

ジャバラの脱顆粒抑制作用

生活産業部 研究員 木村美和子

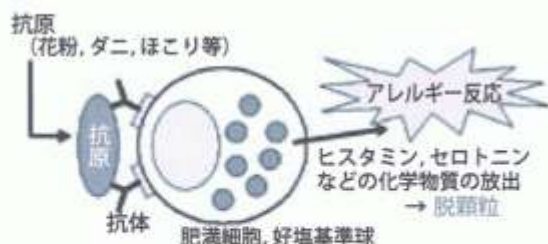
【はじめに】

ジャバラ (*Citrus jabara*) は和歌山県北山村とその周辺地域のみで生産されている香酸カンキツである。これは、ユズ、九年母、小ミカンなどの交雑種の中から、寒さに強い個体が定着したものとされている。近年、ジャバラに花粉症の症状緩和効果があるとインターネットを発端に噂が広まり、注目を集めているが、そのメカニズムについての科学的な検証は行われていなかった。そこで、本研究では培養細胞系を用いて、ジャバラの脱顆粒抑制作用について検討を行った。



【花粉症と脱顆粒】

花粉症やアトピー、気管支喘息はI型アレルギーの一種であり、過剰な免疫反応が原因で起こる。I型アレルギーは、抗原（花粉、食品のタンパク成分など外来成分）が侵入し、異物と認識されると、その抗原に特異的に反応する抗体が体内で生産され、記憶される。この抗体が皮膚や粘膜に存在する肥満細胞や好塩基球の細胞膜上にある受容体と結合する。そして再び同じ抗原が侵入した場合、抗原と抗体が結合し、抗体の架橋が起こり、体内から抗原を除去するための免疫反応として、ヒスタミンなど化学物質が放出され、皮膚炎や鼻炎などのアレルギー症状が引き起こされる。このように、細胞内から抗原抗体反応により、化学物質が放出される現象を脱顆粒という。



【試験方法】

2001年産のジャバラ果実を果皮ごと半切り、ハンドジューサーを用いて、搾汁した。その果汁をメタノールにより抽出し、C18Sep-Pakを用いて、有機酸、糖類等を除去したものを試料とした。

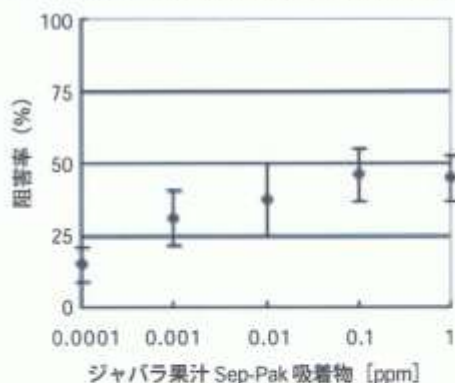
脱顆粒抑制作用の評価は、ラット好塩基球性白血球細胞株 RBL-2H3 (JCRB0023) を用い、ジニトロフェニル基 (DNP) を抗原としたモデル系により行った。RBL-2H3 をマウス抗 DNP-IgE 抗体で感作させ、ジャバラ果汁抽出物を加えた後、抗原として DNP-BSA を加え、脱顆粒刺激を行った。脱顆粒の際にヒスタミンなどの化学物質と共に放出される β -ヘキソサミニダーゼの活性を測定し、脱顆粒の指標とした。

【結果と考察】

ジャバラ果汁抽出物の Sep-Pak 吸着画分に顕著な脱顆粒抑制作用が認められ、細胞培養液中に 0.1ppm 添加した場合には、脱顆粒をほぼ 50% 抑制した。また、搾汁残渣である果皮の抽出物にも、同様の脱顆粒抑制作用がみられた。いずれの場合も、抑制作用が見られた濃度範囲では、ジャバラ抽出物は細胞の増殖に影響を与えなかった。

現時点では、有効成分の特定には至っていない。今後、有効成分についての検討を進めるとともに、医薬系研究機関とも連携し、動物実験等による効果の実証を進め、産業への応用の道を探っていきたいと考えている。

