(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)公開番号
特開2023-5117
(P2023-5117A)
(43)公開日　令和5年1月18日(2023.1.18)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*36/185 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	36/185		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*45/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		４Ｃ０８８
Ａ６１Ｐ	*37/08 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/08		
Ａ６１Ｐ	*43/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	

審査請求　未請求　請求項の数　8　ＯＬ　（全11頁）

(21)出願番号　特願2021-106834(P2021-106834)
(22)出願日　令和3年6月28日(2021.6.28)

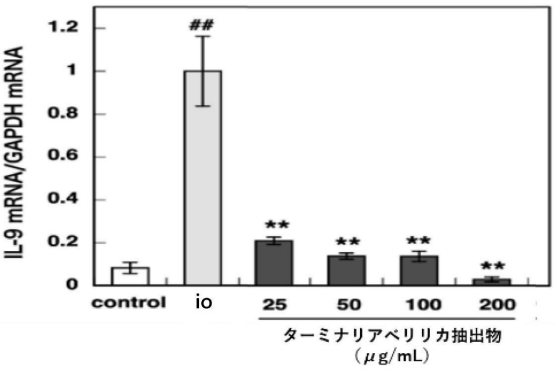
（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＴＷＥＥＮ

(71)出願人　304020292
国立大学法人徳島大学
徳島県徳島市新蔵町２丁目２４番地
(71)出願人　311016813
学校法人大谷学園
大阪府大阪市阿倍野区共立通二丁目８番４号
(71)出願人　000006138
株式会社明治
東京都中央区京橋二丁目２番１号
(74)代理人　100136319
弁理士　北原 宏修
(74)代理人　100148275
弁理士　山内 聡
(74)代理人　100142745

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗アレルギー組成物、抗アレルギー併用剤セット、ＩＬ－９産生抑制組成物およびＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物

(57)【要約】
【課題】本発明の課題は、新規な抗アレルギー組成物を提供することにある。
【解決手段】本発明に係る抗アレルギー組成物、ＩＬ－９産生抑制組成物ならびにＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物は、ターミナリア抽出物を有効成分とする。なお、本発明において、ターミナリア抽出は、ターミナリアベリリカ果実の抽出物であることが好ましい。また、本発明に係る抗アレルギー組成物、ＩＬ－９産生抑制組成物ならびにＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物は、抗ヒスタミン剤でアレルギー症状が改善しない患者に有効である。
【選択図】図１



【特許請求の範囲】
【請求項１】
ターミナリア抽出物を有効成分とする抗アレルギー組成物。
【請求項２】
前記ターミナリア抽出物は、ターミナリアベリリカ果実の抽出物である
請求項１に記載の抗アレルギー組成物。
【請求項３】
前記ターミナリア抽出物は、ターミナリアベリリカ果実の水抽出物である
請求項１または２に記載の抗アレルギー組成物。
【請求項４】
抗ヒスタミン剤でアレルギー症状が改善しない対象向けである
請求項１から３のいずれか１項に記載の抗アレルギー組成物。
【請求項５】
抗ヒスタミン剤と併用するための、請求項１から４のいずれか１項に記載の抗アレルギー組成物。
【請求項６】
請求項１から３のいずれか１項に記載の抗アレルギー組成物と、
抗ヒスタミン剤と
を備える、抗アレルギー併用剤セット。
【請求項７】
ターミナリア抽出物を有効成分とするＩＬ－９産生抑制組成物。
【請求項８】
ターミナリア抽出物を有効成分とするＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、抗アレルギー組成物に関する。また、本発明は、抗アレルギー併用剤セットにも関する。さらに、本発明は、ＩＬ－９産生抑制組成物にも関する。さらに、本発明は、ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物にも関する。
【背景技術】
【０００２】
気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患はここ数十年で急激な増加が認められ、現在、少なくとも人口のおよそ１／２程度が何らかのアレルギー疾患に罹患していると考えられている。現在のアレルギー治療薬の多くは対症療法的なものであり、罹患患者数の増大や長期使用に伴う副作用の点からも、より効果的な治療法が望まれている。
【０００３】
このような要望を受けて、過去に種々の抗アレルギー剤や抗アレルギー組成物が提案されている（例えば、特開２０２１－０８０１９７号公報、特開２０２１－２８３４４号公報、特開２０１９－２０２９５５号公報等参照）
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００４】
【特許文献１】特開２０２１－０８０１９７号公報
【特許文献２】特開２０２１－２８３４４号公報
【特許文献３】特開２０１９－２０２９５５号公報
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００５】

