

Original article

**Screening and selection of anti-glycative materials:
Kuromoji (*Lindera umbellata*)**

Masayuki Yagi¹⁾, Wakako Takabe¹⁾, Shigeru Matsumi²⁾, Akihiko Shimode²⁾,
Tetsuya Maruyama²⁾, Yoshikazu Yonei¹⁾

1) Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center, Faculty of Life and Medical Sciences,
Doshisha University, Kyoto, Japan

2) Yomeishu Seizo Co. Ltd., Tokyo, Japan

Glycative Stress Research 2017; 4 (4): 317-328

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文－日本語翻訳版)

抗糖化素材のスクリーニングと選択：クロモジ

八木雅之²⁾、高部稚子²⁾、松見 繁¹⁾、下出昭彦¹⁾、丸山徹也¹⁾、米井嘉一²⁾

1) 同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター・糖化ストレス研究センター

2) 養命酒製造株式会社

抄録

【目的】我々が参加している SIP プログラムでは農業産物の中から新規機能を有する素材を見つけ、製品化を視野に入れた社会実装を目指している。植物素材の中から AGEs 生成抑制活性が強く、消化管吸収特性の高い素材を選定し、糖尿病モデル動物において抗糖化作用を発揮するか否かについて検証した。

【方法】536 種類の植物素材抽出物の中からヒト血清アルブミンとグルコースを反応させた時に生じる蛍光性 AGEs の生成抑制活性の強い素材を選択 (各 IC₅₀ を比較)、次に腸管上皮細胞 (Caco-2) を通過した培養液の AGEs 生成抑制活性、さらにラットに経口投与後の血清の AGEs 生成抑制活性によるスクリーニングを行った。陽性対照としてアミノグアニジンを用いた。Streptozotocin (STZ) 誘発糖尿病ラットに対して試験品を 8 週間投与し、糖脂質代謝指標、糖尿病性腎症指標、白内障ステージの改善効果について検討した。

【結果】スクリーニングにより吸収試験後も AGEs 生成抑制活性がアミノグアニジンと同程度であったクロモジ (*Lindera umbellata*) とヨモギ (*Artemisia indica* var. *maximowiczii*) を選定した。STZ 処置ラット (対照) では、STZ 処置無しラットに比べ、血糖、グリコアルブミン、中性脂肪 (TG)、遊離脂肪酸 (FFA) が増加し、腎 TNF- α ・IL-6 は増加、クレアチニンクリアランス (CCr) は減少した。クロモジ抽出物投与により TG、FFA の有意な改善、腎組織中 TNF- α 、IL-6 および CCr の有意な改善を認めた。クロモジ、ヨモギ抽出物ともに白内障の進展予防効果を認めた。

【結論】 抗糖化活性と消化管吸収特性によりスクリーニングされたクロモジ抽出物は糖尿病モデルラットの糖尿病腎症および白内障の進展を予防することが示された。クロモジについては社会実装に向けた研究を継続することにした。

KEY WORDS: クロモジ (*Lindera umbellata*)、ヨモギ (*Artemisia indica* var. *maximowiczii*)、糖化最終生成物 (advanced glycation end products: AGEs)、糖尿病性腎症、白内障

はじめに

我々の研究室は2014年から国家プロジェクト「戦略的イノベーション創造プログラム (Cross-Ministerial Strategic Innovation Promotion Program : SIP)」の農林水産部門である「次世代農林水産業創造技術：アグリイノベーション創出」、その中の「次世代機能性農林水産物・食品の開発」プログラムに参画している。日本の農林水産物に次世代型新規機能性を見出し、付加価値をつけること通じて農林水産業の活性化に貢献することが目的である。本プログラムの予算規模は5年で約25億円、機能性食品の開発、医学的エビデンスの賦与を目的とした研究助成としては国内最大規模である。このプログラムの中で糖化ストレスは両者の危険因子として位置づけられ、抗糖化作用を有する新規機能性食品の開発が期待されている。

これまでに我々の研究室は500種以上の食品素材を対象に、ターゲット蛋白をヒト血清アルブミン (human serum albumin: HSA) とした *in vitro* 糖化反応モデルを用いて、糖化最終生成物 (advanced glycation end products: AGEs) 生成抑制活性を測定し、抗糖化素材の探索を行ってきた¹⁻³⁾。HSA 糖化反応モデルで陽性対照アミノグアニジン (aminoguanidine) と同等以上の AGEs 生成抑制活性を有する素材を約100種以上見出した。SIP プログラムでは、実験成果だけでなく、新たな製品開発といった社会実装としての成果が要求されている。今回、これらの中から将来の製品化を目指す際の参考にするために、これらの素材の吸収特性、糖尿病モデル動物を用いた白内障・腎症の予防効果を検証した。

方法

1. 抗糖化素材のスクリーニング

(1) 材料

536種の植物の乾燥物に乾燥重量の10倍量の蒸留水を加え、95°C、60分加熱抽出し、濾過後、エバポレーターにて減圧乾固して抽出物を得た。陽性対照薬として aminoguanidine (和光純薬工業株式会社、大阪府中央区) を用いた。

(2) 試験方法

1) ヒト血清アルブミン-グルコース (HSA-Glu) 試験系^{1,2)}

0.1 mol/L リン酸 buffer (pH 7.4)、8.0 mg/mL HSA 及び 0.2 mol/L グルコースからなる糖化反応液中に、所定濃度に調製した植物抽出物または陽性対照薬の aminoguanidine を 1/10 容積濃度となるように添加し、60°C で 40 時間インキュベートを行った。植物抽出物の代わりに蒸留水を添加したものをコントロールとした。糖化反応終了後、反応液中に生成した蛍光性 AGEs をマイクロプレートリーダーで測定した (励起波長 370 nm / 蛍光波長 440 nm)。各 AGEs の生成阻害率は、糖化反応系にサンプル溶液を添加した反応液における測定値を A とし、その反応液においてグルコース水溶液の代わりに蒸留水を添加したものにおける測定値を B とし、その反応液において抽出物又は aminoguanidine の代わりに蒸留水を添加したコントロールにおける測定値を C とし、そのコントロールにおいてグルコース水溶液の代わりに蒸留水を添加したものにおける測定値を D として、下記の式に従って算出し、IC₅₀ (50% 阻害濃度) を求めた。

$$\text{AGEs の生成阻害率 (\%)} = [1 - (A - B) / (C - D)] \times 100$$

活性の強さは aminoguanidine の IC₅₀ を 1 とした場合の相対値として以下の式に従い算出した。

$$\text{抽出物の活性値} = \text{aminoguanidine (IC}_{50}\text{)} / \text{植物抽出物 (IC}_{50}\text{)}$$

2) 腸管上皮吸収モデルによる透過性試験

腸管上皮吸収モデルによる透過性試験にはヒト結腸腺癌由来細胞 (Caco-2)⁴⁻⁶⁾ を Transwell プレートのインサイト側に播種した POCA[®] 腸管吸収キット (DS ファーマバイオメディカル社、大阪府吹田市) を用いた。インサイト側に抽出物 (5 mg/mL) 及び aminoguanidine (5 mg/mL) を含む 10% ウシ胎児血清含有 D-MEM (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 培養液を 100 µL 添加し 3 時間培養後、マルチウエル側に透過した培養液について HSA-Glu 試験系による AGEs 産生阻害率を測定した。活性の強さは aminoguanidine の阻害率を 1 とした場合の相対値として以下の式に従い算出した。

抽出物の活性値 = 植物抽出物の阻害率 / aminoguanidine の阻害率

3) 抽出物投与ラットの血清を用いた試験

5 週齢 SD 雄性ラット（日本チャールス・リバー株式会社、神奈川県横浜市港北区）を 1 週間予備飼育後、16 時間絶食させた後に植物抽出物（2 g/kg 体重）および aminoguanidine（1 g/kg 体重）を投与し、投与前（pre）、投与 1 時間及び 3 時間後に頸静脈よりヘパリンナトリウム処理した注射筒により採血を行った後、遠心分離にて血漿を得た（500 μ L）。この血漿を Nanosep[®] Centrifugal Devices（Pall Corporation, Port Washington, NY, USA）にて除蛋白処理して得られたサンプルについて HSA-Glu 試験系による AGEs 産生阻害率を測定し、0-3 時間までの AUC を求めた。活性の強さは aminoguanidine の AUC を 1 とした場合の相対値として以下の式に従い算出した。

