

ウロリチン A の摂取が花粉症モデルマウスのアレルギー症状に与える影響

Effect of urolithin A on Japanese cedar allergic rhinitis in mice

森下展夫¹⁾, 中谷祥恵^{1,2)}, 清水広夢¹⁾, 林 かずみ²⁾, 石川克海¹⁾,
小澤奈津子²⁾, 工藤眞丈³⁾, 卯川裕一³⁾, 古旗賢二^{1,2)*}
Nobuo Morishita¹⁾, Sachie Nakatani^{1,2)}, Hiromu Shimizu¹⁾, Kazumi Hayashi²⁾,
Katsuhiko Ishikawa¹⁾, Natsuko Ozawa²⁾, Masatake Kudoh³⁾, Yuichi Ukawa³⁾, Kenji Kobata^{1,2)*}

要旨

【目的】 ウロリチン類はザクロやベリー類に含まれるエラグ酸を摂取した後に血中で検出される成分として知られている。ウロリチン類の一部は肥満細胞株 RBL-2H3 を用いた実験系において脱顆粒を抑制することが報告されている。しかし、ウロリチン類の *in vivo* におけるアレルギー抑制作用は明らかになっていない。そこで本研究では、まず RBL-2H3 細胞における各ウロリチン類の脱顆粒抑制効果の比較を行った。次に、ウロリチン A がスギ花粉アレルギー性鼻炎モデルマウスのアレルギー反応を抑制する可能性を検討した。

【方法】 RBL-2H3 細胞を播種し、dinitrophenyl IgE により感作させた。一次感作の後、ウロリチン A、ウロリチン B、ウロリチン C、ウロリチン D、ウロリチン H、エラグ酸の脱顆粒抑制試験を行った。また、5 週齢の BALB/c 雌性マウス 21 匹に一次感作としてスギ花粉抗原を 0, 7, 14 日目に腹腔内に投与した。21 日から 39 日目までは二次感作としてスギ花粉抗原を鼻腔内に投与した。27 日目にくしゃみの回数を測定し、コントロール群、ウロリチン A 群、デキサメタゾン (Dex) 群の 3 群に割り付けた。28 日から 39 日目までは二次感作と同時に、コントロール群は 10% アラビアゴム溶液、ウロリチン A 群は 1 mg/ 匹のウロリチン A、Dex 群は 0.1 mg/ 匹の Dex を経口投与した。39 日目にくしゃみの回数を測定し、40 日目に解剖を行い、血清中の IgE 濃度 (ELISA)、鼻洗浄液 (nasal lavage fluid, NALF) における好酸球数 (Diff-Quik 染色) の測定を行った。

【結果】 *in vitro* の実験において、1 μ M 以上の濃度のウロリチン C、ウロリチン H および 10 μ M 以上の濃度のウロリチン A、ウロリチン B は、ウロリチン D およびエラグ酸と比較して細胞外への β -hexosaminidase の放出を有意に抑制した。*in vivo* の実験において、ウロリチン A 群はコントロール群と比較して、くしゃみの回数および NALF 中の好酸球数が Dex 群と同程度まで有意に減少した。血清 IgE 濃度は各群間に有意な差はなかった。

【考察】 エラグ酸摂取後に血中で検出されるウロリチン A は、スギ花粉アレルギー性鼻炎モデルマウスの血清 IgE 濃度には影響を与えないが、好酸球の遊走の抑制と脱顆粒の抑制を介して、花粉症によるくしゃみを抑制することが示唆された。

Functional Food Research 18 : 57-64, 2022

keywords

アレルギー性鼻炎, スギ花粉症, エラグ酸, ウロリチン,
RBL-2H3 細胞

受付日 2022 年 3 月 30 日 受理日 2022 年 5 月 24 日 原著

1) 城西大学大学院薬学研究所 Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Josai University 〒350-0295 埼玉県坂戸市けやき台 1-1
2) 城西大学薬学部薬科学科 Department of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Josai University 3) 株式会社ダイセル DAICEL CORPORATION * kobata@josai.ac.jp

はじめに

現在、日本人のおよそ2人に1人がアレルギー性鼻炎に罹患していると報告されており、その数は急速に増加している¹⁾。アレルギー性鼻炎とは鼻粘膜のI型アレルギー疾患で、発作性反復性のくしゃみ、水様性鼻汁、鼻閉を三主徴とすると定義されており、通年性アレルギー性鼻炎と季節性アレルギー性鼻炎の2つに分類されている²⁾。

アレルギー性鼻炎は、非病原性抗原（アレルゲン）が鼻粘膜組織に存在するマスト細胞表面の抗原特異的IgE抗体に結合し、マスト細胞を活性化することで生じる。活性化したマスト細胞はヒスタミンなどのケミカルメディエーターを放出し、知覚神経や血管に作用することで、即時相反応としてくしゃみや水様性鼻汁、鼻閉を引き起こす。また、遅発相反応としてマスト細胞などが産生するサイトカインが好酸球などの炎症細胞を誘導し、鼻粘膜を腫脹させ、鼻閉を生じさせる²⁾。

