

東洋の「食」と看護の「智」(その2) - アレルギーに対する大棗エキスの有用性について -

三橋 陽平¹⁾, 荒舘 忠²⁾, 片桐 達雄³⁾, 金森 昌彦⁴⁾

- 1) 富山大学大学院医学薬学教育部生命・臨床医学専攻放射線基礎医学講座
- 2) 富山大学大学院医学薬学研究部医学部生物学講座
- 3) 富山大学大学院医学薬学研究部薬学部生物学講座
- 4) 富山大学大学院医学薬学研究部人間科学1講座

はじめに

大棗は、棗（ナツメ：*Zizyphus jujuba* Miller var. *inermis* Rehder またはその他の近縁植物であるクロウメモドキ科ナツメ属 *Rhamnaceae*）の果実を起源とする生薬である¹⁾。大棗には、滋養・強壯、鎮静、鎮痛、利尿の補気薬²⁾、抗癌作用³⁻⁷⁾、抗炎症作用^{8, 9)}、抗肥満作用¹⁰⁾、免疫活性化作用¹¹⁾、抗酸化作用¹²⁻¹⁶⁾、肝臓保護作用^{17, 18)}、胃腸保護作用^{19, 20)}、およびマクロファージにおける泡沫細胞化阻害作用²¹⁾、といった多くの作用がある事が報告されている。また、漢方処方において、大棗は、薬力が猛烈な生薬を含む処方に配合され、その性質を緩和すると共に脾胃の損傷を防止し、さらに、味を矯正するために様々な漢方処方に配合されている²²⁾。現在、第15条改正日本薬局方には、医薬品として200品目の生薬が収載されている²⁾が、大棗が使用されている漢方処方製剤は、本邦で用いられている156種類の内、47種類を数える²³⁾。我々は本誌（第12巻2号）にて、東洋の「食」と看護の「智」という視点から、大棗の成分とその効用について概説した²⁴⁾。今回は、特に免疫機構の1つであるI型アレルギーに注目し、そのメカニズムの中で、大棗（エキス）の抗アレルギー作用について、我々の若干の知見を含めてレビューする。

免疫機構とアレルギー

平成23年8月のリウマチ・アレルギー疾患の

疫学調査によると、現在、我が国の全人口の2人に1人が何らかのアレルギー疾患に罹患している事が示されている²⁵⁾。患者の声として「アレルギーに対する医薬品の開発に力を入れて欲しい」、「アレルギーに関する情報を積極的に提供して欲しい」といった内容が主にあり、今後のアレルギー疾患対策について何らかの要望があると答えた者は全体の半数を超える。このように、アレルギー疾患の拡大は、社会的な問題であり、それに対して、東西医学融合という観点からの「医」と「食」、さらに看護の「智」を通した様々な対応策が必要であろう。

人間には疫病から免れるために、非常に精巧な免疫機構が備わっている。免疫機構とは、感染症の原因となる細菌、真菌およびウイルスなどの病原体、あるいは細胞の異常により生じた癌細胞といった非自己物質を排除し、生体を守る機構を指す。免疫機構は大きく自然免疫と獲得免疫の2つに分けることが出来る。さらに獲得免疫は細胞性免疫と体液性免疫に分けられる。細胞性免疫が免疫細胞による非自己への直接攻撃であるのに対し、体液性免疫は、免疫グロブリン（抗体）というタンパク質による抗原無力化のための武器として使用した攻撃（応答）として例えられる。獲得免疫の具体的な作用機序に関する近年の考え方はすでに図示して概説したが²⁶⁾、要約すると以下の通りである。

- ①最初に抗原が侵入する。
- ②樹状細胞等の抗原提示細胞が抗原を取り込む。

- ③抗原提示細胞が取り込んだ抗原を未熟 T 細胞 (Th0) へ抗原提示する.
- ④Th0 細胞が細胞性免疫のヘルパー T 細胞 1 (Th1), または体液性免疫のヘルパー T 細胞 2 (Th2) へ分化する.
- ⑤Th1 細胞は細胞障害性 T 細胞やマクロファージを活性化させ細胞性免疫に関わってくる.
- ⑥Th2 細胞は B 細胞を活性化させ体液性免疫に関わる.
- ⑦活性化された B 細胞が抗原特異的抗体を産生する.
- ⑧抗原特異的抗体が抗原に作用することにより, 抗原は無力化され排除される

以上が獲得免疫の大まかな概要であるが (図 1), 今回焦点を当てている I 型アレルギーは獲得免疫の一種であり, その中でも抗体や補体など血中タンパク質が直接関わる体液性免疫によるものである. I 型アレルギーは, 体表面から体内へ侵入した抗原と免疫グロブリン E (IgE) 抗体との反応によって引き起こされる即時型アレルギーである. これに関係する疾患には, 花粉症, 喘息, アトピー性皮膚炎といった Quality of Life (QOL) に大きな影響を及ぼすものから, アナフィラキシーショックといった生命を脅かす重篤症例に至る様な疾患まで存在し, 多様な臨床像を呈している.

