

# 食用野草のヒアルロニダーゼ阻害活性と抗補体活性

増田 勝己\*・石原 良子・今川 ゆかり・谷 政八

(2005年1月21日受理)

## Inhibitory Effects of Edible Weeds on Hyaluronidase and Complementary Activity

Katsumi MASUDA      Nagako ISHIHARA  
Yukari IMAGAWA      Masahachi TANI

キーワード (key words)

食用野草 (Edible Weed)、ヒアルロニダーゼ阻害 (Hyaluronidase Inhibition)

抗補体活性 (Inhibition of Complementary Activity)

### 1. 緒 言

近年、アレルギー症状を訴える人が年々増加している。乳幼児のアトピー性皮膚炎は10年前の約2倍に増え、その他の食物アレルギー、花粉症、気管支喘息などを含めると日本人の3人に1人は何らかの症状を有していることが明らかになっている。

アレルギー症状はI型からIV型に分類されている。I型は即時型ともいわれ、気管支喘息やアレルギー性鼻炎などが疾患例である。ヒアルロニダーゼは、I型に関与するケミカルメディエーターであるヒスタミンと同時に肥満細胞から遊離する。そして、結合組織に多く分布するヒアルロン酸を加水分解して、炎症を重度にする。実験では急性浮腫を惹起する酵素として用いられている<sup>1)</sup>。このヒアルロニダーゼ阻害活性とヒスタミン遊離抑制には正の相関関係があることが、クロモグリク酸ナトリウムやトラニラストなどの抗アレルギー

薬品で示されている<sup>2)</sup>。また、補体系は細胞毒性型あるいは細胞融解型といわれるアレルギーII型、さらには免疫複合型といわれるアレルギーIII型の病態生理に深く関連している<sup>3)</sup>。この補体価の抑制は抗アレルギー活性の一つと考えられている。<sup>4, 5)</sup>

著者らは食用野草27種、シソ科、キク科などの野菜9種、その他5種の計41種を調査し、食用野草の中に強いヒアルロニダーゼ阻害活性と抗補体活性を見出したのでここに報告する。

### 2. 実験方法

#### 2-1 実験試料

食用野草27種とその他4種は福井県内で自生しているものを採取して、2時間以内に実験に供した。シソ科野菜2種とその他のアロエ、モロヘイヤ、ラッキョウは農家から購入したものを2時間以内に用いた。キク科野菜5種は市販品を用いた。

---

\*ペンネーム (本名：三谷)

## 2-2 ヒアルロニダーゼ阻害活性の測定

前田ら<sup>1)</sup>、KAKEGAWAら<sup>2)</sup>の方法を参考にして以下のように行なった。すなわち、野草試料1.0gを秤量し、酢酸緩衝液 (pH4.0 0.1M) 10.0mlを添加して磨砕した後、ろ紙ろ過した液を試料液とした。この試料液 1.0ml に酵素溶液 (ヒアルロニダーゼ Type IV-S from Bovine Testes、シグマ社製 8 mgを酢酸緩衝液 2.0ml に溶解) 100  $\mu$ lを加え、37℃で20分放置した。それに酵素活性化溶液 (Compound 48/80、シグマ社製) 200  $\mu$ l、基質溶液 (ヒアルロン酸 (鶏冠製、和光純薬工業製) 8 mgを酢酸緩衝液 10.0ml に溶解) 500  $\mu$ lを添加した後アルミキャップをして37℃40分間反応させた。0.4N水酸化ナトリウム溶液 200  $\mu$ lを加えて反応を停止させた。ほう酸ナトリウム溶液 (ほう酸 4.95gを蒸留水 50ml に溶解して、1N水酸化ナトリウム溶液で pH9.1 に調整後、100ml とした) 200  $\mu$ lを加え沸騰水浴中で3分間加熱し流水で室温まで冷却した後、p-ジメチルベンズアルデヒド試薬 (p-ジメチルベンズアルデヒド 5gを酢酸 44ml, 10N塩酸 6ml に溶解して、使用時に酢酸で10倍希釈) 6.0mlを加え37℃で20分間反応させて 585nm の吸光度を測定した。試料液の代わりに酢酸緩衝液を用いたものを対照として、酵素、試料液の代わりに酢酸緩衝液を加えた試料液ブランク、酵素の代わりに酢酸緩衝液を加えた酵素ブランクを調製して次式より阻害活性 (%) を算出した。

