

Salacia reticulata の卵アルブミン誘発 I 型アレルギー反応におけるマウス腹壁血管透過性亢進抑制作用

芳野 恭士^{*1}, 岸 由紀乃¹, 金 高 隆², 古賀 邦正³

(2012 年 5 月 9 日受付; 2012 年 8 月 3 日受理)

要旨: サラシア属植物の一種である *Salacia reticulata* の葉と幹の水抽出物について, そのマウス I 型アレルギー抑制作用を検討した。*S. reticulata* の葉および幹の水抽出物を, 200 もしくは 400 mg/kg 体重の投与量でマウスに経口投与した場合, マウス I 型アレルギーを有意に抑制した。I 型アレルギーマウスにおける腹壁中のインターリューキン-4 やインターリューキン-10, さらに免疫グロブリン E の濃度の上昇もまた, これらの抽出物の投与により抑制された。*S. reticulata* の葉水抽出物中の有効成分の一部として (-)-エピカテキン, また, その幹水抽出物中の有効成分として, マンギフェリンが考えられる。したがって, *S. reticulata* の葉と幹は, I 型アレルギーを予防するのに適した食品素材であると考えられる。

キーワード: サラシア属植物, I 型アレルギー, マウス, マンギフェリン, カテキン

アレルギー疾患の患者数は年々増加する傾向にあり, 近年では人口の約 1/3 に上ると考えられている¹⁾²⁾。アレルギー疾患は, 一般にその発症メカニズムの違いにより I 型から IV 型までの 4 種類に分類される³⁾。I 型アレルギーは最も代表的なアレルギーであり, アナフィラキシーショックや花粉症, 気管支喘息, アトピー性皮膚炎, 食物アレルギー, 鼻炎などの症状を引き起こす。我々は, これまでに I 型アレルギー反応を抑制する食品とその成分として, チャ (*Camellia sinensis* L.) のカテキン類やその誘導体について報告してきた⁴⁻⁶⁾。薬剤に比較して副作用が少なく長期的に摂取することが可能である点で, 食経験のある天然物によるアレルギー疾患の予防は有益であるものと考えられる。

サラシア属植物は, 東南アジアやブラジル等の熱帯から亜熱帯地域に広く分布する Hippocrateaceae 科のつる性の植物であり, *Salacia reticulata* や *S. oblonga* をはじめとして多くの種が知られている。スリランカ産の *S. reticulata* は, 現地のシンハラ語で“コトラヒムブツ”と呼ばれている。インドやスリランカの伝統医学でその根あるいは幹が利用され, 日常の食事の際にそのエキスを飲用することで糖尿病を予防するとともに, その初期治療にも使用されてきた⁷⁾⁸⁾。さらに, 近年 *S. reticulata* の葉や *S. oblonga* の根に, リューマチ性関節炎抑制作用や抗炎症作用があることが報告されており⁹⁾¹⁰⁾, 動物の免疫系に作用する効果のあることが予想される。ところで,

サラシアの保健作用の大部分はその根あるいは幹に関する報告であり, 産地において希少植物となりつつあるサラシア属植物の過剰採取を防ぐためには, これまであまり用いられてこなかった葉を利用することが, 有効な手段であると考えられる。我々は, *S. reticulata* の葉に, その幹と同様の糖吸収抑制作用があることを確認し, すでに報告している¹¹⁾。そこで本研究では, 主にスリランカ産の *S. reticulata* の葉と幹の水抽出物について, そのマウス I 型アレルギー抑制作用を検討するとともに, その作用に寄与する含有成分の検討を行った。

実験方法

1. 試料および実験動物

I 型アレルギー反応の初期感作溶液として, Sigma 社製オブアルブミン水溶液 2 mg/mL と三光純薬社製フロイントの不完全アジュバントを体積比 1:1 で混合した溶液を用いた。また, チャレンジ溶液として, オブアルブミンの 100 µg/mL 水溶液を用いた。サラシアの試料としては, 盛光社供与のインド産 *S. oblonga* の葉およびスリランカ産 *S. reticulata* の葉と幹の乾燥物を, フードミルを使って微粉碎したものをを用いた。これらの微粉碎物に 9 倍量の水を加え, 50℃, 1 時間振盪抽出した。その後, 10℃, 5,000 rpm で 20 分間遠心分離を行い, その上清を凍結乾燥することで水抽出物を得た。実験動物としては, 日本 SLC 社より購入した 4 週齢の雄性 ddY 系

* 連絡者・別刷請求先 (E-mail: k-yoshino@numazu-ct.ac.jp)

¹ 沼津工業高等専門学校物質工学科 (410-8501 沼津市大岡 3600)

