

# グリーンナッツオイルの 抗アレルギー効果と脂肪酸組成

竹山恵美子・新海シズ・花田悦穂・吉田友理恵・渡辺睦行・福島正子

## Anti-allergic Effect and Fatty Acid Composition of Green Nut Oil

Emiko TAKEYAMA, Shizu SHINKAI, Etsuho HANADA, Yurie YOSHIDA,  
Nakamichi WATANABE and Masako FUKUSHIMA

The number of individuals with allergic disease has been increasing in recent years. One suspected reason for this increase is excessive consumption of n-6 fatty acids, which are contained at high levels in vegetable oils and meats. In contrast, n-3 fatty acids are believed to have an inhibitory effect on allergic disease. Various foods including blueback fish contain high levels of n-3 fatty acids. Green nut oil (GNO) also contains approximately 50%  $\alpha$ -linoleic acid. Therefore, we investigated the inhibitory effect of GNO on atopic dermatitis.

Four-week-old male NC/Nga TndCrlj mice were divided into a GNO-treated group and a corn oil-treated (CO) group and reared for 7 weeks. Once a week, a picryl chloride solution was applied to the backs and auricles of the mice to induce allergic dermatitis.

Erythrocyte membrane and liver EPA and DHA contents were significantly higher in the GNO group compared to the CO group, suggesting that the EPA and DHA was converted from  $\alpha$ -linoleic acid. Erythrocyte membrane and liver arachidonic acid contents were higher in the CO group. The progress of allergic disease was slower in the GNO group compared to the CO group. Blood serum IgE levels tended to be lower in the GNO group compared to the CO group, suggesting that GNO may have an anti-allergic effect.

*Key words:* anti-allergic effect (抗アレルギー効果), green nut oil (グリーンナッツオイル), n-3 fatty acid (n-3系脂肪酸), NC/Nga TndCrlj mouse (NC/Nga TndCrlj マウス)

## I. 緒 言

アレルギー疾患を持つ人は近年増加傾向にあり、その原因の1つに植物油や獣肉に多く含まれるn-6系脂肪酸の過剰摂取が関与している可能性が示唆されている<sup>1)</sup>。脂質は、細胞膜の構成成分であるとともに、エネルギー産生の主要な基質であるため、ヒトにとって欠かすことのできない栄養素である。また、油脂を構成する脂肪酸のうち特にリノール酸や $\alpha$ -リノレン酸は、ヒトの体内では合成できないこと

から経口摂取が必要である<sup>2)</sup>。

n-3系脂肪酸である $\alpha$ -リノレン酸は、体内で一部EPAやDHAに変換されるが、EPA、DHAには抗アレルギー効果が認められている。有田らはEPAやDHAはアラキドン酸と競合し、アラキドン酸代謝の酵素を抑制することで生理活性物質の産生および炎症を抑制、収束を促進すると報告している<sup>3)4)5)</sup>。このように、アレルギー反応においてn-3系脂肪酸は抑制的に働いていると考えられている<sup>4)</sup>。n-3系脂肪酸は青魚などの食品に多いが、植物とし

ては主に亜麻仁油やエゴマ油に多く含まれる。またペルーのアマゾンに分布するグリーンナッツ (*Plukenetia volubilis* L.) をコールドプレスして得られる油 (グリーンナッツオイル) にも、 $\alpha$ -リノレン酸が脂肪酸の約 50% 含まれている。

そこでグリーンナッツオイルのアトピー性皮膚炎の抑制効果について検討した。

## II. 実験方法

### 1. 実験動物および飼育方法

マウスは日本チャールス・リバー (株) から購入した 4 週齢、雄 NC/Nga TndCrlj を用いた。1 週間予備飼育した後、平均体重がほぼ等しくなるよう 20 匹を 2 群に分けた。マウスは、温度  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、明暗サイクル 12 時間 (明期 7 時~19 時) の条件下で 1 ケージにつき 1 匹を飼育した。飲料水 (水道水) と飼料は自由摂取とした。1 週間の予備飼育では、固形飼料 CRF-1 (日本チャールス・リバー (株) 製) を、その後は 2 群にそれぞれ AIN-93G 大豆油抜き (オリエンタル酵母工業 (株) 製) にグリーンナッツオイル (NPO 法人アルコイリス製) あるいはコーンオイル (オリエンタル酵母工業 (株) 製) を 7% 添加し、そこに全体の約 40% の水を加え、1 つ約 20 g の団子状にしたものを飼料として与え、7 週間飼育した。この飼料で 1 週間飼育後、毎週 1 回塩化ピクリル溶液を背中と耳介に塗布して、皮膚炎の発症を促した。

