

地 域 連 携 軸 形 成 事 業
(平成18～20年度)研究成果報告書
(電源立地地域対策交付金事業)

福島・山形・新潟三県共同研究開発事業
研究報告書

研究課題

地域特産資源を活用した
ふるさとブランド機能性食品の開発

Development of functional foods that used local product resources

平成21年3月

福島県ハイテクプラザ
福島県農業総合センター
福島県林業研究センター

はじめに

近年、食育の普及推進やメタボリックシンドローム対策のための特定健康診査の開始、新型インフルエンザへの懸念など、私たちの健康を取り巻く環境は変化しつつあり、健康への意識はより高まってきております。そしてこれらのニーズに応えるため、各企業においては健康増進を目的とした食品開発が盛んに行われています。

福島県ハイテクプラザにおいても、これらに関わる研究開発を積極的に進め、地域産業の発展と活性化への技術貢献を進めており、成果が公表されているところであります。

平成9年度の福島・山形・新潟の三県知事会議において採択されました、「地域連携軸形成事業」（三県試験研究機関共同研究）におきましては、第3回目の共同研究が終了時期を迎える平成17年度の三県知事会議において、これまでに多方面で論議され、関心が高まっている「地域特産物」と「機能性食品」に着目し、「地域特産資源を活用したふるさとブランド機能性食品の開発」を研究テーマとして取り上げることが決定されました。

当県では、「県産果実類(ベリー類)を利活用した機能性食品の開発」をハイテクプラザと福島県農業総合センターが、「県産特用林産物(きのこ・山菜類)を利活用した機能性食品の開発」を福島県林業研究センターが、そして「機能性の実証試験」を福島県立医科大学がそれぞれ分担しながら平成18年度から3年間にわたり共同で研究開発を行い、地域特産資源の新たな利用法確立に向けた技術開発のために、電源立地特別交付金などを活用して研究開発を進めて参りました。その成果を本書にまとめることができましたので報告いたします。

今後は、本研究で整備しました各種機器類を効果的に活用し、成果の普及と技術移転、技術支援を実施してまいります。

おわりに、本事業の推進にあたりまして、関係機関の皆様方からの暖かいご協力並びに貴重なご意見をいただきましたことに対しまして、心から厚く御礼申し上げます。

平成21年3月

福島県ハイテクプラザ所長
宮野壯太郎

研究課題：「地域特産資源を活用したふるさとブランド機能性食品の開発」

分担テーマ：「県産果実類(ベリー類)を利用した機能性食品の開発」

「県産特用林産物(きのこ・山菜類)を利用した機能性食品の開発」

目 次

1. 研究概要	1
2. 県産果実(ベリー類)を利用した機能性食品の開発	2
福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター 酿造・食品科	
3. 機能性の高い地域特産資源の活用	
会津地域におけるブルーベリーの品種特性	12
福島県農業総合センター 会津地域研究所	
4. 県産特用林産物(きのこ・山菜類)を利用した機能性食品の開発	19
福島県林業研究センター 林産資源部	
5. ブルーベリーとキノコの感染症予防効果の検討	26
福島県立医科大学 医学部 微生物学講座	
6. 自然発症高血圧ラットにおける	
ナメコおよびナツハゼの高血圧予防効果の検討	32
福島県立医科大学 医学部 細胞統合生理学講座	

1. 研究概要

研究概要

研究体制

本研究は「地域特産資源を活用したふるさとブランド機能性食品の開発」を福島・山形・新潟の三県共通の研究テーマとし、福島県では「ベリー類果実」と「きのこ・山菜類」、山形県では「伝統野菜」、新潟県では「山菜類」を取り上げ、機能性食品の開発や食品素材化へ向けて、技術交流や情報交換等の協力のもと研究に取り組んできました。

福島県におきましては、ハイテクプラザ会津若松技術支援センターと農業総合センター会津地域研究所がベリー類果実を、林業研究センター林産資源部ではきのこ・山菜類を担当し、機能性に関する試験については福島県立医科大学医学部微生物学講座および細胞統合生理学講座に研究を委託し、各研究機関が連携しながら研究を推進してきました。

成果概要

福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター 醸造・食品科

県内で採取されたベリー類果実42種のアントシアニンの含量と組成を明らかにし、最も含量の高かったナツハゼ果実を用いて、機能性成分や味覚の面で高品質な果汁・ピューレ・粉体・乾燥・ポリフェノールの各素材を開発しました。また、それらの素材を用いた食品を試作するとともに、ハーブティーとしての利用が有望である可能性が示されました。

福島県農業総合センター 会津地域研究所

ブルーベリー31品種について会津地域における品種特性を調査した結果、食味において総合評価が高い品種が示されるとともに、チャンドラーやダロウは収穫期間拡大のために利用価値が高い品種であると考えられました。さらに、機能性食品の素材に適した品種としてアントシアニン含量の高いエリオットが有望であると考えられました。

福島県林業研究センター 林産資源部

県産きのこ・山菜について、ヒト前骨髄性白血病細胞(HL60)に対するアポトーシス誘導効果を検討しました。また、県の主要な特用林産物であるナメコの構成成分の解析を行いました。さらに、ナメコから食品素材を調製する条件を検討し、ナメコ粉末を作成しました。ナメコ粉末は多くの食品に添加できる食品素材として期待されると考えられます。

福島県立医科大学 医学部 微生物学講座

ブルーベリーの感染症予防効果について検討した結果、ブルーベリーには強い抗単純ヘルペスウイルス、抗A型インフルエンザウイルス活性が確認され、この活性は乾燥粉末としたブルーベリーの熱湯抽出液でも証明されました。また、キノコの免疫賦活能についてマウスを用いた実験を行いましたが、本試験において有意な効果は確認されませんでした。

福島県立医科大学 医学部 細胞統合生理学講座

ナメコおよびナツハゼ粉末を自然発症高血圧ラットに摂取させたところ、投与2週間後より有意な血圧上昇抑制効果が認められました。また、上記メカニズムを調べるために血圧調節に関する数種のホルモンを調べた結果、ナメコおよびナツハゼ粉末の血圧上昇抑制には上記ホルモン以外の降圧メカニズムが関与している可能性が示唆されました。

2. 県産果実(ベリー類)を利活用した機能性食品の開発

福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター 酿造・食品科

地域特産資源を活用したふるさとブランド機能性食品の開発

—県産果実(ベリー類)を利活用した機能性食品の開発—

Development of functional foods that used local product resources

— Development of the functional foods which used local product fruit (berries) —

福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター醸造・食品科 関澤春仁 山下慎司 後藤裕子

谷口 彩* 高橋真紀子* 室井梨沙子*

河野圭助* 鈴木賢二

福島県内で採取されたベリー類果実42種に含まれるアントシアニンの含量と組成を明らかにし、最もアントシアニン含量の高かったナツハゼ果実を用いて、機能性成分や味覚の面で高品質な果汁、ピューレ、粉体、乾燥素材、ポリフェノール素材を開発した。また、それらの素材を用いた食品を試作するとともに、ナツハゼティーについては市販のハーブティーを比較し、その特徴を明らかにした。

Key words : ブルーベリー、桑の実、ブラックベリー、ナツハゼ、アントシアニン、ポリフェノール、味覚センサー

1. 緒言

近年、ブルーベリー等のベリー類果実は国内での輸入量・生産量は急激に増加しており、冷凍果実や生果実での流通も増加している。また、果実に含まれるアントシアニンの機能性なども注目され、福島県内においても近年ベリー類果実の栽培は増加している。しかしながら、その消費形態は観光果樹園等での摘み採りや直売がその多くを占めており、生果実での消費がほとんどである。また、以前から桑の実やナツハゼといった果実が小規模ながら利用されていたが、最近では本格的に栽培しようとする動きも活発になっている。

一方、ベリー類果実は他の果実に比べ腐敗しやすく、生果実での流通には限界があり、今後は生食による利用法が必要となってくると考えられる。

そこで我々は、ベリー類果実の持つ機能性に着目した食品素材の開発を行い、県内食品企業における機能性食品開発の促進と県内果樹農家の振興を図ることを目的とし本研究を行い、知見を得たので報告する。

2. 県産ベリー類のアントシアニン比較

ベリー類の主要なポリフェノールであり、紫の色素であるアントシアニンの含有量とその組成について、当県で栽培されている各種ベリー類を調査した。

2. 1. 実験方法

2. 1. 1. 供試原料

平成18年に、県内の同一圃場で栽培されたブルーベリー30品種、マルベリー(桑の実)8品種、ブラックベリー2品種と、県内で採取されたナツハゼ1品種、さらに比較用として、北欧産ビルベリーそれぞれ1品種を供試した。

ブルーベリーに関しては品種によって収穫適期が異なるため、年の最初に採取された果実をサンプルとし、果実が着色してから1週間後を基準として採取した¹⁾。

マルベリーとブラックベリーは十分に黒く熟した頃を見計らって全品種同時に採取した。

また、採取時期の影響を調べるために、ブルーベリー4品種については最初の収穫から1週おきに3~5回採取した。

さらに栽培方法の影響を調べるために、ブルーベリー6品種については露地栽培の他に雨除けのためにハウス栽培した果実も採取した。

採取後は冷凍保存し、試験時に解凍して用いた。

なお、ブルーベリーについては平成19年度も同様に採取し、追試に供した。

2. 1. 2. アントシアニンの分析

アントシアニンの抽出は、須田らの方法を参考に、50g程度の生果実をホモジナイズして均一化した試料を1%トリフルオロ酢酸水溶液を用いて抽出した^{2),3)}。

アントシアニンの定量は、HPLCを用いた一柳らの方法⁴⁾を用いて行った。得られたピークの同定は、一柳らの報告を基に、ビルベリー抽出物であるビルベロン25(常磐植物化学研究所)のピークから推定した。標準品はCyanidin-3-Glucoside(Kuromarin Chloride,フナコシ)を用いた。分析条件を表1に示した。

表1 HPLC分析条件

カラム	: Develosil ODS-HG5(野村化学, 4.6mm×150mm)
カラム温度	: 40°C
移動相	: 0.5%TFA含有20%MeOH溶液
流量	: 2ml/min
検出器	: UV/VIS検出器
測定波長	: 520nm

2. 1. 3. 抗酸化性の評価

抗酸化性は木村らの方法⁵⁾で、DPPHラジカル消去活性を測定した。標準品にはTrolox(和光純薬)を用いた。

2. 2 実験結果および考察

2. 2. 1. アントシアニンの分析

品種別のアントシアニンの分析結果を表2に、また、アントシアニン含有量は図1に示した。アントシアニン含有量は品種によって異なり、ブルーベリー類（ナツハゼ、ビルベリーを含む）を総じて比較すると、ナツハゼの含量が非常に高く、機能性素材の原料として知られるビルベリーよりも高かった。また、ラビットアイ系が他よりも高い傾向が示された。本試験でサンプルに用いた桑の実とブラックベリーのアントシアニン含量はブルーベリーと同レベルの量であった。

また、データには示していないが、19年採取分で追試を行ったところ、18年採取分との相関係数は0.9396と、高い相関があった。

アントシアニンの組成に関しては、ブルーベリー類は全ての品種において、5種のアントシアニジンに3種の糖がそれぞれ結合した、15種のアントシアニンが含まれているのが確認されたが、その組成は品種により異なることが明らかとなった。マルベリーやブラックベリーにおいてはシアニジン-3-グルコシドを主に、2,3種で構成されていた。この組成については、表3と表4に示すように、採取時期や栽培法によって大きく変化することは無かったため、組成割合は品種固有のものであることが示された。

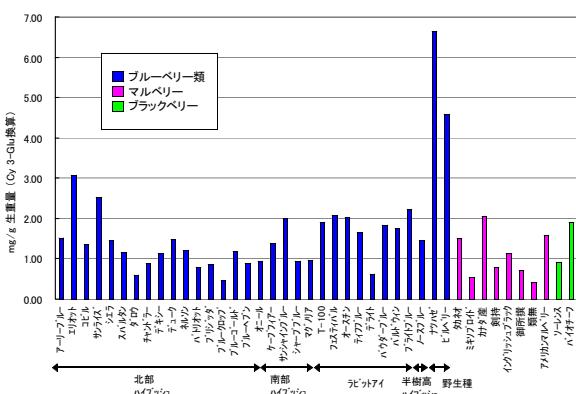


表2 各種アントシアニンの分析結果（品種別）

品種	採取日	1粒重(g)	アントシアニン(mg/g)	Dp系(%)	Cy系(%)	Pt系(%)	Pn系(%)	Mv系(%)
北部ハイブッシュ	アーリーブルー	7/3	2.06	1.50	36.4	12.5	19.7	3.5
	エリオット	8/1	1.47	3.07	26.6	4.4	17.5	2.0
	コビル	7/10	3.43	1.35	22.4	6.1	16.7	3.2
	サンライズ	7/10	2.79	2.52	37.4	10.1	21.7	2.0
	シェラ	7/10	3.65	1.45	30.0	7.5	20.0	3.6
	スバルタン	7/10	2.38	1.15	40.3	7.7	23.0	2.9
	ダロウ	7/19	3.23	0.60	32.7	8.1	21.9	3.6
	チャンドラー	8/1	3.80	0.87	31.0	5.9	19.6	2.5
	デキシー	8/1	1.52	1.14	27.9	13.8	20.3	4.6
	デューウーク	7/10	3.07	1.48	27.3	7.4	18.5	2.9
	ネルソン	7/10	2.59	1.19	37.9	5.3	23.3	1.4
	パトリオット	7/10	2.06	0.79	18.5	17.8	16.6	7.9
	ブリッジタ	7/19	2.38	0.85	25.4	5.8	20.0	2.7
	ブルーコロップ	7/10	3.09	0.46	23.9	6.9	15.3	3.0
	ブルーゴールド	7/10	3.47	1.17	32.1	4.3	20.0	1.6
	ブルーゲーブン	7/10	2.10	0.86	37.8	10.9	19.7	3.6
	オニール	7/3	3.18	0.94	35.2	12.1	18.0	3.9
	ケープフィア	7/3	2.44	1.38	34.0	7.6	21.7	3.2
	サンシャインブル	8/9	1.38	2.00	28.0	5.7	19.8	3.9
	シャープブルー	7/14	2.54	0.95	30.7	7.8	20.2	3.6
	マグノリア	7/19	3.72	0.96	26.5	4.8	19.9	2.2
ラビットアイ	トーノー	8/22	3.05	1.90	19.7	8.0	13.9	6.3
	フェスティバル	8/17	1.96	2.06	21.5	13.0	16.3	7.1
	オースチン	8/17	3.09	2.01	24.8	5.8	18.3	3.9
	ティフルー	8/17	2.63	1.64	22.6	8.4	16.6	5.2
	デライト	8/17	2.88	0.62	25.3	12.9	18.3	6.2
	パウダーブルー	8/17	2.38	1.84	20.1	19.6	14.2	12.0
	パルドワイン	8/17	2.37	1.75	15.3	8.4	14.5	6.3
	ブライドブルー	8/17	1.90	2.22	18.2	7.9	16.0	5.9
半樹高ハイブッシュ	ノースブルー	7/10	1.96	1.44	39.5	10.9	21.6	2.9
	野生種	ナツハゼ	10/16	0.37	6.63	35.4	15.6	17.2
	ビルベリー	—	0.44	4.59	38.7	28.5	14.2	5.7
マルベリー	カタネオ	6/26	3.42	1.48	0.0	79.7	19.5	0.8
	ミキソブロイド	6/26	1.52	0.53	0.0	81.9	16.8	1.3
	カナダ産	6/26	3.26	2.04	0.0	76.1	23.2	0.7
	剣持	6/26	1.19	0.79	0.0	80.0	18.5	1.5
	イングリッシュラック	6/26	1.75	1.13	0.0	72.4	26.7	0.9
	御所撰	6/26	1.35	0.72	0.0	77.7	20.9	1.4
	類無	6/26	1.24	0.41	0.0	79.5	19.3	1.2
	アメリカンベリー	6/26	3.24	1.58	0.0	75.9	23.6	0.5
ブラックベリー	ソーレンス	8/17	4.76	0.93	0.0	93.5	0.0	0.0
	バイオチーフ	8/17	2.90	1.90	0.0	84.3	10.4	2.5

表3 各種アントシアニンの分析結果（採取時期別）

品種	採取日	1粒重(g)	アントシアニン(mg/g)	Dp系(%)	Cy系(%)	Pt系(%)	Pn系(%)	Mv系(%)
北部ハイブッシュ	アーリーブルー	7/3	2.06	1.50	36.4	12.5	19.7	3.5
		7/10	1.82	1.60	34.2	14.0	19.5	3.8
		7/19	1.11	1.89	30.4	11.5	17.8	4.0
スバルタン	スバルタン	7/10	2.38	1.15	40.3	7.7	23.0	2.9
		7/19	1.94	1.32	36.6	6.1	21.1	1.4
		7/25	1.54	1.40	43.1	8.3	21.5	1.6
		8/1	0.91	1.65	37.0	6.9	19.8	1.7
		8/8	0.59	2.42	35.0	5.6	21.1	1.9
	ダロウ	7/19	3.23	0.60	32.7	8.1	21.9	3.6
ブルーコロップ	ブルーコロップ	7/25	2.96	1.21	33.7	5.7	22.1	1.6
		8/1	2.23	1.38	35.4	5.0	22.8	1.3
		8/8	1.96	1.98	29.2	3.9	21.4	2.1
		7/10	3.09	0.46	23.9	6.9	15.3	3.0
		7/19	3.40	0.65	19.6	4.9	13.6	3.5
フルーツベリー	フルーツベリー	7/25	2.08	0.69	27.3	8.3	18.7	2.3
		8/1	2.53	0.99	24.2	5.1	16.8	1.9
		8/8	1.04	1.33	23.4	4.8	17.2	2.6
	マグノリア	7/19	3.72	0.96	26.5	4.8	19.9	2.2

表4 各種アントシアニンの分析結果（栽培法別）

品種	採取日	1粒重(g)	アントシアニン(mg/g)	Dp系(%)	Cy系(%)	Pt系(%)	Pn系(%)	Mv系(%)
露地	アーリーブルー	7/3	2.06	1.50	36.4	12.5	19.7	3.5
	オニール	7/3	3.18	0.94	35.2	12.1	18.0	3.9
	ケープフィア	7/3	2.44	1.38	34.0	7.6	21.7	3.2
	サンシャインブル	8/9	1.38	2.00	28.0	5.7	19.8	3.9
	シャープブルー	7/14	2.54	0.95	30.7	7.8	20.2	3.6
	マグノリア	7/19	3.72	0.96	26.5	4.8	19.9	2.2
ハウス	アーリーブルー	6/26	2.20	2.06	33.2	8.3	17.9	3.6
	オニール	7/14	0.94	3.35	29.6	6.5	17.9	2.7
	ケープフィア	7/3	1.28	2.28	44.2	6.5	22.4	1.9
	サンシャインブル	8/1	2.35	2.42	28.4	6.4	19.3	3.3
	シャープブルー	7/10	1.87	1.69	39.1	6.9	20.9	2.8
	マグノリア	7/14	2.69	1.67	34.1	3.7	21.4	2.4

3. ナツハゼの食品素材化

ナツハゼには非常に多くのアントシアニンが含まれており、機能性食品素材としても期待できることから、機能性成分を保持した加工法や、その味覚の変化について検討した。

3. 1. 実験方法

3. 1. 1. 供試原料

原料には19年度に福島県内で採取された果実を冷凍保存し、試験時に解凍して供試した。

3. 1. 2. アントシアニンの測定

アントシアニンは、須田らの方法を参考に1%トリフルオロ酢酸水溶液を用いて抽出し、分光光度計(UV-2550, 島津製作所)で520nmの吸光度から求めた^{2),3)}。標準品はCyanidin-3-Glucoside(フナコシ)を用いた。

3. 1. 3. 味覚センサーによる味覚の測定

味覚測定には(株)インテリジェントセンサー・テクノロジー社製の味認識装置(SA402B)を用いた。本装置は生体の味覚受容メカニズムを模倣した脂質膜によって電位差を測定し、ウェーバーの法則に従って官能値に変換しており、測定値が1異なるとヒトで味の変化がわかると定義されている。本試験では、一般的な食品用の5本のセンサー(AAE, CT0, CA0, C00, AE1)によって、旨味、塩味、酸味、苦味・苦味・苦味・渋味・刺激・旨味・苦味、渋味の8項目について測定を行った。

3. 2. 素材化試験

3. 2. 1. 乾燥素材化

乾燥は、真空凍結乾燥(以下FD)機と通風加熱乾燥(以下加熱乾燥)機を用いて行い、乾燥後の果実のアントシアニン含量を比較した。通風加熱乾燥の温度は、40, 60, 80°Cで、乾燥時間は48時間に設定した。また、80°C区においては12, 24時間の乾燥も行った。

さらに、乾燥した果実を飲料として利用するために熱水抽出試験を行った。それぞれの乾燥果実1gを熱水200mlに入れて2分間攪拌した。得られた抽出液は、味覚センサーによる味覚測定に供試した。

3. 2. 2. ピューレ素材化

果実は電動石臼(R&Dマルチミル, グローエンジニアリング)で磨碎処理を行い、ピューレ素材とした。ピューレ素材については、レトルト殺菌機(LFS-CR75, 鳥取三洋電機)による加熱試験を、70, 80, 90, 100°Cでそれぞれ10分間行った。加熱処理したピューレ素材については、アントシアニン含量の測定と味覚センサーによる味覚測定を行った。

3. 2. 3. 果汁素材化

果実をミキサーと電動石臼でそれぞれ処理した後にペクチナーゼ(スクラーゼN, 三菱ライフフーズ)を原料比0.03%添加、45°Cで2時間処理して圧搾し、それぞれの搾汁率を調べた。対照として生果実を圧搾しただけの区を設けた。また、果汁素材の流通を想定し、70, 80, 90, 100°Cでそれぞれ10分間の加熱試験を行い、味覚センサーによる味覚測定を行った。

3. 2. 4. 粉体素材化

果汁素材化とピューレ素材化によって得られた果汁とピューレ素材に、粉末化基剤として各種デキストリンを混合し、真空凍結乾燥を行った。粉末化基剤には、 α -シクロデキストリン(α -100, 塩水港精糖)、デキストリン(パインデックス#1, 松谷化学)、難消化性デキストリン(ファイバーソル2, 松谷化学)を用い、それぞれを原料に対し、ピューレには10%、果汁には15%を混合した。得られた粉体については、アントシアニン含量を測定した。

3. 3. 実験結果および考察

3. 3. 1. 乾燥素材化

乾燥後の果実の外見は、FD区ではほぼ乾燥前の形と色を保持したが、加熱乾燥区は縮んで黒色になった。しかしながら、どちらの区においてもベタつきのない乾燥が可能であった。乾燥後の歩留まりは全ての区で20%前後であった。

乾物あたりのアントシアニン含量は、FD区が最も高く26.6mg/gであったが、乾燥温度が高くなるにつれ低下し、40°C区においてはFD区の50%、60°C区においては42%、80°C区においては14%まで減少した。また、80°Cで乾燥時間を比較した結果、乾燥時間が長くなるとともにアントシアニン含量は減少した(図5)。

以上の結果から、アントシアニン保持の観点からはFDが最適であるが、加熱乾燥する場合は、なるべく低い温度で、乾燥時間は短くすることでアントシアニン含量の低減を抑えられることが明らかとなった。

また、飲料への応用を想定した熱水抽出試験の結果、FD区ではアントシアニン由来の非常に鮮やかな赤色を呈したが、加熱乾燥区においては、条件が厳しくなるにつれて赤色度が減少する一方、褐色度が増加していく(図5・写真)。

さらに、各熱水抽出液を味覚センサーで測定したところ、80°C12時間を超える加熱条件では著しく酸味と塩味の値が減少した(図6)。塩味センサーは有機酸にも反応することから、これらの変化は加熱による有機酸量の変化が影響していると考えられた。

以上の結果、アントシアニンの機能性と味覚を考慮すると、乾燥素材を飲料原料として利用するにはFDが最も適していることが示された。

3. 3. 2 ピューレ素材化

ピューレ素材に関しては、ナツハゼ果実の特徴をそのまま活用するために、本試験では生果実での加工を試みた。初めにミキサーで処理したところ、果皮を2~3mmに裁断するのが限界であり、外見上も好ましい印象を受けなかった。そこで磨碎機による処理を行ったところ、均一で滑らかな素材を得ることができた。

次にピューレ素材の流通を想定し、加熱試験を行い、アントシアニン含量の測定と味覚センサーによる味覚測定を行った。ナツハゼ果実のpHは3前後であるため、殺菌には65°C以上で10分以上の加熱が必要である。試験の結果、アントシアニン含量は80°Cでも大きく減少することは無かったが、味覚測定値においては80°C以上で大きく値が異なった(図7,8)。測定値は「苦味・雜味」の変化が大きかった。

以上のことから、今回のピューレ素材の殺菌法としては70°C程度での処理が望ましいことが示された。

3. 3. 3 果汁素材化

果皮に多く含まれているアントシアニンの有効利用を目的に、一般的なミキサーと、より細かく処理できる磨碎機を用いて前処理の比較を行った。搾汁率に関してはミキサー区67.1%、磨碎機区68.9%とほぼ同じであった。対照として設けた圧搾区では35.0%であり、圧搾のみによって果汁を得るには非効率的であることが示された。アントシアニン含量は、ミキサー区2.91mg/ml、磨碎機区2.37mg/mlとなった(図9)。これは、磨碎機区においては処理時にアントシアニンを多く含む果皮のロスがあったことや、処理時に生じる熱が影響したことなどが影響していると考えられる。原因追究のためにはスケールアップして追試を行う必要があるが、ロス量を考慮しても磨碎機処理がアントシアニンの有効利用にそれほど有利に働くかないことが推察されたため、果汁素材の加工にはミキサー処理でも十

