

保存イチジク茶のアレルギー抑制効果と成分変動の調査

阿部 竜也

Effect of Storage Temperature on the Anti-Allergic Properties of Fig Tea

Tatsuya Abe

The efficacy of fig tea derived from *Ficus carica* L. leaves in suppressing type I allergies is compromised when stored above ambient temperature, indicating temperature-dependent modifications in its bioactive constituents. This study aimed to identify these bioactive components by subjecting fig tea to various storage temperatures and subsequently quantifying their component compositions. The results revealed a significant decrease in disaccharide concentrations, specifically difructose anhydride, sucrose, and turanose, which correlated with the storage duration. These disaccharides demonstrated inhibitory effects in *in vitro* cellular assays, indicating their potential as bioactive agents in fig tea. In contrast, furocoumarin, another bioactive component, exhibited an increase in concentration proportional to the storage time. Notably, a reduction in the suppressive effect was not observed in fig cultivars devoid of furocoumarin in the storage experiments. These findings indicate the potential involvement of furocoumarin in the inhibition of the suppressive properties of fig tea under specific storage conditions.

Key words: *Ficus carica* L., disaccharides, difructose anhydride, quercetin glycoside

1. 背景と目的

アレルギーは、生体の防御反応である免疫が、不適切あるいは過度に作用し、身体的障害を引き起こすことである。その罹患者数は、年々増加し、アジア諸国や欧米諸国で深刻な問題になっている (Sun *et al.* 2014)。アレルギー症状の発症には、ヘルパー T1 (Th1) 細胞と Th2 細胞のバランスが重要とされている。これらの細胞は、活性化したナイーブ T 細胞から分化するが、分化に関与するサイトカインや脂質メディエーターにより決定する。インターロイキン 12 (IL-12) やインターフェロン γ (INF- γ) などにより Th1 細胞に、IL-4、IL-13、プロスタグランジン E2 (PGE2) などにより Th2 細胞に分化する (Dittrich *et al.* 2015 ; Verma *et al.* 2014)。Th1 細胞は、INF- γ と IL-2 などのサイトカインを産生し、細胞性免疫を賦活する。一方、Th2 細胞は IL-4、5、13 などを産生し、IgE 抗体産生を活性化する。アレルギー患者では、Th2 細胞優位な状態が維持され、IgE 抗体が過剰に産生されていると推測されている (Robinson *et al.* 1992 ; Durham *et al.* 2000 ; Woodfolk 2007)。

花粉症、気管支喘息などの即時型 (I 型) アレルギーは、IgE 抗体が中心となって惹起されるアレルギーである。粘膜や皮膚に存在する肥満細胞や末梢血中に存在する好塩基球細胞は、細胞表面に膜貫通型の高親和性 IgE 受容体である Fc ϵ RI を発現している。Fc ϵ RI にアレルギー特異的

に産生された IgE 抗体が結合すると感作状態となり、更なる Fc ϵ RI 受容体の増加 (Lantz *et al.* 1997 ; MacGlashan *et al.* 1998) や細胞内ヘヒスタミンやロイコトリエンなどのケミカルメディエーターを蓄積する (Yamaguchi *et al.* 1999 ; Galli & Tsai 2012)。そこへ再度アレルギーが侵入し、受容体に結合した抗体同士を架橋するように結合すると、その刺激が細胞内に伝達される。細胞内シグナル伝達には、Lyn や Syk といったリン酸化酵素が主な役割を果たし (Rivera & Olivera 2007 ; Gilfillan & Rivera 2009 ; Yamashita *et al.* 1994)、MAP キナーゼの活性化、細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇を経て、ケミカルメディエーターの放出 (脱顆粒) が起こる。放出されたケミカルメディエーターにより、浮腫や血圧低下、蕁麻疹などのアレルギー症状が惹起される (Santini & Beaven 1993)。

I 型アレルギーの抑制には、IgE 抗体の産生抑制、抗体と受容体の結合阻害、細胞内シグナル伝達阻害、ケミカルメディエーターの感受性低下などが挙げられ、種々の抗アレルギー薬が開発されている。Th2 細胞の IL-4 や IL-5 産生を抑制することで B 細胞からの IgE 抗体産生を抑制するスプラタストシル酸や IgE 抗体を捕捉し Fc ϵ RI との結合を阻害するオマリズマブなどが知られている (Nagai 2012 ; Busse *et al.* 2001)。一方、食品においてもアレルギーを抑制・緩和する素材が開発、実用化されている。べにふうき緑茶に含まれるメチル化カテキンは、

Lyn や Syk のリン酸化抑制、FcεRI 受容体の発現抑制により、アレルギーを抑制する (Maeda-Yamamoto *et al.* 2004; Maeda-Yamamoto *et al.* 1998; Fujimura *et al.* 2002)。また、ある種の乳酸菌 (*Lactobacillus plantarum*) の摂取が、Th1/Th2 バランスの改善、IgE 抗体産出量の減少を引き起こし、アレルギーを抑制することが報告されている (吉田ら 2010)。

イチジクは、果実が主に食用として利用されている。一方で、葉は古くから漢方薬として利用されているだけでなく、種々の効能が報告されている (Barolo *et al.* 2014)。イチジク葉の摂取により、I 型、II 型を問わず糖尿病患者の血糖値が下がることや (Serraclara *et al.* 1998; Sadegh *et al.* 2016; Stephen Irudayaraj *et al.* 2017)、葉の溶剤抽出物の抗炎症作用がラットで確認されている (Patil & Patil 2011)。また、近年では、ヒト乳がん細胞である MDA-MB-231 の増殖抑制効果が報告され、ガン抑制効果も期待されている (Zhang *et al.* 2018)。

我々は、イチジク葉を緑茶と同様の工程で加工したイチジク茶におけるアレルギー抑制効果を評価した。その結果、マウスにおいては I 型アレルギー抑制効果を示した (Abe 2020)。また、ヒトの花粉症では、鼻腔症状の改善傾向と Th2 細胞の減少が確認された (阿部ら 2022b)。さらに I 型アレルギーの一種であるアトピー性皮膚炎を対象としたヒト介入試験では、イチジク茶摂取期間中に皮膚症状の有意な改善が確認された (Abe *et al.* 2022a)。これらの結果から、イチジク茶の摂取がアレルギーによる炎症症状の改善に有効であることが期待される。一方では、炎症を抑制する成分について不明である。そこで、本研究ではイチジク茶の有効成分について探索を実施した。

