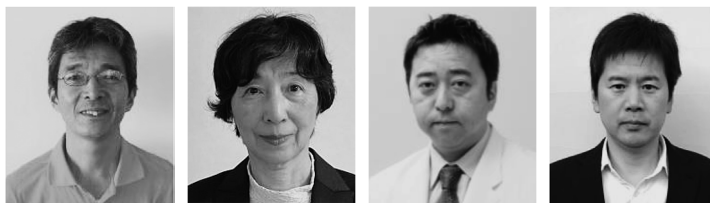


河内晩柑の機能性を活かし中高年者の 認知機能維持に貢献する果汁飲料の開発



① 株式会社えひめ飲料総合戦略部 首 藤 正 彦
 ② 松山大学薬学部 古 川 美 子
 ③ 愛媛大学医学部附属病院 伊賀瀬 道 也
 ④ 愛媛県経済労働部 福 田 直 大

はじめに

愛媛県特産柑橘“河内晩柑”の果皮には他の柑橘に比べて機能性成分オーラプテン (auraptene; AUR) が特異的に多量に含まれ、脳保護効果を示す。愛媛県の産官学は共同で、河内晩柑の特性を活かした“AUR高含有河内晩柑果汁飲料”を創出した。この果汁飲料を摂取した中高年者では認知機能の一部である記憶力の維持が認められ、機能性表示食品「POMアシタノカラダ河内晩柑ジュース」として販売開始に至った。

1. 研究のきっかけ

1-1. 河内晩柑とは

河内晩柑は、初夏から夏に旬を迎える中晩柑類である。文旦の仲間であり、外観はグレープフルーツに似ていることから“和製グレープフルーツ”とも呼ばれるが、グレープフルーツのような苦みは少なくさっぱりとした甘みが楽しめる。河内晩柑は愛媛県において温州みかん等からの転換が図られている基幹品種の一つで、生産量は熊本県を引き離して第1位である。

1-2. 河内晩柑果皮の機能性成分

松山大学薬学部では、河内晩柑果皮には種々の機能性成分が含まれること、特にAUR含量は他の柑橘に比べて特異的に高いことを明らかにした¹⁾。AURはクマリン類の一種で、抗腫瘍作用、抗炎症作用などを有することが報告されていた。

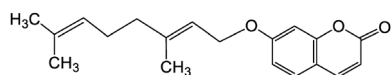


図1. オーラプテンの構造

松山大学では“脳に作用する柑橘成分を検索する”過程で、①腹腔内投与したAURは代謝されずに脳組織に移行すること²⁾、②AURは、これまで報告されていた末梢組織のみならず、脳においても炎症反応を抑制し脳保護効果を示すことを見出した²⁻⁴⁾。近年、体内で長期間くすぶり続ける「慢性炎症」が認知症等多くの疾患に共通する基盤病態のひとつと考えられており、AURを摂取し脳内炎症作用を抑制すれば、認知症の予防・進行抑制が期待できる可能性が示唆された。

2. AUR高含有河内晩柑果汁飲料の創生

果皮中AUR含量が高い河内晩柑では、搾汁過程でAURが果皮から果汁に移行する^{4,5)}。認知症予防には日々の食事が重要であることは疫学調査からも示されており、河内晩柑果汁を摂取すれば毎日の食生活に認知症予防を取り入れられるのではないかと。そこで、2013年より愛媛県内産官学が協力し、河内晩柑の機能性を活かした新しい機能性食品創生に着手した。2014～2016年には愛媛県戦略的試験研究プロジェクトに採択され、

1日1パック(125 mL)の摂取で認知機能の維持が図れるような河内晩柑果汁の開発に取り組むこととなった。

2-1. 製造方法の開発

河内晩柑果汁には果皮から移行したAURが含まれるが、その量は充分ではない^{4,5)}。愛媛県産業技術研究所食品産業技術センター及び(株)えひめ飲料において搾汁法及び果汁処理法が河内晩柑の果汁中AUR濃度に及ぼす影響を調べた結果(表1)は、①インライン搾汁のフィニッシャー果汁を用いるのが最適であるものの、②認知機能維持が期待できるAUR濃度とするためには、搾汁加工法を工夫するだけでは十分でなく、果皮を利用する必要があることを示した。

表1. AUR濃度に及ぼす搾汁方法の影響

搾汁方法	インライン搾汁		ベルト搾汁
果汁処理法	フィニッシャー果汁	遠心果汁	フィニッシャー果汁
AUR濃度	27 mg/L	14 mg/L	50 mg/L
搾汁率	54%		35%

