

平成 29 年度 【 学園研究費助成金 < B > 】 研究成果報告書

学部名 生活科学部

フリガナ エサキ ヒデオ
氏名 江崎 秀男

研究期間 平成 29 年度

研究課題名 きのこ類のアレルギー抑制作用および活性成分の分離

研究組織

	氏名	学部	職位
研究代表者	江崎 秀男	生活科学部	教授
研究分担者			
研究分担者			

1. 本研究開始の背景や目的等 (200 字～300 字程度で記述)

喘息や花粉症などのアレルギー疾患は、ここ数年で患者数が急増し、現在、国民の 2 人に 1 人が何らかのアレルギー疾患に罹患していると言われている。これらのアレルギー疾患に対する適格な対策が求められている。

きのこは食物繊維やビタミン類などを含む低カロリー食品であり、近年、体脂肪低減効果、免疫力向上効果、動脈硬化抑制作用などの様々な機能性が報告されている。本研究では、アレルギー疾患の一予防対策として、市場に出回る各種きのこ類のアレルギー抑制作用を検討するとともに、活性成分の分離を試みることにした。

2. 研究の推進方策 (300 字程度で記述)

日常、頻繁に摂取する 5 種類のきのこ（生しいたけ、しめじ、ホワイトぶなしめじ、まいたけ、えりんぎ）を凍結乾燥した後、75%エタノールを用いて抽出液を調製した。この抽出液の一定量を用いて、ラット好塩基球様白血病細胞（RBL-2H3 細胞）を用いた β -ヘキソサミニダーゼ遊離阻害試験を行うことにより、細胞系におけるアレルギー抑制作用を評価した。

強いアレルギー抑制活性が認められたきのこの 75%エタノール抽出液より、酢酸エチル抽出物を調製した。この抽出物の RBL-2H3 細胞への添加量を変えて、その活性を測定した。その後、この酢酸エチル抽出物中の活性成分を Amberlite XAD-2 カラムクロマトグラフィーで分画した。さらに、強い活性を示した分画物は、シリカゲルカラムクロマトグラフィーおよび Develosil ODS-HG-5（逆相系カラム）を用いた分取 HPLC を行うことにより、活性成分の分離・精製を行った。

3. 研究成果の概要 (600字～800字程度で記述)

しめじおよびホワイトぶなしめじの75%エタノール抽出液は、RBL-2H3細胞を用いたβ-ヘキソサミニダーゼ遊離阻害試験において、強い阻害作用を示した。その阻害率は、しめじで71.3%、ホワイトぶなしめじで96.8%であった。

本研究では、最も強いアレルギー抑制作用が認められたホワイトぶなしめじ中の活性成分の分離・精製を行った。ホワイトぶなしめじ75%エタノール抽出液中の活性成分は酢酸エチルによって効率よく抽出され、この抽出物はRBL-2H3細胞に50 μg/mL、25 μg/mL濃度で暴露すると、それぞれ72.3%、46.3%のβ-ヘキソサミニダーゼ遊離阻害率を示した。

この酢酸エチル抽出物中の活性成分は、Amberlite XAD-2カラムを用いてメタノール濃度を上昇させるステップワイズ法で分画した。その結果、80%および100%メタノール分画物に強い活性が認められた。この分画物中の活性成分は、さらに順層系のシリカゲルカラムを用いて分離・精製を行った。溶離液として、ヘキサン、ヘキサン：酢酸エチル=8：2、ヘキサン：酢酸エチル=6：4、ヘキサン：酢酸エチル=4：6、ヘキサン：酢酸エチル=2：8、酢酸エチル、酢酸エチル：エタノール=1：1を用いた。

酢酸エチル：エタノール=1：1分画物が最も強い阻害活性を示した。そこで、この分画物の分取HPLCを行い、各ピーク群の活性を調べたところ、ピーク群①が強い阻害活性を示した。さらに、ピーク群①中の阻害活性成分を分離するため、溶離液を80%メタノールに変えて、再度分取HPLCを行った。その結果、ピーク群Cが強い阻害活性を示した。TLC分析の結果、ピーク群C中には、Rf値0.33を示すヨウ素発色陽性の主要なスポットが検出された。

以上の実験結果より、このRf値0.33を示すスポット物質は、ホワイトぶなしめじのアレルギー抑制作用を示す主要な成分であると考察される。

4. キーワード (本研究のキーワードを1項目以上8項目以内で記載)

①きのこ	②ホワイトぶなしめじ	③アレルギー抑制作用	④β-ヘキソサミニダーゼ遊離阻害作用
⑤RBL-2H3細胞	⑥	⑦	⑧

5. 研究成果及び今後の展望 (公開した研究成果、今後の研究成果公開予定・方法等について記載すること。既に公開したものについては次の通り記載すること。著書は、著者名、書名、頁数、発行年月日、出版社名を記載。論文は、著書名、題名、掲載誌名、発行年、巻・号・頁を記載。学会発表は発表者名、発表標題、学会名、発表年月日を記載。著者名、発表者名が多い場合には主な者を記載し、他○名等で省略可。発表数が多い場合には代表的なもののみ数件を記載。)

今後、このホワイトぶなしめじ中のアレルギー抑制作用を示す活性成分を単離するとともに、各種機器分析によりその化学構造を決定する必要がある。その後、日本食品科学工学会で口頭発表するとともに、学術論文として投稿したい。

今後の課題としては、このホワイトぶなしめじを含め、種々のきのこ類が加熱・調理された場合のβ-ヘキソサミニダーゼ遊離阻害活性に及ぼす影響を調べる。