

テーマ: Echinacea Purpurea

「非クローン性免疫ストラテジーとその調節」

1998年 9月 17日 食品開発展での講演概要:

薬用として最も評価の高い「エキナセアプルブレアの地上部」について E. Flachsmann 社 Kreuter 博士の最新の研究報告。

1989年 3月 2日、ドイツ保健省の専門委員会 E(Kommission E)(以下・コミッションE)は、エキナセアプルブレアの**開花時(花が咲いている時点で)の新鮮な地上部**から製造される搾汁液をエキナセアの有効成分として認可(参照:補足資料1・2・5)。

コミッションEは、ドイツ保健省が全ての医薬品の安全性と効果を評価・承認するために設けられた16の委員会の1つであり、植物性の生薬と医薬品製剤を担当する委員会として1978年に設立された。

ここで述べる「エキナセア」とは、薬用とされる3種類のエキナセアの1つ「エキナセアプルブレア(Echinacea Purpurea L.Moench)」であり、更にその「地上部(花・葉・茎)」についてである(参照:補足資料3・4)。

1) 臨床所見並びに多数のインビトロでの薬理試験に基づき認められたエキナセアの効能

- 免疫反応の初期段階を増強する。
- 適応性免疫反応(Adaptive immune response)を促進する。

2) エキナセアの特徴成分(フラクトフラノシド、アルキルアミド)

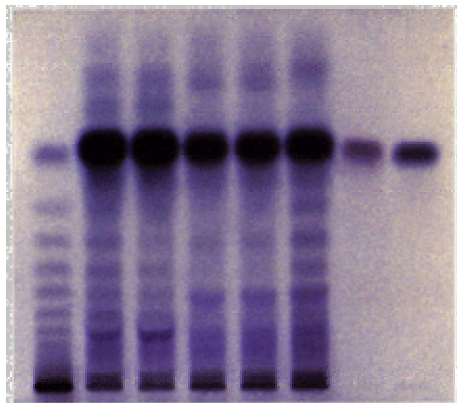
1. フラクトフラノシド(親水性)、アルキルアミド(親油性)の2成分
2. 両成分はエキナセア搾汁液の品質の確かさを測る指標成分
3. エキナセア搾汁液の品質と安定性の指標成分

2つの成分を調べることで、エキナセア搾汁液とその抽出物の状態を知ることができる。

エキナセアの採集時期が開花時を外れるとアルキルアミドが検出されず、また、採集後の保管や処理方法が悪いと、フラクトフラノシドが酵素や微生物により分解され検出されない場合がある。エキナセア製剤中の両成分がコミッションEに規定される開花時のエキナセア中の構成を再現するように、採集、処理、製造されることが重要となる。

3) 特徴成分: フラクトフラノシド(親水性)

フラックスマン社のエキナセア搾汁エキス(85.894)と他社のエキナセア搾汁エキスについてフラクトフラノシドの薄層クロマトグラムパターンを比較すると、以下のような差異が認められる。



左から

トラック1: 対照物質 イヌリン溶液

トラック2: FLACHSMANN 社のエキナセア搾汁エキス 85.894、45570 - 01

トラック3: FLACHSMANN 社のエキナセア搾汁エキス 85.894、46294 - 01

トラック4: 他社のエキナセア搾汁エキス1

トラック5: 他社のエキナセア搾汁エキス2

トラック6: 他社のエキナセア搾汁エキス3

トラック7: 対照物質 フルクトース溶液(分子量 180.16)

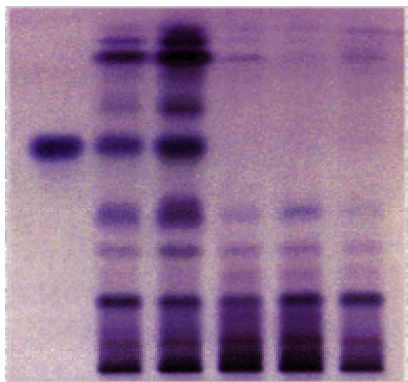
トラック8: 対照物質 ショ糖溶液(分子量 342.30)

4) エキナセアプルブレアの特徴成分: アルキルアミド(親油性)

フラックスマン社のエキナセア搾汁エキス 85.894 と他社の搾汁エキスのアルキルアミドについての薄層クロマトグラムを比較。クロマトグラムの下側に親水性物質、上部に親油性のアルキルアミド類のバンド。アルキルアミドは、エキナセアの花の部分我代表する成分であり、コミッションEは、開花時のエキナセアを使用することを指定している。

アルキルアミドは舌の麻痺を引き起こす成分でもあり、古くは北米インディアンがこの感覚をエキナセアの品質の評価に用いた。

トラック 2と3のフラックスマン社のエキナセア搾汁エキスのパターンには、このアルキルアミドのバンドがはっきりと見られるが、他社の搾汁エキスのパターンには極めて薄くしか見られない。これは、他社の搾汁エキスが花の部分を含まずに製造されたか、あるいは採集後の保管及び製造の過程でアルキルアミドを失ったものと考えられる。