本発明の課題は、新規な抗アレルギー組成物を提供することにある。
【課題を解決するための手段】
【０００６】
上記課題を解決するために、本発明者らが鋭意検討した結果、ターミナリア抽出物をアレルギー患者に摂取させた際にその対象の症状が有意に改善されることを見出して本発明を完成させた。
【０００７】
すなわち、本発明は、次の通りとなる。
（１）ターミナリア抽出物を有効成分とする抗アレルギー組成物。なお、ここにいう「組成物」には、流動食、サプリメントおよび食品添加剤等の製剤、飲食品（動植物そのものを除く。）ならびに飲食品組成物（加工された飲食品を含む。）、医薬品組成物等の動物（ヒトを含む）が摂取し得る物が含まれる。また、本願発明者の検討の結果から、この抗アレルギー組成物は、インターロイキン（ＩＬ）－９の産生を抑制することによって抗アレルギー作用を発揮することが明らかとなっている。すなわち、この抗アレルギー組成物は、ＩＬ－９産生抑制組成物でもある。さらに、本願発明者の検討の結果から、この抗アレルギー組成物は、ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行を抑制することによって抗アレルギー作用を発揮することが明らかとなっている。すなわち、この抗アレルギー組成物は、ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物でもある。
【０００８】
（２）前記ターミナリア抽出物は、ターミナリアベリリカ果実の抽出物である、（１）に記載の抗アレルギー組成物。なお、この抽出物は、水抽出物であることが好ましい。
【０００９】
（３）抗ヒスタミン剤でアレルギー症状が改善しない対象向けである、（１）または（２）に記載の抗アレルギー組成物。かかる発明は、抗ヒスタミン剤でアレルギー症状が改善しないことを予め考慮して、抗ヒスタミン剤と併用するものであってもよい。すなわち、上記抗アレルギー組成物と、抗ヒスタミン剤とを備える抗アレルギー併用剤セットとしてもよい。
【００１０】
また、上述の発明は、以下のようにも表現され得る。
（４）ターミナリア抽出物をアレルギー疾患患者に摂取させる、アレルギー反応抑制方法。
【００１１】
（５）抗アレルギー組成物、ＩＬ－９産生抑制組成物、または、ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物の製造におけるターミナリア抽出物の使用。
【００１２】
（６）抗アレルギー組成物、ＩＬ－９産生抑制組成物、または、ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物の製造に使用するためのターミナリア抽出物。
【００１３】
（７）ターミナリア抽出物を抗アレルギー剤、ＩＬ－９産生抑制剤、または、ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制剤として使用する方法。
【００１４】
（８）ターミナリア抽出物をアレルギー疾患患者に投与することによりアレルギー疾患患者のアレルギー反応を抑制する方法。
【００１５】
（９）抗アレルギー剤、ＩＬ－９産生抑制剤、または、ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制剤としての使用のためのターミナリア抽出物。
【００１６】
（１０）抗アレルギー組成物、ＩＬ－９産生抑制組成物、または、ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物の製造のためのターミナリア抽出物の使用。
【発明の効果】