2. 材料および方法

2-1. イチジク茶葉の製造および浸出液の調製

イチジク茶は、「柘井ドーフィン」および「グリース・ド・タラスコン」の葉から調製した。原料葉は、当研究所附属農場から採取した。製茶方法は既報に準拠した (Abe 2020)。約 2.0 cm 角に刻んだイチジク生葉約 200 g ずつを金属製カゴに入れ、コンビオープン FCCM202 (フジマック) で 4 分間蒸煮した。その後、30 分間室温で冷却・乾燥し、ホットプレート上で揉捻、通風乾燥機により乾燥させた。製造後の茶葉は、アルミ箔ラミネートパウチに入れ、 -20°C で保管した (Abe 2020)。

イチジク茶液は、茶葉 1 g または 10 g を 100 ml の超純水 (温度 80°C) に浸漬し、3 分間静置して浸出させた液を、孔径 48 μm のナイロンネットで茶葉等の固形物を除去して調製した。

2-2. 茶液の保存試験

調製した茶液を、ポリプロピレン製 50 ml 容チューブ

(labcon) に 40 ml ずつ分注し、 -20 、 4 、 30 、 50°C の温度、湿度なりゆき、1、2、4 週間の期間で保存試験を実施した。

2-3. 脱顆粒抑制作用の評価法

ヒューマンサイエンス研究資源バンク ((財) ヒューマンサイエンス振興財団) から購入したラット好塩基性白血球細胞株 RBL-2H3 (JCRB0023 以後 RBL-2H3) を用いた。抗アレルギー作用の測定には、細胞数増加と培養条件への馴化のため、3 回以上継代した細胞群を供試した。脱顆粒反応が抑制された場合に抗アレルギー作用があるとし、脱顆粒時に放出される酵素の一つ、 β -ヘキソサミニダーゼ (β -Hex) 量をその指標とした。細胞の培養、継代および β -Hex の測定は、既報と同じ方法で行った (Abe 2020)。

2-4. イチジク茶の成分分析

(1) LC-QToF/MS による成分分析

LC 装置は LC-20A (島津製作所)、オートサンプラーは SIL-20AC、MS 装置は micrOTOF Q II (Bruker Daltonics)、カラムは Scherzo SM-C18 (Imtakt: 粒子径 3 μm 、サイズ 150 mm \times 2 mm i.d.) を用いた。分析条件は、既報に準拠した (Abe 2020)。

(2) イヌリンの熱分解

既報に従い、イヌリン水溶液とクエン酸水溶液の混合物を凍結乾燥した粉末固形物を、ガラス管に封入して、 120°C のオイルバス中で 20、30、60、90、120 分間加熱し、イヌリンを熱分解した (Christian *et al.* 2000)。得られた熱分解物を超純水に溶解した後、孔径 0.45 μm のフィルター (Millipore) で濾過し、HPLC で分析した。

(3) HPLC による二糖類の分析

LC 装置は LC-20A、オートサンプラーは SIL-20AC、MS 装置は micrOTOF-QII を用い、イオン化法: エレクトロスプレー法 (ESI)、測定質量範囲: 50-1000 m/z、キャピラリー電圧: 陰イオン測定 2800 V、ネブライザーガス: N_2 (1.6 bar)、乾燥ガス: N_2 (7.0 L/分、 200°C)、四重極イオンエネルギー: 5.0 eV、コリジョンエネルギー: 10.0 eV とした。カラムは UK-Amino (Imtakt: 粒子径 3 μm 、サイズ 250 mm \times 3 mm i.d.)、移動相に 80% アセトニトリルを使用した。各試料を 5 μl 注入し、カラム温度 37°C 、流速 0.2 ml/min でのイソクラティック溶出で分析した。

2-5. 統計処理

炎症物質 (β -Hex) 放出量測定は 3 回以上試行し、平均値および標準偏差で示した。有意差検定では、一元配置分散分析法 (One-way ANOVA)、Tukey の多重比較検定を用いた。有意水準は $p < 0.05$ とした。統計処理は

EZRを使用した (Kanda 2013)。EZRはRおよびRコマンドの機能を拡張した統計ソフトウェアである。

3. 結果

3-1. 保存温度条件による抑制強度への影響

イチジク茶を冷凍 (-20°C) あるいは冷蔵 (4°C) で9ヶ月以上保存すると、脱顆粒抑制効果に差が生じることを以前から見出していた (Fig. 1)。この結果は、有効成分が保存条件によって変動することを示唆していたが、含量が大きく変動する成分は特定されなかった。そこで、より極端な温度条件で保存し変動幅を増大させることで、有効成分の特定を試みた。

温度条件を-20、4、30、50°Cに設定し、保存期間を1、2、4週間として、各試料の脱顆粒抑制効果を確認した。結果、-20°C保存試料は、保存期間に関わらず強い効果 (抑制率: 70%以上) を維持していた。また、4°C保存試料は、短期間なら-20°C保存試料と同等以上の効果を保っていたが、4週間目の試料では、効果が中程度 (抑制率: 40-70%) まで弱まる傾向が、確認された。30°C保存試料は、保存期間1週間目で中程度の効果を示し、その後は、期間に比例して低下した。50°C保存試料は、1週間目は30°C保存試料と同等であったが、2週間目以降で抑制効果が消失した (Fig. 2)。

3-2. 保存温度条件が異なる試料の成分分析

最も効果の強かった「4°C/1週間」(抑制率: >90%) と中程度の効果を示した「50°C/1週間」(抑制率:

50%)、効果が消失した「50°C/2週間」(抑制率: 0%) の試料を対象に、LC-Q-ToF/MSを用いて、含有成分の分析・比較を実施した。結果、脱顆粒抑制効果と正の相関関係にあるイオンピークが6つ、負の相関関係にあるピークが2つ見出された (Fig. 3)。

各分子イオンのMSスペクトルのデータベース検索から、正の相関関係にある成分として、イソマルトース (分子量 342)、ジフルクトース無水物 (DFA: 分子量 324)、リンゴ酸 (分子量 134)、フマル酸 (分子量 116)、プソラレノシド (分子量 366) が推定された。これらの中で、プソラレノシドは効果が無いこと、リンゴ酸とフマル酸は弱い効果があることを既に確認していた。また、負の相関関係にある成分がプソラレン (分子量 186) およびベルガプテン (分子量 216) といったフロクマリンであることを標準試薬の分析から見出した (Table)。

