分析化学総説

食品成分の生体調節機能—複合機能体の分析化学的評価

松井 利郎^{®*}, 松本 清^{*}

Physiological functions of food components — Analytical evaluation of complex functional food matrices (Review)

Toshiro MATSUI and Kiyoshi MATSUMOTO^{*}

^{*}Department of Bioscience and Biotechnology, Division of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Graduate School, Kyushu University, 6-10-1, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581

(Received 16 February)

The development of an analytical evaluation of the physiological function of food components is reviewed. *In vitro* and/or *in vivo* evaluation methods of the prophylaxes in hypertensive and diabetic diseases by food components are extensively discussed. Other food functionalities used to maintain homeostasis are also discussed.

Keywords : physiologically functional food; hypertension; diabetes.

1 はじめに

厚生省が約 40 年間にわたって使用してきた成人病の呼称が平成 8 年に「生活習慣病」と名称変更された。これは、がん、心臓病、糖尿病などの疾病が生活習慣と密接に関係していること、言い換えると普段の生活体系（食生活、運動、休養など）の変化がそれら疾病と大きくかかわっていることを示している。したがって、一次予防（健康維持）には生活習慣の改善と個人の自覚が必要不可欠となる。特に、高血圧症、糖尿病の発症並びに進行は現代人の食生活と密接な関係にあることから、第一の治療法として非薬物療法（食生活の改善）が施される。しかし、疾病者の QOL (quality of life) を考慮すると、非薬事療法といえども食事内容の制限が主体となることから、十分な食事療法とは言いにくい。医学的側面から見たこれら疾病の治療は、重篤化した症例に対して対処療法・薬物療法による内科的処置が通例である。それに対して、非薬物療法としては食生活の改善指導が主体となっている。

我々が日々摂取する食品には栄養素の供給という大きな役割がある。更に、そのし（嗜）好を促す上で官能性（色・味・香り・感触）も重要である。前者の機能は食品の一次

機能と呼ばれ、後者は二次機能と呼ばれている。1987 年藤巻らは、人間が生きていく上で必須となるこれら食品機能に加えて、食品には生体調節機能も潜在的に携えているのではとの学説を提唱し、これを契機に国家的プロジェクトとして食品の第三の機能（生体調節機能）についての究明がなされてきた。いわゆる「医食同源」を源流にして、生理機能を学術的に証明し、更にはその成果による機能性食品を予防医学的見地から推し進める政策が我が国（厚生省）の潮流となっている。このような食品は「特定保健用食品」として種別化され、現在では 167 品目（1999 年 11 月）がその認可を受けている。品目の詳細についてはインターネット (<http://health-station.com/tokuho.htm>) で開示されている。いずれにせよ、我が国の機能性食品研究は世界に先駆けた学問分野であり、欧米諸国と比べて 10 年以上は“先進国”である。このことは本稿での関連文献が国内研究者中心となっていることから容易に推察される。

そこで、本稿では我が国の機能性食品研究の成果と現状について、生理活性成分のスクリーニング法及び活性評価法をメインに論述したい。また、疾病に関しては国民病とも言われている高血圧症（約 750 万人）、糖尿病（予備軍を合わせると 1370 万人、厚生省糖尿病実態調査報告書（平成 10 年 3 月）より）を中心に論述するとともに、食

^{*} 九州大学大学院生物資源環境科学研究科生物機能科学専攻：812-8581 福岡県福岡市東区箱崎 6-10-1

Fig. 1 Circulatory and localised renin-angiotensin systems

X: Leu or Val

品の持つ生体防御機能（特に、抗酸化性；老化防止）についても述べる。

2 高血圧予防

2.1 成因と対策

人間をはじめとするすべての生命体にとって血圧を調節することは生命維持の根幹であるが、その調節メカニズムの詳細は完全には分かっていない。更に、成因の分かっている高血圧症（例えば、原発性アルドステロン症やじん（腎）血管性高血圧症など）は全体の約 10% とされ、それ以外の 90% は原因不明の本態性高血圧症として分類¹⁾されている。したがって、現状の高血圧の治療は、成因を取り除く根治療法ではなく対症療法が主体となっている。薬剤を用いた対症療法では、心拍出量あるいは血管抵抗をいかにして低下させるかがかき²⁾となるが、後述するカプトプリルという薬剤の投与によって幸いにも血圧が低下する¹⁾³⁾ことが分かって以来、血圧を正常化するには Fig. 1 に示したレニン-アンギオテンシン (RA) 系⁴⁾⁵⁾をブロックすることが最良との結論に至っている。

循環系での RA 系は、まず腎臓からのレニンの分泌によって肝臓からのアンギオテンシノーゲンが分解され、アンギオテンシン (Ang) I が生成する。Ang I は主として肺に存在する Ang I 変換酵素 (ACE, ジカルボキシペプチダーゼ) の作用によって Ang II へと分解される。この Ang II が血圧のこう (亢) 進に深く関与するペプチドであるとされ、その作用としては直接的には血管壁収縮作用を、間

接的にはアルドステロンの分泌刺激を介した体液量の増加を引き起こす⁴⁾。したがって、血圧を正常化させるには、Ang II 生成の主体となる RA 系をいかに制御するかが重要となる。RA 系制御の潮流となった研究は ACE 阻害薬として開発されたカプトプリルの降圧効果であり、レニン濃度のいかににかかわらず本態性高血圧症者の 70% に対して血圧低下が認められ³⁾、成因は何であれ RA 系が血圧調節の中心的役割を果たしていることが改めて明示されている。したがって、RA 系阻害による血圧改善を図るには、1) Ang II 前駆物質である Ang I の生成を担うレニン活性の阻害、2) Ang II の直接生成を担う ACE 活性の阻害、3) 生成した Ang II のレセプターへの結合阻害のいずれかを対象とすることになる⁶⁾⁷⁾。臨床薬としては上記項目のほかに交感神経遮断薬、血管拡張薬、カルシウムキップ (拮) 抗薬、利尿薬などの体液量の改善を目的とした薬剤が開発されているが、残念ながら食品科学分野における血圧改善のターゲットとしては、一部例外を除いてほとんどが 2) の ACE 阻害のみである。上記臨床薬についての詳細は成書³⁾⁸⁾⁹⁾を参照されたい。

2.2 *in vitro* 評価

2.2.1 レニン阻害

RA 系阻害を図る上でレニンは Ang II 生成過程の律速因子として働き、更に基質であるアンギオテンシノーゲンに対する基質特異性が極めて高い¹⁰⁾ため、早くから降圧薬研究の対象となってきた。従来のレニン活性測定¹¹⁾は、基質であるアンギオテンシノーゲ

Fig. 2 N-Terminal amino acid sequence structures of angiotensinogens as a renin substrate

X: unknown

ンを用いており、ラット血しょうの $\alpha 2$ -グロブリン画分の凍結乾燥物をリン酸塩緩衝液 (pH 7.4) に溶解させ、次いでブタ腎由来のレニンの作用によって生成した Ang I 量を直接単離・検出している。Gross ら¹²⁾は、この方法によって放線菌の培養液から天然由来のレニンインヒビター、ペプスタチン A を初めて単離しているが、レニンの触媒特性、あるいは系統的なインヒビターの解明を行うには、巨大分子であるレニン基質に代わる簡便な基質が必要であった。レニン阻害評価法への合成基質の適用性については、1968 年 Skeggs らの報告¹³⁾が最初である。レニン基質であるアンギオテンシノーゲンは由来によってシアル酸、ヘキソース、グルコサミン量に若干の違いがあるが、ヒトの場合分子量約 65000 の糖タンパク¹⁴⁾であり、いずれもレニンによって特異的に分解される¹⁰⁾。彼らはその最小基質単位構造を明らかにするため、9 種のウマレニン基質アナログを作製し、ウマレニンの触媒特性から最適基質を提示した (なお、後述するが、1981 年に Tewksbury ら¹⁵⁾は、ヒトレニン基質の場合アミノ酸残基 11 番目は Leu ではなく Val であることを発見し、その後の基質アナログ研究の大きな転機を与えた)。Fig. 2 に示したように、ウマレニン基質の 1~14 番残基のペプチドを基本骨格とし、ニンヒドリン発色法によって求めた K_m 及び V_{max} から基質として作用しうる最小単位を検討したところ、Ang (6-13) のオクタペプチド及び Ang (6-14) がレニン基質として十分見合った最小基質構造であることを初めて明らかにした (K_m :

55.2 μ M, V_{max} : 0.74 μ M/min)。Aoyagi ら¹⁶⁾は、この Ang (6-14) (3 H-Val¹²) を用いて、レニンの作用によって生成する Leu-(3 H-Val)-Tyr-Ser の放射線活性量からレニン活性を、更にはペプスタチン類のブタレニン阻害活性を求め、ペプスタチン G (N 末端のアミノ基がカプリル基で修飾されたもの) がペプスタチン A の約 4 倍の阻害活性を有した天然インヒビターであることを示している。Galen ら¹⁷⁾は、ニンヒドリン発色法の煩雑さを克服するため、合成基質として新たに Ang (1-14) の N 末端アミノ基をブロックした *N*- α -acetyl-Ang (1-14) を合成し、レニンによって開裂した Leu-Val-Tyr-Ser の遊離アミノ基をフルオレサミンで蛍光修飾 (Fluorim 溶液; 30 mg/100 ml dioxane) することによってレニン活性を測定している。本法は、pH 6.0 (励起波長; 395 nm, 検出波長; 495 nm) で最大の蛍光強度を示し、放射線ラベルされた基質 { 125 I-, [3 H]Leu¹⁰- or [14 C]Val³-Ang (1-14)} を用いた従来法^{18)~20)} (ラベルされた基質と生成物の分離操作が必要) と比べて簡便性に優れている (K_m ; 18.7 mM)。但し、遊離のアミノ基を持ったきょう雑物質が存在する場合には適用が困難である。そこで、あらかじめ蛍光標識された合成基質が開発され、簡便性と選択性のさらなる向上が図られている。Murakami ら²¹⁾は、[Arg⁶]-Ang (6-13)-4-methylcoumaryl-7-amide (-MCA) 及びそのサクシニル誘導体を用いた新たなレニン活性測定法を設定している。本法は、レニン (37 $^{\circ}$ C, 1 時間, pH 6.5) との反応によって生じた Leu-Val-

Tyr-MCA 生成物を, 反応停止後更に 50 mU ロイシンアミノペプチダーゼを用いて断片化し, 最終的に生じた遊離の 7-amino-4-methylcoumarin (AMC) 量を蛍光検出 (励起波長; 380 nm, 検出波長; 440 nm) することによってレニン活性を測定している. なお, 粗レニンを用いた研究には, 混在するアミノペプチダーゼの作用による基質の非特異的開裂が抑えられる Suc-[Arg⁶]-Ang (6-13)-MCA が適しているよう.