I 型アレルギーが生じる際に中心的な役割を担う免疫担当細胞は, マスト細胞や好塩基球である.

これらの細胞表面には, IgE と結合できる受容体 (FcεRI) があり, 組織上に存在する細胞の FcεRI には, IgE が結合している. また, これらの細胞内には, 抗原を認識した時に必要な, 細胞内顆粒が多く存在している. IgE が結合した FcεRI は, 体内に侵入してきた抗原を認識する「スイッチ」のような役割を持っており, IgE が抗原を認識する事で, 細胞内顆粒の内容物が細胞外に放出される. この応答は, 脱顆粒 (反応) と言われる.

脱顆粒が生じる事により, くしゃみや鼻水などの生理現象が引き起される. これは, 顆粒の内部に蓄えられていたヒスタミンが細胞外に放出され, ヒスタミンが他の細胞に作用を引き起したからである.

I 型アレルギーの研究では, 長い間マスト細胞に焦点が当てられていた. 近年, マスト細胞と同様の細胞膜受容体を持つ細胞として好塩基球が注目されている. 好塩基球は末梢血中白血球の内 0.5% 程度しかない細胞であり, これまでは, マスト細胞と類似の機能を持つものの, 重要性の低い血液循環型マスト細胞と考えられてきた²⁷⁾. しかし, 好塩基球が I 型アレルギー反応に重要なサイトカインであるインターロイキン 4 (IL-4) の主要な産生細胞となることや^{28) 29)}, IgE 依存性の慢性アレルギー炎症を引き起こすことが報告されるようになり³⁰⁾, I 型アレルギー炎症における好塩基球の役割において最近では非常に注目されつつある.

IL-4 は Th0 を Th2 細胞へ分化させる強力な引

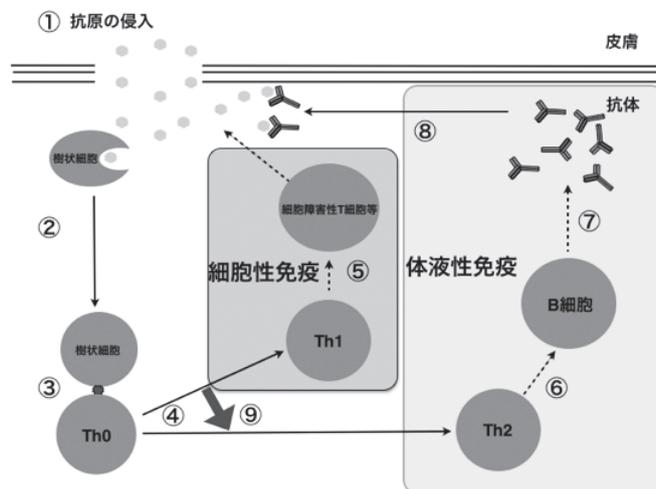


Fig. 1 獲得免疫の概要図

- ①抗原が侵入.
- ②樹状細胞等が抗原を取り込む.
- ③樹状細胞は取り込んだ抗原を Th0 へ抗原提示する.
- ④Th0 が Th1 または Th2 へ分化する.
- ⑤Th1 は細胞障害性 T 細胞等を活性化させ細胞性免疫に関わってくる.
- ⑥Th2 は B 細胞を活性化させ体液性免疫に関わる.
- ⑦⑥で活性化された B 細胞が抗原特異的抗体を産生する.
- ⑧抗原特異的抗体が抗原に作用することにより, 抗原は無力化され排除される.
- ⑨同一抗原から繰り返し刺激を受けると, Th1 から Th2 へとシフトされる.