スギ花粉症は、日本の広い地域に生育する固有種、日本杉 (*Cryptomeria japonica*) によって引き起こされる花粉症であり、1963年に初めて症例が報告された³⁾。1970年代以降徐々に患者数が増加し⁴⁾、2019年に報告された全国疫学調査では、日本人のおよそ4割の人がスギ花粉症に罹患していることが報告された¹⁾。

エラグ酸はポリフェノールの一種で、ザクロやベリー類など様々な植物に含まれている⁵⁾。摂取したエ

ラグ酸は胃でわずかに吸収されるが⁶⁾、多くは結腸に達し、腸内細菌によってウロリチン類に代謝されることが報告されている(図1)⁷⁻⁹⁾。また、ヒト血漿中においてウロリチンAが最も多く検出されている⁸⁾。ウロリチン類の作用として、抗酸化作用のほか、マクロファージ様細胞およびミクログリアにリポ多糖を添加した後の炎症反応を抑制することが報告されている¹⁰⁾。また、マウスにウロリチンAを摂取させた結果、血中の抗酸化作用および抗炎症作用を増加させることも報告されている¹¹⁾。さらに、ウロリチンAおよびウロリチンCは肥満細胞株RBL-2H3を用いたアレルギー実験系において脱顆粒を抑制することが報告されている¹²⁾。しかし、ウロリチン類の*in vivo*におけるアレルギー抑制作用は明らかになっていない。

そこで本研究では、肥満細胞株RBL-2H3を用いた*in vitro*研究に加え、スギ花粉アレルギー性鼻炎モデルマウスを用いて、ウロリチンAの経口摂取が、アレルギー症状を改善する可能性を検討した。

1. 方法

1 | 細胞培養

RBL-2H3細胞(JCRB0023; JCRB細胞バンク)を用いて実験を行った。RBL-2H3細胞は10%ウシ胎児血清(FBS Lot: No. 14A189, シグマアルドリッチジャパン合同会社, 東京)含有Minimum Essential Medium (Thermo Fisher Scientific 株式会社, 東京)

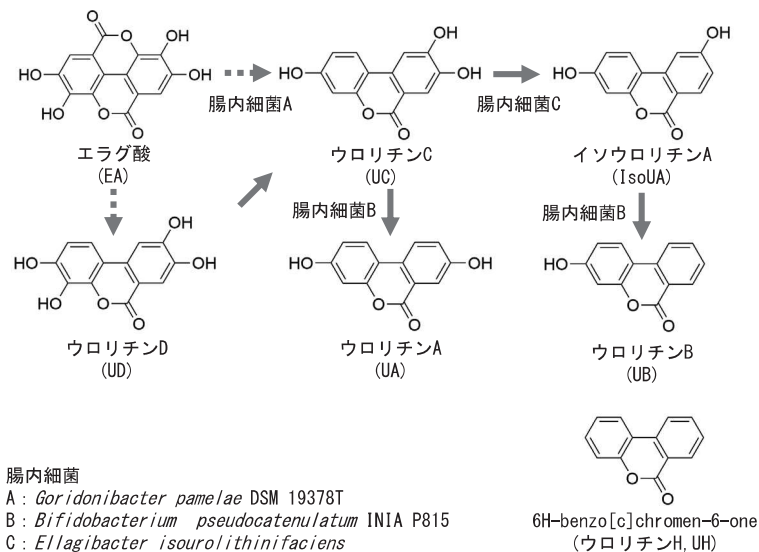


図1 エラグ酸摂取後の腸内細菌による代謝経路

培地を用いて培養した。

2 | サンプル調製

ウロリチン A, ウロリチン B, ウロリチン C, ウロリチン D (株式会社ダイセル, 大阪), 6H-benzo[c]chromen-6-one (ウロリチン H, 国産化学株式会社, 東京) は dimethyl sulfoxide (DMSO, シグマアルドリッチジャパン合同会社, 東京) を用いて調製した。エラグ酸 (富士フィルム和光純薬株式会社, 大阪) は 1 M 水酸化ナトリウム (富士フィルム和光純薬株式会社, 大阪) を用いて調製した。

3. | WST-1 assay による細胞毒性評価

RBL-2H3 細胞を 96 well microplate (コーニングジャパン株式会社, 東京) に 3.0×10^4 cells/well で播種し, 48 時間後, 通常培地で培養するノーマル (N) 群, DMSO 0.1% を添加したコントロール群, ウロリチン類を最終濃度 1 μ M, 10 μ M, 50 μ M, 100 μ M で添加したウロリチン群に分け培養した。30 分後に Water Soluble Tetrazolium Salts (WST-1; ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社, 東京) 含有培地に培地交換し 37°C で 30 分反応を行った後, 440 nm の吸光度を測定した。

