

生薬の IgE 抗体産生抑制効果とインターフェロン誘起能

今岡 浩一^{a)} 大西 英子^{b)} 井上 栄^{*b)} 高橋 徹^{c)} 小島 保彦^{c)}^{a)}国立公衆衛生院衛生微生物学部, ^{b)}国立予防衛生研究所感染症疫学部, ^{c)}山之内製薬株式会社健康科学研究所

Chinese herbal medicines capable of IgE antibody suppression and IFN induction

Koichi IMAOKA^{a)} Eiko OHNISHI^{b)} Sakae INOUE^{*b)} Tooru TAKAHASHI^{c)} Yasuhiko KOJIMA^{c)}^{a)}Department of Microbiology, The Institute of Public Health, ^{b)}Department of Epidemiology, National Institute of Health, ^{c)}Health Science Laboratories, Yamanouchi Pharmaceutical Co. Ltd.

(Received August 29, 1995. Accepted December 4, 1995.)

Abstract

We prepared extracts of ten kinds of Chinese herbal medicines and examined their effects on secondary anti-DNP antibody responses in mice, *in vivo* interferon (IFN) induction and *in vitro* mitogenicity. To examine their effects on the antibody responses, each extract was intraperitoneally injected only on the day before the secondary immunization. All extracts showed significant suppressing effects on the IgE antibody response. However, on the IgG antibody response, only *Curcuma longa* L. (CL) and *Curcuma zedoaria* ROSCOE (CZ) extracts showed marked suppression. To examine the IFN inducibility, each extract was intraperitoneally injected and the serum samples were taken two hours after injection. CL, CZ, *Cucurbita moschata* DUCH (CM) and *Plantago asiatica* L. extracts showed marked induction of IFN. This IFN was found to be IFN α and not IFN γ . Then, to examine the mitogenic activity, each extract was added to the spleen cell culture. CL, CZ and CM extracts showed high mitogenic activity. The IgE antibody suppression, IFN induction and mitogenic activity were well correlated. These results suggest that these Chinese herbal medicines may be useful for certain allergic disorders.

Key words antibody suppression, anti-DNP IgE, interferon inducer, mitogenic activity, Chinese herbal medicines.

Abbreviations AD, *Angelica dahurica* B.; BSA, bovine serum albumin; CA, *Celosia argentea* L.; CL, *Curcuma longa* L.; CM, *Cucurbita moschata* DUCH; CZ, *Curcuma zedoaria* ROSCOE; DNP, 2,4-dinitrophenyl; DNP-BSA, DNP-BSA conjugate; DNP-OVA, DNP-OVA conjugate; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; GP, *Gynostemma pentaphyllum* (THUNB.) MAK.; IFN, interferon; IL-4, interleukin-4; OVA, ovalbumin; PA, *Plantago asiatica* L.; PBS, phosphate buffered saline; PBST, PBS-Tween20; PF, *Perilla frutescens* B.; PN, *Panax notogineng* B.; ST, *Schizonepeta tenuifolia* B.

緒 言

近年, スギ花粉症やダニ喘息, 食物アレルギーなどのアレルギー疾患が急増し, 社会的にも大きな問題となっている。アレルギー疾患の予防・治療には, アレルゲン

の除去, 減感作, 化学合成のいわゆる抗アレルギー薬などが試みられている。しかし, I型アレルギーは, アレルゲンに感作され体内にアレルゲン特異的 IgE 抗体を産生している個体が, 再び同じアレルゲンに暴露されることにより発症する。また, この際に特異的 IgE 抗体の二次免疫応答も起こることが知られている¹⁾。そこで, アレ

*〒162 東京都新宿区山手 1-23-1
Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, Tokyo162, Japan

ルゲン特異的IgE抗体産生抑制もアレルギー疾患の予防・治療に対して、重要な手段となると考えられる。

我々は、これまで種々の生薬を用いてインターフェロン誘起能、マイトジェン活性およびIgE抗体産生抑制の検討を行ってきた。その結果、冬瓜子、桑白皮、当帰、南蜜毛など数十種類の生薬にインターフェロン(IFN)誘起能があることを見いだした。^{2,10)} IFNは、抗ウイルス作用、抗癌作用、免疫賦活作用など、生体において種々の効果を持つことが知られている。さらに、IFNは、IgE抗体産生の時に働くインターロイキン-4(IL-4)に拮抗的に働くと考えられている。^{11,12)} このようなことから、IFN誘起能を持つ生薬には、IgE抗体産生抑制効果があることが考えられた。事実、我々は、蘇葉、青葙子、南瓜子がIFN誘起能のみならず、IgE抗体産生抑制効果を持つことを見いだし、すでに報告した。^{13,14)}