各マウスは、飼育最終日に 18 時間絶食、2 時間絶水後、イソフルランで麻酔し、血液・肝臓等を採取した。

なお、本研究は昭和女子大学動物実験委員会の承認を受け、規定を遵守して行った。

### 2. 試薬

皮膚炎誘発用塩化ピクリル溶液は、初回はアセトン、エタノール (1:4) に 5 v/v% として溶解したものをを用いた。2 回目以降の溶液は 1 v/v% とし、オリーブオイル ((株) J-オイルミルズ製) に溶解した。

ガスクロマトグラフィー (GC) 分析用は、内部標準溶液にウンデカン酸 ( $\text{C}_{11:0}$ ) (東京化成工業 (株) 製) を用いた。標準脂肪酸はパルミチン酸、パルミ

トオレイン酸、ステアリン酸、アラキドン酸、EPA、DHA (SIGMA-ALDRICH 製)、オレイン酸、リノール酸、 $\alpha$ -リノレン酸 (和光純薬工業 (株) 製) の各メチルエステル化標準品をアセトンに溶解して用いた。

### 3. 器具および装置

GC は GC-4000 型 (GL サイエンス (株))、カラム InertCap Pure-WAX, 0.25 mm  $\times$  30 m, 膜厚 0.5  $\mu\text{m}$  を用いた。GC-MS は、JMS-AX500 型 (JEOL 製) を用いた。

### 4. 測定方法

血液は、ノボヘパリン (持田製薬 (株)) を入れたマイクロチューブに採取し、3000 rpm、約 10 分間遠心分離し、赤血球層と血清層に分離した。

赤血球膜総脂質は、小沢らの方法<sup>6)</sup>に準じ溶血、抽出後、クロロホルム、メタノール 2:1 v/v で溶解した。肝臓総脂質は、肝臓を生理食塩水、クロロホルム、メタノールでホモジナイズと遠心分離をくり返し抽出後、クロロホルムに溶解した。各組織の脂肪酸含量はメチルエステル化後、GC で測定し、同定は GC-MS で行った。

皮膚炎の症状は出血、発赤、脱毛、乾燥、発疹について、目視で観察を行った。

背部と耳介の病理組織は 10% ホルマリンに浸漬後、(株) バイオ病理研究所にて組織標本を作製し、HE 染色したものを顕微鏡観察した。

血清中 IgE 濃度の測定は、モリナガ IgE 測定キット ((株) 森永生科学研究所製) を用い、450 nm で吸光度を測定し、標準曲線から検体中の値を求めた。

### 5. 分析方法

GC 分析は、前報<sup>7)</sup>に従って行った。カラム流量 (He ガス): 1.20 ml/min, スプリット法, スプリット流量: 50 ml/min, セプタムパージ流量: 5.00 ml/min, スプリット比: 50:1, 注入口温度・検出口温度:  $200^\circ\text{C}$ , 昇温は  $70^\circ\text{C} \rightarrow (15^\circ\text{C}/\text{min} \text{ 昇温}) \rightarrow 190^\circ\text{C}$  で 5 分保持  $\rightarrow (4^\circ\text{C}/\text{min} \text{ 昇温}) \rightarrow 240^\circ\text{C}$  で 30 分保持して測定した。

GC-MS は GC と同様のカラムを用い、インジェ

クターおよびセパレーター温度 250°C, EI 法で行った。

## 6. 検定方法

本研究で得られたデータの検定は Student t-test により行った。有意水準は 5% とした。

## III. 結果および考察

NC/Nga TndCrlj マウスの赤血球膜および肝臓中の脂肪酸組成を図 1, 2 に示した。コーンオイル群に比べ、グリーンナッツオイル群の赤血球膜および肝臓中の EPA・DHA は有意に高く、 $\alpha$ -リノレン酸から代謝・変換された可能性が示唆された。赤血球膜・肝臓中のアラキドン酸は、コーンオイル群で

高かった。

摂取した脂肪酸は体内で  $\Delta$ 6-デサチュラーゼや  $\Delta$ 5-デサチュラーゼによって不飽和化、鎖長延長され、 $\alpha$ -リノレン酸からは EPA, DHA, リノール酸からはアラキドン酸が生成されることが明らかにされている<sup>8)</sup>。また、摂取した脂質は細胞膜の脂肪酸組成に影響を与えられている<sup>9)</sup>。今回の赤血球膜、肝臓の両組織におけるアラキドン酸や  $\alpha$ -リノレン酸, EPA, DHA の含有量は、摂取したグリーンナッツオイルとコーンオイルの影響を受けたと考えられる。その結果、プロスタグランジンやロイコトリエンなどの生理活性物質の産生量も両群で異なり、そのことがアレルギー症状に差をもたらしたと推察された。

