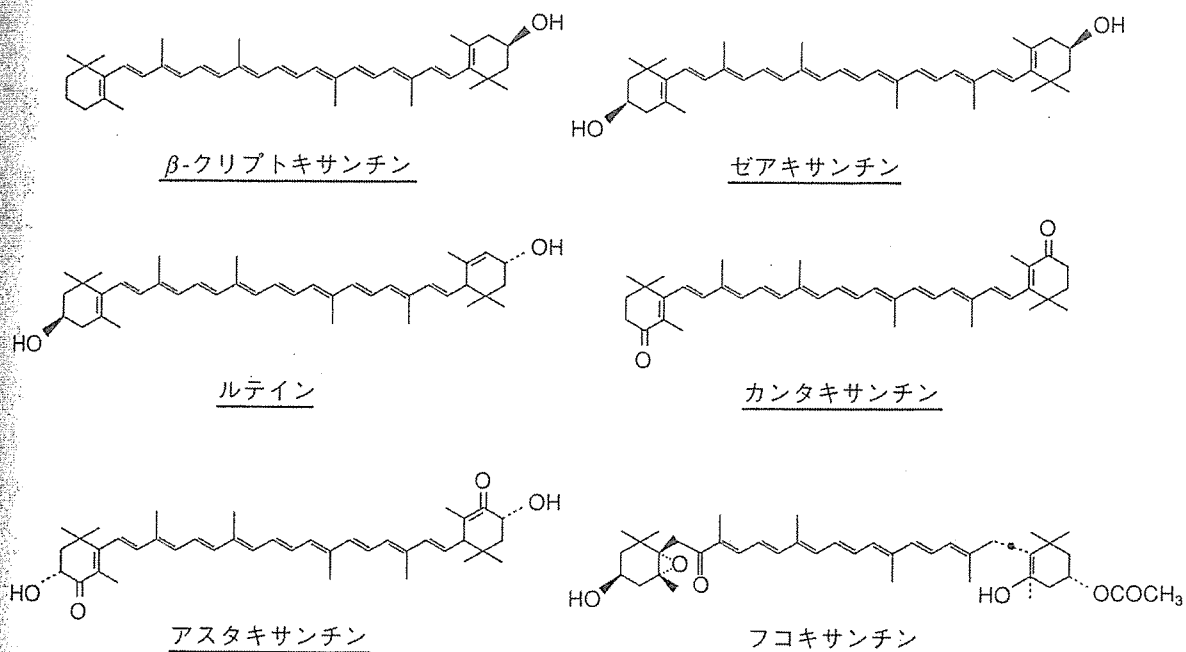


III - IV

キサントフィル

I キサントフィルとは

カロテノイドとは、長鎖の共役系二重結合を有する色素群の総称である。自然界には600を超えるカロテノイドが存在するが、ヒトが食物から摂取するカロテノイドは40程度である。カロテノイドはその構造から炭化水素カロテノイドと含酸素カロテノイドに分類され(図1)、含酸素カロテノイドをキサントフィルといい、血漿中に見出されたキサントフィルはクリプトキサニン、ゼアキサニン、ルテインとその代謝物である。クリプトキサニンは柑橘類に多く含まれプロビタミンA活性を持つ。ルテインとその異性体であるゼアキサニンは主に緑黄色野菜に存在し、分子の両端のイオノン環にヒドロキシ基が置換され、この官能基が生物活性に大きな影響を与えていると考えられている。



【図1 主要なキサントフィル類】

359 — キサントフィル

機能性食品

カロテノイドの主要な生理活性はプロビタミン A 活性と抗酸化活性であるが、ルテインやゼアキサントフィルにはプロビタミン A 活性はない。プロビタミン A 活性を持つキサントフィルには β -クリプトキサントフィルがあり、理論上 1 分子の β -クリプトキサントフィルは代謝されて 1 分子のビタミン A を生じる。キサントフィルは強い一重項酸素分子消去作用を有することから抗発がん、抗腫瘍食品因子として有用であると考えられる (表 1)。カロテノイドは生体の多種多様な組織で検出されているが、ヒトの網膜黄斑にはキサントフィルであるルテインとゼアキサントフィルのみが蓄積する。

【表 1】キサントフィルの一重項酸素分子消去作用

化合物	$^1\text{O}_2$ 消去速度定数 ($10^6 \text{ M}^{-1} \text{ S}^{-1}$)		生体内濃度 ($\mu\text{mol/l}$)
	k_q	k_r	
α -トコフェロール	280	3.6	15~40
β -カロテン	14 000	n.d.	0.3~0.6
アスタキサントフィル	24 000	n.d.	
カンタキサントフィル	21 000	n.d.	
ゼアキサントフィル	10 000	n.d.	0.1~0.2
ルテイン	8 000	n.d.	0.1~0.3
クリプトキサントフィル	6 000	n.d.	0.3

k_q : 物理的消去速度定数, k_r : 化学的消去速度定数
n.d.: 未測定 (ほとんどの場合 k_q に比べて大変低い値を示す)

360

2. 生理活性

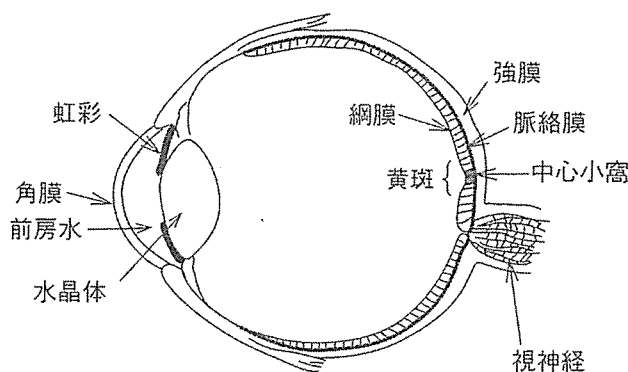
キサントフィルの主要な生理活性であるプロビタミン A と抗酸化作用の作用機構の詳細については、カロテノイドの項で述べる。ここでは、主として局在性に特徴のある視覚疾患を記載する。

■ 加齢性網膜黄斑変性疾患と白内障の予防

ルテインとゼアキサントフィルは、目の健康に関わるという点において非常にユニークなキサントフィルである。ヒトの組織や器官には種々のカロテノイドが検出されているが、物を見るのに不可欠な役割を演じる目の二つの組織、網膜とレンズにはルテインとゼアキサントフィルのみしか蓄積しない。網膜の中心に位置する直径 5~6 mm の黄斑は光受容体が蓄積しており、ここが太陽光線を直接受ける。太陽光線の中で、特に青色光線 (440 nm) は赤色光線 (590 nm) のおよそ 100 倍のエネルギーを放ち、強い障害をもたらすが、ルテインは 445 nm の吸収極大を持つことから、太陽光線の青色光線を効率よく吸収するため障害を予防できる¹⁾。

