

### 3. 共同研究実施報告

#### (1) 研究体制の構築

##### (i) 研究体制及び研究課題

本事業は「生物資源を利用した有用物質の生産技術開発（A）」および「生物資源に含まれる有用物質の機能解析（B）」から構成される2つのプロジェクトで実施した。平成16年度に実施した中間評価の結果を受けて、平成17年度において研究実施体制を見直した。再編後のサブテーマやグループリーダーについては表1に示す。

表1 プロジェクト毎のサブテーマ及びサブリーダー

プロジェクトA：生物資源を利用した有用物質の生産技術開発	
A-1	海藻類の機能性物質の生産技術開発
A-1a	モズク等褐藻類の機能性物質 サブリーダー 嘉手苺 崇（TTC コア研究室 研究員）
A-1b	モズクフコイダンの新規利用開発 サブリーダー 楠元 俊英（TTC コア研究室 研究員）
A-2	食用植物資源物の新規利用法および加工技術の開発
A-2a	沖縄産サツマイモ（ムラサキイモ）の健康機能解明と食品素材開発 サブリーダー 吉田 匠（TTC コア研究室 研究員）
A-2b	カメリア属（ヤブツバキ）に含まれる有用物質 サブリーダー 廣瀬 美奈（TTC コア研究室 研究員）
A-2c	ヤエヤマアオキ果実発酵飲料の調製 サブリーダー 今田 有美（TTC コア研究室 研究員）
プロジェクトB：生物資源に含まれる有用物質の機能解析	
B-1	沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発 サブリーダー 吉野 敦（TTC コア研究室 研究員）
B-2	遺伝子資源の有効利用 サブリーダー 池原 強（TTC コア研究室 研究員）
B-3	品質保証のための標準評価法および定量分析法の開発と機能性物質ライブラリの構築 サブリーダー 市場 俊雄（沖縄県工業技術センター 班長）

参考：再編前のグループリーダー等

◎プロジェクトA：生物資源を利用した有用物質の生産技術開発

プロジェクトリーダー 直木 秀夫（地域結集型共同研究事業研究副統括）

A-1 海藻類の機能性物質の生産技術開発

グループリーダー 直木 秀夫（地域結集型共同研究事業研究副統括）

A-2 食用植物資源物の新規利用法および加工技術の開発

グループリーダー 屋 宏典（琉球大学遺伝子実験センター教授）

◎プロジェクトB：生物資源に含まれる有用物質の機能解析

プロジェクトリーダー 比嘉 敏勝（トロピカルテクノセンター 研究開発部長）

B-1 沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発

グループリーダー 田中 淳一（琉球大学理学部助教授）

旧B-2 沖縄産生物資源由来ポリフェノール及びペプチド類の機能解析

グループリーダー 丸山 進（産業技術総合研究所 グループ長）

### 【プロジェクト毎の研究課題】

プロジェクトA：「生物資源を利用した有用物質の生産技術開発」

事業化、新産業の創出を行うためには生物資源由来の有用物質を安定して生産する必要がある。また、事業化、新産業を創出するためにはこれら有用物質を活用した用途開発および製品開発が必要である。本プロジェクトは食品への応用を主眼とした生物資源について生物資源から有用物質の抽出・精製技術の開発を行う。

表1に示すように2つの小テーマからなるサブテーマ：海藻類の機能性物質の生産技術開発（A-1）及び3つの小テーマからなるサブテーマ：食用植物資源物の新規利用法および加工技術の開発（A-2）について研究を進めた。

プロジェクトB：「生物資源に含まれる有用物質の機能解析」

沖縄産生物資源の中で、食歴のない生物や食品以外の商品開発に有用な資源について、機能を探索し、検出された機能物質の化学構造や作用発現メカニズムを解明する。得られた成分については、化学や生化学・ゲノムの手法による生産の可能性を検討する。また、機能性成分の品質管理や製品開発を行う際に必要な標準物質の作成や検出手法の標準化及び有用生物のデータベース化を行った。

テーマを沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発（B-1）、遺伝子資源の有効利用（B-2）、品質保証のための標準評価法および定量分析法の開発と機能性物質ライブラリの構築（B-3）に設定して研究を進めた。

#### （ii）コア研究室及び研究拠点の配置

研究は、主にコア研究室（沖縄健康バイオテクノロジー研究開発センター内）及び県工業技術センターを拠点に行われているが、テーマにより琉球大学、県農業研究センター、県水産海洋研究センター等の施設も利活用しながら進めた。（表2参照）

表2 テーマ毎の研究拠点

研究拠点（テーマ毎）	
A-1a	コア研究室、琉球大学医学部、県水産海洋研究センター
A-1b	コア研究室、サントリー
A-2a	コア研究室、琉球バイオリソース開発
A-2b	コア研究室、琉球大学医学部、琉球大学理学部
A-2c	コア研究室、琉球大学遺伝子実験センター
B-1	コア研究室
B-2	コア研究室、トロピカルテクノセンター
B-3	県工業技術センター、県農業研究センター

#### （iii）共同研究の実施状況

表3に示すとおり、共同研究機関として、琉球大学（医学部、遺伝子実験センター、理学部）、県工業技術センター、県農業研究センター、県水産海洋研究センター、企業5社、などが参画し、地域COEの研究体制の確立に向けたネットワークが形成された。

研究設備や研究組織（研究テーマ）など研究資源が研究統括を中心としたコア研究室に集約され、さらに、琉球大学及び県公設試等の参画機関が相補的に連携しあう形ができた。しかしなが

