

食品中の非栄養性機能物質の解析と体系化に関する研究

研究代表者：荒井 綜一（東京農業大学）

I. 試験研究の全体計画

1. 研究の趣旨

21世紀を迎えた今日、先進諸国では、がん、アレルギー、感染症、肥満症、糖尿病、高脂血症といった生活習慣病の激増が大きな社会問題になっている。日常の食生活のなかでこれらの疾病を未然に防ぐ可能性を求めて機能性食品科学が国際的に発展してきた。食品中には、脂質、糖質、タンパク質、ビタミン、ミネラル等、既知の栄養素の他に生理・薬理機能をもつ物質が多数存在し、特にフラボノイド、テルペノイド、揮発性物質、ペプチドなどが疾病予防の機能を有することが明らかになってきている。しかし、国際的にみて、この分野の研究は未だ体系的に行われておらず、学術的体系化も不備である。

本研究のⅠ期では、非栄養性の機能物質の含量測定や機能評価を行い、それらのデータベースをホームページ上で公開しているが、Ⅱ期では、その安全評価をも行うこと、当該分野の既知の知見を再評価し、それらの知見を標準化、集積することにより、各般に更に利用されやすいデータベースを再構築することを目指す。その成果は“食による疾病予防”の科学的、技術的根拠の提示につながり、さらには産業への波及効果を通して具体的に社会貢献すると期待できる。しかも、わが国が世界に先がけてこれを実践することの国際的意義は甚だ大きい。

上記の趣旨をふまえた成果を集大成し、生活者ニーズに応えたい。

2. 研究の概要

a. 機能性と安全性の評価の新方法論、特にゲノミクスの導入

食品中の既知の機能物質に関しては、Ⅰ期の成果を踏まえ、抽出法、測定法、機能性および安全性の評価法を確立し、その使用の標準化を提唱する。とくに、これをDNAチップ技術やプロテオミクスを駆使して検証し、本研究の新局面を拓く。

(1) 機能性

ペプチド、フラボノイド、カロテノイド、薬理植物成分、香味成分など、他の班で新規に抽出された機能物質についてDNAマイクロアレイを行う。DNAチップ技術により既に解明された機能物質については、標的器官、摂取量、期間などを変えて、あるいは様々な組み合わせによりDNA

マイクロアレイを行う。

最終年度の本年には食品成分の機能性評価にDNAチップが適用しうる例を提示する。さらに、プロテオミクスの国際的発展に取り残されないよう、ペプチドおよびタンパク質性機能物質の構造の解析を行い、機能物質の体系化に新たなディメンションを加える。

(2) 安全性

食品素材中の機能性成分の解析を行い、特定の因子を同定する。これらの因子には生理機能的に望ましいものと、逆に望ましくないものがある。前者は例えばイソフラボンやセサミン、後者はアレルゲンとなるペプチドなどである。次いで、これらの因子を強化した、つまり生理的機能性としてプラスに作用する因子を付与、あるいはマイナスの因子を除去した食品の作製をめざす。その結果、DNAチップ技術により機能性成分あるいは食品素材の生体に及ぼす危険性を数値で予測しうることを示す。これにより間接的な安全性評価法が確立される。

b. 機能物質の構造・活性相関に関する研究の展開

非栄養性機能物質としてフラボノイド・ポリフェノール、カロテノイド・テルペノイド、薬理活性成分・香味成分を取り上げ、食品成分表記載の食品群あるいは東洋固有の食用植物におけるそれらの含有量、質的特徴を化学・生化学的手法によって解析するとともに、機能性を生化学・生理学的手法によって解析し、構造と活性（機能性）の相関を解明し、データベース化に供する。