今回、我々は、10種類の生薬について、二次免疫応答におけるIgE抗体ならびにIgE抗体産生に及ぼす影響およびIFN誘起能、マイトジェン活性の検討を行った。

材料と方法

(1) 実験動物：5週令、雌のC57BL/6CrSlcおよびBALB/cCrSlcマウスを日本SLCより購入し、動物室(室温 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$)にて飼育し、えさ、水は自由に摂取させた。1週間飼育したのち、実験に供した。

(2) 生薬抽出エキス：実験には、鬱金(Ukon)、*Curcuma longa* L. (中国四川省産、姜黄)(CL)；莪朮(Gajutsu)、*Curcuma zedoaria* ROSCOE (中国広西省産、広莪朮)(CZ)、七葉胆(Shichiyotan)、*Gynostemma pentaphyllum* (THUNB.) MAK. (中国浙江省産、絞股藍)(GP)、南瓜子(Nankashi)、*Cucurbita moschata* DUCH (中国遼寧省産、ニホンカボチャ)(CM)；三七(Sanshichi)、*Panax notoginseng* B. (中国雲南省産、人參三七)(PN)；青葙子(Seishoshi)、*Celosia argentea* L. (中国福建省産、青葙子)(CA)；車前子(Shazenshi)、*Plantago asiatica* L. (中国遼寧省産、車前子)(PA)；紫蘇葉(Shisoyo)、*Perilla frutescens* B. (中国広東省産、チリメンソウ)(PF)；荊芥(Keigai)、*Schizonepeta tenuifolia* B. (中国内モンゴル省産、荊芥)(ST)；白芷(Byakushi)、*Angelica dahurica* B. (中国四川省産、杭白芷)(AD)の10種類の生薬を用いた。各エキスの作製は、それぞれの生薬に対して10倍量の水を加え、 $95\pm 5^{\circ}\text{C}$ で30分間抽出後、 $900\times\text{g}$ で連続遠心し、その上清をさらに $10,000\times\text{g}$ で遠心分離し、上清を集めた。これらの上清を限外濾過して、分子量10,000以上の分画を集め、凍結乾燥したものを抽出エキスとして以下の実験に用いた。各エキスの

原生薬に対する収率は、CL 2.3%、CZ 2.5%、GP 2.8%、CM 2.8%、PN 5.2%、CA 4.7%、PA 1.4%、PF 3.0%、ST 5.0%、AD 2.0%であった。

(3) 2,4-dinitrophenyl-ovalbumin conjugate (DNP-OVA) および 2,4-dinitrophenyl-bovine serum albumin conjugate (DNP-BSA) の調製：先に報告^{13,14)}したように、幅および浜岡¹⁵⁾の方法に従い調製した。OVA (Sigma社) および BSA (Sigma社) と 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid sodium salt (DNBS, 東京化成工業) をアルカリ条件下で室温で18時間反応させた。反応終了後、未反応のDNBSおよび水解物を除くため、生理食塩水に対して透析し、DNP-OVAならびにDNP-BSAを調製した。

(4) 二次免疫応答に及ぼす影響の検討：先の報告^{13,14)}に従って実施した。DNP-OVA $10\mu\text{g}$ を水酸化アルミニウムゲル (Immuject Alum, Pierce社) 4mgとともに全量0.4mlとして、6週令、雌のBALB/cCrSlcマウス腹腔内に注射して免疫した。初回免疫の14日後に二次免疫を行った。二次免疫の前日に1群を、また、7日後に残りの5群を麻酔下で全採血し、血清を分離した。

各エキスを滅菌水に溶解し、マウス1匹に対し、3, 1, 0.3もしくは0.1mgを全量0.4mlとして、二次免疫の前日に腹腔内に投与した。投与量は、PFにおけるIFN誘導の最小量が0.1mgであること^{2,3)}から、これに準じた。対照群には滅菌水のみを投与した。

各群8匹ずつ使用した。

(5) DNP-BSA および抗マウスIgGサブクラス抗体のビオチン標識：先に報告^{13,14)}したように、Nerurkarら¹⁶⁾の方法に従って調製した。すなわち、0.1M NaHCO₃に溶解した1mg/mlのウサギ抗マウスIgG1、IgG2a抗体(Zymed社)およびDNP-BSA溶液にdimethylformamideに溶解した1mg/mlのN-hydroxysuccinimidobiotin (Pierce社)を10分の1量加え、室温で4時間静置した。反応後、Phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) に対して透析し、ビオチン標識抗体およびビオチン標識DNP-BSAを得た。

(6) 抗DNP抗体の測定：先の報告^{13,14)}に従って実施した。

抗マウスDNP-IgE抗体の測定は、IgE-capture ELISA^{13,14,17)}を行った。

マイクロプレートに0.001% BSAを含む0.05M carbonate-bicarbonate buffer (pH 9.5) で希釈したモノクローナル抗マウスIgE (ヤマサ社) を加え、 37°C で3時間固相化した後、PBS-BSAで1時間ブロッキングした。PBSTで洗浄後、PBST-BSAで希釈した血清を 4°C で一晩反応させた。PBSTで洗浄後、ビオチン標識DNP