抽出物の活性値 = 植物抽出物の AUC / aminoguanidine の AUC

2. ストレプトゾトシン（streptozotocin: STZ） 誘導糖尿病ラット

(1) 材料

クロモジ（*Lindera umbellata*）幹枝およびヨモギ（*Artemisia indica* var. *maximowiczii*）葉の乾燥粉砕物に重量の 10 倍量の蒸留水を加え、95℃、60 分加熱抽出し、濾過後、連続式減圧濃縮機で濃縮後、凍結乾燥したものを被験物質とした。

(2) 動物試験

1) 動物

6 週齢の SD ラット（日本エスエルシー、静岡県浜松市西区）を入荷し、温度：24 $\pm$ 2℃、湿度：50 $\pm$ 10%、照明時間：1 日 12 時間（7～19 時）に設定されたバリア施設内で飼育し、1 週間予備飼育後実験に用いた。

2) 飼育管理

予備飼育および被験物質投与期間を通し、飼育ケージとしてポリカーボネート製ケージ（W26 $\times$ D42 $\times$ H18 cm）に動物を個別に収容した。ケージには縦製床敷（実験動物用床敷 ソフトチップ：日本エスエルシー株式会社）を入れたものを使用した。

3) 飼料および飲料水

飼料は粉末ラボ MR ストック（日本農産工業株式会社、神奈川県横浜市西区）または被験物質を添加したラボ MR ストックをそれぞれ自由摂取させた。飲料水は塩素消毒した井戸水を給水瓶を使って自由摂取させた。

4) 糖尿病モデル動物作製および群構成

予備飼育終了後、7 週齢のラットに STZ を 60 mg/kg 体

重 腹腔内注射し、1 週間後に非絶食下で尾静脈より部分採血を行い、血糖値測定（簡易血糖測定器ワンタッチウルトラ：ジョンソン&ジョンソン、東京都千代田区）を行い、血糖値が 300 mg/dL 以上の動物を用いて、血糖値および体重に大きな偏りがないように群分け（Statlight 群分けソフト（Yukms corp））した。群構成は無処置群：無処置ラットに粉末ラボ MR ストックを与えた群（n = 8）、対照群：STZ 投与ラットに粉末ラボ MR ストックを与えた群（n = 8）、ヨモギ抽出物投与群：STZ 投与ラットに 2% ヨモギ葉抽出物を配合した粉末ラボ MR ストックを与えた群（n = 8）、クロモジ抽出物投与群：STZ 投与ラットに 2% クロモジ抽出物を配合した粉末ラボ MR ストックを与えた群（n = 7）を設け、自由摂取により 8 週間の被験物質の投与を行った。

5) 測定方法

① 体重、摂餌量

体重および摂餌量は週 1 回測定した。

② 眼科学的検査

投与 8 週間目にイソフルラン麻酔下でポータブルスリットランプ（SL-5：興和株式会社、愛知県名古屋市中区）を用いて、両眼の角膜および水晶体を観察し、白内障ステージ評価を行った。白内障ステージ評価は下記の通り行った。

ステージ 0：正常

ステージ 1：初期白内障（水晶体の皮質の部分にわずかな濁りがみられる）

ステージ 2：未熟白内障（水晶体の濁りが皮質から中心の核に及ぶ）

ステージ 3：成熟白内障（水晶体全体が濁り、瞳孔が真っ白く見える）

③ 採血、ヘモグロビン A1c 測定および生化学検査

8 週間の投与終了日の夕方から翌日まで 16 時間絶食を行った後、イソフルラン麻酔下で腹大動脈より全採血を行い、血液の一部についてはヘモグロビン A1c 測定（ヘモグロビン A1c 測定器：シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社、東京都品川区）を行った。残りの血液は血清を分取して凍結保存し、後日、血糖（Glu）、グリコアルブミン（GA）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（CRE）、アミラーゼ（AMY）、中性脂肪（TG）および遊離脂肪酸（FFA）を酵素法にて測定を行った。

④ 腎機能

全採血後、腹大動脈および後大静脈を切断して放血安楽死させ、右側腎臓を採取し、重量測定後、4 倍量の PBS を加え、ホモジネートして遠心した後、上清中の TNF- α および IL-6 を Rat OptEIA ELISA Set (BD Pharmingen [Becton, Dickinson and Company], Franklin Lakes, NJ, USA) を用いて測定し、蛋白量は BCA Protein Assay Kit（タカラバイオ株式会社、滋賀県草津市）を用いて測定し、蛋白 mg 当りの量で示した。クレアチニンクリアランス（CCr）は投与 8 週間目において 16 時間の採尿を行い（V）、尿中の Cr 濃度を測定し（uCr）、血清 Cr 濃度（sCr）から求め

[CCr = (uCr / sCr) × V]、1 分間当たりの値で示した。

6) 動物試験倫理審査について

本試験実施にあたり、「動物の愛護及び管理に関する法律（昭和 48 年 10 月 1 日 法律第 105 号、平成 17 年 6 月 22 日改正）並びに「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成 18 年 4 月 28 日、環境省告示第 88 号）を遵守すると共に、実験動物福祉規程に基づいて審査および承認を受けた。

7) データ処理

結果は平均 ± 標準偏差(standard deviation: SD)で表し、統計処理は 2 群間の比較は Student's t-test ならびに多群間の比較には Bonferroni 法の多重比較検定を用い $p < 0.05$ を有意差ありとした。

結果

1. 抗糖化素材のスクリーニング

536 種の植物抽出物の *in vitro* HSA-Glu 反応系における蛍光性 AGEs 生成抑制能 (IC₅₀) の結果のうち、すでにデータが公表されているものを除外して、次のスクリーニングに進んだ素材についての結果を [Table 1](#) に示す。

IC₅₀ 値が 5 倍以上の差でアミノグアニジンより AGEs 生成抑制作用が強かったもの ([] 内はアミノグアニジンに対する IC₅₀ の比率を示す) は、連翹葉 A (*Forsythia koreana*) [11.11]、丁子 A (*Syzygium aromaticum*) [9.33]、ルイボス茶 (*Aspalathus linearis*) [9.33]、石鎚黒茶 (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) [7.64]、プーアル茶 A (*Camellia sinensis*) [7.64]、五倍子 (*Rhus javanica*) [6.74]、阿波番茶 (*Camellia sinensis*) [6.46]、桂皮 (*Cinnamomum verum*) [6.31]、連翹葉 B (*Forsythia suspensa*) [6.03]、クロモジ_枝 (*Lindera umbellata*) [5.80]、クロモジ_枝葉 (*Lindera umbellata*) [5.69]、マジョラム (*Origanum majorana*) [5.60]、栗_鬼皮 (*Castanea crenata*) [5.60]、鶏血藤 (*Spatholobus suberectus* Dunn) [5.09]、甜茶 A (*Rubus suavissimus*) [5.08] であった。

第 2 次スクリーニングでは腸管上皮吸収モデルを用いて、腸管上皮細胞透過後の AGEs 生成抑制作用を評価した。製品化についても念頭に置き、新たに 11 種（エルダーベリー *Sambucus sieboldiana*、ウメ_果肉 *Prunus mume*、紫蘇子 *Perilla frutescens*、オリーブ葉 *Olea europaea*、ブルーマロウ *Malva sylvestris*、リンゴ_シナノゴールド *Malus domestica*、イチョウ葉 *Ginkgo biloba*、ワイルドストロベリー *Fragaria vesca*、アーティチョーク *Cynara scolymus*、陳皮 *Citrus unshiu*、スイカ_皮 *Citrullus lanatus*) を追加し、計 93 種とした。この中で IC₅₀ がアミノグアニジンよりも小さかったものは丁子 A (*Syzygium aromaticum*) [1.55]、タデ (*Polygonum hydropiper*) [1.41]、クロモジ_枝葉 (*Lindera umbellata*) [1.21]、ヒマワリノ