3-3. 二糖類の脱顆粒抑制効果

脱顆粒抑制効果と含量に正の相関関係がある成分として、イソマルトースとDFAを見出した。両者は、何れも二糖類であることから、他の二糖類も含めた脱顆粒抑制効果を評価した。評価には、8種の二糖類と2種の単糖類 (グルコース、フルクトース) を用いた。DFAは、構造異性体が14種ほど報告されているが、その中で入手可能なDFA IIIの標準試薬を用いた。茶液のDFAおよびイソマルトースの含量は、標準試薬の1点検量から算出し、「4°C/1週間」の試料における含量を基準とし添加量を設定した。結果、供試した二糖類の全てが、50-60%程度の抑制率を示した。また、単糖類は、20%程度の抑制率で

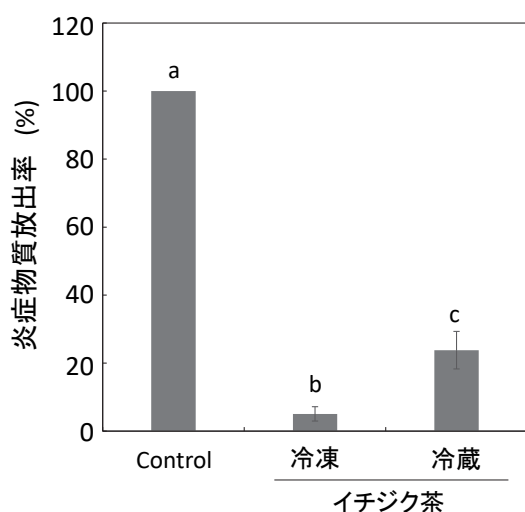


Fig. 1 冷凍・冷蔵保存品による脱顆粒抑制効果の違い

Controlの炎症物質放出量を100%とした相対放出率を示している。異なるアルファベットは $p < 0.05$ で有意差があることを示している。

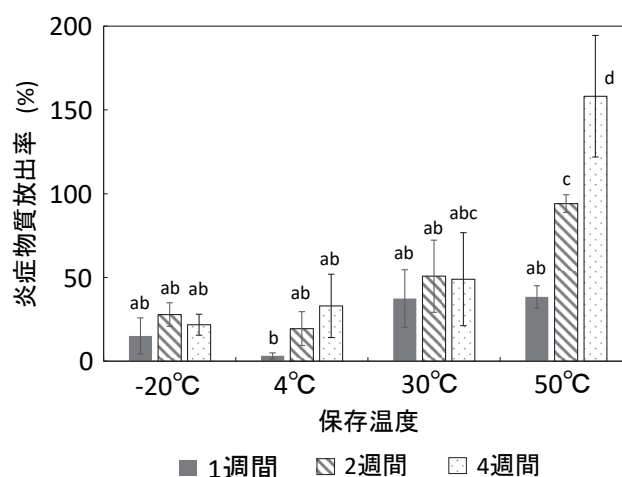


Fig. 2 保存温度が脱顆粒抑制効果に及ぼす影響

Control (非表示) の炎症物質放出量を100%とした相対放出率を示している。異なるアルファベットは $p < 0.05$ で有意差があることを示している。

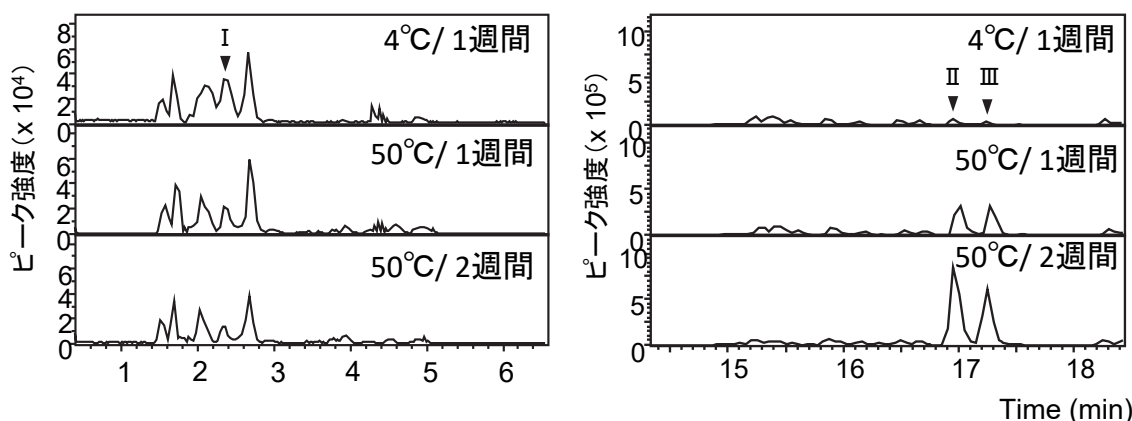


Fig. 3 脱顆粒抑制効果が異なった茶液のLC-MS分析

各試料のポジティブイオン検出によるベースピーククロマトグラム。I：DFA、II：プソラレン、III：ベルガプテン

Table 高温保存により変動した成分

	保持時間(分)	分子量	推定組成式	検出イオンモード	同定・推定物質	
高温で減少	1	2.3	342	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	ネガティブ	イソマルトース
	2	2.4	324	C ₁₂ H ₂₀ O ₁₀	ポジティブ	ジフルクトース無水物(DFA)
	3	3.2	134	C ₄ H ₆ O ₅	ネガティブ	リンゴ酸
	4	6.3	116	C ₄ H ₄ O ₄	ネガティブ	フマル酸
	5	15.0	324	C ₁₁ H ₁₀ NO ₂	ポジティブ	該当なし
	6	15.4	366	C ₁₇ H ₁₈ O ₉	ネガティブ	プソラレノシド
高温で増加	1	17.0	186	C ₁₁ H ₆ O ₃	ポジティブ	プソラレン
	2	17.3	216	C ₁₂ H ₈ O ₄	ポジティブ	ベルガプテン

あり、二糖類の抑制効果の方が強い傾向を示した (Fig. 4A)。

供試した二糖類はDFAを除き全て同じ分子量であり、保存試料のLC分析に用いていた逆相カラムでは、イソマルトースとの分離が不可能であった。そこで、順相カラムに変更して分析したところ、ほとんどの二糖類が分離可能であった。この条件下で、イチジク茶を分析したところ、イチジク茶に含まれる二糖類は、その保持時間からイソマルトースでは無く、スクロースあるいはツラノースであることが判明した (Fig. 4B)。これらは、構造異性体であり、使用カラムでの分離は不可能であった。

イチジク茶に含まれる二糖類を推定するため、有効成分候補の二糖類の組み合わせによる抑制効果の違いを評価した。結果、スクロースとDFAあるいはツラノースとDFAの二種併用では、各成分の単独処理時と効果は変わらなかったが、スクロース、ツラノース、DFAの3種を混合するとイチジク茶と同等の脱顆粒抑制効果が示された。この結果は、これら3種の成分がイチジク茶に存在している可能性を示唆していた (Fig. 4C)。