² 株式会社盛光 (411-0931 静岡県駿東郡長泉町東野 50-6)

³ 東海大学開発工学部 (410-0395 沼津市西野 317)

マウスを用いた。マウスは、12時間間隔で照明が点灯、消灯する24℃の部屋で飼育し、実験中は水道水とPMI Nutrition International社製実験動物用標準飼料Rodent Lab Diet EQ 5L37を自由に摂取させた。実験動物の取り扱い、文部科学省「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」に準じた「沼津工業高等専門学校における動物実験に関する指針」の規定に従った。

2. マウスI型アレルギーモデルを用いたその抑制作用の測定

マウスI型アレルギー反応のモデルとしては、オブラルブミンをアレルゲンとしたマウス腹壁色素浸潤法¹²⁾を用い、ヒスタミンによる血管透過性亢進作用による血管からの腹壁へのエバンスブルーの漏出面積を測定することで反応の程度を評価した。まず、マウスに初期感作溶液50 μ Lを腹腔内注射して初期感作を行った。初期感作溶液の代わりに生理食塩水を投与したマウスを、健常群とした。初期感作後9日目に、試料溶液あるいはその溶媒である0.5%トラガカントゴム水溶液をマウスに胃ゾンデを用いて経口投与し、さらにその1時間後に和光純薬工業社製エバンスブルー色素溶液(10 mg/mL)の0.1 mLを尾静脈内注射した。色素注射後5分以内に、ジエチルエーテル麻酔下にマウス腹壁を傷付けないように注意しながら露出させた。色素注射の5分後、チャレンジ溶液50 μ Lをマウスの露出させた腹壁に皮内注射した。チャレンジの7分後にマウスを頸椎脱臼でと殺して腹壁を採取し、その青色色素の浸潤面積をアトー社製AE-6920型デンストグラフで測定した。試料としては、*S. oblonga*の葉水抽出物、*S. reticulata*の葉および幹水抽出物を200または400 mg/kg体重の投与量で、Sigma社製マンギフェリン(純度98.0%)を0.0496 mg/kg体重または3.97 mg/kg体重の投与量で、和光純薬工業社製(-)-エピガロカテキン(EGC)(純度98.0%)、和光純薬工業社製(-)-エピカテキン(EC)(純度98.0%)をそれぞれ0.620 mg/kg体重と0.456 mg/kg体重の投与量で用いた。各試料は、それぞれの投与量となるように0.5%トラガカントゴム水溶液500 μ Lに懸濁して用いた。*S. oblonga*の葉水抽出物、*S. reticulata*の葉および幹水抽出物の投与量は、既報の茶抽出物のマウスI型アレルギー抑制作用での投与量を参考に選択した⁴⁾¹³⁾。0.5%トラガカントゴム水溶液500 μ Lのみを投与した群をアレルギー群とした。抗アレルギー作用を示す陽性対照としては、既知の抗ヒスタミン剤(ヒスタミンH1受容体拮抗剤)である和光純薬工業社製ジフェンヒドラミンを、1 mg/kg体重の投与量で用いた。各群のマウスは6または8匹とした。

3. I型アレルギーマウスの腹壁中のサイトカイン濃度および抗体濃度の測定

*S. reticulata*の葉および幹水抽出物を経口投与したI型アレルギーマウスについて、その腹壁の0.5% (w/v) ホモジネートを0.04 Mリン酸緩衝液(pH 7.4)を用い

て調製し、3,000 rpm, 10分間、4℃で遠心分離し上清を得た。ただし、本実験ではサイトカイン濃度および抗体濃度のELISA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)による測定に対する妨害を避けるため、エバンスブルーの静脈内注射は行わなかった。マウスは1群7匹とした。調製したマウス腹壁のホモジネート上清について、I型アレルギー反応に関連するサイトカインとして、インターリューキン-4(IL-4)およびIL-10の濃度を、また、関連抗体として免疫グロブリンE(IgE)の濃度を、それぞれ以下のELISAキットを用いて測定した。IL-4はBiosource社製Mouse IL-4 ELISA KITを、IL-10はBiosource社製Mouse IL-10 ELISA KITを、また、IgEはBethyl Laboratories社製Mouse IgE ELISA Quantitation KITを用いて、それぞれ定量した。

4. *S. reticulata*の葉および幹水抽出物中の成分分析

成分として、タンパク質含量を牛血清アルブミンを標準物質としてローリー法¹⁴⁾で、糖含量をグルコースを標準物質としてアントロン硫酸法¹⁵⁾で、食物繊維含量をプロスキー改法による酵素-重量法¹⁶⁾で、また、総ポリフェノール含量を没食子酸エチルを標準物質としてフォーリン-チオカルトール法¹⁷⁾でそれぞれ測定した。これらの測定は、それぞれ同様の操作を3回行いその平均値を算出した。

