

## 414 種類の生薬に含まれるリポポリサッカライド(LPS)含有量

### ～生薬の自然免疫活性化能を LPS で再評価する～

2024 年 7 月 31 日

#### □概要

自然免疫制御技術研究組合、北海道科学大学薬学部、および新潟薬科大学の研究チームは、日本薬局方に記載されている 157 種の生薬を大きく超える、414 種類の生薬について、リポポリサッカライド(LPS)の含有量を測定し、その結果をデータベースとして発表しました。測定データからは、ほとんどの生薬に LPS が含まれており、98 種類の生薬には 10  $\mu\text{g/g}$  以上、12 種類では 100  $\mu\text{g/g}$  を超える多量の LPS が含まれていることが示されています。LPS は経口摂取によって自然免疫を活性化する能力がありますので、多くの生薬において、薬効成分として LPS が寄与していると考えられます。この研究結果は、従来ほとんど考慮されていなかった LPS が、生薬の新たな有効成分、評価基準として考慮する必要性を示しています。本研究成果は、科学誌『Scientific Reports』に 2024 年 7 月 4 日に公開されました。

#### □背景

LPS は、グラム陰性細菌の外膜に存在する脂質と多糖からなる分子で、古くから炎症誘導物質として知られています。LPS は Toll 様受容体 4 (TLR4) \*1 に結合し、核内因子  $\kappa\text{B}$  (NF $\kappa\text{B}$ ) \*2 を活性化して炎症性サイトカインの産生を促進します。LPS の静脈内投与は重篤な症状を引き起こしますが、経口投与では健康な人に炎症を引き起こしません。健康な人の腸管や皮膚に存在する LPS は健康維持に役立ち、LPS への曝露の欠如はアレルギーや感染症の感受性増加と関連しています。

多くの植物や生薬、米や小麦などの主食にも LPS が含まれており、その摂取により免疫機能が向上することが示されています。例えば、多くの植物に共生しているグラム陰性細菌の *Pantoea agglomerans* の LPS (LPSp) の経口摂取はマウスで免疫機能を促進し、抗がん剤の効果を高めるなどの効果が確認されています。

当組合では 1992 年に約 60 種類の植物サンプルの LPS 含有量を調査し、一部の植物が 100  $\mu\text{g/g}$  を超える LPS 含有量を持つことを発見しましたが、その後の研究は限られており、まだ十分に評価されていません。本研究では、414 種類の生薬に含まれる LPS の含有量とマクロファージ\*3 活性化を評価することを目的としました。

#### □主要な結果

##### 1. LPS の含有量

414 種類の生薬を熱水抽出し、抽出物の LPS 含有量をリムルス試験（比濁時間分析法）により測定しました。

- ・ 414 種類の生薬抽出物の LPS 含有量は数 ng/g から数百 μg/g の範囲で変動しました（図 1）。

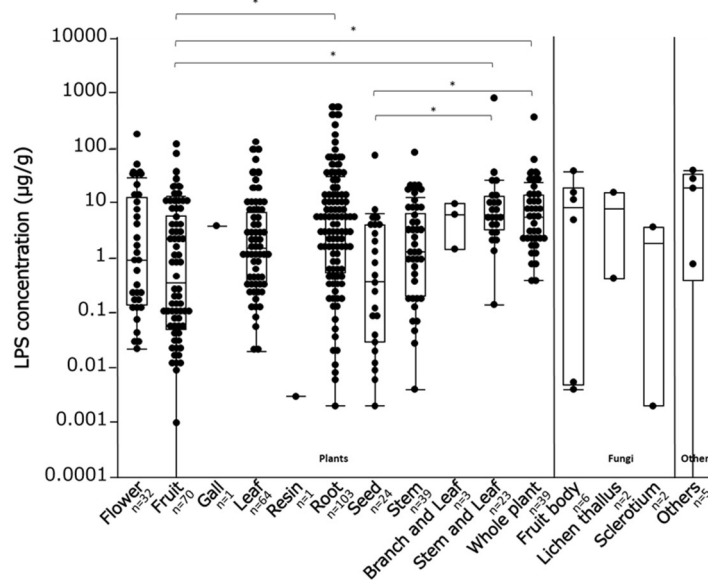


図 1. リムルス試験を用いて測定した 414 種類の生薬抽出物の LPS 含有量分布です。サンプルは植物、菌類、その他に分類され、植物サンプルは部位によってさらに細分化されました。なお、\* は Steel-Dwass 検定で  $p < 0.05$  を示しています。