合成レニン基質については, レニン基質の開裂部位の構造がヒト (Leu¹⁰-Val¹¹) と動物 (Leu¹⁰-Leu¹¹) では異なる¹⁵⁾ (Fig. 2) ことが明らかにされて以来, 更に進展を見せている. Fig. 1 で示したように, ヒト循環 RA 系では, Ang I の生成はレニンのみの作用によるが, 組織系の場合はカテプシン, トニン, キマーゼ等様々な加水分解酵素が Ang I 生成にかかわっている⁵⁾. 更に, 動物由来のレニン基質は動物及びヒトレニンによって分解されるが, ヒトレニン基質はヒトレニンによってしか分解されない¹⁵⁾. このことは, 従来の基本合成基質であった動物由来 Ang (1-14) では, ヒトレニンに対する阻害性が正しく評価されないこと, 肝臓由来のカテプシン D をはじめとして, 種々の加水分解酵素による非特異的基質分解を受ける可能性がある²²⁾などの欠点を有している. 実際, 前述のペプスタチン A のヒトレニンに対する阻害活性は, イヌレニンの約 1/200 に低下する¹⁰⁾. そこで, Poe ら²³⁾は, ヒト (h) Ang (1-14) を作製し, 従来の Ang (1-14) 基質との反応性の違いを詳しく検討している. ヒトレニンの hAng (1-14) に対する K_m 値は 8.4 μ M と Ang (1-14) の K_m 値 (3.1 μ M) と比べて大きいものの, その V_{max}/K_m 比は hAng (1-14) のほうが約 2.5 倍大きい. 更に, hAng (1-14) のカテプシン D 及びラットがくかせん (顎下腺) レニンによる分解は全く認められなかった. このことは, ヒトレニンに対する阻害研究を行うには, ヒトレニン-基質間の特異的触媒機構の解明が重要であることを示唆している. ヒトレニンインヒビターの開発現状については再度後述する.

一方, 新たなレニン阻害活性測定法として, Ang I 抗体吸着-RIA 法^{24)~27)}が提案されている. 本法はレニン及びレニン基質の精製を必要とせず, 生体レベルでレニン活性並びに阻害の程度を評価することができることから, 従来法と比べて有利である. 原理は, 通常の血しょうレベルで生成したレニン反応の結果である Ang I を, 過剰量の Ang I 抗体にトラップさせ, 未吸着 Ang I 抗体を ¹²⁵I ラベルした Ang I で飽和吸着させた後, 余剰あるいは吸着した ¹²⁵I-Ang I 量を測定することにある (Fig. 3). 本法は, Poulsen ら²⁵⁾によって最初に提案され, その後種々の改良 (ペプスタチン A による反応停止後の ¹²⁵I-Ang I との競合吸着²⁸⁾, 抗 Ang I 抗体結合担体による吸着²⁹⁾) 法が提案されている. 最近では, Ikeda らの方法²⁸⁾を改良したレニン

Fig. 3 Principle of the angiotensin I-antibody trapping method for renin assay

阻害活性測定法が主流である²⁷⁾²⁹⁾. まず, 4 mM EDTA を含むヒト血しょう 3 ml に 3.4 mg (110 U/mg) のトリプシンを加えて (5 min, 4℃), 共存する不活性型レニンを活性化させる (他法としては, pH 3.0 の酸性条件下での透析処理がある). トリプシンインヒビター (チキン卵白由来; 50 U/mg) 12 mg を加えて活性化を終了した血しょう 200 μ l を 0.6 M クエン酸緩衝液 20 μ l で pH 6.0 に調整する. 次に, セリンプロテアーゼ阻害剤である 10 mM のフェニルメチルスルホニルフルオリド溶液 10 μ l 並びに対象とするレニンインヒビター溶液 10 μ l を血しょうに加えて 37℃ で, 90 分間インキュベートする. その後, ペプスタチン A (0.5 mg/ml) を含む 100 μ l ¹²⁵I-Ang I 溶液及び抗 Ang I 抗体結合ポリスチレン担体 (ϕ 6.4 mm) を加え, 室温で 3 時間吸着処理した後, 吸着した ¹²⁵I-Ang I 量を γ -カウンターで測定する. レニン阻害活性は各種インヒビター濃度で得られた Ang I 生成量から算出され, レニン活性を

Fig. 4 Structural similarity of therapeutic drug, captopril, and angiotensin I with the active site of angiotensin I-converting enzyme

50% 阻害するときのインヒビター溶液の濃度 (IC_{50} 値) として評価される。この抗体吸着-RIA 法は血中 Ang II 量の測定にも臨床検査応用されている³⁰⁾。

以上、種々のレニン活性測定法が提案されてきたが、これに呼応してレニンインヒビターの開発が精力的に行われている。その根底は酵素-基質反応中間体 (遷移状態)¹⁰⁾ 構造の重要性にある。すなわち、各種ペプスタチン類のレニン阻害活性はアミノ酸鎖構造の違いによっては大きく影響されず、 IC_{50} 値として 1.2 から 4.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲であること、基質類似体である Leu-Leu-Val-Tyr 及び Leu-Leu-Val-Phe のメチルエステルは、レニンを拮抗的に阻害するもののその活性は mg オーダーと極端に低いとの知見¹⁶⁾ から、レニン阻害には遷移状態での四面体構造との類似性が重要であり、ペプスタチンのイソスタチン ($-\text{CH}_2\text{-NH}-$) 結合部位がその阻害に大きくかかわっているとの結論に至っている³¹⁾。例えば、最小基質単位である hAng (6-13) のレニン切断部位 Leu¹⁰-Val¹¹ のペプチド結合をイソステア構造に置換すると、ヒトレニンに対して IC_{50} 値が 190 nM の阻害力価を持つ強力なインヒビターとなる²⁶⁾ ことが明らかとなっている。更に、イソステア構造 ($-\text{CH}_2\text{-NH}-$) を有した阻害剤はヒトレニン特異的であり、カテプシン D に対する阻害は全く認められない²⁶⁾。以後、各種スタチン構造を有したペプチド性物質が作製され、Isovaleryl-His-Pro-Phe-His-Sta-Ile-Phe-NH₂ (IC_{50} : 1.9 nM)³²⁾ や、水酸化イソステア (NH-CH-CH(OH)-) の導入による活性増大効果²⁷⁾²⁹⁾ が報告されている。基質類似体とは別に、腸管吸収性を考慮し、脂溶性を向上させたジペプチド性レニンインヒビター³³⁾ も降圧剤として開発されている。残念ながら、食品由来のレニンインヒビターに関する研究は皆無であるが、今後の食品成分による降圧研究の一つとして大いに期

待される分野と考えている。

2・2・2 ACE 阻害 RA 系阻害の第二ステップである ACE 阻害に関する研究は、臨床薬だけでなく機能性食品成分についても枚挙に暇がない。ACE 阻害の目的は、主として昇圧的に作用する Ang II の生成 (同時にブラジキニンの分解) を抑制することにあるが、RA 系亢進の律速段階であるレニン阻害よりもむしろ ACE 阻害が脚光を浴びているのは、おそらく ACE 阻害剤として開発されたカプトプリルがヒトに対して絶大な降圧効果を発揮したこと¹⁾³⁾ に起因する。ACE は亜鉛を活性中心に持つジカルボキシペプチダーゼの一種であり、Fig. 1 で示したようにレニンの作用によって生成した Ang I を更に低分子の Ang II {Ang (1-8)} へと分解する。その分解は Ang I 構造に特異的であり、C 末端 Phe⁸-His⁹-Leu¹⁰ の 8 番目と 9 番目を加水分解し、それ以上の切断反応は起こらない。したがって、Ang I での特異的切断の発現は C 末端ジペプチド His⁹-Leu¹⁰ の ACE 活性部位ポケットとの構造相関の強さによると考えられ、この観点からジペプチド性合成インヒビター、カプトプリルが開発された (Fig. 4 参照)。そこで本節では、まず ACE 阻害活性測定法について論述し、次いでペプチドインヒビターを中心にこれまでに明らかになった降圧食品成分を網羅する。