BSA を室温で1時間反応させ、洗浄後、さらに β -D-ガラクトシダーゼ標識ストレプトアビジン (Zymed 社) を室温で1時間反応させた。次に、酵素反応の基質として、0.1 mM 4-メチルウンベリフェリル β -D-ガラクトシド溶液を加え、37°C で2時間反応後、0.1 M Glycine-NaOH (pH 10.2) で反応を停止させた。反応産物4-メチルウンベリフェロンの蛍光強度は、励起波長 355 nm、測定波長 480 nm で自動蛍光測定器フルオロスキャン (Flow 社) を用いて測定した。各血清検体の抗体価は、免疫前の抗体陰性血清の示した蛍光強度の2倍の値を示す希釈度で表した。

総 IgE 量は、サンドイッチ法 ELISA で測定した。^{13, 14)} マイクロプレートにモノクローナル抗マウス IgE をコーティングした後、PBS-BSA でブロッキングし、血清を反応させた。次に、ビオチン標識抗マウス IgE (R1E4) を反応させ、以降は、特異的 IgE の測定と同様に行った。抗体量は、濃度既知のモノクローナル・マウス IgE (SPE-7, BioMakor 社) で標準曲線を描き、検体の IgE 絶対量 (ng/ml) を求めた。

抗 DNP-IgG1 並びに -IgG2a 抗体は、間接法 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)^{13, 14)} で測定した。マイクロプレート (Immulon 2, Dynatech 社) の各ウェルに 0.05 M carbonate-bicarbonate buffer (pH 9.5) で希釈した DNP-BSA を加え、4°C で一晩固相化した。次に、1% BSA を含む PBS (PBS-BSA) を加え、室温で1時間ブロッキングした。0.05% Tween 20 を含む PBS (PBST) で洗浄後、1% BSA を含む PBST (PBST-BSA) で希釈した血清を室温で1時間反応させた。PBST で洗浄後、PBST-BSA に希釈したビオチン標識抗マウス IgG1 もしくは IgG 2a 抗体を室温で1時間反応させた。PBST で洗浄後、PBST-BSA で希釈したペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン (Sigma 社) を室温で1時間反応させた。その後、PBST で洗浄し、 H_2O_2 + オルソフェニレンジアミンを加えて発色させ、4N H_2SO_4 で反応停止後、測定波長 492 nm でマイクロプレートリーダー (Flow 社) で吸光度を測定した。各血清検体の抗体価は、OD 値 0.1 を示す希釈度を抗体価とした。

(7) データの解析：先に報告^{13, 14)} したように行った。各個体の抗体価を常用対数に変換し、各群ごとに抗体価の常用対数における平均値 $\pm$ 標準誤差を求めた。データは、対照群の抗体価に対する投与群の抗体価の比の常用対数で表した。統計学的検討は、対照群に対する有意差を Unpaired t-TEST を用いて求め、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

(8) *in vivo* における IFN 誘起能の測定：各エキスを

滅菌水に溶解し、全量 0.4 ml とし 1 mg を6週令、雌の C57BL/6CrSlc マウスの腹腔内に投与し、2時間後に全血を採り、血清を得た。各群6匹ずつ使用した。

血清中の IFN 活性は、L929 細胞と水疱性口内炎ウイルス (VSV) を用いた *in vitro* 測定法 (CPE-dye-uptake 法)¹⁸⁾ で、抗ウイルス活性として測定した。L929 細胞を、96 穴平底マイクロプレートの各ウェルに 1.5×10^4 cell/100 μ l ずつ入れ、37°C、5% CO_2 で3日間培養した。培養維持液 (Eagle MEM+5% FCS) に、1:15 から2倍段階希釈した血清サンプルを加え、16時間培養した。その後、各ウェルを1回洗浄し、VSV を 10^5 PFU/well 加え、48時間培養した。そして、培養液を捨て、ニュートラルレッドで染色を実施した。ニュートラルレッドを捨て、PBS で洗浄後、抽出液 (30% ethanol/0.01N HCl) を加え、色素を抽出し、吸光度を OD492nm で測定した。ウイルスの増殖を抑制する最高希釈倍率を認め、IFN 活性単位とした。IFN 活性の認められた検体については、抗マウス IFN α , β および γ 抗体を用いた中和試験も実施した。

