

## ■研究概要

### ①. プチヴェールのカルシウム吸収性 —カゴメ、兵庫県立大学との共同研究—

#### 共同研究者 兵庫県立大学 渡邊敏明教授のコメント

本評価で使用した腸管ループ二重結紮法は、腸管におけるカルシウムの吸収率を調べることができます。これまで、カルシウムをたくさん含む食品としては牛乳がよく知られています。今回の動物試験では、十二指腸を用いて、プチヴェールを原料として作った青汁と牛乳を比較した結果、カルシウムの吸収率が優れていることが明らかになりました。このように、プチヴェールでは牛乳以上にカルシウムを摂取できることが示され、カルシウム不足の改善や骨粗鬆症の予防に、新たな「カルシウム食品」として期待できます。

**内容:** カルシウムが不足すると骨粗鬆症などの骨疾病になる可能性が増す原因となります。カルシウム摂取源としては牛乳や乳製品、小魚がよく知られています。2000年に厚生労働省が“国民の健康増進”を目的として策定した「健康日本21」の中では、カルシウム摂取量を増やすために牛乳・乳製品130g、そして、緑黄色野菜120g以上、豆類100gの目標摂取量が定められ、カルシウムの摂取源として野菜摂取を推奨しています。葉野菜にはカルシウムが多く含まれていますが、色々な理由により、カルシウムの吸収率は低いと考えられています。これまでのカゴメの研究で、シュウ酸が少ないプチヴェールのカルシウム吸収率は、牛乳より高いことが明らかになっています。今回は、より生体に近い状態で評価をするため、同等量のカルシウムを含むプチヴェール搾汁液と牛乳を、人工的に消化し、十二指腸を用いた腸管ループ二重結紮法により、カルシウムの吸収率を調べました。

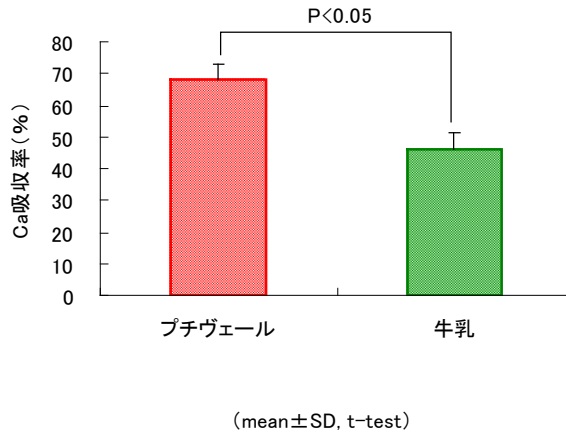


図1. プチヴェールと牛乳のカルシウム吸収率

**結果(図1):** 同等量のカルシウムを含むプチヴェール搾汁液と牛乳を人工的に消化し、ラットの十二指腸に注入しました。一定時間たった後に腸管から回収したサンプルのカルシウム量と、注入する前のサンプルのカルシウム量から、吸収率を調べました。十二指腸において、プチヴェール搾汁液は、牛乳よりも高いカルシウム吸収率を示しました。**プチヴェールは牛乳よりも、カルシウムの吸収が優れている可能性があります。**

## ②. プチヴェール摂取によるリステリア菌の感染抵抗性向上作用 —カゴメ、九州共立大学との共同研究—

### 共同研究者 九州共立大学 富田純史教授のコメント

カロテノイドを多く含むプチヴェールの生体防御機構、特に感染抵抗性に与える影響について検討を行い、予備的ではあるが、プチヴェール投与による感染抵抗性の亢進が示唆された。プチヴェールが、免疫力の低い乳幼児や高齢者などに適した野菜である可能性があるため、今後は、免疫機能に関わるバイオマーカーや有効成分について詳細な検討を行う予定である。

**内容:** 乳幼児や高齢者を始め、成人でも免疫力が低下すると、ウイルスや、細菌に感染しやすくなってしまいます。抗酸化作用を有するカロテノイドには、免疫指標を亢進する報告があることから、β-カロテンやルテインを多く含む緑野菜プチヴェールを摂取することで、感染抵抗性が高まると考えました。今回、プチヴェール搾汁液をマウスに一定期間、経口投与し、リステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) を尾静脈より接種しました。そして接種後の生存率を調べました。