- ・ これらのうち、12 種類のサンプルが 100 μg/g 以上の高 LPS 含有量を示しました。これらのサンプルは主に根や葉から抽出されたものでした（表 1）。

Sample name	Scientific name	Part	Limulus activity (μg/g)
Oat	<i>Avena sativa</i> L.	Stem and leaf	825.5
Sacred lotus, Lotus	<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	Root	624.5
Aralia rhizome	<i>Aralia cordata</i> Thunb.	Root	504.0
Fortune's drynaria rhizome	<i>Drynaria roosii</i> Nakaike	Root	423.0
Couch grass, Quack grass	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Gould	Root	392.6
Common ducksmeat	<i>Spirodela polyrhiza</i> (L.) Schleid.	Leaf	366.6
Angelica dahurica root	<i>Angelica dahurica</i> (Hoffm.) Benth. & Hook.f. ex Franch. & Sav.	Root	266.6
Corn silk	<i>Zea mays</i> L.	Flower	180.1
Bupleurum root	<i>Bupleurum falcatum</i> L.	Root	148.5
Ginger	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe.	Root	122
Artemisia leaf	<i>Artemisia princeps</i> Pamp.	Leaf	121.8
Bitter melon	<i>Momordica charantia</i> L.	Fruit	118.5

表 1. LPS 含有量が他のサンプルより有意に高い 12 の生薬抽出物サンプル。高濃度順に掲載しています。

## 2. マクロファージの活性化

マウスのマクロファージ細胞 (RAW 264.7) を用いて貪食能<sup>\*4</sup> および一酸化窒素 (NO) 産生<sup>\*5</sup> を評価しました。

・ 高 LPS 含有量の 12 種類の生薬抽出物は、マウスマクロファージ細胞の貪食能 (図 2) および NO 産生を顕著に増加させました。

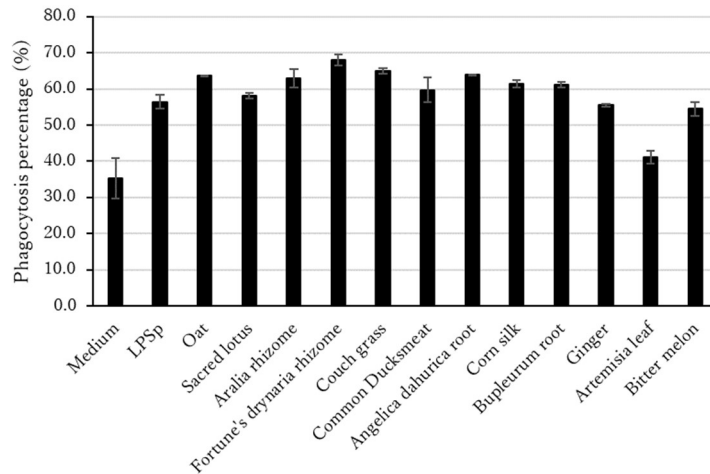


図 2. 最も高い LPS 含有量を示した 12 種類の生薬抽出物サンプル (表 1) によって刺激された RAW 264.7 細胞の貪食率。添加された生薬抽出物および LPSp の LPS 濃度が 100 ng/ml となるよう調整されました。データは 2 回の独立した測定の平均値と標準偏差を示しています。

・ これら 12 種類の生薬抽出物を NO 産生誘導のために必要な LPS 量に基づいて分類したところ、LPSp より少ない LPS で効果があるもの (4 サンプル)、LPSp と同等のもの (5 サンプル)、LPSp より多くの LPS を必要とするもの (3 サンプル) に分類できました (図 3)。

