

タデ藍の生理機能

福田 恵温

Biological functions of *Polygonum tinctorium* extract

Shigeharu FUKUDA

Abstract

The physiological functions of the extract of *Polygonum tinctorium*, a traditional Japanese indigo plant, were investigated. As a result, it was found that the extract shows various physiological functions such as cancer preventive, anti-inflammatory, anti-oxidative, and anti-microbial effects. By isolation of bioactive components, tryptanthrin, indirubin, kaempferol and gallic acid were identified. In particular, tryptanthrin has strong anti-inflammatory and anti-microbial effects and is considered to be the main active ingredient in *Polygonum tinctorium*. *In vivo* test using mice, the anti-*Helicobacter pylori*, cancer preventive effect and improvement of hyperlipidemia effect were confirmed. In clinical studies, the therapeutic effect on periodontal disease and candidiasis were confirmed.

Key words : *Polygonum tinctorium*, anti-inflammation, anti-cancer, anti-periodontitis

キーワード：タデ藍, 抗炎症作用, 抗腫瘍, 抗菌周病

1. はじめに

筆者らは1990年代, 種々植物抽出物の生理活性の探索, 機能性成分の単離を行っていた. その中でタデ藍 (*Polygonum tinctorium*) に着目した. 藍染めされた布は防虫, 殺菌, 解毒, 止血などの効果が古くから知られていた. しかし当時は機能性食品としての研究はほとんど実施されていなかった. 食用としては大分県の一部でお茶として飲用されているのみであった.

一方で神農本草経, 本草綱目などには薬用植物とし

て利用するとの記載があった. その中で筆者らが最も注目したのは, 中薬大辞典・タイセイヨウ (大青葉, タデ藍も含まれる) の臨床報告の項目に, 「流行性B型脳炎 (日本脳炎) の治療において数百例の観察によれば, 治癒率は93~98%である.」と記載されていた¹⁾. さらに, 「急性伝染性肝炎に対する効果はもっとも顕著であり, 100例に対する処方の結果, 有効率は94%であった.」と驚異的な治療効果が記載されていた. 急性伝染性肝炎が現在のA型, B型, C型等のどのウイルス性肝炎に相当するのかは不明であるが, 少なく

ともウイルス性疾患には高い効果を示すことが期待された。

藍染の濃い青色はジャパン・ブルーと呼ばれ、日本を象徴する色でもあり、我々はタデ藍の機能性を調べることにした。原料となるタデ藍は徳島県を中心に栽培されていたがもっぱら染色用原料であり、当時食用を目的としての栽培は行われていなかったため、島根県の藍染作家・青戸由美恵氏に特別に食用タデ藍の栽培をお願いした。化学合成薬（農薬、殺虫剤）は一切使用せず、天然の抗菌剤、殺虫剤を使用して栽培していただいた。

また藍染には、刈り取った藍葉を乾燥し、その後水を加えて発酵させることにより染色原料である「すくも」を作るが、我々は発酵させる前の生葉、あるいは乾燥葉を試験材料とした。

生葉、あるいは乾燥葉を水で戻したものをブレンダーで粉碎、水抽出した画分（藍エキス）、あるいは酢酸エチル、メタノールで抽出した画分、さらには藍葉内に存在を確認したトリプタンスリン (tryptanthrin)、インディルビン (indirubin)、ケンフェロール (kaempferol)、没食子酸 (gallic acid) などを用いた。

なおインディゴ (indigo)、インディルビン、トリプタンスリンは、タデ藍の葉中に存在するインディカン (indican) がβ-グルコシダーゼにより分解され、生成したインドキシルが2分子結合した異性体である (図1)。