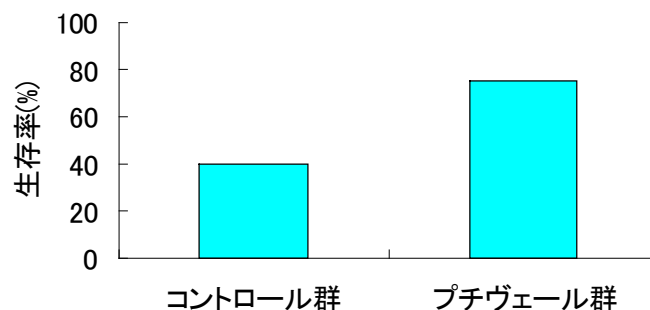


図2. プチヴェール投与による生存率の変化

**結果(図2):** プチヴェール搾汁液を BALB/c マウスに7日間、経口投与し、リステリア菌を尾静脈から接種しました。生存率を求めたところ対照群は40.2%、プチヴェール投与群は75.0%であり、プチヴェール投与群に延命効果が認められました。なお、今回の生存率は、接種後10日間生存する確率を示しています。**プチヴェールの摂取により、リステリア菌の感染抵抗性が高まり、生存率が上昇した可能性があります。**

### ③. プチヴェールの神経成長因子 (NGF) 産生促進作用 (細胞レベルの研究)

—カゴメ、岐阜大学との共同研究—

#### 共同研究者 岐阜大学 矢部富雄先生のコメント

神経成長因子 (NGF) とは、神経細胞の分化・成長活性を示すペプチドであり、神経細胞の生存維持に関与していることがわかっている。今回、細胞を用いた実験により、プチヴェールの水溶性画分に有意な NGF 産生促進作用が認められた。この作用はケール、キャベツ、ホウレンソウなどのその他の野菜よりも強かったことから、プチヴェール特有の機能性であることも考えられる。

今後は、有効成分を特定すると共に、食品としてプチヴェールを摂取した場合にも、このような作用が期待できるのかを明らかにしていきたい。

**内容:** 健康に長寿を全うするために、「脳」は体と心の健康を維持するために重要な役割を担っているといえます。脳機能は、脳内の神経伝達物質によって制御されますが、これらは、加齢やストレス、食品中の成分などによって影響を受けていることがわかってきました。我々は、野菜中にも、脳機能に関わる因子に影響を与える成分があると考え、研究を続けてまいりました。

今回、神経成長因子 (NGF) を産生することが知られているマウス線維芽細胞 (L-M 細胞) にプチヴェール、ケール、キャベツ、ホウレンソウ濃縮液の冷水抽出画分を投与し、ウエスタンブロット法にて NGF 分泌量の変化を検討しました。なお NGF は  $\beta$  サブユニットだけでも活性を示すため、今回は、 $\beta$ -NGF 抗体を使用し、ウエスタンブロット法を行ないました。