分であると考えられた。

次に、ピューレ素材同様、流通を想定した加熱試験を行い、味覚センサーで味覚測定を行った結果、非加熱区と比較すると、70°Cではあまり変化しないが、80°C以上では「苦味・雜味」が大きく増加した(図10)。味覚が変化する原因の特定は今後の課題であるが、味覚を考慮した高品質な果汁素材を得るために70°C程度での処理が望ましいことが明らかとなった。

3. 3. 4 粉体素材化

果実やジュースを粉末にする際にはデキストリンが粉末化基剤として多く用いられているが、場合によっては增量剤や添加物等のマイナスイメージで捉えられることも多い。そこで今回は粉末化基剤に機能性デキストリンを用いることで、ナツハゼのアントシアニンとデキストリンの機能性を併せ持った、より付加価値の高い粉体素材の開発を目的として試験を行った。デキストリンには整腸作用や血糖上昇抑制作用などを持ち、整腸作用では規格基準型トクホに利用されている難消化性デキストリン、そして、包接作用によって高品質な粉体化が可能とされ、難消化性デキストリンとしての作用も知られる α -シクロデキストリンを用いた。対照として一般的なデキストリン区を設けた。ナツハゼ原料にはピューレ素材と果汁素材を供した。

試験の結果、ピューレ素材においてはデキストリン無添加でも粉末化が可能であることが明らかとなり、アントシアニン含量は19.9mg/gであった。また、果汁素材においては、各デキストリンを15%添加することで原料比約50%の粉体が得られ、アントシアニン含量は全て10mg/g前後であった(図11)。ピューレ素材、果汁素材ともに粉体性状はデキストリンによって異なったが、一般的なデキストリンを添加した粉体が最もサラサラとした感触であった。

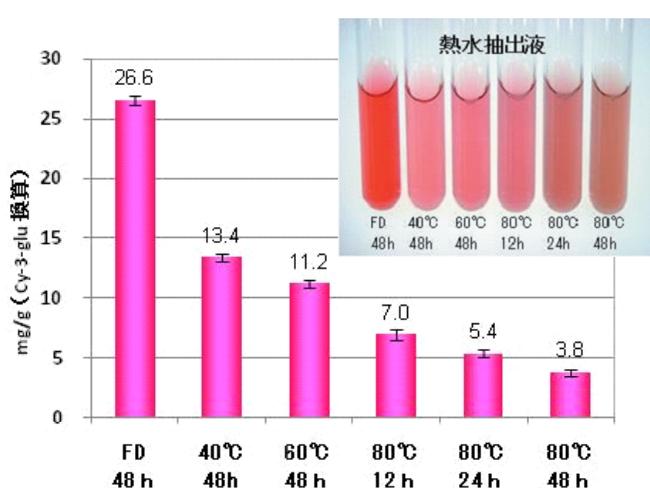


図5 乾燥素材のアントシアニン含量と热水抽出液

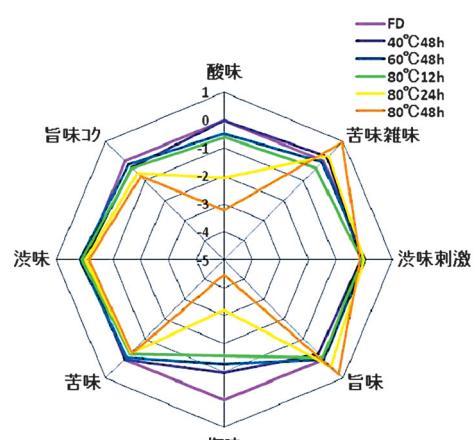


図6 热水抽出液の味覚センサー測定値

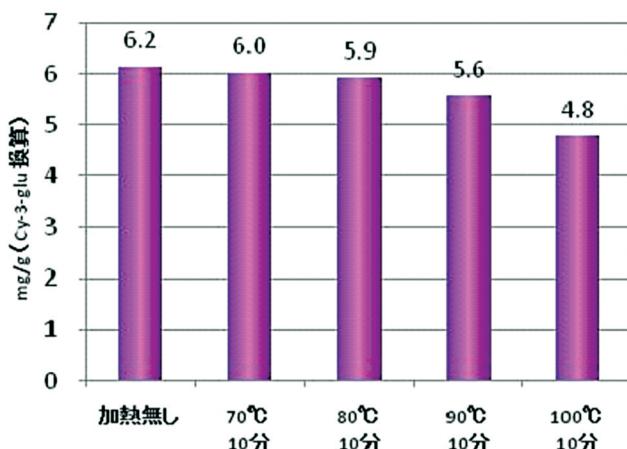


図7 ピューレ素材のアントシアニン含量

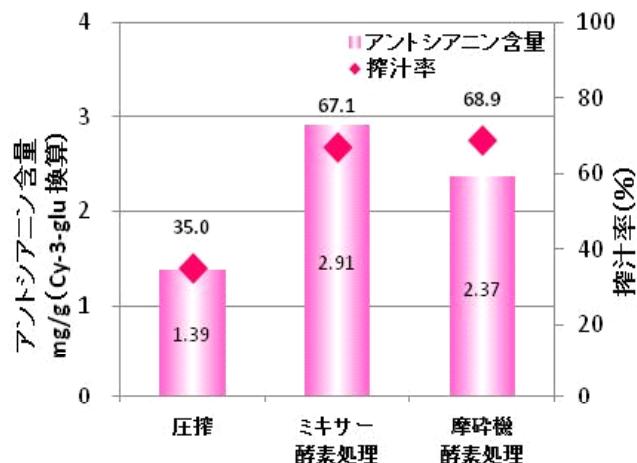


図9 果汁素材の搾汁率とアントシアニン含量

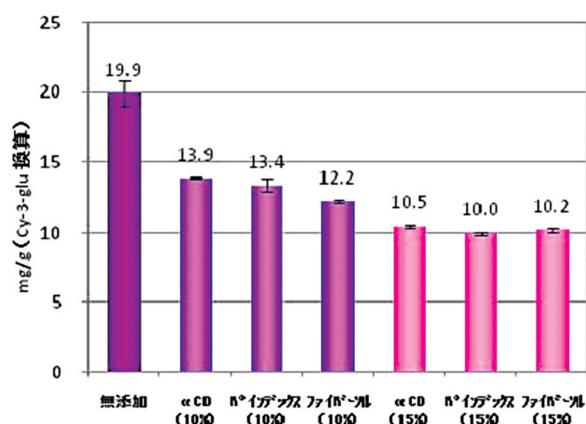


図11 パウダー素材のアントシアニン含量

4. ナツハゼティーとハーブティーの比較
開発したナツハゼ素材の中でも比較的加工が容易であり、かつナツハゼの特徴を引き出すことができると思われる乾燥素材について、市販のハーブティーと比較してその特徴を調べた。

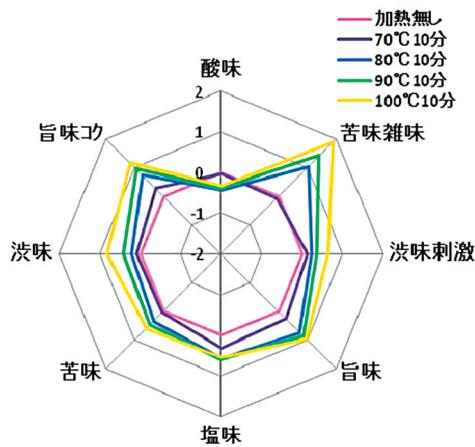


図8 ピューレ素材の味認識装置測定値

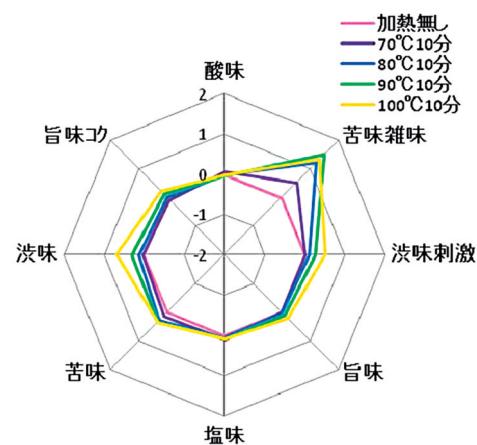


図10 果汁素材の味認識装置測定値



図12 開発したナツハゼ素材

4. 1. 実験方法

4. 1. 1. 供試原料

ナツハゼティーには果実を凍結乾燥後に粗粉碎したもの用い、比較には市販されているローズヒップ&ハイビスカスティー（以下ローズヒップ）とハイビスカスティー（以下ハイビスカス）を用いた。そしてそ

それぞれの乾燥物1gに100mlの熱水を加え、5分間攪拌後に濾過したものをサンプルとした。

4. 1. 2. 色調とアントシアニン含量の測定

サンプルを水で3倍希釈し、赤色値の指標として520nm、褐色値の指標として420nmの吸光度をそれぞれ分光光度計(島津製作所, UV-2550)を用いて測定した。また、520nmの吸光度からはCyanidin-3-Glucoside(フナコシ)を用いてアントシアニン含量を算出した。

4. 1. 3. 味覚センサーによる味覚測定

味覚測定には(株)インテリジェントセンサー・テクノロジー社製の味認識装置(SA402B)を用い、一般的な食品用の5本のセンサー(AAE, CTO, CA0, CO0, AE1)によって、旨味、塩味、酸味、苦味・苦味・苦味・苦味・旨味コク、苦味、渋味の8項目について測定を行った。

4. 2. 実験結果および考察

4. 2. 1. 色調とアントシアニン含量の測定

赤色値はナツハゼが2.181abs、ハイビスカスが1.128abs、ローズヒップが0.407absであり、褐色値はナツハゼが0.789abs、ハイビスカスが0.600abs、ローズヒップが0.322absとなり、赤色値と褐色値ともにナツハゼ抽出液が最も高かった(図13)。また、褐色の度

合いを420/520absで表した場合、ローズヒップの値が最も高くなった。

また、熱水抽出液100ml当たりのアントシアニン含量は、ナツハゼが25.6mg、ハイビスカスが13.1mg、ローズヒップが4.6mgであった。

4. 2. 2. 味覚センサーによる味覚測定

まず測定値から味覚評価の対象となる項目を選出した。その結果、旨味については無味点以下であると判断されたため評価の対象から外した。また、塩味センサーは各種有機酸へ反応することが知られており、ナツハゼではクエン酸とリンゴ酸、ハイビスカスではそれら以外の特有の酸を多く含有しており、今回得られた塩味の測定値は有機酸の種類や量の影響が大きいと判断されたため、評価の対象から外した。以上のことから、酸味・苦味・苦味・苦味・渋味・旨味・旨味コクの6項目が評価対象として選出された。

これら6項目について、ローズヒップの測定値を基準値0としてナツハゼ、ハイビスカスを比較すると、苦味・苦味においてナツハゼが-1.75と低い値を示し、酸味においてはハイビスカスが6.85と著しく高かった。旨味コクはナツハゼが0.84、ハイビスカスが-0.87となった。それ以外の項目については3種のサンプル間で大きな差は無かった(図14)。

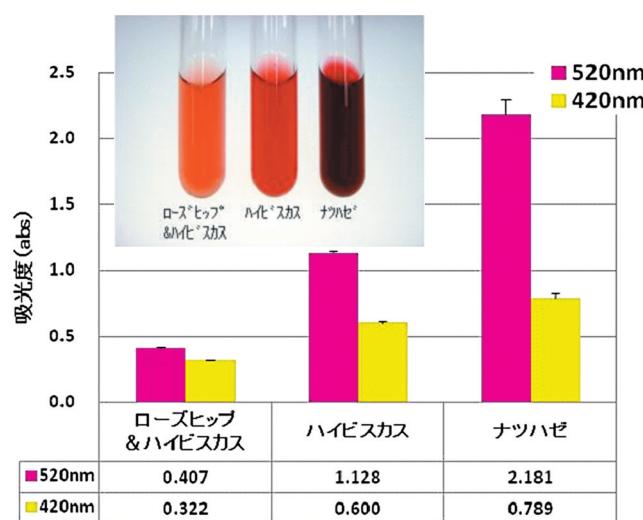


図13 热水抽出液の吸光度(測定時3倍希釈)

5. ナツハゼポリフェノール素材の開発

5. 1. 実験方法

5. 1. 1. 供試原料

ナツハゼをミキサーで処理した後、ペクチナーゼ処理(スクラーゼN, 三菱化学フーズ, 0.05%添加40℃で2時間)を行い、遠心分離後に得られた果汁を試験に供した。

5. 1. 2. ポリフェノール類の測定方法

総ポリフェノール含量についてはフォーリン・チオカルト法を用い、没食子酸(和光純薬)換算にて定量を行った。また、アントシアニンとクロロゲン酸の定量はHPLCを用いた一柳らの方法⁴⁾を応用し、アントシアニンは520nmでCyanidin-3-Glucoside(フナコシ)換算、クロロゲン酸は330nmで和光純薬製の標準品を用いて定量した。

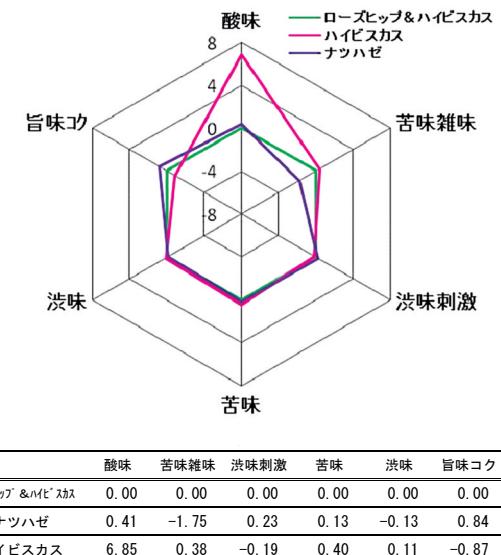


図14 热水抽出液の味認識装置測定値

5. 1. 3. 合成吸着剤の比較

ナツハゼ果汁をダイヤイオンHP20、セパビーズSP850、セパビーズSP700（いずれも三菱化学）を充填剤としたカラム（容量53ml）にそれぞれ25mlずつ供し、ポリフェノール類を吸着させた。その後、蒸留水でカラムから糖などを除去した後、50%エタノール及び100%エタノールによって吸着したポリフェノールを回収した。回収したポリフェノール類を含むエタノール水溶液については、総ポリフェノール含量、アントシアニン含量、クロロゲン酸含量を測定し、それぞれの原料に対する回収率を算出した。また、洗浄後の蒸留水についても同様の測定を行い、原料に対する流出率と、グルコースとフルクトースの除去率を算出した。

成績が良好であった樹脂については、スケールアップして抽出・精製を行い、回収液は減圧蒸留にてエタノールを除去後、真空凍結乾燥によって乾燥・粉末化し、得られた粉末の総ポリフェノール、アントシアニン、クロロゲン酸の含有率を算出した。

5. 2. 実験結果および考察

今回用いた3種の合成吸着剤は全て芳香族系の樹脂であり、ポリフェノール等の分離・精製において用いられる代表的な樹脂である。

ポリフェノール類の回収率を比較した結果、SP700において総ポリフェノールが78.6%、アントシアニンが92.3%、クロロゲン酸が99.9%の回収率となり、全ての項目で最も好成績であった。一方、総ポリフェノール回収率においてはHP20も77.0%と高かったが、アン

トシアニンは83.9%、クロロゲン酸は92.1%と低かった。これは、樹脂の細孔がSP700よりも大きいため、より分子量の大きいプロアントシアニジン等のポリフェノールを吸着し易いことが影響していると考えられる。SP850の回収率は総ポリフェノールが69.6%、アントシアニンが84.9%、クロロゲン酸が93.1%となり、3種の中では特徴に欠ける結果となった。

また、原料吸着後に洗浄した洗浄水について測定した結果、総ポリフェノール、アントシアニン、クロロゲン酸、全てにおいてSP700の流出率が低い結果となった。糖の除去率においてはグルコースではHP20が89.1%、SP850が86.7%、SP700が90.4%となり、フルクトースにおいてはHP20が95.6%、SP850が91.2%、SP700が93.0%となり、おおよそ9割以上の糖を除去できた。

以上の結果をまとめると、総ポリフェノール回収率においてはHP20とSP700が優れていたが、ナツハゼの特徴であるアントシアニンを効率よく精製するためにはSP700が優れていることが明らかとなった。

そこで、SP700を用いて得られた抽出物を減圧蒸留後に真空凍結乾燥を行ったところ、アントシアニンが25.5%、クロロゲン酸が12.6%、総ポリフェノールとしては89.7%含有する暗赤色の粉末が得られた。このことから、ナツハゼポリフェノール素材はアントシアニン以外にもクロロゲン酸等のポリフェノールを高含有する特徴を持つ素材であることが示された。

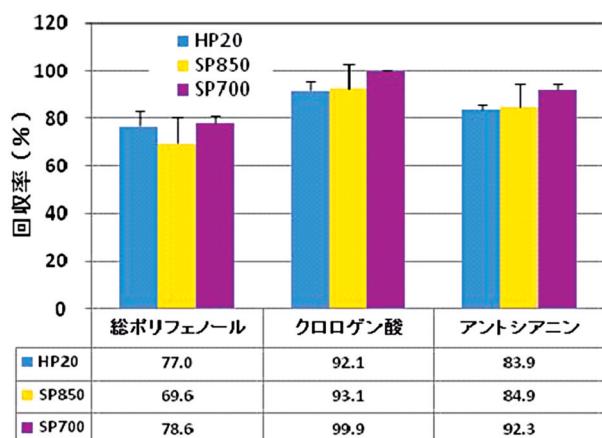


図15 ポリフェノール類の回収率

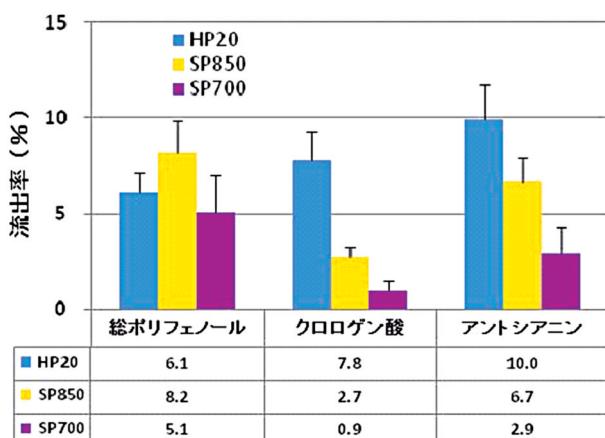


図16 洗浄によるポリフェノール類の流出率



図17 ナツハゼポリフェノール素材と成分含量

6. 結言

県内で採取されたベリー類のアントシアニンについて分析した結果、国産野生種ブルーベリーであるナツハゼ果実には非常に多くのアントシアニンが含まれてており、栽培種においてはエリオットやラビットアイ系統に多く含有されていることを確認した。また、ベリー類に複数存在するアントシアニンの組成割合は品種固有のものであり、製品化後のトレーサビリティにも応用できる可能性が示された。

ナツハゼ果実はアントシアニン含量が非常に高い特徴を持ち、また、現時点では加工品としてほとんど利用されていないため、新規地域特産物としての可能性が高いと考えられた。そこでナツハゼ果実の食品素材化を検討した結果、新鮮な味を保持したピューレ素材と果汁素材、機能性デキストリンを用いた粉体素材、そしてハーブティー様の飲料に利用可能な乾燥素材を開発した。これらの素材は一般的な食品に幅広く利用可能であり、ナツハゼ果実の利用促進につながると考えられる。

さらに、ハーブティーとしての飲用利用についてはナツハゼ果実の色や酸味等の特徴をそのまま活用できることから、現在市販されているハーブティーと比較を行った結果、ナツハゼティーはアントシアニン含量が他のハーブティーよりも多く、味覚センサーで味覚の測定を行ったところ、ローズヒップティーと同程度の酸味を呈し、全体的に近い味覚構成であることが明らかとなった。このことから、ナツハゼティーはローズヒップティーなどを好み、健康志向の高い消費者に受け入れられ易い素材である可能性が示された。

また、ナツハゼ果実の高いアントシアニン含量を活用し、より高い機能性を求めた素材として、ナツハゼポリフェノール素材について検討を行った結果、効率良くポリフェノールの精製が可能な合成吸着剤を見出し、得られたナツハゼポリフェノール素材は、現在多くの食品に利用されているビルベリーエキスと同等のアントシアニン含量を含有し、さらにクロロゲン酸等のポリフェノールも多く含有する特徴を持つポリフェノール素材であることが示された。

一方、本研究と平行し、福島県立医科大学では機能性に関する共同研究が行われたが、その結果、ナツハゼ果汁やナツハゼティーに用いた乾燥素材には、抗インフルエンザウイルス作用や抗ヘルペスウイルス作用^{6), 7)}、血圧上昇抑制作用^{8), 9)}があることが明らかとなり、ナツハゼを用いた食品素材は機能性食品として期待されることも明らかとなった。

現在、ナツハゼは県内各地で栽培拡大の動きがあり、また、福島県農業総合センターでも研究されていることなどから^{10), 11)}、新たな地域特産品として今後の動向が期待される。

本研究の後半からはナツハゼ果実が中心に検討されてきたが、栽培種のブルーベリー果実においても、粒が小さい、皮が厚い、酸味が強い、といった一般的には好まれ難い品種にアントシアニン含量が高い品種が多数含まれていることが示されたことから、観光農園での不人気種のPR等でこれらのデータを有効活用することが可能であると思われる。また、ブルーベリーの加工品についても現在数多く流通しているが、アントシアニン高含有品種を用いることで差別化を図ることが可能であると考えられる。

近年では新型インフルエンザ流行の懸念や、メタボリックシンドロームに着目した特定健康診査の開始など、健康への関心が高まっていることから、果実の機能性成分を活用した商品開発は今後ますます求められるものと考えられる。今後はこれらの結果をもとに、県内の果樹農業の振興と食品工業の発展、そしてそれぞれの産業の協調に貢献していきたいと考えている。

参考文献

- 1) 日本ブルーベリー協会編：
ブルーベリー全書, pp. 182-183
- 2) 日本食品科学工学会 新食品分析法編集委員会編：
新・食品分析法, pp. 653-659
- 3) 須田ら：日本食品科学工学会誌. 52. 10
pp. 462-471, 2005
- 4) T. Ichiyanagi, et. al: Chem. Pharm. Bull. 52(5)
pp. 62 8-630, 2004
- 5) 木村ら：日本農芸化学会1999年度大会講演要旨集.
pp. 125, 1999
- 6) 錫谷ら：地域特産資源を利用したブランド機能性
食品の開発・ブルーベリーとキノコの感染症予防効
果の検討、平成19年度福島県ハイテクプラザ研究委
託事業報告書（2007）
- 7) 錫谷ら：地域特産資源を利用したブランド機能性
食品の開発・ブルーベリーとキノコの感染症予防効
果の検討、平成20年度福島県ハイテクプラザ研究委
託事業報告書（2008）
- 8) 狹間ら：地域特産資源を利用したブランド機能性
食品の開発・自然発症高血圧ラットにおけるナメコ
及びナツハゼの高血圧予防効果の検討、平成19年度
福島県ハイテクプラザ研究委託事業報告書（2007）
- 9) 狹間ら：地域特産資源を利用したブランド機能性
食品の開発・自然発症高血圧ラットにおけるナメコ
及びナツハゼの高血圧予防効果の検討、平成20年度
福島県ハイテクプラザ研究委託事業報告書（2008）
- 10) 矢吹ら：ナツハゼの実生繁殖法、平成13年度福島
県農業試験場試験成績概要（2002）
- 11) 新妻ら：未利用農産物等の活用技術及び加工品開
発、平成19年度福島県農業総合センター試験成績
概要（2008）

謝辞

本研究を遂行するにあたり、ブルーベリー果実を提供して下さった福島県農業総合センター会津地域研究所の斎藤祐一主任研究員、会津農林事務所会津坂下農

業普及所の野上紀恵副主査、みのり果樹園の成田一彦氏、そしてナツハゼ果実を提供して下さった天栄村の木村辰則氏、田村市の渡辺ミヨ子氏、喜多方市のきたかた山の実等生産組合の皆様に深謝いたします。

本研究で得られた成果を活用した試作品



ナツハゼティー



ナツハゼアイス



ナツハゼチョコレート



ナツハゼゼリー



ナツハゼケーキ



ナツハゼキャンディー



ナツハゼ水饅頭



ナツハゼ大福



ナツハゼタブレット



ナツハゼフルーツソース



ナツハゼクレープ



ブルーベリー(エリオット)ジャム

3. 機能性の高い地域特産資源の活用 会津地域におけるブルーベリーの品種特性

福島県農業総合センター 会津地域研究所

地域特産資源を活用したふるさとブランド機能性食品の開発

— 機能性の高い地域特産資源の活用・会津地域におけるブルーベリーの品種特性 —

Development of functional foods that used local product resources

— Characteristics of Blueberry Varieties in Aizu Region of Fukushima Prefecture —

福島県農業総合センター会津地域研究所

斎藤祐一

福島県会津農林事務所会津坂下農業普及所

野上紀恵

福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター醸造・食品科

関澤春仁

福島県農業総合センター企画経営部技術移転科

永山宏一

ブルーベリー31品種について会津地域における品種特性を調査した。南部ハイブッシュ系ではシャープブルー、マグノリア、サンシャインブルー、北部ハイブッシュ系では、ネルソン、ブリッジタ、ラビットアイ系では、オースチン、フェスティバルの総合評価が高かった。また、品質はやや劣るもの、南部ハイブッシュ系、北部ハイブッシュ系とラビットアイ系の収穫期の端境期にあたるため、利用価値が高い品種としてチャンドラー、ダロウが考えられた。機能性食品の素材に適した品種としてアントシアニン含量の高いエリオットが有望と考えられた。