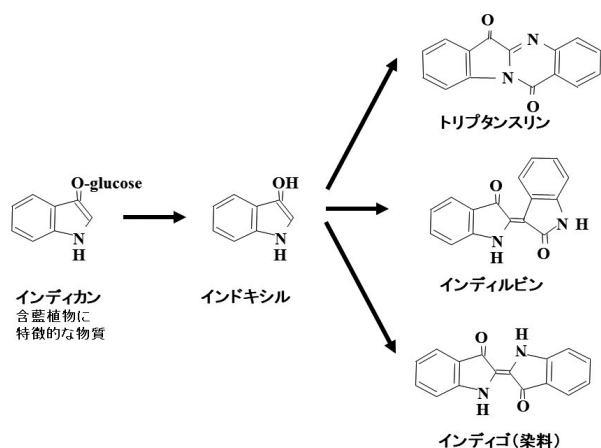


図1 藍エキス中有効成分の生成経路

2. 抗菌（抗 *Helicobacter pylori*）作用

タデ藍酢酸エチル抽出液中に胃潰瘍の原因菌である *H. pylori* に対する抗菌作用が認められ、カラムクロマトグラフィーにより単離したところ、ケンフェロール、メトキシケンフェロール、トリプタンスリンであった。その中で、トリプタンスリンが最も強い抗菌活性を示した (表1)²⁾。ATCC, NCTC 株を含む4種類の *H. pylori* に対して同程度の抗菌作用を示した。

表1 タデ藍成分の抗 *H. pylori* 活性

単離物質	構造	抗 <i>H. pylori</i> 活性 (MIC, µg/ml)
ケンフェロール		39
メトキシケンフェロール		39
トリプタンスリン		2.5

方法: 最少生育阻止濃度(MIC)を測定

単離: 酢酸エチル抽出 → ODSカラムクロマトグラフィー

→ シリカゲルカラムクロマトグラフィー

なおトリプタンスリンは真菌に対して抗菌性を示す物質として、すでに琉球藍 (*Strobilanthes cusia*, キツネノマゴ科) から単離されていた³⁾。

次に *in vivo* で抗 *H. pylori* 作用を示すのかを確認するため、スナネズミの胃内に *H. pylori* を定着させた後、トリプタンスリン、ケンフェロールを経口投与し、11日目に胃内の菌数を確認した。その結果、図2に示したように、トリプタンスリン、ケンフェロールの併用投与により容量依存的に菌数が減少していることが分かった⁴⁾。臨床的に *H. pylori* の除菌に用いられる3種抗生物質 (アモキシリン、クラリスロマイシン、オメパゾール) に匹敵する効果を示した。3種薬剤投与では下痢などの副作用を示すことが多いが、トリプタンスリン、ケンフェロールではそのような現象は認められず、併用により抗生物質の使用量を減じることができるのではないかと期待される。

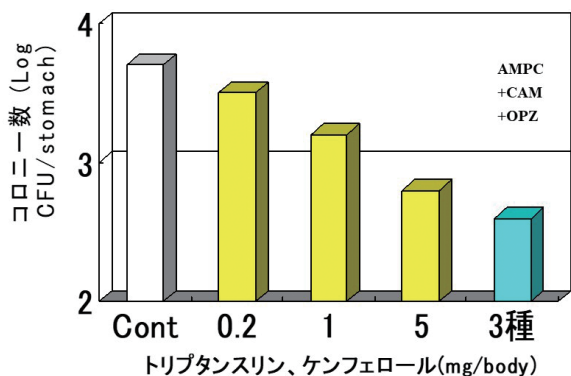


図2 トリプタンスリン、ケンフェロールの抗 *H. pylori* 作用
 3種: アモキシリン (AMPC), クラリスロマイシン (CAM), オメパゾール (OPZ) 混合薬剤

3. 抗ウイルス作用

水泡性口内炎ウイルス (VSV), インフルエンザウイルス, ヒト単純ヘルペスウイルス (HSV-1), ワクシニアウイルス (VV), サイトメガロウイルス (CMV) を感染させた培養細胞を用いて, 藍抽出エキスの抗ウイルス作用を検討した. その結果, 藍のメタノールおよび酢酸エチル抽出エキスはウイルス増殖抑制作用を示した (図3)⁵⁾. また, メタノール抽出エキスをウイルス感染時から作用させた細胞は, 培養期間のみエキスを作用させたコントロールに比べて, 細胞生存率が向上した. 以上の結果より, 藍にはウイルス増殖抑制および感染阻害物質の存在が示され, インフルエンザ等を含むウイルス関連疾患へ効果を示すことが期待された.

