

令和元年6月17日現在

機関番号：33910

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21299

研究課題名(和文)高知県に自生する未利用天然資源の機能性評価 - 抗アレルギー活性を指標として -

研究課題名(英文)Evaluation of anti-allergic activity of unused natural resources living in Kochi

研究代表者

田中 守 (TANAKA, Mamoru)

中部大学・応用生物学部・講師

研究者番号：00612350

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：高知県は日本でも有数の植物の宝庫であるが、現在に至るまで産業利用の面ではほとんどが未開拓である。それゆえ、詳細な抗アレルギー評価を行い、アレルギー症状の緩和や発症予防のための新たな有効植物資源を見出すことを目的として、素材の探索研究を行った。結果、*C.maritimum* Makinoの葉(ECMM)と*C.depressa* Hayataの葉・果皮がin vitro及びin vivoにおいて、抗アレルギー作用を有すること、ECMMの抗アレルギー活性成分がシルシマリチンであることを同定した。さらに、ECMMには腸管及び血清中の抗原特異IgAを増加させる作用があることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、日本人の約50%は何らかのアレルギーを持っており、大きな社会問題となっている。それゆえ、アレルギー症状の緩和やアレルギー発症の予防のための、新たな有効植物資源を見出すことを目的とした本研究は、抗アレルギーを含む免疫の分野への貢献が期待できる。さらに、本研究を通じ、地域性や生産性など、元より素材として大きな可能性を秘めている*C.maritimum* Makinoや*C.depressa* Hayataに対して、「健康機能性」という更なる価値を付加していくことにより、高知県、延いては日本の産業振興への貢献の一助になること、アレルギー疾患の予防や改善に貢献することを期待している。

研究成果の概要(英文)：Kochi Prefecture has a large number of plants in Japan, but most of them are unexplored in terms of industrial use. Therefore, the aim of finding new effective plant resources for reduction and prevention of allergic symptoms, I studied detailed anti-allergic evaluations. As a result, *C.maritimum* Makino and *C.depressa* Hayata inhibit the antigen/IgE-mediated allergic response in vitro and in vivo, and cirsimaritin may be the active anti-allergic component in *C.maritimum* Makino. Furthermore, I have shown that ECMM has an effect of increasing antigen-specific IgA in the intestinal tract and serum.

研究分野：食品免疫

キーワード：抗アレルギー作用 植物 食物アレルギーモデルマウス RBL-2H3 *Cirsium maritimum* Makino *Citrus depressa* Hayata

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、花粉症やアトピー性皮膚炎、食物アレルギーをはじめとする 型アレルギー疾患患者は、日本を含めた先進国を中心に増加の一途を辿っている。現在、日本人の約 50%は何らかのアレルギーを持っており、医療費の増大、健康水準の低下や労働生産性の低下などの視点からも、大きな社会問題となっている<sup>1)</sup>。現在、即時型(型)アレルギー症状の緩和には、抗ヒスタミン剤などの抗アレルギー薬の服用が一般的に行われている。しかし、抗アレルギー薬は、眠気や口渇などの副作用を生じるといった欠点がある。一方、抗アレルギー成分を含む食品もしくはその抽出物を摂取することは、副作用が少なく安全性が高いと考えられるため、症状の緩和や予防、さらには患者の QOL 向上という視点からも期待がもたれている。

林野庁の調査(都道府県別森林率・人工林率、平成 24 年 3 月 31 日)によると、高知県の森林率は全国で最も高く、全国の平均森林率が 67%であるのに対し、高知県は 84%である。森林率からも推測されるように、豊かな自然に恵まれている高知県は、わが国に自生する約 6,000 種の種子植物のうち、3,170 種が存在する植物の宝庫である。植物資源としての有用性は、その約 1 割ほどであると考えられているものの、産業利用の面では、ほとんどが未開拓な状態である。そこで、高知県立大学、高知大学、高知工業技術センター及び牧野植物園は共同で研究グループを立ち上げ、予備的な検討を基に有望な植物種約 200 種類を選び、化学的・生化学的に有用な植物の探索を進めてきた。これらの結果を基に、植物の有効性を判断し、化学物構造の研究から応用に至るまでの事例モデルを示してきた。また、高知県がもつ有用植物を地域固有の「資源」とし、それら資源の発掘、保全育成、産業活用の用途開発、さらには、有用植物の地域ブランドとして商品化までを一貫して推進する、農商工医連携/産学官連携の基盤を構築することを目的とした活動実績がある。申請者は、2015 年から研究グループに加わり、動物実験を主に担当し、糖抑制やリパーゼ阻害活性について、植物の機能性を評価してきた。しかしながら、植物の抗アレルギー活性についての評価はほとんど行われていないのが現状である。