ら、研究成果の事業化を担う民間企業の参画が遅れたことや少ないことが事業化の進展が遅い原因となった。

表3 テーマ毎の共同研究の構成

サブテーマ	共同研究の構成
A-1	コア研、琉球大学医学部、県水産海洋研究センター、サントリー（株）、金秀バイオ（株）
A-2	コア研、琉球大学医学部、理学部、遺伝子実験センター、県農業研究センター、（株）仲善、（株）琉球バイオリソース開発、（株）沖縄県物産公社
B-1	コア研、県水産海洋研究センター、金秀バイオ（株）
B-2	コア研
B-3	県工業技術センター、県農業研究センター

研究成果の実用化や地域産業への普及、技術移転を促進するためには、県内企業や大学、公設試験研究機関の参画が重要である。特に、成果移転がスムーズに行われるかはその研究への企業等の参画度合いに左右される。早い段階での参画が望ましい。企業等の参画を拡大するため、プレス発表等を行う等、積極的にメディアへ研究成果を公表し、本事業への参画の呼びかけを行うとともに研究成果を報告会等によるPRも積極的に進めた。

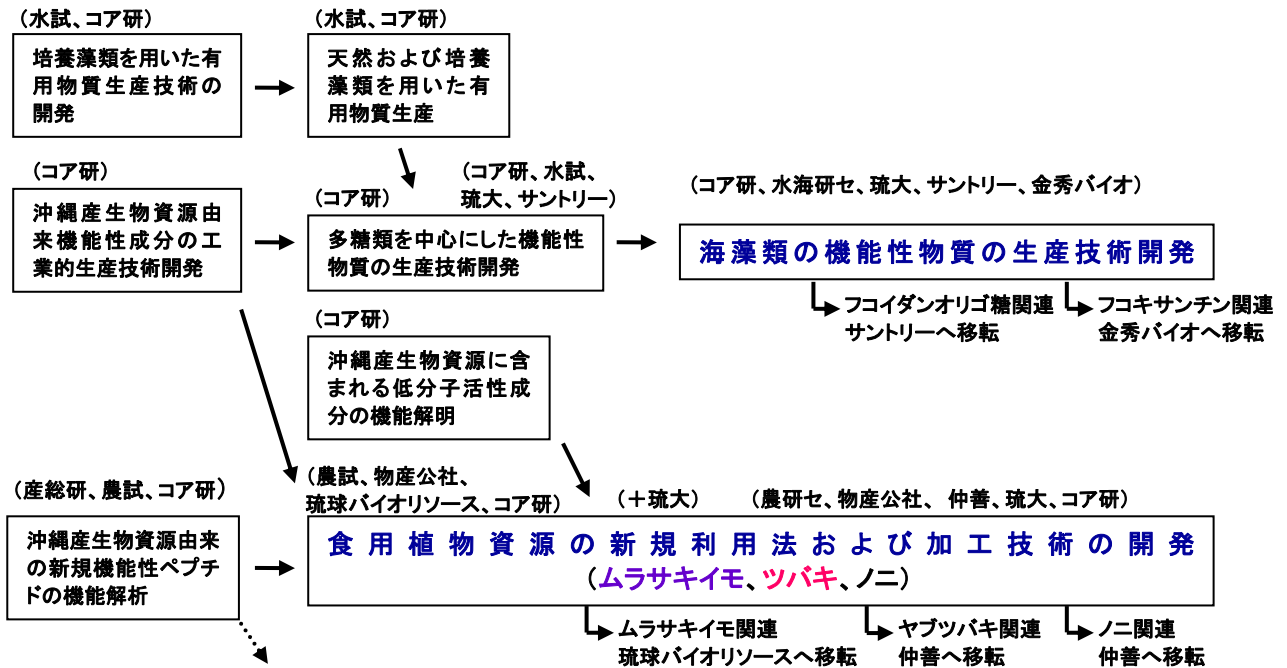
(iv) 研究全体の進捗状況

各テーマとも、研究は順調に進捗した。研究成果をすみやかに特許出願し、その権利化を図った上で、論文・学会発表を行うように努めた。既に、特許出願を終えた研究成果については、すみやかに企業へ技術移転すべく、本事業へ参画していただき、製品化へ向けた共同研究に移行した。それにより、現時点では5件の技術移転を行い、3件商品化し販売に至っている。また、3件については試作品開発まで進み、今春中の上市を目指している。

