



## 健康長寿への貢献を目指した りんごポリフェノール配合食品の開発

(カルピス株式会社 機能性食品事業部) 灘岡 勲

### はじめに

呼吸により生体内に取り込まれた酸素は主にエネルギー産生に使用されるが、一部の酸素は反応性の高い活性酸素に変化し、体内の細菌を攻撃するなど生体防御に寄与している。一方で、活性酸素が過剰に発生すると正常な細胞まで酸化して、細胞機能に障害を及ぼす<sup>1)</sup>。このような酸化ストレス状態はがん、動脈硬化、糖尿病などの疾病へ関与すると考えられている<sup>2)</sup>。通常、生体にはスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) やカタラーゼなどの抗酸化酵素が存在し、活性酸素を除去しているが、これらの酵素は加齢に伴って減少するため<sup>3)</sup>、除去しきれなかった活性酸素が老化を促進させるとも考えられている。我々は、酸化ストレスを制御することが健康長寿につながるものと考え、食を通じた酸化ストレス制御を目的に研究を重ねた結果、りんご未熟果実に含まれるポリフェノールに優れた抗酸化作用を見だし、高純度でりんごポリフェノールを抽出・粉末化する技術確立した。本稿では、りんごポリフェノールが有する抗酸化作用について紹介する。

### りんごポリフェノール (AP)

りんご未熟果実より精製したりんごポリフェノール (AP) は、カテキン単量体が重合したプロシアニジン類を主成分として含有する食品素材である。2量体と3量体を中心としたプロシアニジン類が全体の約65%を占

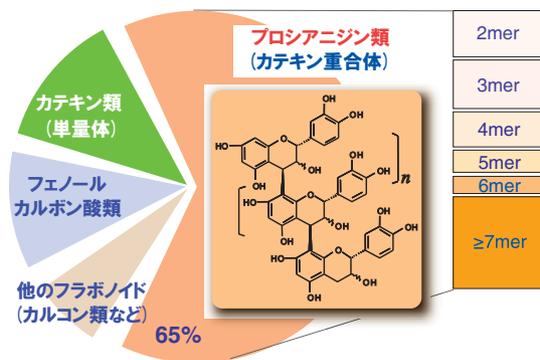


図1. APの構成成分とプロシアニジン類の構造

め、カテキン類、フェノールカルボン酸類などの複数のポリフェノールで構成されている (図1)。APは米国の食品安全基準である自己認証GRASを取得しており、安全性が確認されている。

### APの抗酸化作用

**ORAC** Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) は、食品の抗酸化力を科学的に分析する基準として、米国農務省と米国国立老化研究所により開発された活性酸素吸収能力を表す指標である。APに多く含まれるプロシアニジンB2とぶどう種子に含有されるレスベラトロールなどの代表的なポリフェノールについて、ORACを測定した結果を図2に示した。プロシアニジンB2のORACは25,700 mmol TE/molと測定したポリフェノール類の中でもっとも高く、アスコルビン酸の約59倍の抗酸化力を有することが明らかとなった。

**マウスの寿命延長効果<sup>4)</sup>** APの抗酸化作用を動物レベルで評価すべく、酸化ストレス過剰となる老化促進モデルマウス (心筋Mn-SOD欠損マウス) を用いて、APを継続摂取させたときの老化抑制効果を検証した。心筋Mn-SOD欠損マウスは、心筋において活性酸素を除去できないため、拡張型心筋症を発症し、通常のマウスと比較して短命となることが分かっている。6週齢のマウスを2群に分けて、対照群には水を、AP群にはAPを0.1% (w/v) 配合した水を自由摂取させ、死亡するまで飼育投与を続けて生存率を測定した。その結果、