ジャバラ果汁 Sep-Pak 吸着物の脱顆粒阻害率



カンキツ果実の脱顆粒抑制作用の探索

木村美和子^{*1}、山西妃早子^{*1}、尾崎嘉彦^{*1}、実宝智子^{*2}

要 旨

本県特産のカンキツ果実であるジャバラ、ウンシュウミカン、ユズ、ハッサク、キヨミ等について、RBL-2H3 細胞によるモデル系を用いた脱顆粒抑制作用の評価を行った。その結果、ジャバラ抽出物にもっとも強い抑制作用がみられた。そこでHPLC分析を行ったところ、ジャバラ抽出物に多量のナリルチンが含まれていた。ナリルチンの標準品を用い、脱顆粒抑制作用の評価を行ったところ、抑制作用がみられた。このことからナリルチンは脱顆粒抑制物質のひとつであると考えられる。

【はじめに】

現在、日本人の5人に1人が花粉症であるといわれている。花粉症をはじめとしたアトピーや鼻炎などのアレルギー性疾患の患者数は増加の一途を辿り、大きな問題となっている。

数年前から、インターネットを中心にジャバラ (*Citrus jabara*) が花粉症の症状を緩和するという噂が広がり、注目を集めていた。ジャバラとは和歌山県北山村周辺地域で生産されている香酸カンキツであり、ユズ、九年母、小ミカンなどの交雑種の中から、寒さに強い個体が定着したものとされている¹⁾。昨年度、このジャバラについて検討した結果、花粉症の反応機序のひとつである脱顆粒を抑制する作用を見いだした²⁾。

和歌山県ではジャバラの他にも、ウンシュウミカンをはじめ、多くのカンキツ果実が生産されている。これらにも脱顆粒抑制作用が期待されることから、和歌山県特産の様々なカンキツ果実について、脱顆粒抑制作用の評価を行った。

また、カンキツ果実には多種多様なフラボノイドが含まれている。フラボノイドには脱顆粒抑制機能を含めた抗アレルギー作用に関する報告があることから、強い脱顆粒抑制作用が認められたものについてはフラボノイド組成の分析を行い、脱顆粒抑制物質の特定を目指す。

【試験方法】

ジャバラ、ウンシュウミカン、キヨミ、ハッサク、ダイダイ、レモン、ユズを果皮ごと半切し、ハンドジューサーを用いて搾汁を行った。それぞれをメタノールにより抽出し、C18Sep-Pakを用いて、有機酸、糖類等を除去したものを減圧乾固し、試料とした。

脱顆粒抑制作用の評価には、ヒューマンサイエンス振興財団から購入したラット好塩基球性白血球細胞株 RBL-2H3 (JCRB0023) を、10%ウシ胎児血清 (FBS) を含むDMEM培地 (Sigma社) で37℃、5%CO₂で培養したものを用いた。RBL-2H3をマウス抗DNP-IgE抗体で感作させ、24wellプレートに播種し、24時間培養した。各wellをPBS (-) で洗浄し、試料を添加した後、10分間、37℃、5% CO₂インキュベーターで保持した。その後、DNP-BSAを加え、1時間、37℃、5% CO₂インキュベーターで培養を行った。各wellの上清をそれぞれ遠心して回収し、脱顆粒時に細胞内から放出されるβ-ヘキソサミニダーゼの遊離量から脱顆粒の抑制率を求めた^{3,4)}。

また、ジャバラ抽出物のSep-Pak吸着画分について、HPLCを用いてフラボノイド組成の分析を行った⁵⁾。

^{*1}生活産業部 ^{*2}千里金蘭大学

【結果と考察】

それぞれの試料において、0.01ppmにおける脱顆粒抑制作用を比較したところ、ジャバラ抽出物にもっとも強い作用が認められた (Fig.1)。ジャバラ抽出物を細胞培養液中に0.1ppm添加した場合には、脱顆粒をほぼ50%抑制した (Fig.2)。いずれの場合も、抑制作用が見られた濃度範囲では、細胞の増殖に影響を与えなかった

