

の試験食群との間に有意差はみられなかったが、イソフラボン群では低い傾向を示した。臓器重量についても、対照群と6種類の機能性成分を与えた試験群との間に有意差はみられなかった。

染色体損傷に対する食品機能性成分の影響はB[a]P投与前、および投与後24、48時間後に誘発された染色体損傷度を、PCE1,000個当たりのMNPCEの出現数で示した(TABLE 4)。B[a]P投与前では全ての群間で有意差は見られず、PCE1,000個当たりのMNPCE出現数は平均1.8個であった。一方24、48時間後では対照群に比べ、食品成分を与えた全ての試験食群でMNPCE出現数の有意な減少が見られた。24時間後はPCE1,000個当たり、対照群でのMNPCE9.0個に対し、試験食群では平均2.3個と74%の抑制効果が見られた。48時間後はPCE1,000個当たり、対照群でのMNPCE25.5個に対し、試験食群では平均8.5個と67%の抑制がみられた。48時間後の抑制割合は、ルチンで78%、クルクミンで73%、ヘスペリジンで71%、エラグ酸で67%、カテキンで65%、イソフラボンで47%の順であった。

## 2) 肥満・脂質代謝に関与する健康食品成分の有効性の評価

### (1) 成長期ラットにおける食物繊維の評価

#### ①成長結果

ラットの体重、飼料摂取量、飼料効率をTABLE I-2に示した。初体重は4群間に差はなかったが、3週間の飼育終了時にはタマリンドガム群のみ有意な体重増加の抑制がみられた。この原因は飼育期間中の飼料摂取量が低いことによるものであり、飼料効率では4群に差はなかった。

#### ②臓器重量

解剖時に摘出した臓器重量の結果はTABLE I-3に示す。肝臓の相対重量は4群間に差はなかった。しかし、副睾丸周辺脂肪と後壁腹脂肪の重量は真重量でも相対重量でも、コントロール群(セルローズ)に比べて、他の食物繊維群では有意に低下した。

#### ③血清のアディポサイトカインと脂質濃度

血清のアディポサイトカイン濃度の結果はFig. I-1とFig. I-2に示した。血清レプチン濃度はタマリンドガムとアルギン酸ナトリウム群ではセルローズやキトサンに対して有意に低下し、脂肪組織重量との関連がみられた。他方、アディポネクチン濃度には有意な影響は見られなかった。

#### ④血清脂質濃度

血清脂質濃度の結果はTABLE I-4に示した。血清総コレステロール、リン脂質は3種の食物繊維群では有意に低下した。トリグリセリドもほぼ同様に低下傾向がみられたが、アルギン酸ナトリウムのみコントロール群とは有意差がみられた。

他方、脂肪組織における脂肪の動態と関わりが深いとされている遊離脂肪酸濃度は脂肪組織重量に影響の強い食物繊維による有意な影響は見られなかった。

## ⑤肝臓脂質量

肝臓中の脂質濃度と脂質総含量はTABLE I-5に示した。肝臓の総コレステロールは、濃度、総含量ともに3種の食物繊維では有意に低かった。しかし、トリグリセリドやリン脂質では有意な差はみられなかった。

## ⑥脂肪組織の細胞の大きさと数

3種の脂肪組織の細胞の大きさはFig. I-3に示した。副睾丸周辺脂肪の細胞の大きさはタマリンドガムとアルギン酸ナトリウムでは有意に小さかった。後腹壁脂肪の細胞ではアルギン酸ナトリウムで有意に小さかった。皮下脂肪の細胞ではタマリンドガムで有意に小さかった。しかし、キトサンでは、いずれの脂肪組織でも小さくなる傾向はみられたが、有意差はなかった。

他方、副睾丸周辺脂肪と後腹壁脂肪の脂肪細胞数には有意な影響はみられなかった。皮下脂肪は組織重量が測れなかったため、組織1g当たりの細胞数として表したところ、コントロール群に対してキトサン群とタマリンドガム群では多くなる傾向が見られ、アルギン酸ナトリウム群ではコントロールと差がなかった。

## (2) 卵巣摘出肥満ラットにおける食物繊維の評価

### ①成長結果

各種食物繊維を与えたラットの成長結果をTABLE II-2に示す。初体重は各群等しかったのに対し、終体重はコントロール群・サイリウム群・レジスタントスターチ群でSHAM群に比べて有意に増加した。体重増加量は、コントロール群・サイリウム群・レジスタントスターチ群ではSHAM群に比べて有意に増加した。飼料摂取量は、自由摂取させたがいずれも有意差はなかった。飼料効率はSHAM群に比べて、コントロール群・サイリウム群・レジスタントスターチ群で有意に高くなった。

### ②臓器重量と脂肪細胞のサイズと数

各種食物繊維を与えたラットの臓器重量をTABLE II-3に示す。肝臓重量には有意差は見られなかった。後腹壁脂肪はSHAM群に比べて、レジスタントスターチ群が有意に増加した。子宮周辺脂肪はキトサン群に比べて、レジスタントスターチ群が有意に増加した。子宮重量は、SHAM群に比べ、いずれの群も有意に減少した。

脂肪細胞の大きさと数をTABLE II-3に示す。脂肪細胞の大きさは、コントロール群に比べてSHAM群とサイリウム群で有意に小さかった。キトサン群、レジスタントスターチ群も小さい傾向にあった(有意差なし)。脂肪細胞の数は、SHAM群とコントロール群間で差はなかったが、サイリウム群ではコントロール群に比べて有意に細胞数が増加した。

### ③血清脂質ならびにアディポサイトカイン濃度

血清中の各脂質濃度をTABLE II-4に示す。血清総コレステロール値は各群に有意差は見られなかった。血清HDL-コレステロール値は、SHAM群に

比べてキトサン群が有意に低下した。non-HDLコレステロールは、SHAM群と比べてキトサン群・サイリウム群・レジスタントスターチ群で有意に増加した。血清トリグリセリドは、コントロール群に比べ、レジスタントスターチ群で有意に増加した。

血清レプチン、アディポネクチンの濃度をTABLE II-4に示す。血清レプチンはSHAM群に比べてコントロール群は有意に増加した。キトサン群とサイリウム群はSHAM群に近い値まで低下した。血清アディポネクチンは、SHAM群に比べてOVX群は全ての群で有意に増加した。血清レプチンと脂肪重量には有意な相関が見られた。

#### ④肝臓脂質濃度

肝臓脂質濃度をTABLE II-5に示す。肝臓総コレステロール値は、SHAM群に比べてキトサン群で有意に増加した。肝臓トリグリセリド値と肝臓リン脂質値は、SHAM群と比べてレジスタントスターチ群が有意に増加した。

#### ⑤糞中中性ステロール、総胆汁酸、総脂質排泄量

糞中の中性ステロール、総胆汁酸、総脂質排泄量をTABLE II-6に示す。中性ステロール排泄(コレステロールとコプロスタノール)は、キトサン群がコントロール群に比べて有意に増加した。総胆汁酸排泄は、サイリウム群が他の群に比べて有意に増加した。総脂質排泄は、サイリウム群で有意に高かった。見かけの脂質消化吸収率はコントロール群と比べて、サイリウム群で有意に低かった。

### (3) KKマウスによる健康食品素材の評価

#### ①成長結果

3種の素材を与えたマウスの成長結果をTABLE III-2に示す。初体重は、等しくなるように群分けしたが、終体重、体重増加量は、 $\alpha$ -リポ酸群とキトサン群がコントロール群に比べて有意に低下した。飼料摂取量は、コントロール群と比べて、キトサン群が有意に増加した。飼料効率は、キトサン群と $\alpha$ -リポ酸群がコントロール群に比べて有意に低下した。

#### ②臓器重量と脂肪細胞の大きさ

マウスの臓器重量と脂肪細胞のサイズをTABLE III-3に示す。肝臓重量は各群間で差が認められなかった。後腹壁脂肪重量は、コントロール群と比べ、 $\alpha$ -リポ酸群が有意に低く、キトサン群も同様の傾向が認められた。副睾丸周辺脂肪重量もコントロール群と比べ、 $\alpha$ -リポ酸群、キトサン群で低下する傾向が認められた。後腹壁脂肪細胞のサイズは、 $\alpha$ -リポ酸群とキトサン群がコントロール群に比べて有意に小さくなった。後腹壁脂肪細胞の数は、 $\alpha$ -リポ酸群が、コントロール群に比べて有意に増加した。

#### ③血清脂質およびアディポサイトカイン濃度

血清中の各脂質濃度をTABLE III-4に示す。血清総コレステロール値は、コントロール群と比べ、いずれも有意差はみられなかった。血清トリグリセリド値は、コントロール群と比べ、いずれも有

意差はみられなかった。

血清アディポサイトカイン濃度をTABLE III-4に示す。血清レプチン濃度は、コントロール群と比べ、 $\alpha$ -リポ酸群で有意に低くなった。血清レプチン濃度と、後腹壁脂肪重量、副睾丸周辺脂肪重量、脂肪細胞のサイズといずれも有意な正の相関関係が認められた。血清アディポネクチン濃度は、各群間にいずれも有意差は認められなかった。

#### ④肝臓脂質濃度

肝臓中の各脂質濃度をTABLE III-5に示す。肝臓コレステロール値は、コントロール群と比べ、L-カルニチン群で有意に高くなった。肝臓トリグリセリド値は、キトサン群がコントロール群に比べて有意に低下した。肝臓リン脂質値は、コントロール群と比べ、いずれも有意差はみられなかった。

#### ⑤糞中脂質排泄量

糞中脂質をTABLE III-6に示す。脂質摂取量、総脂質排泄量はキトサン群がコントロール群に比べて有意に高くなった。見かけの脂質の消化吸収率は、キトサン群がコントロール群に比べて有意に低下した。 $\alpha$ -リポ酸群とL-カルニチン群は、コントロール群と同様の吸収率であった。