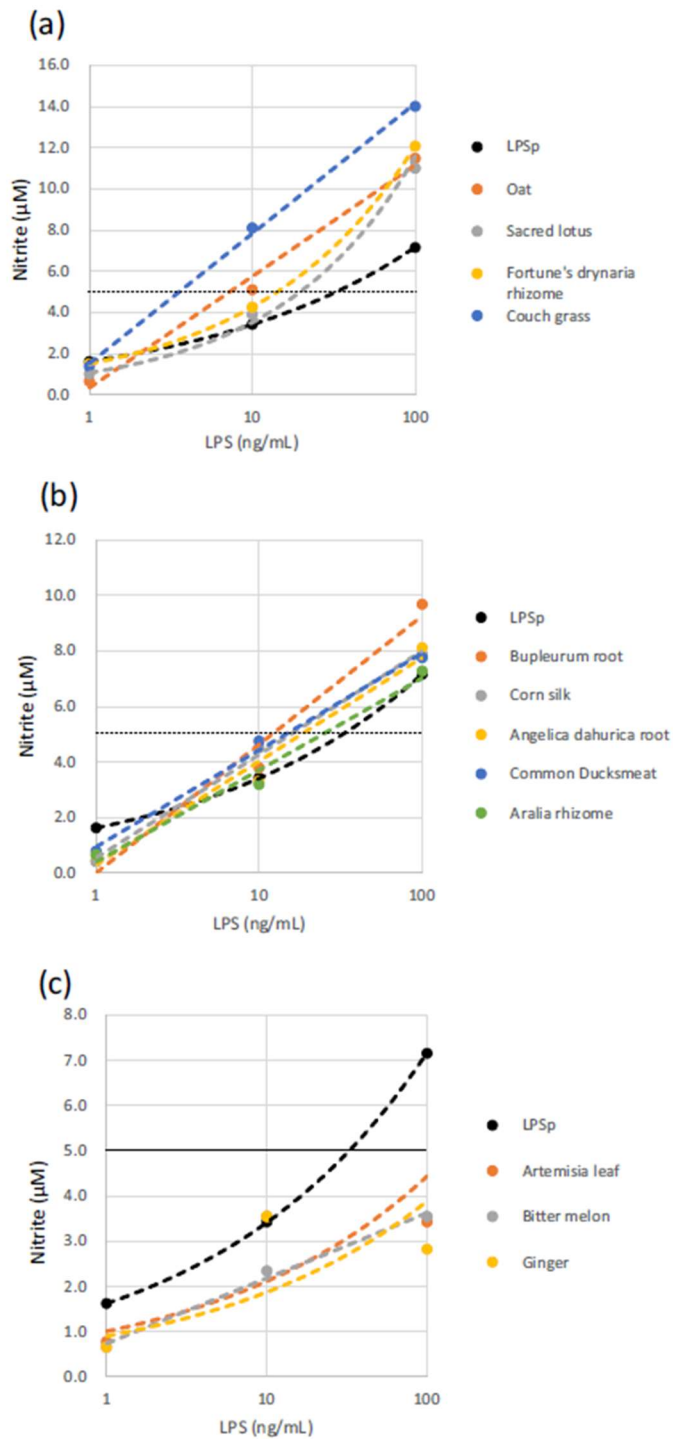


図 3. 最も高い LPS 含有量を示した 12 種類の生薬抽出物サンプル (表 1) の LPS を 1、10、および 100 ng/ml の濃度で添加して刺激した RAW 264.7 細胞における NO 産生量を亜硝酸量として測定し、マクロファージ活性化能の用量反応曲線を決定しました。LPSp を対照とした場合、5  $\mu$ M 以上の亜硝酸を誘導するために必要な LPS 量が (a) LPSp より少ない、(b) LPSp と同等、(c) LPSp より多いと分類されました。点線は 5  $\mu$ M 亜硝酸を示しています。

・ ポリミキシン B\*<sup>6</sup> を用いた実験により、これらの生薬抽出物によるマクロファージ活性化が主に LPS によるものであることが強く示唆されました (図 4)。

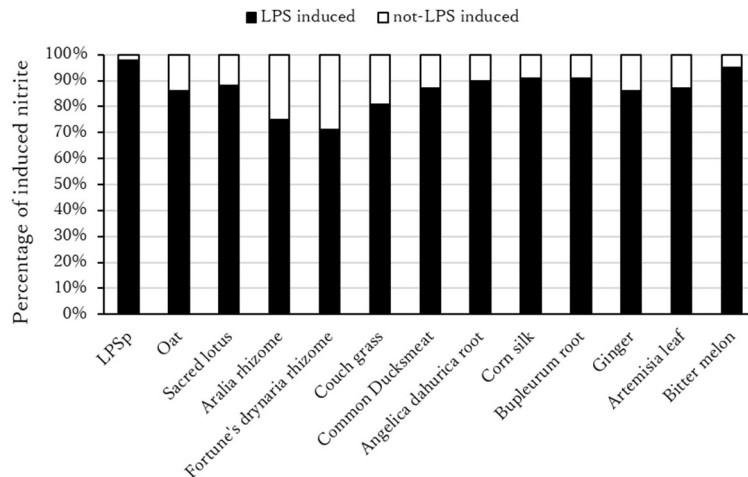


図 4. 最も高い LPS 含有量を示した 12 種類の生薬抽出物サンプル (表 1) によって刺激された RAW 264.7 細胞の NO 産生。生薬抽出物サンプル中の LPS (黒) とその他の成分 (白) によって刺激された RAW 264.7 細胞が産生した NO の割合を示しています。LPS 濃度が 10 ng/ml となるよう調整されました。黒い部分は、ポリミキシン B 添加後に減少した NO<sub>2</sub> の割合を表し、生薬抽出物中の LPS によって誘導された NO<sub>2</sub> の割合を示しています。

