

天然色素によって染色された綿布のダニアレルゲン抑制

－第1報・ポリフェノール系染料と媒染剤の組合せによる

アレルゲン低減化率の変化－

増山 和晃*, 西川 奈緒美*, 舟木 淳夫*

Suppression of Mite Allergens in Cotton Cloth Colored with Natural Dyes

Kazuaki MASUYAMA, Naomi NISHIKAWA and Atsuo FUNAKI

The present study evaluated various combinations of dyes and mordants to assess their ability to reduce mite allergens in relation to the amount of metal retained, when cotton cloth was stained with any of 8 natural dyes (each containing polyphenols) in combination with one of four mordants. The study revealed that the different dyes exhibited greatly varied allergen-reducing properties, and that allergens were more markedly suppressed when copper acetate was used as a mordant than when the other mordants were employed to set the same dye.

Key words: mite allergen, tannic acid, natural dye, mordanting.

1. はじめに

室内ダニアレルゲンは小児ぜんそくやアトピー性皮膚炎の主原因といわれている。この対策としては、主に薬剤による対処療法が行われてきたが、近年QOL(生活の質)向上の観点から、抗原回避による予防医学が重視され、多くの対策商品が世に出回るようになった。この中でも特にタンニン酸は、ダニアレルゲンを低減化する物質として多く報告されており、殺ダニ剤と組み合わせることによってさらに効果が期待できるという報告がある^{1~5)}。しかし、タンニン酸は水溶性であるため例えば繊維製品に利用した場合には洗濯ごとに溶出するため、持続的な効果を得ることができない。そのため、持続した効果を得るためにはタンニン酸を洗濯ごとに再度使用しなければならない問題がある。そこで今回は洗濯によっても落ちないポリフェノールを有する天然染料

* 材料技術研究課

を、アレルゲン低減化物質として用い、これを綿生地に定着させ、その生地に対するダニアレルゲン低減化性能を測定した。

ダニアレルゲンの低減化機構については諸説述べられており、アレルゲンタンパク質とポリフェノール中のフェノール性水酸基間におけるマルチバレントインタラクション⁶⁾が挙げられている。

一方、Hidayatらは、染料(dye)とイミノジ酢酸(i minodiacetic acid)複合体(dye-IDA matrix)に対するアルコールジヒドロゲナーゼ(alcohol dehydrogenase (ADH))の吸着に対して検討しており、その機構は、まず亜鉛イオンの存在によりADHとの相互作用が起これ、その後dye-IDA matrix上で吸着が起これと共に固定化されるとの記載がある⁷⁾。

また、Chun-Yu Wuらは再生セルロース上に銅を固定化した膜上のタンパク質吸着について検討しており⁸⁾タンパク質吸着能力は、タンパク質分子量の

増大と接触可能な表面ヒスチジン残基の増加によって低下することを指摘している。

そこで、今回の実験では金属媒染剤のダニアレルゲンタンパク質に対する吸着性の影響を測定するために天然染料の染色剤として一般に用いられているアルミ、銅、鉄、スズを媒染剤として用い、媒染剤の違いによるダニアレルゲンタンパク質低減化の影響と金属含有量の測定を行った。

2. 実験方法

2.1 天然色素による染色・媒染

・天然染料

天然染料は、次の8種（1・西洋茜、2・赤目櫨、3・蘇芳、4・ウコン、5・刈安、6・楊梅、7・硬紫根、8・五倍子）を漢方薬会社より購入したものをそのまま用いた。それぞれの主要色素の構造式、主要色素名、植物名を図1に示す。

・媒染剤

媒染剤は、次の4種（塩化第一スズ、酢酸アルミニウム、木酢酸鉄、酢酸銅）を用いた。この内、木酢酸鉄以外は市販の試薬をそのまま蒸留水で希釈し用いた。木酢酸鉄は、古釘 100g と木酢酸液 30ml と水 100ml をビンにいれて、3日から1週間ほど放置した後の上澄み液を用いた。これら天然染料と媒染剤の組合せを表1に示す。