また、網膜は、高濃度の多価不飽和脂肪酸を構成成分とする血管が集約した組織であることから、非常に酸化障害を受けやすい。網膜黄斑中にルテインの代謝産物がみられることはルテインが抗酸化作用を発揮して網膜黄斑細胞を酸化障害から防御することを示唆する。多くの研究者（ビテイら²⁾、カイら³⁾、ウインクラール⁴⁾は、ルテインとゼアキサンチンはラジカルスクベンジャーとして作用し、網膜の炎症性肥厚形成を阻害して目の健康を保つと述べている。

目は光に激しくさらされ、強い酸化ストレスを受けるが、それに対応した光酸化障害防御機構の入口にレンズは位置する。白内障はレンズ内でタンパク質が酸化され、酸化したタンパク質が蓄積し、視覚に異常をきたす疾病である。レンズに蓄積するカロテノイドは網膜黄斑に比べ濃度は低いものの網膜黄斑と同じくルテインとゼアキサンチンのみである。レンズにおいても両者は青色光線の遮蔽剤として、あるいは抗酸化因子として作用すると考えられている（図2）。



【図2 ヒトの眼球の断面図】

■心臓・血管系に対する作用

一般に、野菜や果物を多量に摂取する地域では、心疾患の罹患率が低いといわれている。これは、ビタミンA、C、Eやカロテノイドの高い摂取によるとされているが、疫学調査により、キサントフィル摂取と心疾患の相関性が示唆されている。フランスのトゥルーズ市と北アイルランド、ベルファストの疫学調査を比較すると⁵⁾、血清成分の大きな違いは含酸素カロテノイド、β-クリプトキサントフェールとルテイン濃度であり、ベルファストでは心疾患の罹患率が高く、両キサントフェール濃度がトゥルーズ市民の1/2と低い値を示した。また、ロサンゼルス Atherosclerosis Study⁶⁾は、血清ルテインレベルと動脈内膜肥大（IMT）の関連を始めて研究したものであるが、それによると、血清ルテイン濃度が800 nmol/l以上の中年男女ではIMTは皆無に近く、一方180 nmol/l以下のグループでは有

意に増加していた。米国の大規模コホート研究⁷⁾は、ルテイン摂取と虚血性疾患のリスク低下に正の相関があることを示した。喫煙者のクモ膜下出血のリスクはβ-カロテンやリコペンとルテインの同時摂取で低下した。

■ 皮膚障害と発がん

ヒトが紫外線にさらされると皮膚に紅斑が誘導されるが、血清や皮膚中のカロテノイドはこの炎症を抑制してカロテノイド自体の濃度は低下する。このようにして、皮膚の健康が維持される。紫外線に曝露された皮膚は各種の活性酸素種が生成しそれにより赤い浮腫や紅斑を引き起こす。食事由来のカロテノイドをはじめとする抗酸化物質はこれらの炎症を抑制する。

■ がん予防

フィジー諸島の住民の疫学調査によると、彼らは毎日緑色野菜を 200 g (ルテイン 25 mg) 以上摂取しており、緑色野菜や果物をそれほど食しないほかの南太平洋諸島の住民に比べて、同じ喫煙率にもかかわらず肺がんの罹患は低いと報告されている⁸⁾。

キサントフィルによるがんの化学予防について動物実験が行われている⁹⁾。マウスにルテインを 1 回当たり 0.2 mg, 週 3 回 25 週間経口摂取させることにより、プロモーション期の肺がんが抑制できた。また、結腸がんに対しては毎日 0.24 mg を 5 週間胃内に投与することにより腫瘍の形成数が低下した。0.005% のゼアキサントリン摂取ではマウスの肝発がんが抑制され、β-クリプトキサントリン摂取ラットでは結腸がんが抑制する傾向があった。

皮膚の発がんに対する作用も、動物実験により証明されている。0.04 あるいは、0.4% のルテインを添加した食餌を与えたヌードマウスでは UVB 誘導皮膚の炎症が有意に抑制され、さらには UVB 誘導 DNA 障害が低下した。UVB 照射はがんを発症させるが、ルテインの摂取はラジカルスクベンジャーとして皮膚発がんに対して抑制的に働くと考えられる。

362



介入試験

視覚に対するルテインの介入試験は数多く行われ、その代表的なものを表 2 に要約した。

リッチャーら¹⁰⁾は、14 人の平均年齢 70 歳の男性の加齢性網膜黄斑変性疾患患者に 140 g のホウレンソウ (ルテイン 14mg を含む) あるいは精製ルテインを 1 週間に 5~7 回 1 年間投与し病変の改善を観察したところ、種々の視覚機能は 60%

【表2 ルテインの介入試験】

介入試験	対象	投入方法	結果	文献
Richer (1999a)	加齢性網膜黄斑疾患(AMD)患者男性14人	ホウレンソウ140g (ルテイン14mg含) または精製ルテイン14mgを毎日1年間	個人間に差はあるが視力機能の改善	<i>J. Am. Optom. Assoc.</i> , 70, pp. 24-36, 1999a
Dagnelie (2000)	色素性網膜炎患者16人	ルテイン40mg/日を9週間, 続いて20mg/日を17週間	視力の改善	<i>Optometry</i> , 71, pp. 147-164, 2000
Massacesi (2001)	AMD患者50人	ルテイン15mg/日を18か月	プラセボ群に比べ視力が2倍回復	<i>Assoc. Res. Vision. Ophthalmol.</i> , 42, S234, 2001
Richer (2002)	AMD患者90人	ルテイン10mg/日または(ルテイン10mg+混合抗酸化剤)/日を12か月	MPD, 眩輝, コントラスト感受性, および視力の改善	Proceedings of the Association For Research in Vision and Ophthalmology, Ft. Lauderdale FL, P. B539, 2002
Olmedilla (2003)	白内障患者5人	ルテイン15mg/日を2年間	視力, 眩輝の改善	<i>Clin. Sci.</i> , 102, pp. 447-456, 2003

以上の回復が認められた。その後、リッチャーらは1999年から2001年にかけて、シカゴ市内の病院で萎縮性加齢性網膜黄斑変性疾患と診断された90人の患者にルテイン-抗酸化剤供給試験を行った。患者を①ルテイン10mg投与群、②ルテイン10mg/抗酸化剤/ビタミン/ミネラル投与群、③マルトデキストリン(プラセボ群)の3グループに分け、それぞれのサプリメントを12か月摂取させた。その結果、プラセボ群に対し、ルテイン単独投与、あるいはルテインとほかの抗酸化剤を同時投与した群においては網膜の色素沈着が増加し、視覚の機能上昇がみられた。

マサセッシらはリッチャーらと同様の結果を得た。ミラノ市において、50人の加齢性網膜黄斑変性疾患患者に15mgのルテインを含む抗酸化剤カクテルの投与試験を行ったところ、18か月の長期摂取によりカクテル投与群はプラセボ群に比べ視覚障害が2倍改善した。

色素性網膜炎患者の視覚機能に及ぼす作用については、ダグネリらがルテインの介入試験を行っている。精製ルテイン1日当たり40mgを9週間、引き続き17週間は20mg摂取させ、コンピュータによる自己診断を行った。それによると、有意な改善が認められたが、16人の患者のうち10人はDHAやビタミンB複合物、消化酵素を同時に摂取し、10人は介入試験の以前から介入試験期間を通して、ビタミンA単独またはβ-カロテンを同時に摂取している事実を考慮しな

