

Salacia reticulata のマウス接触皮膚炎抑制作用

芳野 恭士*¹、宮本 潤基¹、間部 涼祐¹、近藤 郁美子¹、善養寺 優香¹、
金高 隆²、古賀 邦正³

¹沼津工業高等専門学校 物質工学科 (〒410-8501 沼津市大岡 3600)

²株式会社盛光 (〒411-0931 静岡県駿東郡長泉町東野 50-6)

³東海大学 開発工学部 (〒410-0395 沼津市西野 317)

*k-yoshino@numazu-ct.ac.jp

Preventive Effects of *Salacia reticulata* on Mouse Contact Dermatitis

Kyoji YOSHINO, Junki MIYAMOTO, Ryosuke MANABE, Fumiko KONDO,
Yuka ZEN-YOJI, Takashi KANETAKA, Kunimasa KOGA

¹Numazu College of Technology (3600 Ooka, Numazu, Shizuoka 410-8501, Japan)

²Seiko Co., Ltd (50-6 Higashino, Nagaizumi, Shizuoka 411-0931, Japan)

³Tokai University (317 Nishino, Numazu, Shizuoka 410-0395, Japan)

(Received July 3, 2012; Accepted July 31, 2012)

Abstract

In this study, the preventive effects of water extracts prepared from the leaves and stems of *Salacia reticulata* on mouse contact dermatitis were investigated. The oral administration of the extracts of *S. reticulata* to mice at doses of 200 and 400 mg/kg body weight significantly inhibited mouse contact dermatitis. The increases of the levels of some cytokines, such as interleukin-12 and γ -interferon, in sera and ears of mice with contact dermatitis were suppressed by the oral administration of these extracts of *S. reticulata*. The percutaneous administration of these extracts at doses of 0.2 mg/ear also affected the preventive effects on mouse contact dermatitis. Some polyphenolic components, such as mangiferin, (-)-epigallocatechin, and (-)-epicatechin, inhibited mouse contact dermatitis and these compounds may have contributed to the effects of the extracts prepared from the leaves and stems of *Salacia reticulata*.

Key words: *Salacia reticulata*, Mouse, Contact dermatitis, Polyphenols

1. 緒言

サラシア属植物は Hippocrateaceae 科のつる性の植物であり、東南アジアやブラジル等の亜熱帯から熱帯地域に広く分布している。多くの種が知られ、インドやスリランカでは古くから天然薬物としてその根あるいは幹のエキスが、日常の食事の

際に糖尿病の予防のために飲用されるとともに、その初期治療に使用されてきた[1,2]。しかし、根や幹を過剰採取することで植物が傷み再生が遅くなることから、サラシア属植物は産地でも希少植物となりつつある。そこで、我々はこれまでに、根や幹に比較して再生の早い葉に着目し、サラシ

ア属植物である *Salacia reticulata* や *S. oblonga* の葉や幹に関する血糖上昇抑制作用などの抗糖尿病作用について検討し報告してきた[3,4]。近年、*S. reticulata* の葉や *S. oblonga* の根に、糖尿病の予防作用以外にリウマチ性関節炎抑制作用や抗炎症作用があることが報告されている[5,6]。リウマチ性関節炎は、Gell-Coombs のアレルギー分類法[7]ではⅢ型（アルサス型）のアレルギーとされているが、強い炎症を伴う遅延型の反応という点ではⅣ型アレルギーとも関連が深いものと考えられる[8]。Ⅳ型アレルギーは、細胞性免疫応答によって起こる遅延型の反応であり、1型ヘルパーT（Th1）細胞が産生する前炎症性サイトカインによるマクロファージ等の免疫細胞の活性化が原因となって起こる。活性化されたマクロファージ等の食細胞は、アレルギーを破壊するために活性酸素を産生するが、その漏出により周囲の正常細胞が傷害を受けて炎症が惹起されるものと考えられる。症状の例としては、結核病変、移植拒絶反応、うるしや化学薬品で起こる接触皮膚炎等がある。近年、これらアレルギー疾患の患者数が増加する傾向にあり、社会問題となっている[9,10]。そこで本研究では、*S. reticulata* と *S. oblonga* の葉または幹の水抽出物について、そのマウス接触皮膚炎抑制作用を検討するとともに、その作用に寄与する含有成分の検討を行った。

2. 実験方法

2.1 材料および実験動物

接触皮膚炎の感作試薬として、和光純薬工業社製オキサゾロン（4-エトキシメチレン-2-フェニル-2-オキサゾリン-5-オン）を使用した。サラシアの試料としては、盛光社供与のインド産 *S. oblonga* の葉およびスリランカ産 *S. reticulata* の葉と幹の乾燥物を、フードミルを使って微粉碎したものをを用いた。これらの微粉碎物に9倍量の水を加え、50℃、1時間振盪抽出した。その後、10℃、5000 rpm

で20分間遠心分離を行い、その上清を凍結乾燥することで水抽出物を得た。実験動物としては、日本 SLC 社より購入した4週齢の雄性 ICR 系マウスを用いた。マウスは、12時間間隔で照明が点灯、消灯する部屋で飼育し、実験中は水道水と PMI Nutrition International 社製実験動物用標準飼料 Rodent Lab Diet EQ 5L37 を自由に摂取させた。実験動物の取り扱いは、文部科学省「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」に準じた「沼津工業高等専門学校における動物実験に関する指針」の規定に従った。