なお寿スピリッツは奈良県立医科大学との共同研究により, 藍由来抽出物が新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)に対して不活化効果を示すことを報告している⁶⁾.

4. 発癌抑制作用

癌細胞への傷害活性を指標に藍の酢酸エチル抽出エキスより有効成分の単離を試みた結果, 活性本体はトリプタンスリンであることがわかった⁷⁾. トリプタン

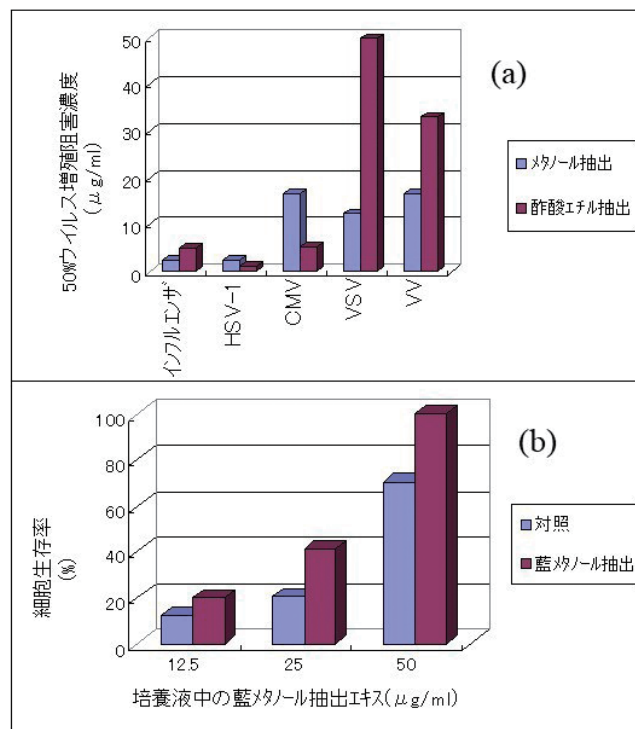


図3 藍抽出エキスの抗ウイルス作用
 (a) ウイルス増殖抑制作用
 (b) ウイルス感染細胞に対する作用

スリンは各種癌細胞に強い殺癌効果を示すが, 正常細胞に対しては傷害が軽度であった. また, トリプタンスリンの作用機序は, 細胞の膨化や空胞化の所見がみられることから, ミトコンドリアの傷害やDNA合成阻害が関与したアポトーシス誘導によるものと考えられた⁸⁾.

上記の結果を踏まえて, 大腸における発癌抑制効果を検討した. ラットにアゾキシメタンを投与することにより大腸癌を誘発した. 短期間 (7週間) の投与において, 前癌状態の組織数 (ACF数) が藍酢酸エチルエキスまたはトリプタンスリンの経口投与によって抑制された (図4 (a))⁹⁾. また長期投与 (30週間) において, 小腸や大腸の発癌が藍酢酸エチルエキスとトリプタンスリンの経口投与により抑制された (図4 (b)). 酢酸エチルエキスでは小腸腺腫の発生率は0%であり, 一方トリプタンスリンでは小腸腺腫および大腸癌がほぼ完璧に抑制された. 以上の結果より, 藍のエキスが発癌予防に有効であることが示唆された.

