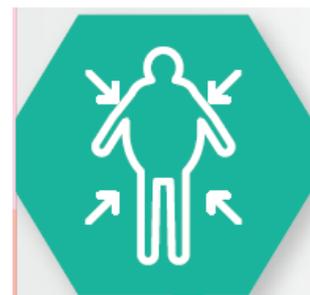
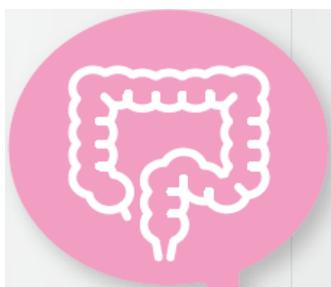


機能性をもつ農林水産物・ 食品開発プロジェクト 研究成果集



Study on Development of Agricultural Products and Foods with Health-promoting benefits
(NARO)

目次

はじめに

1

A. 機能性を持つ農林水産物やその加工品の開発

- ① 食後血糖上昇を抑制する高アミロース米等とその加工食品の開発 4
- ② 高β-グルカン大麦・小麦全粒粉を用いた低GI/抗メタボ食品の開発 12
- ③ 表面加工玄米及びその加工品の提供システムの開発 19
- ④ ルチン高含有ダットンソバ「満天きらり」を用いた脂質代謝改善効果のある加工食品の開発 28
- ⑤ 抗酸化物質高含有食品による睡眠改善を介した抗メタボ効果検証と商品開発 36
- ⑥ 脂質代謝改善効果を持つβ-コングリシニン高含有大豆の栽培技術及び加工食品の開発 48
- ⑦ 認知機能障害予防作用を持つケルセチン高含有タマネギの栽培技術及び加工食品の開発 55
- ⑧ 日本の伝統健康野菜ゴーヤのエビデンスとサイエンスを根拠とする適正商品化技術の開発 63
- ⑨ カロテノイド類の生体調節機能に着目した抗メタボ食品提供技術の開発とその効果の実証研究 70
- ⑩ β-クリプトキサンチンの抗メタボ効果に着目した柑橘及びその加工食品の開発 74
- ⑪ 脂質代謝改善効果を持つ高カテキン緑茶及びその加工食品の開発 82

B. 新たな機能性評価研究

- ② 高分子プロシアニジン類の腸管ホメオダイナミクスによる生活習慣病予防作用の解明に関する研究 97
- ④ 食べるセロトニンの抗肥満作用機構解明とセロトニン高含有農産物の研究開発 102

C. 機能性を持つ農林水産物やその加工品のデータベースの構築及びその加工評価や個人の健康状態に応じた栄養指導システムの開発

- ① 機能性を持つ農林水産物のデータベースの構築及び個人の健康状態に応じた栄養指導システムの開発 107
- ② 中年男性をターゲットとしたテーラーメイド機能性弁当の効果実証及び供給システム開発 117
- ③ ヒト試験による機能性弁当の内臓脂肪面積低減効果検証 123



はじめに

—本プロジェクトの目標、研究計画のなりたち、運営進行管理会議等—

我が国には、多様で豊かな旬の食材を用い、栄養バランスのとれた和食という食文化がある。また、我が国の農作物の品質の良さ、種類・品種の多様さ、安全に関する信頼性は世界屈指の水準と言われ、健康を維持・増進する作用が期待される(健康機能性を持つ)農作物も多くある。

一方、近年の食習慣の変化などにより、メタボリックシンドローム、各種の生活習慣病などの健康上の問題が大きくクローズアップされている。その他、認知機能や精神的ストレスなどについても食品による改善作用があるとされている。しかし、現在、こうしたリスクを抱えた方々のニーズに応じて適切な食品や栄養指導を提供するための知見は十分とは言えない。こうした情勢に対応するため、農林水産省の予算措置により平成25年(2014年)7月に本プロジェクト研究がスタートした。公募により選ばれた課題により、農林水産物や加工食品の持つ機能性をヒトの介入試験や基盤的な研究により科学的に解明することで、我が国の豊かな食材を活かした自然な食生活により健康で豊かな生活を享受出来る社会の構築に貢献する。

1. 健康機能性を持つ農林水産物・加工品の開発
2. 新しい健康機能性の解明、健康機能性の評価手法の開発
3. 食品の健康機能性に関するデータベースの構築と栄養指導システムの開発、個人の健康状態に応じた健康機能性を持つ食品の供給システムの開発

また、このプロジェクトに関係が深い、新たな食品表示法(機能性表示食品制度)が2015年より施行された。本プロジェクトは、将来に向けた食品の機能性に関する基盤的な測定・評価技術を確立し、機能性を持つ農林水産物や加工食品を科学的に評価するモデルを提案することを目的としている。本プロジェクトの成果が、今後新制度のもとで有効に活用されていくことを期待している。

達成目標：

(1)	農林水産物やその加工品を対象として、実際に活用が見込める健康機能の有効性を解明すること。
(2)	(1)の結果を踏まえ、「健康に寄与する農林水産物データベース」を構築公表し、個人の健康状態に合わせた機能性農林水産物・食品の栄養指導システムのモデルを構築すること。
(3)	(1)の結果を踏まえ、機能性を持つ農林水産物及びその加工品が広く消費者に利用されるように、それら食品の個人の健康状態に応じた供給システムを開発すること。
(4)	農林水産物やその加工品を対象として、今後有望と考えられる新たな健康機能性の解明や今までにはない新しい機能性評価法や機能性成分の分析法を開発すること。

機能性農林水産物：農林水産物丸ごとあるいは含有される機能性成分の健康への効果が科学的に認められた農林水産物。

健康の維持・増進に効果があるとされる食品について、食品の1次機能である「栄養機能」、2次機能である美味しさや噛み応えなどの「感覚・嗜好機能」に加え、「生体調節機能」（3次機能）がはじめて注目され、国の最初の大型研究プロジェクトが開始されたのは1984年のことである。当時の東京大学・藤巻正夫教授が、食品の機能性を1から3次機能に分ける概念を初めて提唱され、3次機能の体系的な研究（文部省特定研究「食品機能の系統的解析と展開」）が開始された。その後、文部省（現文部科学省）や農林水産省において脈々と継続されてきた研究も、5年ほど前から一つの大きな転機を迎えたと考えられる。

食品の3次機能の研究は、初期の段階では、農林水産物に含まれる機能性成分の同定や細胞や動物実験によって効果を確認することが主な研究対象であったが、その後、機能性成分の作用機作や代謝吸収、安全性の検証など、機能性成分の機能自体を解明する研究が開始された。また、実際にヒトでの効果を確認するため、観察研究や介入研究も開始され、いくつかの成分ではヒトでの効果が確認された。この間、米国や欧州を中心に、介入研究や大規模なコホート研究が行われ、その結果、従来の5大栄養素以外にも健康の維持・増進に重要な成分の存在が科学的に明らかになってきた。わが国においても、医療関係者に研究成果を説明する際や「トクホ」などの機能性表示の根拠とする際には、国際的なルールに則った方法で行われたヒト試験の結果が必要な状況になった。

●プロジェクトの概要

前項で海外の観察研究の事例を紹介したが、農研機構では、2003年度から浜松市(旧三ヶ日町)と合同で行ってきた栄養疫学調査(「三ヶ日町研究」)で、ウンシュウミカンなどの果物や野菜に含まれるカロテノイド類と健康状態との関連を経時的に調査してきた。また、農産物のヒト介入試験では、アレルギー-鼻炎症状をもつ被験者へのメチル化カテキン高含有緑茶の長期飲用試験例がある。

しかし、これまでの研究ではいくつかの事例はあるものの、ヒトでのエビデンス獲得を含む総合的な検証が不十分であった。このため、農産物や食品に含有される特定の機能性成分が有する生体調節作用に関して、機能性成分の分析、その作用メカニズムの解析とヒトレベルでの有効性の検証や農産物の栽培法の確立などを行う機能性食品開発プロジェクトが実施された。本プロジェクトでは、国立・公立研究機関、大学、民間企業等との連携により、健康上のリスク低減等に効果が期待される農産物やその加工品の開発及びそれらの生産・流通技術の確立を行うとともに、医療機関との連携により、農産物やその加工品について、疾病リスク低減への影響をヒト介入試験にて評価し、栄養・機能性、安全性、特性情報等を盛り込んだ農林水産物データベースを構築して、個人の健康状態に応じたテーラーメイドな提供システム・栄養指導システムの開発を行うことを目的とした。また、組み合わせ食品のヒト介入試験による検証も実施された。

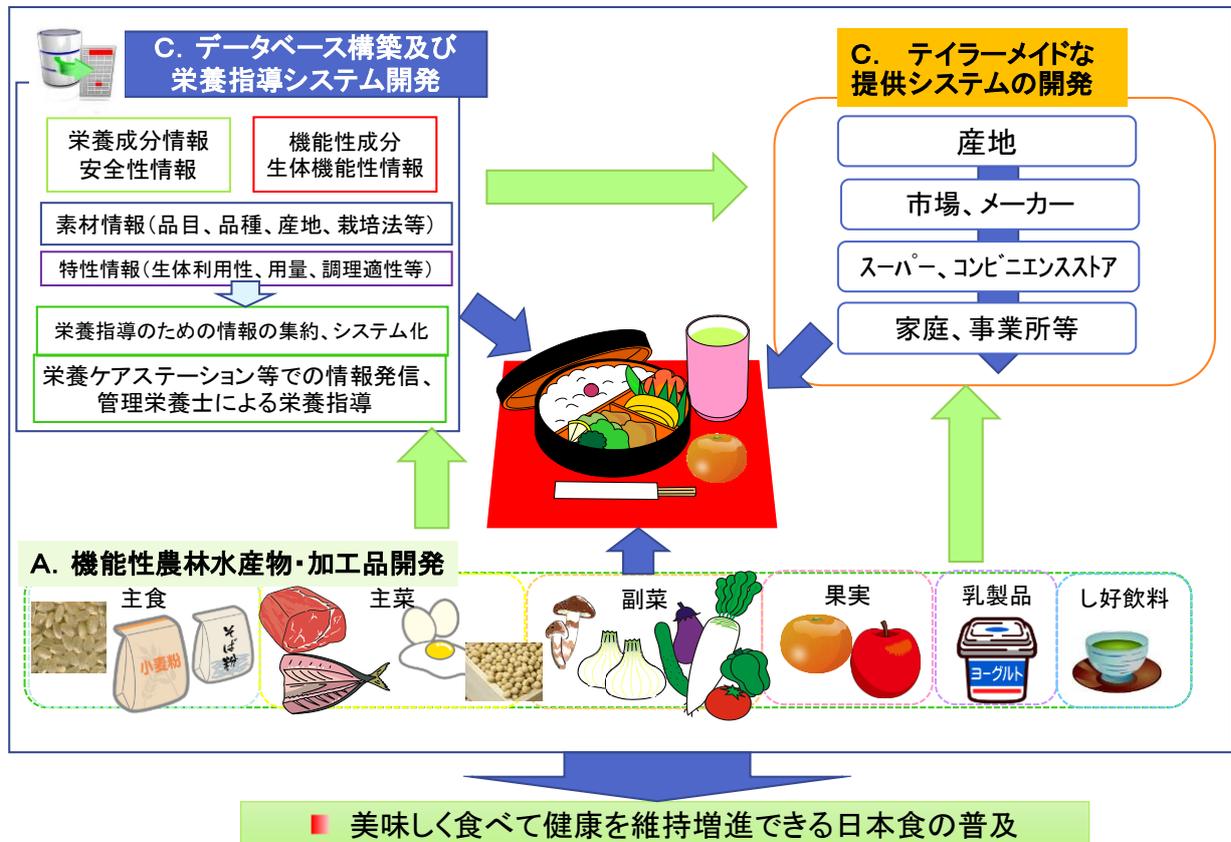
本プロジェクトで、ヒト介入試験を行って健康上のリスク低減等に効果が期待される効果についての検証を行った農林水産物は、急激な血糖値上昇を抑制する高アミロース米、高β-グルカン大麦、小麦全粒粉、表面加工玄米、高テルペノイドゴーヤ、脂質代謝を改善する高リコピン人参、高タンパク大豆、高ルチンダツタンそば、高メチル化カテキン緑茶、肝機能を改善する高β-クリプトキサンチンカンキツ、認知機能を改善する高ケルセチンたまねぎ、睡眠機能を改善する亜鉛・アスタキサンチン高含有牡蠣・鮭である。

ヒト試験の科学的エビデンスについては、近年より厳密に評価される傾向にあり、症例報告や症例対照研究より、コホート研究、さらにランダム化並行群間比較臨床試験（RCT、Randomized Controlled

Trial : 目的物質（機能性成分等）の生体調節効果や安全性を評価するため、研究のために集められた被験者を被検群（目的物質を与えられる群）と対象群（プラセボを与えられる群）に無作為に割り付け、各群同時並行に指定された期間摂取し、結果を比較評価（統計解析）して、目的物質の生体調節効果等を検討する試験）が重視されるとともに、関連する多数の研究を総合的に解析し評価する研究レビュー（メタアナリシス、システマティックレビュー）による検証が求められる。米国をはじめ各国の公的機関が、機能性成分の科学的エビデンスの根拠として採用している NMCD(Natural Medicines Comprehensive Database、ナチュラル・メディスン・データベース)においては、最も厳密な評価である RCT や研究レビューが必須とされている。このような状況を踏まえ、本プロジェクトでのヒト試験は、現時点で最も厳密な方法を採用することとした。すなわち、すべてのヒト介入試験は、UMIN-CTR(University hospital Medical Information Network-Clinical Trials Registry、大学病院医療情報ネットワーク研究センター・臨床試験登録システム) に登録した上、研究結果の取りまとめについては CONSORT2010 声明（Consolidated Standards of Reporting Trials、日本語訳）に準拠することとし、現時点で最も信頼性のある科学的エビデンスを収集することにした。

また、本プロジェクトでは、より厳格な研究マネージメントを実施した。2～3ヶ月おきに運営進行管理会議を開催し、課題担当者、外部有識者ボードメンバー（運営委員会委員）、農水省技術会議事務局関係者（局長、総務官、統括官、調整官等）、進行管理会議メンバー（農研機構研究所の所長等）が一室に会して各課題の進捗について発表、討議し、方向性を確認しながら、研究を進めた。

以下、各課題の研究成果を紹介する。



プロジェクトの出口イメージ

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター

前田英郎、笹原英樹、松下景、長岡一郎

新潟大学農学部 大坪研一、中村澄子

新潟県農業総合研究所食品研究センター 吉井洋一、赤石隆一郎、野呂渉

東京慈恵会医科大学糖尿病・代謝・内分泌内科 宇都宮一典

女子栄養大学栄養クリニック 田中明、蒲池桂子

要約

アミロペクチン長鎖型品種「こなゆきの舞」は、難消化性デンプン(Resistant Starch:RS)を多く含んでおり、食後血糖値上昇抑制効果が期待される。この「こなゆきの舞」精白米無菌包装米飯を用いて3ヶ月のヒト長期投与試験を行い、前糖尿病状態及び内臓脂肪型肥満の病態改善に対する効果を調査した結果、腹囲については有意に減少することが確認された。一日の血糖値の変動幅（最大値引く最小値）についても「こなゆきの舞」試験群では、変動幅が1.5ヶ月の時点において有意に減少しているのが確認されたが3ヶ月では有意差は得られておらず、機能性表示が可能となる項目で明確なエビデンスを得ることはできなかった。試験の中で「こなゆきの舞」無菌包装米飯に含まれるRS含有率は、電子レンジ等の加熱により大きく変動することが示されたため、再加熱後10分及び60分室温保持した米飯のGIを測定し、品種及び再加熱後経過時間がGIに及ぼす影響について比較・解析を行った。試験の結果から「こなゆきの舞」無菌包装米飯は、GI値を低減することが示されたが、その効果を最大限に発揮するためには再加熱後40-60分の時間経過が必要となることが明らかとなった。そのため、事業化においては、レンジ再加熱後40-60分の室温静置が大きな制約となり、商品化は非常に難しいと考えられた。

研究の背景や目的

日本では少子高齢化の加速に伴って生活習慣病が増大しており、医療費の急増が問題となっている。生活習慣病の予防には様々な方策が必要となるが、食生活の改善という観点から画期的な機能性を持つ農林水産物や加工品を開発し、個人の健康状態に対応した体系的な供給システムを開発することも大きな柱の一つとなりうると思われる。一方、コメは日本国民の主食であり摂取するカロリーの4分の1をコメが占めているが、消費量は年々減少して50年前の約半分まで減少しており、コメの消費拡大につながる米加工食品等の開発が求められている。生活習慣病を予防する技術として、主食であるコメで食後血糖値の上昇を抑制する効果をもつ米飯・米加工食品を開発し、糖尿病発症予防効果等を立証することができれば、コメの消費拡大と国民の健康維持・増進への貢献が期待できる。

コメは80%をデンプンで構成されている。コメのデンプンにはアミロースとアミロペクチンの2種類があり、アミロペクチン超長鎖型品種「こなゆきの舞」は、難消化性デンプン(Resistant Starch:RS)を多く含むため、

食後の血糖値上昇抑制効果が期待される。本研究では、「こなゆきの舞」についてヒト介入試験による効果の立証、RS を多く含む加工食品の開発、RS を多く含む米の生産技術開発を行い、機能性表示が可能となる米飯・加工食品の商品化を目指した。

研究の内容と方法

1. 高アミロース米等の利用技術の開発

アミロペクチン長鎖型品種「こなゆきの舞」は、難消化性デンプン(Resistant Starch:RS)多く含んでおり、食後血糖値上昇抑制効果が期待される。しかし、「こなゆきの舞」は食味の低下が長期継続摂取には問題となるため、食味に関する理化学特性評価を行うとともに、米加工技術による食味改善を検討する。また、米粉パン、米粉麺等の開発を行い、食後血糖値上昇を抑制する米加工食品の開発を行うとともに、「こなゆきの舞」栽培技術を開発する。

① 米飯食味の評価及び食味改善技術の開発

「越のかおり」、「こなゆきの舞」原料米の食味に関する理化学特性評価を行うとともに、「味噌浸漬法」及び超高压処理を適用し、米飯物性、呈味成分測定、官能検査及び動物試験を行う。

② 新規加工技術の開発及び加工品の評価

「越のかおり」、「こなゆきの舞」の難消化性デンプンを向上させる米粉麺等の食形態、調理方法を調査する。また、製粉特性を把握し、継続摂取が可能で難消化性の高い米粉加工食品の開発を行う。

③ 高アミロース米等の栽培技術の開発

「越のかおり」、「こなゆきの舞」の難消化性デンプンを向上させ、安定化させる栽培方法を明らかにする。

2. 米飯、米加工品の機能性の医学的解明

生活習慣病の前段階として注目されるのが内臓脂肪型肥満である。内臓脂肪の異常蓄積によってインスリン抵抗性が増すと、食後血糖値が上昇しやすくなる。そこで主食となるコメに食後血糖値上昇を抑制する効果を見出すことが期待される。中でもアミロペクチン長鎖型米は、食後の血糖値上昇を抑える働きが確認されており、突然変異米であるアミロペクチン長鎖型米「こなゆきの舞」について、長期摂取による、安全性及び食後血糖値の改善効果、インスリン抵抗性を惹起する内臓脂肪量の変化について検討する。

① ヒト単回投与試験

被験品：「コシヒカリ」及び「こなゆきの舞」無菌包装米飯

被験者：内臓脂肪肥満者 13 名 (BMI30 以上、内臓 CT スキャンデータ臍位置 100cm²以上)

除外基準：肝腎機能異常、食物アレルギー、医師が不相当と判断した場合

方法：一日目「こなゆきの舞（北陸粉 243 号）」投与、二日目「越のかおり」投与、三日目「コシヒカリ」投与。それぞれ、糖質 100 g 分を投与し、投与前・30 分後・60 分後・120 分後に採血。

② ヒト長期投与試験

UMIN 登録番号：UMIN000015252

被験品：「コシヒカリ」及び「こなゆきの舞」無菌包装米飯 200g 一日一食、3ヶ月間喫食

被験者：40 以上 70 歳以下男性 60 名、内臓 CT スキャンデータ臍位置 100 cm²以上、HbA1c 8.0 %以下

除外基準：肝腎機能異常、食物アレルギー、医師が不相当と判断した場合

方法：試験群には、超硬質米「こなゆきの舞」無菌炊飯ご飯 200 g、コントロール群には、「コシヒカリ」無菌炊飯ご飯 200g を 1 日 1 回 3 ヶ月間食べてもらい、血液及び身体検査を試験前後で行った。また被験者には、自宅を試験前、1.5 ヶ月後、3 ヶ月後の指定された 1 日に自己血糖測定をもらった。1 日の測定は、朝昼夕食のそれぞれ前後計 6 回行ってもらった。内臓脂肪面積の測定は、前と 3 ヶ月後の 2 回とした。試験は、二重盲検、並行群間比較とした。

3. 高アミロース米等の事業化実現に向けた解析

アミロペクチン長鎖型品種「こなゆきの舞」は、難消化性デンプン(Resistant Starch:RS)多く含んでおり、食後血糖値上昇抑制効果が期待される。しかし、「こなゆきの舞」無菌包装米飯に含まれる RS は、レンジ等で再加熱することで含有率が大きく変動し、加熱直後では「コシヒカリ」と大きな差がなく、時間の経過（デンプンが老化する）とともに RS 含有率が上昇することが明らかとなった。「こなゆきの舞」精白米の無菌包装米飯と一般良食味米「コシヒカリ」の無菌包装米飯について、再加熱後 10 分及び 60 分室温保持した米飯の GI を測定し、品種及び再加熱後経過時間が GI に及ぼす影響について比較・解析する。

解析方法は、「こなゆきの舞」精白米の無菌包装米飯と一般良食味米「コシヒカリ」の無菌包装米飯について、再加熱後 10 分及び 60 分室温保持した米飯の GI を測定し、品種及び再加熱後経過時間が GI に及ぼす影響について比較・解析する。被験者は健康成人 10 名（男性 5 名、女性 5 名；20 歳～42 歳）とし、炭水化物 50 g 含む 4 種類の米飯を摂取する単盲検、4 群 4 期クロスオーバー試験を実施した。前夜から絶食した被験者は、摂取前、摂取開始後 15 分、30 分、45 分、60 分、90 分、120 分に、自己血糖測定器を用いて血糖を測定した。測定血糖値から、その変動量、血糖上昇曲線下面積（IAUC）を求め、基準食の IAUC を 100 とした血糖上昇曲線下面積・基準食比（IAUC%）を算出した。摂取後 120 分時点の IAUC%より白米を基準食とした試験食米飯の GI を決定した。統計解析は、血糖値、その変動量、IAUC 及び IAUC %の経時的変化と各測定時点について、摂取食 4 群間の比較（分散分析と多重比較検定）及び基準食と各試験食との 2 群間の比較（分散分析と paired-t 検定）を行った。

基準食：サトウのごはん（コシヒカリ） 再加熱 10 分後 RS 含有率 0.67%

試験食 1：サトウのごはん（コシヒカリ） 再加熱 60 分後 RS 含有率 0.73%

試験食 2：「こなゆきの舞」無菌包装米飯 再加熱 10 分後 RS 含有率 1.84%

試験食 2：「こなゆきの舞」無菌包装米飯 再加熱 60 分後 RS 含有率 4.03%

研究の結果と考察

1. 高アミロース米等の利用技術の開発

ヒト試験のための試料米飯の製造条件を、機能性（ラットによる動物試験）と食味（物理化学的評価）の両面から検討した。無塩味噌添加量 3) と超高压処理条件を検討した結果、最適条件（炊飯時に無塩味噌 0.5% 添加、200 MPa の超高压処理）を選定した。この条件を用いて、ヒト試験に用いる被験食を製造するとともに、工場生産が可能となる製造条件を選定した。しかしながら、「こなゆきの舞」の無菌包装米飯はレンジ等で再加熱することで RS 含有率が大きく変動し、加熱直後では「コシヒカリ」と大きな差がなく、時間の経過（デンプンが老化する）とともに RS 含有率が上昇することが明らかとなった（図 1）。

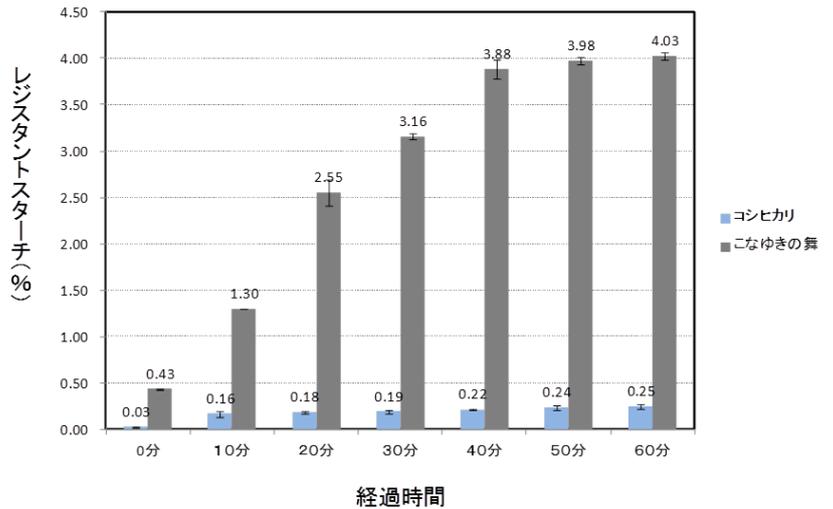
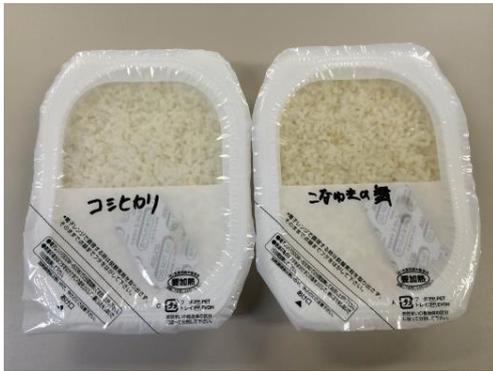


図1 開発した無菌包装米飯と電子レンジ加熱後の難消化性デンプンの経時変化

「こなゆきの舞」の食パンは、窯落ちし「越のかおり」や「コシヒカリ」の食パンに比べ比容積は小さくなった。「こなゆきの舞」米粉で製造した100%米麺は、茹で調理後に「強く冷却」または「常温で長時間保持」することによりRS含有率が増加し、これはDSC（示差走査熱量分析）により澱粉の強い老化性に由来することが示された。この傾向は「越のかおり」では小さく、「コシヒカリ」ではほとんど見られなかったため、従来の米品種にない大きな特徴と考えられた。

「こなゆきの舞」、「越のかおり」及び「コシヒカリ」の米粉を用いて作製したうどん及びフランスパンのGI値について調査を行った結果、フランスパンについては「こなゆきの舞」及び「越のかおり」とも「コシヒカリ」と比較してGI値を抑制する効果が得られたが、うどんについてはGI値低減効果が見られなかった。そのため、同じ米粉でも加工品によって血糖値上昇抑制効果が異なり、「こなゆきの舞」については、パンやラスクなどへの加工が効果的であることが示された（図2）。

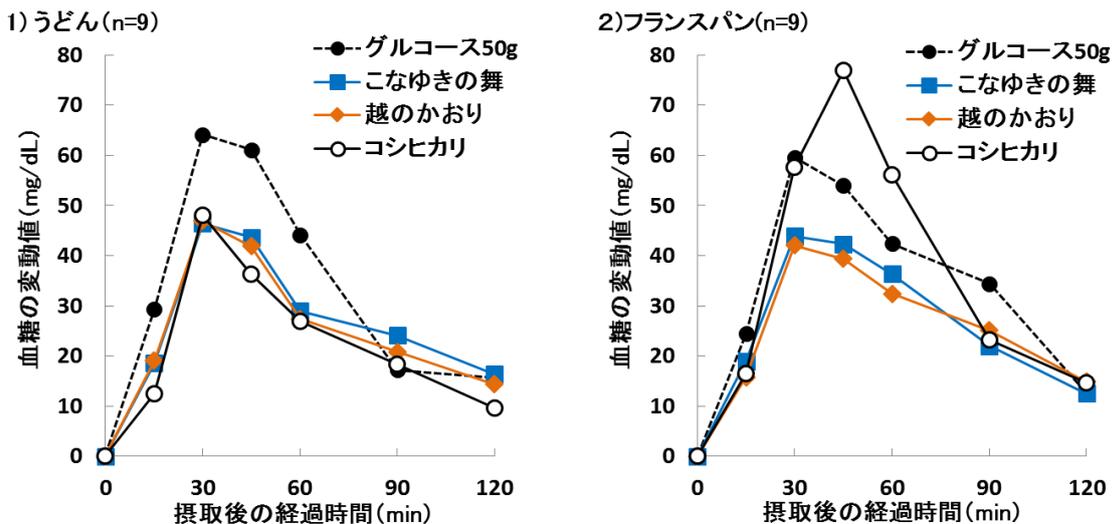


図2 「こなゆきの舞」、「越のかおり」及び「コシヒカリ」の米粉を用いて作製したうどん及びフランスパンの血糖値上昇抑制効果

多肥栽培により「越のかおり」、「こなゆきの舞」とも精玄米重が増加した（表1）。RS含有率は施肥水

準によってやや増加したが、明確な効果を示すものではなかった。RS は栽植時期を移動させることにより大きく変動し、時期を遅らせることで増加することが示された。これらの栽培データを解析した結果、RS 含有率は出穂後 30 日間の平均気温と負の関係にあることが明確に示された。これにより、出穂後 30 日間の平均気温が 25 °C を下回るように栽培することで RS 含有率の高い米を生産できることが明らかとなった。

表 1 異なる栽培条件での各品種の栽培特性と RS 含有率

品種名	栽培条件	移植期 (月・日)	出穂期 (月・日)	稈長 (cm)	精玄米重 (kg/a)	同左 比率	玄米千 粒重(g)	倒伏程度 (0-5)	玄米品質 (1-9)	アミロース 含有率(%)	RS含有 率(%)
こなゆきの舞	標肥・標準種	5.21	7.26	75	55.5	(100)	20.0	0.0	6.0	22.8a	1.67a
	多肥・標準種	5.21	7.26	77	64.8	117	19.7	0.0	6.0	23.0a	1.95b
	標肥・晩種	6.13	8.04	79	52.4	94	21.3	1.0	5.0	24.2a	2.54c
	標肥・極晩種	6.24	8.20	68	42.7	77	19.5	0.0	6.0	27.3b	3.73d
越のかおり	標肥・標準種	5.21	8.01	85	69.5	(100)	23.5	0.5	6.0	32.1a	
	多肥・標準種	5.21	8.03	87	67.7	97	23.5	1.0	7.0	30.9a	
	標肥・晩種	6.13	8.11	82	49.9	72	23.7	0.0	4.5	32.7a	
	標肥・極晩種	6.24	8.25	81	52.6	76	19.5	0.0	3.5	32.5a	
コシヒカリ	標肥・標準種	5.21	8.04	101	68.2	(100)	22.9	5.0	5.0	17.6a	0.36a
	多肥・標準種	5.21	8.06	105	65.5	96	21.8	5.0	5.5	17.5a	0.35a
	標肥・晩種	6.13	8.14	98	56.9	83	22.4	2.0	5.0	18.4b	0.46b
	標肥・極晩種	6.24	8.26	93	60.0	88	22.7	4.0	3.0	21.3c	0.63c

2. 米飯、米加工品の機能性の医学的解明

ヒト単回投与試験において、「こなゆきの舞」及び「越のかおり」は、「コシヒカリ」と比較して摂取 60 分後の血糖値を有意に低下させる効果を示した（図 3）。被験者は試験終了後の体調変化もなく、3ヶ月の長期試験が可能と判断されるものであった。

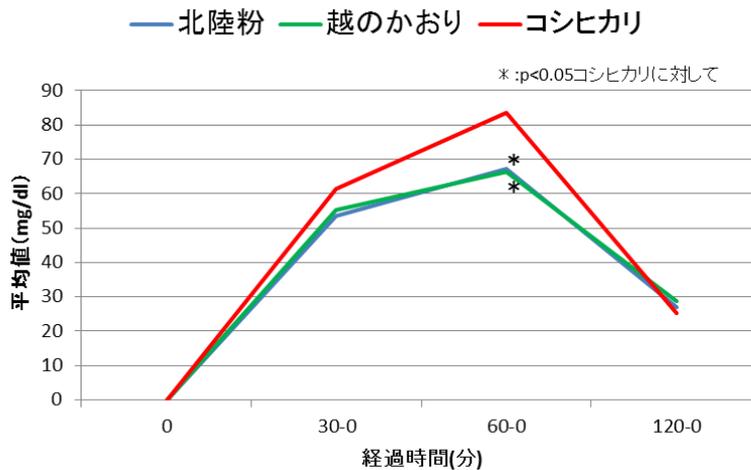


図 3 ヒト単回投与試験における血糖値の推移

3ヶ月の長期試験において、脱落者は交通事故による 1 名のみであった。自己血糖測定においては、HbA1c 6.5 %以下の前糖尿病状態で比較した。1.5ヶ月でコントロール群の変動幅 84 ± 56.9 mg/dl に対して試験群 45 ± 55.4 mg/dl であった。コントロール群に比して試験群で変動幅が少ない点が有意に観察された。自己血糖測定値の変化については、前糖尿病状態の HbA1c 6.5%以上であり、一日 6 回の測定値が示されているヒトを対象にしたところ、コシヒカリ群 22 名、試験米群 19 名となった。この 2 群間での一日の血糖値の変動幅（最大値引く最小値）について検討したところ、1.5ヶ月の時点で、試験米ご

飯を食べている群で変動幅が有意に減少しているのが確認されたが、3ヶ月では有意差は得られなかった（図4）。腹囲についても3ヶ月間の差は、コントロール群 -1.00 ± 3.4 cm, 試験群 -2.61 ± 3.0 cmと有意に減少した。以上、主食として食後血糖値上昇を抑えるアミロペクチン長鎖型米を利用することにより、前糖尿病状態及び内臓脂肪 100 cm^2 以上の内臓脂肪型肥満の病態改善に役立つことが示唆された。

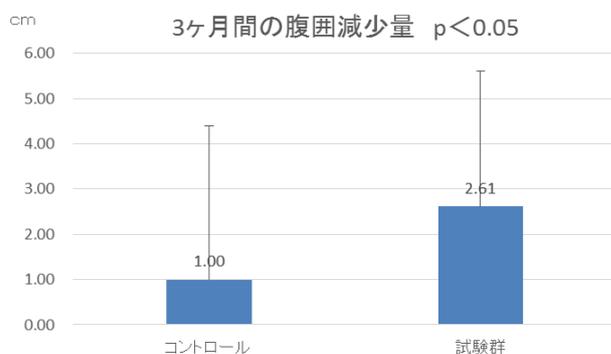
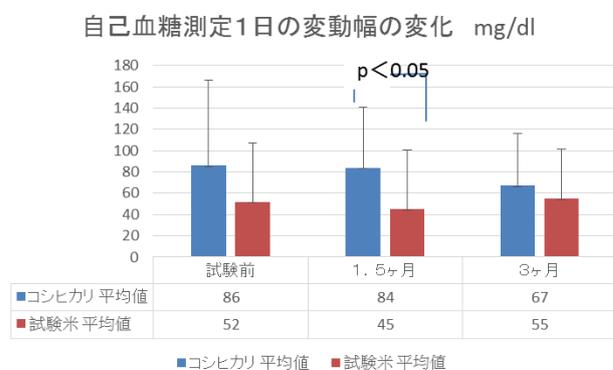


図4 ヒト長期投与試験（3ヶ月）における自己血糖測定1日の変動幅の変化と腹囲減少量

3. 高アミロース米等の事業化実現に向けた解析

サトウのごはん（コシヒカリ）の再加熱後10分及び60分の食後血糖値には有意差はなく、GI値についても差のない結果となった。再加熱後10分の「こなゆきの舞」は食後60分以降の血糖値が低下し、GI値については基準食よりも有意に低下する結果となった。再加熱後60分の「こなゆきの舞」は、血糖上昇のピークとなる食後45分以降急速に血糖値が低下し、GI値についても明確に低下させる効果を示した。以上の結果から、「こなゆきの舞」は食後血糖値を抑制することが示されたが、その効果は食後45分までの血糖値上昇には作用せず、血糖値のピークから元の血糖値に戻るまでの時間を早める効果であることが示唆された（図5）。また、再加熱後10分及び60分後の「こなゆきの舞」は、GI食品分類においてそれぞれ高GI食品と中程度GI食品に分類された（表2）。

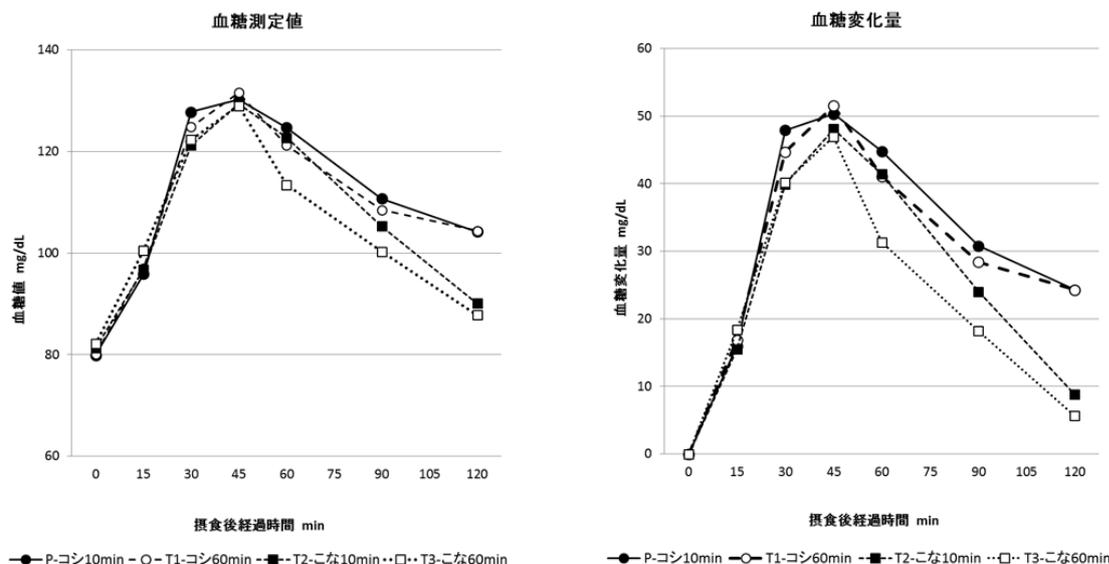


図5 GI値測定試験における血糖値の経時変化と血糖変化量

表2 試験食 1-3 のGIとその食品分類

摂取食品	基準食-P	試験食-T1	試験食-T2	試験食-T3
	P-コシヒカリ10分	T1-コシヒカリ60分	T2-こなゆき10分	T3-こなゆき60分
GI(白米基準) ¹⁾	100	98±38	85±22 [#]	76±29 [*]
GI食品分類 ²⁾	高GI食品	高GI食品	高GI食品	中程度GI食品

1) Paired-t検定。* 0.01<p<0.05, # 0.05<p<0.1,

2) 高GI 83<; 中程度GI 82~65; 低GI <64。

今後の課題・展望

「こなゆきの舞」無菌包装米飯について最適な製造条件を得ることができたが、米飯のRS含有率については、加熱後の経時変動が大きいことが明らかとなっており、RS含有率が4%程度に回復するまで40分~50分程度の時間を要することから、実用化に際しては大きな問題となる。米粉加工食品については、うどんでは「こなゆきの舞」の効果は得られず、フランスパンでは一定の効果が見られた。また、パン粉へ加工した場合には吸油率が低下する結果が得られてはいるが、商品化までには至っていない。

ヒト単回投与試験においては、60分後の血糖値が「コシヒカリ」と比較して有意に低下させる効果を示したが、3ヶ月の長期試験で有意な結果が得られたのは「腹囲」の減少だけであり、内臓脂肪量などについては有意差が得られていない。コメの長期投与試験に関しては、副食の影響も考える必要があり、「コシヒカリ」と「こなゆきの舞」の食味の違いにより、選ばれる副食の調理法や食材、油脂・タンパク質などの栄養成分に偏りが生じ、コメによる効果に影響したことも考えられる。機能性表示が可能となるエビデンスを得るためには、試験米と副食をセットにした長期試験についても検討を行う必要がある。

以上の結果から「こなゆきの舞」無菌包装米飯は、ヒト長期試験において腹囲が有意に減少する結果が得られたが、機能性食品表示が可能となる項目については明確なエビデンスを得ることができていない。単回投与試験においては「こなゆきの舞」はGI値を低減することが示されたが、その効果を最大限に発揮するためには再加熱後40-60分の時間経過が必要となり、商品化は非常に難しいと考えられる。

研究成果一覧（論文、特許、商品）

論文

- 1) Satoshi Maeda *et al.* Improvement of palatability and prevention of abrupt increases in postprandial blood glucose levels by Hokurikukona243 after high pressure treatment, *J. Applied Glycoscience*, 62, 127-134, 2015.
- 2) Sumiko Nakamura *et al.* Development of formulae for estimating amylose content, amylopectin chain length distribution, and resistant starch content based on the iodine absorption curve of rice starch. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 79(3), 443-455, 2015.
- 3) Sumiko Nakamura *et al.* Improvement in Palatability and Bio-functionality of Super-hard Rice by Soaking in Barley-koji Miso Suspension, *Biosci, Biotechnol, Biochem.* 77(12), 2419-2429, 2013.
- 4) Wataru Noro *et al.* Prevention of Abrupt Increases in Postprandial Blood Glucose Levels by Rice Bread Made with the Novel Rice Cultivar "Konayukinomai". *Food Sci. Technol. Res.*, 22(6), 793-799, 2016.

特許

- 1) 難消化性澱粉の多い米飯及びその製造方法：特開 2015-55549(特願 2013-188951)
- 2) ヨード比色分光測定によるコメ澱粉特性の評価方法：特願 2015-166817

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究所（現 次世代作物開発研究センター）・柳澤貴司・青木恵美子・平 将人金子成延・一ノ瀬靖則・神山紀子
同・近畿中国四国農業研究センター（現 西日本農業研究センター）・吉岡藤治・高橋飛鳥
野方洋一・阿部大吾・小前幸三
大妻女子大学・家政学部・青江誠一郎
済生会横浜市東部病院・藤谷朝実
日清製粉グループ本社・福留真一・横塚章治・菊池洋介
みたけ食品工業・土屋紀之・関根詳吾

要約

水溶性食物繊維であるβ-グルカンを高含有する大麦品種や小麦全粒粉を用いた食品でヒト介入試験結果による機能性を検証したところ、大麦を使った食品でβ-グルカン含有量が増えるほどGlycemic Index(GI)が下がり、もち性大麦品種「キラリモチ」入りの麦ご飯や小麦全粒粉パンを用いて内臓脂肪面積が低下するという成果を得ることができた。

研究の背景や目的

日本では食の欧米化による生活習慣病（糖尿病、高血圧、脂質異常症）の増加が社会問題になっている。特に、糖尿病患者数はこの半世紀で 50 倍に増加し、予備群を含めて 2,200 万人に達している。そこで、本課題では医・食・農分野の連携の下に食物繊維が豊富な高 β-グルカン品種である「ビューファイバー」（うるち性）（塔野岡ら 2011）、「キラリモチ」（もち性）（Yanagisawa *et al.*, 2011）及び小麦全粒粉を用いて、メタボリックシンドロームを予防する低 GI 食品の開発と効能評価を行い、国民の健康の維持増進につなげると共に、大麦、小麦全粒粉の普及拡大を図る。

研究の内容・方法・結果

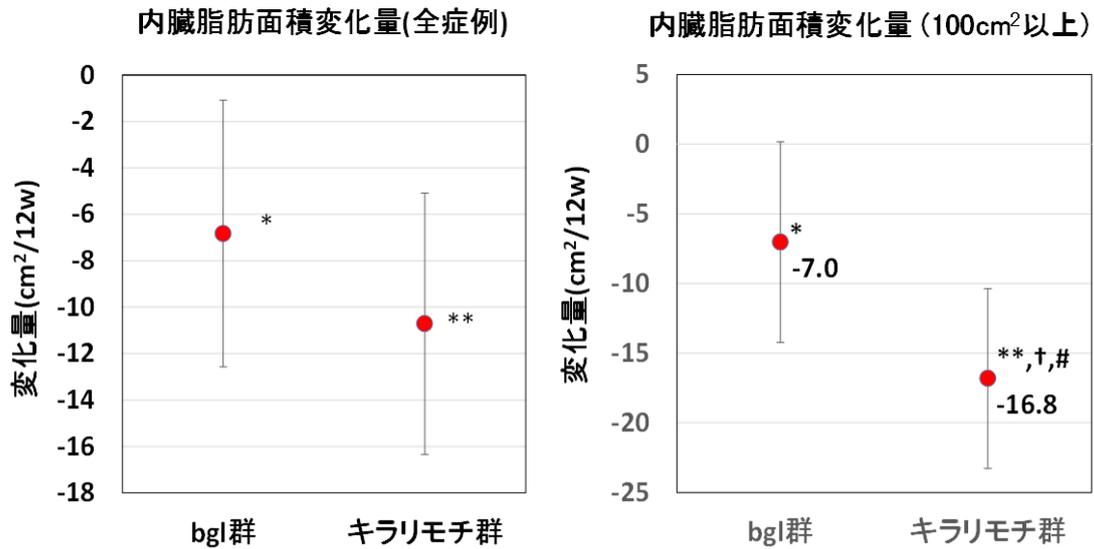
1. ヒト介入試験

1) 麦ご飯を用いた長期摂取試験

男性 85 cm 以上、女性 90 cm 以上の腹囲を持つ 100 名を 2 群に分け、試験食として「キラリモチ」米粒麦 50%入りの麦ご飯、対照食に β-グルカンを含まない大麦(bgl)の精麦を混ぜた麦ご飯を用いた二重盲検比較試験で実施した。米粒麦とは文字通り大麦を米粒のような大きさまで精麦加工したものである。

1 日 2 食 12 週間毎日摂取することで、試験食では開始前後で有意に内臓脂肪面積が低下した。また内臓脂肪面積が 100 cm² を超える被験者間では試験食と対照食の試験群間で有意差があった（図 1）。このことより大麦の β-グルカンが内臓脂肪面積を低下させることを実証できたことになる。体重、BMI、

腹囲も同様の結果であった（青江ら 2015）。



数値は平均値±95%信頼区間を表す
 *前値に比べて有意に低下(p<0.05)
 **前値に比べて有意に低下(p<0.001)
 †bgl群とキラリモチ群間に有意差あり(p<0.05)
 #経時変化のパターン(交互作用)に有意差あり(p<0.05)

図1 内臓脂肪面積の変化量 (左)全症例 (右)試験前100cm²以上

2) 小麦全粒粉を用いたヒト介入試験の概要

小麦全粒粉 100%配合パンと小麦粉 100%配合パンのGI試験及び長期試験の結果を紹介する。GI測定は、健常男性 10 名及び健常女性 9 名を対象として試験食を小麦粉パン及び小麦全粒粉パンとした。各試験食の間に 1 週間のウォッシュアウト期間を挟んだ単盲検交差試験とした。血糖値の測定には自己検査用グルコース測定器を用い、GI 値、各人の最大血糖上昇値、各時間での血糖上昇値、血糖値上昇曲線下面積値を調べた結果小麦粉パン、小麦全粒粉パンの GI 値は小麦全粒粉パンの方が有意に低かった。小麦粉パンに対し、全粒粉パンの血糖上昇値及び食後 45 分での血糖上昇値は有意に低く、血糖値上昇曲線下面積値は有意に小さかった（野崎ら 2016）。長期試験の概要は以下の通りである。BMI が 23 以上の健常者 50 名を小麦全粒粉配合パン（被験食）と小麦粉配合パン（対照食）の 2 群に分け、プラセボ対照無作為化二重盲検群間比較試験にて、12 週間の介入試験を実施した。その結果、小麦全粒粉配合パン摂取群は、内臓脂肪面積が有意に減少し、血清中性脂肪濃度も減少傾向であった（図 2）。小麦粉配合パン摂取群は、これらの指標に変化がみられなかった（菊池ら 2016）。

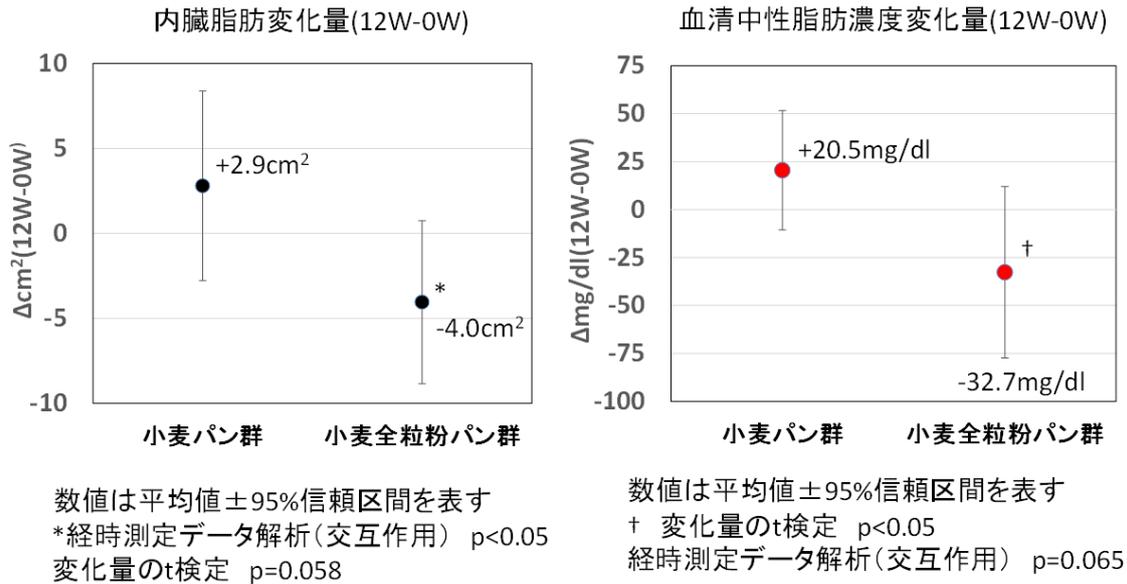


図2 内臓脂肪面積（左）及び血清中性脂肪濃度（右）の変化

3) 麦ご飯、大麦入りパンなどの大麦食品を用いた単回摂取試験による GI 測定

GI(Glycemic Index)値はその食品が体内で糖に変わり血糖値が上昇するスピードを計ったものである。試験には、同一ロットの包装した白米を基準食として、試験食は「キラモチ」米粒麦が 30, 50, 100 % 配合している麦ご飯を用いた。GI 値、各人の最大血糖上昇値、各時間での血糖上昇値、血糖値上昇曲線下面積値を調べた。この試験では対照食を白米とした。