左から

トラック1: 対照物質 β -sitosterol 溶液

トラック2: FLACHSMANN 社のエキナセア搾汁エキス 85.894、45570 - 01

トラック3: FLACHSMANN 社のエキナセア搾汁エキス 85.894、46294 - 01

トラック4: 他社のエキナセア搾汁エキス 1

トラック5: 他社のエキナセア搾汁エキス 2

トラック6: 他社のエキナセア搾汁エキス 3

5) エキナセア搾汁液の生理活性成分

特定物質又は特定物質群を生理活性成分 (biologic active principle) として解明しようとする研究はこれまで成功していない。

従来の、単離された物質 (チコリ酸、エキナセア中の多糖類、アラビノガラクトンのような物質) がインビトロ試験で生理活性の発揮に必要とされた濃度→5.0 μ ~ 250 μ g/ml。

エキナセア搾汁液に含まれるそれらの物質の量は微量→上記の 1/100 ~ 1/1000。

インビトロ試験の単離物質の濃度を生体内で達成するためには、莫大な量のエキナセア搾汁液が必要となる。この点で、従来の研究は、インビトロ試験の濃度と生体内濃度との関係を説明できない。

6) エキナセアによるサイトカインの放出についてのインビトロ試験での

フラックスマン社の「エキナセア搾汁液」が治療上有効な生理活性を有すると仮定して、以下の項目についてインビトロ試験を実施した。

- 1・ヒトマクロファージの活性化
- 2・異なるサイトカイン(IL1,IL6,IL10,TNF- α)の放出

7) 実験の結果

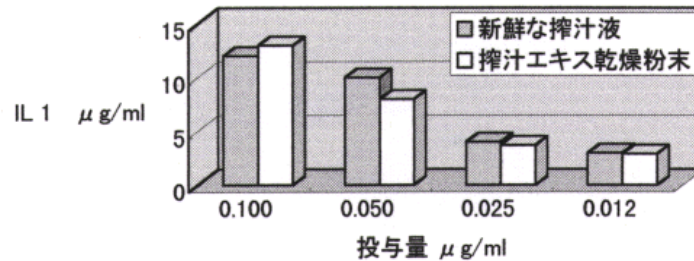
フラックスマン社のエキナセア搾汁液の培地濃度が 25ng / ml にて既に以下の活性を確認した。

- 1・ヒトマクロファージからのサイトカインの顕著な放出 / 生産が認められた。
- 2・エキナセア搾汁液の投与量と反応との間に比例関係を認めた。

実験の結果を以下の4枚のグラフに示す。

グラフ 1/4

グラフ 1/4 インターロイキン 1 (IL1) の生産

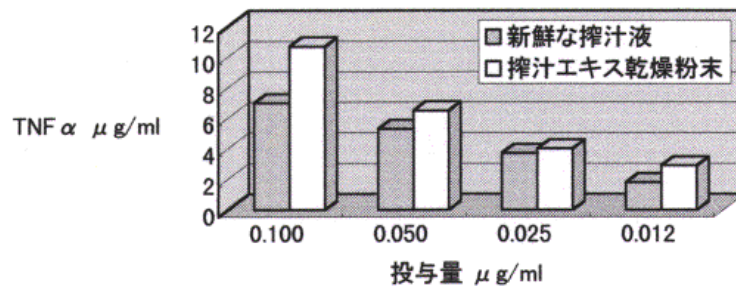


エキナセアの搾汁液と搾汁エキスの乾燥粉末を投与して 18 時間インキュベーションした後のヒトマクロファージによるIL-1の生産について(グラフの値は三回培養の標準平均偏差)

エキナセアの投与により得られるIL-1の値は、対照液(濃度0)の投与により得られるIL-1のレベル 0.047 $\mu\text{g/ml}$ を大きく上回る ($p<0.05$)。

グラフ 2/4

グラフ 2/4 腫瘍壊死因子 α (TNF α) の生産

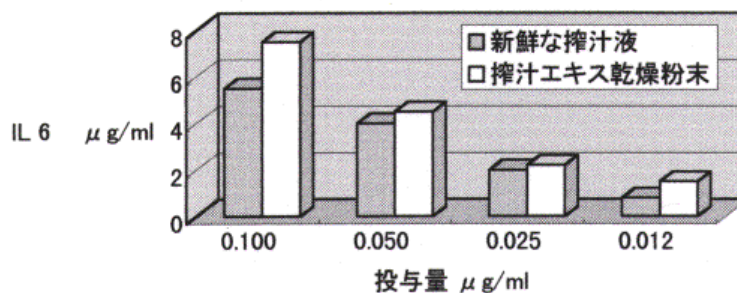


エキナセアの搾汁液と搾汁エキスの乾燥粉末を投与して 36 時間インキュベーションした後のヒトマクロファージによる TNF- α の生産(グラフの値は三回培養の標準平均偏差)

エキナセアの投与により得られる TNF- α の値は、対照液(濃度0)の投与により得られる TNF- α のレベル 0.89 $\mu\text{g/ml}$ を大きく上回る($p<0.05$)。