3-4. DFAの同定

イチジク茶に含まれる分子量324の成分は、そのマススペクトルからDFAであると推定した。しかし、茶液のLC-Q-ToF/MS解析では、当該成分の分子イオンピークが保持時間2.4分で検出されたのに対し、DFA III標準試薬は2.7分で検出されたことから、他の異性体である可能性が示唆された (Fig. 5)。DFAは、フルクトースの重合体であるイヌリンの熱分解により生成されることが報告されている (Christian *et al.* 2000)。そこで、イヌリン熱分解物を同条件下で分析し、保持時間2.4分の分子イオンピークが検出されるか確認したところ、同時間でピークが検出された。また、茶液、イヌリン熱分解物の両方で、保持時間2.2分にもピークが検出された。従って、茶液に含まれる分子量324の成分はDFA異性体の1つであり、且つ複数の異性体が存在していることが強く示唆された。

3-5. フロクマリン類のアレルギー昂進効果の検討

アレルギー抑制効果が減少・消失した試料中に増加する成分としてベルガプテンとプソラレンといったフロクマリンを見出した。これらは、プソラレノシドなどを前駆物質

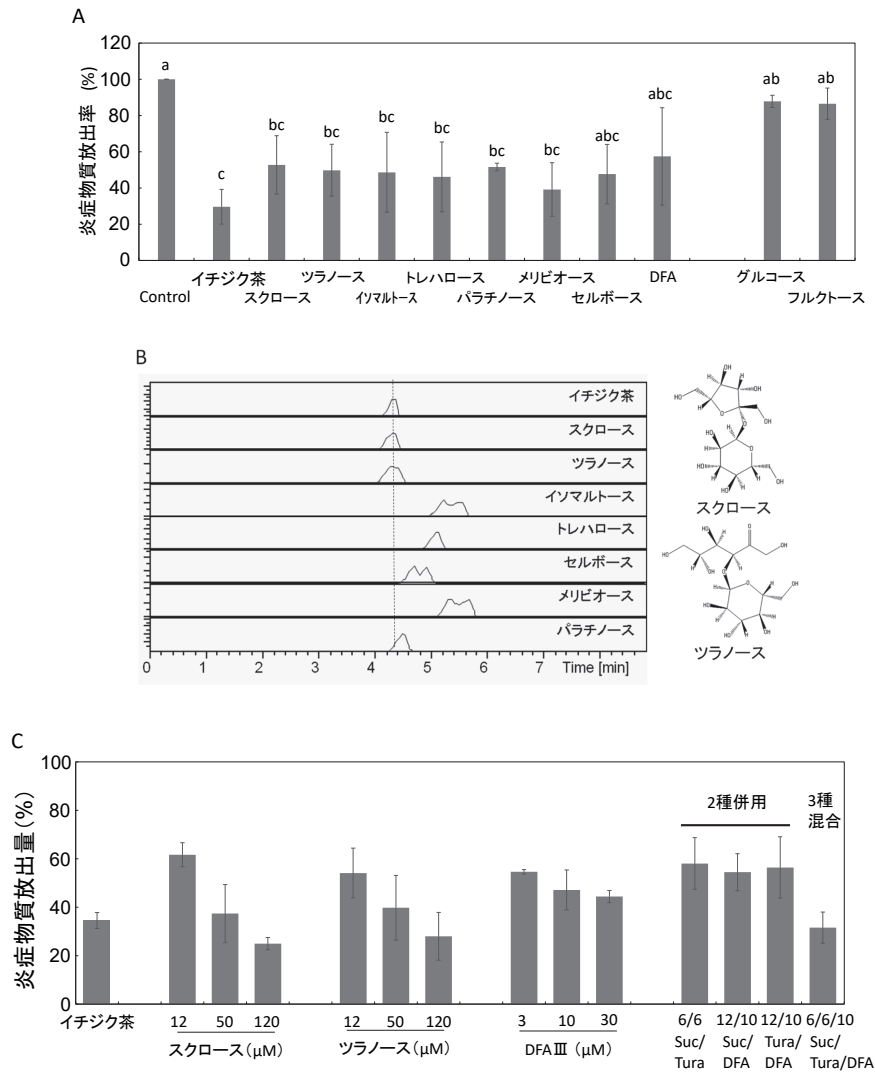


Fig. 4 二糖類の検討

A: 二糖類の脱顆粒抑制効果。Controlの炎症物質放出量を100%とした相対放出率を示している。添加量（最終濃度）は、DFAが3 μM、DFA以外の糖が12 μMである。異なるアルファベットは $p < 0.05$ で有意差があることを示している。B: 順相カラムによる二糖類の分離。左: 各試料のネガティブイオン検出による抽出イオンクロマト ($m/z=341$)。右: イチジク茶への含有が示唆される糖の構造。C: イチジク茶に含まれる二糖類の脱顆粒抑制効果。Control（非表示）の炎症物質放出量を100%とした相対放出率を示している。Suc: スクロース、Tura: ツラノース。

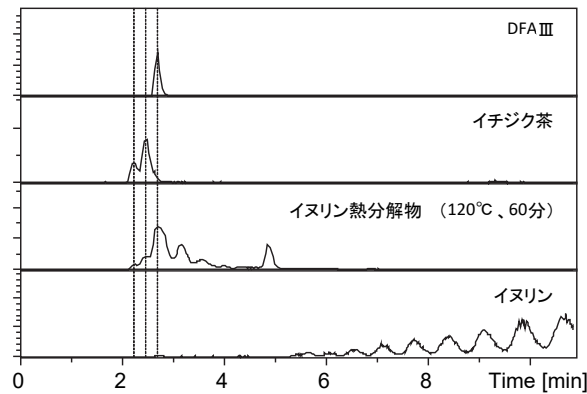


Fig. 5 イチジク茶 DFA および DFA III、イヌリン熱分解物のクロマトグラム
各試料のポジティブイオン検出による抽出イオンクロマトグラム ($m/z=325$)。

として生成される。この前駆物質およびフロクマリン類の含量が極端に少ない品種として「グリース・ド・タラスコン」が挙げられる (Takahashi *et al.* 2014)。当該品種を原料とすることで、フロクマリン類の生成を抑え、高温保存可能なイチジク茶の作出が可能であると考えられた。そこで、「グリース・ド・タラスコン」の葉を原料とした茶液を用いて、前回の保存温度 (-20、4、30、50°C)・期間 (1、2、4、週間) で、保存試験を実施した。結果、50°C で保存した試料において、抑制効果の顕著な減衰およびフロクマリンの増加は確認されなかった (Fig. 6)。これらの結果は、フロクマリンが抑制効果減衰の原因であ

