

# リグノフェノール誘導体によるダニアレルゲン低減化

増山和晃\*, 西川奈緒美\*, 井岡浩之\*\*, 三原理江\*\*

## Allergen Deactivation by Lignophenol Derivatives

Kazuaki MASUYAMA, Naomi NISHIKAWA, Hiroyuki IOKA and Rie MIHARA

The mite allergen deactivation by Ligno-*p*-cresol derivatives were investigated. All these Ligno-*p*-cresol derivatives well deactivated mite allergen. The deactivating effect was similar to tannic acid and poly-4-vinyl phenol. When these samples were coated on the nonwoven fabrics and activated carbon fiber sheet by sorking and drying, the fixation of samples was depended on the surface hydrophobicity of fablics. Because Ligno-*p*-cresol derivatives were hydrophobic material, even after washing sample coated filter, kept the deactivating effect against house dust mite allergen.

Key words: Mite Allergen, Ligno-*p*-cresol, Tannic Acid, Poly-4-vinyl Phrnlol, Hydrophobicity

### 1. はじめに

厚生労働省の調査では日本人の3人に1人が何らかのアレルギー症状に悩んでいるとされる。以前は子供の頃のアレルギーは成長するにつれて沈静化していくと言われていたが、最近では花粉症の発症、加齢後の難治化、重症化の報告も多い。最も重篤なアレルギー疾患である喘息では年間6000人もの死亡報告がされ、アトピー性皮膚炎ではその症状が社会生活に支障をきたすことも多くなっている。こうしたアレルギーを起こす原因物質はアレルゲンと呼ばれ、ストレスや食物、ハウスダストが主な原因といわれている。近年、住宅の省エネ化の観点から高气密性の住宅が増え快適性が向上してきているが、この快適性はハウスダスト中のダニにとっても適した環境になっている。ダニが増殖することにより虫体のみならず死骸、抜け殻、糞が増え、ダニアレルゲンを増やす原因となっている。このダニアレルゲンは喘息、小児喘息、鼻炎等のアレルギー疾患を誘発する主な原因とされており、早急な対策が求められている。

\* 材料技術グループ

\*\* 株式会社 マルトー

ダニを減らす方法として、これまで掃除機で吸いったり水洗いしたり、ダニアレルゲンがタンパク質から成っていることから60℃以上の熱をかけたり、或いは布団の中で繁殖しないよう高密度の織物を使用する等の対策が講じられてきた。しかし、WHOの発表によると、アレルギーによる喘息発作誘発の閾値は10  $\mu$ g/g fine dustであり、またダニアレルゲンは虫体のみならずその死骸や糞までもアレルゲン反応を起こすという特徴を有し、完全除去が不可能であることから抜本的な技術対策が求められている。このような現状から近年、アレルゲンの構成物質であるタンパク質の変性、吸着という観点で研究が進められ、ダニアレルゲン低減化物質としてフェノール性水酸基を持つ物質<sup>1)</sup>やタンニン酸<sup>2,3)</sup>や没食子酸<sup>4)</sup>が有効であるという報告がある。

しかし、上記文献1で示されているポリ-4-ビニルフェノールやポリチロシンは高価であるため広く普及するのが難しいと考えられる。また、文献2と文献3のタンニン酸や没食子酸は、安定した抗アレルゲン効果を得ることが困難であった。そこで今回は、上記問題点を克服するため、アレルゲンをより安全、

安価で低減化し、さらにポリ-4-ビニルフェノール、タンニン酸等に比べ抗アレルギーに有効且つ安定して優れた効果が発揮できる抗アレルギー組成物として、三重大大学の船岡教授がシーズとして持っているリグノ-p-クレゾール(以下リグノクレゾールと表記)およびその誘導体<sup>5, 6)</sup>を用い、検討を行った。