き金となるサイトカインの一つである。好塩基球は、この IL-4 を産生することにより、より一層 Th0 細胞を Th2 細胞へと分化させてしまう。増加した Th2 細胞は、特定抗原の抗体を産生する B 細胞を増加させることになり、抗体の数も同様に増加させることとなる。そしてこの抗体がまた好塩基球・マスト細胞と関連する事により、特定抗原に対する体液性免疫反応を循環させる^{31, 32)}。その結果、免疫機構が過剰反応状態となり、より一層強い臨床症状を呈することになる (図 2)。つまり、I 型アレルギーは、免疫機構が、特定の抗原に対して過剰に反応している状況を示している。

大棗とアレルギー研究

1981 年、八木ら³³⁾は大棗エタノール熱浸エキスから抗アレルギー活性が認められたが、水エキスからはその作用が認められなかったと報告している。

またこのエタノール熱浸エキスで認められた抗アレルギー活性成分は、エキスからの精製・単離および、その構造解析の結果、ethyl α -D-fructofuranoside であることが示された。さらに、IgE 産生を選択的に抑制するかどうかを検討した実験では、その関連化合物である n-pentyl β -D-fructopyranoside が最も良好な結果を示したと報告している³⁴⁾。しかし、ethyl α -D-fructofuranoside は、エタノール熱抽出の過程で生成された二次的産物であり、本来、大棗に含ま

れる成分ではないことが判った。近年の大棗の抗アレルギー作用の研究では、Suresh ら (2013 年)³⁵⁾が、動物モデル (マウス, ラット, モルモット) において、以下の研究結果を報告している。大棗エタノール抽出エキスを体重 1kg あたり 250, 500, 1000 mg になるように経口投与した時、ミルク誘導好塩基球増多症および化合物 48/80 誘導の腸間膜マスト細胞の脱顆粒の著しい抑制、能動および受動的皮膚アナフィラキシー反応の低下、およびヒスタミン同様のアセチルコリン誘導性の気管収縮の阻害作用を確認した。

これらの報告から、大棗には抗アレルギー作用が存在すると想定されるが、いずれもアルコール抽出物由来の効果であった。

我々の研究結果と考察

我々は、脱顆粒反応の研究にもっともよく用いられているラット好塩基球白血病細胞株 (RBL-2H3)³⁶⁻³⁸⁾による *in vitro* 実験を計画し、大棗エキスの脱顆粒抑制効果 (抗アレルギー作用) について調べた。脱顆粒反応は、 β -hexosaminidase 活性にもとづく方法により評価を行った。I 型アレルギーでは、IgE に対する抗原を添加すること (抗原刺激) によってアレルギー反応が引き起こされる。その際に、細胞内顆粒からヒスタミンやセロトニンといった物質が放出される。これらは炎症誘因性を持つ物質であるが、その他にも酵素の一つである β -hexosaminidase が放出される。

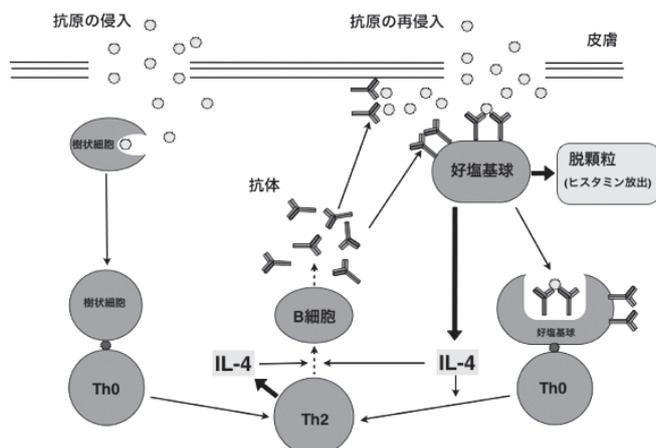


Fig. 2 同一抗原に繰り返し曝される状況における Th2 応答の維持・増強の概略図

樹状細胞から抗原提示された Th0 細胞の一部が Th2 へと分化する。Th2 は IL-4 を産生し、B 細胞を活性化させ抗体産生が生じる。B 細胞からの抗原特異的抗体の産生後、好塩基球の活性化により IL-4 が遊離される。この IL-4 は Th0 細胞を Th2 へと分化させる。一方で、活性化した好塩基球により Th0 細胞へ抗原提示が行われ、さらに Th0 細胞の Th2 へのシフトが助長される。このように好塩基球により Th2 への分化が促進されるため、I 型アレルギーへと移行する。

