

食品の機能性を評価するために ～ *in vitro*スクリーニング試験を中心に～

はじめに

高血圧、高血糖や肥満に代表される生活習慣病は、遺伝的あるいは生活環境などの複合慢性的な要因によって発症します。これらは現代病とも言われ先進国で急激な増加が問題となっています。食品には、生きるために不可欠な栄養機能(一次機能)、美味しさを求める感覚機能(二次機能)があり、これに加えて、健康の増進に貢献する生体調節機能(三次機能)が近年特に注目されています。生活習慣の見直しが最も重要であることは間違いないことですが、薬とは異なり日常的に摂取可能な食品によって生活習慣病を未然に防ぐことができれば、正に一石三鳥です。実際、1991年に制定された特定保健用食品(トクホ)制度への関心は高く、2009年6月の時点で既に800を超える商品が上市されています。この内、疾病リスク低減表示トクホにおいては、当該保健機能への関与成分の特定とヒト臨床試験での有効性の証明が不可欠で、このための学術論文レベルの科学的根拠が求められます。

今回は、この食品の生体調節機能の評価する方法について概観し、動物・ヒト臨床(*in vivo*)試験の前段階として、機能性成分を探索するための生化学・培養細胞(*in vitro*)によるスクリーニング試験の実例をご紹介します(図1)。

食品の機能性評価

食品の機能性と一口に言っても、消化系、循環系、免疫系、神経系など、非常に広い範囲の効果が期待されます。ただし、その作用を検証するためには、それぞれの適切な評価系が必要です。表1にトクホの認定水準で科学的な根拠が確認されている生体調節機能とその評価法及び寄与成分示しました。消化吸収補助、コレステロール抑制、高血圧抑止、高血糖抑止、抗肥満及びミネラル利用に関するもので、酵素活性などの生化学的評価レベルから、腸管細胞、脂肪細胞や骨細胞などのモデル細胞系での評価、さらに実験動物・ヒト臨床での評価と、様々なステップ・種類の評価法が用いられていることを示しました。

表2に、現在、研究レベルで取組まれている機能性の評価系を示しました。抗炎症、免疫賦活、抗腫瘍、美白、老化防止及び抗疲労等の効果が評価対象です。本格的な高齢化社会の到来を迎えつつある現在において、老化防止や抗疲労と言った投薬や臨床的処置が難しいこれら生体調節機能の向上に、食品で関与することができれば理想的であると言えます。

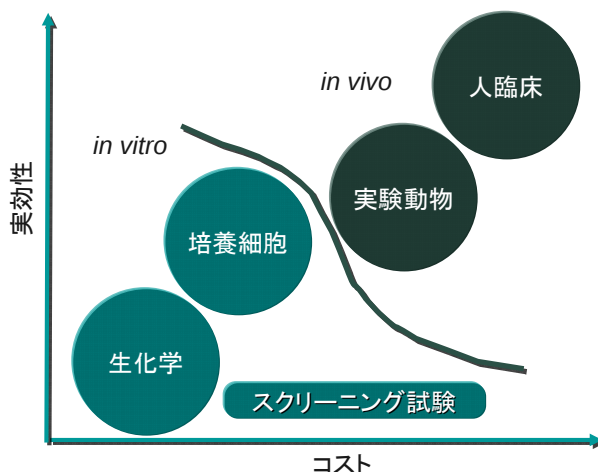


図1 食品の機能性評価試験の位置付け

表—1 食品の生体調節機能評価法(トクホ認定効果)

機能性 → 評価法 / 寄与成分 (トクホ認定)
1. 消化・吸収を助け体調を整える効果 → 腸管細胞, 動物腸管, <i>in vivo</i> * 代謝吸収試験
オリゴ糖・食物繊維・乳酸菌 等
2. コレステロールを抑え動脈硬化を防ぐ効果 → <i>in vivo</i> * 代謝試験
大豆タンパク, キトサン, 植物ステロール, 低分子アルギン酸Na, 茶カテキン 等
3. 血圧の上昇を抑える効果 → ACE*活性, 高血圧モデル動物, <i>in vivo</i> * 血圧測定
ペプチド, 杜仲葉配糖体, フラボノイド, GABA* 等
4. 血糖の上昇を抑える効果 → 消化酵素活性, 腸管細胞吸収, <i>in vivo</i> * 血糖測定
難消化性デキストリン, グアバ葉ポリフェノール, 小麦アルブミン, 豆鼓エキス 等
5. 脂肪の合成を抑えたり燃焼を促進する効果 → 脂肪細胞, <i>in vivo</i> * 脂肪量測定
ジアシルグリセロール, グロビン分解物, 中鎖脂肪酸, EPA*, 茶カテキン 等
6. ミネラルの吸収を助け骨や歯の形成を促す効果 → 骨細胞, 卵巣摘出ラット, <i>in vivo</i> * 骨代謝試験
カゼインホスホペプチド, クエン酸リンゴ酸Ca 等