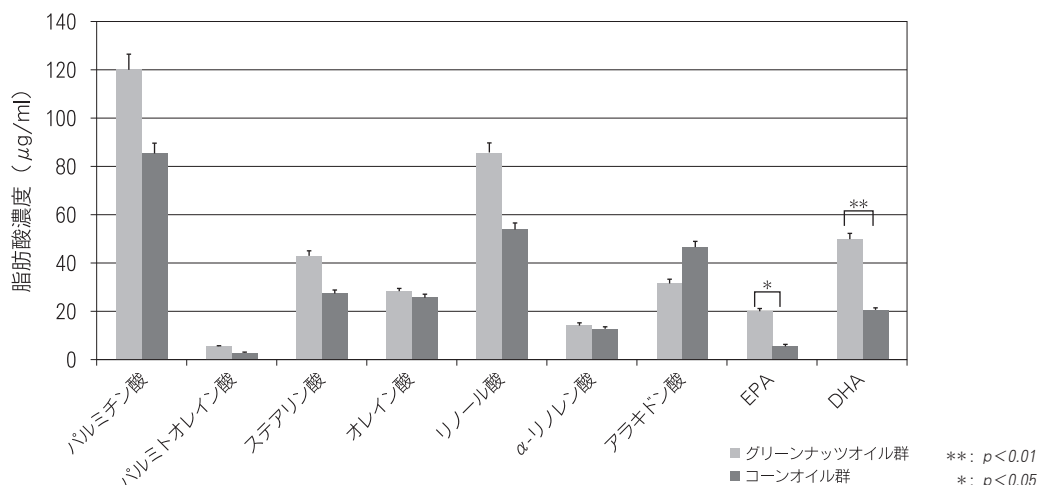


図 1 赤血球膜中の脂肪酸組成

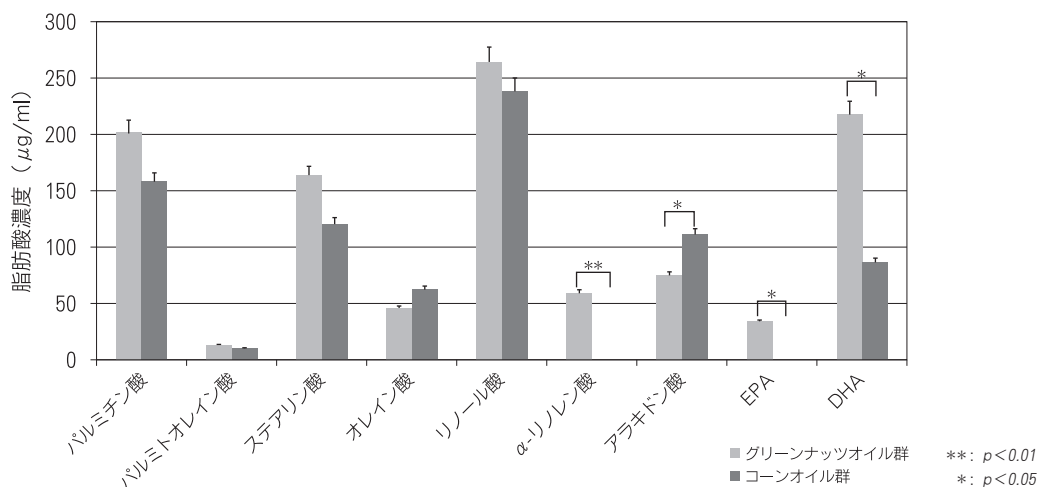


図 2 肝臓中の脂肪酸組成

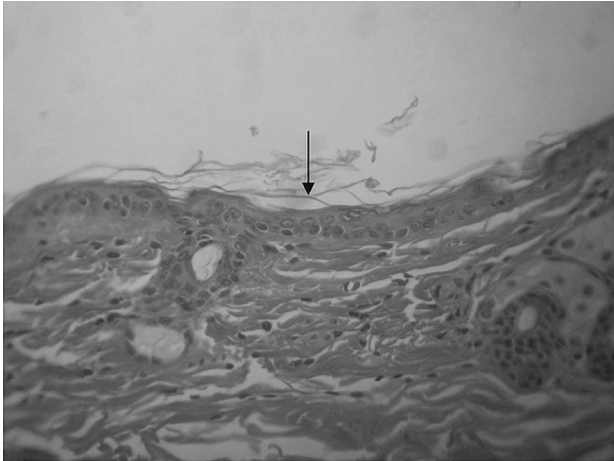


図3 グリーンナッツオイル群: 皮膚 (×400)

