

氏名	小瀬木 一 真
学位の種類	博士 (栄養科学)
学位番号	第4号
学位授与年月日	平成27年3月20日
学位授与の要件	学位課程第3条第2項該当者
学位論文名	プチヴェールに含まれる機能性成分の解析
論文審査委員	主査 教授 池田 彩子 副査 小原 章裕 副査 教授 和泉 秀彦 副査 教授 岸本 満

論文内容の要旨

近年、生活習慣病の増加が大きな社会問題となっており、疾病を予防する観点から、生体調節機能を有する野菜の摂取が重要であると考えられている。そこで本研究では、野菜の中でも栄養価の高いプチヴェールに着目した。プチヴェールは、ケールとメキャベツの交配により生まれた新奇のアブラナ科植物である。栄養価が高く、親野菜であるケールやメキャベツに比べて、食物繊維や鉄などを多く含有している。しかし、プチヴェールの機能性については抗肥満効果の報告が1例あるのみで、その機能性についてはまだ明らかにされていない。さらに、プチヴェールの調理特性について調べられた例はない。プチヴェールは生で食べられることはなく、調理を必要とする。その過程で機能性成分に変化が生じている可能性が考えられる。また、現在までにプチヴェールおよび乾燥粉末プチヴェールを使用した酢、パン、麺などの加工品が販売されているが、これらに関しても、加工の過程において機能性成分に変化が生じている可能性が考えられる。

そこでまず、プチヴェールの成分を解析することを目的として、抗酸化活性、総ポリフェノール量、総ビタミンC量の測定とHPLCによる成分の分離を行い、親野菜および標品と比較した。次に、調理による機能性成分への影響を解析することを目的として、プチヴェールを茹で調理または電子レンジ調理し、抗酸化活性、総ポリフェノール量、総ビタミンC量の測定とHPLCによる成分の分離を行った。さらに、加工による機能性成分への影響を解析することを目的として、プチヴェールの発酵および保温実験と乾燥粉末プチヴェールの分析を行った。最後に、プチヴェールの機能性を解析することを目的として、細胞および動物実験を行い、抗アレルギー作用について評価した。

プチヴェールの成分はケールよりもメキャベツに類似しており、それらの成分の含有量は茹で調理よりも電子レンジ調理で多く、発酵や保温などの加工を加えた場合も維持されていた。さらに、乾燥粉末プチヴェールにも生プチヴェールと同様に抗酸化成分（ポリフェノール化合物）が含まれていた。そのため、プチヴェールや乾燥粉末プチヴェールを利用した加工食品を摂取することは、抗酸化成分の摂取量の増大に繋がる可能性が考えられる。また、プチヴェールは抗アレルギー作用を有する成分を含有している可能性が示唆された。そのため、プチヴェールを摂取することは、アレルギー症状の抑制にも繋がる可能性が考えられる。

論文審査の結果の要旨

プチヴェールは、ケールとメキャベツの交配によって作出されたアブラナ科の緑葉野菜である。静岡県で開発され、現在では本学所在地である日進市を含め全国で栽培されている。生のままだけでなく、加工食品としても流通、販売されている。本論文は、プチヴェールの機能性を明らかにする目的で、抗酸化作用と抗アレルギー作用に焦点を当てて解析したものである。食品成分の機能性に関する研究は多いが、プチヴェールの機能性についての研究例は現在までにほとんどない。このような新種の野菜の機能性を明らかにしようとすることは、人々の健やかな生活の維持に貢献する可能性が期待されるだけでなく、地域産業の振興にも寄与することが期待される点で、評価できる。

以下に本論文の要旨を述べ、次に本学大学院栄養科学研究科博士論文審査指針に基づいた評価を述べる。

1. 要旨

(1) プチヴェールの抗酸化作用に関する研究

プチヴェール抽出液の抗酸化活性について、親野菜であるケール、メキャベツと比較検討した。プチヴェールの水抽出液および70%エタノール抽出液が、*in vitro*におけるラジカル消去活性を示し、その活性はメキャベツの各抽出液と同程度であることが明らかになった。さらに、プチヴェール抽出液の分画、解析に挑戦したが、残念ながら抽出液に含まれる成分の同定には至らなかった。

また、プチヴェールは生食には適さず調理加工を経て食するため、上述の抗酸化活性が調理加工の過程で影響を受けるかどうかについて検討した。電子レンジ加熱後のプチヴェールから得た抽出液の抗酸化活性は、生プチヴェールの抽出液と比べて差がなかったが、ゆで加熱後の抽出液の抗酸化活性は、生に比べて大きく低下することが明らかになった。一般に、ゆで加熱によって食品成分の損失が起こることはよく知られており、その原因は主に加熱による分解と水溶性成分の溶出である。したがって、さらにゆで汁の分析等によって、抗酸化活性低下の要因を解析することも必要であろう。プチヴェールの発酵、一定温度での保蔵、および粉末化による抗酸化活性の変化は認められなかった。このように、さまざまな調理加工条件におけるプチヴェールの抗酸化活性を解析した。プチヴェール自体が新種の野菜であるため、このような報告は他にはない。一方、得られた結果からプチヴェールの調理加工特性を総括的に解釈するためには、比較対象となる他の野菜や食品についてのデータが必要であろう。