果皮を利用する上での問題点は、①硬い果皮を細かく砕くのが難しい点、②粗い果皮は舌触りが悪い点、③果皮にはナリンギン等の苦味物質が多く含まれ、ブレンドした果汁は苦くて飲めない点であった。これらの問題は、①非常に細かなめらかな果皮ペーストを製造するためにコミトロールを用いて微細化処理を行う、②脱苦味処理として効率の良い熱水処理及び水晒しを行うことで解決できた。作出したAUR高含有河内晩柑果汁飲料は、舌触りやのど越しが格段に改善され、河内晩柑特有の爽やかで心地よい苦味を有し、従来の河内晩柑とは一味違う味わいを楽しむことができるものとなった。最終的に、ホモジナイザーによる均質化処理、脱気、濾過、除塵、殺菌、冷却を行った後、125 mLの白無地紙容器に無菌充填し(6 mg AUR/125 mLパック)⁶⁾、試験飲料とした。

本飲料の安定性は、5℃または25℃で6カ月保管しても機能性成分の減少がほぼないことが確認できた。

2-2. 病態モデル動物を用いた有効性の確認

脳虚血/虚血後再灌流は炎症や酸化ストレスを誘発して遅発性の細胞死を起こし、特に海馬(記憶や学習を司る脳部位)のニューロンに影響を及ぼすことが知られている。そこで、本飲料の有効性は、松山大学薬学部において全脳虚血モデルマウスを用いて解析した。経口投与に供する試料は、本飲料の凍結乾燥粉末を水に懸濁し調製した。経口投与は、脳虚血手術5日前から手術3日後までの8日間、1日1回、胃ゾンデを用いて行っ

た (2.5 g/kg 体重/日). 対照群 (偽手術群および虚血手術群) には水を投与した. 実験期間終了後直ちに脳を摘出して脳切片を作製し, 組織染色に供した結果, ミクログリア及びアストロサイト (脳において炎症反応を担当する細胞) の過剰反応が抑制され, 虚血手術により顕著に (***) 誘発されるニューロン死が, 本飲料投与により (虚血手術+果汁群) 有意に (### p < 0.001) 抑制されることが明らかになった (図2). このことより, 本飲料は期待通り脳における炎症反応を抑制し, 脳保護効果を示すことが明らかになった⁷⁾.

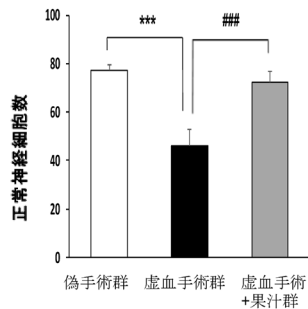


図2. 全脳虚血モデルマウスを用いた果汁飲料の機能性評価
海馬CA1領域における健常なニューロンをニッスル染色法により染色し, 計測した.

本飲料の安全性は, 受託研究機関において (マウスを用いた単回投与毒性試験及び28日間反復投与毒性試験, 細菌を用いた復帰突然変異試験), 及び愛媛県衛生環境研究所において (薬物相互作用及び残留農薬による影響), 確認した.

3. AUR 高含有河内晩柑果汁飲料のヒト介入臨床試験

ヒト介入臨床試験は, 愛媛大学医学部附属病院抗加齢・予防医療センターにおいて二重盲検法により実施した. 被験者は抗加齢ドッグ受診者で明らかな認知症がない82名 (男性27名/女性55名, 平均年齢71±9歳) である. 被験者は2群に分け, 一方には試験飲料 (6 mg AUR/125 mL パック) を, 他方には対照飲料 (0.1 mg AUR/125 mL パック) を, 6ヵ月にわたり1日1回飲んでいただき, 飲用期間の前後で認知機能検査を実施した. 用いた認知機能検査は, 軽度認知障害スクリーニングテスト (MCI screen) で使われる「10単語想起テスト」である. 「認知機能スコア」は答えられた数とし, 10単語想起テストを3回繰り返すため満点は30点である. 表2に認知機能スコアとスコア変化率を示すが, 認知機能スコア変化率は, 試験飲料摂取群はプラス6.3, 対照飲料摂取群はマイナス2.4となり, 両者の間に有意な差 (p < 0.05) が認められた. このことから, 本飲料摂取により認知機能スコア低下が抑制されることが明らかになった⁸⁾.

