

食品中の抗酸化色素の化学と機能

名古屋大学農学部応用生物科学科

食品機能化学研究室 大澤俊彦

1 はじめに

天然抗酸化物質が注目されたのは、食品の酸化的劣化の防止に用いられてきた合成の t -ブチルヒドロキシトルエン (BHT) や t -ブチルヒドロキシアニソール (BHA) に対する安全性へ疑問がきっかけであった。もちろん、トコフェロールなどの天然抗酸化剤も長い歴史を持ち広く使用されてきたが、安全性や効果の点から新しいタイプの天然抗酸化物質の検索に多くの注目が集められてきた。しかしながら、われわれの研究室で特に注目してきたのは抗酸化物質による老年病の予防である。すなわち、近年、がんをはじめとする成人病は「生活習慣病」とすべきであると考えられてきているが、ライフスタイルや食習慣、特に、酸化ストレスとの関連に大きな注目が集められているというわけである。

2 抗酸化物質の役割

酸化ストレスにより過剰に生成される「活性酸素」に対して、生体内に存在する「抗酸化酵素」や「抗酸化物質」が酸化的障害を防御することが知られている。特に血漿中には、アスコルビン酸や尿酸、カルノシンなどの水溶性低分子抗酸化物や、 α -トコフェロールや β -カロチン、ユビキノールやビリルビン、エストラジオールなどの脂溶性低分子抗酸化物、結合タンパク質であるトランスフェリン、セルロプラスミン、アルブミンやフェチンと共に、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) やカタラーゼ、

グルタチオンペルオキシダーゼやグルタチオン-S-トランスフェラーゼなどの抗酸化防御酵素も生体内で過剰に生成される活性酸素の不活化に大きな役割を果たしている。しかしながら、過剰な酸化ストレスが生じると生体防御機構では対応できなくなるので、抗酸化物質の役割が重要となってくる。しかも、抗酸化物は治療を目的に薬物として摂取するよりもむしろ食品として摂取することで、あくまで予防という概念によるべきであろう。

われわれが日常口にする食品は、量的にはバラツキがあるもののほとんどすべての食品中に何らかの抗酸化成分が含まれており、しかも、その多くは植物由来である。例えば、油糧種子や穀類、植物のリーフワックスやハーブなど多種多様な植物素材があげられているが、特に注目されるのは、強い光に曝され、また厳しい酸素ストレスのもとで生育している植物に含まれている抗酸化色素である。すなわち、このような抗酸化色素が植物の酸化的障害からの保護に重要な役割を果たすと共に、そのような抗酸化成分を我々人間が摂取することにより老年病を予防し、老化制御への道を探ることができるのではないかと考えたわけである。

3 抗酸化色素の評価法

このような背景で、まず、われわれが必要性感じたのは、抗酸化色素の高感度で簡便な評価法の開発である。もちろん、今までに物理化学的な手法を中心に、多種多様な抗酸化性の評価法の開発が進められ、著者も、脂質過酸化分解物の代表として知られているマロンジアルデヒドを尿素と反応させることにより生じた2-ヒドロキシピリミジンを用いたHPLCを用いて定量するという分析法を報告しているが、この方法は、特に赤色色素の抗酸化性の測定という点で重宝されている。しかし、われわれが最近重点的に研究を進めているのが脂質酸化分解物に特異的な抗体を利用した免疫化学的な微量定量法の確立である。ここでは詳細は省略するが、われわれ

