

— 日本食品科学工学会 第 58 回大会 —
黒大豆ポリフェノールの新研究成果を発表

1. ヒトに対する脂質代謝改善作用を確認
2. 肥満抑制のメカニズムを解明
3. 肝機能改善作用を確認
4. 黒大豆ポリフェノールの化学構造を決定

黒大豆の種皮に含まれるポリフェノールは、さまざまな健康効果が期待されています。当社ではこれまでに、動物実験によって黒大豆ポリフェノールの内臓脂肪蓄積抑制作用を明らかにするなど、特にメタボリックシンドロームの改善が期待できる研究成果を報告してきました。今回の学会では以下の 4 件について発表を行います。

- ◆黒大豆ポリフェノールのヒトに対する投与試験を実施し、動物だけでなくヒト（軽度肥満中高年男性）に対しても肥満抑制や脂質代謝改善作用を有することを初めて明らかにしました。
- ◆また、黒大豆ポリフェノールは、脂肪組織において、熱産生によるエネルギー消費の促進や、炎症性サイトカインの抑制を介する糖代謝の改善によって肥満を軽減させている可能性があることを、神戸大学と中部大学との共同研究により明らかにしました。
- ◆さらに、黒大豆ポリフェノールの肝機能改善作用について検討したところ、肝細胞障害抑制作用が認められ、ヒト投与試験でもアルコール代謝改善作用のあることが示唆されました。
- ◆黒大豆ポリフェノールには複数の成分が含まれますが、主要成分であるプロアントシアニジンの化学構造は未だ明らかになっていませんでした。今回、各種分析手法を用いて、黒大豆種皮のプロアントシアニジンの化学構造を明らかにしました。

以上の研究成果について、2011年9月9日（金）～11日（日）、東北大学で開催される日本食品科学工学会 第 58 回大会において発表いたします。

■ 発表の概要

1. 黒大豆ポリフェノールのヒトにおける脂質代謝改善作用

40歳～65歳の軽度肥満者40名を被験者として、各10名ずつを黒大豆ポリフェノール摂取群（低用量、中用量、高用量）とプラセボ群の4群に分け、8週間の摂取試験を行いました。その結果、黒大豆ポリフェノールを摂取することで、血中中性脂肪の抑制、HDL（善玉）コレステロールの上昇が認められ、さらに腹囲とヒップ径の減少、体重増加抑制作用が確認されました（図1）。これらのことから、黒大豆ポリフェノールのヒトに対する有効性（肥満抑制や脂質代謝改善作用）が確認されました。

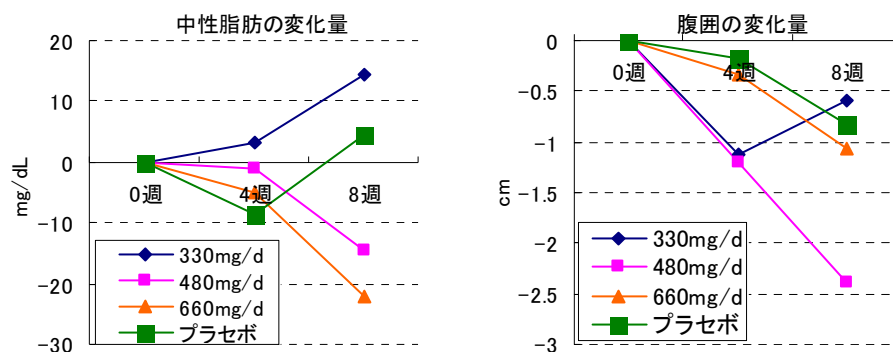


図1.血中中性脂肪（左）と腹囲（右）の変化量

2. 黒大豆ポリフェノールの肥満抑制作用とそのメカニズム

高脂肪食を与えたマウスの試験により、黒大豆ポリフェノールは、体重増加および脂肪蓄積を抑制し、血糖値およびインスリン濃度を低下させました。さらに、このとき脂肪組織におけるUCP（熱産生によりエネルギー消費を促進するたんぱく質）の発現が増加し、一方で、炎症性サイトカインの発現は抑制されました。このことから、脂肪組織における熱産生の増強により脂肪の蓄積を抑え、一方で炎症性サイトカインを抑制することで、インスリン抵抗性と糖代謝異常の改善を促す可能性が示唆されました。これらのメカニズムによって、黒大豆ポリフェノールの摂取が肥満の抑制につながると考えられます。

