

ナツシロギク抽出物およびパルテノリドの マウスにおける免疫調節効果

小野寺沙智・熊谷 雄介・須藤 佳子・森本 素子*

Modulation of Immune Function by the Extract of *Tanacetum parthenium* and Parthenolide in Mice.

Sachi ONODERA, Yusuke KUMAGAI, Yoshiko SUTO and Motoko MORIMOTO*

Abstract

NF- κ B inhibitor, parthenolide is a sesquiterpene lactone derived from flowers of *Tanacetum parthenium* and has been described as one of the candidates for alternative anti-inflammatory medicine. To determine whether oral administration of parthenolide and *Tanacetum parthenium* extract could modulate mucosal immunity in the gut, first, the gene expression of Th1 and Th2 cytokines and chemokine receptor in colon was examined. Secondly, DSS-induced colitis models were evaluated to determine if parthenolide and *Tanacetum parthenium* extract has anti-inflammatory effects *in vivo*.

IL-13 gene expression was significantly increased 4.5 fold in parthenolide-fed mice, while IL-4 gene expression didn't show any change. Inflammatory cytokines and CCR9 gene expression was slightly down in parthenolide-fed mice compared to control mice. *Tanacetum parthenium* extract inhibited IFN γ gene expression. In DSS-induced colitis models, parthenolide and *Tanacetum parthenium* extract inhibited IFN γ and CCR9 gene expression, but the former increased IL-6 gene expression. Pathological study revealed that the migration of inflammatory cells into submucosa in colon was inhibited by both of parthenolide and *Tanacetum parthenium* extract. However, survival in colitis model was reduced with parthenolide treatment. In Conclusions, parthenolide increased the gene expression of IL-13 which possesses powerful anti-inflammatory properties. However, the results of DSS-induced colitis mice models showed that parthenolide induced IL-6 gene expression and even worsened survival of mice. Although previous studies described that parthenolide inhibits NF- κ B and inflammatory cytokines *in vitro*, further investigation is needed to understand the mechanism of the harmful effects of parthenolide for clinical study. Meanwhile, the dairy intake of *Tanacetum parthenium* extract might be effective against a Th1-dominant profile and have some effect to prevent inflammatory conditions.

(Received October 1, 2010 ; Accepted February 4, 2011)

Keywords : antioxidant, polyphenol, cytokine, colon, mice

キーワード : 抗酸化物質, ポリフェノール, サイトカイン, 大腸, マウス

* Corresponding author (E-mail : morimoto@myu.ac.jp)

緒 言

生体内において代謝の結果排出される活性酸素は、生体の生命活動において重要な役割を果たす分子であるが、過剰な生成は酸化ストレスとして組織に障害を与え、慢性炎症・老化・発がんの原因ともなる¹⁾。このような障害を食生活によって予防あるいは改善させることを目的とし、近年、抗酸化作用のある植物成分の研究が進められてきた。なかでも、広く植物・農産物に含まれるポリフェノールは、強力な抗酸化性により、代謝系だけでなく免疫系の応答にも関与し、さまざまな疾患を改善することが期待されている。しかし、その作用機序には未だ解明されていない部分が多く残されており、生体に応用するにはさらなる検討が必要と考えられる。

ナツシロギクは抗酸化作用のある薬用ハーブとして知られ²⁾、その主成分であるパルテノリドは、*in vitro*で酸化ストレスや炎症刺激によって誘導される炎症促進タンパク（転写因子）であるNF- κ Bを抑制することが報告されており³⁾、炎症に関わる遺伝子を抑えることでアレルギー疾患や炎症性疾患への効果が期待されている。

NF- κ Bは非刺激状況下では抑制因子と会合しており、細胞質で不活化状態にある。しかしサイトカインなどの刺激により、抑制因子が分解されることでNF- κ Bのみが核内に移動し、リン酸化されることで、炎症を悪化させる遺伝子の転写促進因子として活性化される⁴⁾。

パルテノリドはNF- κ Bのリン酸化の抑制や不活化状態での抑制因子の分解抑制により、NF- κ Bの活性化を抑制する。また、リウマチモデルマウスや培養癌細胞に対し、炎症抑制や増殖抑制効果が認められている^{2,5,6)}。

本研究では、ナツシロギク抽出物およびパルテノリドをマウスに経口投与し、*in vivo*における免疫調節機能について検討した。さらに、マウスに炎症性大腸炎を誘導し、抗炎症作用についても検討を加えた。

方 法

1. 実験動物

7週齢～12週齢の雌のC57BL/6JマウスをSLCより購入した。本研究における動物の飼育及び実験は、実験動物関連法令に従って実施し、宮城大学研究委員会・動物実験専門委員会の承認を受けて行った。飼育環境は1ケージ5～6匹ずつ、温度18℃～22℃、湿度40%、

自由給餌（船橋農場 マウス・ラット・ハムスター飼育用）、自由給水とした。

2. 遺伝子解析

(1) 組織の採取

マウスを過剰麻酔下でと殺し、大腸の組織を採取した後、Trizol (Invitrogen) を加えてホモジナイズし、抽出作業まで-80℃下で保存した。

(2) トータルRNAの抽出およびcDNAの合成

マニュアルに従ってトータルRNAを抽出し、ランダムプライマーおよび逆転写酵素 (SuperScript II, Invitrogen) を用いてcDNAを合成した。

SuperScript II を除く反応液をGeneAmp PCR system9700 (Applied Biosystems) にて70℃ 5分、4℃ 5分に変性後、SuperScript II を加え、37℃60分で逆転写を行い、90℃ 5分で酵素を失活させ、4℃で冷却した。合成したcDNAは-20℃にて保存した。

(3) リアルタイムPCR

合成したcDNAは、SYBR Greenを用いたインターカレーション法にて、95度10分の変性後、95℃30秒、60℃1分、72℃ 1分 (40～50サイクル) の条件でリアルタイムPCR法を行い、mRNAの発現量を定量解析した (Stratagene Mx3000P)。データの解析方法は $\Delta\Delta$ CT法を用いた⁷⁾。