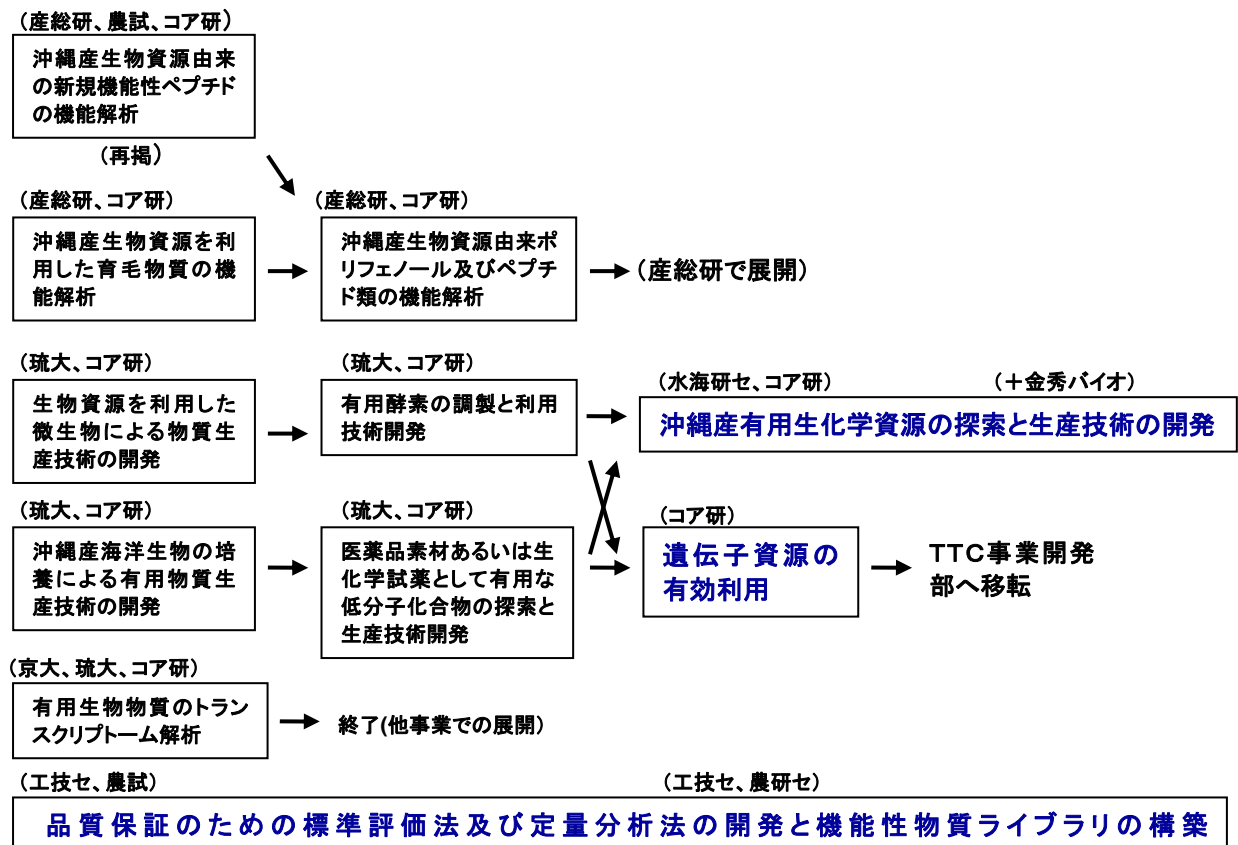
(2) 研究テーマの推移

本事業のスタート時（平成14年度：基本計画）は、2つのプロジェクト8つのサブテーマで研究を実施した。事業3年目に実施された中間評価結果を受け、平成17年度に研究テーマの絞り込みとテーマ間の有機的連携を図り、企業化に向けてより機能的な研究を行うため、動物試験等を実施する琉球大学を加えた実施体制に再編した。研究テーマの再編状況を図3に示す。

A: 生物資源を利用した有用物質の生産技術開発



B: 生物資源に含まれる有用物質の機能解析



(平成14, 15年度): 8テーマ (平成16年度): 8 (平成17年度): 5 (平成18年度): 5 (平成19年度): 4

※中間評価(JST)

(当初: 2プロジェクト, 8テーマ) → (中間評価後: 2プロジェクト, 5テーマ)

図3 研究テーマの再編状況

なお、中間評価までに得られたテーマ毎の研究成果概要とテーマの再編理由をつぎに示す。

平成 16 年度の区分	研究 成 果 の 概 要
A-1 a : 多糖類を中心にした機能性物質の生産技術開発	モズクフコイダンの低分子化技術と新規機能の創出を目的とし、最も簡便かつ経済的な方法である酸分解法によって、新規硫酸化オリゴ糖の作出に成功し、免疫強化作用の検出にも成功した。特許取得と大規模商品化も視野に入れて順調に推移している。
A-1 b : 天然および培養藻類を用いた有用物質生産	モズク盤状体、その他の沖縄産藻類について、フコキサンチン、フコステロール調製と ACE 阻害活性確認に成功して健康機能を立証し、商品化への基礎資料を得た。

↓

平成 17 年度の区分	変 更 理 由
A-1 a 及び A-1 b を統合 → A-1 : 海藻類の機能性物質の生産技術開発	A-1 b のテーマで、平成 16 年度行った「モズク盤状体」については、ほぼ所期の目的を達成したので、同じく海藻を対象とする A-1 a と統合し、モズク以外の海藻も含めた硫酸オリゴ糖、色素、ステロール類の調製と有効利用の促進を図る。

平成 16 年度の区分	研究 成 果 の 概 要
A-1 c : 食用植物資源の新規利用法および加工技術の開発	<ul style="list-style-type: none"> <li>・沖縄産サツマイモ（ムラサキイモ）茎葉エキス作出法を特許出願し、イモ自体のエキス調製法の試験もほぼ完了した。すでに事業化の実証試験段階にある。</li> <li>・代表的な柑橘類であるシークワサー搾汁粕を用いて簡便なエキス調製法開発の見通しを得た。特許出願も視野に入れている。</li> </ul>
B-1 : 沖縄産生物資源に含まれる低分子活性成分の機能解明	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ヤブツバキからラット肥満細胞の脱顆粒を強力に抑制する物質を単離し、特許出願に向けて準備中である。</li> <li>・ノニの ACE 阻害物質は既知物質と判明した。ノニの健康機能成分として GABA を特定し、ACE 阻害物質と併せて利用開発の展望が開けてきた。</li> </ul>

↓

平成 17 年度の区分	変 更 理 由
A-1 c 及び B-1 を統合 → A-2 : 食用植物資源の新規利用法および加工技術の開発	前年度のテーマ A-1 c と B-1 は、共に陸上植物の機能成分の利用開発を目指していた。B-1 で対象としていたノニやヤブツバキの有効成分が特定され、その機能性エキスはサツマイモやシークワサーエキスと共通の方法で調製可能と推定されるので、同一のプロジェクトに統合することが研究の促進に効果的と判断した。

