

## 2. 新技術・新産業の創出に関する報告

本プロジェクトは、フェーズ 1 では大学等の基礎研究をシズとして研究課題を設定したため、新技術・新産業への可能性の探索を含め、比較的多くのテーマを設定してきた。しかし、平成12年度に実施された国の中間評価において中長期的展望に立った研究から短期的、中期的視点で産業化に資する研究を推進すべきであるとの指摘がなされ、次の視点から研究課題の再編を図った。

- ・ フェーズ 2 に移行するに当たり、共同研究推進委員会、グループリーダー会議、研究討論会、研究成果報告会などにおいて実用化研究を加速することで意思統一し、研究テーマの選択と集中を図り22テーマに絞込み、最終年には10テーマに縮小した。
- ・ 商品開発の目標については、「食と健康に関するバイオアッセイ基盤技術の確立によるプライマリーケア食品等の創生」をテーマに取り組んでいることから、主に保健機能食品の商品開発を志向することにした。
- ・ 「特定保健用食品」については、許可要件が厳しく長期的な研究と多額の費用がかかることから本州大手企業による商品化を、資金力の弱い道内企業については素材提供や栄養機能食品の商品化を志向した。

### (1) 食品成分の生体内動態の解析と新規生体調節機能解明技術の構築

#### 食品成分と消化管受容体の解明 (P 課題)

##### 【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H10年	H11年度	H12年度	H13年度	H14年度	H15年
(基本計画) 小腸粘膜細胞によるタンパク質レセプターの確認 腸管免疫に関する物質のスクリーニング			認識構造決定・レセプターの情報伝達機構解明 レセプターの発現機構の解明		
(進捗状況) ・ ラット小腸上皮粘膜細胞上に受容体の存在確認 ・ リガンドとなる食品タンパク質の特徴解析			<div style="border: 2px solid black; padding: 5px; display: inline-block;">             食品タンパク質受容機構と高機能タンパクの開発           </div> ・ 食品タンパク質分解物による飽食促進作用を発見 特許1		

#### (ア) フェーズ 2 研究成果

食品成分が消化管で吸収するためには、小腸上皮粘膜上の受容体による認識が必要である。そこで生体分子間相互作用解析装置を用いてラットの腸刷毛縁膜と各種の食品(牛乳、大豆、魚肉等)タンパク質との受容反応を解析して、縁膜上の受容体の存在と認識されるタンパク質の形態を明らかにした。その結果、認識形態の一つとしてグアニジル基を有するアミノ酸アルギニンの存在が認識要因になっていることを明らかにした。アルギニンは大豆タンパク質に多く含まれており、機能性ペプチドの開発が示唆された。

(イ) フェーズ 研究成果

(a) 食欲抑制ペプチドの開発

大豆タンパク質 コングリシニンをタンパク質分解酵素ペプシンで処理してペプチドを作製し、その各画分についてラット小腸刷子縁膜成分との結合能を生体分子間相互作用解析装置により解析した。その結果、51～63画分に強い結合能の存在が認められた。さらに、この画分をラットに投与して消化管ホルモンCCKの分泌活性を見たところ、明らかに食欲の低下が確認された。この時、比較のためCCK受容体の阻害剤を与えたものは食欲抑制効果が消失したことから、この画分の効果が裏付けられた。このペプチドのアミノ酸配列は、-R-Xn-Rのようにアルギニン(R)を複数個並んだ構造のものであった。今後、これらの基礎データをもとに、関心のある企業との共同研究を通じ、より効果の強い食欲抑制ペプチドの開発を目指す。

(b) 消化管の食品タンパク質受容機構の解明

生体分子間相互作用解析装置を用い、消化管粘膜上皮細胞刷子縁膜中から食品タンパク質に結合する成分を分離して、その成分の同定を行った。その結果、成分がタンパク質であることは確認できたが、構造解析を行うまでは至らなかった。さらに、CCK活性情報伝達系の解析をCCK産生細胞STC-1で行った結果、Caチャンネルの存在が確認された。

(ウ) 今後の展開

まだ基礎的研究の域にあるが、消化管ホルモンの分泌を促進する大豆タンパク質ペプチドの存在が明らかになったことから、この研究成果を如何に実用化に結び付けていくかが今後の課題である。

なお、本研究はJST事業「大学等ベンチャ-創出支援事業」として継続研究が認められており、その中でさらなる発展を期待している。

抗酸化成分の細胞受容機構の解明 (P 課題)