ACE 活性測定法は、基質として天然基質を使うか、合成疑似基質を使うかによって大別される。両者の使い分けは賛否両論があり、Ang I を用いた場合は生体環境下 (pH 7.4) での阻害挙動が予測できるが、特に組織 RA 系での阻害評価の場合、カテプシン D、G やトニン、キマーゼといったほかの Ang II 産生酵素の関与⁵⁾ を常に考慮する必要がある。一方、合成疑似基質を用いる系では、ほかの Ang II 産生酵素による分解を受けないものの、疑似基質

に最適なアッセイ条件下（例えば pH 8.3）で行うため、生体レベルでの阻害評価とは一致しない場合が多い。しかし、食品科学分野においては食品からの阻害成分の検索が主体であり、膨大な数の阻害評価を必要とすることから、簡便性の点で疑似基質を用いた *in vitro* ACE 阻害評価法がほとんどである。

天然基質、すなわち Ang I を用いた ACE 活性測定法は種々報告^{34)~41)}されているが、病態生理解明のための ACE 活性測定法の設定が主体となっている。測定原理は Ang I の減少量、あるいは生成物である Ang II もしくは His-Leu 量を直接求めることにある。¹²⁵I or ³H-Ang I を用いた RIA 法³⁴⁾、生成物である His-Leu を検出するためのニンヒドリン発色法³⁵⁾、あるいは *o*-フタルアルデヒド蛍光検出法³⁶⁾、逆相 HPLC 法による Ang I, II 量の直接測定法^{37)~39)}などがある。最近では、Ang I あるいは Ang II 抗体を用いた固相法による酵素免疫測定法（ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay）も登場し、市販キットもある。なお、血液だけでなく組織 RA 系において ACE 活性を評価する場合、ほかの Ang I 分解酵素による基質の非特異的分解を十分に考慮しなければならない。Urata ら³⁷⁾は、心臓組織における ACE 及びキマーゼ活性を HPLC 法で評価しており、ACE 活性を測定する上で 100 μ M キモスタチン及び 20 μ M アプロチニンの添加が、セリンプロテアーゼの活性抑制に有効なことを示している。また、逆相 HPLC 法においては、溶離液として 0.075% トリフルオロ酢酸を含む 0~32% アセトニトリル（40 分、0.5 ml/min）の条件で Ang I（保持時間；40 分）、Ang II（36 分）、His-Leu（11 分）の完全分離が容易に達成されている³⁹⁾。本稿ではこれ以上の詳細については言及しない。

Table 1 に現在主流となっている疑似基質を用いた場合の ACE 阻害活性測定法をまとめた。測定に使用される ACE については、種間での相同性が 87% と高く、活性部位構造が同じであること、血管内皮細胞で産生されるため必然的に肺組織で活性が高くなること⁴⁾⁴⁰⁾などから、肺由来でかつ比活性が最も高い（60~90 units/mg）ウサギ由来 ACE の使用が主流となっている。なお、アセトン粉末品を用いた場合、きょう雑酵素（カルボキシペプチダーゼ）による基質分解を常に考慮する必要がある。疑似基質としては、ACE の活性部位構造との構造類似性（Fig. 4）を考慮して、Ang I の分解生成物である His-Leu の N 末端を馬尿酸でブロックした Hip-His-Leu（HHL）⁴¹⁾⁴²⁾ が代表的であるが、ほかにも Phe-His-Leu⁴³⁾、Hip-Gly-Gly^{44)~46)}、Hip-Phe-Arg⁴⁷⁾、Hip-Ala-Pro⁴⁷⁾、Z-Phe-His-Leu⁴⁸⁾、*p*Hydroxy-Hip-His-Leu⁴⁹⁾ あるいは蛍光疑似基質⁵⁰⁾が使用されている。しかし、ACE が Ang I 分解に関して Cl⁻ 依存であることを考慮すると、Cl⁻ 非依存的に作用⁴⁷⁾する Hip-Phe-Arg、Hip-Ala-Pro はブラジキニン分解部位を反映していると考

えられ、Ang I の疑似基質としては不適切である。Hip-His-Leu に対する ACE の触媒作用については、Cushman ら⁴¹⁾によって詳細に報告されており、pH 8.3、NaCl 濃度 200~500 mM で馬尿酸生成が最大となる。Table 1 で示した測定法は、いずれも Cushman らの報告⁴²⁾を基本としているが、リン酸緩衝液の場合至適 pH が 8.0~8.3 と狭く、ホウ酸緩衝液（至適 pH 7.5~9.0）と比較して ACE 活性が低く見積もられることから、ACE 阻害反応系としては Lieberman 法⁵¹⁾の改変である山本らの方法⁵²⁾が推奨される。なお、ACE 阻害物質の一部には ACE の基質として作用し、見掛け上阻害を引き起こす場合もあるため、基質を加える前にあらかじめ試料溶液と酵素液をブレインキュベートする方法⁵³⁾も提案されている。また、HHL では反応停止液の塩酸によって加水分解が起こることから、HHL と比べて約 9 倍の ACE 活性を示し、かつ塩酸による加水分解が認められない Hip-Gly-Gly の使用⁴⁵⁾がより望ましいと考えられる。ACE 活性評価については、酢酸エチル抽出した馬尿酸の分光学的検出（228 nm）が基本である。しかし、本法は馬尿酸の酢酸エチル相への溶解が完全でなく（後藤ら⁵⁴⁾は補正係数として 0.91 を乗ずることを提案している）再現性に劣ること、粗試料ではきょう雑成分の有機相への移行による過度の吸光度の増加が起こること、等の欠点がある。そこで、生成した馬尿酸を直接 HPLC 法で分離・分析する方策⁵⁵⁾が提案されているが、簡便性、測定時間の点で多成分からなる食品を対象とした研究には不適当である。Kasahara ら⁴⁹⁾は、*p*Hydroxy-Hip-His-Leu を基質として多段階酵素反応を利用した活性測定法を提案している。すなわち、生成した *p*-ヒドロキシ馬尿酸をヒプリカーゼにより *p*-ヒドロキシ安息香酸へと変換し、次いでペルオキシダーゼによる 4-アミノアンチピリジンとの酸化のカップリング反応によって生じるキノノイミン色素を波長 505 nm で検出しているが、簡便性の点で不十分である。そこで、もう一方の生成物である His-Leu に着目して、遊離アミノ基との蛍光³⁶⁾⁵⁶⁾⁵⁷⁾、あるいは 2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）発色から ACE 活性を見積もる方法⁴⁶⁾⁵⁸⁾が提案されている。これら方法は同一試験管内で測定を完結することができること、抽出・乾固等の煩雑な操作を必要としないことから有用であるが、粗試料の場合発色性きょう雑成分の影響を空試験値として相殺する必要がある。いずれにせよ、用いる測定法、基質によって得られる阻害活性が大きく異なる³⁶⁾⁵⁹⁾ことから、同一規格での評価が望まれる。なお、ACE 阻害活性はレニンの場合と同様、IC₅₀ 値として評価される。

食品科学分野での降圧研究は既に様々な食品群を対象として行われており、その中に含まれる顕在成分あるいは派生成分についての *in vitro* ACE 阻害性が評価されている。降圧食品研究の広がり、1982 年 Maruyama らの報告⁶⁰⁾

Table 1 Proposed ACE inhibitory assay methods

	Lieberman's modified method (Ref. 52)	Cushman's method (Ref. 41)	Cheung's method (Fluorometric assay) (Ref. 42)	Lieberman's method (Colorimetric assay) (Ref. 58)
Assay system	(1) Buffer solution	phosphate buffer (pH 8.3) containing 5 mM HHL and 0.3 M NaCl	phosphate buffer (pH 8.3) containing 5 mM HHL and 0.3 M NaCl	borate buffer (pH 8.3) containing 12.5 mM HHL and 1.0 M NaCl
	(2) Enzyme solution Assay solution Reaction time, temp. Reaction stop	no limitation (1) 0.1 ml + (2) 0.25 ml 37°C, 60 min 0.5 M HCl 0.25 ml	0 ~ 10 mU 0.25 ml 37°C, 30 min 1 M HCl 0.25 ml	2.5 mU/25 µl (1) 50 µl + inhibitor 25 µl + (2) 50 µl After preincubation for 5 min, 37°C, 60 min 0.5 M HCl 125 µl
Detection system	Procedure	<i>Extraction of hippuric acid</i> 1) addition of 1.5 ml AcOEt 2) stirred for 15 s 3) centrifuged at 2500 rpm for 10 min <i>Evaporation</i> 1) taken 0.5 ml of AcOEt 2) evaporated at 140°C for 20 min 3) resolved in 3 ml of 1 M NaCl 3 ml, and stirred for 15 sec measured at 228 nm (Blank; 1.0 M NaCl)	<i>Extraction of hippuric acid</i> 1) addition of 1.5 ml AcOEt 2) stirred for 15 s 3) centrifuged at 2500 rpm for 10 min <i>Evaporation</i> 1) taken 1.0 ml of AcOEt 2) evaporated at 120°C for 30 min 3) resolved in 1.0 ml of water measured at 228 nm	<i>TNBS reaction</i> 1) Kolthoff buffer (0.1 M Na ₂ HPO ₄ -1.0 N NaOH) 250 µl 2) addition of 0.1 M TNBS solution 25 µl 3) reaction at 37°C for 20 min 4) addition of Sulfite (4 mM Na ₂ SO ₃ in 0.2 M NaH ₂ PO ₄) 4.5 ml
	Measurement	measured at 228 nm	fluorometric detection	measured at 416 nm