I
II
III
IV

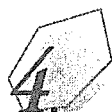
機能性食品
キサントフィル

363

ければならない。

さらに、白内障に対する作用についても介入試験が行われている。オルメンテラらは老人性白内障と診断された患者 17 名にルテイン 15 mg, あるいは α -トコフェロール 100 mg 投与群とプラセボ群に分け、それぞれの食品成分を週 3 回、2 年間摂取させ、視力と眩輝の改善を追及した。両マーカーはルテイン投与群のみで改善が認められた。

皮膚の炎症に対するキサントフィル単独の介入試験は未だ行われていない。2003 年、ハインリッヒら¹⁰⁾は混合カロテノイド 24 mg (β -カロテン, リコペン, ルテインの等量混合物)を 12 週間にわたり摂取させたところ、紫外線照射により誘導される紅斑が有意に抑制されることを報告した。この研究はルテインの供給と皮膚の健康維持に直接つながるものではないが、ルテインとその代謝産物が皮膚に存在することから食事由来のカロテノイドが皮膚で代謝されることを示唆している。



4 吸収・代謝・排泄

364

キサントフィルの吸収代謝排泄については、カロテノイドの項で詳細に述べる。要約すると、食品成分として摂取したキサントフィルは消化され、脂質とともに胆汁酸でミセル化された後に、小腸上皮から吸収され、門脈循環を経て肝臓に到達する。その大半は肝臓に貯蔵されるが、各組織の必要性に対応し、肝臓から血流に乗って体の抹消組織に入り、最終的には腎臓、あるいは腸管で再吸収されて排泄される。

ルテインは一般に食品中では遊離型で存在するが、ごく一部、黄桃やオレンジのような黄橙色の果実では脂肪酸が結合したエステル型として存在する。一方、食品添加物として使用されるルテインはエステル型も多い。ルテインエステルは、吸収に先立ち消化管に存在するリパーゼやエステラーゼが作用して遊離型となる。



5 食品中の含有量

キサントフィルは、野菜や果物に広く存在する。ルテイン/ゼアキサントキサンチンはパセリ、セロリなどの緑色野菜に多量に含まれ、 β -クリプトキサントキサンチンはプロッコリーやグレープフルーツに含まれる(表 3)。アスタキサントキサンチンはエビやカニ

【表3 食品中のβ-クリプトキサンチン/ルテイン/ゼアキサンチン含有量】

(a) 野菜に含まれるルテイン/ ゼアキサンチン		(b) 果実に含まれるβ-クリプトキサンチン/ ルテイン/ゼアキサンチン		
野菜	ルテイン/ ゼアキサンチン (mg/100g)	β-クリプトキサンチン (>0.5 mg/100 g)	ルテイン (>0.5 mg/100 g)	ゼアキサンチン (>0.1 mg/100 g)
ケール (生)	39.6	温州ミカン	アンズ	パパイヤ
ホウレンソウ	11.9	パパイヤ	アボガド	黄桃
リーフレタス	2.64	ビワ	ブドウ	"
ブロッコリー	2.45	グアバ	オリーブ	"
夏カボチャ	2.13	ポンカン	クラムベリー	"
芽キャベツ	1.59		スモモ	"
グリーンピース	1.35		サクランボ	"
コーン	0.884		キウイフルーツ	"

の甲殻類に存在する動物性カロテノイドである。欧米では、結晶化したルテインが食品添加物色素として菓子類、乳製品、ドリンク類、穀物加工食品に汎用され、これらの加工食品を1人分食することで数mgのキサントフィルが体内に入る。



6. 過剰症

キサントフィルの過剰摂取による障害作用は報告されていない。ルテインを1日当たり30mgを5か月間、または40mgを2か月間摂取する介入試験においても副作用はみられなかった。血清脂質の変化から、想定される血液性状や目に対して何の作用ももたらされないことが報告されている。唯一、柑皮症があるが、この色素沈着は有害ではなく、キサントフィルの摂取を中止すれば退色する。

参考文献

- 1) W. T. Ham Jr., H. A. Mueller and D. H. Sliney: Retinal sensitivity to damage from short wavelength light, *Nature*, **260**, pp. 153-155, 1976
- 2) S. Beatty, H. Koh, M. Phil, D. Henson and M. Boulton: The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration, *Surv. Ophthalmol.*, **45**, pp. 115-134, 2000
- 3) J. Cai, K. C. Nelson, M. Wu, P. Stenberg and D. P. Jones: Oxidative damage and protection of the RPE, *Prog. Retin. Eye Res.*, **19**, pp. 205-221, 2000
- 4) B. S. Winkler, M. E. Boulton, J. D. Gottsch and P. Sternberg, Oxidative damage and

I

II

III

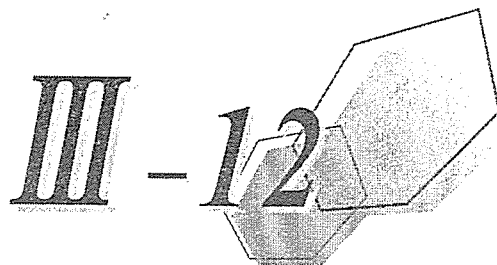
IV

機能性食品

365

キサントフィル

- age-related macular degeneration, *Mol. Vis.*, **5**, pp. 32, 1999
- 5) A. N. Howard, N. R. Williams, C. R. Palmer, J. P. Cambou, A. E. Evans, J. W. Foote, P. Marques-Vidal, E. E. McCrum, J. B. Ruidaverts, S. V. Nigdikar, J. Rajput-Williams and D. I. Thurnham: Do hydroxyl-carotenoids prevent coronary heart disease? A comparison between Belfast and Toulouse, *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **66**, pp. 113-118, 1996
 - 6) J. H. Dwyer, M. Navab, K. M. Dwyer, K. Hassan, P. Sun, A. Shircore, S. H. Levy, G. Hough, X. Wang, T. Drake, C. N. Merx and A. M. Fogelman: Oxygenated carotenoid lutein and progression of early atherosclerosis: The Los Angeles Atherosclerosis Study, *Circulation*, **103**, pp. 2922-2927, 2001
 - 7) A. Ascherio, E. B. Rimm, M. A. Hernan, E. Giovannucci, I. Kawachi, M. J. Stampfer and W. C. Willett: Relation of consumption of Vitamin E, Vitamin C and carotenoids to risk for stroke among men in the United States, *Ann. Intern. Med.*, **130**, pp. 963-970, 1999
 - 8) L. Le Marchand, J. H. Hankin, L. N. Kolonel, G. R. Beecher, L. R. Wilkens and L. P. Zhao: Intake of specific carotenoids and lung cancer risk, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **2**, 39, pp. 183-187, 1993
 - 9) H. Nishino, M. Murakoshi, T. Ii, M. Takemura, M. Kuchide, M. Kanazawa, X. Y. Mou, S. Wada, M. Masuda, Y. Ohsaka, S. Yogosawa, Y. Satomi and K. Jinno: Carotenoids in cancer chemoprevention, *Cancer and Metastasis Rev.*, **21**, pp. 257-264, 2002
 - 10) U. Heinrich, C. Gartner, M. Wiebusch, O. Eichler, H. Sies, H. Tronnier and W. Stahl: Supplementation with beta-carotene or a similar of mixed carotenoids protects humans from UV-induced erythema, *J. Nutr.*, **133**, 1, pp. 98-101, 2003