解析したサイトカイン遺伝子はインターフェロン γ (IFN γ)、インターロイキン4 (IL-4)、インターロイキン13 (IL-13)、インターロイキン6 (IL-6)、腫瘍壊死因子 α (TNF α)、ケモカインレセプターC-C chemokine receptor type 9 (CCR9) であり、内部コントロールにはリボソームRNA (18SRT) を用いた。IL-4、IL-13およびIFN γ のプライマーシーケンスはすでに報告した⁸⁾。そのほかのプライマー配列は以下の通りである。

IL-6: 5'-TCCATCCAGTTGCCTTCTTG-3' (sense),

5'-TTTCTCATTTCACGATTTCCC-3' (antisense);

TNF α : 5'-CCCACGTCGTAGCAAACC-3' (sense),

5'-GCAGCCTTGTCCTTGAA-3' (antisense);

CCR9: 5'-TCTCAGTTCCCCTACAACCTCCATT-3' (sense),

5'-CAGTTGGAGATGAACATGGCATA-3'

(antisense)

3. 組織観察

スライスロール法にて大腸を成形し、組織の5~10倍量の10%中性緩衝ホルマリン液（和光純薬工業）に24~48時間固定を行った後、パラフィンに包埋し、ミクロトームにて7 μ mに薄切し、定法に従ってヘマトキシリン・エオシン（HE）染色を行った。

4. 大腸炎の誘導

DEXTRAN SURFATE SODIUM SALT REAGENT GRADE（以下DSS:MP Biomedicals製）を3%の濃度に水道水で溶解し、DSS腸炎誘導群にはサンプリングの7日前より給水として与えた。

5. 薬剤の投与

パルテノリド（SIGMA）はDimethyl Sulfoxide（和光純薬工業 以下DMSO）で溶解し、DMSO濃度0.1%までPBSで薄め、1日に体重1kgあたり1mg投与濃度に調整し、2週間経口投与を行った。ナツシロギク抽出物（株式会社MMT）はPBSで懸濁し、1日に体重1kgあたり125mg投与濃度に調整し、2週間経口投与を行った（ナツシロギク抽出物は0.8%のパルテノリドを含有しているため、パルテノリド量に換算すると同等の量である）。前述のとおり、大腸炎誘導群には、パルテノリドまたはナツシロギク抽出物投与と並行し、サンプリングの7日前よりDSSを給水投与した。

6. 統計処理

有意差の検定はt検定を用い、p値が0.05未満のものを統計的に有意とした。

結 果

(1) パルテノリドによる免疫調節効果

1. 大腸における遺伝子発現の変化

C57BL/6Jマウスは炎症性疾患の研究に主に用いられる近交系マウスであり、炎症性サイトカインを優位に発現する系統である。しかし、パルテノリド投与群では、2型サイトカインであるIL-13が大腸において有意に増大することが明らかになった（PBS:パルテノリド=1 \pm 0.5:4.5 \pm 2.8, 図1B）。また、IFN γ , TNF α , IL-6およびケモカインレセプターであるCCR9の発現を抑制する傾向が認められた（図1CDEF）。したがって、パルテノリドは1型免疫応答に偏るC57BL/6Jマウスのサイトカインバランスを特に大腸において調節できる可能性が示唆された。

2. 大腸炎誘導時の大腸における遺伝子発現の変化

続いて、DSS大腸炎モデルを用いて解析を行った。本実験では、あらかじめパルテノリドを投与し、投与期間の後半にDSSを同時に投与する実験スケジュールを用いたが、DSSの給水開始から3日目以降、マウスに軟便、血便が見られ、大腸炎の誘導が確認された。

大腸炎モデルでは、パルテノリド投与群においてIFN γ およびCCR9の発現抑制傾向が見られたものの（IFN γ :PBS/DSS:パルテノリド/DSS=1 \pm 0.25:0.38 \pm 0.2, Figure 2A; CCR9:PBS/DSS:パルテノリド/DSS=1 \pm 0.34:0.53 \pm 0.08, 図2D), IL-6遺伝子の発現が増大し（PBS/DSS:パルテノリド/DSS=1 \pm 0.6:3.78 \pm 1.25, 図2C), さらに症状も悪化傾向が認められ、実験終了時までの致死率が高まった（7頭中2頭死亡、1頭は衰弱のため試験から除去）。

3. 大腸の病理組織学的変化

DSSを誘導した群全てにおいて、炎症性腸疾患の特徴である局所性陰窩病変、粘膜と粘膜下組織の炎症、顆粒球など多核白血球の浸潤が観察された（図3CD）。パルテノリド投与群の致死率が高まった原因としてIL-6上昇による炎症の悪化が予測されたが、大腸組織のHE染色では、粘膜下への炎症細胞の浸潤はやや軽減し、PBS群と比較して炎症がさらに悪化しているという所見は認められなかった（図3EF）。

(2) ナツシロギク抽出物による免疫調節機能

1. 大腸における遺伝子発現の変化

ナツシロギク抽出物投与では、TNF α に抑制傾向が認められ（PBS:ナツシロギク=1 \pm 0.18:0.6 \pm 0.05), IFN γ が有意に抑制された（PBS:ナツシロギク=1 \pm 0.2:0.46 \pm 0.1）。他のサイトカインに大きな変化はなかった（図4）。したがって、パルテノリド単体とナツシロギク抽出物ではサイトカイン遺伝子の発現調節効果にやや違いがあり、抽出物にIL-13増強効果はないが、炎症性サイトカインを抑制することがわかった。

2. 大腸炎誘導時の大腸における遺伝子発現の変化

大腸炎モデルにおいて、ナツシロギク抽出物投与群では、IFN γ （PBS/DSS:ナツシロギク/DSS=1 \pm 0.1:0.36 \pm 0.1, 図5A）とともに、CCR9の遺伝子発現が有意に減少していた（PBS/DSS:ナツシロギク/DSS=1 \pm 0.14:0.66 \pm 0.05, 図5D）。IL-6の遺伝子発現はやや増加傾向にあった（PBS/DSS:ナツシロギク/DSS=1 \pm 0.3:1.5 \pm 0.47, 図5C）が、TNF α の遺伝子発現に差はなかった。