投与2時間後の血清を用いたのは、予備実験として CZ 投与後の時間における IFN 産生量を検討した結果、2時間目にピークを示したことによる。

(9) マイトジェン活性の測定：各抽出エキスのマイトジェン活性の測定は、先に報告^{13, 14)} したように、Mosmann ら¹⁹⁾ の方法に従い実施した。6週令、雌の C57BL/6CrSlc マウスより脾細胞を分離した。96 穴マイクロプレートの各ウェルに 2×10^5 cell/100 μ l ずつ入れ、さらに、各エキスを 0.1~200 μ g/100 μ l ずつ加え (終濃度 0.5~1000 μ g/ml)、37°C、5% CO_2 で、3日間培養した。PBS に希釈した 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Chemicon International 社) 溶液を 10 μ l ずつ各ウェルに加え、さらに4時間培養した後、isopropanol/0.04 N HCl を 100 μ l ずつ各ウェルに加えた。良く攪拌した後、反応後の色を測定波長 570 nm、対照波長 630 nm ($A_{570-630nm}$) でマイクロプレートリーダーにより測定した。

結 果

1. IgE 二次免疫応答に及ぼす影響の検討

抗 DNP-IgE 抗体は、対照群では二次免疫後には、約 1:1,500 の抗体価を示した。各エキス投与群では、ほぼ濃度依存性に有意な抑制が認められた (Fig. 1A)。中でも、CL で最も強い抑制が認められ、0.1 mg 投与群でも強い抑制を示した。CZ, GP, CM, CA, PF は CL に次ぐ強い抑制を示し、PN, PA, ST, AD でも有意な抑制を示した。

さず)。

4. *in vitro* におけるマイトジェン活性の検討

各エキスのマイトジェン活性を Fig. 7 に示す。各エキス共に、程度の差はあるが、マイトジェン活性を有することが明らかとなった。50 $\mu\text{g/ml}$ の濃度では、CL, CZ, CM が非常に高いマイトジェン活性を示した。500 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では、CZ, GP, CM, CA, ST, AD で強いマイトジェン活性が認められた。PA でも中等度の活性が認められた。PN では 100 $\mu\text{g/ml}$ でやや活性が認められたが、他に比べ低くなっていた。また、CL では 50 $\mu\text{g/ml}$ では非常に強い活性を示したものの、そこをピークとしてその後、濃度の増加とともに活性が減少していった。

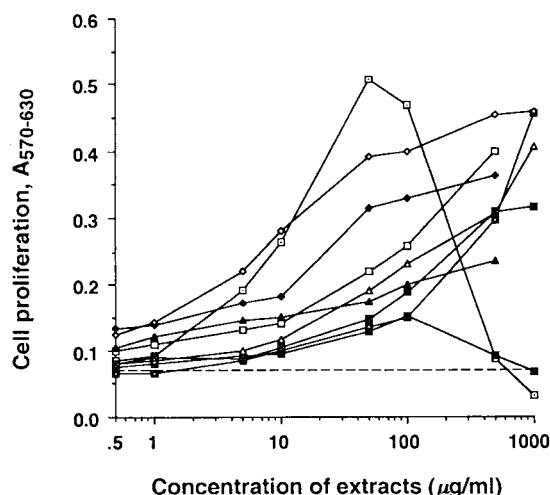


Fig. 7 Mitogenic activities measured by MTT assay.
○: CL, ◆: CZ, ■: GP, ◇: CM, ■: PN, □: CA, ▲: PA,
△: ST, ●: AD. Data are shown as mean of quadruplicate experiments.

考 察

近年アレルギー疾患患者の増加にともない、その治療に漢方薬を用いる試みが多くなされている。特に、柴朴湯や小青竜湯などでは、その効果が報告されている²⁰⁾。これらの効果の機序としては、肥満細胞に働き脱顆粒やヒスタミンなどケミカルメディエーターの遊離を抑制することによると報告されている²¹⁾。一方、小島らは、漢方薬に含まれる種々の生薬には、たとえば、桜皮、桑白皮、南蜜毛や当帰のように IFN 誘起能を持つものがあることを見いだした²⁾。また、IgE 抗体産生に関しては、十味敗毒湯に含まれる桜皮や、南蜜毛の多糖成分が、抑制

活性を持つことを示した^{5,6)}。

今回、10 種類の生薬について、二次免疫応答に及ぼす影響を検討した。CL でとくに強く認められたが、程度の差はあるものの、全ての生薬で有意な IgE 抗体産生抑制効果が認められた。IgG クラスの抗体では、CL, CZ で抑制が認められたが、その抑制効果は特異 IgE 抑制効果よりも小さかった。また、逆に、ST や AD では増強傾向が認められた。また、IFN 誘起能を検討したところ、10 種類中 7 種類に IFN 誘起能を見だし、中でも CL, CZ, CM で強い活性が認められた。また、これらは IFN α であることが明らかとなった。マイトジェン活性に関しても全てにその活性を認めたが、IFN 誘起能の強かった CL, CZ, CM で特に強いことが示された。