タネ_種子 (*Helianthus annuus*) [1.05]、柿の葉 (*Diospyros kaki*) [1.003] の 5 種であった。連翹葉は *in vitro* 活性は強い AGEs 生成抑制作用を示したが、腸管上皮細胞通過後の活性は極めて弱かった。

第 3 次スクリーニングの抽出物投与によるラットの吸収および代謝を考慮した試験では 34 種について評価した。ラット体内に吸収代謝後の血清の AGEs 生成抑制作用がアミノグアニジンよりも強かったものはヨモギ (*Artemisia indica* var. *maximowiczii*) [1.16]、丁子 A (*Syzygium aromaticum*) [1.08] の 2 種のみで、次いで強かったのは五倍子 (*Rhus javanica*) [0.78]、クロモジ_枝 (*Lindera umbellata*) [0.755]、独活 (*Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan) [0.754]、杜仲葉 (*Eucommia ulmoides*) [0.748] であった。クロモジ_枝葉は腸管上皮吸収モデルでは比較的強い活性 [1.21] を示したが、ラット吸収試験での活性 [0.18] は低かった。

2. ストレプトゾトシン (streptozotocin: STZ)

誘導糖尿病ラットにおける評価

スクリーニングの結果と機能性食品への応用を考慮して、ヨモギとクロモジを選択し、糖尿病ラットモデルを用いて糖化ストレス起因性障害に対する有効性を検討した。

STZ 処置後の体重、摂餌量の推移を [Fig. 1, 2](#) に示す。STZ 処置を施した対照群、ヨモギ抽出物投与群、クロモジ抽出物投与群の 3 群間では体重、摂餌量に有意差は認められなかった。

試験品投与 8 週後に行った血液検査の結果を [Fig. 3](#) に示す。対照群、ヨモギ抽出物投与群、クロモジ抽出物投与群の 3 群間では Glu、GA、HbA1c に有意差は認められなかった。血清 AMY は対照群 (1,009 ± 134 IU/L) に比べクロモジ抽出物投与群 (1,224 ± 176 IU/L) の方が有意に高値を示した ($p < 0.05$)。血清 TG は対照群 (379 ± 150 mg/dL) に比べクロモジ抽出物投与群 (217 ± 95 mg/dL) の方が有意に低値を示した ($p < 0.01$)。血清 FFA は対照群 (811 ± 126 μEq/L) に比べクロモジ抽出物投与群 (512 ± 114 μEq/L) の方が有意に低値を示した ($p < 0.05$)。

試験品投与 8 週後に行った腎機能検査 (BUN, CRE,, CCr) および腎組織中 TNFα、IL-6 の結果を [Fig. 4](#) に示す。腎重量は対照群 (1.02 ± 0.06 g/100g 体重) に比べクロモジ抽出物投与群 (0.91 ± 0.10 g/100g 体重) の方が有意に軽かった ($p < 0.05$)。腎組織中 TNF-α、IL-6 は対照群 (TNF-α : 0.98 ± 0.21 ng/mg protein、IL-6 : 7.51 ± 1.27 ng/mg protein) に比べクロモジ抽出物投与群 (TNF-α : 0.72 ± 0.20 ng/mg protein、IL-6 : 5.68 ± 1.60 ng/mg protein) の方が有意に低値を示し ($p < 0.05$)、組織中の炎症性サイトカインが低く保たれていた。血清 BUN、CRE には有意差はなかったが、CCr は対照群 (2.12 ± 0.38 mL/min) に比べクロモジ抽出物投与群 (2.57 ± 0.14 mL/min) の方が有意に高い値を示し ($p < 0.05$)、腎機能が保たれていた。

Table 1. The sample list of vegetables and herbs with high anti-glycative activity: ratio against aminoguanidine.

Engilish name	Japanese name	Chinese character	Scientific name	HSA-Glu model (n = 3)	Caco-2 test (n = 1)	Rat serum test (n = 2 ~ 3)
Japanese mugwort	Yomogi	蓬	<i>Artemisia indica</i> var. <i>maximowiczii</i>	1.20	0.33	1.16
Clove [A],	Choji [A]	丁香	<i>Syzygium aromaticum</i>	9.33	1.55	1.08
Gallnut	Fushi, Gobaishi	五倍子	<i>Rhus javanica</i>	6.74	0.55	0.78
Lindera, Kuromoji [twig]	Kuromoji [eda]	黒文字	<i>Lindera umbellata</i>	5.80	0.91	0.75
Udo	Udo	独活	<i>Angelica pubescens</i> Maxim.f. <i>biserrata</i> Shan et Yuan	1.98	0.14	0.75
Eucommia leaf	Tochu ha	杜仲葉	<i>Eucommia ulmoides</i>	0.56	0.27	0.75
Bay leaf, Laurel	Gekkeiju, Laure	月桂樹	<i>Cinnamomum tamala</i>	3.82	0.65	0.72
Pu-erh tea [A]	Puaru-cha [A]	普洱茶	<i>Camellia sinensis</i>	7.64	0.63	0.59
Tsukikusa	Tsukikusa	鴨跖草	<i>Commelina communis</i> L.	1.86	0.45	0.50
Awa bancha	Awa bancha	阿波番茶	<i>Camellia sinensis</i>	6.46	0.51	0.50
Fatsia sprouts	Tara no me	樅芽	<i>Aralia elata</i>	2.58	0.35	0.47
Star anise	Dai-uikyo	大茴香	<i>Illicium verum</i> Hook. f.	1.06	0.43	0.46
Smartweed	Tade	蓼	<i>Polygonum hydropiper</i>	1.17	1.41	0.42
Xiangru, Chinese mosla	Koju	香需	<i>Mosla chinensis</i>	1.71	0.74	0.41
Sichuan pepper	Kasho	花椒	<i>Zanthoxylum bungeanum</i>	2.60	0.39	0.34
Banaba tea	Banaba cha	巴拿巴茶	<i>Lagerstroemia speciosa</i>	1.39	0.98	0.25
Sunflower seeds	Himawari no tane	向日葵種子	<i>Helianthus annuus</i>	2.29	1.05	0.22
Lindera, Kuromoji [foliage]	Kuromoji [edaha]	黒文字 枝葉	<i>Lindera umbellata</i>	5.69	1.21	0.18
Spearmint	Spearmint [A]	綠薄荷 [A]	<i>Mentha spicata</i>	3.50	0.40	0.15
Wild strawberry	Wild strawberry	蝦夷蛇莓	<i>Fragaria vesca</i>	—	0.46	0.09
Cinnamon	Keihi, Cinnamon	桂皮	<i>Cinnamomum verum</i>	6.31	0.23	0.03
Coarse tea	Ban-cha	番茶	<i>Camellia sinensis</i>	0.87	0.56	0.02
Plantain	Shazen-so	車前草	<i>Plantago asiatica</i>	2.04	0.34	0.01
Persimmon leaves	Kaki no ha	柿葉	<i>Diospyros kaki</i>	0.75	1.00	0.00
Turmeric	Turmeric, Ukon	鬱金、薑金	<i>Curcuma longa</i>	0.89	0.72	0.00
Marjoram	Marjoram, Mayorana	萊氏刺那	<i>Origanum majorana</i>	5.60	0.69	0.00
Ajowan	Ajowan	アジョワン	<i>Trachyspermum ammi</i>	2.15	0.54	0.00
Houttuynia [B]	Dokudami [B]	戴草 [B]	<i>Houttuynia cordata</i>	2.15	0.46	0.00
Allspice	Allspice	三香子	<i>Pimenta dioica</i>	0.70	0.46	0.00
Walnut seed	Onikurumi [seed], hú táo rén	胡桃仁	<i>Juglans regia</i> L.	0.95	0.44	0.00
Mulberry leaves	Kuwa no ha	桑葉	<i>Morus alba</i> L.	1.50	0.42	0.00
Buckwheat [shell]	Soba [kara]	蕎麥 [殻]	<i>Fagopyrum esculentum</i>	1.56	0.38	0.00
Dipsacus japonicus root	Zokudan, nabena	續斷	<i>Dipsacus asperoides</i> C. Y. Cheng et T. M. Ai	1.91	0.33	0.00

