0%)、秋田スギ葉①(63.2%)、ジュンサイ③(47.0%)、トンプリ③(54.6%)、マルメロ②(54.5%)、ザクロ③(58.8%)、クルミ②(43.6%)、コウリヤン③(55.3%)、マツブサ②(54.1%)、コハゼ②(54.5%)で抑制効果が比較的大きかった。

3-2 各種食品抽出物がRBL-2H3細胞の抗原抗体刺激によるヒスタミン分泌に及ぼす影響

β -ヘキソサミニダーゼ分泌抑制作用が比較的大きかった食品抽出物について、ケミカルメディエーターであるヒスタミンの放出に及ぼす影響を検討した(図2)。10種類の食素材から14種類の抽出物を成し、終濃度100 $\mu\text{g/ml}$ の処理が抑制効果の有するかどうかを検証した。

無刺激と比較して、抗原抗体刺激を行ったコントロールでは、ヒスタミンの放出が約3倍に増加した。同条件下で、図2の矢印で示した食品抽出物に顕著なヒスタミン放出抑制作用が観察された。すなわち、コントロールと比較してトンプリ③で30%、ジュンサイ③で28%のヒスタミン放出が抑制された。

抑制効果の高かったトンプリとジュンサイの各メタノール抽出物について、細胞の処理濃度を変更し、ヒスタミン放出抑制効果を再度検証した(図3)。いずれの

抽出物も濃度依存的に抗原抗体刺激によるRBL-2H3細胞のヒスタミン放出を抑制し、50%阻害濃度である IC_{50} は、いずれの抽出物も約250 $\mu\text{g/ml}$ であった。

3-3 各種脂肪酸がRBL-2H3細胞の抗原抗体刺激による β -ヘキソサミニダーゼ分泌に及ぼす影響

各種脂肪酸について、終濃度50 $\mu\text{g/ml}$ の処理が、RBL-2H3細胞の β -ヘキソサミニダーゼ分泌に及ぼす影響を調べた(図4)。飽和脂肪酸であるパルミチン酸(16:0)、一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸(18:1)、n-6系多価不飽和脂肪酸であるリノール酸(18:2n-6)には、ほとんど影響は観察されなかった。一方で、n-3系多価不飽和脂肪酸である α -リノレン酸(18:3n-3)ではコントロールと比較して15%、エイコサペンタエン酸(EPA, 20:5n-3)では42%、ドコサヘキサエン酸(DHA, 22:6n-3)では58% β -ヘキソサミニダーゼ分泌が抑制された。このように、n-3系多価不飽和脂肪酸は抗原抗体刺激による β -ヘキソサミニダーゼ分泌を抑制する作用を有し、鎖長・不飽和度が高くなるにつれて抑制効果が大きくなることが示された(図4)。

3-4 各種豆類・種実類等の α -リノレン酸・リノール酸含量と総脂肪酸含量

n-3系脂肪酸に抗アレルギー作用が存在することから、 α -リノレン酸(18:3n-3)含量が高く、リノール酸(18:2n-6)含量の低い油脂含有食品を見出すために、油脂含量の高い豆類や種実類等を地域から収集し、脂肪酸組成を分析した(図5)。 α -リノレン酸(18:3n-3)含有量