### 2. 研究の目的

本研究では、高知県に自生する産業利用の面でほとんど未開発な植物について、詳細な抗アレルギー評価を行い、アレルギー症状の緩和やアレルギー発症の予防のための新たな有効植物資源を見出すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 細胞培養実験

##### 細胞培養

RBL-2H3 細胞は、37℃、5%CO<sub>2</sub>条件化、10% FBS 及び 100 U/mL のペニシリン - ストレプトマイシンを含む DMEM で継代培養した。

##### ラット好塩基球様細胞株 RBL-2H3 の脱顆粒阻害作用

脱顆粒阻害作用は、脱顆粒中の酵素β-hexosaminidase の放出阻害活性で評価した。24 ウェルマイクロプレートに 2.5 × 10<sup>5</sup> cells/well で RBL-2H3 細胞を播種し、一晚培養した。50 ng/mL の抗 DNP-IgE 抗体を添加 2 時間培養後、細胞を 1.5 mL の MT buffer で 2 回洗浄した。MT buffer で溶解したサンプルを添加し 10 分間反応後、50 ng/mL の DNP-HSA を加え、さらに 30 分間反応させた。サンプルを含まない MT buffer を添加し同様に反応させたものをコントロールとした。培養上清を回収後、細胞を 0.1% Triton X-100/MT buffer で溶解することで細胞溶解液を得た。培養上清及び細胞溶解液それぞれ 50 μL を 96 ウェルプレートに移し、37℃ で 5 分間加温後、50 μL の 0.1 mol/L citrate buffer に溶解した 3.3 mmol/L p-nitrophenyl-2-acetoamido-2-deoxy-β-D-glucopyranoside を加え、37℃ で 25 分間反応させた。反応溶液に 100 μL の 2.0 mol/L glycine buffer を加えて反応を停止後、プレートリーダーで 415 nm の吸光度を測定した。サンプルのβ-hexosaminidase 放出阻害活性は、コントロールのβ-hexosaminidase 放出率を 100%として求めた。

##### 細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) の測定

[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> は Calcium Kit-Fluo 3 を用いた。上記同様に、RBL-2H3 細胞は細胞培養用 96 ウェルブラックマイクロプレートに 2.5 × 10<sup>4</sup> cells/well 播種し、抗 DNP-IgE 抗体で感作した。その後、細胞を 200 μL の PBS で 2 回洗浄した後、100 μL の Fluo 3 AM で 1 時間反応させた。反応後、200 μL の PBS で 2 回洗浄し、PBS で溶解した 100 μL のサンプルを添加し 10 分間反応後、MT buffer で 0.625 μg/mL に調整した DNP-HSA を 10 μL 加え、直ちに蛍光強度を蛍光・発光マイクロプレートリーダーで 485 nm、538 nm の吸光度を測定した。測定値は DNP-HAS 刺激前の吸光度を 1.0 とし、5 分後の相対値を表した。なお、サンプルを含まない PBS を添加し、同様に反応させたものをコントロールとし、DNP-HSA を含まない MT buffer を添加し、同様に反応させたものをブランクとした。

##### 脱顆粒シグナル伝達制御に関するタンパク質発現の確認

上記同様に、RBL2H3 細胞は Tissue Culture Dish 35mm に 7.0 × 10<sup>5</sup> cells/Dish 播種し、一晚培養した。その後、抗 DNP-IgE 抗体で感作した。その後、細胞を 2 回洗浄した後、MT buffer で溶解したサンプル 980 μg/Dish となるように添加し 10 分間反応後、20 μL/Dish となるよう DNP-HSA を加え、2 分間培養した。その後、溶液を全て除去し 2 回洗浄した。Cell Lysis Buffer にした後、50mg/mL Pefabloc が 10%、2g/mL Aprotinin が 0.1%、Complete が 4%、Phosphatase