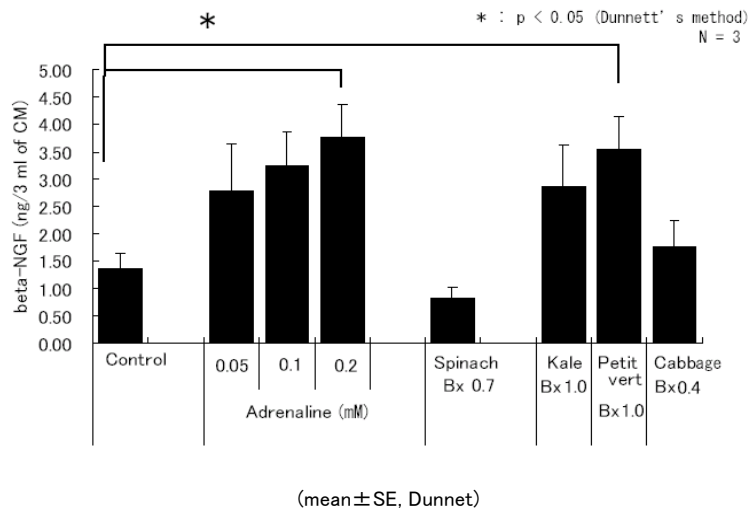


図3. NGF 産生量

**結果(図3):** マウス線維芽細胞 (L-M 細胞) にプチヴェール、ケール、キャベツ、ホウレンソウ濃縮液の冷水抽出画分を投与し、ウエスタンブロット法にて NGF 産生量の変化を検討しました。その結果、プチヴェール濃縮液の冷水抽出画分は、ポジティブコントロールであるアドレナリン 0.2mM に匹敵する NGF 産生促進作用を示しました。一方、ケールはやや弱い NGF 産生促進作用を示したものの、キャベツ、ホウレンソウは促進作用を示しませんでした。プチヴェール中の成分が、神経成長因子 (NGF) 産生を高める可能性があります。

#### ④. プチヴェールのストレス軽減作用 —カゴメ総合研究所の研究—

**内容:** 現代社会にはストレスとなる要因が多く存在するため、日頃の生活において、私たちはストレスとうまく付き合っていかなければなりません。しかし継続的なストレスは、こころと体の健康に影響し、例えば胃潰瘍などの原因の一つになると言われています。プチヴェールには、β-カロテンやルテインなどの抗酸化作用を有するカロテノイドや、胃潰瘍予防が報告されているビタミン U が多く含まれているため、ストレス軽減作用が期待できると考えました。今回、胃潰瘍予防作用を検討するため、8～9週齢の雄性 Wistar ラットにプチヴェール搾汁液を1週間自由摂取させた後、21℃の水中に7時間拘束し、その後、胃障害面積を測定しました。

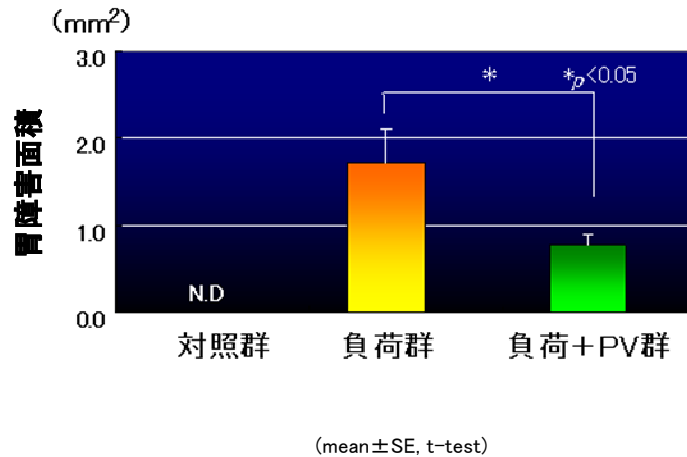


図4. ストレス負荷後の胃障害面積

**結果(図4):** プチヴェール搾汁液を1週間自由摂取させ、その後にストレスを負荷した後の胃障害面積を示しています。プチヴェールを摂取した群では、プチヴェールを摂取していないストレス負荷群と比較して、胃障害面積が有意な低値を示しました。継続的なプチヴェールの摂取が、ストレスを軽減する可能性があります。

## ■用語の説明

### プチヴェール(Petit vert)

ケールと芽キャベツの交配によって作出された、青汁原料などに用いられるアブラナ科植物。緑黄色野菜の葉野菜の中で、β-カロテンやルテインなどのカロテノイド、葉酸、カルシウムなどが多く含まれている。

### カルシウム

骨や歯の形成に必要なミネラル。不足すると骨粗鬆症などの骨疾病の一因となることから、日本人の食事摂取基準(2005年版)では、生活習慣病の一次予防のために目標とすべき摂取量として、目標量を設定している。

### 腸管ループ二重結紮法によるカルシウム吸収率の求め方

腸の一部の両端を縛り、その中にサンプルを注入する。注入する前のカルシウム量と、注入してから一定時間経った後に腸管から回収したカルシウム量を測定し、以下の式からカルシウムの吸収率を求める。