【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H10年	H11年度	H12年度	H13年度	H14年度	H15年

(基本計画)

心筋及び腸管細胞を用いた酸化ストレスの分子遺伝学的解明

(進捗状況)

- 心筋肥大マウス心筋培養細胞による発現遺伝子解明
- 心正常センイ芽細胞培養系による評価法

循環器系疾患等に対する道産食素材の評価と開発

に移行

評価法の活用

(ア) フェーズ 研究成果

心臓肥大モデルマウスを用いて、心筋細胞に傷害を与える酸化ストレスに対して有効な食品中の機能性成分をスクリーニングするため、発現遺伝子の変化を解析する評価系の構築を試みた。心筋細胞は継代培養が可能なHL-1を用い、発現遺伝子を解析して正常マウスとの比較を行った。その結果16種類の既知の

遺伝子と19種類の未知の遺伝子を同定した。しかし、心臓肥大マウスの研究は米国タフツ大学との共同研究であり、基盤技術としての新規性はあるものの培養細胞の取り扱いなどに課題が残った。

(イ) フェーズ 研究成果

「循環器系疾患等に対する道産食素材の評価と開発」中の「未利用農産物機能性解明と機能性食品・食素材の製造開発」において評価系として活用した。

(ウ) 今後の展開

今後、道立食品加工研究センターにおいて機能性食素材の評価系としての活用が期待できる。

大腸発酵モデルの構築

【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H10年	H11年度	H12年度	H13年度	H14年度	H15年
(基本計画) 代表的菌株の動態解析と分子生物学的解明 胆汁酸の乳酸菌精製阻害解明 新規オリゴ糖生産			腸内発酵モデルの創製と食品の評価 プロバイオティック乳酸菌とオリゴ糖の開発		
(進捗状況) ・ 代表的菌株の培養条件確立 ・ 混合培養による動態解析 ・ 乳酸菌の胆汁酸輸送メカニズム解明			<div style="border: 2px solid black; padding: 5px; text-align: center;">             プロバイオティック、プレバイオティック食素材              の開発及び評価           </div> ・ 腸内細菌解析技術の確立 ・ 胆汁酸取込能の高いシンバイオティック食素材の発見		

(ア) フェーズ 研究成果

複雑な腸内細菌の動態を解明するためコンピュータ制御による嫌気性連続培養装置の構築を行い、嫌気性ガスやpHの調整などの培養の条件、代謝産物である短鎖脂肪酸、菌種の識別に必要な16Sr DNAプロンプの選定等について基礎的な研究を行った。この中で嫌気性ガスの組成はN<sub>2</sub>のほかCO<sub>2</sub>とH<sub>2</sub>の存在が必要であることを見いだした。以上のような条件設定を行った後、単菌培養は乳酸菌およびビフィズス菌で行い、それぞれ乳酸、酢酸の産生を確認した。混合培養は乳酸菌とウエルシュ菌について行い、酪酸の生成が減少していることを確認した。また、各種のオリゴ糖の資化状態を解析し、ラフィノースが有効であることを確認した。今後はビフィズス属のbreveJCM1192菌を中心に単独および混合系の培養を行うこととしている。

また、腸内細菌のプロバイオティック機能の解析と応用については、乳酸桿菌とビフィズス菌にコル酸(ヒトの代表的な胆汁酸)耐性機能のあることを見いだした。アイソトンプを用いたコル酸輸送実験の結果、コル酸は菌体内に蓄積され、その濃度は菌体外と比較して3~14倍に達した。その駆動力は菌体の細胞膜内外のpH差によるものであることも明らかになった。このことは胆汁酸の体外への排出を促進し、腸肝循環量を減少させることで血清コレステ

ロ - ルの低下をもたらすとともに、二次胆汁酸の生成を抑制する可能性があり、結果的に新しいプロバイオティック機能が示唆された。

#### (イ) フェーズ 研究成果

##### (a) 嫌気性連続培養系を用いた大腸発酵過程の解析

標記の培養装置を用いて腸内細菌混合系における相互作用の解析を行った。オリゴ糖ラフィノ - スを炭素源として、善玉菌であるBif.breve菌に悪玉菌であるCl.perfringens菌を混合培養したところ、増殖能はビフィズス菌単体より劣るものの高い水準にあり、産生する短鎖脂肪酸は酢酸より酪酸が顕著であった。しかし、この系に大腸菌やバクテロイデス属の菌を加えると上記の相互作用が打ち消され、腸内細菌の代謝活動に様々な相互作用が働いていることが示唆された。