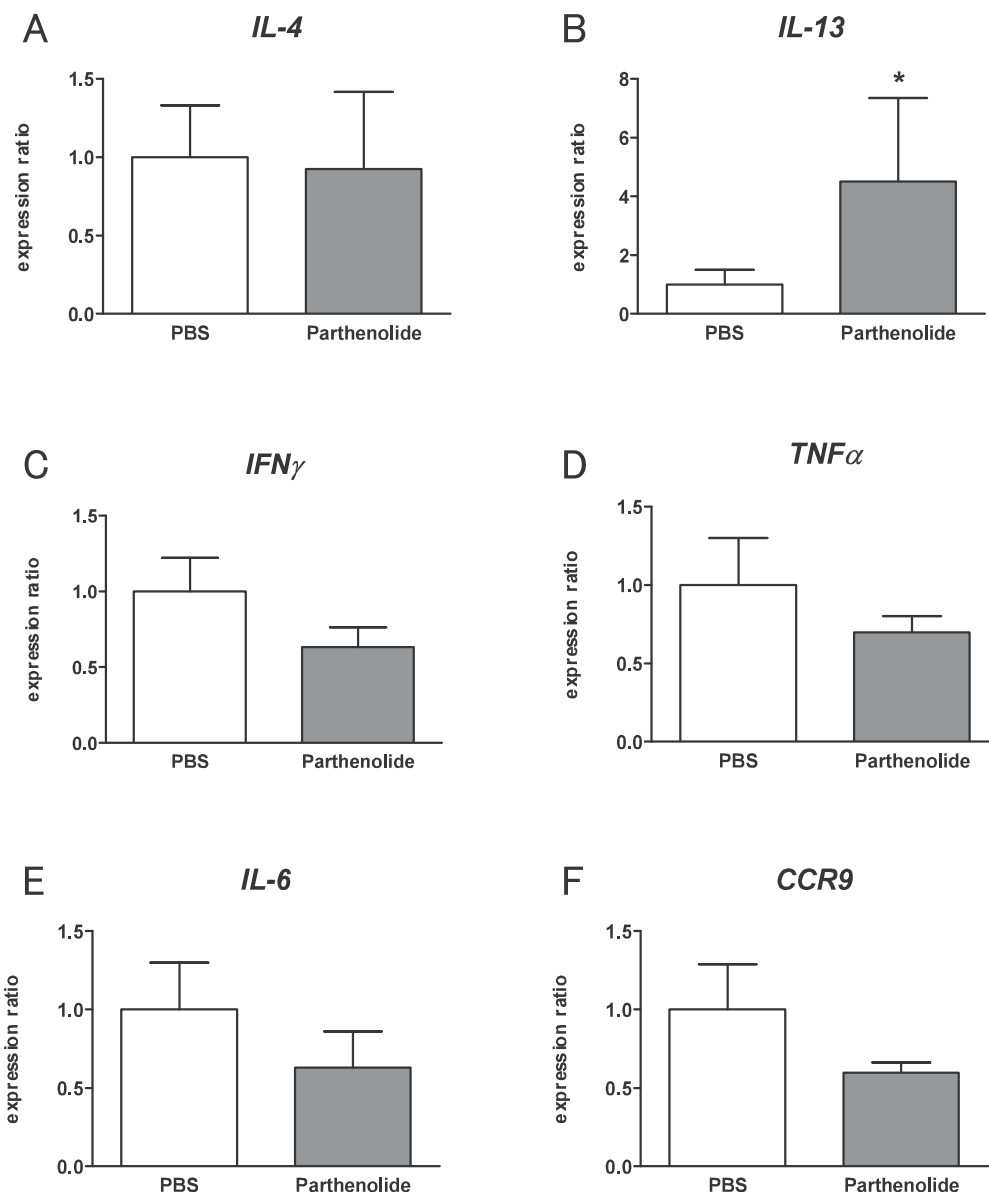


図1 パルテノリド投与による大腸のサイトカインおよびケモカインレセプター遺伝子発現の変化

A: IL-4, B: IL-13, C: IFN γ , D: TNF α , E: IL-6, F: CCR9
n=5, *p<0.05

3. 大腸の病理組織学的変化

DSS腸炎モデルでは腸陰窩が脱落し、粘膜下組織への好中球浸潤が見られた (図6 CD)。一方、ナツシロギク抽出物投与群では、粘膜上皮が剥離しているものの、DSS腸炎による腸陰窩の脱落や粘膜下組織への好中球浸潤などを改善する傾向があった (図6 EF)。ナツシロギク抽出物投与ではパルテノリド投与時に見られた致死率の上昇はなかった。

考 察

ナツシロギクは天然ハーブとして古代ギリシャ時代より頭痛や発熱を抑えるために利用されている。これまで、培養細胞を用いたパルテノリドの研究は多数あり、抗がん作用、抗腫瘍効果、NF- κ B阻害剤としての効果を持つとの報告がある^{5,6)}が、*in vivo*での免疫調節効果は十分解明されていない。ポリフェノールの多くは食品に含まれており、かつ経口的に摂取されるものであるため、消化吸収の複雑な過程を経て生体内に

