

温州ミカンの β -クリプトキサンチン —調製技術開発と機能性研究の進展—

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構
生物系特定産業技術研究支援センター
矢野昌充

はじめに

β -クリプトキサンチン (β -cry) は、ヒト血中に存在する主要カロテノイド 6 種の一つで、 α -カロテン、 β -カロテン、リコペン、ゼアキサンチン、ルテインと同様食物から摂取され、ヒトの健康維持に貢献していると考えられる。我が国の主要な果物の一つである温州ミカンは β -cry の最も重要な供給源であることから、温州ミカンなどカンキツ類の機能性研究の一環として β -cryに関連した研究が産学官協力態勢で取り組まれてきた。その結果、我が国では国民の健康維持に β -cry が他のカロテノイドと同等以上に貢献している可能性があるとの結論に達している。

本稿では、まず、 β -cry 機能性研究進展の前提となった β -cry 高含有素材調製技術の開発について紹介する。ついで、がん予防、骨粗鬆症予防、疫学研究など我が国で行われた β -cry の機能性研究の成果と特徴を紹介し、 β -cry の供給源である温州ミカンなどのカンキツ類を活用することにより国民健康増進への積極的な貢献が可能であることについて述べる。

1. β -cry 調製技術の開発により、我が国で β -cry 機能性研究がスタート

隅田らは温州ミカンの搾汁工程を一工夫することにより、比較的簡単な操作で β -cry の高濃度物を得ることを可能にした。温州ミカン果汁中では β -cry は不溶性固形物に吸着されているが、低遠心強度で沈降する不溶性固形物には少なく、高遠心強度で沈降する部分には高濃度に存在する。この発見にもとづき、低遠心強度の遠心分離により最初に β -cry の少ない部分を除去、ついで高遠心強度の遠心分離で β -cry に富む画分を得る「2 段階遠心分離法」を開発した。次に、 β -cry に富む画分をペクチナーゼ剤とともに、凍結・融解・ろ過を繰り返し、可溶性固形物の除去と凍結乾燥で β -cry をさらに高濃度化することに成功した。二つの方法を組み合わせることにより、温州ミカン果汁から抽出溶媒を使うことなく比較的簡易な操作のみで β -cry を、580 倍 (β -cry 含有割合では 0.67%) にまで濃縮できる。また、この高含有素材を原料に β -cry の精製品を調製する技術も開発した。

かつては β -cry が調達できなかつたため、 β -cry の機能性研究は他のカロテノイドより著しく遅れた。隅田らの研究により、 β -cry 機能性研究の停滞をブレークスルーでき、諸外国に先んじて β -cry の機能性研究を開始することが可能になった。

2. がん予防で臨床ヒト介入試験が進行中

β -cry の調製法が確立された後、最も早く着手された機能性研究はがん予防である。Tsushima らの先行研究があったことによる。この研究では 51 種のカロテノイド類の発がんプロモーション抑制効力スクリーニングテストを行い、 β -cry は調査したカ

ロテノイドの中で、最も強い抑制効力を示した。西野らはこの結果に注目し、 β -cry の発がん修飾作用に関する一連の研究に取り組み、化学発がんモデルを使った研究で、マウス皮膚（塗布によるプロモーション抑制、飲用によるイニシエーション抑制）、ラット大腸（短期：aberrant crypt foci の発生抑制、長期：腫瘍発生の抑制）、マウス肺など3部位、5種類の実験で β -cry は発がんを抑制することを報告している。また、紫外線誘発の皮膚発がんも β -cry を飲用させることで抑制できた。

β -cry の作用機序に関しては、上述の発がんプロモーションの抑制に加え、酸化ストレス緩和と解毒酵素活性化での発がん物質排出促進により発がんのイニシエーションも抑制することが明らかにされている。さらに、がん細胞増殖抑制やアポトーシス促進の作用の報告もある。また発がん抑制遺伝子に関して、 β -cry には弱体化した p53-RB 経路の遺伝子群の活性化作用があるとされ、発がん予防の分子メカニズムの一部を担うとされている。