4 | RBL-2H3 細胞におけるウロリチン類の β -hexosaminidase の放出抑制効果

RBL-2H3 細胞を 3.0×10^4 cells/well の細胞数で 96well microplate に播種し, 48 時間後, 一次感作として 50 ng/mL dinitrophenyl IgE (シグマアルドリッチジャパン合同会社, 東京) を添加した。2 時間後, ウロリチン類およびエラグ酸含有培地に交換した。30 分後, 二次感作として最終濃度 100 ng/mL dinitrophenyl albumin (シグマアルドリッチジャパン合同会社, 東京) を添加した。二次感作から 30 分後, 放出された β -hexosaminidase を含む培地を採取した。また, 接着している細胞は 0.5% Triton[®]X-100 (Alfer Aesar 社, マサチューセッツ) を用いて溶解して細胞溶解液を調製し, 細胞内の β -hexosaminidase 活性の測定に用いた。培地と細胞溶解液に基質として 10 mM 4-nitrophenyl *N*-acetyl- β -D-glucosaminide (シグマアルドリッチジャパン合同会社, 東京) / 0.1 M クエン酸緩衝液 (pH 4.5) を各々添加し 37°C で 30 分間静置後, ユ

ロリチン溶液を添加し反応を停止させ, 405 nm の吸光度を測定した。培地および細胞溶解液の各々の β -hexosaminidase 活性から, 細胞外に放出された β -hexosaminidase の放出率を算出した。

5 | RBL-2H3 細胞におけるヒスタミン遊離試験

ウロリチン類およびエラグ酸が RBL-2H3 細胞のヒスタミン遊離に与える影響を Histamine Research ELISA キット (BA E-5800R, LDN 社, ノルトホルン, ドイツ) を用いて測定した。 β -hexosaminidase 放出抑制試験時に採取した培地をヒスタミン測定に用いた。培地中のヒスタミンを *N*-アシルヒスタミンに誘導体化後, ヒスタミンが結合しているプレートにヒスタミン抗体とともに添加し, 競合 ELISA 法で定量した。

6 | 動物試験

雌性 BALB/c マウス (日本クレア, 東京) の 5 週齢を 0 日目とし, 0, 7, 14 日目に一次感作を行った。抗原はスギ花粉症の主要アレルゲンである Cry j1 と Cry j2 を含む日本スギ花粉抗原 Sugi Basic Protein (200 μ g/1 mL, フナコシ株式会社, 東京) を使用した。一次感作では一匹あたり抗原 10 μ g とともにアジュバントとして 7 mg の乾燥水酸化アルミニウムゲル (Al(OH)₃, ファイザー株式会社, 東京) を生理食塩水 300 μ L で希釈し, 腹腔内投与した。21 日目から 39 日目まで二次感作として一匹あたり抗原 1 μ g および 0.3 mg の Al(OH)₃ を生理食塩水 10 μ L に溶解し, 毎日鼻腔内投与した。

抗原投与開始から 28 日後, アレルギー症状であるくしゃみの回数および鼻掻きの回数を 10 分間盲検で計測し, コントロール群, ウロリチン A 群, デキサメタゾン (Dex, シグマアルドリッチジャパン合同会社) 群 (各 n = 7) に均等に分けた。群分けと同時に投与を開始し, ウロリチン A 群はウロリチン A を 1 mg/匹, Dex 群は Dex を 0.1 mg/匹ずつ胃内に直接投与した。ウロリチン A および Dex の希釈には 10% アラビアゴム (シグマアルドリッチジャパン合同会社, 東京) 溶液を用いた。コントロール群には 10% アラビアゴム溶液のみを投与した。ウロリチン A の投与量はマウスにおける筋肉量に与える影響を評価した Ryu らの投与量 50 mg/kg/day を参考とした¹³⁾。39 日目に再度, アレルギー症状を測定し, 40 日目に

解剖を行った。血液を採取し、 $1500 \times g$ で 15 分間、 4°C で遠心分離を行い、上清を採取した。

マウスは恒温恒湿度（室温： $20^{\circ}\text{C} \pm 26.0^{\circ}\text{C}$ 、湿度：40～60%）、12 時間明暗サイクル（明期：7:00～19:00）環境下で飼育を行った。本実験は、城西大学全学実験動物管理委員会の承認を得た後（承認番号 JU19078）、城西大学実験動物指針に基づき実施した。