る可能性を示唆するものであった。また、50°C/4週間保存試料では、有意差はないが抑制効果が減衰した。この原因として、有効成分である二糖類の減少が推測された。しかし、これら成分の変動は確認されず、ケルセチン配糖体であるケルセチン 3-ルチノシド (ルチン、分子量 610) およびケルセチン 3-(6-マロニル) グルコシド (Q3MG、分子量 550) の含量が減少していた (Fig. 6B)。そこで、両成分の脱顆粒抑制効果を調査したところ、どちらも抑制効果を示した (Fig. 7)。また、これらの成分は「榊井ドーフィン」にも含まれていたことから、イチジク茶の有効成分であると考えられた。

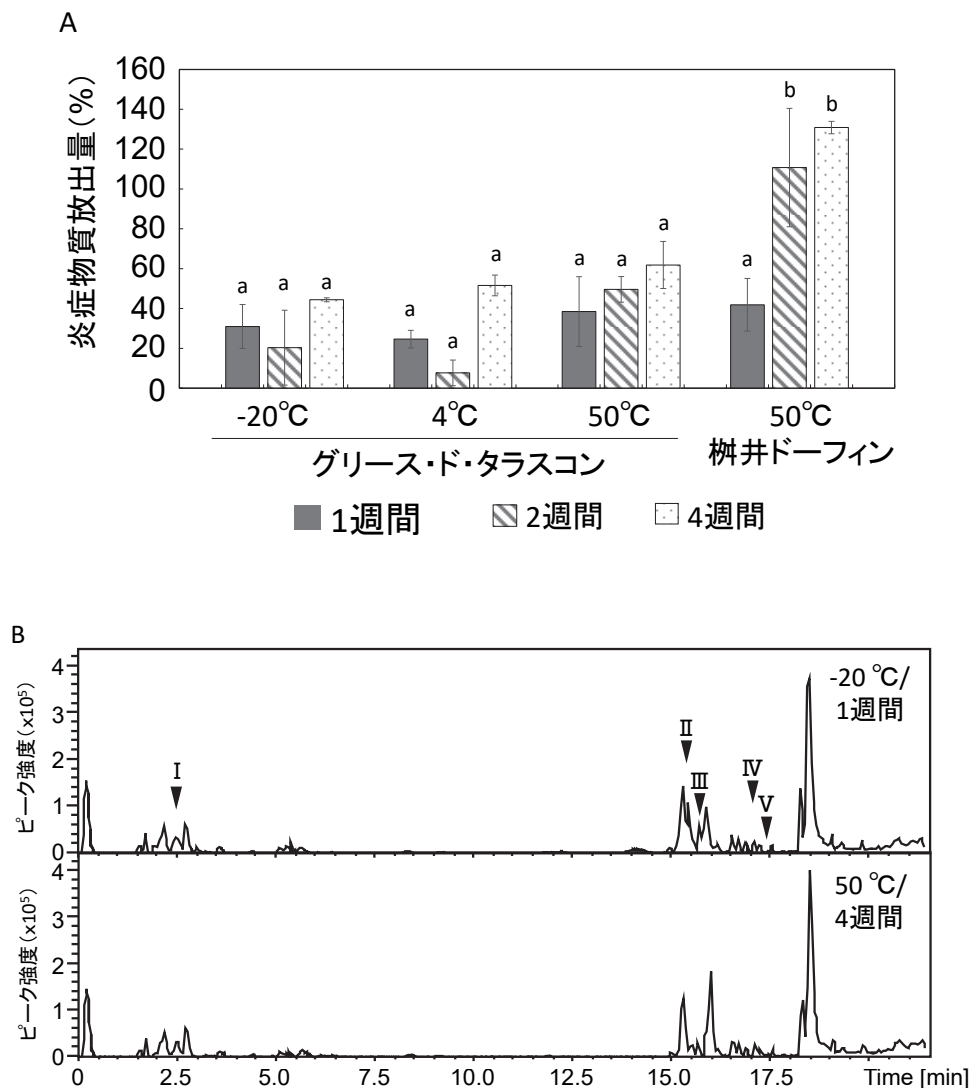


Fig. 6 「グリース・ド・タラスコン」由来茶液の保存による影響

A: 脱顆粒抑制効果に対する影響。Controlの炎症物質放出量を100%とした相対放出率を示している。30°C保存試料は、雑菌汚染のため評価を実施しなかった。異なるアルファベットは $p < 0.05$ で有意差があることを示している。B: 含有成分に対する影響。各試料のポジティブイオン検出によるベースピーククロマトグラム。I: DFA、II: Rutin、III: Q3MG、IV: プソラレン、V: ベルガプテン。プソラレンとベルガプテンは、「榊井ドーフィン」で検出される時間を示している。

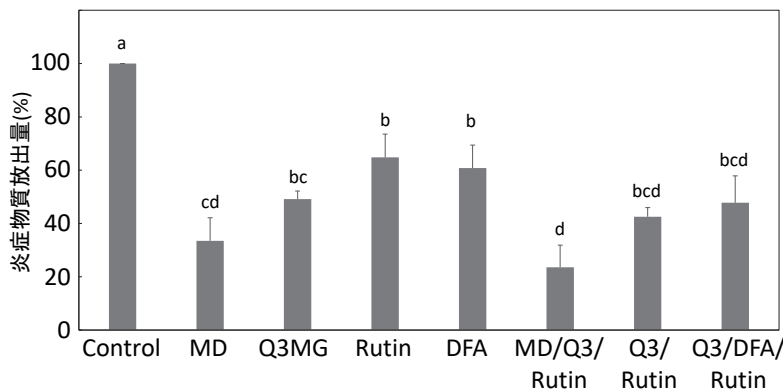


Fig. 7 ケルセチン配糖体の脱顆粒抑制効果

Controlの炎症物質放出量を100%とした相対放出率を示している。各試料の添加量は標準試薬の1点検量から算出した含有量を基準に設定。添加量（最終濃度）は、Q3MGが0.6 μ M、Rutinが15 μ M、DFAが3 μ Mである。MD：イチジク茶「榊井ドーフィン」。異なるアルファベットは $p < 0.05$ で有意差があることを示している。

4. 考察

本試験では、抑制効果が異なるイチジク茶試料の成分分析から、炎症細胞の脱顆粒に関連する成分を7種見出した。脱顆粒を抑制する成分として、DFA、スクロース、ツラノース、ルチン、Q3MGを見出した。また、プロソレン、ベルガプテンといったフロクマリンが脱顆粒を更新する可能性が示された。