Key words : ブルーベリー、栽培特性、品種特性、収穫期、アントシアニン、機能性

1.はじめに

福島県会津地域においては、主に観光果樹園として、北部ハイブッシュ系品種を中心に導入されており、6月下旬から8月上旬頃までが収穫期となっている。一方、観光ブルーベリー園における来園者の需要は5月下旬頃から9月中旬頃まであり、「ブルーベリーの収穫期幅の拡大」が課題となっている。本試験では、寒冷地ではありません導入が進んでいない南部ハイブッシュ系とラビットアイ系および北部ハイブッシュ系の比較的新しい品種を供試し、収穫期、生産性、果実品質、耐寒性および機能性について調査した。

2.試験方法

2.1. 供試品種および栽培管理

2004年6月に南部ハイブッシュ系5品種、北部ハイブッシュ系15品種、ラビットアイ系8品種の2年生苗を2m×2mで1品種当たり3樹を植栽したものを試験に供試した。標準品種としてこれまでに、会津地域で主に導入が進んでいる北部ハイブッシュ系のアーリーブルー（早生）、ブルークロップ（中生）、デキシー（晩生）を供試した。

土壤管理は、樹冠下に毎年10cm厚さに広葉樹のチップをマルチし、列間に幅75cmのグランドシートを敷設した。施肥管理は、融雪直後、6月上旬、9月上旬に硫安を施用した。年間施用量は窒素成分換算で、それぞれ3kg/10a、1.5kg/10a、1.5kg/10aとした。

灌水は灌水チューブを用いて適宜点滴灌水を行った。また、鳥害防止のため、収穫直前から収穫終了までの期間、18mm目の防鳥網を設置した。

2006年秋頃からスパートン、レイトブルー等の品

種で土壤の過湿が原因とみられる樹勢低下が認められた。このため、土壤が過湿と考えられる場所に植栽された北部ハイブッシュ系9品種については、2007年春に別場所に移植して調査を継続した。

移植は根域を広くとり、根に土をつけたままでできるだけ丁寧に行ったが、種類間の比較を行う場合は、これらを除いた品種についての平均値を用いた。

2.2. 調査項目

(1) 生育調査

開花期は、開花始期は着蕾数の20%開花した日、開花盛期は70～80%開花した日、開花終期は80%落花した日とした。

収穫期は、収穫終了後に1樹当たり収量を求め、収穫始期は全収穫果の10%の収穫が終了した日、収穫盛期は50%の収穫が終了した日、収穫終期は90%が終了した日を計算で求めた。収穫作業は5～7日間隔で行い、軸の部分まで濃く着色した果実を収穫した。毎収穫時に1樹当たりの落果数、収量を調査した。

樹冠容積は、10月中旬に樹幅2カ所と樹高を測定し、樹幅を直径とする円柱の体積として求めた。

(2) 果実品質調査

収穫盛期前後に収穫した果実を商品価値のある果実、病害虫果、障害果等に選別し、商品率を求めた。病害虫果や障害果を除いた果実から50～100gを取り果実数、果実重を調査後、果実を市販のジューサーを用いて破碎し、キムワイプとガーゼを用いて搾汁したものをRM示度、酸含量測定用の試料とした。酸含量は0.1N水酸化ナトリウム液で滴定し、クエン酸量に換算した。また、RM示度を酸含量で除して甘味比を求めた。アントシアニンの分析は、50g

程度の生果実から得られた果汁を1%トリフルオロ酢酸水溶液を用いて抽出し、高速液体クロマトグラフを用いた一柳らの方法で行った。分析はハイテクプラザ会津若松技術支援センターで行った。

生育調査、果実品質調査は、4年生（2006年）～6年生（2008年）の3年間に実施した。

(3) 食味調査

2008年に酸味、甘味、果汁、味の濃さ、香の有無、香りの質、総合的な食味を調査項目として、品種別の感應調査を実施した。調査には常温で保存した収穫翌日の果実を供試した。香りの有無以外の項目は5段階評価とした。香りは、香りを感じるかどうかを評価し、香りを感じる人については香りの質を5段階で評価した。1回の調査には4～6品種を供試し、パネルメンバーは当研究所職員14～20名で、7月～8月に7回に分けて実施した。

食味の評価項目

酸味	5(多)～3(中)～1(少)
甘味	5(多)～3(中)～1(少)
果汁	5(多)～3(中)～1(少)
味の濃さ	5(濃厚)～3(中)～1(淡泊)
香りの有無	有 無
香りの質	5(良)～3(中)～1(不良)
食味	5(良)～3(中)～1(不良)

(4) 耐寒性

展葉後の4月上旬に枝枯れの状況を観察し、枝枯れの程度を、「被害無し(-)」～「枝先5芽以上の枯死が樹冠内に数カ所程度みられる(++)」の5段階で、品種別に評価した。

3 試験結果

3. 1. 生育・収量

表1および図1にブルーベリーの生育、収量を示した。

開花期は、南部ハイブッシュ系および北部ハイブッシュ系が5月上旬～5月下旬、ラビットアイ系が5月中旬～6月上旬であった。

収穫期は、南部ハイブッシュ系および北部ハイブッシュ系は6月下旬～8月中旬で、7月中旬に収穫盛期を迎える品種が多かった。ラビットアイ系の収穫期は、8月上旬～9月上旬で、8月中旬に収穫期となる品種が多かった。南部ハイブッシュ系と北部ハイブッシュ系は、7月中に収穫を終了する品種が多かったが、チャンドラーでは8月上旬、サン

シャインブルー、ダロウ、エリオットでは8月中旬までの収穫が可能であった。ラビットアイ系では、フェスティバルの収穫盛期は8月12日頃で早く、パウダーブルー、T-100の収穫盛期は8月22日頃で遅く9月上旬までの収穫が可能であった。

樹冠容積の変化を図2に示した。

樹冠容積は、ラビットアイ系で大きく、北部ハイブッシュ系および南部ハイブッシュ系の2.3～2.7倍であった。南部ハイブッシュ系の6年生の樹冠容積はマグノリアが大きく、サンシャインブルーが小さかった。北部ハイブッシュ系は、移植した品種を除くとコビルが大きくダロウが小さかった。ラビットアイ系は、フェスティバルが大きくブライトブルーが小さかった。

収穫前落果は、北部ハイブッシュ系が多く、南部ハイブッシュ系はやや多く、ラビットアイ系は少なかった。収穫前落果が20%以上あった品種は北部ハイブッシュ系のみで8品種あり、中でもコビル、パトリオット、デキシーが多かった。

図3に種類別収量の平均値を示した。

3年間の累積収量は、南部ハイブッシュ系および北部ハイブッシュ系と比較してラビットアイ系が少なかった。特に5年生のラビットアイ系の収量が北部ハイブッシュ系、南部ハイブッシュ系と比較して少なかった。6年生における南部ハイブッシュ系の収量は、オニールが多く、シャープブルーが少なかった。北部ハイブッシュ系の収量は、過湿により移植した品種を除くとブリジッタやブルーゴールドが多くサンライズが少なかった。ラビットアイ系は、ブライトブルーが少なくオースチンが多かった。

生産効率は、6年生時で比較すると南部ハイブッシュ系では1.4～3.2kg/m³、北部ハイブッシュ系では過湿により移植した品種を除くと0.6～3.1kg/m³、ラビットアイ系では0.2～1.3kg/m³であった。南部ハイブッシュ系では、サンシャインブルーが高く、シャープブルーが低かった。北部ハイブッシュ系では、ブルーゴールドが高くネルソンが低かった。ラビットアイ系では、オースチンが高く、フェスティバルが低かった。

表1 ブルーベリーの生育、収量

種類	品種	開花期(月日)※2			収穫前落果率 (%)※3	収量(g/樹)			生産効率※4	樹高※5 (m)	樹幅 (m)	樹冠容積 (m3)
		始	盛	終		4年生	5年生	6年生				
系 シハ ュイ	オニール	5/4	5/10	5/17	12.7	74	1,967	5,309	2.2	1.4	1.5	2.5
	ケープフェア	5/3	5/8	5/14	6.3	165	1,283	4,563	2.7	1.4	1.2	1.7
	シャープブルー	5/6	5/13	5/19	14.9	331	1,744	2,984	1.7	1.2	1.4	1.8
	マグノリア	5/16	5/24	5/29	15.1	116	1,012	4,412	1.4	1.4	1.7	3.3
	サンシャインブルー	5/9	5/15	5/24	5.9	406	1,051	3,301	3.2	1.1	1.1	1.0
北部 系 シユ	ノースブルー* ※1	5/3	5/7	5/16	21.5	121	687	1,971	3.5	0.7	1.0	0.6
	デューク*	5/6	5/11	5/18	16.4	86	1,563	1,493	1.6	1.0	1.1	0.9
	スパートン*	5/6	5/8	5/17	18.7	141	706	178	0.3	0.9	0.9	0.6
	パトリオット*	5/2	5/5	5/14	25.9	225	474	1,320	2.0	1.0	0.9	0.7
	サンライズ	5/7	5/12	5/16	12.5	205	1,407	2,446	1.6	1.1	1.3	1.5
	シェラ*	5/6	5/12	5/19	22.1	72	962	636	0.5	1.0	1.2	1.2
	ブルーヘブン*	5/3	5/10	5/14	23.2	354	1,750	1,229	1.4	1.0	1.0	0.9
	ネルソン	5/8	5/14	5/20	23.5	126	1,216	2,587	0.6	2.1	1.6	4.1
	コビル	5/5	5/11	5/20	35.4	120	2,488	4,577	1.3	1.5	1.6	3.6
	ダロウ	5/6	5/12	5/22	14.0	216	1,936	3,166	2.4	1.2	1.2	1.3
系 チャンドラー	ブルーゴールド*	5/5	5/10	5/18	19.0	565	2,662	6,032	3.1	1.3	1.4	1.9
	ブリジッタ	5/8	5/15	5/25	19.0	360	1,937	5,481	3.0	1.3	1.4	1.8
	レイトブルー*	5/6	5/11	5/18	20.6	217	2,111	6,319	2.2	1.5	1.5	2.8
	エリオット*	5/17	5/26	5/29	1.2	45	59	-	-	0.6	0.4	0.1
	エリオット*	5/7	5/14	5/20	8.4	522	810	769	1.3	1.0	0.9	0.6
系 ト ア イ 系	オースチン	5/21	5/30	6/4	4.4	795	772	5,077	1.3	1.5	1.8	3.9
	ティフブルー	5/20	5/27	6/1	3.9	479	539	3,151	0.7	1.8	1.8	4.7
	デライト	5/18	5/24	6/3	4.7	257	336	3,891	0.7	2.3	1.8	5.8
	パルドワイン	5/21	5/27	5/31	6.4	83	41	4,275	0.7	1.7	2.1	5.8
	ライトブルー	5/19	5/26	5/30	2.4	71	151	1,472	0.4	1.5	1.7	3.4
	T-100	5/23	5/30	6/4	1.1	355	297	2,368	0.4	1.8	2.0	6.1
	フェスティバル	5/19	5/24	6/2	3.1	304	125	2,026	0.2	2.4	2.1	8.6
	パウダーブルー	5/20	5/28	6/3	2.6	447	858	4,957	0.8	2.0	2.0	6.2
	アーリーブルー	5/4	5/8	5/16	14.3	88	1,695	3,081	1.4	1.4	1.4	2.2
	ブルーコロップ*	5/6	5/12	5/18	19.2	269	1,636	809	0.6	1.2	1.2	1.3
標準	デキシー	5/7	5/14	5/24	24.1	85	1,188	2,733	1.0	1.5	1.5	2.6

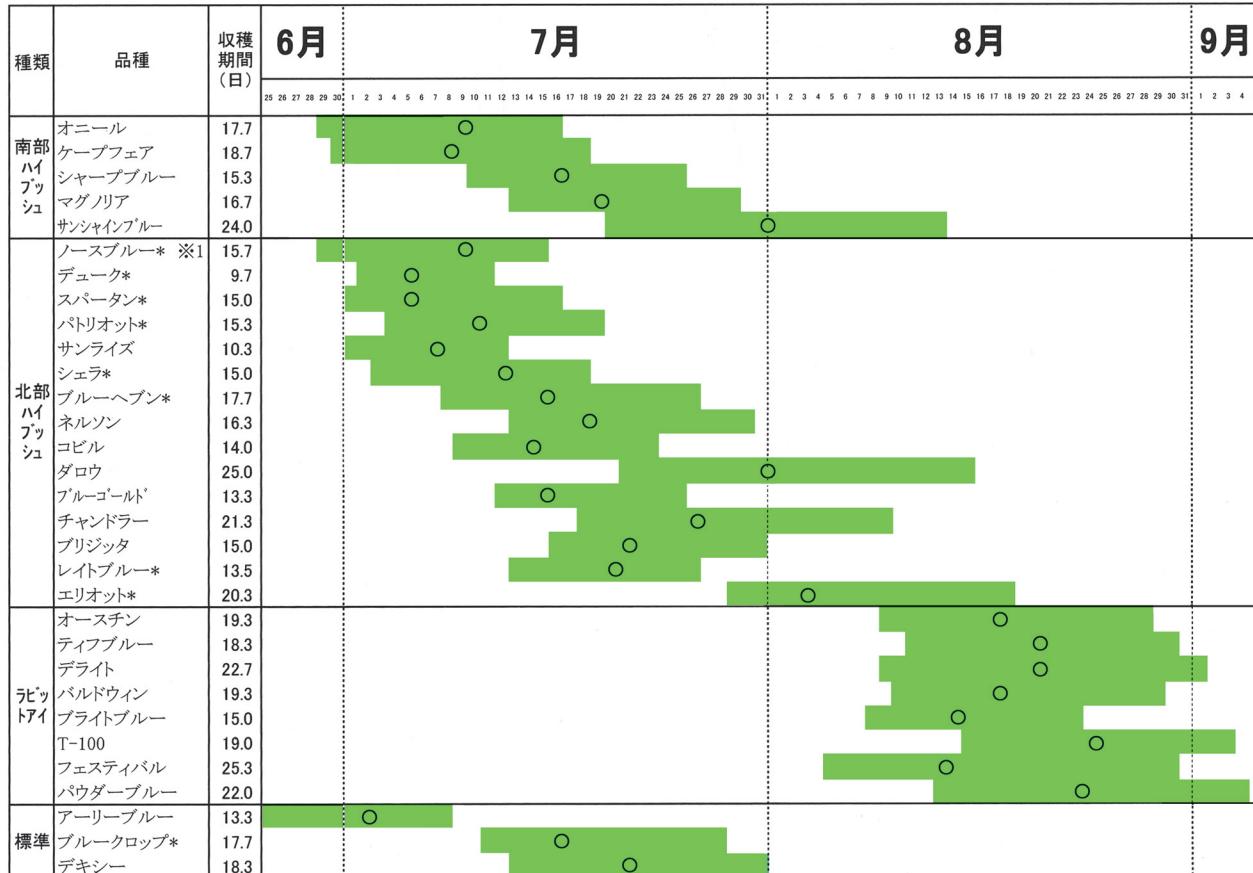
※1 *は、土壤の過湿がみられたため、2008年4月に移植を実施した品種

※2 開花期は始;20%開花した日、盛;70~80%開花した日、終;80%落花した日とした。また、2006年~2008年の3カ年の平均値である。

※3 収穫前落果率は、落果数と粒重から落果実重を求め、これを推定収量(収量+落果実重)で除し算出した。2006年~2008年の3カ年の平均値である。

※4 生産効率は、収量/樹冠容積(kg/m³)から計算した。

※5 樹高、樹幅、樹冠容積は6年生時の2008年10月調査。容積は、樹幅を直径とする円柱の体積として求めた。



※1 *は、土壤の過湿がみられたため、2008年4月に移植を実施した品種

※2 収穫期は始;10%収穫した日、盛;50%収穫した日、終;90%収穫した日とし横棒グラフで示した。また、2006年~2007年の3カ年の平均値である。

図1 ブルーベリーの収穫期

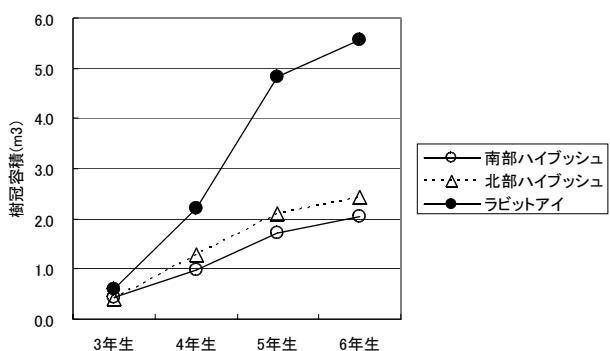


図2 種類別の樹冠容積（移植した品種除く）

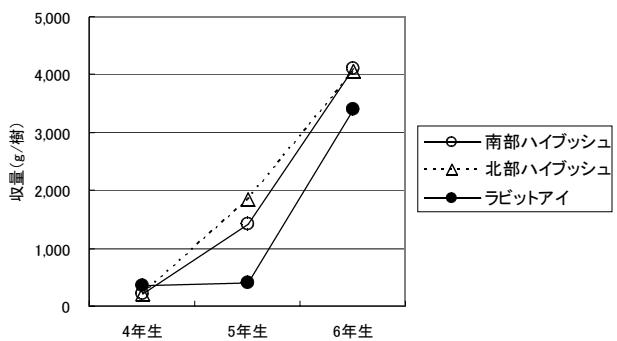


図3 種類別の収量（移植した品種除く）

3. 2. 果実品質および食味

表2にブルーベリーの果実品質および食味調査結果を示した。

収穫果の商品率は、南部ハイブッシュ系で低く、ラビットアイ系で高い傾向であった。商品率を低下させる要因としては、裂果、病害虫、果形不良、傷等があるが、このうち裂果についてはオニール、ティフブルー、ノースブルー、ケープフェア、レイトルブルー、フェスティバルが10%以上で高かった。

一粒重は、南部ハイブッシュ系では2.1～2.5g、北部ハイブッシュ系では1.8～3.9g、ラビットアイ系では1.5～2.5gであった。南部ハイブッシュ系ではマグノリアが大きく、サンシャインブルーが小さかった。北部ハイブッシュ系では、チャンドラー、ブリジッタ、コビル、ブルーゴールドが大きく、シェラが小さかった。ラビットアイ系では、オースチン、T-100が大きく、ティフブルーが小さかった。

RM示度は、南部ハイブッシュ系では10.6～12.1、北部ハイブッシュ系では9.9～13.3、ラビットアイ系では14.8～16.3であり、南部ハイブッシュ系、北部ハイブッシュ系に比較してラビットアイ系で高かった。南部ハイブッシュ系では、シャープブルーが高くケープフェアが低かった。北部ハイブッシュ

系ではシェラ、ネルソンが高く、ノースブルーが低かった。ラビットアイ系では、オースチン、ティフブルーが高く、デライト、ライトブルー、T-100が低かった。

酸含量は、南部ハイブッシュ系では0.32～0.9%、北部ハイブッシュ系では0.32～1.24%、ラビットアイ系では、0.37～0.57%で、北部ハイブッシュ系が南部ハイブッシュ系、ラビットアイ系に比較して高かった。南部ハイブッシュ系では、マグノリアが高く、オニールが低かった。北部ハイブッシュ系では、エリオット、ブルーゴールドが高くアーリブルーが低かった。ラビットアイ系では、ティフブルーが高くフェスティバルが低かった。

甘味比は、南部ハイブッシュ系では13.3～36.3、北部ハイブッシュ系では8.7～38.6、ラビットアイ系は27.8～42.5であり、北部ハイブッシュ系と比較して、南部ハイブッシュ系と、ラビットアイ系で高かった。南部ハイブッシュ系では、オニールが高くマグノリアが低かった。北部ハイブッシュ系ではアーリーブルーが高くエリオットが低かった。ラビットアイ系では、フェスティバル、オースチンが高くティフブルーが低かった

ブルーベリーの主な機能性成分であるアントシアニン含量は、南部ハイブッシュ系では0.83～1.48mg/g、北部ハイブッシュ系では0.71～2.60mg/g、ラビットアイ系では、0.83～2.27mg/gであり、ラビットアイ系が総じて高い傾向にあった。南部ハイブッシュ系では、ケープフェア、マグノリアが高くオニール、シャープブルーが低かった。北部ハイブッシュ系では、エリオットが高くブルークロップが低かった。ラビットアイ系では、オーチンが高くデライトが低かった。

食味は、南部ハイブッシュ系ではシャープブルー、マグノリア、サンシャインブルー、北部ハイブッシュ系ではネルソン、ブリジッタ、ラビットアイ系ではフェスティバル、オースチンが良好であった。また、ケープフェア、パトリオット、パウダーブルー、ブルーカロップの食味評価は低い傾向だった。食味における調査項目間の相関では、総合的な食味と味の濃さの相関が最も高く、酸味の強さとの相関は低かった。

表3 食味調査項目間の相関係数

	酸味	甘味	果汁	濃さ	香(質)	食味
酸味	1.00					
甘味	-0.70	1.00				
果汁	-0.03	0.45	1.00			
濃さ	-0.15	0.65	0.66	1.00		
香(質)	-0.11	0.64	0.57	0.79	1.00	
食味	-0.28	0.75	0.74	0.86	0.76	1.00

表2 会津地域におけるブルーベリーの果実品質

品種	商品率(%)	裂果率(%)	一粒重(g)	RM示度	酸含量(%)	甘味比	アントシアニン(mg/g)	食味調査(2008年)						
								酸味	甘味	果汁	濃さ	香りを感じる(%)	香り(質)	食味
オニール	62.6	25.5	2.5	11.7	0.32	36.3	0.83	2.1	3.4	3.6	2.6	78.6	2.6	3.4
ケープフェア	72.6	13.5	2.5	10.6	0.42	25.5	1.48	2.8	2.6	3.2	2.6	78.6	2.4	2.5
シャープブルー	86.7	7.3	2.2	12.3	0.51	24.1	0.83	3.0	3.6	3.5	3.5	95.0	3.5	3.7
マグノリア	88.9	0.2	2.7	11.9	0.90	13.3	1.44	3.2	3.4	3.8	3.6	92.2	3.3	3.6
サンシャインブルー	78.6	7.0	2.1	12.1	0.47	26.0	1.22	3.2	3.2	3.7	3.2	88.8	3.1	3.5
ノースブルー*	※1 69.8	16.1	2.1	9.9	0.74	13.4	1.32	3.7	2.1	2.9	2.8	85.7	2.6	2.8
デューク*	90.4	0.0	2.4	10.9	0.44	24.9	1.35	3.1	2.4	2.4	2.7	78.6	2.6	2.9
スパートン*	85.2	1.0	2.1	11.7	0.61	19.1	1.40	—	—	—	—	—	—	—
パトリオット*	81.6	5.1	2.1	11.5	0.71	16.3	1.16	3.9	2.2	2.8	2.5	93.8	2.7	2.3
サンライズ	91.9	0.0	2.4	11.7	0.85	13.7	1.77	3.9	2.3	3.2	3.1	85.7	2.8	3.1
シェラ*	80.0	0.2	1.8	13.3	0.72	18.4	1.50	2.4	3.2	2.6	2.9	100.0	2.6	2.7
ブルーヘブン*	85.2	0.3	1.9	12.4	0.53	23.4	1.17	2.3	3.6	2.8	3.1	85.0	2.9	3.1
ネルソン	84.7	0.2	2.6	12.7	0.79	16.2	1.59	2.4	3.5	3.7	3.5	100.0	3.4	3.5
コビル	85.4	0.3	2.9	10.2	0.69	14.9	1.41	3.2	2.5	3.3	2.9	86.7	2.8	2.7
ダロウ	87.5	3.4	2.3	12.2	0.69	17.8	1.46	2.8	3.3	2.8	3.0	100.0	2.8	2.9
ブルーゴールド	91.7	0.0	2.7	10.8	0.94	11.5	1.88	3.8	2.6	3.1	3.1	90.0	2.8	3.0
チャンドラー	90.8	0.8	3.9	11.1	0.70	15.8	1.29	2.4	2.6	2.9	2.7	88.9	2.7	2.6
ブリジッタ	86.1	0.1	2.9	12.2	0.75	16.2	1.35	3.5	3.1	4.0	3.4	92.9	3.4	3.6
レイトルーパー*	66.5	12.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
エリオット*	89.7	3.2	1.5	12.4	1.42	8.7	2.60	—	—	—	—	—	—	—
オースチン	92.8	3.2	2.5	16.3	0.41	40.0	2.27	2.7	3.6	3.6	3.3	91.3	3.2	3.4
ティフブルー	80.9	17.6	1.5	15.9	0.57	27.8	1.22	3.2	2.4	3.1	2.4	88.9	2.8	2.6
デライト	94.9	1.5	2.4	14.8	0.50	29.9	0.83	3.6	2.7	3.3	2.9	93.8	3.1	2.8
バルドワイン	87.5	2.5	2.1	15.7	0.55	28.4	2.24	3.6	2.6	3.0	2.8	87.5	2.8	2.6
ライトブルー	91.3	8.6	2.0	14.8	0.46	32.4	2.21	2.9	2.9	3.1	2.7	93.8	2.9	2.8
T-100	96.1	1.4	2.5	14.9	0.45	33.4	1.23	3.2	2.9	3.3	2.8	94.4	2.9	3.1
フェスティバル	83.6	10.8	1.9	15.5	0.37	42.5	1.98	2.2	3.7	3.6	3.4	93.8	3.4	3.6
パウダーブルー	90.4	5.2	2.0	15.7	0.42	37.0	1.73	3.3	2.3	2.9	2.4	87.5	2.6	2.3
アーリーブルー	80.9	3.2	2.2	12.3	0.32	38.6	1.81	2.6	3.2	3.2	3.2	85.7	2.8	3.3
ブルークロップ*	91.0	0.4	2.0	11.8	0.66	17.9	0.71	2.9	2.8	2.0	2.5	95.0	2.9	2.5
デキシー	87.6	0.6	1.9	11.6	1.09	10.6	1.18	3.4	2.5	3.4	3.2	100.0	3.0	2.9