このような、生薬の IgE 抗体産生抑制効果の機序は不明ではある。しかし、特異的 IgE 抗体産生のみならず、総 IgE 産生も抑制されることから、IgE 抗体産生に働く液性因子の関与が考えられる。一般的に IgE 抗体産生は、IL-4 依存的であり、IL-4 と IFN γ は拮抗的に働くとされている^{11,12)}。また、今回、生薬により誘導された IFN α も IFN γ と同様に、IL-4 に拮抗的に働き IgE 抗体産生を抑制するという報告がある¹²⁾。また、我々は、CM には、マクロファージを活性化し、IFN 産生を誘導すること⁷⁾を見いだしている。さらに、未発表データではあるが、PF 中の IFN 誘起能を持つ分画と、IgE 抗体産生抑制効果をもつ分画が同じであることも見いだしている。ゆえに、今回認められた生薬の IgE 抗体産生抑制効果は、生薬により活性化されたマクロファージにより誘導された IFN が IL-4 に拮抗することによるものではないかと考えられた。今後、その詳細なメカニズムの検討が必要であるが、以上のことより、IFN 誘起活性を持つ生薬には、I 型アレルギーの予防・治療に効果を持つ可能性があると考えられた。

結 論

10 種類の生薬 (CL, CZ, GP, CM, PN, CA, PA, PF, ST, AD) の抽出エキスを作製し、*in vivo* における二次免疫応答に及ぼす影響および IFN 誘起能、*in vitro* におけるマイトジェン活性を検討した。

IgE 抗体を産生させるマウスの免疫実験系において、二次免疫注射の前日に、各エキスを腹腔内投与し、その 7 日後の血清抗体を測定したところ、特異的 IgE 抗体、総 IgE 抗体量ともに、全ての群で対照群に比較して、有意な抑制を認めた。特に、CL, CZ, GP, CM, CA および PF で強く認められた。

次に、各エキスをマウスの腹腔内に投与し、2 時間後の

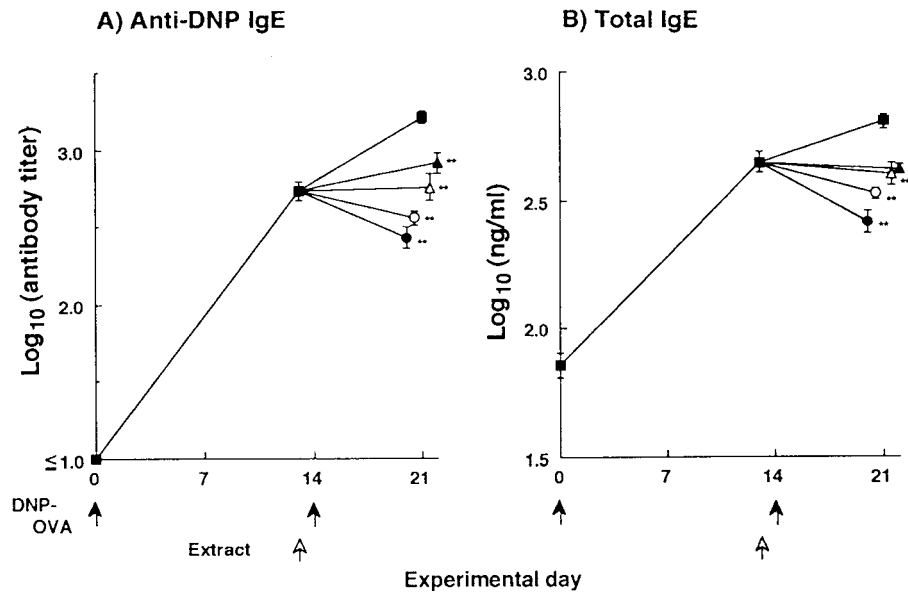


Fig. 1 Effects of CZ extract on secondary IgE antibody responses. A) : Anti-DNP IgE, B) : Total IgE. Dose of extracts; ● : 3 mg, ○ : 1 mg, ▲ : 0.3 mg, △ : 0.1 mg. ■ : Control. Data are shown as geometric mean $\pm$ S.E. N=8, Significant difference; **: $p < 0.005$, * : $p < 0.05$.

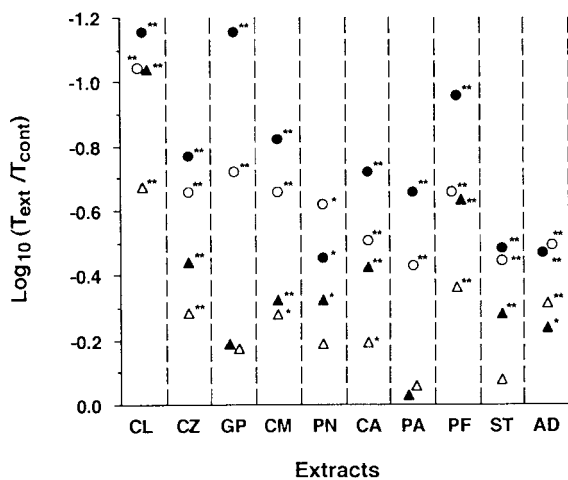


Fig. 2 Effects of extracts on secondary anti DNP IgE antibody responses. Dose of extracts; ● : 3 mg, ○ : 1 mg, ▲ : 0.3 mg, △ : 0.1 mg. Data are shown as $\text{Log}_{10} (T_{\text{ext}}/T_{\text{cont}})$. T_{ext} =antibody titers of mice to which extracts were injected. T_{cont} =antibody titers of control mice without extracts injection. N=8. Significant difference; **: $p < 0.005$, * : $p < 0.05$.