## D. 考察

昨年に引き続いて、平成18年度も生活習慣病予防を標榜して販売されている健康食品素材について、その有効性の評価方法と実際の素材の検証を行った。生活習慣病の中でもがん予防を示唆する健康食品が存在するところから、抗変異原性を評価する方法を用いて検討した。他方瘦身効果を標榜する健康食品が多いところから、こうした素材を用いて、脂肪組織への影響を指標として検討した。平成17年には我が国でもメタボリックシンドロームの定義が提案され、その中では脂肪組織の機能が重視されている。そこで、単なる瘦身効果をみるだけではなく、脂肪細胞の機能と関わって評価する方法の検討と、実際の素材での効果を評価した。

### 1) 抗変異原性を標榜する健康食品成分の有効性の評価

食品成分の有効性を抗変異原性の面から評価する試験系を構築することを目的とし、変異原性試験を応用して実験を行った。始めにAmes試験を行い、食品成分の抗変異原性を評価した。グアニン:シトシン塩基対やアデニン:チミン塩基対を標的とする塩基置換型変異を検出する菌株を組み合わせて用いることにより、各種食品成分には可視光線や化学物質によって *Salmonella typhimurium* に誘発される様々なタイプの突然変異の誘発を抑制する可能性が示唆された。これらの結果を元にイソフラボン、カテキン、ルチン、ヘスペリジン、クルクミン、エラグ酸を小核試験に用い、これらの食品成分がマウスにおける骨髄での染色体損傷の誘発を有意に抑制することが認められた。これより、今回行った末梢血を用い

る小核試験は、骨髄中のMNPCEを観察対象とする小核試験に比べて実験動物を削減できる簡便で有用な試験法であることが示唆された。ただし、小核試験は骨髄への影響を評価する試験法であるため、今後はいずれの臓器でもDNA損傷の検出が可能なコメットアッセイを行い、食品成分の代謝との関連も含めた、より総合的な抗変異原性の評価法を構築する必要があると思われる。

## 2) 肥満・脂質代謝に関与する健康食品成分の有効性の評価

肥満・脂質代謝に影響を与える健康食品成分については3種の実験動物を用いて評価した。

### (1) 成長期ラットにおける食物繊維の評価

この評価方法では脂肪組織が細胞数と細胞の肥大化の両方を伴う成長期の正常ラットを用いて、食物繊維素材について検討した。食物繊維はダイエット素材として広く用いられているキトサンと、水溶性で粘性のある2種の食物繊維：タマリンドガムとアルギン酸ナトリウムを用いた。その結果、粘性のある食物繊維では脂肪組織重量の低下と脂肪細胞のサイズの増加を抑制することが観察されたが、脂肪細胞数増加の抑制は見られなかった。したがって、成長期動物での脂肪組織への食物繊維は脂肪細胞の分化に対しては影響することはなく、細胞の肥大化の抑制が見られることが分かった。しかし、キトサンではこうした効果はきわめて低いことを観察した。脂肪組織肥大の抑制はレプチン濃度の低下ももたらした。しかし、アディポネクチン濃度に対する影響は見られなかった。レプチンは脂肪組織の変化に比較的素早くレスポンスするが、アディポネクチンのレスポンスは遅いか、きわめて弱い可能性が考えられた。

成長期動物による肥満予防効果の観察は有効な方法であることが示唆された。そのメカニズムの詳細はさらに検討が必要であるが、脂質代謝への影響を介する可能性が示唆された。

### (2) 卵巣摘出肥満ラットにおける食物繊維の評価

本研究で用いた卵巣摘出(OVX)ラットは、通常のラットに比べて肥満になりやすいことが知られている。その原因として、エストロゲンの減少により脂肪細胞の脂肪合成が高まり、脂肪分解が低下することや、ノルエピネフリンによる脂肪分解の増進作用の働きがなくなることなどがあると報告されている。本研究でもOVXラットを閉経後の女性に対するモデル動物として用いたところ、疑似手術を施したラット(SHAM)に比べて体重の増加が認められた。これは、閉経後の女性は肥満に陥りやすい傾向があるということとよく一致している。また、OVXラットはSHAM群に比べて飼料効率がよく、後腹壁脂肪重量も多い傾向にあった。しかし、OVXラットにおいてコントロール群に比べて各食物繊維群は、血清や肝臓脂質量に大きな変化は認められなかった。これは昨年度の

報告のペアフィーディング(SHAM群に摂食量を合わせた食餌)での実験と異なり、自由摂食させたこと、ならびに、より肥満を助長するために高脂肪食にしたためと考えられる。

ステロール排泄量の結果から、キトサン群は中性ステロールの排泄促進が、サイリウム群は胆汁酸の排泄促進及び脂質吸収抑制が認められた。また、サイリウムは脂肪細胞の大きさを有意に小さくし( $P < 0.05$ )、キトサンは脂肪細胞を小さくする傾向にあった。一方、レジスタントスターチ群は血清・肝臓のコレステロール値も糞中のステロール値にも影響を及ぼさなかった。脂肪細胞の数はOVXにより変動がなかったが、サイリウム群の脂肪細胞数が有意に多くなった。これはリタイアラットを使用したためであるのか、その他の要因があるのかについては本結果のみでは推定できない。今後の課題である。

キトサンの作用には、飽満・飽食感や、弱い陰イオン交換能により、肝臓のコレステロールを下げるということが報告されているが、本研究では摂食量にも差はなく、血清や肝臓コレステロール値にも有意差はみられなかった。また、キトサンの脂質吸収排泄作用として、希酸に可溶であるため胃酸に溶解しゲル化したキトサンが脂肪を包み込み排泄する作用や、キトサンのもつイオン交換体の働きで脂肪を吸着し排泄する作用が報告されているが、糞中の胆汁酸排泄量は従来研究されている結果とは異なり、本結果では有意な増加はみられなかった。これは、卵巣摘出により胆汁酸産生量ならびに分泌量が減少したため、排泄量に差がみられなかった可能性あるいは胆汁酸吸着能はそれほど強くないためと考えられる。

サイリウムの作用には、胆汁酸排泄を増加し、血清や肝臓のコレステロール値を下げるということが報告されているが、本結果では胆汁酸排泄は有意に増加したが、血清や肝臓のコレステロール値には顕著な差がみられなかった。これは、他の研究の胆汁酸排泄の増加が血清や肝臓のコレステロールに必ずしも影響を及ぼさないという結果と一致している。これはフィードバック調節が働くため、吸収抑制や排泄促進が、直接血清や肝臓脂質低下に反映しなかったため、あるいはリタイアラットの肝臓脂質の応答性によると考えられる。しかし、脂肪細胞の大きさは有意に小さくした。これは、胆汁酸排泄を増加させ、脂質の吸収率を有意に低下させたことが要因と考えられる。

レジスタントスターチの作用には、高コレステロール血症に影響を及ぼすということが報告されている。この影響は、コレステロール吸収を抑え、中性ステロイドと胆汁酸排泄を増加される作用ならびに、プロピオン酸のような発酵産物からステロール合成に影響を及ぼすことによると報告されている。しかし、否定的な報告もあり、本結果でも血清や肝臓のコレステロールに影響を及ぼさず、また中性ステロールや胆汁酸排泄にも

影響を及ぼさなかった。したがって、レジスタントスターチはOVXラットにおいては腸内発酵による影響や、脂質代謝への影響は小さいと考えられる。

脂肪細胞が肥大することにより、アディポサイトカインの分泌異常をもたらす、生体のエネルギー代謝に重大な影響を及ぼすことが次々と明らかにされているが、サイリウムは脂肪細胞を有意に小さくした。本結果から、サイリウムは胆汁酸排泄を促進することにより脂質の吸収を抑制して脂肪細胞を小さくしたと考えられる。また、キトサン群とサイリウム群は後腹壁脂肪重量がコントロール群に比べて減少傾向であった。これは、脂肪量を反映する血清レプチン濃度と相関がみられた。このことから、血清レプチン濃度を測定することで、脂肪組織重量や脂肪細胞のサイズへの影響を推測できると考えられる。血清アディポネクチン濃度はSHAM群に比べてOVX群が有意に増加した( $P < 0.05$ )。これは、脂肪の量を反映した結果と考えられ、アディポネクチンが低下するほど脂肪細胞の機能は低下していなかったと考えられる。

以上のことから、これら3種の食物繊維素材の特性を考えると、水溶性で粘性の高い食物繊維に体脂肪蓄積抑制効果があると考えられる。

### (3) KKマウスによる健康食品素材の評価

後腹壁脂肪重量と脂肪細胞のサイズの結果から、 $\alpha$ -リポ酸とキトサンは、コントロール群と比べて、脂肪細胞の肥大化を抑制することが認められた。KKマウスは成長期においても内臓脂肪を多く蓄積する。成長期は脂肪細胞の数とサイズが増加するが、 $\alpha$ -リポ酸の脂肪蓄積の低下作用は脂肪細胞のサイズを低下させたことによると考えられる。肥満は、糖尿病、高血圧症、高脂血症などのさまざまな病気が複合するメタボリックシンドロームの原因となる。その理由として脂肪細胞から分泌されるさまざまな生理活性物質(アディポサイトカイン)があげられる。脂質が異常に蓄積されて細胞が肥大化することにより、アディポサイトカインの分泌異常が起こる。例えば、アディポサイトカインであるアディポネクチンは抗炎症作用が動脈硬化抑制的に働くことが報告されているが、脂肪細胞の肥大化によって分泌が低下されるため、動脈硬化を引き起こす。また、肥大脂肪細胞より分泌されたTNF- $\alpha$ は、肝臓、筋肉の糖利用を妨げ、インスリン抵抗性を引き起こし、糖・脂質代謝異常をもたらす。キトサンと $\alpha$ -リポ酸には細胞の肥大化を抑制する作用があったことから、肥満抑制効果が期待できる。L-カルニチンは、細胞の肥大化は少し抑制されたが、脂肪重量に差がなかったことから、キトサンと $\alpha$ -リポ酸ほどの効果はないと考えられる。