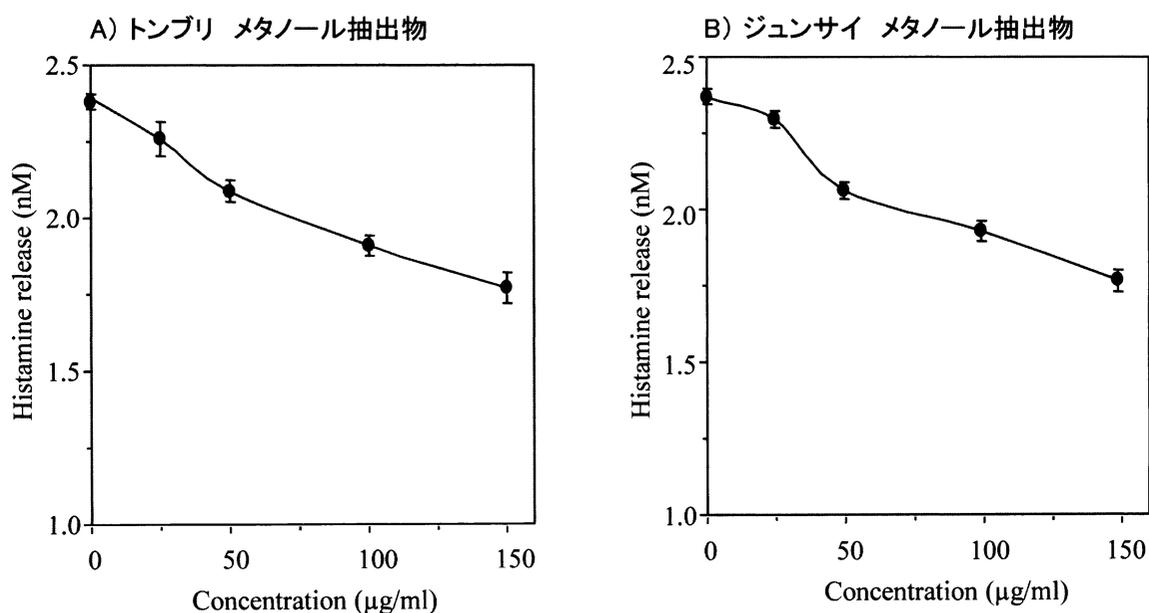


図3. トンプリ及びジュンサイのメタノール抽出物によるヒスタミン分泌抑制の濃度依存性

値は緩衝液中に分泌されたヒスタミンの濃度を表し、4回の実験による平均値 \pm 標準偏差を表す。

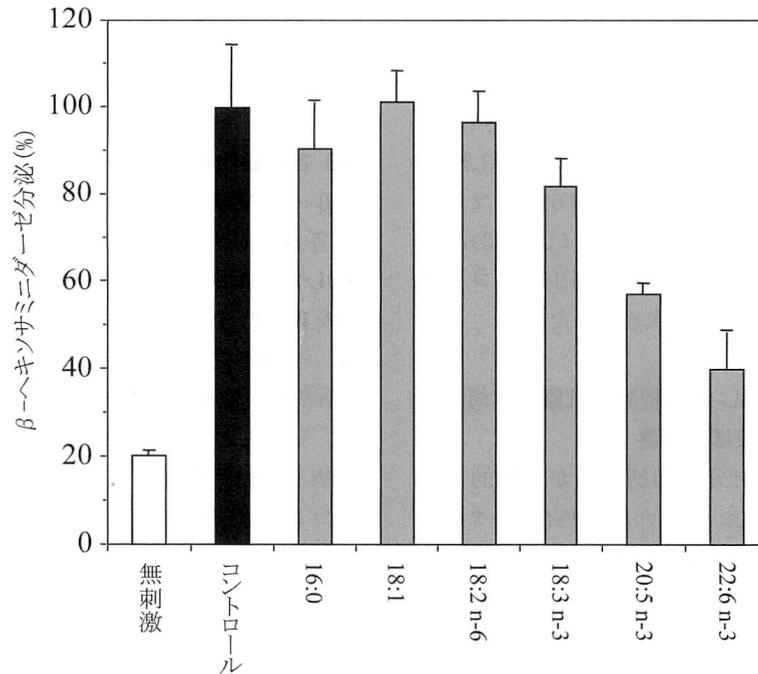


図4. 各種脂肪酸が RBL-2H3 細胞の抗原抗体刺激による β -ヘキソサミニダーゼ分泌に及ぼす影響

値は緩衝液中に分泌された β -ヘキソサミニダーゼの量をコントロールに対してパーセント計算したものであり、4回の実験による平均値+標準偏差を表す。脂肪酸は、それぞれ $50 \mu\text{M}$ の終濃度で細胞を処理した。16:0 (パルミチン酸), 18:1 (オレイン酸), 18:2n-6 (リノール酸), 18:3n-3 (α -リノレン酸), 20:5n-3 (エイコサペンタエン酸, EPA), 22:6n-3 (ドコサヘキサエン酸, DHA)。