Fig. 5 An example of separation steps of active peptides with angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity from proteolytic wheat germ hydrolysate

が契機となっている。すなわち、彼らは乳タンパク質であるカゼインをトリプシンで加水分解することによって、派生する多数のペプチド群から ACE 阻害作用を有するドデカペプチド (Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Phe-Pro-Glu-Val-Phe-Gly-Lys, IC₅₀; 77 μM) を分離・同定した。その単離には、各種クロマトグラフィー (Sephadex G-25, SP-Sephadex G-25) 及びシリカゲル薄層クロマトグラフィーを活用しており、現在においても基本的分離スキームは同様である。但し、各種 HPLC 用担体の登場により、TLC 法に代わって逆相 HPLC 法が最終単離手段としては用いられつつある。Fig. 5 に食品由来ペプチド単離の一例として、著者らの行った小麦はい (胚) 芽加水分解物からの ACE 阻害ペプチド分離過程⁶¹⁾を示した。加水分解物調製後、ODS カラムクロマトグラフィー (3.5 × 13 cm) に試料を負荷し、エタノール濃度による段階グラジエントによって活性画分を一次精製する。次いで、陽イオン交換カラム (1.0 M NH₄OH 溶出) によって更に活性な画分を集約する。HPLC による単離段階はすべて逆相系樹脂を用いて行っており、未修飾及びフェニル修飾 ODS カラムを用いて ACE 阻害活性ペプチドの単離を達成した。食品由来のペプチド単離法に常法はないが、1) きょう雑する不活性な食品成分 (糖・有機酸、脂質等) をいかに早い段階で除去するか、2) ペプチド収率を上げるための有機溶媒系溶離液の活用 (塩系溶離液の使用による脱塩操作の回避)、3) 多数存在する性状が類似した低分子オリゴペプチドからの活性ペプチドの単離に対して、逆相系分離法の活用等が挙げられる。単離ペプチドの同定は、常法のアミノ酸分析並びにアミノ酸シーケンス分析法によって行われる。

ACE を阻害する物質の要件として、C 末端側に Tyr, Phe 等の疎水性の高いアミノ酸、また N 末端側に Lys, Arg, Ala 等のアミノ酸を含む低分子ペプチドが最良であることが、Cheung ら⁴⁷⁾によって報告されて以来、食品科学分野での ACE 阻害物質研究のほとんどは、天然タンパク質由来の画分あるいは潜在するペプチドが対象となっている。すなわち、発酵食品については発酵ミルク⁶²⁾⁶³⁾、しょうゆ⁶⁴⁾、清酒⁵²⁾⁶⁵⁾から、またイチジク樹液⁶⁶⁾、マグロ白身⁶⁷⁾からも顕在する ACE 阻害ペプチドが単離されている。天然タンパク質については、そのアミノ酸配列中に潜在的な ACE 阻害ペプチド配列が存在するため、食品用酵素剤を用いたタンパク質加水分解 (低分子ペプチド化) が精力的に行われており、対象タンパク質も多岐にわたる。過去の報告例としては、イワシすり身 (ペプシン^{68)~70)}、アルカリプロテアーゼ⁷¹⁾、カツオ内臓 (自己消化)⁷²⁾、かつお節 (サーモリシン)⁷³⁾、ゼラチン (コラゲナーゼ)⁷⁴⁾、乳タンパク質 (トリプシン⁶⁰⁾⁷⁵⁾、その他⁷⁶⁾、サケ頭部 (ビオプララーゼ SP-10)⁷⁷⁾、トウモロコシ (サーモリシン)⁷⁸⁾、大豆タンパク質 (ペプシン)⁷⁰⁾、チーズホエータンパク質 (プロテアーゼ K)⁷⁹⁾、乳清タンパク質 (アルカリプロテアーゼ)⁸⁰⁾、β-ラクトグロブリン (トリプシン)⁸¹⁾、小麦胚芽 (アルカリプロテアーゼ)⁶¹⁾ などがある。上記項目以外にも、単離・同定した ACE 阻害ペプチドをモチーフに、合成アナログペプチドの阻害性が積極的に研究^{82)~85)}され、PTHIKWGD⁸²⁾ 及び VHLPPP⁸³⁾ の関連合成ペプチド、ヒト β₂-κ-カゼインのフラグメントペプチド⁸⁴⁾⁸⁵⁾について ACE 阻害性が評価されている。また、ニコチナミンなど非ペプチド性 ACE 阻害物質も食品から単離されている (モロヘ

Table 2 Natural potent ACE inhibitory peptides

Peptide	IC ₅₀ /μM	Source	Reference
LRP	0.3	α-zein	78)
LSP	1.7		
LQP	1.9		
PTHIKWGD	0.9		
PTHIKWD	1.8		
PTHIAW	0.4		
PTHVAW	1.5		
FQPQPLIYP	1.8	β-casein	84)
SFQPQPLIYP	1.4		
IKP	1.7	Dried bonito	73)
LKP	1.6		
IRP	1.8	Bonito bowels	72)
LRP	1.0	(autolysis)	
LW	0.3	Sardine muscle	71)
GWAD	0.8		
IVY	0.5	Wheat germ	61)
VFPS	0.5		
DVVG	0.7		
TYLGS	0.9		
GGVIPN	0.7		
APGAGVY	1.7		

イヤ⁸⁶⁾, アシタバ⁸⁷⁾, フラボノイド⁸⁸⁾等). Table 2にこれまでに報告された ACE 阻害ペプチドのなかで, 比較的高いペプチドをまとめて示した. なお, 既に明らかとされた ACE 阻害作用を有するペプチドは 500 種類以上と推定される. いずれのペプチドにおいても *in vitro* で評価された ACE 阻害活性は 100 nM オーダー以上であり, カプトプリルをはじめとする薬剤の活性値 (IC₅₀ = 2.6~35 nM)⁵⁹⁾ には遠く及ばない. しかし, 摂取可能な食品からの派生物であるとの観点からすると, 安全で, 緩やかな降圧効果が期待される.

2.3 *in vivo* 評価

2.3.1 ラットを用いた降圧評価 急性降圧試験法としては, 通常ラットを用いて Ang II の前駆体である Ang I の前投与 (静脈注射) による強制昇圧に対する, インヒビター投与による昇圧抑制効果の確認⁷³⁾⁸³⁾⁸⁹⁾, あるいは高血圧自然発症ラット (SHR) を用いてインヒビター投与 (静脈注射) 後の降圧挙動を見る方法^{70)90)~92)}がある. これらの方法は, インヒビターの降圧作用の有無を即時に判断できるため有用であるが, 吸収過程が無視されるため実際の降圧作用を反映しているとは限らない. 経口あるいは胃ゾンテを介した単回強制投与試験法は, 投与後長時間にわたる血圧変動の測定が可能であり, 吸収過程を考慮した降圧効果の議論が可能である. また, 若齢 SHR からの長期経口投与試験^{87)88)92)~95)}も一法であるが, インヒビターとして摂取される食品成分 (多くの場合ペプチド) が栄養素として機能することから, 成長の違いによる血圧変動に注意を必要とする. RA 系を強制賦活させた 2 腎 1 クリッパ

SHR による降圧試験⁹⁶⁾も一部実施されている. 本ラットは, ACE 阻害による降圧作用が顕著に現れやすい利点がある.

2.3.2 ヒトでの降圧試験法 降圧食品の最終目標はヒトでの降圧効果発現の有無にあるが, ヒト臨床まで検討した例はわずかである^{97)~102)}. そのプロトコール設定の際に注意しなければならない事項としては, 1) 被験者の年齢分布・性別が一樣であること, 2) 降圧剤を服用していないこと (したがって, 被験者は必然的に軽症高血圧症者までが対象となる) などが挙げられる. 一例として著者らが行ったヒト試験法 (二重盲検プラセボ比較試験)¹⁰²⁾について略記する. 平均年齢 45 歳, 平均血圧 146/92 mmHg の被験者 27 名を 2 群 (ペプチド投与群と非投与群) に分け, ACE インヒビター作用の主要ペプチド Val-Tyr 3 mg/100 ml ドリンクを朝夕 2 回, 4 週間にわたって飲用させ, 血圧変動を観察した. その結果, 飲用開始 1 週間後で明らかな降圧効果 (Δ9.3/Δ5.2 mmHg) が認められ, 食品成分による血圧調節作用の可能性が改めて実証された. また, 食品成分による降圧作用の特徴として, 1) 投与期間中の血圧値が一定であること, 2) 薬剤に見られる終了後の急激なリバウンド現象がないこと, 3) 終了後も 3 週間にわたって血圧が正常域で推移すること, 4) 副作用がないこと, 5) 正常血圧者には効かないこと, など数々の利点が明らかとなった. このことは, 機能性食品が生体の恒常性維持 (自己調節機能の回復) を促していることを示唆するものであり, 食品機能の重要性を改めて明示するものである. なお, 生化学的試験, 作用機作などの詳細な検討³⁸⁾¹⁰³⁾¹⁰⁴⁾を行っているが, ここでは省略する.