【００１７】
本願発明者らが知る限り、ターミナリア抽出物、特にターミナリアベリリカの果実抽出物を有効成分とする抗アレルギー組成物は従前には存在しない。また、上述の通り、本発明に係る抗アレルギー組成物等は、インターロイキン（ＩＬ）－９の産生を抑制することによって抗アレルギー作用を発揮するのみならず、ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行を抑制することによって抗アレルギー作用を発揮する。本願発明者らが知る限り、このような作用機序を示す抗アレルギー組成物は従前には存在しない。したがって、本願発明者らは、新規な抗アレルギー組成物を提供する。
【図面の簡単な説明】
【００１８】
【図１】実施例１で確認されたターミナリアベリリカ抽出物のＩＬ－９遺伝子発現抑制効果を示すグラフ図である。
【図２】実施例１で確認されたターミナリアベリリカ抽出物のイオノマイシン刺激に伴う核内移行の抑制効果を示す図である。
【発明を実施するための形態】
【００１９】
本発明は、ターミナリア抽出物を有効成分とする抗アレルギー組成物、ＩＬ－９産生抑制組成物、または、ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物である。なお、本発明に係る抗アレルギー組成物、ＩＬ－９産生抑制組成物またはＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物は、特に、抗ヒスタミン剤でアレルギー症状が改善しない患者に投与されるのが望ましいが、抗ヒスタミン剤でアレルギー症状が改善しない患者が存在することを予め想定して、上述の組成物を抗ヒスタミン剤と併用するようにしてもよい。かかる場合、上記組成物と抗ヒスタミン剤とを抗アレルギー併用剤セットとして患者に提供するのが望ましい。
【００２０】
上述のターミナリア抽出物は、ターミナリアの粉砕物等を一定時間、抽出溶媒に浸漬してすることによって得られる。ターミナリアの実をそのまま用いてもよいし、乾燥させてから抽出してもよい。なお、抽出溶媒としては例えば水、エタノール、有機溶媒、それらの混合溶媒等が挙げられるが、これらの抽出溶媒の中でも水が特に好ましい。また、その抽出操作の際、抽出効率を上げる目的や、好ましい成分を抽出する目的で抽出溶媒が加熱されてもよい。抽出物はそのまま使用してもよいし、濃縮、乾燥、粉末化等してもよい。
【００２１】
なお、ターミナリアとしては、例えば、ターミナリアベリリカが好ましい。ターミナリアベリリカは、シクンシ科モモタマナ属の広葉樹である。本発明においては、ターミナリアベリリカの葉、樹皮、根、花、木部、果実、種子など、いずれの部位を用いても良いが、果実又は果実の種子を除く部位（果皮又は果肉部）を用いることが好ましい。
【００２２】
本発明に係る上述の組成物を飲料として処方する場合、原料としてターミナリア抽出物、水およびｐＨ調整剤を用いることが望ましい。かかる場合、ターミナリア抽出物は、０．００１重量％以上１重量％以下であることが好ましく、０．００１重量％以上０．６重量％以下であることがより好ましく、０．００２重量％以上０．３重量％以下であることがさらに好ましく、０．００３重量％以上０．０５重量％以下であることがさらにより好ましく、０．００５重量％以上０．０２０重量％以下の範囲内で含有されることが特に好ましい。また、ｐＨ調整剤は、０．１重量％以上０．１５重量％以下の範囲内で含有されることが好ましい。また、かかる場合、飲料のｐＨは２以上１０以下の範囲内であることが好ましく、３以上９以下の範囲内であることがより好ましく、４以上７以下の範囲内であることがさらに好ましく、４以上６以下の範囲内であることが特に好ましい。
【００２３】
本発明に係る上述の組成物を１回の摂取に適切な量で１個包装の形態とすることにより、本発明に係る組成物を適切かつ手軽に摂取することができることになり、使用性の面か

ら好ましい。１回の摂取に適切な量は、アレルギー反応の程度などによると共に個人差やバラツキがあるものの、例えば、１日当たりのターミナリア抽出物の摂取量が０．５ｍｇ以上１ｇ以下の範囲内となる量であることが好ましく、１ｍｇ以上５００ｍｇ以下の範囲内となる量であることがより好ましく、２ｍｇ以上１００ｍｇ以下の範囲内となる量であることがさらに好ましく、３ｍｇ以上７０ｍｇ以下の範囲内となる量であることがさらにより好ましく、５ｍｇ以上５０ｍｇの範囲内となる量であることが特に好ましく、１０ｍｇ以上３０ｍｇの範囲内となる量であることが特に好ましい。

【００２４】

「１個包装の形態」はあらゆる形態、例えば、蓋付きの容器、キャップ付きのボトル、個袋、パウチ、チューブなどの一般的な包装形態を包含する。各個包装、または複数の個包装を含む包装に、本発明に係る上述の組成物の用途、効能、摂取方法などの説明を記載すること、および／または、その説明を記載した物（添付文書）等を封入等すること、および／または、別途パンフレットなど、その説明を記載した物等を掲示することなどにより、その組成物の用途を明確にすることができる。