本研究から、キトサンと $\alpha$ -リポ酸は内臓肥満モデルマウス(KKマウス)において体脂肪蓄積抑制作用を有することが認められた。一方、L-カル

ニチンによる効果は、本モデル動物では有効性は認められなかった。また、肝臓トリグリセリド量、見かけの脂質の消化吸収率の結果より、キトサン、 $\alpha$ -リポ酸の作用メカニズムは異なると考えられた。

キトサンにおける体脂肪蓄積抑制作用は、脂質の直接的な吸収抑制作用が主体であり、キトサンは体内への脂質吸収を抑制し排出させる効果があると考えられる。それは、本結果での糞中総脂質排泄量の増加と消化吸収率の低下が見られたことから明らかである。キトサンの脂質吸収排泄作用として、希酸に可溶であるため胃酸に溶解しゲル化したキトサンが脂肪を包み込み排泄する作用や、キトサンのもつイオン交換体の働きで胆汁酸を弱く吸着し、脂肪のミセル化ならびにそれに続く消化吸収を抑制する作用が考えられている。

$\alpha$ -リポ酸は、グルコースの代謝やインスリンの抵抗性を改善し、糖尿病の改善、糖尿病合併症の予防改善が期待できると考えられている。また、 $\alpha$ -リポ酸は骨格の筋組織でAMPKを活性化させて、インスリン感受性をよくする作用があると報告されている。 $\alpha$ -リポ酸を0.5%飼料に添加し、糖尿病モデルのOLETFラットに投与した結果、糖尿病発症を抑制したという報告があり、本実験ではこの添加量を採用した。飼料効率、体重増加量、脂肪重量、脂肪細胞のサイズは、すべて低下した。したがって、本実験では、 $\alpha$ -リポ酸における体脂肪蓄積抑制作用は、脂肪組織に作用すると考えられる。

L-カルニチンには、中性脂肪・VLDLコレステロールの低下作用、肝臓や心筋における脂肪蓄積の抑制効果、抗酸化作用をはじめとする多くの生理活性が知られており、経口投与による臨床的効果も報告されている。L-カルニチンを摂取し、さらに、運動を並行して行うことにより、脂肪の燃焼効率を高めるという報告から、ダイエットを目的としたサプリメントにも使用されている。SD系雄ラットにおいて、高脂肪食に1.0%のL-カルニチンを添加して、脂肪の蓄積を抑制・改善し、エネルギー消費を増大させる効果があったと報告されている。本実験では、この添加量を採用した。しかし、本実験では、有効性は認められなかった。本結果の違いは、動物の種類、飼料組成の違いによるものと考えられる。

血清レプチン濃度は、後腹壁脂肪重量、副腎丸周辺脂肪重量、脂肪細胞のサイズといずれも正の相関関係にあった。血清レプチン濃度は脂肪量と関係しており、脂肪量が少ないとレプチン量も低くなる。キトサン群はコントロール群に比べて低い傾向にあった。血清レプチン濃度が低いと脂肪の重量ならびに脂肪細胞のサイズは小さくなった。しかし、脂肪細胞の数とは相関しておらず、細胞のサイズがアディポサイトカインの分泌量に影響すると考えられる。

以上のことから、キトサン、 $\alpha$ -リポ酸はKKマウスにおいて内臓脂肪の蓄積抑制ならびに肥大化抑制作用を有することが認められた。一方、L-カルニチンは本モデル動物では有効性は認められなかった。キトサンは脂質の吸収抑制し排泄する作用によるものであったのに対し、 $\alpha$ -リポ酸は脂肪組織に作用すると推定された。キトサンあるいは $\alpha$ -リポ酸の長期的摂取は肥満の予防やメタボリックシンドロームの発症予防に役立つ可能性がある。本結果をヒトへ外挿するためには、キトサンと $\alpha$ -リポ酸の内臓脂肪蓄積に及ぼすメカニズムについてさらに詳細に検討する必要がある。

## E. 結論

本研究は生活習慣病予防を標榜する健康食品を対象として、その科学的根拠について検討することとした。とくに広く販売されているがん予防効果と肥満・脂質代謝に関わる健康食品の評価法の確立とそれらの効果の可能性を明らかにすることとした。なお、がん予防効果を食品では標榜することはできないので、本研究では、採用した方法との関連から、抗変異原性として表記した。

今回行った*in vitro*のAmes試験は、突然変異の誘発を抑える食品成分を評価するスクリーニング法として、また末梢血を用いる小核試験は*in vivo*での食品成分の抗変異原性を簡便に評価する方法として有用である可能性が示唆された。また、健康食品素材として広く用いられている19種の成分に本法を適用し、抗酸化作用が示唆されている6種（イソフラボン、カテキン、ルチン、ヘスペリジン、クルミン、エラグ酸）については小核試験において効果を確認した。

他方、痩身や脂質代謝に対する健康食品素材の有効性は、3種の実験動物：成長期ラット、卵巣摘出肥満ラット、KKマウスを用いて評価する方法を検討し、現在メタボリックシンドロームとの関係が明らかにされている脂肪組織に対する影響を中心として検討した。その結果、これらの3種の実験動物は痩身や脂質代謝への効果を評価する方法として有効であることが示された。これらの方法を用いて食物繊維の効果を評価したところ、水溶性で粘性のある食物繊維：タマリンドガム、アルギン酸ナトリウム、サイリウムの有効性が認められた。ダイエット素材として広く用いられているキトサンでは脂質の消化吸收阻害による影響が見られたが、脂肪組織への影響は粘性のある食物繊維に比べて弱いものであった。他方新たな食物繊維素材として注目されているレジスタントスターチでは有効性は確認できなかった。

現在食物繊維以外にも痩身や脂質代謝への効果が標榜されている $\alpha$ -リポ酸、L-カルニチンについて内臓脂肪蓄積型のKKマウスによってその有効性を評価したところ、 $\alpha$ -リポ酸では脂肪組

織への効果が認められたが、L-カルニチンでは効果が見られなかった。

今後はさらに新たな評価法と素材について検討の予定である。

## G. 研究発表

### 1. 学会発表

堀口美恵子、青江誠一郎、田中千恵、筒木宏美、山田雅巳、松井恵子、能美健彦、池上幸江、Inhibitory effects of food components on DNA damage using Ames test、第34回日本環境変異原学会大会、東京、2005. 11. 16-18

青江氏一郎、薄井えりか、高野可菜子、小貫順子、堀口美恵子、池上幸江、物理化学的性質の異なる水溶性食物繊維素材が卵巣摘出ラットの脂質代謝に及ぼす影響、第59回日本栄養食糧学会、東京、2005. 5. 12-15

山岸あづみ、岡本奈津子、青江誠一郎、池上幸江、食物繊維がラット脂肪組織の脂質動態に及ぼす影響、第10回日本食物繊維学会、長崎、2005. 11. 18, 19

### 参考文献

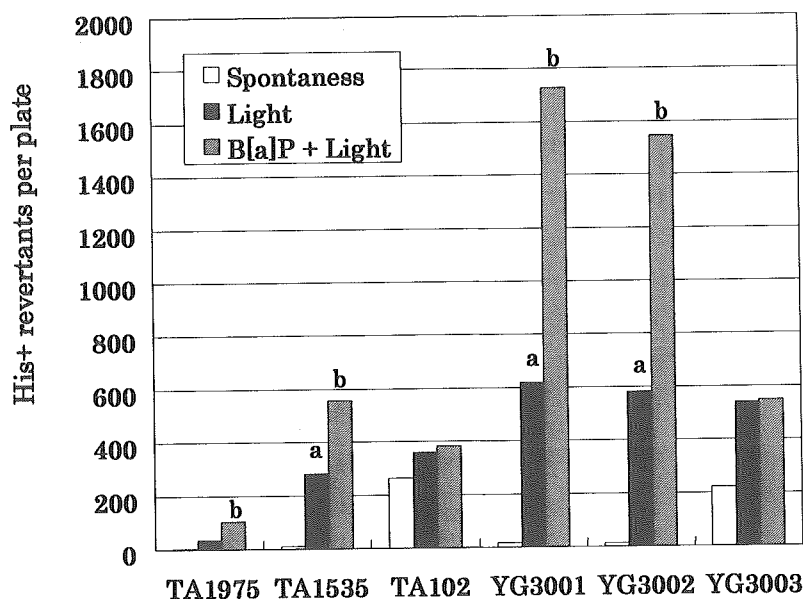
Keizo Umegaki, Nozomi Takeuchi, Sachie Ikegami, Tomio Ichikawa, Effect of  $\beta$ -Carotene on Spontaneous and X-Ray-Induced Chromosomal Damage in Bone Marrow Cells of Mice. *Nutrition and Cancer*, 22:277-284, 1994

TABLE 1 *S. typhimurium* Strains Used in this Study

Strains	Description	Source
TA1975	As LT2 wild-type stain but <i>hisG46 rfa</i>	Maron,D.M.
TA1535	As TA1975 but $\Delta$ ( <i>gal bio chl uvrB</i> )	Maron,D.M.
TA102	As LT2 wild-type stain but <i>hisD (G)8476 rfa / pAQ1/pKM101</i>	B.N.Ames
YG3001	As TA1535 but <i>mutM<sub>ST</sub> Km<sup>r</sup></i>	Suzuki,M.
YG3002	As TA1975 but <i>mutM<sub>ST</sub> Km<sup>r</sup></i>	Suzuki,M.
YG3003	As TA102 but <i>mutM<sub>ST</sub> Km<sup>r</sup></i>	Suzuki,M.