$$\frac{(A-C) - (B-D)}{(A-C)} \times 100$$

- A : 対照吸光度
- B : 反応液吸光度
- C : 試料液ブランク吸光度
- D : 酵素ブランク吸光度

## 2-3 抗補体活性の測定

DAY らの方法<sup>6)</sup>に従った。すなわち、食用野草 1.0g にペロナール緩衝液 (0.15mM 塩化カルシウム、0.50mM 塩化マグネシウム及び0.1%ゼラチンを含み pH7.5に調整した) 10.0mlを加え磨砕、ろ過し試料液とした。ペロナール緩衝液 10.0ml, 試料液 1.0mlを試験管にとり、ヒト血清 (補体コントロール用、デンカ生研製) 50  $\mu$ l

を加え攪拌した。次にペロナール緩衝液に希釈した感作ヒツジ赤血球 (デンカ生研製) を 1.0mlを加え、攪拌した後、37℃で60分間反応させた。その後、氷水中に10分間放置して反応を停止させた。反応液を 2000rpm で10分間遠心分離して未溶血の赤血球を分離した後、その上澄み液について 540nmの吸光度を測定した。試料液の代わりにペロナール緩衝液を加えたものを対照とし、血清を入れないブランクをつくり次式により抗補体活性を求めた。

$$\frac{(A-C) - (B-D)}{(A-C)} \times 100$$

- A : 対照吸光度
- B : 反応液吸光度
- C : 試料液ブランク吸光度
- D : 血清ブランク吸光度

## 2-4 乾燥試料のヒアルロニダーゼ阻害活性及び抗補体活性測定

阻害活性の強かった6種の試料を105℃で24時間乾燥して水分量を測定し、乾燥前の生試料量に相当する乾燥粉末試料をはかり、2-2、2-3と同様にヒアルロニダーゼ阻害活性と抗補体活性を測定した。

## 2-5 ヒアルロニダーゼ阻害活性と抗補体活性の相乗効果測定

各試料液を阻害率約15~30%に希釈した。それを 0.5ml ずつ添加して、ヒアルロニダーゼ阻害活性と抗補体活性を測定した。相乗効果は 1.0ml 添加したときのそれぞれの試料液の阻害率を加えて2で割った値を基準にして、阻害効果倍率とした。

## 2-6 タンポポコーヒーの試作とヒアルロニダーゼ阻害活性測定

食用野草で最もヒアルロニダーゼ阻害活性が強力であることが判明したタンポポは食用とされる他、タンポポコーヒーとしても飲用されている。そこで、タンポポコーヒーを作り、市販品のヒアルロニダーゼ阻害活性と比較した。タンポポコーヒーは、タンポポの根をよく洗い1cmの大きさ

に切り、天日で5日間干した。次に、フライパンにのせ弱火で10分間炒った。それをミキサーで細かくした。この粉碎試料 5.0g に蒸留水 70ml を加え、5分間煮沸後、室温まで冷却して 100ml メスアップした。それをろ紙ろ過して、その 1.0ml についてヒアルロニダーゼ阻害活性試験を行なった。市販品も同様に処理した。

### 3. 結果及び考察

#### 3-1 ヒアルロニダーゼ阻害活性

表に示すように、キク科野草 7 種は強いヒアルロニダーゼ阻害活性を有することが明らかになった。(表-1) その7種はセイヨウタンポポ、シロバナタンポポ、ツワブキ、ハハコグサ、フキ、ヨメナ、ヨモギであった。これらの試料液を希釈した場合、セイヨウタンポポ、シロバナタンポポを除きいずれも活性は低下した。このうちセイヨウタンポポは、一法師らが報告<sup>7)</sup>している46種の野菜とハーブ抽出液の中で最も阻害活性の強いレモンバームと比較しても、同等以上の活性があった。(図-1、2)