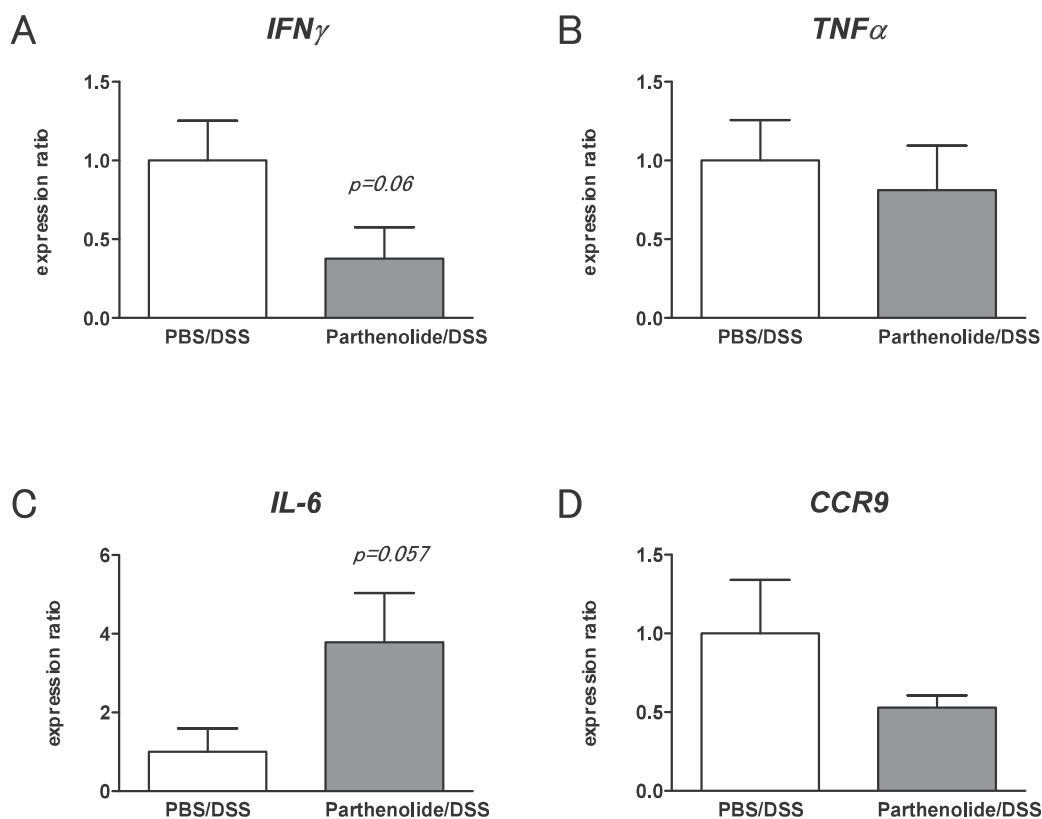


図2 炎症性大腸炎モデルにパルテノリドを投与した時の大腸における炎症性サイトカインおよびケモカインレセプター遺伝子発現の変化
A: IFN γ , B: TNF α , C: IL-6, D: CCR9
n \geq 4

取り込まれたときの効果を調べるのが重要であり、*in vivo*での実験が必要不可欠である。本研究では、まず、健康な状態のマウスにパルテノリドを投与し、構成的に発現するサイトカイン遺伝子の発現量における変化を調べた。パルテノリドはNF- κ Bを抑制することから、炎症性サイトカイン（1型サイトカイン）あるいはアレルギーに関与する2型サイトカインの発現を制御する可能性があり、炎症性サイトカイン（IFN γ , TNF α , IL-6）および2型サイトカイン（IL-4, IL-13）の遺伝子発現定量解析を行った。その結果、健康なマウスにパルテノリドを投与したとき、2型サイトカインであるIL-13が大腸において有意に増大することが確認された。2型サイトカインは1型サイトカイン反応を抑制する作用があることから、2型サイトカインの増加が見られたことは、間接的に炎症を抑制に導くのではないかと考えられた。

さらに、炎症性サイトカインであるIFN γ , IL-6, TNF α のおよび好中球などの炎症性細胞を炎症部位へ

遊走させるケモカインのレセプターであるCCR9の発現はいずれも抑制傾向が見られた(図1)。C57BL/6Jマウスは1型免疫応答優位の遺伝的背景を持つため、感染などの刺激で炎症性サイトカインの産生が高まりやすい。本研究により、パルテノリドがそのようなサイトカインのアンバランスを調整する可能性を持つことが示唆された。

次に、炎症性疾患におけるパルテノリドの効果を検討するため、DSSによってマウスに腸炎を誘導したモデルを用いて同様の実験を行った。DSSは乳酸菌の*Leuconostoc mesenteroides*の作用により蔗糖から生成されたデキストランの部分水解物から合成されたものである。DSSを給水に配合し投与を開始すると、腸内細菌叢のバランスが崩れ、その結果、投与開始およそ三日後から軟便、血便、下痢、体重減少の症状が見られ、大腸粘膜には粘膜びらんの多発、大小様々な粘膜潰瘍が生じる。また、大腸の長さの短縮が認められる。組織学的には炎症性細胞浸潤、腺窩膿瘍、腺上皮