動物実験の好結果を受け、ヒトレベルでの検証が開始されている。症例対照研究、コホート研究では、血清 β -cry 高濃度群や温州ミカン高摂取群で大腸がん、肝がんのリスクが低いことが示されている。さらに、大腸がん、肝がん発症のハイリスク者に協力を求め、臨床ヒト介入試験もスタートしている。この研究では β -cry だけではなくがん予防効力が認められている複数の成分を組み合わせることで発症の危険性をできるだけ低く抑えることが目標で、途中経過は順調である。

我が国では、発がん抑制に関する基礎研究が盛んに行われ、動物実験のレベルは諸外国に較べて高いといわれた時代がかってあった。しかし、臨床ヒト試験へ展開するには高いハードルが存在するため、ヒトでの介入試験にまで到達した研究は多くないようである。そのような条件下で、 β -cry が臨床ヒト試験にまで到達していることは評価できよう。

3. 骨粗鬆症予防

がん予防研究について進展しているのが骨代謝調節に関する研究である。Yamaguchi らによる骨組織培養系の実験で、 β -cry には骨形成促進と骨吸収抑制作用のあることが明らかにされた。この研究で注目したいのは有効濃度が低いことで、ヒト血中 β -cry 濃度の範囲である 10^{-8} ~ 10^{-6} M で効力を認めている。また、動物実験では体重 100g あたり $10\mu\text{g}$ ・1週間程度程度の β -cry 投与で、骨中のカルシウム濃度が上昇し、さらには糖尿病性骨粗鬆症やエストロゲン欠乏誘発の骨粗鬆症の進行を抑止、さらには修復できることが報告されている。ヒト試験においても閉経後の女性を対象に、 β -cry を含有する温州ミカンジュースを飲用することで血清 β -cry が増加し、それに伴い骨形成マーカー（たとえば γ -carboxylated osteocalcin）値の上昇、骨吸収マーカー（たとえば tartarate-resistant acid phosphatase）値の低下が認められている。

疫学研究のデータも β -cry が健康な骨の維持、特に閉経に伴う骨密度低下の防止に役立つことを示唆している（後述）。 β -cry、温州ミカンや加工品の摂取が骨密度低下の防止に役立っていることを消費者に分かりやすい形で伝えられるデータが揃いつつあり、この分野で、国民健康増進に貢献できるようになる日は近いと思われる。

4. 温州ミカン産地での疫学研究

血清 β -cry 高濃度群あるいは β -cry 高摂取群の、糖尿病、肺がん、リウマチなどの疾病

罹病リスクがそれぞれ低濃度群、低摂取群に比較して有意に低いとする報告が諸外国で散見される。しかもこの傾向はカロテノイドや抗酸化成分の中で β -cryに特有である事例が少なくない。ところで、 β -cryの効能を疫学研究により詳細に知ろうとすると、我が国の温州ミカン産地ほど好適なフィールドはない。温州ミカンに由来する β -cryのお陰で、地域住民の血清 β -cry濃度はこれまでの欧米での報告と比較して著しく高く、疾患との関連が正確に解析できると考えられるからである。このような発想から、(独)農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所と国立長寿医療センター研究所は温州ミカンの有数な産地である静岡県三ヶ日町の住民を調査対象とする栄養疫学研究を開始した。

この研究では、予想どおり血清 β -cry濃度の分布が世界各地の疫学研究例よりはるかに大きな広がりがあり、 β -cryの健康事象への影響の解析は容易になっている。これまでに血清 β -cry高濃度群が低濃度群に比べ、様々な健康事象で優れていることが明らかになった。代表例を5例示す。