・天然色素による染色と媒染

天然染料 100g と 2L の蒸留水を 3L のビーカーに入れ沸騰させた。沸騰開始後綿生地 100g をさらに加え 20 分間維持した。その後一晩放置した。次の日、この生地を 5 つに分け、この内 4 つの生地を以下の方法で媒染した。まず、塩化第一スズ 0.75g、酢酸アルミニウム 1.25g、木酢酸鉄 0.75ml、酢酸銅 0.5g をそれぞれ 400ml の蒸留水に溶かし、4種の媒染液を用意した。4つの生地をこれら媒染液に浸け、

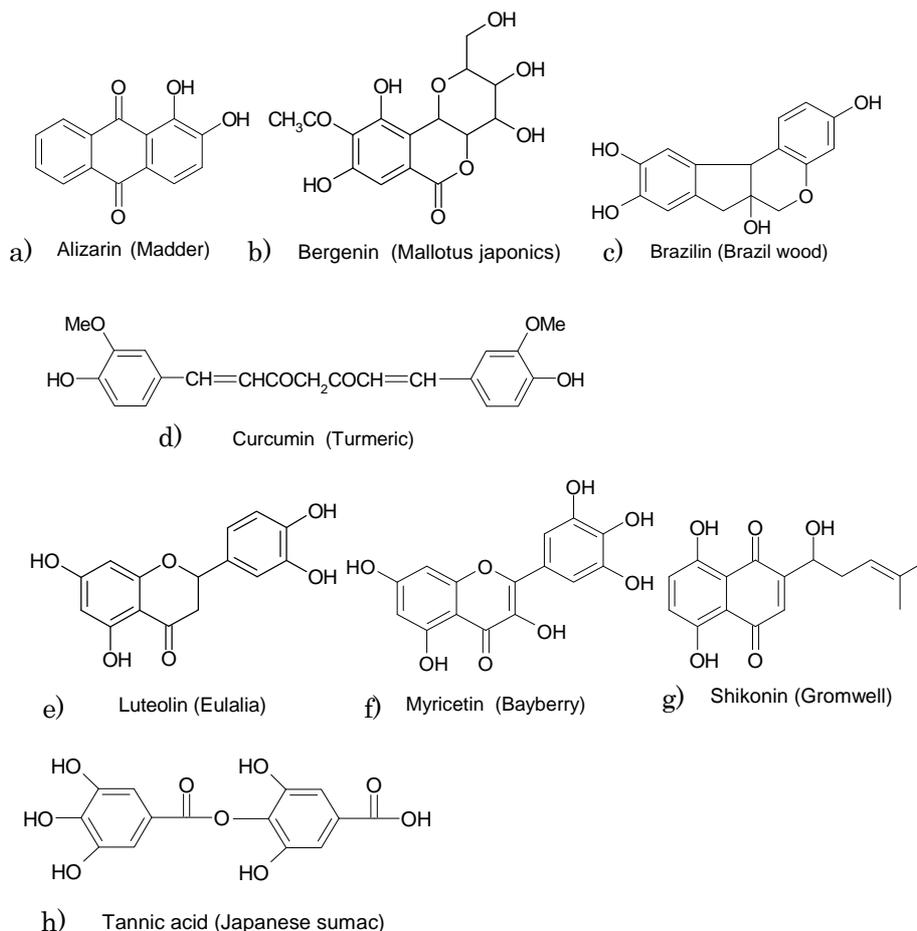


図1 天然植物中の主要色素名 () 内は植物名

a)…西洋茜 b)…赤目櫨 c)…蘇芳 d)…ウコン
e)…刈安 f)…楊梅 g)…硬紫根 h)…五倍子

表 1 染色生地サンプル名一覧

Pigment name	Mordant(metal)				
	—	Aluminium Acetate	Copper(Ⅱ) Acetate	Iron(Ⅱ) Acetate	Tin(Ⅱ) Chloride
Alizarin(西洋茜)	1-0	1-1	1-2	1-3	1-4
Bergenin(赤目櫛)	2-0	2-1	2-2	2-3	2-4
Brazilin(蘇芳)	3-0	3-1	3-2	3-3	3-4
Curcumin(ウコン)	4-0	4-1	4-2	4-3	4-4
Luteolin(刈安)	5-0	5-1	5-2	5-3	5-4
Myricetin(楊梅)	6-0	6-1	6-2	6-3	6-4
Shikonin(硬紫根)	7-0	7-1	7-2	7-3	7-4
Tannic Acid(五倍子)	8-0	8-1	8-2	8-3	8-4