*S. reticulata*の葉および幹水抽出物中のポリフェノール成分¹⁸⁾として知られている、フラボノイドのマンギフェリンおよびカテキン類のEGC、ECの含量を、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法による絶対検量線法を用いて測定した。用いたHPLCの分析条件を以下に示す。これらの測定は、それぞれ同様の操作を3回行いその平均値±標準偏差を算出した。Fig. 1に、これらのポリフェノール成分の化学構造を示す。

4.1 HPLC法によるマンギフェリンの分析条件 ポンプは島津社製LC-10AD型を、カラムは和光純薬工業社製Wakosil-II 5C18(ϕ 4.6 mm $\times$ 150 mm)、検出器は島津社製SPD-10A型紫外吸光検出器(360 nm)を用いた。カラム温度は35℃、溶出溶媒はメタノール:1%酢酸水溶液(2:3)、流速は1.0 mL/分とした。

4.2 HPLC法によるカテキン類の分析条件 ポンプは島津社製LC-10AD型を、カラムは和光純薬工業社製Wakosil-II 5C18(ϕ 4.6 mm $\times$ 150 mm)、検出器は島津社製SPD-10A型紫外吸光検出器(280 nm)を用いた。カラム温度は室温、溶出溶媒はアセトニトリル:0.1%リン酸溶液(1:9)、流速は1.0 mL/分とした。

5. 統計処理

マウス腹壁の色素浸潤面積、サイトカイン濃度および抗体濃度に関する実験データは、平均値±標準誤差で表した。各群間の平均値の差の検定には、ノンパラメトリック法であるマンホイットニーのU検定を用い、 $p < 0.05$ を統計学的に有意であるとした。

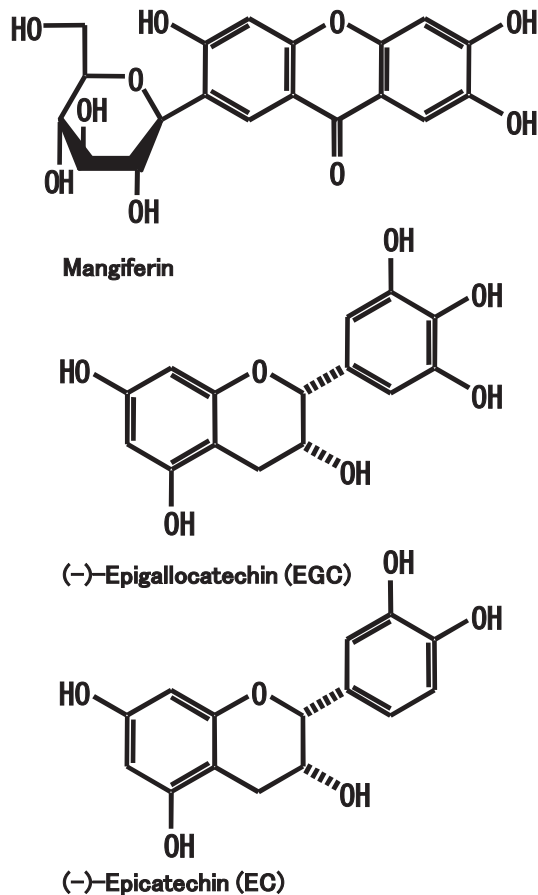


Figure 1 Chemical structures of mangiferin, (-)-epigallocatechin, and (-)-epicatechin.

実験結果

1. サラシアの葉および幹水抽出物の収量

インド産 *S. oblonga* の葉、スリランカ産 *S. reticulata* の葉と幹の水抽出物の収量は、それぞれ 8.1% (w/w), 17.3% (w/w), 6.1% (w/w) であり、*S. reticulata* の葉と幹では葉の方が、また、同じ葉では *S. oblonga* に比較して *S. reticulata* の方が収量が多かった。

2. *S. oblonga* の葉および *S. reticulata* の葉と幹水抽出物のマウス I 型アレルギー抑制作用

S. oblonga の葉および *S. reticulata* の葉と幹水抽出物について、マウス I 型アレルギー抑制作用を測定した結果を Fig. 2 に示す。アレルゲンで初期感作を行わなかった健常群では腹壁への色素の漏出はほぼ見られなかったのに対し、初期感作を行ったアレルギー群では顕著な色素の漏出が認められた。*S. oblonga* の葉水抽出物は、200 および 400 mg/kg 体重の投与量では、アレルギー群に比較して有意な I 型アレルギー抑制作用は認められなかった。*S. reticulata* では、葉水抽出物の 400 mg/kg 体重、さらには幹水抽出物の 200 および 400 mg/kg 体重の投与量で、アレルギー群に比較して有意な I 型アレルギー抑制作用が認められた。効果の見られた群の中では、*S. reticulata* の幹水抽出物の 400 mg/kg 体重の投与量で