3 糖尿病予防

3.1 成因と対策

現代人を蝕む糖尿病は大きく二つのタイプに分けることができる. すなわち, インスリン依存型糖尿病 (IDDM) とインスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) であるが, ほとんどの病態 (95%) は後者であると言われている¹⁰⁵⁾. なぜインスリン抵抗性がなくなるのか, その病因は何かといった研究は別途精力的に行われているが, その根源に現代人の生活習慣が密接にかかわっていることは事実である. 更に, 糖尿病は病態そのものよりも高血糖を主因とする合併症 (網膜症, 腎症, 神経障害) 併発が問題となることから, 高血糖状態をいかに改善するかが重要となる. Fig. 6 にグルコース取り込みまでの過程と生体内での消長について示した. 適正グルコースレベルを達成するには, 1) 糖質の分解と吸収を阻害・遅延し, 過血糖を改善すること, 2) インスリン抵抗性を改善し, 肝臓からの糖産生放出を抑制すること, 3) インスリン分泌を促進させることなどが必要となる¹⁰⁶⁾. 臨床薬としては上記項目を満たす薬剤

Fig. 6 Postprandial glucose metabolism

Fig. 7 Suppression mechanism of glucose absorption by the inhibition of intestinal membrane-bound α -glucosidase activity

が種々開発されているが、食品成分からの研究・開発例の大部分は1)の項目である(合併症である網膜はく離に関与する酵素アルドースレダクターゼに対する阻害に関する研究例^{[107][108]}があるが、その後進展はない)。上記臨床薬についての詳細は成書^[105]を参照されたい。

3・2 in vitro 評価

一般に、食品成分である糖質(多糖類)は、アミラーゼの作用によってマルトース単位まで消化された後(スクロースの場合はそのままの状態)小腸上皮に到達する。その後、上皮膜細胞に存在する二糖類分解酵素(α -glucohy-

drolase; AGH)の作用によってグルコースまで分解され、門脈を介して肝臓に蓄積される。このため、血糖値を適正化するには、グルコースの生成に関与するAGHの作用を直接阻害することが最良とされる^[109](Fig. 7)。臨床薬としては既にアカルボース及びボグリボースが開発され、実際に臨床薬として使用されている^{[106][109]}が、食品成分によって食後の過血糖を是正する研究は途についたばかりである。

前項で述べたACE阻害活性測定法と同様、確立されたAGH阻害測定法は見当たらない。簡便法としては、合成基質として

-ニトロフェニル- α -D-グルコシド(*p*NPG)を用いて、パン酵母由来AGHの作用によって生じる

-ニトロフェノールの吸光度(405 nm)^{[110]~[116]}からAGH阻害性を求める方法がある。反応により生じた

-ニトロフェノールをイソクラティック逆相HPLC分析(移動相; 30 mM トリエチルアミンを含むアセトニトリル/酢酸/水(22:1:77))^[117]によって分離定量する方法も報告されている。本法によって、緑茶^[110]、とちゅう茶^[111]、ネギ^[112]、ヒジキ^{[113][114]}、イワシ筋肉分解物^[115]などからAGHインヒビターが見いだされているが、発色妨害を引き起こす着色試料に対しては適用が困難である。一方、AGHは小腸上皮微絨毛膜上のイソマルターゼ及びスクラーゼからなる複合糖分解酵素^[118]である。したがって、その阻害評価は両者の基質となる

NPGを用いる場合よりも、各酵素に対応する基質(スクロース及びマルトース)^{[108][119]~[123]}を用いるほうがより現実的と考えられる。AGH阻害性はグルコースオキシダーゼ法によって求めた生成グルコース量から評価

Table 3 Inhibitory effect of inhibitors against α -glucosidase from various origins

Origin	IC ₅₀ /mM			
	Voglibose	Acarbose	(+)-Catechin	Glucono-1,5-lactone
Bakers yeast	2.6×10^{-2}	N.I.	1.3×10^{-1}	N.I.
Rat small intestine	7.3×10^{-5}	6.3×10^{-2}	N.I.	2.5
Rabbit small intestine	1.4×10^{-4}	6.2×10^{-2}	N.I.	9.5×10^{-1}
Porcine small intestine	1.7×10^{-6}	8.7×10^{-2}	N.I.	1.4×10^{-1}

N.I.; no inhibition

されるが、グルコースを多く含む試料に対しては適用が困難である。また、AGHとしてはラットあるいはブタ小腸膜から直接抽出したものをを用いる場合と、パン酵母由来のAGHを用いる場合に大別される。Kameda⁽¹²¹⁾らは、*Streptomyces hygroscopicus subsp.* の培養液から単離した、アミノサイクリトールの一つであるバリエナミンのAGH阻害性を評価しており、マルターゼ及びスクラーゼに対する阻害活性は、パン酵母と比べてブタ由来のAGHでは100倍から1000倍以上高いことを報告している。また、著者らの成績⁽¹²⁴⁾では、Table 3に示したように由来によって活性が大きく異なるため、ヒトでの過血糖抑制作用を見積もる上でAGHの由来設定は重要である。他方、ユニークなAGH阻害検索法として、Kuriharaら⁽¹²⁵⁾の報告した寒天プレート法がある。これは、AGH及び基質であるpNPGを含む寒天プレートを作製し、その中心に一定面積のインヒビタープレートを挿入後、pNPGによる黄変が認められない無色部分のディスク径からAGH阻害性を判断するものである。この方法は粗試料の測定には有効ではある。

3.3 in vivo 評価

食品成分による血糖値上昇抑制作用をin vivo評価した例がこれまでに幾つか報告されている。まず、動物を用いたin vivo評価法について述べる。AGH阻害成分の血糖値改善作用についての急性試験法としては、実験動物としてWistar系あるいはSprague-Dawley系の雄性ラットを用いた糖質負荷試験^{(126)~(131)}が一般的である。投与は糖質(可溶性デンプン、マルトース、スクロース)及び対象試料の混合溶液を単回経口投与あるいは胃ゾンデを介して強制投与し、およそ2時間までの尾静脈採血によって血中グルコース量及びインスリン分泌量が測定される。グルコース量及びインスリン量の測定は共に市販測定キットが用いられている。本試験法は、AGH阻害に基づくグルコースの吸収・遅延作用がin vivoで迅速に判断できるため、簡便法として有用である。本法によって、茶カテキン⁽¹²⁸⁾、D-キシロース⁽¹²⁶⁾⁽¹³¹⁾、L-アラビノース⁽¹²⁹⁾⁽¹³⁰⁾等のAGH阻害による血糖値上昇抑制作用が報告されている。一方、ストレプトゾトシン(STZ)の連続感作により誘発された実験的糖尿病ラットを用いた、試料の急性負荷試験^{(132)~(134)}も行われて

いる。本ラットはSTZによってすい臓 β 細胞が特異的に破壊されたインスリン欠乏性ラットであるため、高血糖値の改善に対して被検試料のインスリン分泌促進作用を論議するのに有効である。その結果、モラノリン⁽¹³²⁾、イワシペプチド⁽¹³³⁾、白かんしょ⁽¹³⁴⁾に食後の血糖値上昇抑制及びインスリン分泌促進作用があることが報告されている。更に、自然発症糖尿病マウス(db/dbあるいはKK A^y系マウス)を用いた検討がなされており、食品成分によるインスリン抵抗性の改善効果^{(134)~(136)}が示されている。

食品成分による血糖値改善効果についての臨床試験例はわずか^{(126)(136)~(139)}である。出口ら⁽¹³⁶⁾は、平均空腹時血糖値が109 mg/dlの軽症NIDDM患者11名に対して、AGH阻害作用の認められたグアバ葉茶の急性血糖値上昇抑制作用(米飯負荷試験)を検討している。摂取後150分までの採血によって、明らかな血中グルコースレベルの低下作用を確認している。小麦アルブミン^{(137)~(139)}並びにD-キシロース⁽¹²⁶⁾についても、同様のヒト単回投与(NIDDM患者あるいは正常者を対象として)試験が行われている。小麦アルブミンについては、森本ら⁽¹³⁹⁾によって更に4か月にわたる二重盲検比較試験が行われ、血糖値調節に対する食品成分の有効性が実証されている。

4 その他(がん予防, 老化防止)

生体内で派生する活性酸素は、外来病原菌に対する殺菌作用を担う生体防御物質である。一方、活性酸素の代謝(消失)機能が失われると、余剰の活性酸素によって細胞損傷、脂質(膜)酸化等(がん、老化あるいは動脈硬化の引き金となる)が引き起こされることから、食生活あるいは特定機能性食品成分による予防効果⁽⁴⁰⁾に注目が集まっている。いわゆる活性酸素としては、フリーラジカル(スーパーオキシド; $O_2^{\cdot-}$, ヒドロキシラジカル; $OH^{\cdot}$)や過酸化水素、一重項酸素がその範ちゅうにある⁽⁴⁰⁾。したがって、対象とする活性酸素によって、その評価法並びに抗酸化活性が異なることになる。そこで、本項では食品科学分野において主として使用されている抗酸化活性評価法について概説する。