- ① γ -GTP値はアルコール摂取によって上昇するので、肝臓への影響を判定する指標として重用される。本調査でもアルコール高摂取群では低摂取群に比べて γ -GTP値が高い傾向を認めたが、 β -cry高濃度群での γ -GTP値の上昇はわずかで、アルコール摂取による肝臓の損傷に対する β -cryの保護効果が示唆された。
- ② 高血糖群では、高血糖誘発の酸化ストレスによって肝臓損傷マーカーのALT (alanine aminotransferase) 値とAST (aspartate aminotransferase) 値の上昇が観察された。ところが、高血糖であっても併せて血清 β -cry値の高いグループでは、ALT値とAST値ともに上昇は少なかった。 β -cryには高血糖が誘発する肝臓損傷に対する保護効果のあることが示唆された。
- ③ 動脈硬化の程度は脈派速度の測定値で判定できる。この方法を使用して動脈硬化を判定したところ、血清 β -cry高濃度群は低濃度群に比べ、動脈硬化になるリスクは約1/2であった。 β -cryには動脈硬化の予防効果が示唆された。
- ④ インスリン抵抗性は2型糖尿病、動脈硬化の原因であるほか、メタボリック症候群の素因でもある。血清 β -cry高濃度群は低濃度群に比べ、インスリン抵抗性と判定されるHOMA指数3以上になるリスクは約1/2であった。 β -cryには、糖尿病予防、メタボリック症候群に対する予防効果があることが示唆された。
- ⑤ 血清 β -cry高濃度群は低濃度群に比べ、骨密度低値になるリスクは約1/2であった。 β -cryには骨粗鬆症予防の効果が示唆された。

温州ミカン産地での研究開始前に行われた温州ミカン摂取と生活習慣病有病率との関係についての調査研究では、温州ミカン高摂取群（自記式アンケートで温州ミカンの出回る秋冬期に、摂取量4個以上/日と回答）では温州ミカン低摂取群（2～3個以下/週）に対する糖尿病、高血圧、心疾患、痛風などの有病率オッズ比は有意に低かった。温州ミカンの高摂取頻度者は確実に β -cry血清濃度が高いことを考えると、糖尿病、高血圧、心疾患、痛風などの予防に β -cryの貢献が考えられる。

以上の結果から、温州ミカンを好み、体内に β -cryを高濃度に保持している人は温州ミカンを食べる習慣の無い人に比較して、生活習慣病に対するリスクが、概ね1/2であることが明らかになった。単なる嗜好品として温州ミカンを摂取していたとしても、その消費者には実は大きな恩恵がもたらされている。

おわりに

我が国では温州ミカンやカンキツジュースから β -cry をかなりの量摂取している。この β -cry が多くの日本国民の健康増進に貢献していることは、これまで紹介した研究成果から明らかであろう。併せて、長年にわたる温州ミカンを通じての β -cry の食経験は豊富で、安全性の面から問題が生じることも少ない。

一方で、この 30 年間に温州ミカン消費量が 1/4 まで激減した。本稿で紹介した「 β -cry の健康維持増進効果の恩恵」に浴している人も激減していると言わざるをえない。勿体ないことである。 β -cry の健康増進効果の輪郭が、疫学研究・検証試験・メカニズム研究の組み合わせによって明らかになってきたのを機会に、生食、果汁の温州ミカンやカンキツ類は勿論、 β -cry 強化食品、 β -cry 入りドリンク剤やサプリメントなど、ある面現代的な利用方法も加えて、30 年前がそうであったと同様に、 β -cry が多くの国民の健康増進に活かされることを願ってやまない。

参考文献

β -cry 調製技術開発

Sumida, T., Y. Azuma, S. Hamada and H. Ogawa, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*. **46**, 404-409 (1999)

Sumida, T., Y. Azuma, S. Hamada and H. Ogawa, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*. **46**, 833-838 (1999)

がん予防

Tsushima, M., T. Maoka, M. Katsuyama, M. Kozuka, T. Matsuno, H. Tokuda, H. Nishino and A. Iwashima, *Biol. Pharm. Bull.* **18**, 227-233 (1995)

Narisawa, T., Y. Fukaura, S. Ohshima, T. Inakuma, M. Yano and H. Nishino, *Jpn. J. Cancer Res*, **90**, 1061-1065 (1999)

Nishino, H., M. Murakoshi, T. Li, M. Takemura, M. Kuchide, M. Kanazawa, X.Y. Mou, S. Wada, M. Masuda, Y. Ohsaka, S. Yogosawa, Y. Satomi and K. Jinnno, *Cancer Metastasis Rev.* **21**, 257-264 (2002)

Nishino, H., H. Tokuda, M. Murakoshi, Y. Satomi, M. Masuda, M. Onozuka, S. Yamaguchi, J. Takayasu, J. Turuta, M. Okuda, F. Khachik, T. Narisawa and M. Yano, *Biofactors*. **13**, 89-94 (2000)