2.2 マウス接触皮膚炎モデルを用いたその抑制作用の測定

マウス接触皮膚炎のモデルとしては、オキサゾロン誘発マウス耳介浮腫反応[11]を用いた。マウスの腹部を剃毛し、0.5%(w/v)オキサゾロン/エタノール溶液 0.1 mL を塗布することで初期感作を行った。初期感作の際にエタノールのみを塗布したマウスを、健常群とした。5日後に、マウスの右耳介の表裏に 0.5%(w/v)オキサゾロン/アセトン溶液を合計 20 μL 塗布し、チャレンジを行った。チャレンジの24時間後、ジエチルエーテル麻酔下にマウスの両耳介を直径 5.0 mm の円形にパンチで打ち抜き、右と左の重量（それぞれ WR、WL とする）を測定して次式により耳介肥厚率を算出した。

$$\text{耳介肥厚率 (\%)} = \frac{\{(\text{WR}_{\text{試料}} - \text{WL}_{\text{試料}}) / \text{WL}_{\text{試料}}\}}{\{(\text{WR}_{\text{アレルギー}} - \text{WL}_{\text{アレルギー}}) / \text{WL}_{\text{アレルギー}}\}} \times 100.$$

また、マウスの心臓より採血を行い、3000 rpm、10分間遠心分離して、上清の血清を得た。

試料を経口投与する場合には、*S. oblonga* の葉水抽出物、*S. reticulata* の葉および幹水抽出物を 100、200 または 400 mg/kg 体重の投与量で、Sigma 社製マンギフェリン（純度 98.0%）を 0.05 または 4.0 mg/kg 体重の投与量で、和光純薬工業社製(-)-エピカテキン（EC）（純度 98.0%）と和光純薬工業社製(-)-エピガロカテキン（EGC）（純度 98.0%）

をそれぞれ 0.46 mg/kg 体重と 0.62 mg/kg 体重の投与量で用いた。フラボノイドのマンギフェリンおよびカテキン類の EC、EGC は、*S. reticulata* の葉および幹水抽出物中のポリフェノール成分として知られている[12]。Figure 1 に、これらの化合物の化学構造を示す。各試料は、それぞれの投与量となるように 0.5%トラガカントゴム水溶液 500 μL に懸濁し、チャレンジの 1 時間前に経口投与した。0.5%トラガカントゴム水溶液 500 μL のみを投与した群をアレルギー群とした。抗アレルギー作用を示す陽性対照としては、既知のステロイド性抗炎症剤であるヒドロコチゾンを 100 mg/kg 体重の投与量で用いた。各群のマウスは 5 または 8 匹とした。

試料を経皮投与する場合には、*S. reticulata* の葉および幹水抽出物を 0.05, 0.1 または 0.2 mg/耳介

の投与量で、マンギフェリンを 0.05 または 4.0 μg /耳介の投与量で、EC と EGC をそれぞれ 0.46 μg /耳介と 0.62 μg /耳介の投与量で用いた。各試料は、それぞれの投与量となるようにチャレンジ溶液に溶解し、マウス耳介に塗布した。試料を加えないチャレンジ溶液のみを塗布した群をアレルギー群とした。陽性対照として、ヒドロコチゾンを 0.05 mg/耳介の投与量で用いた。各群のマウスは 6 匹とした。

経口投与および経皮投与に用いた *S. oblonga* の葉水抽出物、*S. reticulata* の葉および幹水抽出物の投与量は、既報の茶抽出物のマウス IV 型アレルギー抑制作用の研究で用いられた投与量を参考に選択した[13,14]。

2. 3 IV型アレルギーマウスの血清および耳介中のサイトカイン量の測定

S. reticulata の葉および幹水抽出物を経口投与あるいは経皮投与した接触皮膚炎発症マウスについて、その右耳介の 0.5%(w/v)ホモジネートを用いて 0.04M リン酸緩衝液 (pH7.4) を用いて調製し、4800 rpm、15 分、4°C で遠心分離し上清を得た。マウスの血清および右耳介ホモジネート上清について、IV 型アレルギー反応に関連する前炎症性サイトカインとして、インターリューキン-12 (IL-12) および γ -インターフェロン (γ -IFN) の濃度を、それぞれ eBiosource 社製 Mouse IL-12 Platinum ELISA KIT および eBiosource 社製 Mouse IFN- γ Instant ELISA KIT を用いて、ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) 法により測定した。

2. 4 統計処理

実験データは、平均値 \pm 標準誤差 (SEM) で表した。実験群間の平均値の差については、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) で解析し、続けて Tukey の多重比較法を用いて検定した。 $p < 0.05$ を統計学的に有意であるとした。

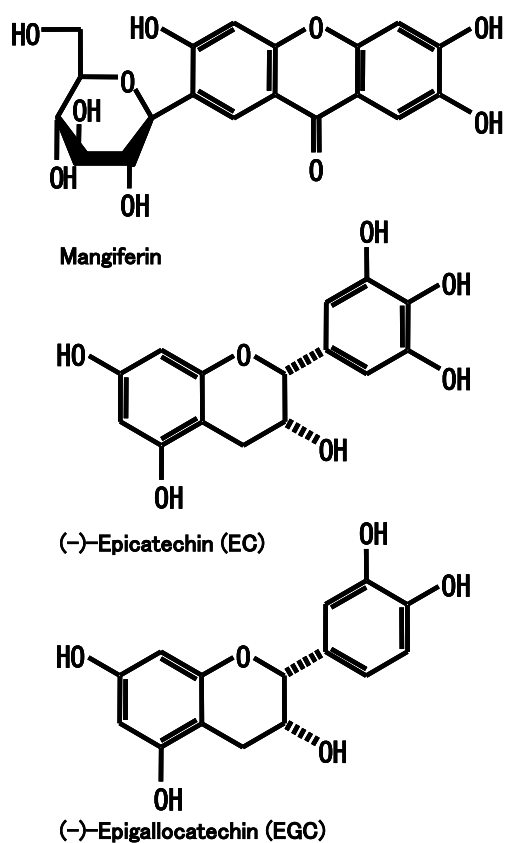


Figure 1 Chemical structures of mangiferin, (-)-epicatechin, and (-)-epigallocatechin.