セイヨウタンポポは帰化植物で、占有率が高く日本各地で見られる。その80%は日本の在来種と交雑して純粋のセイヨウタンポポは10~15%であるといわれている。著者らは、セイヨウタンポポを採取する時、タンポポの総ほうのそりかえりの程度や長さ、葉の形状、花の色で区別したので、試料として用いたセイヨウタンポポは日本種との交雑種であろうと思われた。(写真-(1)、(2)) シロバナタンポポは群生しているところを見つけるのがなかなか難しく、以下の実験ではシロバナタンポポを除いた6種について実験を行なった。

#### 3-2 抗補体活性

ヒアルロニダーゼ阻害活性の強かった6種について抗補体活性を測定した結果、いずれも活性があり、そのうちフキとヨモギは強かった。(図-3)

#### 3-3 乾燥試料のヒアルロニダーゼ阻害活性と抗補体活性

阻害活性を有する野草 6 種の水分は91.4~

表-1 食用野草類のヒアルロニダーゼ阻害活性

種 類	阻害率(%)
アシタバ ( <i>Angelica keiskei</i> )	36.4±3.8
エノコログサ ( <i>Setaria viridis</i> )	11.6±3.0
オオバギボウシ ( <i>Hosta montana</i> )	46.2±3.4
カタバミ ( <i>Oxalis corniculata</i> )	33.1±2.8
カラスノエンドウ ( <i>Vicia angustifolia</i> var. <i>Segetalis</i> )	5.0±0.6
ギンギシ ( <i>Rumex japonicus</i> )	60.6±2.5
シロバナタンポポ ( <i>Taraxacum officinale</i> )	97.9±2.1
スギナ ( <i>Equisetum arvense</i> )	81.6±1.9
スベリヒユ ( <i>Portulaca oleracea</i> )	18.3±0.5
セイヨウタンポポ ( <i>Taraxacum officinale</i> )	99.3±1.2
セリ ( <i>Oenanthe javanica</i> )	93.7±1.7
タネツケバナ ( <i>Cardamine flexuosa</i> )	13.0±1.6
ツユクサ ( <i>Commelina communis</i> )	29.4±4.5
ツワブキ ( <i>Farfugium japonicum</i> )	98.2±0.8
ドクダミ ( <i>Houttuynia cordata</i> )	28.1±3.7
ノビル ( <i>Allium grayi</i> )	0.1±0.2
ハコベ ( <i>Stellaria neglecta</i> )	28.8±1.2
ハッカ ( <i>Mentha arvensis</i> var. <i>Piperascens</i> )	93.2±0.7
ハハコグサ ( <i>Gnaphalium affine</i> )	97.7±1.2
ハルジオン ( <i>Erigeron philadelphicus</i> )	76.4±3.4
ヒルガオ ( <i>Calystegia japonica</i> )	30.7±1.5
フキ ( <i>Petasites japonicus</i> )	97.2±1.5
フジバカマ ( <i>Eupatorium fortunei</i> )	56.5±3.5
ミツバ ( <i>Cryptotaenia japonica</i> )	39.3±2.4
ユキノシタ ( <i>Saxifraga stolonifera</i> )	50.5±3.3
ヨメナ ( <i>Kalimeris yomena</i> )	99.3±0.5
ヨモギ ( <i>Artemisia princeps</i> )	98.8±0.8
アオシソ ( <i>Perilla frutescens</i> )	40.8±2.4
アカシソ ( <i>Perilla frutescens</i> )	45.6±4.7
ゴボウ ( <i>Arctium lappa</i> )	21.9±1.4
シュンギク ( <i>Chrysanthemum coronarium</i> )	54.6±2.3
ショクヨウキク (花) ( <i>Chrysanthemum morifolium</i> )	23.7±1.6
ニンジン (葉) ( <i>Daucus carota</i> )	42.8±3.5
ニンジン (根) ( <i>Daucus carota</i> )	71.8±2.2
チシャ ( <i>Lactuca sativa</i> )	7.7±1.5
ラッキョウ ( <i>Allium bakeri</i> )	59.5±1.1
モロヘイヤ ( <i>Corchorus olitorius</i> )	91.2±1.1
イチョウ ( <i>Ginkgo biloba</i> )	47.8±1.8
カキ (葉) ( <i>Diospyros kaki</i> )	58.1±4.1
クコ ( <i>Lycium chinense</i> )	50.8±3.3
ナンテン ( <i>Nandina domestica</i> )	63.4±4.6
アロエ ( <i>Aloe arborescens</i> )	8.9±0.4