※1 *は、土壤の過湿がみられたため、2008年4月に移植を実施した品種

※2 商品率、果実品質は2006年～2008年の平均値、裂果率は2007年～2008年の平均値、アントシアニン含量は、2007年の調査データである。

※3 酸含量は、1/10N NaOHで滴定し、クエン酸に換算した。

※4 総合評価；会津地域における観光ブルーベリー園に導入する観点からの評価 ①有望、○やや有望、△やや劣る、×劣る

3. 3. 耐寒性

春季における枝枯れの状況を表4および図4に、2007年から2008年までの冬季間における最低気温の推移を図5に示した。

枝枯れの症状は枝先に多くみられ、品種間差が大きかった。樹勢低下樹以外では、南部ハイブッシュ系ではシャープブルー、サンシャインブルー、ラビットアイ系では、バルドワイン、ライトブルー、フェスティバルで十以上以上の枝枯れが認められたが、本試験では収量に影響するほどの被害ではなかった。



図4 枝枯れの状況（シャープブルー）

表4 春季における枝枯れの状況

品種	2006年	2008年
オニール	—	—
ケープフェア	—	—
シャープブルー	+	++
マグノリア	+	+
サンシャインブルー	+	++
ノースブルー*	+	±
デューク*	—	+
スパートン*	—	+++
パトリオット*	—	—
サンライズ	—	—
シェラ*	—	+
ブルーヘブン*	—	±
ネルソン	+	—
コビル	—	±
ダロウ	—	—
ブルーゴールド	—	—
チャンドラー	—	—
ブリジッタ	+	—
レイトルーパー*	—	++
エリオット*	+	++
オースチン	++	—
ティフブルー	+	+
デライト	+	+
バルドワイン	+	++
ライトブルー	++	++
T-100	+	+
フェスティバル	+	+++
パウダーブルー	±	—
アーリーブルー	+	±
ブルーカロップ*	+	++
デキシー	+	—

※1 *は、土壤の過湿がみられたため、2008年4月に移植を実施した品種

※2 枝枯れの程度：

-被害無し、±極軽微な枝先の枯死、

+樹冠内的一部分で枝

++枝先2～3芽の枯死が樹冠内に数カ所程度みられる

+++枝先5芽以上の枯死が樹冠内に数カ所程度みられる

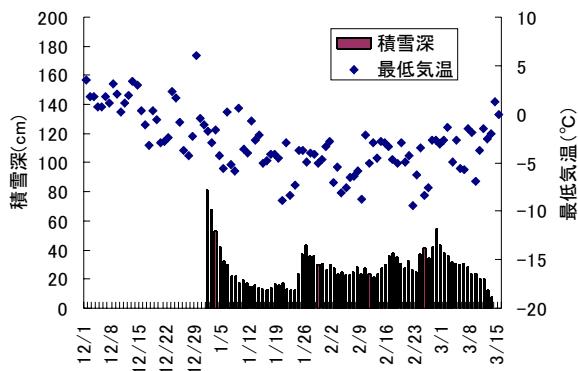


図5 冬季の積雪・最低気温
(2007年12月1日～2008年3月15日)

3. 4. 総合評価

収量性と食味・品質等を総合して有望とされた品種は、南部ハイブッシュ系ではシャープブルー、マグノリア、サンシャインブルー、北部ハイブッシュ系ではネルソン、ブリジッタ、ラビットアイ系ではオースチン、フェスティバルであった。

やや有望と判定された品種はチャンドラー、ダロウ、エリオットであった。

4 考 察

4. 1. 観光ブルーベリー園における品種選択

観光ブルーベリー園に対する来園者の需要として、子供の夏休み期間中が最も重要であるが、現在、会津地域に導入されているブルーベリーの品種構成では、8月10日頃にはブルーベリーの収穫が終了し、来園者の需要を満足することができなかった。しかし、ラビットアイ系を供試した品種比較試験の結果、8月中下旬に収穫できる品種の中から、既存品種より収量性や食味・品質に優れる数品種が確認された。また、7月中下旬に収穫できる品種の中から、既存品種より収量性や食味・品質に優れる数品種が確認された。これらの有望品種を、既存品種と組み合わせることにより、6月下旬から8月下旬まで端境期を迎えることなく、高品質のブルーベリー収穫が可能となるものと推察される。

7月1日～10日までに収穫盛となる品種は、南部ハイブッシュ系で2品種、北部ハイブッシュ系で5品種あるが、標準品種であるアーリーブルーと比較していずれも収穫期がやや遅い。これらの品種は、裂果率が高い、RM示度が低い、食味が劣る等の欠点があり、露地栽培では、アーリーブルーより優れる特性は認められなかった。しかし、オニールやサンライズについては、食味が比較的良好なため、雨よけハウス等の設置を考慮すれば観光ブルーベリー園への導入の可能性はあると考えられる。

7月11日～7月25日までに収穫盛となる品種は、南部ハイブッシュ系で2品種、北部ハイブッシュ系で7品種ある。南部ハイブッシュ系のシャープブルー、北部ハイブッシュ系のネルソン、ブリジッタは、標準品種であるブルーコロップやデキシーと比較してRM示度が高く、食味が優れており、一粒重もほぼ同程度で有望と考えられる。また、南部ハイブッシュ系のマグノリアは、標準品種と比較してRM示度は同程度であるが、食味が良く、樹勢が強く栽培し易いことから有望と考えられる。

7月26日～8月10日までに収穫盛となる品種は、南部ハイブッシュ系で1品種、北部ハイブッシュ系で3品種ある。南部ハイブッシュ系のサンシャインブルーは、標準品種と比較して樹冠容積が小さく、生育が劣る面もあるが、甘味が強く食味が優れることから有望と考えられる。チャンドラーは食味は劣るものの一粒重が大きく、ダロウは食味は中位であるが酸味が強く特徴があり、これらの品種はやや有望と考えられる。

また、来園客が持ち帰りジャム等に加工することを考慮すれば、機能性食品の素材に適した品種としてアントシアニン含量が高く酸味の強いエリオットが有望と考えられる。

ラビットアイ系の収穫盛は、8月中旬であるが、収穫期の前半は降水量が少なく、日照時間が長い年が多くた。RM示度も他の種類と比較して高く、果実品質は良好であった。ラビットアイ系では、フェスティバルとオースチンは、甘味比が高く、食味が良好なことから有望と考えられる。

品種構成としては、6月下旬から7月上旬までに収穫できる既存品種のアーリーブルー、7月中下旬に収穫できるシャープブルー、マグノリア、ネルソン、7月下旬から8月中旬まで収穫できるサンシャインブルー、ダロウ、チャンドラー、エリオット、8月中下旬に収穫できるオースチンとフェスティバル等の組み合わせが考えられる。

4. 2. 樹体生育と生産性

生産効率は、南部ハイブッシュ系および北部ハイブッシュ系がラビットアイ系と比較して高かった。一方、樹勢は、ラビットアイ系が南部ハイブッシュ系および北部ハイブッシュ系と比較して強く樹冠拡大も早かった。これらのことから、南部ハイブッシュ系および北部ハイブッシュ系は、ラビットアイ系と比較して早期結実性が強いことが確認された。

ブリジッタやブルーゴールドの収量は、6年生時で1樹当たり6,000gに達した。他の品種よりもかなり収量が多く、豊産性の品種と考えられる。一方、ライトブルーの6年生の1樹当たり収量は、1,472gで、移植樹以外では最も低く生産性が低いと

考えられた。また、サンシャインブルーは、生産効率が高く早期結実性が強いが、着果量が多く樹冠拡大が遅いため、土壤条件を選ぶ等、他の品種より栽培が難しい。

このように種類や品種により生育や結実が大きく異なることから、栽培にあたっては、特性に合わせた植栽やせん定、摘果等の管理が必要と考えられる。

4. 3. 耐寒性の検討

南部ハイブッシュ系やラビットアイ系は、北部ハイブッシュ系と比較して低温要求量が少ないため、冬季温暖な地帯でも栽培できる。一般的には、関東北部以南がわが国の栽培適地とされている。本試験では、南部ハイブッシュ系の優れた品質やラビットアイ系の導入による収穫期の拡大に着目し、会津地域における適応性を検討した。

本試験においては、南部ハイブッシュ系やラビットアイ系の一部の品種で枝枯れがみられたが、収量に大きく影響する程度ではなかった。しかし、枝枯れ調査をした年の最低気温は-10℃程度であり、これらの品種の耐凍性を評価するには不十分であり、これより冬季の気温が低い年次についての生育や、収量等にどのような影響を及ぼすかについては、今後検討が必要である。

5 まとめ

本試験では、会津地域におけるブルーベリーの品種特性、特にこれまで積雪寒冷地で導入が少なかつた南部ハイブッシュ系、ラビットアイ系および北部ハイブッシュ系の比較的新しい品種を導入し、会津地域における適応性について、観光果樹園への導入という観点から検討を行った。

ブルーベリー31品種について会津地域における品種特性を調査した結果、南部ハイブッシュ系ではシャープブルー、マグノリア、サンシャインブルー、北部ハイブッシュ系では、ネルソン、ブリジッタ、ラビットアイ系では、オースチン、フェスティバルの総合評価が高かった。また、品質はやや劣るものの、南部ハイブッシュ系、北部ハイブッシュ系とラビットアイ系の収穫期の端境期にあたるため、利用価値が高いものとしてチャンドラー、ダロウが考えられた。機能性食品の素材に適した品種としてアントシアニン含量が高く酸味の強いエリオットが有望と考えられた。また、耐寒性については、これまでの試験では収量に影響を及ぼす程度ではなかったものの、南部ハイブッシュ系のシャープブルーやサンシャインブルーやラビットアイ系のフェスティバルでは枝枯れの症状がみられていることから、今後継続して調査を実施する。

参考文献

- 1)玉田孝人：農業および園芸
ブルーベリー生産の基礎
- 2)玉田孝人：農業および園芸
ブルーベリー栽培に挑戦
- 3)T. Ichiyanagi, et. al:Chem. Pharm. Bull. 52(5)
pp. 62 8-630, 2004

4. 県産特用林産物(きのこ・山菜類)を 利活用した機能性食品の開発

福島県林業研究センター 林産資源部

地域特産資源を活用したふるさとブランド機能性食品の開発

—県産特用林産物(きのこ・山菜類)を利活用した機能性食品の開発—

Development of functional foods using local product resources

— Development of the functional foods using local mushrooms and wild plants —

福島県林業研究センター林産資源部

武井利之 古川成治 長谷川孝則

青砥裕輝 渡部正明

福島県ハイテクプラザ会津若松支援センター醸造・食品科

関澤春仁 河野圭助* 鈴木賢二

地域ブランド機能性食品作りに適した食品素材を選抜する目的で、県産きのこ・山菜について、HL60細胞に対するアポトーシス誘導効果を検討した。また、県の主要な特用林産物であるナメコの構成成分の解析を行った。さらに、ナメコから食品素材を調製する条件を検討した後、ナメコ粉末を作成した。ナメコ粉末は多くの食品に添加できる食品素材と期待される。

Key words : きのこ、山菜、HL60 細胞、アポトーシス誘導、ナメコ、一般生菌数、食品素材

1. 緒言

近年、多くの食品に体の調子を整えたり病気の予防が期待されるなど、食品機能性と一般的に言われる効果があることが知られるようになってきた。食品機能性が明らかとなった食品は、付加価値の高い商品として販売競争に有利な商品となり得ることから、福島県産の農林水産物についても個性的な食品機能性を明らかにできれば、大変有効なPR材料となり、消費拡大と生産振興に寄与すると考えられる。さらに、それら食品機能性を有する農林水産物を原料とした新たな加工食品の開発を図ることにより、二次産業の振興が期待される。

2. 県産きのこ・山菜類のアポトーシス誘導効果

福島県は毎年生シイタケが約3千トン、ナメコが約2千トン、タラノメが約30トン、ネマガリタケが約30トン生産される等¹⁾、国内有数の特用林産物の生産県である。きのこ・山菜類の食品機能性については、多くの研究者によって以前から調べられてきたが、培養細胞を用いた評価、DPPHを用いた抗酸化機能評価など、新たに取り入れられた評価手法²⁾により、今まで知られていなかった効果が新たに見いだされている。これらの手法を用いて、Hata ら³⁾はきのこ、山菜、海草を試料とし、がん細胞分化誘導効果について、また、木村ら⁴⁾は DPPH ラジカル消去能を含めた抗酸化性について報告している。福島県林業研究センターでは、福島県産きのこ・山菜類についてその付加価値を高めるため、培養細胞を用いたがん細胞アポトーシス誘導効果について研究してきた⁵⁾。その結果、コウタケ抽出物が強いがん細胞アポトーシス誘導を有すること、活性の中心はエルゴステロールパーオキサイドであること等を明らかにしてきた⁶⁾。しかし、コウタケは栽培方法が確立されていないことから、

これを用いた食品開発は困難であった。

そこで本研究では、第一に比較的容易に栽培または入手できるきのこ・山菜類を対象として、同様の方法によってがん細胞アポトーシス誘導効果を有するきのこ・山菜類の選抜を試みた。

2. 1 実験方法

2. 1. 1. 供試原料

きのこ試料としてブナハリタケとサンゴハリタケを、山菜試料としてネマガリタケ、タラノメ、ワラビ、ウド及びゼンマイを用いた。これらを凍結乾燥した後、ステンレス製ポットを用いた振動式粉碎器で粉碎した。得られた粉体を五酸化リン入り真空デシケーターで乾燥して試料とした。

2. 1. 2. がん細胞アポトーシス誘導効果の検討

2. 1. 2. 1. アセトン抽出物の調製

供試試料 200mg をアセトン 1ml に懸濁し、一晩室温で放置した。これを遠心分離し、上清を分取し、不溶物をアセトン 1ml に再度懸濁して遠心分離し、上清を分取した。得られた上清を合わせ、濃縮乾固してアセトン抽出物を得た。

2. 1. 2. 2. 70%エタノール抽出物の調製

供試試料 200mg を 70 %エタノール 1ml に懸濁し、一晩室温で放置した。これを遠心分離し、上清を分取し、不溶物を 70 %エタノール 1ml に再度懸濁して遠心分離し、上清を分取した。得られた上清を合わせ、濃縮乾固して抽出物を得た。

2. 1. 2. 3. 細胞と培地

ヒト前骨髄性白血病細胞株 HL60 (HL60 細胞) はヒューマンサイエンス研究資源バンクから分譲された。HL60 細胞は、10 %ウシ胎児血清を含む RPMI1640 培

*元福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター醸造・食品科

地を用いて 37 °C、二酸化炭素濃度 5 %、相対湿度 100 %で培養した。

2. 1. 2. 4. 細胞増殖阻害試験

抽出物の HL60 細胞の増殖に対する影響は、12 穴マイクロプレートを用い、細胞数 1×10^5 個/ml に調製した培地 2ml に最終濃度 0.1mg/ml となるように抽出物を添加し、24 時間培養後、トリパンブルー色素排除能を示す生細胞数を測定して検討した。

2. 1. 2. 5. がん細胞アポトーシス誘導の判別

がん細胞へのアポトーシス誘導は、光学顕微鏡でアポトーシス小体が形成されたか否かを観察して判別した。

2. 2. 実験結果及び考察

2. 2. 1. きのこ・山菜抽出物の細胞増殖阻害

県産きのこ・山菜類の食品機能性を明らかにする目的で、培養細胞を用いたがん細胞増殖阻害試験を行った。県内から採取したブナハリタケ、サンゴハリタケ、ネマガリタケ、タラノメ及びワラビから調製したアセトン抽出物を最終濃度 0.1mg/ml で HL60 細胞に添加して培養し、24 時間後の生細胞数を図 1 に示した。きのこ・山菜類のアセトン抽出物細胞増殖阻害率はいずれの試料もコントロールの 70 ~ 90 %程度であった。次いで、70 %エタノール抽出物を最終濃度 0.1mg/ml で HL60 細胞に添加して培養し、24 時間後の生細胞数を図 2 に示した。70 %エタノール抽出物を添加した場合も細胞増殖阻害率はいずれもコントロールの 80 ~ 100 %程度であった。これらの結果は、HL60 細胞のアポトーシス誘導効果の強かったコウタケの生細胞数がコントロールの約 20 %であった⁶⁾ ことと比べ

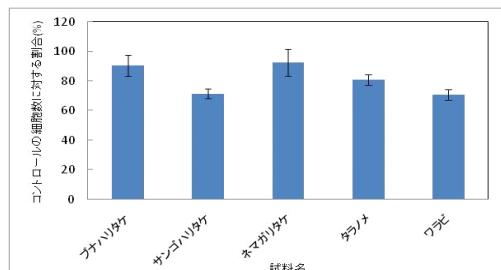


図 2-1 アセトン抽出物の HL60 細胞増殖への影響

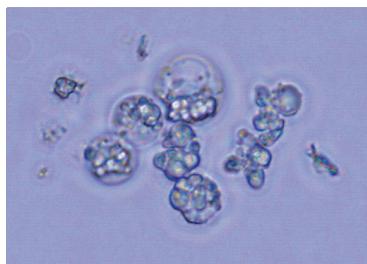


写真 2-1 アポトーシスが誘導された HL60 細胞

ると大変弱い増殖阻害率であると言える。

2. 2. 2. きのこ・山菜抽出物のアポトーシス誘導効果

HL60 細胞にアポトーシスが誘導された場合、写真 2-1 に示したように、アポトーシス小体の形成が認められる。しかし、きのこ・山菜類のアセトン抽出物及び 70 %エタノール抽出物を添加して培養した HL60 細胞には、そのような細胞がほとんど観察されず、コントロールの細胞（写真 2-2）と同様であった。

これらの結果から、本実験で使用したきのこ・山菜類には顕著な HL60 細胞の増殖抑制及びアポトーシス誘導効果が見いだされず、食品機能性を有する食品素材としては十分では無いと考えられた。

2. 3. まとめ

福島県地域ブランド機能性食品作りに適した食品素材を選抜する目的で、食品機能性の高いきのこ・山菜類の選抜を試みた。県産のブナハリタケ、サンゴハリタケ、ネマガリタケ、タラノメ、及びワラビを試料としてアセトン抽出物及び 70 %エタノール抽出物を調製し、HL60 に 0.1mg/ml の濃度で添加した。24 時間培養後、生細胞数を計測した結果、コントロールに対して 70 ~ 100 %の細胞数で、コウタケ抽出物⁶⁾に比べて大変弱い増殖阻害であった。また、いずれの抽出物でも細胞へのアポトーシス誘導がほとんど観察されなかった。以上の結果から、今回用いた試料において HL60 細胞アポトーシス誘導効果の強いきのこ・山菜類は見いだされなかった。今後、他の種に対するさらなる選抜が必要と考えられた。

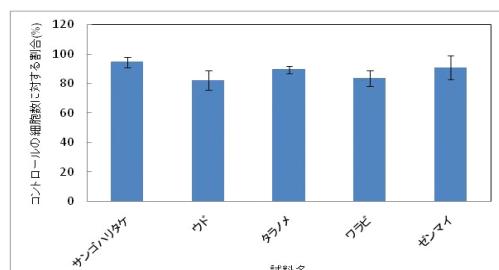


図 2-2 70% エタノール抽出物の HL60 細胞増殖への影響



写真 2-2 HL60 細胞(コントロール)

3. 県産ナメコの化学成分組成

福島県は全国に先駆けてナメコの人工栽培を開始し、2003～2008年の間は年間約2千トンを生産し、全国4位の生産量を誇っている⁷⁾。また、県の重要な特用林産物であるナメコについて、付加価値向上やさらなる消費拡大を図ることが望まれている。

一方、ナメコを食品素材として多くの加工食品に使用することが可能となれば、消費が拡大すると考えられるが、成分科学的研究がほとんど実施されていないため食品素材としてのナメコの優位性が未解明である。特に、ナメコは子実体が粘性物質で取り囲まれており、他の栽培きのこに無い特徴を有しているが、その構成成分に検討を加えた例は無い。そこで、ナメコ子実体を構成する基本的成分を明らかにする目的で、ナメコ子実体を粘性物質（GF）とそれ以外の傘と柄の部分（FF）に分離し、それぞれの基本的構成成分を検討した。

3. 1 実験方法

3. 1. 1. 供試試料

ナメコは、市販菌を空調栽培し、発生した子実体を収穫後水洗したものを県内生産者より購入した。これを粘性物質とそれ以外の傘と柄の部分に分離し、それぞれを凍結乾燥し、五酸化リン入り真空デシケーター中に放置して乾燥し、供試試料 GF、FF とした。

3. 1. 2. 供試試料の粉碎と分画

供試試料は、植物細胞壁の分画方法⁸⁾に準じて粉碎、分画した。

3. 1. 2. 1. 粉碎処理

GF と FF をそれぞれステンレス製ポットに入れ、振動式粉碎器により 2 分間粉碎して粉末とした。

3. 1. 2. 2. エタノール：ベンゼン混液抽出

GF と FF の粉末をそれぞれ三角フラスコに入れ、20 倍量のエタノール：ベンゼン（1:2）混液を加えた。冷却器を付け、85 °C の湯浴中で 2 時間加熱後上清を分取した。続いて新たなエタノール：ベンゼン（1:2）混液を加えて同様の処理を 3 回繰り返し、エタノール：ベンゼン（1:2）混液可溶部を集めて濃縮乾固し、エタノール：ベンゼン混液可溶部とした。不溶部は風乾後、五酸化リン入り真空デシケーター中に放置して乾燥した。

3. 1. 2. 3. 70%エタノール抽出

乾燥した GF と FF のエタノール：ベンゼン混液不溶部に 20 倍量の 70 %エタノールを加え、85 °C の湯浴中で 2 時間加熱後上清を分取した。続いて新たな

70 %エタノールを加えて同様の処理を 3 回繰り返し、70 %エタノール可溶部を集めて濃縮乾固して 70 %エタノール可溶部とした。不溶部は風乾後、五酸化リン入り真空デシケーター中に放置して乾燥した。

3. 1. 2. 4. プロテイナーゼ処理

乾燥した GF と FF の 70 %エタノール不溶部を 20mM リン酸緩衝液（pH6.5）に懸濁した。これにプロテイナーゼ K (SIGMA-ALDRICH 製) と数滴のトルエンを加え、37 °C で二日間攪拌した。続いて 100 °C で 10 分間加熱し、蒸留水で十分透析した後、濃縮し、凍結乾燥した。得られた画分は五酸化リン入り真空デシケーター中に放置して乾燥した。

3. 2 実験結果及び考察

3. 2. 1. ナメコ子実体の構成成分

ナメコは福島県の主要な特用林産物である。ナメコを食品素材とした加工食品を創る上で、ナメコの成分科学的優位性を明らかにする必要がある。そこで、県内生産者の生産するナメコ子実体を試料として、まずナメコ子実体を粘性物質（GF）とそれ以外の傘と柄の部分（FF）に分けた。GF と FF の乾燥重量の割合は約 1:2 であった。FF は傘と柄であり、他の栽培きのこであれば子実体そのものであるが、ナメコはこの FF を取り囲む GF が、FF の約 1/2 に達する重量を占める主要な構成要素であることがわかった。

続いて、GF、FF の構成成分を図 3-1 に示した方法に従って分画した。GF をまずエタノール：ベンゼン混液抽出した結果、エタノール：ベンゼン混液抽出物は約 3 % であった。エタノール：ベンゼン混液による加温抽出では、脂質が得られる。エタノール：ベンゼン混液可溶部を除去した GF を 70 %エタノール抽出した結果、可溶部が約 20 % 得られた。70 %エタノール可溶部は主にアミノ酸、オリゴ糖、糖アルコールである。70 %エタノール不溶部は、主に多糖類とタンパク質から構成される。そこで、強いタンパク質分解作用を有するプロテイナーゼ K により除タンパク処理を行った。その結果、この処理により減少したのは約 2 % で、GF のタンパク質含量は極めて低いことがわかった。また、70 %エタノール不溶部は 98 % が多糖類であると見積もられた。従って、GF は乾燥重量の約 75 % を多糖類が占める多糖類の豊富な画分であることがわかった。

FF はエタノール：ベンゼン混液可溶部が約 6 % で、70 %エタノール可溶部は約 32 % と GF に比べてやや多かった。また、70 %エタノール不溶部は除タンパク処理により約 15 % 減少し、GF に比べてタンパク質の占める割合が高く、多糖類の占める割合が低いことがわかった。

各種の抽出によって明らかとなった GF と FF の構成成分の重量百分率を図 3-2、3-3 に示した。

以上の実験から GF は 75 %以上が、FF も 53 %以上が多糖類であることが示された。従って、ナメコ子実体は食物繊維を豊富に含む食品としての機能が期待されることが示された。食物繊維は、整腸作用、インスリン分泌非刺激性、肝機能改善・血清脂質改善作用等を有している⁹⁾。従って、ナメコ子実体は、機能性素材原料として有望な素材であると考えられる。

3. 3.まとめ

福島県の主要な生産物であるナメコの付加価値を向上させ、同時に消費量を拡大させる食品素材としての

用途を検討するため、ナメコ子実体の基本的構成成分を明らかにした。県内生産者から購入したナメコ子実体を粘性物質 (GF) と傘と柄の部分 (FF) に分離し、その乾燥重量を求めた結果、GF : FF は約1:2の重量比であった。GF、FF をそれぞれエタノール：ベンゼン混液に続き 70 %エタノールで抽出し、不溶部をプロテアーゼ処理した。その結果、GF は 75 %以上が多糖類であることがわかった。一方 FF は GF に比べタンパク質や 70 %エタノール可溶部の割合が高く多糖類の割合が低かった。しかし、FF も 53 %以上が多糖類であった。GF、FF 双方ともその大半を多糖類が占めており、ナメコは食物繊維としての機能を発揮する優れた食品素材になり得ると考えられた。

