

長崎県は南北に長く、島嶼や半島の多い変化に富んだ地形をしている。長崎県では、温暖な気候とこのような地形を活かした農業が営まれており、一次産業が県の基幹産業である。しかし、農業従事者の高齢化や後継者不足など長崎県の農業には多くの課題がある。

離島では若者の島外への流出などから過疎化が進み、島を取り巻く環境は厳しさを増しており、島の活性化に向けた取り組みの重要性が指摘されている。対馬では豊かな自然の中で、対馬固有の「対州そば」が栽培されている。対州そばは縄文時代後期に中国から朝鮮半島を経由して伝わったもので、国内で生産されている一般的なそばよりも実は小さく、収穫量は少ない。対州そばの実から製麺された対州蕎麦は一般に流通している蕎麦と比較して風味とコシが強いのが特徴である。そばの実にはルチンが含まれているが、茎や葉には実よりも多くのルチンが含まれている。ルチンは抗酸化作用、抗炎症作用および血流改善作用を有することが報告されている。しかし、対州そばの茎や葉はほとんど利用されていない。ルチンを含むそば茎葉の機能性を明らかにすることは対州そばの茎や葉を機能性食品素材として利用できる可能性を高め、対馬の農業振興の一助になることが期待される。

「ゆめのか」は長崎県全域のイチゴ農家において近年品種更新が行われている新品種のイチゴであり、大果で糖度と酸度が共に高いことで味が良く、果肉が多汁質で、果皮はある程度の硬さがあることから流通適性が高い品種である。また、草勢が良く病気に強いなど栽培が容易であり多収品種であるため、年間収穫量が従来品種「さちのか」の倍以上である。そのため、本県では近年、従来の主要品種であったさちのかからゆめのかへの積極的な品種更新が行われている。長崎県農林技術開発センターは、ゆめのかに抗酸化作用、糖質や脂質の吸収抑制作用および血圧上昇抑制作用を有するポリフェノールをはじめとした成分を数種類含むことを明らかにしている。しかし、ゆめのか摂取が生体に及ぼす効果に関してはほとんど知られていない。

本年度の研究では、長崎県の農業振興に寄与することを目的として、対州そば葉とゆめのかの機能性を明らかにして機能性食品を開発するための基礎的資料を得ることを目的として、対州そばとゆめのか摂取がラットの脂質代謝に及ぼす影響を検討した。

#### **【実験 1】対州そば粉末が標準食摂取ラットの脂質代謝に及ぼす影響**

ラットの飼料は AIN-93G 組成に基づく純化食をコントロール食とした。コントロール食の  $\beta$ -コーンスターチを 2014 年に収穫された対州そば葉の乾燥粉末あるいは 2015 年に収穫された対州そば葉の乾燥粉末 2% で置き換えた飼料を対州そば葉添加食とした。

5 週齢の SD 系雄ラットに、コントロール食、2014 年産対州そば葉添加食あるいは 2015 年産対州そば葉添加食および蒸留水を 4 週間自由摂取させた。

2014 年産と 2015 年産の対州そば葉の脂質代謝に及ぼす効果にほとんど差がなかったことから、本報告では 2014 年産の対州そば葉の結果について記載する。対州そば葉を 2% 添加した食餌はラットの血清トリグリセリド濃度を有意に低下させた。また、肝臓のトリグリセリド濃度およびコレステロール濃度を有意に低下させた。

#### 血清脂質およびグルコース濃度

	コントロール	対州そば
トリグリセリド (mg/dL)	204 ± 20	120 ± 26*
コレステロール (mg/dL)	79.2 ± 10.3	82.4 ± 13.4
リン脂質 (mg/dL)	147 ± 17	150 ± 23
グルコース (mg/dL)	121 ± 9	117 ± 19

平均値±標準誤差 (n = 6 - 7)

\*, コントロール群に対して有意差あり (p < 0.05)

#### 肝臓脂質濃度

	コントロール	対州そば
トリグリセリド (mg/g 肝臓)	33.1 ± 3	21.6 ± 1.9*
コレステロール (mg/g 肝臓)	1.95 ± 0.15	1.48 ± 0.07*
リン脂質 (mg/g 肝臓)	13.3 ± 2.7	11.3 ± 1.1

平均値±標準誤差 (n = 6)

\*, コントロール群に対して有意差あり (p < 0.05)

#### 【実験 2】 対州そば粉末が高脂肪食摂取ラットの脂質濃度に及ぼす影響

ラットの飼料については、AIN-93G 組成をもとに、大豆油を 1% とし、ラード 14%、フラクトース 20% およびコレステロール 0.2% を添加し、β-コーンスターチで調節した高脂肪食をコントロール食とした。コントロール食に、対州そば葉の乾燥粉末を食餌総重量の 2% あるいは 5% 添加した飼料をそれぞれ対州そば葉 2% 食および 5% 食とした。5 週齢の SD 系雄ラットに各試験食および蒸留水を 4 週間自由摂取させた。

