

玄米の発芽期間の違いによる抗アレルギー作用の変化

愛媛県立松山南高等学校 玄米班

今井陽翔 井上隼 岡大翔 カンシエロズ 篠崎藍人 指導教諭 山崎涼

1. はじめに

アレルギーは「免疫反応に基づく生体に対する全身的または局所的な障害」と定義される¹⁾。そのようなアレルギーの疾患をもつ人が数多くいる現状²⁾で、コメという身近なものでアレルギーを抑制することに価値を見出した。

アレルギー反応は次のような仕組みで起こる。体内に侵入した抗原に反応して作られた抗体がマスト細胞等に付着し、その抗体に再び侵入した抗原が付着したときにマスト細胞等はヒスタミン等を放出する。このヒスタミンと呼ばれる物質がアレルギーの諸症状を引き起こす(図1)。よってヒスタミンの放出を抑制することで、アレルギー反応を抑制することができる。

発芽玄米はGABAを含んでおり、GABA(γ-アミノ酪酸)はマスト細胞のヒスタミン遊離を抑制すること等により抗アレルギー作用を発揮することが確かめられている³⁾。しかし、発芽玄米本体が抗アレルギー作用を持つかはこれまでに調べられていないので、発芽玄米抽出液の抗アレルギー作用の有無を検討した。

また、呂ら(2010)によると「玄米の吸水初期に水の浸潤によって細胞が膨張し始めるとともに各種酵素が急激に活性化され、粒内に存在するグルタミン酸デカルボキシラーゼ(GAD)の脱炭酸作用によりグルタミン酸からGABAが生成される(Mayer et al., 1990)。」と示されている(Mayerらの論文は参考文献6として示す)。GABAを富化するための方法として、通常は水中に浸漬する方法が採られる。玄米にGABAを富化するためには30℃近傍が適温とされており⁴⁾、十分な水分と1~2日の発芽期間が必要であることも分かっている⁵⁾。しかし、発芽玄米が抗アレルギー作用を示すとしても、GABAが富化する条件と発芽玄米が抗アレルギー作用を示す条件が一致するとは限らないので、玄米の発芽期間の違いによる抗アレルギー作用の変化について、ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞を用いて検討した

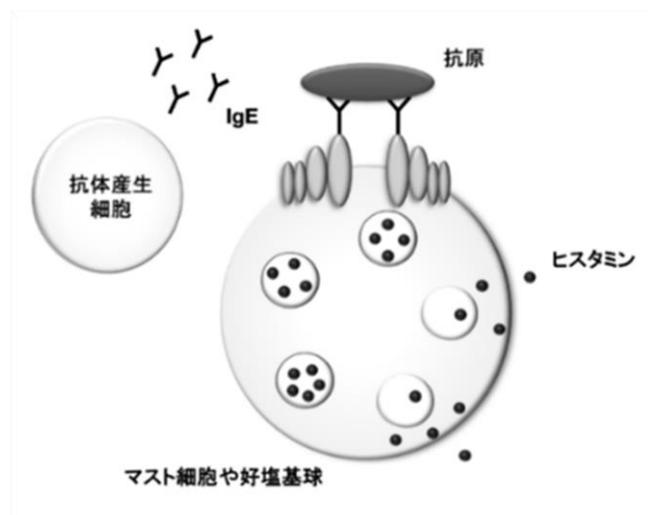


図1 I型アレルギー (石田萌子氏提供の図を改変して作成)

2. 材料と方法

2-1 発芽玄米抽出液の調製

ビーカーに玄米(コシヒカリ)10g と蒸留水 25mL を入れ、恒温器で温度を 30℃に保ち、1 日間、2 日間、3 日間の 3 種類の期間発芽させた。ただし蒸留水は 1 日ごとに交換した。培養後、発芽した玄米を乳鉢と乳棒を用いて発芽玄米の成分が十分に蒸留水に溶けるまで蒸留水に浸した状態ですりつぶした(図 2、図 3)。発芽玄米抽出液を 3 分間、5 回遠心分離機(パートナー NT-4: 株式会社マイクロテック・ニチオン、図 4) にかき不純物を取り除いた。次に、それぞれフリーズドライヤ(DC801: ヤマト科学株式会社)で凍結乾燥して重量を測定した後に、蒸留水に再溶解した。pH 調整をした後に、フィルター滅菌をしてサンプルの完成とした(図 5)。このときサンプルを段階ごとに測定して得られた値を表 1 に示す。