さらに、この混合系について、ラフィノ - スのプレバイオティック機能を見るため、連続式培養槽のpHをそれぞれ5.5,6.0,6.5に調整して（pH5.5は盲腸に相当し、pH6.5は結腸に相当）上記の菌を徐々に流通させたところ、各ジャ - とともに次第にbreve菌が優勢となり、perfringens菌の増殖が抑制された。このことは、盲腸におけるラフィノ - ス + breve菌の存在が結腸での悪玉菌の増殖を抑制していることを示しており、動物実験の結果とも一致していることが確認された。

一方、この混合系における特定の腸内細菌を属レベルで識別するため、16Sr DNAをターゲットとした数種類の特異プロ - プを用い、識別実験を繰り返した結果、5種類の細菌が識別できるようになった。これによって混合培養系の複数の細菌の存在比が求められるようになった。

これまでの研究から、嫌気性連続培養装置を用いた評価系は腸内細菌混合培養による動態解析に有効であり、さらに食素材と腸内細菌との関係を解明するための手段としても活用できる。

##### (b) 腸内細菌叢の食による変化のモニタリング

プロバイオティック、プレバイオティック食素材開発に腸内細菌叢のモニタリングは不可欠であり、最近ではゲノムテクニクを用いた識別法が次々に開発されている。本研究では、その一つであるDGGE法（変性溶媒電気泳動法）を理化学研究所から導入して、オリゴ糖DFA を投与した時の腸内細菌叢の変化をヒトおよびラットについて解析した。

ヒトの長期投与については、（株）ファンケルで行っているヒト介入試験を通じてサンプルを入手し、約1年にわたって腸内細菌の経時変化を追跡した。その結果、便秘ぎみのヒトでは便秘の改善と菌叢の変化が見られたが、通常のヒトでは菌叢に大きな変化は見られず、全般的にこのオリゴ糖が安全な食素材であることが裏付けられた。また、菌叢の変化したケースの中から、このオリゴ糖を資化する菌1株を分離し、嫌気性培地で資化状況を観察したところ酢酸を産生していることが判明した。

##### (c) 腸内細菌のプロバイオティック機能解析

フェーズ に引き続き、ビフィズス属の多くの菌株についてフラクトオリゴ糖やラフィノ - スを投与した時のコ - ル酸取り込み能を比較検討した。その結果、取り込み能は菌種によって異なっており、しかもラフィノ - ス

の投与はコ - ル酸輸送量を増大していることが分かった。これらのことから、プロバイオティック機能を示す最適な菌とオリゴ糖の組み合わせは、Bifid.breveJCM1192菌 + ラフィノ - スであることが明らかになった。

また、コ - ル酸を取り込み蓄積するメカニズムを解明するためビフィズス菌や乳酸菌について、これらに菌が生成する短鎖脂肪酸と細胞内pHとの関係さらにはコ - ル酸の細胞膜電位との関係を調べた。その結果、コ - ル酸の蓄積は細胞膜内外のpH差 ( pH ) と細胞膜のコ - ル酸電位差 ( ) の総和によって起こると考えられ、短鎖脂肪酸の生成は pHを低くする方向に働くが、全体的には膜電位のエネルギー - が大きいことからコ - ル酸の蓄積が進むことを明らかにした。

そこで、in vitroで機能が期待される血中コレステロ - ルの低減および二次胆汁酸の産生抑制などのプロバイオティック機能を実証するため、ラットを用いた in vivo試験を実施した。これに先立ち、ビフィズス菌を生きた状態で確実に腸内に送り込めるように溶腸性カプセルの調達を関連する企業に依頼し、直径1 mm ( 細菌数  $10^9$  レベル ) のカプセルを試作した。ラットへの食餌投与は、基本食のみ ( 第1群 )、基本食 + ラフィノ - ス ( 第2群 )、基本食 + Cap. ビフィズス菌 ( 第3群 )、基本食 + ラフィノ - ス + Cap. ビフィズス菌 ( 第4群 ) に分けて3週間行い、しかる後、必要な検査を実施した。その結果、第4群では糞便量の増加および総胆汁酸量の増加が確認され、しかも1次胆汁酸が2次胆汁酸に代謝されずに排出されていることも確認された。また、血中の総コレステロ - ル量についても低下していることが判明した。