は特にリノール酸に着目して、過酸化初期生成物として生じた 13-ヒドロペルオキシド(13-HPODE)、さらにエポキシ体を経て酸化分解を引き起こし、最終的に生じたマロンジアルデヒド(MDA)や4-ヒドロキシノネナール(4-HNE)などのアルデヒドとタンパク質の反応物を化学的に合成してタンパク質との反応縮合物を合成し、ポリクローナル抗体やモノクローナル抗体を得ることに成功し、糖尿病との関連に注目されているカルキシルメチルリジン (CML) のポリクローナル抗体の作製にも成功し、悪玉コレステロールといわれる低密度リポタンパク質 (LDL) の酸化の際にCMLが生成することを見いだしている。このような抗体を用いる利点は、ELISA法を構築することができることであり、個体レベルや臨床レベルで食品による老化予防の可能性を評価する際に対象となる血液や尿中での酸化ストレスの程度をこれらの抗体を用いた免疫化学的な方法により誰もが簡単に短時間で微量で評価を行うことができる点である。また、最近、がんを始め老年病のマーカーとしてのDNAの酸化的傷害のマーカーとして注目を集めている8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) についてもモノクローナル抗体の作製に成功し、日本老化制御研究所と共同でこの抗体を利用したELISA法による微量分析キットの作製にも成功している。

4 植物種子中の抗酸化成分の機能性

子孫を絶やさず次世代に生命を残す植物種子は重要な素材である。なかでも、米種子、特に高温、かつ紫外線強度の高い熱帯地方に一般的な有色米は、酸化ストレスの強い環境下でも長期間の保存に耐えうるという特性を有している。すなわち、黒米や赤米の種子表面に存在する色素成分は高い保存・貯蔵性に大きな影響を及ぼしているとの考えから、まず、最初に抗酸化成分の単離・同定を試みたところ、種子表面に存在する抗酸化性色素はシアニジン-3-O-β-D-グルコサイドと同定することができた。

このような抗酸化色素は豆種子中にも存在しており、東海女子短大の津田講師を中心にプロジェクトを進め、抗酸化性のスクリーニングを行ったところ、特に注目されたのは、日本人にも馴染みの深いインゲン豆の有色タイプであり、また、グアーやタマリンドのような熱帯産の有色豆のメタノール抽出物にも強い抗酸化性が明らかにされた。そこでまず、有色インゲン豆中に含まれる抗酸化色素の単離・同定を進めた結果、シアニジン-3-O- β -D-グルコサイドを含む3種類のアントシアン色素が有色インゲン豆中の抗酸化性色素として存在することが明らかとなった。特に、主成分であるシアニジン-3-O- β -D-グルコサイドは、紫トウモロコシや紫キャベツをはじめプルーンなど日常の食生活にも一般的な有色野菜や果物に多く含まれている。

これらのアントシアンは色素としての安定性は酸性条件のみであり、いずれも中性、アルカリ条件下では脱色されてしまう。ところが、シアニジン-3-O- β -D-グルコサイドのもつ強力な抗酸化性は中性条件下、脱色してもほとんど変化なく、強い抗酸化性を保持することができるという興味ある結果を得ることができた。そこで、これらのアントシアン色素の抗酸化性発現のメカニズムについて興味をもたれたので、分子レベルにおける化学的な解析を行った。その結果、シアニジン-3-O- β -D-グルコサイドは、AMVNのようなラジカル発生剤との反応させるとフリーラジカルを捕捉するとともに中間体を経て、最終的にはプロトカテキュ酸に変換されるという経路を明らかにすることができた。このようにシアニジン-3-O- β -D-グルコサイド自身が抗酸化性を示すと共に代謝産物であるプロトカテキュ酸もまた抗酸化性を有するという2段階の防御機構を持つという興味ある結果が得られた。また、最近では、タマリンドに含まれる抗酸化性ポリフェノールについても化学的な研究を行っているが、老年病予防の可能性など機能性については検討を始めたばかりであり、特に個体レベルでの結果に興味を持たれている。このような穀類や豆類は、有色の野生種から長い間の交配・品種改良を進めた結果、自身の抗酸化的な防御機構は低下した