【００２５】

ところで、本発明に係る上述の組成物に、その用途、効能、機能、有効成分の種類、使用方法などの説明を表示することが好ましい。ここにいう「表示」には、需要者に対して上記効果の説明を知らしめるための全ての表示が含まれる。この表示は、上述の表示内容を想起・類推させ得るような表示であればよく、表示の目的、表示の内容、表示する対象物・媒体などの如何に拘わらない全てのあらゆる表示を含み得る。例えば、製品の包装・容器に上記説明を表示すること、製品に関する広告・価格表もしくは取引書類に上記説明を表示して展示もしくは頒布すること、またはこれらを内容とする情報を電磁気的（インターネットなど）方法により提供することが挙げられる。

【００２６】

本発明に係る組成物を抗アレルギー組成物として製品とする場合、その抗アレルギー組成物を包装してなる製品には例えば「抗アレルギー」等との表示が付されることが好ましい。また、本発明に係る組成物をＩＬ－９産生抑制組成物として製品とする場合、そのＩＬ－９産生抑制組成物を包装してなる製品には例えば「ＩＬ－９産生抑制」等との表示が付されることが好ましい。また、本発明に係る組成物をＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物として製品とする場合、そのＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制組成物を包装してなる製品には例えば「ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行抑制」等との表示が付されることが好ましい。

【００２７】

なお、以上のような表示を行うために使用する文言は、上述の例に限定されず、そのような意味と同義である文言であってもかまわない。そのような文言としては、例えば、需要者に対して、「アレルギー症状を抑える」、「アレルギー症状を緩和する」、「アレルギーに起因する症状を抑える」、「アレルギーに起因する症状を緩和する」、「アレルギー発症リスクを低減する」、「アレルギー症状を予防する」、「目及び/又は鼻の不快感を緩和する」、「目及び/又は鼻の不快感を軽減する」、「ＩＬ－９の産生を抑える」、「ＩＬ－９の産生を制限する」、「ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行を抑える」、「ＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の核内移行を制限する」等の種々の文言が許容され得る。

【００２８】

なお、本発明に係る上述の組成物は、特別用途食品、総合栄養食品、栄養補助食品、特定保健用食品、機能性表示食品、加工食品等の形態にすることもできる。また、同組成物は、飲料や流動食や乳製品（発酵乳）、菓子などあらゆる飲食品等に配合することもできる。