さらに、これらの結果と腸内細菌叢の変化を関連させるため、3週間後のラットの盲腸について投与したビフィズス菌の増殖状況をバイオジェニック的手法である蛍光発色法 ( FISH法 ) および制限酵素DNAシ - ケンス多様化法 ( T-RFLP法 ) で解析した。その結果、第2群でビフィズス菌のわずかな増殖が確認されたが、第3群では全く増殖が見られなかった。第4群ではビフィズス菌の大幅な増殖が確認され、この組み合わせのものはシンバイオティック機能のあることが示唆された。

しかし、ラットは腸内細菌叢、胆汁酸組成、血中コレステロ - ル密度などがヒトのそれと多少異なっており、シンバイオティック機能をより正確に把握するためにはヒト介入試験の実施が今後必要である。

#### (ウ) 今後の展開

腸内細菌のプロバイオティック機能の視点を置いたシンバイオティック食素材の開発を目指したものであるが、研究の第2段階であるin vivo試験までは終了した。今後は第3段階であるヒト介入試験を行うことになる。ヒト介入試験は前段の確かめ試験と後段の本試験に分かれるが、現在は前段の段階にあり、北大医学部の協力を得て計画を進めている。今後、JST事業「研究成果最適移転事業」を通じて事業の展開を計画している。

## ミネラル吸収解析技術の確立（P 課題）

### 【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H10年	H11年度	H12年度	H13年度	H14年度	H15年

(基本計画)

カニキュレーション及びマイクロサージャリー技術の構築  
ミネラル吸収機構の解明

抗酸化物質等薬理成分の生体内動態解析

(進捗状況)

- カニキュレーション及びマイクロサージャリー技術による消化管各部位のカルシウム吸収動態解明
- x - vivoによるオリゴ糖とミネラル吸収機能との関係解明

ミネラル吸収機構とミネラル吸収促進食  
素材の開発

- ミネラル吸収評価法の確立
- DFA の量産化技術の確立
- ヒト介入試験で効果と安全性確認し、DFA商品開発が可能となった

### (ア) フェーズ 研究成果

難消化性オリゴ糖のカルシウム吸収促進作用に関して、その直接作用と大腸発酵により産生される短鎖脂肪酸などの発酵産物を介した間接作用に分けて in vitro、in vivoの手法を用いて解析した。

その結果、in vitro系であるUssing chamber systemを用いた方法ではディフラクトオリゴ糖（DFA）に強いカルシウム吸収促進作用のあることを見いだした。さらに、その作用は小腸（空腸、回腸）でより強く発揮されていることを確認した。これを裏付けるためin vivo系としてカニキュレーションおよびマイクロサージャリー技術を用い、小腸および大腸（盲腸、結腸）における各部位のカルシウム吸収動態を解析した。

さらに、Ussing chamber systemを用いて他のミネラル（Mg, Zn, Fe）についてDFAの吸収促進効果のあることを確認したほか、その吸収はタイトジャンクションを介して行われていることも明らかにした。

### (イ) フェーズ 研究成果

#### (a) オリゴ糖によるミネラル吸収促進機構の解明

Ussing chamberを用いてラットの消化管粘膜（小腸および大腸）の in vitro系を構築し、ミネラル吸収促進の細胞内メカニズム（伝達経路）について解明を行った。その結果、DFAが粘膜細胞内のシグナル伝達系を活性化してタイトジャンクションを開放し、ミネラルの通過を容易にしていることを確かめた。Ca, Mg, Znなどのミネラルは、この方法で確認できたが、FeについてはpHの関係でchamber内で沈殿が起こり、解析方法を別途検討する必要が生じた。

また、ラットでは盲腸内でDFAを資化する発酵が起こっており、これによって産生する短鎖脂肪酸（主に酢酸）がミネラル吸収を促進していることも判明した。

#### (b) ミネラル吸収促進作用を有する食素材の開発

新たに *in situ*試験系を構築して上記の *in vitro*系との相関をみるため、卵巣摘出 (OVX) ラットを作成し、偽手術ラットと対比しながらCaおよびMgについてDFAの影響を調べた。通常のOVXラットはCaおよびMgの吸収が低下したが、DFAの投与で吸収量が回復した。また、消化管におけるミネラル吸収部位を調べるため、上記OVXラットについて盲腸および大腸を切除したモデルを作成し、腸内発酵産物である短鎖脂肪酸の影響などについて解析したところ、DFAの促進作用は小腸および大腸で行われていることが明らかになった。