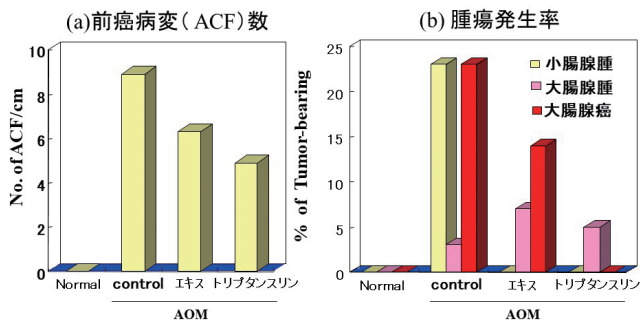


図4 抗発癌作用 (大腸腫瘍発生抑制)

F344 Rat
 アゾキシメタン (AOM) 7.5mg/kg 皮下投与 (1回/週, 10週)
 ↓
 藍酢エチエキス, トリプタンスリン経口投与 (5回/週, 30週)
 前癌病変 (ACF), 腫瘍発生数, 組織観察

5. 高脂血症改善効果

藍の高脂血症に対する作用を検討するため、20%脂質含有飼料を20週間摂取させ、高脂血症マウスモデルを誘導した。同時に藍水抽出エキス凍結乾燥品を0.1%、1%添加した試験群を設定し、血清中の脂質濃度を調べた。

藍を添加した高脂肪食群は投与23週目において、血清中の中性脂肪およびコレステロール量が有意に低下しており、その作用は用量依存的であった (図5)¹⁰。高脂肪食による高脂血症モデルにおいて、藍の摂取により血清中の脂質成分の低下が認められたことより、藍には、脂質代謝改善作用があることが示唆された。

木村は2型糖尿病モデルラットに食用藍を投与することにより体重増加、および中性脂肪増加が抑制さ

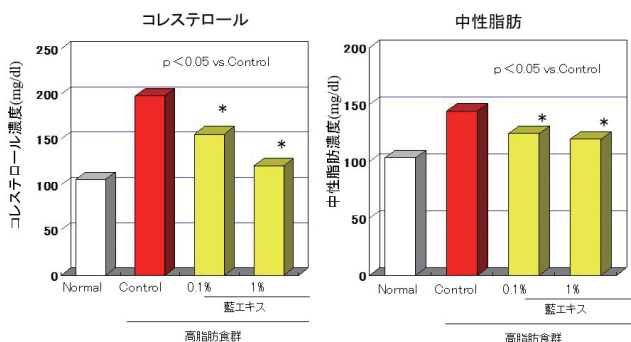


図5 高脂血症改善作用

動物: C57BL/6Jマウス (♂) 6週齢
 誘導法: 20% 脂肪含有飼料を20週間摂取

れることを確認している¹¹。

6. 抗炎症作用¹²⁻¹⁴

トリプタンスリンの持つ抗炎症作用に着目し、体内での炎症反応に重要な役割を果たすマクロファージへの作用を調べた。

トリプタンスリンをマウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7に作用させることにより、患部の腫れ等の原因ともなる窒素酸化物 (NO) の産生が抑制された。これはNO合成酵素 (iNOS) の合成量が抑えられていることに起因していた。また、痛みの原因物質の一つであるプロスタグランジンE2 (PGE2) の産生も低濃度トリプタンスリン処理により抑制されることが確認された (図6)¹³。これはPGE2産生に参与する酵素 (シクロオキシゲナーゼ) 自体への阻害作用によるものであり、NO産生抑制作用とは異なるメカニズムである。すなわちトリプタンスリンは複数のメカニズムにより抗炎症作用を発揮することが示唆された。

さらにデキストラン硫酸ナトリウム誘導性大腸炎モデルにおいて90%のマウスが死に至ったが、トリプタンスリンの経口投与群では全てのマウスが生存し、早期から大腸炎からの回復、体重の回復が認められた。