これら成分の中で、ルチンはアレルギー抑制効果を有することが報告されている。アトピー性皮膚炎を発症させたマウスでは、ルチンの摂取によりアレルギー反応を促進するIL-4やIL-5といった炎症性サイトカインの誘導を抑制し、耳介部肥厚の低減や血中IgE濃度が低下することが報告されている(Choi & Kim 2013)。また、健康食品として販売されているノニジュースの原料であるヤエヤマアオキ (*Morinda citrifolia*; ハワイ現地語で「ノニ」)の果実や葉の抽出液は、ルチンやウルソール酸を含んでおり、この抽出液がRBL-2H3の脱顆粒抑制効果やICRマウスの炎症による耳介部肥厚の低減効果を有することが報告されている(Murata *et al.* 2014)。

DFAは、フルクトース分子が2つ結合した二糖類で甘味はスクロースの半分程度であり、自然界では多糖類であるイヌリンを多く含むチコリやキクイモ、ゴボウなどのキク科植物に含まれることが知られている(伊藤 & 清水 2014)。DFAには、フルクトースの環構造や結合様式の違いから14種の異性体が存在すると報告されている(Christian *et al.* 2000)。最も研究が進んでいるのがDFA IIIであり、幾つかの機能が報告されている。ヒト腸管上皮細胞Caco-2を用いた実験では、DFA IIIの添加により細胞間接着の構造が緩むことが報告されている

(Inokuchi *et al.* 2009)。ヒトやラットに摂取させるとカルシウムの吸収量が昂進されることも報告されている(Shigematsu *et al.* 2004; Suzuki *et al.* 1998)。また、DFA IIIは腸内で分解されにくい、ある種の乳酸菌により分解・利用され、乳酸菌自体の腸内生存率の向上に機能することが報告されている(Minamida *et al.* 2006)。DFA IIIが免疫やアレルギーに関与する知見は報告されていないが、アレルギー抑制効果が知られているケルセチンは、ケルセチン配糖体単独よりDFA IIIと同時に摂取させた方が、腸内からの吸収量および盲腸内での残存量が増加することがラットの実験から報告されている(原 2011)。この結果は、DFA IIIが間接的にアレルギー抑制に寄与することを示唆するものであった。

Q3MGは、クワの葉に多く含まれる成分である。クワ葉由来のQ3MGを摂取させたマウスでは、低比重リポタンパク質(LDL)の酸化が抑制され、動脈硬化のリスク低減や血中コレステロールの低下が報告されている(原 2011; Enkhmaa *et al.* 2005)。Q3MGのアレルギー抑制効果の知見は無いが、アグリコンであるケルセチンは数多くの抑制効果が報告されているため、抑制効果を有している可能性は高いと考えられる。

本報告では、供試した全ての二糖類で脱顆粒抑制効果が確認された。今回用いた二糖類は、還元性や構造において統一性がないため、これらの要素は抑制効果に関与していないと推測される。アレルギー抑制効果の知見がある二糖類は、グルコースとガラクトースが α 1-6結合したメルビオースのみである。メルビオースは、成人のアトピー性皮膚炎症状の緩和やマウスでの免疫寛容の促進効果が報告されている(Katsube *et al.* 2010; 金子ら 2004)。今後、メルビオースの作用機序が明らかになることで、二糖類の

アレルギー抑制効果の解明の一助となることが期待される。

ベルガプテンやプソラレンといったフロクマリンが、アレルギーを促進する可能性を見出した。フロクマリンは、紫外線の影響を増大させる光毒性があることが知られており、イチジク葉の利用により紅斑や浮腫性の発疹が起きた事例が報告されている (Tomita *et al.* 2007)。また、グレープフルーツに含まれるフロクマリンの1種、6',7'-ジヒドロキシベルガモチンが、薬物代謝酵素であるCYP3A4に結合し、その活性を長時間消失させてしまうため、血中の薬剤濃度が高いまま維持されてしまうことが、種々の薬剤で報告されている (高橋 & 沖浦 2016)。イチジク茶に含まれているフロクマリン (プソラレンやベルガプテン) が、薬剤と相互作用する報告は無いが、類縁体であるため可能性は高いと考えられる。従って、フロクマリンを含むイチジク品種由来の茶液を機能性食品 (抗アレルギー食品) として利用する際には、安全性を確認しておく必要がある。本報告で使用したフロクマリンおよび前駆体を含まない品種「グリース・ド・タラスコン」は、茶液保存中のフロクマリンの増加とそれに伴う抑制効果の減弱が抑えられていた。保存中にもフロクマリンの増加がみられないことから、薬剤との相互作用の懸念を回避でき、安全性の高い品種と言える。また、「柗井ドーフィン」と比較して「グリース・ド・タラスコン」の茶液は、イチジク茶の持つ独特の甘い香りや渋み、苦味が少ないため万人向けの味を有しているとも言える。

本報告で見出した脱顆粒関与成分のほとんどは腸管からの吸収動態が不明である。特にDFAの異性体であるDFA IIIは、難消化性オリゴ糖であり、腸管からほとんど吸収されないことが推察される。今後は、ヒト腸管上皮細胞Coco-2株やラットを用いて、*in vitro* または *in vivo* での成分吸収動態を調査し、培養細胞で確認された脱顆粒抑制作用機序が、生体でも機能しているかを追究していく。