3. 実験結果

3. 1 *S. oblonga* の葉および *S. reticulata* の葉と幹の水抽出物の経口投与によるマウス接触皮膚炎抑制作用

S. oblonga の葉および *S. reticulata* の葉と幹の水抽出物について、経口投与によるマウス接触皮膚炎抑制作用を測定した結果を Figure 2 に示す。アレルギーで初期感作を行わなかった健常群では耳介の浮腫は認められなかった。*S. oblonga* の葉および *S. reticulata* の葉と幹の水抽出物をマウスに経口投与した場合、いずれの試料においても投与量に依存した接触皮膚炎抑制作用が見られ、特に 200 および 400 mg/kg 体重の投与量でアレルギー群に比較して有意な効果が認められた。これら

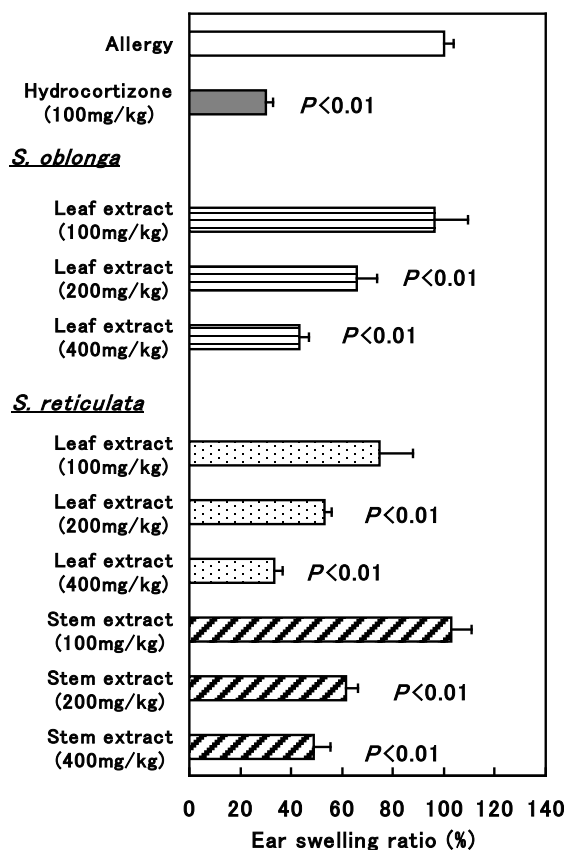


Figure 2 Preventive effects of oral administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia oblonga* and *S. reticulata* against mouse contact dermatitis.

Values are the means \pm SEM. N=5. Significant differences from Allergy group are presented in figure.

の試料の中では、*S. reticulata* の葉水抽出物の 400 mg/kg 体重の投与量で、最も効果が強い傾向が見られた。従って、*S. oblonga* の葉水抽出物および *S. reticulata* の葉と幹の水抽出物の経口摂取が、接触皮膚炎の発症を抑制する効果のあることが示唆された。陽性対照として用いたヒドロコルチゾンには、100 mg/kg 体重の投与量で、*S. oblonga* および *S. reticulata* の水抽出物よりも強い接触皮膚炎抑制作用を示した。

S. reticulata の葉と幹水抽出物を経口投与した場合の、接触皮膚炎発症マウス血清および耳介中の前炎症性サイトカインである、IL-12 と γ -IFN の濃度を測定した結果を Figure 3 と Figure 4 にそれぞれ示す。今回用いた接触皮膚炎モデルマウスの血清および耳介中 IL-12 および γ -IFN 濃度は、アレルギーによる初期感作を行わなかった健常マウスに比較して有意に上昇することが知られており [15]、本実験でも同様の結果が得られた。*S. reticulata* の葉および幹の水抽出物の経口投与は、接触皮膚炎発症マウスの血清および耳介中での IL-12 および γ -IFN 濃度の上昇を投与量依存的に抑制する傾向が見られた。特に有意な効果は、マウス血清 IL-12 濃度では葉の 400 mg/kg 体重、耳介 IL-12 濃度では葉の 100, 200 および 400 mg/kg 体重と幹の 200 および 400 mg/kg 体重、血清 γ -IFN 濃度では葉と幹の 200 および 400 mg/kg 体重、耳介 γ -IFN 濃度では葉と幹の 100, 200 および 400 mg/kg 体重のそれぞれの投与量で認められた。葉と幹水抽出物の経口投与では、接触皮膚炎抑制作用の結果と同様、葉の方が効果が強い傾向が見られた。これらの接触皮膚炎の発症過程において重要な役割を果たすサイトカイン類の産生、分泌の抑制は、*S. reticulata* の葉や幹水抽出物の経口投与による接触皮膚炎抑制作用の一部に寄与しているものと考えられる。

3. 2 *S. reticulata* の葉および幹水抽出物含有成分の経口投与によるマウス接触皮膚炎抑制作用

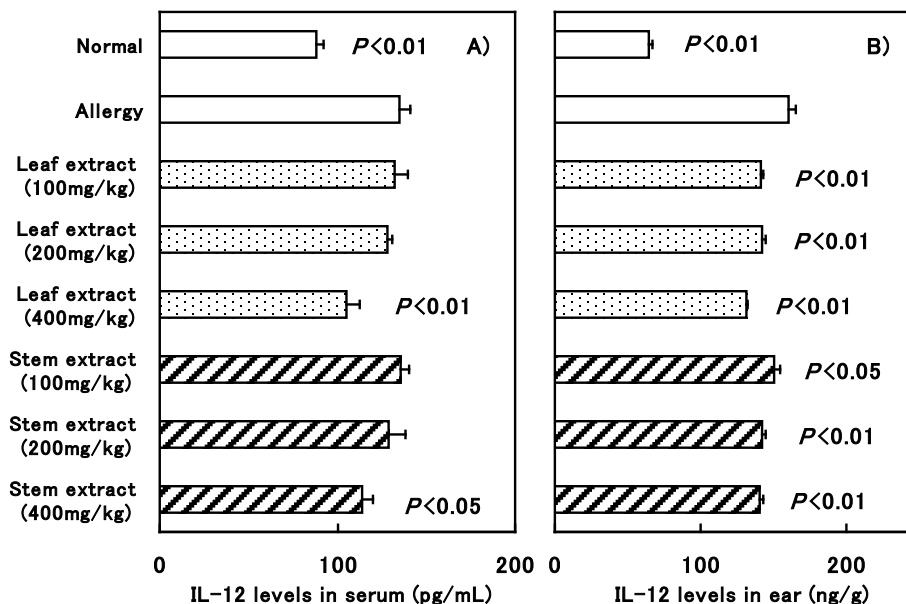


Figure 3 Suppressive effects of oral administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia reticulata* on serum and ear interleukin-12 levels in mice affected by contact dermatitis. A) serum; B) ear. Values are the means \pm SEM. N=5. Significant differences from Allergy group are presented in figures.