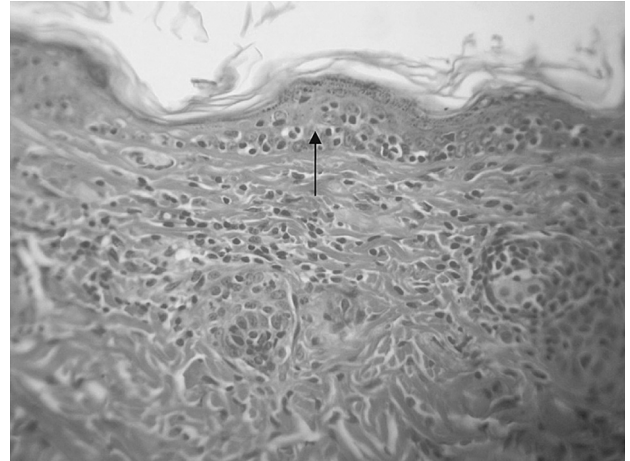


図4 コーンオイル群: 皮膚 (×400)

皮膚の組織標本を HE 染色し光学顕微鏡にて観察した結果を図3, 4に示した。グリーンナッツオイル群に比べ、コーンオイル群で扁平上皮の肥厚が見られた。

血清中の IgE 値を図5に示した。個体差が大きく、有意差は認められなかったものの、グリーンナッツオイル群はコーンオイル群に対し低い傾向を示し、また、血清中 IgE 濃度が高いマウスでは、脱毛や引っ掻きなどのアレルギー症状が目視で観察された。

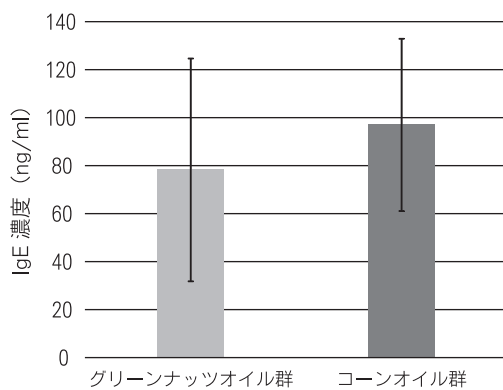


図5 血清中 IgE 濃度

以上のことから、グリーンナッツオイルにおける抗アレルギー効果が示唆されたが、塩化ピクリル溶液の濃度設定の問題や塗布方法が均一でなかったことにより、明確な有意差を得られなかったことが考えられる。今後はこの点を考慮し、さらに検討していきたいと考えている。

#### 参考文献

- 1) 矢田純一: ポピュラー・サイエンス 231 アレルギーとアトピー, 裳華房, 東京, pp 2, 4, 15, 94, 95 (2001).
- 2) 菱田明, 佐々木敏監修: 日本人の食事摂取基準 (2015年版), 第一出版, 東京, pp 117, 119 (2014).
- 3) 有田誠, 磯部洋輔:  $\omega$ 3 脂肪酸系メディエーターと炎症反応の収束, 化学と生物, **46**(5), 316-322 (2008).
- 4) 奥山治美, 小林哲幸, 浜崎智仁: 脂質栄養学シリーズ3 油脂 (あぶら) とアレルギー, 学会出版センター, 東京, pp 6, 7, 51, 99, 100 (1999).
- 5) 伊藤浩明, 菊池哲, 山田政功, 鳥居新平, 片桐雅博: アトピー性皮膚炎に対する  $\alpha$ -リノレン酸強化食療法の効果について—6例の外来通院児によるパイロットスタディー, 日本小児アレルギー学会誌, **6**(3), 87-91 (1992).
- 6) 小沢昭夫, 中村恵以子, 神保裕江, 藤田孝夫, 平井愛山, 寺野隆, 浜崎智仁, 田村泰, 熊谷朗: 薄層クロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィーを用いたヒト血しょう, 血小板, 赤血球膜の脂質画分の高級脂肪酸の定量法, 分析化学, **32**, 174-178 (1983).
- 7) Emiko TAKEYAMA, Masako FUKUSHIMA: Physicochemical properties of *Plukenetia volubilis* L. seeds and oxidative stability of cold-pressed oil (Green Nut Oil), *Food Science and Technology Research*, **19**(5), 875-882 (2013).
- 8) 免疫学ハンドブック編集委員会: 免疫学ハンドブック, オーム社, 東京, pp 81, 86, 138 (2005).
- 9) J. A. Hall, L. R. Henry, S. Jha, M. M. Skinner, D.

E. Jewell, R. C. Wander: Dietary (n-3) fatty acids alter plasma fatty acids and leukotriene B synthesis by stimulated neutrophils from healthy geriatric Beagles, Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, **73**, 335-341 (2005).

(たけやま えみこ 管理栄養学科)

(しんかい しず 飯田女子短期大学, 平成 21 年度生活機構研究科生活科学研究専攻修了生)

(はなだ えつほ 平成 24 年度生活科学科卒業生)

(よしだ ゆりえ 平成 24 年度生活科学科卒業生)

(わたなべ なかみち 健康デザイン学科)

(ふくしま まさこ 健康デザイン学科)