※ ……は媒染剤を使用していない生地を指す

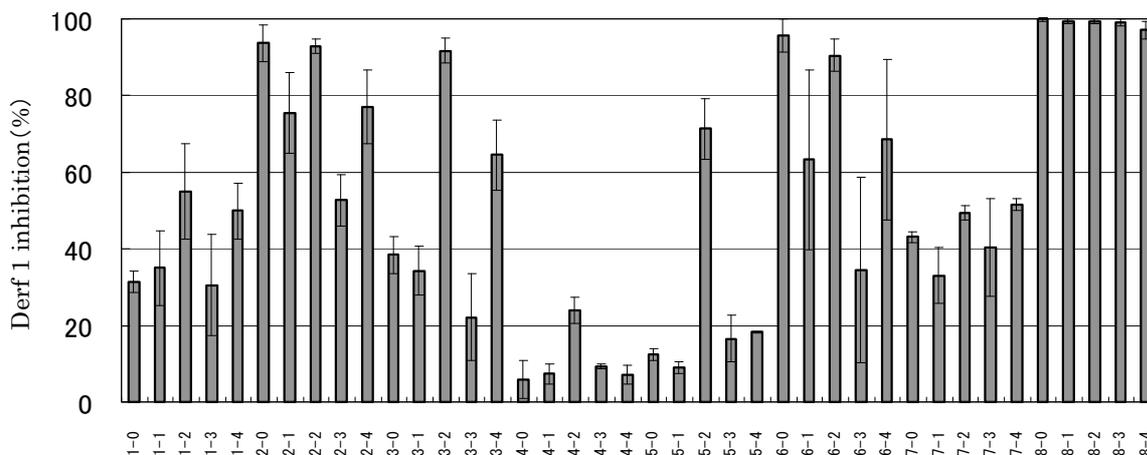


図 2 天然色素染色生地のアレルゲン低減化結果

30分放置し、その後十分に水洗した。

水洗後、上記染液を再び沸騰させた後それぞれの生地を入れ、15分間沸騰を維持した。その後再び水洗した生地中の金属量とアレルゲン低減化効果を測定した。

2. 2 生地中の金属量測定

サンプル生地 0.05g と有害金属測定用硝酸 10ml を耐圧性テフロン容器に入れ、300Wにて20分間マイクロウェーブ分解を行った。冷却後の溶液を、100mlのメスフラスコに入れ、標線まで超純水を加えた。そして、この液中の金属量を ICP-MSにて測定した。

2. 3 アレルゲン低減化試験

はじめに、上記生地 (2cm×2cm) を4等分し、容量 5 ml のスクリー栓付きガラスバイアルに入れる。次に、0.05% Tween20 含有 PBS 溶液にて 31ng/ml の濃度に調整した Derf1 (コナヒョウヒダニアレルゲン) を 1 ml 加え、1時間振とうを行った。その後、上澄み液を 100µl 取り、96穴ウェルプレートに入れ、ELISA キットにて測定を行った。

3. 結果と考察

3. 1 ダニアレルゲン (Derf1) に対する低減化効果

アレルゲン低減化結果を図2示す。図2中のX軸の数値は表1中の識別数字と同じである。8-0から8-4の五倍子は、媒染剤の有無および種類に拘わらず大きなアレルゲン低減化効果が得られ、一方、

4-0から4-4のウコンは何れも低い値でとなった。

銅の媒染剤を用いた場合、同一色素であっても比較的low減化効果の高い傾向となり、特に蘇芳と刈安において顕著であったが、赤目櫛と楊梅については、焙煎なしのlow減化効果が銅媒染の結果を上回った。全般的に使用した色素と媒染剤の組合せによってかなりアレルゲンlow減化性能が異なると考えられる。

3. 2 染色生地中の金属量測定結果

表2に、媒染前の各染色生地中の金属量を示す。媒染を行わなかった生地についても若干の金属を含むことが認められた。また、表3に各媒染剤を用いた染色生地中のそれぞれの金属導入量を示す。鉄媒