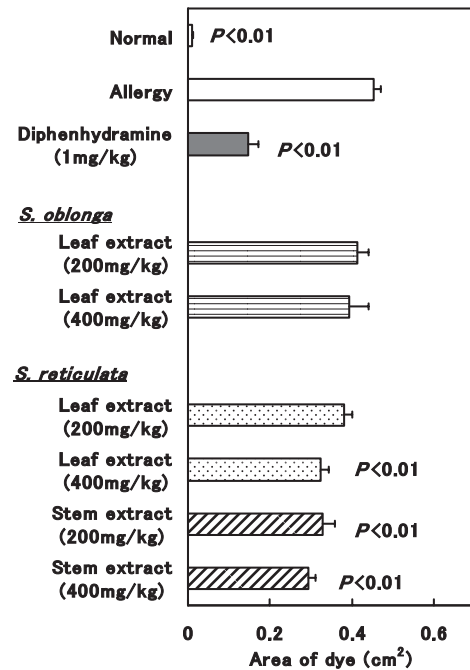


Figure 2 Preventive effects of oral administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia reticulata* against mouse type I allergy. Values are the mean $\pm$ SEM. N=8. Significant differences from Allergy group are presented.

最も効果が強い傾向が見られ、その効果は投与量依存的であり、さらには葉水抽出物よりも幹水抽出物で効果が強い傾向があった。これらの結果から、*S. reticulata* の葉および幹水抽出物の経口摂取で、I 型アレルギーの発症を抑制する効果のあることが示唆された。陽性対照として用いたジフェンヒドラミンは、1 mg/kg 体重の投与量で、*S. reticulata* の水抽出物よりも強い I 型アレルギー抑制作用が認められた。

3. *S. reticulata* の葉および幹水抽出物を経口投与した I 型アレルギーマウスの腹壁中のサイトカイン濃度および抗体濃度

S. reticulata の葉と幹水抽出物を、200 および 400 mg/kg 体重で経口投与した場合の、I 型アレルギーマウス腹壁中の IL-4, IL-10, さらに IgE の濃度を測定した結果を Fig. 3 (a), (b), (c) にそれぞれ示す。

今回用いた I 型アレルギーモデルマウスの腹壁中 IL-4, IL-10, IgE 濃度は、アレルゲンによる初期感作を行わなかった健常マウスに比較して有意に上昇することがすでに報告されている⁵⁾。*S. reticulata* の葉水抽出物の 400 mg/kg 体重、その幹水抽出物の 200 および 400 mg/kg 体重での経口投与により、アレルギーモデルマウスの腹壁中 IL-4 と IL-10 濃度はアレルギー群に比較して有意に低下する作用が見られた。その効果は、アレルギー抑制作用の場合と同様に、葉よりも幹水抽出物の方が強い傾向があった。このことから、*S. reticulata* の幹だけでなく葉の水抽出物にもマウス I 型アレルギー抑制作用があ