まず、活性酸素種ごとに抗酸化評価法を述べる。ヒドロキシラジカルについては、安息香酸との過酸化反応を利用

した蛍光検出 (励起波長; 305 nm, 検出波長; 407 nm) 法¹⁴¹⁾が用いられている. すなわち, 尿酸の OH $\cdot$ ラジカル捕そく能をコントロールとして, 水の紫外線 (265 nm, 25 min) 照射によって生成した OH $\cdot$ の捕そく量の差によって試料の抗酸化性 (ラジカル捕そく性) が評価されている. これにより, ヨーグルトのラジカル捕そく性¹⁴¹⁾が明かにされているが, OH $\cdot$ ラジカルは短寿命 (言い換えれば, ほかのラジカルよりも高い酸化ストレス性を有している) なため, 再現性と定量性に欠ける. そこで, スピントラップ ESR 法によるラジカル種ごとの測定法¹⁴²⁾が提案され, スピントラップ剤である 5,5-ジメチル-1-ピロリン-1-オキシド (DMPO) や α -フェニル-N-t-ブチルニトロソ (PBN) 等による, ラジカル捕そく生成物の ESR スペクトル強度の変化から抗酸化性が評価されている. すなわち DMPO の場合, ニトロソの窒素原子に隣接する炭素にラジカルがトラップされることから, ラジカルに固有の窒素原子の超微細構造定数 (hfs) を基にラジカルを同定し, ESR シグナル強度変化から定量が行われる. ESR 法は簡便かつ, 短時間で測定が終了するため, お茶¹⁴³⁾, ヨーグルト¹⁴¹⁾, 色素¹⁴⁴⁾の抗酸化性評価に適用されているが, 装置的, あるいは技術的な困難さがある. 過酸化水素については, 四塩化チタンとの捕そく反応によって生じる 412 nm での吸光度の減少に基づいて評価¹⁴¹⁾されているが, この反応が過酸化水素特異的というわけではない. また, ペルオキシダーゼによる過酸化水素の分解に伴うフェノールレッドの酸化反応 ($\lambda_{\max}$; 610 nm) を利用して, 組織での過酸化水素蓄積量が求められている¹⁴⁵⁾. スーパーオキシド陰イオンラジカルについては, 生体内でその消去にかかわるスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の活性レベルと, 糖尿病や腎不全等の各種病態と密接な関係がある¹⁴⁶⁾ことが報告されて以来, その活性測定法と食品成分による O $_2^{\cdot-}$ 消去能についての研究^{144)147)~149)}がなされている. 測定の基本は, キサンチンあるいはヒポキサンチンのキサンチンオキシダーゼによる酸化反応によって生じる O $_2^{\cdot-}$ の O $_2$ への反応¹⁵⁰⁾を検出することにある. その検出にはシクロム c の還元反応を利用した方法 (550 nm での検出)¹⁵⁰⁾, 化学発光法¹⁵¹⁾等があるが, 検出法によって反応条件 (pH, 反応時間) や結果として見積もられる SOD 様活性が大きく異なる¹⁵²⁾ことから注意が必要である. Beauchamp ら¹⁵³⁾は, 生成した O $_2^{\cdot-}$ のニトロブルーテトラゾリウム (NTB) 還元によって生じるホルマザン量を 560 nm でモニターし, SOD 反応と拮抗させることによって間接的にその活性を評価している. また, Ukeda ら¹⁵⁴⁾は, 還元型ホルマザンが水溶性であるテトラゾリウム塩 XTT を用いた SOD 活性測定法を新たに設定, 赤ワイン, 緑茶, ココア, コーヒー等の飲料食品での適用性の高さを実証¹⁴⁸⁾している.

ラジカル種によらないトータルの抗酸化性評価法¹⁵⁵⁾¹⁵⁶⁾

が示されている. すなわち, 生成したラジカルをクロモゲン [ABTS; 2,2'-アジノビス-(エチルベンゾチアゾリンスルホン酸塩)] にトラップさせ, ABTS の陽イオンラジカルとメトミオグロビンの安定発色体量を 600 nm でモニターすることによって, 分光学的に抗酸化性が評価される. しかし, 生体内での酸化反応は脂質過酸化が主体となることから, 脂質過酸化反応抑制の程度が抗酸化性の尺度として取り扱われている. 一般的には, 不飽和脂肪酸 (リノール酸あるいはメチルリノール酸) あるいはその酸化物の GC 法¹⁵⁷⁾, HPLC 法¹⁵⁸⁾による直接測定, 酸化による共役ジェン増加量の UV 測定 (235 nm)¹⁵⁹⁾, チオバルビツール酸 (TBA) と過酸化生成物マロンジアルデヒドとの赤色反応物を 553 nm で定量する TBA 法¹⁶⁰⁾などから酸化度 (あるいは対象とする成分の添加による酸化抑制率; 抗酸化性) が評価される. ほかに Halliwell らの総説¹⁶¹⁾及び成書¹⁶²⁾に取りまとめられている. また, 食品成分の抗酸化性について多数報告がなされている. 成書¹⁶³⁾を参照されたい.

5 おわりに

高齢化社会の到来とともに, 健康にかかわる事項は国民の最大の関心事となりつつある. 医療費の増大を勘案すると, 予防医学的見地からの食生活, あるいは食品そのものの見直しは喫緊の要務であろう. 食品の持つ秘めた生体調節機能を更に明らかにしていくことは食品科学者にとっての使命であるが, 機能評価を迅速かつ簡便に行うことのできる分析化学の発展と両者の融合もまた必須と考える.

文 献

- 1) 国有達郎, 山本研二郎編: “レニンと高血圧”, p. 15 (1986), (メディカルレビュー).
- 2) 猿田亮男編: “高血圧” p. 242 (1992), (南江堂).
- 3) 萩原俊男, 猿田亮男, 日和田邦男編: “ACE 阻害薬のすべて”, p. 109 (1994), (先端医学社).
- 4) J. H. Laragh, B. M. Brenner: “Hypertension”, Chapter 80, p. 1287 (1990), (Raven Press, New York).
- 5) 伊藤敬一編: “高血圧 '91”, p. 16 (1991), (メディカルレビュー).
- 6) C. I. Johnston, L. M. Burrell: *J. Human Hypertens.*, **9**, 375 (1995).
- 7) A. M. Abdelrahman, L. M. Burrell, C. M. Johnston: *J. Hypertens.*, **11** (suppl 3), S23 (1993).
- 8) 東京大学内科高血圧外来編: “高血圧診断マニュアル”, (1994), (南江堂).
- 9) 阿部圭志編: “アンジオテンシン系降圧剤の新たな臨床”, (1996), (ヴァンメディカル).
- 10) 大石幸子, 加藤久雄, 三宅可浩編: “キニンとアンジオテンシン”, p. 240 (1994), (講談社).
- 11) R. Boucher, J. Menard, J. Genest: *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **45**, 881 (1967).
- 12) F. Gross, J. Lazar, H. Orth: *Science* (Washington, D.C.), **175**, 656 (1971).
- 13) L. T. Skeggs, K. E. Lentz, J. R. Kahn, H.