English name	Japanese name	Chinese character	Scientific name	HSA-Glu model (n = 3)	Caco-2 test (n = 1)	Rat serum test (n = 2 ~ 3)
Lotus leaf	Kayo	荷葉	<i>Nelumbo nucifera</i>	1.79	0.29	0.00
Green tea	Ryoku-cha	綠茶	<i>Camellia sinensis</i>	1.37	0.35	—
Japanese pepper	Sansho	山椒	<i>Zanthoxylum piperitum</i>	1.58	0.30	—
Darjeeling tea	Darjeeling tea	大吉岭紅茶	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	3.82	0.27	—
Plum [flesh]	Ume [kaniku]	梅 [果肉]	<i>Prunus mume</i>	—	0.27	—
Chrysanthemum	Kiku [hana]	菊花	<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat.	1.53	0.26	—
Black pepper	Kuro-kosho	黑胡椒	<i>Piper nigrum</i>	3.00	0.24	—
Lemongrass	Lemongrass	檸檬草	<i>Cymbopogon citratus</i>	4.20	0.21	—
Savory	Savory	木立薄荷	<i>Satureja montana</i>	1.68	0.20	—
Jew's mallow	Molokheiya	蒟蒻麻	<i>Corchorus olitorius</i>	2.10	0.18	—
Oregano	Oregano, hana-hakka	花薄荷	<i>Origanum vulgare</i>	1.00	0.17	—
Milletia reticulata	Keiketto	鷄血藤	<i>Spatholobus suberectus</i> Dunn	5.09	0.17	—
Bracken	Warabi	蕨	<i>Pteridium aquilinum</i>	2.79	0.16	—
Tien-cha, Chinese blackberry tea	Ten-cha [B]	甜茶 [B]	<i>Rubus suavissimus</i>	4.20	0.14	—
Olive leaf	Olive [leaf]	阿列布葉	<i>Olea europaea</i>	—	0.14	—
Sissoko, fruit of purple perilla	Shisoko	紫蘇子	<i>Perilla frutescens</i>	—	0.12	—
Araliaceae	Ukogi, okogi	五加木	<i>Acanthopanax sieboldianus</i>	4.29	0.11	—
Peppermint	Hakka	薄荷	<i>Mentha x piperita</i> L.	4.24	0.09	—
Artichoke	Artichoke	朝鮮蓴	<i>Cynara scolymus</i>	—	0.09	—
Chinese alehoof	Rensen-so, kakidoshi	連錢草	<i>Glechoma longituba</i> (Naka) Kupr.	1.41	0.08	—
Apple fuji	Ringo fuji	林檎 富士	<i>Malus domestica</i>	0.06	0.08	—
Golden bell flower leaf [B]	Rengyo-ha [B]	連翹葉 [B]	<i>Forsythia suspensa</i>	6.03	0.07	—
Japanese horse chestnut [shell]	Tochi [kara]	枳 [殼]	<i>Aesculus turbinata</i>	2.14	0.07	—
Centipeda, diet flower	Gafushoku-so, ebushicao.	鵝不食草	<i>Centipeda minima</i> (L.) A. Braun et Aschers.	1.13	0.06	—
Peppermint	Peppermint	胡椒薄荷、西洋薄荷	<i>Mentha x piperita</i>	1.35	0.05	—
Rootbos tea [B]	Rootbos tea [B]	南非國寶茶 [B]	<i>Aspalathus linearis</i>	9.33	0.05	—
Beautiful sweetgum fruit, formosa sweetgum	Rorotu	路路通	<i>Liquidambar formosana</i> Hance	2.11	0.05	—
Callaway	Callaway, Hime-uikyo	姬茴香	<i>Carum carvi</i>	1.14	0.04	—
Fennel	Fennel	茴香	<i>Foeniculum vulgare</i>	1.83	0.03	—
Rosemary	Rosemary	迷迭香	<i>Rosmarinus officinalis</i>	1.56	0.03	—
Elderberry	Elderberry	庭常屬	<i>Sambucus sieboldiana</i>	—	0.02	—
Ryûgesô	Sentsurukusa	仙鶴草	<i>Agrimonia pilosa</i> Ledeb.	1.62	0.01	—
scarlet runner bean [sheath]	Hanamame_[saya]	花豆 [鞘]	<i>Phaseolus coccineus</i>	2.05	0.01	—

English name	Japanese name	Chinese character	Scientific name	HSA-Glu model (n = 3)	Caco-2 test (n = 1)	Rat serum test (n = 2 ~ 3)
Scutellaria barbata	Hanshiren	半枝蓮	<i>Scutellaria barbata</i>	2.25	0.00	—
Gōkanpi,	Gokanhi	合歡皮	<i>Albizia julibrissin</i> Durazz.	0.99	0.00	—
Dragon's blood, xuè jié	Kekketsu	血竭	<i>Daemonorops draco</i> Bl.	0.80	0.00	—
Cibotium rhizome	Kuseki	狗脊	<i>Cibotium barometz</i> (L.) J.Sm.	0.71	0.00	—
Golden bell flower leaf [A]	Rengyo-ha [A]	連翹葉 [A]	<i>Forsythia koreana</i>	11.11	0.00	—
Lemon balm [A]	Lemon balm [A]	香水薄荷 [A]	<i>Melissa officinalis</i>	2.47	0.00	—
Rhubarb	Rhubarb	食用大黃	<i>Rheum rhubarbarum</i>	0.00	0.00	—
Apple orin	Ringo orin	林檎 王林	<i>Malus domestica</i>	0.01	0.00	—
Apple Shinano-gold	Ringo Shinano-gold	林檎 信濃金	<i>Malus domestica</i>	—	0.00	—
Japanese quince	Boke	木瓜	<i>Chaenomeles speciosa</i>	1.09	0.00	—
Blue mallow	Usuben-i-aoi	薄紅葵	<i>Malva sylvestris</i>	—	0.00	—
Butterbu	Fuki	蕓	<i>Petasites japonicus</i> (Siebold et Zucc.) Maxim.	3.64	0.00	—
Saffron	Safuran	番紅花	<i>Crocus sativus</i>	2.50	0.00	—
Passion fruit	Passion fruit	果物時計草	<i>Passiflora edulis</i>	0.28	0.00	—
Broccoli sprout	Hatsuga broccoli	発芽花野菜	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>	0.83	0.00	—
Basil	Bajiru	目簪, 羅勒	<i>Ocimum basilicum</i>	1.02	0.00	—
Citrus peel	Chinpi	陳皮	<i>Citrus unshiu</i>	—	0.00	—
Celery [leaf]	Celery [ha]	和蘭三葉 [葉]	<i>Apium graveolens</i> var. <i>dulce</i>	0.70	0.00	—
Celery [stalk]	Celery [kuki]	和蘭三葉 [茎]	<i>Apium graveolens</i> var. <i>dulce</i>	0.21	0.00	—
Watermelon [peel]	Suika [kawa]	西瓜 [皮]	<i>Citrullus lanatus</i>	—	0.00	—
Edible chrysanthemum 「A」	Shokuyo-kiku [A]	食用菊 [A]	<i>Chrysanthemum morifolium</i>	0.88	0.00	—
Ginger [A]	Shoga [A]	生姜 [A]	<i>Zingiber officinale</i>	4.20	0.00	—
Lollo rosso, Red-leaf lettuce	Sunny lettuce [A]	葉莖 [A]	<i>Lactuca sativa</i> var. <i>crispa</i>	1.12	0.00	—
Ostrich fern	Kogomi [A]	屈, 草蘇鉄 [A]	<i>Matteuccia struthiopteris</i>	1.29	0.00	—
Cumin	Cumin	馬芹	<i>Cuminum cyminum</i>	0.53	0.00	—
Persimmon	Kaki [A]	柿 [A]	<i>Diospyros kaki</i>	0.06	0.00	—
Ginkgo biloba	Ichō ha	銀杏葉	<i>Ginkgo biloba</i>	—	0.00	—

HSA-Glu model: inhibitory actions of each sample were examined in the reaction model between HSA and glucose. The results are expressed as ratio of IC₅₀ when assumed aminoguanidine as 1.0. Caco-2 test: inhibitory actions of each sample which has been passed through the Caco-2 cell layer, using the HSA-Glu model. The results were expressed as ratio of percentage inhibition when assumed aminoguanidine as 1.0. Rat serum test: inhibitory actions of rat serum was examined in the HSA-Glu model after each sample has been orally applied and the serum obtained at 0-, 1- and 3-hour. Results are expressed as ratio of AUC of percentage inhibition for 3 hours when assumed aminoguanidine as 1.0. IC₅₀, 50%inhibitory concentration; HSA, human serum albumin, Glu, glucose, AUC, area under curve.