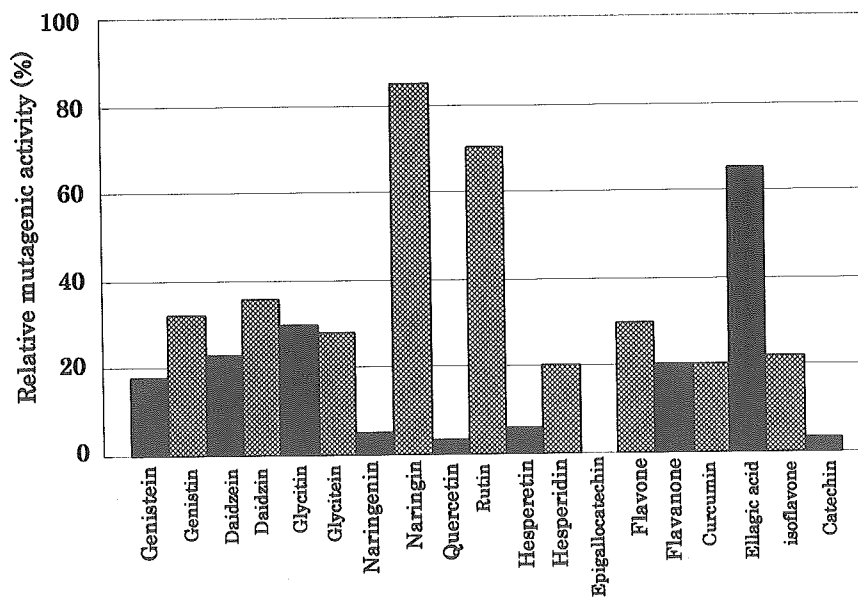
TABLE 2 Composition of the test diet (g/kg)

	Control	Isoflavone	Catechin	Rutin	Hesperidin	Curcumin	Ellagic acid
Corn starch	397.486	386.181	392.223	392.486	392.486	392.486	392.486
$\alpha$ -Corn starch	132	132	132	132	132	132	132
Sucrose	100	100	100	100	100	100	100
Casein	200	198.935	200	200	200	200	200
Soybean oil	70	69.988	70	70	70	70	70
Cellulose	50	50	50	50	50	50	50
Mineral mixture (AIN-93G)	35	35	35	35	35	35	35
Vitamin mixture (AIN-93G)	10	10	10	10	10	10	10
L-cystine	3	3	3	3	3	3	3
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
t-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
Isoflavone	—	12.382	—	—	—	—	—
Catechin	—	—	5.263	—	—	—	—
Rutin	—	—	—	5.000	—	—	—
Hesperidin	—	—	—	—	5.000	—	—
Curcumin	—	—	—	—	—	5.000	—
Ellagic acid	—	—	—	—	—	—	5.000



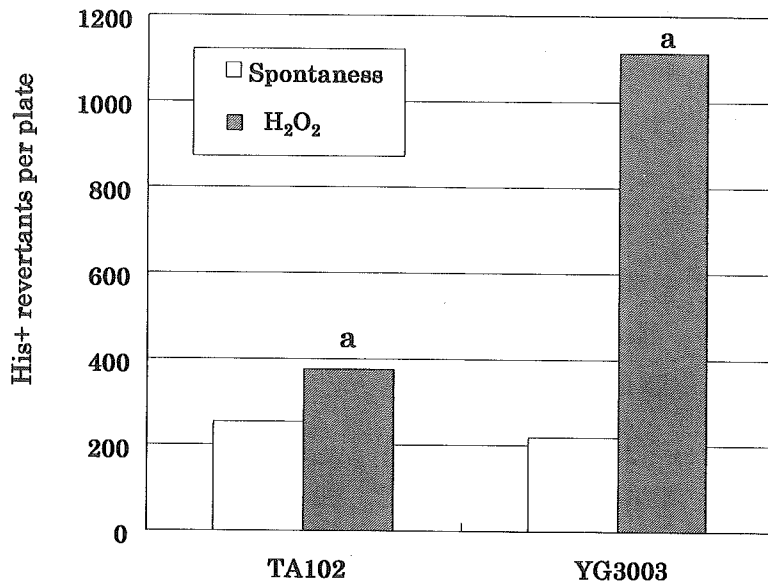
a:Statistical significance comparison results between spontaneous groups and fluorescent light groups ( $p < 0.05$ )  
 b:Statistical significance comparison results between fluorescent light groups and B[a]P with fluorescent light groups ( $p < 0.05$ )

Fig. 1 Mutagenic sensitivities of *S. typhimurium* strains to fluorescent light and B[a]P with fluorescent light



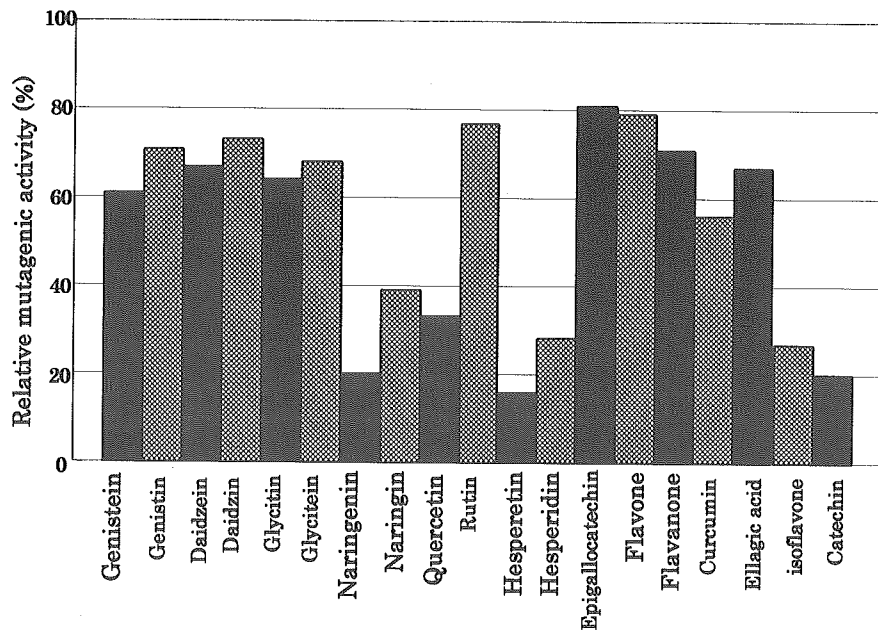
a:Statistical significance comparison results between B[a]P with fluorescent light groups and food components groups ( $p < 0.05$ ).

Fig. 2 The inhibitory effects of food components on mutagenicity of B[a]P with fluorescent light in YG3001. Results are given as relative mutagenic activities in comparison with B[a]P with fluorescent light groups. One hundred percent mutagenicity of B[a]P with fluorescent light groups corresponds to 1727 revertants.



a: Statistical significance comparison results between spontaneous groups and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> groups (p < 0.05)

Fig. 3 Mutagenic sensitivities of *S. typhimurium* strains to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



a: Statistical significance comparison results between B[a]P with fluorescent light groups and isoflavone groups (p < 0.05).

Fig. 4 The inhibitory effects of food components on mutagenicity of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in TA102. Results are given as relative mutagenic activities in comparison with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> groups. One hundred percent mutagenicity of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> groups corresponds to 377 revertants.



**TABLE 3 Body weight, food intake, and food efficiency in ICR mice**

	Control	Isoflavone	Catechin	Rutin	Hesperidin	Curcumin	Ellagic acid
Initial body weight(g)	28.8 ± 1.3	31.7 ± 2.2	28.7 ± 2.0	31.6 ± 0.8	32.1 ± 1.1	31.0 ± 2.1	31.0 ± 1.1
Final body weight(g)	34.7 ± 1.0	324 ± 2.8	35.5 ± 3.1	34.3 ± 2.9	37.0 ± 2.4	36.6 ± 2.2	34.8 ± 1.4
Weight gain(g/day)	0.22 ± 0.16	0.04 ± 0.09	0.34 ± 0.17	0.13 ± 0.11	0.25 ± 0.12	0.28 ± 0.19	0.19 ± 0.05
Food intake(g/day)	4.57 ± 0.11	5.67 ± 0.15	4.57 ± 0.10	4.74 ± 0.12	5.42 ± 0.13	6.13 ± 0.18	4.45 ± 0.10
Food efficiency(%)	4.8 ± 3.5	0.6 ± 1.5	7.5 ± 3.8	2.8 ± 2.4	4.5 ± 2.2	4.8 ± 2.6	4.3 ± 1.1

Values are means ± SD

**TABLE 4 Inhibitory effects of food components on chromosomal damage induced by B[a]P (MNPCE/1,000PCE)**

Time after treatment	Control	Isoflavone	Catechin	Rutin	Hesperidin	Curcumin	Ellagic acid
0 h <sup>a)</sup>	2.8 ± 2.5	1.4 ± 1.1	2.0 ± 1.2	1.6 ± 1.1	1.8 ± 1.5	1.6 ± 1.1	1.4 ± 1.1
24 h	9.0 ± 6.7	2.4 ± 1.5*	3.2 ± 1.1*	2.2 ± 1.3*	2.4 ± 1.7*	1.8 ± 1.3*	2.0 ± 2.3*
48 h	25.6 ± 8.4	13.4 ± 9.0*	9.6 ± 1.7*	5.6 ± 2.7*	7.6 ± 2.6*	7.4 ± 2.4*	8.6 ± 3.1*

Values are means ± SD

a) Peripheral blood was sampled just before treatment of B[a]P.