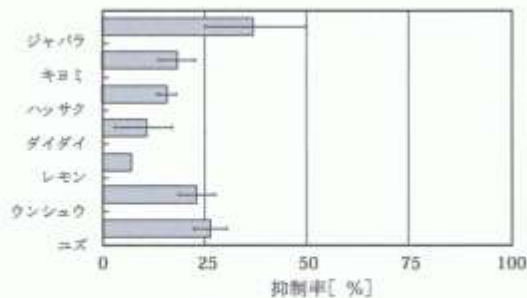


Fig.1. 0.01ppmの脱顆粒抑制率

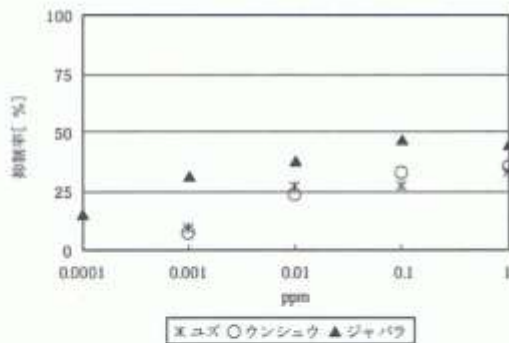


Fig.2. カンキツ果実の脱顆粒抑制率

また、HPCLによるジャバラ抽出物のフラボノイド組成の分析を行った結果、多量のナリルチンが含まれていた (Fig.3)。ナリルチンの標準物質を使い、脱顆粒抑制作用の検討を行ったところ、抑制作用がみられ、ナリルチンが抑制物質のひとつであると考えられる。しかし、実際に食した場合、消化、吸収、代謝など複雑な作用が起こる。

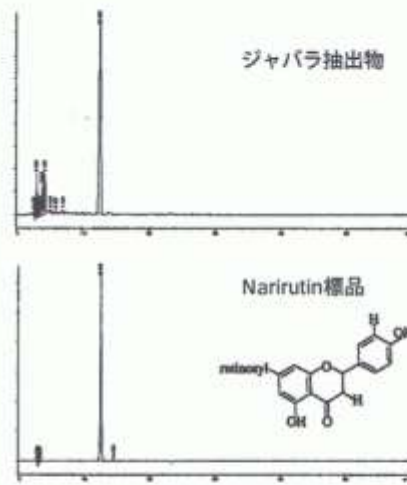


Fig.3. HPLCによるジャバラのフラボノイド組成の分析

そのため、一抑制作用があると断言することはできず、今後、動物細胞や臨床試験を行う必要がある。

参考文献

- 1) 三宅正起, 稲葉伸也, 前田久夫, 伊福靖: 日本食品工業学会誌, **37**, 5 (1990)
- 2) 木村美和子, 山西妃早子, 尾崎嘉彦: 日本食品科学工学会第50回大会講演集, (2003)
- 3) 吉川雅之: 薬学会シンポジウム 「天然薬物学を基盤とした機能性成分探索 研究における新展開」要旨集 (2003)
- 4) 公開特許公報 平9-20672: シソ植物中の抗アレルギー物質, その製造方法, 抗アレルギー剤及び機能性食品
- 5) Kawai S. et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 3982-3986 (2001)

- 1) 松田秀秋ほか: 柑橘類果実の薬理学的研究(第2報) ウンシュウミカン果実の抗アレルギー作用その2 フラボノイド成分について, 薬学雑誌, 111, 193-198(1991)
- 2) 木村美和子ほか: ジャバラの脱顆粒抑制作用, 日本食品科学工学会第50回大会講演集, 29(2003)
- 3) Matsuda, H. et al.: Anti-allergic activities of 70% methanol extract of *evodiae fructus* (fruits of *Evodia rutaecarpa* var. *bodinieri*) and its components, *Natural Medicines*, 52, 470-476(1998)
- 4) Sawabe, Y. et al.: Inhibitory effects of pectic substances on activated hyaluronidase and histamine release from mast cells, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1137, 274-278(1992)
- 5) Middleton, E. Jr. and Drzewiecki G.: Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents, *Biochem. Pharmacol.*, 33, 3333-3338(1984)
- 6) 前原美恵子・朝来壮一: 県産農産物の抗アレルギー性機能検定, 大分県農水産物加工総合指導センター試験成績報告書, 12, 21-23(2001)
- 7) Lee, Y. M. et al.: Antianaphylactic activity of *Poncirus trifoliata* fruit extract, *J. Ethnopharmacol.*, 54, 77-84(1996)
- 8) Kanda, T. et al.: Inhibitory effects of apple polyphenols on induced histamine release from RBL-2H3 cells and rat mast cells, *Biosci Biotechnol Biochem.*, 62, 1284-1289(1998)
- 9) Nakatani, K.: Inhibitions of histamine release and prostaglandin E2 synthesis by mangosteen, a Thai medicinal plant., *Biol. Pharm. Bull.*, 25, 1137-1141(2002)
- 10) Matsuda, H. et al.: Bioactive constituents of Chinese natural medicines. VII. Inhibitors of degranulation in RBL-2H3 cells and absolute stereostructures of three new diarylheptanoid glycosides from the bark of *Myrica rubra*, *Chem. Pharm. Bull.*, 50, 208-215(2002)
- 11) Yoshikawa, M. et al.: Bioactive saponins and glycosides. X. On the constituents of *Zizyphi spinosi semen*, the seeds of *Zizyphus jujuba* Mill. var. *spinosa* Hu (1): structures and histamine release-inhibitory effect of jujubosides A1 and C and acetyljujuboside B., *Chem. Pharm. Bull.*, 45, 1186-1192(1997)
- 12) Kotani, M. et al.: Persimmon leaf extract and astragaloside inhibit development of dermatitis and IgE elevation in NC/Nga mice., *J. Allergy Clin. Immunol.*, 106(1 Pt 1), 159-166(2000)
- 13) 松崎桂一・北中進: *Psidium guajava* の成分研究IV, 日本薬学会年会講演要旨集, 121st(2), 155(2001)
- 14) Yoshikawa, M. et al.: Bioactive saponins and glycosides. IV. Four methyl-migrated 16, 17-seco-dammarane triterpene glycosides from Chinese natural medicine, *hoveniae semen seu fructus*, the seeds and fruit of *Hovenia dulcis* THUNB.: absolute stereostructures and inhibitory activity on histamine release of hovenidulcosides A1, A2, B1, and B2., *Chem. Pharm. Bull.*, 44, 1736-1743(1996)
- 15) Akiyama, H. et al.: Antiallergic effect of apple polyphenols on the allergic model mouse, *Biol. Pharm. Bull.*, 23, 1370-1373(2000)