(1) フラボノイド・ポリフェノール

(a) フラボノイド

これまでの本プロジェクトで、食品には数千種類のフラボノイド配糖体が含まれるが、これらのうち生理活性を有するのは糖が外れたアグリコンであり、アグリコンは数百種類であることを明らかにし、その日常食品中の含量のデータベースを作成した。残る課題は、これらのアグリコンの中から生体内で有効な生理活性を示すものを同定することである。そこで本年度は、1) 生体内で有効な生理活性を示すフラボノイドアグリコンを同定し、その活性を遺伝子損傷防御効果と受容体タンパク質の機能調節で評価する。2) 構造・活性相関から、バイオアベイラビリティが高い化学構造のアグリコンを選出する。3) バイオアベイラビリティが高いアグリコンが、発がん予防、酸化ストレス軽減、骨粗鬆症予防などの効果を示すことを、動物で証明する。

(b) ポリフェノール

植物性食品（特に果物）に含まれるポリフェノールの同

定と定量分析を完成させる。この過程で文献未記載の物質が主要成分として検出された場合は単離精製し、その構造を決定する。ポリフェノールの構造活性相関を解析するため、いままで脂質二重層に対する親和性や配向性を調べてきたが、本年度では血中に存在する濃度や（抱合体などの）化学構造など、より生体内での状況を反映した条件で調べる。このために、超高感度のHPLC検出器の使用を検討する。さらにポリフェノールを動物培養細胞に加えた時のタンパク質発現量の変化をプロテオミクスにより解析する。

(2) カロテノイド・テルペノイド

(a) カロテノイド

抗酸化ビタミンであるビタミンEやその他の食品機能成分とカロテノイドの組み合わせによる抗アレルギー活性・抗酸化活性の発現増強作用を評価し、最適な組み合わせ決定する。

1. 培養細胞への添加実験により、アレルギーに関わるサイトカイン類を測定し、抗アレルギー作用を検定する
2. ヘアレスマウスへの摂取実験によりUVA照射より発現する酸化ストレスマーカー群を測定し、抗酸化作用を評価する。

(b) テルペノイド

テルペノイドの中でも緑葉野菜に広く含まれるキサントフィル類の機能を解析するため、特に強いがん細胞増殖抑制効果を示すネオキササンチンを中心に、その吸収と体内動態を実験動物を用いて調べる。ネオキササンチン及びその代謝産物のがん細胞増殖抑制作用のメカニズムを解析する。また、種々のキサントフィル及びその代謝産物の細胞増殖抑制作用や抗酸化性等を比較検討し構造活性相関の一端を明らかにする。さらに、テルペノイド摂取量と体内蓄積については、15年度に引き続き血液中の濃度の分析を進め全ての分析結果を集約する。食品摂取頻度調査の結果及びデータベースを用いて各被験者の推定摂取量を算出し、実際の血液中濃度との相関を調べることによって、血液中濃度に影響する因子を解析する。

(3) 薬理活性成分・香味成分

(a) 薬理活性成分

第I期の研究において、香りや味に特徴のある食材に注目し、それに含まれる生理活性成分（抗酸化・抗炎症・抗発がん物質）の分布や含量に関する既存の文献情報を広く検索し、統合した。さらに、重要と思われる、かつ情報の少ない食材に関しては、生理活性スクリーニングや定量分析を行った。その結果、薬理活性成分の分布に関する基礎的なデータベースは整備できたものと考えている。特にアブラナ科、ショウガ科およびユリ科（ネギ属）食材に関しては、かなり詳しい情報を集積できた。第II期では、これを基盤とし、特に注目される素材や化合物の絞り込みを行い、その分子機構を明らかにすることで、科学的根拠に基づいた健康情報の公開を目指す。さらには、機構解析で得られ

る知見を総合的に検討し、より効果が高く、毒性の低い組み合わせ法（食べ合わせ法）が提示できるようなデータの蓄積を目指す。

(b) 香味成分

これまでの研究成果をベースとし、いくつかの食素材や成分に集約して発展的な研究を推進する。例えば、ショウガに含まれるafromodialやハナショウガのzerumboneに関する生理機能性（主に抗炎症活性）の評価と分子機構解析、およびフトモモ科のサラムリーの抗酸化活性成分の精製・単離、構造解析、抗酸化性評価を行う。また、ヒトにおける機能性の研究として、機能性含硫成分または前駆体を含む有望な野菜を選抜し、実際に摂取したときの、ヒト血流改善効果について調べる。一方、機能性含硫成分の定量分析は継続して行い、これに関してはネギ属とアブラナ科の野菜だけではなく、野菜全般、さらにはキノコ類にも手を広げる。また、サラムリー等の香辛植物から見出した主要抗酸化成分をHPLCを用いて定量し、香辛植物の機能成分のデータベースに新たなデータを追加し充実を図る。こうした一連のアプローチにより、食と健康の情報を大衆へ還元することを試みる。