は、ネクタリン (41.0%), 黒ささぎ豆 (37.5%), 紫豆 (33.8%), トラ豆 (33.0%) が比較的高かった (図5 A)。これらのリノール酸含量は、ネクタリン (21.2%), 黒ささぎ豆 (23.4%), 紫豆 (42.8%), トラ豆 (39.1%) であった。ネクタリンと黒ささぎ豆は α -リノレン酸 (18:3n-3) 含量がリノール酸 (18:2n-6) 含量よりも高く、必須脂肪酸バランスの改善に有用であるが、紫豆とトラ豆は α -リノレン酸 (18:3n-3) 含量よりもリノール酸 (18:2n-6) 含量の方が高かった。一方で、なし種子, りんご種子, スイカ種子, かぼちゃ種子, メロン種子など、多くの豆類・種実類は α -リノレン酸 (18:3n-3) 含量が低く、リノール酸 (18:2n-6) 含量が非常に高かった (図5 A)。

今回分析した豆類・種実類等の総脂肪酸量を図5 B に示した。 α -リノレン酸 (18:3n-3) 含量が高かったネクタリン, 黒ささぎ豆, 紫豆, トラ豆などは、総脂肪酸量が少なく、油糧種子として搾油する素材としては利用が難しいことが分かった。総じて、リノール酸含量が高かったかぼちゃ種子, メロン種子などが総脂肪酸量も多かった。

シソ種子やエゴマ種子は α -リノレン酸 (18:3n-3) 含量が 55 ~ 60% と高く、リノール酸 (18:2n-6) 含量は 15% 前後で低値である上に、総脂肪酸量も搾油可能

なレベルであり十分に高い (200 ~ 400 mg/g)。今回収集した豆類・種実類等からは、シソ種子やエゴマ種子に匹敵するような素材は見つからなかった。

3-5 ゴマ・エゴマアイスクリームを摂取したラット多形核白血球の脂肪酸組成

ゴマ油またはエゴマ油を重量比 10% 添加して作成したアイスクリームの脂肪酸組成を図6 に示した。ゴマアイスはリノール酸 (18:2n-6) 含量が高く 26.2% であり、 α -リノレン酸 (18:3n-3) は 0.7% と低値であった。一方で、エゴマアイスは α -リノレン酸 (18:3n-3) 含量が 32.9% と高く、リノール酸 (18:2n-6) 9.7% の3倍以上の含有であった。

ゴマアイスまたはエゴマアイスを重量比 20% 添加した無脂肪精製飼料を4週間摂取したラットから採取した多形核白血球の脂肪酸組成を図7 に示した。

ゴマアイス群ではアラキドン酸 (20:4n-6) 含量が 17.8% であり、エゴマアイス群の値 8.9% の2倍量存在した (図7 A)。一方で、EPA (20:5n-3) の含量は、ゴマアイス群では 0.1% とごく僅かであったが、エゴマアイス群では 5.0% に増加した (図7 B)。また、エゴマアイス群では α -リノレン酸 (18:3n-3) が 2.5%、ドコサ