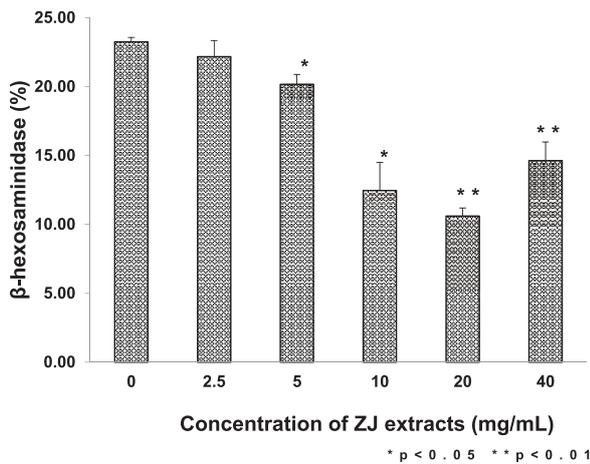


Fig. 3 脱顆粒測定

RBL-2H3細胞を37°C CO25%で24時間incubate後、大棗熱水抽出エキスを2.5, 5, 10, 20, 40mg/mLで添加。同条件で24時間incubate後、細胞内顆粒より放出されるβ-hexosaminidaseを測定し、細胞内顆粒の脱顆粒率を計測した。計算式は以下の通り。β-hexosaminidase release % = AB on Supernatant / (AB on supernatant+AB on cell lysate) × 100。その結果、コントロール群と比べ、大棗熱水抽出エキス濃度5mg/mL以上で有意にβ-hexosaminidaseの放出を抑えた。

β-hexosaminidaseは炎症に直接関わる物質ではないが、炎症誘因性物質と同様、細胞内顆粒に存在し、抗原刺激を受けるとヒスタミンと同時に細胞内顆粒から放出される。そのため、マスト細胞・好塩基球の脱顆粒の指標によく使われる。

我々の実験方法の概略を示す。IgEを感作させたRBL-2H3細胞を用い、大棗エキスを濃度0, 2.5, 5, 10, 20, 40mg/mLとなる様に培地に添加し、抗原刺激による脱顆粒割合(%)を求めた。すなわち培地中に放出、および細胞内に残ったβ-hexosaminidase活性を、それぞれ比色定量することで算定した。

その結果、コントロールの条件と比較して、大棗エキス5mg/mL以上の濃度で脱顆粒(%)が有意に抑制されることが判明した(図3)。この脱顆粒抑制効果が、RBL-2H3細胞に対する大棗エキスの細胞毒性作用、あるいは高浸透圧での悪影響によるものかどうかを比較検討するために、各濃度の大棗エキスおよび高浸透圧溶液(40mg/mLマンニトール)で処理した細胞生存率(%)を調べた。その結果、高浸透圧溶液では細胞毒性

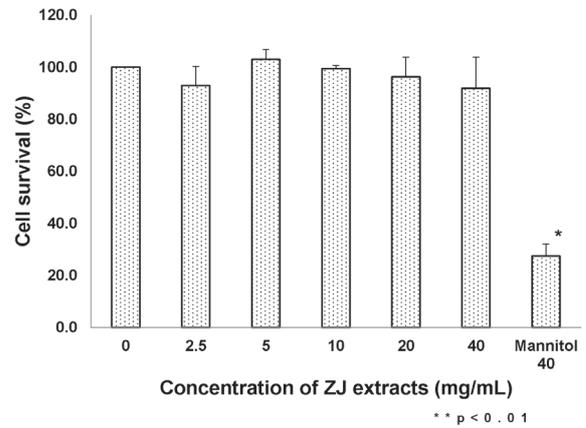


Fig. 4 細胞傷害測定

CCK8により大棗熱水抽出エキスの細胞傷害性を測定した。コントロール群と比べ、全ての濃度において、RBL-2H3細胞に対する細胞傷害性は見られなかった。

がみられたのにも関わらず、大棗エキスに関しては全ての濃度においてその影響はなかった(図4)。つまり、大棗エキスには、細胞そのものには悪影響を及ぼさずに、脱顆粒を抑える効果が示唆された。このように、実験研究からは大棗の熱水抽出エキスにおいて、抗アレルギー効果が期待できる知見が得られたのである。しかし、その効果がエタノール熱抽出におけるような二次的産物に由来するの否かの検討はできていない。

大棗には脂溶性のトリテルペノイドやフラボノイドから水溶性ビタミン類、さらにプリン誘導体であるcyclic adenosine monophosphate (cAMP)など、大棗には様々な成分が含まれていることが報告されているが²⁴⁾、今回我々が使用している大棗エキスは最高90°C程度の加熱濃縮された熱水抽出エキスという商品サンプルである。従って、その含有成分のほとんどは水溶性物質であり、過去に示された脂溶性物質³⁴⁾とは異なる可能性も十分にあると考えられる。しかし、残念ながら現在までのところ具体的な有効成分の特定には至っておらず、その解明のためには、さらなる研究が必要である。また、今回の研究は*in vitro*に留まっており、生体における効能を示す用量を検討する上でも、今後*in vivo*での検討も必須である。