平成 16 年度の区分	研究 成 果 の 概 要
A-2 a : 医薬品素材あるいは生化学試薬として有用な低分子化合物の探索と生産技術開発	医薬品素材を海綿動物から調製したが、真の生産者と想定されるらん藻類の培養は不成功に終わった。大量の海綿動物採集は環境保全に好ましくないので、培養可能な生物を対象を変更することとした。
A-2 b : 有用酵素の調製と利用技術開発	生化学および測定キット試薬として需要の大きい PP2A 酵素の遺伝子組替え技術による調製に成功して国際特許を出願した、大量調製法の検討も順調に進行している。



平成 17 年度の区分	変 更 理 由
A-2 b の一部 → B-1 : 沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発	前年度のテーマ A-2 a では、琉球大学と共同して海洋の生化学資源の開発を目指した。しかし、原料となる海綿動物やホヤ類を大量に採取することは、生態系の改変に至る恐れがあるので中止し、培養可能な生物から生化学資源を探索することとした。一方、沖縄での重要二枚貝であるシャコガイの共生藻や産卵誘発物質の解明は産業的に大きな意義がある。また、前年度は A-2 b に含まれていたフコイダン分解酵素の研究は、モズク以外の海藻の硫酸化オリゴ糖の利用開発に重要と考えられるので継続することとした。いずれの研究も海洋生物を対象とし、微生物の培養を行う点で共通するので、B-2 に統合することが研究の促進につながると判断した。
A-2 a 及び A-2 b の一部を統合 → B-2 : 遺伝子資源の有効利用	

平成 16 年度の区分	研究 成 果 の 概 要
B-2 : 沖縄産生物資源由来ポリフェノール及びペプチド類の機能解析	沖縄産の試料から、インスリン分泌促進、ウィルスプロテアーゼ阻害、プロスタサイクリン生成促進、骨芽細胞酵素促進、育毛等の諸活性を検出し、特許出願した。



平成 17 年度の区分	変 更 理 由
終了	今後、産業技術総合研究所で独自実施のためテーマを終了

平成 16 年度の区分	研究 成 果 の 概 要
B-3 : 品質保証のための標準評価法及び定量分析法の開発と機能性物質ライブラリの構築 → 平成 17 年度の区分 B-3 (継続実施)	収集試料から抗酸化、ACE 阻害、血糖上昇抑制、抗アレルギー活性を検出して特許化、商品化を進めた。有用成分含有植物の栽培条件適正化の資料を得た。

### (3) 研究成果

研究成果を様式6の書式に従って記載する。しかし、多数の研究員が分担・協力を行ったA-1とA-2及びB-1のサブテーマでは、研究内容が多岐にわたる。そこで様式6によるサブテーマ全体についての成果報告だけではなく、「小テーマ」をさらに細分化して番号を付し、各研究員の主たる担当内容が明らかになるように報告書を作成し添付することとした。記述は様式6に準じて行い、細分化テーマ一覧及び執筆者をつぎに示した。

#### A-1 海藻類の機能性物質の生産技術

- A-1a-1 モズク等褐藻類の機能性物質（フコキサンチン等）：嘉手苺 崇
- A-1a-2 モズク等褐藻類の機能性物質（フコステロールその他脂質）：當山 洋
- A-1a-3 蛋白質分解物の血圧上昇抑制効果からみた沖縄産海産物：今田 有美  
(平成17年度まで実施)
- A-1b モズクフコイダンの新規利用開発：楠元 俊英

#### A-2 食用植物資源の新規利用法および加工技術

- A-2a 沖縄産サツマイモ（ムラサキイモ）の健康機能解明と食品素材開発：吉田 匠
- A-2b カメリア属（ヤブツバキ）に含まれる有用物質
  - A-2b-1 オキカメリアシドの単離と構造決定：小野寺 健一
  - A-2b-2 脱顆粒・抗炎症を指標とするツバキ属における活性分布：津波 和代
  - A-2b-3 オキカメリアシドのLC分析と3,3',4-トリメトキシエラグ酸4'-グルコースの同定：津覇 恵子
  - A-2b-4 オキカメリアシドの作用機構の解明：久場 恵美
  - A-2b-5 オキカメリアシド以外の抗脱顆粒・抗炎症成分の同定：廣瀬 美奈
  - A-2b-6 オキカメリアシドの化学合成：吉田 匠
  - A-2b-7 ツバキに含まれるフラボノイド化合物と抗酸化性：小野寺 健一
- A-2c ヤエヤマアオキ果実発酵飲料の調製：今田 有美
- A-2d 沖縄産柑橘類搾汁粕の有効利用：渡慶次 香（平成17年度まで実施）

#### B-1 沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発

- B-1-1 底性渦鞭毛藻の培養による生化学・分析化学試薬及び医薬品リード化合物の生産：吉野 敦
- B-1-2 オキリマリドの構造と活性：小野寺 健一

#### B-2 遺伝子資源の有効利用（本事業では平成18年5月末まで実施）

タンパク質脱リン酸化酵素（PP2A）の大量生産と利用開発：池原 強

#### B-3 品質保証のための標準評価法及び定量分析法の開発と機能性物質ライブラリの構築：市場 俊雄（沖縄県工業技術センター）

#### 旧B-2 沖縄産生物資源由来ポリフェノール及びペプチド類の機能解析：

丸山 進（（独）産業技術総合研究所）

## A 生物資源を利用した有用物質の生産技術開発

### A-1 海藻類の機能性物質の生産技術開発

#### A-1a モズク等褐藻類の機能性物質

モズク等の褐藻のカロテノイドであるフコキサンチンは多くの健康機能が報告されていながら利用開発が進んでいなかった。そこでフコキサンチンとその脱アセチル体であるフコキサンチノールの効率的製造法と食品・医薬品としての機能解明を行い、さらに両カロテノイド以外の機能性脂質の解析を行って、モズク等褐藻の高度利用を推進することを目標として研究を行った。