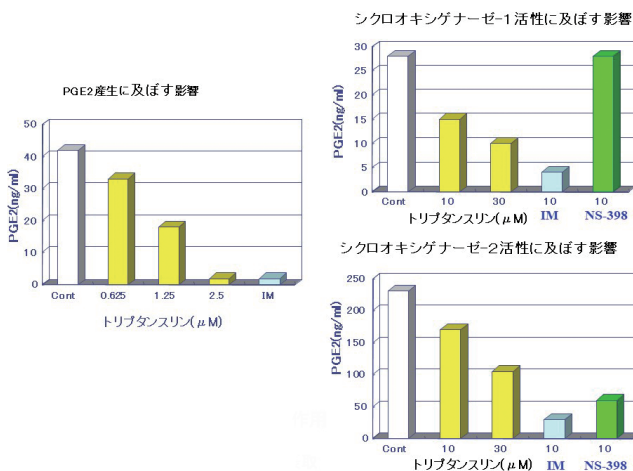


図6 トリプタンスリンの抗炎症作用

動物: C57BL/6Jマウス (♂) 6週齢
 誘導法: 20%脂肪含有飼料を20週間摂取
 IM: インドメタシン

トリプタンスリンの投与により大腸での炎症が抑制された結果であると考えられる¹⁴⁾。

またトリプタンスリン、藍には胃炎、大腸炎等の内臓系炎症疾患はもとより、皮膚の炎症等を含む広範な症状緩和に有効ではないかと期待された。

7. 歯周病改善効果

藍水エキスの歯周病原菌およびう蝕原因菌に対する抗菌作用を調べた。その結果、藍水エキスは歯周病原菌およびう蝕原因菌のいずれに対しても抑制作用を示した。藍含有単離成分を用いて検討したところ、活性主成分のひとつはトリプタンスリンであることがわかった (表2)¹⁵⁾。

表2 タデ藍含有成分の歯周病菌に対する抗菌効果

菌種	JCM番号	MIC (μg/ml)			
		没食子酸	カフェ酸	ケンフェロール	トリプタンスリン
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	JCM12257	400	400	100	12.5
	JCM8525	400	400	25	6.25
	ATCC33277	400	400	100	12.5
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	JCM2434	800	400	200	25
	JCM8577	800	200	200	25
	JCM7365	400	100	100	25
<i>Prevotella intermedia</i>	JCM7365	400	100	100	25
<i>Campylobacter rectus</i>	JCM6301	400	400	25	6.25
<i>Streptococcus mutans</i>	OMZ-176	400	800	25	12.5
	OMZ-175	400	400	25	6.25
	OMZ-65	1600	200	25	12.5
	B-13D	200	200	25	6.25
	Imgbrott	1600	1600	100	25
	OMZ-61	200	400	50	6.25
<i>Streptococcus sobrinus</i>	6715	800	800	200	25

この結果をもとに歯周病に対する効果を臨床で確認することにした。藍水エキスを含む歯磨剤を歯周病患者が2ヵ月間使用したところ、歯周ポケットが浅くなり(図7a)、また出血の程度も著しく改善された(図7b)¹⁶⁾。以上の結果より、藍水エキスを含む歯磨剤は歯周病を抑制する作用があることが明らかとなった。炎症性サイトカインである唾液中のTNF-αも有意に減少した(図7c)ことから、藍水エキスを含む歯磨剤の歯周病抑制作用は藍水エキスの抗炎症作用によるものと考えられた。