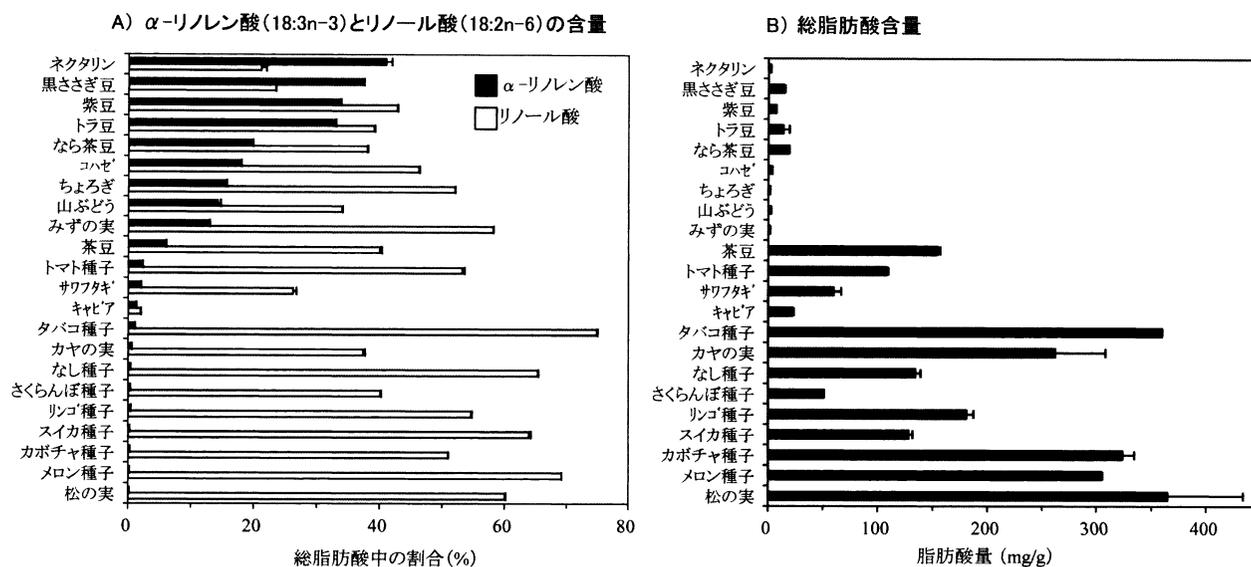


図5. 各種豆類・種実類等の α -リノレン酸・リノール酸含量と総脂肪酸含量

A) は α -リノレン酸(18:3n-3)とリノール酸(18:2n-6)の含量を表し、値は総脂肪酸に占めるそれぞれ割合(%)で示した。B) は総脂肪酸含量を表し、各食品1g中の脂肪酸の総量(mg)で示した。

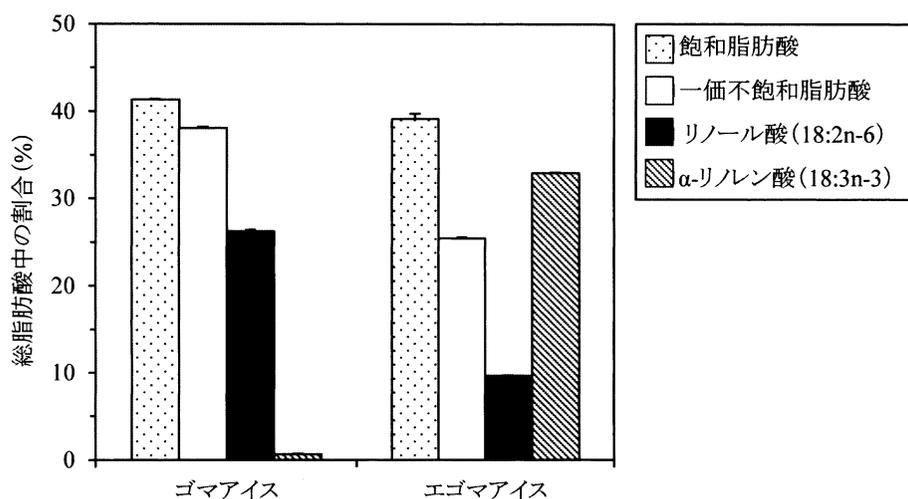


図6. ゴマ油及びエゴマ油で作成したアイスクリームの脂肪酸組成

リノール酸(18:2n-6)の豊富なゴマ油及び α -リノレン酸(18:3n-3)の豊富なエゴマ油を重量比10%使用して、アイスクリームを作製した。値はアイスクリーム中の総脂肪酸に占める割合(%)で示した。

ヘキサエン酸(DHA, 22:6n-3)が2.2%であり、ゴマアイス群のそれぞれの値0.3%, 0.8%と比較して顕著に高かった。

3-6 ゴマ・エゴマアイスクリームを摂取したラット多形核白血球のロイコトリエンB₄及びB₅の産生

多形核白血球をカルシウムイオノフォア A23187 で刺激したときのLTB₄産生を分析した代表的なHPLCプロファイルを図8A・Bに示した。プロスタグランジン(PG)B₂は測定系に添加した内部標準である。ゴマアイス群

のLTB₄産生量は顕著に高く、LTB₅の産生は検出限界を僅かに超える程度であった(図8A)。一方で、エゴマアイス群ではLTB₄産生量が顕著に低下し、LTB₅の産生が増加した(図8B)。