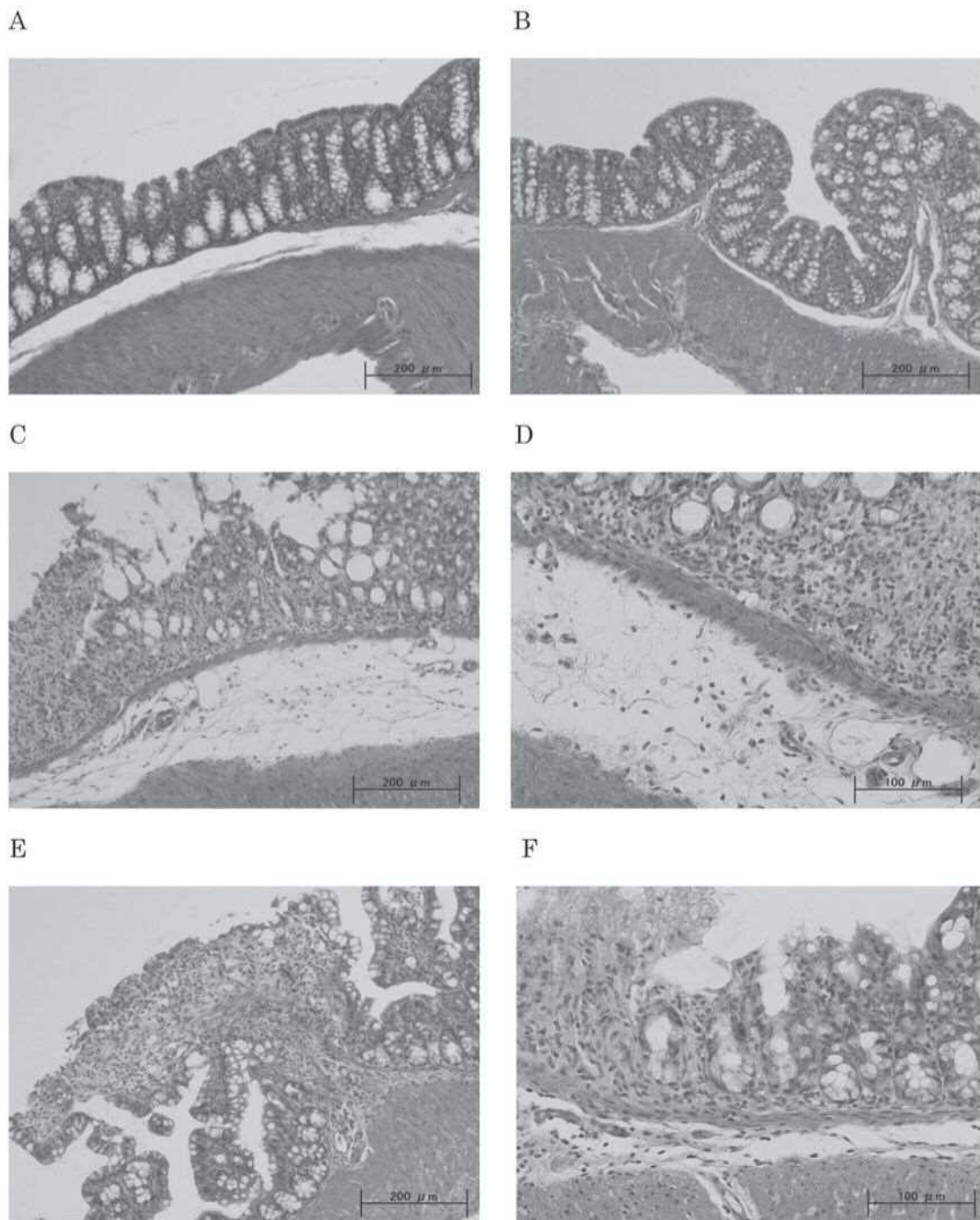


図3 炎症性大腸炎モデルにパルテノリドを投与した時の大腸の病理組織

A:PBS, B:パルテノリド, CD:DSS/PBS, EF:DSS/パルテノリド,
 ABCE:100倍, DF:200倍

の過形成などが観察される⁹⁾。しかしながら、DSS自体の毒性は低く、炎症モデルに利用した場合でも、炎症が発症する標的部位以外に影響を与える可能性は低いことが知られ、炎症が生じている局所の反応を調べることが可能である。更にこの病態および症状はヒト

における主な炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎や、消化管全体で発症するクローン病と類似する。これらの疾患は治療法が十分解明されていない難病であるため、マウスにおけるDSS腸炎において症状改善が観察されれば、ヒトへの治療にも貢献できる可能性がある。