7 | 血清中の総 IgE 濃度とヒスタミン濃度

血清総 IgE 濃度はレビス IgE-ELISA キット（富士フィルムワコーシバヤギ株式会社、群馬）を用いて測定した。また、スギ花粉アレルギー性鼻炎モデルマウスにおけるウロリチンのアレルギー抑制作用が鼻腔組織のみでなく、血中のヒスタミンに与える影響を評価するために Histamine ELISA kit Urine & Plasma samples (BA E-1000. ImmuSmol 社、ポルドー、フランス) を用い、競合 ELISA 法で定量した。

8 | NALF 中の好酸球数

解剖時に、気管を切断し、気管側から鼻腔側へ生理食塩水 1 mL を流し入れ、鼻洗浄液 (nasal lavage fluid, NALF) とした。採取した NALF を $2000 \times g$ で 10 分間、室温で遠心分離し、得られたペレットを生理食塩水 $50 \mu\text{L}$ で再懸濁した。懸濁液はスライドガラス上で風乾させた後、Diff-Quik 染色（シスメックス株式会社、兵庫）を行った。

9 | 鼻の病理組織標本

NALF 採取後に、鼻の先端から鼻軟骨の手前の方へ約 5 mm の長さを眼科用せん刀を用い摘出した。摘出した組織片は、ティシュー・テック® ユフィックス（サクラファインテックジャパン株式会社、東京）を使用し、 4°C で 24 時間固定後、パラフィンによる包埋、マイクロトームによる $5 \mu\text{m}$ 薄切を行い、切片とした。切片は Diff-Quik 染色（シスメックス株式会社、兵庫）により好酸球の染色を行い、顕微鏡下で観察した。

10 | 統計

データは平均 \pm 標準誤差 (Means \pm S.E.) で表記した。統計分析はデータ分析ソフトウェア JMP® (SAS

Institute Japan 株式会社、東京) を用いて行った。統計的有意性は Dunnett's test を用いて、 $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ で判断した。

II. 結果

1 | ウロリチン類の細胞毒性試験および脱顆粒抑制試験

WST-1 assay の結果、ウロリチン A は $100 \mu\text{M}$ においてコントロールと比較し約 1/2 と有意に RBL-2H3 細胞の WST-1 還元能を低下させた。また、エラグ酸は $50 \mu\text{M}$ においてコントロールと比較し約 1/2、 $100 \mu\text{M}$ において約 1/4 と有意に WST-1 還元能を低下させた。ウロリチン B、ウロリチン C、ウロリチン D、ウロリチン H は本実験で行った $100 \mu\text{M}$ までの範囲において WST-1 還元能に影響を与えなかった (図 2 (A))。β-hexosaminidase 放出率を比較した結果、コントロールと比較してウロリチン C およびウロリチン H は $1 \mu\text{M}$ の濃度においても放出率を約 1/2 と有意に減少させた。また、ウロリチン A、ウロリチン B、ウロリチン C、ウロリチン H は $10 \mu\text{M}$ の濃度において放出率を約 1/4 と有意に減少させた (図 2 (B))。一方、ウロリチン D とエラグ酸は $10 \mu\text{M}$ の濃度では β-hexosaminidase 放出率に影響を与えなかった。培地に遊離したヒスタミン濃度を比較した結果、コントロールと比較してウロリチン A、ウロリチン B、ウロリチン C は約 1/2 以下に有意に減少させた。ウロリチン D とエラグ酸のヒスタミン濃度はコントロールと比較して有意な差はなかった (図 2 (C))。

2 | スギ花粉アレルギー性鼻炎モデルマウスにおける結果

スギ花粉感作マウスにおけるサンプル投与前 (28 日目) のくしゃみの平均値は 21.6 ± 3.9 回であった。サンプル投与後 (39 日目) のくしゃみの回数は、コントロール群は 18.7 ± 4.1 回、ウロリチン A 群は 7.1 ± 2.0 回、Dex 群は 7.0 ± 2.8 回で、サンプル投与前 (28 日目) と比較して、コントロール群ではあまり変化がなかったのに対し、ウロリチン A 群と Dex 群はサンプル投与前 (28 日目) の約 1/3 に有意に減少した (図 3 (A))。また、鼻搔きのサンプル投与前 (28 日目) における平均値は 24.2 ± 2.1 回であった。サンプル投与後 (39 日目) の鼻搔きの回数を比較した結果、コントロール群は 22.6 ± 3.7 回、ウロリチン A 群は 22.6 ± 5.5 回、Dex 群は 16.4 ± 4.0 回となり、3