inhibitor が1%となるように調製し用いた。上清を完全に除去してペレットのみにした後、調製した Cell Lysis Buffer を 100 $\mu$ L ずつ添加した。ピペティングによって細胞をはがし、サンプルチューブに細胞を回収した後、15 分間ボルテックスし、30 分間氷中に静置した。その後、21,500 $\times$ g、15 分、4 で遠心し、上澄みを回収した。BCA Protein Assay Kit を用いてタンパク質の定量を行った後、タンパク質発現の確認を行った。タンパク質の分離には SDS-PAGE を行い、その後、Western Blotting 法を用いて各種シグナル伝達タンパク質を化学発光させ、各種検出を行った。

抗アレルギー活性成分の同定

抗アレルギー活性成分の同定は、各種クロマトグラフィー、HPLC にて分画した後、 $^1\text{H-NMR}$  及び  $^{13}\text{C-NMR}$  スペクトルにより評価した。

## (2) 動物実験

受身皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応

6 週齢の Balb/cCrSlc 雌マウスを実験に用いた。実験期間中は、室温  $24 \pm 3$ 、12/12 h (A.M. 7:00-P.M. 7:00) の明暗サイクルの条件で飼育した。1 週間の予備飼育をした後マウスを無作為に非感作群 (n=5)、感作群 (n=6)、ECMM 群 (n=6) の 3 群に分けた。抗原は DNP-HSA を用いた。

軽く麻酔をかけたマウスの右側の耳介に 1  $\mu$ g の抗 DNP-IgE 抗体を含む 20  $\mu$ L のリン酸緩衝液を投与した。対照として左側の耳介に 20  $\mu$ L の PBS を投与した。投与 23 時間後、マウスに PBS で 5% の DMSO 濃度に希釈した 200  $\mu$ L の 5% ECMM を経口投与した。非感作群及び感作群には対照として 200  $\mu$ L の PBS を経口投与した。1 時間後、マウスに 100  $\mu$ g の DNP-HAS を含む 200  $\mu$ L の 1% Evan's blue/PBS 溶液を静脈投与した。投与 30 分後に耳介厚を測定し、耳介を摘出後 1 mL のホルムアミド中、63 で 48 時間インキュベートし、溶出した Evan's blue 色素を 490 nm の吸光度で測定した。

ECMM の経口投与及びマウスの LHE 感作

5 週齢の C3H/HeJYokSlc 雌マウスを実験に用いた。実験期間中は、室温  $24 \pm 3$ 、12/12 h (A.M. 7:00-P.M. 7:00) の明暗サイクルの条件で飼育した。1 週間の予備飼育をした後マウスを無作為に非感作群 (n=10)、感作群 (n=10)、ECMM 群 (n=10) の 3 群に分けた。抗原は LHE を用いた。

実験期間中の飼育期間の 4 週間は、AIN-93G をベースとした飼料と水を自由摂取させた。ECMM 群の飼料は 1% の ECMM を添加した AIN-93G を、非感作群と感作群の飼料は AIN-93G とした。実験期間中の体重は 3 回/週おきに計測した。LHE 感作は既報通りに行った。即ちマウス 1 匹当たり 50 mg の LHE と 4 mg の Imject Alum を含む 0.2 mL の PBS を 14、21 日目に軽く麻酔をかけたマウスの腹腔内に投与した。非感作群は、4 mg の Imject Alum を含む 0.2 mL の PBS のみを腹腔内投与した。各種抗体価を測定するため、実験開始 27 日目に軽い麻酔下で感作マウスの末梢血管から採血を行い、血液を遠心分離し、血清を得た。実験開始 31 日目に、マウスの排泄した糞便を採取した。糞便は凍結乾燥した後、0.1 g dry weight/mL となるよう PBS を加え、十分に混和し、4 で 1 晩静置した。その後、懸濁液を遠心分離、上清を採取したものをサンプルとした。