図 2 発芽の様子



図 3 すりつぶし



図 4 遠心分離機



図 5 サンプル

表 1 サンプル調製

サンプル		30mL 中の乾燥重量 (mg)	サンプル濃度 (mg/mL)	pH 調整前	pH 調整後
発芽 1 日目	①	87.8	20	5.77	7.12
	②	78.3	20	5.67	7.25
	③	94.2	20	5.79	7.19
発芽 2 日目	①	44.8	20	5.31	7.11
	②	66.7	20	5.58	7.12
	③	81.2	20	5.70	7.29
発芽 3 日目	①	85.1	20	4.72	7.21
	②	100.1	20	5.31	7.19
	③	130.4	20	5.01	7.30

2-2 発芽玄米抽出液の抗アレルギー作用の評価(実験 1)

ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞の播き込みをし、IgE 感作を 20 時間施した。細胞に発芽玄米抽出液を添加した。その後、抗原刺激を 30 分施した。この細胞は、IgE 感作と抗原刺激によって脱顆粒を起こし、アレルギー症状の原因であるヒスタミンを放出する。それと同時に β -ヘキソサミニダーゼを放出する。脱顆粒試験では細胞上清を回収した後、細胞を超音波で破碎した。細胞上清と細胞破碎液に β -ヘキソサミニダーゼに対する基質を加え、それぞれ 25 分間 37℃で保った。酵素反応が起きると黄色に発色し、 β -ヘキソサミニダーゼが多いほど強く発色する。この性質から細胞破碎液での発色が弱く、細胞上清(顆粒から細胞外に放出された物質を含む)での発色が強いほど、脱顆粒が起きたと判断できる。逆に、細胞上清の発色が弱いほど、添加し

た発芽玄米抽出液が脱顆粒を抑制した、つまり抗アレルギー作用を示したと判断できる。発色の程度の測定には分光光度計を用いて、吸光度を測定した。その結果より β -ヘキソサミニダーゼの顆粒放出率を算出した。

2-3 加熱処理をした発芽玄米抽出液の抗アレルギー作用の評価(実験2)

発芽玄米抽出液をラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞に添加する前に発芽玄米抽出液に 100°C、10 分間の加熱処理を施した。その後、実験2と同様に脱顆粒試験を行い、 β -ヘキソサミニダーゼの顆粒放出率を算出した。

2-4 ブランク試験

実験系に異常が無いことを証明するために、ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞に対して抗原刺激を施していない場合の β -ヘキソサミニダーゼの顆粒放出率を算出した。

2-5 対照区の設定

実験1, 実験2(上記)において得られる値の評価をするために、ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞に蒸留水を添加し、同様に脱顆粒試験を行い反応させて得られた値を対照区とした。

2-6 ポジティブコントロールの設定

ラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 細胞に、抗アレルギー作用があるとわかっているノビレチンを添加し、同様に脱顆粒試験を行い反応させて得られた値をポジティブコントロールとした。

3. 結果

対照区の顆粒放出率の値は実験1においては約50%、実験2においては約45%となった。これと比較して、ブランク試験で得られた顆粒放出率は低く、ポジティブコントロールでは顆粒放出率が抑制されることを確認できた(図6)。これらの結果から、本研究の実験系に異常が無いことを証明できた。

実験1の結果は、1~3日間のいずれの区間においても対照区の顆粒放出率を上回り(図6)、抗アレルギー作用は見られなかった。

実験2の結果は1~3日間のいずれの区間も対照区の顆粒放出率を下回り(図7)、脱顆粒を抑制し抗アレルギー作用があることが確認できた。しかし日にちごとの変化は見られなかった。