表—2 食品の生体調節機能評価法(研究レベル効果)

機能性 → 評価法 / 寄与成分 (研究レベル)
7. アレルギーや炎症を緩和する効果 → 肥満細胞*, マクロファージ細胞*, <i>in vivo</i> * 感作モデル
メチルカテキン, ノビレチン, ケルセチン, レスベラトロール, 西洋タンポポ, ウコン 等
8. 免疫活性を維持・増強する効果 → マクロファージ細胞*, NK細胞*, <i>in vivo</i> * イムノグロブリン産生
β -グルカン, アラビノキシラン, フコイダン, 乳酸菌, 朝鮮人参, ニンニク, ショウガ 等
9. 腫瘍の発生・増殖を抑える効果 → AMES試験*, 各種腫瘍細胞, <i>in vivo</i> * 移植試験
緑茶, ヒバマタ, リコペン, イソフラボン, ウコン, アロエ, 西洋タンポポ, クランベリー 等
10. メラニンの産生を抑える美白効果 → チロシナーゼ*活性, メラノーマ細胞*, <i>in vivo</i> * 刺激試験
アルブチン, コウジ酸, エラグ酸, カモミラET, ビタミンC誘導体, プラセンタエキス 等
11. 老化を防ぐ効果 → 抗酸化活性(DPPH*, SOD*, ORAC*), 神経細胞, 老化促進モデルマウス
メラトニン, リコピン, アルギニン, イチョウ, 朝鮮人参 等
12. 疲労を回復する効果 → <i>in vivo</i> * 負荷試験 (バイオマーカー; TGF- β *, フリックカー値* 等)
デヒドロエピアンドステロン, α -リノレイン酸, 朝鮮人参, ヒバマタ, ニンニク, イチョウ 等

***表の解説集(出現順)**

in vivo

対象とする生体機能や反応が生体内で発現される状態。生体外に取り出した状態(*in vitro*)に対する用語

ACE (angiotensin converting enzyme)

血管や小腸の細胞膜上に豊富に存在し血圧調節に関する代表的な酵素。アンジオテンシンⅠから昇圧作用を持つアンジオテンシンⅡへの変換を行う。

GABA (γ -aminobutyric acid)

脳内に存在する抑制性の神経伝達物質。血管弛緩作用などにより血圧を下げることで知られている。

EPA (eicosapentaenoic acid)

炭素数 20 個、二重結合 5 個を持つ不飽和脂肪酸の総称で、イワシ、サバなどの青魚に多い。動脈硬化などを抑え生活習慣病の予防に有効とされている。

肥満細胞

マスト細胞ともいわれ、喘息や花粉症などの即時型アレルギー反応を誘起する細胞として知られる。

マクロファージ細胞

運動性・付着性に富む細胞。変化した体内成分や外部から侵入した細菌などの異物を貪食し、酵素的に消化することにより排除する働きを持つ。

NK細胞 (natural killer cell)

T 細胞にも B 細胞にも属さないリンパ球。ある種のウィルス感染細胞や腫瘍細胞などに対して傷害作用を示す。

AMES試験 (エイムス試験)

サルモネラ変異株を用いる短期的な突然変異原性の評価法として、B. N. Ames によって開発された。突然変異原性物質の一次スクリーニング法として汎用されている。

チロシナーゼ

メラノーマ細胞にけるメラニン色素合成の律速酵素。本酵素の阻害活性を示す多くの美白剤が開発されている。

メラノーマ細胞

黒色肉腫由来の細胞であり、マウス由来の B16 細胞は、メラニン産生抑制試験に汎用されている。

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

安定な有機ラジカルを与える物質。簡便な抗酸化性の評価法として、DPPH の有機ラジカルに対する補足能を測定する方法が広く用いられている。

SOD (superoxide dismutase)

スーパーオキシドアニオンラジカルを速やかに分解する酵素。本酵素の阻害により、滞留した活性酸素の影響で、細胞の酸化障害をきたすことが知られている。

ORAC (oxygen radical absorbance capacity)

米国老化研究所により開発された、活性酸素に対する補足能力を評価する新たな方法。米国では ORAC 値の食品表示が進んでいる。

TGF- β (transforming growth factor- β)