(式)

$$\frac{\text{注入する前のカルシウム量} - \text{腸管から回収したサンプル中のカルシウム量}}{\text{注入する前のカルシウム量}} \times 100(\%)$$

### 骨粗鬆症

骨密度が低下して骨がもろくなり、骨折しやすくなる疾病。骨粗鬆症は、その発症要因から様々な種類があるが、最も多いのが閉経後骨粗鬆症で、65歳以上の女性では、2人に1人が骨粗鬆症であるといわれている。

### シュウ酸

野菜のアクのもとになる物質で、カルシウムや鉄と結合して吸収を妨げる。一般的にシュウ酸含量の多い野菜は、カルシウムの吸収率が低いといわれている。

### リステリア菌(Listeria monocytogenes)

グラム陽性を示し、鞭毛を持つ無芽胞の短桿菌。自然界に広く分布しており、特に諸外国では感染による食中毒が報告されている。免疫力が低い乳幼児や高齢者、妊婦では重症になることもある。

### カロテノイド

主に植物に存在する、赤・橙・黄色の色素で、カロテノイドのうちβ-カロテンなどは体内でビタミンAに変換される。トマトにはリコピン(赤色)、ニンジンにはβ-カロテン(橙色)、赤ピーマンにはカプサンチン(赤色)が特徴的に含まれる。最近では、抗酸化作用による疾病予防作用が注目されている。

### 神経成長因子

NGF(nerve growth factor)と呼ばれる。神経細胞の分化・成長活性を示す重要なペプチドであり、神経細胞の生存維持に関与している。ペプチドであることから、そのままでは血液・脳関門を通過できないため、脳内でNGFの産生を高めるような物質の研究が積極的に進められている。

### 線維芽細胞

皮膚の真皮内に存在し、コラーゲンやエラスチンなどを産生する細胞。皮膚などの組織から単離され、培養によって継代されている細胞を実験では用いている。今回用いたマウス線維芽細胞の1種であるL-M細胞は、NGFを産生することが知られている。

### ウエスタンブロット法

サンプル中に多量存在するタンパク質の中から、特定のタンパク質(本研究ではβ-NGF)を検出する方法。ゲルを用いた電気泳動によってタンパク質をサイズ毎に分離した後、メンブレン(膜)にタンパク質を転写し、目的のタンパク質とのみに結合する抗体を用いて、発色により検出する。

## **ビタミンU**

胃潰瘍を予防・改善するアミノ酸として、キャベツやアスパラガスから単離され、胃腸薬の成分の一つとしても用いられている。今回用いたプチヴェール搾汁液には、ビタミンUが100gあたり1.7mg含まれていた。

## **胃潰瘍**

消化性潰瘍の一種で、多くの因子が関係する疾患といわれている。ピロリ菌感染により発症することが知られているが、今回の試験のように、過度なストレスによって突発的に潰瘍を形成することもある。

## 2007 年度 日本農芸化学会 発表要旨

### プチヴェール(アブラナ科)と牛乳のカルシウム吸収率の比較

○山根理学 1, 稲熊隆博 1, 大串美沙 2, 榎原周平 2, 渡邊敏明 2

1 カゴメ総研, 2 兵庫県立大・環境人間

一般的に、コマツナ、モロヘイヤといったカルシウムが豊富な野菜には、カルシウムの吸収を阻害するシュウ酸が多く含まれているため、牛乳や小魚と比較してカルシウムの吸収率が低いと考えられている。しかしながら、ケールと芽キャベツの交配種であるプチヴェールは、カルシウム含量が多く、シュウ酸含量が少ないことから、カルシウムの摂取源として期待できる。そこで、腸管ループ二重結紮法を用いて、プチヴェール搾汁液及び代表的なカルシウムの摂取源である牛乳の人工消化処理物のカルシウム吸収率を比較した。

その結果、プチヴェール搾汁液及び牛乳のカルシウム吸収率はそれぞれ 66%、46%となり、プチヴェール搾汁液のカルシウム吸収率は牛乳と比較して有意に高かった。以上のことから、プチヴェールのカルシウム吸収率は牛乳より優れていることが示唆された。