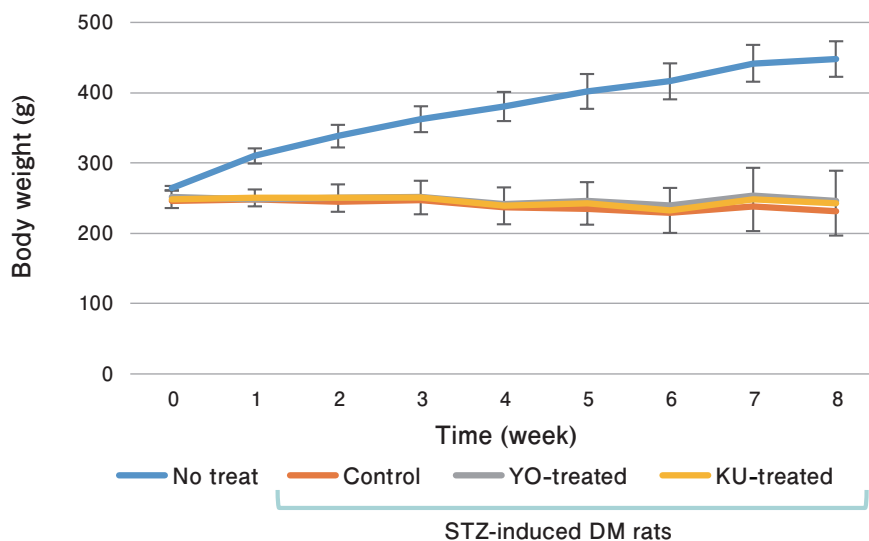


Fig. 1. Change of body weight in the STZ-induced diabetic rats.

No treatment group (n = 8), STZ-treated group (n = 8), STZ & YO-treated group (n = 8) and STZ & KU-treated group (n = 7). Results are expressed as mean $\pm$ SD (shown in STZ-treated group and STZ & KU-treated group). STZ, streptozotocin; YO, yomogi (*Japanese mugwort; Artemisia indica* var. *maximowiczii*); KU, kuromoji (*Lindera umbellata*); SD, standard deviation.

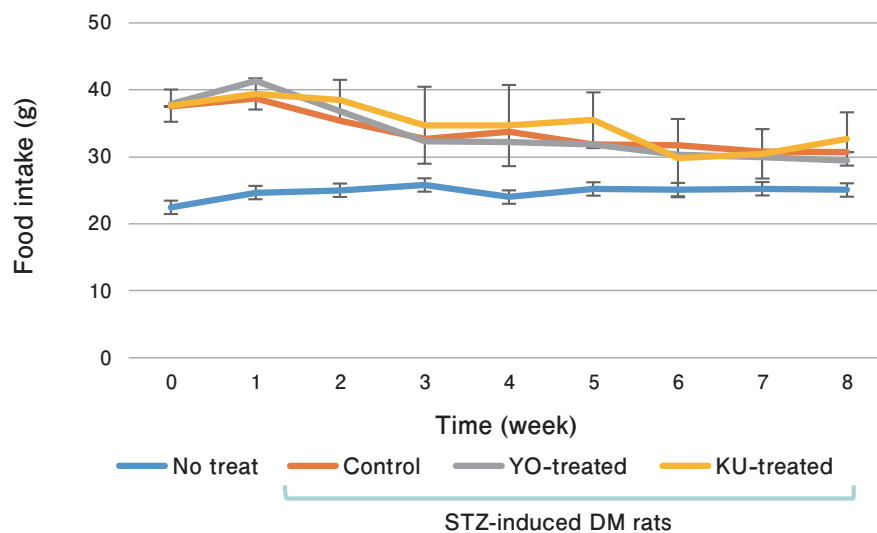


Fig. 2. Change of food intake amount in the STZ-induced diabetic rats.

No treatment group (n = 8), STZ-treated group (n = 8), STZ & YO-treated group (n = 8) and STZ & KU-treated group (n = 7). Results are expressed as mean $\pm$ SD (shown in STZ-treated group and STZ & KU-treated group). STZ, streptozotocin; YO, yomogi (*Japanese mugwort; Artemisia indica* var. *maximowiczii*); KU, kuromoji (*Lindera umbellata*); SD, standard deviation.

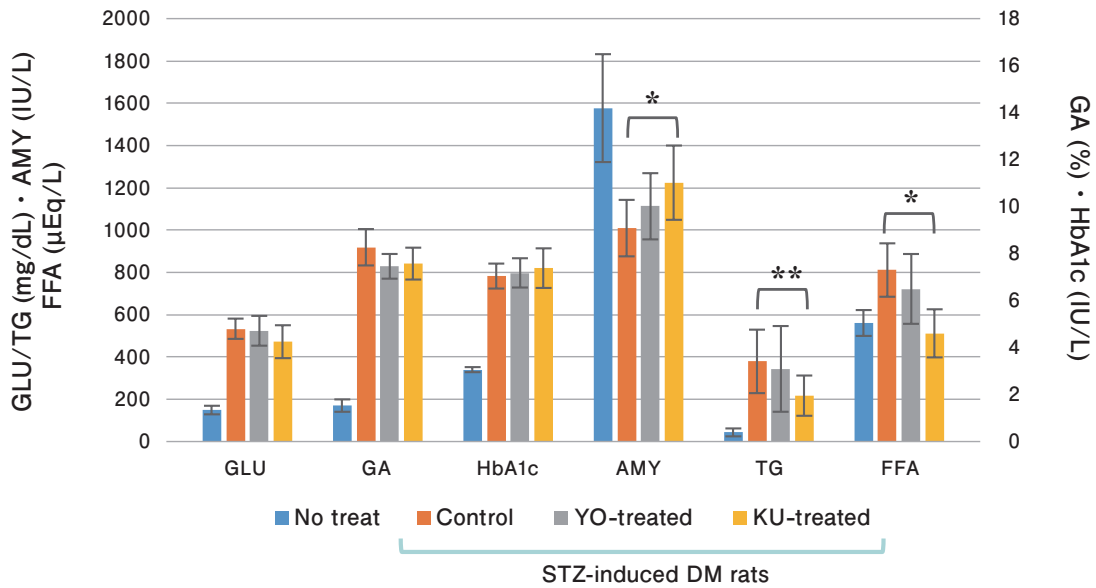


Fig. 3. The values of blood markers after 8 week treatment by kuromoji and yomogi in the STZ-induced diabetic rats.

Results are expressed as mean $\pm$ SD. No treatment group (n = 8), STZ-treated group (n = 8), STZ & YO-treated group (n = 8) and STZ & KU-treated group (n = 7). GLU, glucose; GA, glycoalbumin; AMY, amylase; TG, triglyceride; FFA, free fatty acid; STZ, streptozotocin; YO, yomogi (*Artemisia indica* var. *maximowiczii*); KU, kuromoji (*Lindera umbellata*); SD, standard deviation.