3. 黒大豆ポリフェノールの肝機能改善作用

ラット肝細胞を黒大豆ポリフェノールとエタノールを含む培地で培養し、アルコールに対する黒大豆ポリフェノールの影響を調べました。その結果、黒大豆ポリフェノールの添加によって肝細胞障害が著しく抑制され、さらにアルコール分解酵素や、アセトアルデヒド（二日酔いの原因物質）を分解する酵素の遺伝子発現を促進することがわかりました。また、ヒトへの投与試験では黒大豆ポリフェノール摂取によって飲酒後の血中エタノール（アルコール）濃度が低下しました。以上のことから、黒大豆ポリフェノールは肝機能改善作用、特にアルコール代謝改善作用を有することが示唆されました。

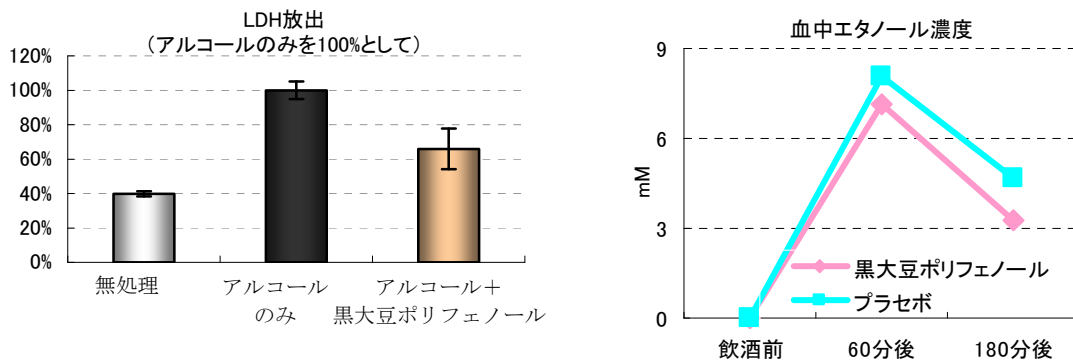


図 3.肝細胞障害抑制作用（左）とヒトの飲酒後血中エタノール濃度の変化

※LDH…細胞が障害を受けた際に内部から放出される酵素

4. 黒大豆ポリフェノールの化学構造

黒大豆ポリフェノールの成分のひとつとして、プロアントシアニジンが知られていますが、その構造は多様であり、黒大豆のプロアントシアニジンがどのような構造であるかは未だ明らかになっていませんでした。そこで、黒大豆ポリフェノールを各種クロマトグラフィーにより分離・精製し、thiolysis 分析、NMR 等の手法を用いて黒大豆のプロアントシアニジンの化学構造を決定しました（図 2）。

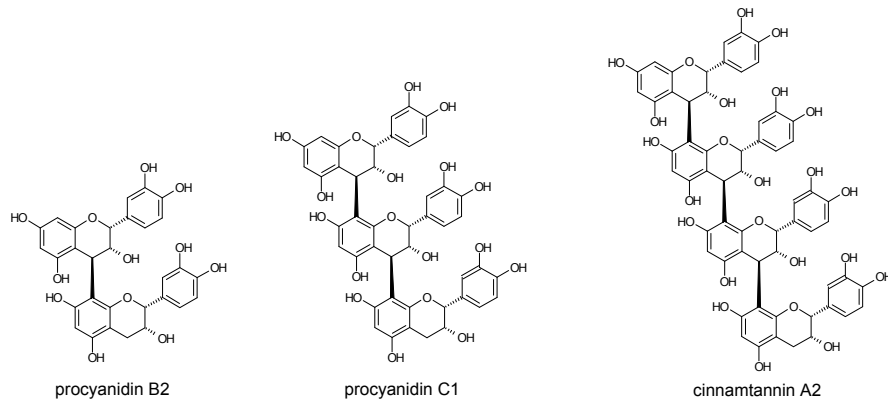


図 2.黒大豆プロアントシアニジンの化学構造

■ 発表学会情報

【大会名】 日本食品科学工学会 第58回大会

【会期】 2011年9月9日(金)～11日(日)

【一般講演会場】 東北大学 川内北キャンパス (宮城県仙台市青葉区川内4-1)

【発表日時】

1. 黒大豆種皮ポリフェノールの軽度肥満中高年男性における脂質代謝改善効果の検討
(フジッコ)
9月11日(日) 13時14分、C会場 川内北キャンパス B棟 B102
2. 黒大豆種皮抽出物の肥満およびインスリン抵抗性抑制効果とその作用機構解明
(神戸大、中部大、フジッコ)
9月11日(日) 13時14分、E会場 川内北キャンパス B棟 B104
3. 黒大豆ポリフェノールの肝機能改善作用
(フジッコ)
9月11日(日) 13時00分、C会場 川内北キャンパス B棟 B102
4. 黒大豆種皮プロアントシアニジンの化学構造と組成の解析
(フジッコ)
9月11日(日) 10時52分、A会場 川内北キャンパス A棟 A200

