

トゲキリンサイに含まれる免疫増強物質と 陸上培養海藻の抗アレルギー作用

高知大学大学院黒潮圏海洋科学研究科 海洋健康医科学講座
富永 明、大谷和弘、木宮 隆

研究目的

昨年度は、好酸球活性化による抗腫瘍効果がトゲキリンサイのλ-カラゲナン分画にあること認めしたが、低分子λ-カラゲナンは潰瘍性大腸炎などの炎症を誘発するとの報告もあるので、本年度はより適用範囲の広いアレルギー疾患の症状緩和に効果のある分子の探索を目指した。

アトピー性皮膚炎や花粉症といったアレルギー性疾患は直ちに生命を脅かすことはないが、社会生活上もはや無視できない問題となっている。花粉症での労働力の低下による経済損失は2860億円と見積もられており、アトピー性皮膚炎は小児の性格形成に影響を与え、いわゆる「キレイやすい」子供をつくるとの指摘もある。アレルギー反応はマスト細胞の脱顆粒が引き金となり、好酸球の過剰な活性化が増悪因子となる。これらの細胞の反応を抑制することにより、アレルギーの予防・治療が可能となる。予防を考えた場合、いわゆる「クスリ」を常用するよりも、食事として抗アレルギー効果を持つ食品を持続的に摂取するほうが、安全性も高く摂取が容易である。我々は、海洋深層水で培養した食用海藻に着目し、マスト細胞の反応抑制を指標とし、抗アレルギー作用を持つ海藻の発見とそれに含まれる活性物質の探索を試みた。

研究成果

実験方法

実験に供した海藻：スジアオノリ、ミル、ヤブレグサ、オニアマノリ、ミリン、カジメ、カヤモノリ、ハバノリ、ホソメコンブ、ワカメ（室戸海洋深層水研究所供与、室戸海洋深層水にて陸上タンク養殖）

海藻エキスの調製：水洗後、室温にて風乾した各海藻を、ミキサーにて粉碎し、熱水抽出（80℃、

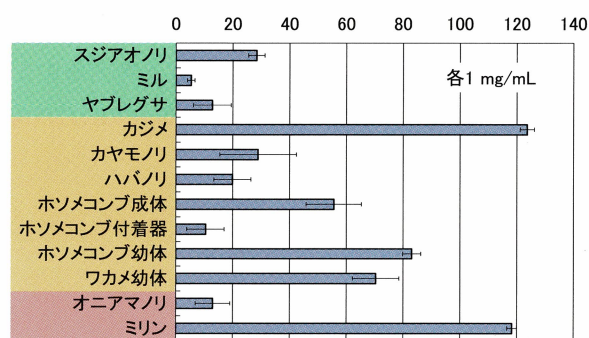


図1 海藻水エキスの脱顆粒抑制作用

2時間×2）あるいはメタノール抽出（70℃、2時間×2）し、各抽出液を得た。熱水抽出液は凍結乾燥、メタノール抽出液はエバポレーターにて溶媒を留去することで、乾燥粉末として各抽出物を得た。

メタノールエキスの溶媒分配：メタノールエキスは、70%メタノールに溶解したのちヘキサンを加え、脂溶性成分を抽出した。含水層は、減圧下メタノールを留去した後、酢酸エチル次いでブタノールによる抽出を行い、各抽出物を得た。残った水層は、凍結乾燥した。

培養細胞：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団より購入した、好塩基球性白血病ラット由来のマスト細胞株（RBL-2H3）を使用した。細胞は炭酸ガスインキュベーター中DMEM培地を用いて継代培養し、実験に供した。

脱顆粒抑制試験：RBL-2H3細胞を抗DNP IgE抗体と37℃で16時間前処理した後、海藻エキスあるいは分画を加え30分インキュベートする。その後、抗原としてDNP（2,4-ジニトロフェニル）BSA（ウシ血清アルブミン）を加えて30分刺激する。この後、培養上清中のマスト細胞の顆粒由来成分であ