表 2 媒染前の生地中の金属元素含有量 (mg/kg)

	Al	Cu	Fe	Sn
1-0(西洋茜)	N. D.	0.25±0.3	3.25±0.64	0.55±0.05
2-0(赤目櫛)	3.14±0.15	0.25±0.05	2.92±0.43	0.27±0.02
3-0(蘇芳)	N. D.	N. D.	3.42±0.03	0.79±0.02
4-0(ウコン)	N. D.	0.09±0.01	1.66±0.09	0.25±0.01
5-0(刈安)	N. D.	0.39±0.05	2.57±0.15	0.42±0.02
6-0(楊梅)	N. D.	0.09±0.01	1.48±0.05	0.15±0.02
7-0(硬紫根)	N. D.	0.28±0.04	11.7 ±0.3	12.2 ±0.5
8-0(五倍子)	N. D.	0.35±0.08	18.0 ±0.2	42.0 ±0.1

N. D. …not detected

表 3 媒染後の生地中の金属元素含有量 (mg/kg)

Al		Cu		Fe		Sn	
1-1	17.8±0.3	1-2	38.2 ±1.1	1-3	5.93±0.07	1-4	23.0±0.5
2-1	7.06±0.46	2-2	1.01±0.01	2-3	1.97±0.15	2-4	65.8±3.3
3-1	1.81±0.16	3-2	7.47±0.05	3-3	2.96±0.11	3-4	23.3±1.6
4-1	45.2 ±2.2	4-2	122 ±1	4-3	4.92±0.41	4-4	101 ±6
5-1	16.5 ±0.6	5-2	74.1 ±2.0	5-3	2.00±0.02	5-4	22.6±0.4
6-1	11.6 ±0.6	6-2	22.7 ±0.1	6-3	2.06±0.13	6-4	1370 ±60
7-1	5.38±0.46	7-2	14.5 ±0.1	7-3	7.19±0.06	7-4	71.6±3.2
8-1	N. D.	8-2	N. D.	8-3	1.70±0.39	8-4	117 ±7

N. D. …not detected

染については全般的に含有量が少ない傾向が得られ、媒染を行わなかった場合と比較しても導入された量はわずかであった。また、楊梅に対する銅とアルミの導入量と、五倍子に対するスズの導入量は顕著であり色素によって違いが大きかったことから、色素による金属の吸着選択が行われていると思われる。

3. 3 媒染による金属導入量とアレルギー低減化効果について

図 3 に媒染済生地中の金属量に対するダニアルゲン低減化率を示す。全般的に金属の含有率が低い場合のアレルゲン低減化率は色素の種類により影響を受けることが分かった。また、アルミと鉄とスズについては、含有率と低減化率との関係について明確な傾向は見られなかった。一方、銅については銅含有率が 1mg/kg 以上含むすべてのケースにおけるアレルゲン低減化率は Cu 含有率と共に上昇する傾向が得られた。Haigh らはプリオンタンパク質が銅イオンの存在によって構造的変化が起こることを示しており⁹⁾、また、Ganadu らは α -B-crystallin

タンパク質とカルシウム、亜鉛、銅のイオンとの相互作用について検討を行い、銅のみが強い相互作用による複合体形成が起きると報告している¹⁰⁾。このことから、今回の実験においても色素とダニアルゲンとの相互作用による効果と共に、銅とダニアルゲンとの相互作用も低減化に寄与していることが認められる。

4. まとめ

天然染料で染めた綿布を用いアレルゲン低減化性能を測定した。その結果、タンニン酸を含む五倍子は媒染剤による影響を受けず、大きなアレルゲン抑制を持つことが分かった。一方、ウコンについては何れの媒染剤を用いた場合においても、アレルゲン低減化効果は低い結果となった。また、媒染による金属イオンの導入量は、色素によって大きく異なることがわかり、特に楊梅に対する銅とアルミの導入量と五倍子に対するスズの導入量は顕著であった。