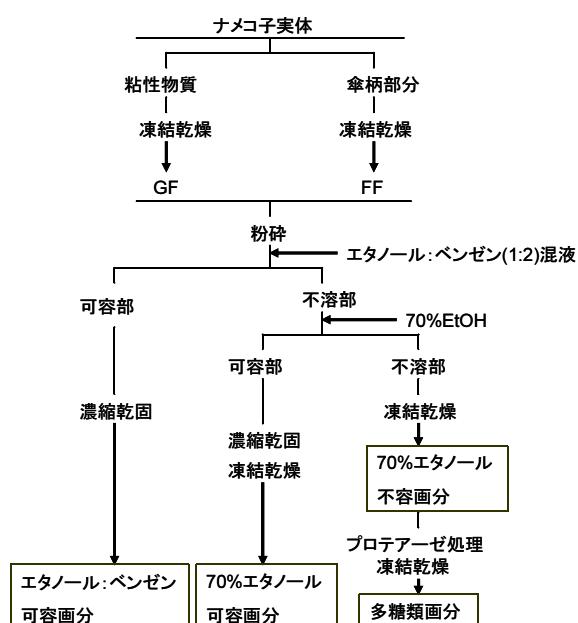


図 3-1. ナメコ子実体の分画方法

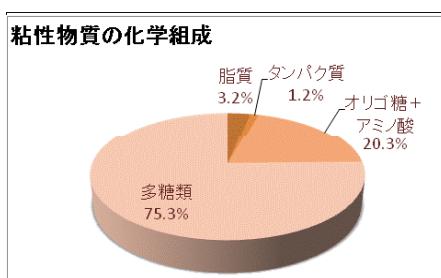


図 3-2. GFの構成成分

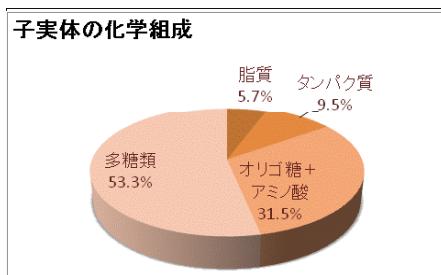


図 3-3. FFの構成成分

4. 県産ナメコの食品素材化技術の検討

ナメコ生産は 99 %が空調栽培を中心とした菌床栽培である¹⁾ことから、栽培方法に適した菌株の供給等により通年で栽培が可能になっている。しかし、ナメコを含め、生食用きのこは全般に夏期に消費量が落ち込むため、生産者は生産量を抑えざるを得ない。このため、通年の安定生産につながる生食以外の利用が望まれている。また、子実体の収穫や選別時に規格外のものも得られるが、これらは廃棄されることが多いことから、生産者の収益向上のため、それらの有効利用方法の開発が望まれている。これらの問題を解決するには、保存可能な食品素材の開発と、その用途開発が有効であると考えられる。

一方、食品としてのナメコの優位性を明らかにするために、当報告第 3 項で福島県産ナメコ子実体の構成成分を検討した結果、粘性物質部分、傘と柄の部分の

双方とも多糖類を豊富に含み、食物繊維としての機能を発揮することが期待される有望な食品であることがわかった。

本項ではナメコを食品素材とするために、始めに保存温度と殺菌条件について検討し、続いてその条件を基に殺菌後、食品素材となる粉末の調製を試みた。さらに、この粉末を用いた加工食品を試作した。

4. 1. 実験方法

4. 1. 1. 供試試料

市販菌を空調栽培し、発生したナメコ子実体を収穫後水洗したものを県内生産者より購入した。

4. 1. 2. 供試試料の保存温度

供試試料を約 20 g ずつポリエチレン製の袋に入れ、4 °C 及び 15 °C の恒温器で 3 日間及び 7 日間放置した。

4. 1. 3. 供試試料の加熱

供試試料を約 20 g ずつポリエチレン製の袋に入れ、60 °C、70 °C、80 °C湯浴中で 10 分間又は 30 分間加熱した。また、オートクレーブで 111 °C 40 分間加熱した。

4. 1. 4. 生菌数の測定¹⁰⁾

供試試料を 5 g ずつポリエチレン製の袋に入れ、滅菌した 0.85 % NaCl 水溶液を 45ml 加えて 2 分間攪拌した。この上澄みを 1ml 分取し、9ml の 0.85 % NaCl 水溶液を加えて 10^{-2} 倍希釈液とした。続いて、同様にして 10^{-6} 倍希釈までの試料液を調製した。

各試料液 1ml を一般生菌測定用標準寒天培地に混合し、37 °C の恒温器で 2-3 日培養した後、生菌に由来するコロニー数を計測し、希釈率から生菌数を算出した。

4. 1. 5. ナメコ粉末の調製

供試試料を 105 °C で 20 分間加熱処理した後、-20 °C で凍結した。これを大型フリーズドライヤーで凍結乾燥した。続いて、粉碎器を用いて粉碎し、0.2mm の篩を通過させてナメコ粉末とした。

4. 1. 6. 加工食品の試作

ナメコ粉末を添加したアイスクリーム、パンを試作した。

4. 2. 実験結果及び考察

4. 2. 1. ナメコの食品素材化

ナメコは福島県の主要な特用林産物であり、生食以外の用途開発が望まれている。一方、ナメコは食物繊維に富む食品であることが前項にて明らかとなった。そこで、ナメコを食品機能性が期待される食品素材とすることを試みた。

はじめに、衛生的な食品素材とするための殺菌条件を生菌数を指標に検討した。ナメコの温度と日数を変えて保存した結果を図 4-1、4-2 にそれぞれ示し

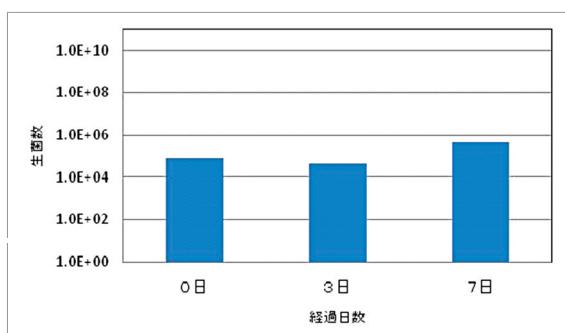


図 4-1. ナメコを4°Cで保存した場合の生菌数

た。ナメコは一般的冷蔵温度である 4 °C で保存した場合、7 日後も生菌数はほとんど変化しないことが示された。しかし、15 °C で保存すると、生菌数は 7 日後には腐敗の指標である 1g 当たり 1×10^7 個を超えていた。従って、ナメコは 4 °C 以下で冷蔵保存することが必要であることがわかった。続いて、温度、時間を変えて加熱処理した後に生菌数を測定した結果を表 4-1 に示した。本研究で設定した条件は、60 °C 10 分が最も穏和であったが、この条件下でも 1 g 当たりの生菌数は 300CFU 以下となることがわかった。しかし、大量にナメコを処理する場合等は、温度むらが発生しないようにするなどの注意が必要である。

以上の検討結果を基に、ナメコ子実体からナメコ粉末を調製した（写真 4-1）。この粉体は調製後大気中で吸湿してゲル状になる等の変化は認められず、安定した食品素材であった。

4. 2. 2. ナメコ粉末を用いた加工食品の試作

ナメコ粉末を添加して作成した試作品を写真 4-2 に示した。ナメコ粉末の添加により、添加しない場合と比較して風味、歯ごたえ等食感の異なる食品が試作できた。ナメコ粉末は、他の食品に広く適用できる食品素材となり得ると考えられ、地域特産品としての利用はもちろん、機能性素材原料としても有望な素材であると考えられる。

4. 3. まとめ

福島県の主要な特用林産物であり、食物繊維を豊富に含むナメコについて、食品素材化方法について検討した。ナメコの保存温度及び殺菌条件を一般生菌数を指標に調べた結果、保存は 4 °C、殺菌は 60 °C 10 分以上が適することが分かった。この条件を基に保存、殺菌した後、フリーズドライし、粉碎することで食品素材であるナメコ粉末を得ることができた。続いて、このナメコ粉末を添加した加工食品を試作した。ナメコ粉末は多くの食品に添加出来る食品素材であると考えられた。

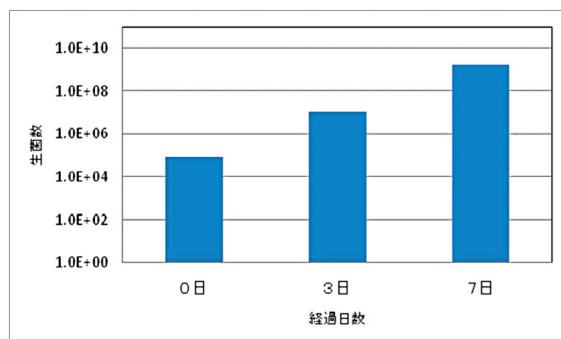


図 4-2. ナメコを15°Cで保存した場合の生菌数

表 4-1. 殺菌条件と生菌数

温度(°C)	時間(分)	生菌数(CFU/g)
未処理		1.3×10^5
60	10	300以下
	30	300以下
70	10	300以下
	30	300以下
80	10	300以下
	30	300以下
111	40	300以下



写真 4-1. 食品素材・ナメコ粉末



写真 4-2. ナメコ粉末を添加して作成した加工食品

5. 結論

地域ブランド機能性食品作りに適した食品素材を選抜する目的で、まずははじめに食品機能性の高いきのこ・山菜類の選抜を試みた。県産きのこととしてブナハリタケとサンゴハリタケを、山菜としてネマガリタケ、タラノメ、ワラビ、ウド及びゼンマイを試料とし、アセトン抽出物及び 70 %エタノール抽出物を調製し、HL60 細胞に対する細胞増殖阻害とアポトーシス誘導効果を検討した。その結果、いずれの抽出物も細胞増殖阻害が弱く、ほとんどアポトーシス誘導が観察されなかった。今後、さらにきのこ・山菜を選抜する必要があると考えられた。

次いで、全国 4 位の生産量を誇るナメコを対象として、食品機能性の期待できる成分を有するか否か明らかにする目的で、県産ナメコの構成成分を検討した。県内生産者からナメコ子実体を購入し、粘性物質(GF) とこれ以外の傘と柄部分(FF)に分けた結果、GF と FF の重量比は約 1:2 であった。また、GF、FF をそれぞれエタノール : ベンゼン混液に続き 70 % エタノールで抽出し、残渣をプロテイナーゼ処理した。その結果、GF は約 75 % が、FF は 53 % が多糖類であると見積もられた。従って、ナメコ子実体は食物纖維を豊富に含む食品素材として有望であると考えられた。そこで、県産ナメコを食品素材とするための諸条件

を検討した。県産ナメコより衛生的な食品素材を調製する目的で、一般生菌数を指標に保存温度及び殺菌条件を検討した結果、保存は 4 °C が適すること、また、加熱処理は 60 °C 10 分以上の条件で生菌数は試料 1 グラム当たり 300CFU 以下となることがわかった。続いて、この条件下で加熱処理したナメコ子実体を凍結乾燥後、粉碎することでナメコを粉末化し、食品素材とすることが出来た。さらに、ナメコ粉末を添加した食品を試作した。ナメコ粉末は多くの食品に添加し得る食品素材であると考えられる。

謝辞

一般生菌数の測定方法を研修していただいたハイテクプラザ会津若松支援センターの鈴木英二主任研究員に深謝いたします。また、加工食品の試作にご協力頂いた料理サークル Cooking mama の皆さんに深謝いたします。

参考文献

- 1) 平成 18 年福島県森林・林業統計書(平成 17 年度), 福島県農林水産部, pp89-104.
- 2) 農林水産省農林水産技術会議事務局農林水産省 食品総合研究所編集・発行(平成 11 年 1 月第 1 刷 発行) 食品の機能性評価マニュアル集
- 3) K. Hata et al., Biol. Pharm. Bull., 23, 962-967 (2000).

- 4) 木村・他, 日本食品科学工学会誌, 49(4), 257-266 (2002).
- 5) 武井・他, 福島県林業研究センター研究報告, 39, 51-60 (2006).
- 6) T. Takei *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69(1), 212-215 (2005).
- 7) 平成 18 年福島県森林・林業統計書(平成 17 年度), 福島県農林水産部, pp3.
- 8) Y. Kato and K. Matsuda, *Plant. Cell. Physiol.*, 17, 1185-1198 (1976).
- 9) 日本応用糖質学会東日本支部監修・日高秀昌・坂野好幸編, 学会センタ関西学会出版センター, 糖と健康, pp78-81 (1998).
- 10) 東京都立食品技術センター編集・発行, 食品の微生物検査法 (テクニカルガイド3), pp 23-30 (1998).

5. ブルーベリーとキノコの感染症予防効果の検討

福島県立医科大学 医学部 微生物学講座

地域特産資源を活用したふるさとブランド機能性食品の開発

—ブルーベリーとキノコの感染症予防効果の検討—

Development of functional foods that used local product resources

— Study of blueberry and mushrooms as designed foods for prevention of hypertension in Spontaneous Hypertensive Rats —

福島県立医科大学 医学部 微生物学講座

福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター醸造・食品科

福島県林業研究センター林産資源部

錫谷達夫・森 修一・生田和史

関澤春仁

武井利之

福島県産の農産物を原料とした感染症予防効果のある健康食品の開発を目的に、ブルーベリーとキノコ類の機能性を検討した。ブルーベリーには強い抗単純ヘルペスウイルス、抗A型インフルエンザウイルス活性があり、この活性は乾燥粉末としたブルーベリーの熱湯抽出液にも証明された。キノコの免疫賦活能をマウスを用いた *in vivo* の実験で行ったが、有意な効果は検出できなかった。

Key words : ブルーベリー、ナツハゼ、ハーブティー、ポリフェノール、インフルエンザウイルス

1. 緒言

1. 1. ブルーベリーの機能性食品としての可能性

食通で知られるフランス人はカロリーの高い食事と大量のアルコールを摂取するにもかかわらず、動脈硬化を基盤とする生活習慣病に罹りにくいことが知られていた。この不思議な現象を French paradox (フランスの逆説) と呼ぶ。最近の研究から、赤ワインにはアントシアニンを主体とするポリフェノールが豊富に含まれ、これが生活習慣病予防に有効であることが明らかにされた。日本でも赤ワインがブームとなり、スーパーの棚から姿を消したことは記憶に新しいところである。

植物には 5000 種を越えるポリフェノールが存在し、それぞれに異なった生理作用があるものと想像される。その中でアントシアニン類は紫色の色素成分で、ブドウやブルーベリー、カシス、クランベリーなどに大量に含まれている。ポリフェノールの共通した性質として抗酸化作用を有することが知られているが、その他にブドウのアントシアニンには癌の抑制や中枢神経細胞の老化に伴う減少を予防することが知られている。また、クランベリージュースには尿路感染を治療する効果があり、欧米では医師によって膀胱炎の治療に処方されている。ブルーベリーは眼精疲労に有効であるとされ、健康食品として広く市場で販売されている。しかし、こういった健康食品の効果の中には医学的な根拠が明らかにされていないものも多く、厚生労働省でも国立栄養研究所を中心に科学的な研究に力を入れている。

そこで本研究では、福島県でも栽培されているブルーベリーの持つ微生物に対する作用に焦点を当てて、その効果を明らかにする。

1. 2. キノコの機能性食品としての可能性

キノコの中には抗ガン剤として医薬品の原料になっているものがある。例えばカワラタケから作られるクレスチン、シイタケから作られるレンチナンがこれにあたる。一方、医薬としての認可を受けていないものの、民間療法の目的や健康食品として市場に出回っているものとしてアガリスクやメシマコブなどが有名で、こういったキノコの市場は 1000 億円に及ぶ。

キノコの抗癌作用には直接癌細胞を殺す作用と免疫を高めて癌細胞を殺す作用があると考えられる。後者の機能は癌にかかわらず、感染症にも有効なはずで、感染症予防の健康食品としての研究を進めれば市場を拡大出来る。そこで、本研究では福島県産のキノコを用い、マウスの実験系で natural killer cell (NK) 活性に及ぼすキノコの効果を検討する。

2. 実験と方法

2. 1. 材料

ブルーベリーの抗ウイルス活性は、2007 年に収穫されたブルーベリーをハイテクプラザでジュースあるいは乾燥して粉末にしたもの用いて調べた。

ジュース原液は遮光し、4 °C にて保存した。調べた品種はナツハゼ、エックス、エリオットである。対照として尿路感染症治療に欧米で使われているクランベリージュースを調べた。クランベリージュースは非加熱の果汁で、50 % 濃度で市販されているもの（マイカルコーポレーション販売）を購入して用いた。これらのジュースは水で希釀後、微生物除去の目的で 3000 rpm 10 分遠心し、その上清を用いた。また、pH の影響をなくす目的で、一部の実験は NaOH で中和したジュースを用いた。

ナツハゼについては乾燥粉末を調製し、市販されている紅茶、ハーブティーを対照に熱湯抽出した溶液の抗ウイルス活性を調べた。

表1. 研究に用いた市販のハーブティー

産地またはメーカー	
紅茶	ウバ
	アッサム
	ダージリン
カモミールフラワー	ポンパドール
レモンバームリーフ	ポンパドール
ペペermintリーフ	ポンパドール
ローズヒップ&ハイビスカス	ポンパドール
ハイビスカス	ポンパドール
リンデンフラワー	ポンパドール
マローブルーフラワー	ポンパドール

抗ウイルス活性を調べるために熱湯抽出液は以下のように調製した。乾燥ナツハゼあるいはハーブティー 1 g に熱湯 50 ml を加え 30 秒に一回軽く攪拌しながら 3 分間抽出した。この抽出液を茶こしでこした後、10,000 rpm にて 10 分間遠心し、無菌となった上清を研究に用いた。

キノコは福島県林業研究センターで乾燥粉体としたナメコ、マイタケ、生シイタケ、乾燥シイタケを調べた。マウスの餌として投与する際は、マウスの固形飼料を乳鉢で粉砕し、茶こしで振るって細かい粒子を選別後、この粉末にキノコ粉末が重量比として 20 % となるよう加え、乳鉢で均一となるまでさらに混和した。この餌をマウスに 3 日間自由摂食させた。

2. 2. ウィルス株と宿主細胞株

研究には単純ヘルペスウィルス 1 型 (herpes simplex virus type 1; HSV-1) VR-3 株と A 型インフルエンザウィルス (influenzavirus A; IFV-A) PR8 株 { (influenza virus A/PR/8 (H1,N1)} を用いた。HSV-1 の実験にはアフリカミドリザルの腎細胞株 Vero 細胞を、IFV-A の培養にはイヌ腎細胞株 MDCK 細胞を用いた。

2. 3. ブルーベリーのウィルスの増殖抑制活性

ブルーベリーのウィルス増殖抑制活性はプラーク減少法にて計測した。

HSV-1 の実験は次のように行った。24 穴培養用プレートで Vero 細胞を培養し、単層培養となったものに 1 穴あたり 20 ~ 30 PFU (plaque forming unit; プラーク形成単位) の HSV-1 を加え、1 時間吸着した。吸着後、最終濃度 4, 1, 0.4, 0.1, 0.04 % となるように 2 % 仔牛血清、0.5 % メチルセルロース 4000 (nakalai tesque) を添加した Dulbecco's modified minimum essential medium (DMEM; 日水製薬) に果汁を加えた培地を重層し、5 % CO₂ インキュベータで 4 日間培養した。培養後、細胞をリン酸緩衝液で中和した 10 % ホルマリンで固定し、クリスタルバイオレットで染色、肉眼でプラーク数を数えた。ジュースの濃度とプラーク数の関係をグラフにし、グラフからプラーク数が 50 % に減少する濃度 (50 % inhibitory

concentration; IC₅₀) を求めた。

IFV-A の実験には 12 穴の培養用プレートで単層培養となつた MDCK 細胞を用いた。各穴に 10 ~ 20 PFU の IFV-A を 1 時間吸着後、最終濃度 4, 1, 0.4, 0.1, 0.04 % となるようジュースあるいは乾燥粉末の熱湯抽出液を 60 °C に保温した 0.2 % ウシ血清アルブミン、1 % アガロース添加 DMEM 培地に加え、感染細胞に重層した。20 分室温で放置してアガロースを固化させた後、35 °C の CO₂ インキュベータで 2 日間培養した。10 % ホルマリンで固定後、クリスタルバイオレットで染色、肉眼でプラーク数を数えた。HSV-1 と同様の方法でグラフから IC₅₀ 値を求めた。

ウィルスの増殖抑制が認められた果汁については、果汁と培地を混ぜた際に活性酸素が生じ、ウィルス増殖をおさえる可能性を否定するために、カタラーゼ処理を加えた実験を追加した。この実験の際には、培地にジュースを規定濃度で添加後、最終濃度 200 IU/ml のカタラーゼを加え、37 °C にて 1 時間保温して活性酸素を除去してから感染細胞に重層した。

2. 4. ブルーベリーのウィルス感染抑制作用

ブルーベリーにウィルスの感染を抑制する作用があるか否かは、ブルーベリージュースとウィルス、宿主細胞の 3 者が共存する条件下で 5 分間ウイルス吸着反応を行い、細胞に感染したウイルス数を計測する方法で調べた。

HSV-1 では 24 穴培養用プレートで単層培養となつた Vero 細胞を、IFV-A では 12 穴培養用プレートに単層となつた MDCK 細胞を用いた。この細胞に 10 倍段階希釈したウイルス液と最終濃度 1 または 0.1 % となるように培地で希釈したブルーベリージュースやブルーベリー、ハーブティーの抽出液を加え、5 分間攪拌しながら室温でウイルスの吸着を行った。吸着後、ウイルス液とジュースの混合液を除去、さらに細胞を 2 回培地で洗浄した後、HSV-1 では 0.5 % メチルセルロース加、IFV-A では 1 % アガロース加 DMEM 培地を重層し、それぞれ 4 日間、2 日間 5 % CO₂ インキュベータで培養した。培養後、ホルマリン固定、クリスタルバイオレット染色を行って、プラーク数から吸着したウイルスの数を測定した。

2. 5. ブルーベリージュースの尿路感染治療効果

ブルーベリージュースを飲んだ後に尿路感染を予防、治療出来る物質が尿に排泄されるか否かをボランティアに協力してもらって調べた。ボランティアには朝食はいつもものとおり摂ってもらうが、水以外は飲まないように指導した。朝 9 時、採尿後ジュースを飲んでもらい、2 時間後の 1 時にもう一度採尿した。この 2 つの尿サンプルに、前日からハート・インフュージョン培地で培養した大腸菌を 1/1000 容加え、37 °C で 6 時間振とう培養した。培養後、尿をリン酸緩衝液で 10 倍段階希釈し、その 50 μl を直径 90 mm のシャーレに作成した LB agar 培地に加え、ス

プレッダーで均一に広げた。1晩 37 °C で培養し、出現したコロニーの数から尿中での大腸菌の増殖を計測した。

2. 6. キノコのマウス NK 活性に及ぼす作用

8週齢の C57BL/6 マウスにキノコの乾燥粉末を 20 % 加えた餌を自由節食の条件で与えた。餌を与えて3日後、エーテル麻酔下に脾臓を摘出した。その脾臓をウシ胎児血清を 10 % 添加した RPMI 培地中、メッシュで擦りつぶし、脾細胞を回収した。この溶液を Lympholite M に重層し 2,000 rpm 10 分、室温で遠心後、境界面に出来た単球のバンドを回収した。同じ操作をもう一度繰り返した後、単球を3回培地で洗って得られた pellet をフェノールレッド不含、ウシ胎児血清 5 % 添加 RPMI にて 2.5×10^7 , 6×10^6 , 1×10^6 cells / ml に浮遊させ、NK assay の effector cells とした。

NK assay のターゲット細胞には YAC-1 細胞を用いた。ウシ胎児血清を 10 % 加えた RPMI 培地で培養した YAC-1 細胞はフェノールレッド不含 RPMI 培地で1回洗浄後、同培地で 1×10^6 cells / ml に調整した。こうして調整した target cells と effector cells を U 底の 96 穴プレートに $100 \mu l$ ずつ加えて攪拌後、2000 rpm で 5 分間遠心し、CO₂ インキュベータで4時間培養した。その上清 $50 \mu l$ を使って lactate dehydrogenase (LDH) の活性をキットで測定し、NK 細胞によって傷害された細胞を定量した。

3. 結果

3. 1. ブルーベリーの性状

実験を行うにあたって、ブルーベリーの pH を測定した。原液では pH 2~3 であり、ポリフェノール含有量が多いほど酸性度が強い傾向が認められた。細胞培養に用いる培地に最終濃度 1 % で加えた場合、培地のバッファー作用でほぼ中和され、酸によるウイルスの不活化の可能性は低いと考えられたが、濃度の高いところでは pH に注意が必要であると思われた。

表2. ブルーベリーのpH と
ブルーベリーを添加した培地のpH

	原液	1 %
ナツハゼ	2.69	7.08
エリオット	2.69	7.11
エックス	3.29	7.58

ブルーベリーを希釈すると、3つの品種でその色からもアントシアニンの含量に大きな違いがあることが予想された。また、中和すると紫色から黒色に色が変化した。

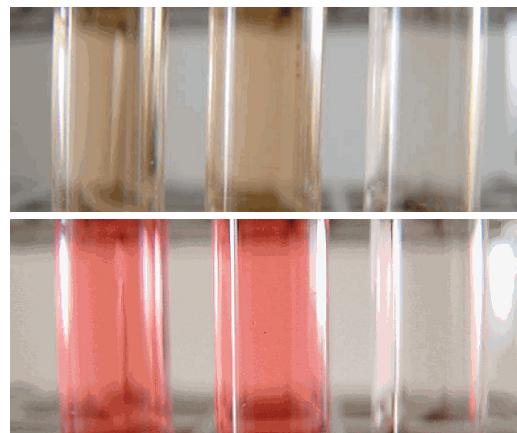


図1. 1% 水溶液の色調

上段は水で希釈したもの、下段は希釈し中和したもの
左からエリオット、ナツハゼ、エックス

3. 2. ブルーベリーの抗ウイルス活性

plaque inhibition法により、ウイルスの増殖を 50 % 抑制するのに必要なブルーベリージュースの濃度を HSV-1 と IFV-A について調べた。