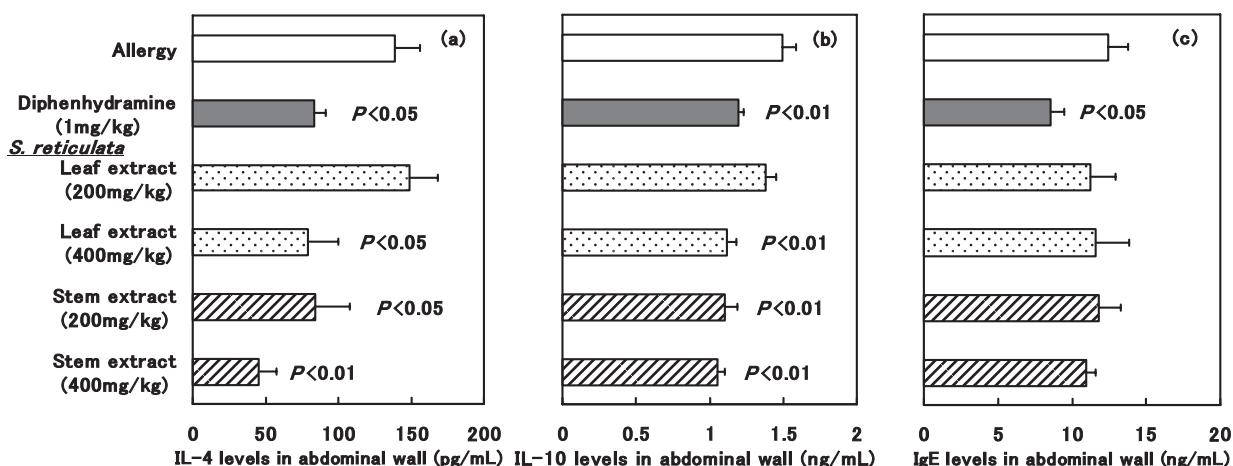


Figure 3 Suppressive effects of oral administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia reticulata* on abdominal wall interleukin-4, interleukin-10, and immunoglobulin E levels in mice affected by type I allergy. (a) interleukin-4 levels (pg/mL homogenate), (b) interleukin-10 levels (ng/mL homogenate), (c) immunoglobulin E levels (ng/mL homogenate). Values are the mean $\pm$ SEM. N=7. Significant differences from Allergy group are presented.

ることが確認できた。また、マウス腹壁中の IgE 濃度についても、有意差は認められなかったものの *S. reticulata* の幹水抽出物の 400 mg/kg 体重での経口投与により低下する傾向が見られた。陽性対照として用いたジフェンヒドラミンを投与したマウスについては、腹壁中の IL-4, IL-10, IgE 濃度ともに、アレルギー群に比較して有意に抑制されていた。これらの I 型アレルギーの発症過程において重要な役割を果たすサイトカイン類や抗体の産生、分泌の抑制は、*S. reticulata* の葉や幹水抽出物の I 型アレルギー抑制作用に寄与しているものと考えられる。

4. *S. reticulata* の葉および幹水抽出物中の含有成分

S. reticulata の葉および幹水抽出物中のタンパク質含量を測定したところ、2.3 および 2.2% (w/w) であり、その含量に差は見られなかった。これらの糖含量は、26.7 および 34.7% (w/w) で、幹の水抽出物の方が葉に比較して多かった。食物繊維の含量は、幹の水抽出物で 79.6% (w/w) であった。葉の水抽出物に関しては、本研究では測定しなかった。ポリフェノール含量は、それぞれ 12.3 および 9.3% (w/w) で、糖や食物繊維の含量とは逆に葉の方が幹よりも多かった。

S. reticulata の葉および幹水抽出物中に含有され、マウス I 型アレルギー抑制作用に寄与することが予想される既知の成分としては、フラボノイドであるマンギフェリンやカテキン類である EGC および EC などのポリフェノール成分が挙げられる¹⁸⁾。これらの含量を、前述の条件で HPLC 法を用いて測定したところ、マンギフェリンは保持時間 5.5 分、EGC および EC は保持時間 5.5 分と 8.5 分に検出された。*S. reticulata* の葉水抽出物の含量は、マンギフェリン 0.013 ± 0.000 , EGC 0.155 ± 0.011 , EC 0.114 ± 0.003 (w/w) であった。*S. reticulata* の幹水抽出物中の含量は、マンギフェリン 0.992 ± 0.084 (w/w) であり、EGC と EC は検出されなかった。

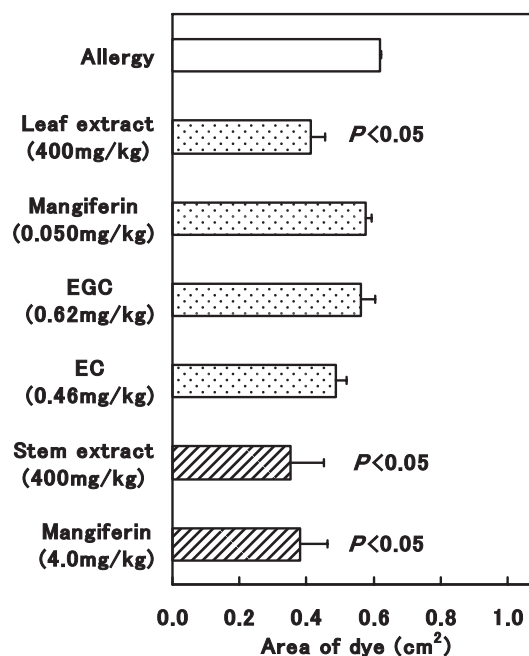


Figure 4 Preventive effects of oral administration of water extracts prepared from leaves and stems of *Salacia reticulata*, mangiferin, (-)-epigallocatechin, and (-)-epicatechin against mouse type I allergy. Values are the mean $\pm$ SEM. N=6. Significant differences from Allergy group are presented.