I
II
III
IV

カロテノイド



1 カロテノイドとは

カロテノイドとは、長鎖の共役二重結合を特徴とする色素類の総称である。自然界には600種を超えるカロテノイドが存在する。カロテノイドの多くは炭素数40で構成され、十数個の二重結合を有することから、理論上、多数のシス-、トランス-異性体が存在するはずであるが、自然界ではトランス型として存在する。生体内では、シス異性体も見出されるが、これは摂取したカロテノイドが一部シス異性体に代謝変換されたものである。カロテノイドは細菌、藻類、植物、甲殻類、魚類、哺乳動物に広く見出されているが、動物は *de novo* 合成能を持たないため、体内で見出されるカロテノイドは飼料として摂取した植物性の食品成分そのものか、あるいは摂取後生体内で酸化を受けた代謝産物が蓄積したものである。

カロテノイドを構造から分類すると、酸素を含まない炭化水素カロテノイド（カロテン類やリコペン類）と含酸素カロテノイド（キサントフィル類）に分けられる。また、イオノン環の有無からは環状カロテノイド（カロテンやキサントフィル）と非環状カロテノイド（リコペンやフィトエンなど）に分類される（図1）。最も代表的なカロテノイドであるβ-カロテンは、ニンジンを始め緑黄色野菜に広く分布し、β-カロテンの異性体であるα-カロテンは緑葉に、リコペンはトマト果実に高濃度存在することが知られている。食品素材中の主要なキサントフィルは緑色野菜にみられるルテインや果実に多いβ-クリプトキサンチンである。アスタキサンチンはエビ、カニなどの甲殻類やサケやマスなどの魚類に豊富に含まれる色素であり、動物性カロテノイドとも呼ばれている。

機能性食品

367

カロテノイド

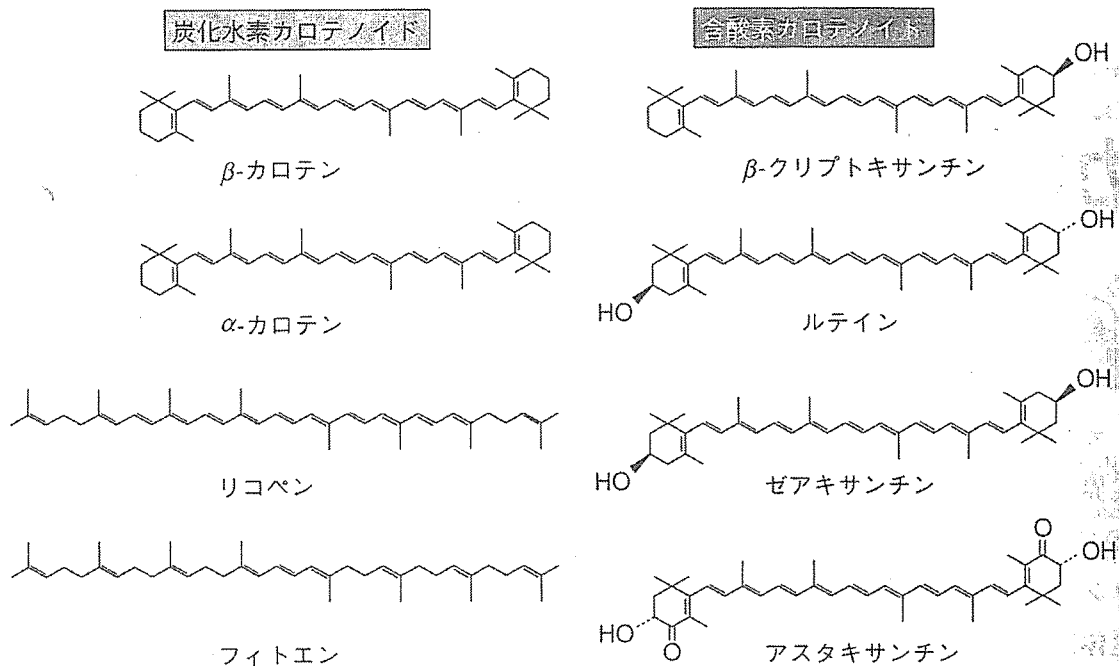


2 生理機能

● プロビタミン A 活性

ヒトは植物由来のカロテノイドを食事より摂取し、その一部をビタミン A に変換する。カロテノイドのうち、レチニデン残基を分子内に含む α -、 β -、 γ -カロテンなどは生体内でビタミン A に変換される。特に、分子内に 2 個のレチニデン残基を持つ β -カロテンは 2 分子のビタミン A になることから、強いプロビタミン A 活性を持つことが明らかである。食品成分として摂取された β -カロテンは小腸において、 β -カロテン 15, 15'-ジオキシナーゼの作用を受けて 2 分子のレチナールへ分解され、さらにレチナールはレチノールあるいはレチノイン酸に代謝される。レチノイン酸は、脂肪酸とのエステル化反応によりレチニルエステルとなり、キロミクロンに取り込まれる。

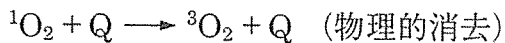
ビタミン A の生理機能としては、視覚、成長・生殖、味覚、細胞の終末分化、形態形成に関与するほか、上皮組織の機能維持や免疫作用にも深く関わっていることが知られている。



【図 1 主要なカロテノイドの構造】

● 抗酸化作用¹⁾

カロテノイドの抗酸化作用は、一重項酸素分子消去作用とラジカル捕捉作用に分けられる。酸素分子が光増感反応で励起されると活性酸素の一種である一重項酸素が発生する。一重項酸素はその親電子性により、二重結合を持つ化合物と容易に反応し、ヒドロペルオキシドやエンドペルオキシドなどを生成する。カロテノイドの一重項酸素消去は一重項酸素の励起エネルギーを熱エネルギーに変換するもので、カロテノイド自身は変化を受けず繰り返し消去できる（物理的消去）。