M ± SD (n = 3)

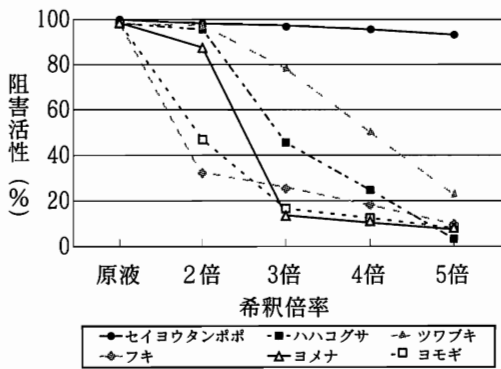


図-1 食用野草のヒアルロニダーゼ阻害活性

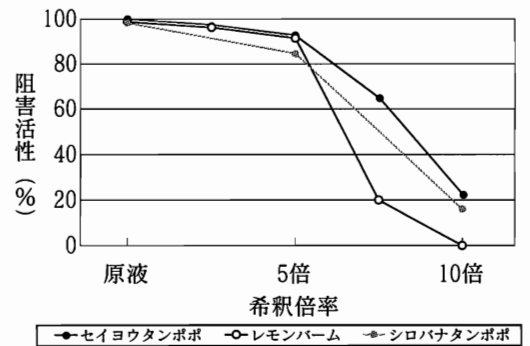


図-2 タンポポとレモンバームのヒアルロニダーゼ阻害活性



(1) 日本在来種

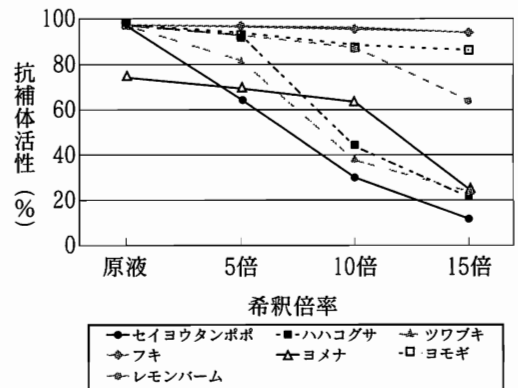


図-3 食用野草の抗補体活性



(2) 交雑種

表-2 乾燥によるヒアルロニダーゼ阻害活性の変化

種 類	生 → 乾燥(%)
セイヨウタンポポ	96.3 → 36.1
ツワブキ	99.2 → 34.3
ハハコグサ	97.7 → 99.3
フキ	97.2 → 21.8
ヨメナ	99.3 → 32.7
ヨモギ	98.8 → 7.6
レモンバーム	99.2 → 66.6

105℃24時間加熱

85.1%であった。これらは加熱乾燥することで、ハハコグサを除き他の5種はいずれもヒアルロニダーゼ阻害活性が低下した。また、抗補体活性が強かったフキとヨモギは加熱することにより活

性が無くなった。ヨメナとレモンバームは約80%の活性を有していた。(表-2, 3)