- Hochstrasser: *J. Exp. Med.*, **128**, 13 (1968).
- 14) D. A. Tewsbury: *Federation Proc.*, **42**, 2724 (1983).
- 15) D. A. Tewsbury, R. A. Dart, J. Travis: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **99**, 1311 (1981).
- 16) T. Aoyagi, H. Morishima, R. Nishizawa, S. Kunitomo, T. Takeuchi, H. Umezawa: *J. Antibiotics*, **25**, 689 (1972).
- 17) F. X. Galen, C. Devaux, P. Grogg, J. Menard, P. Corvol: *Biochim. Biophys. Acta*, **523**, 485 (1978).
- 18) F. A. Mendelsohn, C. I. Johnston: *Biochem. J.*, **7**, 121, 241 (1971).
- 19) A. A. Ontjes, J. Majstoravich, J. Roberts: *Anal. Biochem.*, **45**, 374 (1972).
- 20) N. Bath, R. I. Gregerman: *Biochemistry*, **11**, 2845 (1972).
- 21) K. Murakami, T. Ohsawa, S. Hirose, K. Takada, S. Sakakibara: *Anal. Biochem.*, **110**, 232 (1981).
- 22) F. E. Dorer, K. E. Lentz, J. R. Kahn, M. Levine, L. T. Skeggs: *J. Biol. Chem.*, **253**, 3140 (1978).
- 23) M. Poe, J. K. Wu, T.-Y. Lin, K. Hoogsteen, H. G. Bull, E. E. Slater: *Biol. Biochem.*, **140**, 459 (1984).
- 24) J. A. Millar, B. J. Leckie, J. J. Morton, J. Jordan, M. Tree: *Clin. Chim. Acta*, **101**, 5 (1980).
- 25) K. Poulsen, J. Jorgensen: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **39**, 816 (1974).
- 26) M. Szelke, B. Lckie, A. Hallett, D. M. Jones, J. Sueiras, B. Atrash, A. F. Lever: *Nature (London)*, **299**, 555 (1982).
- 27) J. S. Diaz, D. M. Jones, M. Szelke, B. J. Leckie, S. R. Beattie, C. Beattie, J. J. Morton: *J. Peptide Res.*, **50**, 239 (1997).
- 28) I. Ikeda, K. Iinuma, M. Takai, Y. Yanagawa, K. Kurata, T. Ogihara, Y. Kumahara: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **54**, 423 (1981).
- 29) J. S. Diaz, D. M. Jones, M. Szelke, J. Deinum, L. Svensson, C. Westerlund, M. Sohtell: *J. Peptide Res.*, **50**, 248 (1997).
- 30) Nichols Institute Diagnostics Catalog: Angiotensin II Radioisotopic Assay.
- 31) T. Kokubu, E. Ueda, S. Fujimoto, K. Hiwada, A. Kato, H. Akutsu, Y. Yamamura: *Nature (London)*, **217**, 456 (1968).
- 32) J. Boger, N. C. Lohr, E. H. Ulm, M. Poe et al.: *Nature (London)*, **303**, 81 (1983).
- 33) M. C. Allen, C. G. Stafford, M. R. Nocerini: *J. Chromatogr. B*, **696**, 243 (1997).
- 34) C. G. Huggins, N. S. Thampi: *Life Sci.*, **7**, 633 (1968).
- 35) F. E. Dorer, L. T. Skeggs: *Anal. Biochem.*, **33**, 102 (1970).
- 36) J. Friedland, E. Silverstein: *Am. J. Clin. Pathol.*, **68**, 225 (1977).
- 37) H. Urata, A. Kinoshita, K. S. Misono, M. Bumpus, A. Husain: *J. Biol. Chem.*, **265**, 22348 (1990).
- 38) H. Matsufuji, T. Matsui, S. Ohshige, T. Kawasaki, K. Osajima, Y. Osajima: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 1398 (1995).
- 39) J. O. Kokkonen, J. Saarinen, P. T. Kovanen: *Circulation*, **95**, 1455 (1997).
- 40) Q. C. Meng, S. Oparil: *J. Chromatogr. A*, **743**, 105 (1996).
- 41) D. W. Cushman, H. S. Cheung: *Biochem. Pharmacol.*, **20**, 1637 (1971).
- 42) H. S. Cheung, D. W. Cushman: *Biochim. Biophys. Acta*, **293**, 451 (1973).
- 43) T. H. Unger, B. Schull, W. Rascher: *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 3063 (1982).
- 44) F. E. Dorer, L. R. Kahn, K. E. Lentz, M. Levine, L. T. Skeggs: *Circ. Res.*, **31**, 356 (1972).
- 45) H. M. Neels, S. L. Scharpe, M. E. van Sande, R. W. Verkerk, K. J. van Acker: *Clin. Chem.*, **28**, 1352 (1982).
- 46) H. M. Neels, M. E. van Sande, S. L. Scharpe: *Clin. Chem.*, **29**, 1399 (1983).
- 47) H.-S. Cheung, F.-L. Wang, A. A. Ondetti, E. F. Sabo, D. W. Cushman: *J. Biol. Chem.*, **255**, 401 (1980).
- 48) D. Depierre, J. P. Bargetzi, M. Roth: *Biochim. Biophys. Acta*, **523**, 469 (1978).
- 49) Y. Kasahara, Y. Ashihara: *Clin. Chem.*, **27**, 1922 (1981).
- 50) M. C. Araujo, R. I. Melo, N. E. Del, M. F. Alves et al.: *J. Hypertension*, **17**, 665 (1999).
- 51) J. Lieberman: *Am. J. Med.*, **59**, 365, (1975).
- 52) 山本節子, 戸井田一郎, 岩井和郎: 日胸疾会誌, **18**, 297 (1980).
- 53) Y. Saito, K. Watanabe, A. Kawato, S. Imayasu: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 1767 (1994).
- 54) 後藤光弘, 水野兼志, 松井遵一郎, 福地総逸: 日腎誌, **25**, 121 (1983).
- 55) M. Horiuchi, K. Fujimura, T. Terashima, T. Iso: *J. Chromatogr. B*, **233**, 123 (1982).
- 56) W. Tsuzuki, Y. Kikuchi, K. Shinohara, T. Suzuki: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **39**, 188 (1992).
- 57) J. Friedland, E. Silverstein: *Am. J. Clin. Pathol.*, **66**, 416 (1976).
- 58) T. Matsui, H. Matsufuji, Y. Osajima: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **56**, 517 (1992).
- 59) I. L. Natoff: *Cardvasc. Drugs Ther.*, **1**, 15 (1987).
- 60) S. Maruyama, H. Suzuki: *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 1393 (1982).
- 61) T. Matsui, C.-H. Li, Y. Osajima: *J. Peptide Sci.*, **5**, 289 (1999).
- 62) Y. Isono: *Food Sci. Technol. Int.*, **2**, 213 (1996).
- 63) Y. Nakamura, N. Yamamoto, K. Sakai, A. Okubo, S. Yamazaki, T. Takano: *J. Dairy Sci.*, **78**, 777 (1995).
- 64) E. Kinoshita, J. Yamakoshi, M. Kikuchi: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 1107 (1993).
- 65) 齊藤義幸, 中村圭子, 川戸章嗣, 今安 聡: 日本農芸化学会誌, **66**, 1081 (1992).
- 66) S. Maruyama, S. Miyoshi, H. Tanaka: *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2763 (1989).
- 67) Y. Kohama, S. Matsumoto, H. Oka, T. Teramoto, M. Okabe, T. Mimura: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **155**, 332 (1988).
- 68) 河村幸雄, 杉本敏男, 高根俊一, 佐竹幹雄: 微量栄養素研究, **6**, 117 (1989).
- 69) 受田浩之, 松田秀喜, 箴島克裕, 松藤 寛, 松井利郎, 箴島 豊: 日本農芸化学会誌, **66**, 25 (1992).
- 70) 末綱邦男: 基礎と臨床, **25**, 249 (1991).
- 71) H. Matsufuji, T. Matsui, E. Seki, K. Osajima, M. Nakashima, Y. Osajima: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 2244 (1994).
- 72) N. Matsumura, M. Fujii, Y. Takeda, K. Sugita, T. Shimizu: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 695 (1993).
- 73) K. Yokoyama, H. Chiba, M. Yoshikawa: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **56**, 1541 (1992).
- 74) G. Oshima, H. Shimabukuro, K. Nagasawa: *Biochim. Biophys. Acta*, **556**, 128 (1979).