さらに、Ca吸収と骨強度との関係を見るため、上記ラットの大腿骨の強度を測定したところ、骨強度はCa吸収と相関し、DFAの効果を確認された。

#### (c) DFAの有効性と作用機序に関する動物試験

Ca吸収の重度障害を起こす胃切除系および骨への作用が大きい運動負荷系のラットを用いて骨への影響を調べた。その結果、DFAは、胃切除ラットにおけるCa吸収低下を抑制し、骨密度に代表される骨障害を改善することが明らかになった。

また、運動負荷系ではDFAと自発的運動との組み合わせにより、骨強度の改善に著しい効果が認められた。

#### (d) DFAの量産化方法の開発

DFAは、多糖類イヌリンを原料とし、微生物産生酵素の働きによって2糖に分解する点に特徴がある。生産ラインは基本的には、ビ-ト糖生産工程とこの発酵工程との組み合わせで構成されるが、生産された糖の物性がそれぞれ多少異なるため、各工程に若干の改善が必要になった。

また、DFAの回収率を高めるため、各種のイヌリンについて物性評価を行い、最適な原料を決定した。現在は種々の評価試験用としてパイロットプラントによる生産を行い、本研究の関連企業に供給している。

#### (ウ) 今後の展開

関連する企業においてオリゴ糖DFAの試作プラントが順調に稼働したこと、およびDFAのカルシウム吸収に関して長期のヒト介入試験が進行中であることなど、企業化、商品化に向けて着実に事業が展開されつつある。

本オリゴ糖はカルシウム以外にもマグネシウム、亜鉛、鉄などのミネラルについても吸収促進効果が確認されており、今後、これらに関する商品化の研究も行われるものと推測される。

このオリゴ糖のプロバイオティック機能に関しては、まだ未解明な点が幾つかあり、その解明が今後の課題となる。

今後、北大院農学研究科研究者を中心として設立されたベンチャー企業「A-Hit-bio」に継承され、研究が促進されることになっている。

## 新PFCモデルの設計調査研究

### 【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H10年	H11年度	H12年度	H13年度	H14年度	H15年

(基本計画)

PFCに関する国内外の情報収集

食生活と健康に関するデータベースの構築に向けた疫学的データ収集

(進捗状況)

・ PFCに関する国内外の情報収集(完了)

・ 食品製造基礎データとして活用する

(ア) フェーズ 研究成果

基礎調査研究が完了したが、今後ヒト介入試験を実施するかどうか検討を要する。

(イ) フェーズ 研究成果

食品製造基礎データとして情報提供を図った。

(ウ) 今後の展開

フェーズ に継承する。

(2) 抗老化、抗酸化、免疫賦活作用のin vivo、in vitro評価法の新規開発とそれを活用した道産食素材の探索

## 老化病態モデルマウスと細胞を用いた加齢病態の特徴解析

### 【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H10年	H11年度	H12年度	H13年度	H14年度	H15年

(基本計画)

病態モデル動物SAM-P6.8.10の特徴解析

特異的発現遺伝子の単離・同定  
老化マーカーの解明(サイトカイン・スフィンゴ脂質など)

SAM-P1.2.3.7.9の特徴解析  
老化モデル動物の作出

(進捗状況)

・ 特異的発現遺伝子の解析・脳神経細胞生化学的解析、連鎖解析によるSAM-P8の老化遺伝子決定

・ P は北大院薬学研究科を中心に地域研究テーマ化し、継続とした

(ア) フェーズ 研究成果

本研究の目的は、早期に老化を引き起こすと考えられる遺伝子を含めた原因物質の探索にある。特に、ここでは老人性痴呆症の解明に役立つSAM-P8を用いて重点的に解析を行った。この老化マ - カ - を基準とすることで正常値との比較が可能となり、SAMを用いた有用食素材探索研究との連携も図れる。

これまで、脳の海馬領域を中心に発現遺伝子の変化を解析し、炎症性サイト



カインの一つであるIL-1、IL-6およびTNF- $\alpha$ のmRNAの発現が有意に上昇していることを見いだした。このことはグリア細胞を構成するアストログリア、オリゴデンドログリア、ミクログリアの活性に影響し、老化病態を促進しているものと考えられた。

今後も行動解析学、免疫組織学、脳神経生化学、in situハイブリダイゼーションなど複数の手法による解析を進めるほか、老化に關与する特定遺伝子を連鎖解析法によって染色体上の座位を確定して、より有用な実験用動物創製の基礎とした。