ゴマアイス群8匹、エゴマアイス群7匹のLTB₄産生の結果を図8Cにまとめた。エゴマアイス群ではアラキドン酸から生合成されるLTB₄産生が約1/2に減少していた。一方、EPAから生合成されるLTB₅は、ゴマアイス群では殆ど存在しなかったが、エゴマアイス群ではLTB₅の約1/2量存在した。LTB₄とB₅を加えたLTB₄産

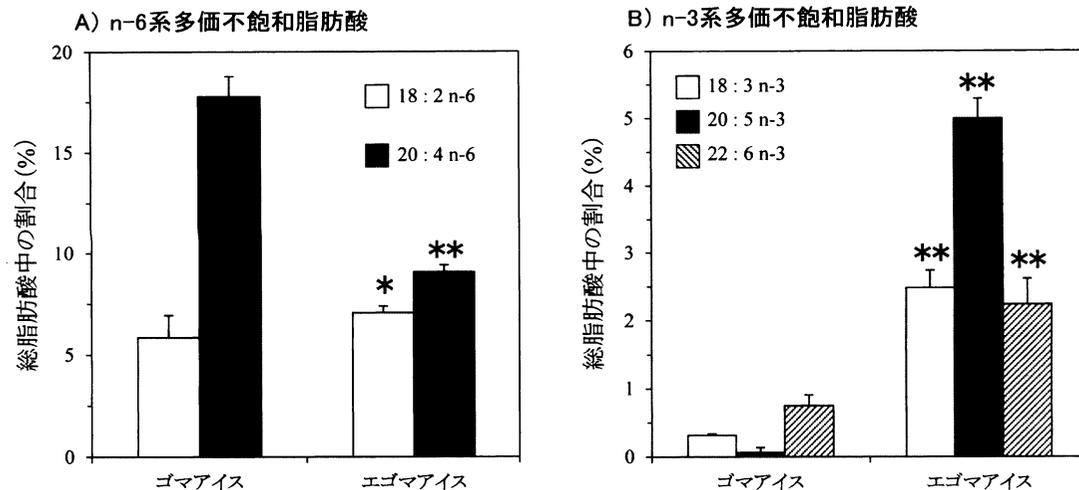


図7. ゴマ・エゴマアイスクリームを摂取したラット多形核白血球の脂肪酸組成

ゴマ・エゴマアイスクリームを摂取したラットから多形核白血球を採取し、細胞の脂肪酸組成を測定した。A) は n-6 系脂肪酸, B) は n-3 系脂肪酸の組成を表す。値はゴマアイスがラット n=8, エゴマアイスがラット n=7 の平均値 + 標準偏差を表す。18:2n-6 (リノール酸), 20:4n-6 (アラキドン酸), 18:3n-3 (α -リノレン酸), 20:5n-3 (エイコサペンタエン酸, EPA), 22:6n-3 (ドコサヘキサエン酸, DHA)。*は $P < 0.05$, **は $P < 0.01$ のゴマアイスの同脂肪酸と比較した Student's t-test による統計的有意差を示す。

生の総量は、エゴマアイス群はゴマアイス群と比較して 25% 低下していた (図 8 C)。

4. 考察

本研究では、ラット由来マスト細胞株である RBL-2H3 細胞を用いて β -ヘクソサミニダーゼ分泌抑制を指標に抗アレルギー作用を持つ地域食資源をスクリーニングし、その中から有望なものを選択して、ケミカルメディエーターであるヒスタミンの放出を抑制する食素材を探索した。その結果、ジュンサイとトンプリのメタノール抽出物が抗アレルギー作用を有することが示された。今後、これらの抽出物から有効成分を精製・単離し、抗アレルギー物質を同定していく必要がある。同時に作用メカニズムを明らかにし、作用の科学的な裏付けを確認し、応用の可能性を検証していかなければならない。トンプリとジュンサイは秋田県の特産品であるため、これからのように利用すれば地域に貢献できるかについても考慮する必要がある。

トンプリは地膚子と呼ばれる漢方薬として、抗搔痒作用に有効であるとされている⁽¹²⁾。また、トンプリの実がアレルギー反応を抑制することが報告されている⁽¹³⁾。トンプリは秋田県北秋田郡比内町の特産であり、アカザ科の一年草の種子を加工したものであり、畑のキャビアと呼ばれている⁽¹⁴⁾。