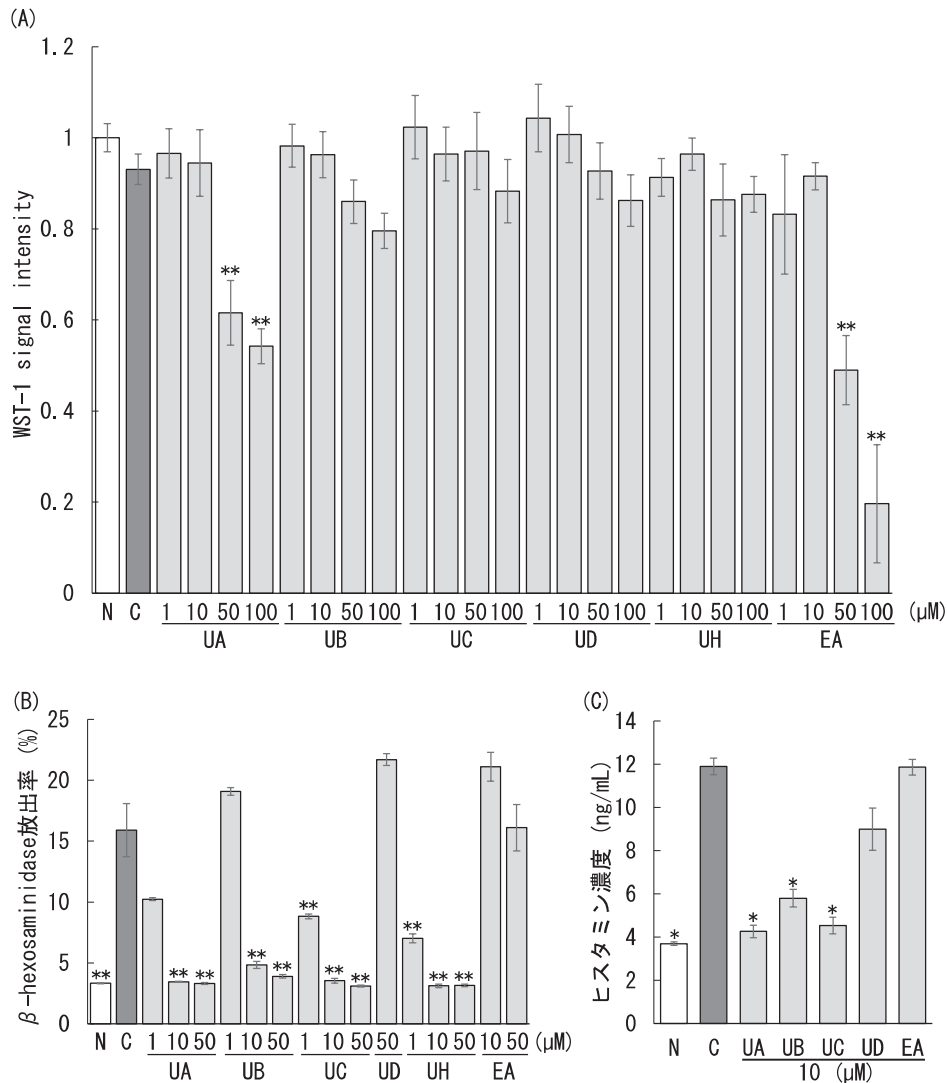


図2 エラグ酸およびウロリチン類がRBL-2H3細胞の細胞毒性、脱顆粒放出率、ヒスタミン遊離に与える影響

ノーマル (N), コントロール (C), ウロリチン (U), 6H-benzo[c]chromen-6-one (UH), エラグ酸 (EA).

(A) WST-1 assay による細胞毒性評価. Means ± S.E. Dunnett's test, ** $p < 0.01$ vs. C ($n = 4$).

(B) RBL-2H3細胞における脱顆粒抑制試験. 細胞外へ放出されたβ-hexosaminidase活性を測定した.

Means ± S.E. Dunnett's test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. C ($n = 3$).

(C) RBL-2H3細胞のヒスタミン遊離に与える影響. Means ± S.E. Dunnett's test, * $p < 0.05$ vs. C ($n = 3$).

群間に有意な差はなかった (図3 (B)).

血清総IgE濃度はすべての群において36.6～39.8 ng/mLとなり、各群間に有意な差は見られなかった (図4 (A)). 血清ヒスタミン濃度はコントロール群で 17.6 ± 3.5 ng/mL, ウロリチンA群で 16.5 ± 1.5 ng/mL, Dex群で 11.4 ± 1.4 ng/mLとなり、各群間に有意な差は見られなかったが、コントロール群と比較してウロリチンA群とDex群において減少傾向が見られた (図4 (B)). NALF中の好酸球数は、コントロール群で 351.3 ± 59.8 個/匹, ウロリチンA群で 198.4 ± 20.8 個/匹, Dex群で 183.5 ± 18.6 個/匹となり、コントロール群と比較し

てウロリチンA群とDex群は約1/2と有意に減少が見られた (図4 (C)). 鼻の病理組織標本を用いて好酸球の遊走による組織への増減を比較した結果、コントロール群と比較してウロリチンA群とDex群において好酸球の数が減少傾向であった (図5).