\* Significantly different from the Control group(P < 0.05)

TABLE I-1 Composition of the test diets

Cornstarch	397.5
α-Cornstarch	132
Sucrose	100
Casein	200
Soybean oil	70
Dietary fiber*	50
Mineral mixture**	35
Vitamin mixture**	10
L(-)-cystine	3
Cholin bitartrate	2.5
Ter-buthylhydroquinone	0.014

\*: Cellulose, chitosan, tamarindgum, sodium alginate were used.

\*\* : The mixtures were identical with AIN-93G.

TABLE I-2 Body weight, food intake and food efficiency in growing rats

	Control	Chitosan	Tamarindgum	Sodium alginate
Initial body weight(g)	113.4±4.8	113.3±2.9	113.4±2.9	113.3±1.9
Final body weight(g)	304.7±12.6 <sup>a</sup>	297.5±6.2 <sup>ab</sup>	285.6±11.5 <sup>b</sup>	303.9±10.0 <sup>a</sup>
Weight gain(g)	191.4±11.8 <sup>a</sup>	184.2±6.3 <sup>ab</sup>	172.2±10.3 <sup>b</sup>	190.0±10.8 <sup>a</sup>
Food intake(g/d)	20.2±0.9 <sup>a</sup>	19.0±0.9 <sup>a</sup>	17.3±0.5 <sup>b</sup>	18.9±1.1 <sup>a</sup>
Food efficiency(%)	45.1±2.3	46.3±2.2	47.3±3.2	48.0±0.9

Values are means±SD(n=6).

Different superscripts in a row indicate significant different among the groups(P<0.05)

TABLE I-3 Organ weights in growing rats(g/100g body weight)

	Control	Chitosan	Tamarindgum	Sodium alginate
Liver	4.136±0.284	3.921±0.262	3.860±0.296	4.158±0.355
Epididymal fat	1.137±0.197 <sup>a</sup>	1.024±0.195 <sup>ab</sup>	0.882±0.093 <sup>bc</sup>	0.703±0.059 <sup>c</sup>
Retroperitoneal fat	1.417±0.246 <sup>a</sup>	0.994±0.189 <sup>b</sup>	0.835±0.156 <sup>b</sup>	0.663±0.194 <sup>b</sup>

Values are means±SD(n=6).

Different superscripts in a row indicate significant different among the groups(P<0.05)

TABLE I-4 Serum lipids in growing rats

	Control	Chitosan	Tamarindgum	Sodium alginate
Total cholesterol(mg/dl)	98.2±13.1 <sup>a</sup>	74.5±12.8 <sup>b</sup>	62.8±11.1 <sup>b</sup>	77.7±5.5 <sup>b</sup>
Phospholipid(mg/dl)	167.9±14.6 <sup>a</sup>	140.5±16.4 <sup>b</sup>	112.8±15.6 <sup>c</sup>	133.011.4 <sup>bc</sup>
Toriglyceride(mg/dl)	142.1±37.5 <sup>a</sup>	103.1±30.8 <sup>ab</sup>	101.9±36.2 <sup>ab</sup>	84.2±38.1 <sup>b</sup>
Free fatty acids(μEq/L)	521.1±128.4	480.9±126.8	448.1±113.4	473.7±23.8

Values are means±SD(n=6).

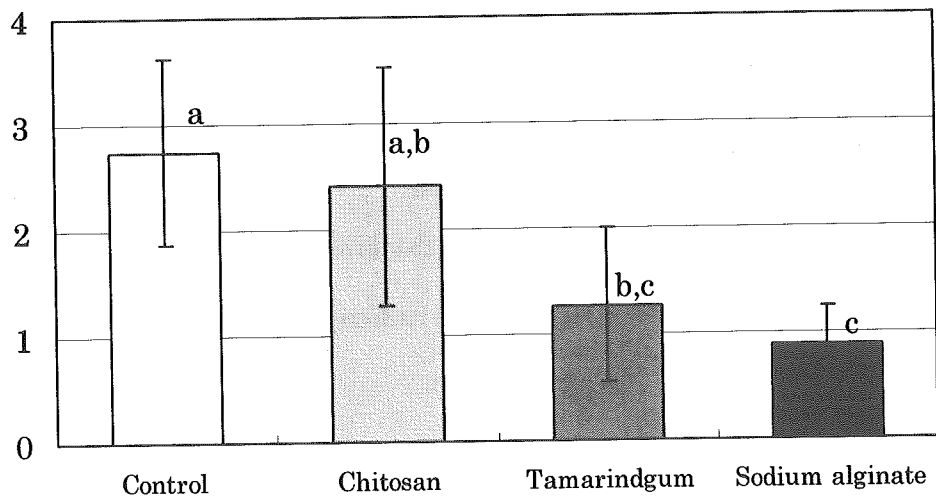
Different superscripts in a row indicate significant different among the groups(P<0.05)

**TABLE I-5 Liver lipids in growing rats**

	Control	Chitosan	Tamarindgum	Sodium alginate
Total cholesterol(mg/liver)	19.2±3.55 <sup>a</sup>	9.0±1.6 <sup>b</sup>	10.9±2.2 <sup>b</sup>	11.2±1.1 <sup>b</sup>
Total cholesterol(mg/g)	3.8±0.8 <sup>a</sup>	1.9±0.3 <sup>b</sup>	2.2±0.3 <sup>b</sup>	2.5±0.2 <sup>b</sup>
Toriglyceride(mg/liver)	77.1±11.8	62.0±42.0	47.2±28.0	76.2±27.3
Toriglyceride(mg/g)	14.8±3.5	12.4±9.5	10.8±5.1	17.3±6.9
Phospholipid(g/liver)	93.0±6.9	80.5±22.2	92.6±8.9	80.2±4.8
Phospholipid(g/g)	18.5±1.1	16.9±4.6	18.8±0.7	17.7±1.5

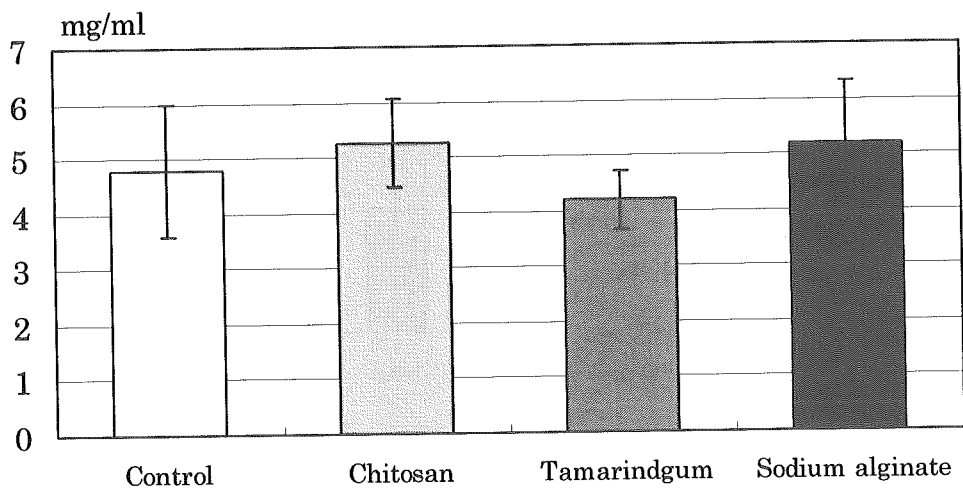
Values are means±SD(n=6).

Different superscripts in a row indicate significant different among the groups(P<0.05)



**Fig. I-1 Serum concentration of leptin in growing rats**

Different letters indicate significant difference.



**Fig. I-2 Serum Concentration of adyponectin in growing rats**

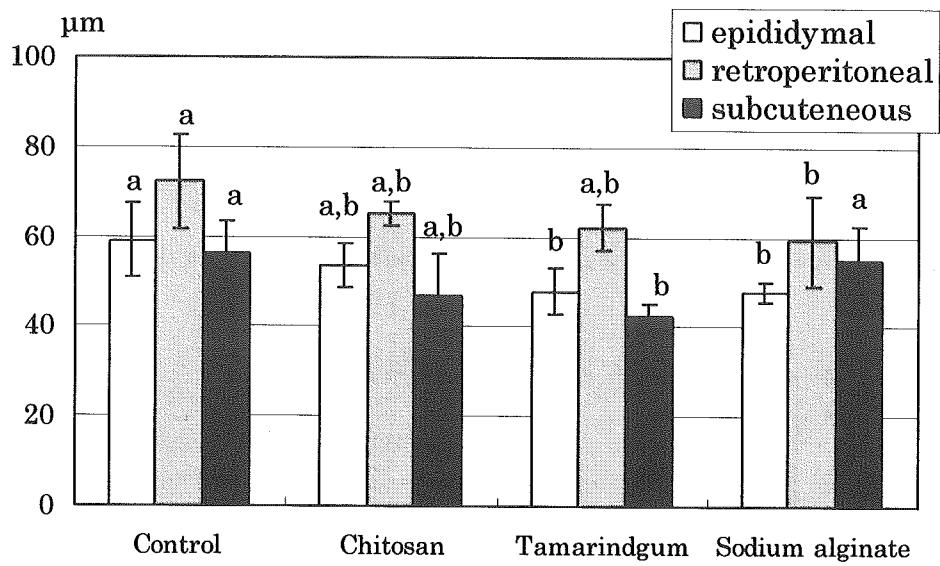


Fig.I-3 Cell size of fat tissues in growing rats

Different letters indicate significant difference.