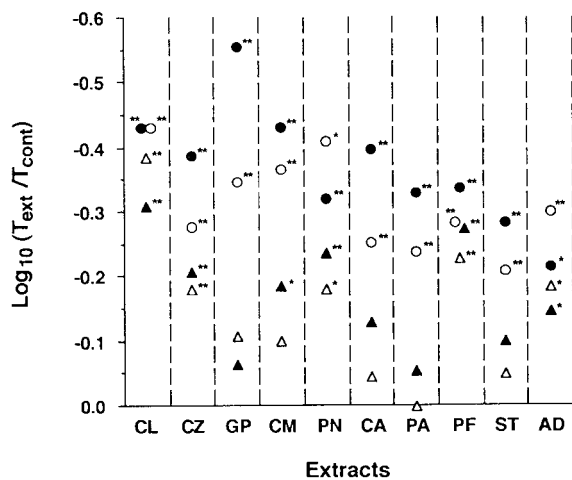


Fig. 3 Effects of extracts on secondary total IgE responses. Dose of extracts; ● : 3 mg, ○ : 1 mg, ▲ : 0.3 mg, △ : 0.1 mg. Data are shown as $\text{Log}_{10} (T_{\text{ext}}/T_{\text{cont}})$. T_{ext} =antibody titers of mice to which extracts were injected. T_{cont} =antibody titers of control mice without extracts injection. N=8. Significant difference; **: $p < 0.005$, * : $p < 0.05$.

(Fig. 2)。

総IgE抗体量は、免疫前には約70 ng/mlであったが、対照群では、二次免疫後に約700 ng/mlに増加していた。各エキス投与群では、抗DNP-IgE抗体と同様に、ほ

ぼ濃度依存性に増加が抑制されていた (Fig. 1B)。中でも、CL, CZ, PN, PFで投与群全てにおいて、強い増加の抑制が認められた。一方、GP, CM, CA, PA, STでは3および1 mg投与群では強い抑制が認められたが、

0.3 および 0.1 mg 投与群では抑制は軽度であった。(Fig. 3)

2. IgG 二次免疫応答に及ぼす影響の検討

抗 DNP IgG1 抗体は、対照群では二次免疫後に、約 $1:350,000$ の抗体価を示した。CL および CZ では、濃度依存性に、全ての濃度において有意な産生抑制が認められた (Fig. 4)。GP, PA, PF では、高濃度では有意な産生抑制が認められたが、低濃度では抑制は認められなかった。一方、CM, PN, CA, ST, AD では、どの濃度においても有意な産生抑制は認められなかった。中でも、CM, ST, AD では、低濃度において、有意差はないがむしろ増強される傾向が認められた (Fig. 4)。

抗 DNP IgG2a 抗体は、対照群では二次免疫後に、約 $1:35,000$ の抗体価を示した。CL では、全ての濃度で強く有意な抑制が認められた。CZ および GP では、高濃度において有意な産生抑制が認められた (Fig. 5)。PN, PA, PF では 1 mg 投与群のみで、有意な産生抑制が認められた。CM, CA, ST, AD では、どの濃度においても、有意な産生抑制は認められなかった。中でも、AD では、濃度依存性にむしろ産生増強される傾向を示し、特に 3 mg 投与群では有意差が認められた (Fig. 5)。

3. *in vivo* における IFN 誘起能の検討

各エキス投与マウス血清中の IFN 活性を、Fig. 6 に示す。CL, CZ で最も強い活性が認められた。ついで、CM および PA で強い活性が認められたが、CM と同じウリ科の GP では活性は認められたものの弱かった。また、

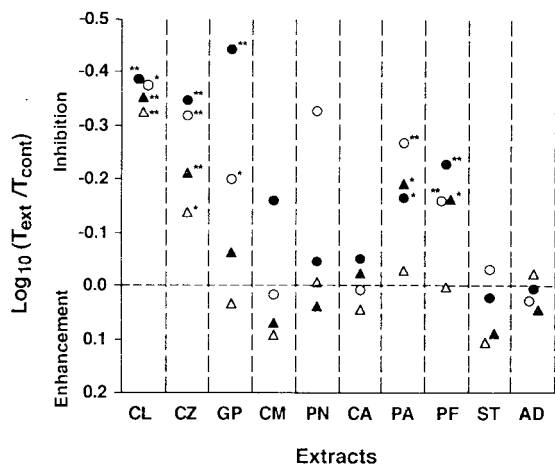


Fig. 4 Effects of extracts on secondary anti DNP IgG1 antibody responses. Dose of extracts: ●: 3 mg, ○: 1 mg, ▲: 0.3 mg, △: 0.1 mg. Data are shown as $\text{Log}_{10} (T_{\text{ext}}/T_{\text{cont}})$. T_{ext} : antibody titers of mice to which extracts were injected. T_{cont} : antibody titers of control mice without extracts injection. N: 8. Significant difference; **: $p < 0.005$, *: $p < 0.05$.