## 2. 実験方法

### 2. 1 リグノクレゾールの製造

リグノクレゾールの製造は、過去の特許出願文献<sup>4)</sup>の手法で製造した。また、この低分子化物、メチロール化物は以下の手法によった。

低分子化物・・・16.8g の精製リグノクレゾールを0.5NのNaOHに溶かして全量を240gとした。これをフッ素樹脂で内張したステンレス製のオートクレーブ容器に入れ電気炉にて170℃で2h加熱した。室温まで冷却後0.5NのHClでpH2とし、このとき析出した沈殿物を遠心分離機で繰り返し洗浄した。その後この試料を五酸化リン入りのデシケーターにて保管することにより脱水し、低分子化した二次変換試料を得た。

メチロール化物・・・10g の精製リグノクレゾールを390gの0.2NのNaOH溶液に溶解後、40gの35%ホルムアルデヒド溶液を加え、窒素雰囲気下60℃で60分間攪拌しながら加温して、リグノフェノール誘導体の分子中にメチロール基を導入した。反応終了後、塩酸を使用してpH2として析出後、中性になるまで水洗、乾燥してメチロール化物を得た。

### 2. 2 ダニアレルゲン収集方法

アレルギーは、実際の住居の塵から採取した。猫を2匹飼っている約85m<sup>2</sup>で木製フローリングのマンションにおいて2日に1度程度、掃除機を掛けている家の集塵パック内の塵ゴミを用い、35メッシュと200メッシュの2枚の篩を取り付けた篩振とう機にて3時間ふるい、200メッシュを通過した区分を集める作業を2回繰り返したものを粗アレルギーとして用いた。

### 2. 3 実験方法

#### 2. 3. 1 試薬

比較用低減化試薬として用いたタンニン酸、没食子酸プロピル、没食子酸、ポリ-4-ビニルフェノール(分子量8000と20000)は市販の特級試薬を用いた。また、これらの低減化試薬を添着する基材には、ユニチカ社製の活性炭素繊維シート「スーパーデキシ

ーAK」、呉羽テック社製のセルロースを含む不織布「8056」または、レーヨンからなる不織布「H281」を用いた。

#### 2. 3. 2 ダニアレルゲン測定方法

まず、上記低減化試薬を、アセトンに2%の濃度に溶解した。この溶液に20cm×15cmにカットした基材を30分間浸した。このシートを、30℃で24時間乾燥し、低減化測定サンプルとした。このサンプルに対し、2.2中の粗ダニアレルゲンを含む塵を均一にすり込み反応させた直後と24時間後にダニスキャン(アサヒフードアンドヘルスケア製)にて測定を行った。ダニスキャンの測定方法は以下の通りとした。アレルギーの測定を行う面(20cm×15cm)を約1分間、縦横に塵採取部で擦り、塵を捕捉した。塵採取後、塵採取部を上にして水平にダニスキャンを置き、塵採取部に現像液をゆっくり5滴しみ込ませた。10分～15分経過後、表示部にあるC(コントロール)及びT(テストライン)の位置に現れる赤線の濃さを比較し、Tがほとんど見えないか、全く見えない場合(Tなし)を判定1、Cに比べてTが薄く発色した場合(T<C)は判定2、Cに比べてTがほぼ同じ濃さで発色した場合(T=C)は判定3、Cに比べてTが濃く発色した場合(T>C)は判定4とした。メーカー提供の資料<sup>7)</sup>によるとそれぞれの判定における中央値は

判定1・・・0.1μg/g dust      判定2・・・0.8μg/g dust

判定3・・・2.7μg/g dust      判定4・・・8.0μg/g dust

であり、判定3で感作濃度、判定4で発症濃度に相当するとの記載があるため、本実験では低減化物を利用していない場合の判定が4になるようにアレルギーの初期濃度を調整した。また、測定データの取得に際しては、人による目視による判断となるため、公正を期すために特に記載がない限り、測定人数を7名とし、その平均値を結果として用いた。

## 3. 実験結果と考察

### 3. 1 基材の検討

ヒノキ木粉より製造したリグノクレゾールをアセトンに溶かし5%(w/v)とした。この溶液を「スーパーデキシ」「8056」「H281」に添着させたものを低減化サンプルとしてアレルギー低減化試験を行った。結果を2名で判定したところいずれのサンプルも判定1であったが、「H281」に関してはダニスキャンによる測定時に、リグノクレゾールが粉末状

表 1 各種アレルギー低減化物の性能比較(スーパーデキシー)