III. 考察

本研究ではウロリチン類の抗アレルギー作用について検討することを目的とした。ザクロやベリーにはエラグ酸およびエラグ酸の重合体であるエラジタンニン類が含まれている。エラグ酸の生理作用については多

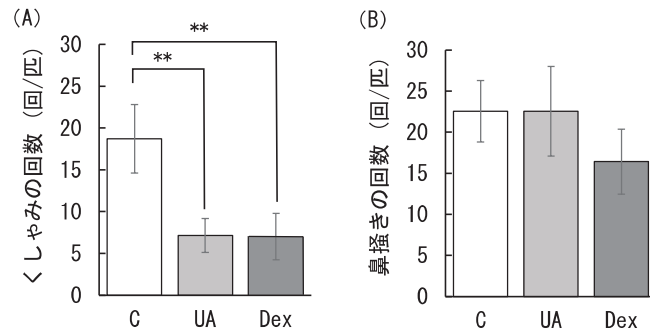


図3 ウロリチンAの摂取がスギ花粉症モデルマウスのくしゃみおよび鼻掻きの回数に与える影響
(A) くしゃみの回数. (B) 鼻掻きの回数. 盲検下で10分間計測した. Means \pm S.E. Dunnett's test, * p < 0.05 vs. C (n = 7).

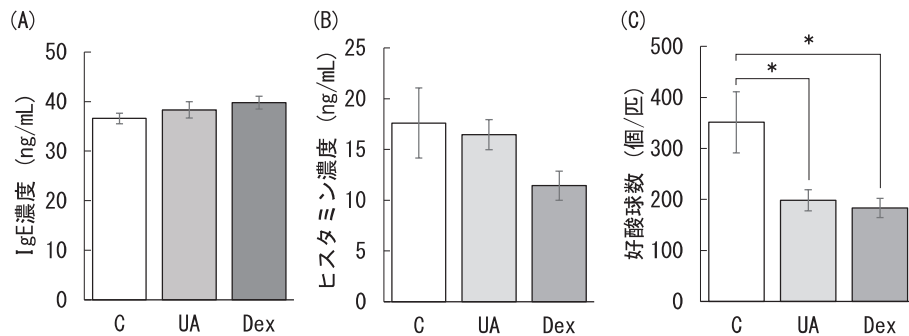


図4 ウロリチンAの摂取がスギ花粉症モデルマウスのIgE, ヒスタミン, NALF中の好酸球数に与える影響
(A) 血清中IgE濃度. Means \pm S.E. Dunnett's test, * p < 0.05 vs. C (n = 7).
(B) 血清ヒスタミン濃度. Means \pm S.E. Dunnett's test, * p < 0.05 vs. C (n = 4-6).
(C) NALF中の好酸球数. NALFから採取した細胞をDiff-Quik染色し, 赤く染色された細胞を顕微鏡下でカウントした. Means \pm S.E. Dunnett's test, * p < 0.05 vs. C (n = 7).

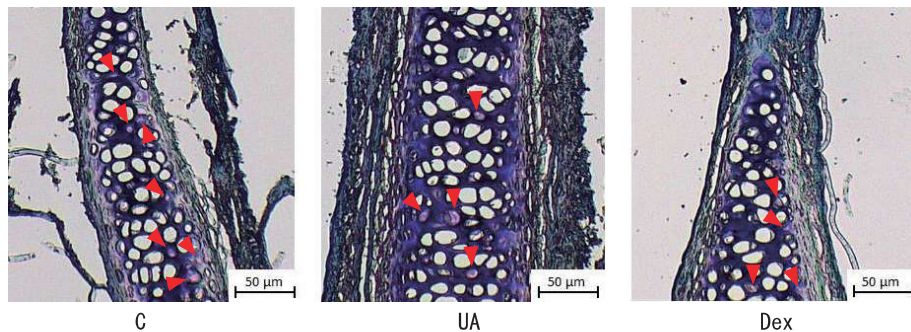


図5 鼻の病理組織標本

パラフィン切片を作製後, Diff-Quik染色し, 顕微鏡下で観察を行った. 赤三角は赤く染色された好酸球を示した.

くの報告があるが, その代謝物であるウロリチン類に対する報告は少ない.

まず, RBL-2H3細胞を用いてウロリチン類の種類と脱顆粒の関係性を β -hexosaminidase放出率抑制を指標に検討した. その結果, ウロリチンA, ウロリチンB, ウロリチンCおよびウロリチンHは, 細胞毒性に影響を与えない10 μ Mの濃度で有意に脱顆粒放出を抑制した. また, ウロリチンCおよびウロリチ

ンHはウロリチンAおよびウロリチンBと比較してより低濃度で脱顆粒抑制作用を示した. 一方, ウロリチンDおよびエラグ酸には脱顆粒抑制作用は見られなかった.

長野らの論文において, ウロリチンAやウロリチンCにすでに脱顆粒抑制作用が報告されている¹²⁾. われわれは本研究で新たにウロリチンBやウロリチンHにも脱顆粒抑制作用があることを明らかにした.