天然界最大のカロテノイド資源であるフコキサンチンは、大量・安価な原料がないために利用開発が遅れていた。モズクは安価ではないが大量入手が可能であり、フコイダンとフコキサンチンの同時製造技術を確認すれば、原料コストを大幅に低減できると考えた。さらに、モズクの収穫後の管理によってフコキサンチン含量を飛躍的に高める可能性を推定した。一方、琉球大学医学部との共同研究では、九州・沖縄地方に多い成人 T 細胞白血病に対して顕著な予防・治療効果が示された。フコキサンチンの健康機能食品利用と医薬品創生の可能性追及を更に展開するのに必要な高純度試料を低コストで製造する技術を確認した。

まず、フェーズⅠでは、フコキサンチン抽出原料としての沖縄産褐藻類の適性調査やフコキサンチンとフコキサンチノールの調製をコア研究室で行い、琉球大学医学部で活性試験を行った。

フェーズⅡでは、褐藻類エキス及びフコキサンチンの安全性確認やフコキサンチンとフコキサンチノールの活性評価やフコキサンチンの抽出技術、機能成分強化培養技術等に取り組んだ。

その結果、①抗 ATL 効果が確認されたので抗ウイルスとしての特許出願（琉球大学との共願）②フコキサンチンとフコイダンの同時製造法（金秀バイオ(株)と共願）、③培養管理による健康機能を強化したモズクの作出（水産海洋研究センターと共願）、④高純度フコキサンチン製造法（TTC 単独）の特許を出願した。

フコキサンチンの製造法に関する技術を県内企業に移転し、平成 20 年には健康食品としての商品が発売される段階にある。これらの効率的製造法とともに、モズクのフコキサンチン含量を高める培養条件を見出したことから高純度化学品や機能性食品への産業利用が可能になっている。また、フコキサンチンが ATL の予防・治療剤となる可能性も見出している。抗 ATL の研究が進み、効果が確認されれば沖縄のみならず全国・全世界の ATL 患者への朗報となる。

#### A-1b モズクフコイダンの新規利用開発

モズクは沖縄県が全国生産の 90%を占める特産品であり、水溶性の硫酸多糖体であるフコイダンは健康機能を掲げた商品として重要である。

これまでに、沖縄特有の生物資源であるオキナワモズクのフコイダンには、抗血液凝固活性、抗腫瘍作用、抗炎症作用等の有用生物活性が報告されている。しかし、硫酸化多糖であるフコイダンの基本構造の解析や分子量測定には困難が多く、生物活性や品質判定の基礎となる構造情報に乏しい。

そこで、フコイダンについて低分子化によって新規機能性物質を創出する可能性を検討した。本研究では、フコイダンから酸加水分解等の化学的分解法によって、より活性効果が期待できるオリゴ糖の効率的な工業的生産技術の開発を目指した。そして、これらの化学構造情報を明らかにすると共に、腸管からの吸収性に優れ、さらに活性増強や新規活性発現が期待されるところの硫酸化フコースをはじめとする各種オリゴ糖の単離・精製に成功し、その活性評価をサントリー健康科学研究所で行った。



その結果、①化学的分解法によって硫酸化フコースをはじめとする単糖から4糖までのオリゴ糖の単離・精製に成功した。②それらの活性評価試験を行い、良好な免疫賦活活性を確認した。③8種の新規オリゴ糖の化学構造を確定しエキスの調製法と合わせて、まずは、2件の特許(「フコイダン加水分解生成物と免疫賦活素材とを含む組成物」「フコイダン由来オリゴ糖」)を平成17年7月29日国内出願した。④また、この2件の特許について、平成18年7月28日にPCT加盟国及び台湾、タイ、マレーシアへ追加出願した。⑤さらに、平成19年1月26日、新規の機能性に関して「フコイダン由来オリゴ糖」の特許をPCT加盟国に出願している。

これらの成果をもとに、機能性食品の開発が期待できる。

## A-2 食用植物資源の新規利用法および加工技術

### A-2a 沖縄産サツマイモ(ムラサキイモ)の健康機能解明と食品素材開発

ムラサキイモは近年の沖縄県特産品の一つであり、その特徴的色調から青果以外にも多様な食品の原料として利用されている。含有するアントシアニン系色素や無色のクロロゲン酸、カフェ酸類については、抗酸化作用・抗変異原性・肝機能保護など多様な健康機能の報告があるが、我々は塊根部だけでなく、茎葉部にもこれらの有用成分が高含量存在することを分析によって明らかにしてその効率的な濃縮液調製法の確立と健康機能と食用色素としての機能をあわせ持った食品素材の開発を目的に研究を行った。

その結果、健康機能成分であるポリフェノール類を一括して健康機能成分の濃縮液として簡便に調製する方法を見出し、特許出願(特許査定)している。この方法で調製したエキスにはイモ臭がほとんどなく、水溶性なので多様な食品製造への利用が期待できる。これまで未利用だった茎葉部も有効利用できる。