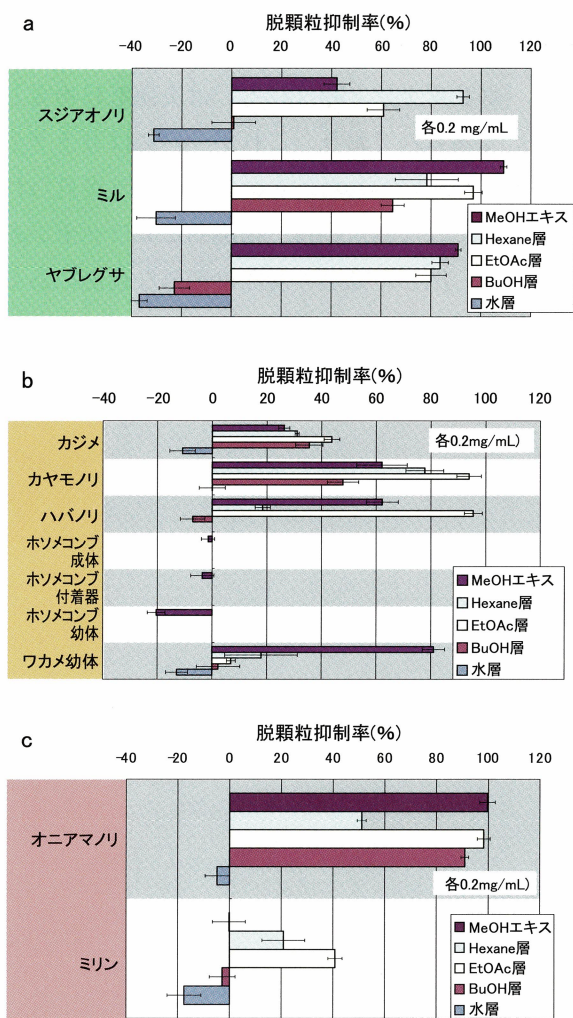


図2 海藻メタノールエキスと溶媒分配後各層の脱顆粒抑制作用 (a, 緑藻、b, 褐藻、c, 紅藻)

るβ-ヘキソサミニダーゼ活性をp-nitrophenyl β-D-glucosaminide (p-NAG)を基質として測定した。β-ヘキソサミニダーゼによるp-NAG分解物p-nitrophenolの量を405nmの吸光度で測定し、以下の式により脱顆粒抑制率を求めた。

$$\text{脱顆粒抑制率 (\%)} = \frac{(1 - \text{試験試料溶液吸光度} - \text{試料自体の吸光度} - \text{空試験})}{(\text{ネガティブコントロール} - \text{空試験})} \times 100$$

実験結果

水エキスではカジメとミリンが強いマスト細胞の脱顆粒抑制を示した。メタノールエキスではミル、ヤブregサ、カヤモノリ、ハバノリ、ワカメ幼体、オニアマノリが強い抑制活性を示した。活性の認められたメタノールエキスについては、各