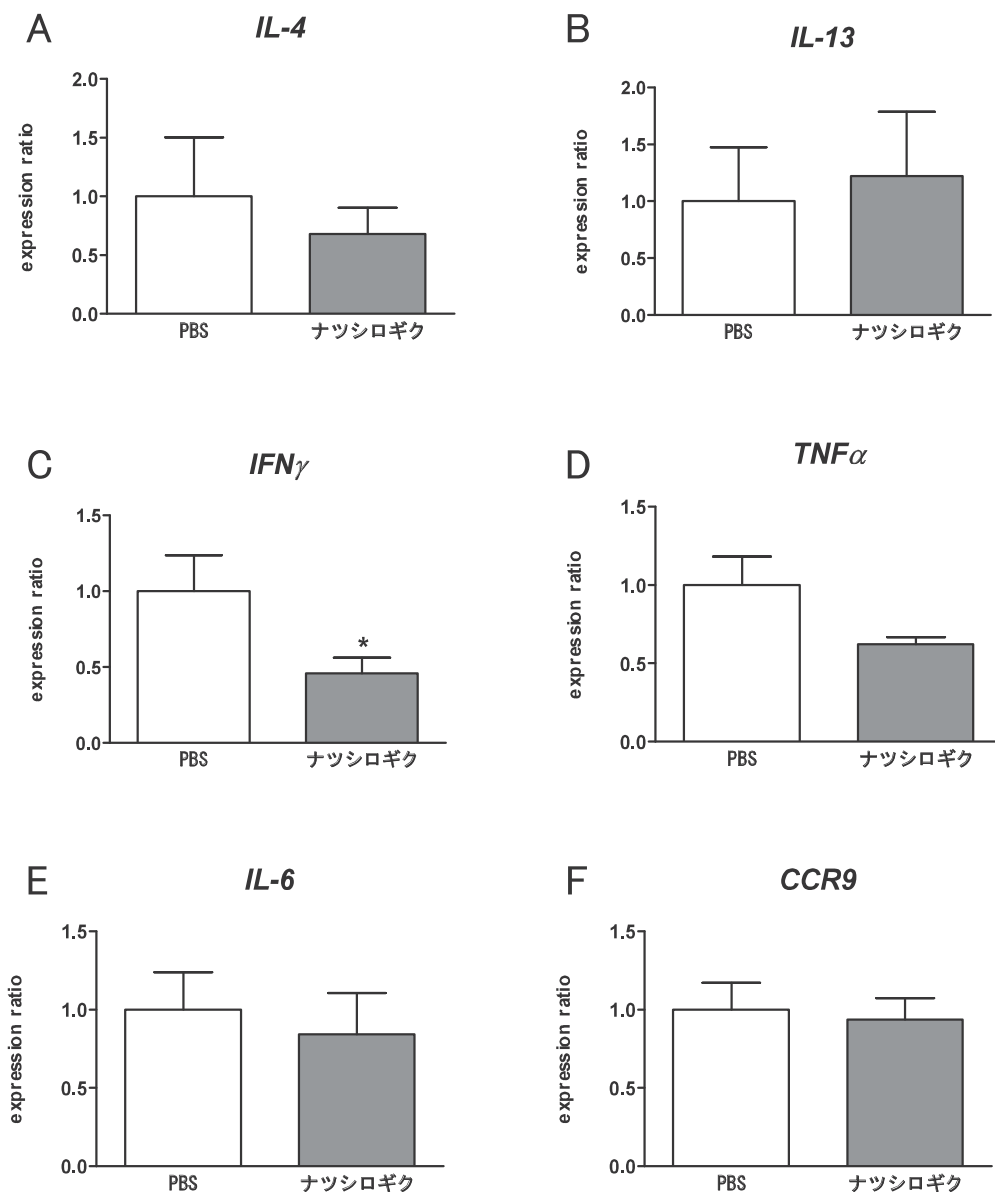


図4 ナツシロギク抽出物投与による大腸のサイトカインおよびケモカインレセプター遺伝子発現の変化

A: IL-4, B: IL-13, C: IFN γ , D: TNF α , E: IL-6, F: CCR9
n=5, *p<0.05

しかし、DSS大腸炎モデルにパルテノリドを投与すると、IFN γ 、CCR9の発現はやや抑制されたものの、IL-6は増大し（図2）、個体の致死率が高まった。この結果はLPSをマウスに投与して炎症を誘導し、パルテノリドの効果を調べたLiらの報告¹⁰と一致しており、炎症性疾患へのパルテノリドの投与は慎重に考える必要があることが確認された。ただし、病理組織所見からはコントロール群以上の腸炎の悪化は認められないため、パルテノリドの作用については大腸以外の臓器

や全身状態についても検討する必要があると考えられた。

以上に示したように、パルテノリドに期待されたような抗炎症作用が見られなかったため、次に、パルテノリドを主成分とするナツシロギク抽出物について同様の検討を行った。抽出物と単体成分を比較した場合、抽出物にはさまざまな成分が含まれているため、単体の示す効果が減ずる場合もあるが、逆に効果が増大したり、あるいは毒性が低く抑えられたりする利点があ

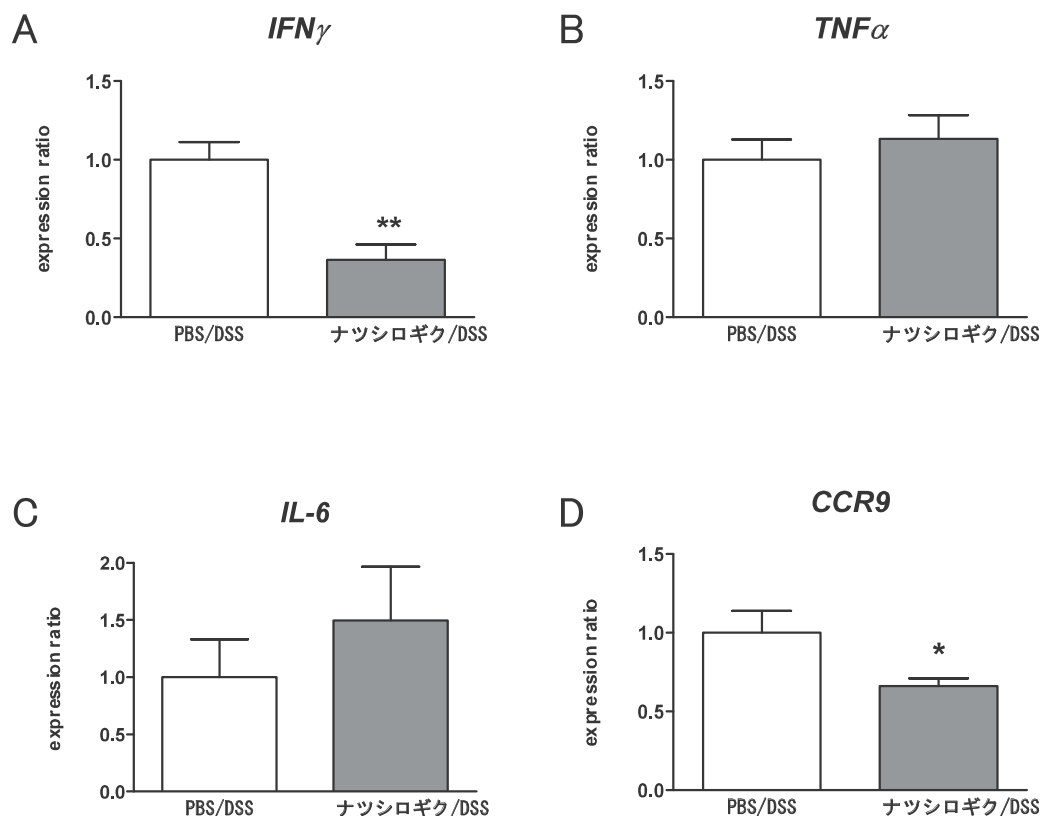


図5 炎症性大腸炎モデルにナツシロギク抽出物を投与した時の大腸における炎症性サイトカインおよびケモカインレセプター遺伝子発現の変化

A: IFN γ , B: TNF α , C: IL-6, D: CCR9
n=5, *p<0.05 **p<0.001

る。例えば、天然に存在する同じ植物ポリフェノールのタンニンが飲料、食品、果物の一成分として含有されているときには、下痢止め、消化器系疾患、各種皮膚疾患などに有効であるが、タンニンを単体で過剰に摂取した場合、収斂作用が強く働き、便秘を引き起こすという報告があり^{1,11)}、抽出物は単体成分より穏やかな効果を持つ可能性が示唆される。そこで、ナツシロギク抽出物による同様の試験を行って、単体成分であるパルテノリドの効果と比較した。その結果、炎症性サイトカインであるTNF α を抑制する傾向が示され、さらにIFN γ が有意に抑制された(図4)。一方、パルテノリド投与において有意に増加したIL-13は、ナツシロギク抽出物の投与によってほとんど変化を示さなかった。

しかし、ナツシロギク抽出物は、DSS腸炎モデルにおいて、IFN γ とともに、ケモカインレセプターであるCCR9(図5D)の遺伝子発現を有意に低下させた。したがって、炎症部位である腸管におけるケモカインの

感受性を低下させ、炎症性白血球の組織への遊走および組織内への浸潤を抑制することで炎症を改善し、腸炎を緩和させる可能性が示唆された。

大腸の組織切片のHE染色による病理組織学的解析においても、ナツシロギク抽出物は、上皮の脱落などの組織の損傷を大きく改善するには及ばないが、炎症性腸疾患に特徴的な腸陰窩の脱落や粘膜下組織への好中球浸潤などの組織障害をやや軽減する傾向がみられた(図6)。