と推定されるので、もう一度野生種の持つ機能性に目を向ける必要がある。

一方、イネ科マコモ属でアメリカインディアンの伝統的な主食の穀類の一つである「ワイルドライス」は、日本では余り食習慣がないもののアメリカではミネソタ州やカリフォルニア州で広く栽培されている。このワイルドライス中の抗酸化物質である低分子性の各種ポリフェノール類の単離・同定を行い、現在、高分子性のポリフェノール区分の化学的な検索を行うとともに、さまざまな酸化ストレスに対する評価系を用いて機能性を検討中である。

5 黒ゴマ種子中の色素の機能性

われわれの研究室で最も長く焦点をあてて研究を進めてきたのは、ゴマ種子中の抗酸化物質である。今までに多くの著書や総説で紹介されているので詳細は省略するが、最近注目しているのは、黒ゴマ種子表皮に存在する色素である。黒ゴマ、白ゴマの表皮を水抽出し、抗酸化性の検討を行うと黒ゴマ表皮抽出物の方に強力な抗酸化性が見いだされた。また、黒ゴマと白ゴマを老化促進マウスに7ヶ月間投与した結果、黒ゴマ種子の方が老化評点を指標にした場合、より強い抑制傾向が見いだされた。現時点で、黒ゴマ種子表皮の色素の化学構造は明らかでなく、現在、静岡大学福田教授と共同で単離・構造解析を進めている。もちろん、白ゴマ種子にも強い抗酸化性が見いだされている。特に、われわれが興味を持ったのは、ゴマ油の持つ強力な酸化安定性である。詳細は省略するが、新規な脂溶性リグナン誘導体のセサミノールが見いだされ、ゴマサラダ油の精製過程で二次的に生成し、ゴマサラダ油中にもビタミンEの4-5倍という大量に存在していることを明らかにすることができた。最近、セサミノールがゴマサラダ油製造工程の副産物より効率的に回収できたので、生理活性をウサギ赤血球膜やラット肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 系で検討したところ強

力な抗酸化性を見いだすことができた。さらに、ヒトの培養細胞を用いた系でも脂質過酸化の誘導剤を加えて生じた過酸化障害に対してセサミノールが有効に抑えていた。また、セサミノールはヒト血漿中の低密度リポタンパク (LDL) の銅イオンにより誘導された過酸化を共役ジエンの生成を指標に検討した *in vitro* の実験でもビタミンEよりもはるかに強い効果を示していた。さらに、われわれの研究室で開発したマロンジアルデヒド (MDA) や 4-ヒドロキシノネナール (4-HNE) の抗体を利用した ELISA 法を用いた実験からもセサミノールは動脈硬化の予防効果に大きな期待がもたれている。また、8-OHdG 量を特異的で簡便に測定できるモノクローナル抗体を応用することとし、実際に動物レベルとしてラットを用いて酸化的障害に対するセサミノールの抑制効果を調べたところ、肝臓と血漿中で過酸化が有効に抑えられるとともに尿中の 8-OHdG 量が有意に減少したという興味ある結果を見いだしている。

ところが、抗酸化リグナン化合物はゴマ油に含まれているだけでなく、ゴマ種子中に水溶性のリグナン配糖体、特にセサミノール配糖体が大量に存在していることが明らかとなった。それらはリグナン配糖体と呼ばれ、食品成分として摂取したのち、特に、腸内細菌の持つ β -グルコシダーゼの作用でアグリコンが加水分解を受けてから腸管から吸収され、最終的には脂溶性であるセサミノールが血液を経て各種臓器中に至り、生体膜などの酸化的傷害を防御するという重要な役割ではないかと考えられている。セサミノールはゴマ油製造工程で2次的に生成するという経路と共に、ゴマ種子中の水溶性区分にセサミノール配糖体としても存在し、配糖体自身には抗酸化性はないものの、摂取後の腸内細菌の作用でもセサミノールが生成されるという興味ある結果を得ることができている。このようなセサミノール配糖体という新しい素材の実際の応用開発の可能性についてはスタートしたばかりであるが、2ヶ月間、ゴマ脱脂粕をラットに投与した後と同様の酸化的な傷害を与えても効果的な抑制効果が見いだされている。特に、臓器や血液中の過酸化の抑制とと共に尿中の 8-OHdG 量が有意に減