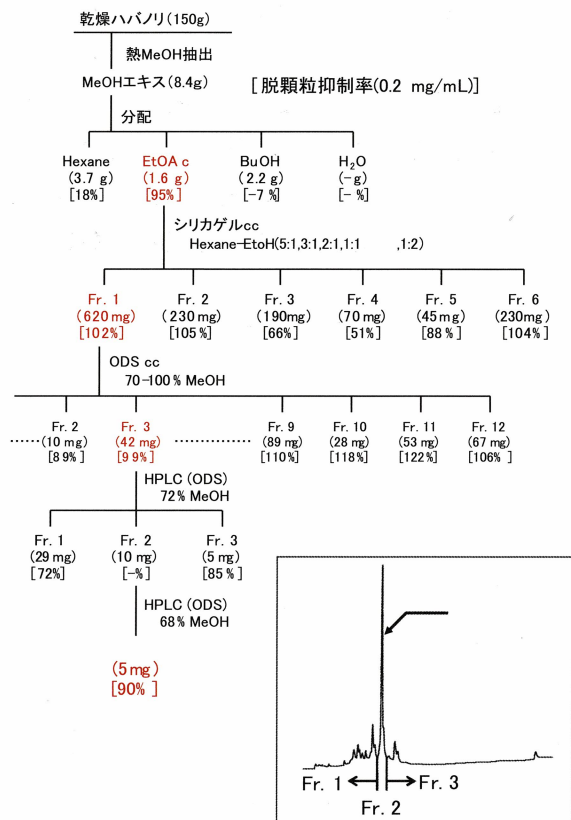


図3 ハバノリメタノールエキス中の脱顆粒抑制物質の単離

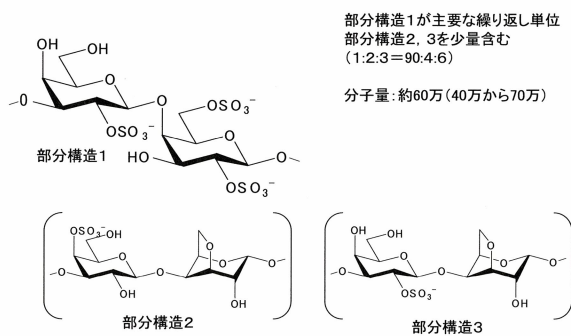


図4 トゲキリンサイに含まれる好酸球活性化成分

種有機溶媒を用いた溶媒分配法により分画したところ、活性の多くは酢酸エチル層を中心とした脂溶性分画に濃縮された。

今回は、海洋深層水研究所で大量培養に成功しているハバノリを材料として活性成分のさらなる精製を行った。酢酸エチル層に分配されたものを

シリカゲルクロマトグラフィー、ODSカラムクロマトグラフィーを用いてマスト細胞脱顆粒抑制効果を指標として分離した。(図3) 現在までのところ、活性化化合物1種の単離に成功し、その化学構造を検討中である。また、これ以外にも活性を示した画分からの活性化化合物の精製も進行中である。

結 語

一海藻に含まれる抗アレルギー物質の報告は少なく、最近の花粉症やアトピー性皮膚炎の増加を考えると、アレルギーの予防や症状の緩和に有効な食品の需要は大きいことが予想される。ただし、現在までアレルギーの緩和や免疫の増強といった効果をうたった特定保健用食品(トクホ)は許可されていないため、トクホへの展開を考える場合はそのあたりをクリアする必要がある。また、食品ではなく化粧品への展開も興味深いのではないか。事実、我々が陸上植物から単離した化合物のいくつかは、軟膏として皮膚へ塗布した場合でも顕著な抗アレルギー活性を示すものもあるので、今後研究を進めてみたいと考えている。

参 考

昨年度、トゲキリンサイに含まれる好酸球を活性化し腫瘍細胞を殺傷できる成分が、 λ -カラゲナンであることを報告したが、本年度はその詳細な化学構造の決定に成功した。(図4) カラゲナンは、すでに食品添加物として認められており、増粘剤や安定化剤として使用されている。カラゲナンの免疫賦活作用に関しては報告がなく、健康食品素材としては興味もたれる。その一方で、カラゲナンは潰瘍性大腸炎の原因となるとの報告もあり、生協などでは添加物としてカラゲナンを含む食品の取り扱いを停止している。カラゲナン投与により炎症性大腸炎が引き起こされたという報告も一部で見られるが、実験に使用したカラゲナンの分子量分布が明らかではなく、信頼性にかけられている。したがって、現在までのところ高分子の

カラゲナンには発がん性や炎症性は認められないとされている。しかし、カラゲナンの部分加水分解物(ポリギナンと呼ばれる)は炎症惹起物質として広く知られており、これが一般にはカラゲナンと呼ばれていることから、情報の混乱が見られる。そのような観点から、積極的にカラゲナンを前面に押し出した商品の展開は困難な状況にあると思われる。このあたりが解決されれば、興味深い食品素材である。