サンプル名	アレルギー添 加直後	25℃にて24時間放 置後
コントロール	4.0	3.5
ポリ-4-ビニルフェノール(8000)	1.7	2.0
ポリ-4-ビニルフェノール(20000)	2.3	2.0
タンニン酸	2.0	2.0
没食子酸(1水和物)	2.2	2.0
没食子酸プロピル	4.0	2.8
リグノクレゾール	2.8	2.0
リグノクレゾール低分子化物	2.0	2.2
ヒドロキシメチル化リグノクレゾール	2.0	2.0

に脱離してしまった。これはリグノクレゾールが撥水性であるため、表面極性が高い H281 とは定着性が良くなかったことが原因と考えられる。

### 3. 2 各種アレルギー低減化物の性能比較

スーパーデキシーを用い、ダニアレルギー低減化効果の比較を行った。各種低減化物を用い 3% (w/v) のアセトン溶液を作り、その溶液 3ml を均一に滴下含浸させ乾燥後、2.2 に記載のダニアレルギーを 8.4mg 取り、均一に擦りつけた。ダニスキャンによりダニアレルギーを擦りつけた直後と 24 時間後の 2 度測定した。結果を表 1 に示す。リグノクレゾール・リグノクレゾール低分子化物・ヒドロキシメチル化リグノクレゾールは、ポリ-4-ビニルフェノールやタンニン酸と同等のアレルギー低減化効果を示すことが分かった。特に、リグノクレゾール低分子化物とヒドロキシメチル化リグノクレゾールについてはリグノクレゾールよりも反応初期の段階から高い低減化効果を示すことが分かった。

また、リグノクレゾールに関しては、低分子化物及びヒドロキシメチル化を行ったサンプルで効果が

大きくなった。これは、これらの操作を行うことにより、ダニアレルギータンパク質と相互作用の強いフェノール性水酸基が接触しやすい状態になったためと考えられる。また、リグノクレゾールはポリ-4-ビニルフェノール、没食子酸、タンニン酸と比較して同等のアレルギー低減化効果を示すことが分かった。

### 3. 3 繰り返し洗浄による定着性試験

アレルギー低減化物質を添着させたフィルターを繰り返し洗浄しても、性能維持が図れるかどうか試験した。呉羽テック製「8056」を基材として、アルカリ水溶液(0.2N NaOH)にて、アレルギー低減化物質を 5% (w/v) となるように溶解させた。その溶液 3ml を均一に含浸滴下し乾燥後測定試料とした。ヒドロキシメチル化リグノ-p-クレゾール熱硬化物はヒノキシメチル化リグノクレゾールに約 100℃の熱をかけて基材に添着した。また、比較のためにアルカリ水溶液(0.2N NaOH)だけを 3ml 滴下含浸し乾燥したものと、何もしない基材をコントロールとし測定した。まず、粗ダニアレルギーを 7.2mg 擦りつけた直後のダニアレルギー量を測定し

表 2 フィルターの洗浄に伴う低減化性能変化(呉羽テック 8056)

サンプル名	洗浄前	洗浄後
コントロール	4.0	4.0
アルカリ水溶液	1.0	3.8
タンニン酸	1.7	2.8
リグノクレゾール	1.9	2.4
ヒドロキシメチル化リグノクレゾール(熱硬化前)	2.3	2.4
ヒドロキシメチル化リグノクレゾール(熱硬化後)	1.8	1.8

表 3 噴霧剤としての効果確認試験(スーパーデキシー)