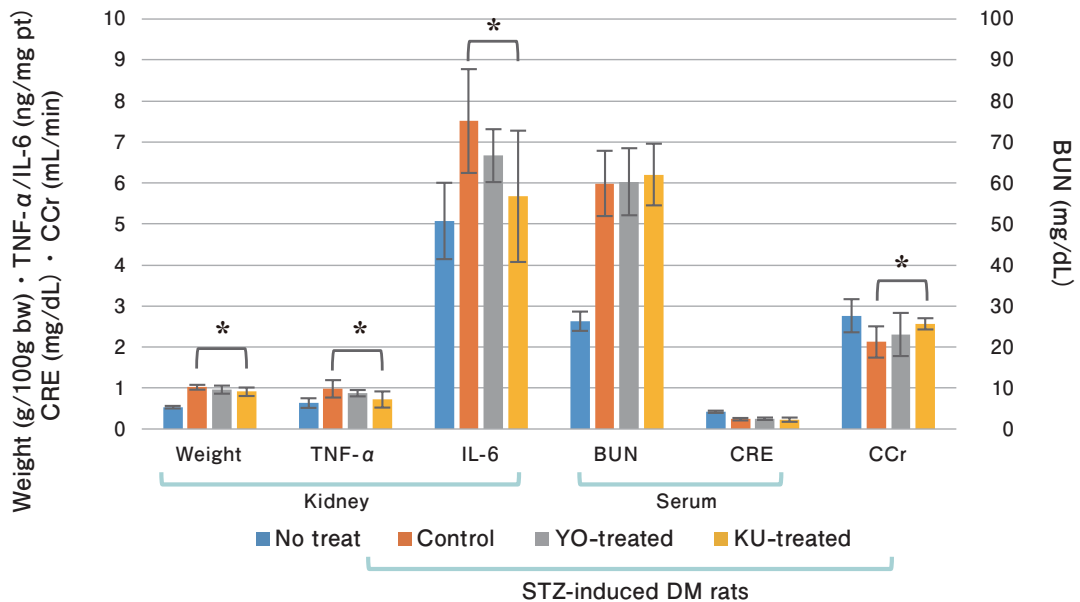


Fig. 4. The renal function index after 8 week treatment by kuromoji and yomogi in the STZ-induced diabetic rats.

Results are expressed as mean $\pm$ SD. No treatment group (n = 8), STZ-treated group (n = 8), STZ & YO-treated group (n = 8) and STZ & KU-treated group (n = 7). TNF α , tumor necrosis factor- α ; IL-6, interleukin-6; BUN, blood urea nitrogen; CRE, creatinine; CCr, creatinine clearance; STZ, streptozotocin; YO, yomogi (*Artemisia indica* var. *maximowiczii*); KU, kuromoji (*Lindera umbellata*); SD, standard deviation.

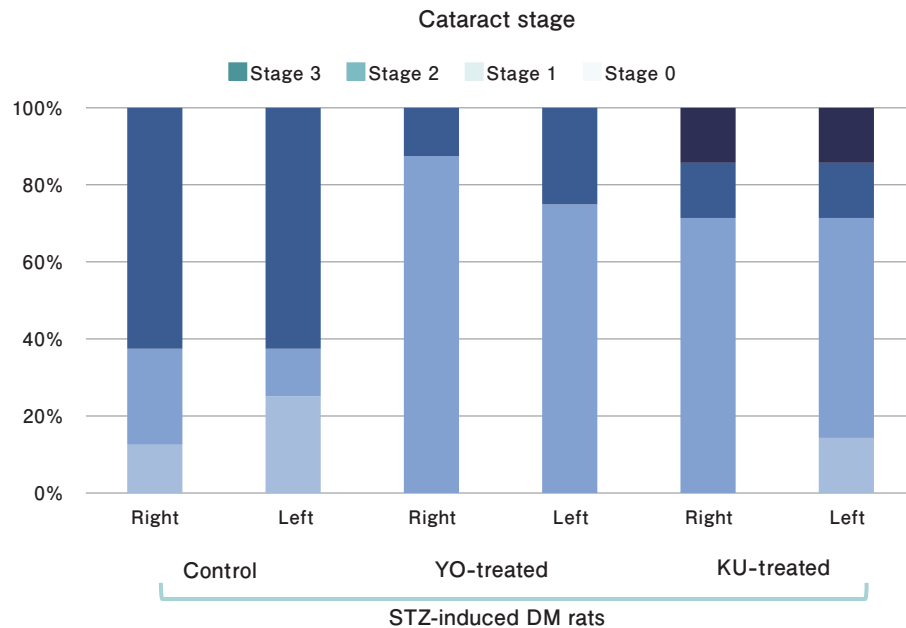


Fig. 5. Cataract prevention by kuromoji and yomogi (Japanese mugwort).

The graph shows the ratio of each stage of cataract in the STZ-treated rats. STZ-treated group (n = 8), STZ & YO-treated group (n = 8) and STZ & KU-treated group (n = 7). Stages are classified as follows: Stage 0, normal; Stage 1, early phase; Stage 2, immature phase; Stage 3, mature phase.

上述の項目においてヨモギ抽出物投与群と対照群の間に有意差がみられなかった。

試験品投与 8 週後に行った白内障ステージ評価の結果を Fig. 5 に示す。対照群にステージ 2 (未熟白内障) の割合が多いのに比べ、クロモジ抽出物投与群、ヨモギ抽出物投与群ともに白内障ステージがステージ 0 (正常) からステージ 1 (初期白内障) の割合が多く軽度であった。

考察

クロモジ

クロモジ (*Lindera umbellata* Thunberg) はクスノキ科 (Lauraceae) の植物で、九州から北海道にまで広く分布している日本固有の樹木である。香りの高い精油成分を含む幹と枝は烏樟 (ウシヨウ) と呼ばれる生薬として用いられており、霍乱、疝気、腹張、宿食不消などの消化器系を助ける薬能があるとされている。枝葉により香りがあるため高級爪楊枝の原料となっている。枝葉の蒸留によってできた精油をクロモジ油といい、香水や石鹸として利用される。精油にはリナロール (linalool)、シネオール (cineol)、ゲラニオール (geraniol) などが含まれる^{7,8)}。森林浴の効果もこれらの精油成分が貢献している^{9,10)}。

クロモジ精油には抗腫瘍作用¹¹⁾、抗炎症作用¹²⁾、心身リラックス作用^{10,13,14)}、ストレス緩和作用^{15,16)}、齧歯菌・

歯周病菌・カンジダ菌に対する抗菌活性¹⁷⁾、が報告されている。クロモジ精油は、ヒノキ葉精油、ヒノキ枝葉精油、スギ葉精油に比べると抗酸化活性は強くない¹⁸⁾。クロモジ精油のストレス緩和作用やリラックス作用については、心電図波形解析により副交感神経活動の増加、交感神経活動の減少、唾液分泌の増加作用があること¹⁴⁾、脳波の β 波の割合が有意に減少すること¹³⁾ から、副交感神経活動を優位にすると考えられている。

クロモジ葉には dihydrochalcone 系の linderatin¹⁸⁾、フラバノン類の linderatone¹⁹⁾ が含まれる。クロモジ枝にはフラボノイドとして kaempferol, quercetin, afzerin, avicularin, hyperin, isoquercitrin, rutin が含まれる²⁰⁾。クロモジ抽出物に含まれるタンニンには抗ペプシン活性、抗潰瘍作用が報告されている²¹⁾。クロモジ枝抽出物の hexahydrodibenzofuran 誘導体には色素細胞のメラニン産生抑制作用がある²²⁾。

今回の研究ではこれらの作用に加えて、HSA-Glu 反応モデルにおける *in vitro* AGEs 生成抑制作用が確認され、その効果は腸管上皮を通過した後も、ラットにて消化吸収された後にも発揮されることが示された。また、糖尿病誘発ラットに対しクロモジ抽出物を投与した結果、AGEs 生成抑制作用が発揮され、腎症及び白内障の進展予防効果を認めた。

白内障については、水晶体蛋白クリスタリンの糖化反応が病態形成に深く関与しており、ヒシ抽出物がグリコサー

ル処置によるクリスタリンの糖化を抑制することが報告されている。同様の機序でクロモジ抽出物に関してもクリスタリン蛋白の糖化を抑制した可能性がある²³⁾。

STZ 処置により低下したアミラーゼがクロモジ投与により増加した理由については、膵由来アミラーゼは膵機能を反映しており、STZ 処置により低下した膵機能がクロモジ投与により改善した結果、膵由来アミラーゼが上昇したと推測している。