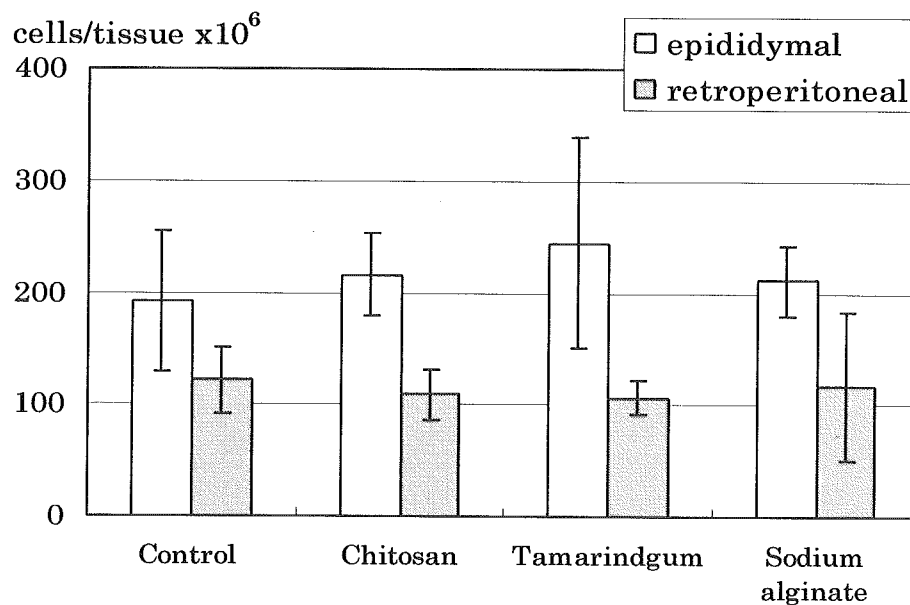
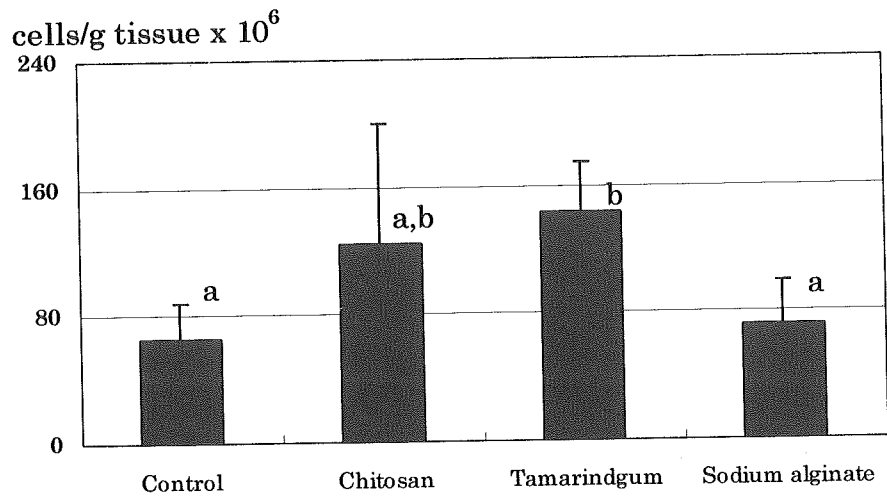


Fig. I-4 Cell numbers of fat tissues in growing rats



**Fig. I-5 Cell numbers of subcutaneous fat  
in growing rats**

Different letters indicate significant difference.

**TABLE II -1 Composition of the test diet(g/kg)**

	Control	Chitosan	Psyllium	Resistant Starch
Casein	200	200	200	200
L-cystine	3	3	3	3
Corn starch	329.486	323.486	327.486	288.486
Sucrose	100	100	100	100
Soybean oil	70	70	70	70
Lard	200	200	200	200
Cellulose	50	—	—	—
Chitosan	—	56	—	—
Psyllium	—	—	52	—
Resistant starch	—	—	—	91
Mineral mixture(AIN-93)	35	35	35	35
Vitamin mixture(AIN-93)	10	10	10	10
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
t-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014

**TABLE II -2 Body weight, food intake, and food efficiency in ovariectomized rats.**

	SHAM	OVX			
		Control	Chitosan	Psyllium	Resistant Starch
Initial weight (g)	308.5 ± 16.0	321.6 ± 11.5	321.6 ± 12.9	321.7 ± 16.5	321.5 ± 18.1
Final weight (g)	347.3 ± 21.6 <sup>a</sup>	391.9 ± 22.8 <sup>b</sup>	379.3 ± 22.2 <sup>ab</sup>	400.7 ± 27.5 <sup>b</sup>	405.2 ± 32.9 <sup>b</sup>
Weight gain (g/day)	0.7 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.4 <sup>bc</sup>	1.0 ± 0.3 <sup>ab</sup>	1.4 ± 0.3 <sup>bc</sup>	1.5 ± 0.3 <sup>c</sup>
Food intake (g/day)	11.5 ± 0.9	12.4 ± 0.9	12.3 ± 0.9	12.2 ± 0.8	12.4 ± 1.0
Food efficiency (%)	5.9 ± 2.1 <sup>a</sup>	10.1 ± 3.0 <sup>b</sup>	8.3 ± 2.0 <sup>a</sup>	11.5 ± 1.4 <sup>b</sup>	12.0 ± 1.9 <sup>b</sup>

Values are mean±SD

Different superscripts in a row indicate significant difference among the group (P<0.05).

**TABLE II -3 Weight of organs and adipose tissue parameters in ovariectomized rats.**

	SHAM	OVX			
		Control	Chitosan	Psyllium	Resistant Starch
Liver (g)	9.6 ± 1.3	8.7 ± 0.8	8.4 ± 0.7	8.9 ± 0.7	9.1 ± 1.1
Retroperitoneal fat pad (g)	8.6 ± 2.6 <sup>a</sup>	12.5 ± 1.3 <sup>ab</sup>	10.7 ± 3.0 <sup>ab</sup>	10.9 ± 2.2 <sup>ab</sup>	13.8 ± 4.1 <sup>b</sup>
Gonadal fat pad (g)	19.6 ± 4.7 <sup>ab</sup>	18.9 ± 4.5 <sup>ab</sup>	14.4 ± 3.0 <sup>a</sup>	17.8 ± 4.2 <sup>ab</sup>	21.4 ± 2.8 <sup>b</sup>
Uterus (g)	0.6 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.2 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.2 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.2 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.2 ± 0.03 <sup>b</sup>
Fat cell size (µm)	100.1 ± 20.5 <sup>a</sup>	127.3 ± 23.3 <sup>b</sup>	104.1 ± 12.4 <sup>ab</sup>	95.8 ± 17.5 <sup>a</sup>	107.3 ± 14.7 <sup>ab</sup>
Fat cell number (×10 <sup>6</sup> )	15.3 ± 7.5 <sup>ab</sup>	13.6 ± 4.7 <sup>a</sup>	19.7 ± 6.6 <sup>ab</sup>	29.0 ± 13.6 <sup>b</sup>	25.5 ± 15.8 <sup>ab</sup>

Values are mean±SD

Different superscripts in a row indicate significant difference among the group (P<0.05).

**TABLE II -4 Serum lipid and adipocytokine concentrations in ovariectomized rats.**

	SHAM	OVX			
		Control	Chitosan	Psyllium	Resistant Starch
Total cholesterol (mg/dl)	88.2 ± 14.9	94.4 ± 9.3	97.7 ± 7.4	103.0 ± 22.2	104.2 ± 18.6
HDL-cholesterol (mg/dl)	78.8 ± 17.4 <sup>a</sup>	68.3 ± 8.2 <sup>ab</sup>	61.9 ± 4.8 <sup>b</sup>	69.7 ± 9.8 <sup>ab</sup>	69.0 ± 7.2 <sup>ab</sup>
non-HDL cholesterol (mg/dl)	9.4 ± 0.3 <sup>a</sup>	26.1 ± 10.6 <sup>ab</sup>	35.8 ± 9.8 <sup>b</sup>	33.2 ± 15.7 <sup>b</sup>	35.2 ± 17.4 <sup>b</sup>
Triglyceride (mg/dl)	73.0 ± 20.0 <sup>ab</sup>	63.0 ± 18.0 <sup>a</sup>	92.3 ± 23.0 <sup>ab</sup>	64.2 ± 18.6 <sup>a</sup>	94.4 ± 21.9 <sup>b</sup>
Leptin (ng/ml)	5.2 ± 2.6 <sup>a</sup>	11.4 ± 8.4 <sup>b</sup>	6.2 ± 2.2 <sup>ab</sup>	6.5 ± 1.3 <sup>ab</sup>	10.0 ± 4.9 <sup>ab</sup>
Adiponectin (µg/ml)	5.2 ± 1.3 <sup>a</sup>	9.1 ± 1.0 <sup>b</sup>	9.1 ± 0.9 <sup>b</sup>	9.5 ± 1.1 <sup>b</sup>	9.0 ± 1.1 <sup>b</sup>

Values are mean±SD

Different superscripts in a row indicate significant difference among the group (P<0.05).

**TABLE II -5 Liver lipid levels in ovariectomized rats.**

	SHAM	OVX			
		Control	Chitosan	Psyllium	Resistant Starch
Cholesterol (mg/g liver)	1.8 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.0 ± 0.2 <sup>ab</sup>	2.3 ± 0.4 <sup>b</sup>	1.9 ± 0.2 <sup>ab</sup>	2.1 ± 0.3 <sup>ab</sup>
Triglyceride (mg/g liver)	17.0 ± 5.2 <sup>a</sup>	29.3 ± 10.8 <sup>ab</sup>	26.7 ± 11.1 <sup>ab</sup>	19.7 ± 7.0 <sup>ab</sup>	30.8 ± 10.6 <sup>b</sup>
Phospholipids (mg/g liver)	13.0 ± 1.1 <sup>a</sup>	14.8 ± 1.6 <sup>ab</sup>	14.2 ± 1.6 <sup>ab</sup>	14.1 ± 1.1 <sup>ab</sup>	16.1 ± 1.9 <sup>b</sup>

Values are mean±SD

Different superscripts in a row indicate significant difference among the group (P<0.05).