少していることは治療ではなく老年病の予防に大きな期待が向けられている。しかも、ゴマという素材のため安全性は問題ないと考えられ、今後の応用開発の研究の発展が期待されている。

6 ターメリック中の黄色色素、クルクミン誘導体の抗酸化性

香辛料中の抗酸化色素として最近特に注目しているのは、インド料理に欠かせないスパイス、ターメリックの黄色の色素成分の一つであるクルクミンの持つ機能性である。ターメリックは、漢方でも止血剤や健胃剤としては用いられ、また、インドの女性はターメリックを皮膚に塗る習慣がある。最近、アメリカで、このクルクミンに強力な発がんプロモーションの抑制作用が見出され大きな注目が集められたが、抗酸化性はあまり強くない。最近、このクルクミンも経口で摂取すると腸管の部分でテトラヒドロタイプのクルクミン類縁体に変換されることが明らかとなった。このテトラヒドロクルクミンは無色、無臭であり、また、クルクミンよりも強力な抗酸化性を示しているために、特に生体系での応用・開発の可能性は非常に高い化合物であると期待される。この変換は、培養細胞でも起こりうる。ことが静岡県立大学のグループとの共同研究により明らかにされた。すなわち、チャイニーズハムスターの繊維芽細胞 V79 細胞や大腸がん細胞 Caco-2 などを用いても同様にクルクミンの還元反応が起こるという興味ある結果であった。クルクミンについては、すでに皮膚がんの抑制と共にアズキシメタンで誘導された大腸がんに対しても強い抑制作用を持つことが明らかにされているが、最近、国立がんセンターのグループとの共同研究の結果、テトラヒドロクルクミンの方が 1,2-ジメチルヒドラジンにより誘導されたマウス大腸がんをクルクミンよりも強く抑制することが明らかにされている。

このように摂取された食品成分はまず唾液の作用を受け、消化器官系を経て行く過程で様々な酵素作用を受け、さらに腸内では腸内細菌の作用を

受けながら消化吸収されていくわけであるが、食品は様々な成分の複合系であるために、代謝の研究はビタミンEを除いてほとんど研究例がなかった。また、このような「がん予防」成分の効果は科学的な立場で客観的に評価される必要がある。

7 嗜好品中の抗酸化色素

最近、虫菌の予防や腸内細菌の改善など多くの機能が報告され、また、がん予防にも期待され実際の商品としても開発されているのが緑茶中の抗酸化成分である。主成分の緑茶カテキン類の生理機能としては、抗酸化性が最もよく知られ、その他にもコレステロール上昇抑制作用や血糖上昇抑制作用、さらには動物実験で、皮膚、食道、十二指腸、肺、肝臓、大腸などの発がん促進過程を抑制することが報告されている。また、最近では、埼玉がんセンターや京都府立医科大学のグループによるヒトを対象とした介入試験も始まっており、多くの注目を集めている。このような背景のなかで、われわれが着目したのは発酵茶として世界中で広く飲まれている紅茶の機能性についてである。1991年にニューヨークでアメリカの茶業連組合主催のシンポジウムが開催され、筆者も招かれて出席し、従来余り研究が行われていなかった紅茶の生理活性や薬理活性を国際共同研究で推進しようということになった。われわれは紅茶中の赤色色素であるテアフラビン類の生理機能に特に注目し、類縁体の中で没食子酸を2分子持つテアフラビンジガレートが高い抗酸化性と共に関性酸素により誘導された変異原性に対する抑制効果、さらにDNAの酸化的傷害に対する抑制効果などを見いだすことができた。また、つい最近では、ラトガス大学がん研究所のグループは緑茶や紅茶を経口で与えても紫外線によって誘発される皮膚がんを抑制するという興味深い結果を報告しておりラトガス大学がん研究所のグループは緑茶や紅茶を経口で与えても紫外線によって誘発される皮膚がんを抑制するという興味深い結果を報告しており、臨床的なデータ