また、技術移転企業との連携により実用化に向けたより詳細な検討を行った。それにより、パイロットスケール(200kg)のムラサキイモ塊根部(ペースト)からポリフェノールエキスを製造し、その安全性(単回投与毒性試験・変異原性試験)に問題が無いことを確認した。さらに、エキス中のカフェ酸関連ポリフェノールとアントシアニン色素を簡単な操作で分離する方法も併せて開発している。

### A-2b カメリア属(ヤブツバキ)に含まれる有用物質

日本では国民の30%がアレルギー疾患に罹患しており、症状を軽減・予防する食品や医薬品の開発は社会的要請である。花粉症に代表されるI型アレルギーは、肥満細胞の脱顆粒によって炎症性成分を放出されることに起因する。

本研究では、沖縄産の植物から脱顆粒阻害成分を発見して、健康食品・医薬・化粧品への利用開発を行うことを目的とした。まず、ヤブツバキの葉に強力な活性を見出したので、活性本体の新規化学構造を決定し、動物実験によって安全性確認とアレルギー症状の軽減を確認した。活性本体のオキカメリアシド(OCS)は微量成分なので、抽出・精製法を改良する一方、化学合成を行って諸試験に必要な純品の入手を図った。さらに、ツバキの健康機能成分としてOCSの類縁体及びオレアノール酸を同定し、それぞれの定量法を設定してツバキ属植物中の分布を明らかにした。

これらの研究により、OCSが抗アレルギー薬品であるフマル酸ケトチフェンを1万2千倍も上回る脱顆粒阻害活性を示すことが分かった。このような高活性の新規物質の植物からの発見は近年にない。OCSの構造決定と化学合成の成果は天然物化学として高い水準にあり、DNAマイク

ロアレイ解析で得たシグナル伝達に関する情報は、脱顆粒機構に関する新知見につながるものと期待される。

OCS 以外の成分が示す抗炎症や抗酸化作用も証明し、ツバキの健康機能が宣伝されている同属の「茶」とは機能の上でも化合物組成の上でも大きく異なる新たな健康機能素材であることを証明した。

本研究では健康食品開発の対象を抗アレルギー食品と定め、RBL-2H3 細胞系による迅速・鋭敏なスクリーニングを採用した。ツバキは沖縄県に自生し、実は食用油の原料となり、葉は一部の人に飲用されていた。その抽出物は細胞毒性を示さないので商品開発の好素材と判断して研究を進めた。オキカメリアシドと命名した活性本体は微量成分なので単離は難航し、構造決定も NMR スペクトルのプロトンシグナルが少ないことや<sup>13</sup>C シグナルの重複が激しいことで決定までに時間を要した。また、動物実験や作用機構解明に必要な純品を確保するために精製法を改善したが、さらに多量を供給する必要があるため、構造確認も兼ねて化学合成を開始した。動物実験では安全性とアレルギー症状の軽減を実証した。微量の純品で作用機構の解析を進める手段として DNA マイクロアレイを用い、興味ある結果を得た。ツバキは「茶」と同属の植物であるのでツバキ属植物に含まれる OCS 類とその他の抗炎症成分を機器分析及び活性試験で調査し、茶には OCS 類やオレアノール酸が含まれないことを証明した。このことによって、ツバキ茶は「茶」の類似品ではなく、全く別種の健康機能を提供する素材であることを確立した。

#### A-2c ヤエヤマアオキ果実発酵飲料の調製

これまで未解明だったヤエヤマアオキ（ノニ）発酵果汁の健康機能を科学的に証明するとともに、ノニ製品の弱点である不快臭と暗褐色を軽減した飲みやすいノニ健康飲料を開発すべく研究に取り組んだ。

まず、ノニ発酵果汁中の有効成分の同定及び動物実験での機能性評価を行った。つぎに風味改善を行うため、新規脱臭技術の開発を目指した。

具体的な成果を挙げると、①ノニ発酵果汁中には血圧降下作用を示す GABA と抗炎症成分のイリドイド化合物（デアセチルアスペルウロシド酸）が高濃度に存在することを明らかにした。②イリドイド化合物には炎症性サイトカイン産生を抑制する機能があり、この現象がノニ発酵果汁の抗炎症メカニズムの一端であることを示唆した。③また、ノニ発酵果汁がリウマチやアレルギーモデルにおいて炎症抑制効果や骨代謝改善効果を示すことを証明した。④風味改善の研究では、合成吸着剤を利用した新規脱臭法が、既存の方法よりも GABA やイリドイド化合物の回収率で優れており、脱臭処理後も健康機能の損失のないことを動物実験で確認し、官能試験において風味の改善を実証した。

この研究では健康食品に求められるエビデンスを整備するとともに、なおかつ飲み易い商品を開発できた。

#### B-1 沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発

—底性渦鞭毛藻の培養による生化学・分析化学試薬及び医薬品リード化合物の生産—

下痢性貝毒の原因毒であるオカダ酸類は、生化学試薬や機器分析標準試薬として大きな需要がありながら、オカダ酸を除いては供給がなかった。そこで、沖縄沿岸に生息する渦鞭毛藻の大量高密度培養によって、オカダ酸類を単離し、更にエステル体の化学合成によって分析標準品を調製して商品化することを目指した。さらに、オカダ酸以外の新規活性物質についても探索した。

その成果として、①沖縄本島周辺で渦鞭毛藻を採集して培養に成功した。②ついで、オカダ酸 (OA) 及びディノフィシストキシン 1 (DTX1) を単離し、これらを原料として 3 段階でパルミトイルエステルの化学合成を行った。③試作した LC/MS 用標準品を EU 中央研究所に提供して高い評価を得た。④渦鞭毛藻の培養法改善に取り組み、光源の選択、吸着樹脂の使用、培地循環方式の採用によって従来培養法に比べて大幅な増収 (OA28 倍、DTX162 倍) に成功した (新培養法は特許出願済)。⑤新規細胞毒性化合物のオキリマリド 2 成分を発見して平面構造を決定した。