対州そば葉摂取は、高脂肪食において肝臓のコレステロール濃度を低下させる傾向を示したが、その他の血清と肝臓脂質濃度に影響しなかった。肝臓の FAS 活性は対州そば葉摂取で低い傾向であった。対州そば葉は糞中への脂肪酸排泄を促進させた。また、2% 対州そば葉は糞の排泄量を増加させ、5% 食ではさらに増加させた。対州そば葉 2% および 5% 添加により糞中への酸性ステロイドおよび総ステロイド排泄量が増加した。

肝臓脂質濃度

	コントロール	対州そば2%	対州そば5%
トリグリセリド (mg/g 肝臓)	31.9 ± 3.1	32.6 ± 5.8	29.3 ± 4.6
コレステロール (mg/g 肝臓)	17.8 ± 2.3	16.4 ± 0.8	11.8 ± 1.4
リン脂質 (mg/g 肝臓)	16.5 ± 0.6	17.1 ± 0.4	15.6 ± 1.2

平均値±標準誤差 (n = 6)

肝臓における脂肪酸合成系酵素および脂肪酸β酸化系酵素活性

	コントロール	対州そば2%	対州そば5%
脂肪酸合成酵素活性 (nmol/min/mg protein)			
脂肪酸合成酵素 (FAS)	6.54 ± 1.49	5.61 ± 1.01	5.51 ± 1.25
マリックエンザイム (ME)	26.7 ± 2.8	25.7 ± 2.1	25.2 ± 1.7
グルコース6-リン酸デヒドロゲナーゼ	9.69 ± 0.47	8.44 ± 0.74	11.1 ± 1.6
ホスファチジン酸ホスホヒドラーゼ	7.64 ± 3.06	4.58 ± 1.17	5.19 ± 1.72
脂肪酸酸化酵素活性 (nmol/min/mg protein)			
カルニチンパルミトイルトラnsフェリトランスフェラーゼ	3.03 ± 0.38	3.10 ± 0.34	3.47 ± 0.56

平均値±標準誤差 (n = 6 - 7)

糞重量、糞中脂肪酸、中性、酸性および総ステロイド排泄量

	コントロール	対州そば2%	対州そば5%
糞重量 (g/日)	1.60 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.19 ± 0.06 <sup>b</sup>	2.44 ± 0.07 <sup>c</sup>
脂肪酸排泄量 (mg/日)	101 ± 8 <sup>a</sup>	157 ± 7 <sup>b</sup>	154 ± 15 <sup>b</sup>
中性ステロイド排泄量 (mg/日)	16.0 ± 3.1	15.1 ± 0.7	17.0 ± 1.6
酸性ステロイド排泄量 (mg/日)	19.6 ± 2.2 <sup>a</sup>	34.2 ± 3.2 <sup>b</sup>	36.2 ± 2 <sup>b</sup>
総ステロイド排泄量 (mg/日)	35.6 ± 3.3 <sup>a</sup>	49.3 ± 3.2 <sup>b</sup>	53.3 ± 2.5 <sup>b</sup>

平均値±標準誤差 (n = 6)

ab ; 異なる文字間で有意差あり (p < 0.05)

対州そば葉を2%含む標準食摂取は摂食量、体重、肝臓重量に影響しなかったが、血清トリグリセリド濃度および肝臓のトリグリセリド濃度を低下させた。本実験で用いた対州そば葉にはルチンが約4,481mg/100g含まれていたが、ラットにルチンを摂取させると肝臓機能が改善することが示されている。また、対州そば葉はクロロゲン酸などのポリフェノールを含んでいる。クロロゲン酸を含む飼料を摂取したラットで血清および肝臓トリグリセリド濃度の低下が観察され、その低下はFAS活性の低下による脂肪酸合成の抑制によって引き起こされることが示されている。また、クロロゲン酸の継続摂取により、肝臓でのACC2の遺伝子発現、ACC活性が低減し、マロニルCoAが減少することでCPT-1活性が高まり脂肪酸のβ酸化が亢進することが報告されている。本実験では肝臓CPT活性に対州そば葉摂取による影響は見られなかったが、肝臓のFAS活性は低下していることから、対州そば葉に含まれるルチンやクロロゲン酸によって肝臓の脂肪酸合成が抑制されたことにより血清および肝臓トリグリセリド濃度が低下したと推察される。