これまでの研究結果から、一部の生薬には多量の LPS が含まれており、その LPS がマクロファージを活性化する能力があることが示されました。しかし、すべての生薬で LPS 含有量とマクロファージ活性化能が同等であるわけではありません (図 3)。また、生薬にはベータグルカン、バクテリア由来の核酸、ペプチドグリカン、フラジェリンなど、他のマクロファージ活性化物質も含まれており、これらが LPS と相乗的に作用している可能性があります。さらに、共生菌に由来する LPS の構造によって生物活性が異なることも考えられます。そのため、生薬の LPS 含有量の測定だけでは、その自然免疫活性化作用を十分に評価することはできません。各生薬に対して個別に研究を行う必要があります。

本研究は、生薬抽出物中の LPS が自然免疫を活性化し、その薬効において重要な成分である可能性を示唆しています。これにより、生薬の有効性を評価する新しいアプローチとして、LPS 含有量に基づく評価方法を提案しました。

#### □ 今後への期待

本研究は、自然免疫への理解を深めるとともに、生薬に含まれる LPS の含有量とその免疫活性化能力に関する重要な知見を提供しています。これにより、今後の研究において参考

となる基盤データが得られました。さらに、これらの生薬に含まれる LPS が人間の健康にどのような影響を与えるかを調査することが重要です。研究チームは今後も研究を続け、医療および健康分野での応用を目指してまいります。

## □論文情報

論文名	<b>Baseline data collections of lipopolysaccharide content in 414 herbal extracts and its role in innate immune activation</b>
著者名	Vindy Tjendana Tjhin <sup>1</sup> , 小田 真隆 <sup>1</sup> , 山下 雅史 <sup>1</sup> , 岩城 知子 <sup>1</sup> , 藤田 康子 <sup>1</sup> , 若命 浩二 <sup>2</sup> , 稲川 裕之 <sup>1, 3</sup> , 杣 源一郎 <sup>1, 3</sup> (1 自然免疫制御技術研究組合 2 北海道科学大学 薬学部 3 新潟薬科大学 健康・自立総合研究機構)
雑誌名	Scientific Reports
DOI	10.1038/s41598-024-66081-2
公表日	2024 年 7 月 4 日 (オンライン公開)



## □お問い合わせ先

自然免疫制御技術研究組合

〒761-0301 香川県高松市林町 2217-16 FROM 香川 3 階 バイオ研究室

メール : [ciitra@shizenmeneki.org](mailto:ciitra@shizenmeneki.org)

URL : <https://www.shizenmeneki.org/>

## □用語解説

\*1 Toll 様受容体……病原体認識に重要な細胞表面受容体であり、免疫応答を誘導します。主に自然免疫系細胞が有し、ウイルスや細菌の検出に関与します。

\*2 NF $\kappa$ B……細胞の炎症反応や免疫応答の調節に関与する転写因子であり、ストレスや感染に応答して活性化されます。

\*3 マクロファージ……自然免疫において最も重要な細胞で、病原体や生体内で生じる異物（死細胞、老化細胞、がん細胞、変性タンパク質、酸化脂質など）を貪食して、感染予防、組織修復・再生など健康維持を広く担っています。最近、全免疫細胞重量の 50%をマクロ

ファージが占めることが報告されています。

\*4 貪食……免疫細胞が細菌やウイルス、死細胞、老化細胞、がん細胞などの異物を細胞内に取り込み、消化・分解する働きです。

\*5 NO 産生……マクロファージの活性化状態を評価する指標です。マクロファージは病原体や炎症性刺激に反応して一酸化窒素合成酵素 (iNOS) を誘導し、一酸化窒素 (NO) を生成します。NO は強力な殺菌、がん細胞障害作用を持ち、感染制御や健康維持に役立ちます。

\*6 ポリミキシン B……LPS と特異的に結合して阻害する作用を持つ抗生物質。