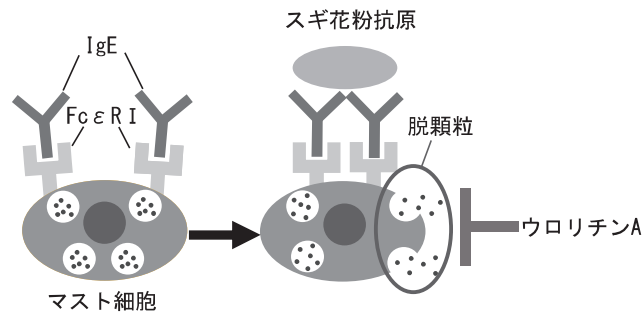


図6 ウロリチンAのアレルギー発症過程における作用点

一般的に抗酸化作用などはフェノール性水酸基が多いほど生理活性が高くなるが、本実験ではエラグ酸と比較してフェノール性水酸基の数が少ないウロリチン類の方が高い脱顆粒抑制作用が確認された。特に、ウロリチンCとウロリチンHはウロリチンAよりも高い脱顆粒抑制作用が得られた。これらの結果から、脱顆粒抑制作用の強さと抗酸化作用の強さは相関しない可能性があると考えられた。ウロリチンA, B, C, Dはヒトがエラグ酸摂取後に腸内細菌で代謝される成分であることが明らかになっているが、ウロリチンHは自然界での報告例はない。そこでヒトにおける食経験があるウロリチンA, B, C, Dの4種類を用いてヒスタミン放出量を比較した。その結果、 β -hexosaminidase 放出抑制試験の結果と同様に、ウロリチンA, B, Cのみがヒスタミン放出量を抑制した。今後、ウロリチン類の詳細な作用メカニズムを検討する必要がある。

次にスギ花粉アレルギー性鼻炎モデルマウスを用いて、エラグ酸摂取後にヒト血中で一番多く検出されるウロリチンAの抗アレルギー作用を検討した。本研究ではマウスにスギ花粉症の症状が確認された後にウロリチンAおよびポジティブコントロールであるDexを経口投与し、症状改善作用を評価した。ウロリチンAはアレルギー症状の一つであるくしゃみの回数をDexと同程度に減少させた。くしゃみは脱顆粒に伴うヒスタミンなどの分泌により、知覚神経が刺激されることで生じる。また、脱顆粒と同時に分泌された様々なケミカルメディエーターやサイトカインなどによって、好酸球が活性化し浸潤することで慢性的な鼻閉を引き起こす。そこで次に、NALF中の好酸球数を評価した結果、ウロリチンAおよびDexの経口投与はNALF中の好酸球数を有意に減少させた。通常のマウスの血中IgE濃度は0~15 ng/mLと報告^{14,15)}されている。本実験でアレルギーを発症したマ

ウスの血中IgE濃度は各々約30 ng/mLで3群間に有意な差はなかった。したがって、ウロリチンAはアレルギー発症過程におけるIgE抗体産生以降の経路で作用したと考えられた。一方、血中のヒスタミン濃度はDex群で減少傾向を示したが、3群間に有意な差はなかった。RBL-2H3細胞ではヒスタミンの放出抑制作用がみられていること、くしゃみの数および好酸球数の減少が確認されていることから、ウロリチンAおよびDexの投与量および期間を調整することで、血中ヒスタミンを抑制できる可能性もあるため、今後さらなる検討が必要である。また、アレルギーの発症には様々なサイトカインやケミカルメディエーターが関与しているため、ヒスタミン以外のケミカルメディエーターや炎症細胞の活性化を抑制する可能性も考えられる。本研究では、ヒスタミン産生細胞の一つである好塩基球の測定は行っておらず、今後、ウロリチンAが好塩基球に与える影響についても検討していく必要がある。また、ウロリチンAが鼻粘膜の腫脹および好酸球の遊走に与える影響はラットおよびマウスにおける臓器のサンプリングおよびトリミングに関する改訂ガイド¹⁶⁾に準じて行う必要がある。

以上をまとめると、本研究においてエラグ酸の代謝物であるウロリチンAをスギ花粉アレルギー性鼻炎モデルマウスに摂取させると、アレルギー症状を改善することを明らかにした。また、そのメカニズムとしてウロリチンAは脱顆粒抑制作用があることを*in vivo*においても明らかにできた(図6)。今後、さらなるメカニズムの解明とともに、ヒトに対する有効性評価も実施されることが期待される。

◆文献

- 1) 松原 篤, 坂下雅文, 後藤 稯, 川島佳代子, 松岡伴和, 近藤 悟, et al. 鼻アレルギーの全国疫学調査2019(1998年, 2008年との比較): 速報一耳鼻咽喉科