まとめ

大棗は古くから漢方薬などとして、人々に食されてきた。抗不安作用、抗炎症作用、抗腫瘍作用、といった数多くの研究成果が報告されてきたが、今後抗アレルギー作用においても研究が進み、数多くの研究成果が出る事が期待される。そして、それらの研究成果が社会に還元される事を期待したい。

謝 辞

本総説を執筆するに当たり、大棗エキスの供与ならびに棗の商品サンプルをご提供頂きました(株)シーロード、棗の里農産の海道洋子様へ深謝します。また本研究にご協力頂きました故宮原龍郎薬学博士へ深謝します。また本研究の一部は北陸産業活性化センター、R&D 推進・研究助成によるものです。

参考文献

- 1) 富山県薬剤師会：和漢薬ハンドブック。富山県薬剤師会編集。146, 富山県薬剤師会。富山, 1992.
- 2) 御影雅幸, 木村正幸：伝統医薬学・生薬学。50-65&159. 南江堂。東京, 2009.
- 3) Vahedi F, Najafi MF, Bozari K: Evaluation of inhibitory effect and apoptosis induction of *Ziziphus jujube* on tumor cell lines, an in vitro preliminary study. *Cytotechnology* 56 : 105-111, 2008.
- 4) Huang XD, Kojima-Yuasa A, Norikura T, et al: Mechanism of the anti-cancer activity of *Ziziphus jujuba* in HepG2 cells. *Am J Chinese Med* 35 : 517-532, 2007.
- 5) Plastina P, Bonofiglio D, Vizza D, et al: Identification of bioactive constituents of *Ziziphus jujube* fruit extracts exerting antiproliferative and apoptotic effects in human breast cancer cells. *J Ethnopharmacol* 140 : 325-332, 2012.
- 6) Hung CF, Hsu BY, Chang SC, et al: Antiproliferation of melanoma cells by polysaccharide isolated from *Ziziphus jujuba*. *Nutrition* 28 : 98-105, 2012.
- 7) Choi SH, Ahn JB, Kim HJ, et al: Changes in free amino acid, protein, and flavonoid content in jujube (*Ziziphus jujube*) fruit during eight stages of growth and antioxidative and cancer cell inhibitory effects by extracts. *J Agric Food Chem* 60 : 10245-10255, 2012.
- 8) Yu L, Jiang BP, Luo D, et al: Bioactive components in the fruits of *Ziziphus jujuba* Mill. Against the inflammatory irritant action of Euphorbia plants. *Phytomedicine* 19 : 239-244, 2012.
- 9) Goyal R, Sharma PL, Singh M: Possible attenuation of nitric oxide expression in anti-inflammatory effect of *Ziziphus jujuba* in rat. *J Nat Med* 65 : 514-518, 2011.
- 10) Kubota H, Morii R, Kojima-Yuasa A, et al: Effect of *Ziziphus jujuba* extract on the inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *Am J Chinese Med* 37 : 597-608, 2009.
- 11) Li J, Shan L, Liu Y, et al: Screening of a functional polysaccharide from *Ziziphus jujuba* cv. Jinsixiaozao and its property. *Int J Biol Macromol* 49 : 255-259, 2011.
- 12) Li JW, Ding SD, Ding XL: Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochem* 40 : 3607-3613, 2005.
- 13) Li J, Liu Y, Fan L, et al: Antioxidant activities of polysaccharides from the fruiting bodies of *Ziziphus jujuba* cv. Jinsixiaozao. *Carbohydr Polym* 84 : 390-394, 2011.
- 14) Xue Z, Feng W, Cao J, et al: Antioxidant activity and total phenolic contents in peel and pulp of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruits. *J Food Biochem* 33 : 613-629, 2009.
- 15) Sun YF, Liang ZS, Shan CJ, et al: Comprehensive evaluation of natural antioxidants and antioxidant potentials in *Ziziphus jujuba* Mill. var. spinosa (Bunge) Hu ex