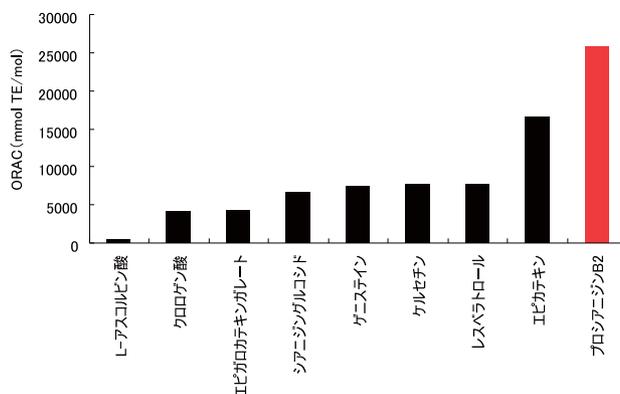


図2. 代表的なポリフェノール、栄養素のORAC

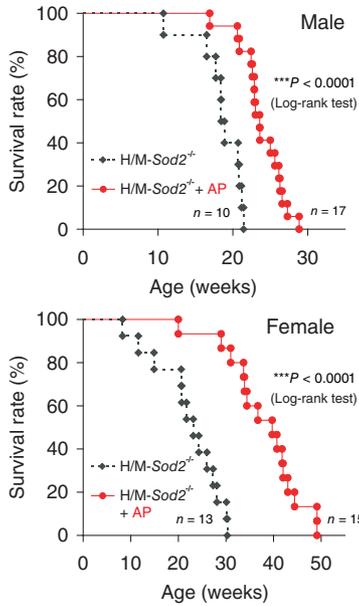


図3. AP摂取による老化促進モデルマウスの生存率変動

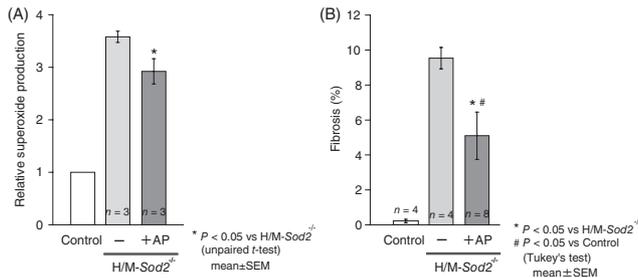


図4. AP摂取による老化促進モデルマウスの心臓ミトコンドリアのスーパーオキシド産生量 (A) と心筋組織 (B) への影響

AP群は対照群と比較して雄、雌ともに生存率が有意に延長した。雄の平均寿命は対照群が18.5週であるのに対し、AP群では23.8週であり、雌の平均寿命は対照群が22.1週であるのに対し、AP群は37.9週であった(図3)。また、17週齢の雄マウスの心臓より分離したミトコンドリアを用いて、試験管内で電子伝達系基質を添加したときのスーパーオキシド産生量を測定したところ、AP群は対照群と比較してスーパーオキシド産生量が有意に減少し、心筋組織の線維化も同様に有意に抑制した(図4)。これらの結果からAPは、生体内において抗酸化作用を発揮することで、加齢に伴う活性酸素の増加による老化の進行を抑制させる可能性が考えられた。

**ヒトの酸化ストレス低減効果<sup>5)</sup>** APの抗酸化作用をヒトレベルで検証すべく、日常的に疲れを感じており、酸化ストレスが高い健康な40～60歳代の男女に対して、対照群 (n = 18) にはプラセボを、試験群 (n = 17) には1日摂取量としてAP 200 mg、ビタミンE 100 mg、

表1. d-ROM中央値以上の被験者のd-ROM, 過酸化脂質変動

項目	群	摂取前	摂取後
d-ROM (U. CARR)	対照	399.2 ± 8.6	391.9 ± 23.8
	試験	389.4 ± 8.3	318.4 ± 14.0**.#
過酸化脂質 (nmol/mL)	対照	3.16 ± 0.16	2.83 ± 0.15
	試験	3.24 ± 0.12	2.69 ± 0.07**

平均値 ± 標準誤差 (対照群: n = 9, 試験群: n = 9)

\*\*p < 0.01: 摂取前と比較, #p < 0.05: 対照群と比較

ビタミンC 30 mg, トコトリエノール3 mgを配合した食品を12週間継続摂取させて、摂取の前後で抗酸化関連検査を実施した。抗酸化関連検査としては血中過酸化脂質に加えて、活性酸素により生じた有機分子の酸化代謝物である血中ヒドロペルオキシド濃度を測定するd-ROMを用いた。d-ROMは米国心臓協会の機関誌でアテローム血栓の初回イベントを予測する血漿バイオマーカーの一つとして、また、疲労学会の抗疲労臨床評価ガイドラインでは、疲労を客観的に評価する生体酸化ストレスマーカーの一つとして知られている。

抗酸化関連検査について層別解析を行った結果を表1に示した。層別解析では、酸化ストレスレベルが高い方と低い方での変動を評価するために、被験者をd-ROMが高めの方と低めの方に分けて解析を行った。高めの方のグループでは、試験群においてd-ROM, 過酸化脂質が摂取前に比べて摂取12週間後に有意に低下した。また、摂取12週間後のd-ROMは対照群と比較して有意に低下した。このようにAP配合食品は酸化ストレスレベルの高い方において、抗酸化作用を発揮することが明らかとなった。

### APの安全性

APの安全性に関しては、変異原性試験, ラット急性毒性試験, ラット90日間反復投与試験, ヒト過剰量摂取試験などを実施して問題ないことを確認している。

### おわりに

ORACで確認されたAPの優れた抗酸化作用は、マウスやヒトの生体レベルでも作用することが示唆された。AP配合食品が酸化ストレスを制御し、健康長寿の実現に寄与できるものと考えている。

### 文献

- 1) 谷口直之監修: 細胞工学, **15**, 秀潤社 (1996).
- 2) 井上正康編著: 活性酸素と病態, 学会出版センター (1991).
- 3) Niwa, Y. *et al.*: *Blood*, **76**, 835 (1990).
- 4) Sunagawa, T. *et al.*: *Int. J. Life Sci. Med. Res.*, **2**, 46 (2012).
- 5) 澤田陽子ら: 日本未病システム学会誌, **21**, 21 (2015).