また以下の試験は対照食としてブドウ糖（グルコース）50g 溶液を使用した。ビューファイバー（低粒度）粉 30%食パンとビューファイバー（高粒度）粉 30%食パンの GI 測定を行い、大麦粉の粒度の違いが GI に及ぼす影響を明らかにする。同様にビューファイバー-超高β-グルカン大麦粉 15%食パン、超高β-グルカン大麦粉 30%食パンの GI 測定を行い、超高β-グルカン大麦粉の配合が GI に及ぼす影響を明らかにする。さらにビューファイバー（低粒度）粉 30%うどんを試作し、嗜好性の高い麺を用いて GI 測定を行う。これらの GI 値の結果をグルコース基準に換算してまとめて図 3 に示す。最も低い GI は、100%大麦ご飯で、次いで超高β-グルカン大麦 30%配合パン、30%大麦うどん、超高β-グルカン大麦 30%配合パン、超高β-グルカン大麦 15%配合パン、うどん（小麦）、50%大麦ご飯であった。いずれも大麦の配合で GI 値が低下し、β-グルカン含量が多いほど GI 値が下がることが実証された。

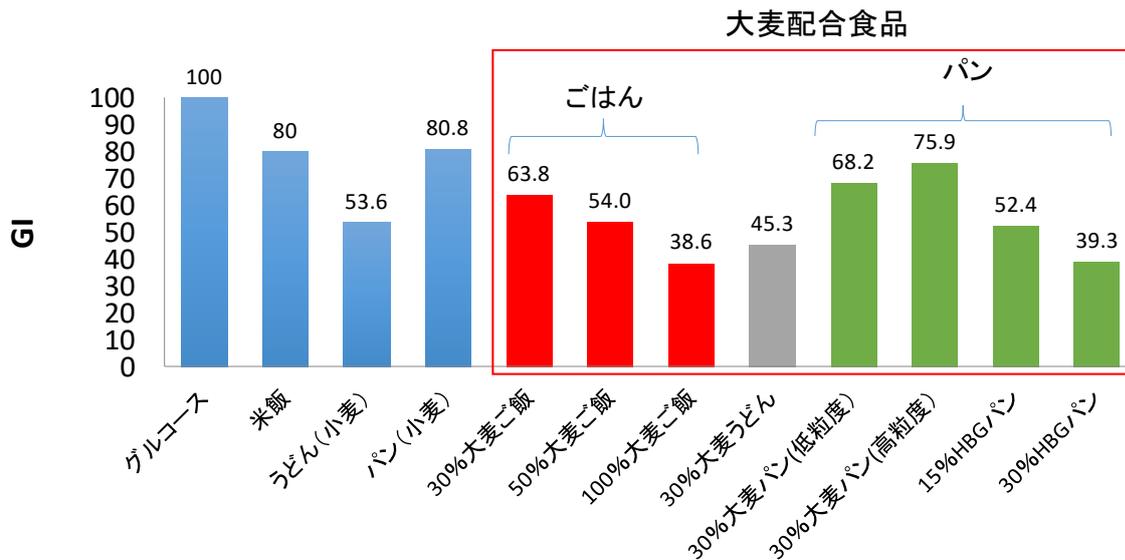


図3. 大麦配合食品 GI値一覧

4) CGMを用いた「キラリモチ」米粒麦50%入りの麦ご飯を使った血糖上昇抑制効果

CGM (Continuous Glucose Monitor) とは持続血糖測定システムであり、一定の間隔で継続的に血糖値を測定できる機器である。健常人 18 人を被験者として検証を開始した。検証期間は 4 日間で調査日 1 日目は自由食とし、CGM は一日目夕方挿入し、その日の夕食は 21 時までには摂取することとし、それ以降は糖質を含まない水分以外の摂取を中止した。調査日 2 日目は白米と副菜、3 日目は麦ご飯と副菜を摂取し、副食は調査日 2 日とも同じ内容・量とした。また、提供食以外の摂取を禁止した。ただし、糖質を含まない水分の摂取は自由とした。就寝前、朝食前、朝食後 30、60、120、180 分に自己血糖測定を実施した。血糖推移の結果から、「キラリモチ」米粒麦 50%入りの麦ご飯を主食とした場合、平均 6% の血糖低下がみられた。また、CGM では、最大血糖値、平均血糖値を 3%低下させていたが、最小血糖値は 6%上昇させていた。また、血糖日内変動幅を示す標準偏差は「キラリモチ」米粒麦入り 50%入り麦ご飯に対して白米が有意に高かった。このことから健常人 4 人での中間評価においては、「キラリモチ」米粒麦 50%入りの麦ご飯は白米に比べて食後高血糖を抑制するとともに最低血糖値を上昇させ、日内血糖変動を低下させることがわかった。「キラリモチ」米粒麦 50%入り麦ご飯の摂取は血糖値の上昇抑制だけでなく血糖値の低下も抑制し、食事による日内血糖変動の幅を減少させることが示唆された(図4)。

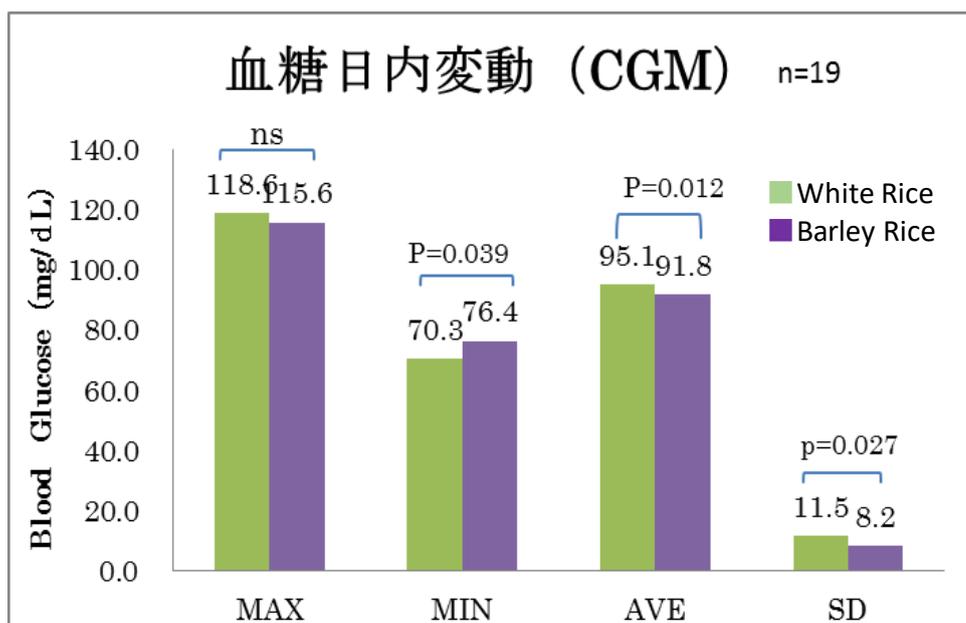


図4. 血糖推移

5) 大麦粉パンの種類によるGI値の違い

パンの種類の違いによるGI値の違いを調べるために以下の実験を実施した。パンに混合した大麦粉は「ビューファイバー」60%搗精粉を使用し、30%大麦配合食パン（食パン）、30%大麦配合バターロール（ロールパン）、30%大麦配合フランスパン（フランスパン）、30%大麦配合ドイツパン（ドイツパン）はリテールベーカーで試験用として加工した。全てのパンは焼成後に冷凍し、-20℃に維持した冷凍庫で水分が抜けないように二重包装保管し、使用時に都度自然解凍して用いた。基準の米飯を100として大麦パンのGI値はドイツパン(102)>フランスパン(88)>ロールパン(85)>食パン(77)の順に低くなり、食パンが最も低値であった。食パンは、小麦全粒粉50%入り食パンや小麦食パンに比べて、最大血糖変動値を30%有意に低下させ、そこに到達する時間も延長する傾向が見られた。しかし、同じ割合で「ビューファイバー」を配合したフランスパンやドイツパンではこういった効果はみられず、パン調製の際に添加される副材料について今後検討する必要があると考えられた。（藤谷ら 2015）

6) β-グルカン含量の異なる配合したパンの単回摂取試験

β-グルカンを多く含有する大麦粉を配合したパンについて、健康な成人を対象としてGIを測定するとともに、大麦粉の粒度及びβ-グルカン配合率によって食後血糖がどのように変化するかを調べた。試験食に用いた大麦パンは、高β-グルカン品種である「ビューファイバー」を低粒度及び高粒度に調製したもの、「ビューファイバー」の粉を分級して調製したβ-グルカンを15%以上含有する超高β-グルカン大麦粉を15%及び30%配合したものの4種類である。その結果、最も低GIは、超高β-グルカン大麦30%配合パンであった。大麦の配合でGI値が低下することが実証されてβ-グルカンを多く含む食品ほど、糖質の消化吸収が抑えられ急激な血糖上昇を抑制できると考えられた。

2. 試験食品の喫食調査

試験食として用いた麦ご飯や大麦粉パンについて健康機能性に優れるだけでなく、継続的に喫食するため

に必要なのはおいしく、楽しく食べ続けられることが重要であり試験食の喫食調査を実施した。

1) 麦ご飯の喫食調査

「キラリモチ」米粒麦 50%入りの麦ご飯の喫食調査

「キラリモチ」米粒麦 50%を使用した献立を作成し、市民公開講座に集まった地域住民の希望者に無料で試食してもらい、「キラリモチ」の麦ご飯、市販の押し麦ご飯、白米についてそれぞれの嗜好についてアンケート調査を行った（図5）。アンケート回収できた32名の内、72%は毎日、19%は一週間に一回程度摂取できると答えており、麦ご飯のそれぞれ58%、25%の評価に比べて好まれる傾向がみられた。押し麦の麦ご飯を摂取した経験がある人でも約70%の人が、「キラリモチ」米粒麦 50%入りの麦ご飯であれば毎日摂取してもよいという回答であった。「キラリモチ」の麦ご飯は嗜好性が高く、継続的に摂取することが可能と評価する方が多かった。

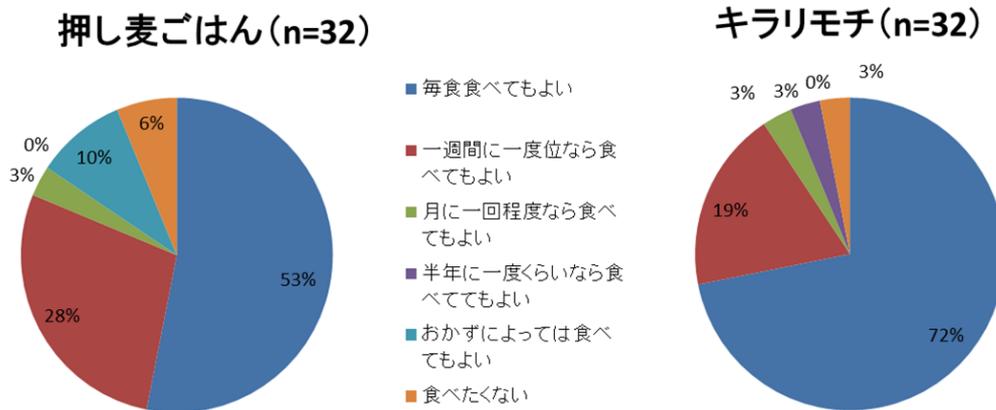


図5. アンケートの結果

2) 大麦パンの喫食調査

大麦パンについては、その嗜好性においてはロールパンが年齢に関わりなく好まれた。大麦パンの色や香り、硬さ、弾力、味といったそれぞれの項目に対する評価は、年齢によって異なる傾向が見られたが、ロールパンは年齢に関係なく高い評価となった。病院給食として有用性が示されたのは、大麦食パンであったが、より好まれるものは卵やバターを含むロールパンで、パンの種類によって大麦パンに対する患者の受容が異なってくる可能性が示唆された（藤谷ら 2015）。

3) 小麦全粒粉配合食品の開発

小麦全粒粉パンをおいしく継続的に摂取できるレシピを開発した。小麦全粒粉配合パンに、糖類や油脂などを適切に配合することで、食パン、コッペパン、ハードロールでも良好な風味、食味となることを確認した。また、小麦全粒粉を配合したうどんやラーメン等の麺類についても、良好な風味、食味となる配合を設計した。小麦全粒粉配合パンについては、肉や魚、野菜等を用いて、美味しく栄養にも配慮したサンドウィッチレシピを約20種類作成した。

3. β-グルカンの質的・量的な変動について

健康機能性に関与する成分である β-グルカンの変動に関する成果の概要を紹介する。農作物である大麦の成分は年次や環境による変動は当然あるが、商品として流通する場合は β-グルカン含量の担保は重要な課題と考えられる。栽培大麦食品・小麦全粒粉食品どちらも機能性が実証された内臓脂肪面積が低下した結果を用いて商品開発につなげる必要がある。栽培面において、「キラリモチ」の施肥試験によると出穂期以降に施用する実肥により、年次に関わらず原麦 β-グルカン含量が高くなることがわかった。加工品質面では、ビューファイバーの大麦搗精粉を用いた試験で 30%加水・30℃で加温で攪拌すると、β-グルカンの低分子量化が認められた。ビューファイバー大麥搗精粉を 30%配合したパンや麺の分子量分布は、大きな変化は見られなかった。またビューファイバー原麦の焙煎処理では品温が 150℃程度の焙煎では β-グルカン含量がほぼ保たれることを示した。

今後の課題・展望

「ビューファイバー」「キラリモチ」等の高β-グルカン大麦品種が国内で作付けを拡大するのに必要なのは企業の要望や生産者の作付け意欲に応じた種子の供給体制であり、それを構築するには研究勢力だけでなく多方面の継続的な協力と意欲の持続が最も大切である。

研究面では、生産現場におけるβ-グルカン含量の変動要因について解析する必要がある。機能性表示を考えた場合、機能性関与成分の含量を保証する観点から重要な課題である。加工面では量的な変動だけでなく、分子量分布などの質的な変動を詳細に解析する必要がある。食品開発の点からは大麦食品・小麦全粒粉食品どちらも機能性が実証された内臓脂肪面積が低下する結果を用いて商品開発につながることを期待する。

大麦では特にもち性大麦が健康に良いという認識は広がり、コンビニエンスストアでも、もち性大麦を用いたおにぎりやもち麦粉入りの菓子パンが売られるようになった。一般的にもち性大麦品種はうるち性的大麦品種に比べてβ-グルカン含量が高くなり、炊飯後の粘りが増し食味が上がり、違和感を持たずにおいしく食べられる。また「ビューファイバー」を用いた菓子やシリアルも市販されており、大麦食品の今後の需要拡大が非常に期待できる。同様に小麦の全粒粉を使ったパンを多く見かけるようになった。

今回のプロジェクトの研究成果を通じて健康機能性に優れるという科学的な証拠が得られたが、もちろん「薬」のような即効性はなく、継続的に「おいしく」、「楽しく」食べ続けてもらえるように努力したい。

研究成果一覧（論文、特許、商品）

青江誠一郎ら（2015）肥満研究, 21(suppl.) 91.

藤谷朝実ら（2015）愛国学園短大紀要, 33: 19-32.

菊池洋介ら（2016）日本食品科学工学会大会 第 63 回大会講演集, 122.

野崎聡美ら（2016）第 70 回日本栄養・食糧学会大会 講演要旨集, 222.

塔野岡卓司ら（2011）育種学研究, 13: 74-79.

Yanagisawa, T. et al. (2011) Breeding Science 61: 307-310.

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門 岡留博司、河合崇行
筑波大学 橋本幸一、茨城県農業総合センター 岡野克紀
大和産業株式会社 星野徹、大阪医科大学 花房俊昭

要約

本研究では、農研機構で開発した表面加工玄米（玄米表面に僅かに創傷を形成。精米歩留まりで99.8%程度）の提供システムの開発とヒト介入試験による機能性解明を実施した。供試材料には代表的な品種であるコシヒカリ玄米を用いた。表面加工玄米の製造装置開発では、AIB（American Institute of Baking）受審施設内に設置可能な生産性の高い装置開発に成功し、技術移転まで完了した。表面加工玄米の特徴については、1) 貯蔵性が玄米に類似、2) 吸水が玄米よりも速い、3) 良食味を維持できる適性加水量（1.7～2.0 倍程度）、4) 炊飯条件で食後血糖値のパターンが変動、5) おにぎり等への成形性が玄米と異なる、6) 冷凍した場合、解凍条件で澱粉の糊化度が異なる、7) 咀嚼性が玄米と類似、8) 近赤外によるGI値予測精度向上、等に関する知見を得た。栽培中の窒素施肥の影響については、食味を維持できる玄米タンパク含量の上限値が7%程度であることを明らかにした。ヒト介入試験のうち、40-64歳の前糖尿病患者を対象とした12週間のランダム化並行群間比較試験では、表面加工玄米群で開始6週後及び12週後の体重と腹囲が介入前に比べて有意に減少した。一方、白米群では期間を通して体重、腹囲はほとんど変動せず、変化量の群間差も顕著であった。事業化に関しては、安定供給するための生産ラインを構築し、試験販売においては2015年度が150トン、2016年度は180トンに達した。

研究の背景や目的

玄米は白米よりも一次機能（栄養機能）と三次機能（生体調節機能）が優れるが、二次機能（嗜好性）がやや劣る。このため、本研究では、農研機構で開発した表面加工技術により玄米表面に僅かに創傷を形成させた表面加工玄米（略称：加工玄米）等を対象に様々な調理加工や流通過程における炊飯米の栄養成分、嗜好性や消化性等の変動解析を行い、一×二×三次＝六次機能が向上した表面加工玄米及びその加工品の提供システムの開発を目的とする。

研究の内容と方法

1. 表面加工玄米及びその加工品の提供システムの開発

小麦用に開発した装置を改良しながら、処理能力向上やAIB受審施設への技術移転に向けた表面加工玄米製造装置の試作を行うとともに表面加工玄米の貯蔵試験を実施した。また炊飯工場等で必要な情報提供に向け、炊飯条件による表面加工玄米の食味や機械成形性の相違等を検討した。供試材料には茨城県産コシヒカリを用いて、他課題への試料提供を行った。

2. 表面加工玄米等の六次機能解明

加工・流通条件等による表面加工玄米の澱粉の老化性、微量成分、咀嚼性等の変動解析を行うとともに近赤外による非侵襲 GI 測定法の精度向上を試みた。

3. 表面加工玄米のヒト介入試験による有効性の検討

まず、表面加工玄米の継続摂取可能期間や食べやすさを確認する必要があった。そこで、表面加工玄米の継続率検討試験（UMIN000014276）として、40-64 歳の健常人を対象とし、表面加工玄米と玄米を検査食とした各期 4 週間の探索的な 2 期 2 群ランダム化クロスオーバー試験を実施した。続いて、表面加工玄米の継続摂取が肥満度や糖・脂質代謝指標の変化に及ぼす影響を白米と比較して検討するため、40-64 歳の前糖尿病患者を対象とした 12 週間のランダム化 2 群並行群間比較試験（UMIN000016293）を実施した。さらに、機能性成分含量との関連もあわせて検討するため、40-70 歳の肥満者を対象とし、検査食を表面加工玄米、七分搗き米、白米とした 12 週間のランダム化 3 群並行群間比較試験（UMIN000018037）を実施した。

4. 表面加工に適する玄米品質制御技術の開発

表面加工に適する玄米の特性は不明のため、幼穂形成期以降の追肥時期及び追肥量を変えた栽培試験（慣行栽培を含め 4 水準の試験区）を行い、収量調査、玄米の品質評価並びに炊飯米での食味官能評価を 2 年間実施した。

5. 表面加工玄米の業務用製造技術の開発及び事業化実現

多様な水稻品種に適用可能で生産性が高い玄米用の表面加工装置の開発を行った。また AIB 受審施設に設置するために装置を改良しながら、業務用表面加工玄米製造システムの開発を行った。さらにヒト介入試験用サンプル(茨城県産コシヒカリ)を提供するとともに食品製造・加工業者への提供や試験販売を行った。

研究の結果と考察

1. 表面加工玄米及びその加工品の提供システムの開発

表面加工玄米製造装置の開発では生産能力を毎時 200kg(当初の 5 倍以上)以上まで高めることに成功した(図 1-1)。また AIB 受審施設内では装置の分解清掃が毎月行われるが、試作機では粉だまりの問題が発生したため、約 1 時間で分解・清掃から再稼働までを行えるように装置の改良を行った。



図 1-1 試作した表面加工玄米製造装置

貯蔵特性については、玄米及び表面加工玄米のヘキサナールは常温貯蔵では増加したが、脱酸素剤を使用した場合には、ヘキサナールがほとんど増加せず、脱酸素剤によって脂質酸化が抑制さ

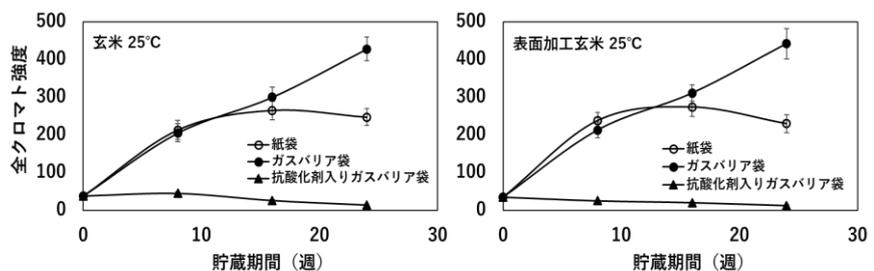


図 1-2 貯蔵したときのヘキサナールの変化

れていることが示唆された (図 1-2)。

表面加工玄米の炊飯特性に関しては、玄米よりも吸水が速く、食味を維持できる適性加水量が 1.7～2.0 倍であることを明らかにした (図 1-3、図 1-4)。炊飯時の物性の比較では、表面加工玄米は加水量を制御することによって白米と同程度の硬さに調整しやすいことが示唆された (図 1-5)。また機械成形によるおにぎりの重量変動については、白米、七分搗き米及び表面加工玄米は加水に伴って重量が増加傾向を示したが、玄米では重量変動が小さく、表面加工玄米は玄米とは異なる機械成形性を示した (図 1-6)。炊飯条件が澱粉の消化性及び食後血糖値に及ぼす影響を解析した結果、加水量を抑え、白米コースで炊飯することが消化及び血糖値上昇の遅延に有効であることが示された (図 1-7)。

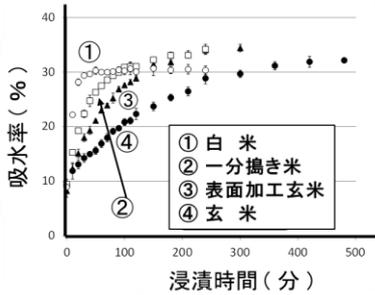


図 1-3 米粒の吸水挙動

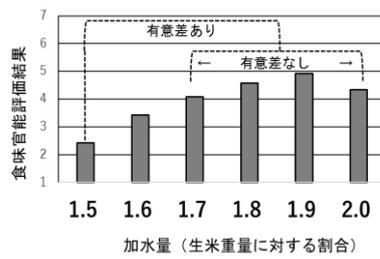


図 1-4 表面加工玄米の食味評価

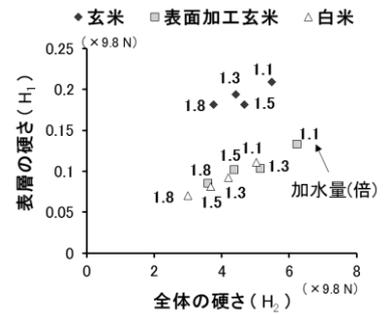


図 1-5 加水による米飯粒の硬さの変動

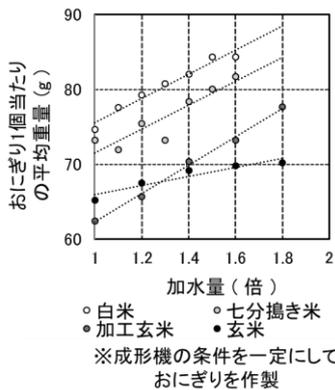


図 1-6 機械成形性の比較

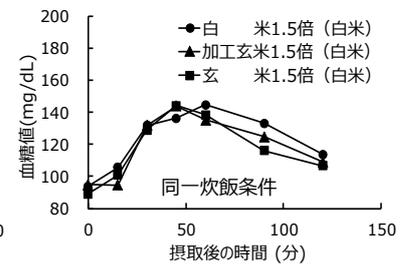
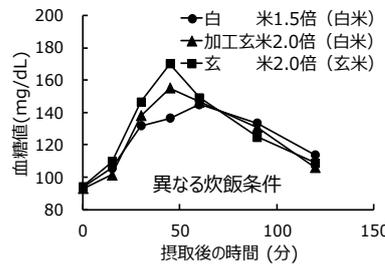


図 1-7 炊飯米の食後血糖値の推移

2. 表面加工玄米等の六次機能解明

表面加工玄米の澱粉特性として、長期冷凍保存(マイナス20℃)による澱粉の老化性を評価したところ、炊飯米の糊化度は保存期間よりも解凍方法で異なることを明らかにした (図 2-1)。

微量栄養成分の挙動解明では、マグネシウム・カルシウム・亜鉛・マンガン・鉄・銅の含有量について、表面加工玄米は玄米とでは有意な差は認められなかった (図 2-2)。またアミノ酸含有量についても顕著な差は認められず、いずれも

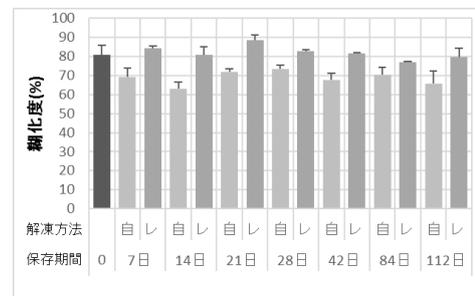


図 2-1 冷凍解凍条件による糊化度の変化

自：自然解凍、レ：レンジ解凍

アミノ酸スコアは 82 であった (図 2-3)。これらのことから、表面加工による微量栄養成分含有量への影響は小さいと考えられる。また表面加工玄米、七分搗き米、白米のレトルトパック米飯に含まれる機能性成分を測定したところ、七分搗き米と白米の不溶性食物繊維は表面加工玄米の半分程度まで減少した (図 2-4)。またオリザノールは表面加工玄米の 1 割以下まで減少し、総フェルラ酸は 4 分の 1 程度まで減少した。

白米の標準的な炊飯法 (加水:1.5 倍、白米モード) で、白米、表面加工玄米、玄米から飯を調製し筋電位を測定した結果、表面加工玄米は白米と玄米の中間の特性値を示したが、玄米により近く、表面加工玄米と玄米との間には有意な差異が認められなかった (図 2-5)。

手のひらや指での近赤外拡散反射スペクトルから血糖値を推定し、GI 値を求める際の負担を軽減する方法を検討し、2 時間の糖質負荷試験において血糖値と連動する最適波長の存在を明らかにした。この波長は糖質負荷試験の 2 時間のうち変動し難いため、7 回の採血のうち 2 回を非侵襲的な近赤外法で置き換えても採血法 (SMBG) による GI 試験と遜色ない結果が得られた (図 2-6)。

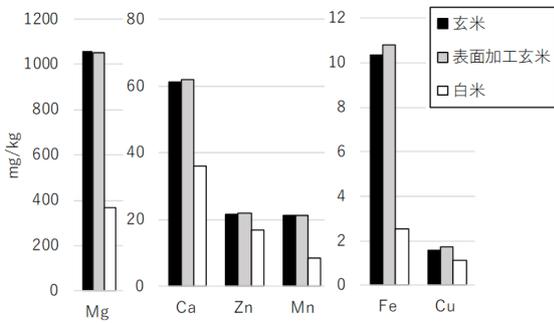


図 2-2 ミネラル成分の比較

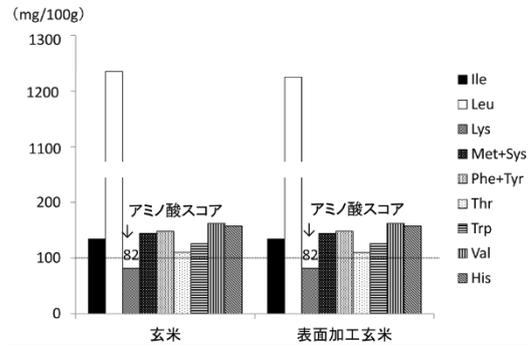


図 2-3 アミノ酸含量の比較

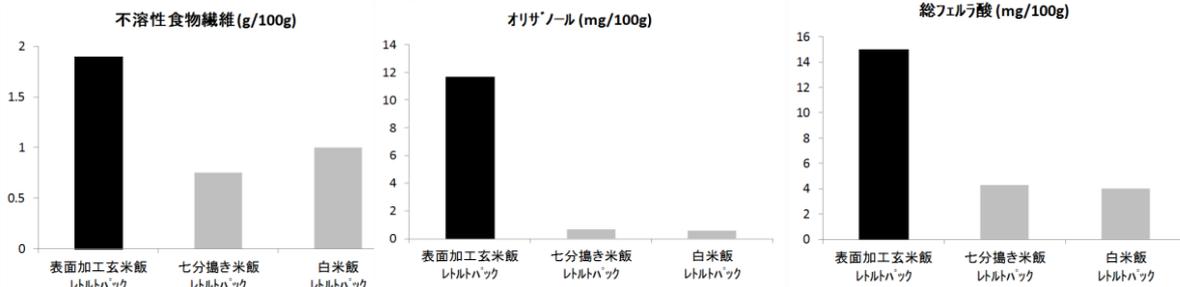


図 2-4 ヒト介入試験用レトルトパック米飯に含まれる機能性成分の比較

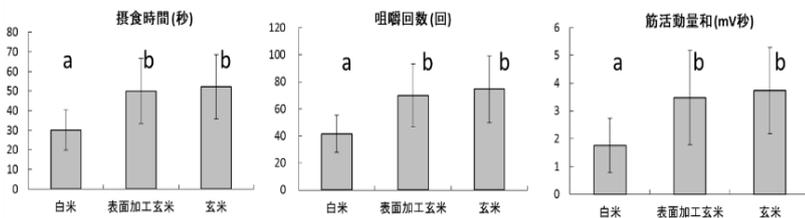


図 2-5 咬筋筋電位解析による咀嚼性の比較

12 名の被験者の 2 回反復の平均値と標準偏差。異なるアルファベットをつけた試料は反復測定分散分析で有意差あり。文献 5) より改変。

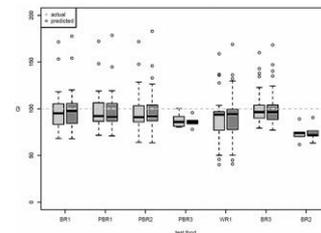


図 2-6 近赤外分光法による GI 値予測

左：実測値、右：予測値

3. 表面加工玄米のヒト介入試験による有効性の検討

表面加工玄米の継続率検討試験では、期間中の脱落はなく、対象の80%が玄米に比べて表面加工玄米が食べやすいと評価した（図 3-1）。介入終了後に継続して摂取可能だと思う日数のスコアは、玄米に比べて表面加工玄米で高い傾向にあった。

検査食摂取順序にかかわらず、表面加工玄米期にはほぼ全員の体重が減少し、女性では玄米期に比べて表面加工玄米期の体重が有意に減少していた（図 3-2）。これらのことから、表面加工玄米は玄米を食べ慣れていない人にも食べやすく、玄米に比べて長い期間継続して摂取できる可能性が示された。また、表面加工玄米の継続摂取により体重が減少する可能性も考えられた。

前糖尿病患者を対象とした継続摂取試験では、表面加工玄米群において、12週間で体重が -2.4 ± 0.4 kg、腹囲が -2.2 ± 0.6 cmと、開始時に比べて有意に減少した。これに対し、白米では介入前後で体重、腹囲の変化がなく、両群の12週間の体重変化量及び腹囲変化量に差を認めた（図 3-3）。また、表面加工玄米群でのみ、介入前に比べて介入期間中の平均排便回数が増加し、介入期間中の平均排便回数は白米群に比べて多い傾向にあった（ $p=0.077$ ）。血清中性脂肪濃度は介入前後で有意な変化を認めるにはいたらなかったが、リポタンパク質プロファイルの解析結果において、LDL、small LDL、very small LDL 中の中性脂肪濃度は、白米群に比べて表面加工玄米群で減少していた（いずれも $p<0.01$ ）。これらのことから、表面加工玄米の継続摂取による肥満や排便回数、脂質代謝の改善が期待された。

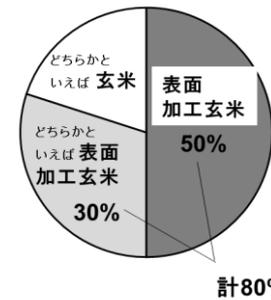


図 3-1 食べやすさの比較
※参考文献 6) をもとに著者が作成

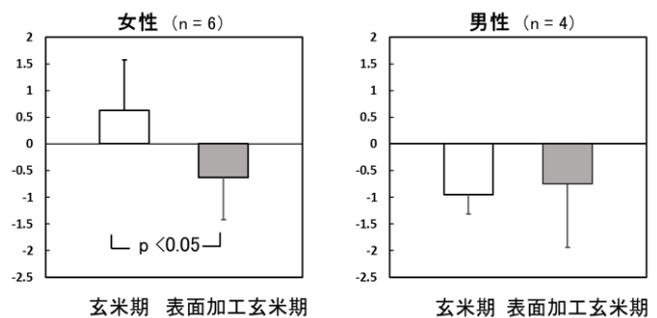


図 3-2 男女別にみた各期間中の体重変化

データは mean \pm S.D. で示した。

※参考文献 6) をもとに著者が作成

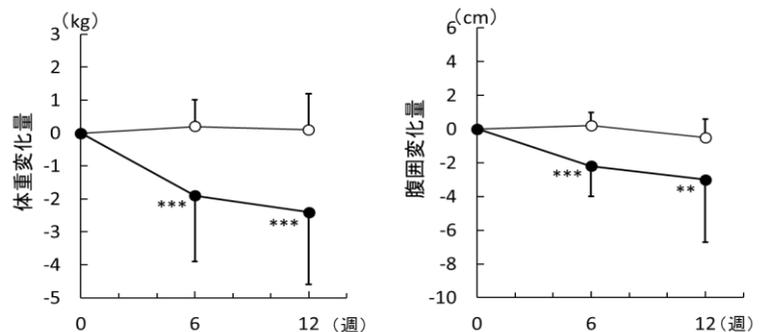


図 3-3 群別にみた介入期間中の体重及び腹囲変化量

データは mean \pm S.D. で示した。○は白米群 (n = 21)、●は表面加工玄米群 (n = 20)。** : $p<0.01$, *** : $p<0.001$ vs 白米群

※Araki R, Ushio R, Fujie K, Ueyama Y, Nakata Y, Suzuki H, Hashimoto K. Clin Nutr ESPEN. 2017 (in press) を著者が改変

4. 表面加工に適する玄米品質制御技術の開発

栽培中の窒素肥料の影響について検討した結果、出穂期及び出穂 10 日後に追肥した処理区 (No.3) では慣行区 (No.1) に対して、玄米タンパク質含量が高くなった。また白未熟粒が減少することで玄米品質は高くなったが、収量増加はわずかであった（表 4-1）。玄米タンパク質含量の増加及び追肥コストを考慮すると栽培方法としては慣行区である基肥 + 出穂 15 日前追肥が適していると考えられる。

食味官能評価では玄米タンパク質含量が高くなるに従い、味、硬さ、粘りの評価が劣り、食味総合評価も下がった。2014 年では 6.8%、2015 年では 7.1%以上になると食味総合評価が劣ったことから、表面加工玄米に適する玄米タンパク質含量として 7.0%以下が適当と考えられた (図 4-1)。

表 4-1 追肥量の違いによる生育、収量及び品質

調査年	区名	基肥 N量 (kg/10a)	追肥時期およびN量			総N量 (kg/10a)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/m ²)	倒伏 程度	玄米重 (kg/a)	玄米 千粒重 (g)	玄米 タンパク質 含量(%)
			出穂 15日	出穂期	出穂 10日後								
2014	No.1	6	3	—	—	9	86	20.8	339	1.5	63.3	24.2	6.0
	No.2		3	2	—	11	85	20.3	338	1.3	65.6	24.0	6.5
	No.3		3	2	2	13	86	20.9	338	2.0	65.4	24.1	6.8
	No.4		—	—	—	6	86	20.5	307	1.0	60.6	23.5	5.9
2015	No.1	6	3	—	—	9	92	20.2	437	3.7	68.8	22.5	6.8
	No.2		3	2	—	11	93	19.7	484	4.0	71.5	22.6	7.1
	No.3		3	2	2	13	94	20.3	472	4.0	67.5	22.6	7.9
	No.4		—	—	—	6	90	19.0	450	3.3	65.7	22.3	6.0

倒伏程度は 0(無)～5(甚)の 6 段階評価。玄米タンパク質含量は S 社食味計 RTCA11A (2014) または S 社米粒食味計 AG-RD (2015) で測定した 15%水分換算値。整粒歩合及び未熟粒は S 社穀粒判別器 RGQI10B にて測定。

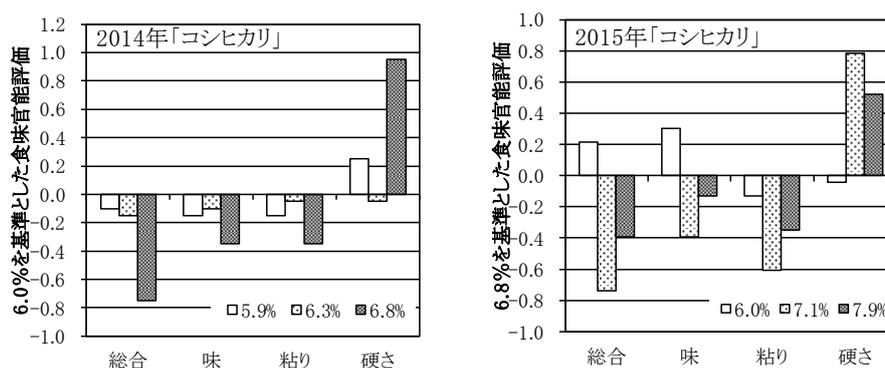


図 4-1 玄米タンパク質含量の違いによる表面加工玄米の食味官能評価

* : 5%水準, ** : 1%水準, *** : 0.1%水準で有意差があることを示す。

5. 表面加工玄米の業務用製造技術の開発及び事業化実現

大和産業株式会社ライスセンターの AIB 監査受審の業務用精米施設では表面加工玄米製造時の食品安全上の危害要因を排除するために生産設備の定期的な分解・清掃が重要である。このため、分解清掃を行いやすいように装置の加工部並びに排気部等の改良を行った。また表面加工玄米を安定供給するために、表面加工玄米製造装置、フルカラー CCD・近赤外カメラを備えた色彩選別機、シフター、高磁力の異物除去装置及び包装機から構成される生産ラインを構築した (写真 5-1)。表面加工玄米の試験販売では (写真 5-2)、2015 年度の販売量が 150 トン、2016 年度が 180 トンに達した。



写真 5-1 表面加工玄米の生産ライン

表面加工玄米製造装置（左）、フルカラーCCD・近赤外線カメラ装備色彩選別機（中央）及び包装機（右）。



名称	玄米		
	産地	品種	産年
原料玄米	単一原料米 富山県	コシヒカリ	反対面下部に記載
内容量	900g		
賞年賞月賞日	反対面下部に記載		
販売者	Y ヤマトライス 大和産業株式会社 名古屋市西区新道1-14-4 TEL052-562-1801		

写真 5-2 表面加工玄米の試験販売品

一般家庭用試験販売品（左）、食品表示制度に基づく産地・販売者等の表示（右）

今後の課題・展望

- 1 技術移転先の大和産業株式会社ライスセンターの表面加工玄米生産システムの完成に協力するとともにマーケティング等に協力して普及拡大を図ることが必要である。表面加工玄米の貯蔵に関しては、玄米の貯蔵と同様の配慮（温度、湿度制御）が必要であると考えられる。炊飯加工特性については白米等とのブレンドによる食味改善効果、おにぎり等の成形加工については具材添加や白米ブレンド等による成形性の検討が必要である、澱粉消化性については、炊飯条件の影響に加えて、今後は咀嚼による破碎度の影響の検討が必要である。
- 2 表面加工玄米の中食等での活用には流通温度や流通時間を想定した澱粉の老化性の検討が望まれる。非侵襲性 GI 値予測では少ない採血回数での高精度モデルの構築が望まれる。
- 3 実施した 2 つの単回摂取試験とも、GI 値の個人内及び個人間変動が大きく、表面加工玄米摂取後の血糖上昇抑制効果を明らかにすることはできなかった。測定日直近の食事や身体活動状況、咀嚼回数等、食後の血糖変動に影響する因子を可能な限り調整したうえで、さらに例数を増やして検討すべきと考えられた。表面加工玄米の継続摂取による肥満や糖・脂質代謝改善効果については、試験の実施時期（季節性）や、検査食の加熱回数・加熱方法の影響も含めてさらに検討すべきと考えられた。また、

機能性成分をより明確にするために、5分搗き米等との効果の違いについても比較検討を行ないたいと考えている。

- 4 気象条件や年次変動に左右されない玄米タンパク質含量の安定化が望まれる。
- 5 表面加工玄米製造技術の改良を継続して行い、品種、各地域の生産履歴等に対応した安定生産技術を確立する。

研究成果一覧（論文、特許、商品）

論文

- 1) Tomoko Sasaki, Tomoya Okunishi, Itaru Sotome, Hiroshi Okadome (2016). Effects of milling and cooking conditions of rice on in vitro starch digestibility and blood. *Cereal Chemistry*, 93:242-247.
- 2) Kaoru Kohyama, Navdeep Singh Sodhi, Tomoko Sasaki, Keitaro Suzuki (2014). Effects of milling ratio and water-to-rice ratio on mastication effort for cooked rice measured by electromyography. *Journal of Texture Studies*, 45(6):477-486.
- 3) Kaoru Kohyama, Navdeep Singh Sodhi, Keitaro Suzuki, Tomoko Sasaki (2016). Texture evaluation of cooked rice prepared from Japanese cultivars using two-bite instrumental test and electromyography. *Journal of Texture Studies*, 47(3):188-198.
- 4) 神山かおる (2016). 精米法と調理法が異なる米飯の咀嚼特性. *日本咀嚼学会雑誌*, 26(1):14-19.
- 5) 神山かおる (2016). 白米用条件で炊飯した精米法が異なる米飯の咀嚼特性. *日本咀嚼学会雑誌*, 26(2):56-61.
- 6) 荒木理沙・松浦文奈・藤江敬子・中田由夫・鈴木浩明・橋本幸一 (2016). 表面加工玄米の食べやすさに関する探索的ランダム化クロスオーバー試験. *日本栄養・食糧学会誌*, 69:249-255.

学会発表

- 1) 都築和香子ら (2016). Rice volatiles and their storage characteristics analyzed by headspace trap gas chromatogram mass spectrometry. *日本化学会第96春季年会講演要旨*, 3PA-213.
- 2) 奥西智哉ら (2015). 表面加工玄米の炊飯特性. *日本調理科学会平成27年度大会講演要旨集*, p. 36.
- 3) 岡留博司ら (2016). 異炊飯条件に伴う表面加工玄米の機械成形性の変動解析. *日本食品工学会第17回(2016年度)年次大会講演要旨集*, P.125.
- 4) 岡野克紀ら (2015). 玄米タンパク質含量の違いによる表面加工玄米の食味特性, *日本作物学会第240回講演会要旨集*, P.132.

総説

- 1) 橋本幸一(2016). 表面加工玄米のヒト介入試験による機能性評価. JATAFF ジャーナル, 4:11-14.
- 2) 稲垣信久・星野 徹・堀金 彰 (2016). 「やわらかい玄米」大和産業株式会社が試験販売. 月間食糧ジャーナル, 41(5):54-59.

商品

- 1) やわらかい玄米 (大和産業株式会社より販売)

ルチン高含有ダツタンソバ「満天きらり」を用いた脂質代謝改善効果のある加工食品の開発

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター
森下敏和、野田高弘、石黒浩二、阿部英幸
農研機構九州沖縄農業研究センター・鈴木達郎
国立大学法人北海道大学・農学研究院・藤野介延
北海道情報大学・北海道情報大学医療情報学部・西平順、西村三恵
有限会社小林食品・芦澤順三

要約

動脈硬化指数が 1.5 以上 4.5 以下の 30 歳以上 70 歳未満の男女を対象としたプラセボを対照とするヒト介入試験を行い、ルチン高含有「満天きらり」加工食品を 12 週間継続摂取することによる脂質代謝改善作用及び抗酸化作用について検討し、その有用性を明らかにすることを目的とした。その結果、ルチン高含有「満天きらり」加工蕎麦の摂取による明確な抗動脈硬化作用及び酸化 LDL 低下作用は認められなかった。また脂質代謝改善作用、血糖改善作用も認められなかった。しかしながら抗酸化マーカーである TBARS については摂取 8 週間後において被験食品摂取群で有意に低値を示した。また、体重、BMI についても摂取 8 週間後において被験食品摂取群で有意に低値を示し、体脂肪率についても摂取 4 週間後において被験食品摂取群で有意に低値を示した。よって本試験ではルチン高含有「満天きらり」加工蕎麦の摂取による抗酸化作用及び体重、体脂肪低減作用が示唆された。またこれらのヒト介入試験を実施するために、被験食として「満天きらり」が 5 割配合でルチン含量が 774.8 mg/100g である麺を開発した。この製造技術は今後の製品開発の基盤となった。「満天きらり」の品質を確保するための基盤技術として、他品種の混入を検出できる DNA マーカーとして、ルチン分解酵素をターゲットとしたマーカーは 1/1000 の「北海 T8 号」の混入を検出することが可能である。また従来品種と「満天きらり」の間に検出した多数の多型から作製したマーカーは、品種識別が可能である。またルチンの抽出と分析法にはエタノール濃度 70%が適切であること、ソバ粉のルチン含量の安定化には玄ソバの水分析制御が必要であることを明らかにした。「満天きらり」を利用した麺など様々な製品を開発し、販売されている。

研究の背景や目的

脂質代謝異常を病因とする生活習慣病の拡大は医療費の増大に繋がるなど大きな社会問題となっており、食生活を通じた脂質代謝改善は喫緊の課題となっている。近年、脂質異常症による脂肪肝を伴う非アルコール性肝炎（NASH）による肝がんの発症なども大きな問題となっている。脂質代謝の改善に有用でルチンを多く含むダツタンソバは強烈に苦く嗜好性が劣るため敬遠されがちであるが、新品種「満天きらり」は苦味が無いため、ルチンを多く含有する食品原料として有望である。「満天きらり」を日常摂取することにより、ル

チンによる脂質代謝の改善が促進され、動脈硬化に伴う脳・心血管障害や高血圧の予防に結びつくことが期待される。これまでヒトを対象にしたソバの機能性に関する研究が十分実施されていないことから、本研究では「満天きらり」の脂質の改善に関する有効性をヒト介入試験で明らかにする。一方、ヒト試験を実施するにあたりルチン高含有麺が必要である。そのため「満天きらり」の配合量を可能な限り高めた麺を開発し、ルチンがヒト試験を実施するに必要な量が含まれるか確認する必要がある。そのためルチン高含有麺の製造技術を開発し、製品の品質評価を実施する。実際の商品開発つなげる製造技術の確立を目的とする。最後に製品の品質の安定化のための DNA マーカーの開発など、基盤技術の開発を目的とする。

研究の内容と方法

1. 「満天きらり」摂取によるヒト介入試験及び「満天きらり」を配合した被験食

ヒト介入試験計画について、北海道情報大学生命倫理委員会にて 2014 年 10 月 27 日に承認され、同年 11 月 13 日に UMIN 登録を行った (UMIN000015682)。スクリーニング検査を行い動脈硬化指数が正常値からやや高め (2.25 ± 0.65 、平均 \pm 標準偏差) の被験者 150 名を本試験に組み入れた。被験者を「満天きらり」配合蕎麦摂取群 (75 名) とプラセボ麺摂取群 (75 名) に、性別、年齢、動脈硬化指数が均一になるように第三者機関で割り付けを行った。摂取期間は 12 週間とし、4 週毎及び摂取終了 3 週後に検査を行った。検査項目は、酸化マーカー (酸化 LDL、TBARS)、脂質項目、血糖項目、体組成とした。ヒト試験の被験食については、「満天きらり」配合麺を試作した結果、5 割麺 (及びクッキー) を供試、プラセボ麺は無配合麺 (及びクッキー) を供試することになった。これらの被験食品についてルチン含量などの品質を評価した。

2. 「満天きらり」の製品の品質維持のための基盤技術の開発

「満天きらり」の品質を確保するためには製品中のルチン含量の変動を抑制する必要がある。そのため他品種の混入を検出する技術として DNA マーカーの開発、ルチン分析法の妥当性の確認、及び産地や年次が異なっても原料粉のルチン含量の変動を抑える必要がある。

DNA マーカーは、「満天きらり」のルチン分解酵素低活性形質の原因遺伝子について、従来品種との cDNA の変異部位を特定し、その配列に基づき DNA マーカーを開発する。また次世代シーケンサーデータを用いて、「満天きらり」と他品種の cDNA-SNP を検出し DNA マーカーを開発した。これらの方法で開発した DNA マーカーを用い、「満天きらり」に他品種を混入させた原料粒を材料とした場合検出可能か、及び他品種の識別が可能か実用性を検証した。

ルチンの分析妥当性の確認のために、粉、及び麺からのルチン分析に対して、原料の粉碎程度、分析量、抽出温度・時間、等の影響を調査した。

栽培地域がルチン含量・ルチン分解活性に与える影響を明らかにするために各地で収穫された「満天きらり」のルチン含量やルチン分解活性の変異程度を調査した。また玄ソバの子実水分含量を変化させ、ルチン含量等への影響を調査した。

3. 製品の開発と販売

商品ラベルやパッケージ、荷姿などを決定するとともに、販促パンフレット等を作成する。次に、既存の販売ルートや商談会等を通じ、「満天きらり」配合麺の営業活動及び販売する。

研究の結果と考察

1. 「満天きらり」摂取によるヒト介入試験及び「満天きらり」を配合した被験食

2015年4月に全ての検査が終了した。試験中止者は5名おり、うち自己都合による中止が3名、有害事象による中止が2名であった。有害事象による中止2名（いずれもプラセボ食品摂取群）は試験食品との因果関係は否定的であると判断した。試験完遂者は145名であったが、試験食品摂取率不足の1名を解析から除外し、有効性解析は144名で実施した。解析の結果、酸化LDLと動脈硬化指数については被験食品摂取による改善は認められなかったが、酸化マーカーのTBARSは、被験食品群で摂取8週後において有意に改善した（プラセボ食品群の変化量： $0.86 \pm 3.95 \mu\text{M}$ 、被験食品群の変化量： $-0.56 \pm 3.62 \mu\text{M}$ 、 $p=0.027$ ）（図1）。また体重については被験食品群で摂取8週後において有意に改善した（プラセボ食品群の変化量： $0.02 \pm 1.18 \text{ kg}$ 、被験食品群の変化量： $-0.35 \pm 0.82 \text{ kg}$ 、 $p=0.030$ ）

（図1）。さらに体脂肪率についても被験食品群で摂取4週後において有意に改善した（プラセボ食品群の変化量： $0.36 \pm 1.07\%$ 、被験食品群の変化量： $-0.30 \pm 2.39\%$ 、 $p=0.038$ ）（図1）。脂質項目、血糖項目についても、被験食品による効果は認められなかった。以上の結果より、ルチン高含有「満天きらり」加工食品の継続摂取は抗酸化作用及び体重、体脂肪低減作用を有する可能性があることが示唆された。