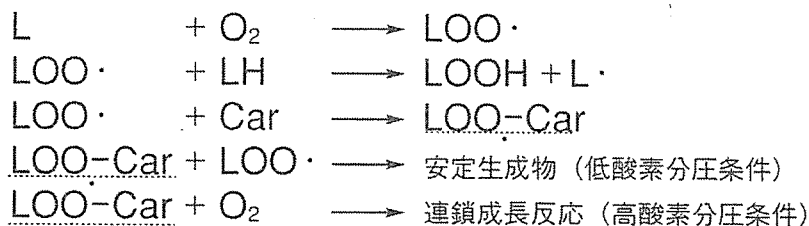


${}^3\text{O}_2$ ：三重項酸素（通常の酸素）、 ${}^1\text{O}_2$ ：一重項酸素

Q：消去剤， QO_2 ：酸化生成物

カロテノイドは、代表的なラジカル捕捉剤である α -トコフェロールに比べその活性はかなり低いものの、低酸素分圧においては強いラジカル捕捉作用を発揮する。カロテノイドの共役二重結合にラジカル付加反応が起こるが、低酸素状態では生成した捕捉炭素ラジカルが共鳴安定化するために、連鎖ラジカル停止反応が優勢になると考えられる（図2）。その他の活性酸素種との反応については、 β -カロテンは一酸化窒素（NO）関連種である NO_2 や ONOO^- との反応性が高く、このことはカロテノイドがNOにより誘導される生体障害を抑制する可能性を示唆する。

カロテノイドは血液中ではリポタンパク質に局在するが、それぞれのカロテノイドの各リポタンパク質への分布は一様ではない。 β -カロテンやリコペンのような非極性のカロテノイドはVLDLやLDLに分布しやすいため、またLDLの酸化変性は動脈硬化の引き金になることから、これらのカロテノイドは動脈硬化予防因子として働く可能性がある。



LOO \cdot ：ペルオキシラジカル，LH：脂質，Car：カロテノイド

LOO \cdot -Car：カロテノイドのラジカル付加物

L \cdot ：脂質ラジカル，LOOH：脂質ヒドロペルオキシド

【図2 脂質のラジカル反応に対するカロテノイドの抑制作用】

● その他の生理機能

カロテノイドの生理機能としては、プロビタミン A と抗酸化作用のほかに、その作用機作は十分には解明されていないが、免疫賦活作用や細胞間ギャップジャンクションを増強することが報告されている (表 1)。隣接する細胞の間にはギャップ結合が形成され、ギャップ結合の細孔を通して低分子物質が通過する。ギャップ間の相互作用によって組織の恒常性が維持され、この相互作用が低下するとがん細胞の増殖が促進される。抗腫瘍作用のほかにカロテノイドがイソプレノイドとしてコレステロール生合成を抑制することも知られている。

【表 1 カロテンの生物活性】

化合物	プロビタミンA 活性	薬剤誘導による 形質転換阻害	ギャップ結合誘導	脂質過酸化阻害
β-カロテン	++++	++++	++++	++
カンタキサンチン	—	++++	++++	+++
ルテイン	—	—	+++	+++
α-カロテン	++	++	+	+
リコペン	—	—	++	++
μ-ビキシン	—	—	—	+++
α-トコフェロール		+	±	++++

(L. -K. Zhang: Carcinogenesis, 12, p.2109, 1991)

3 臨床試験

● 発がんに対する介入試験

カロテノイドを含む野菜や果物摂取量とがんの罹患率は、負の相関関係があることが疫学調査で報告されている。また、臨床試験において、β-カロテン摂取と発がんにも負の相関が明らかとなった。β-カロテン投与による一次的ながん予防の大規模介入試験が数多く行われている (表 2)。

一般人口を対象としたものとして、中国河南省林県の研究 (Linxian Study) と米国医師を対象とした Physician's Study がある。食道がんや胃がんの多発地域である河南省林県では、β-カロテン、ビタミン E、セレンの複合投与により、発がんリスクが低下し特に胃がんでは 21% の低下が認められた。Physician's Study はその多くが非喫煙者である医師が β-カロテンを服用したものであるが、がんに対し予防もリスクの上昇もみられなかった。

【表2 β-カロテンの大規模介入試験】

介入試験	対象	栄養素の量	期間	主な結果	文献
Linxian Study	中国・河南省林県住民 (約3万人)	2～3種類の栄養素を組み合わせ、4群に分け、毎日投与	1986) 1991	β-カロテン (15 mg)、ビタミンE (30mg)、セレン (50 mg) の投与群の死亡率が全がんで13%、胃がんで21%低下	L.-X. Zhang et al., <i>Carcinogenesis</i> , 12, 2109, 1991
ATBC trial	フィンランドの男性喫煙者 (約3万人)	β-カロテン 20 mg とビタミン E50 mg を毎日投与	1985) 1993	β-カロテン投与群の肺がんになる率が18%上昇	M. Rapla et al., <i>Lancet</i> , 349, 1715, 1997
Physicians' Study	米国の男性医師 (約2万2千人)	β-カロテン 50 mg とアスピリンを1日おきに投与	1982) 1995	β-カロテンにがんの予防効果も害もなし	C.H. Hennekens et al., <i>New Engl. J. Med.</i> , 91, 183, 1999
CARET Study	米国の喫煙者・アスベストを吸った人達 (約1万8千人)	β-カロテン 30 mg とビタミン A25 000 IU を毎日投与	1988) 1998	投与群の肺がんになる率が28%上昇、投与中止	G.S. Omen et al., <i>New Engl. J. Med.</i> , 334, 1150, 1996

発がんリスクの高い集団を対象とした研究では、フィンランドにおける喫煙者への ATBC trial や喫煙者、アスベスト吸引者を対象とした米国の CARET Study では、β-カロテンの投与によって肺がん罹患率が上昇するという予想に反する逆の結果が報告された。これらの研究結果から、がんは多段階発症するものであり、上記の喫煙者はイニシエーションを終了しており、β-カロテンはイニシエーション期に有効であることからリスクの軽減には働かないと推定された。この仮説を基にすると、発がんを予防するには初期からの摂取が必要であるということになる。また、投与量が食事からの摂取が推奨されている 6 mg をはるかに超える高容量であることから、摂取した β-カロテンがむしろ酸化促進的に働き、発がんを誘導したとの意見もある。

一方、少人数、短期間の試験ではあるが、やはり発がんリスクの高い前がん病変である口腔内白斑症患者 24 人に 1 日 30 mg の β-カロテンを 3～6 か月摂取させ、口腔がんの予防における β-カロテンの可能性を検討したガレウエルらの試験²⁾がある。この研究結果は、β-カロテン摂取群では 71% の高率で症状が改善することを示した。

これらの介入試験は、β-カロテンをはじめとするカロテノイドの抗発がん機能を期待させるものである。野菜や果物の中にはリコペン、α-カロテンなどが存在するが、β-カロテン以外のカロテノイドにも β-カロテンより強い抗腫瘍活性を持つものが少なくない。西野らの研究グループは混合カロテノイドと α-ト

371

コフェロールを同時に摂取することでプロモーション期の肺がんを抑制し、さらに肝硬変患者の腫瘍進行を抑えることを見出した (K. Jinno, H. Nishino et al., patent pending, #2002-022958, 2002). ただし、カロテノイドを抗発がん成分として摂取するには、ほかの食品抗酸化成分との同時摂取による共同作用など、抗酸化活性を発揮できる条件を十分に考慮しなければならない。