ソバ葉を含む高脂肪食摂取で糞中への脂肪酸排泄が増加した。そば葉は不溶性食物繊維を約40%含んでおり、不溶性食物繊維は糞中への脂肪酸排泄を促進することにより

脂質代謝改善作用を発揮することが報告されている。高脂肪食における糞中への脂肪酸排泄の促進はソバ葉に含まれる不溶性食物繊維によるものである可能性がある。したがって、対州そば葉の肝臓トリグリセリド濃度の低下はソバ葉に含まれるルチンやクロロゲン酸などのポリフェノールによる肝臓の脂肪合成の抑制、不溶性食物繊維による糞中への脂肪酸排泄増加によるものである可能性が示唆された。

対州そば葉を添加した食餌では、標準食および高脂肪食の両方で肝臓コレステロール濃度が低下した。また、対州そば葉の摂取により糞中への酸性および総ステロイド排泄量が増加した。対州そば葉には約 50%の食物繊維が含まれている。水溶性食物繊維あるいは不溶性食物繊維が降コレステロール作用を引き起こし、その作用は消化管内でステロイドと結合し糞中へのステロイド排泄促進によるものであることが報告されている。また、ルチンは HMG-CoA レダクターゼ活性を低下させることでコレステロール濃度を低下させることが観察されている。対州そば葉の肝臓コレステロール濃度低下作用は対州そば葉に含まれる食物繊維の糞中による酸性ステロイド排泄促進とルチンによる肝臓でのコレステロール合成低下により引き起こされたと推察される。

### 【実験 3】「ゆめのか」イチゴがラットの脂質代謝に及ぼす影響

本研究では、新品種の「ゆめのか」と従来品種の「さちのか」を試料として用いた。ゆめのかはさちのかよりもたんぱく質、脂質が低かったが、両方とも炭水化物が 70%以上であり、その他の成分組成に大きな違いは見られなかった。

#### ゆめのかおよびさちのかの成分組成 (g/100g)

	ゆめのか	さちのか
たんぱく質	3.33	4.37
炭水化物	70.7	70.2
脂質	1.35	2.13
水分	21.5	20.2
灰分	3.08	3.07

ゆめのかおよびさちのかにはアントシアニン、エラグ酸およびクロロゲン酸などのポリフェノールが含まれており、さちのかの総ポリフェノール量はゆめのかよりも約 20% 多かった。ゆめのかは抗酸化能、糖や脂肪の吸収抑制作用および血圧上昇抑制作用を有する可能性が *in vitro* において観察されている。

凍結乾燥したゆめのかとさちのかのビタミンC  
およびポリフェノール含量(mg/100g)

	ゆめのか	さちのか
ビタミンC	47.4	55.4
ポリフェノール類		
エラグ酸	632.4	860.9
クロロゲン酸	192.2	243.8
総アントシアニン量	10.8	19.8
総ポリフェノール量 <sup>x</sup>	192.2	243.8

凍結乾燥試料(10果以上をまとめて均一化したもの)  
で評価した。

<sup>x</sup>クロロゲン酸換算値。

ラットの飼料はAIN-93G 組成に基づく純化食をコントロール食とした。コントロール食のスクロースを重量代替とし、イチゴ「ゆめのか」凍結乾燥粉末あるいはイチゴ「さちのか」凍結乾燥粉末をそれぞれ3%添加したものを試験食とした。これら飼料をSD系雄ラットに3週間自由摂食させた。

血清トリグリセリド濃度、血清コレステロール濃度、遊離脂肪酸濃度およびインスリン濃度にゆめのかおよびさちのかは影響しなかった。肝臓トリグリセリド濃度はさちのかにおいて低下する傾向を示した。肝臓コレステロール濃度はさちのかを摂取したラットで、コントロール食あるいはゆめのかを摂取したラットより低い値であった。肝臓のME活性はゆめのかでさちのかより低かった。糞重量および糞中への脂肪酸排泄量は夢のか摂取でコントロール食やさちのか食摂取より高い傾向であった。

ラットの肝臓脂質濃度(mg/g 肝臓)

	コントロール	ゆめのか	さちのか
トリグリセリド	24.3 ± 4.2	20.5 ± 3.2	13.7 ± 2.3
コレステロール	5.79 ± 0.48 <sup>b</sup>	4.78 ± 0.34 <sup>b</sup>	3.39 ± 0.16 <sup>a</sup>

平均値 ± 標準誤差 (n = 8-9)

a, b: 異なる文字間で有意差あり (p < 0.05)

ラットの肝臓における脂肪合成酵素活性および脂肪酸酸化酵素活性 (nmol/min/mg protein)