- 16) Chairungsrilerd, N. et al.: Pharmacological properties of alpha-mangostin, a novel histamine H1 receptor antagonist., *Eur. J. Pharmacol.*, 314, 351-356(1996)
- 17) Matsuda, H. et al.: Effects of escins Ia, Ib, IIa, and IIb from horse chestnut, the seeds of *Aesculus hippocastanum* L., on acute inflammation in animals, *Biol.Pharm. Bull.*, 20, 1092-1095(1997)
- 18) 小菅崇ほか: ヘルパーT細胞のサイトカイン産生とアレルギーに対するフトモモ科シジウムからの抽出成分の影響, *薬学雑誌*, 120, 408-412(2002)
- 19) 久保道徳ほか: 柑橘類果実の薬理学的研究(第1報) ウンシュウミカン果実の抗アレルギー作用 その1, *薬学雑誌*, 109, 835-842(1989)
- 20) 沢辺善之ほか: 生薬の皮膚関連酵素に対する阻害作用, *薬学雑誌*, 118, 423-429(1998)
- 21) 田畑光正ほか: 薬草植物の利用技術の開発 県内で栽培, 採集可能な薬草植物の機能性評価, 島根県産業技術センター研究報告, 39, 39-41(2002)
- 22) Maeda, Y. et al.: Hyaluronidase inhibitor in the fruit of *Citrus reticulata* BLANCO, *衛生化学*, 37, 205-210(1991)
- 23) 大澤謙二ほか: カリン(*Chaenomeles sinensis*)果実のヒアルロニダーゼ阻害効果およびラット肥満細胞からのヒスタミン遊離阻害効果について, *Natural Medicine*, 53, 199-193(1999)
- 24) 菅野信男ほか: 地域資源の高度利用移管する研究(第1報) 機能性(抗アレルギー性, 抗変異原性, 脂質代謝改善)を有する資源の検索, 高知県工業技術センター報告, 31, 31-50(2000)
- 25) Seeram, N. P.: Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries., *Phytomedicine*, 8, 362-369(2001)
- 26) Murakami, A. et al.: Inhibitory effect of citrus nobiletin on phorbol ester-induced skin inflammation, oxidative stress, and tumor promotion in mice., *Cancer Res.*, 60, 5059-5066(2000)
- 27) Su, B. N. et al.: Activity-guided fractionation of the seeds of *Ziziphus jujuba* using a cyclooxygenase-2 inhibitory assay., *Planta Med.*, 68, 1125-1128(2002)
- 28) Nakatani, K. et al.: Inhibition of cyclooxygenase and prostaglandin E2 synthesis by gamma-mangostin, a xanthone derivative in mangosteen, in C6 rat glioma cells., *Biochem. Pharmacol.*, 63, 73-79(2002)
- 29) Tanaka, T. et al.: Prevention of colonic aberrant crypt foci by dietary feeding of garcinol in male F344 rats., *Carcinogenesis*, 21, 1183-1189(2000)
- 30) Kim, O. K. et al.: An avocado constituent, persenone A, suppresses expression of inducible forms of nitric oxide synthase and cyclooxygenase in macrophages, and hydrogen peroxide generation in mouse skin., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 64, 2504-2507(2000)
- 31) Subbaramaiah, K. et al.: Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells., *J. Biol. Chem.*, 73, 21875-21882(1998)
- 32) Woo, H. G. et al.: Rutaecarpine, a quinazolinocarboline alkaloid, inhibits prostaglandin production in RAW264.7 macrophages., *Planta Med.*, 67, 505-509(2001)

