特集 機能性食素材の開発動向

アスタキサンチンを主成分とする健康食品の開発

幹 渉

サントリー㈱ 食品研究所

Development of consumers' health product containing astaxanthin as a principle constituent

WATARU MIKI

Institute for Food and Beverage, Suntory Limited, Mishima, Osaka 618-0012, Japan

1. はじめに

近年、世は健康食品ブームで、数多くの商品が主として通信販売や訪問販売、あるいはドラッグストアやスーパーマーケットで販売されるようになってきた。我々も約10年前から健康食品事業に参入し複数の商品を開発してきた。その中でも特徴ある開発商品のひとつとして、ゴマ抽出物から得られたゴマリグナンの一種があげられる。本化合物は、両側にメチレンジオキシド残基を有することが特徴で、このことが本化合物特有の抗酸化活性を、有効にヒト体内で発現するキーになっている。すなわち、ヒトが食したときには極めて極性が低く、また胃で消化されないため、スムーズに肝臓に移行する。肝臓で初めてP-450による酵素分解を受け、メチレンジオキシドが加水分解されてジカテコール体となり、フリーラジカルの有効な捕捉物質（スカベンジャー）として活性を発現する。ここがキーポイントで、ヒトが食する段階でカテコール残基を有する化合物は、茶類のカテキン類など数多くあるが、これらは試験管内では有効な活性を示すものの、極性が高すぎ、また、水酸基が露出しているため、肝臓に移行しない。ゴマリグナンのような有用化合物の探索は非常に難しい。すなわち、一般的な抗酸化アッセイを指標とするスクリーニングによっては得ることができず、ターゲットを絞った天然物化学的手法が必要である。さらに、これら有用化合物の体内動態もおさえる必要がある。我々は、これらの研究に、先進技術と異分野技術を駆使し、確実な商品のバックデータを揃えてきた。世の中に氾濫する、ある種いい加減な健康食品を駆逐し、本当に良い物だけを消費者に提供するためには、確実な科学的データの蓄積が必要であると考えている。ここでは水産物を原料とする健康食品の代表例として、アスタキサンチンを含有する商品の開発事例について述べてみたい。

2. アスタキサンチン研究の経緯

筆者がアスタキサンチンと出会ったのは、東大農学部の水産化学研究室に在籍していたことで、もうかれこれ

25年以上前の話になる。ところが、当時の研究対象は甲殻類の水溶性化合物だったので、今や筆者自身にとって、ライフワークともいえる研究対象化合物のアスタキサンチンは、何と脱脂して捨てる対象であった！その後、20年ほど前になって、魚介類の卵巣に含まれるカロテノイドを研究するに至り、最も普遍的に存在するカロテノイドがアスタキサンチンであったこと¹⁾が、現在、同化合物を主成分として含む健康食品の開発に繋がったわけである。直接のきっかけとなったのは、東京水産大学の渡辺 武先生との共同研究で、「養殖マダイの卵に与える餌料の効果」について研究を行っていた過程で、 β -カロテンにはまったく活性がないのに対し、アスタキサンチンに、 α -トコフェロールと比較して、約40倍の強さの卵質改善効果を認めたことである。²⁻³⁾特にこの活性は、油球数や油球位置の異常を抑えるなど、油球に関連した何かと関係があるのではないかと考えられた。この研究を契機に、筆者は脂質の酸化に対するカロテノイドの効果についての研究をはじめた。1988年になって、当時高知医大におられた内海先生のグループとの共同研究で、初めてアスタキサンチンの哺乳類での脂質の過酸化防止を*in vitro*のみならず、*in vivo*でも認め、驚いたことにその活性が、 α -トコフェロールの数百倍にも及ぶことを知ったとき、筆者は体が震える思いがした。^{4,5)}その後、アスタキサンチンが血液脳関門を通過するし、脳でも活性を示すことや⁶⁾⁶⁰Co照射による体内脂質の過酸化を抑えること、⁶⁾虚血性心疾患の原因となる血中LDL酸化を抑制すること⁷⁾等を順次明らかにしてきた。これらアスタキサンチンの生理機能は、「抗酸化」活性として現されるものではあるが、その作用メカニズムとしては、決して単純ではない。次項で、これらに関する研究について、概説したい。

3. アスタキサンチンの「抗酸化」活性

「抗酸化」という用語が最近、世の中で普遍的に用いられているが、その意味も多様であり、不明確な点も多い。また、筆者はカロテノイドと活性酸素の関連につい

て20数年にわたって研究を続けてきたが、未だに不明な部分が多い。しかし一方、 β -カロテンをはじめ各種カロテノイドが広く食品や健康食品に加えられ、着色料として以外の、いわゆる「抗酸化」に代表される生理活性が期待されている現実を鑑みると、これらの関連性を科学的に追求することが必須である。そこで本項では、「抗酸化」の意味の再確認とこれに係る「抗酸化」剤としてカロテノイド、特にアスタキサンチンについて言及したい。