ジュンサイは秋田県山本町で多く生産されており、睡蓮科に属する宿根性の草本である。ジュンサイは、表面の透明なゲル状の粘質物が独特の風味をもち珍重されて

いる (15, 16)。さらに山本町ではジュンサイを普及品として全国に広める活動を積極的に行っている。

α -リノレン酸 (18:3n-3) による抗アレルギー作用のメカニズムを図 9 に示した。リノール酸 (18:2n-6) と α -リノレン酸 (18:3n-3) は不飽和化酵素と鎖長延長酵素によりそれぞれアラキドン酸 (20:4n-6) と EPA (20:5n-3) に変換されて、膜リン脂質のグリセロール骨格 sn-2 位にエステル結合して蓄積している。細胞が刺激を受けるとホスホリパーゼ A_2 とリポキシゲナーゼが活性化され、リノール酸 (18:2n-6) 由来のアラキドン酸 (20:4n-6) からは LTB_4 が生成され、 α -リノレン酸 (18:3n-3) 由来の EPA (20:5n-3) からは LTB_5 が生成される。 LTB_4 は強力な白血球誘引作用をもつケミカルメディエーターであるが、 LTB_5 の活性は B_4 の数十分の一であることが分かっている⁽¹⁷⁾。

ゴマアイスは α -リノレン酸 (18:3n-3) を殆ど含まずリノール酸 (18:2n-6) を 26.2% 含むことから、これを反映してラット多形核白血球のアラキドン酸 (20:4n-6) 含量は 17.8% と顕著に高かった。一方、エゴマアイスはリノール酸 (18:2n-6) と α -リノレン酸 (18:3n-3) を 1:3 の比で含有し、ラット多形核白血球のアラキドン酸 (20:4n-6) を効果的に EPA (20:5n-3) に置換した。最終的に 8 週齢の時点でエゴマアイス群の多形核白血球のアラキドン酸: EPA は 9:5 となった。