溶剤名	判定値(結果)
コントロール	2.0
リグノクレゾールアセトン溶液	1.0
リグノクレゾールアルカリ溶液	1.0

た。その後、これらのサンプルを 1L の脱イオン水を入れたビーカー中でもみ洗いを行った後、少量の脱イオン水で洗浄することによって、アレルゲンを洗い流した。30℃にて乾燥後、再び上記の量のダニアレルゲンを添加した直後のダニアレルゲン量を測定した。結果を表 2 に示す。アルカリのみのコントロールとタンニン酸は、洗浄時に洗浄水側に溶出する様子が見られたことから洗浄後のフィルター上の低減化物質はかなり減っていると考えられ、実際の結果からもダニアレルゲン低減化効果は弱くなったが、他のサンプルに関しては低減化効果に大きな減少は見られなかった。したがって、リグノ-p-クレゾール、メチロール化リグノクレゾール(熱硬化前後共)においては水による洗浄時に多くがフィルター上に留まると考えられ、フィルター洗浄を行った後も低減化効果が発揮、維持されるのが確認できた。特に、ヒノキヒドロキシメチル化リグノクレゾール熱硬化物はフィルター洗浄を幾度重ねても低減化効果が維持されるのが確認できた。繰り返し洗浄して用いられるフィルターなどのアレルゲン低減化部材として有効に使用できると考えられる。

### 3. 4 液状アレルゲン低減化剤としての効果確認試験

表面をダニアレルゲンで汚染されたフィルターに対し、リグノクレゾールを含む溶液を噴霧することによって低減化が可能であるかどうか測定した。まず、ユニチカ製スーパーデキシーを 3 枚用意し、それぞれに粗ダニアレルゲンを 7.2mg ずつ擦り込んだ。次にこのうちの 2 枚に、それぞれアセトンとアルカリ水溶液(0.2N NaOH)を用いてスギ由来リグノクレゾールを 3% (w/v)となるように溶解した溶液 5ml を噴霧器を用いて均一にシート上に噴霧した。乾燥後、アレルゲン量を測定した。結果を表 3 に示す。噴霧を行った 2 つのサンプルはいずれも結果が判定 1 となり、汚染された表面に対し噴霧することにより低減化を行うことが可能であった。

### 3. 5 商品化に向けた試作

室内環境浄化を目的にした試作品を 2 点製作した。リグノクレゾールを 3% (w/v)のエタノール溶液とし

市販のバラの造花の花弁部分とクマのぬいぐるみの背中半分に噴霧器で噴霧・乾燥を行った。図 1(造花)、図 2(ぬいぐるみ)に示す。いずれも手触りは、噴霧前とほとんど変わらず、またリグノクレゾールの定着はしっかりしたものであり、剥離は起こらなかった。



図 1 試作例(造花)



図 2 試作例(ぬいぐるみ)

## 4. まとめ

リグノクレゾールおよびその低分子化物・ヒドロキシメチル化物の高付加価値な利用用途としてダニアレルゲン低減化物質としての適用を検討した結果、これまで研究されてきたタンニン酸やポリ-4-ビニルフェノールと比較して、同等の低減化効果を示すことを確認した。

基材による定着状況の違いを目視で確認したところ、素材の種類により影響を受けることが分かった。また、繰り返し洗浄試験を行った結果、リグノクレゾールが非水溶性であることから洗浄しても落ちず効果が持続した。

試作品の作成を行ったところいずれも通常の使用に耐えられることを確認した。

## 参考文献

- 1) T. Suzuki, et al: "Control of Mite-Allergen by Anti-Allergen Agent Grafted Cloths", Extended Abstracts of The 33rd Textile Research Symposium,99(2004)
- 2) J. A. Woodfolk, et al : "Chemical treatment of carpets to reduce allergen:A detailed study of the effects of tannic acid on indoor allergens", J.allergy Clin Immunol. 94,p.19-26(1994)
- 3) T.Hashimoto, et al, : "Accumulation of Group I Dermatophagoides farinae and Stability of the Mite Allergen in the Cultured Medium of Allergenicity.", Bull. of JESC 28 (2001)

4)三浦ほか：“環境からアレルゲンを除去する方法 および抗アレルゲン組成物” 特開平 6-279273

5) M.Funaoka, et al. : "Characteristics of Lignin Structural conversion in a Phase-Separative Reaction System Composed of Cresol and Sulfuric Acid", Holzforshung 50 , p.245-252 (1996)

6)船岡正光：“相分離反応系を応用するフェノール系リグニン素材の誘導とその機能”,16,p.151-164 (1995)

7)アサヒフードアンドヘルスケア株式会社のホームページ  
<http://www.asahi-fh.com/hc/products/pdt04-01.html>

(本研究は法人県民税の超過課税を財源としていません)