I 型アレルギー抑制作用の見られた *S. reticulata* の葉および幹水抽出物の 400 mg/kg 体重の投与量に含まれるこれらの成分の含量は、*S. reticulata* の葉水抽出物ではマンギフェリン 0.0496 mg/kg 体重、EGC 0.620 mg/kg 体重、EC 0.456 mg/kg 体重、また、*S. reticulata* の幹水抽出物ではマンギフェリン 3.97 mg/kg 体重に相当する。そこで、これらの化合物を *S. reticulata* の葉および幹水抽出物の 400 mg/kg 体重の投与量に含まれる量で経口投与した際のマウス I 型アレルギー抑制作用を測

定した結果を Fig. 4 に示す。 *S. reticulata* の葉水抽出物に含まれる EC 量で、 *S. reticulata* の葉水抽出物の示す作用の約 63% に相当する作用を示したものの、有意な効果は認められなかった。一方、 *S. reticulata* の葉水抽出物に含まれるマンギフェリンおよび EGC の量では、明確な効果は見られなかった。 *S. reticulata* の幹水抽出物に含まれるマンギフェリンの量では、 *S. reticulata* の幹水抽出物が示す作用の約 89% に相当する有意な作用を示した。以上の結果から、 *S. reticulata* の葉水抽出物に含まれる EC の効果は、葉水抽出物の示す I 型アレルギー抑制作用の一部に寄与しているものと考えられる。幹の水抽出物の示す作用は、それに含まれるマンギフェリンの効果が主要であると考えられる。

考 察

本研究では、 *S. reticulata* の葉と幹水抽出物および *S. oblonga* の葉水抽出物について、そのマウス I 型アレルギー抑制作用を確認し、さらにその作用機序と有効成分についてその一端を検討した。なお、サラシア属植物の安全性については、主にその産地におけるこれまでの長い食習慣で確認できるだけでなく、亜慢性毒性や遺伝毒性などについての確認の報告がある¹⁹⁾²⁰⁾。

S. reticulata の葉と幹水抽出物に関して、有意な効果が見られたのは *S. reticulata* の葉水抽出物の 400 mg/kg 体重と、 *S. reticulata* の幹水抽出物の 200 および 400 mg/kg 体重の投与量の場合のみであった。200 mg/kg 体重の投与量での効果の比較から、 *S. reticulata* の葉と幹の水抽出物では幹の方が強い I 型アレルギー抑制作用を持つことがわかった。しかし、 *S. reticulata* の葉の水抽出物の収量は幹の約 2.8 倍と多かったことから、葉の水抽出物の場合には、作用の弱さをその投与量を増加させることで補うことが可能と考えられる。実際、Fig. 2 においても、 *S. reticulata* の葉水抽出物の 400 mg/kg 体重と *S. reticulata* の幹水抽出物の 200 mg/kg 体重の投与量の場合では、ほぼ同程度の I 型アレルギー抑制作用が認められている。これまでに、インドやスリランカの産地で主に根や幹が民間薬として用いられてきた *S. reticulata* であるが、根や幹の採取は植物自体に強い傷害を与えその再生が困難となる。しかし、葉は根や幹に比較して再生が速く、植物自体に強い傷害を与えることなしにその抽出物を工業的に安価に生産することができる。また、 *S. reticulata* の葉は苦味が少なく、その水浸出物を茶の形で摂取するのにも適している。

I 型アレルギー反応は、体液性免疫応答による即時型アレルギーであり、IgE 抗体を介して引き起こされる。アレルギーが動物体内に侵入することでサイトカインの一種である IL-4 の産生が高まり、これにより naiveT 細胞から 2 型ヘルパー T リンパ球 (Th2 細胞) への分化が促進される。Th2 細胞は、IL-3 や IL-4 等のサイトカインを分泌して IgE 産生 B リンパ球を活性化し、これによ

り産生、分泌された IgE とアレルギーがマスト細胞表面に結合することで、ヒスタミンやプロスタグランジンなどの種々のケミカルメディエーターが放出される。それにより、血管透過性の亢進等による I 型アレルギーに特有の症状が発現する。また、Th2 細胞は IL-10 を分泌し、naiveT 細胞の 1 型ヘルパー T リンパ球への分化を抑制するとともに、B リンパ球を活性化する。本研究では、 *S. reticulata* の葉および幹水抽出物の経口投与により、腹壁中の IL-4、IL-10 および IgE 濃度の上昇が抑制された。そのため、Th2 細胞等による IL-4 や IL-10 の産生、分泌を抑制し、Th2 細胞の分化、増殖や Th2 細胞による IgE 産生 B リンパ球の活性化が弱められたことが、 *S. reticulata* 水抽出物の示すアレルギー抑制作用の主な機序と考えられる。この作用に関する詳細な機序をさらに明らかにするためには、今後、各免疫細胞におけるサイトカインや抗体の遺伝子発現に対する *S. reticulata* 水抽出物の効果を検討する必要があるものと考えられる。