現在、対象としているSAMはP6（骨粗しょう症）、P8（学習記憶障害）、P10（情動傷害、皮膚老化）の3種類であり、P6、P10など専門に研究している大学への委託試験を含めて研究を行った。

(イ) フェーズ 研究成果

フェーズの「記憶障害責任遺伝子のQTL（量的形質遺伝子座）連鎖解析を行い、1番染色体、12番染色体、13番染色体上に記憶障害責任遺伝子の存在する候補領域の同定」成果を基礎に、SAM-P8の記憶障害責任遺伝子についてQTL解析を進めるとともに、各候補領域を持つコンジェニックウスの作製研究が継続された。

(ウ) 今後の展開

現在、急速に進行している老齡化社会において、アルツハイマー型痴呆症の研究は重要課題である。

また、加齡に伴う神経化学的变化の研究は実験動物に頼らざるを得ないので、今後、Pコア研究室における生体挙動系評価系として期待が大きく、地域研究テーマとして継続予定である。

老化病態モデルを用いた道産食素材の有効性評価

【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H10年	H11年度	H12年度	H13年度	H14年度	H15年

(基本計画)  
病態モデル動物SAM-P6・8・10に対する評価

SAM-P1・2・3・7・9に対する評価

(進捗状況)  
・SAM-P8を用いた評価をH13年度で完了とした

循環器系疾患等に対する道産食素材の評価と開発

- ・マメ科植物オオギ葉中に抗動脈硬化・骨粗鬆症改善効果を発見  
特許1
- ・タマネギ中の含硫化合物に学習記憶障害改善効果を発見  
特許1
- ・養殖コンブ仮根中のステロール・フコイダンに抗動脈効果を発見  
特許1

## (ア) フェーズ 研究成果

SAM-P8を用いた食素材の評価は、行動解析学的手法が主要な手段となる。そこで、試験食を2ヶ月経口投与した後、受動的回避反応試験装置（短期記憶テスト）および水迷路学習試験装置（長期記憶テスト）を用いてSAMの記憶力を正常マウスと比較して解析した。これまでの実験でハマボウフウのエタノール抽出物に学習記憶障害の改善効果が認められた。さらにタマネギの含硫化合物についても実験を行うことにした。

そのほか、薬用植物の一種であるオオギの葉部に含まれるフラボノイド（プテロカルパン）、養殖コンブの仮根に含まれるステロール類、サケ皮を素材としたコラゲンペプチドなどが関連する大学、企業で取り上げられており、*in vitro*、*in vivo*試験を行いつつある。

## (イ) フェーズ 研究成果

### (a) プテロカルパン含有道産豆類の機能性商品への応用

これまでの研究で、オオギ葉抽出物には動脈硬化抑制作用および骨芽細胞増殖促進などの機能性が見出だされている。この葉をお茶に加工する場合、その加工工程で含有するプテロカルパンの機能がどのように変化するかについて調べたが、大きな変動は見られず食素材の可能性が示唆された。その効果について *in vivo*試験で確認するための必要所要量を調整中である。

なお、この研究は15年度以降新たに創設したベンチャー企業に継承して行うことにしている。

### (b) 養殖コンブ仮根の機能性評価

養殖コンブ仮根中に含まれる多糖類フコイダン抽出し、その成分を調べたところ他のコンブには無いGL-フコイダンを確認した。この多糖類をマウスに経口投与して抗腫瘍性を評価したところ、用量依存的に効果のあることが確認された。

一方、仮根中の脂溶性画分について培養細胞系を用いて血管平滑筋細胞増殖の抑制効果を評価したところ、この画分に効果を示す2つの物質を確認した。その1つは海藻類に特有のステロイド化合物であった。これらの物質は合成法でも生産可能なことから、必要所要量を調整し、*in vivo*試験へと結び付ける。

なお、海産廃棄物であったコンブ仮根の食素材化は、共同研究に参加した企業で商品化が進められており、今後さらなる高付加価値化を目指す予定である。

### (c) 抗動脈硬化能の高い道産食素材および成分の解明と食品開発

ネギ属由来の含硫化合物を合成して、ヒトLDLの酸化抑制効果を明らかにした。

さらに、チコリ、ヤコン、ハスカップなどに含まれる抗酸化性物質の探索評価を行い、食素材化への基礎データとした。これまでタマネギ中の含硫化合物ではシステイン誘導体に強い活性が見られ、揮発性含硫化合物ではS-SよりもS-S-S系化合物に強い活性が見られた。