S. reticulata の葉および幹水抽出物中のポリフェノール含量は、それぞれ 12.3 および 9.3%(w/w) で、葉の方が幹よりも多い[16]。 *S. reticulata* の葉および幹中のポリフェノール成分としては、フラボノイドであるマンギフェリンあるいはカテキン類である EC および EGC が含まれることがわかっている[12,16]。ただし、幹にはカテキン類は検出されていない。茶カテキン類をはじめとする植物中のポリフェノールには、経口投与により接触皮膚炎を抑制する効果がある[13-15]。そこで、明確な接触皮膚炎抑制作用が見られた *S. reticulata* の葉および幹水抽出物の投与量 400 mg/kg 体重中に含まれる量のマンギフェリンまたはカテキン類について、その効果を検討した。葉水抽出物の 400 mg/kg 体重の中に含まれる量としてマンギフェリンを 0.05 mg/kg 体重、EC を 0.46 mg/kg 体重、EGC を 0.62 mg/kg 体重、また、幹水抽出物の 400 mg/kg 体重の中に含まれる量としてマンギフェリンを 4.0 mg/kg 体重、それぞれをマウスに経口投与した。そのマウス接触皮膚炎抑制作用を測定し

た結果を Figure 5 に示す。葉水抽出物中に含まれる量のマンギフェリンと EC の経口投与では有意な接触皮膚炎抑制作用が見られたが、EGC では有意な作用は見られなかった。マンギフェリンによる抑制率は 28.9%、EC では 15.8% であり、両方を合わせると同実験で葉水抽出物の 400 mg/kg 体重が示した抑制率 46.8% の 95.5% に相当した。また、幹水抽出物中に含まれる量のマンギフェリンでも、抑制率 30.1% と有意な接触皮膚炎抑制作用が見られ、同実験で幹水抽出物の 400 mg/kg 体重が示した抑制率 39.6% の 76.0% に相当した。これらの結果から、*S. reticulata* の葉および幹水抽出物の経口投与が示すマウス接触皮膚炎抑制作用に、そのポリフェノール成分であるマンギフェリンと EC が寄与しているものと考えられた。

3. 3 *S. reticulata* の葉と幹の水抽出物の経皮投与によるマウス接触皮膚炎抑制作用

カテキン類は、経口投与だけでなく経皮投与によっても接触皮膚炎抑制作用を示す[13,14]。そこで、*S. reticulata* の葉と幹の水抽出物について、経

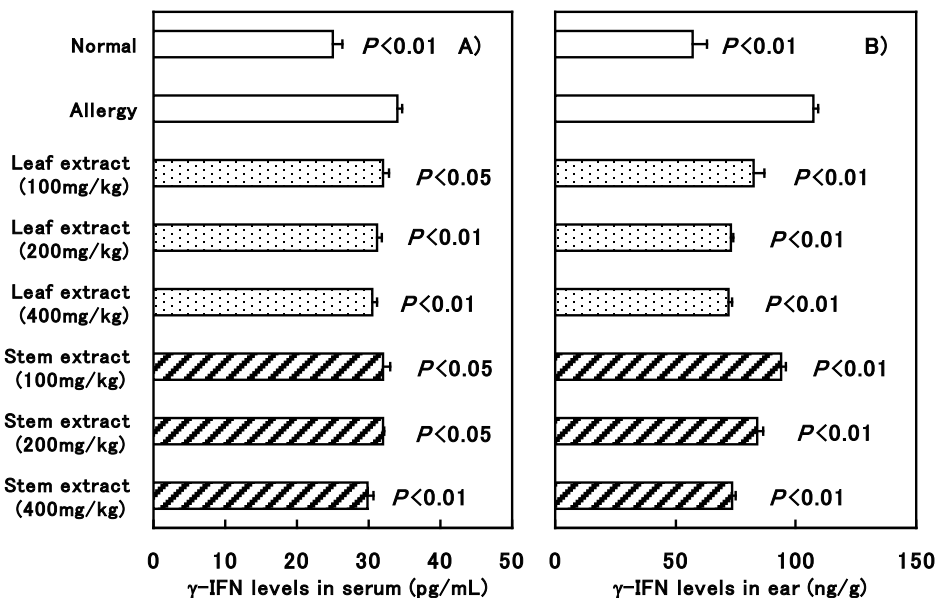


Figure 4 Suppressive effects of oral administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia reticulata* on serum and ear γ -interferon levels in mice affected by contact dermatitis. A) serum; B) ear. Values are the means \pm SEM. N=5. Significant differences from Allergy group are presented in figures.