(4) 機能性タンパク質・ペプチド

(a) タンパク質

タンパク質の加水分解過程で血圧調節や鎮痛作用を示す生理機能性ペプチドが生成することから、タンパク質はプロペプチドライブラリーと見ることができる。このような観点から、種々のタンパク質の一次構造中の生理機能性ペプチド配列の系統的解明を目指して来たが、最終年度の今年度は以下の項目の研究を実施する予定である。

1. データの少ない肉（筋肉）タンパク質由来の生理機能性ペプチドの分離、単離、構造解析を行う
2. 生理機能性ペプチドの経口摂取による有効性とペプチドの一次構造の相関性からタンパク質の評価手法の開発を行う。
3. 生理機能性分子として筋肉タンパク質由来ペプチドの情報をこれまでの食品タンパク質のペプチドデータに補完するとともに、これまでのデータを統合してデータベース化の暫定的なモデル（案）を提示する。

(b) ペプチド

本年度は、これまでに明らかになった食品由来生理機能性ペプチドの情報を再整理し、その体系化を試みる。同時に、これまで研究の進んでいない、腸管における食品由来ペプチドの機能について集中的に検証する。すなわち腸管における栄養素や有害化学物質の吸収におよぼす各種食品由来ペプチドの影響に関する情報、腸管上皮の炎症反応等、腸管の物質認識・応答機能の破綻が引き起こす疾病を抑制する機能を持ったペプチドに関する情報、アレルギー等に関わる腸管粘膜免疫細胞群の活性調節機能を持ったペプチドに関する情報をさらに蓄積する。これによって、腸管を

介して健康維持に関わるペプチドの機能の体系化を計る。

c. 機能物質とその効能と安全性の体系的データベース化

I 期で行ってきた食品中に含まれる非栄養性機能物質の実証的データベース化を、II 期では更に充実・体系化し、栄養計算などに利用して摂取量を推定し、効能と安全性を踏まえた健康への影響を評価できるようにする。また、疫学研究などを応用し、非栄養性機能物質のヒトでの効能と安全性情報のたたき台を作り、研究者に提供する。

(1) 効能

「機能物質とその効能と安全性の体系的データベース化」の研究グループによって前年度までに確立したデータベースを中心に、食事調査から摂取量を推定するためのデータベースを作成し、臨床介入試験を実施した特定の集団をサンプル集団として、試験中に実施した食事調査によって得られた食品摂取頻度・量のデータを用いて、機能物質の摂取量を推定する。同時に、同一集団において、目的とする機能性物質の血中・24 時間尿中バイオマーカーを測定し、

推定した摂取量との関連を検討し、データベースの精度に関する基礎的情報を収集する。「c. 機能物質とその効能と安全性の体系的データベース」グループの他の研究者と連絡を取りながら効率的に研究を行うこととする。

(2) 安全性

代表的な食品中の非栄養性化学物質をさらにリストアップし、化学構造、生理・薬理機能のデータベースを完成させる。そのために不足分の追加測定を外部委託により行う。また未着手であったペプチドデータベースも開く。また、安全性について臨床試験、介入試験のシステムティックレビューを行う。近時、消費が急増しているイソフラボンについて、安全性に関するヒト試験を実施する。また、データベースを用い、ヒトの非栄養性機能性物質摂取量を推定し、健康影響面に着いて評価し、食品の安全性の面より化学物質（農薬、PCB 等）汚染状況等についても試験的に検討する。また、サブグループの研究データを取りこみ、Web サイトの充実をはかる。