	コントロール	ゆめのか	さちのか
脂肪合成酵素活性			
ファッティアシッドシンターゼ (FAS)	4.04 ± 0.72	7.04 ± 2.09	4.57 ± 0.63
マリックエンザイム (ME)	17.0 ± 0.7 <sup>ab</sup>	14.9 ± 1.2 <sup>a</sup>	19.4 ± 1.6 <sup>b</sup>
グルコース6-リン酸デヒドロゲナーゼ (G6PDH)	16.9 ± 3.1	13.8 ± 1.3	15.5 ± 1.7
ホスファチジン酸ホスホヒドロラーゼ (PAP)	19.5 ± 1.4	20.2 ± 1.1	16.9 ± 1.9
脂肪酸酸化酵素活性			
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT)	5.33 ± 0.63	4.67 ± 0.75	5.17 ± 1.00

平均値 ± 標準誤差 (n = 8-9)

a, b: 異なる文字間で有意差あり (p < 0.05)

**糞重量、糞中脂肪酸、中性ステロイド、酸性ステロイド  
 □□□□および総ステロイド排泄量**

	コントロール	ゆめのか	さちのか
糞重量 (g/日)	1.86 ± 0.09	2.13 ± 0.09	2.05 ± 0.10
脂肪酸排泄量(mg/日)	49.5 ± 5.7	60.2 ± 6.5	52.4 ± 5.8
中性ステロイド排泄量(mg/日)	4.17 ± 0.44	5.51 ± 0.70	4.07 ± 0.36
平均値□±□標準誤差 (n = 8-9)			

腸間膜周辺脂肪重量および肝臓サイトソル画分の ME 活性はゆめのか摂取で低かったことから、ゆめのかはラット生体内で脂肪の合成を抑制することで脂肪の蓄積を低下させる可能性がある。ゆめのか摂取で糞重量および糞への脂肪酸排泄が亢進していたことから、ゆめのかの有する腓りパーゼ活性抑制作用が脂肪の消化を阻害し、吸収を低下させ、糞への排泄を促進させることで内臓脂肪蓄積抑制作用に一部寄与したと考えられる。肝臓コレステロール濃度はさちのか摂取で低下した。高フルクトース食にポリフェノールを多く含有するイチゴの搾りかすあるいはポリフェノールを含まないイチゴの搾りかすをラットに摂取させると、ポリフェノールを多く含む絞りがす摂取ラットで肝臓のコレステロール濃度が低下することが報告されている。このことから、さちのかによる肝臓コレステロール濃度の低下は、さちのかに含まれるポリフェノールにより誘導されたと考えられる。しかし、ゆめのかでそのような作用が観察されなかったのは、さちのかに比べて総ポリフェノール量が少ないことが一因であると推察される。通常イチゴは 10 種類程度のポリフェノールを含むが、本実験で用いたイチゴのポリフェノールはクロロゲン酸、エラグ酸の 3 種類を主成分とし、ゆめのかはさちのかよりもそれぞれ 21%、27% 少なかった。いずれの成分も脂質代謝改善作用や抗酸化作用などを有することが報告されており、今回観察された低下作用はこれら 3 種類により発揮されたと考えられる。また、搾りかすあるいはポリフェノールを除去した搾りかすを普通食に添加してラットに摂食させた場合、高フルクトース食ほどの効果が観察されないことが報告されている。ポリフェノール添加による脂質代謝への影響は、普通食よりも高フルクトース食や高脂肪食などの食餌組成の場合に顕著であると考えられる。肥満者がイチゴ粉末を 3 週間摂取した実験において、血中 LDL コレステロールの平均粒径の増加、小粒径の LDL コレステロールおよび HDL コレステロールの減少、炎症マーカー TNF- $\alpha$  のわずかな低下が観察されたことから、酸化を受けやすい小粒径 LDL コレステロールから酸化 LDL コレステロールの生成が抑制され、マクロファージの貪食による炎症マーカーの分泌が減少し、結果として動脈硬化や脳卒中および糖尿病の危険因子の低下につながったことが示唆されている。今回の実験では血中炎症マーカー TNF- $\alpha$  やインターロイキン等の測定はしていないが、ゆめのかやさちのかでも類似した効果が発現するかもしれない。

本研究では、ゆめのかの脂質代謝に及ぼす影響がさちのかよりやや弱い傾向にあることが観察された。しかし、ゆめのかは内臓脂肪を低下させることが観察された。本研究ではゆめのか摂取による内臓脂肪量減少は腸管内での脂肪の吸収抑制、体外への排泄促進により誘導されたと推察される。今後ゆめのかの機能性成分の同定および作用機序の解明を行う必要がある。

本年度の結果から、これまで機能性についてまったく知られていなかった対州そば葉に脂質代謝改善作用のあることが明らかになったことで、そば葉を利用して生産することができる青汁をはじめとする機能性食品を開発できる可能性が示された。また、ゆめのかについてはある程度の機能性が期待できることから、長崎県から発信できる機能性食品の開発への取り組みの道筋ができたと考えられる。