皮投与によるマウス接触皮膚炎抑制作用を検討した結果を Figure 6 に示す。*S. reticulata* の葉と幹の水抽出物をマウスに経皮投与した場合、いずれの試料においても投与量に依存した接触皮膚炎抑制作用が見られ、特に葉水抽出物の 0.2 mg/耳介、幹水抽出物の 0.1 および 0.2 mg/耳介の投与量でアレルギー群に比較して有意な抑制作用が認められた。経口投与では *S. reticulata* の葉水抽出物の効果が強かったが、経皮投与ではその幹水抽出物の 0.2 mg/耳介の投与量で、最も効果が強い傾向が見られた。これらの結果から、*S. reticulata* の葉と幹の水抽出物は、経口摂取だけでなく皮膚に塗布することで接触皮膚炎の発症を抑制する効果のあることが示唆された。陽性対照として用いたヒドロコーチゾンは、0.05 mg/耳介の投与量で、*S. reticulata* の水抽出物よりも強い接触皮膚炎抑制作用を示した。

S. reticulata の葉と幹水抽出物を経皮投与した場合の、接触皮膚炎発症マウス耳介中の前炎症性サイトカインである、IL-12 と γ -IFN の濃度を測定

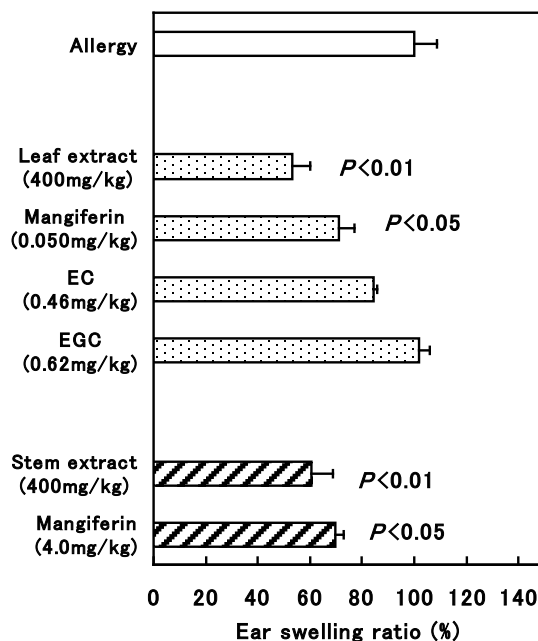


Figure 5 Preventive effects of oral administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia reticulata*, mangiferin, (-)-epicatechin (EC), and (-)-epigallocatechin (EGC) against mouse contact dermatitis. Values are the means \pm SEM. N=8. Significant differences from Allergy group are presented in figure.

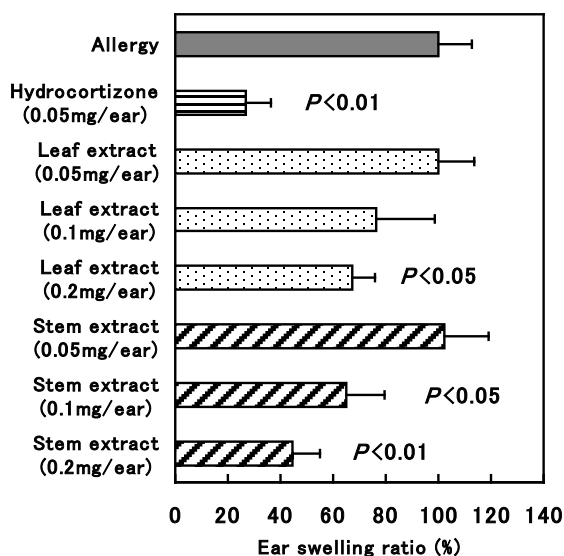


Figure 6 Preventive effects of percutaneous administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia reticulata* against mouse contact dermatitis.

Values are the means \pm SEM. N=6. Significant differences from Allergy group are presented in figure.

した結果を Figure 7 と Figure 8 にそれぞれ示す。*S. reticulata* の葉および幹の水抽出物の経皮投与は、接触皮膚炎発症マウスの耳介中での IL-12 および γ -IFN 濃度の上昇を投与量依存的に抑制する傾向が見られた。マウス耳介 IL-12 濃度では葉と幹水抽出物の 0.05, 0.1 および 0.2 mg/耳介、耳介 γ -IFN 濃度では葉の 0.05 mg/耳介以外の投与量で、それぞれ有意な効果が認められた。葉と幹水抽出物の経皮投与では、接触皮膚炎抑制作用の結果と同様、幹の方が効果が強い傾向が見られた。これらの前炎症性サイトカイン類の産生、分泌の抑制は、*S. reticulata* の葉や幹水抽出物の経皮投与による接触皮膚炎抑制作用の一部に寄与しているものと考えられる。

3. 4 *S. reticulata* の葉および幹水抽出物含有成分の経皮投与によるマウス接触皮膚炎抑制作用

経口投与の項で前述したように、*S. reticulata* の葉および幹水抽出物中のポリフェノール成分としては、フラボノイドのマンギフェリンやカテキ

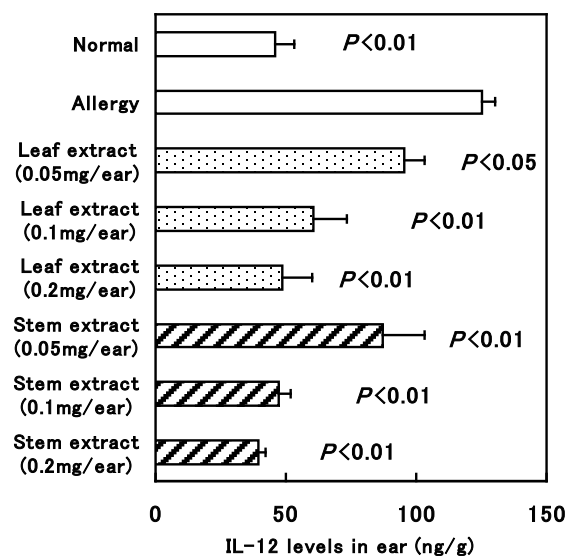


Figure 7 Suppressive effects of percutaneous administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia reticulata* on ear interleukin-12 levels in mice affected by contact dermatitis.

Values are the means \pm SEM. N=6. Significant differences from Allergy group are presented in figure.