S. reticulata の葉および幹水抽出物のアレルギー抑制作用には、葉の EC や幹のマンギフェリンといったポリフェノール化合物が、有効成分として寄与していることを本研究の結果から推定した。マンギフェリンに関するアレルギー抑制作用はこれまでに報告がないが、他のフラボノイド類では同様の作用が知られている²¹⁾²²⁾。また、EGC や EC などのカテキン類のアレルギー抑制作用についてはすでに多くの報告があり、その作用機序として B リンパ球による IgE 産生抑制⁵⁾、マスト細胞や好塩基球の脱顆粒におけるヒスタミン遊離抑制¹³⁾²³⁾、シクロオキシゲナーゼ [EC1.14.99.1] とリポキシゲナーゼ [EC1.13.11.12] 活性阻害²⁴⁾ によるプロスタグランジンやリユーコトリエン等のケミカルメディエーターの放出抑制²⁵⁾²⁶⁾、Df-プロテアーゼ [EC 3.4.21.-] 阻害²⁷⁾ による血管透過性抑制、Th2 細胞による IL-4 や IL-10 の産生抑制⁵⁾²⁸⁾ があげられる。このように、カテキン類は I 型アレルギーの複数の段階を阻害することでアレルギー抑制作用を発揮するものと考えられる。 *S. reticulata* のアレルギー抑制作用に関与する有効成分については、特にその葉においては明確に強い効果を示す成分を見出せなかったことから、今後さらに他の成分の検索を行うとともに、現在見出されているポリフェノール化合物の相乗作用等についても検討を行う必要があるものと考えられる。

文 献

- 1) 厚生省アレルギー総合研究事業研究班 (1992~1996) 厚生省長期慢性疾患総合研究事業アレルギー疫学の研究.
- 2) 東京都アレルギー性疾患対策検討委員会 (2001) 都におけるアレルギー疾患対策の在り方最終報告.
- 3) Coombs RRA, Gell PGH (1963) Clinical Aspects of Immunology, p. 317. F. A. Davis, Philadelphia.
- 4) Sano M, Suzuki M, Miyase T, Yoshino K, Maeda-