表2のとおり、ナツハゼやエリオットを培地に 1~2 % 添加すると HSV-1 の細胞内での増殖は阻害され、出現するplaques数は 50 % に減少した。エックスは HSV-1 には全く効果を示さなかつたが、IFV-A にはむしろ効果が強かつた。全般的に IFV-A に対する抗ウイルス作用の方が数倍強い。

表3. ブルーベリーの抗ウイルス活性 (%)

	HSV-1	IFV-A
ナツハゼ	1.4	0.64
エリオット	1.7	0.79
エックス	> 4	0.23
クランベリー	2.3	1.3

plaques数を 50 % 抑制するジュースの濃度を % で示した。

この抗ウイルス作用がブルーベリーの酸によってもたらされるものであるか否かを明らかにするために、NaOH で中和した果汁を用いて同様の実験を行った。

表4. 中和したブルーベリーの抗ウイルス活性 (%)

	HSV-1	IFV-A
ナツハゼ	1.6	0.6
エリオット	1.6	2.7
エックス	> 10	0.5
クランベリー	4.2	0.9

抗 HSV-1 作用については中和しても大きな変化は認められなかった。一方、エリオットの抗 IFV-A のみは中和によって軽度の活性低下が認められた。しかし、これは実験誤差範囲内で、有意な差ではなかった。従って、ブルーベリーの抗ウイルス作用は酸によってもたらされたものではないことが明らかになった。

果汁によっては細胞培養用の培地に混和した際に活性酸素を発生させるものがある。ブルーベリーの抗ウイルス活性が活性酸素によるものではないことを明らかにするため、培地にカタラーゼを添加し、ブルーベリー混和後 1 時間以上 37 °C で保温して活性酸素を除去し、抗ウイルス活性の測定に供した。

表5. 活性酸素を除去した条件下での中和
ブルーベリージュースの抗 HSV-1 作用 (%)

	HSV-1
ナツハゼ	1.8
エリオット	1.6
クランベリー	5.7

カタラーゼを加えてもブルーベリーの抗ウイルス活性には全く変化が認められなかったことより、ブルーベリーが含有する成分そのものに抗ウイルス活性があることが明らかとなった。

3. 3. ブルーベリーのウイルス吸着阻害作用

ブルーベリーが細胞内でのウイルス増殖のいずれかの過程を阻害することが以上の研究から明らかとなつたが、ウイルスの細胞への吸着を抑えるか否かを明らかにするため、吸着反応系にブルーベリーを加えて阻害効果を測定した。反応時間はブルーベリーをのど飴などに加工することを考え 5 分間とした。

表6. ブルーベリーの 50 % 吸着阻害活性 (%)

	HSV-1	IFV-A
ナツハゼ	> 1	0.64
エリオット	> 1	0.68
エックス	> 1	> 1
クランベリー	> 1	0.06

ウイルスの細胞への吸着を 50 % 抑えるジュースの濃度を % で示した。

HSV-1 は少なくとも 1 % 濃度のブルーベリー や クランベリー によって吸着は抑えられなかつたが、IFV-A はエックスを除くブルーベリー、 クランベリー によって吸着が阻害され、その 50 % 抑制濃度は 1 % 以下であった。

3. 4. 乾燥粉末にしたブルーベリーの抗インフルエンザ活性

ブルーベリーの使用法の多様化を目指し、乾燥粉末としても抗ウイルス活性が認められるか否かをインフルエンザを用いて検討した。茶には抗インフルエンザ活性があることが明らかとされているので、市販のハーブティーを対照に、熱湯抽出した液の活性を調べた。

インフルエンザウイルスの増殖を抑える活性はブルーベリーとリンデンフラワーのみに認められた。ブルーベリーの抗ウイルス活性は高く、ウイルスの増殖を 50 % 抑制する活性が、110.9 倍希釈した抽出液で認められた（表6）。一方、ウイルスの感染性をなくし、細胞に感染できなくなる効果（消毒効果）はブルーベリーと紅茶、リンデンフラワーに認められた。これらの熱湯抽出液では、4 倍希釈したもので 92 % 以上のウイルスの感染性をなくせることから、お茶として飲用した場合、唾液で希釈されたとしても口腔や咽頭に存在するかなりのウイルスを不活化できるものと期待できる。特に、ブルーベリー抽出液は 99.4 % のウイルスを不活化できた。

表7. 各種熱湯抽出液の抗インフルエンザウイルス活性

サンプル名	増殖抑制活性 (50%抑制を示す希釈倍率)	4 倍希釈液の吸着阻害活性 (%)
ブルーベリー (ナツハゼ)	110.9 ± 47.1	99.4 ± 0.7
紅茶 (ウバ)	< 40 ×	> 99.5
紅茶 (アッサム)	< 40 ×	92.7 ± 1.8
紅茶 (ダージリン)	< 40 ×	98.6 ± 0.1
カモミールフラワー	< 40 ×	ND*
レモンバームリーフ	< 40 ×	ND
ペパーミントリーフ	< 40 ×	ND
ローズヒップ&ハイビスカス	< 40 ×	ND
ハイビスカス	< 40 ×	ND
リンデンフラワー	46.3 ± 4.4	97.3 ± 1.4
マローブルーフラワー	< 40 ×	ND

ND; not detected

3. 5. ブルーベリーの尿路感染症治療薬・予防薬としての可能性

クランベリーの尿路感染症治療効果はクランベリーに含まれる馬尿酸による尿中での細菌増殖抑制効果、ポリフェノールによる菌の膀胱壁への定着抑制効果などによってもたらされると報告されている。そこで、ブルーベリー摂取後の尿での大腸菌の増殖を調べた。

朝起床後、緑茶などポリフェノールを含む食品の摂取を禁止したボランティアの尿を採取後、50% に水で希釀したジュース 200 ml 飲んでもった。2 時間後の尿を採取し、ジュース接種前の尿と比較検討した。これらの尿に一定数の大腸菌を加えて 6 時間培養後、尿中の菌数を定量した結果を表 7 にまとめた。

表8. ジュース摂取後の尿での大腸菌の増殖 (%)

ボランティア	クランベリー	ナツハゼ
A	45	74
B	125	99
C		102

摂取前の尿での菌の増殖に比較した割合

ナツハゼを摂取した後の尿に菌の増殖を抑制する物質があるという明らかな結果は得られなかつた。また、陽性コントロールとして用いたクランベリーにも明らかな効果は認められなかつた。

3. 6. キノコの NK 活性増強作用

C57BL/6 マウスに 3 日キノコを摂食させ、NK 活性が増強するか否かを検討した。結果が一定せず、有意な結果は得られなかつたが、その大まかな傾向を見ると、

1) ナメコ、マイタケ、生シイタケには有意な NK 活性賦活作用は認められない。

2) 乾燥シイタケの粉末には NK 活性の賦活作用が認められる。

という結果が得られた。上記の傾向から、マウスを用いた *in vivo* の実験系で検出できるほどの免疫活性化の効果を経口摂取したキノコで証明するのは困難であると考えられた。

4. 考察

4. 1. ブルーベリーの健康食品としての可能性

今回、ポリフェノールの含量、アントシアニンの含量が大きく異なる 3 品種のブルーベリーを検討した。3 種のうちナツハゼ、エリオットには HSV-1 と IFV-A の細胞内での増殖を抑制する活性が確認出来た。調べたジュースのアントシアニン量はナツハゼ 2.09 mg/g、エリオット 0.85

mg/g、エックス 0.35 mg/g で、大きな差があるにもかかわらず、ナツハゼとエリオットの抗ウイルス効果に差がなかった。このことから、i) 抗ウイルス作用はアントシアニンによるものではないか、ii) 仮にアントシアニンだとした場合には、アントシアニン類の総量に反映しない微量のアントシアニンが作用している可能性が示唆された。植物の成分は、栽培した気候や土壤に大きく影響されることが知られている。健康食品を作るうえで、効能を均一に保つためには効果を示す成分を明らかにする必要がある。また、有効成分が明らかにされ、摂取後の血中濃度が明らかにされない限り、体内で機能を発揮していることは証明出来ない。今後、有効成分を明らかにする研究が望まれる。

のど飴などを考える際には、ウイルスの感染価を下げる成分は喉で作用すれば良く、腸管から吸収される必要はない。従って、健康食品を開発するハードルはかなり下げられる。今回の実験条件では 1 % 程度の濃度 5 分間の処理で、ブルーベリーは IFV-A の感染価を半分に下げる事が出来た。今後更に多くの病原微生物に対する効果を検証する必要がある。

本実験に用いたジュースは果皮部を除いて作製しているためにポリフェノール量は生果実の 1 / 3 程度になっていた。果皮を利用する赤ワインに認められる抗酸化効果は白ワインには認められていない。ポリフェノールは果皮と種子に大量に含まれていることが知られている。果実を加工する際には、健康食品としての効能と食品としての味の問題があり、加工法による機能性の差は今後の課題であろう。

一方、今年度行ったブルーベリー乾燥粉末の抽出液の結果では 110.9 倍希釀液に 0.64 % のジュースと同じ活性が認められた。50 ml の熱湯で 1g 乾燥粉末から抽出したことを考えると、

- 1) 乾燥した粉末にはジュースにまさる抗ウイルス活性があること、
- 2) 熱を加えても活性はなくならないこと、
- 3) 比較的容易に有効成分が抽出できることが明らかとなつた。

乾燥することで長期の保存が可能となること、粉末にすることで利用法を多様化できることが期待でき、食品開発にブルーベリーを使う可能性が広がつた。今後、県内の食品メーカーと特産品の開発を進める必要がある。

4. 2. キノコの免疫増強効果

多くのキノコに免疫増強効果が認められ、抗ガン剤として実用化されているものもある。長野県の研究ではエノキダケを大量に摂取する農家の癌発生率が一般の人の半分程度になるという。本研究では調べたキノコのうち乾燥シイタケにのみ NK 活性の賦活効果が認められた。このシイタケは鳥取県が開発した品種で、各種活性成分の含量が多いことが明らかとなつてている。このような特殊な品種を除くと、活性が認められるものはなかつたことから、今後癌の予防を目指す健康食品を開発するためには、

- 1) 本県でも新たな品種を開発し、食材として、あるいは医薬の原料として付加価値の高い品種を開発する必要性がある。
- 2) キノコは栽培法によっても活性成分の量が変化するので、栽培法の検討も必要である。
本研究ではキノコの免疫に及ぼす効果をNK活性のみで検索した。しかし、食品が我々の免疫に強い効果を及ぼすことは期待できないばかりか、弊害があるとも考えられる。今後、食品の免疫に及ぼす効果を調べる新たな実験系を考案し、もっと弱い賦活能を検出する必要があると思われた。また、花粉症などのアレルギーが国民に広く広がっている現状を考えると、大きな市場を開拓するには、免疫を高める効果ばかりではなく、アレルギーを軽減する効果など、免疫の質を変える効果を測定できる系が必要である。

5. 結言

ブルーベリーには強い抗ウイルス作用が認められ、その作用は乾燥粉体の熱湯抽出液にも認められた。

今回検討したキノコに有意な免疫増強作用は検出出来なかった。キノコの品種改良や栽培法の改良と共に、活性を測定する新たな測定計の開発が必要である。

6. 自然発症高血圧ラットにおける ナメコおよびナツハゼの高血圧予防効果の検討

福島県立医科大学 医学部 細胞統合生理学講座

地域特産資源を活用したふるさとブランド機能性食品の開発

—自然発症高血圧ラットにおけるナメコおよびナツハゼの高血圧予防効果の検討—

Development of functional foods that used local product resources

— Study of blueberry and mushrooms as designed foods for prevention of hypertension in Spontaneous Hypertensive Rats —

福島県立医科大学 医学部 細胞統合生理学講座

挾間章博・勝田新一郎

三宅将生・小林大輔

福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター醸造・食品科

関澤春仁

福島県林業研究センター林産資源部

武井利之

8週齢の雄性自然発症高血圧ラット (Spontaneous Hypertensive Rat; SHR) を用い、福島県の特産品であるナメコおよびナツハゼ粉末をそれぞれ4週間摂取させた。投与2週間後より収縮期血圧、拡張期血圧および平均血圧はナメコおよびナツハゼ群ともコントロール群より有意に低い値を示した。血漿アンギオテンシンII濃度は、有意差はみられないが、ナツハゼ群ではコントロール群より約20%低く、アドレナリン、ノルアドレナリン濃度も低下傾向にあった。血圧上昇抑制には上記ホルモンよりむしろ他の降圧メカニズムが関わっていることが示唆された。以上より、ナメコおよびナツハゼは高血圧の予防・改善に有用な食品素材になりうることが示された。

Key words : Spontaneous Hypertensive Rat, blood pressure, *Pholiota nameko*, *Vaccinium oldhamii*

1. 緒言

我が国では、世界的にも食塩摂取量が比較的多く、東北地方ではその傾向が顕著である¹⁾。そのために、以前から高血圧や脳血管障害の頻度が高い。さらに、近年はメタボリック・シンドロームをはじめとする生活習慣病に関心が集まり、その対策には多大な関心が払われている。メタボリック・シンドロームは、以前は「死の四重奏」、「syndrome X」、「インスリン抵抗性症候群」など様々な呼び方がなされていたが、現在では、内臓脂肪型肥満、高血糖、高血圧、高脂血症の2つ以上を合併している状態を指している²⁾。メタボリック・シンドロームは食生活と深く関わっており、食生活の改善は、その予防に大いに寄与すると考えられる。しかしながら、一度身に付いた食習慣は容易に変えられるものではなく、そのためには低カロリーの食品や高血圧、高脂血症、糖尿病などの予防効果のある成分を含む食品を積極的に摂取することが奨められる。

キノコにはβ-グルカンをはじめとする糖質や食物繊維が豊富に含まれるほか、タンパク質や多種の低分子フェノール性物質が含まれ、細胞を用いた *in vitro* 実験ではガン細胞アポトーシス誘導効果が、ラットを用いた *in vivo* 実験ではコレステロール低下作用などが報告されている^{3), 4)}。ブルーベリー果実にはアントシアニンをはじめとする抗酸化物質が多く含まれている^{5), 6)}。アントシアニンはフラボノイドの一種で、強力な活性酸素消去作用を示すといわれる⁷⁾。

最近の研究では、高血圧の発症機序の一部は炎症過程と解釈することもでき、活性酸素や過酸化物などが関わっていると考えられている^{8), 9)}。

ナメコ (*Pholiota nameko*) ならびにブルーベリーの

一種であるナツハゼ (*Vaccinium oldhamii*) は福島県の特産品であり、ナツハゼ果実には通常のブルーベリーの3~6倍のアントシアニンが含まれるといわれる¹⁰⁾。

自然発症高血圧ラット (Spontaneous Hypertensive Rat; SHR) は、遺伝的に生後7週齢前後から13週前後にかけて血圧が上昇し、収縮期血圧は200mmHg前後に達することが示されており、高血圧、脳卒中などの研究や降圧薬の開発には欠かせないモデル動物である。

本研究では、まず、ナメコ子実体ならびにナツハゼ果実の粉末を血圧上昇期のSHRに4週間摂取させ、高血圧抑制効果について検討した。つぎに、血圧上昇抑制機序を明らかにするため、血中の循環調節関連ホルモンであるレニン活性、アンギオテンシンI、アンギオテンシンII、アドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン濃度およびアンギオテンシン変換酵素活性について調べた。さらに、血管内皮細胞増殖因子 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor; VEGF) は、血管壁のVEGF受容体に結合して細胞分化やマクロファージを刺激し、血管新生の促進¹¹⁾や動脈硬化病変の進行に関与するといわれているので¹²⁾、血管内皮細胞におけるVEGF受容体 (VEGFR-2) の発現について免疫組織化学的手法を用いて検討するとともに、病理組織学的検索も併せて行った。

2. 材料および方法

2. 1. 実験動物

実験には8週齢の雄性SHR計24匹を用いた。検体給餌に先立ち、7週齢で日本チャールズリバー(株)から購入し、本学医学部附属実験動物研究施設にて飼育ケージに一匹ずつ入れ、コントロール群に給餌するラット用配合飼料 (AIN-93G配合、オリエンタル酵母工業

(株))を自由摂取させて1週間予備飼育を行った。予備飼育終了後、非観血式血圧測定装置(BP-98A、ソフトロン社製)を用い、tail-cuff法により尾動脈にて血圧測定を行い、ナメコ群、ナツハゼ群、対照群とともに収縮期血圧および拡張期血圧の平均値がほぼ等しくなるように、各群に8匹ずつ割り当てた。

2. 2. 検体投与試験

ナメコは福島県林業研究センターにて子実全体を粉末にしたもの、ナツハゼは福島県ハイテクプラザにて果実を粉末にしたものを検体として用いた。表1に示すように、コントロール群には標準ラット用配合飼料(オリエンタル酵母工業、AIN-93G配合)を、ナメコ群には標準ラット用配合飼料にナメコ粉末を10%混ぜ、ナツハゼ群にはナツハゼ果実粉末を2%混ぜて4週間与えた。各検体をこの標準配合飼料に添加する際、飼料中の各栄養成分や総エネルギー量が大きく変動しないようにする必要がある。ナメコ粉末、ナツハゼ果実粉末に含まれる栄養素の概略的な分析結果に基づき、タンパク質については、ナメコ群のみ飼料中のカゼイン量を減らして調整した。でんぶんについては、ナメコ群ではコーンスターーチ量および α 化コーンスターーチ量を、ナツハゼ群では α 化コーンスターーチ量で調整した。糖質および食物繊維は、ナメコ群のみそれぞれシュークロース量とセルロースパウダー量で調整した。

表1 AIN-93G標準配合、ナメコ粉末ならびにナツハゼ粉末添加飼料の栄養素成分量

成分(g)	AIN-93G標準配合	ナメコ粉末 10%添加	ナツハゼ粉末 2%添加
カゼイン	20.0	18.0	20.0
L-ジスチン	0.3	0.3	0.3
コーンスターーチ	39.7486	35.5486	37.7486
α 化コーンスターーチ	13.2	12.4	13.2
シュークロース	10.0	9.0	10.0
大豆油	7.0	7.0	7.0
セルロースパウダー	5.0	3.0	5.0
AIN-93Gミネラル配合	3.5	3.5	3.5
AIN-93Gビタミン配合	1.0	1.0	1.0
重酒石酸コリン	0.25	0.25	0.25
第三ブチルヒドロキノン	0.0014	0.0014	0.0014
ナメコ粉末		10.0	
ナツハゼ粉末			2.0
合計(g)	100.0	100.0	100.0

各成分とも飼料100g中の含有量(g)を示す。

飼料摂取量は、試験開始時(0 week)、開始1週間後(1 week)、2週間後(2 week)、3週間後(3 week)および4週間後(4 week)にそれぞれ連続する2日間の摂取量を個体毎に測定し、それらを平均して各週の摂取量とした。体重は、飼料摂取量測定が開始される毎週月曜日の午前10時頃に測定した。

2. 3. 血圧測定

検体投与開始前、投与後2週間および4週間において、無麻酔下で尾動脈にてtail-cuff法により血圧測定を行った。測定に際し、ラットを保定箱に入れ、尾動脈に血圧測定用カフを装着し、尾動脈の血流を確保するために保温した。測定は、保定直後より心拍数と血圧が低下した後、ラットが落ち着いたことを確認して開始し、同一個体で少なくとも3回行った。

2. 4. 採血および臓器・試料の採取

4週間の体給餌試験終了後、ラットを一晩絶食させ、ペントバルビタール酸ナトリウムの腹腔内投与(50mg/kg)で麻酔し、腹部大動脈から採血を行った。血漿は、ヘパリンナトリウムを添加した試験管に血液を入れ、直ちに3,000回転、10分間で遠心分離を行って分離した。血清については、試験管に入れた血液を約1時間放置した後、同様に3,000回転、10分間の遠心分離を行って得た。血清と血漿は、コレステロール値など血清生化学分析に用いた後、直ちに凍結し、-80°Cで保存した。

採血終了後、念のため頸椎脱臼と気胸により安樂死させ、大動脈、心臓、腎臓、副腎、肝臓、肺を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン溶液に浸漬して保存した。

2. 5. 血漿および血清生化学分析

総コレステロール濃度(T-Chol)、トリグリセライド濃度(TG)、ブドウ糖濃度(Glu)、総蛋白質量(TP)、肝機能(ASTおよびALT活性)、腎機能(尿素窒素およびクレアチニン濃度:BUNおよびCrea)の測定には血漿を用いた。T-Chol測定には市販の測定用試薬キットである富士ドライケムスライドTCHO-P IIIを、TGには同TG-P IIIを、GluにはGLU-P IIIを、TPにはTP-P IIIを、ASTにはGOT/AST-Pを、ALTにはGPT/ALT-Pを、BUNにはBUN-P IIIを、CreaにはCRE-P IIIをそれぞれ用い、ドライケム法(富士ドライケムV350 0、富士フィルム(株)製)により測定した。電解質濃度の測定には血清を用いた。Na⁺、K⁺およびCl⁻については富士ドライケムスライドNAKCL-P IIIを、Ca²⁺については同Ca-P IIIを、Mg²⁺についてはMg-P IIIを用いてドライケム法により測定した。

2. 6. 血清アンギオテンシン変換酵素活性ならびに血漿血圧調節関連ホルモンの分析

高血圧関連ホルモンの定量には、凍結保存血清と血漿を解凍して用いた。血漿レニン活性、血漿アンギオテンシンⅠおよびアンギオテンシンⅡ濃度は、放射性免疫測定2抗体法(RIA 2抗体法)により定量した。血漿アドレナリン、ノルアドレナリンおよびドーパミン

濃度は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて測定した。血清アンギオテンシン変換酵素(ACE)活性は、Kasaharaらの方法¹³⁾に従って測定した。

2. 7. 病理組織標本の作製

ペントバルビタール麻酔下にて腹部大動脈より大量の採血を行った後、頸椎脱臼によりラットを安樂死させた。大動脈を起始部から総腸骨動脈分岐部まで摘出し、10%中性緩衝ホルマリン溶液に浸漬して保存した。ホルマリン固定した胸部大動脈標本はパラフィン包埋し、37°Cでインキュベートした後、ミクロトームを用いて5 μmの簿切切片を作製し、Hematoxylin Eosin (H E)染色を行った。

2. 8. 免疫組織化学的標本の作製

胸部大動脈の5 μmの円周方向の簿切切片をキシレン、つづいてアルコール系列に順次通過させて親水化させたのち、マイクロウェーブによる抗原の賦活化を行った。ウシ血清アルブミン(BSA)含有リン酸緩衝生理食塩水(PBS)によるブロッキング処理後、1次抗体としてウサギ抗F1k-1抗体(50倍希釈)を4°Cにて16時間反応させ、引き続いて2次抗体としてHRP標識抗ウサギIgG(10倍希釈、DAKO社)を室温にて1時間インキュベートしたのち、DAB-H202溶液にて10分間発色を行い、血管内皮細胞増殖因(VEGF)受容体(VEGF-R2)を可視化した。

2. 9. 統計処理

各生化学測定項目、各酵素活性ならびに各ホルモン濃度については、まず、2元配置分散分析を行った後、ナメコ群とコントロール群、ナツハゼ群とコントロール群における有意差をそれぞれScheffe法により多重比較検定を行った。収縮期血圧(SBP)、拡張期血圧(DBP)、平均血圧(MBP)、心拍数(HR)、飼料摂取量および体重は、各週の測定値をそれぞれナメコ群とコントロール群、ナツハゼ群とコントロール群についてそれぞれ2元配置分散分析を行い、有意差がある場合には試験開始後各週において、Scheffe法により対照群と各投与群の間で多重比較検定を行った。有意水準は、いずれもp<0.05を有意とした。

3. 結果

3. 1. 飼料摂取量の変化

飼料摂取量は図1に示すように、各群とも試験開始直後(0 week)～開始4週間後(4 weeks)まで17～20g/日/個体の間を推移していた。しかしながら、ナメコ群では、開始直後には摂取量がやや低下し、2週間後には逆にやや増加しており、コントロール群との間で有

意差がみられた(p<0.05)。また、ナツハゼ群では、給餌開始1週間後にはコントロール群よりもやや増加しており、有意差が観察された(p<0.05)。

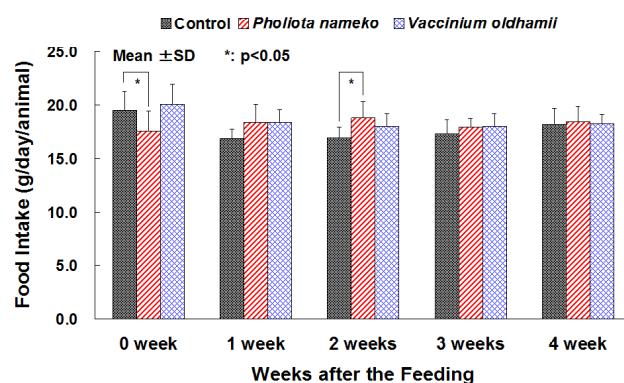


図1 飼料摂取量の変化

3. 2. 体重の変化

体重は図2に示すように、試験開始時には各群とも25g前後であるが、試験開始後は順調に増加した。ナツハゼ群とコントロール群の間にはほとんど差がないが、ナメコ群では試験開始後のいずれの週においてもコントロール群より10g程度少なく、有意差が観察された。