● 光酸化障害に対する介入試験

カロテノイド摂取がヒト皮膚に及ぼす影響については太陽光をモデルとした皮膚の紅斑の出現を指標とした介入試験がある。スターラ^{3,4)}は *Dunaliella salina* 由来の混合カロテノイド (94%がβ-カロテン、他はさまざまなカロテノイド) を1日当たり25 mgあるいはトマト40 g (リコペン16 mg含有) を十数週間摂取した後に紫外線曝露により出現する紅斑は、カロテノイド摂取群では有意に低下することを報告している。また、リー⁵⁾は同じく *Dunaliella salina* 由来の混合カロテノイドを投与した場合、摂取量に対応して太陽光照射により誘導される紅斑を抑制するとともに、血清中の過酸化脂質の量が減少したことを明らかにした。食事由来のカロテノイドは皮膚に蓄積し、太陽光線照射により生成する各種活性酸素の酸化障害に対し抑制能を発揮することが示された。

372



4 吸収・代謝・排泄

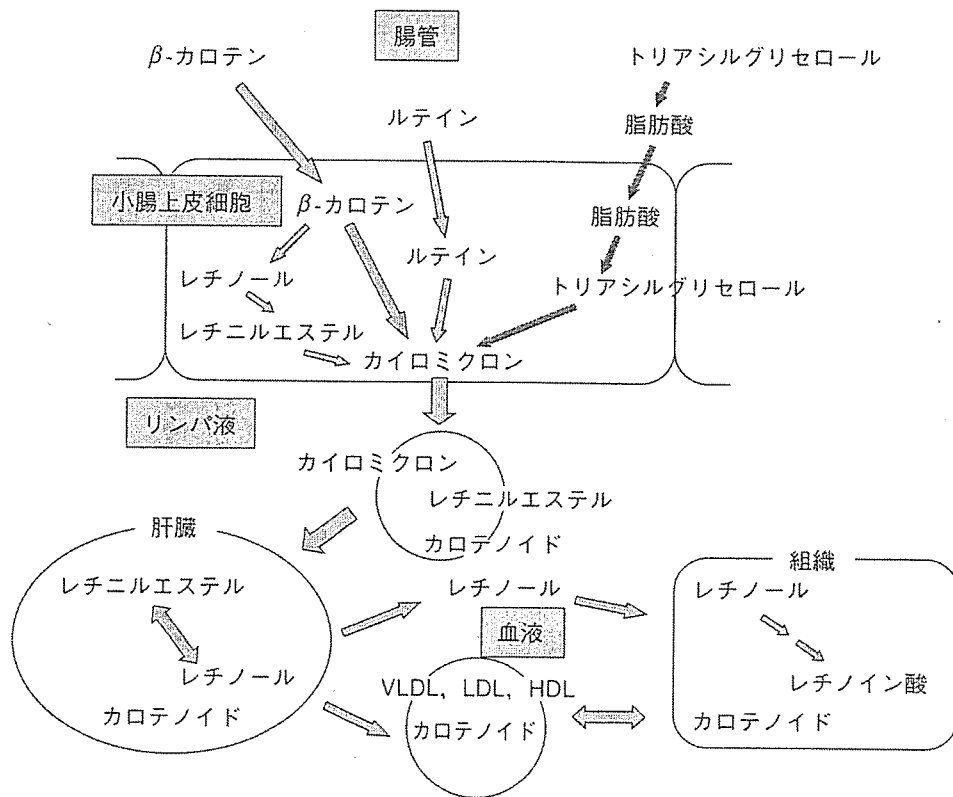
摂取したカロテノイドは脂質油滴に含まれ小腸に運ばれる。小腸で胆汁酸とともにミセル化された後に吸収される。吸収されたカロテノイドのうちβ-カロテンなどのプロビタミンAは小腸上皮においてレチナールに変換されるが、20~30%は未変換のままカイロミクロンに取り込まれる。リコピンやルテインなど非ビタミンカロテノイドもカイロミクロンの構成成分となり、リンパを経て、血流に入り抹消組織に運ばれ、さらに肝臓に到達する (図3)¹⁾。

血漿中のカロテノイドは各種リポタンパク質に分布する。血液に乗って運ばれたカロテノイドはさまざまな組織に蓄積し、肝臓はその大きさからカロテノイドの貯蔵庫の働きをしている。



5 食品中の含有量

カロテノイドは、緑黄色野菜、橙黄色果物に多く含まれる。日常よく摂取され



【図3 カロテノイドの吸収・代謝】

ニンジンやトマトはβ-カロテンのよい供給源であり、トマトはリコペンを多量に含む。表3は、科学技術庁資源調査会編 五訂日本食品標準成分表によるカロテノイドを多量に含む野菜、果物およびその加工品を示したものである。一方、記載されたカロテンは、カロテノイド色素のうちプロビタミンA活性を示すβ-カロテン、α-カロテン、クリプトキサントフェンを測定しβ-カロテンの変換率を1/2、生物学的効力を1/3としてβ-カロテン当量を算出したものである*。したがって、リコペン、ルテインなどのプロビタミンA活性をもたないカロテノイドはカロテン含有量として考慮されていない。

*第七次改訂 日本人の食餌摂取基準では、1 μg レチノール当量 = 12 μg β-カロテンに変更される。

6 過剰症

β-カロテンの特徴の一つに、その安全性があげられる。過剰のβ-カロテンを摂取してもビタミンAの過剰症には陥らない。体内でビタミンAが不足するとβ-カロテンはビタミンAに変換される。赤血球造血性プロトポルフィリン症の

【表3 野菜、果物およびその加工品中の各カロテノイドの濃度】¹⁾

野菜、果物 加工品名	カロテノイド (μg/100g 可食部 生)					
	α-カロテン	β-カロテン	γ-カロテン	クリプト キササンチン	ルテイン*1	リコペン
ニンジン	530	7 600	nd*2	—*3	300	—
パセリ	—	5 600	—	—	10 200	—
トマトケチャップ	—	5 000	nd	nd	210	9 900
ホウレンソウ	—	3 300	—	—	4 400	—
セロリ	—	2 900	nd	nd	7 200	—
ブロッコリー	tr*4	1 000	nd	24	1 800	—
レタス	tr	980	—	—	1 800	—
トマト	—	660	170	nd	100	3 100
アズキ (缶詰)	—	560	nd	tr	3.5	nd
スイカ	tr	230	nd	nd	14	4 500
キュウリ	tr	30	—	—	470	—
白キャベツ	tr	66	nd	—	150	—
オレンジ	19	38	nd	nd	27	nd
リンゴ	—	12	—	—	48	—
イチゴ	—	8.9	—	—	31	—
グレープフルーツ	tr	2.3	nd	3.3	9.5	—

* 1 : ルテイン + ゼアキササンチン, * 2 : 測定せず, * 3 : 0.5 μg/100g 以下, * 4 : 痕跡

374

治療薬として、通常の摂取の 60 倍にあたる 30~180 mg の β-カロテンを長期にわたり服用しても、皮膚が黄色になる柑皮症以外には副作用はみられていない。