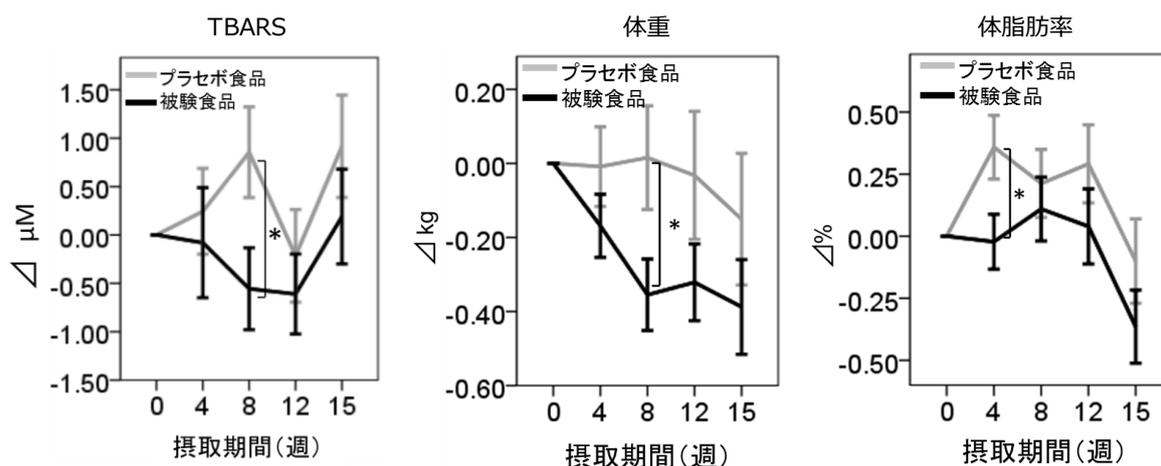


図1 TBARS、体重及び体脂肪率の継続的変化
平均±標準誤差。

*:プラセボ群に対し5%水準で有意差有り。

ヒト試験の被験食として乾麺（図2）とクッキーを開発した。5割配合麺中ルチン含量は774.8 mg/100g、ケルセチン含量は22.1 mg/100g、H-ORAC値は108.2 $\mu\text{mol TE/g}$ であり、H-ORAC値に対するルチンの寄与率は73.3%であった（表1）。5割配合クッキー中のルチン含量は642.1 mg/100g、ケルセチン含量は318.1 mg/100g、H-ORAC値は147.3 $\mu\text{mol TE/g}$ であり、H-ORAC値に対するルチンの寄与率は44.8%であった（表1）。ヒト介入試験における「満天きらり」5割配合麺摂取（乾麺80g）による1日のORAC量は、茹で後の減少率を考慮すると、5,237 ORAC（5割配合クッキーは7,365 ORAC）であった。



図 2 開発したした乾麺

左：プラセボ麺(満天きらり 0 割麺)、中：0.5 割麺、右：5 割麺。

ヒト試験にはプラセボ麺と 5 割麺を供試。

表 1 ヒト介入試験に供試した「満天きらり」配合麺及びクッキーのルチン含量、抗酸化性（H-ORAC）及び抗酸化性に対するルチンの寄与率

	麺		クッキー	
	満天きらり配合割合		満天きらり配合割合	
	0割	5割	0割	5割
H-ORAC (μmol TE/g)	10.9	108.2	6.2	147.3
ルチン含量 (mg/100g)	0.0	774.8	0.0	642.1
ケルセチン含量 (mg/100g)	0.0	22.1	0.0	318.1
ルチン寄与率 (%)	0.0	73.3	0.0	44.8
ケルセチン寄与率 (%)	0.0	5.5	0.0	58.4
ルチン+ケルセチン寄与率 (%)	0.0	78.8	0.0	103.2

2. 「満天きらり」の製品の品質維持のための基盤技術の開発

ルチン分解酵素低活性形質遺伝子をターゲットとした DNA マーカーは、ダツタンソバの種子から精製された

ルチン分解酵素より得られたアミノ酸配列をもとに、5'、3'RACE を含む RT-PCR 法により従来品種「北海 T8 号」のルチン分解酵素遺伝子 (RUT1) の全塩基配列を決定した。それをもとにプライマーを作製し種子形成時の cDNA を鋳型として PCR を行ったところ予想されるアミノ酸配列で約 90% の相同性を示す遺伝子 (RUT2) の部分配列を得た。この二つの遺伝子 RUT1, RUT2 の種子形成時の発現を調べたところ RUT 遺伝子は種子形成過程で発現していたが、それに対し RUT2 遺伝子は花蕾や花で発現を示したが種子ではほとんど発現が見られなかった。同様に「満天きらり」において両遺伝子の種子形成過程における発現を調べたところ「北海 T8 号」と同様の様式を示した。このことから種子に存在しているルチン分解酵素は RUT1 遺伝子の翻訳産物であることが予想された。そこで「満天きらり」の RUT1 遺伝子の塩基配列を決定し、「北海 T8 号」と比較したところ 1 塩基置換による 1 アミノ酸置換が確認された。その 1 塩基置換に基づく RUT1-SNP 特異的プライマーを作製し、それぞれの品種に対して PCR を行った。その結果、温度条件により品種特異的な増幅が確認されたが、非特異的な増幅も見られた (図 3)。RUT1-SNP 特異的プライマーを用いて、100 ng 満天きらり DNA と 0.25 ng 北海 T8 号 DNA の混合物 (混合比 400 : 1) においても、北海 T8 号型の RUT1 遺伝子を検出可能であった。さらにサイクリング PCR と RUT1-SNP 特異的プライマーを組み合わせることにより、1/1000 の「北海 T8 号」の混入を検出することが可能となった。

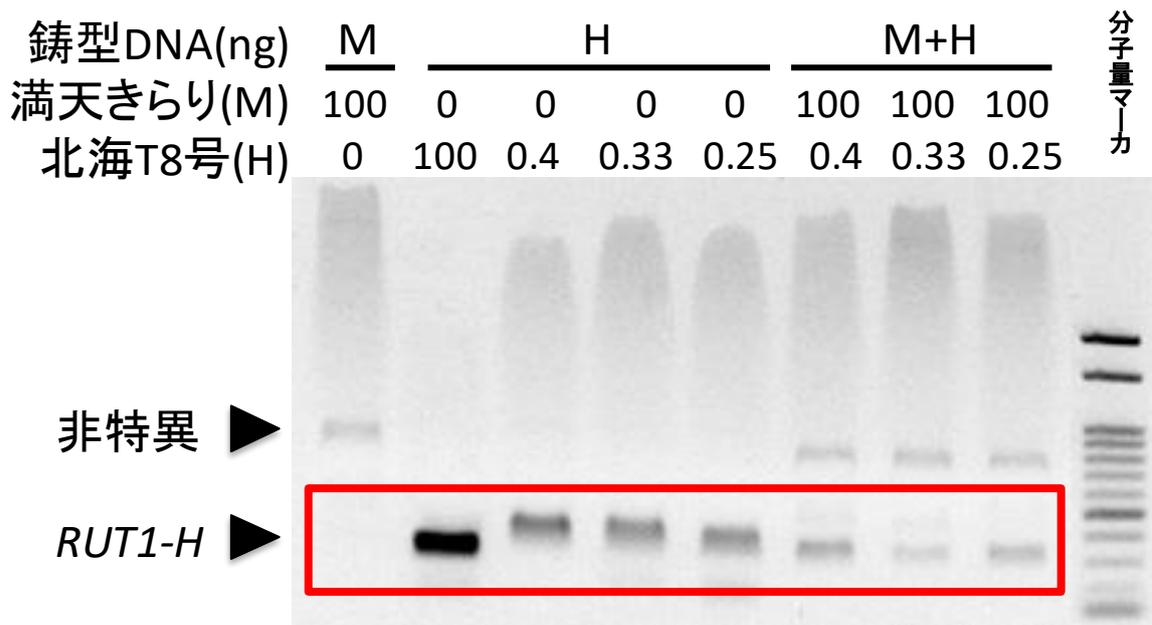


図 3 品種混合サンプルにおける RUT1-SNP 特異的プライマーを用いた検出

ゲノム上の塩基配列の違いをターゲットとし DNA マーカーの開発では、通常品種と「満天きらり」のゲノムを比較したところ 1 塩基配列が異なる部分を約 2 千ヶ所、2 塩基以上の配列が異なる部分を 10 ヶ所見出した。それらの塩基配列の違いをもとにプライマーを作製した。抽出ゲノム DNA を鋳型として PCR を行うことで、「満天きらり」を特異的に識別できるプライマーの作製を確認した（図 4）。

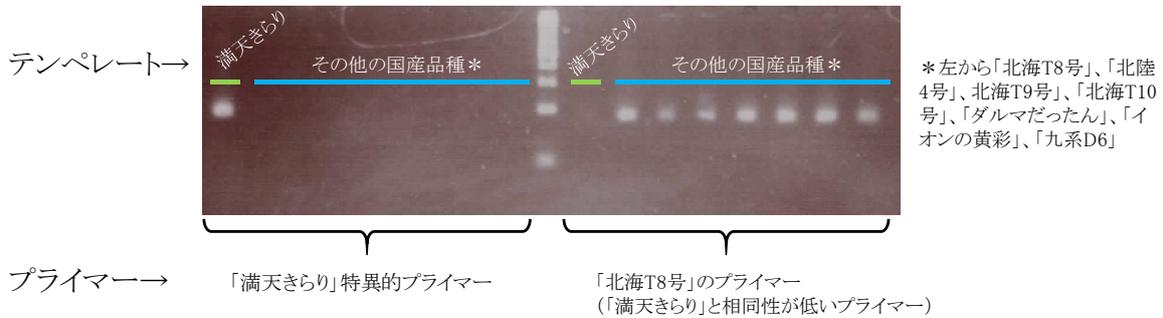


図 4 抽出ゲノム DNA をテンプレートとした PCR

適正なルチンの分析条件を検討した結果、ルチン分解酵素活性のルチン分析値への影響を抑制し、最も抽出効率が高いエタノール濃度は 70%程度であると結論された。またルチンを大量に含む溶液を分光法で分析する場合、ルチンの自己会合に注意する必要があることが示された。

各産地から収集した「満天きらり」の玄ソバを製粉して得られた粉のルチン含量を調査した結果、産地間差が認められた。その後、玄ソバの水分含量が高い産地はルチン含量が低いこと、水分含量が低い産地はルチン含量が高いことが確認された。さらに調査を進めた結果、玄ソバの水分含量が高くなるに従い製粉歩留は低下し、粉のルチン含量は低下したことから、玄ソバの水分含量が粉の品質に影響することが明らかになった。

3. 製品の開発と販売

商品化に耐える十分な品質の麺が製造できたため、製品販売を開始した（図 5）。

耕作放棄地の解消と 6 次産業の育成に貢献したことが評価され「農林水産大臣賞」を受賞した。



図 5 「満天きらり」を使った製品

今後の課題・展望

- ・ルチン高含有「満天きらり」の抗酸化作用及び体重・体脂肪率低減作用に関する詳細な作用機序の解明。
- ・開発した DNA マーカーの実用性の検証。
- ・ダットンソバふすまの利用法の開発。
- ・製品の「ヘルシー D o（北海道食品機能性表示制度）」及び「機能性表示食品」の取得。

参考文献

- 1) Griffith J. Q., Jr., Couch J. F., Lindauer M. A. (1944) Effect of rutin on increased capillary fragility in man. *Experimental Biology and Medicine* 55: 228–229.
- 2) Shanno R. L. (1946). Rutin; a new drug for the treatment of increased capillary fragility. *The American Journal of the Medical Sciences* 211: 539–543.
- 3) Wieslander G., Fabjan N., Vogrincic M., Kreft I., Janson C., Spetz-Nyström U., Vombergar B., Tagesson C., Leanderson P., Norbäck D. (2011) Eating buckwheat cookies is associated with the reduction in serum levels of myeloperoxidase and cholesterol: A double blind crossover study in day-care centre staffs. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 225(2): 123–130.

研究成果一覧（論文、特許、商品）

- 1) Nishimura M., Ohkawara T., Sato Y., Satoh H., Ishiguro K., Noda T., Morishita T., Nishihira J. (2016) Effectiveness of rutin-rich Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) ‘Manten-Kirari’ in body weight reduction related to its antioxidant properties: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Functional Foods* 26:460-469.
- 2) Ishiguro K., Morishita T., Ashizawa J., Suzuki T., Noda T. (2016). Antioxidative Activities in Rutin Rich Noodles and Cookies Made with a Trace Rutinosidase Variety of Tartary Buckwheat (*Fagopyrum Tataricum* Gaertn.) ‘Manten-Kirari’ *Food Science and Technology Research*, 22(4):557-562.
- 3) Suzuki T., Morishita T., Takigawa S., Noda T., Ishiguro K. (2016) Characterization of rutin-rich bread made with ‘Manten-Kirari’, a trace-rutinosidase variety of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) *Food Sci. Technol. Res.*, 21: 733-738.
- 4) Suzuki T., Morishita T., Takigawa S., Noda T., Ishiguro K. (2016) Evaluation of the Mutagenicity Potential of Trace-Rutinosidase Variety of Tartary Buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) Using the Ames Test. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 5, 100-105.

- 5) Suzuki T., Morishita T., Noda T., Ishiguro K. (2015) Acute and subacute toxicity studies on the rutin-rich Tartary buckwheat dough in experimental animals. *Journal of Nutritional Science Vitaminology*. 61. 175-181.
- 6) Suzuki T., Morishita T., Mukasa Y., Takigawa S., Ishiguro K., Yokota S., Noda T. (2014) Discovery and genetic analysis of non-bitter Tartary buckwheat with trace rutosidase activity. *Breeding Science* 64(4) 339-343.
- 7) Suzuki T., Morishita T., Mukasa Y., Takigawa S., Ishiguro K., Yokota S., Noda T. (2014) Breeding of 'Manten-Kirari', a non-bitter and trace-rutosidase variety of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) *Breeding Science* 64(4) 344-350
- 8) 森下敏和・野田高弘・石黒浩二・鈴木達郎・芦澤順三 高ルチン含有ダツタンソバふすま及びそば粉の製造方法、並びに高ルチン含有食品素材の製造方法、特願2016-40900（平成28年3月3日）。
- 9) 農林水産大臣賞（2015）ダツタンソバ満天きらりを用いた耕作放棄地解消と6次産業化事例
- 10) ダツタンソバ新品種「満天きらり」への他のダツタンソバ混入防止マニュアル（2017年春公開予定）

商品：乾燥麺、生麺、パスタ、茶、菓子類など多数。

東京医科大学 睡眠学寄附講座 井上 雄一、駒田 陽子、咲間 妙子、中島 俊、
守田優子、田村典久、成澤元

東京医科大学 内科学 第三講座 小田原 雅人、三輪隆、志熊淳平
筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 ラザルス ミハエル、裏出 良博、

シエラス ヨアン、有竹 浩介、永田 奈々恵

公益財団法人神奈川科学技術アカデミー 亀井 飛鳥

富士フイルム株式会社 植田 文教、小田 由里子、今井 綾乃、斎藤 仁美

マルハニチロ株式会社 御手洗 誠、鈴木 璃奈

要約

一般人口 2,000 名を対象として睡眠と栄養の調査を実施した結果、睡眠時間の長さによって、栄養摂取、食物摂取に有意な差が認められた。亜鉛摂取量は、睡眠時間 8 時間をピークとして逆 U 字を示した。睡眠が悪化している者では、亜鉛摂取量が有意に低く、2 型糖尿病患者は健常群に比べて血清亜鉛値が低値であった。また糖尿病患者群は健常群に比して睡眠の状態は悪く、特に睡眠時間や睡眠効率といった睡眠維持の側面に問題が認められた。

健常者 20 名を対象に 1 か月間試験食（アスタキサンチン 3 mg・亜鉛 15 mg 含有ゼリー）摂取の効果を検討した。活動量で測定した夜間中途覚醒回数は、試験食群で低値であったが、主観的睡眠感には差は認められなかった。ヒト長期試験の結果、(1)アクチグラフィによる評価では、入眠潜時短縮、睡眠効率改善が認められた。(2)睡眠に関する主観評価は、通常用量を若干上回る Zn を一定期間摂っても、プラセボ効果を上回らなかった。(3)12 週の食品摂取により睡眠が改善した者では、HDL-C の低下が抑制され、抗酸化物質高含有食品摂取による睡眠改善を介した抗メタボ効果の可能性が示唆された。

一方、メカニズム解析においては、亜鉛 + アスタキサンチン投与後 2 時間の視床下部の DNA マイクロアレイデータの階層的クラスター解析の結果、投与前 (0 h) に比べて遺伝子発現パターンが大きく変動し、変動遺伝子の中には、脂質代謝関連遺伝子が含まれていることが明らかになった。また、亜鉛の NREM 睡眠誘発作用が中枢性であることを確認した。亜鉛誘発睡眠には、AMPA / kainate 受容体が部分的に関与することが示唆された。

研究の背景や目的

睡眠不足は体重増加・糖尿病・脂質代謝の増悪をもたらすことが知られており、食事、運動と同様に、睡眠改善も生活習慣病を予防する上で重要視されている。本研究では、アスタキサンチンと亜鉛が、糖代謝や脂質代謝への直接的な改善効果を示すだけでなく、これらを同時摂取することで睡眠改善作用による相乗的な生活習慣病予防効果をもたらすことを検証する。これにより、睡眠の重要性を周知するとともに、科学的根拠に立脚した、睡眠を改善する食品やレシピを開発し、糖代謝や脂質代謝を正常化し国民の身体機能の維持向上を図る。

研究の内容と方法

ア. 睡眠促進作用メカニズムの解明

- ① 遺伝子解析による作用機序の解明 視床下部、肝臓、脂肪組織等のマイクロアレイを実施 アスタキサンチンと亜鉛摂取による遺伝子発現の網羅的解析を行うことで、睡眠及びメタボリックシンドロームに関する影響を調べる。遺伝子解析で得られた知見を行動薬理的解析にフィードバックし、未知の作用機構の解明を図る。
- ② 行動薬理的解析（動物）
 - ・亜鉛受容体 GPR39 受容体 KO マウスを利用して、行動量、脳波計測を行い関与の有無を確認する。また亜鉛受容体 GPR39 受容体 KO マウスはサーカディアンリズムの変調が早いことを確認する。
 - ・脳内活性部位（4 か所）での亜鉛の作用を確認する。
 - ・アゴニストやアンタゴニストにより作用機序の確定（メカニズムの検証）
- ③ 神経生理学的解析（動物）
 - ・アスタキサンチンの作用を確認する。
- ④ 脳内局所への薬物投与及び新規遺伝子操作による解析（動物）
 - ・昨年度、同定した脳内活性化部位への亜鉛の局所投与による睡眠解析を行う。
 - ・AAV-DREADD 法（デザイン化学受容体発現アデノ随伴ウイルス）投与の亜鉛誘発睡眠に及ぼす効果を調べる。
 - ・AAV-DTA（ジフテリア毒素発現アデノ随伴ウイルス）投与の亜鉛誘発睡眠に及ぼす効果を調べる。
- ⑤ 相乗効果のある素材の探索
 - ・行動量計測、脳波計測で確認する。（カロテノイド、糖類等）

イ. 亜鉛の臨床的意義の解明

- ① Food Frequency Study (FFS) を用いた一般人での食事の亜鉛量と睡眠の関係を検討する。
- ② 糖尿病患者もしくは予備軍の血清亜鉛濃度と、血糖コントロール、睡眠状態を検討する。

ウ. ヒトにおける効果の検証

- ① 短期効果の検討現在実施している Feasibility Study (RCT) の結果と、健常人における血中亜鉛濃度の変化のデータを元に、ヒトにおいて亜鉛及びアスタキサンチンの組み合わせによる睡眠改善効果を調べる。本研究では、脳波、活動量の測定、睡眠の自己評価を実施する。
- ② 長期投与下で生化学検査を行い、生活習慣病の指標となる食後血糖値、TG 等の変化を検討する。

エ. アスタキサンチンと亜鉛高含有食品の開発

① 商品化のコンセプト設計

- a. 商品コンセプトの設計
- b. 商品試作
- c. 商品スペック決定

② 食育への活用

亜鉛 + アスタキサンチンの「疲労回復」「紫外線予防」等の効果を併せ、スポーツ施設へ POP 等を用い訴求する等食育への活用を検討。

研究の結果と考察

ア-①. 遺伝子解析による作用機序の解明

<アスタキサンチン+亜鉛投与時の脳の遺伝子発現解析>

動物実験を実施し、脳波測定や観察から、亜鉛+アスタキサンチン投与後 2 時間（暗期）においてマウスは深く眠っていることを確認した。なお、溶媒（水）を投与したマウスは覚醒していた。亜鉛+アスタキサンチン投与後 2 時間の視床下部の DNA マイクロアレイデータの階層的クラスター解析の結果、亜鉛+アスタキサンチン投与後 2 時間（2 h）には投与前（0 h）に比べて遺伝子発現パターンが大きく変動することを見出した。さらに変動遺伝子の中には、脂質代謝関連遺伝子が含まれていることが明らかになった。

<メタボリックシンドロームに対するアスタキサンチン+亜鉛投与の効果>

6 週齢の C57BL/6J マウスを 1 週間の予備飼育後、次の 5 群に分けた。通常食を与え、水を経口投与する群（AIN93G 群）、高脂肪高果糖食を与え、水を経口投与する群（HFHFr 群）、高脂肪食高果糖食を与え、アスタキサンチンパウダーの水への懸濁液を経口投与する群（Asta 群）、高脂肪食高果糖食を与え、亜鉛酵母パウダーの水への懸濁液を経口投与する群（Zn 群）、高脂肪食高果糖食を与え、アスタキサンチンパウダー及び亜鉛酵母パウダーの水への懸濁液を経口投与する群（Asta+Zn 群）である。

これらの条件で 3 週間飼育を行い、解剖を行い、血液、肝臓を採取し、血液については血中成分測定を、代謝の中心的臓器である肝臓については DNA マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を実施した。飼育期間中、体重、摂取エネルギー量について群間で差は認められなかった（図 1）。

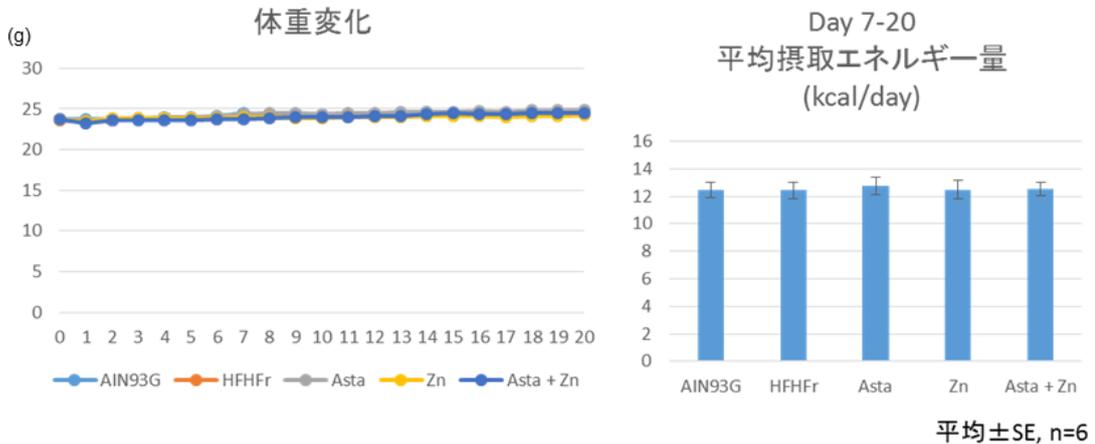


図1 体重変化、平均摂取エネルギー量

血中成分については、HFHFr 群では、AIN93 食摂取群に比べ、低密度リポ蛋白コレステロール（LDL-C）が有意に高く、Zn 群では HFHFr 群と同程度の高い値であったが、Asta 群、Asta+Zn 群では AIN93G 群と同程度にまで低下していた。なお、総コレステロールや血糖値は、HFHFr 群で増加傾向を示し、Asta 群、Zn 群、Asta+Zn 群で HFHFr に比べて減少傾向を示した（図 2）。

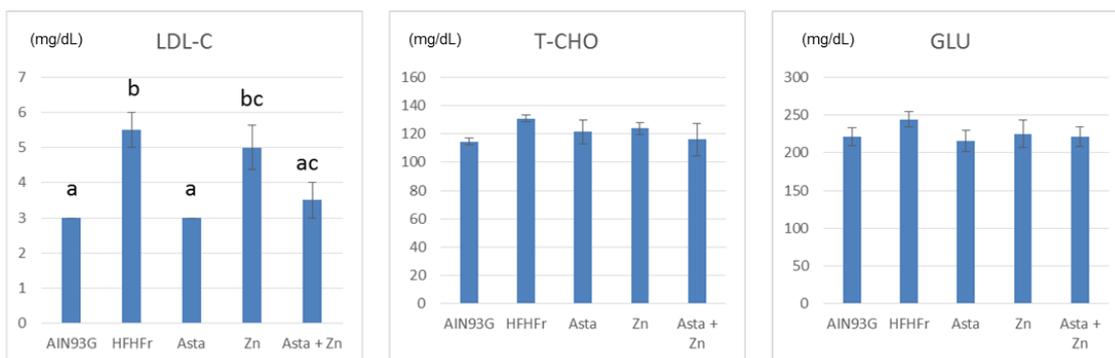


図2 血中LDLコレステロール、総コレステロール、血糖値

平均±SE, n=6
異符号間に有意差あり

亜鉛は過剰摂取することで、鉄や銅の吸収を阻害し、貧血などを引き起こすことが報告されている。今回、1 日当たりの亜鉛摂取量としては過剰にならないとされる量を設定しており、過剰毒性は見られないという前提で試験を実施したが、亜鉛を経口投与していることを考慮し、血漿中の亜鉛や、吸収時に亜鉛と拮抗することが報告されている鉄、及び体内鉄量の指標の一つであるトランスフェリン総鉄結合能（TIBC）の濃度測定を行った。その結果、血中亜鉛については、群間で差が認められなかった。一方、鉄については HFHFr 群、Asta 群、Zn 群、Asta+Zn 群において AIN93G 群よりも低い傾向はあるものの有意な差は無く、亜鉛摂取によってさらなる低下は見られないこと、また、TIBC については群間で差が無いことから、本実験においては、亜鉛を摂取したことによって鉄の深刻な不足状態が引き起こされることはなかったと考察した。

続いて AIN93G 群、HFHFr 群、Asta+Zn 群について肝臓の遺伝子発現解析を行った。AIN93G 群に比べ、HFHFr 群で変化する遺伝子のうち、Asta+Zn 群で改善されるものについて GeneOntology に基づく遺伝子機能濃縮度解析を行った。その結果、「コレステロール合成経路」や「抗原のプロセッシングと提示」に関する遺伝子が濃縮されていることが明らかになった。すなわち HFHFr 群では、コレステロール合成酵素群が低下していたが、その一部が Asta+Zn 群では回復していた。また、亜鉛受容体とされる GPR39 について、いずれの群間でも遺伝子発現に変化はなかった。

以上、肝臓の遺伝子発現解析及び血中成分測定より、Asta+Zn には、高脂肪高果糖食によって誘導されるコレステロール代謝の悪化を改善する可能性が見出された。

ア-②- 1. 行動薬理学的解析（動物）

・下記 9 種の KO マウスを用いて行動量や睡眠を評価したが、いずれも亜鉛誘発睡眠に関与しないことを確認した。

- ・プロスタグランジン DP1 受容体 KO
- ・アデノシン A1 受容体 KO
- ・アデノシン A2A 受容体 KO
- ・アデノシン A1R&A2 受容体 KO
- ・ヒスタミン H1 受容体 KO
- ・ドーパミン D2 受容体 KO
- ・オレキシン受容体 KO

- ・オレキシン-リガンド KO
- ・GPR39 受容体 KO
- ・Zn の脳腔内投与 (ICV) により、Zn の NREM 睡眠誘発作用が中枢性であることを確認した。
- ・下記 3 種の受容体アンタゴニストを用いて、亜鉛投与による行動量の低下に対する影響を評価した。その結果、AMPA / kainate 受容体が部分的に亜鉛誘発睡眠に関与することが示唆された (図 3)。

- ・Ifenprodil (NMDA アンタゴニスト)
- ・NBQX (AMPA / kainate アンタゴニスト)
- ・ICI 118,551 ($\beta 2$ アドレナリン受容体アンタゴニスト)

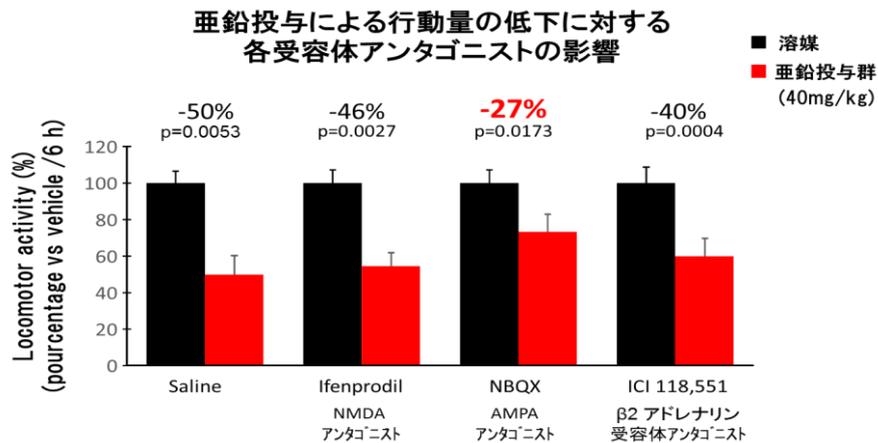


図 3 亜鉛投与による行動量の低下に対する各受容体アンタゴニストの影響

亜鉛欠乏マウスモデルを作成し、亜鉛誘発睡眠に対する反応性を調べた。その結果、暗期開始直前に溶媒投与すると、暗期のNREM睡眠量が低下した (図 4)。一方、亜鉛投与では暗期のNREM睡眠量が増加した (図 5)。このことは、亜鉛欠乏により、亜鉛誘発睡眠の感受性が増強していることを示唆している。

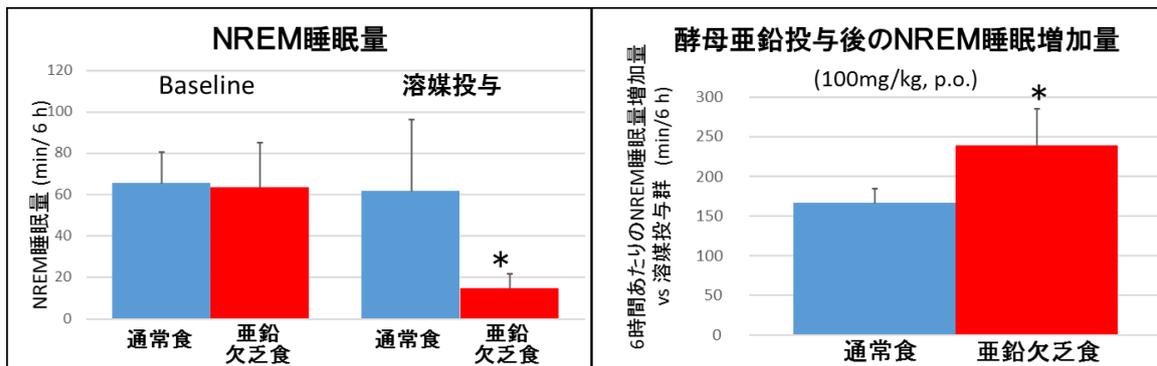


図 4 亜鉛欠乏モデルマウスに対する溶媒投与の影響

図 5 亜鉛欠乏モデルマウスに対する亜鉛投与の影響

ア-③- 1. 神経生理学的解析 (動物)

アスタキサンチン単独では脳波計測により、睡眠作用はないことを確認した。

ア-③-2. 脳内局所への薬物投与及び新規遺伝子操作による解析（動物）

これまでの検討により、亜鉛投与後に脳内の PSTh, PVT, BST, KF の神経が活性化することが判明した。そこで、これらの亜鉛誘発睡眠脳内活性化部位へ AAV-DTA（ジフテリア毒素発現アデノ随伴ウイルス）投与を行い、各活性化部位が損傷したマウスを作製した。暗期直前、これらのマウスに Zinc gluconate を 20 mg/kg 経口投与し、亜鉛誘発睡眠に及ぼす効果を調べた。その結果、PSTh 損傷マウスでは亜鉛投与による NREM 睡眠の増加がみられなかった（図 6）。この結果は、PSTh が亜鉛誘発睡眠に関与することを示している。

PSTh: parasubthalamic nucleus, 傍視床下核

PVT: paraventricular thalamic nucleus, 室傍核

BST: bed nucleus of the striaterminalis, 分果条床核

KF: kolliker-Fuse nucleus, kolliker-ヒューズ核

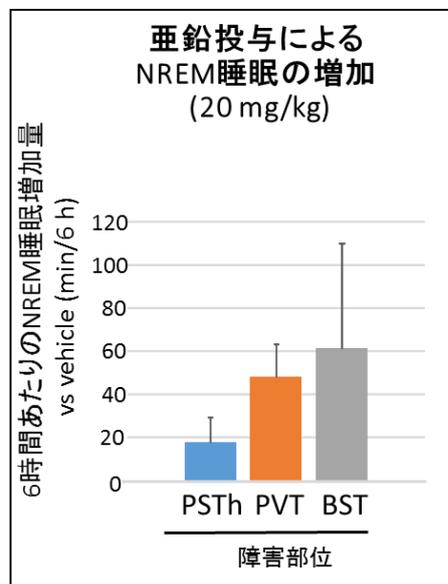


図 6 PSTh 障害マウスに対する亜鉛投与の影響

ア-④ 相乗効果のある素材の探索

・行動量計測、脳波計測で確認する。（カロテノイド、糖類等）

鎮静作用のあるサフランの成分の一つであるクロセチンを添加し増強効果を確認した。また、糖類の中には亜鉛の睡眠効果を増強するものがあつたが、主アウトカムが糖代謝のヒト試験では採用に至らなかつた。

イ. 亜鉛の臨床的意義の解明

イー①. 一般人口 2,000 名を対象として、PSQI（ピッツバーグ睡眠調査票）、BDHQ（簡易型自記式食事歴法質問票）を実施した。睡眠が悪化している群では、1000kcal あたり亜鉛摂取量が有意に低かつた（ $F=15.4$, $p<0.01$, $d=0.18$ ）。

イー②. 糖尿病外来患者 1,024 名を対象として調査を実施した。血清亜鉛値は、糖尿病内科受診患者では平均 70.9 ± 12.3 $\mu\text{g/dL}$ と、健康被験者 85.2 ± 10.5 $\mu\text{g/dL}$ と比べて低値であつた。

イ③. 糖尿病患者と一般人口（健常群）から年齢・性別をマッチさせて、各群 527 名を無作為に抽出した。2 群間で、睡眠状態及び QOL の比較検討を行った。糖尿病患者は健常群に比べて、ピッツバーグ睡眠得点が有意に悪化していた ($F(1,1129)=8.3, p=0.004$)。下位項目においては、睡眠時間 (C3 得点)、睡眠効率 (C4) 得点が有意に悪かった。さらに身体的健康度が有意に低値であった ($F(1,1113)=9.0, p=0.003$)。

ウ. ヒトにおける効果の検証

ウ②. 亜鉛とアスタキサンチン含有食品摂取による軽度耐糖能異常と睡眠への改善効果（ヒト介入試験） 被験者スクリーニング（2015/2/2～3/31）：被験者募集と抽出は、委託先 CRO のパネルを対象とした。スクリーニング検査参加者 1011 名について所定の検査を行い、参加基準と除外基準を満たした軽度耐糖能異常の者 122 名を適格者とし、その内 120 名を本試験の組入れ者（試験食品割付者）とした。参加者を、下記 4 条件に無条件に割り付けた。(1)プラセボ食品（ホタテ缶）、(2)亜鉛 15 mg 含有食品（牡蠣缶）、(3)亜鉛 15 mg・（イサダ粉）アスタキサンチン 1.5 mg 含有食品、(4)亜鉛 15 mg・アスタキサンチン 3 mg+（ホタテ）。参加者は、12 週間にわたり、食品を毎日自宅にて夕食時に摂取した。

介入前、4 週間後、8 週間後、12 週間後に血液検査を実施した。血液検査の項目は、生化学マーカー、グリコアルブミン、インスリン抵抗性、亜鉛濃度、抗酸化マーカー（MDA、SOD、8-OHdG）等とした。また、介入前、2 週間後、4 週間後、6 週間後、8 週間後、10 週間後、12 週間後に睡眠と抑うつ気分、QOL に関する調査票（アテネ不眠尺度 AIS、ピッツバーグ睡眠質問票 PSQI、抑うつ CES-D、SF-8）に記入させた。試験期間を通じて活動量計を装着するとともに、毎日、睡眠、食事（飲酒）、有害事象の有無を記録させた。

本試験の組入れ者（試験食品割付者）120 名の基礎的情報は、男性 46 名、女性 74 名、年齢 59.6 ± 9.7 歳（平均 \pm SD）、身長 161.0 ± 7.9 cm、体重 56.2 ± 11.5 kg、BMI 21.6 ± 3.7 kg/m²、収縮期血圧 124.9 ± 19.7 mmHg、 72.1 ± 12.1 mmHg、グリコアルブミン $16.4 \pm 0.6\%$ であった。

摂取前後の血中亜鉛濃度に関して、食品群（4 群） \times 時期（摂取前・後）の 2 要因分散分析を行ったところ、群、時期の主効果、交互作用いずれも有意ではなかった（群の主効果： $F(3, 105) = 1.56, p = 0.20$ 、時期の主効果： $F(1, 105) = 0.01, p = 0.92$ 、交互作用： $F(3, 105) = 2.15, p = 0.99$)。

アクチグラフィによる睡眠の客観評価では、入眠潜時短縮、睡眠効率改善が認められた。

ピッツバーグ睡眠調査票（PSQI）総得点、アテネ不眠尺度（AIS）得点に関して、食品群（4 群） \times 時期（摂取前・後）の 2 要因分散分析を行ったところ、PSQI 総得点、AIS 得点ともに、時期の主効果が認められ、摂取前に比べて摂取後は得点が低下した。群の主効果、交互作用は認められなかった（PSQI 総得点：群の主効果： $F(3, 105) = 2.466, p = 0.88$ 、時点の主効果： $F(1, 105) = 67.13, p = 0.00$ 、交互作用： $F(3, 105) = 0.99, p = 0.40$ 、AIS 得点：群の主効果： $F(3, 105) = 0.39, p = 0.76$ 、時点の主効果： $F(1, 106) = 15.50, p = 0.00$ 、交互作用： $F(3, 106) = 2.36, p = 0.75$)。

血糖コントロール項目(HbA1c、グリコアルブミン、1,5-AG 等)、血清脂質（総コレステロール(T-

C)、HDL-C、LDL-C、中性脂肪(TG)、抑うつ気分や QOL 得点に、食品 4 群で有意な差は認められなかった。

食品摂取群 90 名のうち、不眠が改善した群 (n=31) と不眠が持続した群 (n=26) で血中指標の変化量を比較したところ、HDL-C と SOD の変化量に有意差が認められた。不眠持続群では HDL-C が低下したのに対して、不眠改善群では低下しなかった (図 7)。その他の指標 (血糖コントロール項目(HbA1c、グリコアルブミン等)、血清脂質 (総コレステロール(T-C)、LDL-C、中性脂肪(TG)等)、腎機能 (尿素窒素(BUN)、血清クレアチニン(s-cre)、e-GFR 等) には有意差を認めなかった。

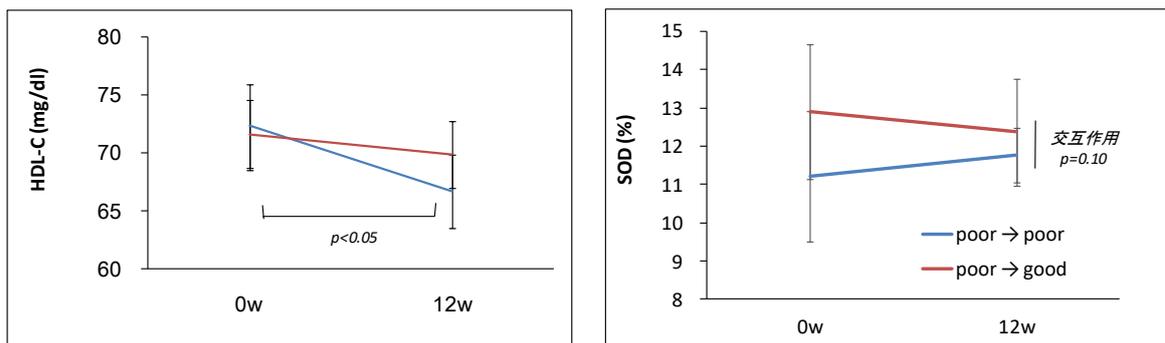


図 7 食品摂取群における睡眠状態と血中指標との関係

以上をまとめると、

- (1)アクチグラフィによる睡眠の客観評価では、入眠潜時短縮、睡眠効率改善が認められた
- (2)睡眠に関する主観評価は、通常用量を若干上回る Zn を一定期間摂っても、プラセボ効果を上回らなかった。
- (3)血中 Zn については、測定 (採血) 時刻の影響が考えられ、その変化は日内変動の範囲内にとどまっていた可能性がある。
- (4)血糖コントロール項目(HbA1c、グリコアルブミン、1.5-AG 等)、血清脂質 (総コレステロール(T-C)、HDL-C、LDL-C、中性脂肪(TG)は、有意な差は認められなかった。
- (5)12 週の食品摂取により睡眠が改善した者では、HDL-C の低下が抑制され、抗酸化物質高含有食品摂取による睡眠改善を介した抗メタボ効果の可能性が示唆された。

Ⅰ. 商品化の検討

- ①アスタキサンチンは、ベニザケ、ワイルドタイプのエビ殻・目を原料候補とし、アスタキサンチン含量の定量した結果、ベニザケ (アスタキサンチン 3.0 mg/100 g) を主原料として決定した。また、アスタキサンチンの食材からの定量方法を確立した。その後、鮭の確保が困難になり、イサダを候補に入れて検討。
- ② 亜鉛は、養殖の牡蠣、玄米を原料候補とし選定した結果、牡蠣を主原料として進めることとした。亜鉛 15mg (牡蠣(生) 13.2 mg 114 g 大きめ牡蠣 5.5 個 68 kcal) また、亜鉛の食材からの定量方法を確立した。保有の牡蠣は亜鉛濃度が低かったため、宮城県産の牡蠣の亜鉛濃度と供給性を確認した。

③酵母亜鉛及び無機亜鉛の吸収動態を把握し、アスタキサンチン配合により、亜鉛が高吸収となることを確認した。

④試験食の試作

はじめの被検食形態はゼリー状（90 ml）とし、味については、亜鉛イオン由来と見られる強い収斂味をマスキングにて緩和した。

最終ヒト試験用の亜鉛供給源の牡蠣やイサダは、冷凍保存、凍結乾燥、粉末化、等調理が可能な形態を検討し水煮缶を選択した。また、有効成分の変動を把握するため採取場所、時期の異なる牡蠣とイサダを評価し試験量を決定した。牡蠣水煮缶に関してはデータベース提供用に詳細なデータを取得した。

⑤ヒト試験で使用する被検食の検討

牡蠣と鮭を使用したハンバーグ・蒲鉾・焼売等作成し、試食を行った。量が多く長期的摂取が不可能であると判断しペンディング。鮭の供給が難しくなりイサダが代替となったため、イサダ粉末と牡蠣水煮缶を使ったレシピを作成し（図8）、対象者へ配布した。

🦪 牡蠣の簡単レシピ 🦪

◆1品目◆牡蠣のバスタ

(材料)

- ・牡蠣…1/2缶
- ・茹でたバスタ…200g
- ・バター…5g
- ・にんにく…1片
- ・鷹の爪…適宜
- ・塩こしょう…少々



(作り方)

- ①フライパンにバターを入れ、にんにく・鷹の爪を炒め香りが出たら、茹でたバスタを絡め入れる。
- ②①に牡蠣を入れ軽く絡めたら、塩こしょうで味を調え完

◆3品目◆牡蠣のスープ

(材料)

- ・牡蠣…1/2缶
- ・水…200cc
- ・ネギ…5g
- ・塩こしょう…少々
- ・鶏がらスープの素…小さじ1



(作り方)

- ①鍋に水を入れ沸騰させたら、牡蠣・鶏がらスープの素をいれ、最後にねぎを入れる。
- ②塩こしょうで味を調えたら完成。

◆5品目◆牡蠣のやきそば

(材料)

- ・牡蠣…1/2缶
- ・やきそば…1玉
- ・キャベツ…2枚
- ・もやし…1/3袋
- ・紅ショウガ…お好みで



(作り方)

- ①フライパンに油をひき、刻んだキャベツともやしをいれて炒める。
- ②やきそばを入れて水(分量外)を入れほくしながら炒め、牡蠣を入れる。
- ③ソースで味付けをし、更に盛り付ければ完成。

◆2品目◆牡蠣の炊き込みご飯

(材料)

- ・牡蠣…1/2缶
- ・ご飯…0.5合
- ・水…適量
- ・塩…少々
- ・醤油…小さじ1
- ・酒…小さじ1
- ・三つ葉…2〜3本



(作り方)

- ①お釜にといだお米、水、酒、塩、醤油をいれかき混ぜる。
- ②牡蠣をのせ、炊く。
- ③炊き上がったら器に盛りつけ、三つ葉を添えれば完成。

◆4品目◆牡蠣のオムレツ

(材料)

- ・牡蠣…1/2缶
- ・卵…2個
- ・ニラ…1〜2本
- ・パプリカ…10g
- ・バター…5g
- ・塩こしょう…少々



(作り方)

- ①ボウルに卵を割り入れ、牡蠣を絡ませる。
- ②①に刻んだニラとパプリカを混ぜ、塩こしょうで味をつける。
- ③熱したフライパンにバターを溶かし、②を入れ焼き上げれば完成。

◆6品目◆お好み焼き

(材料)

- ・牡蠣…1/2缶
- ・お好み焼き粉…100g
- ・卵…1.5個
- ・水…適量
- ・キャベツ…2〜3枚
- ・ソース…お好みで
- ・マヨネーズ…お好みで
- ・青のり…お好みで
- ・鰹節…お好みで



(作り方)

- ①ボウルにお好み焼き粉と卵、水を入れ、だまが無くなるまで混ぜる。
- ②荒くみじん切りにしたキャベツを入れ更に混ぜる。
- ③あらかじめ熱したフライパンに油を引き、生地を流し込み牡蠣の身をのせ、裏面がきつね色になったら裏返してしばらく焼く。
- ④ソースやマヨネーズ、鰹節をかけ、完成。

ホタテの簡単レシピ

◆1品目◆ほたてたし白ご飯

(材料)

- ・ほたて缶…1缶
- ・ご飯…1膳
- ・塩…お好みで
- ・醤油…お好みで



(作り方)

- ①炊き立てのご飯に、汁気を切ったほたて身を入れる。
- ②さつりと軽く混ぜ合わせながら、一度ラップをして、数分間蒸らせばできあがり(お好みに合わせて塩、醤油で味を調整して下さい)。三つ葉やネギをのせればもっと豪華に。

◆2品目◆ほたての大根サラダ

(材料)

- ・ほたて缶…1缶
- ・大根…1/6程度
- ・塩…小さじ1/4
- ・マヨネーズ…小さじ1/2
- ・焼き海苔…お好みで



(作り方)

- ①大根は3~4cm長さの千切りにして塩をふり、しんなりしたら絞って水気を切る。
- ②千切りにし焼き海苔とマヨネーズ、ほたて身を加ええれば完成。お好みでのりをかけてもよし。

◆3品目◆ほたてのカラルスープ

(材料)

- ・ほたて缶…1缶
- ・トマト…1/4個
- ・卵…1/2個
- ・水…200cc
- ・鶏ガラスープの素…小さじ1(中華スープの素でも可)
- ・塩こしょう…少々



(作り方)

- ①トマトは荒くみじん切りに、卵は溶いて置く。
- ②鍋に水を入れ沸騰させたら、ほたて身・トマト・鶏ガラスープの素を入れ、最後に溶き卵を回し入れる。塩こしょうを振り入れたら完成。

◆4品目◆ほたてのお茶漬け

(材料)

- ・ほたて缶…1缶
- ・ご飯…1膳
- ・市販海苔茶漬けの素…1袋
- ・切り三つ葉…2~3本
- ・わさび…適宜
- ・焼き海苔…適宜



(作り方)

- ①焼き海苔はちぎっておき、三つ葉は2~3cmの長さに切っておく。
- ②ごはんを茶碗に盛り、海苔茶漬けの素をかけ、ほたて身をのせる。
- ③お好みの分量のお茶をかけ、海苔と三つ葉を散らし、わさびを添える。

◆5品目◆ほたてのスパニッシュオムレツ風

(材料)

- ・ほたて缶…1缶
- ・卵…2個
- ・酒…大さじ1
- ・オリーブオイル…大さじ1
- ・長ネギ…10g



(作り方)

- ①ボールに卵を割りほぐし、酒、ほたて身を加えよく混ぜ合わせる。長ネギは白い部分を千切りにして水にさらし、白髪ねぎにしておく。
- ②フライパンにオリーブ油を熱し、中火にして①の卵液を一度に入れ、箸で底から軽く混ぜ、弱火にし、蓋をして焼く。
- ③3分ほどしたら裏返し、中火にして1分焼く。

◆6品目◆ほたてのわさび風味パスタ

(材料)

- ・ほたて缶…1缶
- ・パスタ…200g
- ・バター…10g
- ・練りわさび…適量
- ・刻み海苔…適量
- ・塩こしょう…適宜



(作り方)

- ①茹で上がったパスタをボウルにうつし、ほたて身を入れ、バター、練りわさびを加えてあえ、塩こしょうで味を調える。
- ②皿に盛り、刻み海苔をのせる。

イサダの簡単レシピ

◆1品目◆イサダのお手軽チャーハン

(材料)

- ・イサダ粉末…20g
- ・ご飯…200g
- ・玉ねぎ…1/8個
- ・ソーセージ…2本
- ・卵…1個
- ・醤油…大さじ1/2
- ・塩こしょう…少々



(作り方)

- ①フライパンに油を熱し、透明になるまで玉ねぎを炒める。
- ②①にソーセージを入れ軽く炒めご飯を入れ炒める。
- ③溶いた卵を②に入れ混ぜ合わせ、醤油・塩こしょうで味付けをし完成。

◆2品目◆イサダとじゃがいものサラダ

(材料)

- ・イサダ粉末…20g
- ・じゃがいも…1個
- ・玉ねぎ…20g
- ・いんげん…20g
- ・サラダ油…小さじ1
- ・マヨネーズ…大さじ2
- ・塩こしょう…適宜



(作り方)

- ①いんげんは色よく茹で、3センチ程度に切っておく。
- ②玉ねぎはスライサーで薄くする。
- ③水1リットルを沸かし、塩大さじ1(分量外)とじゃがいもを入れる。じゃがいもは串を刺してすど通るまで中火で20分くらいゆでる。ゆで上がったら良く水を切り、サラダ油をかけ全体になじませる。
- ④ボウルに③にイサダの粉末・玉ねぎ・マヨネーズ・塩こしょうをいれざっくり混ぜたら完成。

◆3品目◆イサダニラ玉葱

(材料)

- ・イサダ粉末…20g
- ・卵…2個
- ・ニラ…2本程度
- ・ごま油…大さじ1/2
- ・塩こしょう…少々
- ・酒…小さじ1



(作り方)

- ①ニラは3~4cmのざく切りにしておく。
- ②フライパンにごま油を熱し、卵を入れて大きく混ぜ、半熟状になったら一度取り出す。
- ③同じフライパンでニラを炒め酒を振掛ける。
- ④③に②を戻し、塩こしょう・イサダ粉末を入れ軽く混ぜて器に盛

◆4品目◆イサダの中華風スープ

(材料)

- ・イサダ粉末…20g
- ・長ネギ…5g
- ・しいたけ…1株
- ・水…200cc
- ・鶏ガラスープの素…小さじ2/3
- ・酒…少々
- ・白すりごま…適宜
- ・ごま油…小さじ1
- ・水溶き片栗粉…少々
- ・塩…少々



(作り方)

- ①鍋に水を熱し、沸騰したら鶏ガラスープの素を入れて、イサダの粉末を入れる。
- ②残り(水溶き片栗粉以外)の調味料を入れて、最後にお好みで塩を少々。水溶き片栗粉で少しとろみをつける。
- ③長ネギ・しいたけを入れ、一煮立ちしたら完成。

◆5品目◆イサダのトマトパスタ

(材料)

- ・イサダ粉末…20g
- ・玉ねぎ…1/8個
- ・にんにく…1かけ
- ・トマトホール缶…1/3缶
- ・オリーブ油…大さじ1
- ・パスタ…200g
- ・パスタの茹で汁…30cc
- ・塩・胡椒…少々



(作り方)

- ①玉ねぎとにんにくはみじんぎりにする。
- ②フライパンにオリーブ油とにんにくのみじん切りを入れて中~弱火にかけ、焦がさないようにオリーブ油ににんにくの香りを移す。
- ③②に玉ねぎを入れ、しんなりするまでよく炒める。
- ④トマトホール缶を潰しながら入れ、イサダ粉末を入れ煮込む。
- ⑤④に茹でたパスタを入れ、茹で汁を加え混ぜる。
- ⑥塩・胡椒をいれ完成。

◆その他イサダの粉末に合う料理◆

※即席の商品と併せても美味しくいただけます。

- ・トマトベースのスープ
- ・ホワイトクリームスープ
- ・カレー
- ・鶏ガラスープ
- ・お味噌汁

図8 牡蠣、ホタテ、イサダの簡単レシピ

⑥摂取量が多く継続的に摂取しづらいとの指摘から、摂取しやすいレバー（豚）を用いて「レバーペースト」をテーブル試作した。

⑦食育への活用

- ・抗酸化物質高含有食品の「睡眠の質向上」「疲労回復」「紫外線予防」等の効果について、スポーツ施設や合宿施設等への食育活用を検討する。
- ・機能性お弁当の食材として紹介する。
- ・必須ミネラルである亜鉛の認知向上を量り、牡蠣だけでなく玄米やパプリカ等の亜鉛高含有食品のエビデンスとして成分の研究を役立てる。
- ・メンタルセミナー等で睡眠改善のために亜鉛やアスタキサンチン含有食品の摂取が有効であることを紹介していく。

今後の課題・展望

長期的に摂取しないと効果が見込めない為、試験食上も製品化する際も長期的摂取が可能な食品形状にする必要があるが、食品への成分添加が認められていない為、設定基準値をクリアする商品の試作が大変難しかった。抗酸化成分高含有食材を利用したテラーメイドなお弁当やレシピを確立し、それに利用できる粉末や水煮などの中間加工食品で市場に参入する予定だったが、機能性表示食品の開発プロジェクトになり、必須ミネラルである亜鉛の研究は位置づけが難しかった。欧州では食品において亜鉛は様々な機能が表示許可になっているため、日本においても独自の機能性表示が可能になることを望む。また、この研究を通して同じものを食べ続けることを推奨することは、日本の文化に適さないし、デメリットが懸念されると感じた。農産物、海産物は成分が変動するため成分での研究が重要であると考え。

研究成果一覧（論文、特許、商品等）

- 1) 亜鉛含有酵母の睡眠誘発効果 Yoan Cherasse, 齊藤仁美、裏出良博 睡眠学会第 39 回 定期学術集会
- 2) 「すっとね」教育テキスト 富士フィルム
- 3) 当院通院中の糖尿病患者 1023 名の睡眠実態の検討 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会
- 4) Zinc-containing yeast extract promotes nonrapid eye movement sleep in mice. Yoan Cherasse, Hitomi Saito, Nanae Nagata, Kosuke Aritake, Michael Lazarus and Yoshio Urade, Mol. Nutr. Food Res. 2015, 59, 2087-2093.
- 5) Zinc-containing yeast extract promotes non-rapid eye movement sleep in mice 第 38 回 日本神経科学学会
- 6) 2 型糖尿病患者にみられる不眠症状の主観的特徴 不眠研究会
- 7) TBS 夢の扉 裏出・Cherasse についての取材
- 8) アスタキサンチンと亜鉛の睡眠改善メカニズム解明に向けた遺伝子発現解析 第 39 回日本睡眠学会定期学術集会

- 9) Komada Y, Narisawa H, Ueda F, Saito H, Sakaguchi H, Mitarai M, Suzuki R, Tamura N, Inoue S, Inoue Y, Relationship between Self-Reported Dietary Nutrient Intake and Self-Reported Sleep Duration among Japanese Adults, *Nutrients* 2017, 9(2), 134.
- 10) Hitomi Saito, Yoan Cherasse, Rina Suzuki, Makoto Mitarai, Fumitaka Ueda, Yoshihiro Urade, Zinc-rich oysters as well as zinc yeast- and astaxanthin-enriched food improved sleep efficiency and sleep onset in a randomized controlled trial of healthy individuals, *Mol.Nutr.Food Res.* (in press) .