- Yamamoto M (1999) Novel antiallergic catechin derivatives isolated from oolong tea. *J Agric Food Chem* **47**: 1906–10.
- 5) Yoshino K, Miyase T, Sano M (2010) Preventive effects of C-2 epimeric isomers of tea catechins on mouse type I allergy. *J Nutr Sci Vitaminol* **56**: 211–5.
- 6) Yoshino K, Yamashita Y, Kawaguchi T, Yamazaki K, Sano M (2011) Preventive effects of black tea theaflavins on mouse type I allergy induced by ovalbumin. *J Technol Edu* **18**: 9–14.
- 7) 吉川雅之 (2002) 薬用食物の糖尿病予防成分 医食同源の観点から. 化学と生物 **40**, 172–8.
- 8) Modak M, Dixit P, Londhe J, Ghaskadbi S, Devasagayam TPA (2007) Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes. *J Clin Biochem Nutr* **40**: 163–73.
- 9) 真野 博 (2008) 第1回サラシア属植物シンポジウム講演要旨集, p 12–9.
- 10) Ismail TS, Gopalakrishnan S, Begum VH, Elango V (1997) Anti-inflammatory activity of *Salacia oblonga* Wall. and *Azima tetracantha* Lam. *J Ethnopharmacol* **56**: 145–52.
- 11) Yoshino K, Miyauchi Y, Kanetaka T, Takagi Y, Koga K (2009) Anti-diabetic activities of leaf extracts prepared from *Salacia reticulata* in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* **73**: 1096–104.
- 12) Kataoka H, Tsuda A, Tsuda Y, Baba A, Yoshida H, Hirasawa R, Tobimatsu Y, Nishiguchi M, Semma M, Ito Y (1997) A novel method for induction and detection of anaphylactic reaction using the mouse abdominal wall (AW method). *Biol Pharm Bull* **20**: 714–6.
- 13) Ohmori Y, Ito M, Kishi M, Mizutani H, Katada T, Konishi H (1995) Antiallergic constituents from oolong tea stem. *Biol Pharm Bull* **18**: 683–6.
- 14) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* **193**: 265–75.
- 15) Scott TA Jr, Melvin EH (1953) Determination of dextran with anthrone. *Anal Chem* **25**: 1656–61.
- 16) Kurasawa S, Sugahara T, Hayashi J (1991) Determination of dietary fiber in chitin-containing mushrooms by the enzymatic-gravimetric method. *J Jpn Soc Nutr Food Sci* **44**: 293–303.
- 17) Dressler VL, Machado EL, Martins AF (1995) Spectrophotometric determination of tannin in tanning effluent with a flow injection system. *Analyst* **120**: 1185–8.
- 18) Yoshikawa M, Ninomiya K, Shimoda H, Nishida N, Matsuda H (2002) Hepatoprotective and antioxidative properties of *Salacia reticulata*: Preventive effects of phenolic constituents on CCl₄-induced liver injury in mice. *Biol Pharm Bull* **25**: 72–6.
- 19) Flammang AM, Erexson GL, Mecchi MS, Murli H (2006) Genotoxicity testing of a *Salacia oblonga* extract. *Food Chem Toxicol* **44**: 1868–74.
- 20) Flammang AM, Erexson GL, Mirwald JM, Henwood SM (2007) Toxicological and cytogenetic assessment of a *Salacia oblonga* extract in a rat subchronic study. *Food Chem Toxicol* **45**: 1954–62.
- 21) Inoue T, Sugimoto Y, Masuda H, Kamei C (2002) Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from *Mentha piperita* L. *Biol Pharm Bull* **25**: 256–9.
- 22) 田中敏郎, 平野 享, 比嘉慎二, 有光潤介, 河合麻理 (2006) アレルギー疾患とフラボノイド. *FFI Journal* **211**, 568–75.
- 23) Tachibana H, Sunada Y, Miyase T, Sano M, Maeda-Yamamoto M, Yamada K (2000) Identification of a methylated tea catechin as an inhibitor of degranulation in human basophilic KU812 cells. *Biosci Biotechnol Biochem* **64**: 452–4.
- 24) Hong J, Smith TJ, Ho C-T, August DA, Yang CS (2001) Effects of purified green and black tea polyphenols on cyclooxygenase- and lipoxygenase-dependent metabolism of arachidonic acid in human colon mucosa and colon tumor tissues. *Biochem Pharmacol* **62**: 1175–83.
- 25) Matsuo N, Yamada K, Yamashita K, Shoji K, Mori M, Sugano M (1996) Inhibitory effect of tea polyphenols on histamine and leukotriene B₄ release from rat peritoneal exudate cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* **32**: 340–4.
- 26) August DA, Landau J, Caputo D, Hong J, Lee MJ, Yang CS (1999) Ingestion of green tea rapidly decreases prostaglandin E₂ levels in rectal mucosa in humans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **8**: 709–13.
- 27) Noguchi Y, Fukuda K, Matsushima A, Haishi D, Hiroto M, Kodera Y, Nishimura H, Inada Y (1999) Inhibition of Df-protease associated with allergic diseases by polyphenol. *J Agric Food Chem* **47**: 2969–72.
- 28) Matsunaga K, Klein TW, Friedman H, Yamamoto Y (2001) *Legionella pneumophila* replication in macrophages inhibited by selective immunomodulatory effects on cytokine formation by epigallocatechin gallate, a major form of tea catechins. *Infect Immun* **69**: 3947–53.

J Jpn Soc Nutr Food Sci **65**: 221–227 (2012)

Research Note

Preventive Effects of *Salacia reticulata* on Increased Vascular Permeability Induced by Ovalbumin in the Abdominal Wall of Mice with Type I Allergy

Kyoji Yoshino,^{*,1} Yukino Kishi,¹ Takashi Kanetaka,² and Kunimasa Koga³

(Received May 9, 2012; Accepted August 3, 2012)

Summary: This study investigated the preventive effects of water extracts prepared from the leaves and stems of *Salacia reticulata* on type I allergy in mice. Oral administration of the *S. reticulata* extracts to mice at doses of 200 and/or 400 mg/kg body weight significantly inhibited mouse type I allergy. The increases in the levels of some cytokines, such as interleukin-4 and interleukin-10, and that of immunoglobulin E in the abdominal wall of mice with type I allergy were also suppressed by oral administration of these *S. reticulata* extracts. The possibly active components in the leaves were thought to be certain polyphenolic compounds, such as (–)-epicatechin, and that in the stems was thought to be mangiferin. The leaves and stems of *S. reticulata* would be a suitable foodstuff for prevention of type I allergy.

Key words: *Salacia reticulata*, type I allergy, mouse, mangiferin, catechin

* Corresponding author (E-mail: k-yoshino@numazu-ct.ac.jp)

¹ Department of Chemistry and Biochemistry, Numazu College of Technology, 3600 Ooka, Numazu, Shizuoka 410–8501, Japan

² Seiko Co., Ltd, 50–6 Higashino, Nagaizumi, Shizuoka 411–0931, Japan

³ School of High Technology for Human Welfare, Tokai University, 317 Nishino, Numazu, Shizuoka 410–0395, Japan