参考文献

- 1) 日本栄養・食糧学会 監修：フリーラジカルと疾病予防 第2章2 カロテノイド，建帛社，1997
- 2) H. S. Garewell, F. L. Meyskens Jr., D. Killen, D. Reeves, T. A. Kiersch, H. Elletson, A. Strosberg, D. King and K. Steinbronn: Response of oral leukoplakia to beta-carotene, *J. Clin. Oncol*, 8, 10, pp. 1715-1720, 1990
- 3) W. Stahl, U. Heinrich, H. Jungmann, H. Sies and H. Tronnier: Carotenoids and carotenoids plus vitamin E protect against ultraviolet-induced erythema in humans, *Am. J. Clin. Nutr.*, 71, pp. 759-798, 2000
- 4) W. Stahl, U. Heinrich, S. Wiseman, O. Eichler, H. Sies and H. Tronnier: dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans, *J. Nutr.*, 131, 5, pp. 1449-1451, 2001
- 5) J. Lee, S. Jiang, N. Levine and R. R. Watson: carotenoid supplementation reduces erythema in human skin after simulated solar radiation exposure, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 223, pp. 170-174, 2000

〈原著〉

微生物学的定量法および化学発光酵素免疫測定法による 血清葉酸量の比較検討

渡邊 敏明^{*1)}、甘庶 志帆乃¹⁾、榎原 周平¹⁾、福井 徹²⁾

Comparative study of serum folate concentration by microbiologic assay and chemiluminescent enzyme immunoassay

Toshiaki Watanabe^{*1)}, Shihono Kanja¹⁾, Shuhei Ebara¹⁾ and Toru Fukui²⁾

Summary It is the purpose of this study to evaluate the reliability of the determination of folate concentrations in serum and to compare the results with those obtained employing the microbiologic assay using the assay organisms *L. casei* and *S. faecalis* and the chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA). The mean concentration of serum folate was 17.6 ± 9.5 ng/ml by the microbiologic assay and 5.4 ± 2.1 ng/ml by the CLIEA. Although the difference between them was very significant, there exists a strong correlation between the two ($p=0.85$, $p<0.01$). This may be due to the fact that the microbiologic assay using *L. casei* responds to the widest variety of folate derivatives, including PteGlu_n and 5-CH₃-H₂PteGlu, whereas the CLEIA can respond to only a single folate compound, PteGlu_n. Based on these findings, the microbiologic assay appears to be more reliable than the CLEIA for determining various folate compounds in serum.

Key words: Folate, Methyltetrahydrofolate, Microbiologic assay, Chemiluminescent enzyme immunoassay, Serum

I. 緒言

葉酸は、N-ヘテロ環のプテリジンとp-アミノ

安息香酸からなるプテロイル基に1～7個のL-グルタミン酸が結合したプテロイルポリグルタミン酸である。食品に含まれるのは、プテロイ

*1) 兵庫県立大学環境人間学部食環境解析学教室
〒670-0092兵庫県姫路市新在家本町1-1-12

2) 病体生理研究所
〒173-0025東京都板橋区熊野町47-11

受領日 平成17年3月17日

受理日 平成17年4月25日

*1) Laboratory of Dietary Environment Analysis,
Department of Environment for Life and Living, School
of Human Science and Environment, Himeji Institute
of Technology, University of Hyogo,
1-1-12 Shinzaike Honcho, Himeji, Hyogo 670-0092,
Japan

E-mail: watanabe@shse.u-hyogo.ac.jp

2) Clinical Laboratory, Byotai Seiri Laboratory
47-11 Kumanocho, Itabashi, Tokyo 173-0025, Japan

表1 葉酸定量法の特徴

測定法	特徴	利点	欠点
微生物学的定量法 (Bioassay)	食品、生体試料中に含まれる葉酸化合物の総量を求める一般的な方法である。葉酸化合物に対する活性の異なる乳酸菌を使い分けて測定することで、各種の葉酸化合物の分別定量が可能である。	同時に複数の葉酸化合物の測定が可能である。タンパク等の夾雑物に対する感受性が低く、夾雑物の多い生体試料の測定に対する信頼性が高い。	特定の化合物のみの測定には向かない。
化学発光法 (CLEIA)	特定の葉酸化合物に対する抗体を固相としたものに試料、酵素標識抗体、化学発光基質を加え、その発光量により、試料中に含まれる特定の葉酸化合物について定量することが可能である。抗原抗体反応を利用するため、特異性が高い。	非常に特異性が高い。	特定の葉酸化合物のみ測定する。夾雑物の影響を受けやすい。
高速液体クロマト グラフィー (HPLC)	固相および移動相に相接する二つの相が形成する平衡の場において、各種の化合物を、その両相と相互作用(吸着、分配、イオン交換、分子サイズ)の差によって分離定量する方法である。	種々の葉酸化合物の標準品を極めて高い分離能と精度で定量することが可能である。	複数の化合物が存在する試料の測定ができない。前処理により葉酸化合物が損失する。

ルポリグルタミン酸型であり、小腸粘膜でモノグルタミン酸型となり、吸収される^{11,12)}。血漿や尿中では、モノグルタミン酸型、組織中ではポリグルタミン酸型としてタンパク質と結合した形で機能している。なお、小腸粘膜では、プテリジン環が還元されてテトラヒドロ型となり、さらにメチルテトラヒドロ型となる。還元型葉酸は、細胞内では補酵素として、ヌクレオチド類の生合成やメチル基の生成転換系などに関与している。また、アミノ酸やタンパク質の代謝などにも不可欠である。

葉酸の生理機能としては、正常な造血機能を保つために重要であるばかりでなく、成長や妊娠の維持にも欠かせないビタミンである。このため、欠乏症状としては、造血機能に異常が生じ、巨赤芽球性貧血や神経障害が知られている。最近、多くの疫学調査によって、葉酸が、胎児における神経管閉鎖障害の発症リスクの低減に効果があることが認められている^{13,14)}。妊婦において葉酸が不足すると、出産児に神経管閉鎖障害 (neural tube defects: NTDs) を発症することが報告されている。

最近、葉酸の摂取量が低下すると、血漿ホモシステインの上昇が見られ、動脈硬化症と関連がある血液凝固因子や血管内皮細胞に影響している¹⁵⁾。つまり、高ホモシステイン血症が、脳血管疾患や心疾患のリスクファクターとして注目されている。葉酸はホモシステインからメチオニンの転移に不可欠であるため、葉酸の摂取量が低下すると、血漿ホモシステインの上昇がみられることから、ホモシステインが血管内皮細胞や血液凝固因子に影響していると考えられている¹⁶⁾。このように、葉酸は、神経管閉鎖障害や動脈硬化症のほか、アルツハイマー病やうつ病の発症とも関わっており、生体内での葉酸状態を知ることは、健康の維持および生活習慣病を予防するために重要である^{11,17)}。

葉酸測定法としては、様々な方法がある。臨床検査においては、一般的に微生物学的定量法 (Bioassay) や化学発光酵素免疫測定法 (Chemiluminescent Enzyme Immunoassay, CLEIA: 化学発光法) が用いられている。しかし、これら測定法による基準値 (正常値) や測定結果は必ずしも一致していない。そこで、本研究では、微生物学的定量法と化学発光法によって測定し