Miyazawa K, Miyamoto S, Suzuki R, Yasui Y, Ikeda R, Kohno H, Yano M, Tanaka T, Hata K, Suzuki K., *Oncol Rep.* **17**, 297-304 (2007)

Kohno, H., M. Maeda, S. Honjo, M. Murakami, R. Shimada, S. Masuda, T. Sumida, Y. Azuma, H. Ogawa and T. Tanaka, *J. Toxicol. Pathol.* **12**, 209-215 (1999)

Tanaka, T. and H. Kohno, *Recent Res. Devel. Cancer.* **4**, 439-451 (2002)

Kohno, H., M. Taima, T. Sumida, Y. Azuma, H. Ogawa and T. Tanaka, *Cancer Letters*. **174**, 141-150 (2001)

Tanaka, T., H. Kohno, M. Murakami, R. Shimada, S. Kagami, T. Sumida, Y. Azuma

and H. Ogawa, *Int. J.Cancer.* **88**, 146-150 (2000)
Murakami, A., A. nakashima, T. Koshiba, T. Maoka, H. Nishino, M. Yano, T. Sumida, O. K. Kim, K. Koshimizu and H. Ohigashi, *Cancer Lett.* **149**, 115-123 (2000)

骨粗鬆症

Yamaguchi, M. and S. Uchiyama, *Biol. Pharm. Bull.* **26**, 1189-1191 (2003)
Uchiyama, S. and M. Yamaguchi, *Biol. Pharm. Bull.* **27**, 232-235 (2004)
Uchiyama, S. and M. Yamaguchi, *Biochem. Oharmacol.* **67**, 1297-1305 (2004)
Yamaguchi, M. and S. Uchiyama, *Mol. Mol. Cell Biochem.* **258**, 137-144 (2004)
Yamaguchi M, Uchiyama S, *Mol Cell Biochem.* **258**, 137-144 (2004)
Yamaguchi, M A Igarashi, Uchiyama, S.S Morita, Sugawara K.T Sumida K, *J. Health Sci.* **50**, 619-624(2004)
Yamaguchi, M A Igarashi, S Morita, T Sumida, Sugawara K , *J. Health Sci.* **51**, 738-743(2005)
Yamaguchi M, Uchiyama S. *J Cell Biochem.* **94**,794-803 (2005)
Yamaguchi M, Uchiyama S. *Int J Mol Med.* **15**, 675-681 (2005)
Uchiyama S, Yamaguchi M.*J Cell Biochem.* **95**,1224-1234 (2005)
Uchiyama S, Yamaguchi M *Biol Pharm Bull.* **28**, 1766-1769 (2005)
Uchiyama S, Ishiyama K, Hashimoto K, Yamaguchi M.*Biol Pharm Bull.* **28**, 2142-2145 (2005)
Uchiyama S, Yamaguchi M *Int J Mol Med.* **17**, 15-20 (2006)
Yamaguchi M, Uchiyama S, Ishiyama K, Hashimoto K. *Biol Pharm Bull.* **29**, 371-374 (2006)
Uchiyama S, Yamaguchi M. *J Cell Biochem.* **98**,1185-1195 (2006)
Yamaguchi, M. *YAKUGAKU ZASSHI.* **126**, 1117-1137 (2006)

疫学研究

Sugiura, M., M. Kato, H. Matsumoto, A. Nagao and M. Yano. *J, Health Sci.* **48**. 350-353 (2002)
Sugiura M, Nakamura M, Ikoma Y, Yano M, Ogawa K, Matsumoto H, Kato M, Ohshima M, Nagao A, *J Epidemiol*, **15**, 180-186 (2005)
Sugiura M, Nakamura M, Ikoma Y, Yano M, Ogawa K, Matsumoto H, Kato M, Ohshima M, Nagao A, *Diabetes Res Clin Pract* , **71**: 82-91 (2006)
Nakamura M.,Sugiura M, Aoki N, *Atherosclerosis*,**184**, 363-369 (2006)
Sugiura M, Nakamura M, Ikoma Y, Yano M, Ogawa K, Matsumoto H, Kato M, Ohshima M, Nagao A, *J Epidemiol*; **16**: 71-78 (2006)