糖化ストレスとは糖尿病・脂質異常症・メタボリック症候群・アルコール過剰摂取・慢性腎臓病（chronic kidney disease: CKD）など身体にアルデヒドを生じやすい状態を示す^{24, 25)}。STZ 誘発ラットでは Glu、TG、FFA が高値を呈し、これらに起因するアルデヒドが体内の蛋白と反応して、GA・HbA1c といった糖化反応初期指標が高くなり、AGEs の生成・蓄積を促す。さらに AGEs はマクロファージ系細胞表面上の RAGE (Receptor for AGEs) と結合、AGEs / RAGE シグナル活性化を介して炎症性サイトカイン生成、結果的に腎症や白内障といった組織障害などの変化が生じたと考えられる。クロモジ抽出物中の pycyanidin B2 はリポポリサッカライド刺激培養マクロファージの IL-6 産生、TNF- α 産生を抑制する¹²⁾。この所見は、クロモジ抽出物処置群糖尿病ラットの腎臓で IL-6、TNF- α が有意に低下していた結果を支持するものである。クロモジ抽出物が AGEs 生成抑制に加え、AGEs / RAGE シグナル活性化を抑制した可能性もあり、今後の検討が待たれる。

ヨモギ

ヨモギ (*Artemisia indica* var. *maximowiczii*) はキク科の多年草で、特有な香りを有しよぎ餅など食用にも使われる一方、葉の乾燥物はもぐさ (艾) は灸に用いられる^{26, 27)}。生薬としては艾葉 (ガイヨウ) と呼ばれる。婦人艾湯は婦人の漏下、半産後の吐血、妊娠腹痛などに効果があり、艾葉は止血や安胎作用を担うとされる。栝葉湯は吐血などの出血に用いられる。ヨモギ抽出物含有皮膚外用剤は皮膚止痒効果²⁸⁻³⁸⁾、アトピー性皮膚炎への効果³⁹⁻⁴²⁾ が報告されており、皮膚外用剤、石鹸⁴³⁾ や化粧品として多くの利用がある。

ヨモギの化学成分は精油、フラボノイド、ポリフェノールなどがある²⁷⁾。ヨモギの香りの主成分はシネオール (cineol)、ツヨン (thujone)、 β -カリオフィレン (β -caryophyllene)、ボルネオール (borneol)、カンファー (camphor) などのテルペン類⁴⁴⁾、ノナコサン (nonacosane) やヘントリアコンタン (hentriacontane) などの炭化水素⁴⁵⁾ が知られる。その他にはタンニン、パルミチン酸 (palmitic acid)、オレイン酸 (oleic acid)、リノール酸 (linoleic acid) などの脂肪酸、ビタミン A、ビタミン B1、ビタミン B2 が含まれる⁴⁶⁾。

ヨモギ葉抽出物には利胆作用⁴⁷⁾、血管内皮細胞の増殖促進⁴⁸⁾、ACE 阻害活性⁴⁹⁾、加齢臭・尿臭の軽減作用⁵⁰⁾、抗炎症作用⁵¹⁾ が報告されている。我々の研究出ではヨモ

ギ抽出物に含まれるポリフェノールによる AGEs 生成抑制作用^{3, 52)}を確認している。ヨモギ葉抽出物のタンニン活性成分として単離されたカフェ酸 (caffeic acid) やクロロゲン酸 (chlorogenic acid) は脂質過酸化の抑制作用⁵³⁻⁵⁵⁾、脂質代謝の改善作用 (TG 減少、過酸化脂質の減少)^{53, 54)}、肥満細胞からの histamine 遊離抑制作用^{53, 55)}を有する。この肥満細胞安定化作用はヨモギに特徴的であり、アトピー性皮膚炎や皮膚掻痒感の抑制目的で使われる理由となっている。

ヨモギとクロモジを比較すると AGEs 生成抑制作用はほぼ同等であるが、ヨモギが肥満細胞の安定化作用が強いのに対し、クロモジはマクロファージ系細胞に対して抗炎症作用を発揮している。このあたりの違いのために、クロモジは腎組織中サイトカイン量 (TNF- α 、IL-6) を優位に減少させたがヨモギでは有意差がなかったという結果の差となったと推測している。

結論

SIP プログラムの一環として農林水産物 536 種の中から in vitro 蛍光性 AGEs 生成抑制作用、腸管上皮細胞透過性、ラットにおける吸収活性の観点からスクリーニングを行い、国内における原料入手性など、国内資源を活用した機能性食品への応用を考慮し、クロモジ、ヨモギの抽出物を選別した。STZ 誘発性糖尿病ラットモデルではクロモジ抽出物による TG、FFA 改善作用、糖尿病腎症の進展予防効果が認められた。クロモジ、ヨモギの抽出物により白内障進展予防効果がみられた。今後の製品化を視野に入れてクロモジ抽出物に関する研究を継続することにした。

謝辞

本研究は総合科学技術・イノベーション会議の SIP (戦略的イノベーション創造プログラム 研究課題番号 14533567) 「次世代農林水産業創造技術」(農研機構生研センター委託研究) によって実施された。