大腸炎の発症メカニズムを考える場合、TNF α とIL-6は炎症を誘導する鍵となる重要なサイトカインである。組織が感染などで損傷を受けると、局所で最初にTNF α やIL-1が放出され、それらが単球やマクロファージ、血管内皮細胞に刺激を与えることにより、続いてIL-6やINF γ の産生が誘導される。したがって、抗炎症作用のある物質の検討には指標として主にTNF α が使用されることが多く、IL-6はTNF α に連動して増減すると考えられてきた。しかし、本研究の結果

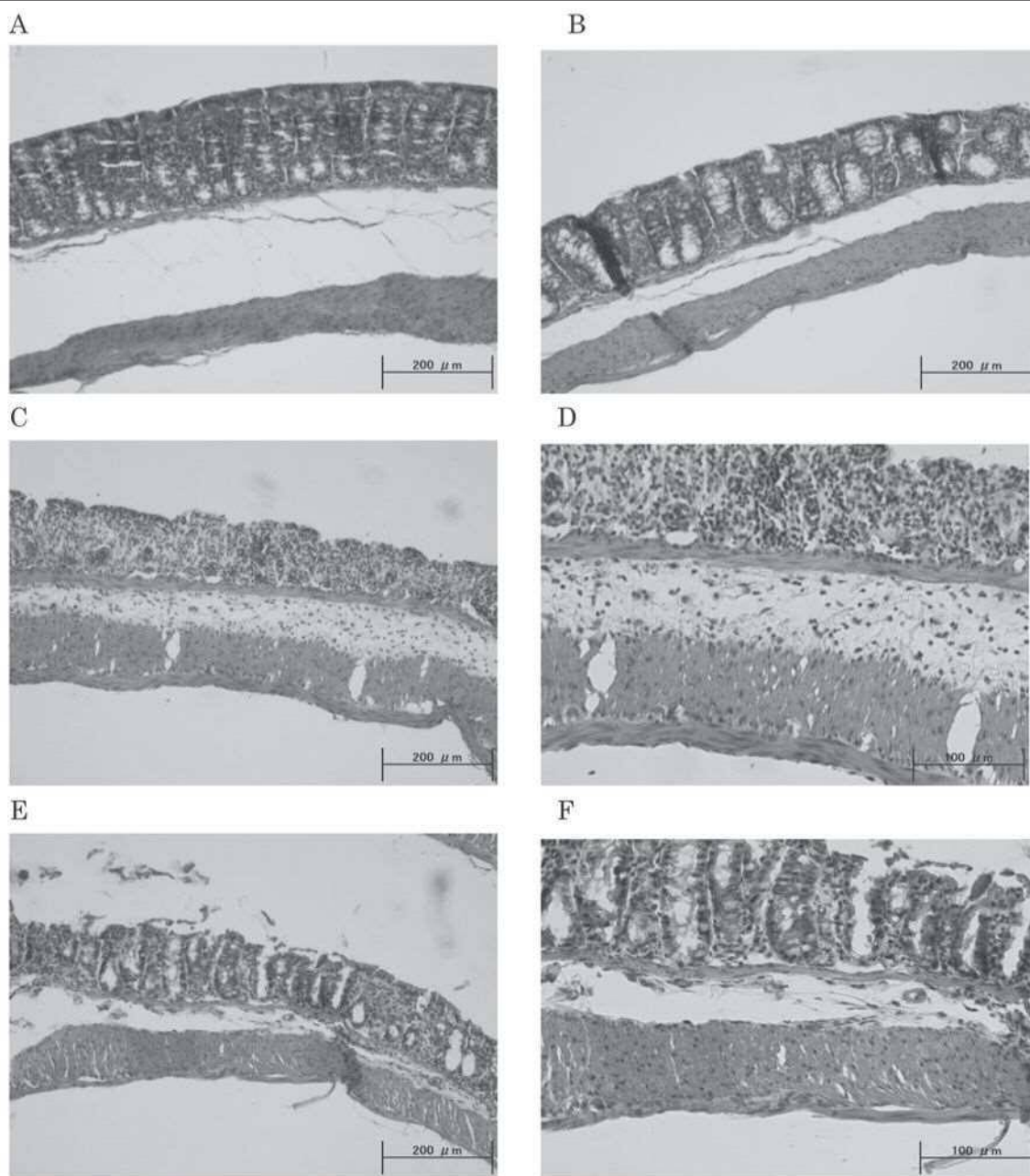


図6 炎症性大腸炎モデルにナツシロギク抽出物を投与した時の大腸上皮の病理組織

A: PBS, B: ナツシロギク CD: DSS/PBS, EF: DSS/ナツシロギク
 ABCD: 100倍 DF: 200倍

が示すように、パルテノリドやナツシロギク抽出物は $\text{TNF}\alpha$ よりも IL-6 を特異的に増加させる傾向がある。これまで、 IL-6 欠損マウスに DSS 腸炎を誘導した場合、腸炎の症状が軽減したとの報告¹²⁾や、*in vitro* および *in vivo* において LPS 刺激を行い、パルテノリドを投与した場合、*in vitro* では炎症性サイトカインである IL-6 及び $\text{TNF}\alpha$ が抑制されたが、*in vivo* の実験においては、 $\text{TNF}\alpha$ は抑制される一方、 IL-6 の発現が増加していた

という報告があり¹³⁾、これらは $\text{TNF}\alpha$ よりも、 IL-6 が腸炎の病態に重要な役割を果たす可能性を示唆していると考えられる。 IL-6 は制御性 T 細胞 (Treg) を抑制し、炎症性疾患に重要な Th17 細胞産生を誘導することも報告されている¹⁴⁾。今後は IL-6 によって誘導される Th17 細胞についても詳しく検討すれば、植物性ポリフェノールの炎症性腸炎のコントロールの可能性についてさらに有用な知見が得られるかもしれない。