3. 年次計画

研究項目	15年度	16年度
	第II期	
a. 機能性と安全性の評価の新方法論、特にゲノミクスの導入		
(1) 機能性	食品機能性のゲノミクス解析の開始期	食品機能性のゲノミクス解析の展開
(2) 安全性	アレイによる安全性解析の開始	アレイによる安全性解析の展開
b. 機能物質の構造・活性相関に関する研究の展開		
(1) フラボノイド・ポリフェノール		
(a) フラボノイド	生理活性を示す構造特徴の解析	体内で活性を示す有効形態の解明
(b) ポリフェノール	ポリフェノールの化学的分析	ポリフェノールの機能解析
(2) カロテノイド・テルペノイド		
(a) カロテノイド	ストレスおよびアレルギー制御機構の解析	制御に対する共存物質の作用解析
(b) テルペノイド	代謝産物の構造解析と健康指標データの収集	構造活性相関と生活習慣病予防効果の解析
(3) 薬理活性成分・香味成分		
(a) 薬理活性成分	薬理活性成分の網羅的検索と作用機構の解明	薬理活性成分の組み合わせ効果の解析
(b) 香味成分	生理活性香味成分の構造活性相関	機能成分高含有素材開発への応用
(4) 機能性タンパク質・ペプチド		
(a) タンパク質	機能性タンパク質の解析と評価	機能性タンパク質のデータベース化
(b) ペプチド	ペプチドによる腸管吸収制御の解析	ペプチドによる腸管免疫制御の解析

研究項目	15年度	16年度
c. 機能物質とその効能と安全性の体系的データベース化 (1) 効能	ヒトにおける機能物質の効能に関する系統的レビュー	機能物質と栄養所要量との関係に関する検討
(2) 安全性	データ内容への安全性情報の追加	統合化データベースの公開
d. 研究進捗管理		
所要経費(合計)	210百万円	193百万円

II. 平成16年度における実施体制

研究項目	担当機関	研究担当者
a. 機能性と安全性の評価の新方法論、特にゲノミクスの導入 (1) 機能性 (2) 安全性	東京農業大学応用生物科学部 東京大学大学院	◎ 荒井 綜一 阿部 啓子
b. 機能物質の構造・活性相関に関する研究の展開 (1) フラボノイド・ポリフェノール (a) フラボノイド (b) ポリフェノール (2) カロテノイド・テルペノイド (a) カロテノイド (b) テルペノイド (3) 薬理活性成分・香味成分 (a) 薬理活性成分 (b) 香味成分 (4) 機能性タンパク質・ペプチド (a) タンパク質 (b) ペプチド	神戸大学農学部 静岡県立大学食品栄養科学部 徳島大学医学部 (独) 食品総合研究所 京都大学大学院農学研究科 名古屋大学大学院 近畿大学大学院農学研究科 東京大学大学院農学生命科学研究科	○ 金沢 和樹 中山 勉 寺尾 純二 長尾 昭彦 大東 肇 大澤 俊彦 河村 幸雄 清水 誠
c. 機能物質とその効能と安全性の体系的データベース化 (1) 効能 (2) 安全性	(独) 国立健康・栄養研究所 東京農業大学応用生物科学部	佐々木 敏 ○ 渡邊 昌
d. 研究進捗管理	東京農業大学応用生物科学部	荒井 綜一

(注：◎は代表者、○はサブテーマ責任者)

III. 総合推進委員会

委員	所属
○ 小林 博	(財) 札幌がんセミナー 理事長
小若 順一	日本子孫基金 事務局長
服部 幸應	(学) 服部学園 理事長
林 裕造	(財) 実験動物中央研究所 学術顧問
細谷 憲政	(財) 日本健康・栄養食品協会 理事長
荒井 綜一	東京農業大学 応用生物科学部 教授
大東 肇	京都大学 大学院農学研究科 教授
金沢 和樹	神戸大学 農学部 教授
寺尾 純二	徳島大学 医学部 教授
河村 幸雄	近畿大学 農学部 教授
渡邊 昌	東京農業大学 応用生物科学部 教授

(注：○は委員長)