これらの脂肪酸組成の変化が LTB の産生に反映され、カルシウムイオノフォア刺激で多形核白血球において産生される LTB_4 のレベルは、エゴマアイス群で半減し

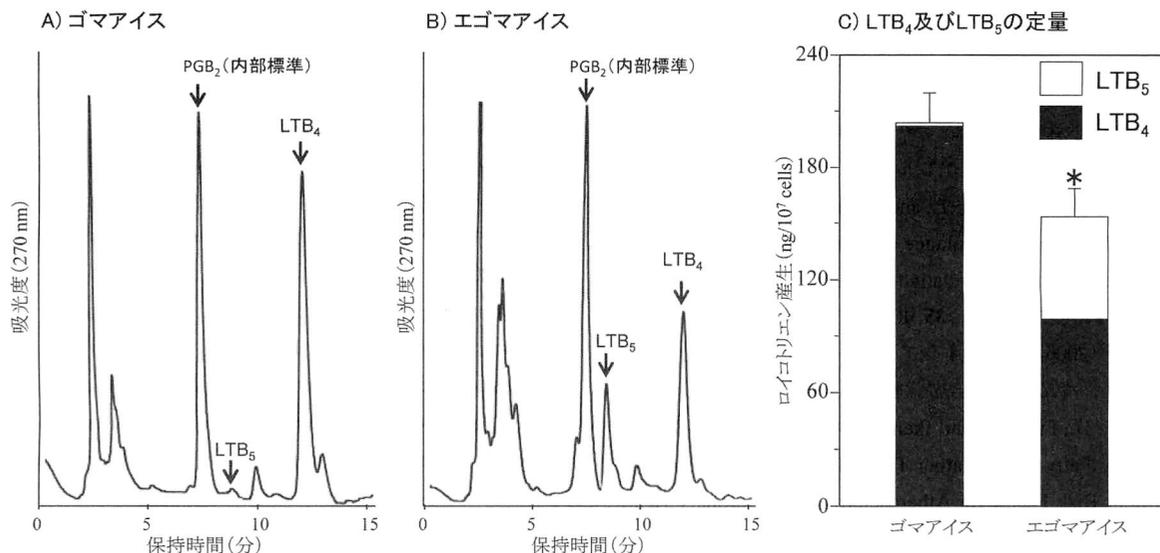


図8. ゴマ・エゴマアイスクリームを摂取したラット多形核白血球のロイコトリエン B₄ 及び B₅ の産生

ゴマ・エゴマアイスクリームを摂取したラットから多形核白血球を採取し、細胞をカルシウムイオノフォア刺激した時に産生されるロイコトリエン B₄ 及び B₅ を測定した。A) はゴマアイスを摂取したラット、B) はエゴマアイスを摂取したラットの多形核白血球が産生したロイコトリエン類の代表的な HPLC クロマトグラムを表す。C) は産生されたロイコトリエン B₄ 及び B₅ の平均値 + 標準偏差を示し、ゴマアイスがラット n=8、エゴマアイスがラット n=7 である。*は P<0.01 のゴマアイスの同種のロイコトリエンと比較した Student's t-test による統計的有意差を示す。

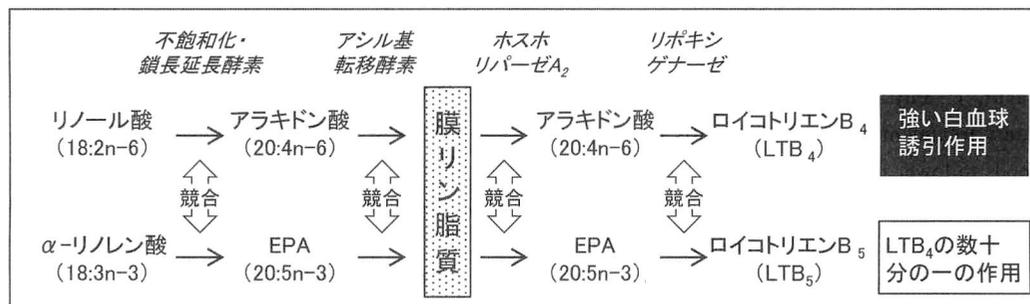


図9. α -リノレン酸 (18:3n-3) による抗アレルギー作用のメカニズム

た。一方、エゴマアイス群では EPA (20:5n-3) 由来の LTB₅ が LTB₄ の 2 分の 1 量産生された。しかし、B₄ と B₅ を合わせた LTB の総量は、エゴマアイス群では 25% 減少した。これはアラキドン酸 (20:4n-6) と比較して、EPA (20:5n-3) からは LT 類が合成されにくいことを反映したものと考えられる⁽¹⁸⁾。

LTB₄ は白血球の強力な走化性因子であり、炎症・アレルギー反応に対して増悪的に働く。LTB₅ の活性は LTB₄ の数十分の一であるとされており⁽¹⁷⁾、n-3 系脂肪酸の強化されたエゴマアイスは効果的に LTB₄ 及び LTB₅ の総量を低下させることでアレルギー性疾患の予防及び治療に対して有効であると考えられる。

今回はエゴマ油に匹敵するような地域食資源は見いだせなかったが、n-3 系脂肪酸の含量が高い油脂素材は少ないのが現状である。n-3 系脂肪酸の摂取はアレルギー

性疾患の予防だけでなく、様々な生活習慣病の予防に有効であるが、菜種油や水素添加処理した油脂の一部には微量有害成分の存在が指摘されている⁽¹⁹⁾。我々は、これまでに米の脂肪酸組成が品種で異なることを示してきたが⁽²⁰⁾、今後も安全性の高い n-3 系脂肪酸含有食品を探索していく必要がある。

謝辞

本研究を行うにあたり、各種地域食資源の収集と抽出物の作成、細胞を用いた実験の補助にご協力いただきました秋田大学教育文化学部学域科学課程生活者科学選修の学生に深く感謝いたします。本研究の一部は、著者が受領した平成 22～24 文部科学省科学研究費補助金若手研究 (B) 「食事必須脂肪酸バランスの最適化による健康増進と生活の質向上」による研究助成によって行