グラフ 3/4

グラフ 3/4 インターロイキン 6 (IL 6) の生産

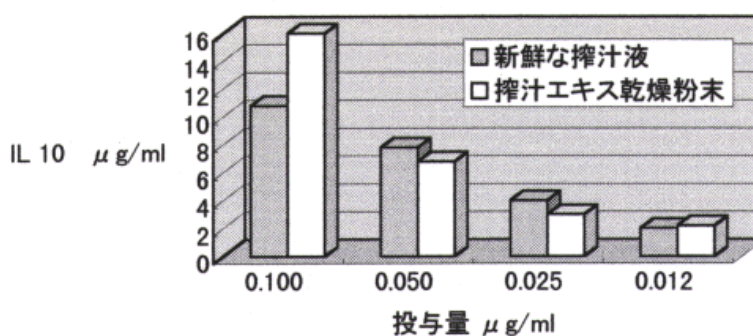


エキナセアの搾汁液と搾汁エキス乾燥粉末を投与して 72 時間インキュベーションした後のヒトマクロファージによる IL-6 の生産 (グラフの値は三回培養の標準平均偏差)

エキナセア投与により得られる IL-6 の値は対照液 (濃度 0) の投与により得られる IL-6 のレベル 0.027 μg/ml を大きく上回る ($p < 0.05$)。

グラフ 4/4

グラフ 4/4 : インターロイキン 10 (IL 10) の生産



エキナセアの搾汁液と搾汁エキスの乾燥粉末を投与して 36 時間インキュベーションした後のヒトマクロファージによる IL-10 の生産 (グラフの値は三回培養の標準平均偏差)

エキナセア投与により得られる IL-10 の値は対照液 (濃度 0) の投与により得られる IL-10 のレベル 1.06 μg/ml を大きく上回る ($p < 0.05$)。

8) 以上のインビトロ試験 についての結論

- サイトカインの遊離に有効であったフラックスマン社のエキナセア搾汁液の濃度: 0.025 ~ 10.0 μg/ml
- サイトカインの遊離に有効であったエキナセア搾汁液の単離成分投与量 (文献上で確認): 5.0 ~ 250 μg/ml

この2つの数値を比べると、フラックスマン社のエキナセア搾汁液及び搾汁エキスは単離成分と比べはるかに微量で活性を示している。更に、エキナセア搾汁液中に含まれる単離成分の量が微量であることから次のことが明らかとなる。

エキナセアの搾汁液の生理活性は、従来研究された単一物質によっては説明されない。

9) 生物標識としてのフルクトフラノシド

フラックスマン社では、エキナセア搾汁液の生物標識 (Biomarker) として「フルクトフラノシド」を用いる。今回の実験の第一の目的は、エキナセア搾汁液の生理活性がこの生物標識(フルクトフラノシド)に起因するものか否か、又、起因する場合その程度を解明することでした。そこで、エキナセア搾汁液とその二つの分画を用いた実験を実施した。

- エキナセア搾汁液の分子量 0～1,000 の分画
- エキナセア搾汁液の分子量 1,000～10,000 の分画
- 分画されないエキナセア搾汁液

上記の三種類を更に、酵素加水分解(フラクトフラノシダーゼ)によりフルクトフラノシドを分解したものと、そうでないものに分けて、ヒトマクロファージにおける TNF- α の遊離活性を調べた。

10) 実験結果:

フルクトフラノシドの酵素加水分解(フラクトフラノシダーゼ)は、明らかな活性の低下につながる。

- 酵素加水分解を受けた分子量 0～1,000 の分画は、36～72 時間のインキュベーションで、活性が加水分解前の分画と比べて 90～99% 低下。
- 酵素加水分解を受けた分子量 1,000～10,000 の分画は、同様に活性が 70～95%低下。

11) 以上の実験の結論:

- エキナセア搾汁液主たる活性は、酵素加水分解前の分子量 0～1,000 の分画に見られる。
- エキナセア搾汁液の酵素分解は活性化の低下につながる。
- 分子量が 600～3,000 フラクトフラノシドは活性を示す分画中にある。
- フラクトフラノシドは、品質管理に適切かつ有用な生物標識である。フラクトフラノシドを調べることで、エキナセアの活性物質又はその物質特性が損傷されていないことを確認できる。

12) まとめ:

- エキナセア搾汁液は適応性免疫反応を促進し、マクロファージの活性化によりサイトカインの生産を誘導する。
- フルクトフラノシドは、エキナセア搾汁液の生理活性に関する品質の標準化に適切な物質であると考えられる。
- 生理活性物質は主として分子量 0～1,000 の物質中に存在する。

エキナセア製剤中のフルクトフラノシドを調べることで、開花時に採集されたエキナセアが、微生物に因る損傷、酵素分解、物理化学的なダメージ等により品質変化を起こしていないかを調べることができる。又、それにより、常に同一品質のエキナセア製剤を製造することが可能となる。