たヒト血清葉酸量について比較検討した。

II. 方法

1. 被験者および測定試料

健康な女子学生58名を被験者とした。年齢は、中央値22.0歳、範囲19-26歳であった。空腹時に被験者から採血した後、血清を分離し、これを測定試料とした。

なお、対象者には、あらかじめ本研究の趣旨を説明し、協力を依頼し、文書で同意を得た。本研究は、東邦大学医学部の倫理委員会で承認を受け、ヘルシンキ宣言 (1964年) (2000年修正) 「ヒトを対象とした医学研究の倫理的原則」に則って実施した。

2. 葉酸の測定

1) 微生物学的定量法

微生物学的定量には、2種の乳酸菌 *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 27773 (*L. casei*) および *Streptococcus faecalis* ATCC 8043 (*S. faecalis*) を定量菌として、使用した。*L. casei* は、プテロイル葉酸 (PteGlu) およびメチルテトラヒドロ葉酸 (5-CH₃-H₄PteGlu) など全ての葉酸化合物に対して活性を持っている。一方、*S. faecalis* はメチルテトラヒドロ葉酸に対して活性を持っていない。このため、両者の定量菌の特徴を利用し、総葉酸およびメチルテトラヒドロ葉酸の定量を行うことが可能である^{14,15)}。メチルテトラヒドロ葉酸量は、*L. casei* による総葉酸量と *S. faecalis* による非メチルテトラヒドロ葉酸量との差から、算出した。

葉酸測定の手順は、下記のとおりである。概略すると、まず定量菌をMRS培地に接種し、37℃、24時間培養し、菌体を滅菌生理食塩水で洗浄した。*S. faecalis* は10倍に希釈し、20 μl/mlの割合で葉酸定量用培地に懸濁した。*L. casei* は500倍に希釈し、100 μl/mlの割合で葉酸定量用培地に懸濁した。それぞれの培地を96穴マイクロプレートに200 μlずつ分注した。14.0 mgのプテロイル葉酸を0.1M水酸化ナトリウム 2.8 mlにより溶解後、超純水で100 mlに定容量したものを標準液とした。この標準液を0.5%アスコルビン酸ナトリウム溶液で0.5 ng/mlに希釈し、プレートに (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 μl) 添加した。

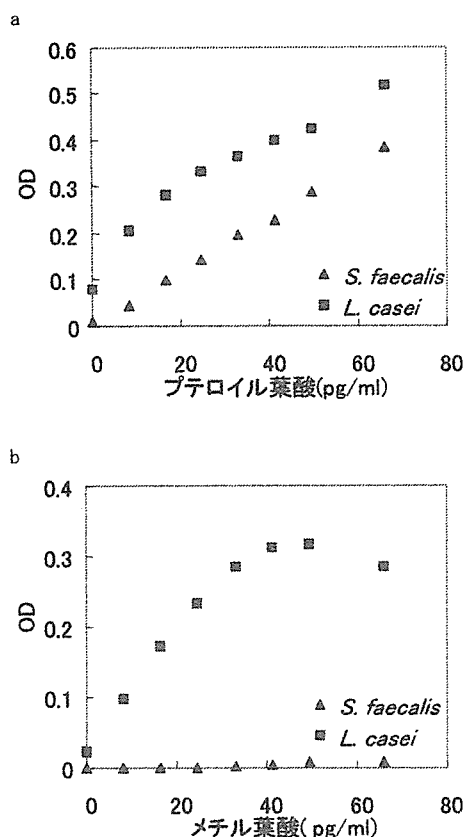


図1 定量菌*L. casei*および*S. faecalis*の成長曲線
a. プテロイル葉酸に対する活性
b. メチル葉酸に対する活性

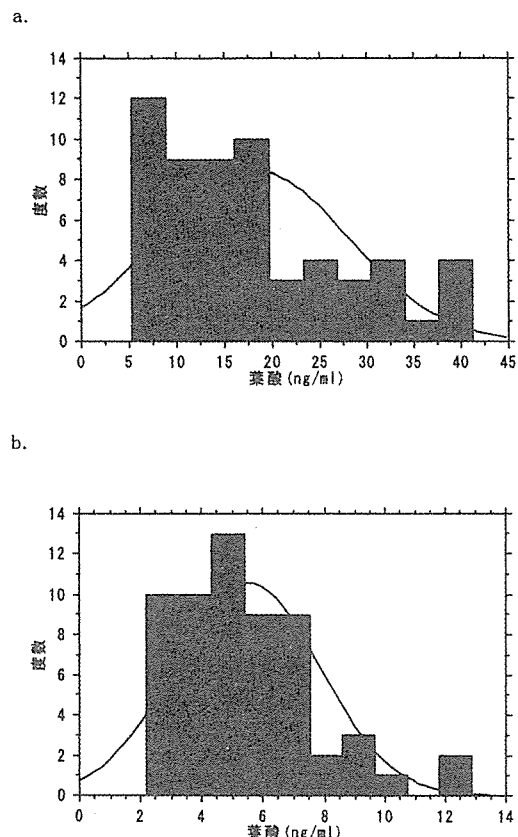


図2 成人女性における血清葉酸量の分布
a.微生物学的定量法
b.化学発光法

測定試料は、0.5%アスコルビン酸ナトリウム溶液で希釈し、フィルター（孔径 $0.45\mu\text{m}$ ）により不純物を取り除き、 $50\mu\text{l}$ ずつ添加し、 37°C 、*S. faecalis*では24時間、*L. casei*では72時間培養した。その後、それぞれの定量菌の検量線から試料中の葉酸量を測定した。

2) 化学発光法

葉酸化合物は、葉酸測定キット (LKF01) (株)三菱化学ヤトロン社、東京) を用いて、イムライズ (株)三菱化学ヤトロン社、東京) で測定を行った。本法は、サンプル中の葉酸およびリガンド結合抗原 (プテロイル葉酸) を、競合的に葉酸結合タンパクおよびビーズの固相化抗体と反応させると、固相化抗体-葉酸競合タンパク-葉酸複合体や固相化抗体-葉酸競合タンパク-リガンド結合抗原複合体を形成する。これに、

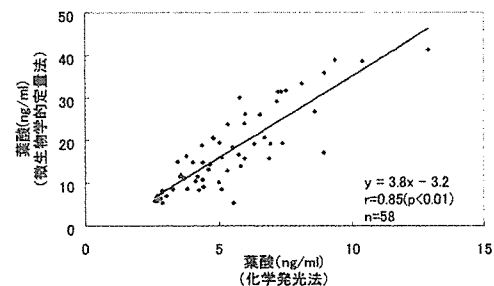


図3 微生物学的定量法と化学発光法によるヒト血清葉酸量の関連

ALP標識抗リガンドを加えると、固相化抗体-葉酸結合タンパク-リガンド結合抗原-ALP標識抗リガンド複合体を形成する。洗浄後に発光試薬PPDを加えると、複合体の酵素により加水分解され、発光する。この発光量を測定し、検体中の葉酸濃度を求めることができる。