お問い合わせ先

担当者:開発本部 研究開発室 係長 吉田 正

TEL:078-303-5385 FAX:078-303-5946

責任者:開発本部 研究開発室 室長 戸田 登志也

TEL:078-303-5385 FAX:078-303-5946

ホームページアドレス: <http://www.fujicco.co.jp>

※ フジッコ(株)は『黒大豆の機能性研究会』(<http://www.kurodaizu-lab.jp>)に協賛しています。

■ 参考資料（講演要旨抜粋）

1. 黒大豆種皮ポリフェノールの軽度肥満中高年男性における脂質代謝改善効果の検討

（フジッコ株）

【目的】黒大豆は古くから生薬としてさまざまに利用されてきた。近年においても、黒大豆摂取による血流促進、高血圧抑制、高血糖低下、体脂肪低下等の効能が臨床において報告されている。また、これらの効能は、黄大豆には含まれず黒大豆の種皮のみに豊富に含まれる各種ポリフェノール類の作用によることが動物試験により解明されつつある。本研究では、黒大豆種皮ポリフェノールのヒトでの有用性を検証するため軽度肥満の中高年男性を被験者とした摂取試験を行った。

【方法】試験デザインは二重盲検並行群間比較試験とした。被験者は年齢40以上65歳未満、BMI25.0以上、腹囲85.0cm以上、空腹時血糖100-127mg/dlの男性被験者40名とし各10人4群に分け、プラセボ摂取群及び黒大豆抽出物摂取の3群（各330、480、660mg/日）へ割付けた。被験者には各試験食を8週間連続で摂取させ、摂取後0、4及び8週目に各種検査を実施した。被験者には試験期間中は普段通りの生活を維持するように指導し、食事内容を記録させた。尚、本試験は実施医療機関の審査委員会での承認を得た上で、「ヘルシンキ宣言」の精神に則り、被験者への十分な説明と文章による合意を得て実施した。

【結果】8週間の試験期間中において、試験食の摂取が原因となる有害事象は全く見られず、各種検査項目においても臨床的に問題となる変動はなかった。理学的検査項目では、季節的要因と思われる体重増加がプラセボ群にのみ見られたのに対し、試験食摂取群では増加が抑えられ、特に高用量(660mg/日)群ではプラセボ群との間に有意差が確認された。腹囲においては、中用量(480mg/日)群で摂取前と比較して有意な減少、他の摂取群では減少傾向が見られた。血液生化学的検査項目では、摂取前と比較した高用量群での血清トリグリセリド低下や、中及び高用量摂取群でのHDLコレステロール上昇が確認された。以上の結果より、黒大豆種皮抽出物はヒトにおいても肥満抑制や脂質代謝改善作用を有することが示唆された。

2. 黒大豆種皮抽出物の肥満およびインスリン抵抗性抑制効果とその作用機構説明

（神戸大学、中部大学、フジッコ株）

【目的】黒大豆種皮抽出物(BE)は、ポリフェノールを豊富に含む食品素材である。BEは、シアニジン-3-グルコシドを9.2%、カテキンを6.2%、その重合体であるプロシアニジンを39.7%含んでおり、その総ポリフェノール量は68.7%である。本研究では、このBEを用い、高脂肪食摂取によって惹起される肥満に対する予防効果とその作用機構について検討した。

【方法】C57BL/6 雄性マウス(4週齢)を1週間の予備飼育後に、対照食群(AIN93M)と高脂肪食群(30%ラード含有)に分け、各々にBEを0、0.2、あるいは2%添加し、14週間自由摂取させた。飼育終了時には脂肪組織重量、血漿中グルコースならびにインスリン濃度を測定した。また、脂肪組織における脂質代謝関連因子と炎症性アディポサイトカインの遺伝子発現量の変動を検討した。