- 33) Moon, T. C. et al.: A new class of COX-2 inhibitor, rutaecarpine from *Evodia rutaecarpa*, *Inflamm. Res.*, 48, 621-625(1999)
- 34) Kohyama, N. et al.: Inhibition of arachidonate lipoxygenase activities by 2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethanol, a phenolic compound from olives., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 61, 347-350(1997)
- 35) Wadsworth, T. L. and Koop, D. R.: Effects of the wine polyphenolics quercetin and resveratrol on pro-inflammatory cytokine expression in RAW264.7 macrophages., *Biochem. Pharmacol.*, 57, 941-949(1999)
- 36) Manthey, J. et al.: Polymethoxylated flavones derived from *Citrus* suppress tumor necrosis factor- α expression by human monocyte., *J. Nat. Prod.* 62, 441-444(1999)
- 37) Kim, O. K. et al.: Novel nitric oxide and superoxide generation inhibitors, persenone A and B, from avocado fruit., *J. Agric. Food Chem.*, 48, 1557-1563(2000)
- 38) Shimizu, M. et al.: Anti-inflammatory constituents of topically applied crude drugs. I. Constituents and anti-inflammatory effect of *Eriobotrya japonica* LINDL., *Chem. Pharm. Bull.*, 34(6), 2614-2617(1986)
- 39) Li, W. G. et al.: Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds, *Acta. Pharmacol. Sin.* 22, 1117-1120(2001)
- 40) Avramidis, N. et al.: Anti-inflammatory and immunomodulating properties of grape melanin. Inhibitory effects on paw edema and adjuvant induced disease., *Arzneimittelforschung*, 48, 764-771(1998)
- 41) Murakami, A. et al.: Suppressive effects of citrus fruits on free radical generation and nobiletin, an anti-inflammatory polymethoxyflavonoid., *Biofactors*, 12, 187-192(2000)
- 42) Matsuda, H. et al.: Antinociceptive and anti-inflammatory activities of limonin isolated from the fruits of *Evodia rutaecarpa* var. *bodinieri*, *Planta Med.*, 64, 339-342(1998)
- 43) Akihisa, T. et al.: Sasanquol, a 3,4-seco-triterpene alcohol from sasanqua oil, and its anti-inflammatory effect, *Phytochemistry*, 48, 301-305(1998)
- 44) Akihisa, T. et al.: Triterpene alcohols from camellia and sasanqua oils and their anti-inflammatory effects., *Chem. Pharm. Bull.*, 45, 2016-2023(1997)
- 45) Ozaki, Y. et al.: Antiinflammatory effect of mace, aril of *Myristica fragrans* Houtt., and its active principles. *Jpn. J. Pharmacol.* 49, 155-163(1989)
- 46) Kalin, R.: Activin, a grape seed-derived proanthocyanidin extract, reduces plasma levels of oxidative stress and adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin) in systemic sclerosis, *Free Radic. Res.*, 36, 819-825(2002)
- 47) Oku, H. et al.: Antipruritic effects of the fruits of *Chaenomeles sinensis*, *Biol. Pharm. Bull.*, 26, 1031-1034(2003)
- 48) Ahmadiani, A. et al.: Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract, *J. Ethnopharmacol.*, 72, 287-292(2000)
- 49) Shaheen, S. O. et al.: Dietary antioxidants and asthma in adults: population-based case-control study, *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, 164, 1823-1828(2001)