ン類の EC および EGC が含まれる。植物中のポリフェノールは、経口投与だけでなく経皮投与によっても接触皮膚炎を抑制する効果がある [13-15]。*S. reticulata* の葉および幹水抽出物のいずれにおいても、投与量 0.2 mg/耳介で有意な接触皮膚炎抑制作用が認められたため、次にそれぞれの 0.4 mg/耳介における作用とその中に含まれる量のマンギフェリンまたはカテキン類の作用を検討した。葉水抽出物の 0.4 mg/耳介の中に含まれる量としてマンギフェリンを 0.05 μ g/耳介、EC を 0.46 μ g/耳介、EGC を 0.62 μ g/耳介、また、幹水抽出物の 0.4 mg/耳介の中に含まれる量としてマンギフェリンを 4.0 μ g/kg 体重で、それぞれをマウスに経皮投与した。そのマウス接触皮膚炎抑制作用を測定した結果を Figure 9 に示す。葉と幹水抽出物を 0.4 mg/耳介の投与量で経皮投与した場合には、それぞれ強い接触皮膚炎抑制作用が見られた。葉水抽出物中に含まれる量のマンギフェリンと EC、EGC のいずれの経皮投与でも、有意な接触皮膚炎抑制

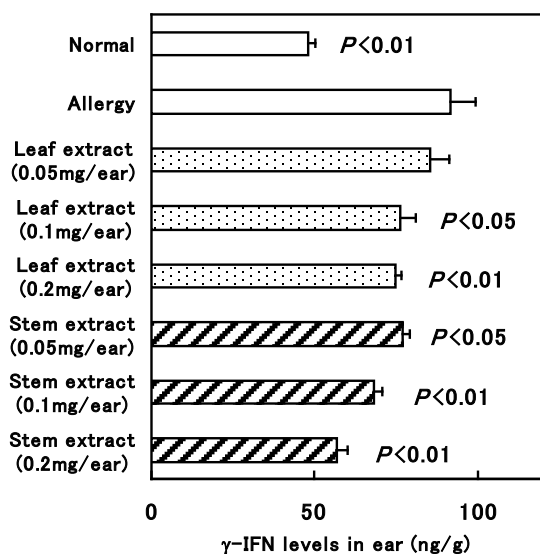


Figure 8 Suppressive effects of percutaneous administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia reticulata* on ear γ -interferon levels in mice affected by contact dermatitis. Values are the means \pm SEM. N=6. Significant differences from Allergy group are presented in figure.

作用が認められた。マンギフェリンによる抑制率は18.5%、ECでは13.0%、EGCでは19.2%であり、合わせると同実験で葉水抽出物の0.4 mg/耳介が示した抑制率58.1%の87.3%に相当した。また、幹水抽出物中に含まれる量のマンギフェリンでも、抑制率53.1%と有意な接触皮膚炎抑制作用が見られ、同実験で幹水抽出物の0.4 mg/耳介が示した抑制率62.6%の84.8%に相当した。これらの結果から、*S. reticulata*の葉および幹水抽出物の示すマウス接触皮膚炎抑制作用に、そのポリフェノール成分であるマンギフェリンまたはカテキン類が寄与しているものと考えられた。

4. 考察

本研究では、*S. reticulata* と *S. oblonga* の葉または幹の水抽出物について、そのマウス接触皮膚炎抑制作用を確認し、さらにその作用機序と有効成分について一部検討した。なお、サラシア属植物については、インドやスリランカにおけるこれま

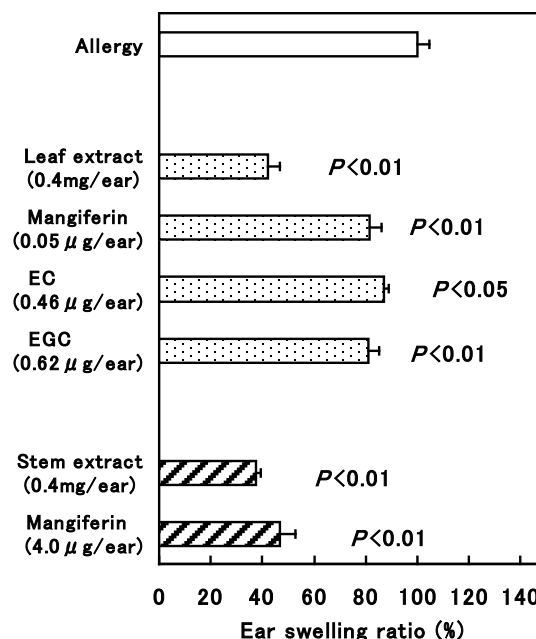


Figure 9 Preventive effects of percutaneous administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia reticulata*, mangiferin, (-)-epicatechin (EC), and (-)-epigallocatechin (EGC) against mouse contact dermatitis. Values are the means \pm SEM. N=6. Significant differences from Allergy group are presented in figure.

での長い食習慣だけでなく、亜慢性毒性や遺伝毒性などについての検討により[17,18]、食品としてのその安全性が確認されている。

*S. oblonga*の葉および*S. reticulata*の葉と幹の水抽出物のいずれについても、経口投与で有意なマウス接触皮膚炎抑制作用が見られ、その効果は*S. reticulata*の葉水抽出物で特に強い傾向が見られた。*S. oblonga*の葉および*S. reticulata*の葉と幹の水抽出物のそれぞれの収量は、8.1%(w/w)、17.3%(w/w)、6.1%(w/w)であることから[16]、特に*S. reticulata*の葉水抽出物は、接触皮膚炎を予防するために有効な食品素材であると考えられる。*S. reticulata*の葉の利用は、幹や根に比較して植物そのものへの傷害が少なくすむこと、また、苦味が少なくその水浸出物を茶の形で摂取するのに適していること、といった点でも望ましいものと思われる。