利益相反申告

本研究を遂行するにあたり SIP 協力企業として養命酒製造より支援を受けた。

参考文献

- 1) Hori M, Yagi M, Nomoto K, et al. Inhibition of advanced glycation end product formation by herbal teas and its relation to anti-skin aging. *Anti-Aging Med.* 2012; 9: 135-148.
- 2) Parengkuan L, Yagi M, Matsushima M, et al. Anti-glycation activity of various fruits. *Anti-Aging Med.* 2013; 10: 70-76.
- 3) Ishioka Y, Yagi M, Ogura M, et al. Antiglycation effect of various vegetables: Inhibition of advanced glycation end product formation in glucose and human serum albumin reaction system. *Glycative Stress Res.* 2015; 2: 22-34.
- 4) Okawara M, Tokudome Y, Todo H, et al. Effect of β -cyclodextrin derivatives on the diosgenin absorption in Caco-2 cell monolayer and rats. *Biol Pharm Bull.* 2014; 37: 54-59.
- 5) Tomono T, Otsuka K, Yano K, et al. Recommended daily dose of sesame lignans has no influence on oral absorption of P-glycoprotein substrates in rats. *Biol Pharm Bull.* 2015; 38: 1960-1963.
- 6) Ikeda I, Tamakuni K, Sakuma T, et al. Resistant maltodextrin decreases micellar solubility of lipids and diffusion of bile salt micelles and suppresses incorporation of micellar fatty acids into Caco-2 cells. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2016; 62: 335-340.
- 7) Kuroda M, Sakurai K, Mimaki Y. Chemical constituents of the stems and twigs of *Lindera umbellata*. *J Nat Med.* 2011; 65: 198-201.
- 8) Kim KH, Moon E, Ha SK, et al. Bioactive lignan constituents from the twigs of *Lindera glauca*. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2014; 62: 1136-1140.
- 9) 野中 卓, 大谷一夫, 新田伸子, 他. 熊野古道における森のかおりの癒し効果に関する研究. 和歌山県環境衛生研究センター年報. 2009; 54: 25-28.
- 10) 赤壁善彦. 森林浴における香りのリラックス度へ与える影響. *Aroma Research.* 2010; 11: 156-161.
- 11) Maeda H, Yamazaki M, Katagata Y. Kuromoji (*Lindera umbellata*) essential oil-induced apoptosis and differentiation in human leukemia HL-60 cells. *Exp Ther Med.* 2012; 3: 49-52.
- 12) Maeda H, Yamazaki M, Katagata Y. Kuromoji (*Lindera umbellata*) essential oil inhibits LPS-induced inflammation in RAW 264.7 cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2013; 77: 482-486.
- 13) 赤壁善彦, 上川智弘. クロモジ精油のリラックス効果. *日本味と匂学会誌.* 2011; 18: 591-594.
- 14) 山上 彩, 井村紘子, 渋谷耕司, 他. 唾液分泌、自律神経活動および脳活動からみた香り刺激の効果: クロモジ精油とベルガモット精油について. *日本味と匂学会誌.* 2012; 19: 453-456.
- 15) 齋藤あゆみ, 佐藤和恵, 千葉良子. 精油の香りに対する嗜好が生理反応に与える影響: スギ葉精油とクロモジ枝葉精油の比較. *Aroma Research.* 2015; 16: 260-265.
- 16) 筒井紀子, 五十嵐香織, 福井佳代子, 他. クロモジ精油のストレス緩和効果: (第1報) 歯科診療時のストレス緩和に向けて. *日本歯科衛生学会雑誌.* 2017; 11: 73-84.
- 17) 千葉良子, 佐藤真奈美, 鶴田和子, 他. 齧蝕菌, 歯周病菌, カンジダ菌に対するクロモジ枝葉精油およびスギ葉精油の抗菌活性. *Aroma Research.* 2016; 17: 376-380.
- 18) Tanaka H, Ichino K, Ito K. A novel dihydrochalcone, linderatin from *Lindera umbellata* var. *lancea*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin.* 1984; 32: 3747-3750.
- 19) Tanaka H, Ichino K, Ito K. A novel flavanone, linderatone, from *Lindera umbellata*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin.* 1985; 33: 2602-2604.
- 20) 滝沢信夫. *Lindera* 属の成分研究: (第一報) クロモジ近縁植物のフラボノイド成分. *生薬学雑誌.* 1984; 38: 194-197.
- 21) 加藤正秀, 江崎宣久, 堤 志津子. 烏樟の薬理学的研究: (第3報) 烏樟粗エキスの抗潰瘍作用について. *生薬学雑誌.* 1982; 36: 350-355.
- 22) Mimaki Y, Kameyama A, Sashida Y, et al. A novel hexahydrodibenzofuran derivative with potent inhibitory activity on melanin biosynthesis of cultured B-16 melanoma cells from *Lindera umbellata* bark. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1995; 43: 893-895.
- 23) Uemura T, Takeshita S, Yamada M. The effectiveness of the peel extract of water chestnut (*Trapa bispinosa* Roxb.) in an α -crystallin glycation model with glyoxal. *Glycative Stress Res.* 2017; 4: 104-108.
- 24) Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, et al. Significance of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-Aging Med.* 2010; 7: 112-119.
- 25) Ichihashi M, Yagi M, Nomoto K, et al. Glycation stress and photo-aging in skin. *Anti-Aging Med.* 2011; 8: 23-29.
- 26) 石井亮介, 藏留純一, 荻野律子, 他. よもぎの可能性を古典に探る. 東洋療法学校協会学会誌. 2010; 33: 26-30.
- 27) 戸田静男. ヨモギの抗酸化作用についての研究. 関西医療大学紀要. 2012; 6: 20-32.
- 28) 浜下幸子, 木間美津子, 西村咲子. “痒み” に対するナーシングケア: ヨモギ清拭を試みて. *ナーシング.* 1982; 2: 1657-1661.
- 29) 木間美津子, 浜下幸子, 西村咲子. そう痒感のため“眠れない”と訴える患者への継続的ケア: ヨモギ清拭のもたらす“よい眠り”への効果について. *ナーシング.* 1986; 6: 1068-1073.
- 30) 三島志保子, 三輪加代, 小松博子, 他. そう痒感軽減のための積極的な看護援助: ヨモギ清拭を試みて. 岐阜市民病院年報. 1988; 8: 159-163.
- 31) 中塩哲士, 井上京市, 菅沼 優, 他. 慢性腎不全患者の皮膚そう痒症に対する艾葉エキス剤「ヨモネオール(R)」の臨床的有用性. *Progress in Medicine.* 1989; 9: 1259-1263.
- 32) 漆原由喜恵, 結城和香, 佐藤節子, 他. 掻痒を訴える患者にヨモギローションを試みて. 善仁会研究年報. 1990; 11: 75-77.
- 33) 古部好一, 池内克治, 加藤利雄, 他. ガイヨウ軟エキスをを用いたヨモギローションの止痒効果について. *医薬ジャーナル.* 1990; 26: 115-118.
- 34) 結城和香, 山崎由美, 牧野奈々美, 他. 透析患者の皮膚そう痒症に対するヨモギローションの止痒効果. 善仁会研究年報. 1991; 12: 23-26. 1991; 12: 23-26.
- 35) 手塚 正, 楠田 茂, 東田敏明, 他. そう痒性皮膚病変に対するヨモギジェル製剤の有用性の検討. *皮膚.* 1993; 35: 303-311.
- 36) 室井延之, 大石了三, 木村繁之, 他. ヨモギ (艾葉) 抽出液の抗ヒスタミン作用および皮膚そう痒症に対する臨床効果. *病院薬学.* 1994; 20: 10-16.
- 37) 光井里恵, 芳井増稔. 痒み対策としてのヨモギケアにおける軟膏の作製と使用経験. *臨床看護研究の進歩.* 1994; 6: 125-130.
- 38) 松浦香野, 小川 令, 濃沼政美, 他. 熱傷後肥厚性瘢痕の掻痒に対するヨモギローションの止痒効果. *熱傷.* 2003; 29: 50-56.

- 39) 玉置昭治, 村津麻紀. ヨモギエキス含有スキンケア製品 (SY シリーズ) のアトピー性皮膚炎患者に対する使用経験. 皮膚. 1994; 36: 369-378.
- 40) 庄司昭伸, 井上明子, 谷 幸子, 他. アトピー性皮膚炎に対する ヨモギエキス配合シートの使用経験. 皮膚. 1998; 40: 501-506.
- 41) 杉浦真理子, 早川律子, 杉浦啓二. アトピー性皮膚炎と化学物質: アトピー性皮膚炎患者の頭皮乾燥に対するヨモギエキス含有ローションの応用. 皮膚. 2000; 42(Suppl.22): 1-4.
- 42) 日置智津子, 荒井勝彦, 新井 信. 艾葉香気成分のアトピー性皮膚炎に対する効果の検討: 4 種の生薬を含む軟膏の調製. アロマセラピー学雑誌. 2010; 10: 25-32.
- 43) 金森律子. ヨモギ抽出液 (ヨモネオール) の抗菌作用の検証. 感染防止. 2002; 12: 35-38.
- 44) 土屋文彦, 矢島敏行, 川口健夫. GCxGC-TOFMS による生薬蒸留オイル中の活性成分の解析 (II). The Journal of Holistic Sciences. 2012; 6: 1-8.
- 45) 戸田静男, 大西基代, 木村通郎, 他. 艾の精油成分の研究 (1). 全日本鍼灸学会雑誌. 1988; 38: 330-333.
- 46) 奥田拓男, 波多野 力, 梶 功, 他. オオヨモギ・ヨモギ及び近縁植物のタンニンについて. 薬学雑誌. 1986; 106: 894-899.
- 47) 奥野 勇, 内田清久, 難波恒雄. ヨモギ属植物の利胆作用. 薬学雑誌. 1984; 104: 384-389.
- 48) Kaji T, Kaga K, Miezi N, Ejiri N, Sakuragawa N. A stimulatory effect of Artemisia leaf extract on the proliferation of cultured endothelial cells. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1990; 38: 538-540.
- 49) 木元幸一, 清水恵美子, 黒田裕子. 食品中の ACE 阻害物質に関する研究. 東京家政大学研究紀要. 1998; 38: 59-63.
- 50) Osada K, Curran M, Kurachi M, et al. Effect of an orally ingested mugwort and mushroom extract mixture on urine odor from aged mice. Biosci Biotechnol Biochem. 2008; 72: 1249-1256.
- 51) Park JM, Han YM, Lee JS, et al. Nrf2-mediated mucoprotective and anti-inflammatory actions of Artemisia extracts led to attenuate stress related mucosal damages. J Clin Biochem Nutr. 2015; 56: 132-142.
- 52) Ishioka Y, Yagi M, Ogura M, et al. Polyphenol content of various vegetables: Relationship to antiglycation activity. Glycative Stress Res. 2015; 2: 41-51.
- 53) 波多野 力, 奥田拓男, 戸川圭子. ヨモギ類のタンニン活性成分とその脂質過酸化抑制効果. 和漢医薬学会誌. 1985; 2: 124-125.
- 54) Kimura Y, Okuda H, Okuda T, et al. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. VII. Effects of extracts of leaves of Artemisia species, and caffeic acid and chlorogenic acid on lipid metabolic injury in rats fed peroxidized oil. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1985; 33: 2028-2034.
- 55) Kimura Y, Okuda H, Okuda T, et al. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. VI. Inhibitory effects of caffeoylquinic acids on histamine release from rat peritoneal mast cells. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1985; 33: 690-696.