また、最近、炎症開始促進因子であるNF- κ Bが、炎症終結にも関与しているとの報告もあり⁴⁾、炎症がすでに起きている状態でNF- κ B阻害剤であるパルテノリドを摂取すると炎症終結を遅らせ、その結果、炎症が長引き結果的に炎症性サイトカインの発現量が増大したという可能性も考えられる。したがって、パルテノリドは、非炎症時にはNF- κ B阻害によりサイトカインバランスを調整し炎症を予防できる可能性があるが、炎症時は炎症の終結を誘導するために摂取を避ける方がよいと考えられる。しかし、このようなパルテノリドの欠点は、ナツシロギク抽出物では緩和され、IFN γ やCCR9の産生を抑制し、腸炎症状を改善する傾向も認められたことから、サプリメントとしての使用など臨床応用を検討する際には、抽出物を用いる方が安全で有用性が高いと考えられた。

摘 要

天然ハーブであるナツシロギクに含まれるParthenolideはフラボノイドの一種であり、NF- κ Bを抑制することから、アレルギー疾患や炎症性疾患への効果が期待されている。しかし、*in vivo*における免疫調節効果については十分明らかになっていない。そこで、Parthenolideおよびナツシロギク抽出物をC57BL/6J雌マウスおよびDSS腸炎誘導モデルに経口投与し、大腸における種々のサイトカインの遺伝子発現および病理組織解析を行った。

パルテノリド投与により、炎症性サイトカインの遺伝子発現は抑制傾向がみられ、2型サイトカインであるIL-13は有意に増大した。ナツシロギク抽出物投与ではIFN γ の発現が抑制された。腸炎誘導モデルでは、パルテノリド投与によりINF γ は抑制傾向を示し、組織観察により大腸粘膜の炎症に軽減傾向が認められたが、IL-6が上昇し、コントロール群と比較して致死率が高まった。ナツシロギク抽出物投与でもIL-6の増加傾向はみられたが、IFN γ およびCCR9が有意に減少し、組織観察によっても炎症性細胞の遊走が抑制傾向にあることが確認された。

ParthenolideはIL-13を増強することから、間接的に1型免疫応答を抑制する可能性はある。しかし、炎症を悪化させるIL-6の遺伝子発現を増強させたため、すでに重篤な炎症を起こしている症例では、投与は慎重であるべきと考えられ、さらなる作用機序の解明が必要である。一方、ナツシロギク抽出物は、大腸炎を大きく改善するには至らないものの、パルテノリドのよ

うな障害は認められず、日常的な摂取によってサイトカインバランスを調節し、炎症の予防に効果を示す可能性が示唆された。

引用文献

- 1) 吉田隆志, 有井雅幸 (2007) 「植物ポリフェノール含有素材の開発—その機能性と安全性—」 pp. 49–60. (シーエムシー出版).
- 2) Wu, C., Chen, F., Rushing, J. W., Wang, X., Kim, H. J., Huang, G., Haley-Zitlin, V., & He, G. (2006) Antiproliferative activities of parthenolide and golden feverfew extract against three human cancer cell lines. *J Med Food* 9. 55–61.
- 3) Saadane, A., Masters, S., DiDonato, J., Li, J., & Berger, M. (2007) Parthenolide inhibits IkappaB kinase, NF-kappaB activation, and inflammatory response in cystic fibrosis cells and mice. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 36. 728–736.
- 4) Ghosh, S. & Hayden, M. S. (2008) New regulators of NF-kappaB in inflammation. *Nat Rev Immunol* 8. 837–848.
- 5) Parada-Turska, J., Mitura, A., Brzana, W., Jablonski, M., Majdan, M., & Rzeski, W. (2008) Parthenolide inhibits proliferation of fibroblast-like synoviocytes in vitro. *Inflammation* 31. 281–285.
- 6) Sheehan, M., Wong, H. R., Hake, P. W., & Zingarelli, B. (2003) Parthenolide improves systemic hemodynamics and decreases tissue leukosequestration in rats with polymicrobial sepsis. *Crit Care Med* 31. 2263–2270.
- 7) Livak, K. J. & Schmittgen, T. D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-Delta Delta C(T)} Method. *Methods* 25. 402–408.
- 8) Morimoto, M., Morimoto, M., Zhao, A., Madden, K. B., Dawson, H., Finkelman, F. D., Mentink-Kane, M., Urban, J. F., Jr., Wynn, T. A., & Shea-Donohue, T. (2006) Functional importance of regional differences in localized gene expression of receptors for IL-13 in murine gut. *J Immunol* 176. 491–495.
- 9) Cooper, H. S., Murthy, S. N., Shah, R. S., & Sedergran, D. J. (1993) Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis.

- Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 69. 238–249.
- 10) Li, X., Cui, X., Li, Y., Fitz, Y., Hsu, L., & Eichacker, P. Q. (2006) Parthenolide has limited effects on nuclear factor-kappa beta increases and worsens survival in lipopolysaccharide-challenged C57BL/6J mice. *Cytokine* 33. 299–308.
- 11) 茂呂沢朋子 (2003) 食品と栄養サプリメント～健康と疾患時におけるその役割～. (エヌ・ティー・エス)
- 12) Naito, Y., Takagi, T., Uchiyama, K., Kuroda, M., Kokura, S., Ichikawa, H., Yanagisawa, R., Inoue, K., Takano, H., Satoh, M., *et al.* (2004) Reduced intestinal inflammation induced by dextran sodium sulfate in interleukin-6-deficient mice. *Int J Mol Med* 14. 191–196.
- 13) Smolinski, A. T. & Pestka, J. J. (2003) Modulation of lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine production in vitro and in vivo by the herbal constituents apigenin (chamomile), ginsenoside Rb(1) (ginseng) and parthenolide (feverfew). *Food Chem Toxicol* 41. 1381–1390.
- 14) Korn, T., Mitsdoerffer, M., Croxford, A. L., Awasthi, A., Dardalhon, V. A., Galileos, G., Vollmar, P., Stritesky, G. L., Kaplan, M. H., Waisman, A., *et al.* (2008) IL-6 controls Th17 immunity in vivo by inhibiting the conversion of conventional T cells into Foxp3+ regulatory T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105. 18460–18465.