*本試験は、医療法人社団明徳会福岡歯科統合医療研究所の医師主導のもと、同法人倫理審査委員会にて承認を得て実施した。

認を得て実施した。

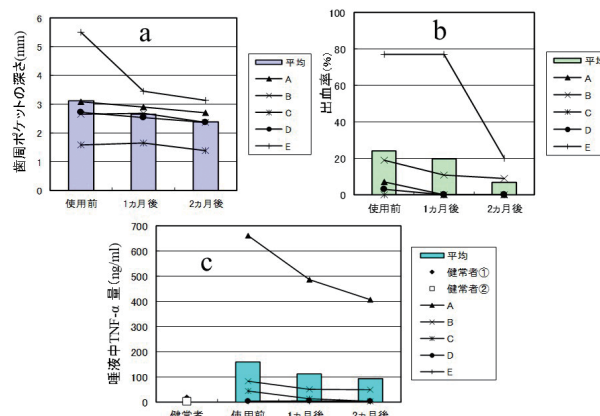


図7 藍エキス入り歯磨剤の歯周病に対する効果 (a) 歯周ポケットの深さ (b) 出血改善作用 (c) 唾液中 TNF-α 量

8. 生理作用のまとめ

これまでに我々が得たタデ藍抽出エキス、および各機能成分の生理作用を表3にまとめた。タデ藍抽出物が示す生理機能の主体はトリプタンスリンであり、生体に対する効果は抗炎症作用が主であると考えられる。

表3 藍由来成分の生理作用まとめ

生理作用	作用成分	発表論文
抗癌・抗腫瘍	トリプタンスリン	7, 8, 9, 30, 31
抗白血病	インディルピン、トリプタンスリン	8
抗炎症	トリプタンスリン、ケンフェロール	12, 13, 14
抗酸化	没食子酸、カフェ酸、ケンフェロール	32
抗アレルギー	インディルピン	29
抗菌	トリプタンスリン、ケンフェロール類	3, 4, 15
免疫調節	3,5,4'-トリヒドロキシ-6,7-メチレンジオキシフランケンフェロール	33
高脂血症改善	タデ藍水抽出エキス	11
歯周病抑制(ヒト試験)	タデ藍水抽出エキス	15, 16
抗カンジダ症(ヒト試験)	タデ藍水抽出エキス	34

9. 青黛による肺動脈性肺高血圧症の発症

青黛とは馬藍、タデ藍などの葉を水に浸漬して得られる青色色素を粉末にした漢方生薬であるが、一部の潰瘍性大腸炎に有効であることが分かり、臨床の場で用いられていた。しかし青黛は自己購入が可能であり、医師の指導外で青黛を過剰摂取した患者において重篤な肺動脈性肺高血圧症を発症する事例が認められ、2016年12月に厚生労働省は青黛治療は医師の管理下で

注意深く行うよう勧告を行った。

当時我々が使っていたのは発酵が進んでいない生葉エキスであり、しかも青黛に比べても成分が希薄なため全く問題はないであろうと考えていたが、ヒトへの応用は慎重に進めなければならない事態になった。

本年に入ってこの肺動脈性肺高血圧症の発症メカニズムがHiraideらのグループ¹⁷⁾、Masakiらのグループ¹⁸⁾により解明された。ダイオキシンなどの環境ホルモン受容体である芳香族炭化水素受容体（AHR）が青黛由来成分による異常な活性化により血管内皮細胞を過剰に増殖し、肺動脈性肺高血圧症の発症に繋がっていることが分かった。青黛中のインディゴ、インディルビンが強力なAHR活性化物質として報告されており、特にインディルビンはインディゴより40～50倍強い結合能を有していることが分かっている^{19, 20)}。インディルビンが主要な原因物質であると考えられている。さらにトリプタンスリンもAHRのアゴニストであることが報告されている²¹⁾。

一方で、AHRは生体において免疫、炎症反応の制御に重要な役割を果たしていることが分かってきている²²⁾。有効成分をいたずらに濃縮せず、作用最適値を見極めながらの製品設計が必要ではないかと考えられる。

10. 他の研究グループ

本稿では筆者らの行った研究成果について紹介をしてきたが、現時点で研究は止まっている。ただ藍の生理機能、食用への認知を広げる目的で発刊した小冊

子「藍 - 医色同源 -」（2001年）²³⁾は好評なようで、ある方から「福田さん、こんな本を知っていますか？」と逆に薦められた。藍染色家の間ではバイブルとなっているようで、当初から藍の研究開発を担当してきた筆者にとっては大変うれしい限りである。