3.1 「抗酸化」活性

「抗酸化」物質の作用の概要は以下の式に示すことができる。

これらを見ると、「抗酸化」物質が基質の酸化反応を抑制しているようにも見えるが、実は、酸素に対する基質と「抗酸化」物質との競争反応であり、ここで言う酸素は分子状酸素ではありえないから、言い換えると酸素ラジカル（一重項酸素と過酸化水素は異なるが）の奪い合いである。酸素は以下に示す経路で活性化（主として還元反応・不均化反応）されて活性酸素となり、各種の過酸化物を生成する。

概略を説明すると、分子状酸素（ $^3\text{O}_2$ ）から一重項酸素（ $^1\text{O}_2$ ）への変換は、電子スピンの変化であり、通常、光あるいは他の活性酸素によってこの反応は触媒される。 $^1\text{O}_2$ は極めて反応性が高く、短寿命なため、生体に与える影響も大きい。 $^3\text{O}_2$ からスーパーオキシドアニオンラジカル（ $\cdot\text{O}_2^-$ ）を経て過酸化水素（ H_2O_2 ）に至る経路は、一電子還元によって、主として水中で起こり、キサントキシンオキシダーゼなどの酸化酵素、ポリフェノール類等が触媒する。ポリフェノール類は $\cdot\text{O}_2^-$ のスカベンジャーでもあるわけで、いわば酸素に活性化に対してマッチポンプのような役割を果たすわけである。 H_2O_2 からヒドロキシルラジカル（ $\cdot\text{OH}$ ）への反応は、水中で主として金属が触媒し、不均化反応として進行する。生成する $\cdot\text{OH}$ は反応性が高く、タンパク質や脂質酸化の主分子種である。代表的なものとして脂質（LH）に対する酸化的攻撃の例を示した。LHは $\cdot\text{OH}$ にアタック（ラジカル酸化）されて、有機フリーラジカル（ $\text{L}\cdot$ ）を生

じ、酸素存在下でペルオキシラジカル（ $\text{LOO}\cdot$ ）が生成する。 $\text{LOO}\cdot$ はLHとの交換反応によって、過酸化脂質（ LOOH ）を生じることになる。式(3)を見て解るように、 $\cdot\text{OH}$ の発生に伴い、1分子種から大量の LOOH が生じることになる。この反応を、ラジカル連鎖反応と呼んでいる。それぞれの分子種に対して、スカベンジャーの効果も異なることになる。ここでは、カロテノイドの、各酸素分子種に対するスカベンジャーとしての働きについて、順次述べる。

3.2 一重項酸素（ $^1\text{O}_2$ ）

筆者らは $^1\text{O}_2$ 由来の化学発光を化学発光検出器で直接測定する方法によるカロテノイドの $^1\text{O}_2$ 消去活性の定量法を開発した。⁸⁾本法は光照射が不要であることに特徴がある。すなわち、 $^1\text{O}_2$ の発生源として、まず熱依存性のジメチルナフタレンエンドペルオキシドを低温（4℃以下）で有機合成した。この過酸化物は常温では選択的に $^1\text{O}_2$ を発生するため、室温で $^1\text{O}_2$ 由来の化学発光を直接測定し、各種カロテノイドの $^1\text{O}_2$ 消去活性を定量した。その結果、非極性溶媒中ではアスタキサンチン、ゼアキサンチンおよび β -カロテンの間に活性は大差なく、これらは α -トコフェロールの数倍にもおよぶ強い消去活性を示した。カロテノイド間での活性比較では水酸基あるいはカルボニル基の寄与よりもむしろ共役二重結合数の寄与が大きいと考えられた。すなわち、非極性溶媒中ではカロテノイドと $^1\text{O}_2$ との物理的な接触頻度はカロテノイド種による差異はあまりなく、むしろエネルギーの転換効率の方が重要であると考えられる。一方、極性溶媒中ではアスタキサンチンの活性が強く、 β -カロテンの約40倍であり、カンタキサンチンも強い活性を示したことより、水酸基よりもカルボニル基の重要性が明らかになった。

