

## 最終報告書

アレルギーマウスにおけるケイ素抽出高麗人参エキスの投与効果について

報告者

徳島大学大学院医歯薬学研究部代謝栄養学分野  
堤 理恵

連絡先

770-8503 徳島市蔵本町 3-18-15

TEL088-633-9249

FAX088-633-7113

E-mail:rtsutsumi@tokushima-u.ac.jp

## 要旨

本研究では、共同研究先であるパークフォレスト社より供与されたケイ素抽出高麗人参（被検物）の効果について検討した。アトピーモデルマウスにおいて皮膚症状は明らかに改善したため、本製品に多く含まれることが知られている **GinsenosideF2** の効果によるものではないかと **F2** 単独投与を行なったが、被検物の効果が有意に高かった。そのため、抽出方法による効果の可能性を検討することとし、他の高麗人参を同様の方法で抽出したエキスで試験を行なったが、当該被検物の効果が最も顕著であった。このことから、パークフォレスト社の栽培技術およびエキス抽出技術ともに高度の炎症抑制作用を有すると考える。

## 目次

1. NC/Ng マウスにおける皮膚炎症状緩和効果についての検討
2. TNP-IgE マウスにおける免疫応答における効果成分についての検討
3. 他社高麗人参との比較検討

## 1. NC/Nga マウスにおける皮膚炎症状緩和効果についての検討

目的：

被検物（ケイ素抽出高麗人参）の皮膚炎症に対する効果を検討する。

方法：

### 動物及び投与サンプル

5 週齢の NC/Nga マウス（雄、20 匹）は、日本 SLC より購入した。動物は徳島大学動物実験資源部門 5 階 SPF（specific pathogen free）環境下にて飼育した。マウスは 6 週齢時より対照群にケイ素水を、介入群にケイ素水抽出による朝鮮人参エキス（高麗人蔘 10%、パークフォレストより供与）を 200  $\mu$  l を 1 日 1 回経口ゾンデ投与を行なった。

### 皮膚炎の誘導及び皮膚炎の臨床評価

6 週齢の NC/Nga マウスの胸部及び腹部に 5%ピクリルクロライドを塗布した。その後 1 週間毎に 1%ピクリルクロライドを耳部に塗布した。耳部における皮膚炎は 0（無症状）、1（軽度）、2（中等度）、および 3（重度）の 4 段階に分類し、両耳のスコアの平均値を臨床症状として数値化した。

### 血清 IgE 濃度

マウスは 10 週間の 1%ピクリルクロライド塗布の後、16 週齢時に心採血し、血清を得た。これを用いて、Mouse IgE quantitation kit (Bethyl Laboratories Inc.)によりプロトコールに従い IgE を測定した。

### サイトカイン濃度

マウス血清中のサイトカイン濃度について、Mouse IFN $\gamma$ ELISA Kit (R&D systems Inc)および Mouse IL-4 ELISA Kit (R&D systems Inc) を用いて、付属のプロトコールに従い測定した。

### 統計解析

2 群間の比較として GraphPad Prism 5 を用いて対応のない T-test により解析、 $p < 0.05$  で有意差ありとした。

## 結果

NC/Nga マウス 6 週齢時より 10 週間、週に 1 度 1 %ピクリルクロライドを耳部に塗布することでアレルギー誘導を行った。この間、体重及び摂餌量を週に一度測定したがケイ素水投与群（対照群）及び高麗人参投与群（介入群）の両群間に体重、摂餌量の差は認められなかった。

次にマウスの皮膚症状について両耳を評価した。生理食塩水投与群、ケイ素水投与群では皮膚症状が明らかであったのに対して、高麗人参投与群（介入群）では症状の軽減が認められた。図 1 に平均スコアを示す。対照群で平均 2.4 のスコアを示したのに対し、介入群では平均値が 0.5 と有意に低値であった ( $p<0.05$ )。アレルギー反応を比較するため血清 IgE を測定した。図 2 に示すように、介入群では有意に IgE が低値であった ( $p<0.05$ )。

また、炎症性サイトカイン IFN $\gamma$  および IL-4 についても測定を行なった。図 3 に示すように、対照群では皮膚炎の誘導によりサイトカイン産生が認められるが高麗人参介入群では有意に抑制されていることが示唆された ( $p<0.05$ )。