脂質代謝改善効果を持つβ-コングリシニン高含有大豆の栽培技術及び加工食品の開発

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

世代作物開発研究センター 羽鹿牧太、高橋幹、高橋浩司

食品研究部門 高橋陽子

東北農業研究センター 菱沼垂衣

九州沖縄農業研究センター 高橋将一

近畿大学 森山達哉

北海道情報大学 健康情報科学研究センター 西平順、西村三恵

長野県野菜花き試験場 塩川正則、岡本潔

旭松食品株式会社 石黒貴寛

ミナミ産業株式会社 伊藤治郎

要約

β-コングリシニンの簡易な定量法として、タンパク質を電気泳動して各成分に分離後ゲルを染色してバンドの濃さで測定するデンスト法、固相化した抗体にサンプルを加えて抗原抗体反応をさせ、これに標識抗体を反応させ、吸光度を測定するサンドイッチ ELISA 法を開発した。

大豆β-コングリシニン高含有食品の健康の維持・増進効果については、単回摂取と長期試験摂取の2回のヒト介入試験でその効果を明らかにした。単回摂取試験ではプラセボ食品摂取時の血中濃度－時間曲線下面積が高い集団では被験食品摂取で血中中性脂肪(TG)が有意に低下し、全被験者で被験食品摂取後にインスリンが有意に低下した。また長期介入試験では、被験食品摂取で TG が有意に低下した。

大豆のβ-コングリシニンを高含量化については、栽培地域により有効な栽培技術が異なると推察されたほか、11S サブユニットを欠失した成分組成を持つ高タンパク系統の育成の効果が高いと考えられた。

研究の背景や目的

大豆β-コングリシニンは、血中中性脂肪濃度低下などメタボリックシンドロームの改善作用を有するタンパク質画分として報告されており¹⁾、イソフラボンと並んで高い健康維持増進効果が期待される大豆の成分である。しかしβ-コングリシニンの効果を得るためには、1日5gの摂取が必要とされるものの、普通大豆にはβ-コングリシニンが全重量の6-10%程度しか含まれていないため、必要量を通常の大豆食品として摂取することは困難である。このためこれまでは分離大豆タンパク質から精製したβ-コングリシニンのサプリメントが活用されている。

本プロジェクトでは、大豆食品として摂取したときのβ-コングリシニンの健康の維持・増進効果を明らかにして、国産大豆の生産拡大や新たな機能性食品の市場開拓及び国民の健康に寄与することを目的として研究を実施した。また研究成果を広く利用可能とするために、定量法が確立していないβ-コングリシニンを簡易に測定する手法を開発するとともに、通常の商品から必要量の摂取が可能なレベルまでβ-コングリシニンを高

含量化できるような大豆の栽培技術の開発を行った。

研究の内容と方法

①β-コングリシニンの簡易定量法の開発

種子中や食品中のβ-コングリシニン含量はまだ決まった定量法が確立していないため、デンスト法、サンドイッチ ELISA 法等の複数の簡易定量系を構築し、その妥当性を評価した。

デンスト法の検討では、サンプルから抽出した全タンパク質と濃度の異なるβ-コングリシニン標品を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(SDS-PAGE)で電気泳動し、CBB（クーマシーブリアントブルー）染色後、β-コングリシニンに該当するバンドのデンスティ（濃さ）を測定した。標品は数段階の濃度の溶液を作製して同時に泳動し、同様に濃さを測定した。標品の濃度とバンドの濃さから作成した検量線を用いてサンプルのβ-コングリシニン含量を計算した。

また、β-コングリシニンに対する抗体を作成し、種々の ELISA 法を構築した。そのなかでも予備試験で精度が高かったサンドイッチ ELISA 法の検討を行った。固相化した抗体にサンプルを加えて抗原抗体反応をさせ、これに標識抗体を反応させた。洗浄後基質と反応させて吸光度を測定した。デンスト法と同様に標品から得られた検量線を用いてサンプルのβ-コングリシニン含量を計算した。

③ ヒト介入試験による高β-コングリシニン大豆食品の機能性評価

単回摂取試験では、事前スクリーニングで食後中性脂肪が上昇しやすく、かつ空腹時中性脂肪値が 150 mg/dl 未満の被験者 24 名を選抜して 2 群に分け、プラセボ対照二重盲検クロスオーバー試験を行った。試験食品は豆乳と大豆クッキーとし、β-コングリシニンが被験食には 6.4 g、プラセボ食には 1.3 g 含まれるように調製した。血液検査は摂取前と食品摂取後 2、3、4、5、6 時間に行い、評価項目は中性脂肪 (TG)、血糖値、インスリン、遊離脂肪酸、リン脂質、アポリポタンパク質 B とした。

長期継続摂取試験では、事前スクリーニングした被験者（空腹時 TG が正常値からやや高め（111.8 ±44.5 mg/dl、平均値±SD）で薬剤を常用していない 30 歳以上 70 歳未満の男女 150 名）を 2 群に分け、プラセボ対照ランダム化二重盲検並行群間比較試験でヒト長期介入試験を実施した。評価項目は、中性脂肪(TG)、総コレステロール、HDL コレステロール、LDL コレステロール、体重、BMI、体脂肪率、空腹時血糖値、HbA1c、インスリン、アディポネクチン、高感度 CRP、GLP-1 とした。

被験食にはそれぞれ「ななほまれ」21g が含まれるように調製した大豆フレーク 8 袋、全粒豆乳 3 本、蒸し大豆 3 袋を 1 週間分（β-コングリシニン摂取量 5.81 g/日）として配布し、1 日にこのうちの 2 つを適宜組合わせて摂取した。プラセボ食には「ななほまれ」の代わりに低β-コングリシニン含量大豆の「なごみまる」を用いた（β-コングリシニン摂取量 0.41 g/日）。

③高β-コングリシニン大豆の純度維持と高含量化技術の開発

「ななほまれ」の栽培可能地域のつくば、長野、熊本に栽培試験地を設け、播種期、圃場、栽植密度、緩効性肥料に関する栽培試験を設定した。標準品種は「ななほまれ」の戻し交雑親で普通品種の「タマホマレ」とした。また同時に育成中の高 β-コングリシニン系統を供試し、収穫後全タンパク質含量とともに β-コングリシニン含量を測定した。

研究の結果と考察

①β-コングリシンの簡易定量法の開発

(1)デンシト法による β-コングリシンの定量法

デンシト法で定量した標品のデンシティーは濃度と比例し、直線的な検量線を作成できた（図1）。この検量線を利用して、サンプルの吸光度から β-コングリシン含量が測定できた。

デンシト法による測定は、高純度の標品があれば安価で、β-コングリシンのサブユニットごとの定量が可能だが、大豆以外のタンパク質が混じる可能性があるサンプルでは、バックグラウンドが影響することから正確な測定ができない欠点がある。

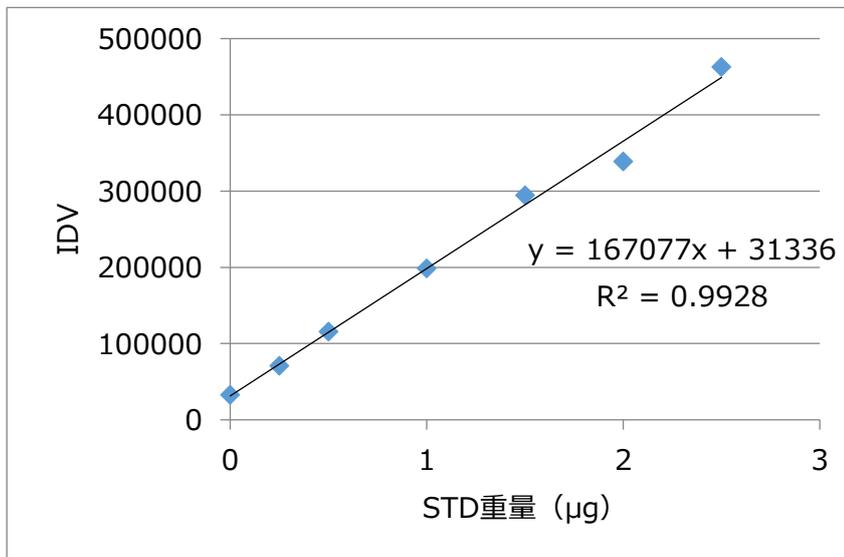


図1 デンシト法における β-コングリシン標品を用いた検量線

(2)サンドイッチ ELISA 法

複数の抗体を作製し、抗原固相化 ELISA や競合 ELISA、サンドイッチ ELISA などを構築した。このうち、構築したサンドイッチ ELISA と同原理の大豆タンパク用の市販キットが研究期間実施中に発売されたため、これを用いて測定し、計算で補正する方法を行った。デンシト法と同様に標品の濃度と吸光度に直線的な比例関係が確認され、標品から作成した検量線からサンプルのβ-コングリシン含量を測定できた(図2)。

サンドイッチ ELISA 法は市販キットを利用でき、他の食材との混合サンプルや分解物でも測定可能だが、非常に高感度のため高度な希釈が必要であった。また試験器具などに付着したわずかなコンタミのため、測定誤差が大きくなったことから、サンプルの調製に注意を払う必要がある。

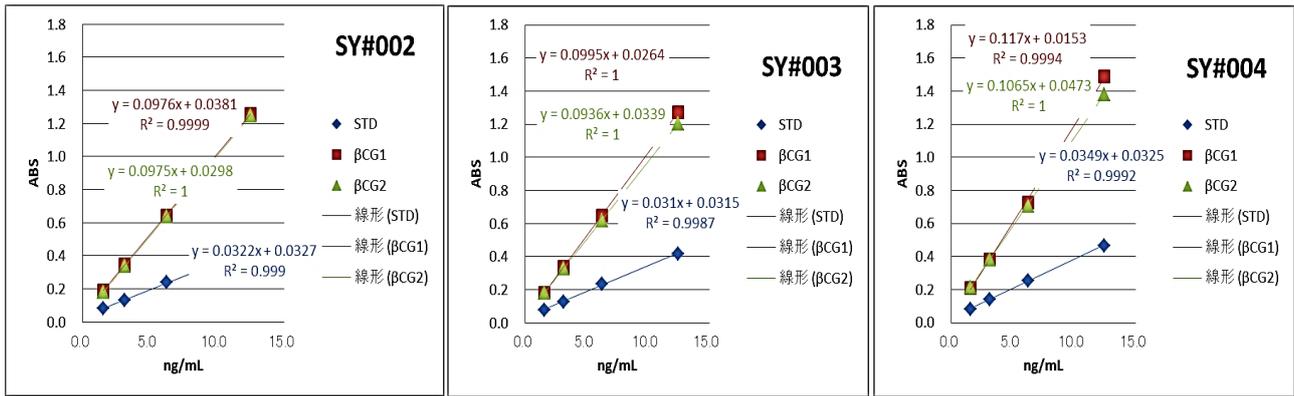


図 2 サンドイッチ ELISA 法における大豆標品と精製 β-コングリシニン標品の検量線

市販キット「モリナガ FASPEK エライザ II 大豆」((株) 森永生科学研究所) を用いて、大豆標品での定量値と精製β-コングリシニンの定量値の差異を係数で補正する。係数は 0.32 が妥当と考えられた。

②ヒト介入試験による高β-コングリシニン大豆食品の機能性評価

(1)単回摂取試験

試験中止者及び解析除外者はなく 24 名全員を解析対象とした。TG の血中濃度 – 時間曲線下面積 (AUC) については、全被験者において被験食品摂取で低下傾向であったものの有意差は認められなかったが、プラセボ食品摂取時の AUC が高い集団 (n=12) においては、被験食品摂取で有意に低下した (図 3)。インスリンの AUC については全被験者において、被験食品摂取で有意に低下した (図 4)。以上の結果より、高β-コングリシニン大豆加工食品の単回摂取は食後中性脂肪上昇抑制作用を示し、その作用機序にインスリンの分泌が関与していることが示唆された。

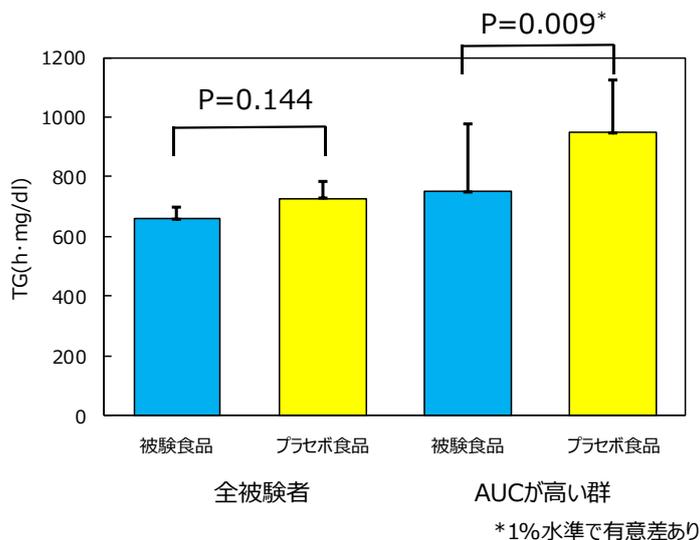


図 3 単回摂取試験における血中中性脂肪(TG)量

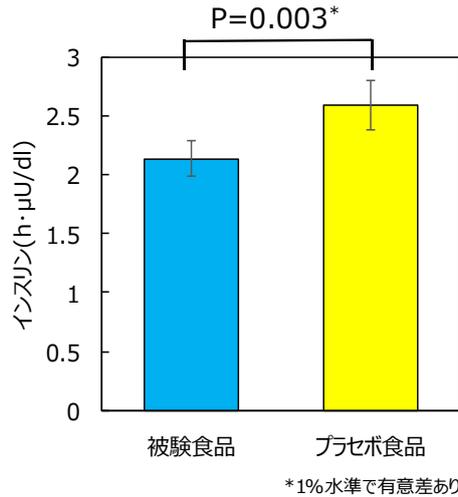


図 4 単回摂取試験における血中インスリン量

(2)長期介入試験

ヒト長期介入試験は 12 名が試験途中で脱落、大豆加工品の過剰摂取などで 4 名、合計 16 名を除外した 134 名のデータが得られた（プラセボ 64 名、被験者 70 名）。主要評価項目の空腹時血清中トリグリセリド(TG)含量は試験開始時と終了時（12 週目）では、プラセボ食では変化がなかったが、被験食では有意に低下した（図 5）。副次評価項目については、いずれも有意差はなかったが、体重、体脂肪率が被験食でやや増加が抑えられる傾向、空腹時血糖値が被験食でやや増加傾向であった（データ省略）。

主要評価項目である中性脂肪値(TG)が高β-コングリシニン食で低下したことはこれまでの知見¹⁾と同様の傾向であり、高β-コングリシニン大豆加工食品の継続摂取は空腹時中性脂肪改善作用を有することが示唆された。

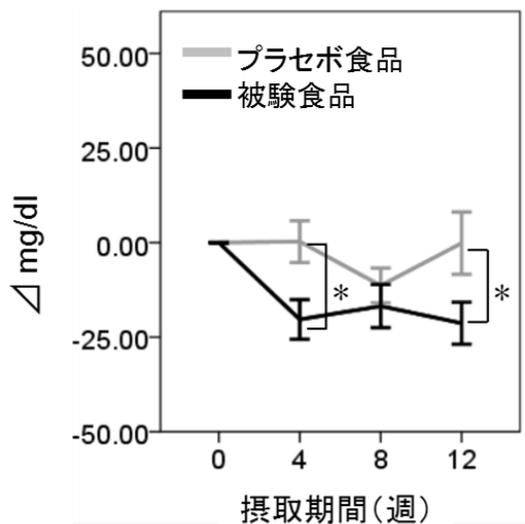


図 5 空腹時血中中性脂肪(TG)の継時的変化量

*被験食品摂取群でプラセボ食品摂取群と比較して、摂取 4 週後（ $p=0.035$ ）及び 12 週後で TG が有意に低下した（ $p=0.041$ ）。

③ 高β-コングリシニン大豆の純度維持と高含量化技術の開発

「ななほまれ」のβ-コングリシニン含量はつくば、長野、熊本のいずれの栽培地においても戻し交雑親の「タマホマレ」より多く、含量が最も多い「ななほまれ」の栽培処理区では標準栽培「タマホマレ」の 1.8~1.9 倍の含量を示し（2014 年）、11S サブユニットを欠失した品種で高β-コングリシニン化が図れることを再確認した。「ななほまれ」の栽培条件とβ-コングリシニン含量との関係には地域間差異があり、熊本では6月播きより7月播きでβ-コングリシニン含量が高まった。また、熊本ではそれぞれの播種時期において、粗蛋白含有率とβ-コングリシニン含量（図6）、及び百粒重とβ-コングリシニン含量の間に正の相関が認められた。このような地域では、適切な播種時期を選ぶ、土壌水分の管理等で粒を十分肥大させる、生育後期に窒素を補給する等の技術が、β-コングリシニン含量の向上に効果があると考えられた。一方、つくばと長野では播種時期とβ-コングリシニン含量の間などに一定の傾向が認められなかったことから、高含量化技術は地域ごとに検討する必要があることが示唆された。

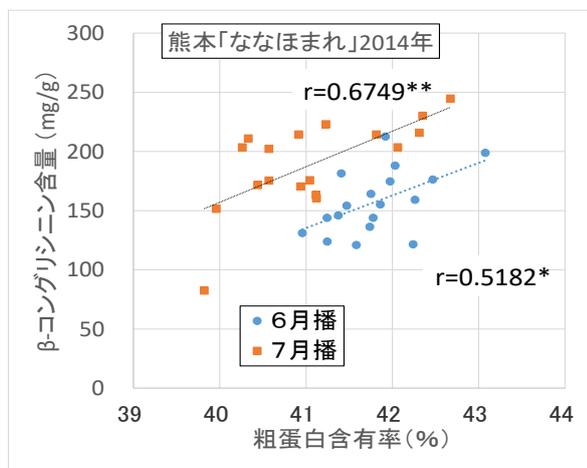


図6 播種時期、粗蛋白含有率とβ-コングリシニン含量の関係

本研究では「ななほまれ」のほか、11S サブユニットを欠失した育成中の系統についてもβ-コングリシニン含量を測定した。その結果、粗蛋白含有率が高い「九州 174 号」、「関東 133 号」、「東山系 c453」は、「ななほまれ」より、β-コングリシニン含量が高いことが示された（図7）。

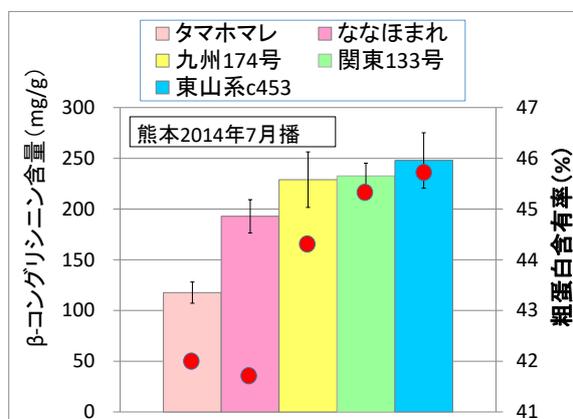


図7 品種・系統によるβ-コングリシニン含量の違い
タマホマレ以外の4つが11Sサブユニット欠失品種・系統
棒がβ-コングリシニン、●が粗蛋白、縦線は標準誤差 n=3

今後の課題・展望

大豆β-コングリシニンを食品として摂取しても中性脂肪低減効果を確認することができたことは、食生活を通じて大豆が国民の健康維持増進に寄与できることを示した成果であり、機能性表示を通じて大豆食品の消費拡大にも貢献できる。実際に高β-コングリシニン食品の原材料として、長野県と三重県で「ななほまれ」の契約栽培による生産が行われ、ここで得られた生産物をもとに、本研究でも用いられた大豆フレークなどで健康機能性表示が計画されている。

β-コングリシニンは腸内でペプチドに分解されて効果を発揮すると考えられることから、今後はその作用機作とともにどのペプチドが効果の主要因となるのかを見極める必要がある。

β-コングリシニンの定量法については既に市販されている大豆タンパク質の検査キットが利用可能であり、今回明らかにした変換係数を用いることで簡単に定量できる。本定量法はβ-コングリシニン高含有化食品の開発や商品販売の際の含量確認に活用できる。

また原材料の高β-コングリシニン化については、低タンパク含量の「ななほまれ」に代る、「フクユタカ」11S 欠失系統の「九州 174 号」、「サチユタカ」11S 欠失系統の「関東 133 号」等の育成が進んでいる。これらの系統は「タマホマレ」ベースの「ななほまれ」よりも栽培しやすいことが期待できることから、将来の高β-コングリシニン大豆として期待される。施肥や播種技術による高含有化は、地域ごとに効果が異なることが明らかになったことから、今回の研究結果をもとに今後は地域ごとに高含有化技術を確立していく必要がある。

参考文献

1) Kohno, M. et al. (2006) Decreases in Serum Triacylglycerol and Visceral Fat Mediated by Dietary Soybean.β-conglycinin., J Atheroscler Thromb. 13(5):247-255.

研究成果一覧（論文、特許、商品）

- 1) Nishimura, M. et al. (2016) Improvement of Triglyceride Levels through the Intake of Enriched-β-Conglycinin Soybean (Nanahomare) Revealed in a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study., Nutrients. 8(8): 491.
- 2) Takahashi, Y., et al. (2017) Comparison of the Effects of Differently Processed Soy Foods on Lipid Metabolism in Rats., Food Science and Technology Research, 23(1):163-168.
- 3) 西村三恵ほか(2016)β-コングリシニン高含有大豆加工食品の摂取による脂質代謝改善作用に関するプラセボ対照ランダム化二重盲検並行群間比較試験. 第 14 回 日本機能性食品医学会学術総会.
- 4) 高橋陽子ほか (2016) 高β-コングリシニン大豆がラットの脂質代謝に及ぼす影響. 日本農芸化学会 2016 年度大会.

認知機能障害予防作用を持つケルセチン高含有タマネギの栽培技術及び加工食品の開発

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門 小堀真珠子、田村基
 徳島大学・大学院 HBS 研究部 寺尾純二、向井理恵、濱田康弘
 岐阜大学・大学院医学系研究科 中川敏幸、犬塚 貴、伊藤正徳
 北海道情報大学・医療情報学部 西平順、西村三恵
 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター 室崇人、嘉見大助
 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 東北農研センター 山崎篤
 岐阜県農業技術センター・野菜果樹部 勝山直樹、近藤俊文
 鹿児島県農業開発総合センター 加治俊幸、別府誠二
 有限会社植物育種研究所 岡本大作

要約

タマネギに多く含まれるケルセチンは生活習慣病予防効果を示すことが期待されている。本研究では、効果的な摂取方法を明らかにするため、腸内細菌叢によるケルセチンの代謝・分解性の個人差に関する知見を得ると共に、タマネギからのケルセチンの体内への取り込みに影響する食べ合わせを明らかにした。また、新たなケルセチンの健康機能性として認知機能改善作用を動物試験で明らかにした。農研機構で開発したケルセチン高含有タマネギ「クエルゴールド」¹⁾を用いたヒト介入試験では、高齢者や早期アルツハイマー病患者の認知機能を改善することを示唆する結果を得た。更に、ケルセチン高含有タマネギの利用と普及を目指して、栽培試験で「クエルゴールド」が北海道のみならず本州でも栽培できる可能性を示すとともに、種子販売を開始した。「クエルゴールド」は乾物率が高く、スープ等への加熱加工に適している。

研究の背景や目的

現在、メタボリックシンドロームが疑われる者または予備群は中高年の男性の2人に1人、女性の5人に1人と考えられている。また超高齢社会の現代において、認知症の発症率は高く、日本における認知症の発症者は462万人を越え、65才以上の人口の約15%と推定されている。肥満や糖尿病などの生活習慣病が認知症の発症率を有意に増加させることも明らかになっており、高齢者や生活習慣病予備軍に配慮した、生活習慣病及び認知機能改善に有効な食事メニュー及び加工食品を開発が求められている。

タマネギは国内生産量4位の主要な野菜であり、疫学研究及び動物実験等により生活習慣病予防効果が期待されるケルセチンを多く含むが、その有効性は十分には実証されていない。またタマネギは国内では大きく分けて北海道の春まき作型、府県の秋まき作型で栽培されているが、それぞれで使用される品種群は特性が大きく異なっており、農研機構で開発した春まき用品種であるケルセチン高含有タマネギ「クエルゴールド」の栽培地は北海道に限られている。

そこで、本研究では動物実験によりケルセチンの生活習慣病及び認知機能改善効果の作用機構を明らかにすると共に、これらの効果を高める食品成分との組み合わせ、調理・加工方法及び腸内細菌による代謝の影響を明らかにする。さらにこれらの知見を元に、介入試験等によりケルセチン高含有タマネギの認知機能改善

効果を明らかにして、有効な食事メニュー及び加工食品を開発する。またケルセチン高含有タマネギ「クエルゴールド」の日本各地における適応性を明らかにして普及を目指す。さらに産地において種子生産から加工食品販売までのビジネスモデルを構築する。

研究の内容と方法

1. ケルセチンの生活習慣病予防効果を高める食品成分の組み合わせの解明

ケルセチンの有効性及び有効な摂取方法を明らかにするための基礎的知見を得ることを目的として、動物モデルを用いて、生活習慣病予防や認知機能改善に有効な食品成分との組み合わせを検討した。

すなわち、高脂肪・高ショ糖・高コレステロール食（西洋型食）に 0.05%ケルセチン、5%ドコサヘキサエン酸含有精製魚油（DHA）、0.5%クルクミン、0.05%ケルセチン+5%DHA 又は 0.05%ケルセチン+0.5%クルクミンを添加して C57BL/6J マウスに 18 週間摂取させた後、各群について、生活習慣病の発症や認知機能低下に関わる酸化ストレスマーカー及びその他の因子を測定した。

2. ケルセチンの効果的な摂取の基盤的知見となる腸内菌叢の個人差解明

ケルセチンの腸内菌叢による代謝・分解性は個人によって異なることから、ケルセチンの効果的な摂取の基盤的知見となる腸内菌叢の個人差を解明し、効果的なケルセチンの摂取方法についての基礎的知見を提案することを目的として、ケルセチンの腸内菌叢による代謝・分解性の解析を行った。また、ケルセチン代謝・分解性腸内細菌を分離すると共に、ヒト腸内菌叢のケルセチン代謝・分解を抑制的にするような食品成分を検討した。

ケルセチンの腸内菌叢による代謝・分解性の解析においては、ヒト試験を行い、成人男女ヒト糞便を採取した。採便は通常の検便方法を改良して行い、到着当日に採取して重量測定した後、嫌気性培地で希釈した。この糞便の希釈液にケルセチンを添加してアネロパックで嫌気培養した後、培養液を抽出し、HPLC によってケルセチンの分析を行った。

さらに、糞便サンプルを嫌気性液体培地で希釈し、ケルセチンを添加して 37℃で 24 時間嫌気培養した後、培養液を希釈して、変法 GAM 平板培地に塗抹して培養した。分離した種々のコロニーをケルセチンを含む嫌気性条件下で培養し、ケルセチンの代謝・分解性を検討し、ケルセチン代謝・分解性腸内細菌の分離を試みた。また分離したケルセチン代謝・分解性腸内細菌とケルセチンの培養液に種々の食品成分を添加して、ケルセチン代謝・分解菌の分解を抑制し、ケルセチンの吸収性を向上する可能性のある食品成分同定を試みた。

3. ケルセチンの生体利用性を高める調理加工法の解明

食品による健康機能を証明するためにはヒト介入試験が必須であるが、その摂取方法により機能成分の生体利用性は大きく変化する。そこでケルセチンの生体利用性が向上するタマネギ調理加工法を開発するため、ヒト摂取試験にて、タマネギの調理加工法がヒト血漿のケルセチン代謝物濃度に与える影響を評価した。

対象者は男子学生ボランティア 6 名とし、100 mg ケルセチンアグリコン相当量を含むタマネギを摂取する単回投与実験を行った。摂取前と摂取後 1.5 時間及び 3 時間後に採血を行い、ケルセチン代謝物画分を脱抱合処理して、アグリコンとして血漿ケルセチン濃度を HPLC 分析で決定した。初年度はタンパク食品として「鶏ささみ」、脂質食品として「豚ばら肉」、糖質食品として「さつまいも」を選択し、これらの食品を 100 g 同時摂取した場合のケルセチン血漿濃度に対する影響を比較した。次年度は、「スキムミルク」、「おから」、「米

飯」を同時摂取食材として選択し、同様の摂取実験を行なって血漿ケルセチン濃度を比較した。

さらに同時摂取した食材がケルセチンの生体利用性や脂質代謝及び糖質代謝に与える影響を評価するため、健康人を対象にタマネギ加工調理食品を組み合わせた食事として摂取する介入試験を実施した。

フライタマネギを含む弁当 3 種類(和風、洋風、中華風)の献立を作成し、調理した。上記と同様の条件と方法により、3 種の弁当のヒト摂食実験を行い、血漿ケルセチン濃度並びに、摂食後の血漿脂質代謝及び糖代謝マーカー（インスリン、中性脂肪、及びグルコース濃度）の変化を測定することにより、ケルセチンの生体利用性にとって有利であり、かつ健康増進を期待できる食事の献立を明らかにすることを試みた。

またインビトロモデル試験により、タマネギに含まれるケルセチン配糖体の腸管吸収の効率に影響する食品因子を解明するため、ケルセチン配糖体の吸収における鍵反応である配糖体の脱糖化（アグリコン生成反応）に対する影響を検討した。すなわち、市販のラット腸アセトンパウダーを用いて、タマネギに含まれるケルセチン-3,4'-ジグルコシド：Q3,4'diG）の腸管での加水分解に対する各種糖類の影響を HPLC 分析法により比較評価した。

4. ケルセチン及びケルセチン高含有タマネギの認知機能改善効果の解明

認知症の主な危険因子は加齢と肥満・糖尿病であることから、生活習慣病と関連性のある認知機能低下に対するケルセチンの予防効果を明らかにするため、アルツハイマー病（AD）モデルマウスを用いて記憶認知機能に対するケルセチン摂取の効果を解析した。

さらに、ケルセチン及びケルセチン高含有タマネギの認知機能低下に対する効果を実証するため、短期（4 週間）タマネギ粉末摂取：軽度～中程度の認知障害を認めるアルツハイマー病患者 5 名に各タマネギ粉末 18 g を 4 週間連続摂取する介入試験を実施した。

5. ケルセチン高含有タマネギの継続摂取による認知機能改善効果に関するヒト介入試験

本研究ではケルセチン高含有タマネギの認知機能改善効果に関する有効性をヒト介入試験で明らかにすることを目的として、ケルセチン高含有タマネギの継続摂取による認知機能改善効果に関するプラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を実施した。

ヒト介入試験計画については、北海道情報大学生命倫理委員会にて 2014 年 12 月 1 日に承認され、同年 12 月 14 日に UMIN 登録を行った（UMIN0000159401）。スクリーニング検査を行い健常及び軽度の認知機能低下が認められる被験者 60 名（男 31 名、女 29 名）を本試験に組み入れた。また、本試験ではスタディーパートナーとして被験者の家族等を試験に参加させることとした。被験者をケルセチン高含有タマネギ粉末（ケルセチン配糖体摂取量 60 mg/1 日）摂取群（30 名）とケルセチンをほとんど含まない白タマネギ粉末摂取群（30 名）に、性別、年齢、認知機能検査の点数が均一になるように第三者機関で割り付けを行った。摂取期間は 24 週間とし、摂取開始前、摂取 12 週後、摂取 24 週後に認知機能検査と血液検査、摂取開始前に採便を行った。主要評価項目はミニメンタルステート検査（MMSE）と認知機能検査とし、副次評価項目は協力者アンケート、血液検査（脂質、血糖、酸化マーカー）とした。

6. 冬まき作型における「クエルゴールド（系統名：月交 24 号）」の評価

北海道向けに開発された「クエルゴールド」について、生産適地を見極めるために、東北地方、中部地方、九州地方における「クエルゴールド」の栽培適応性を、冬まき作型で播種期を 3 水準設定して 2 年間栽培することにより検定した。適応性検定試験で栽培された「クエルゴールド」のケルセチン含量を定量し、産地による傾向を検討した。

7. 「クエルゴールド（系統名：月交 24 号）」の事業化実現に向けた業務

種子生産から加工品販売までを統合した 6 次産業化のビジネスモデル構築を目的とし、採種における雄親・雌親系統の特性を明らかにして「ケルゴールド」の商用種子生産を開始した。またケルセチンの機能性を生かしたスープ等の加工食品や弁当メニュー等を検討した。

研究の結果と考察

1. ケルセチンの生活習慣病予防効果を高める食品成分の組み合わせの解明

ドコサヘキサエン酸(DHA) 及びクルクミンは生活習慣病改善に関わる効果及び認知機能改善効果があることが報告されている。西洋型食にケルセチン、クルクミン、DHA、またはケルセチン及びクルクミンまたは DHA を組み合わせて添加することにより、体重の有意な変化は認められなかったが、いずれも血糖値の上昇を抑制した。また、このうちケルセチンと DHA を組み合わせることにより、肝臓の酸化ストレスマーカーは有意に低下した。遊離脂肪酸濃度はケルセチン単独よりも、DHA またはケルセチンと DHA との組み合わせで低く、ケルセチン及び DHA との組み合わせによる作用は組織によって異なり、認知機能改善に関わる組み合わせの効果は認められなかったものの、肝臓においては、血中肝臓の酸化ストレス抑制並びに脂肪肝の抑制に有効であることが示唆された。

2. ケルセチンの効果的な摂取の基盤的知見となる腸内菌叢の個人差解明

ヒト試験に参加した学生 6 名分の糞便希釈液をケルセチンと 24 時間嫌気培養してケルセチンの代謝・分解性を検討したところ、24 時間でのケルセチンの代謝・分解性は高かった。6 名のうち 1 名についてはケルセチン代謝・分解性が他の 5 名に比べて低い結果となり、ヒト腸内菌叢のケルセチン代謝・分解性には個人差が認められた。健康な老人男性と女性の 56 人分の糞便希釈液にケルセチンを添加し 7 時間と 24 時間嫌気培養したところ、ケルセチン代謝・分解量は時間とともに増大した。24 時間でケルセチンのほとんどが代謝・分解されるヒトも多く存在したが、ケルセチン分解性の低いヒトも存在した。

ヒト糞便から、ケルセチン分解性腸内細菌の分離を試み、ケルセチン分解性腸内細菌の分離を試み、新たにケルセチン分解性腸内細菌 19-20 株と N4-2 株の分離に成功した。これらの菌のケルセチン分解は、レスバトロールの共存下で阻害され、レスバトロールがケルセチンの吸収性を高める可能性が示唆された(図 1)。

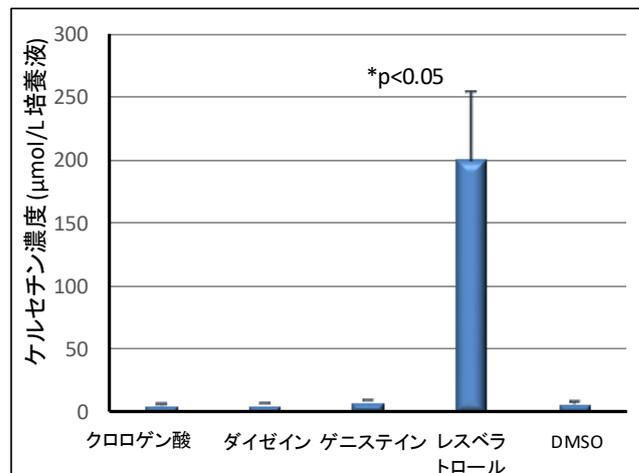


図 1 Strain 19-20 のケルセチン分解に及ぼす機能性成分の影響の検討

レスバトロールがケルセチン分解を抑制

3. ケルセチンの生体利用性を高める調理加工法の説明

健康人男性 6 名(20-22 歳)への単回摂取食べ合わせ (ケルセチンアグリコン 100mg 当量)により、たんぱく質食品である「鶏肉ささみ」及び脂質食品である「豚バラ肉」と比べて、糖質食品である「さつまいも」の同時摂取がフライ調理したタマネギ由来のケルセチンの生体利用性を低下させることが明らかになった (図 2)。その原因を説明するため、ラット由来腸アセチン粉末を小腸のモデル酵素として、タマネギに含まれるケルセチン配糖体である quercetin 3,4'-diglucoside (Q3,4'diG) の加水分解に対する各種糖類の影響を検討した。その結果、グルコース及びグルコースを構成単位とするマルトース、アミロースが Q3,4'diG の加水分解を抑制することをみとめた。小腸粘膜における脱糖化はケルセチン配糖体の生体利用性に影響する鍵反応である。したがって、さつまいも中のデンプンから生じるグルコース分解物が Q3,4'diG の加水分解を阻害することが利用性低下の原因であることが示唆された。一方、ラクトースも加水分解を抑えたことから、小腸上皮の乳糖分解酵素も加水分解に影響することが示唆された。

タマネギ試験食摂取による血中Q濃度の変化

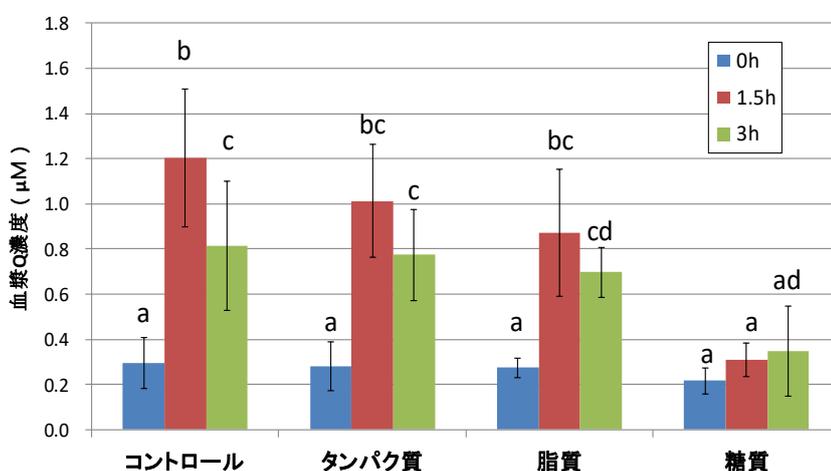


図 2 同時摂取食材別の血漿ケルセチン濃度変化¹⁾

二元配置分散分析及び tukey 検定を行った。異符号間に有意差あり(p<0.05)

次に食べ合わせ食材として「スキムミルク」、「おから」、「米飯」を選択し、タマネギと同時に摂取させた結果、「おから」に血中ケルセチン濃度を高める効果があることがみとめられた。さらに、食事形態がタマネギケルセチンの生体利用性に及ぼす影響に関して、和食、洋食、中華食の献立を作成し、同様のボランティア摂取試験を実施したところ、中華食 (フライ調理したタマネギを米飯とともに油脂で加熱調理する: タマネギ入り焼飯) ではケルセチン血漿濃度のピークとなる時間が遅れており、ケルセチンは緩やかに吸収されることがみとめられた。以上の研究成果は対照とするタマネギに組み合わせる食材と調理法を献立として工夫することにより、ケルセチン生体利用性の修飾が可能であることを示している。

4. ケルセチン及びケルセチン高含有タマネギの認知機能改善効果の説明

0.5%ケルセチンを摂取した AD モデル (APP23) マウスの恐怖条件付け学習試験による行動解析を行った結果、生後 25 週から 48 週齢のマウスにおいて、記憶 (音刺激による静止行動) 障害の進行が遅延する傾向を認めた (図 3)。この期間は脳内にアミロイドβの沈着が始まる時期である。一方、アミロイド-

β沈着が脳内で急増する生後 49 週齢以降に実施した恐怖条件付け学習試験においては、コントロール群と比較して有意な差を認めなかった。この結果は、記憶認知障害の進行に対して、ヒトにおける未病（認知症発症前の正常から軽度認知障害）の期間にケルセチンを摂取する重要性を示していると考えられた。

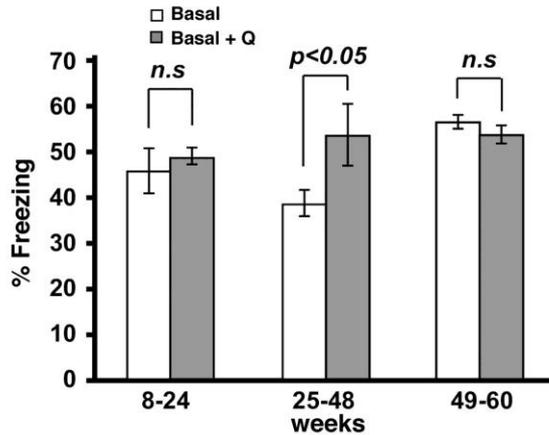


図3 アルツハイマー病モデルマウスにおける記憶障害進行に対するケルセチンの効果

ケルセチン摂取により生後半年から1年の期間の記憶障害の進行遅延を認める (Basal, 基礎食; Basal+Q, 基礎食+ケルセチン)²⁾。

軽度～中程度の認知障害を認めるアルツハイマー病患者 5 名に各タマネギ粉末 18g を 4 週間連続摂取する介入試験を実施した。改訂長谷川式認知機能検査において、総合点数ではクエルゴールドタマネギ粉末の摂取と真白タマネギ粉末（コントロール）の摂取による有意差を認めなかったが³⁾、想起評価項目の有意な改善を認めた（図4）³⁾

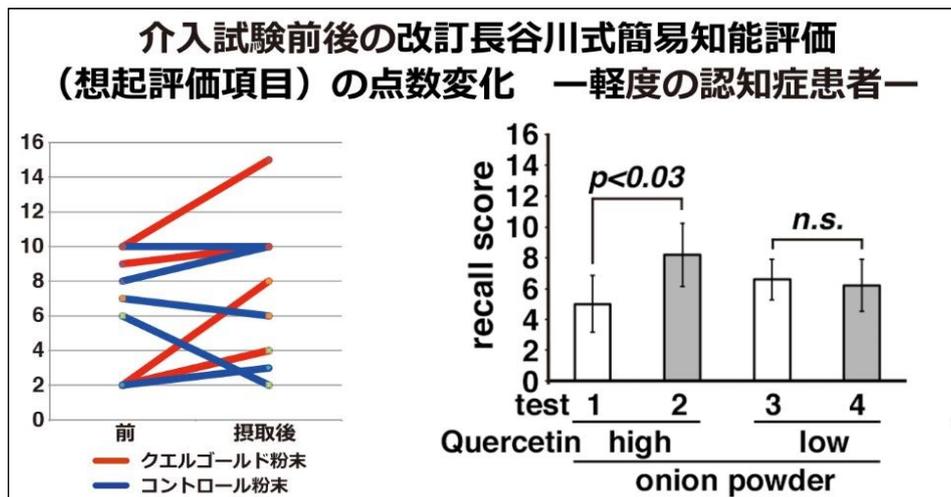


図4 アルツハイマー病患者に対する短期（4週間）介入試験

ケルセチン高含有またはコントロールタマネギ粉末摂取前後における想起機能評価の点数の変化を示す（左：各自の点数の変化；右：平均値±標準誤差）³⁾。

5. ケルセチン高含有タマネギの継続摂取による認知機能改善効果に関するヒト介入試験

健常又は軽度の認知機能低下を認める 65 歳以上 85 歳未満の男女を対象としたプラセボを対照とする

二重盲検並行群間比較を行い、ケルセチン高含有タマネギ加工食品を 24 週間継続摂取することによる認知機能改善作用について検討した。2015 年 8 月に全ての検査が終了した。試験中止者は 10 名おり、うち 6 名は自己都合による中止、うち 4 名は有害事象による中止であった。有害事象による中止 4 名は試験食品との因果関係は否定的であった。最終被験者人数は 50 名であり、解析除外者はいなかったため、有効性解析は 50 名で実施した。解析の結果、主要評価項目の MMSE については、全体解析では群間比較で有意差は認められなかった。しかし年齢中央値の層別解析の結果、年齢が若い集団（72 歳未満の集団）では、被験食品摂取群で摂取 24 週後において有意に改善した（プラセボ食品摂取群の変化量： -0.31 ± 2.10 点、被験食品摂取群の変化量： 1.64 ± 2.11 点、 $p=0.019$ ）（図 5）。

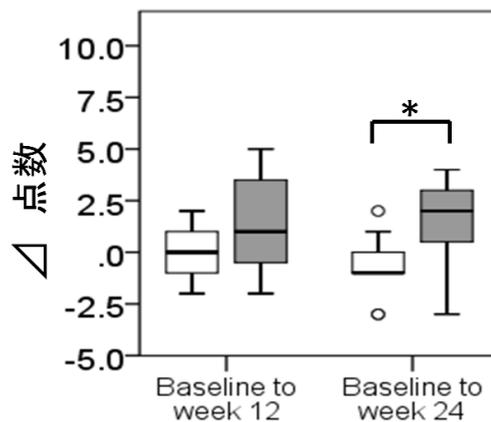


図 5 ミニメンタルステート検査の点数の変化量

白：プラセボ食品摂取群、黒：被験食品摂取群（年齢が若い集団）

もう一つ主要評価項目である認知機能検査については、全体解析及び層別解析でも有意差は認められなかった。副次評価項目の協力者アンケートの「症状の重症度」では被験食品摂取群で摂取 12 週後及び摂取 24 週後において改善傾向にあった。また協力者アンケートの「協力者の負担度」では被験食品摂取群で摂取 12 週後において改善傾向にあった。血液検査値（脂質、血糖及び酸化マーカー）については、いずれの項目も有意差は認められなかった。以上の結果より、ケルセチン高含有タマネギ加工食品の継続摂取は認知機能改善作用を有する可能性があることが示唆された。

6. 冬まき作型における「クエルゴールド（系統名：月交 24 号）」の評価

新しい作型である冬まき作型による試験により、北海道向け品種である「クエルゴールド」について、東北や本州中部地域まで生産可能であることが明らかとなり、収穫球のケルセチン含量の相対的な低下も認められなかった。このうち、岩手県では、北海道よりも「クエルゴールド」の 1 球重は重い傾向であり、収量性も同等以上であったことから適応性のある地域であると考えられた。しかし、岐阜県では 2 か年の栽培試験の結果から、本作型の生産性は品種に関わらず梅雨期の気象の影響を受けやすく、安定性を欠くと判断された。また今回の試験において九州南部は低収となり、この作型による生産は不適であると判断された（表 1）。

また、いずれに地域においても裸地区とマルチ被覆地区ではマルチ被覆区の方が生育旺盛となった。その効果の主体は地温の上昇と水分保持による養分供給の改善であると考えられた。ただし、被覆資材は生育の促進には役立つが生育期間の延長にはつながらず、ケルセチン含量に対する効果も明確ではない。

表 1 各地で栽培した「クエルゴールド」のケルセチン含量

試験地	ケルセチン含量 (mg Q/gDW)							
	クエルゴールド				もみじ3号(対照)			
	裸地		黒マルチ		裸地		黒マルチ	
	H26	H27	H26	H27	H26	H27	H26	H27
北海道	4.2	4.7	4.0	4.7	2.4	1.9	2.3	1.7
岩手県	5.7	4.4	6.1	4.3	2.3	1.5	2.1	1.1
早	3.9	5.7	3.6	4.6	1.3	2.5	1.2	1.9
岐阜県	3.5	4.4	3.6	5.6	—	2.4	1.1	2.1
晩	4.2	6.1	4.3	5.2	1.9	1.7	1.4	2.2
早	5.0	5.7	5.1	5.1	2.2	2.8	1.8	3.0
鹿児島県	5.8	6.3	5.0	5.9	2.1	2.7	1.7	2.1
晩	4.3	8.5	4.6	4.4	—	3.0	—	2.6

7. 「クエルゴールド（系統名：月交 24 号）」の事業化実現に向けた業務

「クエルゴールド」の親系統について許諾契約を結び、採種における雄親・雌親系統の特性を明らかにし、商用種子を生産した。種子の荒選の段階で種子量は15万粒程度であり、精選後にコート加工し、HPに掲載して2015年産の種子を販売した。2015年産の種子は完売し、現在、2016年産の販売案内をHP (<http://ikushu.com/archives/874>) に掲載している。また、「クエルゴールド」は乾物率が高く、加熱加工に適していることから、スープ等への加工を検討した。

今後の課題・展望

本研究から、ケルセチンと他の食品成分との組み合わせによる効果や腸内細菌によるケルセチンの代謝・分解性と食品成分による影響が明らかになった。また健康人を対象とした介入試験では、タマネギからのケルセチンの体内への取り込みに影響する食べ合わせや食事形態が明らかになり、これらの知見を更に蓄積することにより、「クエルゴールド」やその他のタマネギの、個人に適した摂取方法の提案が可能になる。また、ケルセチン高含有タマネギが高齢者や早期アルツハイマー病患者において認知機能を改善することが示唆されたことから、本結果を裏付ける介入試験を実施することにより有効性を実証し、本州を含めて「クエルゴールド」の普及を推進することにより、「クエルゴールド」を含めたタマネギの消費・生産拡大が期待でき、摂取方法の提案と合わせて、健康長寿社会の実現に貢献する。

研究成果一覧（論文、特許、商品）

- 1) 室ら 2015 品種登録番号25240
- 2) M Hayakawa, T Nakagawa et al. (2015). Quercetin reduces eIF2α phosphorylation by GADD34 induction. *Neurobiology of Aging*, 36: 2509-2518.
- 3) T Nakagawa, et al. (2016). Improvement of memory recall by quercetin in rodent contextual fear conditioning and human early-stage Alzheimer's disease patients. *NeuroReport*, 27: 671-676.

サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社 阿部圭一、山本誠一郎
公益財団法人サントリー生命科学財団 堀川 学、東 鋭明
慶応義塾大学医学部腎内分泌代謝内科 入江潤一郎、伊藤 裕
同医化学科 加部泰明

要約

伝統健康野菜ゴーヤは、糖代謝制御に関し科学的に証明するデータは乏しいものの、高血糖時のみに作用し血糖値を下げるという安全なメカニズムで機能することを示唆する報告がある。我々は、複数のゴーヤ特有のククルビタン型トリテルペノイド類が、血糖値制御に関与する GLP-1 分泌活性を示すことを見出した。さらに、上記成分を高含有するゴーヤジュースを用いたヒト試験において、プラセボ群に対して有意に血糖値の低下、血中 GLP-1 濃度の上昇、体脂肪率の低下等の有用性を示す結果を得た。また、有効成分の含有量をも高める加工・調理方法を見出した。これらの研究を通じ、健康野菜としてのゴーヤの有効な活用方法を示すと共に、ゴーヤが国民の健康維持に貢献する可能性を示すことができた。

研究の背景や目的

伝統健康野菜ゴーヤは、糖代謝制御に関するエビデンスデータは乏しいものの、血糖制御において安全なメカニズムを示唆する報告がある。そこで、我々はヒト試験によるエビデンスの確立を目指すとともに、有効成分の特定、作用メカニズムを解明、及び効能成分の分析技術を確立することにより、最適な品種の選定・栽培への展開や、食品加工や調理方法などの提案を通じ、国民の健康維持に貢献することを目的とする。

研究の内容と方法

ア. ゴーヤのサイエンス確立

ア-① ゴーヤの作用メカニズム解析と活性物質の単離・同定：

本課題では、(1) ゴーヤの作用メカニズム解析と活性物質の特定、(2) ゴーヤ活性成分の精製・活性評価を行う。

ア-② 主要活性成分の寄与率の評価と標的タンパク質の特異性検討：

本課題では、(1) 主要活性成分の寄与率の評価、(2) 標的タンパク質の特異性解析及び(3) 得られた知見の食品データベースへの収載を行う。

イ. ゴーヤ加工技術の確立

イ-① 活性物質定量方法の確立：

本課題では、ゴーヤの前処理方法を含めた活性成分の分析条件確立を行う。

イ-② ゴーヤ原料の活性物質含有量の比較及び加工方法と活性物質安定性検討：

本課題では、（１）活性成分の部位、産地、品種ごとの網羅分析による高活性ゴーヤの探索、（２）活性成分に着目した加工・調理条件の検討及び（３）摂取を容易にする食品開発を行う。

ウ. ゴーヤのヒト介入試験によるエビデンスの確立

ウ-① ゴーヤ食品の調製：

本課題では、（１）ヒト試験に用いるゴーヤ食品の調製及び（２）安全に関する検討を行う。

ウ-② ゴーヤ食品のヒト介入試験：

本課題では、（１）ヒト介入試験を実施し、（２）得られた知見の食品データベースへの収載を行う。

研究の結果と考察

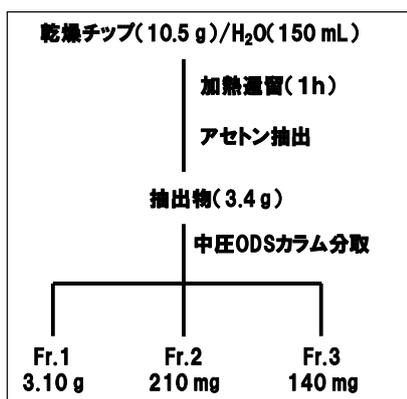
ア. ゴーヤのサイエンス確立

ア-① ゴーヤの作用メカニズム解析と活性物質の単離・同定：

（１）ゴーヤの作用メカニズム解析と活性物質の特定

当初、血糖値に影響するゴーヤの関連論文から、ゴーヤ特有のトリテルペン類が、小腸 L 細胞における GLP-1 分泌促進活性を示すことが示唆されていたことから、細胞を用いた評価系を用いて活性を確認した結果、ゴーヤ抽出物及び脂溶性分画物（Fr.2）が GLP-1 分泌促進活性を示すことを確認した（図 1）。Fr.2 の成分分析を行ったところ、主要なゴーヤトリテルペン類が本画分に含まれていることから、GLP-1 分泌促進活性は、ゴーヤ特異的なトリテルペン類で説明できると結論付けた。

a)



b)

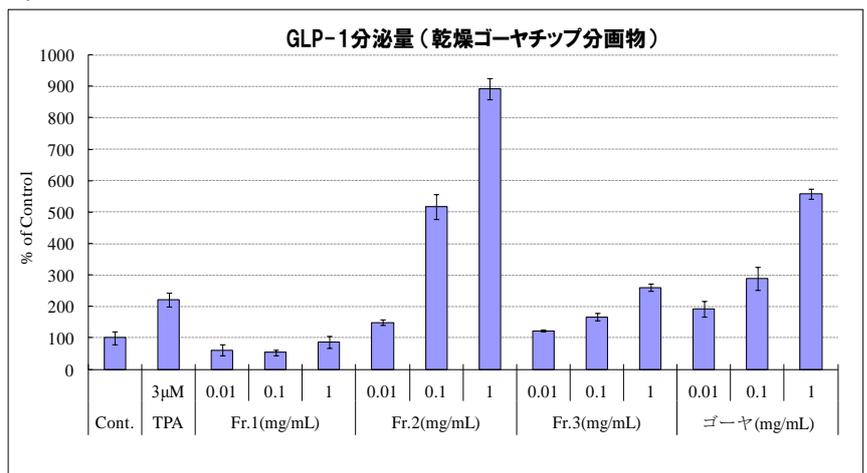


図 1. GLP-1 分泌促進活性成分を含む画分

a) ゴーヤアセトン抽出物の分画

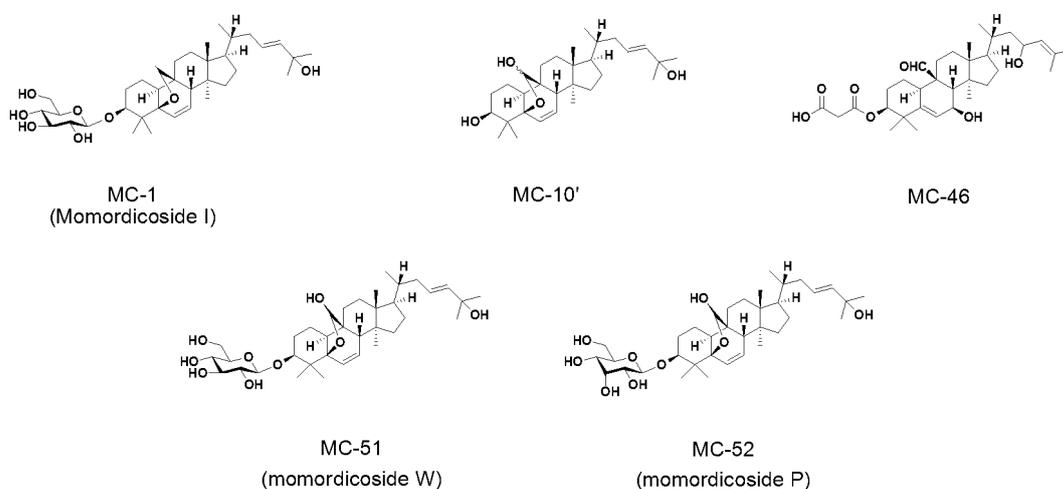
b) ゴーヤアセトン抽出物及び各分画物の GLP-1 分泌促進活性

また、ゴーヤ特有のトリテルペン類の一部は苦味成分であることが報告されていることから、代表として MC-19(momordicoside L)について評価を行い、GLP-1 誘導活性を確認した。さらに、この活性は苦味受容体特異的な阻害剤共存下で低下が認められたことから、MC-19 は苦味受容体を介して GLP-1 分泌促進していると結論付けた。

(2) ゴーヤ活性成分の精製・活性評価

血糖値に影響するゴーヤの関連論文から、ゴーヤ特有のトリテルペン類が、活性成分の有力候補の一つであった。そこで、論文情報に従って量的に多い成分を中心に、分画操作を行い、主要な成分の同定を進めた。

A



B

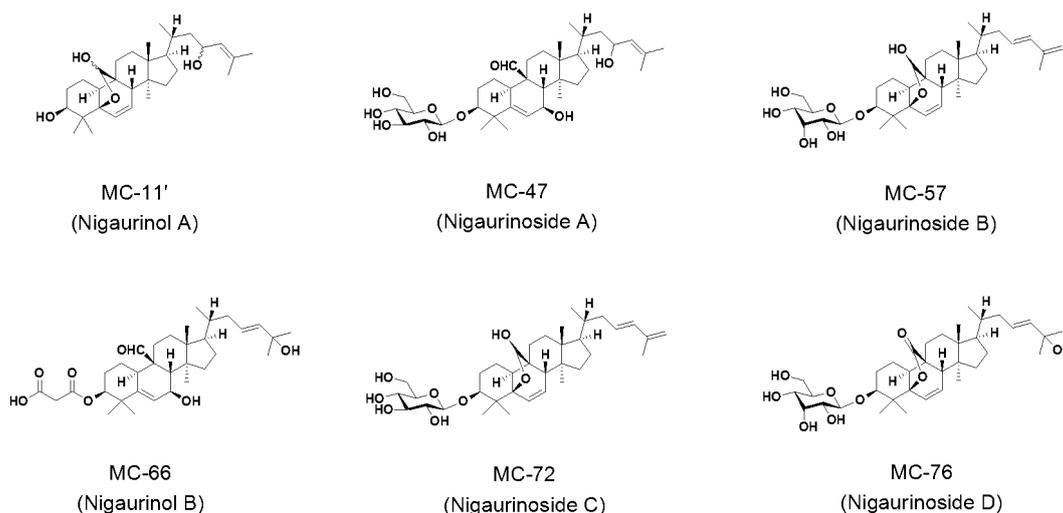


図 2. 単離・同定した主要なゴーヤ特有トリテルペン類 (A.主要活性 5 成分及び B.新規 6 成分)

しかし、小課題ウで試作し、血糖値上昇抑制作用が確認されたヒト試験用ジュースサンプル中の成分確認を行ったところ、主要な成分プロファイルがほとんど一致しなかった。その理由はジュースサンプル中の主要成

分が加熱により変化したのだという推測から、トリテルペン類を多く含む脂溶性画分を酸性条件で加熱したところ、ジュースサンプルに非常に近い成分プロファイルを示すことを見出した。そこで、加熱条件下で生成した成分の精製を進め、最終的に新規化合物 6 種を含む 31 種類のゴーヤ特有のトリテルペン類の単離・同定に成功した（図 2）。ジュースに含まれる主要成分の GLP-1 分泌促進活性試験の結果、精製したほとんどの成分で濃度依存的に GLP-1 分泌促進活性があることを確認した（図 3）。

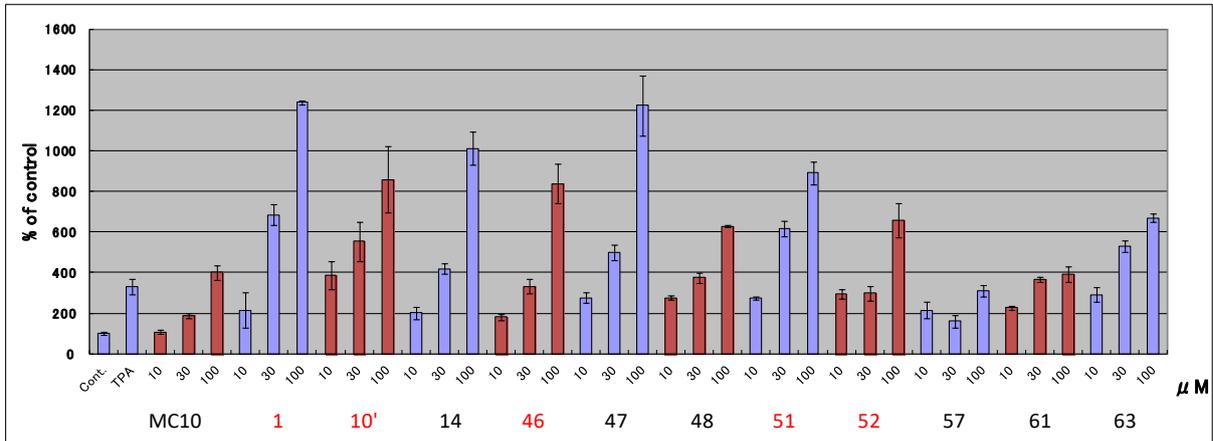


図 3. ゴーヤジュースに含まれる主要トリテルペン類の GLP-1 分泌促進活性
(赤数字は、主要活性 5 成分)

ア-② 主要活性成分の寄与率の評価と標的タンパク質の特異性検討

(1) 主要活性成分の寄与率の評価

単離した各成分の含有量と活性強度から活性の寄与率を求め、主要活性成分を MC51,10',46,52,1 の 5 成分と決定した（図 2）。

得られた 5 成分の混合物とゴーヤ抽出物の GLP-1 分泌促進活性比較の結果、主要 5 成分混合物がゴーヤ抽出物の約 50%の寄与率を示すことが確認された。

ゴーヤには、上記主要成分と類似の成分が多数存在している。これら化合物はゴーヤに特有で、ククルビタン型トリテルペン類といわれている。ゴーヤによる GLP-1 分泌活性は、ゴーヤ特有のククルビタン型トリテルペン類及びそれらの配糖体の総和によるものであることが示唆された。

(2) 標的タンパク質の特異性解析

苦味受容体のサブタイプは、現在、25 種が知られている。一部のサブタイプに対する検討は残っているが、主要活性成分 22 種のうち、配糖体に分類される成分のすべてが、配糖体特異的な苦味受容体サブタイプに作用することを確認した。また、アグリコン型の活性成分は、脂溶性の高い化合物に特異性を示す苦味受容体サブタイプに作用することを確認した。

(3) 食品データベースへの収載

主要活性 5 成分等の得られた知見を食品データベースに収載した。

イ. ゴーヤ加工技術の確立

イ-① 活性物質定量方法の確立：

活性成分はゴーヤ特有のククルビタン型トリテルペン類であったことから、UV 検出には不向きなため、LC-MS 解析による方法を検討した。また、ゴーヤ凍結乾燥サンプルの加水加熱処理により、より感度よくゴーヤ中の活性成分の定量ができる方法を確立するに至った。

イ-② ゴーヤ原料の活性物質含有量の比較及び加工方法と活性物質安定性検討：

(1) 活性成分の部位、産地、品種ごとの網羅分析による高活性ゴーヤの探索

各地から集めたゴーヤ 54 品種（産地が異なる同一品種を含む）の活性成分の定量分析を行ったところ、産地・品種により成分量が異なることが分かった。また、ヒト試験で用いたサンプルよりも、活性成分を多く含有するゴーヤが幾つか確認できた。

(2) 活性成分に着目した加工・調理条件の検討

ゴーヤに関しては、生でサラダとして食される場合もあるが、基本的には加熱調理して食されるのが一般的とされている。そこで、加熱条件による活性物質の増減について検討した。

実際に、煮る、蒸す、炒めるなどの調理方法についても検証し、これらの一般的な調理方法により活性成分が存在することが確認できた。その中で、油を加えて炒める方法が比較的活性成分が多くなる傾向があった。そして、特に、検討した中では、ゴーヤを粉碎処理するジュースの形態が、もっとも活性成分を摂取できる方法であることが分かった。

また、ゴーヤ粉碎物の加熱処理の経時変化において主要活性 5 成分の総成分量を定量したところ、120℃で 20 分間の処理で最も高い値を示すことが分かった。今回、定量可能な 20 成分すべてについて、詳細な解析を行ったところ、主要活性 5 成分は、それぞれ 20 分加熱処理で最大値を示した。それ以外の成分については異なる傾向を示すものもあった。例えば、配糖体については、加熱の初期に上昇するが、その後は徐々に減少する。ゴーヤに特徴的なアルデヒドを有する化合物も同様の経時変化を示した。また、アルデヒド体から生成したと考えられる環状ヘミアセタール構造を有するアグリコン型の化合物は、経時的に増加傾向を示した。以上より、加熱時間の調節により、必要な化合物の生成量の調節が可能なが分かった。

(3) 摂取を容易にする食品開発

甘味料を添加するなどの既存の方法を用いることにより、苦味を低減したヒト試験用サンプルを調製した。香味面において継続摂取に問題はなかった。

ウ. ゴーヤのヒト介入試験によるエビデンスの確立

ウ-① ゴーヤ食品の調製：

本課題では、(1) ヒト試験に用いるゴーヤ食品の調製及び (2) 安全に関する検討を行う。

ウ-② ゴーヤ食品のヒト介入試験：

(1) ヒト介入試験

ゴーヤの血糖上昇抑制効果の確認、及び用量設定のため、ゴーヤ単回摂取によるご飯負荷後の血糖推移を確認するヒト単回介入試験を 2 度実施した。その結果、使用するゴーヤの品種、摂取形態（ゴーヤ飲料）及び摂取用量を決定した。

安全性については、生理学的検査、臨床検査における異常変動の有無及び有害事象の発現状況等を確認した結果、いずれの項目においても試験食品に起因する临床上問題となる変動・事象は認められず、安全性が確認された。試験内容は UMIN 登録済み（1 回目試験 ID：UMIN000015207, 2 回目試

験 ID : UMIN000016221)。

【ゴーヤ含有飲料の長期摂取による血糖上昇抑制効果確認試験】

ゴーヤの長期摂取による影響を検討する目的で、ダブルブラインドプラセボ対照並行群間試験を行った。主要評価項目はご飯負荷後の血糖値の曲線下面積、副次的評価項目は、血中活性型 GLP-1 濃度、IRI、ご飯負荷後各時点の血糖値、空腹時の血糖値、HOMA-IR とした。被験食品は上記で決定した品種のゴーヤピューレ 100 g を含むゴーヤ飲料とした。被験者は 1 群 30 名の計 60 名とし、摂取期間は 12 週間とした。選択基準及び除外基準は単回試験と同様とした。

その結果、被験食品に起因する有害事象は認められず、ゴーヤの安全性が確認された。また、脱落者やプロトコル逸脱者も出ず、全被験者が解析対象者となった。ご飯負荷後の血糖上昇に対して、プラセボ群においては試験開始前と試験終了時では変化がなかったのに対し、ゴーヤ群においては 12 週間の摂取によって試験開始前に比べて血糖の上昇が抑制されることが確認された (図 4)。糖代謝改善の主メカニズムと考えている GLP-1 応答に関しては、ゴーヤ群においてプラセボ群と比べて有意な上昇が確認された (図 5)。

以上から、ゴーヤの長期摂取は糖代謝の改善を示すことが示唆された。試験内容は UMIN 登録済み (試験 ID: UMIN000017737)

(2) 食品データベースへの収載

ヒト介入試験で得られた知見を食品データベースに収載した。

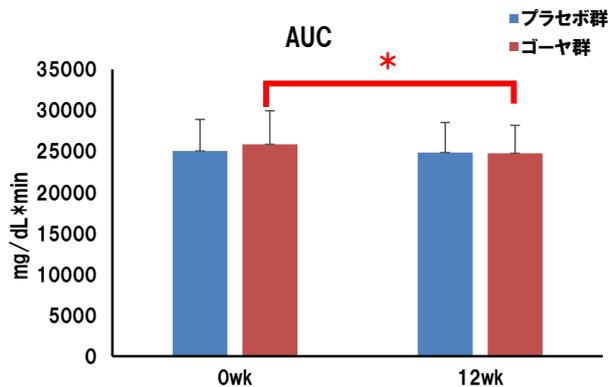


図 4. ヒト試験開始前 (0 週) と終了後(12 週)との糖負荷試験における血糖 AUC の比較

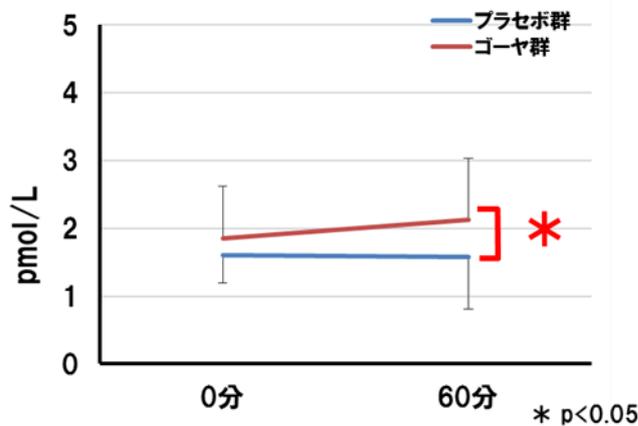


図 5. ヒト試験開始前に測定した血中 GLP-1 濃度の比較

今後の課題・展望

本研究において、ゴーヤ特有のククルビタン骨格を有するトリテルペノイド類が、苦味受容体を介して血糖値制御に関与する GLP-1 分泌活性を亢進し、血糖値上昇を抑制する一連の作用機構を示すことができた。今後の課題として、飲料適性を高めるために、摂取量が少なくても活性を示すことができる活性成分高含有品種の開発が期待される。

研究成果一覧（論文、特許、商品）

特許：

- 1) 堀川学・東鋭明・渡辺斉志・鈴木寿栄・阿部圭一「GLP-1 分泌促進用組成物及びその製造方法」
(特願 2016-053163, 2016/3/16 出願)

京都府立医科大学 高木智久、守田麻由子、水島かつら、東村泰希
弘前大学食料科学研究所 中井雄治
東京大学大学院農学生命科学研究科 岡田晋治
NK アグリ株式会社 三原洋一、宮崎英也、大島彬
日本製粉株式会社 日野明寛、大楠秀樹、野口晃司、間和彦、小坂学

要約

カロテノイド高含有野菜のヒト介入試験によるエビデンス構築を行うとともに、機能性種苗の価値を発揮し、機能性成分を軸にしたバリューチェーン構築に必要な栽培法から加工・商品開発及び流通方法を含めた事業開発を進めた。野菜としては、従来品種よりもカロテノイド類などの機能性成分含量が高く、食味が改良された、ニンジン品種「こいくれない」及びケール品種「こいあおな」を選定した。

研究の背景や目的

我が国では、食生活の変化や急速に進む高齢化によって、メタボリックシンドローム等のリスクが増加し、生活習慣病による患者のQOLの低下や医療・介護費用の増加等が社会問題となっている。一方、国民の健康志向の高まりから、健康維持・増進や生活習慣病のリスク低減に有効な機能性成分を多く含む食品やこれらを用いた素材開発へのニーズが高まっている。

果物・野菜には栄養成分以外に、健康機能性が明らかにされつつあるカロテノイド等が豊富に含まれており、これら機能性成分に着目した種苗開発が行われているが、野菜流通体系の複雑さや機能性のエビデンスの不足などから、消費者に効果的に訴求できる商品は殆どない。本課題の目的は、カロテノイド高含有野菜「こいくれない」ニンジンと「こいあおな」ケールの健康維持増進効果を示し、青果から加工までの様々な流通が促されることで国民の野菜摂取量の回復の一助となる事業とすることを目的とした。

研究の内容と方法

① 機能性成分を安定に含む栽培管理法と加工技術開発

機能性野菜「こいくれない」ニンジン及び「こいあおな」ケールの栽培時の環境データ（気温、湿度、日射量、地温、土壌水分含量）を継続して記録、収集した。また、収穫は11月から2月にかけて数回にわたり行った。栽培期間中の環境データと収穫した「こいくれない」及び「こいあおな」が含有している α 、 β -カロテン、リコピン、ルテインなどのカロテノイド含有量との相関関係に関して分析することで、これら野菜が機能性成分を安定に含む栽培収穫管理方法の開発を行った。また、これらの結果から生育管理マニュアルを作成した。

栽培した「こいくれない」及び「こいあおな」の加工方法（加熱、粉碎、貯蔵、混合方法など）の違いによる α 、 β -カロテン、リコピン、ルテインなどのカロテノイド類の成分変動を解析し、機能性成分を安定して含むよ

うに加工技術を適切に組み合わせ、かつ、加工食品としての商品化を考慮したヒト試験用試験食の開発を行い、機能性野菜の有効性試験（次項参照）を実施した。また、これらの開発を通して幅広い加工食品に利用することができる野菜ペーストを製造する条件を開発し、様々な加工食品へ応用するための加工食品の試作を行った。

② ヒト介入試験による機能性野菜の有効性評価

機能性野菜「こいくれない」ニンジン及び「こいあおな」ケールの有効性を評価するために、ヒトを対象とした少数例のプレ試験を実施するとともに、その結果を踏まえた本試験を実施した。

(ヒトプレ試験)

「こいくれない」及び「こいあおな」を含む飲料を開発し、1) コントロール群（対照ニンジン+キャベツ）2) こいくれない群（こいくれない+キャベツ）、3) こいあおな群（対照ニンジン+こいあおな）、4) 混合群（こいくれない+こいあおな）の4群（各群7名）で次のパラメータの変化を評価することでヒトプレ試験を実施した。1) 身長、体重、BMI、血圧、腹囲、内臓脂肪面積、2) 血液生化学・尿検査3) 血中カロテノイド濃度分析、4) 新規バイオマーカー探索（sLOX-1、LAB、脂溶性抗酸化物質、消化管ホルモン、炎症・インフラマソームマーカー、全血 free DNA、ミトコンドリア DNA）、5) 全血 DNA マイクロアレイ解析（ヒト本試験）

プレ試験の結果から、「こいくれない」及び「こいあおな」を個別のヒト試験として実施した。

(1) 「こいくれない」ニンジン

被験者 110 名（メタボ関連項目で境界領域の非喫煙者）を無作為に 2 群に割付け、黄色ニンジンをプラセボ対照食とする二重盲検比較試験(期間は 12 週間)を実施した。

(2) 「こいあおな」ケール

被験者 40 名（メタボ関連項目で境界領域の非喫煙者男性）を無作為に 2 群に割付け、キャベツをプラセボ対照食とする二重盲検比較試験(期間は 12 週間)を実施した。

また、両野菜の特性を考慮した、ニンジン及びケールの飲料、パスタソース類、弁当用惣菜など各種加工食品の開発を行った。

研究の結果と考察

① 機能性成分を安定に含む栽培管理法と加工技術開発

栽培期間中の環境データ 5 種類を連続的に収集した結果、「こいくれない」については、4ヶ所の圃場のデータから、有効積算温度で根重及びリコピン含量との間に高い相関傾向が見られた。「こいあおな」については、4ヶ所の圃場のデータから、ルテイン、β-カロテンは安定して含有していたが、時期を追うごとに減少する傾向が見られた。これは、20日間隔でサンプリングを実施したため、葉の大きさが成分含量に影響を及ぼした可能性がある。また、収集したデータを基に播種時期・耕種基準・収穫時期に触れた基準書と生育管理マニュアルを作成した。なお、これらの成果として、通常の露地栽培では天候変化や地域性等による変動を理由に、成分のばらつきを抑えることが難しいとされてきたが、IoT を使ったカロテノイド類を安定に含む栽培管理法を開発することで、2016 年より露地栽培野菜で初めての「栄養機能食品（ビタミン A）こいくれない」を商品化した（写真 1）。



写真1 栄養機能食品表示した「こいくれない」ニンジン

「こいくれない」と「こいあおな」を用いたヒト試験食の製造を行うため、カロテノイド類の安定性の評価を指標として複数の加工方法の検討を行った結果、ペーストを一次加工品とした方法を選定し、ヒトプレ試験に用いる両野菜を含む飲料の製造を行った。また、ヒト本試験に用いる飲料の製造では、「こいくれない」についてはプレ試験と同様に野菜ペーストを用いて飲料の製造を行った。また、「こいあおな」については、水分を含む試料では機能性成分の減衰が認められたため、乾燥粉碎する条件が適していることを見出し、粉末飲料の形態とした。

これらの成果を基にして、2つの商品を上市しました。「こいくれない」ニンジンについては、ヒト本試験食から改良を行い、「こいくれない」をベースとしてりんご果汁等を配合することで嗜好性にも配慮したスパウト付きパウチ飲料を「濃恋(こいこい)野菜 こいくれない」を2016年2月に上市した(写真2左)。また、「こいあおな」ケールについては、ヒト本試験食と同じ配合・製造法の粉末飲料を「深緑青汁」という商品名で2016年3月に上市した(写真2右)。



写真2 上市した商品

- 左) こいくれないを使用した飲料
「濃恋(こいこい)野菜 こいくれない」
- 右) こいあおなを使用した粉末飲料
「深緑青汁」

② ヒト介入試験による機能性野菜の有効性評価

(1) ニンジン

ヒトプレ試験結果をもとに実施したニンジンのヒト試験を行い、明らかな有害事象は認められなかった。主要評価項目の内臓脂肪レベルにおいて、「こいくれない」群では、摂取 12 週後において摂取前に比

較して有意な低下を認め(p=0.048)、「プラセボ(金美ニンジン)」群においても有意な低下を認め(p<0.001)、2群間比較においては有意差を認めなかった。副次評価項目である中性脂肪に関して、「こいくれない」群においては摂取12週において摂取前に比較して低下の傾向を認めたが(p=0.091)、「プラセボ(金美ニンジン)」群においては低下の傾向は認められなかった。また、男性に限定した解析では、「こいくれない」群において摂取12週において摂取前に比較して有意に中性脂肪の低下を認めており、「プラセボ(金美ニンジン)」群との有意差が確認された。また、血中リポピン、ルテイン濃度が上昇した被験者では抗酸化能マーカーのsLOX-1が有意に低下していた。

(2)ケール

ケールについては「こいあおな」群、「プラセボ(キャベツ)」群の各群20例(合計40例)にて試験を行い、明らかな有害事象は認められなかった。主要評価項目である内臓脂肪レベルについて「プラセボ(キャベツ)」群及び「こいあおな」群ともに、摂取開始から6週目、12週目(p=0.002, p<0.001)ともに有意に上昇していた。「こいあおな」には機能性成分にグルコシレート的一种であるグルコラファニンが含まれており、グルコラファニンの生体利用の指標について層別解析を行ったところ、心血管疾患リスクの指標であるLox-indexや抗酸化能マーカーについての有意な変化が認められた。

今後の課題・展望

① 機能性成分を安定に含む栽培管理法と加工技術開発

「こいくれない」ニンジンについては、新しい生産地においても有効積算温度と根重、カロテノイド含量の相関性が得られるか検討し、適切な収穫時期を予測する方法を検討する必要がある。今後、幅広い加工食品への応用を進めていく予定である。また、「こいあおな」ケールについては、含まれる機能性成分であるカロテノイド類、グルコシレート類を有効に生体内利用できる方法の開発を行う必要がある。

② ヒト介入試験による機能性野菜の有効性評価

「こいあおな」ケールについては、グルコラファニンの生体利用の指標に視点を当てた層別解析において摂取前後でプラセボ群と有意差が認められた指標が複数あるため、今後さらなる機能性の検証などを行う必要があると考える。

研究成果一覧(論文、特許、商品等)

- 1) 高木智久、カロテノイド類の生体調整機能(2014)第61回日本栄養改善学会学術総会シンポジウム(8月22日)パシフィコ横浜
- 2) 高木智久、カロテノイド類による生体調整機能(2015)「農林水産物の機能性の科学的エビデンス構築と医食農連携」シンポジウム(8月25日)イイノホール&カンファレンスセンター

β-クリプトキサンチンの抗メタボ効果等に着眼したカンキツ及び その加工食品の開発

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹茶業研究部門
杉浦 実、生駒吉識、吉岡照高、深町浩、喜多正幸、松本光、岩崎光徳、矢野昌亮
金沢大学脳・肝インターフェースメディスン研究センター 太田嗣人、長田直人、永島田まゆみ
金沢大学内分泌代謝内科 竹下有美枝
愛媛大学・地域生活習慣病・内分泌学 松浦文三
愛媛大学・消化器・内分泌・代謝内科学 三宅映己
京都大学農学研究科食品分子機能学分野 河田照雄、高橋信之、後藤剛
浜松医科大学・健康社会医学講座 中村美詠子
株式会社えひめ飲料・企画開発部 首藤正彦、菅原邦明

要約

β-クリプトキサンチンはカロテノイド色素の 1 種で日本のウンシュウミカン（以下、ミカン）に特徴的に多く含まれている。近年、欧米の大規模な疫学研究から、主要なカロテノイド 6 種（リコペン、α-カロテン、β-カロテン、β-クリプトキサンチン、ルテイン、ゼアキサンチン）の中でも特にβ-クリプトキサンチンが、肺がんや関節リウマチ等のリスク低減に有効であるとする報告が相次いでいる。当グループでは、β-クリプトキサンチンの生体調節機能を細胞・動物・ヒトレベル（疫学研究と介入研究）で詳細に検討するとともに、β-クリプトキサンチンを高含有化させるための育種・栽培・貯蔵技術に取り組んだ。その結果、β-クリプトキサンチンがインスリン抵抗性や 2 型糖尿病、非アルコール性脂肪肝等の予防改善に有効であることをヒトレベルの研究で確認し、その作用メカニズムを遺伝子レベルで解明した。更にミカン栽培時に水分ストレスを負荷すること、また収穫後の果実を 10℃付近で貯蔵することが β-クリプトキサンチン含有量の増加に有効な方法であることを明らかにした。また農研機構育成品種の β-クリプトキサンチン含有量調査から、11 月から翌年 6 月頃まで、β-クリプトキサンチンの供給源となるカンキツ品種をパネル化した。更には妥当性の高い新規のカロテノイド分析方法を確立し、日本人の主要なカロテノイド供給源となる 52 品目の果物・野菜に含まれるカロテノイドを明らかにした。ミカン果実中の β-クリプトキサンチン含有量の調査から、骨の健康に効果が期待できる 3 mg のβ-クリプトキサンチンを摂取するために必要なミカン摂取量を明らかにし、2015 年 4 月より施行された消費者庁の機能性表示食品制度に生鮮物として始めて三ヶ日みかんが受理登録された（A-79）。またβ-クリプトキサンチン高含有果汁飲料「アシタノカラダ」も機能性表示食品として受理登録された（A-105）。

研究の背景や目的

近年、欧米を中心とする栄養疫学的研究やヒト介入試験等により、カンキツ類をはじめとする果物がさまざまな生活習慣病の予防に有効であることが明らかになりつつあるが、日本国内においては果物と健康に関する研究例は極めて少ないのが実情である。果物は野菜と同様に、健康に役立つ栄養機能性成分が豊富

であるのに野菜のような健康価値が殆ど認識されておらず、むしろその甘味ゆえに高糖・高カロリーと誤解され、一般消費者には肥満や糖尿病の危険因子と認識されることが多い。そのため国内の果樹産業は衰退の一途を辿っている。現在、我が国のカンキツ産業においては、消費拡大のため、より食べやすく食味良好で高品質なカンキツ品種や栽培・貯蔵技術の開発が行われているが、このような国産のカンキツ類が外国産のものに比して品質的に優れ、高い評価を受けているにもかかわらず、日常生活では野菜のように「普段食べる」状況にない。今後は高品質なカンキツ品種の生産に加え、健康機能性を訴求した消費拡大が重要になると考えられる。食味良好で機能性成分を高含有する品種の育成・選抜、また含有量を高めるための栽培・貯蔵方法を明らかにして、高品質で且つ健康機能性に優れた国産カンキツを流通させ、またこれらカンキツ類の健康効果を周年で手軽に享受できる手段としてのカンキツ加工食品を開発する必要がある。

研究の内容と方法

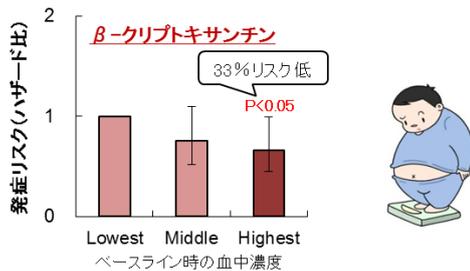
- ・ミカン産地の住民を対象にした栄養疫学調査（三ヶ日町研究）の追跡調査を実施し、β-クリプトキサンチンをはじめとするカロテノイド 6 種、ビタミン C や E と糖尿病等の各種生活習慣病の発症リスクとの関連を縦断的に解析し、これらビタミン・カロテノイド類による生活習慣病の発症リスク低減効果を明らかにする（担当：農研機構果樹茶業研究部門、浜松医科大学）
- ・これまでのヒト介入試験でその有効性が示されたβ-クリプトキサンチン高含有果汁飲料が非アルコール性脂肪肝炎（NAFLD）患者の肝機能を改善させるというエビデンスを基に、①β-クリプトキサンチン高含有飲料による血糖降下作用の検討（急性効果）、②β-クリプトキサンチン高含有飲料の高血糖者の長期的な糖代謝へ与える影響（持続的効果）、③動脈硬化指標への影響をヒト介入試験で検証するとともに、④脂肪肝への有効性が示されている抗酸化剤であるビタミン E や亜鉛とβ-クリプトキサンチンとの併用効果を症例対照研究及び臨床研究から明らかにする（担当：金沢大学・愛媛大学・浜松医科大学）。
- ・これまでに得られた研究成果及び確立した実験手法を基にして、β-クリプトキサンチンの慢性炎症に対する効果に着目し、糖尿病モデルにおける肝臓での炎症・糖脂質代謝改善作用、肥満モデルマウスにおける脂肪組織での脂質代謝改善作用、及び抗酸化ビタミン共存下での併用効果について明らかにする（担当：金沢大学・京都大学）。
- ・ウンシュウミカンで高品質果実生産に有効なシートマルチ栽培を基本として、土壌乾燥処理、果実の着果位置等の栽培条件、気象条件の年次変動、生産される果実間のばらつきを検証し、β-クリプトキサンチンを安定的に高含有化させる栽培条件を明らかにし、慣行栽培に比べて 2～3 割高含有化された果実が安定生産できる栽培技術を開発する。また、利用可能なβ-クリプトキサンチン高含有品種を提示し、その果実特性を発揮できる利用形態及び利用時期を提案する（担当：農研機構果樹茶業研究部門）。
- ・収穫後のウンシュウミカン果肉中のβ-クリプトキサンチン含量を安定化させる貯蔵条件を解明し、食味を損なわずに収穫直後に比べて含量を増強し、その含量を長期間、維持できる収穫後の貯蔵・流通技術を開発する（担当：農研機構果樹茶業研究部門）。
- ・新たに開発したカロテノイド分析法の妥当性を研究室間共同試験で確認し、カロテノイド主要供給源となる食品のカロテノイド含量（果実・野菜等約 50 品目）や、カロテノイドの豊富なカンキツ、カキ等の果実の品種毎のカロテノイド含有量を調査し、含有量情報を公表する（担当：農研機構果樹茶業研究部門）。
- ・β-クリプトキサンチンに着目したカンキツ加工食品の事業化と機能性表示食品実現に向けた検討を進める（担当：農研機構果樹茶業研究部門、株式会社えひめ飲料）。

研究の結果と考察

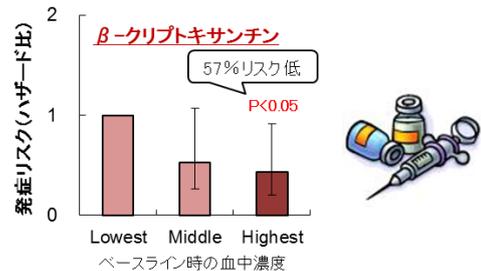
1. ヒト試験（疫学研究、介入研究）

ミカン産地住民を対象にした栄養疫学調査である三ヶ日町研究の 10 年間に渡る追跡調査から、ベースライン時の血中β-クリプトキサンチン高値群において、2 型糖尿病、非アルコール性肝機能異常症、脂質代謝異常症、動脈硬化症の発症リスクが有意に低下することが明らかになった（図 1）。一方、ヒト介入試験では、急性試験においてβ-クリプトキサンチン高含有飲料の単回摂取は血糖変動に有意な影響を与えず、安全性に問題のないことを明らかにした。また、持続効果試験では、β-クリプトキサンチン高含有飲料群において、有意な空腹時血糖の低下と、インスリン抵抗性改善、肝機能改善、酸化ストレス軽減が認められたが、動脈硬化指標に関しては顕著なβ-クリプトキサンチンの効果は認められなかった（表 1）。また有意な変化が認められた指標（インスリン抵抗性や空腹時血糖値、肝機能等）について、病者と境界者及び健常者に分けて層別解析すると、境界者及び健常者では有意な変化は認められなくなった。三ヶ日町研究のような前向きコホート研究では、健常者を長期間に渡って追跡調査を行うが、ヒト介入試験では未病者に対して短期間で検証するため、その効果を介入試験で検証するのが困難では無いかと考えられる。被験者の選定と介入期間、また主要評価項目をどう設定するかが重要であると考えられる。

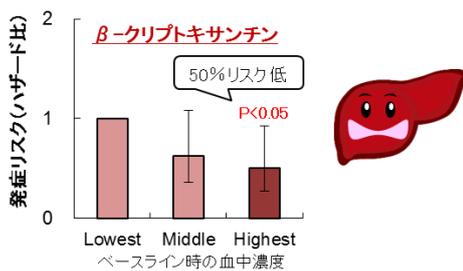
脂質代謝異常の発症リスク



2型糖尿病の発症リスク



肝機能異常(高ALT)の発症リスク



動脈硬化の発症リスク

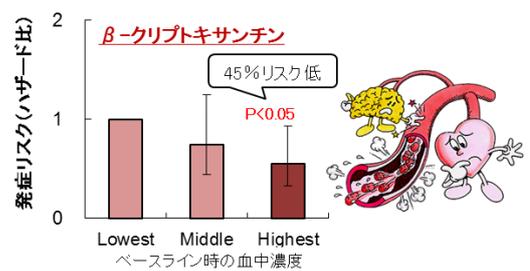


図 1 ベースライン時の血中β-クリプトキサンチンレベルと各種生活習慣病発症リスクとの関係

ミカン産地住民を対象にした 10 年間の追跡調査から、ミカンに多い β-クリプトキサンチンの血中濃度が高かった群では糖尿病や肝機能異常症などの生活習慣病の発症リスクが有意に低下した。

表 1 ヒト介入試験のまとめ

- ◆ インスリン抵抗性を改善する
- ◆ 空腹時血糖値を低下させる
- ◆ 肝機能を改善する(ALT↓, γ -GTP↓)
- ◆ 酸化ストレスを改善する(oxLDL↓, SOD↑)
- ◆ 炎症性サイトカインを改善する(IL-6↓, IL-10↑)
- ◆ 動脈硬化指標には変化無し(baPWV)

Journal of Food and Nutritional Disorders 2016, 5:3
Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism. In press

2. β -クリプトキサンチンの作用メカニズムに関する研究

β -クリプトキサンチンの作用メカニズムに関する研究においては、 β -クリプトキサンチンがヒトの病態に近い高脂肪食負荷マウス（人の病態に近い糖尿病モデル）、ob/ob マウス（遺伝的な高度肥満糖尿病モデル）の2つの肥満モデルにおいて、肝臓に集積するマクロファージをM2（炎症抑制）優位にシフトさせることで、慢性炎症を軽減し、インスリン抵抗性と糖代謝を改善することを明らかにした（図2）。また遺伝的な肥満モデルマウス（KK-Ay マウス及び ob/ob マウス）における脂肪細胞の肥大化及び血中アディポネクチン値の低下を抑制し、耐糖能異常を改善することが明らかになった（図2）。 β -クリプトキサンチンは肝臓だけでなく脂肪組織にも直接作用し、脂肪細胞分化の鍵因子であるPPAR γ の活性抑制作用を介して、脂肪細胞分化を抑制することで血糖値低下といった糖代謝異常の改善作用を示すこと、肝臓・骨格筋での脂肪酸酸化亢進作用は、レプチンを介した間接的作用であることが示唆された。



図 2 β -クリプトキサンチンの作用メカニズム

β -クリプトキサンチン投与マウスにおいて、NASH の進展抑制、糖代謝異常改善、脂肪細胞機能改善が認められることを明らかにした。これらの分子機構として、 β -クリプトキサンチンによる肝細胞への脂質蓄積抑制作用、肝臓マクロファージの極性変化、脂肪細胞における分化抑制とエネルギー消費亢進が寄与していることが示唆された。

一方、β-クリプトキサンチンは鼠頸部白色脂肪組織において、熱産生において重要な UCP-1 の遺伝子発現を上昇させること、褐色脂肪組織においても、UCP-1 タンパク質の発現量を上昇させることで、脂肪組織における熱産生亢進が体脂肪蓄積抑制効果に寄与しているものと考えられた。この作用はβ-カロテンよりも強いことが明らかになった。

更にβ-クリプトキサンチンとビタミン C の併用により、血中インスリン値においてはβ-クリプトキサンチン群ではコントロール群に比して低下傾向を示すにとどまったのに対し、β-クリプトキサンチンとビタミン C の併用群では有意な低下を示した。このことから、ビタミン C との併用効果が期待できる可能性があるものと考えられた。

3. β-クリプトキサンチン高含有化のための育種・栽培・貯蔵技術の開発

枝内樹体含水率を8月に40%を、10月には38%を下回るように灌水管理を行うことにより、高糖度でβ-クリプトキサンチンを高含有する果実の栽培が可能であることが明らかになった。また貯蔵に適しているとされる青島やシルバーヒルでは、収穫後に10℃付近の温度で貯蔵すると、食味関連成分(糖、有機酸、アミノ酸等)の変動を最小限に抑えて新鮮な食味を維持しつつ、β-クリプトキサンチン含量を収穫直後に比べて1.3倍程度に増強し、その含量を維持できることが明らかとなった(図3)。また果樹茶業研究部門で育成したカンキツ品種のうち、β-クリプトキサンチン含量は、「みはや」、「西南のひかり」、「かんきつ中間母本農6号」などで高かった。ウンシュウミカンの11月から翌年6月のかんきつ中間母本農6号まで、これらのカンキツ品種がβ-クリプトキサンチンの供給源になると考えられた(図4)。

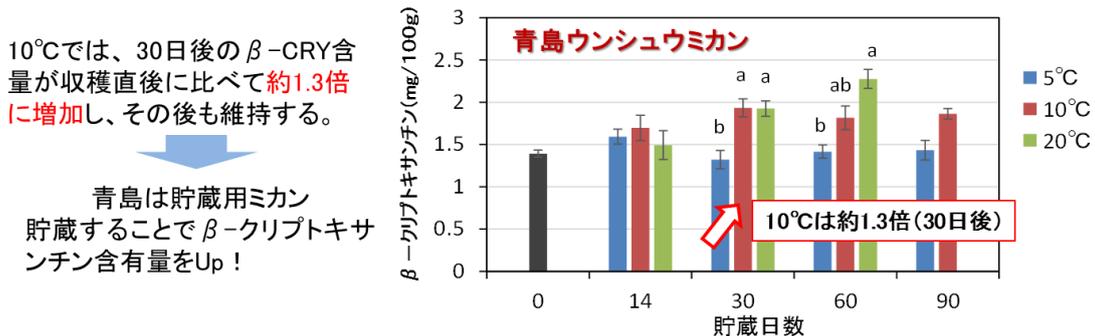


図3 ウンシュウミカンを10℃で貯蔵するとβ-クリプトキサンチンが増加する

青島温州においては、収穫直後に比べて含量が1.3~1.4倍程度、高く維持される傾向が見られた。また10℃では食味関連成分の変化が少なく、3ヵ月目の食味は5℃に比べて10℃の果実の方が良好であった。