- 75) S. Maruyama, K. Nakagomi, N. Tomizuka, H. Suzuki: *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 1405 (1985).
- 76) N. Yamamoto, T. Takano: *Nahrung*, **43**, 159 (1999).
- 77) T. Ohta, A. Iwashita, S. Sasaki, Y. Kawamura: *Food Sci. Technol. Int. Tokyo*, **3**, 339 (1997).
- 78) S. Miyoshi, H. Ishikawa, T. Kaneko, F. Fukui, H. Tanaka, S. Maruyama: *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1313 (1991).
- 79) A. Abubakar, T. Saito, H. Kitazawa, Y. Kawai, T. Itoh: *J. Dairy Sci.*, **81**, 3131 (1998).
- 80) 江藤義春, 伊藤友美, 西岡茂子: 日本栄養・食糧学会誌, **51**, 355 (1998).
- 81) M. M. Mullally, H. Meisel, R. J. FitzGerald: *FEBS Lett.*, **402**, 99 (1997).
- 82) Y. Kohama, H. Oka, Y. Kayamori, K. Tsujikawa, T. Mimura, Y. Nagase, M. Satake: *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2169 (1991).
- 83) S. Maruyama, S. Miyoshi, T. Kaneko, H. Tanaka: *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 1077 (1989).
- 84) Y. Kohama, N. Nio, K. Kubo, Y. Minoshima, E. Munekata, Y. Ariyoshi: *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2107 (1989).
- 85) M. Kohmura, N. Nio, Y. Ariyoshi: *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 835 (1990).
- 86) K. Kimoto, Y. Kuroda, Y. Saito, J. Yamamoto, T. Murakami, Y. Aoyagi: *Food Sci. Technol. Int. Tokyo*, **4**, 223 (1998).
- 87) E. Shimizu, A. Hayashi, R. Takahashi, Y. Aoyagi, T. Murakami, K. Kimoto: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **45**, 375 (1999).
- 88) Y. Miyake, K. Kuzura, C. Ueno, N. Katayama, T. Hayakawa, H. Tsuge, T. Osawa: *Food Sci. Technol. Int. Tokyo*, **4**, 29 (1998).
- 89) 受田浩之, 松田秀喜, 黒田浩之, 箴島克裕, 松藤寛, 箴島 豊: 日本農芸化学会誌, **65**, 1223 (1991).
- 90) 末綱邦男, 箴島克裕: 日本栄養・食糧学会誌, **42**, 47 (1989).
- 91) N. Yamamoto, M. Maeno, T. Takano: *J. Dairy Sci.*, **82**, 1388 (1999).
- 92) Y. Saito, K. Watanabe, A. Kawato, S. Imayasu: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 812 (1994).
- 93) 杉山圭吉, 高田康二, 江川 真, 山本郁雄, 恩塚博, 大場健吉: 日本農芸化学会誌, **65**, 35 (1991).
- 94) O. Masuda, Y. Nakamura, T. Takano: *J. Nutr.*, **126**, 3063 (1996).
- 95) 関 英治, 川崎晃一, 吉田真弓, 箴島克裕, 玉屋圭, 松井利郎, 箴島 豊: 日本栄養・食糧学会誌, **52**, 2171 (1999).
- 96) 矢岡 修, 青木一巳, 中島 透, 瀬戸口通英: 日本薬理学雑誌, **102**, 35 (1993).
- 97) 関谷宗一郎, 小林義雄, 喜多英一, 今村吉水, 戸山靖一: 日本栄養・食糧学会誌, **45**, 513 (1992).
- 98) 藤田裕之, 安本良一, 長谷川昌康, 大嶋一徳: 薬理と治療, **25**, 2161 (1997).
- 99) 上園慶子, 川崎晃一, 阿部 功, 鍵山俊太郎, 天本敏昭, 中沢慶久, 中田千登世, 鬼塚重則: *Therapeutic Res.*, **18**, 94 (1997).
- 100) Y. Hata, M. Yamamoto, M. Ohni, K. Nakajima, Y. Nakamura, T. Takano: *Am. J. Clin. Nutr.*, **64**, 767 (1996).
- 101) 川崎晃一, 関 英治, 箴島克裕, 吉田真弓, 浅田浩造, 松井利郎, 箴島 豊: 健康・栄養食品研究, **1**, 62 (1998).
- 102) T. Kawasaki, K. Osajima, E. Seki, M. Yoshida, K. Asada, T. Matsui, Y. Osajima: *J. Hypertension*, **16** (suppl. 2), S25 (1998).
- 103) T. Matsui, H. Matsufuji, T. Kawasaki, Y. Osajima: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 1814 (1997).
- 104) T. Matsui, K. Tamaya, K. Matsumoto, Y. Osajima, K. Uezono, T. Kawasaki: *Hypertens. Res.*, **22**, 273 (1999).
- 105) 景山 茂著: “糖尿病治療薬の選び方と使い方” (1996), (南江堂).
- 106) 岩本安彦: ホルモンと臨床, **47**, 95 (1999).
- 107) N. Nakai, Y. Fujii, K. Kobashi, K. Nomura: *Arch. Biochem. Biophys.*, **239**, 491 (1985).
- 108) M. Yoshikawa, H. Shimada, N. Nishida, Y. Li, I. Toguchida, J. Yamahara, H. Matsuda: *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 113 (1998).
- 109) 豊田隆謙: ホルモンと臨床, **43**, 175 (1995).
- 110) M. Honda, Y. Hara: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 123 (1993).
- 111) J. Watanabe, J. Kawabata, H. Kurihara, R. Niki: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 177 (1997).
- 112) T. Nishioka, J. Watanabe, J. Kawabata, R. Niki: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 1138 (1997).
- 113) H. Kurihara, M. Hatano: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **5**, 1241 (1995).
- 114) H. Kurihara, T. Mitani, J. Kawabata, M. Hatano: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 536 (1997).
- 115) T. Matsui, T. Oki, Y. Osajima: *Z. Naturforsch.*, **54C**, 259 (1999).
- 116) Y. Sawada, T. Tsuno, T. Ueki, H. Yamamoto, Y. Fukagawa, T. Oki: *J. Antibiotics*, **46**, 507 (1993).
- 117) 三浦理代, 五明紀春: 日食科工誌, **43**, 157 (1996).
- 118) H. P. Hauri, H. Wacker, E. E. Rickli, B. B. Meier, A. Quaroni, G. Semenza: *J. Biol. Chem.*, **257**, 4522 (1982).
- 119) M. Takeuchi, N. Takai, N. Asano, Y. Kameda, K. Matsui: *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 1970 (1990).
- 120) M. Yoshikawa, T. Murakami, K. Yashiro, H. Matsuda: *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 1339 (1998).
- 121) Y. Kameda, N. Asano, M. Yoshikawa, M. Takeuchi, T. Yamaguchi, K. Matsui: *J. Antibiotics*, **17**, 1301 (1984).
- 122) S. Horii, H. Fukase, T. Matsuo, Y. Kameda, N. Asano, K. Matsui: *J. Med. Chem.*, **29**, 1038 (1986).
- 123) K. Nakahara, S. Kawabata, H. Ono, K. Ogura, T. Tanaka, T. Ooshima, S. Hamada: *Appl. Environm. Microbiol.*, **968**, 59 (1993).
- 124) T. Oki, T. Matsui, Y. Osajima: *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 550 (1999).
- 125) H. Kurihara, M. Sasaki, M. Hatano: *Fish. Sci.*, **60**, 759 (1994).
- 126) 浅野敏彦, 吉村康美, 樺田清彦: 日本栄養・食糧学会誌, **49**, 157 (1996).
- 127) H. C. Shi, Q. Y. Huang, R. Yamaji, H. Inui, T. Fujita, K. Miyatake, Y. Nakano, T. Tada, K. Nishimura: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 1225 (1998).
- 128) N. Matsumoto, F. Ishigaki, A. Ishigaki, H. Iwashita, Y. Hara: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 525 (1993).
- 129) K. Seri, K. Sanai, N. Matsuo, K. Kawakubo, C. Xue, S. Inoue: *Metabolism*, **45**, 1368 (1996).
- 130) 讃井和子, 世利謙二, 井上修二: 日本栄養・食糧学会誌, **50**, 133 (1997).
- 131) 松浦寿喜, 市川富夫: 日本栄養・食糧学会誌, **50**, 363 (1997).
- 132) Y. Yoshikuni: *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 121 (1988).
- 133) 末綱邦男, 箴島克裕: 基礎と臨床, **22**, 261 (1988).

- 134) 草野崇一, 阿部浩之, 岡田篤典: 日本農芸化学会誌, **72**, 1045 (1998).
- 135) 藤野正行, 何 普明: 日食科工誌, **45**, 618 (1998).
- 136) 出口ヨリ子, 長田邦子, 内田和美他: 日本農芸化学会誌, **72**, 923 (1998).
- 137) 森本聡尚, 宮崎俊之, 村山隆二, 児玉俊明, 北村育夫, 井上修二: 日本栄養・食糧学会誌, **52**, 285 (1999).
- 138) 森本聡尚, 宮崎俊之, 鈴木誠一: 健康・栄養食品研究, **1**, 56 (1998).
- 139) 森本聡尚, 田中俊一, 宮崎俊之, 児玉俊明, 北村育夫, 井上修二: 日本栄養・食糧学会誌, **52**, 293 (1999).
- 140) 藤巻正生著: “機能性食品と健康”, p. 64 (1999), (裳華房).
- 141) M. Y. Lin, C. L. Yen: *J. Dairy Sci.*, **82**, 1629 (1999).
- 142) 手老省三: 蛋白質 核酸 酵素, **33**, 2693 (1988).
- 143) T. Yokozawa, E. Dong, T. Nakagawa, H. Kashiwagi, H. Nakagawa, S. Takeuchi, H. Y. Chung: *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 2143 (1998).
- 144) T. Tsuda, K. Shiga, K. Ohshima, S. Kawakishi, T. Osawa: *Biochem. Pharm.*, **52**, 1033 (1996).
- 145) Y. Nakamura, Y. Ohto, A. Murakami, T. Osawa, H. Ohigashi: *Jpn. J. Cancer Res.*, **89**, 361 (1998).
- 146) D. P. Chauhan, P. H. Gupta, M. R. N. Nampoothiri, K. S. Singhal, C. R. Nair: *Clin. Chem. Acta*, **123**, 153 (1982).
- 147) G. C. Yen, H. Y. Chen: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 1768 (1998).
- 148) 島村智子, 前田 進, 受田浩之, 沢村正義: 日本農芸化学会誌, **72**, 1181 (1998).
- 149) T. Oda, M. Ebara, S. Matsumoto, S. Urano, Y. Sato: *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 586 (1999).
- 150) J. M. McCord, I. Fridovich: *J. Biol. Chem.*, **244**, 6049 (1969).
- 151) L. C. McPhail, L. R. Dechatlet, R. B. Johnstone: *J. Clin. Invest.*, **63**, 648 (1979).
- 152) Y. Oyanagui: *Anal. Biochem.*, **142**, 290 (1984).
- 153) C. Beauchamp, I. Fridovich: *Anal. Biochem.*, **44**, 276 (1971).
- 154) H. Ukeda, S. Maeda, T. Ishii, M. Sawamura: *Anal. Biochem.*, **251**, 206 (1997).
- 155) G. J. Soleas, G. Tomlinson, E. P. Diamandis, D. M. Goldberg: *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 3995 (1997).
- 156) D. M. Goldberg, B. Hoffman, J. Yang, G. J. Soleas: *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3978 (1999).
- 157) E. N. Frankel, C. A. Bosanek, A. S. Meyer, K. Silliman, L. L. Kirk: *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 834 (1998).
- 158) C. Xue, G. Yu, T. Hirata, J. Terao, H. Lin: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 206 (1998).
- 159) M. P. Kahkonen, A. I. Hopia, H. J. Vuorela, J. P. Rauha, K. Pihlaja, T. S. Kujala, M. Heinonen: *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3954 (1999).
- 160) H. Kosugi, T. Kato, K. Kikugawa: *Anal. Biochem.*, **165**, 456 (1987).
- 161) B. Halliwell, S. Chirico: *Am. J. Clin. Nutr.*, **57** (suppl), 715S (1993).
- 162) 川岸舜朗編: “食品中の生体機能調節物質研究法”, p. 13 (1996), (学会出版センター).
- 163) 吉川敏一監修: “老化予防食品の開発”, (1999), (シーエムシー)

要 旨

生活習慣病に代表されるように, 現代人を蝕む疾病は老若男女を問わず生活習慣の破たんとしてひき起こされる。特に, 高血圧症, 糖尿病の発症並びに進行は食生活と密接な関係にあることから, 第一の治療法として非薬事療法(食生活の改善)が施される。しかし, 疾病者のQOLを考慮すると, 非薬事療法といえども食事内容の制限が主体となることから, 十分な食事療法とはいえない。そこで本稿では, 1987年藤巻らの提唱した食品の第三の機能(生体調節機能)について, 現在までの成果(特に高血圧予防, 糖尿病予防を中心に)について概説し, 食品機能の顕在化, 生理評価法について述べる。すなわち, 高血圧予防については, 昇圧にかかわる代謝系であるレニン-アンギオテンシン系の *in vitro* 及び *in vivo* 制御法について論述する。また, 糖尿病予防については, 小腸上皮微絨毛膜に存在し, グルコースの生成, 吸収にかかわる α -グルコシダーゼに対する阻害評価法を概説する。更に, 近年活発な研究がなされている抗酸化性についてもその評価法を中心に論述する。