【実施例】

【００２９】

以下、実施例に基づいて、本発明をより具体的に説明する。なお、この実施例は、本発

明を限定するものではない。
【００３０】
１．ターミナリアベリリカ抽出物
（１）ターミナリアベリリカ抽出物サンプル
ターミナリアベリリカ果実抽出物（水抽出物）サンプルとして、ターミナリアベリリカ（株式会社東洋新薬製）を用いた。本抽出物は、ターミナリアベリリカ果実を熟した状態で収穫し、乾燥させたものから水抽出したエキスである。性状は、黄褐色から茶褐色を呈する、比較的水に溶けやすい粉末（水溶性）である。
【００３１】
（２）ターミナリアベリリカ抽出物溶液の調製
上記粉末状の抽出物サンプルに対して水（Ｍｉｌｌｉ－Ｑ水）を添加して、２５ｍｇ／ｍＬ、５０ｍｇ／ｍＬ、１００ｍｇ／ｍＬおよび２００ｍｇ／ｍＬとなるよう、濃度が異なるターミナリアベリリカ抽出物溶液を調製した。
【００３２】
２．ターミナリアベリリカ抽出物の抗アレルギー効果検証
（１）細胞培養
ＲＢＬ－２Ｈ３細胞を、１０％ＦＢＳおよび抗生物質（ナカライテスク株式会社製antibiotic-antimycotic）を添加したＭＥＭ培地を用いて培養した。なお、その細胞培養は約８０％コンフルエント状態で行った。
【００３３】
（２）ターミナリアベリリカ抽出物溶液処置
６－ウェルプレートに撒いたＲＢＬ－２Ｈ３細胞を、上述の各ターミナリアベリリカ抽出物溶液（ターミナリアベリリカ抽出物が終濃度として、２５μｇ／ｍＬ、５０μｇ／ｍＬ、１００μｇ／ｍＬおよび２００μｇ／ｍＬとなるよう添加）およびブランクで２４時間処置し、その処置後にＲＢＬ－２Ｈ３細胞に対して１μＭイオノマイシンで２時間刺激を行った。刺激後、ＲＢＬ－２Ｈ３細胞をかきとり、そのＲＢＬ－２Ｈ３細胞中のＩＬ－９　ｍＲＮＡをリアルタイムＲＴ－ＰＣＲ法を用いて定量した。具体的には以下のとおりである。
【００３４】
（２－１）リアルタイムＲＴ－ＰＣＲ
（２－１－１）細胞からのトータルＲＮＡの抽出
ＲＢＬ－２Ｈ３細胞を、Ca^{2+}，Mg^{2+}不含のリン酸緩衝液（以下「ＰＢＳ（－）」と称する。）で２回洗浄し、洗浄後のＲＢＬ－２Ｈ３細胞に７００μＬのＲＮＡｉｓｏＰｌｕｓ（タカラバイオ株式会社製）を加えた後、そのＲＢＬ－２Ｈ３細胞をかきとった。かきとったＲＢＬ－２Ｈ３細胞を５分間静置した後、そのＲＢＬ－２Ｈ３細胞に１４０μＬのクロロホルムを加えた。次に、そのＲＢＬ－２Ｈ３細胞含有クロロホルムを３０秒間強く振盪して二相に分離させた後、室温で５分間静置した。次いで、二相分離済みのＲＢＬ－２Ｈ３細胞含有クロロホルムを４℃の温度環境下で１５，０００ｒｐｍで１５分間遠心分離処理した。続いて、ＲＮＡを含む上相（水相）を採取し、その上相に同量のイソプロパノールを加えた後にその上相を３０秒間強く振盪した後、室温で１０分間静置した。その後、その上相を４℃の温度環境下で１５，０００ｒｐｍで１５分間遠心分離処理してペレット状のＲＮＡを得た。そして、このペレット状のＲＮＡを洗浄する目的で、－３０℃に冷却した７５％エタノールを０．３ｍＬ加えた。その後、ＲＮＡ含有エタノールを４℃の温度環境下で１５，０００ｒｐｍで１５分間遠心分離処理して、エタノールを除去し、得られたペレット状のＲＮＡにジエチルピロカーボネート処理水（以下「ＤＥＰＣ水」と称する。）を加え、ＲＮＡ溶液とした。分光光度計（Thermo Fisher Scientific社製Nanodrop ND-1000）を用いて、波長２６０ｎｍ、２８０ｎｍにおけるＲＮＡ溶液の吸光度を測定した。そして、２６０ｎｍの吸光度および２つの波長の比による検定で、各ＲＮＡ溶液中のトータルＲＮＡ濃度と純度を算出した。
【００３５】

（２－１－２）ｃＤＮＡ合成

トータルＲＮＡ１．０μｇ相当のＲＮＡ溶液となるようにサンプルチューブにＲＮＡ溶液およびＤＥＰＣ水を加え、全量を５μＬとした。これにPrimeScript（登録商標）RT reagent Kitを加えて試料（組成は表１参照）を調製し、その試料に対してサーマルサイクラー（Biometra社製T3000 thermocycler）で以下の表２に示されるプログラムにより逆転写反応を行った。

【００３６】

【表１】

組成	Volume/tube (μL)
RNA solution (1.0 μg/Tube 相当)	5.0
5 ×PrimeScript Buffer	2.0
Oligo dT Primer	0.5
Random 6 mers	2.0
PrimeScript RT Enzyme Mix I	0.5
Total	10

【００３７】

【表２】

	Step1	Step2	Step3
Temperature (°C)	37	85	4
Time	15 min	5 sec	∞

【００３８】

（２－１－３）リアルタイムＰＣＲ

上述の試料に対して表３に示される組成を有する試薬を混合して、CFX Qualification Plate（BioRad社製）の１ウェル当たり１８μＬの試薬を調製した。Sequence Detector（BioRad社製 CFX96 Touch Sequence Detection System）を用いてその試薬に対してＰＣＲ反応を行い、ＰＣＲ産物の増幅曲線をリアルタイムで検出し、その検出結果をSequence Detectionソフトウェアを用いて解析して各ＲＮＡ溶液中のｍＲＮＡを定量した。

【００３９】

【表３】

組成	volume/well (μL)
cDNA	2.0
Premix Ex Taq	10.0
11 μM IL-9 Forward Primer	0.4
11 μM IL-9 Reverse Primer	0.4
5.5 μM IL-9 Probe	0.8
10 μM Rodent GAPDH Forward Primer	0.3
10 μM Rodent GAPDH Reverse Primer	0.3
5.5 μM Rodent GAPDH Probe	0.25
DEPC 水	5.55
total	20