- H. F. Chou fruits based on geographical origin by TOPSIS method. *Food Chem* 124 : 1612–1619, 2011.
- 16) Wang BN, Liu HF, Zheng JB, et al: Distribution of phenolic acids in different tissues of jujube and their antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 59 : 1288–1292, 2011.
- 17) Wang D, Zhao Y, Jiao Y, et al: Antioxidative and hepatoprotective effects of the polysaccharides from *Zizyphus jujube* cv. Shaanbeitanzao. *Carbohydr Polym* 88 : 1453–1459, 2012.
- 18) Shen X, Tang Y, Yang R, et al: The protective effect of *Zizyphus jujube* fruit on carbon tetrachloride-induced hepatic injury in mice by anti-oxidative activities. *J Ethnopharmacol* 122 : 555–560, 2009.
- 19) Huang YL, Yen GC, Sheu F, et al: Effects of water soluble carbohydrate concentrate from Chinese jujube on different intestinal and fecal indices. *J Agric Food Chem* 56 : 1734–1739, 2008.
- 20) Wang B: Chemical characterization and ameliorating effect of polysaccharide from Chinese jujube on intestine oxidative injury by ischemia and reperfusion. *Int J Biol Macromol* 48 : 386–391, 2011.
- 21) Fujiwara Y, Hayashida A, Tsurushima K, et al: Triterpenoids isolated from *Zizyphus jujuba* inhibit foam cell formation in macrophages. *J Agric Food Chem* 59 : 4544–4552, 2011.
- 22) 神戸中医学研究会編集: 中医臨床のための中薬学, 394–395, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2006.
- 23) 浦部晶夫, 島田和幸, 河合眞一編集: 今日の治療薬, 1059–1095 南江堂, 東京, 2012.
- 24) 西田有希, 金森昌彦, 畑島郁ほか: 東洋の「食」と看護の「智」(その1) –大棗(タイソウ)の成分とその効用について–. 富山大学看護学会誌 12 : 59–65, 2012.
- 25) 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. 厚生労働省, 2011.
- 26) 三橋陽平, 蜂谷美礼, 片桐達雄ほか: 免疫応答機構における好塩基球の新たな地位と好塩基球シグナル伝達における Swiprosin-1 研究. *Toyama Medical J* 25 : 54–60, 2014.
- 27) Karasuyama H, Mukai K, Obata K, et al: Nonredundant roles of basophils in immunity. *Annu Rev Immunol* 29 : 45–69, 2011.
- 28) Sokol C, Barton G, Farr A, et al: A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses. *Nat Immunol* 9 : 310–318, 2008.
- 29) Sawaguchi M, Tanaka S, Nakatani Y, et al: Role of mast cells and basophils in IgE responses and in allergic airway hyperresponsiveness. *J Immunol* 188 : 1809–1818, 2012.
- 30) Obata K, Mukai K, Tsujimura Y, et al: Basophils are essential initiators of a novel type of chronic allergic inflammation. *Blood* 110 : 913–920, 2007.
- 31) 中野信浩: 抗原提示細胞としての機能をもつマスト細胞と好塩基球. *化学と生物* 49 : 224–26, 2011.
- 32) Otsuka A, Nkajima S, Kubo M, et al: Basophils are required for the induction of Th2 immunity to haptens and peptide antigens. *Nat commu* 4 : 1739, 2013.
- 33) 八木晟, 江田昭英, 稲垣直樹ほか: 大棗の成分研究(第4報) 大棗エタノールエキスより抗アレルギー成分. Ethyl α -D-Fructofuranoside の単離. *薬学雑誌* 101 : 700–707, 1981.
- 34) 岡村信幸, 八木晟: 漢薬大棗の活性成分について –薬物宝庫の天然物–. 福山大学薬学部研究年報 3 : 75–91, 1985.
- 35) Suresh N, Sushant B, Priyank S, et al: Evaluation of anti-allergic and anti-anaphylactic activity of ethanolic extract of *Zizyphus jujube* fruits in rodents. *Rev Bras Farmacogn* 23 : 811–818, 2013.
- 36) Segal DM, Sharrow SO, Jones JF, et al: Fc (IgG) receptors on rat basophilic leukemia cells. *J Immunol* 126 : 138–145, 1981.
- 37) Morita Y, Siraganian RP: Inhibition of IgE-mediated histamine release from rat basophilic

leukemia cells and rat mast cells by inhibitors of transmethylation. *J Immunol* 127 : 1339-1344, 1981.

- 38) McGivney A, Crews FT, Hirata F, et al: Rat basophilic leukemia cell lines defective in phospholipid methyl transferase enzymes, Ca^{2+} influx, and histamine release: reconstitution by hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 78 : 6176-6180, 1981.