LHE 特異 IgE、IgA、IgG1 及び IgG2a の測定

LHE 特異的な各種抗体価は、ELISA 法を用いて行った。LHE 溶液を 10  $\mu$ g/mL になるよう 50 mM の炭酸バッファーに溶かし、100  $\mu$ L ずつ 96 ウェルマイクロプレートの各ウェルに入れ、4 で 1 晩静置した。各ウェルを 0.05% のポリオキシエチレン (20) ソルビタンモノラウレートを含む PBS (PBS-T) で 3 回洗浄し、次に 1% 牛血清アルブミン/PBS-T を 100  $\mu$ L ずつ加え、37 で 1 時間タンパク質末端結合部分をブロックした。PBS-T で 3 回洗浄した後、一次抗体として各血清サンプルを、血清中 LHE 特異 IgE 及び IgA では濃度が 100 倍希釈、血清中 LHE 特異 IgG1 及び IgG2a では濃度が 200 倍希釈に、糞便中 LHE 特異 IgA では、糞便の上清原液が 100 倍希釈になるように 1% BSA/PBS-T で希釈したサンプルを 100  $\mu$ L ずつ各ウェルに入れ、37 で 1 時間インキュベートした。PBS-T で 5 回洗浄した後、二次抗体として Anti IgE-HRP、Mouse 及び Anti IgA-HRP、Mouse を 1000 倍希釈及び Anti IgG1-HRP、Mouse 及び Anti IgG2a-HRP、Mouse を 5000 倍希釈になるように、1% BSA/PBS-T に溶かし、各ウェルに 100  $\mu$ L ずつ加え、37 で 1 時間インキュベートし、PBS-T で 5 回洗浄した。合成基質である *p*-phenyldiamine 2 mg を 5 mL のクエン酸バッファーに加え、さらに  $\text{H}_2\text{O}_2$  を 0.006% 加えたものを、各ウェルに 100  $\mu$ L ずつ入れ、約 3-5 分間発色させ、2.5 mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液を 50  $\mu$ L 添加して酵素反応を停止させた後、490 nm の吸光度を測定した。

総 IgE、IgG 及び IgA の測定

血清に含まれる総 IgE、IgG、IgA 及び糞便中に含まれる IgA 量を、それぞれ Mouse IgE Ready-SET-Go、Mouse IgG Ready-SET-Go 及び Mouse IgA Ready-SET-Go によるサンドイッチ法によって行った。キットの説明書に従い、450 nm の吸光度を測定した。

## 4. 研究成果

### (1) スクリーニング評価

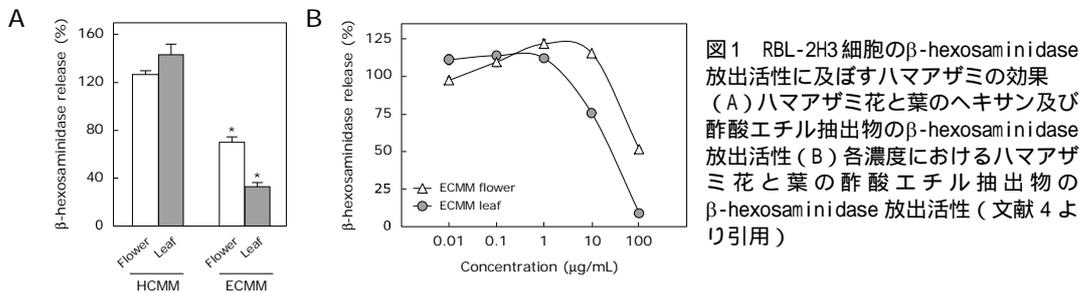


図1 RBL-2H3細胞のβ-hexosaminidase 放出活性に及ぼすハマアザミの効果 (A)ハマアザミ花と葉のヘキササン及び酢酸エチル抽出物のβ-hexosaminidase 放出活性 (B)各濃度におけるハマアザミ花と葉の酢酸エチル抽出物のβ-hexosaminidase 放出活性(文献4より引用)