接触皮膚炎は、細胞性免疫応答による遅延型アレルギーの一種である。アレルゲンが動物体内に侵入し、マクロファージ様の抗原提示細胞がこれを貪食すると、サイトカインの一種である IL-12 を分泌することで naive T 細胞を Th1 細胞に分化させる。Th1 細胞は、 γ -IFN や腫瘍壊死因子- α (TNF- α) 等のサイトカインを分泌してマクロファージを活性化し、マクロファージからもこれらの前炎症性サイトカインが産生されるようになる。前炎症性サイトカインには、マクロファージや Th1 細胞、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を活性化し、逆に Th2 細胞を不活性にする機能があり、これらのサイトカインやアラキドン酸の酵素的酸化反応で生成するプロスタグランジンやリウコトリエンなどのケミカルメディエーター等の働きによって強く活性化されたマクロファージや CTL から過剰産生された活性酸素や酵素等が細胞外に漏出し、周囲の正常組織を傷害することで強い炎症が起きるものと考えられる。本研究では、*S. reticulata* の葉および幹水抽出物の経口投与により、特に耳介中の IL-12 および γ -IFN 濃度の上昇が抑制された。そのため、抗原提示細胞あるいは Th1 細胞による IL-12 や γ -IFN の産生、分泌を抑制し、Th1 細胞の分化、増殖や Th1 細胞によるマクロファージや CTL の活性化が弱められたことが、*S. reticulata* 水抽出物の示すアレルギー抑制作用の機序の一部と考えられる。この作用に関する詳細な機序をさらに明らかにするためには、今後、各免疫細胞におけるサイトカインの遺伝子発現に対する *S. reticulata* 水抽出物の効果を検討する必要があるものと考えられる。

S. reticulata の葉と幹の水抽出物をマウスに経皮投与した場合にも、有意な接触皮膚炎抑制作用が見られ、マウス耳介中の IL-12 と γ -IFN の濃度の上昇も抑制された。従って、*S. reticulata* の葉と幹の水抽出物は、経口摂取だけでなく皮膚に塗布することでも接触皮膚炎の発症を抑制する効果の

あることが示唆された。*S. reticulata* の葉と幹の水抽出物の接触皮膚炎抑制作用は、保健用食品としてだけでなく、化粧品等への添加によっても活用が可能と考えられる。

S. reticulata の葉と幹の水抽出物中の、経口投与による接触皮膚炎抑制作用に関与する成分の一部としては、葉ではマンギフェリンと EC が、幹ではマンギフェリンが確認できた。経口投与では、葉の水抽出物の方が幹よりも効果が強く、葉の方が幹よりもこれらの化合物を含むポリフェノールの含量が高いことと一致していた。茶カテキン類等の植物ポリフェノールには、抗炎症作用のあることが知られている[14,19]。そのメカニズムは多様であり、Th1 細胞やマクロファージ等での前炎症性サイトカインの IL-1 β , γ -IFN および TNF- α の産生抑制[20,21]、ヒアルロニダーゼの活性阻害[22]、アラキドン酸酸化酵素の活性阻害[23]、マクロファージによる NO の生成抑制[24]といった作用が関連するものと考えられる。炎症時に生成する O_2^- や NO などの活性酸素を消去するのに必要な抗酸化作用は、サラシア属植物でも報告されており[4,12,25-27]、その抗酸化成分としてはマンギフェリンやカテキン類の他に、リグナン類、トリテルペン類といった化合物が知られている。

S. reticulata の葉および幹水抽出物の経皮投与によるマウス接触皮膚炎抑制作用においても、葉水抽出物中のマンギフェリンと EC、EGC、幹水抽出物中のマンギフェリンが有効成分として寄与しているものと考えられた。しかし、経口投与の場合と異なり、経皮投与では *S. reticulata* の幹の水抽出物の方が、葉よりも効果が強い傾向が見られた。経皮投与では、チャレンジ時にアレルゲンであるオキサゾロンと *S. reticulata* の葉および幹水抽出物を混合することから、幹にはアレルゲンの体内への吸収を抑制する作用を示す成分が含まれることが予想される。アレルゲンに対し吸着性を持つと考えられる成分としては、幹の水抽出

物中に 79.6%(w/w)含まれる食物繊維がある[16]。我々は、以前に多糖の一種であるキトサンの経皮投与で、マウス接触皮膚炎が抑制されることを報告している[28]。また、経口投与の場合と異なり、経皮投与ではカテキン類にも有意な効果が見られたことから、これらのポリフェノールもアレルゲンの吸収抑制に関与している可能性がある。