**TABLE II -6 Fecal excretion of bile acids, neutral sterols, and total lipids in ovariectomized rats.**

	SHAM	OVX			
		Control	Chitosan	Psyllium	Resistant Starch
Neutral sterols (mg/day)	3.2 ± 0.6 <sup>ab</sup>	3.0 ± 0.4 <sup>a</sup>	3.9 ± 1.0 <sup>b</sup>	3.6 ± 0.7 <sup>ab</sup>	2.8 ± 0.7 <sup>a</sup>
Total bile acids (µmol/day)	11.0 ± 4.08 <sup>a</sup>	11.1 ± 4.08 <sup>a</sup>	17.5 ± 12.9 <sup>a</sup>	69.4 ± 27.9 <sup>b</sup>	13.0 ± 4.6 <sup>a</sup>
Total lipids (mg/day)	509.7 ± 232.0 <sup>a</sup>	661.4 ± 266.8 <sup>a</sup>	945.1 ± 498.6 <sup>ab</sup>	1351.0 ± 425.1 <sup>b</sup>	746.2 ± 285.1 <sup>a</sup>
Apparent absorption rate of lipids (%)	82.6 ± 7.8 <sup>a</sup>	77.8 ± 10.3 <sup>a</sup>	68.7 ± 16.1 <sup>ab</sup>	57.9 ± 13.1 <sup>b</sup>	75.7 ± 8.7 <sup>a</sup>

Values are mean±SD

Different superscripts in a row indicate significant difference among the group (P<0.05).

**TABLE III-1 Composition of the test diet(g/kg)**

	Control	Chitosan	$\alpha$ -Lipoic acid	L-Carnitine
Casein	200	200	200	200
L-cystine	3	3	3	3
Corn starch	329.486	323.486	324.526	319.486
Sucrose	100	100	100	100
Soybean oil	70	70	70	70
Lard	200	200	200	200
Cellulose	50	—	50	50
Chitosan	—	56	—	—
$\alpha$ -Lipoic acid	—	—	5	—
L-Carnitine	—	—	—	10
Mineral mixture(AIN-93G)	35	35	35	35
Vitamin mixture(AIN-93)	10	10	10	10
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
t-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014

**TABLE III-2 Body weight, food intake, and food efficiency in KK mice.**

	Control	Chitosan	$\alpha$ -Lipoic acid	L-Carnitine
Initial weight (g)	24.89 $\pm$ 0.84	24.85 $\pm$ 0.90	24.88 $\pm$ 1.16	24.76 $\pm$ 1.33
Final weight (g)	38.55 $\pm$ 2.47	34.65 $\pm$ 2.69*	34.36 $\pm$ 1.93*	37.56 $\pm$ 2.94
Weight gain (g/day)	0.27 $\pm$ 0.04	0.20 $\pm$ 0.06*	0.19 $\pm$ 0.04*	0.26 $\pm$ 0.05
Food intake (g/day)	3.29 $\pm$ 0.13	4.03 $\pm$ 0.52*	3.12 $\pm$ 0.11	3.43 $\pm$ 0.07
Food efficiency (%)	8.32 $\pm$ 1.07	5.03 $\pm$ 2.05*	6.10 $\pm$ 0.74*	7.48 $\pm$ 1.03

Values are mean $\pm$ SD

\*Significantly different from the Control group (P<0.05).



**TABLE III-3 Weight of organs and adipose tissue parameters in KK mice.**

	Control	Chitosan	$\alpha$ -Lipoic acid	L-Carnitine
Liver (g)	1.58 $\pm$ 0.29	1.38 $\pm$ 0.15	1.42 $\pm$ 0.06	1.52 $\pm$ 0.20
Retroperitoneal fat pad (g)	0.59 $\pm$ 0.11	0.44 $\pm$ 0.16	0.42 $\pm$ 0.11*	0.55 $\pm$ 0.13
Gonadal fat pad (g)	1.23 $\pm$ 0.28	0.93 $\pm$ 0.39	0.86 $\pm$ 0.19	1.28 $\pm$ 0.37
Fat cell size ( $\mu$ m)	81.76 $\pm$ 7.69	68.28 $\pm$ 7.43*	62.39 $\pm$ 7.69*	76.17 $\pm$ 4.02
Fat cell number ( $\times 10^6$ )	2.20 $\pm$ 0.36	3.07 $\pm$ 0.66	3.48 $\pm$ 0.69*	2.50 $\pm$ 0.61

Values are mean  $\pm$  SD

\*Significantly different from the Control group (P<0.05).

**TABLE III-4 Serum lipid and adipocytokine concentrations in ovariectomized rats.**

	Control	Chitosan	$\alpha$ -Lipoic acid	L-Carnitine
Total cholesterol (mg/dl)	118.66 $\pm$ 23.71	115.35 $\pm$ 15.90	115.67 $\pm$ 20.67	125.09 $\pm$ 20.29
Triglyceride (mg/dl)	145.96 $\pm$ 61.77	128.19 $\pm$ 48.35	125.41 $\pm$ 60.15	102.12 $\pm$ 31.25
Leptin (ng/ml)	45.03 $\pm$ 34.20	20.09 $\pm$ 15.04	13.57 $\pm$ 12.38*	39.24 $\pm$ 24.00
Adiponectin ( $\mu$ g/ml)	12.55 $\pm$ 2.86	9.46 $\pm$ 3.93	8.74 $\pm$ 1.92	13.02 $\pm$ 3.75

Values are mean  $\pm$  SD

\*Significantly different from the Control group (P<0.05).

**TABLE III-5 Liver lipid levels in KK mice.**

	Control	Chitosan	$\alpha$ -Lipoic acid	L-Carnitine
Cholesterol (mg/g liver)	4.45 $\pm$ 2.09	4.81 $\pm$ 2.33	2.90 $\pm$ 0.61	8.50 $\pm$ 4.85*
Triglyceride (mg/g liver)	36.35 $\pm$ 23.22	16.40 $\pm$ 4.19*	25.80 $\pm$ 7.34	26.65 $\pm$ 12.28
Phospholipids (mg/g liver)	17.57 $\pm$ 3.52	20.98 $\pm$ 7.83	18.56 $\pm$ 2.88	12.42 $\pm$ 6.30

Values are mean  $\pm$  SD

\*Significantly different from the Control group (P<0.05).

**TABLE III-6 Apparent absorption rate of total lipids in KK mice .**

	Control	Chitosan	$\alpha$ -Lipoic acid	L-Carnitine
Dietary fat intake (mg/day)	842.63 $\pm$ 113.86	1083.38 $\pm$ 136.86*	895.50 $\pm$ 77.33	903.37 $\pm$ 81.61
Fecal excretion of total lipids (mg/day)	35.34 $\pm$ 7.27	142.66 $\pm$ 27.77*	46.60 $\pm$ 10.86	47.03 $\pm$ 11.56
Apparent absorption rate of lipids (%)	95.81 $\pm$ 0.65	86.92 $\pm$ 1.03*	94.84 $\pm$ 0.84	94.80 $\pm$ 1.14

Values are mean  $\pm$  SD

\*Significantly different from the Control group (P<0.05).

厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進 研究事業)  
分担研究報告書

いわゆる健康食品の有効性の評価に関する研究  
—作用機序が明確ではない食品の有効性の評価—

分担研究者 志村二三夫 十文字学園女子大学教授

研究要旨

“いわゆる健康食品の有効性の評価に関する研究”の一環として、“作用機序が明確ではない食品の有効性の評価”に関する調査・研究を行った。すなわち、(1)“作用機序が明確ではない食品”を“作用機序が明確な食品ないしはそれに準ずる食品”へと変容させることの重要性やそのための要件・方法を検討し、(2)脳・神経系の健康や精神保健の用途における有効性が人対象試験である程度実証されているが、作用機序が明確ではない食品素材をデータベース等で探索し、(3)この種の1つに関する実験を通して“作用機序が明確な食品に準ずる食品”へと変容させる作業事例を示すことをめざし、以下の結果を得、また考察した。

(1)現行の制度では、いわゆる健康食品が、条件付き特定保健用食品、さらに従来型の特定保健用食品等へと昇格するには、作用機序の解明が求められるが、これは容易ではない。一方、PASSCLAIMの報告では、食品成分の曝露、高度標的機能に関して、科学的根拠に基づく正当なマーカースが得られれば、“高度機能強調表示”が可能との提言がなされている。したがって、“作用機序が明確ではない食品”を、その体内動態や標的部位の特定化作業を通して“作用機序が明確な食品に準ずる食品”へと変容させることが重要といえる。

(2)NMCDの検索により、脳・神経系の健康や精神保健の用途における有効性が人対象試験である程度実証されているものが20品目見出された。このうち、作用機序が明確ではなく、またその標的部位を特定する際に、避腸的な投与法を採用が可能な亜鉛を選定した。

(3)NMCDの評定のように、亜鉛が注意欠陥/多動性障害および神経性食欲不振症にPossibly Effectiveである場合、亜鉛が脳を標的とするか否かの明確化は重要なので、その実験的検証を試みた。亜鉛欠乏ラットでは、食欲が強く抑制されているが、亜鉛腹腔内投与約12時間後に、摂食量が増大した。DNAマイクロアレイを用いた網羅的解析では、これに先行して亜鉛投与6時間後に亜鉛結合タンパク質metallothionein 1 (MT1) 遺伝子の強い発現亢進が認められ、同遺伝子の発現は亜鉛への曝露、高度標的機能のマーカースとなり得ると推定された。食欲中枢の存在部位とされる視床下部でも、亜鉛投与後のMT1遺伝子の発現亢進が認められ、リアルタイムRT-PCRでもこれを認めた。亜鉛の食欲維持・増進作用は、末梢部位や内分泌・求心神経系を介する間接的な作用ではなく、脳を標的部位とする直接作用によると推定される。このように、“作用機序が明確ではない食品”の体内動態や標的部位を特定する作業を通して、“作用機序が明確な食品に準ずる食品”へと変容させる取り組み方の1つを提示し得た。