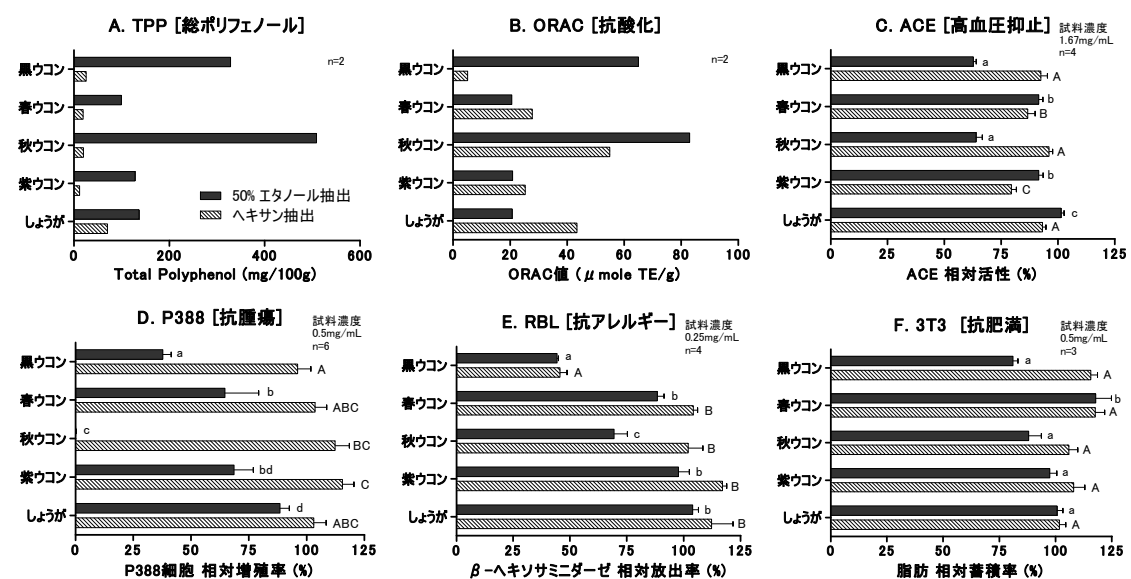
当初、細胞のがん化に関わる増殖因子として発見された生理活性物質。疲労したラットの脳脊髄液中に増大していることが見出されたことから、疲労マーカーの一つとして注目されている。

フリッカー値

点滅光のちらつきが感じられなくなる点滅周波数の限界値。大脳皮質の活動水準に依存することから中枢性疲労の評価マーカーとされている。

機能性評価の実例

黒ウコン(*Kaempferia parviflora*)は、タイを中心に東南アジア諸国において、古くから長寿・強壯を謳う民間伝統薬として用いられてきました。その根茎の切口は濃い紫色で、アントシアニンなどのフラボノイド類を豊富に含みます。この黒ウコンの機能性について、代表的な生化学・培養細胞系のスクリーニング試験を行った結果を図一2に示しました。比較のために同じショウガ科の他のウコン類やショウガについても同時に評価を行いました。黒ウコンとクルクミン含量の高い秋ウコン(*Curcuma longa*)が、他のウコン類やショウガよりも全体的に強い効果を示しました。中でも黒ウコンは、抗アレルギー作用が特徴的で、その後の化学分析の結果、メトキシフラボノイド類が寄与成分として同定されました。



図一2 黒ウコンの50%エタノール及びヘキサン抽出液の機能性評価(平均+標準偏差)
 ・TPP及びORACは横棒が長いほど、その他は短いほど機能性が強いことを示す
 ・抽出条件ごとに統計処理(Tukey検定)を行い、共通の文字を持たない横棒は高度な有意差($p < 0.001$)があることを示す(C~F)。

おわりに

本来、様々な効能を持つ食品の生体調節機能を、一つ二つの評価系で結論付けるのは、食品の一面的な価値付けかもしれません。しかし実例に示したように、スクリーニング試験を行うことによって、機能性の特徴点のある程度は把握できること、さらにこれまで予想も出来なかった機能性が見出される可能性もあります。

弊財団では、生化学、培養細胞及び実験動物を用いる機能性評価の試験を行っております。詳細はお問い合わせください。

参考資料

- 1) 日本健康・栄養食品協会公開資料: <http://www.jhnfa.org/index.htm>
- 2) 渡邊昌日本語版監修: ハーブ&サプリメント, 産調出版(2007)
- 3) 今堀和友, 山川民夫監修: 生化学辞典 第3版, 東京化学同人(1998)
- 4) 荒井綜一他編集: 機能性食品の辞典, 朝倉書店(2007)