### プチヴェールの感染抵抗性に与える影響

○富田 純史 1、内藤 正之 1、豊川 徹 1、西尾恵里子 1、古賀 克己 1、竹中 裕行 1、

小泉 一愉 2、稲熊 隆博 2

1 九州共立大学・院、2 カゴメ総研

これまで我々はカロテノイドの生理作用や機能性について、実験的、疫学的な様々な角度から検討を行ってきた。今回、カロテノイドを多く含むプチヴェールの生体防御機構、特に感染抵抗性に与える影響について検討を行い、予備的ではあるが興味深い結果が得られたので報告する。

実験系として、プチヴェール搾汁液(カゴメ株)をマウスに一定期間、経口的に投与し、*Listeria monocytogenes* を経静脈的に接種した。接種後の脾臓と血中の生菌数、並びに延命効果を調べた。接種後 3 日目に脾臓中菌数はほぼピークとなり以後低下した。異なる系統の BALB/c マウスもしくは ddY マウスにプチヴェールを 1 週間投与して菌を接種した場合、水を与えた対照群と比較して接種後 3 日目の生菌数に低下傾向が見られた。生存率を求めたところ対照群、プチヴェール投与群で生存率がそれぞれ 40%、70%であり、さらにプチヴェールを菌接種前の異なる時点で短期間投与したところいずれも 60~70%の値が得られた。

以上の結果からプチヴェール投与による感染抵抗性の亢進が示唆された。

## 線維芽細胞を用いたプチヴェール(アブラナ科)の食品機能性評価

○青木紀子 1, 矢部富雄 1, 加藤宏治 1, 小泉一愉 2, 稲熊隆博 2

1 岐阜大・院・農・生資利, 2カゴメ総研

【目的】アブラナ科の非結球性芽キャベツであるプチヴェールは、ケールと芽キャベツの交配によって1990年に作出された。プチヴェールは、ケールに比べて苦味が少なく、そのうえ甘みがあり栄養価が高いことが知られているが、食品機能成分についての知見はまだない。そこで本研究では、神経成長因子(NGF)およびコラーゲンを産生することが知られているマウス線維芽細胞(L-M 細胞)を用いて、プチヴェールの食品機能性評価を行った。

【方法・結果】L-M 細胞を 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 濃度で 3 日間培養した後、プチヴェール、ケール、キャベツ、ハウレンソウの水溶性画分を新しい培地に一定量加え、24 時間培養した。その後、抗 NGF 抗体を用いた免疫沈降法により、培養上清から L-M 細胞が分泌した NGF を回収し、引き続きウエスタンブロット法にて NGF を検出、定量した。その結果、L-M 細胞における NGF 産生が知られている 0.2mM アドレナリン添加時と同程度に、プチヴェール水溶性画分は有意に NGF 産生を促進した。一方、ケールはやや弱い NGF 産生促進作用を示したものの、キャベツ、ハウレンソウは促進作用を示さなかった。

## プチヴェール(アブラナ科)搾汁液の抗ストレス作用

○小泉一愉、鎗木幸子、稲熊隆博

カゴメ総研

プチヴェールはケールと芽キャベツの交配によって作出された、青汁原料などに用いられるアブラナ科植物である。プチヴェールには、 $\beta$ -カロテンやルテイン、葉酸、カルシウム以外にもビタミン U が多く含まれているため、胃潰瘍に対する予防・改善作用が期待できると考えた。胃潰瘍予防作用として、8~9 週齢の雄性 Wistar ラットにプチヴェール搾汁液を 1 週間自由摂取させ、その後、21°C の水中に 7 時間拘束した。その後、副腎、胸腺、脾臓および胃の重量と、胃障害面積を測定した。その結果、プチヴェール摂取群では、プチヴェールを摂取していないストレス負荷群と比較して、胃潰瘍指数が有意な低値を示した。また、胃潰瘍改善作用では、7 時間の拘束後、17 時間、プチヴェール搾汁液を自由摂取させた。その結果、プチヴェール摂取群の胃潰瘍指数は、同量の砂糖水摂取群、ビタミン U 摂取群よりも低い値を示した。以上のことから、プチヴェールには、ビタミン U 以外にも胃障害を抑制する因子が存在することが示唆された。

以上