β-クリプトキサンチンを高含有する果実の供給体制

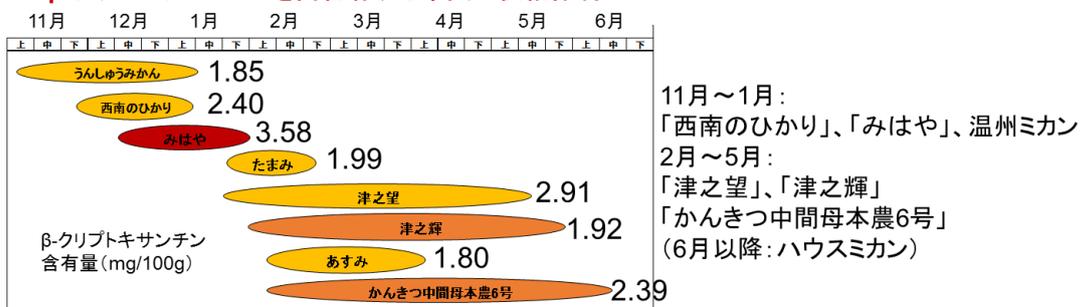


図4 β-クリプトキサンチン高含有の育成品種の一覧

11月から翌年6月頃までβ-クリプトキサンチンの摂取源となる高含有カンキツ品種がある。

4. β-クリプトキサンチンに着目したカンキツ加工食品の事業化実現に向けた取り組み

日本園芸農業協同組合連合会の協力を得て、同会傘下のウンシュウミカン搾汁企業9社に対し現地調査を実施した。対象企業に対して個別に詳細なインタビューを行い事業化モデルについて協議したが、長年の商習慣と搾汁原料の大幅減少から新たに機能性飲料を開発する余地が少ないこと、β-クリプトキサンチン資源の有効活用に向けた加工残渣の活用には意欲があることが明らかになった。各社ごとに事業化の可能性を検討し、事業化に向け、製品化企業4社とのマッチングなど、事業化モデルを決定し、一部提案に移した。また既存の果汁商品の「食品の新たな機能性表示制度」による「機能性表示商品」化に取り組んだ。JAみっかびの三ヶ日みかんについて、β-クリプトキサンチンの含有量を詳細に調査し、骨の健康に効果が期待できる3mgのβ-クリプトキサンチンを摂取するために必要なミカン摂取量を明らかにし、生鮮物として始めて受理登録された(A-79)。またβ-クリプトキサンチン高含有果汁飲料「アシタノカラダ」も機能性表示食品として受理登録された(A-105) (図5)。

商品規格

一日摂取目安量 可食部270g(およそ3個)
 一日摂取目安量当たりの含有量 3mg

JAみっかび興津早生みかん(mg/可食部270g)

	特選	秀	優	良
信頼区間(95%上限)	4.97	4.66	4.32	3.60
平均値	4.85	4.54	4.17	3.49
信頼区間(95%下限)	4.73	4.42	4.01	3.39
標準偏差	0.19	0.19	0.25	0.16
95%下限値	4.54	4.22	3.75	3.22
平均値 - 2σ	4.47	4.15	3.66	3.16



早生みかんでも
機能性表示ミカンとして
3mgを保証できる

JAみっかびの「三ヶ日みかん」が生鮮物として始めて機能性表示食品として受理された。届出番号 A-79第79号 2015.9.8

POMアシタノカラダも



届出番号 A-105

2015年11月4日東京市場に初出荷。初競りで昨年より2割の高値がついた。

図5 機能性表示食品としての「三ヶ日みかん」とえひめ飲料「POM アシタノカラダ」

いずれも「本品には、β-クリプトキサンチンが含まれています。β-クリプトキサンチンは骨代謝のはたらきを助けることにより、骨の健康に役立つことが報告されています。」という機能性表示を行い、2015年から販売が行われている。

今後の課題・展望

本プロジェクトにより、β-クリプトキサンチンが糖尿病を始めとする様々な生活習慣病の予防改善に有効であることが示された。今後はβ-クリプトキサンチンが何故、他のカロテノイド類よりも優れた生体調節機能を有するのか、またビタミン類、更には他の食品成分の組み合わせ効果についても検証を進める。現在、生鮮物としてのミカンでは2事業者、一次加工品としてのミカン果汁飲料では2事業者が機能性表示食品として消

費者庁に受理登録されているが、今後も他の産地からの届出支援を行うとともに、β-クリプトキサンチンを高含有するミカン以外のカンキツ品種についても機能性表示食品としての展開を図る。またカンキツ類に多いビタミン C の含有量についても調査を行い、国産カンキツ類をビタミン C の多い栄養機能食品としての普及を図る。これらの取り組みにより、国産カンキツ類が日本人の健康維持・増進に真に役立てられる食品であることの有益な情報を普及させ、食の欧米化による生活習慣病の増大が問題となっている日本人の健康長寿に貢献する。

研究成果一覧（論文、特許、商品）

原著論文

- 1) Minoru Sugiura, Kazunori Ogawa, Masamichi Yano (2014). Comparison of bioavailability between β-cryptoxanthin with β-crotenone and tissue distribution in its intact form in rats. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**. 78(2):307-310.
- 2) Masuko Kobori, Yinhua Ni, Yumiko Takahashi, Natsumi Watanabe, Minoru Sugiura, Kazunori Ogawa, Mayumi Nagashimada, Shuichi Kaneko, Shigehiro Naito, Tsuguhiro Ota (2014). β-Cryptoxanthin Alleviates Diet-Induced Nonalcoholic Steatohepatitis by Suppressing Inflammatory Gene Expression in Mice. **PLoS One**. 9(5):e98294.
- 3) Minoru Sugiura, Mieko Nakamura, Kazunori Ogawa, Yoshinori Ikoma, Hikaru Matsumoto and Masamichi Yano (2015). High serum carotenoids associated with lower risk for metabolic syndrome and its components among Japanese subjects: Mikkabi cohort study. **British Journal of Nutrition**. 114: 1674-1682.
- 4) Minoru Sugiura, Mieko Nakamura, Kazunori Ogawa, Yoshinori Ikoma, Hikaru Matsumoto and Masamichi Yano (2015). High serum carotenoids associated with lower risk for developing type 2 diabetes among Japanese subjects: Mikkabi cohort study. **BMJ Open Diabetes Research & Care** 3: e000147.
- 5) Yinhua Ni, Mayumi Nagashimada, Lili Zhan, Naoto Nagata, Masuko Kobori, Minoru Sugiura, Kazunori Ogawa, Shuichi Kaneko, Tsuguhito Ota (2015). Prevention and Reversal of Lipotoxicity-Induced Hepatic Insulin Resistance and Steatohepatitis in Mice by an Antioxidant Carotenoid, β-Cryptoxanthin. **Endocrinology**. 156(3):987-999.
- 6) Minoru Sugiura, Mieko Nakamura, Kazunori Ogawa, Yoshinori Ikoma, Hikaru Matsumoto and Masamichi Yano (2016). High serum carotenoids are associated with lower risk for developing elevated serum alanine aminotransferase among Japanese subjects: the Mikkabi cohort study. **British Journal of Nutrition**. 115, 1462-1469.
- 7) Minoru Sugiura, Mieko Nakamura, Kazunori Ogawa, Yoshinori Ikoma, Hikaru Matsumoto and Masamichi Yano (2016). High Vitamin C Intake with High Serum β-Cryptoxanthin associated with Lower Risk for Osteoporosis in Post-Menopausal Japanese Female Subjects: Mikkabi Cohort Study. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology** 62,185-191.

- 8) Mieko Nakamura, Minoru Sugiura, Kazunori Ogawa, Yoshinori Ikoma and Masamichi Yano (2016). Serum β -cryptoxanthin and risk of high brachial-ankle pulse wave velocity: the Mikkabi cohort study. ***Nutrition, metabolism & cardiovascular disease***. 26(9): 808-814.
- 9) Bunzo Matsuura, Terumi Miyake, Shin Yamamoto, Shinya Furukawa and Yoichi Hiasa (2016). Usefulness of Beta-Cryptoxanthin for Nonalcoholic Fatty Liver Diseases. ***Journal of Food & Nutritional Disorders*** 5: 3. 10.4172/2324-9323.1000196.
- 10) Nobuyuki Takahashi, Kana Ohyama, K Mari Senda, Hiroki Murakami, Ji Yeong An, Lan Yao, Shizuka Hirai, Masamichi Yano, Minoru Sugiura, Takao Sasaki, Masamichi Ihiguro, Tsuyoshi Goto and Teruo Kawada β -Cryptoxanthin directly and indirectly improves abnormalities of glucose and lipid metabolism through PPAR γ and leptin in obese diabetic mice. ***Molecular Nutrition and Food Research***. 再投稿中
- 11) Mieko Nakamura, Minoru Sugiura, Yosuke Shibata and Toshiyuki Ojima. Effect of β -cryptoxanthin-rich Satsuma mandarin juice supplementation on pulse wave velocity: a randomized controlled trial. ***Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism***. 再投稿中

総説

- 12) 杉浦 実 (2016). β -クリプトキサンチンと生活習慣病リスク-最近の疫学的知見から. **ビタミン**. 90(1): 9-18.
- 13) 杉浦 実 (2015). β -クリプトキサンチンと生活習慣病予防: 最近の疫学研究から. ***Yakugaku Zasshi***. 135(1): 67-76.
- 14) 太田嗣人 (2013). ウンシュウミカン等に含まれる β -クリプトキサンチンの脂肪肝に対する作用: 総説. **内分泌・糖尿病・代謝内科**. 科学評論社. 36(3):291-298.
- 15) Lang Xu, Hironori Kitade, Yinhua Ni and Tsuguhiro Ota (2015). Roles of Chemokines and Chemokine Receptors in Obesity-Associated Insulin Resistance and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Review. ***Biomolecules***. 5(3):1563-1579.
- 16) 太田嗣人、Yinhua Ni、永島田まゆみ、長田直人、金子周一、杉浦 実、小堀真珠子(2015). カロテノイドに着目した非アルコール性脂肪肝炎の治療法開発. **臨床薬理の進歩**. 36:1-11.
- 13) Liang Xu, Hironori Kitade, Yinhua Ni, and Tsuguhito Ota (2016). Novel action of carotenoid on non-alcoholic fatty liver disease: macrophage polarization and liver homeostasis: Review. ***Nutrients***. 8(7): 1563-1579.
- 17) Guanliang Chen, Yinhua Ni, Naoto Nagata, Liang Xu, and Tsuguhito Ota (2016). Micronutrient antioxidants and nonalcoholic fatty liver disease: Review. ***International Journal of Molecular Sciences***. 17(9): 1379.

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門 山本（前田）万里、
八巻幸二、渡辺純
大阪医科大学・医学部・内科学 I 花房俊昭*、寺前純吾、佐野寛行、谷本啓爾、忌部尚、宮脇正博
国立大学法人九州大学大学院農学部研究院・食糧化学研究室 立花宏文
国立大学法人千葉大学大学院・園芸学研究科 江頭祐嘉合、平井静、蒲原智子、石井彩香、三好萌、
杉本光季
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹茶業研究部門 堀江秀樹、物部真奈美
アサヒ飲料株式会社・研究開発本部・篠田有希、岡田賢次
森永製菓株式会社・研究所・健康科学研究センター・西村栄作

要約

① -1 「ベにふうき」緑茶のヒト介入試験による脂質代謝改善効果等の検証

「ベにふうき」緑茶のヒト介入試験による脂質代謝改善効果等の検証(2013年度)

BMI 25 kg/m² 以上、LDL コレステロール 3.10 mmol/L (120 mg/dL)以上の 149 人を被検飲料であるプラセボ群（麦茶群）、やぶきた茶摂取群（やぶきた群）、ベにふうき茶摂取群（ベにふうき群）の 3 群（表 1）に無作為に割付け、12 週間の介入試験を行った。その結果、メチル化カテキンを含む「ベにふうき」緑茶は、麦茶と比較して有意に血清 LAB 濃度を低下させた。また、日常的に緑茶を飲む習慣のない群において、麦茶と比較して有意に総コレステロール値及び LDL コレステロール値を低下させた。「ベにふうき」緑茶は、これらの機序を介して心血管病のリスク低減に寄与する可能性が示唆された。

① -2 「ベにふうき」緑茶のヒト介入試験による脂質代謝改善効果等の検証(2014年度)

BMI 18.5 kg/m² 以上、LDL コレステロール 120 mg/dl 以上、HbA1c 6.5%未満の脂質異常未病患者 150 人でのヒト介入試験として、高カテキン(600 mg)含有アイス群、低カテキン(300 mg)含有アイス群、カテキン不含アイス(対照)群の 3 群に無作為に割り付け、12 週間の継続摂取による介入試験を行った。その結果、グリコアルブミン変化量及び LAB 変化量において、高カテキン(600 mg)含有アイス群で他群に比して有意な低下が認められた。

② 「ベにふうき」緑茶の脂質代謝改善効果のヒトにおけるオミクス解析

ベにふうき摂取は脂肪燃焼に関わる遺伝子の発現を上昇させることで脂質代謝改善に寄与する可能性がある。ベにふうきとオリーブオイルの組み合わせ摂取は、PPAR δ とその標的遺伝子の発現が上昇することで脂質代謝が改善し、肥満を予防する可能性がある。

③ ポリフェノールの組合せによる有効性の検証

ベにふうきエキスとケルセチンを組み合わせることで、肝臓の中性脂肪の有意な低下作用が認められた。そのメカニズムに肝臓における脂肪酸の合成抑制が関与している可能性が示唆された。ベにふうきエキスとルチンの組み合わせは、肝臓の中性脂肪の有意な低下作用は認められなかった。ベにふうきエキスとダイゼイン（イソフラボン）の組み合わせは、肝臓の中性脂肪の有意な低下作用は認められなかった。ベにふうきエキスとカカオポリフェノール抽出物を組み合わせることで、肝臓の中性脂肪の有意な低下作用が認められ、肝臓の

ACC1 の遺伝子発現が有意に低下した。そのメカニズムに肝臓における脂肪酸の合成系の抑制が関与している可能性が示唆された。べにふうきエキスとアントシアニン抽出物を組み合わせて摂取することで、肝臓の中性脂肪の有意な低下作用が認められ、肝臓の *SREBP-1c*、*ACC1* の遺伝子発現が有意に低下した。べにふうきエキスとアントシアニン抽出物の組み合わせで肝臓における脂肪の合成を抑制することが示唆された。

④ポリフェノールの組み合わせの動物試験による安全性の検証

機能性食品として期待される緑茶の成分であるカテキン特にエピガロカテキンガレートの安全性を調べる目的で、高用量の摂取まで通常飼育でその影響を調べた結果、1%含有食で4週間飼育でも、有害な影響は確認されず、大量の摂取でも安全性は問題ないと考えられた。フラボノイド複合効果では、エピガロカテキンガレートとケルセチンの両方の0.03%添加食で有意な動脈硬化指数の低下が確認された。

⑤高カテキン緑茶の加工条件等による栄養・機能性成分の変動解析とデータベース化

茶を食材として用いた料理から、茶由来のカテキン、カフェインを分析したところ、40種類のすべての料理から検出された。カフェインは添加量のほぼ100%が茶料理から回収されるにもかかわらず、カテキンでは回収率が低かった。回収率低下の要因として、調理時の加熱による消失や食材への吸着が考察された。

⑥⑦ 高カテキン緑茶を用いた生活習慣病予防食品の開発

「べにふうき」粉末緑茶の処方を作成し、量産試験、保存安定性試験、分析試験を実施した。低カロリーかつ600 mg カテキン配合という課題を解決するため、低温で苦味のマスク効果があり、低カロリーレシピがあるアイスクリームを試験食品として選択した。試験食品は、1日あたり150 kcal以下で設計した。設計した粉末緑茶及びアイスはヒト介入試験の被験食として製造を行い、大阪医大に提供した。

研究の背景や目的

日本では少子超高齢化が進むとともに生活習慣病が増加して医療費が急増している。その原因として食生活の乱れや運動不足が挙げられており、健康で豊かな食生活を享受できる社会の構築に寄与する、画期的な農林水産物や加工品の開発及び個人の健康状態に対応した体系的な供給システムの開発が強く求められている。LDLコレステロールや中性脂肪の増加は動脈硬化に密接に関係しており、日常摂取する食品で改善することが重要である。そのため、高カテキン緑茶「べにふうき」を用いた、脂質代謝改善効果を有する粉末緑茶及び低カロリー菓子を開発する。

研究の内容と方法

①「べにふうき」緑茶のヒト介入試験による脂質代謝改善効果等の検証

「べにふうき」緑茶のヒト介入試験により脂質代謝改善効果等の検証(2013年度)

本研究は、無作為割り付け並行群間比較試験としてデザインされた(UMIN 000011901)。研究期間は12週間とした。広告及び研究協力病院を通じて研究の周知を図り、研究参加者を募った。研究参加者は「べにふうき」(総カテキン 607.5 mg/日、EGCG3"Me 49.5 mg/日)、「やぶきた」(総カテキン 603.0 mg/日、EGCG3"Me 0 mg/日)、麦茶(総カテキン 0 mg/日、EGCG3"Me 0 mg/日)の3群に無

作為に割り付けられ、各群 50 名、合計 150 名を対象とした。組み入れ基準は 20 歳から 80 歳までの LDL コレステロール値 3.10 mmol/L (120 mg/dL)以上、BMI 25 kg/m²以上の成人とした。明らかかな有病者は対象から除外した。主要評価項目として、総コレステロール値、LDL コレステロール値を用いた。副次評価項目として、可溶性レクチン様酸化 LDL 受容体(sLOX)、アポリipoprotein B 含有レクチン様酸化 LDL 受容体リガンド(LAB)、sLOX と LAB を乗じた LOX-index、糖・脂質代謝関連項目、肝機能、鉄代謝関連項目、サイトカイン、血算、尿検査、血圧、脈拍数、体重、体脂肪率を用いた。また介入前後において、食物摂取頻度調査票を用いて食事調査を行った。研究期間中、研究参加者は被験飲料の飲用状況の記録を義務付けられた。

表 1 被験飲料一日当たりのカテキン類及びカフェインの含有量

	(単位 : mg/day)	「べにふうき」群	「やぶきた」群	麦茶群
O-methylated EGCG (EGCG"3Me + GCG"3Me)	49.5	0	0	0
(-)-Epigallocatechin-3-O-(3-O-methyl)-gallate (EGCG"3Me)	42.3	0	0	0
Gallocatechin-3-O-(3-O-methyl)-gallate (GCG"3Me)	7.2	0	0	0
Eight types of catechins	558.0	603.0	0	0
Gallocatechin (GC)	39.6	52.2	0	0
(-)-Epigallocatechin (EGC)	147.6	132.3	0	0
Catechin (C)	11.7	27	0	0
(-)-Epicatechin (EC)	54	40.5	0	0
(-)-Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG)	210.6	243	0	0
Gallocatechin-3-O-gallate (GCG)	34.2	57.6	0	0
(-)-Epicatechin-3-O-gallate (ECG)	55.8	44.1	0	0
Catechin-3-O-gallate (CG)	4.5	6.3	0	0
Total catechins	607.5	603.0	0	0
Caffeine	125.1	129.6	0	0

「べにふうき」緑茶のヒト介入試験により脂質代謝改善効果等の検証(2014 年度)

本研究は、ヒト介入試験により、カテキン（メチル化カテキンを含む）の含有量の異なる低カロリー食品の脂質代謝改善効果等を明らかにするため、カテキン含有量の異なる低カロリーカップアイス 3 群での無作為割付並行群間比較試験とされた。具体的には、BMI 18.5 kg/m²以上、LDL コレステロール 120 mg/dl 以上、HbA1c 6.5%未満の脂質異常未病者 150 人でのヒト介入試験として、高カテキン(600 mg)含有アイス群、低カテキン(300 mg)含有アイス群、カテキン不含アイス(対照)群の 3 群に無作為に割り付け、3ヶ月の継続摂取を行った。介入の前後で 0、1.5、3ヶ月時の問診、採血、採便によって LDL-Chol、TG、HDL-Chol、T-chol、HbA1c、GA、IRI、抗酸化マーカー(8-OHGDG)、血清フェリチン、アディポネクチン、トリメチルアミンオキシド、ペントシジン、LOX-index、腸内細菌叢変動・腸内細菌の代謝関連遺伝子発現、血圧、BMI、体脂肪、腹囲、動脈硬化指数等を測定し(一部の項目は 0・3ヶ月時のみの測定)、食事調査を行った。

②「ベにふうき」緑茶の脂質代謝改善効果のヒト、動物試験によるオミクス解析

ベにふうき介入試験被験者から採血した血液サンプルから RNA を回収し、脂質代謝関連遺伝子の発現量を測定した。

③ポリフェノールの組合せによる有効性の検証

ベにふうきエキスと各種ポリフェノール（ケルセチン、ルチン、カカオポリフェノール抽出物、ダイゼイン、アントシアニン抽出物）の組み合わせ効果を調べる実験を行った。

3 週齢 SD 系雄ラットを予備飼育後、高脂肪高コレステロール食（対照群）、高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス食（飼料中 1%）、高脂肪高コレステロール+各種ポリフェノール食、高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス+各ポリフェノール食を添加した飼料を 10 日間投与した。実験飼料は、ベにふうきエキス、ケルセチン、ルチン、カカオポリフェノール抽出物、アントシアニン抽出物は 1%、ダイゼインは 0.1%をそれぞれ含むものを調製した。そしてベにふうきエキスとこれらの各種ポリフェノールの組み合わせ摂取による脂質代謝改善作用を検討した。

動物実験は国立大学法人千葉大学動物実験委員会の承認を得て行った。動物は国立大学法人千葉大学動物実験実施規定に基づいて取り扱った。

④ポリフェノールの組み合わせの動物試験による安全性の検証

1. エピガロカテキンガレート混合標準食でのマウス 4 週間飼育後各種データの蓄積

C57BL/6J 雄性マウスに、エピガロカテキンガレート(EGCG)の添加通常食(0.01%, 0.03%, 0.1%, 0.3%, 1.0%)を与え、2, 3 日おきに体重を測定し 4 週間通常飼育後、血液を採取して、コレステロール(CHO)関連マーカー、肝臓機能マーカー (GOT, GPT)、酸化ストレスマーカーとして、DNA 障害マーカーである 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine/8-OHdG と細胞膜の酸化障害マーカーである 8-Isoprostane を測定した。また肝臓重量も測定した。

2. EGCG とケルセチンの混合標準食でのマウス 4 週間飼育検討

EGCG とケルセチンの単独添加量を 0.03%, 0.3%、及び同時添加ではそれぞれ、0.03%, 0.3% 添加し、フラボノイド 2 種 0.06% と 0.6% 添加として、普通餌に添加した混合餌を作製し、C57BL6J マウスに 4 週間摂取させ、2, 3 日おきに体重を測定し 4 週間飼育し、終了後、肝臓重量、コレステロール(CHO) 関連マーカー、肝臓機能マーカー、酸化ストレスマーカーを調べた。

⑤高カテキン緑茶の加工条件等による栄養・機能性成分の変動解析とデータベース化

緑茶を使った料理 40 品からカテキン類及びカフェインを抽出し、高速液体クロマトグラフィを用いて分析した。さらにモデル調理を実施し、カテキンの変動要因を解析した。

研究の結果と考察

①「ベにふうき」緑茶のヒト介入試験による脂質代謝改善効果等の検証

「ベにふうき」緑茶のヒト介入試験により脂質代謝改善効果等の検証(2013 年度)

3 群に割り付けられた 169 名のうち、参加基準を満たさない参加者及び研究期間中の脱落者はそれぞれ、ベにふうき群で 5 名及び 2 名、やぶきた群で 5 名及び 4 名、麦茶群で 4 名及び 0 名であった。介入 12 週間を完遂した対象者はベにふうき群で 49 名、やぶきた群で 51 名、麦茶群で 49 名の合計 149 名であった。群間差検定は Dunn' multiple comparison test で行った。主要評価項目である総コレステ

総コレステロール値、LDL コレステロール値は全数解析では有意差を認めなかったが、層別解析では、日常的に緑茶を飲用しない層では、麦茶群と比較してべにふうき群でそれぞれ有意に低下を認めた(図 1,2)。

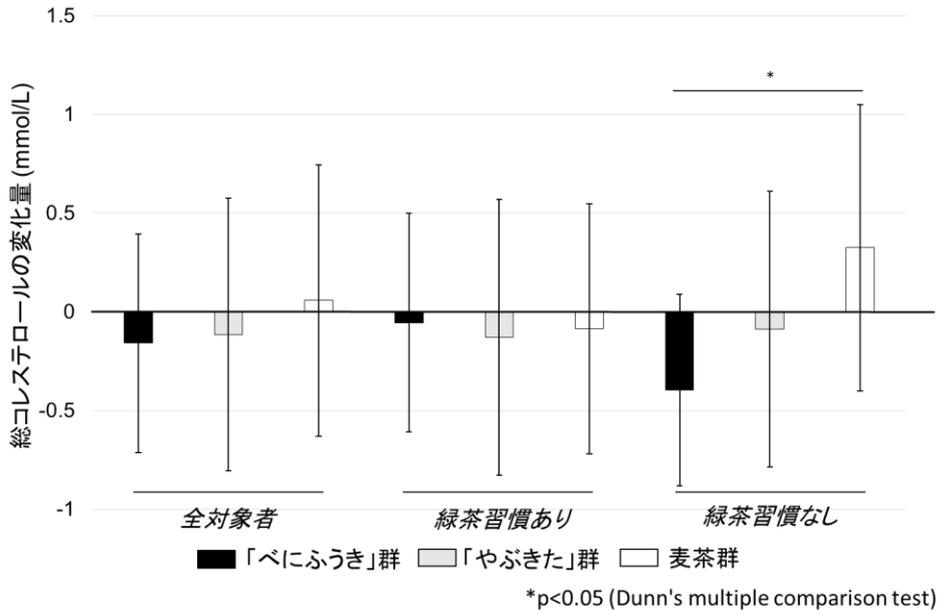


図 1 介入 12 週間における総コレステロールの変化量

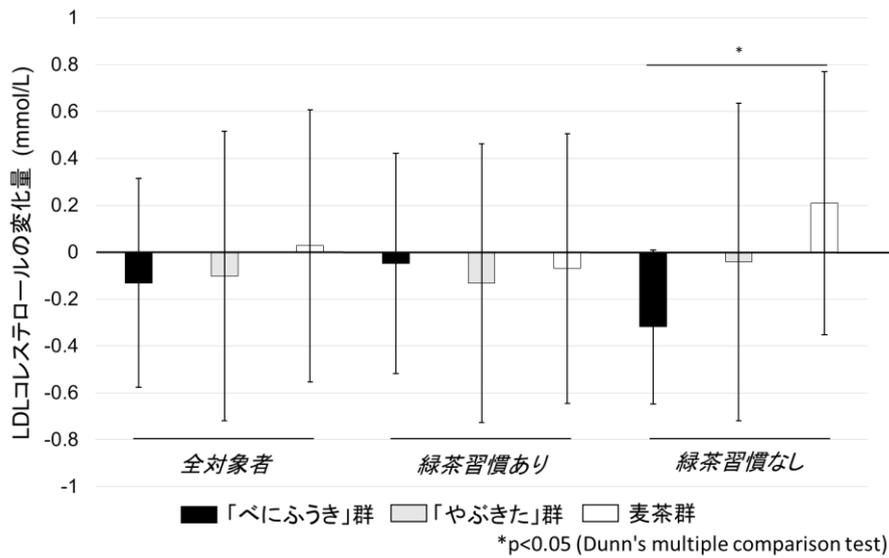


図 2 介入 12 週間における LDL コレステロールの変化量

副次評価項目では、全数解析で LAB は麦茶群と比較してべにふうき群でそれぞれ有意に低下を認めた(図 3)。

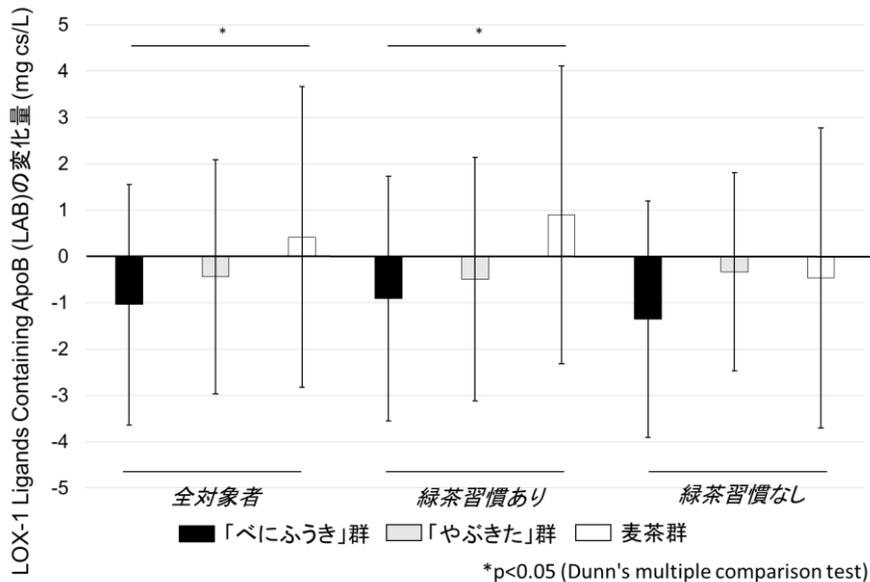


図3 介入12週間におけるLABの変化量

変性LDLの受容体の指標sLOX-1及びリガンドと受容体の相互作用の指標LOX-indexでは、層別解析を含め、群間差を認めなかった。

緑茶カテキンはコレステロール及びトリグリセリド低下効果を有しており、消化管でのコレステロールのミセル化を阻害することが作用機序として報告されている。またEGCGは消化管から血中に吸収され、LDL受容体の発現を増加することにより脂質代謝を改善することが報告されている。「ベにふうき」は「やぶきた」とは異なり、メチル化EGCGを有する。メチル化EGCGはEGCGと比べて消化管からの吸収効率が高い。「やぶきた」と比較して「ベにふうき」は、コレステロール合成遺伝子の発現を有意に抑制し、コレステロールから胆汁酸に変換するCYP7A1の肝臓でのmRNAの発現を増加させることが報告されている。「ベにふうき」は、これらの機序を介して「やぶきた」よりも強いコレステロール低下作用を有するものと考えられる。メタ解析では、緑茶はコレステロール値を低下させると報告されていたが、本研究で全数解析を行ったところ、総コレステロール値、LDLコレステロール値において有意差を認めなかった。本研究においては、参加者の3分の2が緑茶を日常的に飲用していることが判明しており、研究開始前に被験飲料以外の茶飲料を中止するためのウォッシュアウト期間を設けなかったことが結果に影響したものと考えられた。それ故に、緑茶を飲まない層での解析は、本来のカテキンのコレステロール値低下作用を評価したものと考えられ、麦茶群と比較して「ベにふうき」群では有意にコレステロール値が低下した。

また動脈硬化指標としてsLOX-1、LAB、LOX indexを用いた。LOX-1は血管内皮細胞の酸化LDL受容体で、LOX-1が酸化LDLと結合することにより血管内皮細胞は機能不全に陥り、LOX-1は動脈硬化進展の全ての段階で関与している。動脈硬化モデルマウスではLABは高値を呈し、抗酸化治療でLABは低下する。LABは動脈硬化を加速させ、LABの血中濃度は動脈硬化の今後の進展を予測するのに役立つ可能性がある。sLOX-1は動脈硬化と炎症の進展度を反映し、LABとsLOX-1を乗じたLOX-indexは心血管病のバイオマーカーとされる。既報ではLABとLOX-indexの高値はLDL-C高値とは別の動脈硬化性疾患の危険因子であることが示唆されている。本研究では、全数解析においてsLOX-1とLOX-indexでは3群間で有意差を認めなかったが、LABは麦茶群と比較して「ベにふうき」群で有意に低下を認めた。

以上より、「ペにふうき」は麦茶よりも動脈硬化の進展予防に寄与する可能性が示唆された（図4）。

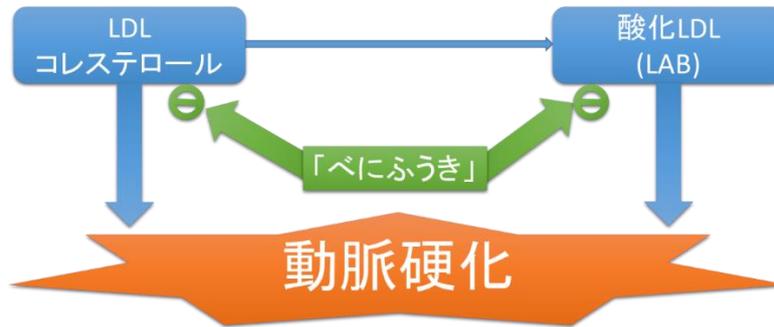


図4 ペにふうき緑茶の動脈硬化予防効果

「ペにふうき」緑茶のヒト介入試験により脂質代謝改善効果等の検証(2014年度)

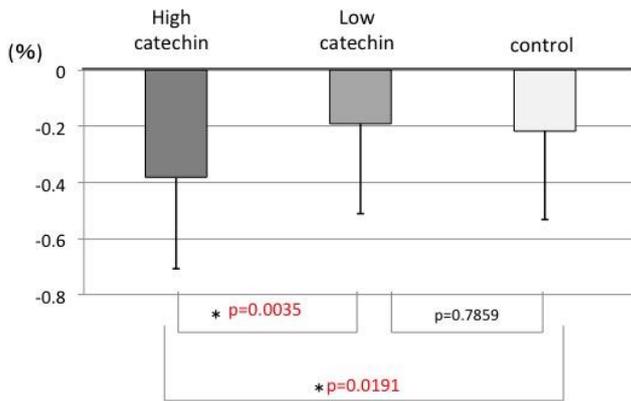


図5 介入前から12週にかけてのグリコアルブミン変化量 * p<0.05

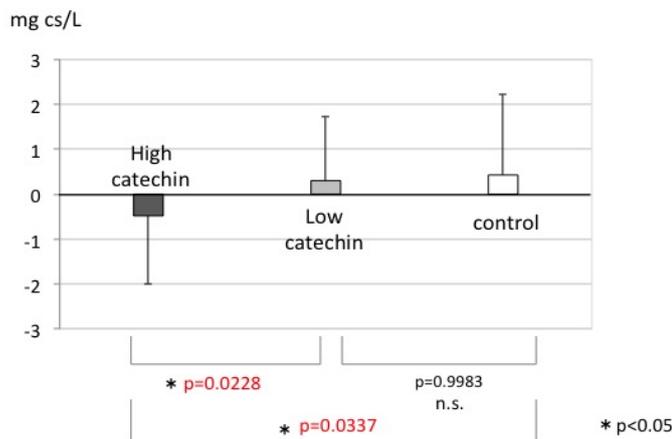


図6 介入前から12週にかけてのLAB変化量 Steel-Dwass検定をもちいて解析

本研究に参加を希望する159名に対し文書による同意を得て3群に53名ずつ割り付けて試験を実施し、途中脱落した10名を除いた149名において、主要アウトカム評価項目である脂質・糖代謝の3群間解析では、脂質代謝においては3群間で明らかな有意差は認められなかったが、糖代謝におけるグリコアルブミンの変化量において、高カテキン

(600mg)含有アイス群で有意に低下が認められた(Tukey-Kramer検定)(図5)。さらに副次アウトカム評価項目であるLAB(酸化LDL)の変化量において、介入前に比較し3ヶ月経過時点で高カテキン(600mg)含有アイス群では他群に比して有意な低下が認められた(Steel-Dwass検定)

(図6)。飲茶習慣別での層別解析を行ったとこ

る、飲茶習慣がない群では、グルコアルブミン変化量において高カテキン(600mg)含有アイス群での有意な低下傾向が認められた(Steel-Dwass 検定)。その他の測定項目・検査項目においては、層別解析を含めて、明らかな群間差は認められなかった。以上より、介入試験の結果、対照群と比較して高カテキン含有アイス群においてグリコアルブミン変化量及び LAB 変化量に関して有意な低下が認められた。

2013 年度研究でも示されているように、sLOX-1、LAB、LOX-index は動脈硬化進展の全ての過程に関与する。LAB は動脈硬化を加速させ、LAB の血中濃度は動脈硬化の今後の進展を予測するのに役立つ可能性がある。本研究では、全数解析において sLOX-1 と LOX-index では 3 群間で有意差を認めなかったが、LAB はカテキン不含アイス群と比較して高カテキン含有アイス群で有意に低下を認めた。2013 年度研究でも LAB は麦茶群と比較して、メチル化カテキンを含む「べにふうき」群で有意に低下を認めたことから、本研究においてもメチル化カテキンが LAB の改善に影響を与えた可能性が示唆され、LAB の改善を通して動脈硬化の進展予防に寄与する可能性が示唆された。

②「べにふうき」緑茶の脂質代謝改善効果のヒト、動物試験によるオミクス解析

べにふうき摂取介入試験の終了時の脂質代謝関連遺伝子 UCP2、ACADM、PDK4、SLC25A20 の各発現量は、介入開始時と比較して有意に高値を示したことから、べにふうき摂取はこれらの脂肪燃焼に関わる遺伝子の発現を上昇させることで脂質代謝改善に寄与する可能性が示された(図7)。

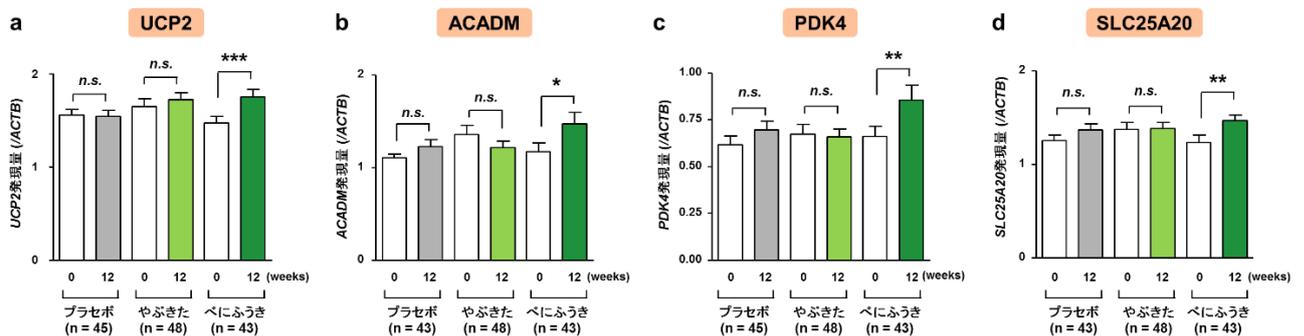


図7 ヒト全血における PPAR 標的遺伝子 (a) UCP, (b) ACADM, (c) PDK4, (d) SLC25A20 の遺伝子発現量に及ぼす緑茶摂取の影響 (Means \pm S.E., Paired *t*-test, **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001)

③ポリフェノールの組合せによる有効性の検証

べにふうきエキスと各種ポリフェノール(ケルセチン、ルチン、カカオポリフェノール抽出物、ダイゼイン、アントシアニン抽出物)の組み合わせ効果を調べる実験を行った。

べにふうきエキスと各種ポリフェノールを組み合わせた群の血液成分、体重増加量、皮下脂肪、褐色脂肪、内臓脂肪重量は、対照群に比し、有意な差は見られなかった。しかし、肝臓中の中性脂肪(トリグリセリド)値(図8)は、肝臓g当り及び全肝臓重量当りともに、べにふうきエキス(1%)とケルセチン(1%)、カカオポリフェノール抽出物(1%)、アントシアニン抽出物(1%)を組み合わせた群は、対照群より有意に低下し、脂肪肝を抑制した。また、肝臓中の総コレステロール値も組み合わせにより対照群に比べ有意に低下した(図9)。一方、べにふうきエキス(1%)とルチン(1%)、ダイゼイン(0.1%)の組み合わせは

肝臓脂質において有意な差は見られなかった¹⁾。

このように、ベにふうきエキスとケルセチン、カカオポリフェノール抽出物、アントシアニン抽出物の組み合わせは、ベにふうきエキスを単独で使用するより、肝臓における中性脂肪の蓄積を低下させ、脂肪肝を抑制することが明らかとなった。

メカニズムを調べるため、見かけの脂質の吸収率を測定した。その結果、ベにふうきエキスと各種ポリフェノールの組み合わせ群は、脂質の見かけの吸収率には影響を与えなかった。

さらに肝臓の脂質代謝に関与する主要な遺伝子 (*SREBP-1 c*, *PPAR α* , *FAS*, *ACC1*, *SCD1* 等) の発現を定量 RT-PCR 法で測定した。その結果、ベにふうきエキス+ケルセチン群では *FAS* の遺伝子発現が対照群に比し有意に低下した。ベにふうきエキスとカカオポリフェノール抽出物の組み合わせは、肝臓中の *ACC1* mRNA を有意に減少させた。他の脂肪酸合成に関わる遺伝子発現も減少傾向を示したことから、ベにふうきエキスとケルセチンやカカオポリフェノールの組み合わせは、肝臓の脂肪酸合成を抑制することにより、肝臓中の中性脂肪の蓄積を低下させる可能性が示唆された。

ベにふうきエキス+アントシアニン抽出物群では *SREBP1 c* や *ACC1* の遺伝子発現が対照群に比し有意に低下した (図 10)。一方、ベにふうきエキス+アントシアニン抽出物群は肝臓コレステロールが有意に低下したため肝臓のコレステロール代謝関連遺伝子の発現を測定したが、*SREBP-2* の mRNA レベルは、ベにふうきエキス+アントシアニン抽出物の組み合わせ群で対照群より低い傾向を示したが有意差は認められなかった。また、肝臓の *HMGCOAR*、*CYP7A1* の mRNA レベルも有意な差は認められなかった。以上の結果からベにふうきエキス+アントシアニン抽出物の組み合わせによる肝臓のコレステロール低下作用は、コレステロールの合成抑制によるものではない可能性が示唆された。一方、ベにふうきエキスとアントシアニン抽出物を組み合わせることで、肝臓の中性脂肪の低下作用が認められ、そのメカニズムに肝臓における脂肪酸の合成抑制が関与している可能性が示唆された。

結論：ベにふうきエキスとケルセチン、カカオポリフェノール抽出物、アントシアニン抽出物を組み合わせることで、肝臓の中性脂肪の有意な低下作用が認められ、そのメカニズムに肝臓における脂質の合成抑制が関与している可能性が示唆された。

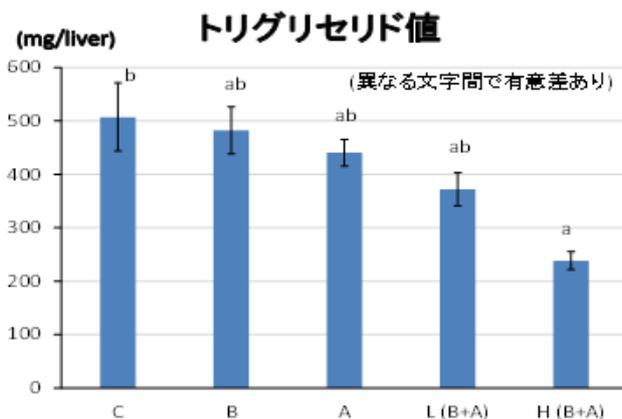


図 8 ベにふうきエキス+アントシアニン食が高脂肪高コレステロール投与ラットの肝臓トリグリセリド値に及ぼす影響

C:高脂肪高コレステロール食 (対照)、B:高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス食、A:高脂肪高コレステロール+アントシアニン抽出物食、L(B+A):高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス+アントシアニン抽出物 (0.5%) 食、H(B+A):高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス+アントシアニン(1%)食 平均値±SE

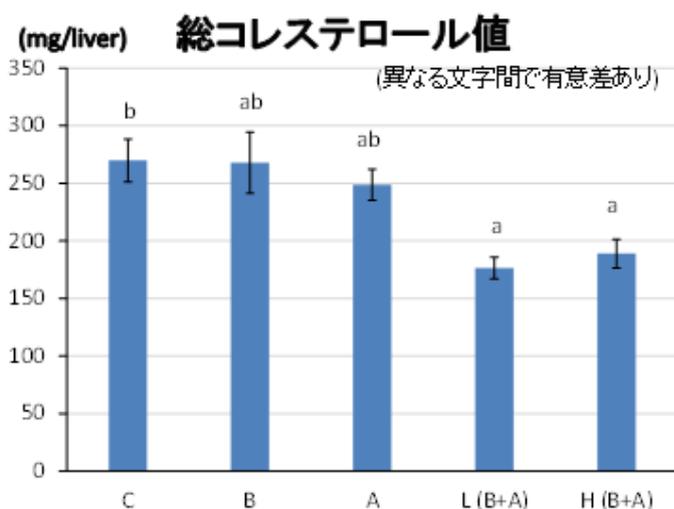


図9 ベにふうきエキス+アントシアニン食が高脂肪高コレステロール投与ラットの肝臓コレステロール値に及ぼす影響

C:高脂肪高コレステロール食(対照)、B:高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス食、A:高脂肪高コレステロール+アントシアニン抽出物食、L(B+A):高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス+アントシアニン抽出物(0.5%)食、H(B+A):高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス+アントシアニン(1%)食 平均値±SE

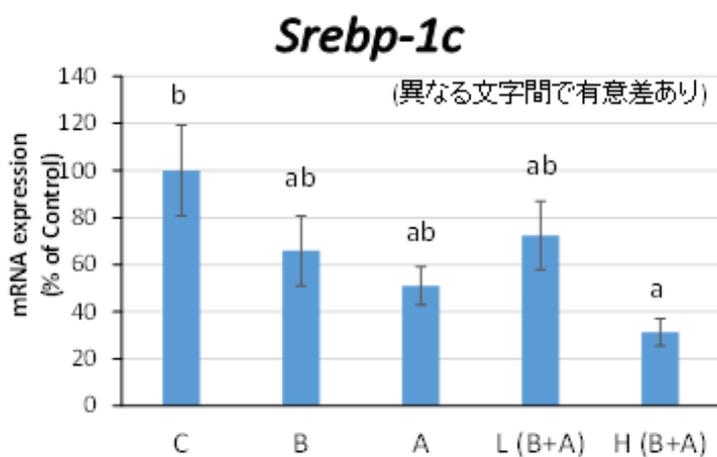


図10 ベにふうきエキス+アントシアニン食が高脂肪高コレステロール投与ラットの肝臓 *Srebp-1c*mRNA 発現に及ぼす影響

C:高脂肪高コレステロール食(対照)、B:高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス食、A:高脂肪高コレステロール+アントシアニン抽出物食、L(B+A):高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス+アントシアニン抽出物(0.5%)食、H(B+A):高脂肪高コレステロール+ベにふうきエキス+アントシアニン(1%)抽出物食 平均値±SE

④ポリフェノールの組み合わせの動物試験による安全性の検証

1. エピガロカテキンガレート含有標準食でのマウス4週間飼育後各種データの蓄積

最終体重は、用量に伴い減少傾向を示したが、有意ではなかった（図 11）。肝臓重量では低下は確認されなかった（図 12）。肝臓機能のマーカである GOT、GPT も変動は確認されなかった。総 CHO、HDL-CHO、LDL-CHO 共に有意な変化は確認されなかったが、EGCG の用量に伴ってわずかな上昇傾向があった。酸化ストレスマーカーの 8-OHdG と 8-Isoprostane は共に有意な変動は確認されなかった。

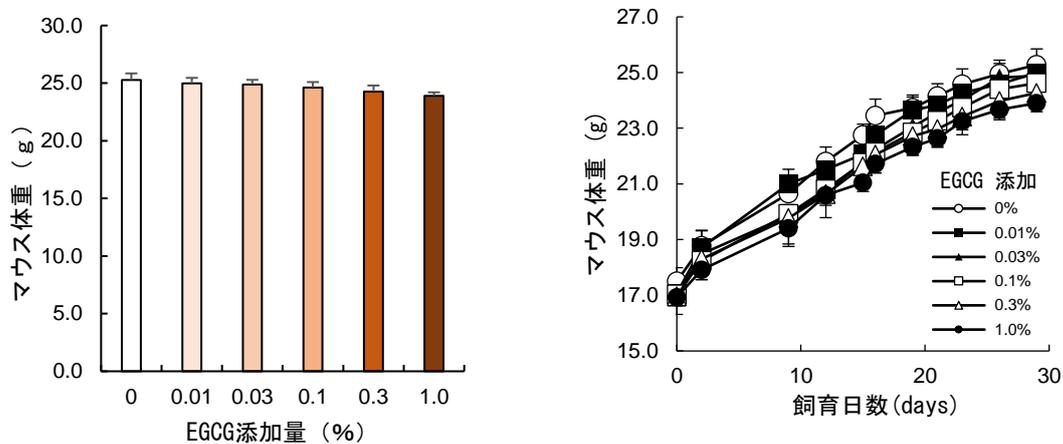


図 11 飼育終了時の体重及び飼育期間中の体重変動

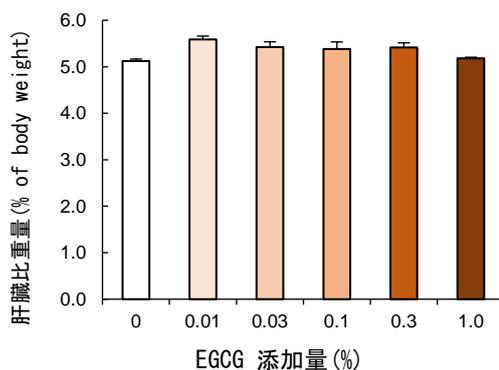


図 12 肝臓比重量（体重に対する比率）

2. EGCG とケルセチンの混合標準食でのマウス 4 週間飼育検討

体重、肝重量に関して、複合餌での変動は確認されず、複合摂取での有害性はないと判断した。血中 CHO 値に関してはコントロール群と比較し、投与群は総 CHO、HDL-CHO の上昇傾向が確認されたが、LDL-CHO の変動は少なかった。動脈硬化指数（LDL/HDL, Arteriosclerosis index, AI）では 0.03% 添加群で有意な減少効果が確認された（図 13A）が、0.3% 群では、複合食で上昇傾向を示した（図 13B）。