表-3 乾燥による抗補体活性の変化

種 類	生 → 乾燥(%)
セイヨウタンポポ	96.1 → 45.1
ツワブキ	97.1 → 2.3
ハハコグサ	97.8 → 56.1
フキ	96.9 → 0.0
ヨメナ	74.8 → 84.5
ヨモギ	96.8 → 0.0
レモンバーム	97.6 → 78.3

105℃24時間加熱

表-4 市販タンポポコーヒーと試作品のヒアルロニダーゼ阻害活性

種類	阻害活性(%)	原材料名
A	54.6±1.9	タンポポの根
B	64.3±1.4	タンポポの根
C	1.6±0.7	タンポポの根、乳糖、黒大豆 小豆、サンザシ、クチナシ、キガワ カンゾウ、コーヒーフレーバー
D	7.1±2.2	タンポポの根、乳糖、黒大豆 小豆、サンザシ
試作	70.4±1.1	

M±SD (n = 5)

### 3-4 ヒアルロニダーゼ阻害活性と抗補体活性の相乗効果

ヒアルロニダーゼ阻害相乗効果は、セイヨウタンポポとスギナの組み合わせでは1.90倍に、セイヨウタンポポとハハコグサでは1.35倍にヨメナとフキでは1.20倍強くなった。また、抗補体活性もセイヨウタンポポとハハコグサで2.29倍となった。

### 3-4 タンポポコーヒーのヒアルロニダーゼ阻害活性

市販タンポポコーヒーもヒアルロニダーゼ阻害活性を示したが、原材料にタンポポ以外のものが含まれているものがあり、これらは当然活性が弱く、購入する時は表示をよく見て選別する必要がある。(表-4)

## 4 まとめ

食用野草27種、野菜9種、その他5種の計41種のヒアルロニダーゼ阻害活性を調査した結果、セイヨウタンポポ、シロバナタンポポ、ツワブキ、ハハコグサ、フキ、ヨメナ、ヨモギのキク科野草7種が強い阻害活性を有していた。そのうち、セイヨウタンポポは阻害活性が強いと報告されているレモンバームと比較しても、同等以上の活性があった。加熱することで、ハハコグサ以外は活性が低下した。抗補体活性は阻害の強かった6種はいずれも示し、フキとヨモギはなかでも強かった。加熱によりヨメナ以外は低下した。試料液を混合すると、ヒアルロニダーゼ阻害活性や抗補体活性が強くなる組み合わせがあった。

市販のタンポポコーヒーは抗ヒアルロニダーゼ活性を示したが、原材料にタンポポ以外のものを使用している場合は活性が弱く、購入時に注意が必要である。

本研究の要旨は、日本食品科学工学会第49回大会(2002年8月、名古屋市)において発表した。

### 参考文献

- 1) 前田有美恵, 山本政利, 増井俊夫, 杉山清, 横田正実, 中込和哉, 田中秀興, 高橋宇正, 小林利彰, 小林栄人: 食衛誌, **31**, (3)233 (1990)
- 2) KAKEGAWA, H., MATSUMOTO, H. and SATO, T.: Chem. pharm. Bull, **33**, 642 (1985)
- 3) 小島保彦: Food Style 21, **2**, 25 (1998)
- 4) 近藤美由紀, 丁宗鉄, 山田陽城, 清原寛章, 大塚恭男: 和漢薬, **16**, 76 (1983)
- 5) 玉川浩司, 飯塚宗史, 池田彰男, 小池肇, 長沼慶太, 小宮山美弘: 日本食科工誌, **46**, (8) 21 (1999)
- 6) DAY, N. K., WINFIELD, J. B., GEE, T., WINCHESTER, R., TESHIMA, H. and KUNKEL, H. G.: Clin. Exp. Immunol, **26**, 189 (1976)
- 7) 一法師克成, 山口優一, 伊藤秀和, 東敬子, 東尾久雄: Food Sci Technol Res, **6**, (1) 74 (2000)