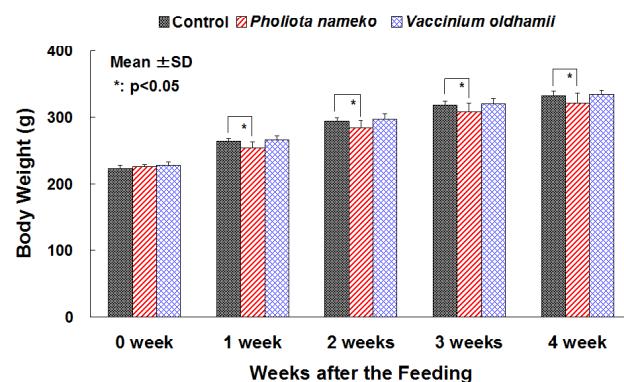


図2 体重の変化

3. 3. 血漿および血清生化学値

図3には検体投与終了後におけるT-CholおよびTGを、図4にはGluをそれぞれ示した。ラットではヒトと異なり、T-CholおよびTG値はそれぞれヒトの約1/3～1/4(約50mg/dl)、1/2～1/3(約40mg/dl)と正常の場合でも低い値を示す。T-Cholは、コントロール群では50.3 ± 6.7mg/dl(以下、平均値±標準偏差)、ナメコ群では

41.6 ± 7.3 mg/dl、ナツハゼ群では 45.0 ± 5.4 mg/dlであり、ナメコ群とコントロール群の間には統計的に有意差が認められた($p < 0.05$)。TGは、コントロール群では 39.0 ± 7.7 mg/dl、ナメコ群では 35.3 ± 8.0 mg/dl、ナツハゼ群では 42.0 ± 7.6 mg/dlであり、ナメコ群ではコントロール群より数値的に僅かに低い傾向にあるが、有意差はみられなかった。Gluは、コントロール群では 136.3 ± 12.3 mg/dl、ナメコ群では 123.4 ± 14.8 mg/dl、ナツハゼ群では 136.4 ± 13.5 mg/dlで、ナメコ群ではやや低い値を示したが、コントロール群との間に有意差は観察されなかった。TPは各群とも 5.2 g/dl前後とほぼ同じ値であり、各投与群とコントロール群との間には有意差はみられなかった(図5)。

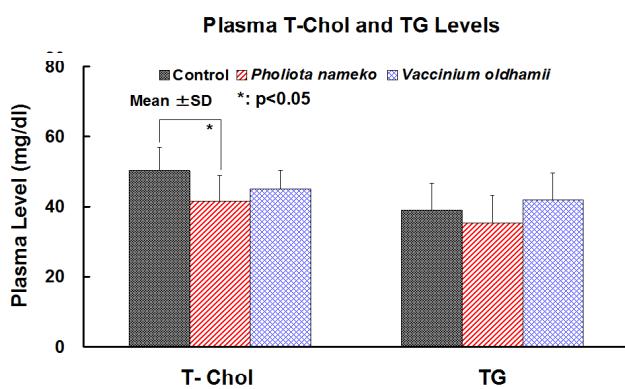


図3 血漿総コレステロール(T-Chol)およびトリグリセラайд(TG)濃度

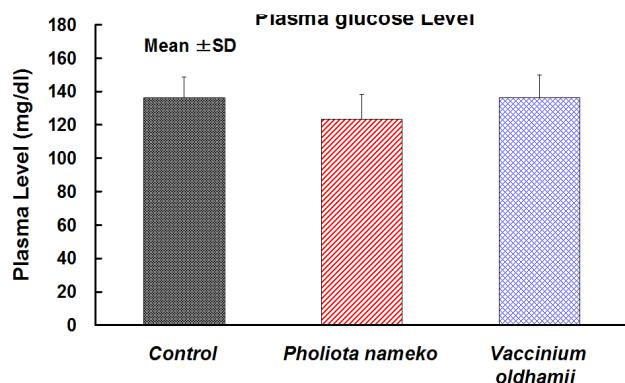


図4 血漿グルコース(Glu)濃度

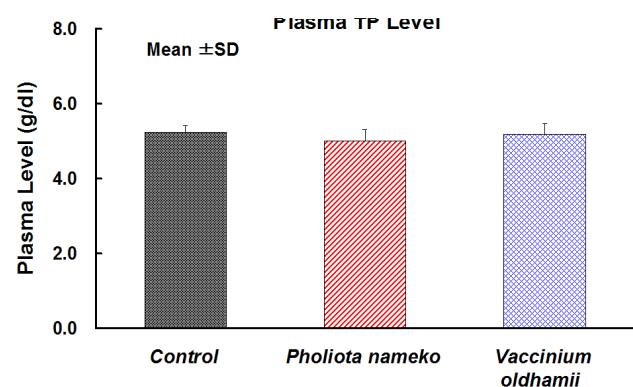


図5 血漿総タンパク質(TP)濃度

AST (GOT) および ALT (GPT) 活性は図6に示した。ラットでは、肝機能に異常はなくとも一般にAST活性、ALT活性とともにヒトよりも高いことが知られている。本実験においては、ASTの値はコントロール群で 88.7 ± 34.4 IU/l、ナメコ群で 86.4 ± 10.9 IU/l、ナツハゼ群では 77.1 ± 12.5 IU/lであり、ナツハゼ群ではコントロール群より約10 IU/l低い傾向にあったが、統計的に有意差は観察されなかった。ALTの値は、コントロール群では 30.0 ± 11.3 IU/l、ナメコ群では 33.8 ± 5.2 IU/l、ナツハゼ群では 26.4 ± 6.3 IU/lで、各投与群とコントロール群の間にはそれぞれ有意差はみられなかった。BUNは3群とも平均値が約23 mg/dlとほぼ同じであり、ナメコ群、ナツハゼ群ともにコントロール群に対する有意差は観察されなかった(図7)。Creatは図8に示すように、コントロール群では 0.21 ± 0.04 mg/dlであるのに対し、ナメコ群では 0.24 ± 0.05 mg/dl、ナツハゼ群では 0.25 ± 0.05 mg/dlとコントロール群より若干高い傾向を示したが、統計的には有意差はみられなかった。

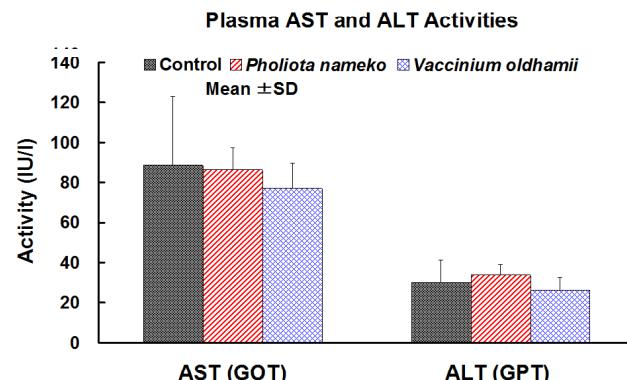


図6 血漿ASTおよびALT活性

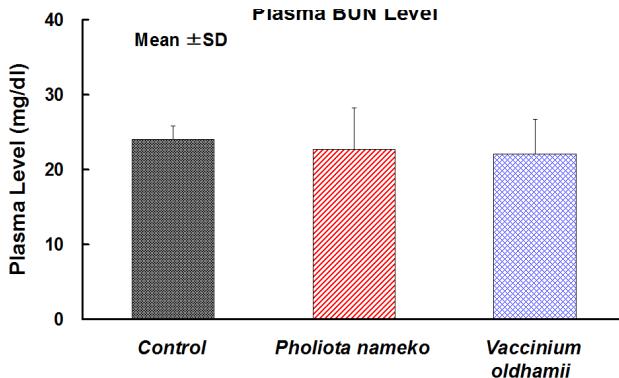


図7 血漿尿素窒素(BUN)濃度

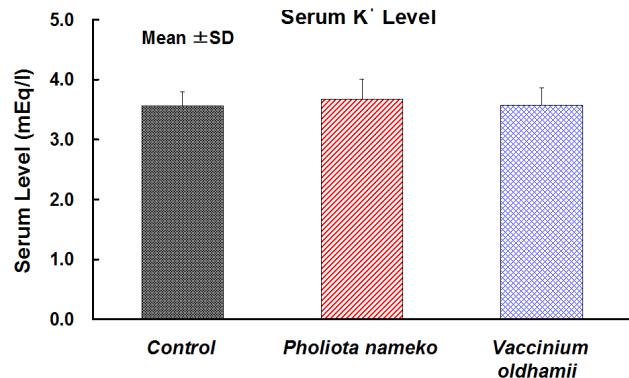


図10 血清K⁺濃度

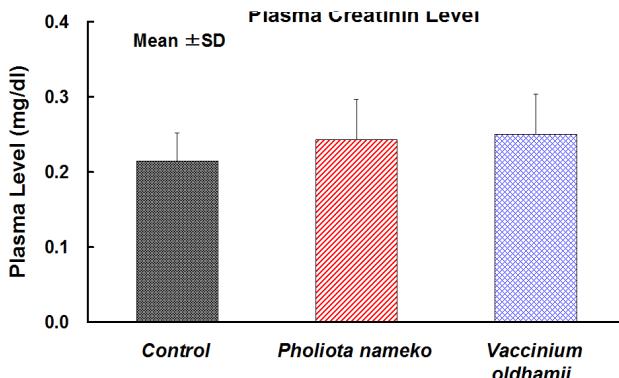


図8 血漿クレアチニン(Crea)濃度

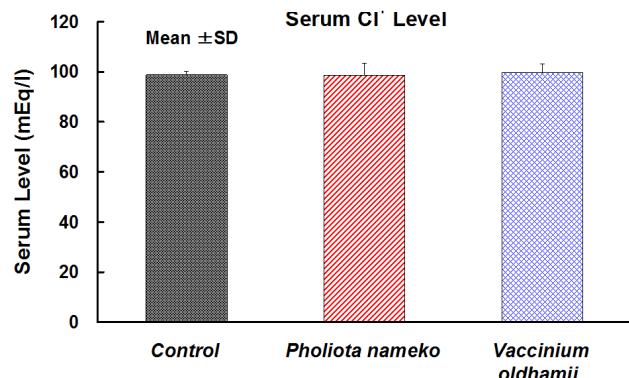


図11 血清Cl⁻濃度

電解質濃度については、コントロール群、ナメコ群、ナツハゼ群ともにNa⁺の平均値はほぼ138 mEq/l（図9）、K⁺の平均値がほぼ3.7 mEq/l（図10）、Cl⁻の平均値がほぼ100 mEq/l（図11）で、ばらつきが非常に少なく、狭い範囲にコントロールされていた。Ca²⁺はいずれの群においても平均値で8.5 mEq/l前後（図12）の値を示し、ばらつきも少なく、3群間でほとんど差はみられなかった。

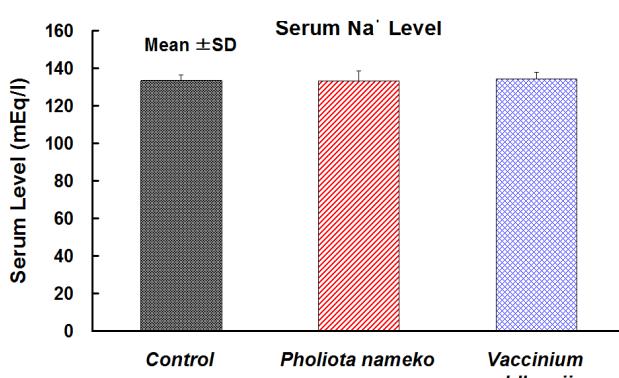


図9 血清Na⁺濃度

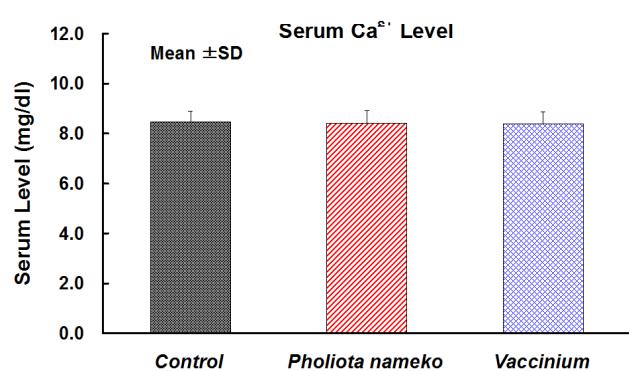


図12 血清Ca²⁺濃度

Mg²⁺は図13に示すように、コントロール群では1.60 ± 0.08 mg/dl、ナメコ群では1.77 ± 0.16 mg/dl、ナツハゼ群では1.60 ± 0.09 mg/dlであり、ナメコ群の方がコントロール群より有意に高い値を示した($p < 0.05$)。

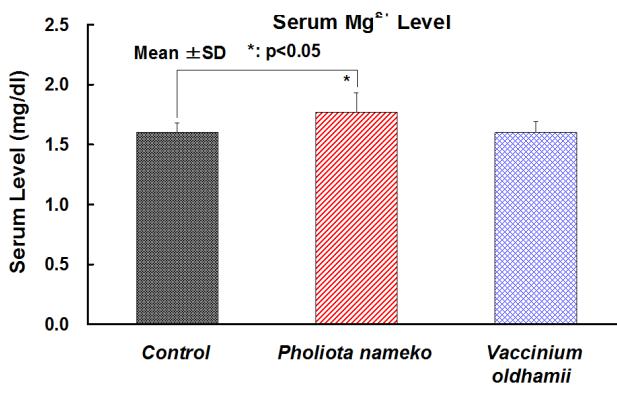


図13 血清Mg²⁺濃度

3. 4. 収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧および心拍数の変化

4週間の試験飼料給餌にともなうSBPの変化を図14に、DBPの変化を図15に、MBPの変化を図16に、HRの変化を図17にそれぞれ示した。試験開始直前(0 week)においては、SBP、DBP、MBPはそれぞれ各群とも平均値で約143mmHg、約106mmHg、約118mmHgであった。SHRでは6～7週齢から13～14週齢にかけて血圧が上昇することが明らかなので、8週齢における給餌開始前の値としては、それぞれ正常ラットの血圧よりやや高い値になっている。試験開始後はSBP、DBPおよびMBPはいずれも各群とも徐々に上昇していた。投与2週間後においては、SBPはコントロール群、ナメコ群、ナツハゼ群においてそれぞれ172.2±5.5 mmHg、158.1±18.0 mmHg、156.7±13.7 mmHg、DBPはそれぞれ129.5±4.9 mmHg、118.8±18.2 mmHg、114.2±10.0 mmHg、MBPはそれぞれ143.7±4.0 mmHg、131.8±17.8 mmHg、128.3±10.8 mmHgであり、その値はナメコ群(SAP; p<0.01、DBP; p<0.01、MBP; p<0.01)、ナツハゼ群(SAP; p<0.001、DBP; p<0.001、MBP; p<0.001)とともにコントロール群より有意に低かった。投与4週間後においては、SBPはコントロール群、ナメコ群、ナツハゼ群においてそれぞれ183.4±4.8 mmHg、167.1±9.6 mmHg、172.9±6.9 mmHg、DBPはそれぞれ138.7±9.1 mmHg、124.2±6.9 mmHg、129.6±7.7 mmHg、MBPはそれぞれ153.5±7.5 mmHg、138.5±7.3 mmHg、144.0±6.7 mmHgであり、その値はナメコ群(SAP; p<0.001、DBP; p<0.01、MBP; p<0.01)、ナツハゼ群(SAP; p<0.01、DBP; p<0.05、MBP; p<0.01)とともにコントロール群より有意に低かった。

HRについては、各群とも比較的ばらつきが大きいが、投与開始直前では、各群ともほぼ平均400回/分であった。投与2週間後においては、コントロール群が422.2±36.3回/分であるのに対し、ナメコ群が412.2±35.3回/分、ナツハゼ群が393.9±35.0回/分とやや低い値を示したが、統計的にはそれぞれコントロール群との間に有意な差は認められなかった。投与4週間後に

おいては、コントロール群では417.9±37.3回/分であったが、ナメコ群では401.1±26.9回/分と幾分小さく、ナツハゼ群では418.8±36.6回/分でコントロール群とほぼ同じであった。ナメコ群とコントロール群との間には統計的に有意差は認められなかった。

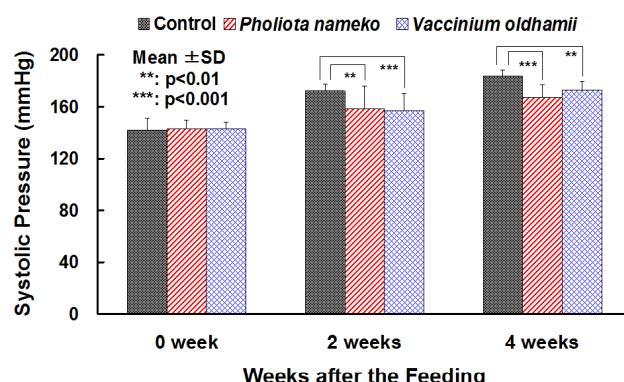


図14 収縮期血圧の変化

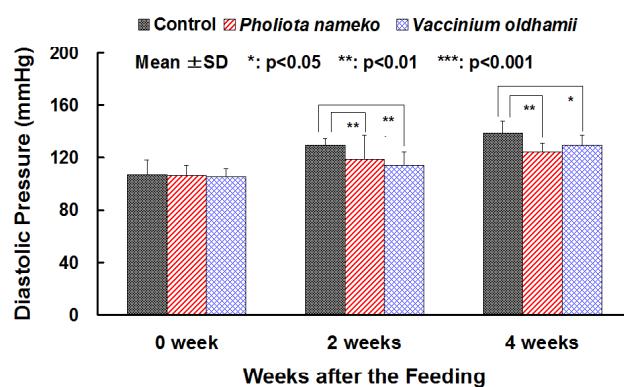


図15 拡張期血圧の変化

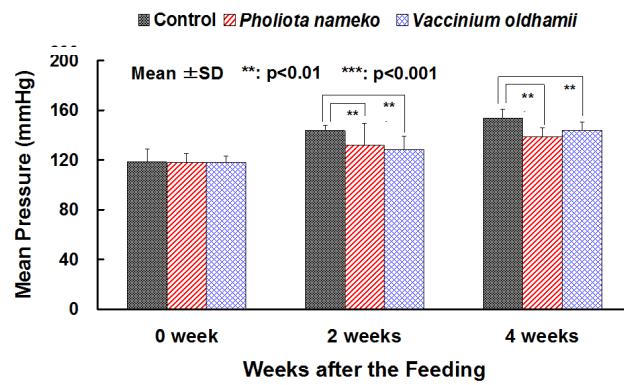


図16 平均血圧の変化

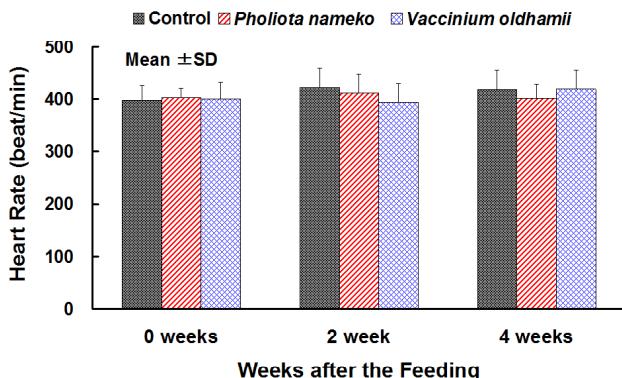


図17 心拍数の変化

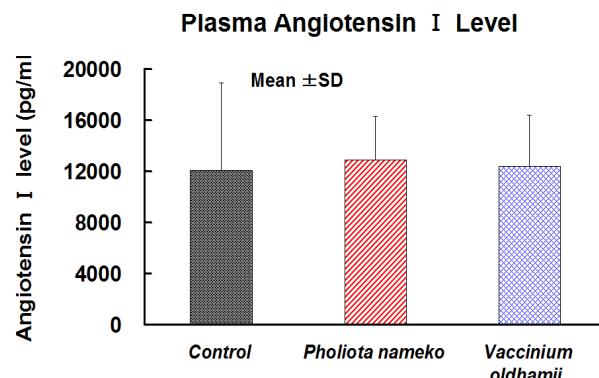


図19 血漿アンギオテンシンⅠ濃度

3. 5. 血漿血圧関連ホルモン濃度および血圧関連酵素活性への影響

血漿レニン活性は図18に示した。コントロール群では 46.0 ± 30.0 (平均値土標準偏差、以下同様) ng/ml/h、ナメコ群では 52.0 ± 11.3 ng/ml/h、ナツハゼ群では 41.0 ± 19.2 ng/ml/hであり、コントロール群ではばらつきが大きく、3群間における分散分析においても、また、コントロール群とナメコ群、コントロール群とナツハゼ群における個別多重比較検定においても有意差は認められなかった。

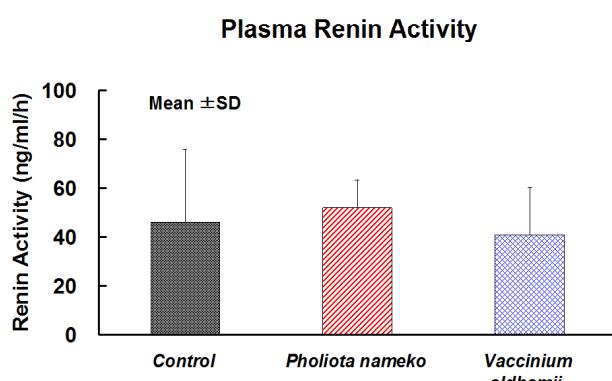


図18 血漿レニン活性

血漿アンギオテンシンⅠ濃度は、図19に示すように、コントロール群では 12071 ± 6840 pg/ml、ナメコ群では 12916 ± 3352 pg/ml、ナツハゼ群では 12428 ± 3394 pg/mlであり、各群とも非常にばらつきが大きかった。統計的には分散分析による3群間の比較においても、また、個別比較によりコントロール群とナメコ群、コントロール群とナツハゼ群の間においても有意差は観察されなかった。

血漿アンギオテンシンⅡ濃度は図20に示した。コントロール群では 238.3 ± 65.9 pg/ml、ナメコ群では 237.1 ± 92.0 pg/ml、ナツハゼ群では 190.0 ± 49.0 pg/mlであった。分散分析およびコントロール群とナメコ群、コントロール群とナツハゼ群との間の個別多重比較検定においてそれぞれ有意差はみられなかったが、ナツハゼ群における値はコントロール群より約20%低くなっていた。

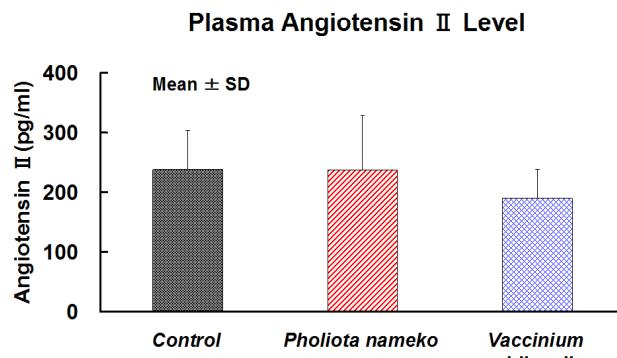


図20 血漿アンギオテンシンⅡ濃度

血清アンギオテンシン変換酵素(ACE)活性は、図21に示すように、コントロール群では 16.5 ± 1.5 IU/l、ナメコ群では 16.5 ± 2.6 IU/l、ナツハゼ群では 17.2 ± 1.1 IU/lであった。アンギオテンシン変換酵素活性は3群間でほとんど数値的に差はない、分散分析においても、また、コントロール群とナメコ群、コントロール群とナツハゼ群の間における多重比較検定においても有意な差は認められなかった。

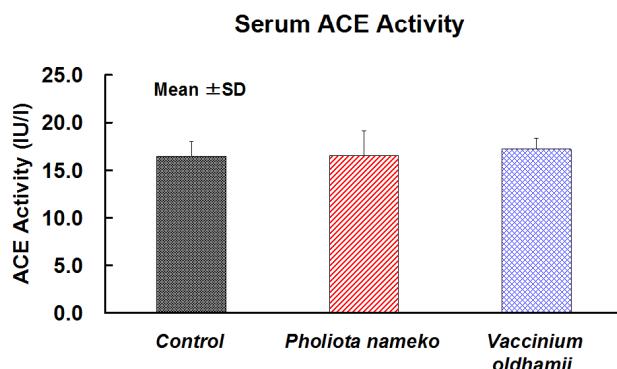


図21 血清アンギオテンシン変換酵素(ACE)活性

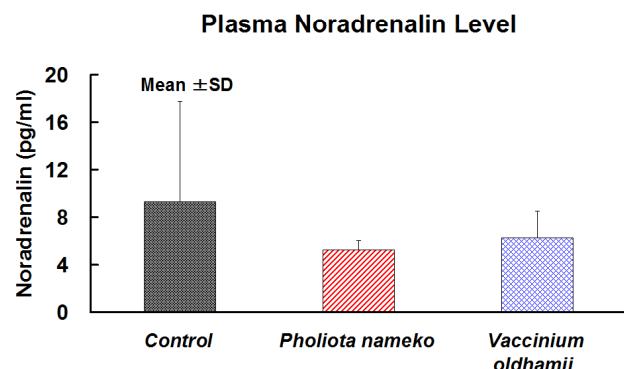


図23 血漿ノルアドレナリン濃度

血漿アドレナリン濃度は図22に示した。コントロール群では 52.3 ± 29.2 pg/ml、ナメコ群では 25.7 ± 10.3 pg/ml、ナツハゼ群では 47.2 ± 30.0 pg/mlであり、コントロール群とナツハゼ群で非常にばらつきが大きかった。ナメコ群の値はコントロール群の約2分の1であるが、分散分析により3群間においても、また、コントロール群とナメコ群、コントロール群とナツハゼ群の間の多重比較検定においても有意差はみられなかった。