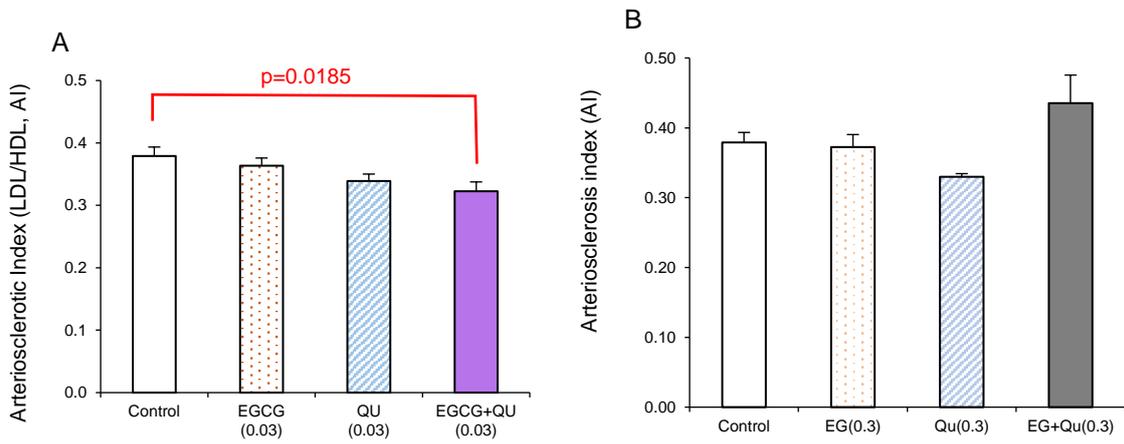


図 13 単独フラボノイド摂取と両フラボノイド複合摂取の動脈硬化指数に対する効果

(A : フラボノイド 0.03%添加試験、B : フラボノイド 0.3%添加試験)

この結果は低用量のフラボノイド複合摂取でより、動脈硬化のリスクが低下することを示唆するものである。

④ 高カテキン緑茶の加工条件等による栄養・機能性成分の変動解析とデータベース化

緑茶粉末を材料として使用した料理（40 種類）の中に存在するカテキン及びカフェインを分析した結果、すべての茶料理にカテキン、カフェインが残存することが確認できた。一部データを抜粋してエピガロカテキンガレート（EGCG）の回収率を図 14 に示した。カフェインの回収率はほぼ 100%であったが、EGCG などカテキンの回収率はカフェインよりも低く、また、「煮る」、「焼く」など調理加熱の方法とカテキンの回収率の関連性は低かった（図 14）。

カテキンの低下要因をさぐるためモデル実験を実施した。茶葉中のカテキンは、200℃の加熱により急速に含量が低下し（図 15）、また pH7 以上でも不安定であった。また茶由来のカテキンはコムギ粉等の食材にも吸着する。カテキンを摂取するには、安定性を考慮した調理法の選択が必要である。

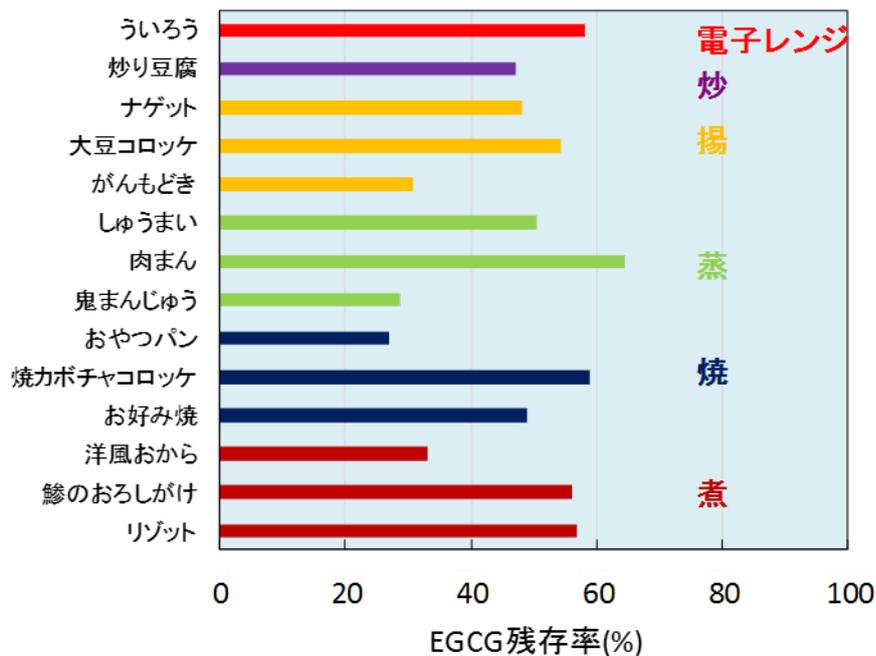


図 14 茶料理からの緑茶カテキンの回収率（一部抜粋）

EGCG(エピガロカテキンガレート)のみ記載した。

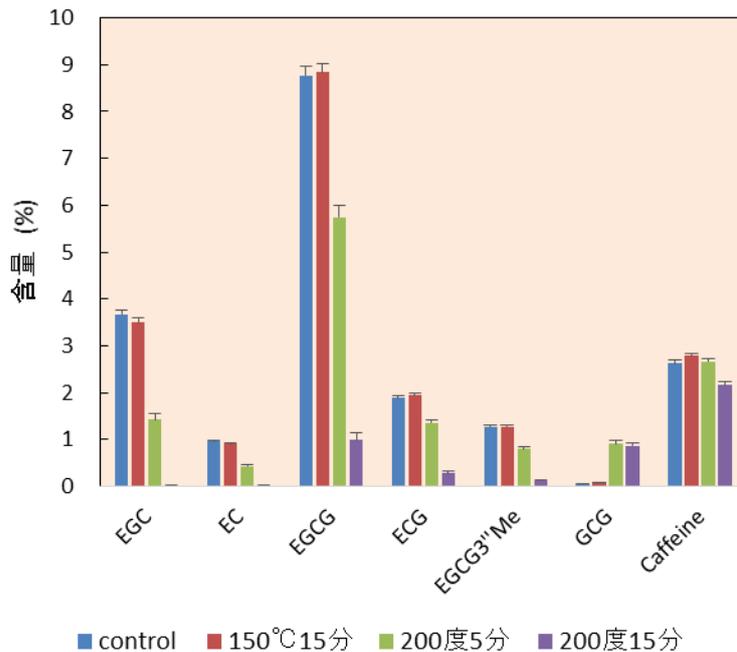


図 15 茶葉粉末中カテキンの加熱にともなう変化

今後の課題・展望

①「ベにふうき」緑茶のヒト介入試験による脂質代謝改善効果等の検証

「ベにふうき」緑茶のヒト介入試験による脂質代謝改善効果等の検証(2013 年度)

今回初めて、ヒトにおける無作為割り付け並行群間比較試験によって「ベにふうき」緑茶の総コレステロール、LDL コレステロール及び LAB 低下効果が明らかとなり、「ベにふうき」の動脈硬化の進展予防に寄与する可能性が示唆された。今回の介入期間は 12 週間であったが、今後は介入期間を延長し、頸動脈エコーによる内膜中膜複合体厚 (IMT) の評価や実際の心血管イベントの発症率のフォローを行い、動脈硬化の進展予防について、検証されることが期待される。

「ベにふうき」緑茶のヒト介入試験による脂質代謝改善効果等の検証(2014 年度)

ヒトにおける無作為割り付け並行群間比較試験によって、高カテキン含有低カロリーアイス摂取による LAB 低下効果が確認され、嗜好品という形態でのカテキン摂取が、動脈硬化の進展予防に寄与する可能性が示唆された。今回は低カロリーアイスという形態で試験を行ったが、他の食品によるより適切な摂取形態の研究、適切な用量特定など検証されることが期待される。

② ベにふうき摂取のヒト介入試験で認められた脂質代謝関連遺伝子の発現上昇に関わるメカニズムを細胞や動物実験で明らかにするとともに、動物試験で得られたベにふうきとオレイン酸を豊富に含む食品素材の組み合わせ効果をヒト介入試験により実証する必要がある。

③ポリフェノールの組合せによる有効性の検証

高脂肪高コレステロール食ラットにおいてベにふうきエキスとケルセチン、カカオポリフェノール、アントシアニンの組み合わせ摂取で、肝臓の脂質含量が有意に減少した。一方、ルチン、ダイゼインでは有意な効果は見られないことを明らかにした。今後さらに組み合わせ効果のあるポリフェノールを探索し、構造相関をみる必要がある。組み合わせ効果のあるポリフェノールを探索し、構造活性相関をみるにあたり、すべて動物実験で行うの

は限界がある為、今後細胞を用いた簡便なアッセイ系の確立が望まれる。

④ポリフェノールの組み合わせの動物試験による安全性の検証

1. 複合摂取効果において、EGCGとQUの複合摂取効果のメカニズム解析

比較的低用量での複合効果が動脈硬化指数で得られたが、このメカニズムの解析が遅れているので、コレステロールの代謝に関して検討する必要がある。

2. 血液中酸化ストレスマーカーの選択

血液中の酸化ストレスマーカーに関して、8-OHdGと8-Isoprostaneの両方を測定しているが、8-OHdGはその変動が大きいので、有意差を得るには動物数や飼育の条件等を厳しく設定する必要がある。8-Isoprostaneは比較的安定した数値が得られるので、モデル動物での検討をした後、酸化ストレスマーカーとして活用できると思われる。

⑤高カテキン緑茶の加工条件等による栄養・機能性成分の変動解析とデータベース化

食品成分に吸着されたカテキンがヒトに吸収されやすいか否か、生物学的利用能の評価が必要である。

参考文献

1) Takashi Suzuki, Motofumi Kumazoe, Yoonhee Kim, Shuya Yamashita, Kanami Nakahara, Shuntaro Tsukamoto, Masako Sasaki, Takatoki Hagihara, Yukari Tsurudome, Yuhui Huang, Mari Maeda-Yamamoto, Yuki Shinoda, Wataru Yamaguchi, Koji Yamada & Hirofumi Tachibana (2013) Green Tea Extract Containing a Highly Absorbent Catechin Prevents Diet-Induced Lipid Metabolism Disorder. *Sci. Rep.*, 3:27-49.

研究成果一覧（論文、特許、商品）

- 1) Hisashi Imbe, Hiroyuki Sano, Masahiro Miyawaki, Reiko Fujisawa, Mai Miyasato, Fumihiko Nakatsuji, Fumitaka Haseda, Keiji Tanimoto, Jungo Terasaki, Mari Maeda-Yamamoto, Hirofumi Tachibana, Toshiaki Hanafusa (2016) "Benifuuki" green tea, containing O-methylated EGCG, reduces serum low-density lipoprotein cholesterol and lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 ligands containing apolipoprotein B: A double-blind, placebo-controlled randomized trial. *Journal of functional foods*.25:25-37.
- 2) 堀江秀樹・江間かおり・野村幸子・物部真奈美(2016) 茶葉を素材として用いた料理から検出されるカテキン. *日本調理科学会誌*, 49, 276-279.
- 3) Kohji Yamaki and Yoko Takahashi (2017). Additive beneficial effect of epigallocatechin gallate and quercetin on the arteriosclerosis index in mice. *Food Science and Technology Research*. 23 (in press).
- 4) 八巻幸二・高橋陽子 (2016). ラットによる食品含有フラボノイドの肝臓, 血清コレステロール, 血清8-イソプロスタンに及ぼす影響の検討. *食品総合研究所報告*. 80号:1-8.
- 5) 忌部 尚・佐野 寛行・谷本 啓爾・寺前 純吾・花房 俊昭 (2016). 緑茶の動脈硬化予防効果のヒト試験による評価, *JATAFF ジャーナル*. 公益社団法人農林水産・食品産業技術振興協会. 31-34.

- 6) 立花宏文 (2016).緑茶ポリフェノールの機能性発現メカニズム.機能性食品と薬理栄養、9(6), 354-359.
- 7) 立花宏文(2016). イノベーションへと繋がる 食品と医学を巡るサイエンス.緑茶カテキンを感知するしくみを知り、活かす. 実験医学、34 (10) , 2730-2733.
- 8) 熊添基文・立花宏文.緑茶カテキンセンシング機構とその応用展開カテキンパワーの引き出し方.化学と生物、54(10), 698-700.
- 9) 山本（前田）万里、機能性農産物の開発と機能性表示制度の活用、日本臨床栄養協会誌（New Diet Therapy）32(4):29-37(2017)
- 10) 蒲原智子、三好萌、杉本光季、平井静、山本万里、江頭祐嘉合(2015) 高脂肪高コレステロール食給餌ラットに及ぼすべにふうきエキスと各種ポリフェノールの組み合わせ効果. 日本農芸化学会大会要旨集（岡山大学）3月26-29日(口頭発表)
- 11) 江頭祐嘉合 (2016)食生活と健康づくり.松戸市市民自主企画講座.10月20日（講演）
- 12) 山本（前田）万里(2015)、食品の機能性を活用した疾病予防、日本内科学会総会（内科医から見た先制医療、パネルディスカッション）4月10日（京都市みやこめッセ）
- 13) Mari Maeda-Yamamoto (2015) Current status of “Research project on development of agricultural products and foods with health-promoting benefits (NARO), Asian Congress of Nutrition (5月16日)（パシフィコ横浜）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹茶業研究部門 庄司俊彦、升本早枝子
弘前大学保健学研究科 三浦富智、北里大学 向井孝夫、京都大学 長嶋一昭、稲垣暢也

要約

リンゴの機能性成分であるプロシアニジンの生体利用性に着目して分離、調製し、生活習慣病モデルで評価したところ、生体利用性が低い高分子プロシアニジンは肥満や血糖値上昇を抑制した。高分子プロシアニジン摂取によって LPS や炎症性サイトカインの増加を抑制し、腸管バリア機能を改善させており、*Akkermansia* 菌などの腸内細菌叢の変化が関与していた。

研究の背景や目的

食品の代表的な機能性成分であるポリフェノールは、ケルセチンなどの低分子で体内へ吸収されるものと、果実や茶、その加工品などに含まれる高分子ポリフェノールに分けられる。高分子ポリフェノールは生体利用性が低く、生体調節機能における働きは不明である。本プロジェクトでは、リンゴの機能性成分であるプロシアニジンや、茶や赤ワインの高分子ポリフェノールの糖・脂質代謝に与える影響を検討し、作用メカニズムを明らかにするため①メタボロームや②腸内細菌叢などの腸内環境に着目して検討した。

研究の内容と方法

リンゴ由来プロシアニジンや、茶や赤ワインに含まれる高分子ポリフェノールを各種クロマトグラフィー法によって分離、調製した。次に、動物モデル（肥満、糖尿病）における高分子ポリフェノールの糖・脂質代謝に与える影響を検討するとともに、尿中のメタボロームや盲腸内容物中の腸内細菌叢の解析を行った。更に、メタボローム解析から見出された代謝物については、RAW246.7 細胞や STC-1 細胞を用いて GLP-1 や Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) 産生に与える影響を検討した。

研究の結果と考察

① 高分子プロシアニジン画分の調製

リンゴから調製したプロシアニジン画分を分取順相クロマトグラフィーによって体内吸収が確認されている 1～4 量体画分 (OP) と、吸収されない 5 量体以上の高分子画分 (PP) に分けた (図 1)。

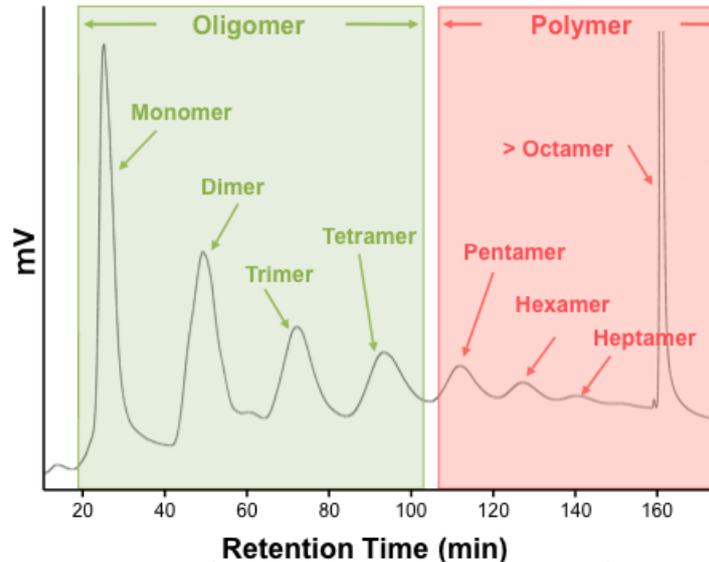


図1 プロシアニジン類の分取順相クロマトグラム

② 高分子プロシアニジン類の食餌性肥満モデルへの影響

20 週間高脂肪高ショ糖食（HFHS）を連続摂取させた C57BL/6J マウスにおける肥満や脂質代謝に与えるリンゴ由来プロシアニジン類の影響を検討したところ、HFHS 食と比較して、OP 摂取群及び PP 摂取群において体重、肝臓、内臓脂肪などの増加が抑制され、通常食（ND）に近づく傾向にあった(図2)。脂質代謝に関係する遺伝子発現は OP と PP による差異は見られなかった。しかしながら、慢性炎症に関係するリポポリサッカライド（LPS）が HFHS 群と比して PP 群で有意に減少し、炎症性サイトカイン（TNF- α 、IL-6）が減少していた。そこで、腸管バリア機能関連遺伝子（*Tjp 1*、*Ocln*）の発現を調べたところ、PP 摂取群で有意に発現が増加しており、PP 摂取によってバリア機能が向上したことによって体内の慢性炎症が改善したと考えられた。

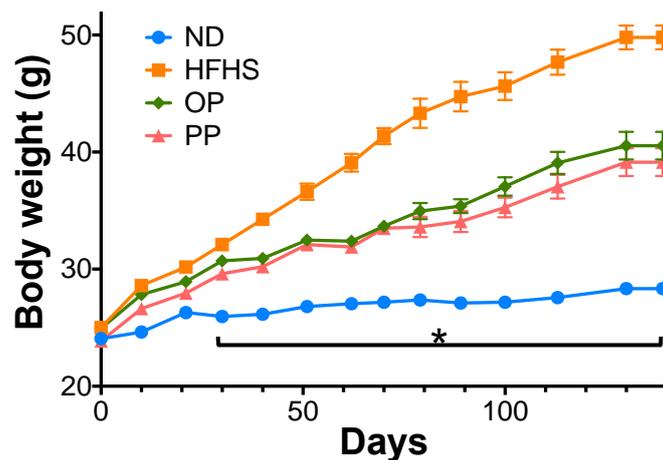


図2 プロシアニジン摂取による体重変化への効果

③ 食餌性肥満モデルにおける高分子プロシアニジン類摂取によるメタボローム解析

肥満モデルにおいて、20 週間飼育後、尿中のプロシアニジン類の代謝物や分解物、アミノ酸代謝物や胆汁酸代謝物などの代謝物を四重極・時間飛行型質量分析計（HPLC-QTOF/MS）を用いて測定した。多変量解析の結果、各摂取群は明確に分けられ、特徴的な代謝物が関与していた。OP 摂取群では、

Dihydroxyphenyl propionic acid や Hydroxyphenyl propionic acid などのカテキン分解物の抱合体が多数見られた。一方、PP 摂取群では、カテキン分解物は見られず、HFHS 群で増加していた p-グルコースやインドール系代謝物の生成が減少していた。これらの物質はチロシンやトリプトファンから腸内細菌によって生成され、肥満やメタボリックシンドロームのマーカー物質であることが報告されている。

④ メタボロームによる Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) や TNF- α 産生の評価

LPS 刺激によるマクロファージ様細胞株 RAW246.7 細胞の TNF- α 産生では、3,4-Dihydroxyphenylacetic acid が PP と同等の産生抑制効果を示した。また、マウス浸潤性小腸神経内分泌癌細胞株 STC-1 細胞の GLP-1 産生では、3,4-dihydroxyhydrocinnamic acid や 3,4-dihydroxyphenylacetic acid によって GLP-1 産生量が増加した。PP 摂取による代謝物の一部は腸管上皮細胞を刺激し、生体調節に関与している可能性が示された。

⑤ 16S rRNA による腸内細菌叢の解析

次に、盲腸内容物から 16S rRNA を抽出し、次世代シーケンサーによる腸内細菌叢の解析を行った。門レベルでは、高脂肪高ショ糖食摂取によって増加する (図 3)。*Firmicutes* 門/*Bacteroidetes* 門 (F/B) 比率が、PP 摂取群で有意に抑制されていた (図 4)。また、属レベルでは、腸管バリア機能の改善に関与している *Akkermansia* 菌が、PP 摂取群で有意に増加していた。PP 摂取による血中 LPS や炎症性サイトカインの増加の抑制に腸内細菌叢の変化が関係している可能性が示唆された。

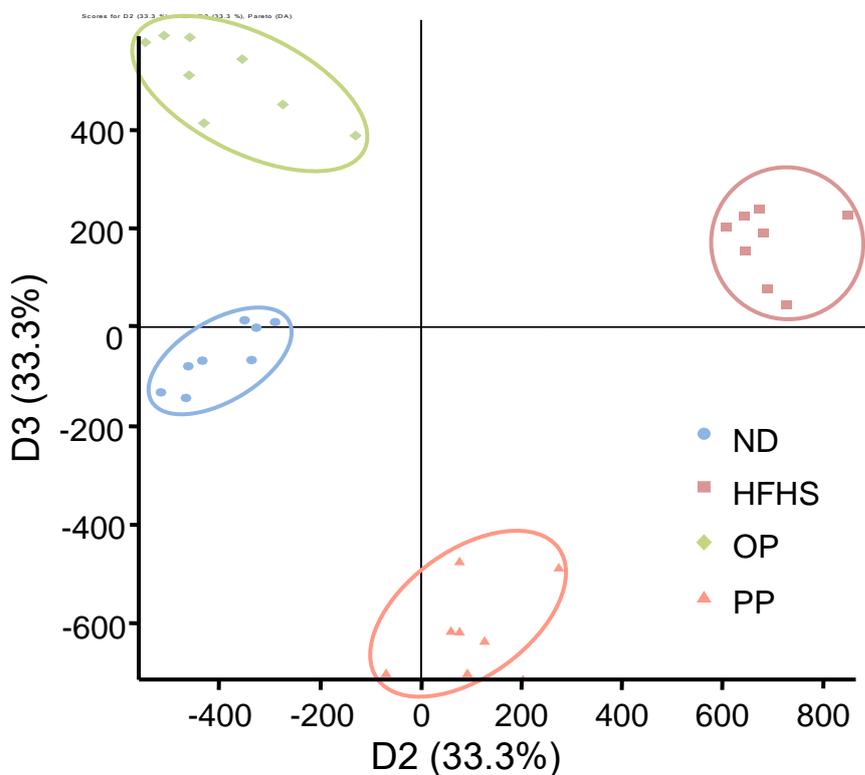


図 3 腸内細菌叢のクラスター解析

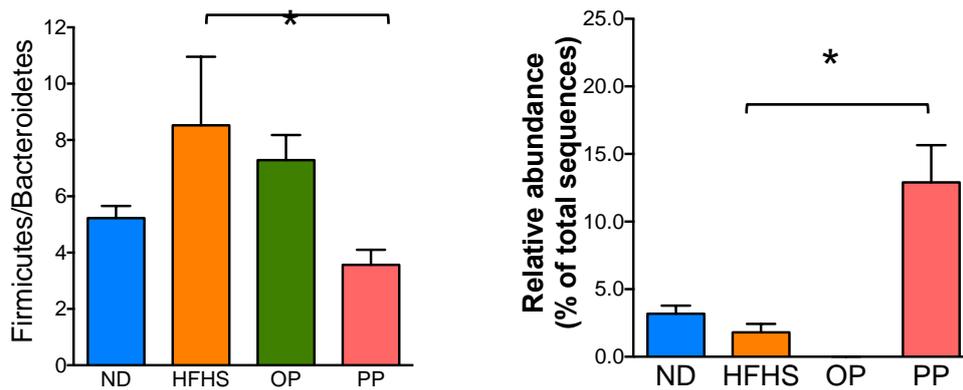


図4 プロシアニジン摂取による F/B 比と Akkermansia 菌への影響

⑥糖尿病モデルにおける高分子プロシアニジンの血糖値上昇抑制効果

3週間 PP 及び OP を連続摂取させた ob/ob マウスでは、糖負荷試験後の血中インスリン値は対照群と比して PP 投与群及び OP 投与群で有意に低値を示したことから PP あるいは OP 長期投与によるインスリン抵抗性の改善が認められた（図5）。また、インスリン抵抗性評価に用いられる HOMA-IR 値及びインスリン負荷試験（ITT）では、PP 投与群及び OP 投与群で対照群と比して有意に HOMA-IR 値改善認め、ITT では、OP 投与群で有意に血糖値低下、PP 投与群で血糖値低下傾向が認められた。

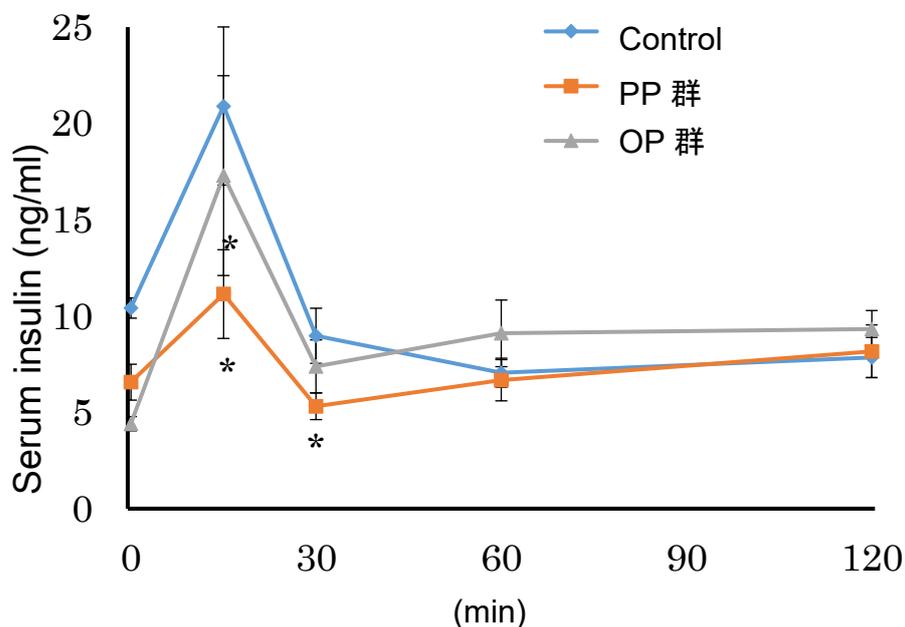


図5 プロシアニジン摂取による血清インシュリンへの影響

今後の課題・展望

リンゴ由来プロシアニジンをはじめとする生体利用率が低い高分子ポリフェノールは糖・脂質代謝を改善することが示された。高分子ポリフェノールやその代謝物による GLP-1 などの腸管ホルモン産生促進や TNF- α な

どの炎症の改善作用が示された。また、高分子ポリフェノールは腸内細菌叢を介して代謝物の産生や腸内細菌叢のバリア機能の向上などに関与している可能性が示された。食品には、吸収を伴わない高分子ポリフェノールや難消化性食物繊維、ペプチドなどが含まれ、生体調節作用に関与する腸管上皮の様々なレセプターや腸内細菌叢の改善によって生体調節機能に関与している可能性があり、新たな食品機能性研究が展開される可能性がある。

研究成果一覧（論文、特許、商品）

<論文>

1) Masumoto S., Terao A., Yamamoto Y., Mukai T., Miura T., Shoji T. (2016) Non-absorbable polymeric procyanidins from apple improve metabolic homeostasis by microbial and metabolomic reorganization. *Sci. Rep.*, 6, 31208.

2) Ogura K. Ogura, M., Shoji T., Sato Y., Tahara Y., Yamano G., Sato H., Sugizaki K., Fujita N., Tatsuoka H., Usui R., Mukai E., Fujimoto S., Inagaki N., Nagashima K. (2016) Oral Administration of Apple Procyanidins Ameliorates Insulin Resistance via Suppression of Pro-Inflammatory Cytokine Expression in Liver of Diabetic ob/ob Mice. *J. Agric. Food Chem.*, 64(46):8857–8865.

<特許>

1) 升本早枝子、庄司俊彦、向井孝夫、山本裕司。アッカーマンシア属菌増殖促進剤及びその使用。特願 2016-140599（平成 26 年 7 月 15 日）。

食べるセロトニンの抗肥満作用機構解明と セロニン高含有農産物の研究開発

東北大学大学院農学研究科 麻生 久、野地智法、渡邊康一、北澤春樹、白川 仁、金山喜則
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・野菜花き研究部門 今西俊介

要約

セロトニンを経口的に摂取することにより、高脂肪食摂取マウスの体重増加を抑制する抗肥満効果が確認された。国内で消費されている穀類、野菜、果実中に含まれるセロニン、及びその前駆体を定量分析し、農産物中のセロニン含量のデータベース作成が可能となった。

セロトニンは加熱、調理により分解すると考えられたが、トマトを凍結乾燥することによってセロニン濃度は 100 mg/g と 10 倍に濃縮されて安定であることを見出した。トマトにおけるセロニンの蓄積は果実の発育にともなって増加し、成熟期にはほぼ一定となり、主要な可食部である中果皮で最も高いことに加え、セロニン含量が塩ストレスによって糖度とともに増加することを明らかにした。

研究の背景や目的

食生活が豊かになって高齢化が進展する中、我が国のメタボリックシンドローム該当者は 900 万人を超え、医療費の増加や国民生活の質の低下等が問題となっているが、メタボリックシンドロームの発症機序は未だ不明で、有効な機能性を有する安全な健全食品の開発が滞っている。本研究では、腸管から吸収されたセロトニンの抗肥満作用を解明すると共に、セロニン高含有機能性食品の開発のための基礎的知見を得ることを目的とする。

研究の内容と方法

経口セロトニンの生理作用：雄 5 週齢の C57BL/6 マウスに、PBS もしくはセロニン(5HT)を経口投与し、セロトニンの吸収動態を解析する。また、マウスにセロトニンを経口投与して小腸を採取し、内因性のセロトニンの合成に与える影響を解析する。経口セロトニンの抗肥満効果：通常飼料または高脂肪飼料を給餌したマウスに、生理食塩水 (PBS) もしくはセロトニンを連日経口投与して体重測定を行い、21 週齢で抗肥満に関わる組織を採材した。セロトニンの評価系の構築：分化脂肪細胞において脂肪蓄積制御に関わる細胞内因子の網羅的解析を行い、セロトニンの評価系の発見的構築と脂肪蓄積制御機構の詳細解明を行った。農産物中のセロニン含量のデータベース作成：開発したセロニンとその前駆体の一斉分析法を用いて、国内で消費されている穀類、野菜、果実中に含まれるセロニン、及びその前駆体を定量分析し、セロニン含量についてのデータベースを作成する。血液、尿中のセロニン測定：実験動物の血液、尿中のセロニン、及びその代謝物を定量した。トマトにおけるセロニン蓄積機構の解明：トマト果実における発育ステージごとのセロニン含量とセロニン合成の鍵酵素候補であるトリプトファンデカルボキシラーゼ遺伝子の発現を比較した。セロトニンの蓄積機構の解明：トマト果実におけるセロニン蓄積に及ぼす環境ストレスの

影響を明らかにする。セロトニン高含有トマト素材の選抜：保有するトマト遺伝資源系統及び一般市販品種を栽培し、個体差及び露地、施設栽培（ビニルハウス、養液栽培等）といった環境の影響を解析した。

研究の結果と考察

「セロトニンの抗肥満作用の解明」

①経口セロトニンの生理作用：経口投与されたセロトニンは速やかに吸収されることが確認され(図1)、糖代謝及び脂質代謝を亢進することが明らかとなった。マウスへのセロトニン経口投与によって、血糖値は有意に低下し、血漿中胆汁酸濃度の上昇が確認され、血漿中のグルコース、インスリン及び脂質代謝関連因子が変動することが明らかとなり、セロトニン経口投与による糖代謝及び脂質代謝調節機能が示された。

セロトニン経口投与 5 時間後のマウス十二指腸における各分化誘導転写因子の発現を解析し、セロトニン経口投与は分泌系列細胞分化に関わる Gfi1 及び内分泌系列細胞分化に関わる Arx の発現を有意に低下させ、セロトニン陽性細胞数の分化を抑制的に制御していることより、セロトニン経口投与は十二指腸の EC 細胞からのセロトニン分泌を誘導すること(図2)が明らかとなった。

②経口セロトニンの抗肥満作用：通常飼料 (Ch) または高脂肪飼料を給餌したマウスに、PBS もしくはセロトニンを連日経口投与して体重測定を行い、21 週齢に、抗肥満に関わる組織及び血液を採材した。高脂肪食給餌マウスの体重に比べ、セロトニンを経口投与した全ての群で、有意に高脂肪食による体重増加を抑制(図3)し、高脂肪食摂取による腹腔内脂肪重量増加を有意に抑制していた。セロトニンを経口投与したマウスは高脂肪食給餌マウスに比べてグルコース代謝能及びインスリン反応性が高いことが明らかとなった。

③経口セロトニンの標的臓器：通常飼料給餌マウスでは、組織中褐色脂肪細胞は多胞性の脂肪滴を有していたが、高脂肪飼料 PBS 投与群の褐色脂肪細胞では脂肪滴が肥大化及び単胞化して白色脂肪へと変化していた。一方、セロトニン投与群では、褐色脂肪細胞中脂肪滴の多胞性が維持され、通常飼料給餌群同様に UCP1 の染色性も高く、特にセロトニン 25 mg 経口投与群では UCP1 のタンパク量も有意に増加していた(図4)。ヒラメ筋における筋繊維型で、セロトニン経口投与群では高脂肪食給餌マウスに比べて脂肪の酸化的代謝を行う I 型筋繊維及び中間型である IIA 型筋繊維の割合が有意に増加していた。また、腓腹筋のミトコンドリア内 NADH 脱水素酵素活性が高まっていることが判明した。

④セロトニンの評価系の構築：研究代表者が樹立したヒトモデルとして有用なブタ筋肉内脂肪前駆細胞 (Porcine Intramuscular Preadipocyte ; PIP) を用いて、セロトニンの抗肥満作用のインビトロ評価系構築を目指した。分化脂肪細胞において、セロトニンで 4 日間刺激後、脂肪蓄積について画像解析したところ、有意な脂肪蓄積抑制が認められ、炎症パラメータである CCL2 の発現と脂肪蓄積との強い相関が認められた。PIP 細胞を用いて、セロトニンの脂肪蓄積制御の効果が評価でき、炎症免疫関連因子や脂肪酸の代謝に関わる酸化還元酵素ファミリーを指標とした詳細な脂肪蓄積制御機構の解明に有効であることがわかった。

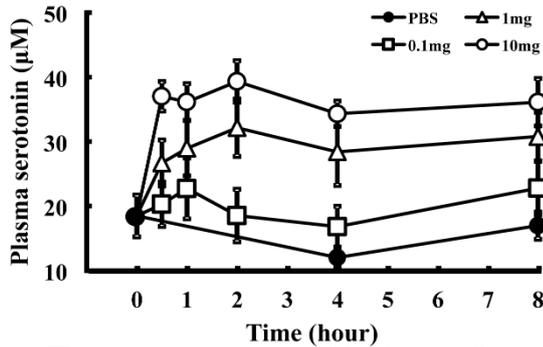


図1 セロトニンの血漿中濃度変化

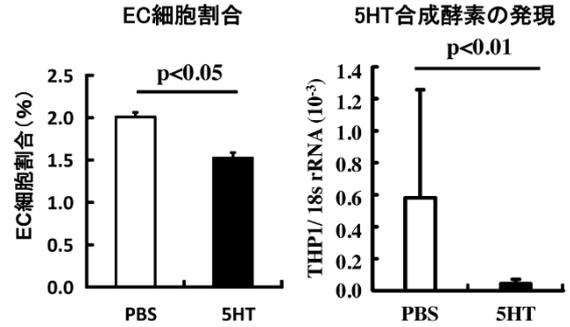


図2 小腸セロトニン内分泌細胞に与える影響

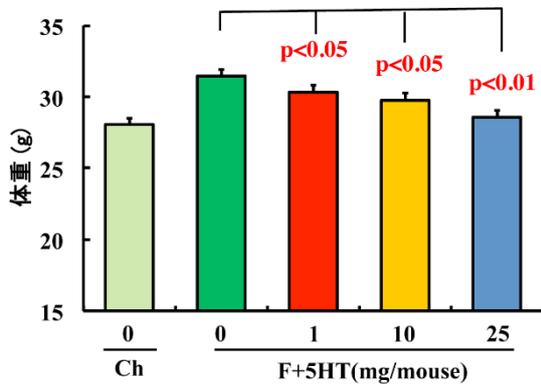


図3 セロトニン経口投与の抗肥満効果

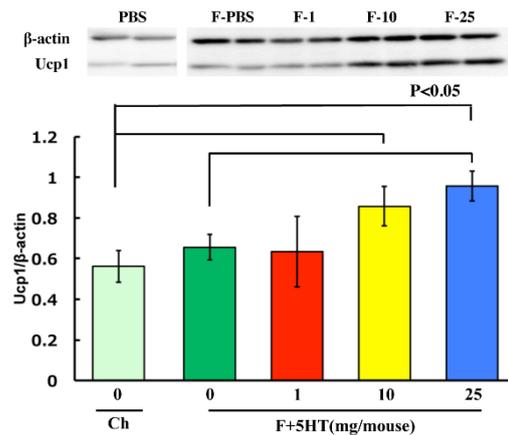


図4 セロトニンの褐色脂肪組織 UCP-1 発現に及ぼす影響

「農産物中セロトニンの分析技術の開発」

①農産物中のセロトニン含量のデータベース作成：国内で消費されている野菜 24 種（ジュース 1 種、缶詰 1 種を含む）、果物 14 種、穀類（米、大麦、小麦（2 種））、豆類（大豆（2 種）、小豆）のセロトニン、トリプトファン、トリプタミン量を測定した。野菜では、トマトにセロトニンが最も多く含まれ、次いで缶詰トマト、トマトジュースとなった(表 1)。缶詰やジュースのセロトニン含量は、トマトの 4 分の 1 から 10 分の 1 であり、加熱などの加工処理によりセロトニンが分解されるものと推定された（トリプトファンやトリプタミンについては、大きな差は見られなかった）。果実では、キュウイ、バナナ、パイナップルにトマトとほぼ同レベルのセロトニンが検出された。野菜、果実ともに、セロトニンと前駆体量との間に相関は見られなかった。また、トマトを凍結乾燥することによってセロトニン濃度は 100 µg/g と 10 倍に濃縮されて安定していたことより、乾燥トマトとしての機能性食品供給の可能性を見出した。

表1 農産物中のセロトニン含量

野菜 (ベスト4)	セロトニン (μg/g)
プチトマト	12.44 ± 0.19
トマト	8.81 ± 0.08
皮むきトマト(缶詰)	1.98 ± 0.24
ニンジン	0.34 ± 0.01
果物 (ベスト4)	セロトニン (μg/g)
キウイ	9.52 ± 0.62
バナナ	9.48 ± 0.09
パイナップル	9.11 ± 0.13
アボカド	5.37 ± 0.41

②血液、尿中のセロトニン測定：セロトニン（1, 10, 100 mg/kg 体重）をマウスに経口投与し、血液を経時的（投与前、投与後 0.5, 1, 3, 6, 12, 24 時間）に採取してセロトニンの見かけ上の吸収量を算出したところ、経口投与したセロトニンの見かけ上の吸収率は、83%～93%であると推定された。また、投与後 24 時間に排泄された尿中のセロトニン及び 5-ヒドロキシインドール酢酸を測定し、見かけ上の排泄量と代謝変換量を算出したところ、吸収されたセロトニンの 40%～49%は、24 時間以内に 5-HIAA として排泄されると推定された。

「セロトニン高含有トマトの研究開発」

セロトニンはトマト果実の主要な可食物である中果皮において成熟に向けて蓄積すること、及びその蓄積機構としてトリプトファンデカルボキシラーゼが重要であることが明らかとなった。セロトニン蓄積に及ぼす要因の解明として、塩ストレスの影響を調べたところ、セロトニン含量が糖度とともに増加することが明らかとなった。したがって、塩ストレスは高含有栽培技術に利用可能であることが明らかとなった(図 5)。

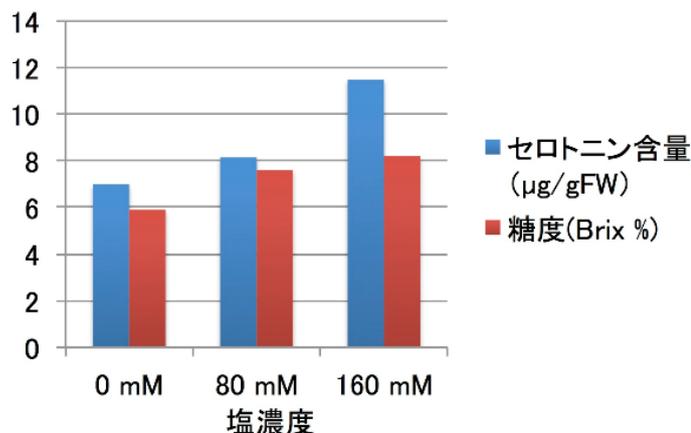


図 5 塩ストレスがトマトのセロトニン含有量に与える影響

今後の課題・展望

セロトニンの抗肥満効果を発現させるために、今後はセロトニン高含有農産物の開発と製品化が課題となる。抗肥満効果が確認されたセロトニンの投与量と農産物中セロトニン含有量で大きな差があったが、トマトを凍結乾燥することによってセロトニン濃度は 10 倍に濃縮されて安定していたことより、乾燥農産物としてセロトニン含有機能性食品の供給が可能となった。今後は農産物の乾燥法と供給法に加え、安定したセロトニン含量を維持する調理法の開発と製品化が課題となる。セロトニン抗肥満効果は、機能性を有した農林水産物・食品のブランド化を推進することより、地域の特色ある農林水産物・食品を生む新たな農業基盤の創出に向け、今後も競争的資金を獲得し、産学連携体制によって事業化に向けた研究を行う予定である。

研究成果一覧（論文、特許、商品）

- 1) Watanabe H, et al. Effect of peripheral 5-HT on glucose and lipid metabolism in wether sheep. PLoS ONE 9(2): e88058, 2014.
- 2) Watanabe H, et al. Serotonin improves high fat diet induced obesity in mice. PLoS ONE 11(1): e0147143, 1-14, 2015.
- 3) Watanabe H, et al. The stimulatory effect of plasma samples from fattening cattle on adipogenesis related gene expression in preadipocyte cells. Animal Science Journal, 86, 698–706, 2015.
- 4) Suzuki M, et al. Advanced Application of Porcine Intramuscular Adipocytes for Evaluating Anti-Adipogenic and Anti-Inflammatory Activities of Immunobiotics. PLoS ONE 10(3): e0119644, 2015.
- 5) Islam J, et al. Measurement of serotonin distribution and 5-hydroxyindoleacetic acid excretion after oral administration of serotonin using HPLC fluorescence detection. Food Science Nutrition and Technology, 1 (1):000105 (1-7), 2016.
- 6) Islam J, et al. Simultaneous analysis of serotonin, tryptophan and tryptamine levels in common fresh fruits and vegetables in Japan using fluorescence HPLC. Food Bioscience, 13: 56-59, 2016.
- 7) Islam J, et al. Dietary tryptophan alleviates dextran sodium sulfate-induced colitis through aryl hydrocarbon receptor in mice. Journal of Nutritional Biochemistry, 42: 43-50, 2017.
- 8) Hano S, et al. Serotonin content in fresh and processed tomatoes and its accumulation during fruit development. Scientia Horticulturae 214: 107-113, 2017.
- 9) Ikeda H, et al. Dynamic Metabolic Regulation by a Chromosome Segment from a Wild Relative During Fruit Development in a Tomato Introgression Line, IL8-3. Plant and Cell Physiology 2016 57(6):1257-1270.

機能性を持つ農林水産物のデータベースの構築及び個人の健康状態に応じた栄養指導システムの開発

(国大) 千葉大学大学院園芸学研究科：椎名武夫
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門：鍋谷浩志、曲山幸生、
中村宣貴、和田有史
神奈川県立保健福祉大学：中村丁次、倉貫早智、及川勉、外山健二、鈴木志保子、向井友花、
駿藤晶子、樋口良子、渡邊大輝、塚本香里、近藤朋子、渡辺亜里夏
(国研) 医療基盤・健康・栄養研究所：国立健康・栄養研究所・梅垣敬三
(公財) 日本健康・栄養食品協会：加藤博、青山充、宅見透、小林一夫、森戸暁久、西川敦子
(一財) 日本食品分析センター：藤田和弘

要約

栄養成分に加えて、対象農産物及びその加工品について、機能性成分の種類と含有量、機能性成分の健康への影響評価に関する科学的エビデンスデータを網羅的に収集し、健康の維持・増進を図ることが期待されるメニューの開発を可能とする「健康に寄与する農林水産物データベース」を構築した。開設した「栄養ケアステーション」において、個人の健康状況を踏まえた機能性農林水産物・食品の提供システムを実証した。

研究の背景や目的

栄養バランスに優れ、機能性成分を多く含む食事を摂ることは、生活習慣病の予防や健康の維持・増進に不可欠であり、そのような食生活を実現するためには、栄養成分に加えて、機能性成分に関するデータの収集とその提供が求められる。さらに、個人の健康状況を踏まえた機能性農林水産物・食品の提供システムのモデル開発が期待される。そこで、本課題では、栄養成分に加えて、対象農産物及びその加工品について、機能性成分の種類と含有量、機能性成分の健康への影響評価に関する科学的エビデンスデータを網羅的に収集し、それらの情報に基づく健康の維持・増進を図ることが期待されるメニューの開発を可能とする、「健康に寄与する農林水産物データベース」を構築する。また、開発したシステムを用いて、個人の健康状況を踏まえた機能性農林水産物・食品の提供システムのモデルを栄養指導機関などと連携して構築する。

研究の内容と方法

「データベースシステム（DBS）の開発と運用」においては、DBS に必要なデータの種類と範囲、情報の提供・管理の方法、システム構築の環境、開発のスケジュール等について検討した。検討結果に基づいて、年度ごとの開発計画に従って業務委託仕様書を作成し、競争入札を実施した。決定した受託企業と詳細打合せを行い、DBS の開発を行った。システム開発に当たっては、ユーザー区分とそのアクセス権限、ユーザーの知識レベルに応じた情報提供の方法なども検討し、適切な情報提供が可能な方法を検討した。また、他

課題での開発システム、既存 DBS との統合に関する調整を行った結果を、システムに反映させた。

「医食農連携センターと栄養ケアステーションの構築と運営」においては、機能性食材とその主成分の普及、啓発、指導のための仕組みを創生するために社会実装に取り組むことを目的として、「機能性を持つ農林水産物・食品開発プロジェクト」の一環として、地域に初めて、神奈川県立保健福祉大学栄養ケアステーション（以下、栄養ケアステーション）を開設した。機能性食材を活用した健康増進のあり方、また情報提供の内容に関しては、初めての取組であるため検討が必要であり、神奈川県立保健福祉大学内に設置した医食農連携センターにおいて、栄養ケアステーションの運営及び情報提供方法を統括する総合的なネットワークシステムを構築した。

「機能性成分と食材に関する情報の収集」においては、既存の食品の機能性評価システムを農林水産物の機能性評価に応用し、新システムを構築するとともに、そのシステムを用いて、農林水産物（成分）を評価した。消費者庁の機能性表示食品の届出等に関するガイドラインに準拠した新たな農林水産物の機能性評価システムを構築し、新たなシステムにより 9 件の農林水産物・成分の機能性について研究レビューを行った。食材からのビタミンの効果的な利用に関する調査研究では、ある程度のエビデンスが存在しているビタミンのうち、水溶性ビタミンの葉酸とビタミン C をまず取り上げ、具体的情報の収集法、データベースの構築と閲覧法について検討した。その後、開発した情報収集方法に基づき、脂溶性ビタミンについてもデータを取得し、これらのデータを一元的に取り扱うシステムを構築した。レシピ開発や栄養指導に必要とされる機能性食品や機能性成分を検索して情報の整理を行い、教材を作成する。さらに機能性成分の作用機序、エビデンス内容等の整理を行い、関係者への教育、指導を行う。さらに、摂食頻度の高い食品を選定し、主用な機能性成分の含有量を実測し、DBS へデータを提供した。

「機能性成分が含まれる食材を用いたレシピ・メニューの開発と普及」においては、機能性食材を用いたメニュー、弁当等の開発と普及、機能性食材を用いたレシピ集の作成及び出版を行う。「機能性成分が含まれる食材を用いた弁当開発のための機能性農産物の収集」では、機能性成分が含まれる食材を用いた弁当開発のための機能性農産物を収集し、その流通実態等についての調査を行う。「開発レシピに対する機能性の検証」においては、開発した食品の組合せに関する機能性の検証を行う。「個人に対する栄養指導支援システムの開発」においては、個人対応機能性農産物を活用した栄養指導プログラムの開発を行う。「機能性農産物、食材の普及啓発」においては、機能性農産物についての医師、管理栄養士、栄養士、消費者への教育、機能性農産物普及のためのテキストやパンフレットの作成を行う。

研究の結果と考察

1) 「データベースシステム (DBS) の開発と運用

開発した DBS システムのデータ構成、機能の概要を、図 1 に示す。

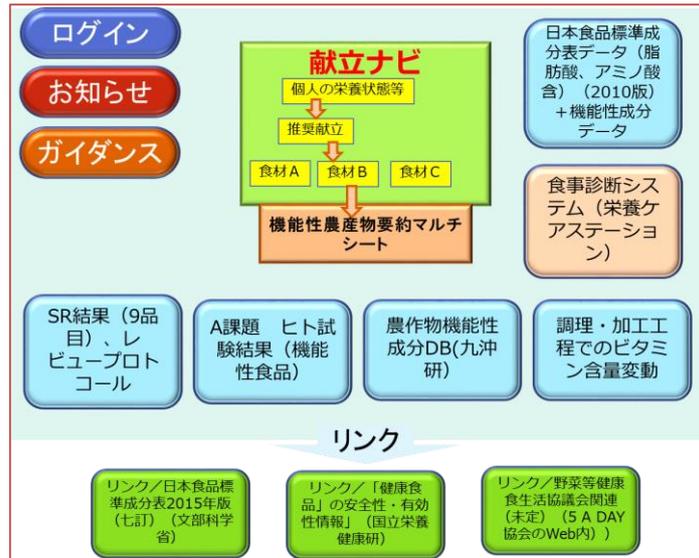


図1 開発したDBSの構成データ・機能の概要

システムの主機能は、下記の通りである（図2）。

- ・「献立ナビ」では、「日本食品標準成分表」掲載データ、喫食頻度の高い料理（約 200 種）を用いて、「日本人の食事摂取基準」に基づく、望ましい献立の設計を支援。
- ・「機能性成分含有情報の提供」では、利用頻度の高い食材について、実測データに基づいて機能性成分含有量、機能性食材を用いたメニューのレシピ等の情報を提供。
- ・「機能性のシステムティック・レビュー結果の提供」では、主として当プロジェクトで扱った食品・機能性成分（9件）に関するヒト介入試験論文に基づくSR評価結果を提供。
- ・食品成分、機能性成分に関する基本情報、安全性情報を提供（安全性情報は健康栄養研 DB を直接参照）。
- ・「食事バランス診断」では、個人の健康状態に対応した栄養指導を実践する栄養ケアステーション用に開発された、「食事バランスガイド」に基づく食生活診断機能を提供。
- ・課題 A の研究成果を提供（機能性成分情報、ヒト介入試験結果）（公開可能分）。
- ・調理・加工工程におけるビタミン含量（水溶性、脂溶性）の変動情報を提供。
- ・九州沖縄農業研究センターで開発された「農作物機能性成分 DB」のミラーサイト機能の提供（予定）。