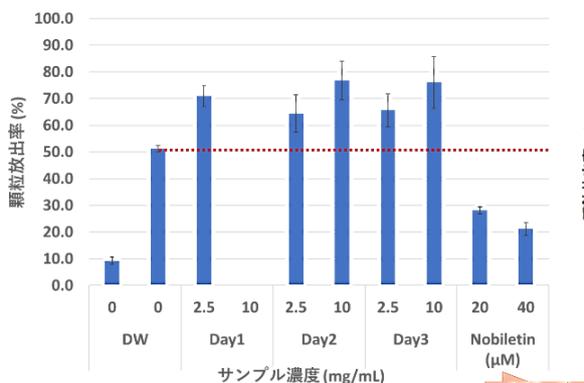


図6 実験1の結果

ポジティブ
コントロール

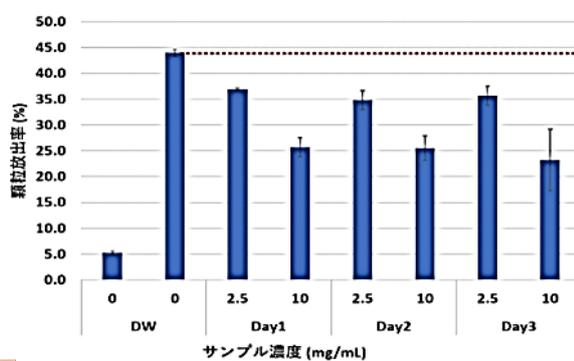


図7 実験2の結果

4. 考察

実験1の方法で高い顆粒放出率を示したのは、顆粒成分の一種である β -ヘキソサミニダーゼ(酵素)のような物質が発芽玄米抽出液に初めから含まれていたためだと考えた。一方、加熱処理を施して酵素を失活させたうえで実施した実験2の方法では脱顆粒が抑制されたので、発芽玄米抽出液には脱顆粒を抑制する抗アレルギー効果があると考えられる。そこで、脱顆粒抑制効果を示す物質は熱に強い物質であった。または、加熱により元の物質が変質し、変化した後の物質がアレルギー抑制効果を持ったという可能性が考えられる。日にちごとの顆粒放出率に変化が見られなかった理由としては抗アレルギー物質の量が多く、飽和状態に達していたためだと考えた。

5. 結論

発芽玄米抽出液には脱顆粒を抑制する。つまりアレルギーの原因となるヒスタミンなどの物質の放出を抑えるため抗アレルギー作用があるということが分かった。しかし、顆粒放出率の日にちごとの大きな変化は見られなかったため最適な発芽条件の確立には至らなかった。

6. 今後の課題

発芽玄米をすりつぶす段階で、発芽玄米に含まれていた成分が溶解度に達してしまい、発芽日数の違いによる変化が現れにくかった可能性がある。そのため、今後は玄米の量を10.0gから1.0gに減らしてサンプル調製をする。発芽日数の違いによる抗アレルギー作用の変化を明確にし、最適な発芽条件を確立する。そして、これらの実験を通して米という身近な食材でアレルギーの緩和を目指す。

7. 謝辞

本研究に対しご助言、ご指導を頂きました愛媛大学大学院農学研究科石田萌子先生に厚く御礼申し上げます。

8. 参考文献

- 1)厚生労働省(2010)『平成22年度リウマチ・アレルギー相談員養成研修会テキスト』第1章 アレルギー総論
- 2)松原 優里,阿江 竜介,大矢 幸弘,穂山 浩,今井 孝成,松本健治,福家 辰樹,青山 泰子,牧野 伸子,中村 好一,斎藤 博(2018)「日本における食物アレルギー患者数の推計：疫学調査の現状と課題」アレルギー 67巻 6号 p.767-773
- 3)原 崇(2010)「GABAのマスト細胞機能に及ぼす影響と抗アレルギー作用に関する基礎的研究」
- 4)鈴木 啓太郎,前川 孝明(1999)「発芽玄米製造時の微生物制御」農業施設 30巻 2号 p.137-144 (参考文献(5)より引用)
- 5)呂 慶云,後藤 清和,西津 貴久(2010)「玄米のGABA 富化条件と品質について」農業機械学会誌 72巻 3号 p.291-296
- 6) Mayer, R., Cherry, J., Rhodes, D., 1990. Effects of heat shock on amino acid metabolism of cowpea cells. Plant Physiology, 94, 796-810.