(2) プチヴェールのアレルギー抑制作用に関する研究

I型アレルギー反応におけるプチヴェール抽出液の抑制作用について検討した。ラット好塩基性白血球細胞株であるRBL-2H3細胞は、細胞表面に結合したIgEが架橋されることによって脱顆粒が起こり、ヒスタミンなどの活性物質を細胞外に放出する。この反応を利用して、プチヴェールのアレルギー抑制作用を評価した。プチヴェールの水抽出液の2倍希釈液と70%エタノール抽出液の4倍希釈液をRBL-2H3細胞の培地に添加することによって、細胞の脱顆粒が抑制された。さらに、動物個体レベルでのプチヴェールのアレルギー抑制作用を評価した。マウスにおける塩化ピクリル誘導性の耳介の腫れは、プチヴェール抽出液の経口投与によって抑制され、その効果は抗ヒスタミン薬であるシプロヘプタジンと同程度であった。以上の結果から、プチヴェールには何らかのI型アレルギー抑制物質が含まれていることが明らかになった。

2. 評価

本論文は、「プチヴェールの機能性」という一貫したテーマを掲げ、その中で特に抗酸化作用と抗ア

アレルギー作用に焦点を当てて問題追及を行っている（審査指針 1）。現在までに、さまざまな食品の機能性研究が行われているが、新種の野菜であるプチヴェールの機能性はほとんど知られていない。したがって、プチヴェールを研究対象に選んだ点で、本論文には食品機能学分野における新規性が認められる。また、評価項目は抗酸化作用と I 型アレルギー抑制作用とした。酸化ストレスがさまざまな疾患の発症や進行に関与する重要な要因であることは周知の事実である上、I 型アレルギーには近年罹患患者数が増えている花粉症や食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、アナフィラキシーショックなどが含まれるため、これらを評価項目とした本論文は社会的にも有用性が高いと言える（審査指針 2）。

抗酸化作用の解析ではプチヴェールにラジカル消去活性を示す物質が含まれることを初めて明らかにし、アレルギー抑制作用の解析ではプチヴェールに I 型アレルギー抑制物質が含まれることを、培養細胞レベルと動物個体レベルの両面から明らかにした。これらの結果は、栄養科学および食品科学分野における研究水準を踏まえて得られた新たな知見である。さらに、プチヴェールに含まれる機能性成分の発見、同定を試みた。残念ながら成分の同定には至らなかったが、これについても独自の発見を試みた点で評価できる（審査指針 3）。

本論文の不十分な点の一つに、第一章に研究背景から研究目的につながるまでの詳細な記述がほとんどなく、十分な理論構築がなされていない点が挙げられる。博士論文としては参考文献の総数が少なく、この種の研究分野にしては英文の文献が少ない点も気になった。そこで、最終試験における口述試験において、研究背景やその周辺知識、その中で本論文の位置づけ等をかなり詳細に問いただしたところ、説得力のある回答が得られたことから、著者に相応の知識が備わっていることが確認できた（審査指針 4・5）。

抗酸化活性の指標として、*in vitro* における DPPH ラジカル消去活性を用いた。また、細胞系での I 型アレルギー抑制活性の指標として、アレルギー抑制物質のスクリーニングに広く利用されている RBL-2H3 細胞の脱顆粒反応を用い、マウス個体での I 型アレルギー抑制活性の指標として、アトピー性皮膚炎誘発剤による耳介の腫れを用いた。いずれも一般によく用いられる実験方法であり、本研究課題を明らかにするために適した方法である。また、マウスを用いたアレルギー抑制作用の解析は、本学学長の承認を得た上で本学動物実験規定を遵守して行っており、動物実験を適切に行うための知識も習得している（審査指針 6）。

本論文は、6つの章と参考文献、謝辞から構成されている。前述のように、第一章において研究背景から目的に至る部分の理論構築が弱い点、目次・章立て、結論の示し方、参考文献等から判断して、おおむね博士論文としての体裁は整っている（審査指針 7）。

以上のように、本論文は、新種の野菜であるプチヴェールの抗酸化作用とアレルギー抑制作用を明らかにした点で、食品機能学分野に貢献するものである。一方、抗酸化活性や I 型アレルギー抑制活性の活性成分が同定されていない点、抗酸化作用とアレルギー抑制作用の作用機序について掘り下げられていない点、他の食品成分との比較がないため生理活性を客観的に評価しにくい点など、結論を曖昧な印象にさせる要因があることは否定できない。しかし、これらの点によって本論文の主旨が変わるわけではない。これらの点については、今後の研究成果に期待したい。なお、本論文のうち、抗酸化作用に関する内容は、日本調理科学会誌に掲載された。

以上を総括し、本審査委員会は、全員一致で本論文を博士学位論文として合格であると判断した。