図2 開発したDBSのトップ画面(2017年1月31日現在)

2) 医食農連携センターと栄養ケアステーションの構築と運営

栄養ケアステーションの開催結果(平成27年12月末時点)を、表1に示した。栄養ケアステーションへの参加者数は、スーパーマーケット(298名)、その他イベント(245名)、大学内(183名)の順に多かった。また、参加者は女性(70%)が男性(23%)よりも多く、年代は70代(34%)、60代(21%)、50代(12%)、40代(8%)、30代(5%)、20代(5%)、10代(4%)の順に多かった。

表1 栄養ケアステーションの開催結果

	スーパーマーケット	栄養ケアステーション・ラボ	その他イベント	合計
平成25年度	0名	31名	70名	101名
平成26年度	85名	99名	101名	285名
平成27年度	213名	53名	74名	340名
3年間合計	298名	183名	245名	726名

平成25、26年度は月2回の栄養ケアステーション開催のみであったが、平成27年度は月2回の栄養ケアステーション開催に加えて、月曜日及び金曜日にも管理栄養士が駐在して、利用しやすい場所づくりを行ってきた。栄養ケアステーションの開催日を記載したチラシを作成し、大学内への設置や大学行事での配

布を行った。さらに、栄養ケアステーション・ラボの活動を紹介するために、学内に向けて月 1 回「栄養ケアステーションだより」の発行や Facebook ページでの広報活動を実施した。

写真 1 は、自由民主党 農林部会長小泉進次郎氏(平成 28 年 1 月時点) が栄養ケアステーション・ラボへ視察に訪れた時の様子である。



写真 1 栄養ケアステーション・ラボの視察風景

栄養ケアステーションに関して、地域住民を対象とした、実態調査を実施した。対象者は 229 名で男性 49 名、女性 180 名であった。栄養ケアステーションの利用者は 50 代、60 代及び 70 代で最も多かった。機能性表示食品の認知は、女性より男性の方が有意に高かった ($P=0.045$)。しかしながら、その他の項目では差は見られなかった。トランスセオレティカルモデルによるアンケートの変化を解析した。トランスセオレティカルモデルのステージが高くなればなるほど、栄養ケアステーションを開催することを事前に知っている者 ($P=0.025$)、栄養ケアステーションの利用 ($P=0.004$)、食事と疾病の関係についての意欲 ($P=0.006$) 及び栄養ケアステーションで紹介した機能性表示食品の利用意欲が有意に高かった ($P=0.049$)。しかしながら、その他の項目では差は見られなかった。

3) 機能性成分と食材に関する情報の収集

農産物 (20 成分) の機能性評価においては、農産物の機能性評価システムを構築し、20 件の農産物と成分を評価した。この中でエビデンスが比較的充実していた 7 件を含む 9 件の成分について、新たに構築した機能性表示食品制度に準拠する機能性評価システムに基づき、農産物に含まれる 9 件の機能性関与成分についてシステムティックレビューを実施した (表 2)。その成果は、機能性表示食品制度の届出資料に準ずる書式を用い、機能性における科学的根拠に関する情報としてデータベースに掲載した。これらの結果から、データベースに掲載された情報は、農業生産者や事業者等により、機能性表示食品制度への届出に広く活用され、機能性を持つ農林水産物の普及促進に貢献すると考えられた。本システムティックレビューを活用して、本プロジェクト関連商品の届出も行われ、4 品目が受理され上市を果たしている (写真)。

食材からのビタミンの効率的な利用に関する調査研究では、水溶性ビタミン、脂溶性ビタミンについて、文献調査により、調理加工工程での含有量の変動を明らかにし、DBS ヘデータを提供し、システムに搭載した。

レシピ開発のための機能性成分情報の整理においては、候補食材について、調理に伴う機能性成分の変化に関する文献調査を行った。この結果をもとに、機能性が含まれる食材を用いた調理と分析を行い、レシピ開発の注意として整理した。

DBS の機能性成分のデータ拡充においては、178 品目、304 試料について、全体で 84 成分の機能性成分の分析を実施し、DBS ヘデータを提供した。

表 2 農産物 9 品目のシステムティックレビュー

番号	品目	機能性関与成分	機能性表示
1	緑茶	メチル化カテキン	本品にはメチル化カテキン（エピガロカテキン-3-O-（3-O-メチル）ガレート）が含まれます。メチル化カテキンは、ハウスダストやほこりなどによる目や鼻の不快感を軽減することが報告されています。
2	ウンシュウミカン	β-クリプトキサンチン	本品には、β-クリプトキサンチンが含まれています。β-クリプトキサンチンは骨代謝のはたらきを助けることにより、骨の健康に役立つことが報告されています。
3	緑茶	エピガロカテキンガレート (EGCG)	本品には緑茶EGCGが含まれています。緑茶EGCGには、LDL コレステロール値が高めの方のLDL コレステロール値を下げる機能のあることが報告されています。
4	ホウレンソウ	ルテイン	本品にはルテインが含まれています。ルテインには、光による刺激から目を保護するとされる網膜(黄斑部)の色素量を増加させることが報告されています。
5	大麦	β-グルカン	本品には大麦由来β-グルカンが含まれています。大麦由来β-グルカンには、LDL コレステロール値が高めの方のLDL コレステロール値を下げる機能のあることが報告されています。
6	魚	EPA/DHA	本品には魚のEPA・DHAが含まれています。魚のEPA・DHAには、血中中性脂肪が高めの方の血中中性脂肪を下げる機能のあることが報告されています。
7	大豆	β-コングリシニン	本品には大豆β-コングリシニンが含まれています。大豆β-コングリシニンには、内臓脂肪が気になる方の内臓脂肪を減少させる機能のあることが報告されています。
8	リンゴ	プロシアニジン	本品にはりんご由来プロシアニジンが含まれています。りんご由来プロシアニジンには、LDL コレステロール値が高めの方のLDL コレステロール値を下げる機能のあることが報告されています。
9	こんにゃくいも	グルコマンナン (粉末)	本品にはこんにゃく芋由来グルコマンナンが含まれています。こんにゃく芋由来グルコマンナン(粉末)には、LDL コレステロール値が高めの方のLDL コレステロール値を下げる機能のあることが報告されています。



写真 システムティックレビューを活用して届出受理された機能性表示食品

三ヶ日みかん（A79）、アシタノカラダ（A105）、べにふうき緑茶ティーバッグ（A67）、めめはな茶（A69）

4) 「保健機能成分が含まれる食材を用いたレシピ・メニューの開発と普及」「開発レシピに対する機能性の検証」「個人に対する栄養指導支援システムの開発」「機能性農産物、食材の普及啓発」

① 機能性成分が含まれる食材を用いたレシピ・メニューの開発と普及

季節・テーマごとに分けて 15 種類のレシピ・メニューを開発し、製本した（表 3）。

② ヒトに対する機能性成分の検証

ベにふうきと diet induced thermogenesis (DIT) -ベにふうき茶摂取による食事誘発性熱産生に及ぼす影響、及び、ベにふうきとアレルギー -季節性アレルギー性鼻炎を有する若年アスリートにおけるベにふうき緑茶の抗アレルギー効果、について検討を行った。

③ 個人に対する栄養指導支援システムの開発

栄養ケアステーションで使用する、食事バランス診断システムを開発した。開発したシステムは、タッチパネルシステムに料理アイコンが並び、それを見ながら利用者は自分の食事状況を入力する方法とした。記憶をもとに入力の連動がスムーズに行えるように、朝食、昼食、夕食、その他、間食及び飲酒の順に、各食事において、主食の別（ご飯、パン、麺類）によって、回答する流れとした（図 3）。

③ 機能性農産物、食材の普及啓発

機能性農林水産物の研究開発状況及び機能性成分に関する情報を、専門家を対象に全国初の取り組みとして、研修会を通して情報提供を行った。研修会参加者へのアンケート結果より、機能性成分及びその高含有食品に関する認知度が低いことを示した。また、若い世代の参加者は、機能性表示食品に関することについて学びたい意欲が高いことが推察された。

表3 レシピ集に掲載したレシピ・メニュー一覧

	テーマ	献立
春	内臓脂肪が気になる方に	大麦ごはん
		鯖のバルサミコソテー
		にんじんの洋風シリンリ
		べにふうき茶
	抗酸化作用を期待する	ごはん
		鶏むね肉と春野菜の胡麻味噌炒め
		明太子とおかひじきのポテトサラダ
	認知機能低下予防を期待する	ごはん
		鯖と玉ねぎの甘酢あん
夏	血圧が気になる方に	新じゃがとスナップエンドウの辛子和え
		納豆とひじきの蕎麦ペペロンチーノ
		アボカドと海老のヨーグルトサラダ
		焼きパプリカのマリネ
	脂質代謝改善効果を期待する	トマトとツナのおろしそば
		大豆と鶏ひき肉の蒸し豆腐
		紫芋のごま茶巾
	抗酸化作用を期待する	べにふうき茶
		カオマンガイ
血糖値が気になる方に	じゃがいもとインゲンのソムタム風	
	ゴーヤと大豆のキーマカレー	
秋	中性脂肪の上昇抑制効果を期待する	トマトと玉ねぎのさっぱりサラダ
		小麦全粒粉パン
		サンマとかぼちゃのガーリックグリル
		こんにやく入りラタトゥイユ
	脂質代謝改善を期待する	べにふうき茶
		大麦パン
		熟成豚肩ロースのほろほろトマトシチュー
	食後の血糖値が気になる方に	レモン風味のさっぱりキャロットラペ
		大麦ごはん
大豆たっぷり牛しぐれ		
青菜とこんにやくの辛味噌和え		
骨を健康に保つ	にんじんりんごヨーグルト	
	ごはん	
	納豆とたっぷりしょうがの鶏つくね	
	焼き野菜の七味和え	
冬	目の健康維持を助ける	蜂蜜みかんのヨーグルトかん
		ごはん
	脂質代謝改善を期待する	いわしの梅生姜煮
		切り干し大根とほうれん草の炒めなます
		小麦全粒粉パン
		サーモンとかぶの豆乳グラタン
	睡眠の質を高めることを期待する	グリル野菜のサラダ～ポーチドエッグソース～
		ホットシナモンアップル
		ごはん
鮭とカニのふわとろ焼き		
血糖値が気になる方に	だいこんと水菜、お揚げの柚子胡椒サラダ	
	みかん	
	玄米ごはん	
		鶏むね肉のしっとり照り焼き
		ほうれん草と黒豆の白和え

ここ1週間でよく食べたものを教えてください

開始 性別 身長 体重 年齢 生年月日 健康状態 食事内容 終了 RESET

朝食	昼食	夕食	その他	間食	お酒
ごはん系	ごはん系	ごはん系	漬物や調味料	お菓子	お酒
パン系	パン系	パン系			
麺類	麺類	麺類	麺類の「汁」		
	どんぶり系	どんぶり系			

成人

『漬物や調味料』の外食の濃さについて回答が必要です

図3 タッチパネルの食事状況回答画面

今後の課題・展望

プロジェクト研究終了後のシステムの維持管理、データ拡充について検討する必要がある。また、九州沖縄農業研究センターで開発された「農作物機能性成分 DB」のミラーサイト機能については、開発システムにおける再構築に問題があり、その解決が必要である。

3ヶ年の「栄養ケアステーション」の実施によって、700名以上の人に対して食事状況を伺い、情報提供を行うことで、健康課題の解決に向けた枠組みを新規に作り上げたという点で、一定の成果をみることはできた。しかしながら、参加者の性別、年齢構成とアプローチ方法、人材の育成と配置、栄養ケアステーションの設置場所等の課題があった。海外においては supermarket dietitian が消費者に対して健康情報を提供しながら食品の販売促進につなげている例もあり、現在、本学を卒業した管理栄養士が勤務するスーパーマーケットにおいては、店舗主導の栄養ケアステーションの仕組みを支援し、全国のモデルとなるよう検討していく予定である。

機能性評価については、一部の機能性関与成分では機能性表示食品制度の要件を満たすエビデンス（臨床試験論文）が不足しており、機能性における科学的根拠に関する情報の取り纏めが困難なものがあつた。今後、データベース掲載情報の更なる充実を図るためにも、当該制度の要件を満たすエビデンスの充実が望まれる。DBS に関しては、データのさらなる拡充、より使いやすいユーザーインターフェースの開発、他のデータベースシステムとの連携等による新たな機能の追加、メンテナンスの容易化、などが継続的な改良が必要である。DBS 搭載の機能性成分データに関しては、測定対象食品を増やし、データをさらに拡充する必要がある。

機能性成分が含まれる食材を用いたレシピ・メニューの開発と普及に関しては、機能性農林水産物の入手が困難な食材もあるため、興味を持ち食べたいと思う消費者がいても対応が難しいのが現状である。また、機能性農林水産物に対して知識を持たない消費者に管理栄養士が口頭で説明し、理解を深めた上でレシ

ピ集を配布するのが最も効果的であると考え。したがって、そのような機会を設けることができるよう、今後は製本時期に留意してレシピ開発を進めるべきである。個人に対する栄養指導支援システムの開発に関しては、このシステムを用いた食事調査は対応する管理栄養士の技術によって結果が左右されるため、管理栄養士の聞き取る技術を向上させることが重要である。それによって対象者のより正確な食生活の把握につながると考えられる。

研究成果一覧（論文、特許、商品）

- 1) 森 数馬・本田秀仁・永井成美・和田有史 (2016). 食品の機能性に対する認知と栄養に関する知識の個人差の関係性について. 日本消費者行動研究 22(1/2), 49-68.
- 2) Yuko Momose, Mari Maeda-Yamamoto, Hiroshi Nabetani (2016). Systematic review of green tea epigallocatechin gallate in reducing low-density lipoprotein cholesterol levels of humans. International Journal of Food Sciences and Nutrition (<http://dx.doi.org/10.1080/09637486.2016.1196655>).
- 3) 今井愛、倉貫早智 (2014) . 医食農連携に基づいた栄養ケア・ステーションの現在. 日本栄養士会雑誌 Vol. 57 : 9-11
- 4) 中村丁次、倉貫早智 (2016) . 栄養ケアステーションでの機能性農産物認知活動について. JATAFF ジャーナル 4 (12) : 35-40
- 5) 小島彩子、尾関彩、中西朋子、佐藤陽子、千葉剛、阿部皓一、梅垣敬三 (2017) . 食品中ビタミンの調理損耗に関するレビュー（その 1）（脂溶性ビタミン、ビタミン B1、B2、B6、B12）. ビタミン、VV(NN)、p1-p2
- 6) 小島彩子、尾関彩、中西朋子、佐藤陽子、千葉剛、阿部皓一、梅垣敬三 (2017) . 食品中ビタミンの調理損耗に関するレビュー（その 2）（ナイアシン、パントテン酸、ビオチン、葉酸、ビタミン C）. ビタミン、VV(NN)、p3-p4
- 7) 機能性・食事バランスデータベース <http://balancedmeal.dc.affrc.go.jp/index.php?code=df56g7k8r5>
- 8) 農産物 9 品目のシステムティックレビュー
http://www.naro.affrc.go.jp/project/f_foodpro/2016/063236.html
- 9) 食事バランス診断
<http://balancedmeal.dc.affrc.go.jp/index.php?code=gs5hds4gjF&md=reset>

株式会社リバネス 塚田周平、篠澤裕介、岡崎敬
順天堂大学医学部 堀江重郎
帝京大学医学部付属病院 井手久満、朝倉比都美

要約

機能性成分を多く含む農林水産物の流通システムの確立、及び日常的に機能性農林水産物を摂取するメリットを明らかにし、その基盤を構築することを目的として、テーラーメイド機能性弁当を提供するためのシステム開発、テーラーメイド機能性弁当の開発、及びこれらの効果検証を行った。

テーラーメイド機能性弁当を提供するためのシステムとして、食事記録の蓄積及びメニュー（カロリー）推定、活動量デバイスからの自動データ入力、活動量記録の一覧機能を付与し、また管理者はユーザー一覧とプロフィール、個別ユーザーの食事記録、摂取カロリー、活動量を一覧できる機能を持つシステムを構築、機能性農林水産物を利用したメニュー開発を行い、効果検証として構築したシステムとメニューを30名に対して3ヶ月間提供し、またその効果を検証した。その結果、体重（ $p=0.0137$ ）、腹囲（ $p<0.0001$ ）、血中 Na 濃度（ $p=0.002$ ）、血中 Cl 濃度（ $p=0.0004$ ）、血清中 8-OHdG（ $p<0.001$ ）が有意に減少した。

研究の背景や目的

高齢化が進む中、健康寿命の延伸が重要な課題となっており、健康を維持する医学的アプローチが求められている。近年、機能性成分を多く含む農林水産物の開発が進んでおり、その効果が強く示唆されているが、ヒトにおける効果は明確ではなく、また流通システムも未確立である。本研究では、この流通システムの確立、及び日常的に機能性農林水産物を摂取するメリットを明らかにし、その基盤を構築することを目的とする。

本課題では、流通システムの確立に向けて、機能性農林水産物を利用したテーラーメイド機能性弁当を提供するための、個人の活動状況、摂取カロリー、健康状態等を把握して管理者が適切なメニューを推奨できるシステムの構築を行った。

研究の内容と方法

<テーラーメイド機能性弁当を提供するためのシステム開発>

消費者が自らの健康状態を示す数値を取得し、また、一定期間で摂った食事を画像から簡単なカロリー算出等を行い、それによって各個人の健康状態に合わせたメニューが複数選択肢アウトプットされ、その中から選択することで好みに合わせた食事が提供されるデバイス・アプリを組み合わせたシステム構築の実現可能性について検討した。

その後、決定した仕様に基づき、システムの試作を行った。試作後、システムが適正に動作するか、一定期間実証を行ったのち、システムの試験運用を行った。

<テーラーメイド機能性弁当の開発>

機能性農林水産物を活用したメニュー開発と、その組み合わせの検討を行い、弁当の提供を行った。

<効果検証>

帝京大学職員を対象としてリクルーティングを行い、30名1群ワンアームとして、被験者にはヘルスデバイスによる活動量のモニタリングと、その情報及び機能性農林水産物をもとに管理栄養士が設計した機能性弁当の摂食により、体重の減少効果を検証するヒト介入試験（パイロットスタディ）を実施した。

研究の結果と考察

<テーラーメイド機能性弁当を提供するためのシステム開発>

画像からメニュー（カロリー）推定を行う既存アプリを基礎として、ユーザーのログイン機能を有し、プロフィール（身長・体重・年齢・性別・生活強度・不安を感じるメタボリックシンドロームの診断基準の項目及びその強度）の記入を行い、食事記録の蓄積及びメニュー（カロリー）推定、活動量デバイスからの自動データ入力、活動量記録の一覧機能を付与し、また管理者はユーザー一覧とプロフィール、個別ユーザーの食事記録、摂取カロリー、活動量を一覧できる機能を持つものとして、システムを構築した(図 1)。管理者画面では各被験者のプロフィールを確認できるとともに、日毎・週毎・月毎にて被験者ごとに記録した食事、歩数、体重の閲覧と確認を可能とした。

構築したシステム、3種から選定した活動量測定デバイスを用いて、2015年9月7日から11月27日まで、帝京大学医学部職員30名を対象としたヒト介入試験内において試用を行い、食事記録、歩数記録データを得た。



図1 構築したシステムの管理画面と表示機能

<テラーメイド機能性弁当の開発>

各課題の成果を参考として、想定される機能性成分量を推計し（表1）、摂取量と献立時の条件を下記の通りとした。

表1 想定される機能性成分量の推計結果

No.	品目	成分分類	機能性成分	ヒト試験使用量(g)	機能性成分含量
1	高アミロース米 北陸粉243号	難消化性デンプン	アミロペクチン長鎖型	200	11.6 g
2	高βグルカン大麦ごはん	食物繊維	βグルカン	200	7 g
3	表面加工玄米	-	-	140.4	-
4	ルチン高含有だったんそば	ポリフェノール	ルチン	200	0.92 g
5	鮭	カロテノイド	アスタキサンチン	100	3 mg
6	牡蠣	ミネラル	亜鉛	80	15.2 mg
7	アスタキサンチン卵	カロテノイド	アスタキサンチン	200	3.16 mg
8	ゲルゼチン高含有タマネギ粉末	ポリフェノール	ゲルゼチン	129	100mg
9	βコングリシニン大豆	タンパク質	βコングリシニン	42	2.5 g
10	ゴーヤ	不明（同定中）	不明（同定中）	1	-
11	こいくれない	カロテノイド	ルテイン・α/βカロテン・リコピン	100	15.1 mg
12	TCL-499	カロテノイド	βカロテン・ルテイン	50	19.1 mg
13	高βクリプトキサンチンみかんジュース	カロテノイド	βクリプトキサンチン	125	4 mg
14	高カテキン緑茶	ポリフェノール	エピガロカテキンガレート（メチル化カテキン）	150	600 mg

○食材 1～3：主食として、3つのうちいずれかを使用するように献立する

○食材 4～11：主菜・副菜に、1メニューごとに1つ以上入るよう献立する。カロテノイドに分類されるものは必ず加える。

○食材 5・6：必ず同じ日のメニューに入るよう献立する。

○食材 11・12：必ず同じ日のメニューに入るよう献立する。

○食材 12・13：飲み物として、双方を毎日加える。

次にヒト介入試験（パイロットスタディ）の実施に向けた試作と、弁当の供給を行った。帝京大学病院栄養部においてメニューの調整を行い、22日分のメニューとレシピの作成を行った。その後、ヒト介入試験（パイロットスタディ）の実施期間であった2015年9月から11月にかけて調達が可能な機能性農産物の内容を、各課題へヒアリングの上で協力を打診し、ヒト介入試験に使用する食材として、表面研削玄米、鮭・牡蠣（通常ルートでの調達）、クエルゴールド、高βコングリシニン大豆（加工設備状況による）、こいくれない・TCL-499 粉末、高βクリプトキサンチンみかんジュース、高カテキン緑茶を用いることとした。これを踏まえ、帝京大学病院医学部栄養部にてヒト介入試験で試用するメニューを設計した（図2）。この内容について8月に製造を委託、ヒト介入試験（パイロットスタディ）に使用した。事前に各種トラブルを想定、対応できるように8月31日には試験流通を実施し、食味の確認、流通ルートの確定を行った上で2015年9月7日から11月27日まで、帝京大学医学部職員30名を対象としたヒト介入試験内においてメニューの提供を行い、全ての回数において検品とフィードバックを行った。

展研弁当 献立				
1	2	3	4	5
ご飯 鮭みりん焼き 牡蠣のソテー 大根ゆかり和え 里芋煮ころがし サラダ 果物	ご飯 豚肉生姜焼き 煮豆 ポテトサラダ(人参) スープ サラダ 果物	ご飯 卵焼き(大豆フレーク) 魚の香草焼き ブロッコリー炒め ポン酢和え サラダ 果物	ご飯 鯖西京焼き 肉豆腐 こんにゃく炒り煮 ゴーヤお浸し サラダ 果物	ご飯 鮭のちゃんちゃん焼き 牡蠣フライ れんこんサラダ 青菜からし和え サラダ 果物
6	7	8	9	10
ご飯 親子煮 白身魚ムニエル 焼きナス 南瓜の大豆フレーク煮 サラダ 果物	ご飯 さんま塩焼き 肉じゃが 切干大根炒り煮 ゴーヤ白和え サラダ 果物	ご飯 鮮ムニエル 牡蠣南蛮漬け ほうれん草胡麻和え オープンポテト サラダ 果物	ご飯 豚ロースみそ焼き 豆腐きのこあん たけのこ煮 ゴーヤ佃煮 サラダ 果物	ご飯 チキン南蛮 大豆グラタン おくら生姜醤油和え パプリカマリネ サラダ 果物
11	12	13	14	15
ご飯 エビチリ 肉団子(ペースト) ナムル 白菜中華炒め サラダ 果物	ご飯 牛肉卵とじ 柚庵焼き ゴーヤおかつ炒め 味噌田楽 サラダ 果物	ご飯 鮭塩焼き 牡蠣佃煮 ごぼうサラダ かぶ梅和え サラダ 果物	ご飯 卵 炒り豆腐 茄子オランダ煮 ゴーヤカレー炒め サラダ 果物	ご飯 ハンバーグ(人参) きのこソテー ラタトゥイユ スープ サラダ 果物
16	17	18	19	20
ご飯 鮭レモン焼き 牡蠣炒め 南瓜サラダ(人参) 春菊胡麻和え サラダ 果物	ご飯 コロッケ(ケール) 麻婆豆腐 コールスロー スープ サラダ 果物	ご飯 ゴーヤチャンプル 鶏の酢豚風 大根あんかけ 茄子味噌炒め サラダ 果物	ご飯 大豆ハンバーグ さば塩焼き ひじき煮物 白菜の甘酢 サラダ 果物	ご飯 鮭ホイル焼き 牡蠣グラタン きんぴらごぼう 大根ゆかり和え サラダ 果物
21	22			
ご飯 グラタン(ペースト) 回鍋肉 焼きナスごまだれ スープ サラダ 果物	ご飯 豚ロースみそ焼き 豆腐きのこあん たけのこ煮 ゴーヤ佃煮 サラダ 果物			



図2 設計したメニューと各メニューの画像

<効果検証>

30名を対象として9月7日より試験を開始した。試験開始時に血液検査、身体測定、QOL アンケートと合わせて、呼気ガス分析装置 (Fit mate) による基礎代謝量の測定、体成分分析装置 (Inbody) による体脂肪率、体脂肪量、体細胞量、骨格筋量の測定、簡易型自記式食事歴法質問票による食事調査を行った。統計解析の結果、体重 ($p=0.0137$)、腹囲 ($p<0.0001$)、血中 Na 濃度 ($p=0.002$)、血中 Cl 濃度 ($p=0.0004$)、血清中 8-OHdG ($p<0.001$) が有意に減少した。Pearson の相関係数の結果、試験期間中の体重減少と平均歩数 ($r = -0.54561$, $p = 0.0071$)、体重減少と腹囲減少 ($r = 0.67801$, $p = 0.0007$) にはそれぞれ有意な相関が認められた。

個別症例の検討においては、期間中の1日あたりの平均摂取カロリー (画像解析による) と平均推定活動量 (基礎代謝による消費カロリーと活動による消費カロリーの和) の差から導かれる体重減少と比較して、より体重が減少した症例もあった。今回のパイロットスタディにおいては、システムの使用及び弁当の喫食と2つの要素があり、システムの利用がこれらの効果の主な要因として推察されるが、弁当の喫食についても効果の要因として働いた可能性もある。

今後の課題・展望

<テラーメイド機能性弁当を提供するためのシステム開発>

課題として、82日間の試用において、食事及び歩数記録を行う頻度が低下しており、実際の運用に当たっては食事記録、歩数記録を継続的に行う動機付けが必須である。また、事業化に向けて、ヒト介入試験において実施ができなかった推奨メニューの選択やカロリー調整について実装する必要があり検討中である。

<テラーメイド機能性弁当の開発>

事業化に当たって、機能性農林水産物の調達量等を踏まえた事業規模の検討を行う必要がある。また、外食企業・中食企業においてはメニュー構成の入れ替えが頻繁であるため、都度の検証が必要となる。さらに、推奨メニューの選択やカロリー調整を行う場合の指示・オペレーションを検討・検証する必要がある。

<効果検証>

パイロットスタディの成果を受けて、新規に効果を測定する本試験を実施する必要がある。

研究成果一覧 (論文、特許、商品等)

井手久満(2016)メタボリック症候群改善のためのヘルスデバイスの開発と機能性食材弁当の検証、日本腎泌尿器科疾患予防医学研究会、(7月8日)慶應義塾大学

井手久満(2016)メタボリック症候群改善のためのヘルスデバイスの開発と機能性食材弁当の検証、日本臨床泌尿器科医会 第13回臨床検討会(7月10日)京王プラザ札幌

井手久満(2017) 機能性食品を用いたヘルシー弁当の開発と検証、第17回日本抗加齢医学会総会(6月3日)東京国際フォーラム

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門 山本（前田）万里、廣澤孝保
神奈川県立保健福祉大学 中村丁次、倉貫早智
NK アグリ 三原洋一

要約

機能性を有する農林水産物・食品を組み合わせた機能性弁当を継続摂取することにより、内臓脂肪が高めの被験者のメタボリックシンドロームに対する改善効果をランダム化プラセボ対照比較ヒト介入試験にて検証した。比較対照は、機能性農産物を使用しない「茶」、「おかず」及び「米飯」（白飯）の対照食品（プラセボ）であり、群構成は、機能性農産物を使用した「べにふうき緑茶」、「おかず」及び「米飯」（50% 大麦ご飯、玄米）の試験食品（アクティブ）とプラセボを含んだ群（1 群 40 名）とし、摂取は平日の昼食、期間は 12 週間とした。主要評価項目である内臓脂肪面積については、機能性弁当の喫食により 6 週、12 週で有意に低下が認められ、女性で「米飯」群が他群に比べ有意な低下効果が観察され、内臓脂肪面積が 100~127 cm² の被験者で「米飯」群が他群に比べ顕著な低下が認められた(p=0.056)。副次評価項目では、6 週時点で HbA1c とグリコアルブミンの統計的に有意な減少が見られた。1,5-アンヒドログルシトール（AG）について、「茶」群が他群に比べ統計的に有意な減少が認められ、正常値の変動内であるが 6 週、12 週とも-1.0 µg/mL の大きさであった。

研究の背景や目的

「機能性をもつ農林水産物・食品開発プロジェクト」では、高カテキン緑茶、高β-グルカン大麦、玄米等を代表とする脂質代謝改善効果、抗酸化機能を持つ機能性食品の研究を行ってきた。我が国の豊かな食材を活かした自然な食生活により健康で豊かな生活を享受出来る社会の構築のためには、種々の機能性農産物を組み合わせた機能性弁当を継続摂取したときの抗メタボリックシンドローム効果の検証は、貴重な知見になると考える。

また、「特定保健用食品の表示許可等について」や「機能性表示食品の届出等に関するガイドライン」でランダム化されたヒト介入試験での検証が求められている。

以上より、肥満被験者を対象として、メタボリックシンドローム（特に、内臓脂肪面積）の改善効果を評価するランダム化プラセボ対照比較試験を計画した。ここでは、機能性を有する農林水産物・食品を組み合わせた機能性弁当を継続摂取することにより、内臓脂肪型肥満被験者のメタボリックシンドロームに対する改善効果をヒト介入ランダム化プラセボ対照比較試験で検証することを目的とする。

研究の内容と方法

内臓脂肪面積（VFA）は、「肥満症の診断基準と治療ガイドライン」において、肥満症の診断基準に用いられている。また、血圧、中性脂肪、HDLコレステロール、血糖値は、内臓脂肪面積推定値と有意な相関

を示すとの報告や内臓脂肪量の低減が血管イベント累積発現率の減少に結びつく報告がある。近年、簡便に測定できる腹囲生体インピーダンス法を用いた医療機器が開発されている。従って、内臓脂肪面積（VFA）を主要評価項目として設定した。

本臨床試験では、機能性農産物を使用した「茶」、「おかず」及び「米飯」の3種類を含む機能性弁当食品を評価することから、いずれかの機能性農産物を含んだ食品を摂取することは、被験者の負担低減（プラセボ投与の不利益の減少）に繋がると考え、機能性農産物を使用した「茶」、「おかず」及び「米飯」のいずれかを含む4群で評価することとした。なお、2×2×2の多因子要因実験の方法により、交互作用が無ければ「茶」、「おかず」及び「米飯」の効果が別々に効率的に（同じ対象者数で単純な2群比較を3試験行なうと同様の情報量が得られる）推定できる。

・UMIN-CTR: 000019051

・倫理審査委員会：2015年9月3日承認（医療法人みなとみらい）

・試験：ランダム化プラセボ対照比較試験

・群構成；

本研究の群構成は、機能性農産物を使用した「茶」、「おかず」及び「米飯」の試験食品（アクティブ）と機能性農産物を使用しない「茶」、「おかず」及び「米飯」の対照食品（プラセボ）を含んだ以下の群とする。

群 1	茶のみ機能性食品
群 2	おかずのみ機能性食品
群 3	米飯のみ機能性食品
群 4	3種類いずれも機能性食品

・対象被験者は：選択基準を満たし、除外基準に抵触しない肥満被験者

・被験者数：159例（1群40例）

・選択基準は：

（1）同意取得時の年齢20歳以上65歳以下の日本人男女

（2）内臓脂肪計による計測で内臓脂肪面積が、原則として、男性は100 cm²以上、女性は80 cm²以上である者

（3）BMIが、原則として、男性は25 kg/m²以上30 kg/m²未満、女性は23 kg/m²以上30 kg/m²未満である者

（4）空腹時血糖値が125 mg/dL以下である者

（5）試験に関する説明をうけ、試験への参加に対し文書による同意が得られた者

なお、内臓脂肪面積及びBMIについては、対象被験者の分布状況及び測定誤差を考慮し、適格性を判断する。

・除外基準：

（1）妊娠中（妊娠の可能性、試験期間中に妊娠を希望される女性も含む）又は授乳中の女性

（2）本試験の参加に不適当な疾患を有する者

（3）薬物療法及び食事療法によりコントロール不良なメトボリックシンドロームに関連する疾患を有する者。但し、糖尿病でインスリンによる治療中の者は登録不可。

（4）小麦、大豆、卵、乳製品（牛乳等）、貝類（牡蠣、帆立等）及び甲殻類（海老等）等に対する重篤な食品アレルギーを有している者

（5）カフェイン摂取により過度な不眠や利尿作用を現すようなカフェイン感受性のある者

- (6) ペースメーカー等の体内植込み型医用電気機器使用者
- (7) ホルター心電計等の装着型医用電気機器を使用者
- (8) 人工心肺等の生命維持用医用電気機器使用者
- (9) 体内植込み型金属製医療機器使用者
- (10) 人工透析患者
- (11) 現在、他の治験及び臨床試験に参加中の者
- (12) その他、研究責任（分担）医師が参加不適と判断した者

・摂取方法：

被験者は、登録割付後、平日の昼食時に提供される機能性弁当を摂取した。摂取時間は、原則として、12 時～13 時の間とするが、参加者の都合に合わせて11 時～14 時の間も許容した。「茶」については、1 日3 包を、原則として、昼食、夕食及び翌日の朝食時に水または湯に溶解して摂取した。各食事摂取時にすべてを飲茶できない場合、その日のうちに摂取した。昼食時に機能性弁当食品を摂取できなかった場合、原則として、「茶」を除いて摂取を認めなかった。摂取期間は12週間の平日である57日とした。

・評価基準：

<有効性>

- (1) 主要評価項目に係る項目
内臓脂肪面積（腹部生体インピーダンス法による計測）
- (2) 副次評価項目に係る項目
HbA1c、グリコアルブミン、1,5-AG、LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪

<安全性>

- (1) 有害事象
- (2) 身体的検査
- (3) 臨床検査

・測定項目：

背景調査	性別、生年月日、合併症、既往歴、喫煙歴、運動状況
内臓脂肪面積	内臓脂肪面積（腹部生体インピーダンス法）
身体的検査	問診、身長、体重、BMI（算出）、体脂肪率、腹囲
臨床検査	血液生化学検査 HbA1c、グリコアルブミン、1、5-AG（アンヒドロ-D-グルシトール）、LDL コレステロール、 グルコース、GOT、GPT、γ-GTP、ALP、LAP、LDH、クレアチニン、尿酸、 総コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪、遊離脂肪酸、フェリチン
	尿検査 尿中クレアチニン、尿中ナトリウム、尿中アルブミン、尿中タンパク
食事調査	機能性弁当食品摂取状況、食事記録（飲酒状況含む）、 簡易型自記式食事歴法質問票（BDHQ 質問票）
活動量調査	運動状況、歩数、消費カロリー
健康調査	健康状態

<統計処理>

統計解析はSAS ver9.4を使用して行った。盲検下で統計解析計画書を作成し、これに準拠した。有効

性評価項目の主要な解析は試験プロトコールから逸脱した被験者を除外した集団（PPS）を対象として行い、検定の有意水準は特に断りがない限り両側0.05とした。有効性の群間比較については3因子の多重性の調整をHommelの方法を用いて行なった結果も算出した。有効性（主要評価項目、副次評価項目）については、SAS/MIXED プロシジャを用い繰り返し測定混合効果モデルを、開始前値との差に対して当てはめることで行なった。分散共分散行列の推定はREML 法で行い経験分散（EMPIRICAL オプション）を用いた。分散共分散行列の設定は構造なし（UN オプション）で行い、各因子効果と試験に参加することによる効果はESTIMATE オプションで推定した。時点と因子効果には交互作用を想定し、主たる解析は最終時点（12週）のものとした。また、開始前値を共変量して補正に用いた。開始前値としては全対象者の平均値からの偏差を用いた。サブグループ解析として、性別、前値の大小別の解析を事前に計画した解析として、また試験期間中の平均歩行数の多少、朝食の欠食の多少によるサブグループ解析も探索的に行った。

研究の結果と考察

① 被験食及び分析値

「米飯」、「おかず」、「茶」の被験食品は、「米飯」では、月曜日、水曜日、金曜日に、白米に50%大麦を混米した50%大麦パックご飯180g、火曜日、木曜日に玄米パックご飯180g、「おかず」は、主菜、副菜1、副菜2からなり、機能性農産物を使用した献立、「茶」は高カテキン緑茶である「べにふうき」緑茶エキス粉末3包（総カテキン670mg、メチル化カテキン50mg、カフェイン125mg）を供試した。対照食品（プラセボ）では、「米飯」は白米パックご飯（180g）、「おかず」は機能性農産物を使用しない献立、「茶」はカテキンを含まない麦茶エキス粉末3包を供試した。「おかず」献立の5日分を表1に示した、機能性農産物（機能性成分）としては、人参（リコピン、β-カロテン）、トマト（リコピン）、かぼちゃ（β-カロテン）、ほうれん草（ルテイン）、たまねぎ（ケルセチン）、ケール（ルテイン）、パプリカ（カプサンチン）、さつまいも（アントシアニン）、こんにゃく（グリコシルセラミド）、大豆（β-コングリシニン）、鶏胸肉（イミダソールジペプチド）、鮭（アスタキサンチン）、イサダ（アスタキサンチン）、牡蠣（亜鉛）、卵（アスタキサンチン）を使用し、機能性成分の少ない品種や品目を対照農産物として使用した。「おかず」、「米飯」、「茶」は食品製造企業または弁当製造者が製造して昼食前に被験者に届けた。「茶」「おかず」については、外見上の識別は困難であった。

被験食中の栄養成分含有量及びカロテノイド（β-カロテン、ルテイン、ゼアキサンチン、リコピン、アスタキサンチン）含有量は、（一財）日本食品分析センターにて常法により分析した。各群の被験食品は表331-2に示すように、群間で含有量に差がみられたのは、高カテキン緑茶、50%大麦・玄米、機能性食材によるおかずを使用した際のポリフェノール、食物繊維、カロテノイドであった。

表1 機能性弁当の5日分のメニュー

日	主菜	副菜1	副菜2	使用した機能性農産物「品種等」(機能性成分)	対照とした品種、品目
1	人参鶏つくねのキャベツ包み	かぼちゃとにんじん甘煮	ほうれん草のバターソテー	人参「こいくれない」(リコピン、β-カロテン)、かぼちゃ「ロロン」(β-カロテン)、ほうれん草「晩抽サマースカイ」(ルテイン)	人参「金美人参」、β-カロテン含量の少ないかぼちゃ、ルテイン含量の少ないほうれん草
2	豚肉と卵の炒め物	たまねぎときのこのソテー	さつまいもと昆布の煮物	卵「アスタキレッド」(アスタキサンチン)、たまねぎ「クエルゴールド」(ケルセチン)、さつまいも「あやむらさき」(アントシアニン)	餌にアスタキサンチンを入れていない鶏卵、たまねぎ「白タマネギ」、さつまいも「べにあづま」
3	鶏肉の人参トマトソース煮	かぼちゃのチーズ焼き	ほうれん草の炒め物	鶏肉「胸肉」(イミダソールジペプチド)、人参(前述)、トマト「フルティカ」(リコピン)、かぼちゃ(前述)、ほうれん草(前述)	鶏肉(もも肉)、人参(前述)、トマト「緑色トマト」、かぼちゃ・ほうれん草(前述)
4	鮭のマスタード焼き	簡単ラタトイユ	ほうれん草とちくわの炒め物	鮭「八幡平サーモン」(アスタキサンチン)、たまねぎ(前述)、ほうれん草(前述)	白身魚、たまねぎ・ほうれん草(前述)
5	牡蠣とイサダのピカタ	夏野菜炒め	かぼちゃサラダ	イサダ粉末(アスタキサンチン)、トマト(前述)、たまねぎ(前述)、かぼちゃ(前述)	チリメン粉末、トマト・たまねぎ・かぼちゃ(前述)

表2 被験食の栄養成分、機能性成分含有量

	群1：茶のみ機能性食品	群2：おかずのみ機能性食品	群3：米飯のみ機能性食品	群4：すべてが機能性食品
エネルギー(kcal/食)	696±77	726±59	667±90	690±75
タンパク質(g/1食)	27±5	29±6	28±5	29±6
脂質(g/1食)	18±5	20±6	19±6	21±5
灰分(g/1食)	5±1	5±1	5±1	5±1
炭水化物(g/1食)	107±16	108±17	97±17	96±19
食物繊維(g/1食)*	8.6±2.3	8.4±2.3	10.4±2.3 (うちβ-グルカン2.3g)	10.5±2.3 (うちβ-グルカン2.3g)
ポリフェノール(g/1食)**	0.8±0.1 (うち緑茶から0.7g)	0.2±0.2	0.2±0.1	0.9±0.2 (うち緑茶から0.7g)
カロテノイド(mg/1食)***	10±1	15±1	10±1	14±1

結果は平均値±標準偏差

*食物繊維は酵素-重量法、β-グルカンはメガザイム社の測定キットで測定

**ポリフェノールはフォーリンチオカルト法で測定

***カロテノイドは、β-カロテン、ルテイン、ゼアキサンチン、リコピン、アスタキサンチン、カプサンチンの合算値

② 機能性弁当 12 週間摂取による主要評価項目の変化

内臓脂肪面積はいずれの群も 6 週で 8-10 cm² 減少し、茶群(群1)、おかず群(群2)を除けば 12 週でもほぼ減少効果が維持された。モデル当てはめによる試験に参加する効果の推定値は、PPS で 6 週で -8.50 cm² (p 値 0.009、95%信頼区間 -14.9~-2.1 cm²)、12 週で -8.98 cm² (p 値 0.017、95%信頼区間 -16.3~-1.6 cm²) と統計的にも有意であった(図1)。

HbA1c 及びグリコアルブミンについては、いずれの群でも6週で2%及び0.3~0.5% (PPS) の減少が見られ、12週では前値に戻る傾向が見られた。1,5-AGに関しては、茶の効果が6 週、12 週いずれの時点でも顕著であり、これも正常範囲内のレベルであるが6 週で-0.91 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、12 週で-1.08 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (いずれもPPS) であり、3 因子の多重性を考慮しても統計的に有意であった (図2)。

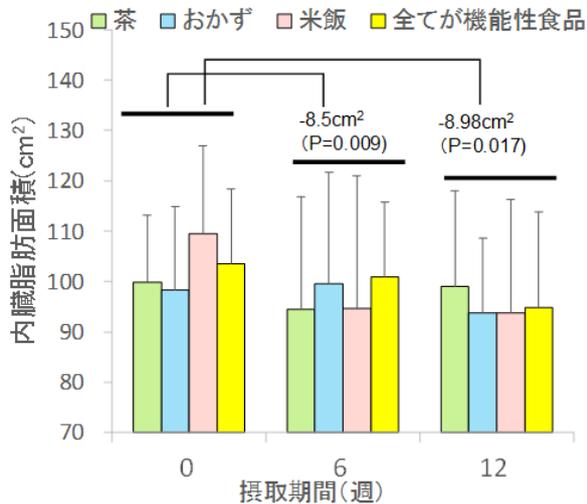


図 1 内臓脂肪面積の変化

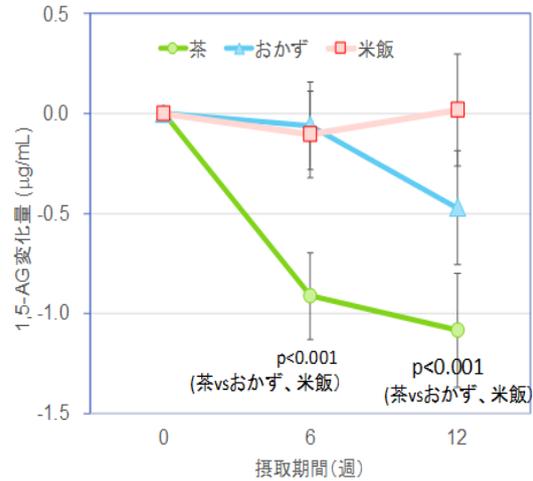


図 2 1,5 アンヒドログルシトールの変化

④ 機能性弁当 12 週間摂取による副次評価項目の変化

主要評価項目の内臓脂肪面積に関して、介入前値が中央値100~127 cm^2 である被験者に限定すると、米飯の効果はPPS で-7.9 cm^2 (12週)、p値は3因子の多重性調整で0.053とほぼ有意であった (図3)。例数は少ないものの、米飯については女性でも有意な (-14.9 cm^2 、多重性調整後のp値で0.012) 減少効果が観察された。

また、歩行状況が評価項目に与える影響に関する解析を探索的に行ったところ、1 日平均歩数1 万歩未満において試験に参加することによる減少効果が大きく、米飯の減少効果は1 万歩以上において統計的に有意ではないものの大きかった。副次的評価の1,5-AG の茶の効果については、高値例においてのみ統計的に有意な減少効果が見られた。また、歩行状況によらず統計的に有意であったが、効果の大きさは1 万歩以上でより顕著であった。

試験期間中、関連性がありと判定された重篤な有害事象 (副作用) の発生はなかった。

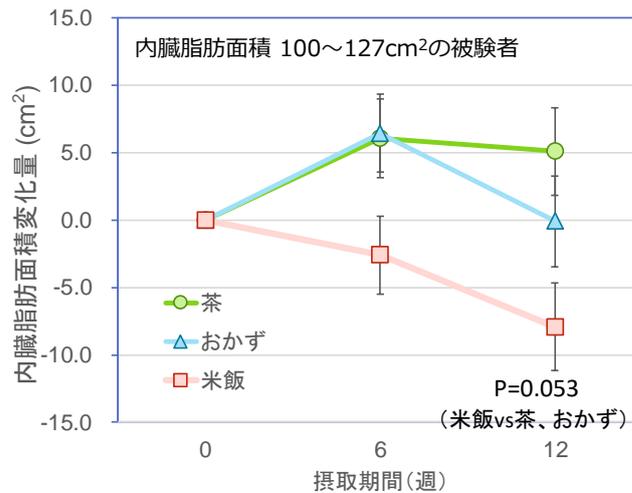


図3 内臓脂肪面積の変化 (100~127cm²の被験者のみで解析)

介入試験に参加することで12週で有意に-8.98 cm²減少した。これは被験者の試験遵守意識が高かったことにもよると考えられる。ただし被験者の日常生活、特に活動度が低い集団にこの結果が当てはまるかは、必ずしも明らかではないが、米飯を50%大麦及び玄米に変えて連続摂取することで、内臓脂肪面積が有意に低下することが明らかになったことは興味深い。また、内臓脂肪を減少させ体重を4-5%減らすとHbA1cが減少し、糖尿病発症のリスクが減らすことができることが報告されている¹⁾が、今回の試験では、内臓脂肪面積が最初の6週間で約6%減少しており、このことがHbA1c、グリコアルブミン減少につながったものと考えられる。本臨床試験は昼食のみに対する介入であった。これが朝・夕食の摂取にどのように影響したか、一日全体としてどのような食摂取が内臓脂肪減少に奏効するかは今後の課題である。

本臨床試験のデザインは、被験食品と対照食品の識別不能性を完全に保つことが困難な中で被験者のコンプライアンスを高めるため、被験者全員に何らかの機能性食品が割付けられる多因子要因実験の部分実施 (1/2 実施) を採用した。脱落が皆無であり被験者全員に対して有効性の評価項目がほぼ予定通りの時期に測定できた背景には、被験者の協力態度が良好であったことに加え、上記のデザイン上の工夫²⁾も貢献したと考えられる。

今後の課題・展望

- ① 本臨床試験は昼食のみに対する介入であった。これが朝・夕食の摂取にどのように影響したか、一日全体としてどのような食摂取が内臓脂肪減少に奏効するかは今後の課題である。
- ② 機能性農産物の供給体制を整えて、12週間の臨床試験により、生活習慣病予防に寄与するかどうかを社食などでさらに検証する必要がある。

参考文献

- 1)Iwahashi, H et al. (2015). Extent of weight reduction necessary for minimization of diabetes risk in Japanese men with visceral fat accumulation and glycated hemoglobin of

- 5.6-6.4%. J. Diabetes Investigation, **6(5)**, 553-339.
- 2) Teramukai, S. (2014). Clinical trial design. J. of Kyoto Prefectural University of Medicine, **123(11)**, 769-777 (手良向聡.臨床試験デザイン.京都府立医科大学雑誌)

研究成果一覧（論文、特許、商品）

- 1) 山本（前田）万里、廣澤孝保、三原洋一、倉貫早智、中村丁次、川本伸一、大谷敏郎、田中俊一、大橋靖雄（2017）機能性農産物を使用した機能性弁当の内臓脂肪等メタボリックシンドロームへの影響の検証するヒト介入ランダム化プラセボ対照比較試験、日本食品科学工学会誌、64(1)：23-33
- 2) 大谷敏郎、山本（前田）万里（2016）機能性をもつ農林水産物・食品開発プロジェクトの意義、JATAFF ジャーナル（機能性をもつ農林水産物・食品開発プロジェクトの成果）、4(12)：3-10
- 3) 山本（前田）万里（2016）機能性弁当の健康維持増進効果の検証と今後の展開、JATAFF ジャーナル（機能性をもつ農林水産物・食品開発プロジェクトの成果）、4(12)：41-46
- 4) 山本（前田）万里、大谷敏郎（2017）食品の機能性表示と機能性農産物開発—農研機構機能性食品開発プロジェクトの成果を含めて—、日本食品衛生学会誌、58 巻 2 号（2017 年 4 月号）（in press）
- 5) 山本（前田）万里、廣澤孝保、大谷敏郎、川本伸一．飲食物及びスクリーニング方法．特願特願 2016-053456（平成 28 年 3 月 17 日）
- 6) 山本（前田）万里、廣澤孝保、大谷敏郎、川本伸一．血糖低下剤、1,5-アンヒドログルシトール低下剤及び飲食組成物．特願 2016-051423（平成 28 年 3 月 15 日）．



附記 この研究成果集は、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 H24 補正プロジェクト「機能性をもつ農林水産物・食品開発プロジェクト」において実施された研究をとりまとめたものです。

※なお、本研究成果の内容の無断転載を禁じます。

2017年3月31日発行

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門
〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

問い合わせ先：

農研機構 食品研究部門 食品健康機能研究領域 山本（前田）万里