5. 参考文献

- Abe, T., 2020, Fig (*Ficus carica* L.) leaf tea suppresses allergy by acceleration disassembly of IgE-receptor complexes., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **84**(5), p.1013-1022. DOI: 10.1080/09168451.2020.1722608.
- Abe, T.; Koyama, Y.; Nishimura, K.; Okiura, A.; Takahashi, T., 2022a, Efficacy and Safety of Fig (*Ficus carica* L.) Leaf Tea in Adults with Mild Atopic Dermatitis: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Preliminary Trial., *Nutrients*, **14**(21), p.4470. DOI:10.3390/nu14214470.
- 阿部 竜也、小山 ゆかり、西村 耕作, 2022b, イチジク茶摂取が季節性アレルギーに及ぼす影響 -二重盲検無作為比較予備試験-, *東洋食品研究所 研究報告書*, **34**, p.29-38.
- Bailey, D. G.; Malcolm, J.; Arnold, O.; Spence, J. D., 1998, Grapefruit juice - drug interactions: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **46**(2), p.101-110. DOI: 10.1046/j.1365-2125.1998.00764.x.
- Barolo, M. I.; Ruiz, M. N.; López, S. N., 2014, *Ficus carica* L. (Moraceae): an ancient source of food and health., *Food Chem.*, **164**, p.119-127. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.04.11.
- Busse, W.; Corren, J.; Lanier, B. Q.; McAlary, M.; Fowler-Taylor, A.; Cioppa, G. D.; van As, A.; Gupta, N., 2001, Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **108**(2), p.184-190. DOI: 10.1067/mai.2001.117880.
- Choi, J. K.; Kim, S. H., 2013, Rutin suppresses atopic dermatitis and allergic contact dermatitis., *Exp. Biol. Med.*, **238**(4), p.410-417. DOI: 10.1177/1535370213477975.
- Christian, T., J.; Manley-Harris, M.; Field, R. J.; Parker, B. A., 2000, Kinetics of Formation of Di-D-fructose Dianhydrides during Thermal Treatment of Inulin., *J. Agric. Food Chem.*, **48**, p.1823-1837. DOI: 10.1021/jf9911186.
- Dittrich, A.; Hessenkemper, W.; Schaper, F., 2015, Systems biology of IL-6, IL-12 family cytokines., *Cytokine Growth Factor Rev.*, **26**(5), p.595-602. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2015.07.002.
- Durham, S. R.; Till, S. J.; Corrigan, C. J., 2000, T lymphocytes in asthma: bronchial versus peripheral responses., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **106**(5), p.221-226. DOI: 10.1067/mai.2000.110154.
- Enkhmaa, B.; Shiwaku, K.; Katsube, T.; Kitajima, K.; Anuurad, E.; Yamasaki, M.; Yamane, Y., 2005, Mulberry (*Morus alba* L.) leaves and their major flavonol quercetin 3-(6-malonylglucoside) attenuate atherosclerotic lesion development in LDL receptor-deficient mice., *J. Nutr.*, **135**(4), p.729-734. DOI: 10.1093/jn/135.4.729.
- Fujimura, Y.; Tachibana, H.; Maeda-Yamamoto, M.; Miyase, T.; Sano, M.; Yamada, K., 2002, Antiallergic tea catechin, (-)-epigallocatechin-3-O-(3-O-methyl)-gallate, suppresses FcεRI expression in human basophilic KU812 cells., *J. Agric. Food Chem.*, **50**(20), p.5729-5734. DOI: 10.1021/jf025680z.
- Galli, S. J.; Tsai, M., 2012, IgE and mast cells in

- allergic disease., *Nat. Med.*, **18**, p.693-704. DOI: 10.1038/nm.2755.
- Gilfillan, A. M.; Rivera, J., 2009, The tyrosine kinase network regulating mast cell activation., *Immunol. Rev.*, **228**(1), p.149-169. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00742.x.
- 原 博, 2011, 消化管の中で生理作用を発揮する食品成分に関する研究., *日本栄養・食糧学会誌*, **64**(6), p.367-376. DOI: 10.4327/jsnfs.64.367.
- Inokuchi, H.; Takei, T.; Aikawa, K.; Shimizu, M., 2009, The effect of hyperosmosis on paracellular permeability in Caco-2 cell monolayers., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**(2), p.328-334. DOI: 10.1271/bbb.80538.
- 伊藤 貴則; 清水 直人, 2014, 亜臨界水を用いたイヌリン加水分解物の質量分析., *日本食品工学会誌*, **15**(3), p.165-172. DOI: 10.11301/jsfe.15.165.
- Kanda, Y., 2013, Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZ' for medical statistics, *Bone Marrow Transplant.*, **48**(3), p.452-458. DOI: 10.1038/bmt.2012.244.
- 金子 いづる; 速水 耕介; 富田 響子; 菊地 裕人; 名倉 泰三; 重松 典宏; 千葉 友幸, 2004, 思春期・成人アトピー性皮膚炎患者に対するメリビオースの初期臨床試験., *J. Appl. Glycosci.*, **51**(2), p.123-128. DOI: 10.5458/jag.51.123.
- Katsube, T.; Yamasaki, M.; Shiwaku, K.; Ishijima, T.; Matsumoto, I.; Abe, K.; Yamasaki, Y., 2010, Effect of flavonol glycoside in mulberry (*Morus alba* L.) leaf on glucose metabolism and oxidative stress in liver in diet-induced obese mice., *J. Sci. Food Agric.*, **90**(14), p.2386-2392. DOI: 10.1002/jsfa.4096.
- Lantz, C. S.; Yamaguchi, M.; Oettgen, H. C.; Katona, I. M.; Miyajima, I.; Kinet, J. P.; Galli, S. J., 1997, IgE regulates mouse basophil Fc epsilon RI expression in vivo., *J. Immunol.*, **158**(6), p.2517-2521. DOI: 10.4049/jimmunol.158.6.2517.
- MacGlashan, D. Jr.; McKenzie-White, J.; Chichester, K.; Bochner, B. S.; Davis, F. M.; Schroeder, J. T.; Lichtenstein, L. M., 1998, *In vitro* regulation of FcεRIα expression on human basophils by IgE antibody., *Blood*, **91**(5), p.1633-1643. DOI: 10.1182/blood.V91.5.1633.
- Maeda-Yamamoto, M.; Kawahara, H.; Matsuda, N.; Nesumi, K.; Sano, M.; Tsuji, K.; Kawakami, Y.; Kawakami, T., 1998, Effects of tea infusions of various varieties or different manufacturing types on inhibition of mouse mast cell activation., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**(11), p.2277-2279. DOI: 10.1271/bbb.62.2277.
- Maeda-Yamamoto, M.; Inagaki, N.; Kitaura, J.; Chikumoto, T.; Kawahara, H.; Kawakami, Y.; Sano, M.; Miyase, T.; Tachibana, H.; Nagai, H.; Kawakami, T., 2004, O-methylated catechins from tea leaves inhibit multiple protein kinases in mast cells., *J. Immunol.*, **172**(7), p.4486-4492. DOI: 10.4049/jimmunol.172.7.4486.
- Minamida, K.; Ohashi, M.; Hara, H.; Asano, K.; Tomita, F., 2006, Effects of ingestion of difructose anhydride III (DFA III) and the DFA III-assimilating bacterium *Ruminococcus productus* on rat intestine., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**(2), p.332-339. DOI: 10.1271/bbb.70.332.
- Murata, K.; Abe, Y.; Shinohara, K.; Futamura-Masuda, M.; Uwaya, A.; Isami, F.; Matsuda, H., 2014, Anti-allergic activity of the *Morinda citrifolia* extract and its constituents., *Phcog. Res.*, **6**(3), p.260-265. DOI: 10.4103/0974-8490.132608.
- Nagai, H., 2012, Recent research and developmental strategy of anti-asthma drugs., *Pharmacol. Ther.*, **133**(1), p.70-78. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2011.09.001.
- Patil, V. V.; Patil, V. R., 2011, Evaluation of anti-inflammatory activity of *Ficus carica* Linn. leaves., *Indian J. Nat. Prod. Resour.*, **2**(2), p.151-155.
- Rivera, J.; Olivera, A., 2007, Src family kinases and lipid mediators in control of allergic inflammation., *Immunol. Rev.*, **217**(1), p.255-268. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2007.00505.x.
- Robinson, D. S.; Hamid, Q.; Ying, S.; Tsicopoulos, A.; Barkans, J.; Bentley, A. M.; Corrigan, C.; Durham, S. R.; Kay, A. B., 1992, Predominant TH2-like Bronchoalveolar T-Lymphocyte Population in Atopic Asthma., *N. Engl. J. Med.*, **326**(5), p.298-304. DOI: 10.1056/NEJM199201303260504.
- Sadegh, A. M.; Marziyeh, A. Z.; Hajie, B. S.; Mohammad, E. A.; Nima, M., 2016, *Ficus carica* leaves decoction on glycemic factors of patients with type 2 diabetes mellitus: a double-blind clinical trial., *Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod.*, **11**(1), e25814. DOI: 10.17795/jjnpp-25814.
- Santini, F.; Beaven, M. A., 1993, Tyrosine phosphorylation of a mitogen-activated protein kinase-like protein occurs at a late step in exocytosis. Studies with tyrosine phosphatase