【００４０】
なお、表３中に示されるプライマーの塩基配列は以下の通りであった。
ＩＬ－９順方向プライマー：５’－ＧＡＣＧＡＣＣＣＡＴＣＡＴＣＡＡＡＡＴＧＣ－３’
ＩＬ－９逆方向プライマー：５’－ＣＴＧＴＧＡＣＡＴＴＣＣＣＴＣＣＴＧＧＡＡ－３’
ＩＬ－９プローブ：ＦＡＭ－ＴＴＧＴＧＣＣＴＣＣＣＣＡＴＣＣＣＡＴＣＴＧＡＴ－ＴＡＭＲＡ

【００４１】
また、ＰＣＲ反応は、以下の表４に示されるプログラムで行われた。

【００４２】
【表４】

Stage	Initial step	Melt	Anneal/Extend
	Hold	Cycle (40 cycles)	
Temperature (°C)	95	95	60
Time (min)	30	5	31

【００４３】
また、定量的ＲＴ－ＰＣＲの主な変動の要因であるＲＮＡの純度や逆転写効率の差を補正する内部標準遺伝子（internal control）として、ＧＡＰＤＨ（Glycelaldehyde-3-phosphate dehydrogenase）のｍＲＮＡを用いた。ＧＡＰＤＨのｍＲＮＡは、TaqMan rodent GAPDH Control Reagents（Thermo Fisher Scientific社製）を用いて定量した。

【００４４】
（２－１－４）統計処理および結果考察
実験データはmean value±S.E.M で示しDunnet's multiple comparison testを用いて統計処理を行い、Ｐ＜０．０５で有意とした。その実験データを棒グラフ化した

ものを図１に示した（なお、図１中の「control」は、ＲＢＬ－２Ｈ３細胞に対して１μＭイオノマイシンによる刺激を行わなかったものである。）。図１から明らかな通り、ターミナリアベリリカ抽出物は、イオノマイシン（ioまたはＩＯとも表記）によるＩＬ－９のｍＲＮＡの発現を有意に抑制したことが明らかとなった。また、その効果は、ターミナリアベリリカ抽出物の添加量が多くなればなるほど高くなることが明らかとなった。

【００４５】

（３）ターミナリアベリリカ抽出物のＮＦＡＴｃ１およびＮＦＡＴｃ２の局在への影響

（３－１）細胞培養

ＮＦＡＴｃ１－ＧＦＰ融合タンパク質およびＮＦＡＴｃ２－ＧＦＰ融合タンパク質を恒常的に発現させたＢＨＫ２１細胞を、国立大学法人広島大学の神沼修教授から提供いただいた。このＢＨＫ２１細胞を、１０％ＦＢＳ、抗生物質（antibiotic-antimycotic）、および、発現細胞の維持のためのピューロマイシン（５μｇ／ｍＬ，ナカライテスク株式会社製）を含むDulbecco’s Modified Eagle Medium, high glucose（ＤＭＥＭ, high glucose）にて培養した。

【００４６】

（３－２）細胞内局在の観察

ＢＨＫ２１細胞を３５ｍｍのガラスシャーレ（ＩＷＡＫＩ）で培養した後、そのＢＨＫ２１細胞を１００μｇ／ｍＬのターミナリアベリリカ抽出物溶液で２４時間処置した。その処置後、そのＢＨＫ２１細胞に対して１μＭイオノマイシンで３０分間刺激を行った。その刺激後、ＢＨＫ２１細胞をＰＢＳ（－）で２回洗浄し、上述のガラスシャーレに４％パラホルムアルデヒド（ナカライテスク株式会社製）を入れて、ＢＨＫ２１細胞を４℃の温度環境下で１５分間固定した。その後、ＢＨＫ２１細胞をＰＢＳ（－）で５分間洗浄した後、上述のガラスシャーレに、ヨウ化プロピジウム（ＰＩ）を１％ＢＳＡおよび０．１％Ｔｗｅｅｎ２０ＰＢＳ（－）溶液で希釈した溶液（最終濃度２．５μｇ／ｍＬ）を入れて１０分間静置し、ＢＨＫ２１細胞の核染色を行った。核染色後のＢＨＫ２１細胞を０．１％Ｔｗｅｅｎ２０ＰＢＳ（－）溶液で洗浄した後、さらにＰＢＳ（－）で１０分間、２回洗浄し、その洗浄後のＢＨＫ２１細胞にFluoromount（Diagnostic BioSystems社製）を滴下した後、そのＢＨＫ２１細胞をカバーガラスで封入した。封入後、そのＢＨＫ２１細胞を共焦点レーザースキャン顕微鏡で観察したところ、図２に示される画像が得られた。図２においてＮＦＡＴは緑色で示されており、核はオレンジ色に染まっていた。これにより、ターミナリアベリリカ抽出物が両ＮＦＡＴのイオノマイシン刺激に伴う核内移行を抑制したことが示された。したがって、ターミナリアベリリカ抽出物は、カルシニューリン／ＮＦＡＴシグナル経路を抑制して、ＩＬ－９遺伝子発現亢進を抑制することで、抗アレルギー作用を示すことが明らかとなった。