も含めて老年病に対する今後の研究の発展に期待したい。一方、同じ嗜好品であるココアに最近多くの注目が集められている。昨年、チョコレート・ココア協会主催の国際シンポジウムが開催され、その際に、カカオ豆中のポリフェノールによる免疫力賦活活性や抗う食効果などの報告と共に、われわれは、ポリフェノールの持つ抗酸化効果の発表を行った。これらは、明治製菓のグループと共同で研究を進めてきた結果であるが、試験管レベルにおける抗酸化効果の発現メカニズムと共に、個体レベルではアルコール性胃粘膜障害に対する予防作用をはじめビタミンE欠乏時の酸化ストレスに対する予防作用などについて紹介した。その後、「ココアと健康」がテレビをはじめマスコミに取り上げられ、いささか過熱気味となったことはご存じの通りである。われわれは、このような状況には問題を感じつつ、やはりカカオ豆の持つ機能性をさらに科学的に証明すべきであるとの考えをもち、第2回国際チョコレート・ココア国際シンポジウムを開催し、われわれは今回のシンポジウムでは、個体レベルも含めた種々の実験から「がんの予防」の可能性に焦点をあて、ポリフェノール類の構造－活性の相関性や変異原性抑制効果など興味ある結果について、低分子性のポリフェノールのみならず高分子性のポリフェノールの化学的解析と生理機能に関する研究の結果を紹介している。

8 抗酸化物質による老化制御の可能性

抗酸化物による老化制御の可能性を探るうえで、分子レベルでの解明や活性－構造の相関性に関する研究は今までほとんどない。また、老化抑制は薬による治療的なアプローチよりも長い食生活の過程で予防的に抑制するものであるが、食品レベルでの老年病の予防、さらには、老化制御の可能性を持つ食品成分の研究も始まったばかりである。今後、臨床的にも応用しうる抗酸化食品の分子設計を行うにあたって、あくまで「食品」と

しての範囲のなかでデザインされるべきである。植物自身の抗酸化的な防御機構に着目して得られた抗酸化色素を抽出・精製して医薬的な用いることを目的とするのではなく、食品の形態を保ちつつ計画的に機能性を強化された抗酸化色素を含む新しい概念の食品を摂取することで、毎日の食生活のなかで日常起こりうる酸化的な傷害からわれわれの体を保護し、がんをはじめ動脈硬化や本態性高血圧、パーキンソン病やアルツハイマー型痴呆、アミロイド沈着や免疫不全など、老化が原因と考えられる老年病に対する予防的な効果を日常摂取する抗酸化食品中に見だし、健全な生活を楽しみつつ寿命を全うできることが夢である。

参考文献

- 1) 大澤俊彦、食品中の抗酸化物質、臨床栄養、89(5), 567 (1996)
- 2) 大澤俊彦、酸化ストレスの抑制と食品、Jp.J.Dairy and Food Science, 45, 27 (1996)
- 3) 大澤俊彦、チョコレート・ココアに含まれるポリフェノール類の抗酸化作用について、食の科学、216, 15 (1996)
- 4) 大澤俊彦、ゴマ種子に含まれる配糖体の研究、食の科学、218, 26 (1996)
- 5) 大澤俊彦、食品抗酸化成分の最新の生体系評価法の開発、フードケミカル、11,19 (1995)
- 6) 大澤俊彦、「デザイナーフーズ」開発の現状と動向、日本食品工業学会誌、42(9), 728 (1995)
- 7) 津田孝範、豆類に含まれる抗酸化成分とその利用、Foods & Food Ingredients Journal of Japan, 163, 30 (1995)
- 8) 大澤俊彦、 β -ジケトン類のがん予防、Therapeutic Res., 85, Life Science Pub. (1995)
- 9) 大澤俊彦監修、がん予防食品の開発、シーエムシー (1995)