以上、冒頭に示した(1)、(2)、(3)の当初の目的が概ね達成され、“作用機序が明確ではない食品の有効性の評価”に関する新たな進展に寄与する成果が得られたと結論される。

A. 研究目的

本分担課題は、“いわゆる健康食品の有効性の評価に関する研究”の一環として、“作用機序が明確ではない食品の有効性の評価”に関する基本的な考え方・方針やそのための方法に関する調査・研究を行うことを主目的としている。

いわゆる健康食品には有効性や安全性の科学的根拠が乏しく、また適正な品質管理がなされていな

いものが少なくない。また、「いわゆる健康食品は食品であるのだから、安全性や品質が確保されていればよく、有効性の科学的根拠を詮議する必要はない」とする考えも一部にはあるようである。しかし、健康食品等と銘打ち、何らかの効能・効果を示唆・標榜するからには、それらに見合う有効性の科学的根拠が求められるのは当然である。

いわゆる健康食品の利用者の中には、疾病の治

療効果を期待して利用する患者もあり、有効性の乏しいものを長期にわたって利用することにより、適切な医療機会を逸するという健康被害、また経済被害を生じる恐れがある。さらに、いわゆる健康食品と医薬品を併用している利用者も多い。こうした場合、有効性の裏づけとなる作用機序が不明な食品の摂取にともない、医薬品の作用の増強・減弱等の思わぬ影響がもたらされる可能性がある。

これらの背景をもとに、本年度は、(1)“作用機序が明確ではない食品”を“作用機序が明確な食品ないしはそれに準ずる食品”へと変容させることの重要性やそのための要件・方法について検討し、(2)脳・神経系の健康や精神保健の用途における有効性が人対象試験である程度実証されているが、作用機序が明確ではない食品素材をデータベース等で探索し、(3)この種の素材の1つについて、実際に(1)の方法に則って実験を行い、“作用機序が明確な食品に準ずる食品”へと変容させるための作業事例を示すことをめざした。(3)に関してはとくに、DNAマイクロアレイを用いるトランスクリプトミクスによる遺伝子発現の網羅的解析の有用性についても検討することとした。

## B. 研究方法

### 1. “作用機序が明確ではない食品”から“作用機序が明確な食品ないしはそれに準ずる食品”へと変容させることの必要性やそのための要件・方法に関する検討

文献その他の資料を広く渉猟し、調査・検討を行った。

### 2. 作用機序は明確ではないが、脳・神経系の健康や精神保健の用途における有効性が人対象試験である程度実証されている食品素材の探索

Natural Medicines Comprehensive Database (NMCD)<sup>1)</sup>を中心に、脳・神経系の健康や精神保健の用途における有効性が人対象試験である程度実証されている食品素材の探索を行った。その上で、上記1に基づいて下記3を進めるのに適していると推定される素材1つ(亜鉛)を選定した。NMCDはDietary Supplement等の素材となる天然物を中心に、約1,000品目についてのモノグラフを収載したデータベースで、網羅性が高く、小まめに更新がなされている。ヒト対象試験・研究に基づいて、その安全性については5段階、有効性については6段階の評定化

を行っており、当該分野におけるゴールドスタンダードのデータベースといえる<sup>2)</sup>。

### 3. “作用機序が明確ではない食品”から“作用機序が明確な食品に準ずる食品”へと変容させるための作業事例

上記2において選定された亜鉛について、ラットを用いる実験によって検討した。

初体重50~55gのWistar系雄ラットを、20%カゼイン食で6~8日間予備飼育し、体重が約90gとなった時点で、卵白粉末(20%)およびD-グルコース(64%)を基本とする亜鉛無添加食(亜鉛含有量 20 ppm)を自由に摂取(3週間)させ、亜鉛欠乏食群(ZnDF)の動物を作成した。また、一部の実験では、亜鉛欠乏食と同じ組成に亜鉛含有量(20 ppm)を加えた亜鉛添加食を与えた動物を対照とした。

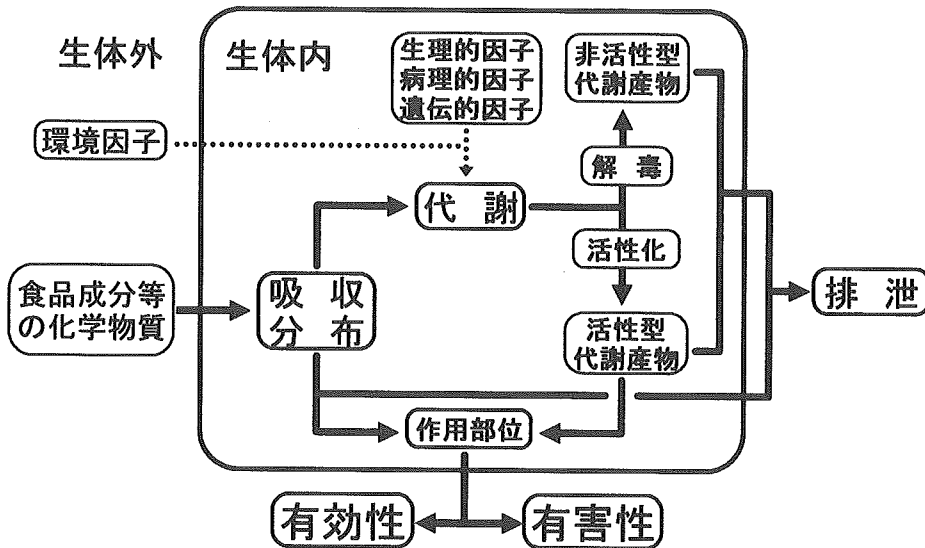
ラット肝臓および視床下部は用時までRNAlater RNA Stabilization Reagent (キアゲン)中に保存し、QuickGene-800(富士フィルム)を用いて、トータルRNAを抽出した。

DNAマイクロアレイ法による遺伝子発現の解析の際は、まず、アジレント社のプロトコールに従い、トータルRNAをもとにcDNAを合成し、つぎにT7RNAポリメラーゼを用いてCy3あるいはCy5標識CTPを取り込んだcRNAを合成した。さらに、それぞれの蛍光標識cRNAを断片化させた後、等量を混合し、DNAマイクロアレイ(アジレント)とハイブリダイズさせた(65℃, 17 h)。アレイを洗浄・乾燥後、FLA-8000スキャナー(富士フィルム)を用い、5μmの解像度でCy3 (532 nm)およびCy5(635 nm)の蛍光をスキャンニングして画像データを記録した。画像データ解析用のソフトウェアにはMalt Guage Ver 3.0およびArray Guage Ver 2.0を用いた。

メタロチオネイン(MT)mRNAの半定量化は、リアルタイムRT-PCRを用いて行った。測定用キットは、SYBR Greenベースのインターカレーション法によるBrilliant SYBR Green 1-Step QRT-PCR Master Mix(ストラタジーン)を用い、リアルタイムPCR装置(Mx3000P:ストラタジーン)を用いて測定した: 50℃(30分), 95℃(10分), [95℃(30分), 60℃(1分), 72℃(30秒)] X 40サイクル, 72℃(5分), 95℃(10分)。MT遺伝子およびサイクロフィリンについて得られたCt値から、サイクロフィリンmRNAに対する標的遺伝子mRNAの量比を求めた。

表 1 従来型の特定保健用食品と条件付き特定保健用食品の関係

試験 作用機序	無作為比較対照試験 (危険率5%以下)	無作為比較対照試験 (危険率5%を超え10%以下)	非無作為比較対照試験 (危険率5%以下)
明確	従来型特保	条件付き特保	条件付き特保
不明確	条件付き特保	条件付き特保	×



### C. 研究結果

#### 1. “作用機序が明確ではない食品”から“作用機序が明確な食品に準ずる食品”へと変容させることの必要性やそのための要件・方法に関する検討

ここでは、表記項目に関する整理を行った。

別格の健康食品である保健機能食品に係る制度はH17年に改正され、従来型の特定保健用食品に比べて、①作用機序、および②有効性を確認する試験の方法の2方向から審査基準が緩和された条件付き特定保健用食品が新設された(表1)。保健機能食品といういわば良貨が、有効性や安全性の科学的根拠が乏しく、その利用にともなう健康被害や経済被害を生じる恐れのある悪貨に当たる食品を駆逐できる環境づくりを進め、消費者のインフォームド・チョイスを支援するためには、このような保健機能食品の枠組み内での規制緩和は望ましい方向の1つといえる。しかしながら、保健用途における有効性が人対

象試験である程度実証されているものの、その関与成分の特定が困難であったり、また作用機序が不明確であるがために、“いわゆる健康食品”に甘んじている食品も多い。こうした食品が、条件付き特定保健用食品、さらには従来型の特定保健用食品へと昇格するためには、その作用機序が明確にされる必要のあることを現行の制度は示している(表1)。逆にいえば、作用機序の明確化によって、この種の食品に将来が期待できることになる。とはいえ、作用機序の明確化には大きな困難がともなうのも事実である。

特定保健用食品の関与成分や栄養機能成分等のように、身体の構造・機能に対する作用を示す食品成分は、主に消化管内腔あるいは消化管壁を標的的部位とし、これらへの影響を介して作用を発現するもの(例えばプレバイオティクス・プロバイオティクス)、および消化・吸収されて真の体内に取り込まれた後、標的的部位に到達して作用を発現するものに大別される。さらに、後者の場合は、体内での代謝を