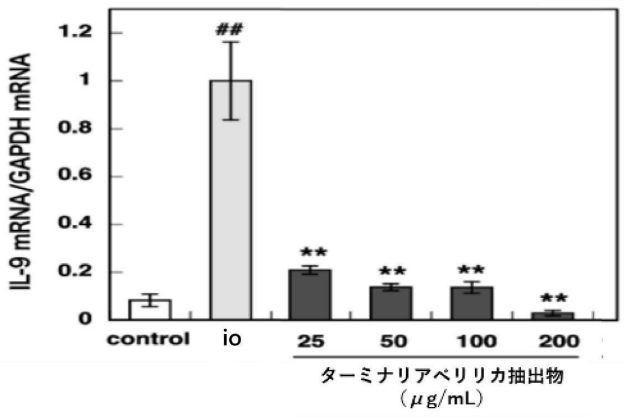
【産業上の利用可能性】

【００４７】

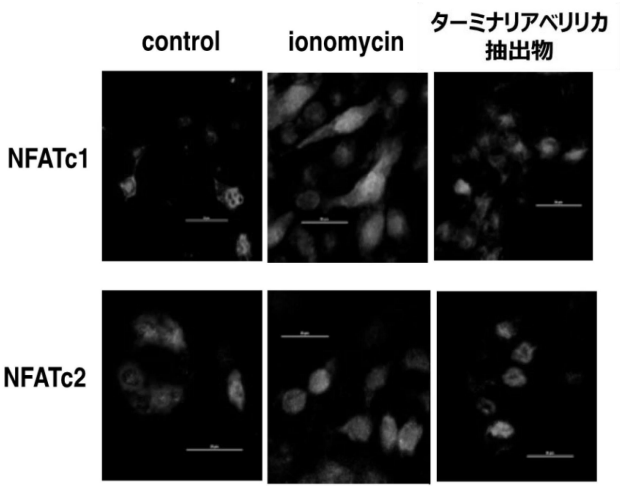
本発明に係る抗アレルギー組成物は、カルシニューリン／ＮＦＡＴシグナル経路を抑制して、ＩＬ－９遺伝子発現亢進を抑制することで、抗アレルギー作用を示し、抗ヒスタミン剤でアレルギー症状が改善しない患者に有用であると推測される。

【図面】

【図１】


IL-9 mRNA/GAPDH mRNA
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
##
**
**
**
**
control
io
25
50
100
200
ターミナリアベリリカ抽出物
（μg/mL）

【図２】


control
ionomycin
ターミナリアベリリカ
抽出物
NFATc1
NFATc2

フロントページの続き

弁理士　伊藤 世子
(74)代理人　100143498
弁理士　中西 健
(72)発明者　武田 憲昭
徳島県徳島市新蔵町２丁目２４番地 国立大学法人徳島大学内
(72)発明者　北村 嘉章
徳島県徳島市新蔵町２丁目２４番地 国立大学法人徳島大学内
(72)発明者　水口 博之
大阪府富田林市錦織北３丁目１１番１号 大阪大谷大学内
(72)発明者　福井 裕行
大阪府富田林市錦織北３丁目１１番１号 大阪大谷大学内
(72)発明者　石田 達也
東京都八王子市七国一丁目２９番１号 株式会社明治 研究本部内
(72)発明者　下仲 敦
東京都八王子市七国一丁目２９番１号 株式会社明治 研究本部内

Ｆターム（参考）　4C084　AA19 NA05 ZB13
4C088　AB12 AC04 BA09 CA05 MA01 NA14 ZB13