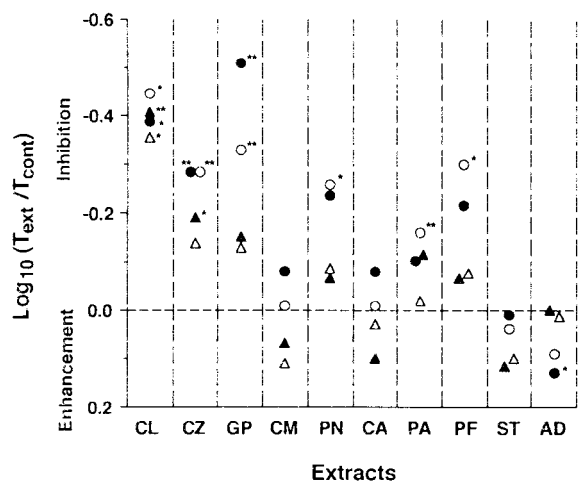


Fig. 5 Effects of extracts on secondary anti DNP IgG2a antibody responses. Dose of extracts: ●: 3 mg, ○: 1 mg, ▲: 0.3 mg, △: 0.1 mg. Data are shown as $\text{Log}_{10} (T_{\text{ext}}/T_{\text{cont}})$. T_{ext} : antibody titers of mice to which extracts were injected. T_{cont} : antibody titers of control mice without extracts injection. N: 8. Significant difference; **: $p < 0.005$, *: $p < 0.05$.

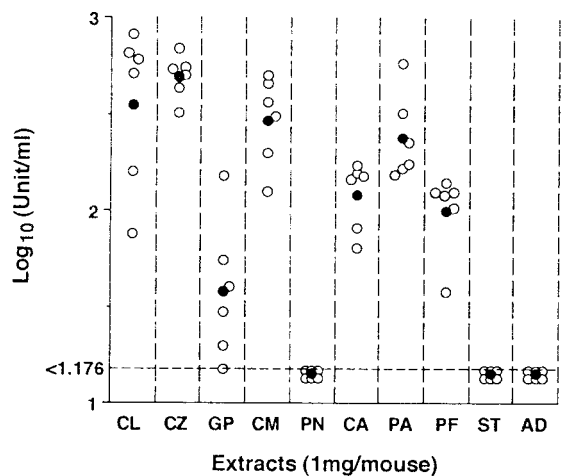


Fig. 6 Effects of extracts on IFN induction *in vivo*. ○: IFN activity of each mouse. ●: geometric mean. N: 6.

CA, PF でも活性が認められた。しかし、PF と同じシソ科の ST, また、PN および AD では、本実験条件においては、活性は認められなかった。

IFN 活性の認められた検体について、抗マウス IFN α , β および γ 抗体を用いた中和試験を実施したところ、その活性は、抗 IFN α 抗体により顕著に中和された。また、抗 IFN β 抗体でも、やや中和された。しかしながら、抗 IFN γ 抗体では中和されなかった (データは示

血清中の IFN を測定したところ, CL, CZ, CM および PA で IFN が強く誘導されていた。これらの IFN は α タイプが主で, γ タイプは検出されなかった。各エキスを, マウスより分離した脾臓細胞に添加し培養したところ, CL, CZ, CM で非常に強いマイトジェン活性を認めた。

二次免疫応答における IgE 抗体産生抑制は, 生薬の投与により誘起された IFN によると考えられた。これら, IFN 誘起能を持つ生薬は, アレルギー疾患の予防・治療に効果を持つ可能性が示唆された。