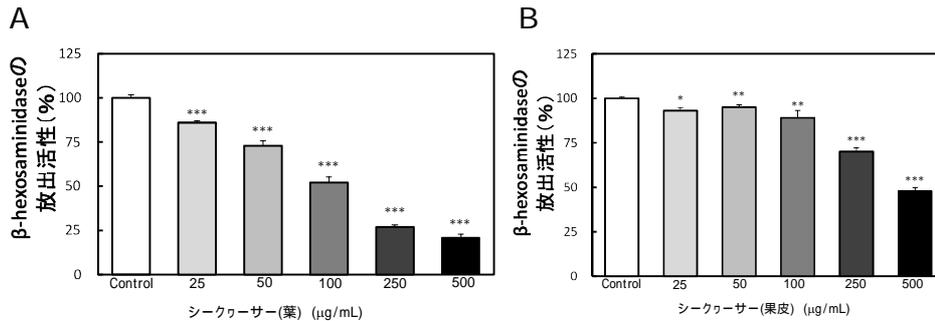


図2 RBL-2H3細胞のβ-hexosaminidase 放出活性に及ぼす *C. depressa* の葉 (A) 及び果皮 (B) の効果

スクリーニング評価は抗アレルギー作用を評価する上で広く用いられている<sup>2-3)</sup>、RBL-2H3細胞から放出されるβ-hexosaminidaseを脱顆粒の指標として高知県内に自生する約200種類の植物候補を評価した。結果、数種類の植物候補を見出した。中でも、*Cirsium maritimum* Makino (*C. maritimum* Makino)と *Citrus depressa* Hayata (*C. depressa* Hayata)に強い脱顆粒抑制効果が認められた。それゆえ、*C. maritimum* Makinoと *C. depressa* Hayataに焦点を当て研究を進めることとした。

(2) 抗原/IgE依存性アレルギー反応における *Cirsium maritimum* Makino 及び *Citrus depressa* Hayata の影響

*C. maritimum* Makino を花と葉に分け、ヘキササンと酢酸エチル抽出を行ったところ、ヘキササン抽出物よりも酢酸エチル抽出物で、酢酸エチル抽出した *C. maritimum* Makino 花よりも酢酸エチル抽出した *C. maritimum* Makino (ECMM) で強いβ-hexosaminidase 抑制効果を示した(図1)<sup>4)</sup>。また、*C. depressa* Hayata においては、葉と果皮に分け、80%メタノール抽出を行ったところ、葉、果皮ともにβ-hexosaminidase 放出を抑制し、その抑制強度は果皮よりも葉の方が強く認められた(図2)。

*in vivo*においてこれらの効果を明らかにするため、抗原特異IgEで感作したマウスに5%のECMMをマウスに経口投与した後、PCA反応により評価した。結果、DNP特異的IgEで感作され、抗原を静脈投与されたマウスは、耳介反応部位における血管透過性の亢進や毛細血管の拡張によって、顕著に耳介厚及び耳介へのEvans blue色素の拡散及び増加を示した。一方、ECMMを投与したマウスは、IgE感作/抗原曝露マウスと比較し、耳介厚及び耳介へのEvans blue色素の抑制が認められた(図2)<sup>4)</sup>。これらの結果は、*in vitro*及び*in vivo*においてECMMが抗原/IgE依存性アレルギー反応を抑制できることを示唆している。

また、*C. depressa* Hayata において、葉及び果皮を投与したマウスは、IgE感作/抗原曝露マウスと比較し、ともに耳介へのEvans blue色素の抑制が認められた。一方、葉と果皮の間には有意な差は認められなかった。これらの結果は、*in vitro*及び*in vivo*において *C. depressa* Hayata の葉、果皮が抗原/IgE依存性アレルギー反応を抑制できることを示唆している。

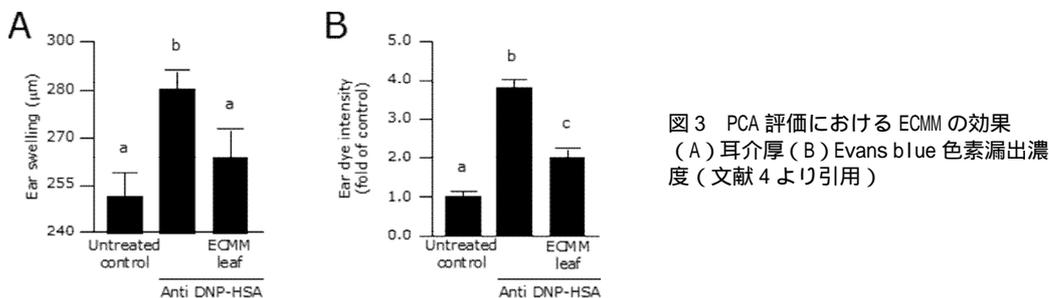


図3 PCA評価におけるECMMの効果 (A)耳介厚 (B)Evans blue色素漏出濃度(文献4より引用)