また、チコリにもヒトLDL酸化抑制効果のある化合物を見出だした。

これらの評価および食素材化は、15年度以降関連するベンチャ - 企業において継承することになっている。

(ウ) 今後の展開

- (a) 老化病態モデル動物、培養細胞を用いた動脈硬化抑制骨芽細胞増殖促進、ヒトLDL酸化抑制などの評価系については、P ネットワーク研究機構での活用が期待される。
- (b) フェーズ 研究成果については、共同研究企業で如何に実用化に結び付けていくかが課題であるが、北海道東海大学西村研究室を核としたベンチャ - 企業「北海道バイオインダストリ - 」および北見工大山岸研究室を核としたベンチャ - 企業「はるにれバイオ研究所」などが中心となり、実用化研究を目指すことになっている。

活性酵素消去物質と免疫賦活物質の新規評価法の開発

【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H10年	H11年度	H12年度	H13年度	H14年度	H15年

<p>(基本計画) 有効成分の抽出、精製、活性酵素消去物質新規評価法</p>	<p>同左 免疫賦活物質新規評価法</p>
--	---------------------------

<p>(進捗状況) ・ 牛骨・ウニ探索を完了 ・ 評価法研究は他と統合</p>	<p>-</p>
---	----------

(ア) フェーズ 研究成果

本課題は、有用食素材の in vitro、in vivo試験を行う上で欠かせない作業であり、一定成果を得、合成法・評価法研究関連評価系に統合した。

(イ) フェーズ 研究成果

-

(ウ) 今後の展開

フェーズ に継承する。

(3) 機能性植物の探索およびその機能性成分強化・育種と効率的生産システムの開発

食素材としての植物由来の機能性成分の探索

【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H10年	H11年度	H12年度	H13年度	H14年度	H15年

(基本計画)

各種2次代謝物の探索・単離・同定

機能性評価

(進捗状況)

100種植物評価

- ・抗酸化
- ・抗菌
- ・抗肥満
- ・リラクゼーション

循環器系疾患等に対する道産食素材の評価と開発

- ・ヒマワリ種子殻中に免疫強化物質の存在を確認
- ・ハーブ(ヒソップ、オレガノ)中の新規抗酸化物質に、活性酸素消去能、コレステロール低減、耐糖性を発見  
特許
- ・ハーブのリラクゼーション効果新規評価法を確立

(ア) フェーズ 研究成果

植物の情報伝達物質のうちヒトの健康に役立つものとして、抗酸化性成分、抗肥満、抗菌、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性、リラクゼーション効果などが上げられる。

本研究では、ハーブ、野草などを中心に約100種類の植物を対象として機能性の評価を行った。

抗酸化性では DPPH-HPLC法で1次スクリーニングした結果、フキノトウ、モミジガサ、クサソテツ、ヒソップ、ダツタンソバに強い抗酸化活性が見られた。現在、これら機能性成分の単離・同定を行っている。また、抗酸化作用のあるメラトニンについてはラジオイノム、ラジオレセプターアッセイ法による微量分析法を確立した。

$\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性の探索では、ニガウリ、ツユクサ、ヒソップ、エンレイソウ、オレガノに強い活性が見られた。

リラクゼーション効果については13種類のハーブ熱水抽出物(お茶)をヒトに飲用させ、摂取前後の脳波を測定した。その結果、カモミール、ヒソップ、レモンバーム、バジルなどに強い脳波の放出を確認した。

本課題の今後の展開としては、in vitroから in vivoによる有効性評価が必要であるとともに、得られた成果をいかにして食素材に結び付けていくかが課題となる。

(イ) フェーズ 研究成果

(a) 未利用農産物における機能性解明と機能性食品・食素材の製造開発

農産廃棄物である搾油後のヒマワリ種子殻について、抗酸化成分としてクロロゲン酸の存在を明らかにしたが、さらにDNA鎖切断阻害活性やマクロファージ細胞への分化誘導活性および $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性等について

てin vitro評価系を確立し、その中で活性のある成分の存在を明らかにした。

また、この種子殻について糸状菌による発酵を行ったところ、抗酸化性は若干低下したもののアミノ酸特にグルタミン、グルタミン酸、ロイシンなどが発酵前の5～10倍に増加し、旨味が向上することが明らかになり、食素材化の基礎データを得ることができた。