また、銅を媒染剤として用いた場合には他の媒染剤を用いた場合と比較して高いアレルゲン低減化

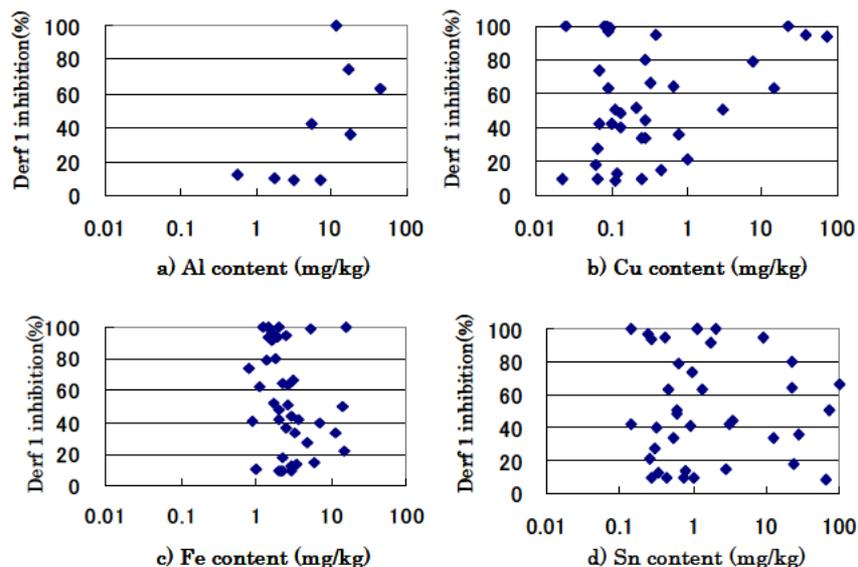


図3 媒染生地中の金属元素量に対するアレルギー低減化効果

効果が得られ、特に、蘇芳と刈安でこの傾向が顕著であった。一方、アルミニウム、鉄、スズに対してはアレルギー低減化に対する明確な傾向は見られないことから銅とダニアレルギーの相互作用もまた、アレルギー抑制に寄与していることが示唆される。

今後は、ダニアレルギータンパク質、タンニン酸、銅イオンの3種の相互作用のメカニズムについて明らかにすることによって、より反応効率の良いダニアレルギー低減化剤の開発に寄与したいと考えている。

参考文献

- 1) J.A. Woodfolk, et al. : "Chemical treatment of carpets to reduce allergen: detailed study of the effects of tannic acid on indoor allergens" *J. Allergy Clin. Immunol.* 94 p.19-26 (1994).
- 2) T. A. E. Platts-Mills, et al. : "House dust mite avoidance" *The Lancet* 320 p.1334 (1982).
- 3) W. F. Green, "Abolition of Allergens by tannic acid" *The Lancet* 324 p.160 (1984).
- 4) E.Tovey, et al. : "Changes in mite allergen Derp1 in house dust following spraying with a tannic acid / acaricide solution. ", *Clin Exp Allergy*, 22 p.67-74 (1992)
- 5) M.Labieniec, et al. : "Interactions of tannic acid and its derivatives (ellagic and gallic acid) with thymus DNA and bovine serum albumin using spectroscopic method", *J. Photochem. Photobio. B* 82 p.72-78 (2006)
- 6) T. Suzuki, et al: "Control of mite-allergen by anti-allergen agent grafted cloths", *Extended Abstracts of The 33rd Textile Research Symposium*, p.99(2004)
- 7) C. Hidayat, et al. : "Multivalent binding interaction of alcohol dehydrogenase on dye-metal affinity matrix", *J. Biosci. Bioeng.* 96 p.168-173 (2003)
- 8) C. Wu, et al.:"Analysis of protein adsorption on regenerated cellulose-based immobilized copper ion affinity membranes", *J. Chromatogr. A* 996 p.53-70 (2003)
- 9) C. L. Haigh, et al. : "Copper binding is the governing determinant of prion turnover." *Mol. Cell. Neurosci.* 30 p.186-196 (2005)
- 10) M. L. Ganadu, et al. : "Effects of divalent metal ions on the α B-crystallin chaperone-like activity: spectroscopic evidence for a complex between copper(II) and protein", *J. Inorg. Biochem.* 98 p.1103-1109 (2004).