(3) *Cirsium maritimum* Makino 及び *Citrus depressa* Hayata のアレルギー反応抑制メカニズム

ECMMの脱顆粒抑制メカニズムを明らかにするため、ECMMがRBL-2H3細胞の $[Ca^{2+}]_i$ に及ぼす影響を調べた。結果、ECMMの $[Ca^{2+}]_i$ は、抗原刺激単独と比較し、有意な低下が認められ、かつ濃度依存的に抑制された<sup>4)</sup>。これらの結果は、ECMMのβ-hexosaminidase放出阻害メカニズム

が、 $[Ca^{2+}]_i$  濃度上昇の抑制によるものであることを明らかにした。一方、マスト細胞の脱顆粒には、 $Ca^{2+}$ 依存性経路と  $Ca^{2+}$ 非依存性経路の2つの経路が存在することが報告されている<sup>5)</sup>。それゆえ、 $Ca^{2+}$ 依存性経路に加え、 $Ca^{2+}$ 非依存性経路のどの段階で ECMM が脱顆粒を抑制しているのかについて脱顆粒のシグナリング制御について検討した。結果、ECMM は PI3Kp85/p55 及び PLC $\gamma$ 2 のリン酸化誘導を下方制御する傾向がみられ、特に Akt のリン酸化誘導を有意に下方制御した。これらのことから、ECMM は、脱顆粒シグナリングにおける  $Ca^{2+}$ 依存性経路と  $Ca^{2+}$ 非依存性経路の両方を阻害することで、脱顆粒を抑制していることが示唆された。一方で、ECMM は Syk および PLC $\gamma$ 1 のリン酸化誘導を下方制御しなかった。このことから、ハマアザミ葉抽出物は Syk より下流のシグナルに影響を与えていることが推察された。

*C. depressa* Hayata では、葉と果皮の  $[Ca^{2+}]_i$  は、抗原刺激単独と比較し、有意な低下が認められ、かつ濃度依存的に抑制された。これらの結果は、ECMM の  $\beta$ -hexosaminidase 放出阻害メカニズムが、 $[Ca^{2+}]_i$  濃度上昇の抑制によるものであることを明らかにした。

#### (4) *Cirsium maritimum* Makino の抗アレルギー成分

*in vitro* 及び *in vivo* において ECMM が抗原/IgE 依存性のアレルギー反応を抑制することが明らかになったことから、ECMM から抗アレルギー活性成分を単離、同定を試みた。ECMM の画分分離は、シリカゲルクロマトグラフィーにより行い、0、5-1、5-2、10、20、30、50、100% アセトン画分及び 100% メタノール画分の計 9 画分の試料を採取し、それぞれの脱顆粒放出活性を評価した。結果、最も強い阻害効果を示した 30% アセトン画分を、さらに  $\beta$ -hexosaminidase 放出活性を指標として逆相 HPLC で精製した。得られた活性画分の  $^1H$  及び  $^{13}C$ -NMR スペクトルを既知化合物と比較し、フラボノイドの1種のシルシマリチンであることを同定した(図4)<sup>4)</sup>。

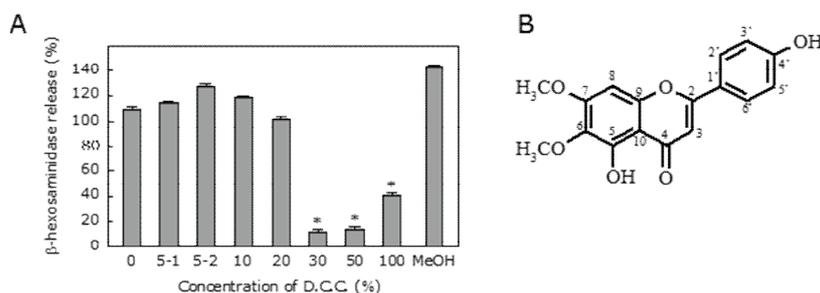


図4 ECMM の抗アレルギー活性成分  
(A) 分画資料の  $\beta$ -hexosaminidase 放出活性 (B) シルシマリチンの化学構造 (文献4より引用)