現在、機器分析用分析標準品として販売されているのはオカダ酸のみであり、極めて高価格である。高純度の下痢性貝毒主要 4 成分を揃えることが可能なのは世界中で本研究室のみであり、EU 各国研究員からも大きな期待が寄せられているところである。また、海洋生理活性天然物は、海綿動物やホヤ類から得られるものの供給が困難であり、本研究のように培養可能な鞭毛藻類から活性物質を得た例は極めて少なく、産業化に向けて期待できる。

## B-2 遺伝子資源の有効利用

### ータンパク質脱リン酸化酵素 (PP2A) の大量生産と利用開発ー

近年、熱帯から温帯海域や湖沼群に生息するプランクトンが毒化、海産二枚貝に蓄積し、世界各地で被害が拡大している。これらの被害を最小限に止めるためにも、迅速で感度の高い毒検出キットの開発に対する要望が国内外から高い。これらの毒の原因物質の阻害対象物質がタンパク質脱リン酸化酵素 (PP2A) であることから、我々は高度な遺伝子技術によって大量に PP2A 酵素を精製する技術の開発に取り組んだ。

開発した手法は、組換え蛋白発現系としてバキュロウイルスー昆虫培養細胞発現系を利用するものであり、それによって酵素活性を有する目的タンパクの発現、精製が可能となった。

現在、1 L 規模の細胞培養から約 200 ユニットの PP2A を精製することに成功している。また、ヘテロ二量体 (触媒サブユニットと A サブユニット) を形成している市販の酵素と同様に、二量体を形成した酵素、及び触媒サブユニットのみの酵素の 2 種類の形態で目的酵素を調製できる技術開発も行った。

## B-3 品質保証のための標準評価法及び定量分析法の開発と機能性物質ライブラリの構築

生物資源は個体差や季節変動が大きいいため、機能性食品・化粧品・医薬品等への利用に当たっては、機能の安定的発現の確保が非常に重要である。そのためには、安定して機能を発現する資源を選定すると共に、機能性評価法および成分定量法を標準化し定量的に品質管理を行う必要がある。

そこで、抗酸化性、血圧上昇抑制、血糖値上昇抑制、抗アレルギー活性などの機能を安定に発現する資源を *in vitro* および *in vivo* の両面で検索すると共に、機能性成分を明らかにし生産現場で実施可能な機能性評価法および成分定量法を開発することを目的に研究を行った。

その成果として、

- ①「素材ライブラリ/データベース」として約 650 種、1,300 サンプルの素材情報を収載し、さらに全サンプルに関する 11 種の活性試験結果を登録。
- ②「標準物質ライブラリ」としてフラボノイド (57 種)、アルカロイド (101 種)、アミノ酸、糖、テルペンなど 79 種を収集・保管し、さらにクロマト分析条件、UV-VIS スペクトルをデータベース化した。
- ③この事業で導入した 11 種に加えて、抗菌活性試験など既存の 4 種の試験をルーチンで行え

る体制を整え、スクリーニングするだけでなく、これらの方法を技術移転できる体制を整えた。すでに脱顆粒阻害などの試験法を、当事業のコア研究室などへの技術移転実績が多数ある。また 1,300 エキスに対する評価試験の結果をもとに、産業技術総合研究所及び県内企業が、製品化に向けて開発中の素材が多数ある。

④素材ライブラリに収められている素材からマメ科など 76 種の植物エキスを選定し、そのイソフラボノイドを機器分析法によりスクリーニングし、イソフラボノイド含有素材 6 種、全ライブラリエキス中の抗菌成分をスクリーニングし、特定の細菌に活性を示す抗菌成分含有素材 14 種を明らかにした。

イソフラボン含有素材と抗菌成分含有素材はそれぞれ、化粧品素材、農業資材素材として別事業により現在開発が進められている。

⑤試験を行った素材の一つで糖分解酵素阻害作用による血糖値上昇抑制効果を有するニシヨモギ（フーチバー）は、糖類分解酵素阻害作用の強弱の主たる要因は収穫する季節であり、夏期は冬季収穫の 6 倍の活性を示すことを明らかにした。グッバ（バンシルー）やボタンボウフウ（サクナ）等の素材についても、作用の強弱を決定する主たる要因とその変化を明らかにし、またエンサイ（ウンチェー）では“収集・保存系統の特性が明らかになり、試験したもののうち 2 品種は収量が高い”ことがわかった。

本基礎研究では、食歴や栽培状況の調査も含めた資源選定と、動物試験まで行いその効果を最大限研究しているため、県内企業が製品化へすぐに適用できる可能性が高い。また、素材データベースの開発により、健康食品業界だけではなく化粧品、医薬部外品素材としての応用も可能な基礎的データの蓄積ができています。

#### (4) 今後の展開 (総括)

##### A-1 海藻類の機能性物質の生産技術開発

フコキサンチン等の大量分離精製および機能性評価に関するテーマでは、分離精製技術やフコキサンチン含量を高める技術、あるいは医薬品としての開発可能性についての知見が得られ特許を出願している。特に、九州・沖縄に多いウィルス感染に起因する悪性リンパ腫（成人 T 細胞白血病）の予防・治療効果が期待される実験結果が得られたことは特筆される。なお、商品開発については、フコキサンチン入りのサプリメントを金秀バイオ(株)が試作しており、今春、上市の予定である。フコキサンチンはその用途に応じて純度や製造法が異なることから産業規模での製造には助言が必要であると思われる。また、フコキサンチンなどの健康機能を強化したモズクは製造原料としての用途に加えて、生食用にブランド化する可能性もある。この研究は水産海洋研究センターで継続される予定である。また、フコキサンチンの抗 ATL 作用解明は一層の推進が望まれるところである。