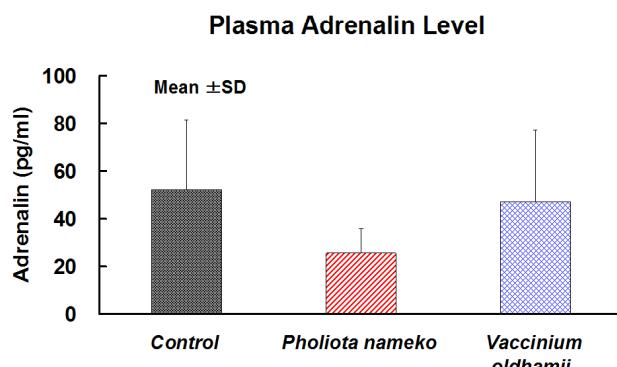


図22 血漿アドレナリン濃度

図23には血漿ノルアドレナリン濃度を示した。血漿ノルアドレナリン濃度は、コントロール群では 32.5 ± 22.8 pg/ml、ナメコ群では 25.0 ± 13.4 pg/ml、ナツハゼ群では 22.5 ± 13.3 pg/mlであり、ナツハゼ群の値はコントロール群の約3分の2であった。しかしながら、分散分析において3群間に有意な差はみられず、コントロール群とナメコ群、コントロール群とナツハゼ群の間の多重比較検定においても有意差は観察されなかった。

血漿ドーパミン濃度は、図24に示すように、コントロール群では 6.0 ± 2.2 pg/ml、ナメコ群では 5.3 ± 0.8 pg/ml、ナツハゼ群では 6.3 ± 2.2 pg/mlであり、数値的には3群間で大差はなく、分散分析においても、各試験群とコントロール群との間における多重比較検定においても有意差は認められなかった。

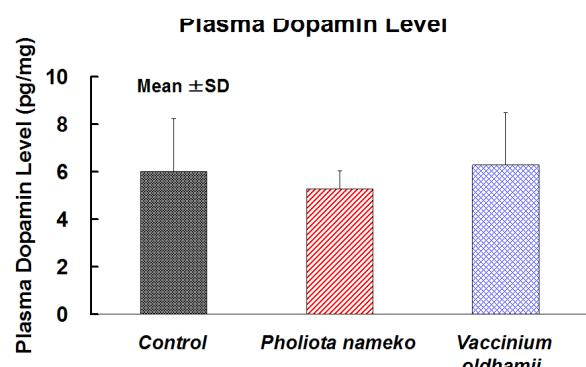
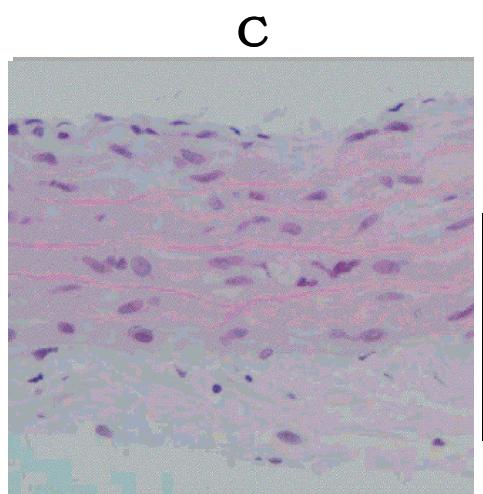
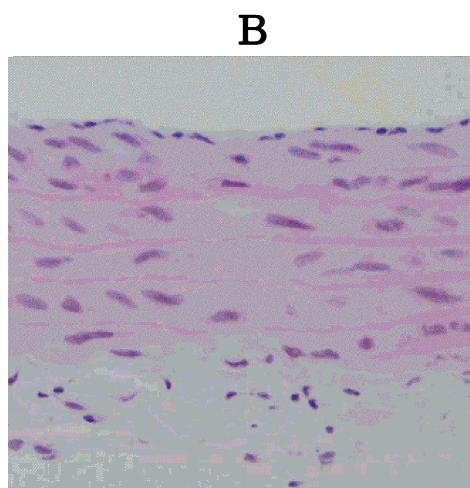
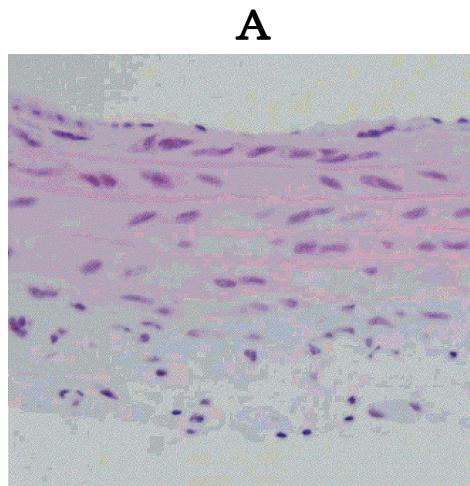


図24 血漿ドーパミン濃度

3. 6. 病理組織学的検討

SHRの胸部大動脈のコントロール群(A)、ナメコ群(B)およびナツハゼ群(C)における円周方向の病理組織切片写真(HE染色)の代表例を図25に示した。最も上側が内皮細胞で、その下に平滑筋細胞と赤色に染まるエラスチン線維が観察され、最も下側が外膜である。濃青色に染まっているのが核である。HE染色組織標本では、内膜肥厚や泡沫細胞、内弾性板の断裂・多重化、中膜肥厚、平滑筋細胞の増殖ならびに内膜への遊走、線維化などの病理学的所見はいずれの群においても観察されなかった。



3. 7. 免疫組織化学的検討

図26には、コントロール群(A)、ナメコ群(B)およびナツハゼ群(C)における胸部大動脈でのVEGF受容体(VEGF-2)の免疫組織化学染色による円周方向の切片写真の代表例をそれぞれ示した。コントロール群では内皮細胞においては、黒く染まったVEGF-2の発現が多数見受けられる、しかしながら、ナメコ群およびナツハゼ群においてはVEGF-2の発現はコントロール群より少ないことが観察された。なお、ナツハゼ群で切片の最下層に黒く染まる大きな塊がみられるが、染色の際に生じたアーティファクトと考えられる。

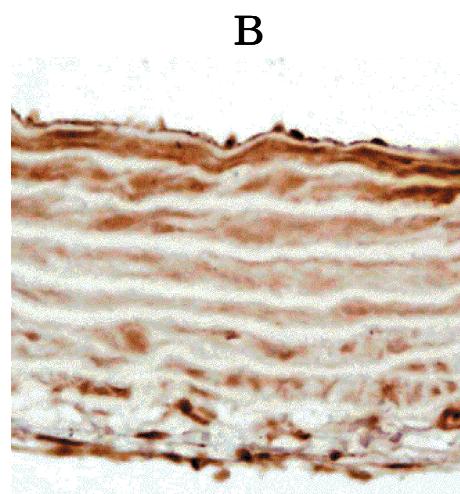
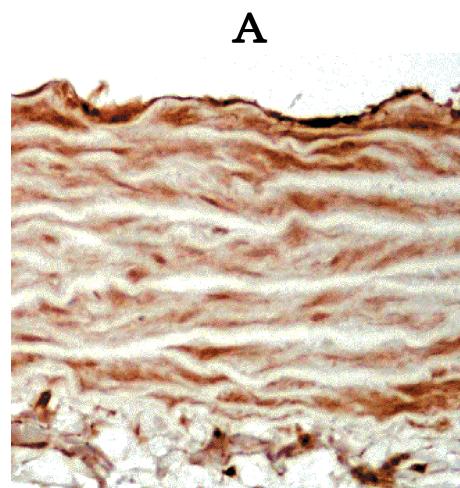


図25 病理組織学的所見

A:コントロール群、B:ナメコ群、C:ナツハゼ群
Bar: 100 μm、HE染色

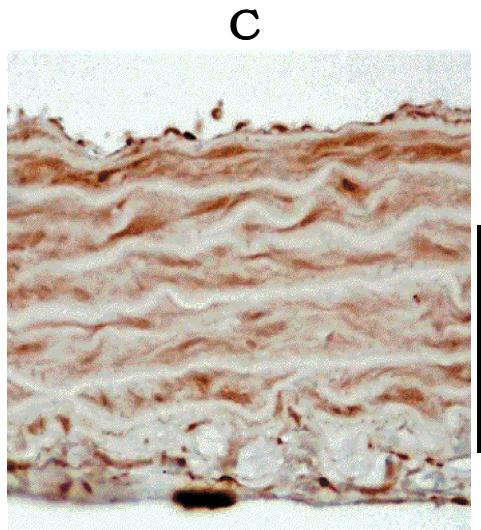


図26 免疫組織化学的所見

A:コントロール群、B:ナメコ群、C:ナツハゼ群
Bar: 100 μm、VEGFR-2抗体: 50倍希釈

4. 考察

4. 1. 高血圧のメカニズム

高血圧は、その原因が明らかである二次性高血圧と原因が明らかでない本態性高血圧に分類され、高血圧の大部分を占めるのが後者である。本態性高血圧は遺伝に加え、食生活などの環境要因が深く関わっている。特に、食塩摂取量と高血圧との関係や、脳卒中の頻度との関係については広く知られている。

本態性高血圧のメカニズムは非常に複雑であるが、レニンーアンギオテンシンーアルドステロン系の機能亢進、交感神経活動の亢進、内皮依存性血管弛緩反応の減弱、血管平滑筋細胞の収縮、プロスタサイクリン(PGI₂)などの降圧物質の産生低下、エンドセリン-1(ET-1)などの昇圧物質の過剰産生など幾つかの機序が明らかにされている¹⁴⁾。SHRにおいては、とりわけ、交感神経活動の亢進¹⁵⁾、皮依存性血管弛緩反応の減弱¹⁶⁾、血管平滑筋細胞の収縮亢進などが血圧上昇に関与することが報告されている。血管平滑筋細胞の収縮については、Ca²⁺の細胞内への流入が重要であることが知られており、食塩過剰摂取による高血圧の発症にはNa⁺-Ca²⁺交換系(NCX)を介するCa²⁺流入が重要な役割を果たすことが見出された¹⁷⁾。また、本態性高血圧患者においては、血清中のCa²⁺が低下しており、Ca²⁺の経口摂取により血圧が低下することが示されている¹⁸⁾。

SHRの血管内皮細胞や平滑筋細胞においては、アンギオテンシンIIの生合成に必要な基質や酵素が揃っており、細胞内ではアンギオテンシンIIの産生が亢進していることも示されている¹⁹⁾。また、SHRにおいても本態性高血圧患者と同様に血清Ca²⁺濃度が低下してお

り、Ca²⁺の経口摂取により高血圧が改善することが示されている²⁰⁾。

さらに、最近の研究では、高血圧の発症には活性酸素や過酸化物などが関わっていることも報告されている⁸⁾。本態性高血圧患者においては、好中球による活性酸素の産生が亢進していることが証明されている^{8, 9)}。血中の不飽和脂肪酸が活性酸素の作用で過酸化脂質へと変化することにより血管壁が損傷を受け、さらに、過酸化脂質がタンパク質と反応することによりリポフスチンが産生され、これが末梢の血管壁に沈着すると血管が細くなってしまい末梢血管抵抗が増加し、血圧が上昇すると考えられている¹⁴⁾。SHRにおいても、スーパーオキシド(O₂⁻)の発生が多く、高血圧性の血管病変の形成に深く関わっていることが明らかにされている^{8, 9)}。O₂⁻の発生と細胞障害という観点では、高血圧も動脈硬化も発生機序の一部は炎症の一つの過程とみなすことも可能である。

食生活の改善により高血圧を予防・改善するためには、食塩摂取量を減らすことが重要であることは云うまでもないが、食品に含まれる抗酸化物質によるO₂⁻発生の抑制、多糖類などによる小腸からのナトリウム吸収抑制、交感神経活動抑制、ある種のペプチドなどによるレニンーアンギオテンシン変換酵素(ACE)阻害、一酸化窒素(NO)発生促進による内皮依存性血管弛緩反応の増強など幾つかの方法が考えられる。

4. 2. ナメコによる血圧上昇抑制作用

キノコ類には食物繊維などの多糖類やフェノール成分が多く含まれることが明らかになっている。本研究においては、SHRにナメコ粉末を4週間摂取させると、コントロール群と比較して収縮期血圧は約16 mmHg、拡張期血圧は約11 mmHgの有意な低下を示した。

ナメコ粉末の給餌により、血清Mg²⁺濃度が正常範囲内ではあるが、コントロール群より有意に増加していることが見出された。Mg²⁺は細胞中のCa²⁺濃度を減少させ、平滑筋の収縮を抑制するといわれている²¹⁾。細胞内のMg²⁺は、Na⁺-Mg²⁺交換系の亢進やATPase活性の低下によって減少することが報告されている^{22, 23)}。SHRでは、血管平滑筋細胞内のMg²⁺濃度はWistar系ラットよりも低く、Ca/Mgは高いことが示されている²⁴⁾。これとは別に、著者らは、遺伝性高コレステロール血症(KH C)ウサギにMg²⁺ならびにCa²⁺が多く含まれる海洋深層水を6か月間摂取させたところ、軽度高血圧が改善され、血中のMg²⁺は、水道水を摂取させたコントロール群よりも正常範囲ではあるが、有意に増加したことを示した²⁵⁾。血清Mg²⁺濃度の増加は僅かであるため、これがどの程度血圧上昇抑制に関わっているかの詳細は今後の成果を待たねばならない。

レニンーアンギオテンシン系については、血漿レニン活性やアンギオテンシンIおよびIIの血漿濃度に

はナメコ群とコントロール群の間に有意差がなかったので、血中のアンギオテンシンⅡはナメコ粉末摂取による血圧上昇抑制には関与していないと考えられる。

交感神経系の関与については、交感神経活動と関係が深い血漿アドレナリンおよびノルアドレナリン濃度がナメコ群の方がコントロール群より有意差はみられなくとも低い傾向にあった。このメカニズムについては、一つの可能性ではあるが、纖維成分などの多糖類が小腸粘膜上皮におけるナトリウムイオンの吸収を抑制していることが推測される。食塩の過剰摂取は交感神経系を活性化させ、血圧上昇を来すことが知られているので、ナトリウムイオンの吸収抑制により、血圧調節に関わる交感神経活動がある程度抑制されている可能性も考えられる。

HE染色による病理組織学的検索においては、コントロール群、ナメコ群のいずれにおいても異常所見はみられなかつたが、血管内皮細胞増殖因受容体(VEGF-R2)の発現がナメコ群ではコントロール群より少なかつた。VEGFは主に血管内皮細胞表面にあるVEGF受容体にリガンドとして結合し、細胞分裂や遊走、分化を刺激したり、微小血管の血管透過性を亢進させたりする働きをもつが、その他単球・マクロファージの活性化にも関与するといわれている¹¹⁾。VEGFには7つのファミリーが知られており、本研究で調べたVEGFR-2に結合するのは、VEGF-A、VEGF-CとVEGF-Dである¹¹⁾。アポE/アポB100二重欠損マウスにVEGFの投与を行うと、骨髓と末梢血でマクロファージ数が対照群と比較して有意に増大し、それに応じて動脈硬化病変も有意に増加することを報告されている¹²⁾。VEGF受容体と高血圧との関係についての詳細は不明ではあるが、VEGFの情報の血管内皮細胞への伝達をブロックすることにより血管収縮が抑制され、また、血管壁リモデリングが抑制されるのかも知れない。

さらに、SHRでは血圧値と直接の関係はないと思われるが、ナメコ粉末の摂取により血中総コレステロール濃度が有意に低下していた。この機序として、ナメコに含まれる食物纖維などが小腸からのコレステロール吸収を阻害することは考えにくい。なぜなら、飼料中に一律7%含まれる大豆油は不飽和脂肪酸が主体で、コレステロールはほとんど含まれていないからである。血中総コレステロール値の低下のメカニズムについては、コレステロール合成系、代謝系を含めて詳細に検討しなければならない。

4. 3. ナツハゼによる血圧上昇抑制作用

ブルーベリー果実にはアントシアニンをはじめとする抗酸化物質が多く含まれ、福島県の特産品であるナツハゼには通常のブルーベリーのおおよそ3~6倍のアントシアニンが含まれることが示されている¹⁰⁾。アントシアニンはフラボノイドの一種で、ブルーベ

リー以外ではブドウ果皮、カシス、赤ワイン、黒大豆、黒ゴマ、小豆、ムラサキサツマイモ、ムラサキキャベツなどに比較的多く含まれている。アントシアニンは体内への吸収もスムーズであり、これらの食品の摂取は、生活習慣病の改善や予防、視力改善に有用であるとされている。ムラサキサツマイモ「アヤムラサキ」は、アントシアニンYGM-5bを含み、この含有物(PSP-Ant)をストレス負荷ラットに経口投与すると、血液流動性が改善され、さらに、四塩化炭素による肝機能障害も軽減されることが報告されている²⁶⁾。

血圧に対しては、ムラサキサツマイモから抽出・調製したアントシアニン含有物を12週齢のSHRに経口ゾンデを用いて単回投与すると、投与後2時間以降に降圧効果が現れ、この効果は投与8時間後も持続することが確認されている²⁷⁾。また、長期投与試験においては、このアントシアニン含有物を0.1%および0.2%添加した飼料を6週齢のSHRに8週間摂取させると、有意に血圧が下降することが認められている²⁷⁾。

本実験において、ナツハゼ粉末をSHRに4週間摂取させると、コントロール群と比較して収縮期血圧、拡張期血圧とも10mmHg程度ではあるが有意に低下していた。血圧に関わる血漿レニン活性、血漿アンギオテンシンⅠ濃度、血清アンギオテンシン変換酵素(ACE)活性、血漿アドレナリン濃度およびドーパミン濃度については、ナツハゼ群ではコントロール群と比較して数値的に大差がなく、有意な差は観察されなかつた。血漿アンギオテンシンⅡ濃度およびノルアドレナリン濃度は、有意差こそみられないが、コントロール群の値のそれぞれ5分の4、3分の2と低くなっていた。血漿アンギオテンシンⅡ濃度およびノルアドレナリン濃度が低下傾向にあることは、血圧上昇抑制に部分的に関わっている可能性が考えられる。

免疫組織化学的所見としては、ナメコ群と同様に、VEGF-R2の発現がコントロール群より少なかつた。ナツハゼ摂取によりどのようなメカニズムでVEGFR-2の発現が低下し、それがどのように血圧上昇抑制に関わっているのかは今後詳細に検討しなければならない。

これ以外の血圧上昇抑制メカニズムの一つとして、ナツハゼに含まれるアントシアニンが血中や動脈壁においてO₂⁻を消去する方向に作用し、血圧上昇抑制している可能性が考えられる。

血圧上昇抑制とは直接関係はないが、ナツハゼ摂取により、有意差はみられなかつたが、肝機能の一つの指標である血中AST活性がコントロール群より低下する傾向にあつた。本研究での摂取は4週間であったので、摂取期間を長くすれば有意差が出る可能性はある。肝機能改善のメカニズムも明らかではないが、恐らくは、アントシアニンの活性酸素消去作用が関わっていると思われる。

4. 4. 今後の展望

高血圧の発症には、上記メカニズムに加え、内皮依存性血管弛緩反応の減弱やプロスタサイクリン(PGI₂)などの降圧物質の産生低下、エンドセリン-1(ET-1)などの昇圧物質の過剰産生も関与することが知られており、発症のメカニズムは非常に複雑である。ナメコの血圧上昇抑制メカニズムの解明のために、今後は、Ca²⁺の平滑筋細胞内流入に対しては膜電位依存型Caチャネル、受容体作用型Ca流入チャネルのはたらきを調べ、細胞外へのCa²⁺流出については、Ca²⁺-ATPase (PMCA)とNa⁺-Ca²⁺交換系(NCX)のはたらきを調べること、さらに、血管リモデリングに関わるVEGFなどのサイトカインへの作用についても検討する必要がある。一方、ナツハゼの血圧上昇抑制機序については、アントシアニンによる活性酸素の消去と内皮依存性血管弛緩反応や血管弛緩、壁リモデリングの関係するサイトカインとの関係について明らかにすることが課題である。

さらに、降圧メカニズムの解明のみならず、ナメコならびにナツハゼには高血圧改善効果のある未知の成分が含まれている可能性もあり、既知の活性成分の同定に加えて、未知の成分の探索も推進する必要がある。

参考文献

- 1)国民栄養の現状：“平成15年度国民健康・栄養調査結果の概要”、厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室 監修、第一出版、2005
- 2)代田浩之、鬼柳 尚、宮崎哲朗：“循環器疾患診療におけるメタボリックシンドローム”、J Jpn Coll Angiol、47、pp. 139-143、2007
- 3)Ukawa Y, Furuichi Y, Kokean Y, Nishii T, Hisamatsu M：“Effect of Hatakeshimaji (*Lyophyllum decastes* Sing.) mushroom on serum lipid levels in rats”、J Nutr Sci Vitaminol、48、pp. 73-76、2002
- 4)Takei T, Yoshida M, Ohnishi-Kameyama M, Kobori M：“Ergosterol peroxide, an apoptosis-inducing component isolated from *Sarcodon aspratus* (Berk.) S. Ito”、Biosci Biotech Biochem、69、pp. 212-215、2005
- 5)竹原良記：“ブルーベリー抽出エキスおよびアントシアニンによる内皮依存性血管弛緩と抗酸可能”、食品工業、47、pp. 26-31、2004
- 6)吉川敏一、辻 智子：“ブルーベリー”、機能性食品ガイド、pp. 254-261、講談社、東京、2004
- 7)石見佳子：“植物ポリフェノールの機能性と安全性”、食品と開発、35、pp. 5-7、2000
- 8)坂田則行：“酸化ストレスと動脈障害”、脈管学、43、pp. 685-688、2003
- 9)筒井裕之 編：“酸化ストレスと心血管疾患 分子機構の解明から治療への応用まで”、別冊医学のあゆみ、医歯薬出版、pp. 1-132、2007
- 10)関澤春仁、後藤裕子、谷口 彩、河野圭介：“福島県ハイテクプラザ試験研究報告(平成18年度)”
- 11)新谷 理、室原 豊明：“血管新生因子 VEGF”、J Jpn Coll Angiol、46:、pp. 289-295、2006
- 12)Celletti FL, Waugh JM, Amabile PG, Brendolan A, Hilfiker PR, Dake MD：“Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression”、Nature Med、7、pp. 425-429、2001
- 13)Kasahara Y, Ashihara Y：“Colorimetry of angiotensin-I converting enzyme activity in serum”、Clin Chem、27、pp. 1922-1925、1981
- 14)藤田敏郎他 編集“高血圧のすべて”、医学のあゆみ、189、pp. 431-739、1999
- 15)西村眞人、吉村 学：“SHRの昇圧機構における交感神経系の重要性”、医学のあゆみ、189、pp. 155-158、1999
- 16)Kagota S, Tamashiro A, Yamaguchi Y, Nakamura K, Kunitomo M：“High salt intake impairs vascular nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate system in spontaneously hypertensive rats”、J Pharmacol Exp Ther、302、pp. 344-351、2002
- 17)岩本隆宏：“食塩感受性高血圧とNa⁺/Ca²⁺ 交換体：食塩負荷から血管トーネス亢進への古くて新しい機序” 日薬理誌、127、pp. 387-392、2006
- 18)Kawano Y, Yoshimi H, Matsuoka H, Takishita S, Omae T：“Calcium supplementation in patients with essential hypertension: Assessment by office, home and ambulatory blood pressure”、J Hypertension、16、pp. 1693-1699、1998
- 19)Fukuda N, Satoh C, Hu WY, Soma M, Kubo A, Kishioka H, Watanabe Y, Izumi Y, Kanmatsuse K：“Production of angiotensin II by homogeneous cultures of vascular smooth muscle cells from Spontaneously Hypertensive Rats”、Arterioscler Thromb Vasc Biol、19、pp. 1210-1217、1999
- 20)Ono A, Kuwaki T, Cao WH, Kumada M, Fujita T：“High calcium diet prevents baroreflex impairment in salt-loaded spontaneously hypertensive rats”、Hypertension、24、pp. 83-94、1994
- 21)D'Angelo EK, Singer HA, Rembold CM：“Magnesium relaxes arterial smooth muscle by decreasing intracellular Ca²⁺ without changing intracellular Mg²⁺”、J Clin Invest、89、pp. 1988-1994、1992
- 22)Kisters K, Krefting ER, Kosch M, Rahn KH, Hauberg M：“Intracellular Mg²⁺ concentrations i

- n smooth and striated muscle cells in spontaneously hypertensive rats”、Am J Hypertension、13、pp. 427-430、2000
- 23) Kisters K, Krefting ER, Hausberg M, Kohnert K D, Honig A, Bettin D : ” Importance of decreased intracellular phosphate and magnesium concentrations and reduced ATPase activities in spontaneously hypertensive rats”、Magnes Res、13、pp. 183-188、2000
- 24) Kisters K, Wessels F, Kuper H, Tokmak F, Krefting ER, Gremmler B, Kosch M, Barenbrock M, Hausberg M : ” Increased calcium and decreased magnesium concentrations and an increased calcium/ magnesium ratio in spontaneously hypertensive rats versus Wistar-Kyoto rats: relation to arteriosclerosis”、Am J Hypertension、17、pp. 59-62、2004
- 25) Katsuda S, Yasukawa T, Nakagawa K, Miyake M, Yamasaki M, Katahira K, Mohri M, Shimizu T, H azama A : ” Deep-Sea Water Improves Cardiovascular Hemodynamics in Kurosawa and Kusanagi-Hypercholesterolemic (KHC) Rabbits”、Biol Pharm Bull、31、pp. 38-44、2008
- 26) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構
九州沖縄農業研究センター 資料、
<http://konarc.naro.affrc.go.jp/>
- 27) 小林美緒、沖 智之、増田真美、永井沙樹、福井 敬一、松ヶ野一響、須田郁夫：“紫サツマイモ「アヤムラサキ」から調製したアントシアニン含有物の自然発症高血圧ラットに対する血圧下降作用、日本食品科学工学会誌、52、pp. 41-44、2005

福島・山形・新潟三県共同研究開発事業
『地域特産資源を活用したふるさとブランド機能性食品の開発』

平成21年3月

発行
福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター
福島県会津若松市一箕町大字鶴賀字下柳原88-1
TEL 0242-39-2100
FAX 0242-39-0335

編集
福島県ハイテクプラザ会津若松技術支援センター
醸造・食品科

※この研究は電源立地地域対策交付金を活用して実施した事業です。