#### (5) マウスの免疫調節機能における ECMM の影響

ECMM のマスト細胞における抗アレルギー作用に加え、IgE 等の抗体を産生する B 細胞に注目した。そこで、ECMM がマウスの抗体産生能に与える影響を明らかにするため、ECMM の継続投与が卵白リゾチーム (LHE) とアルミニウムアジュバントで免疫した 型アレルギーモデルマウスの抗体産生に及ぼす影響を検討した<sup>6)</sup>。1% の ECMM を添加した飼料を 4 週間摂取させた LHE 感作マウスの血清及び糞中の各種抗体産生を調べたところ、ECMM は、感作マウス血清中の LHE 特異 IgE、IgG1 や IgG2a、また、抗原に非特異的な総 IgE、IgA、IgG に影響しないが、抗原感作によって誘導される特異的な IgA の産生を促進することが明らかとなった、また、感作マウスの糞中では、ECMM の継続摂取による総 IgA に影響しないが、血清同様、LHE 特異 IgA の産生も促進することが明らかとなった<sup>6)</sup>。これらの結果は、ECMM が血清及び糞中の抗原特異 IgA を増加させ、抗原が体内に侵入した際、IgA 抗体と抗原が結合し、抗原の吸収阻害及び体外への排泄を促進する可能性が高まり、型アレルギーの発症抑制に関与することが示唆された。

表1 ECMM の抗アレルギー活性成分

(A) 分画資料の  $\beta$ -hexosaminidase 放出活性 (B) シルシマリチンの化学構造 (文献6を改)

	Unsensitized	Sensitized	ECMM
Serum			
Specific IgE (A490)	0.08 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.69 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.58 ± 0.05 <sup>b</sup>
Specific IgA (A490)	0.07 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.59 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.66 ± 0.03 <sup>c</sup>
Specific IgG1 (A490)	0.05 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.90 ± 0.02 <sup>b</sup>
Specific IgG2a (A490)	0.04 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.27 ± 0.02 <sup>b</sup>
Total IgE ( $\mu$ g/mL)	15.5 ± 2.8 <sup>a</sup>	48.6 ± 6.3 <sup>b</sup>	44.3 ± 5.3 <sup>b</sup>
Total IgA ( $\mu$ g/mL)	37.4 ± 2.5 <sup>a</sup>	75.0 ± 4.1 <sup>b</sup>	80.0 ± 7.2 <sup>b</sup>
Total IgG ( $\mu$ g/mL)	306.5 ± 33.8 <sup>a</sup>	402.8 ± 27.7 <sup>b</sup>	361.8 ± 29.5 <sup>a,b</sup>
Feces			
Specific IgA (A490)	0.09 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.10 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.04 <sup>b</sup>
Total IgA ( $\mu$ g/g)	60.9 ± 12.9	45.0 ± 13.2	58.0 ± 12.2

Data are presented as the mean  $\pm$  SEM ( $n = 7-10$ ). Means for a variable without a common letter differ,  $p < 0.05$ .

<引用文献>

厚生労働省：厚生科学審議会疾病対策部会リウマチ・アレルギー対策委員会．リウマチ・アレルギー対策委員会報告書（2011）．

Ortega E, Schweitzer-Stenner R, Pecht I: Possible orientational constraints determine secretory signals induced by aggregation of IgE receptors on mast cells, *EMBO J*, **7**: 4101-4109, 1988.

Alexandrakis M, Singh L, Boucher W, Letourneau R, Theofilopoulos P, Theoharides TC: Differential effect of flavonoids on inhibition of secretion and accumulation of secretory granules in rat basophilic leukemia cells, *Int J Exp Biol*, **21**: 379-390, 1999.

Tanaka M, Suzuki M, Takei Y, Okamoto T, Watanabe H: *Cirsium maritimum* Makino inhibits the antigen/IgE-mediated allergic response in vitro and in vivo, *J Agric Food Chem*, **48**: 3865-3871, 2017.

宇井理生：現代化学増刊 34 - 細胞内シグナル伝達 - , p16-104, 東京化学同人, 東京, 1997.