紙面の都合上詳細な紹介ができなかったが、現在下記3グループが引き続き藍の機能性開発を進めている。

・近藤真紀教授ら（四国大学）

藍飲用による中性脂肪抑制効果の確認¹¹⁾、また安全性試験も実施し、食用には問題ないことを確認している²⁴⁾。

・佐々木健郎教授ら（東北薬科大学）

積極的な藍の機能性開発の研究を実施されている^{25, 26)}。

・木村英人博士ら（寿製菓株式会社）

タデ藍の原料販売と並行して積極的な機能性開発の検討を行っている。タデ藍葉より抗炎症、抗酸化能を有する3, 5, 4'-Trihydroxy-6, 7-Methylenedioxy-flavone-O-Glycosidesを発見し²⁷⁾、潰瘍性大腸炎モデルマウスで抗炎症作用を確認している²⁸⁾。

タデ藍の機能性研究、応用開発の可能性はまだまだ広がると考えており、各研究機関の大いなる進展を期待している。

*本論文に掲載した資料は、原文の図表を参考に新たに作成したものである。

(引用文献)

- 1) 中薬大辞典, 上海科学技術出版社/小学館, 1668-1671 (1985)
- 2) Takaharu Hashimoto, Hajime Aga, Hiroto Chaen, Shigeharu Fukuda and Masashi Kurimoto, *Natural Medicines.*, **53**, 27 (1999)
- 3) G. Honda and M. Tabata, *Planta Med.*, **36**, 85 (1979)
- 4) MARI KATAOKA, KYOKO HIRATA, TOSHIO KUNIKATA, SHIMPEI USHIO, KANSO IWAKI, KUNIHIRO