- 医およびその家族を対象として. 日耳鼻. 2020; 123: 485–490.
- 2) 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会, 鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会. 改訂第9版. 鼻アレルギー診療ガイドライン—通年性鼻炎と花粉症—2020年版. ライフ・サイエンス; 2020. p.2–19.
 - 3) 堀口申作, 斎藤洋三. The cases of Japanese cedar pollinosis in Nikko Tochigi prefecture [in Japanese]. アレルギー 1964; 13: 16–76.
 - 4) Saito Y, Japanese cedar pollinosis: Discovery, nomenclature, and epidemiological trends. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2014; 90(6): 203–210.
 - 5) Amakura Y, Okada M, Tsuji S, Tonogai Y. Determination of ellagic acid in fresh and processed fruits by HPLC. J. Food Hyg. Soc. Jpn. vol. 2000; 41(3): 206–211 .
 - 6) Lei F, Xing DM, Xiang L, Zhao YN, Wang W, Zhang LJ, et al. Pharmacokinetic study of ellagic acid in rat after oral administration of pomegranate leaf extract. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2003; 796(1): 189–194.
 - 7) Espín JC, Larrosa M, García-Conesa MT, Tomás-Barberán F. Biological significance of urolithins, the gut microbial ellagic Acid-derived metabolites: the evidence so far. Evid Based Complement Alternat Med. 2013; 2013: 270418.
 - 8) García-Villalba R, Beltrán D, Espín JC, Selma MV, Tomás-Barberán FA. Time course production of urolithins from ellagic acid by human gut microbiota. J Agric Food Chem. 2013; 61(37): 8797–8806.
 - 9) Tomás-Barberán FA, García-Villalba R, González-Sarrías A, Selma MV, Espín JC. Ellagic acid metabolism by human gut microbiota: consistent observation of three urolithin phenotypes in intervention trials, independent of food source, age, and health status. J Agric Food Chem. 2014; 62(28): 6535–6538.
 - 10) Lee G, Park JS, Lee EJ, Ahn JH, Kim HS. Anti-inflammatory and antioxidant mechanisms of urolithin B in activated microglia. Phytomedicine. 2019; 55: 50–57.
 - 11) Ishimoto H, Shibata M, Myojin Y, Ito H, Sugimoto Y, Tai A, et al. In vivo anti-inflammatory and antioxidant properties of ellagitannin metabolite urolithin A. Bioorg Med Chem Lett. 2011; 21(19): 5901–5904.
 - 12) Nagano T, Ito H, Okamoto T. Inhibitory effect of ellagitannin metabolites on IgE-mediated allergic responses in RBL-2H3 cells. Biosci Biotechnol Biochem. 2012; 76(12): 2310–2312.
 - 13) Ryu D, Mouchiroud L, Andreux PA, Katsyuba E, Moullan N, Nicolet-Dit-Felix AA, et al. Urolithin A induces mitophagy and prolongs lifespan in *C. elegans* and increases muscle function in rodents. Nat Med. 2016; 22(8): 879–888.
 - 14) Choi S, Jung MA, Hwang YH, Pyun BJ, Lee JY, Jung DH, et al. Anti-allergic effects of *Asarum heterotropoides* on an ovalbumin-induced allergic rhinitis murine model. Biomed Pharmacother. 2021; 141: 111944.
 - 15) Zhang N, Li H, Jia J, He M. Anti-inflammatory effect of curcumin on mast cell-mediated allergic responses in ovalbumin-induced allergic rhinitis mouse. Cell Immunol. 2015; 298 (1–2): 88–95.
 - 16) Ruehl-Fehlert C, Kittel B, Morawietz G, Deslex P, Keenan C, Mahrt C R, et al. Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice—part 1. Exp Toxicol Pathol. 2003; 55(2–3): 91–106.

Abstract

Urolithin (U) is a group of metabolites of ellagic acid (EA) and has antioxidant activity. In this study, we investigated the effect of U analogs (UA, UB, UC, UD, and UH) and EA on type1 hypersensitivity *in vitro* and *in vivo*. UA, UB, UC, and UH inhibited the release of β -hexosaminidase, an indicator of degranulation, from sensitized RBL-2H3 cells stimulated with DNP-albumin. Next, we evaluated the effect of UA on allergic symptoms in a mouse model of Japanese cedar pollinosis. BALB/c female mice were intraperitoneally injected with Japanese cedar pollen antigen as primary sensitization 3 times for 3 weeks. Further antigen was administered intranasally as secondary sensitization with or without UA for 19 days. Dexamethasone (Dex) was used as a positive control. The number of sneezes and eosinophils in the UA and Dex administration groups decreased significantly compared to the control group. Serum IgE levels were not different among the three groups. In conclusion, oral intake of UA suppresses sneezing and eosinophil migration. These suppressions might be caused by inhibition of mast cell degranulation.