田中 守, 鈴木大進, 竹井悠一郎, 川村真美, 渡邊浩幸：マウスの抗体産生能に及ぼすハマアザミ酢酸エチル抽出物の影響, 日本未病システム学会雑誌, **23**: 23-29, 2017.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

田中 守, 鈴木 大進, 竹井 悠一郎, 吉本好延, 小林 淳, 渡邊 浩幸. 機能性食品による健康増進効果 ハマアザミ (*Cirsium maritimum* Makino) の抗アレルギー効果, *臨床化学*, **47** 巻, 398-405, 2018.

Tanaka M, Suzuki M, Takei Y, Okamoto T, Watanabe H. *Cirsium maritimum* Makino inhibits the antigen/immunoglobulin-E-mediated allergic response *in vitro* and *in vivo*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **65**, 8386-8391, 2017. Doi: org/10.1021/acs.jafc.7b03322

田中 守, 鈴木大進, 竹井悠一郎, 川村真美, 渡邊浩幸. マウスの抗体産生能に及ぼすハマアザミ酢酸エチル抽出物の影響, 日本未病システム学会学会雑誌, **23** 巻, 23-29, 2017.

田中 守, 鈴木大進, 吉本好延, 香西はな, 岡本威明. 3種 *in vitro* 評価系を用いたポリフェノールの抗アレルギー活性評価について, 高知県立大学健康栄養学部研究紀要, **66** 巻, 1-9, 2017.

〔学会発表〕(計 12 件)

岡本威明, 河原林桃子, 柏木愛梨, 田中 守, 垣田浩孝. シークワーサー葉・果皮抽出物によるI型アレルギー抑制機構の解明, 第65回日本家政学会中国・四国支部研究発表会, 2018.

田中 守, 竹井悠一郎, 川村真美, 谷本 佳史, 渡邊 浩幸. カンナデンブンはマウスの腸内環境を整え、腸管バリア機能を強化する, 第72回日本栄養食糧学会大会, 2018.

田中 守, 渡邊浩幸. ハマアザミは抗原/IgE 依存性アレルギー反応を抑制し、抗原特異 IgA を増加させる, 第11回高知大学&高知工科大学&高知県立大学医工連携交流会, 2018.

田中 守, 竹井悠一郎, 川村真美, 渡邊浩幸, 鈴木大進, 岡本威明. ハマアザミ葉の継続摂取は抗原特異 IgA を増加させる, 第64回日本家政学会中国・四国大会, 2017.

Tanaka M, Suzuki M, Takei Y, Okamoto T, Watanabe H. Anti-allergic effects of *Cirsium maritimum* Makino *in vitro* and *in vivo*, *International Conference on Food Science and Nutrition 2017*, 2017.

Okamoto T, Matsumoto K, Kumazawa H, Kawarabayashi M, Tanaka M. Anti-allergic effects of *Shiikuwasha* (*Citrus depressa* Hayata) *in vitro* and *in vivo*, *International Conference on Food Science and Nutrition*, 2017.

田中 守, 鈴木大進, 竹井悠一郎, 川村真美, 渡邊浩幸. *In vitro* 及び *in vivo* における *Cirsium maritimum* Makino の抗アレルギー効果, 第50回日本栄養・食糧学会中国・四国支部大会, 2017.

本威明, 松本琴音, 熊澤遥奈, 河原林桃子, 田中 守. 生体内外におけるシークワーサー葉・果皮抽出物の抗アレルギー効果, 日本家政学会第69回大会, 2017.

田中 守, 川北浩久, 渡邊浩幸. 海洋深層水の抗アレルギー効果, 日本家政学会第69回大会, 2017.

田中 守, 鈴木大進, 竹井悠一郎, 岡本威明, 渡邊浩幸. キク科 *Cirsium maritimum* Makino は IgE 依存性アレルギー反応を抑制する, 第71回 日本栄養・食糧学会大会, 2017.

鈴木大進, 田中 守, 岡本威明, 渡邊浩幸. ハマアザミ (*Cirsium maritimum* Makino) の抗アレルギー活性とその活性物質, 日本農芸化学会 2017 年度大会, 2017.

田中 守, 鈴木大進, 岡本威明, 渡邊浩幸. マウス脾臓リンパ球の抗体産生に及ぼすハマアザミの影響, 第36回食事療法学会, 2017.

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。