今後、県内食品企業が産業規模で製造を開始する際に生じる諸問題や抗 ATL 研究における試料提供等については、本事業終了後に新たな支援事業への提案を行い、研究開発費を確保していきたい。

「モズクフコイダン」については、得られたフコイダンオリゴ糖の生理機能を活かした新たな健康食品開発に向けた取り組みをサントリー(株)が行っていく予定である。

##### A-2 食用植物資源の新規利用法および加工技術

「沖縄産サツマイモ（ムラサキイモ）」の研究では、開発した製造法は有機溶媒を使用しない熱水抽出法が主体なので食品素材として応用が容易であり、各種食品へイモの臭いのない健康機能強化剤、あるいは健康機能強化を兼ねた着色剤として利用できる。また、ほとんど利用のない茎葉部を用いる場合は原材料費が安く、抽出残渣も家畜飼料や肥料への再利用が可能である。

現在、技術移転を受けた企業（(株)琉球バイオリソース開発）が、支援事業に応募採択され、実用化に向けての研究開発が進められている。

「ヤブツバキ」関連研究では、ヤブツバキの葉に強力な活性を見出したので、活性本体の新規化学構造を決定し、動物実験によって安全性確認とアレルギー症状の軽減を確認した。

これらの成果を県内企業（(株)仲善）に技術移転し、その企業が健康食品として「沖縄の椿茶」を発売している。さらに、高品質化を図るため支援事業に応募、採択され、新たな商品開発に取り組んでいるところである。

その他にも健康食品としてのエビデンスが整備されているので、他種飲料や食品への添加などの用途開発が期待される。また、医薬品創生の可能性については、合成と作用解明を行った琉球大学グループによる続行が望まれる。ツバキは沖縄県以外にも広く分布しているので、類似商品を作りやすい。そこで、本事業で出願した特許だけでの対応が困難なことも予想される。他社に先駆けて市場に販路を確保する努力が望まれる。

「ヤエヤマアオキ（ノニ）」関連では、これまで伝承医学としてのノニ発酵果汁の機能性は広く報じられているが、科学的根拠が明確ではなかった。本研究ではノニ発酵果汁が血圧調整作用、関節炎改善、骨粗鬆症改善の機能を有していることを見出した。また、血圧調整作用等の機能を保持しつつ風味を改善する新規脱臭技術を開発した。その技術を移転した企業（(株)仲善）により「飲みやすいノニジュース」の試作も行われ、今春の上市を目指して取り組んでいる。

### B-1 沖縄産有用生化学資源の探索と生産技術の開発

下痢性貝毒の検出にはマウス毒性試験が、現在、公定試験法として採用されており、各国で年間数千件規模の検査が行われているが、感度、特異性、動物倫理上の問題があり、次世代の検出法の候補としてLC/MS分析法が検討されている。しかし、分析に必須な標準品の供給がないため、機器分析による試験には障害があった。そこで、本研究開発の実用化により、下痢性貝毒の検出が高精度、高感度、迅速、簡便、効率的に行うことが可能となってきた。

ここでは、標準品の継続的な供給・販売体制を構築することが最大の課題である。さらに、他種貝毒(Yessotoxin)も渦鞭毛藻の培養で生産可能なので、メニューの拡大を行って採算性を向上させることが好ましい。精製毒を抗原として抗体を作製してキット化すること、あるいは化学誘導体を調製して受容体との競合的結合試験検出キットを作製するなどの展開が期待される。

これらの研究開発を行うため支援事業の獲得を目指して取り組んでいく。

### B-2 遺伝子資源の有効利用

タンパク質脱リン酸化酵素(PP2A)は生体内シグナル伝達に重要な酵素であるが、市販のPP2Aは高価なうえ、活性が不安定であった。本事業では遺伝子組換え技術を用いてPP2Aの生産法を確立した。その技術をTTC事業開発部に移転しており、その技術をベースに平成18年度沖縄産学官共同研究推進事業(沖縄県、内閣府)を活用して、PP2Aを用いて下痢性貝毒を簡便に測定するキットを商品化した。また、平成19年度地域新生コンソーシアム事業(経済産業省)への応募、採択され、PP2Aを利用した藍藻毒の検出キットの開発に取り組んでいる。今後とも、遺伝子組み換え技術を駆使し他の有用酵素の生産技術開発等、遺伝子資源の有効利用に向けて取り組んでいく。

### B-3 品質保証のための標準評価法及び定量分析法の開発と機能性物質ライブラリの構築

工業技術センターでは、地域結集型共同研究事業を主たる事業として県内の生物資源の収集を行い、機能性食品・化粧品・医薬品等への利用に当たって有用と思われる機能評価法を導入し、機能評価の結果をデータベース化した。このデータベースをもとに血圧上昇抑制、血糖値上昇抑制、抗アレルギー活性などの機能を持つ素材の探索を行い、多くの有用素材の存在を明らかにし、それら素材の一部はすでに製品化に向けた開発が行われている。

今後、このデータベースを用い機能性食品・化粧品・医薬品等の開発に向けた応用研究に取り組むとともに、機能性とそれを示す成分との関係を、遺伝子レベルで解明し、その生物工学的情報に基づいた有用物質生産に向けた開発を行いたい。