以上の結果から、サラシア属植物の葉および幹の熱水抽出物は、経口投与と経皮投与のいずれにおいても接触皮膚炎の抑制のために有用な素材として期待される。

参考文献

- 1) 吉川雅之, 薬用植物の糖尿病予防成分 医食同源の観点から, 化学と生物, vol.40, pp.172-178 (2002).
- 2) M. Modak, P. Dixit, J. Londhe, S. Ghaskadbi, T.P.A. Devasagayamet, Indian herbs and herbal drags used for the treatment of diabetes, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, vol.40, pp.163-173 (2007).
- 3) K. Yoshino, T. Nagasawa, T. Kanetaka, K. Koga, Effects of leaf extracts from Kothala himbutu (*Salacia reticulata*) on α -glucosidase activities in rats and elevation of plasma glucose levels in mice, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, vol.43 (Suppl. 1), pp.383-386 (2008).
- 4) K. Yoshino, Y. Miyauchi, T. Kanetaka, Y. Takagi, K. Koga, Anti-diabetic activities of leaf extracts prepared from *Salacia reticulata* in mice, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol.73, pp.1096-1104 (2009).
- 5) 真野 博, コタラヒムブツ抽出物の関節リウマチへの効果, 第 1 回サラシア属植物シンポジウム講演要旨集, pp.12-19 (2008).
- 6) T.S. Ismail, S. Gopalakrishnan, V.H. Begum, V. Elango, Anti-inflammatory activity of *Salacia oblonga* Wall. and *Azima tetracantha* Lam., *J. Ethnopharmacol.*, vol.56, pp.145-152 (1997).
- 7) R.R.A. Coombs, P.G.H. Gell, *Clinical Aspects of Immunology*, p.317. F. A. Davis, Philadelphia (1963).
- 8) T.R. Mikuls, J.R. Cerhan, L.A. Criswell, L. Merlino, A.S. Mudano, M. Burma, A.R. Folsom, K.G. Saag, Coffee, tea, and caffeine consumption and risk of rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum.*, vol.46, pp.83-91 (2002).
- 9) 厚生省アレルギー総合研究事業研究班, 厚生省長期慢性疾患総合研究事業アレルギー疫学の研究 (1992~1996).
- 10) 東京都アレルギー性疾患対策検討委員会, 都におけるアレルギー疾患対策の在り方最終報告 (2001).
- 11) Y. Nakano, Antigenic competition in the induction of contact sensitivity in mice, *Immunology*, vol.33, pp.167-178 (1977).
- 12) M. Yoshikawa, K. Ninomiya, H. Shimoda, N. Nishida, H. Matsuda, Hepatoprotective and antioxidative properties of *Salacia reticulata*: Preventive effects of phenolic constituents on CCl₄-induced liver injury in mice, *Biol. Pharm. Bull.* vol.25, pp.72-76 (2002).
- 13) M. Suzuki, K. Yoshino, T. Miyase, M. Sano, Inhibitory effects of tea catechins and O-methylated derivatives of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate on type-IV allergy, *J. Agric. Food Chem.*, vol.48, pp.5649-5653 (2000).
- 14) K. Yoshino, K. Ogawa, T. Miyase, M. Sano, Inhibitory effects of the C-2 epimeric isomers of tea catechins on mouse type IV allergy, *J. Agric. Food Chem.*, vol.52, pp.4660-4663 (2004).
- 15) K. Yoshino, K. Yamazaki, M. Sano, Preventive effects of black tea theaflavins against mouse type IV allergy, *J. Sci. Food Agric.*, vol.90, pp.1983-1987 (2010).

- 16) 芳野恭士, 岸 由紀乃, 金高 隆, 古賀邦正, *Salacia reticulata* の卵アルブミン誘発I型アレルギー反応におけるマウス腹壁血管透過性亢進抑制作用, 日本栄養・食糧学会誌, 投稿中.
- 17) A.M. Flammang, G.L. Erexson, M.S. Mecchi, H. Murli, Genotoxicity testing of a *Salacia oblonga* extract, *Food Chem. Toxicol.*, vol.44, pp.1868-1874 (2006).
- 18) A.M. Flammang, G.L. Erexson, M. Mirwald, S. M. Henwood, Toxicological and cytogenetic assessment of a *Salacia oblonga* extract in a rat subchronic study, *Food Chem. Toxicol.*, vol.45, pp.1954-1962 (2007).
- 19) S.K. Katiyar, C.A. Elmets, R. Agarwal, H. Mukhtar, Protection against ultraviolet-B radiation-induced local and systemic suppression of contact hypersensitivity and edema responses in C3H/HeN mice by green tea polyphenols, *Photochem. Photobiol.*, vol.62, pp.855-861 (1995).
- 20) B. Powell, S. Crouvezier, D. Keir, P. Yaqoob, The effects of phenolic compounds of tea on the production of inflammatory cytokines in human whole blood cultures, *Proc. Nutr. Soc.*, vol.60, p.36A (2001).
- 21) G.W. Varilek, F. Yang, E.Y. Lee, W.J.S. deVilliers, J. Zhong, H.S. Oz, K.F. Westberry, C.J. McClain, Green tea polyphenol extract attenuates inflammation in interleukin-2-deficient mice, a model of autoimmunity, *J. Nutr.*, vol.131, pp.2034-2039 (2001).
- 22) 前田有美恵, 山本政利, 増井俊夫, 杉山 清, 横田正美, 中込和哉, 田中秀興, 高橋宇正, 小林利彰, 小林栄人, 茶抽出液の Hyaluronidase 阻害活性, 日本食品衛生学雑誌, vol.31, pp.233-237 (1990).
- 23) S.K. Katiyar, R. Agarwal, S. Ekker, G.S. Wood, H. Mukhtar, Protection against 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-caused inflammation in SENCAR mouse ear skin by polyphenolic fraction isolated from green tea, *Carcinogenesis*, vol.14, pp.361-365 (1993).
- 24) M.M.-Y. Chan, C.-T. Ho, H.-I. Huang, Effects of three dietary phytochemicals from tea, rosemary and turmeric on inflammation-induced nitrite production, *Cancer Lett.*, vol.96, pp.23-29 (1995).
- 25) K. Krishnakumar, K.T. Augusti, P.L. Vijayammal, Hypoglycaemic and anti-oxidant activity of *Salacia oblonga* Wall. extract in streptozotocin-induced diabetic rats, *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, vol.43, pp.510-514 (1999).
- 26) A. Kishi, T. Morikawa, H. Matsuda, M. Yoshikawa, Structures of new friedelane- and norfriedelane-type triterpenes and polyacylated eudesmane-type sesquiterpene from *Salacia chinensis* LINN. (*S. prinoides* DC., Hippocrateaceae) and radical scavenging activities of principal constituents, *Chem. Pharm. Bull.*, vol.51, pp.1051-1055 (2003).
- 27) 芳野恭士, 山口真翔, 齋藤圭祐, 後藤はるな, 金高 隆, 古賀邦正, 高脂食摂取マウスにおける *Salacia reticulata* の脂質低下作用, *J. Technology and Education*, vol.19, pp.23-29 (2012).
- 28) 芳野恭士, 小川健二郎, 高橋 亘, 古賀邦正, オリゴ糖の抗接触過敏症作用に関する研究, *J. Technology and Education*, vol.11, pp.37-41 (2004).