#### (b) 食後血糖値上昇抑制効果を有するハ・ブの有効性評価

これまでの研究で、ヒソップやオレガノには強い抗酸化性が認められており、その要因物質も同定されてきた。そこで、これらのハ・ブの抽出物を用いてin vivo評価を行った。その結果、オレガノについては血中コレステロールの低減効果および胃粘膜上の活性酸素による出血を抑制する働きのあることが明らかになった。また、ヒソップについてはラット小腸を用いた反転腸管法および動物実験で、血糖上昇抑制効果のあることが明らかになり、機能性ハ・ブとしての食素材化の可能性が示唆された。なお、この件に関してはJSTのRSP事業を通じ、「ハ・ブ研究会」を設置して加工技術なども含めた検討を行っている。

#### (c) リラクゼーション効果の新しい評価法

リラクゼーション効果を示すハ・ブとしてカモミールを取り上げ、新しい評価法として心拍数、抹消皮膚温度、脳波および感性スペクトルなどの項目を設定し、カモミール熱水抽出物（お茶）を被験者に与えて、その効果の確認を行った。服用30分後に心拍数の低下、抹消皮膚温度の上昇、

波発現の増大が見られ、この評価系は有効であることが認められた。さらに、これらの結果に関心のある業界ニズとしてハ・ブの化学的な解明が求められていることから、上記の熱水抽出物について分画を行い、有効な画分を決定することで、機能性を高めたハ・ブとしての食素材化を目指す。

#### (ウ) 今後の展開

本課題はもっとも地域的な特徴を生かした研究であり、道内公立・私立大学、試験研究機関、雇用研究員による共同研究体制をとって事業を行ってきた。

その基本的方向性は、道内で産出する農産物やハ・ブ類中の有価物の探索とその機能性を小動物で評価する一連の評価法の確立にあり、これまで新規物質の発見を含めた幾つかの特許を出願するに至っている。

今後はこれらの成果を如何に実用化に結び付けていくかが課題であるが、JST事業であるRSP事業と連動して産学連携の「ハ・ブ研究会」を立ち上げ、ハ・ブの機能性だけでなく、加工技術等も含めた研究を行っている。

以上のように、大学・試験研究機関の有するシズがベンチャー企業を通じて既存企業へ技術移転される動きが見られるようになり、地域産業振興の新たな形態が生まれつつある。

## 機能性成分を強化した植物の創製

### 【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H10年	H11年度	H12年度	H13年度	H14年度	H15年

(基本計画)

機能性高含有植物の育種・育苗開発

同左

(進捗状況)

・細胞融合条件検討

循環器系疾患等に対する道産食素材の評価と開発
------------------------

・細胞融合法による体細胞雑種形成技術を確立し、キャベツ・ハクサイ雑種個体を作成し、育成中

#### (ア) フェーズ 研究成果

本研究は、アブラナ科植物中に多く含まれている芥子油配糖体（スルフォラファン）をターゲットとして細胞融合法により機能性成分を強化した植物の創製を目的としている。この物質は化学的発ガン抑制のあることで知られているが、平成12年度から開始したばかりであり、当面はスルフォラファンの分析法の確立を目指している。融合する植物は、ブロッコリ - とハクサイ、メキャベツとコマツナの組み合わせを計画し、一部予備試験を行った。

#### (イ) フェーズ 研究成果

芥子油成分合成能を有するブロッコリ - 、メキャベツと合成能を持たないコマツナ、ハクサイのプロトプラストを細胞融合して、細胞分裂を促進する倍地の最適条件を明らかにした。しかし、カルスの形成までは至っていない。また、芥子油成分であるスルフォラファンの分析は、この物質が揮発性であるため分析精度の安定化が課題である。

#### (ウ) 今後の展開

芥子油成分分析技術に対する企業関心が高く、今後、（社）植物情報物質研究センターで研究を継続する。

植物の大量生産法確立と機能性の評価

【基本計画進捗状況】

フェーズ			フェーズ		
H 1 0 年	H 1 1 年度	H 1 2 年度	H 1 3 年度	H 1 4 年度	H 1 5 年

(基本計画)

ハイテク植物工場創製に関する要素技術開発

各種植物の栽培

(進捗状況)

光環境による機能性成分強化研究完了  
 ビタミンC  
 ーカロチン

(社)植物情報物質研究センターでポットハーブ  
 栽培出荷

(ア)フェーズ 研究成果  
 事業化に至った。

(イ)フェーズ 研究成果  
 事業化に至った。

(ウ)今後の展開  
 事業化に至った。