References

- 1) Imaoka, K., Inouye, S., Murayama, K., Nishihata, S. and Shimizu, Y. : Sugi kafun hisan no soki to koki ni okeru ko sugi kafun kotairyō no hendo (スギ花粉飛散の早期と後期における抗スギ花粉抗体量の変動). *Allergy Prac.* **137**, 603-606, 1991.
- 2) Kojima, Y., Kumazawa, Y., Shibukawa, N., Otsuka, K. and Mizunoe, K. : Screening for interferon inducers and mitogens among various medicinal plants used in traditional Sino-Japanese medicine. *Proc. Symp. WAKAN YAKU* **13**, 101-103, 1980.
- 3) Kojima, Y., Konno, S., Shibukawa, N., Tamamura, S. and Hashimoto, T. : Interferon production and the antiviral and antitumor effects exerted by extract of *Perilla frutescens* in rabbits and mice. *Antiviral Res.* (Abst) **1**, 66, 1981.
- 4) Kojima, Y. : Kampo yaku to intaferon indyusa (漢方薬とインターフェロン・インデューサー). *Kampo igaku* (漢方医学) **5** (4), 9-15, 1981.
- 5) Tamamura, S., Tomita, S., Shibukawa, N. and Kojima, Y. : Jumihaidokuto ni okeru ohi no yakuwari (十味敗毒湯における桜皮の役割). *J. Med. Pharma. Soc. WAKAN YAKU* **2**, 184-185, 1985.
- 6) Kojima, Y., Kumazawa, Y. and Tamamura, S. : Nanbange no nessui chushutsueki kara bunri shita tato no men eki yakuri sayo (南蛮毛の熱水抽出液から分離した多糖の免疫薬理作用). *J. Med. Pharma. Soc. WAKAN YAKU* **2**, 552-553, 1985.
- 7) Tamamura, S., Shibukawa, N. and Kojima, Y. : Uri rui shushi no seiri kassei (ウリ類種子の生理活性). *J. Med. Pharma. Soc. WAKAN YAKU* **1**, 72-73, 1984.
- 8) Namba, T., Xu, H., Kadota, S., Hattori, M., Takahashi, T. and Kojima, Y. : Inhibition of IgE formation in mice by glycoproteins from Corn Silk. *Phytotherapy Res.* **7**, 227-230, 1993.
- 9) Yamada, H., Kiyohara, H., Chong, J. C. and Kojima, Y. : Studies on polysaccharides from *Angelica aciloba*. *Planta Medica* **50**, 163-167, 1984.
- 10) Kojima, Y., Konno, S., Tamamura, S. and Hashimoto, T. : Process for producing interferon inducers. United States Patent # 4469685, Sept. 4, 1984.
- 11) Tan, H.P., Lebeck, L.K. and Nehlsen-Cannarella, S.L. : Regulatory role of cytokines in IgE mediated allergy. *J. Leukoc. Biol.* **52**, 115-118, 1992.
- 12) Pene, J., Rousset, F., Briere, F., Chretien, L., Bonnefoy, J. Y., Spits, H., Yokota, T., Arai, N., Arai, K., Banchereau, J. and De Vries, J. E. : IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferon γ and α and prostaglandin E_2 . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 6880-6884, 1988.
- 13) Imaoka, K., Inouye, S., Takahashi, T. and Kojima, Y. : Effects of *Perilla frutescens* extract on anti-DNP IgE antibody production in mice. *Jpn. J. Allergoe.* **42**, 74-80, 1993.
- 14) Imaoka, K., Ushijima, H., Inouye, S., Takahashi, T. and Kojima, Y. : Effects of *Celosia argentea* and *Cucurbita moschata* extracts on anti DNP IgE antibody production in mice. *Jpn. J. Allergol.* **43**, 652-659, 1994.
- 15) Haba, S. and Hamaoka, T. : Shushu no tanpaku, tatotai to DNP ki tonu ketsugo-butsu no sakuseiho. In "Men eki Jikken Sosaho III" (Ed. by Nihon Men eki Gakkai) (種々の蛋白, 多糖体とDNP基との結合物の作成法. "免疫実験操作法 III" (日本免疫学会編) pp. 865-869, 1974.
- 16) Nerurkar, L. S., Namba, M., Brashears, G., Jacob, A. J., Lee, Y. J. and Sever, J. L. : Rapid detection of herpes simplex virus in clinical specimens by use of a capture biotin streptavidin enzyme linked immunosorbent assay. *J. Immunol.* **20**, 109-114, 1984.
- 17) Sakaguchi, M., Inouye, S., Miyazawa, H. and Tamura, S. : Measurement of antigen specific mouse IgE by a fluorometric reverse (IgE capture) ELISA. *J. Immunol. Methods* **116**, 181-187, 1989.
- 18) Yamazaki, S. : Intaferon no sokuteiho to mondaiten (インターフェロンの測定法と問題点). *Pharma Medica* **4** (9), 111-118, 1986.
- 19) Mosmann, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : Application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immunol. Methods* **65**, 55-63, 1983.
- 20) Morisawa, S. and Yamamoto, H. : Kampo-hozai no men eki chosetsu sayo (漢方方剤の免疫調節作用). *Kampo igaku* (漢方医学) **9** (10), 33-35, 1985.
- 21) Egashira, Y. : Arerugisei kokyuki sikkano kampo (アレルギー性呼吸器疾患と漢方). *Allergy Prac.* **7**, 844-849, 1987.