- OHASHI, MASAO IKEDA and MASASHI KURIMOTO, *J Gastroenterol.*, **36**, 5 (2001)
- 5) Tomoki Tatefuji, Miho Aga, Toshio Kunikata, Masao Ikeda and Masashi Kurimoto, *Natural Medicines.*, **53**, 297 (1999)
 - 6) 寿スピリッツ, News Release. , (2021)
 - 7) 木本哲夫, 山本祐規子, 日野恵子, 古谷聡美, 阿賀創, 橋本貴治, 花谷利春, 新井成之, 池田雅夫, 福田惠温, 栗本雅司, *Natural Medicines.*, **53**, 72 (1999)
 - 8) Tetsuo Kimoto, Keiko Hino, Satomi Koya-Miyata, Yukiko Yamamoto, Makoto Takeuchi, Yasushi Nishizaki, Mark J. Micallef, Shimpei Ushio, Kanso Iwaki, Masao Ikeda and Masashi Kurimoto, *Pathology International.*, **51**, 315 (2001)
 - 9) SATOMI KOYA-MIYATA, TETSUO KIMOTO, MARK J MICALLEF, KEIKO HINO, MITSUKI TANIGUCHI, SHIMPEI USHIO, KANSO IWAKI, MASAO IKEDA and MASASHI KURIMOTO, *ANTICANCER RESEARCH.*, **21**, 3295 (2001)
 - 10) 井上紳一郎, 高山悟, 牛尾慎平, 岩城完三, 大橋邦啓, 政木直也, 福田惠温, 池田雅夫, 栗本雅司, *Natural Medicines.*, **54**, 261 (2000)
 - 11) 木村衛由, 四国大学 平成30年度修士論文. , (2018)
 - 12) Tatsuya Ishihara, Takanori Okura, Keizo Kohno, Tadao Tanimoto, Hakuo Ikegami and Masashi Kurimoto, *J. Ethnopharmacology.*, **72**, 141 (2000)
 - 13) Tatsuya Ishihara, Keizo Kohno, Shimpei Ushio, Kanso Iwaki, Masao Ikeda and Masashi Kurimoto, *European Journal of Pharmacology.*, **407**, 197 (2000)
 - 14) Mark J. Micallef, Kanso Iwaki, Tatsuya Ishihara, Shimpei Ushio, Miho Aga, Toshio Kunikata, Satomi Koya-Miyata, Tetsuo Kimoto, Masao Ikeda and Masashi Kurimoto, *International Immunopharmacology.*, **2**, 565 (2002)
 - 15) Kanso Iwaki, Satomi Koya-Miyata, Keizo Kohno, Shimpei Ushio, Shigeharu Fukuda, *J. Nat. Med.*, **60**, 121 (2006), doi: 10.1007/s11418-005-0025-z
 - 16) 砂川正隆, 福岡博史, 小山悠子, 福岡明, 岩城完三, 日本歯科東洋医学会誌. , **25**, 7 (2006)
 - 17) Hiraide T. et al, *Am J Respir Crit Care Med.*, 2020 Oct 14. doi: 10.1164/rccm.202009-3385LE
 - 18) Takeshi Masaki et al, *Proc Natl Acad Sci USA*, **118**, 1 (2021) doi: 10.1073/pnas.2021899118
 - 19) L. Andrieux et al, *Mol. Pharmacol.*, **65**, 934 (2004)
 - 20) Jun Adachi et al. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY.*, **276**, 31475 (2001)
doi: 10.1074/jbc.C100238200
 - 21) Dieter Schrenk et al, *Biochemical Pharmacology.*, **54**, 165-171 (1997)
 - 22) Emily A. Stevens, Joshua D. Mezrich and Christopher A. Bradfield, *Immunology.*, **127**, 299 (2009)
doi:10.1111/j.1365-2567.2009.03054.x
 - 23) 岩城完三, 栗本雅司, 「藍 - 医色同源 - 」. , 日本文教出版株式会社 (2001)
 - 24) 小谷航, 木村衛由, 瀧野佑, 小島梨沙, 田中志歩, 辻博子, 近藤真紀, 四国大学新あわ学研究所年報. , **2**, 1 (2019)
 - 25) 佐々木健郎, 東北薬科大学研究誌. , **62**, 25 (2015)
 - 26) 金野太亮, 小林匡子, 村田敏拓, 佐々木健郎, 東北薬科大学研究誌. , **66**, 33 (2019)
 - 27) Shota Tokuyama-Nakai, Hideto Kimura, Tomoe Ishihara, Mitsuo Jisaka & Kazushige Yokota, *Applied Biochemistry and Biotechnology.*, **184**, 414 (2018)
 - 28) Hideto Kimura, Shota Tokuyama-Nakai, Yu Hirabayashi, Tomoe Ishihara, Mitsuo Jisaka, Kazushige Yokota, *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis.*, **193** (2021) 113716 doi: 10.1016/j.jpba.2020.113716

- 29) Toshio Kunikata, Tomoki Tatefuji, Hajime Aga, Kanso Iwaki, Masao Ikeda and Masashi Kurimoto, *European J. Pharmacology.*, **410**, 93 (2000)
- 30) 岩城完三, 栗本雅司, ファインケミカル., **31**, 5 (2002)
- 31) Kanso Iwaki and Masashi Kurimoto, *Recent Res. Devel. Cancer.*, **4**, 429 (2002)
- 32) 木本哲夫, 古谷聡美, 日野恵子, 山本祐規子, 阿賀創, 橋本貴治, 政木直也, 向井直子, 花谷利春, 新井成之, 池田雅夫, 福田恵温, 栗本雅司, *Natural Medicines.*, **53**, 291 (1999)
- 33) Iwao Okamoto, Kanso Iwaki, Satomi Koya-Miyata, Tadao Tanimoto, Keizo Kohno, Masao Ikeda and Masashi Kurimoto, *Clinical Immunology.*, **103**, 132 (2002) doi:10.1006/clim.2001.5187
- 34) 砂山隆弘, 政木直也, 福田恵温, 医学と生物学., **139**, 29 (1999)