【結果】BEは、高脂肪食摂取による体重増加および白色脂肪の蓄積を有意に抑制した。さらに、BEは脂肪組織での熱産生やエネルギー代謝活性に関わる遺伝子であるUCPファミリーの発現を上昇させた。特に、高脂肪食摂取群において、BEは褐色脂肪組織のUCP-1および白色脂肪組織のUCP-2の遺伝子発現を有意に増加させ、タンパク質レベルでも増加傾向が認められた。肥満は軽度の炎症状態であることが知られているが、BEは脂肪細胞から分泌される炎症性アディポサイトカインであるTNF- α 、IL-6ならびにMCP-1の遺伝子発現を減少させた。さらに、BEは食欲とエネルギー代謝の制御に関わるレプチンの血中濃度の減少、血漿中の中性脂肪や総コレステロール、血糖値ならびにインスリン値の低下をもたらした。これらのことから、BEは脂肪組織での熱産生を増強させることにより脂肪蓄積を減らし、その結果として炎症性サイトカイン産生の抑制を介してインスリン抵抗性と糖代謝異常の改善を促すことで肥満を軽減させると考えた。

3. 黒大豆ポリフェノールの肝機能改善作用

(フジッコ株)

【目的】黒大豆は古来より様々な効能を持つことが知られているが、それらのほとんどは科学的なデータに裏付けられたものではない。また、黒大豆には低重合プロアントシアニジン (PA) などのポリフェノールが多く含まれ、これらの成分が様々な生理活性の本体であることがわかりつつある。そこで本研究では、黒大豆ポリフェノールの、解毒をはじめとする肝機能改善作用 (漢方書における解毒、養血平肝作用)、特にアルコール代謝に対する影響を調べることを目的とした。

【方法】ラットの肝細胞を、黒大豆種皮より単離したPA、エピカテキン (EC)、シアニジン3 グルコシド (C3G) を添加したエタノール含有培地で培養した。培養後、リアルタイムPCRによってアルコール代謝関連遺伝子の発現量を測定した。また、健康人4名を対象に、黒大豆種皮抽出物またはプラセボを摂取した場合の、飲酒後の血中エタノールとアセトアルデヒド濃度を経時的に測定した。

【結果】PAを添加することで、アルコール脱水素酵素およびアルデヒド脱水素酵素の mRNA は有意に高い発現量を示した。一方、ECおよびC3Gを添加した群ではこれらの mRNA の発現量に変化が認められなかった。また、ヒトへの投与試験においては、黒大豆種皮抽出物を摂取した場合に、飲酒後3時間の血中エタノール濃度がプラセボの場合と比較して有意な低値を示した。血中アセトアルデヒドについては個人差が大きく、統計的な有意差はなかったが、黒大豆種皮抽出物を摂取した群では低値を示す傾向にあった。これらのことから、黒大豆のPAは肝機能改善作用、特にアルコール代謝改善作用を有することが明らかとなった。

4. 黒大豆種皮プロアントシアニジンの化学構造と組成の解析

(フジッコ株)

【目的】黒大豆は古くから「黒豆衣 (こくずい)」と呼ばれる生薬として知られ、その薬効は種皮中の成分に由来すると考えられている。その1つとして、プロアントシアニジン (PA) があるが、PAはカテキン類を構成単位とした重合体の総称で、構成単位、重合度、結合様式によってその構造は様々であり、黒大豆種皮PAがどのような構造、組成であるかは未だ明らかとなっていない。そこで、我々は黒大豆種皮PAの化学構造と組成の解析を進め¹⁾、その特徴を明らかにしたので報告する。

【方法】国産4品種、中国産在来種1種の総フラバノール量をバニリン塩酸法により測定した。さらに、Sephadex LH-20を用いて単量体、低重合PA、高重合PAの3つに分画し、その比率を求めた。単量体及び低重合PA画分を各種クロマトグラフィーにより分離・精製し、単離したPAの化学構造をthiolysis分析、NMR等により同定した。さらに、単離したPAの含有量をHPLCによって測定した。

【結果】黒大豆100g中の総フラバノール量は、127.7~306.8mgであった。いずれの品種も低重合PAの割合が最も高く、その比率は平均で単量体11.2%、低重合PA65.9%、高重合PA22.9%であった。低重合PAの比率は、ブドウやリンゴなど他の植物由来のPAと比べても高かった。単量体画分からはエピカテキン、低重合PA画分からは2~4量体として計8化合物を単離した。単離したPAは全て、エピカテキンのみを構成単位とするB型PAであり、2,3,4量体の主成分はそれぞれprocyanidin B2 (I), procyanidin C1 (II), cinnamtannin A2 (III)であった。化合物 I ~ IIIは黒大豆100g中に (I) 3.6~8.0mg、(II) 8.2~14.8mg、(III) 4.2~9.5mg含まれていた。

1) 日本農芸化学会2011年度大会講演要旨集P65