- inhibitors and various secretagogues in rat RBL-2H3 cells., *J. Biol. Chem.*, **268**(30), p.22716-22722. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)41586-4.
- Serraclara, A.; Hawkins, F.; Pérez, C.; Domínguez, E.; Campillo, J. E.; Torres, M. D., 1998, Hypoglycemic action of an oral fig-leaf decoction in type-I diabetic patients., *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **39**(1), p.19-22. DOI: 10.1016/S0168-8227(97)00112-5.
- Shigematsu, N.; Okuhara, Y.; Shiomi, T.; Tomita, F.; Hara, H., 2004, Effect of Diffructose Anhydride III on Calcium Absorption in Humans., *Biosci. Biotechnol. Biochemi.*, **68**(5), p.1011-1016. DOI: 10.1271/bbb.68.1011.
- Stephen Irudayaraj, S.; Christudas, S.; Antony, S.; Duraipandiyar, V.; Naif Abdullah, A. D.; Ignacimuthu, S., 2017, Protective effects of *Ficus carica* leaves on glucose and lipids levels, carbohydrate metabolism enzymes and β -cells in type 2 diabetic rats., *Pharm. Biol.*, **55**(1), p.1074-1081. DOI: 10.1080/13880209.2017.1279671.
- Sun, B. Q.; Chen, D. H.; Zheng, P. Y.; Huang, H. M.; Luo, W. T.; Zeng, G. Q.; Zhang, X. W., 2014, Allergy-related evidences in relation to serum IgE: data from the China state key laboratory of respiratory disease, 2008-2013. *Biomed. Environ. Sci.*, **27**(7), p.495-505. DOI: 10.3967/bes2014.081.
- Suzuki, T.; Hara, H.; Kasai, T.; Tomita, F., 1998, Effects of diffructose anhydride III on calcium absorption in small and large intestines of rats., *Biosci. Biotechnol. Biochemi.*, **62**(5), p.655-661. DOI: 10.1271/bbb.62.837.
- Takahashi, T.; Okiura, A.; Saito, K.; Kohno, K., 2014, Identification of phenylpropanoids in fig (*Ficus carica* L.) leaves., *J. Agric. Food Chem.*, **62**(41), p.10076-10083. DOI: 10.1021/jf5025938.
- 高橋 徹; 沖浦 文, 2016, イチジク茶の食品安全性に関する検討., *東洋食品研究所 研究報告書*, **31**, p.11-18.
- Tomita, K.; Nagura, T.; Okuhara, Y.; Nakajima-Adachi, H.; Shigematsu, N.; Aritsuka, T.; Kaminogawa, S.; Hachimura, S., 2007, Dietary melibiose regulates Th cell response and enhances the induction of oral tolerance., *Biosci. Biotechnol. Biochemi.*, **71**(11), p.2774-2780. DOI: 10.1271/bbb.70372.
- Verma, N. D.; Hall, B. M.; Plain, K. M.; Robinson, C. M.; Boyd, R.; Tran, G. T.; Wang, C.; Bishop, G. A.; Hodgkinson, S. J., 2014, Interleukin-12 (IL-12p70) promotes induction of highly potent Th1-like CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells that inhibit allograft rejection in unmodified recipients., *Front Immunol.*, **5**, DOI: 10.3389/fimmu.2014.00190.
- Woodfolk, J. A., 2007, T-cell responses to allergens., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **119**(2), p.280-294. DOI: 10.1016/j.jaci.2006.11.008.
- Yamaguchi, M.; Sayama, K.; Yano, K.; Lantz, C. S.; Noben-Trauth, N.; Ra, C.; Costa, J. J.; Galli, S. J., 1999, IgE enhances Fc epsilon receptor I expression and IgE-dependent release of histamine and lipid mediators from human umbilical cord blood-derived mast cells: synergistic effect of IL-4 and IgE on human mast cell Fc ϵ receptor I expression and mediator release., *J. Immunol.*, **162**(9), p.5455-5465. DOI: 10.4049/jimmunol.162.9.5455.
- Yamashita, T.; Mao, S. Y.; Metzger, H., 1994, Aggregation of the high-affinity IgE receptor and enhanced activity of p53/56lyn protein-tyrosine kinase., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **91**(23), p.11251-11255. DOI: 10.1073/pnas.91.23.11251.
- 吉田 茂利, 大畑 映利子, 増田 健幸, 岡田 早苗, 宮崎 洋二, 山下 哲郎, 保井 久子, 2010, アトピー性皮膚炎モデルマウスにおける *Lactobacillus plantarum* FG4-4 のアレルギー抑制作用, *日本乳酸菌学会誌*, **21**(3), p.214-220. DOI: 10.4109/jslab.21.214.
- Zhang, Y.; Wan, Y.; Huo, B.; Li, B.; Jin, Y.; Hu, X., 2018, Extracts and components of *Ficus carica* leaves suppress survival, cell cycle, and migration of triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cells., *OncoTargets Ther.*, **11**, p.4377-4386. DOI: 10.2147/OTT.S171601.