表2. 10単語想起テストスコアとその変化率

	飲用前	飲用後	変化率 (%)
試験飲料 (n=41)	19.2±4.2	19.9±3.8	6.3±3.0*
対照飲料 (n=41)	19.5±3.4	18.9±3.4	-2.4±2.3



以上の知見をもとに, 河内晩柑果皮入り果汁飲料が認知機能の維持に有効であるとして2018年5月に機能性表示食品の消費者庁届出を行った. 同年9月に届出が受理された (消費者庁届出番号D100) 後, 同年12月に「POM アシタノカラダ河

内晩柑ジュース」として販売を開始した.

おわりに

高齢者の自立を妨げる大きな要因が認知機能の衰えであり, 認知症の発症予防は重要な社会課題である. 認知症の根本的治療法がない現状において, 本飲料は毎日の食生活に中高年者の認知機能 (記憶力) 維持を取り入れることを可能とするものである. 認知機能を高めるサプリメントは種々開発され販売されているが果汁飲料の開発はこれまでになく, 本飲料は, 最終製品で臨床試験を行ったサプリメント形状ではない唯一の「認知機能を維持する食品」である (2020年7月末現在). また, 全国で初めて AUR が機能性表示食品の機能性関与成分として認められた商品であること, 大学の基礎研究の結果から見いだされた商品であることも特徴といえる.

(引用文献)

- 1) Amakura Y., Yoshimura M., Ouchi K., Okuyama S., Furukawa Y., Yoshida T. Characterization of constituents in peel of *Citrus kawachiensis* (Kawachibankan). Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol. 77, p 1977-1980, (2013)
- 2) Okuyama S., Morita M., Kaji M., Amakura Y., Yoshimura M., Shimamoto K., Ookido Y., Nakajima M., Furukawa Y. Auraptene acts as an anti-inflammatory agent in the mouse brain. Molecules, Vol. 20, p 20230-20239, (2015)
- 3) Okuyama S., Minami S., Shimada N., Makihata N., Nakajima M., Furukawa Y. Anti-inflammatory and neuroprotective effect of auraptene, a citrus coumarin, following cerebral global ischemia in mice. Eur. J. Pharmacol., Vol. 699, p 118-123, (2013)
- 4) Okuyama S., Yamamoto K., Mori H., Toyoda N., Yoshimura M., Amakura Y., Yoshida T., Sugawara K., Sudo M., Nakajima M., Furukawa Y. Auraptene in the peels of *Citrus kawachiensis* (Kawachi bankan) ameliorates lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation in the mouse brain. Evid. Based Complement. Altern. Med., Vol. 2014, doi:10.1155/2014/408503 (2014)
- 5) Haramiishi R., Yoshimura M., Okuyama S., Fukuda N., Tamai T., Nakajima M., Furukawa Y., Amakura Y. Effects of production-line squeezing techniques and heat treatment on functional components of *Citrus kawachiensis* (Kawachi bankan) fruits. Food Sci. Technol. Res., Vol. 26, p 809-815, (2019)
- 6) 出願特許「河内晩柑果皮入り飲食品」特願2017-155814 (2017年8月10日出願) 特開2019-33681 (2019年3月7日公開)
- 7) Okuyama S., Katoh M., Kanzaki T., Kotani Y., Amakura Y., Yoshimura M., Fukuda N., Tamai T., Sawamoto A., Nakajima M., Furukawa Y. Auraptene/naringin-rich fruit juice of *Citrus kawachiensis* (Kawachi bankan) prevents ischemia-induced neuronal cell death in mouse brain through anti-inflammatory responses. J. Nutr. Sci. Vitaminol., Vol. 65, p 66-71, (2019)
- 8) Igase M., Okada Y., Ochi M., Igase K., Ochi H., Okuyama S., Furukawa Y., Ohya Y. Auraptene in the peels of *Citrus Kawachiensis* (Kawachibankan) contributes to the preservation of cognitive function: A randomized, placebo-controlled, double-blind study in healthy volunteers. J. Prev. Alz. Dis., Vol. 5, p 197-201, (2018)

謝辞 果汁飲料の開発に携わっていただきました愛媛県 (産業技術研究所食品産業技術センター/農林水産研究所みかん研究所/衛生環境研究所/えひめ産業振興財団), 株式会社えひめ飲料, 松山大学薬学部 (薬理学研究室/生薬学研究室), 愛媛大学 (医学部附属病院抗加齢・予防医療センター/農学部) の多くの共同研究者の方々に深く感謝いたします.