れたものであり、感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 奥山治美, 小林哲幸, 浜崎 智仁 (1999) 「脂質栄養学シリーズ3 油脂(あぶら)とアレルギー」, 学会センター関西
- 2) Okuyama, H., Kobayashi, T., and Watanabe, S. (1997) Dietary fatty acids-the n-6/n-3 balance and chronic elderly diseases. Excess linoleic acid and relative n-3 deficiency syndrome seen in Japan., *Prog. Lipid Res.*, **35**, 409-457.
- 3) 中村宣督 (2006) イソチオシアネートによるがんの化学予防の可能性., *岡山大学農学部学術報告*, **95**, 87-91.
- 4) Okuyama, H., Fujii, Y., and Ikemoto, A. (2000) N-6/n-3 Ratio of Dietary Fatty Acids Rather Than Hypercholesterolemia As the Major Risk Factor for Atherosclerosis and Coronary Heart Disease., *J. Health Sci.*, **46**, 157-177.
- 5) Lands, W. E. M., and Ikemoto, A. (2007) 脂質栄養: 過去と将来の長期的展望., *脂質栄養学*, **16**, 9-19.
- 6) Ikemoto, A., Ohishi, M., Sato, Y., Hata, N., Misawa, Y., Fujii, Y., and Okuyama, H. (2001) Reversibility of n-3 fatty acid deficiency-induced alterations of learning behavior in the rat: the level of n-6 fatty acids as another critical factor., *J. Lipid Res.*, **42**, 1655-1663.
- 7) 池本 敦 (2012) 脳機能における n-3 系脂肪酸の必須性-行動科学的評価と分子基盤の解析., *脂質栄養学*, **21**, 17-25.
- 8) Kato, M., Nagata, Y., Tanabe, A., Ikemoto, A., Watanabe, S., Kobayashi, T., Fujii, Y., and Okuyama, H. (2000) Supplementary treatment of atopic dermatitis patients by choosing foods to lower the n-6/n-3 ratio of fatty acids., *J. Health Sci.*, **46**, 241-250.
- 9) Bligh, E. G., and Dyer, W. J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification., *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917.
- 10) Bøyum, A. (1968) Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood., *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **21**, S77-89.
- 11) Hashimoto, A., Katagiri, M., Torii, S., Dainaka, J., Ichikawa, A., and Okuyama, H. (1988) Effect of the dietary α -linolenate/linoleate balance on leukotriene production and histamine release in rats., *Prostaglandins*, **36**, 3-16.
- 12) 久保道徳, 松田秀秋, 載岳, 井戸康子, 吉川雅之 (1996) 漢薬・地膚子の研究 (第1報) 地膚子の70%エタノール抽出エキスの抗搔痒作用と有効成分の探索., *薬学雑誌*, **117**, 193-201.
- 13) Shin, K., M., Kim, Y., H., Park, W., S., Kang, I., Ha, J., Choi, J., W., Park, H., J., Lee, K., T. (2004) Inhibition of methanol extract from the fruits of *Kochia acoparia* on lipopolysaccharide-induced nitric oxide, prostaglandin E₂, and tumor necrosis factor- α production from Murine Macrophage RAW 264.7 Cells., *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 538-543.
- 14) 齊藤芳枝 (1983) トンブリの成分について., *東京家政大学研究紀要: 2自然科学*, **23**, 109-112.
- 15) 石沢清 (1963) ジュンサイの粘質物に関する研究 (I) 粘質物の構成糖類. アミノ酸および灰分の検索., *山形大学紀要教育科学*, **3**, 27-36.
- 16) 石沢清 (1963) ジュンサイの粘質物に関する研究 (II) 粘質物主要成分の化学組成., *山形大学紀要教育科学*, **3**, 89-96.
- 17) Terano, T., and Salmon, J. A., Moncada, S. (1984) Biosynthesis and biological activity of leukotriene B₅., *Prostaglandins*, **27**, 217-232.
- 18) Prescott, S. M. (1984) The effect of eicosapentaenoic acid on leukotriene B production by human neutrophils., *J. Biol. Chem.*, **259**, 7615-7621.
- 19) Okuyama, H., Yamada, K., Miyazawa, D., Yasui, Y., and Ohara, N. (2007) Dietary lipids impacts on healthy ageing., *Lipids*, **42**, 821-825.
- 20) 池本 敦, 長沼誠子 (2007) 精白米の脂質含量及び脂肪酸組成の品種による相違と食事脂質バランスに及ぼす影響., *秋田大学教育文化学部研究紀要(自然科学)*, **62**, 19-28