## 2. TNP-IgE マウスにおける免疫応答における効果成分についての検討方法

Ginsenoside F2 は Abcam 社より購入した。マウスは 6 週齢 TNP-IgE マウスを日本クレアより購入し、徳島大学動物実験施設にて飼育した。1 週間の慣らし飼育の後、7 週齢より高麗人参群には 200ml の抽出エキス投与を 1 日 1 回、F2 群には 2.5mg/kgBW を 1 日 1 回、対照群には生理食塩水を 200 $\mu$ l を投与することとし、7 日間継続し、その後 TNP 投与によりアレルギー炎症を誘導した。投与後 4 日後に剖検を行い、耳、血液サンプルを解析した。Mouse IgE quantitation kit (Bethyl Laboratories Inc.)によりプロトコールに従い血清 IgE を測定した。

## 結果

マウスの耳を染色した結果を図 4 に示す。数値化は困難であるが、対照群よりも、F2 群で、F2 群よりも高麗人参群で耳の腫脹が改善されていることが示唆される。さらに、血清の IgE 濃度を測定した結果を図 5 に示す。対照群と比較し、F2、高麗人参群で低下していた。また F2 と比較して高麗人参群の IgE が低値であった。

### 3. 他社高麗人参との比較検討

#### 方法

上述の高麗人参エキスの効果について抽出方法によるものか、本試験で用いた高麗人参そのものと抽出方法両方が重要であるのかを比較する必要があると考えられたため、他社より販売されている高麗人参で、それぞれ A:6年もの、路地栽培、B:4年もの、露地栽培、C:1年もの、水耕栽培、として P:パークフォレスト社のものと比較した。他社製の高麗人参も同様の抽出方法にてエキス成分としたものをパークフォレスト社より供与された。

マウスは TNP-IgE マウスを使用した。詳細な方法は研究 2 と同様である。

#### 結果

臨床スコアを 6 点までで前肢、後肢、耳の炎症で評価した。図 6 に示すように、発症誘導後 1 週間の間、Sample P で最も低いスコアの経緯を示した。また図 7-8 に示すように、血清 IgE および血清 IFN $\gamma$  もまた Sample P で最も低値を示した。

#### 考察

本研究において、パークフォレスト社独自の栽培方法による高麗人参を、ケイ素を用いて抽出したエキスとした場合にアレルギー反応を改善する効果が認められることを実証した。実験 1 においてアトピー性皮膚炎のモデルである NC/Nga マウスを用いて長期間のエキス摂取をさせたところ、臨床スコアや血清 IgE が改善されることが示唆された。また、ケイ素で抽出していることは効果は期待されるものの、ケイ素のみでは効果は生理食塩水を投与した群とほぼ同程度であり、高麗人参とケイ素の相乗作用的な効果があることが期待された。次に当該高麗人参は他の高麗人参と比較して GinsenosideF2 が多いことが以前の分析結果により知られていることに注目した。GinsenosideF2 には免疫能を向上させる効果が知られていることから、前述の効果も F2 によるものではないかと考え、F2 のみを化合物として投与し、当該エキスの効果と比較した。F2 化合物単独投与において文献相当量投与し、対照群よりは免疫反応に対する改善作用を認めたが、当該高麗人参エキスの方がさらに効果的であり、その他の成分の関与も否定できず、F2 単独よりは抽出エキスとして投与する方が効果的であると考えられた。F2 や高麗人参の免疫能向上あるいは改善作用はいくつか

報告もあるが、今回の抽出エキスはこれまでのものよりもより強力な作用を示しており、独自の栽培法、抽出法の効果が共にこうした作用をもたらしていると考えられた。そのため、こうした効果が他の高麗人参でも見られるのかを検討するために他社の高麗人参を購入し、同様の方法で抽出したサンプルを得た。この結果、1年、4年、6年と栽培期間の長いものほど効果は大きくなることが臨床スコア等からも示唆されたが、栽培期間の非常に短い当該エキスがもつとも効果が大きい結果となった。こうしたことから、栽培期間よりも、栽培方法が重要であり、またケイ素水を使用した独自の抽出方法も重要であると考えられた。