3.3 スーパーオキシドアニオンラジカル（ $\cdot\text{O}_2^-$ ）

$\cdot\text{O}_2^-$ 発生法の定法であるキサントキシン-キサントキシンオキシダーゼ系は非水系で使用できず、カロテノイドの活性測定には使用できないが、山形大学の尾形らは、無水DMSO中で酸素の電解によって $\cdot\text{O}_2^-$ を発生させ、DMPOアダクトをESRで測定することにより、非水系での $\cdot\text{O}_2^-$ の定量を可能にした。本系を用いてカロテノイドのラジカル捕捉活性を調べたところ、 α -トコフェロール、アスタキサンチンおよびビキシンは弱い活性を示したが、ゼアキサンチンおよび β -カロテンはまったく活性を示さなかった。すなわち、 $\text{C}=\text{O}$ 結合の存在が重要と考えられる。⁹⁾

3.4 ヒドロキシルラジカル（ $\cdot\text{OH}$ ）

非水系で $\cdot\text{OH}$ を発生させるにはフェントン反応（ H_2O_2 と金属による不均化反応）は使用できず、現在のところ光反応系しかない。一方、光反応を行うと、カロテノイド自身がダメージを受けるため、現在のところ

定量不能である。非水系での画期的な化学反応の新規開発に期待する。

3.5 ペルオキシラジカル ($\text{LOO}\cdot$)

筆者らは非水系中における $\text{LOO}\cdot$ 発生法を開発し、カロテノイドのラジカル捕捉活性を調べた。すなわち、DMSO 中でクメンヒドロペルオキシド (CHP) と $\text{TPP}\cdot\text{Fe(III)}$ との反応、あるいは 2,2'-アゾビス-イソブチロニトリル (AIBN) の熱分解により $\text{LOO}\cdot$ が発生し、DMPO および PBN をスピントラップ剤に用いることで ESR 測定が可能となった。そこで DMSO 中で発生させた $\text{LOO}\cdot$ に対するカロテノイドの捕捉活性を検討したところ、 $\text{CHP}+\text{TPP}\cdot\text{Fe(III)}$ 系においては、ジクロロエタン中ではアスタキサンチンが最も強い活性を示した。AIBN の熱分解系においては、ジクロロエタン中 (トラップ剤として DMPO を使用) では β -カロテン、アスタキサンチンおよびリコペンとはほぼ同等の活性であったが、DMSO 中 PBN を用いた場合は α -トコフェロールの活性が勝っていた。このように非水系での $\text{LOO}\cdot$ 捕捉活性は条件によってかなり結果が異なるものの、カロテノイドの活性は際立ったものではなく、 α -トコフェロールの活性が最も安定していると言える。^{9,10)}

3.6 過酸化脂質 (LOOH)

酸素活性化パルスウェイの末流で発現するため、定量するには何らかのかたちで上流に位置する活性酸素を用いる必要がある。演者らはプロトポルフィリン-鉄系を用いて有機フリーラジカル ($\text{L}\cdot$) を発生し、カロテノイドの脂質過酸化抑制活性を定量したところ、アスタキサンチンに強い活性を認めた。その活性は α -トコフェロールの活性と比較して 100 倍以上であった。そこで、いくつかのカロテノイドの活性を比較検討した結果、カルボニル基や水酸基の活性に対する寄与が併せて明らかになった。¹¹⁾

以上、式(3)に登場する主な活性酸素種に対するカロテノイドの捕捉・消去活性を述べたが、カロテノイドは強い $^1\text{O}_2$ 消去活性および脂質過酸化抑制活性を示すが、他

の活性酸素種に対する活性はあまり強くなく、 $\cdot\text{O}_2^-$ に対してはスーパーオキシドディスムターゼが、 $\cdot\text{OH}$ に対してはアスコルビン酸が、また $\text{LOO}\cdot$ に対しては α -トコフェロールがそれぞれ最も効果的なスカベンジャーであると考えられる。これらの知見と、ヒトが摂取した後の体内動態を検討することにより、「抗酸化作用」をよりサイエンティフィックなものとし、ヒト体内での生理的な作用機作を明確にすることによって、より有用な健康食品の開発が期待できる。

文 献

- 1) Miki W, Yamaguchi K, Konosu S. Comparison of carotenoids in the ovaries of marine fish and shellfish. *Comp. Biochem. Physiol.* 1982; **71B**: 7-11.
- 2) Miki W, Yamaguchi K, Konosu S, Watanabe T. Metabolism of dietary carotenoids to eggs in red sea bream. *Comp. Biochem. Physiol.* 1984; **77B**: 665-668.
- 3) Watanabe T, Miki W. Astaxanthin: an effective dietary compound for red sea bream broodstock. *Colloq. INRA.* 1993; **61**: 27-36.
- 4) 倉繁 迪, 岡添陽子, 沖増英治, 安東由喜雄, 森 将晏, 幹 渉, 井上正康, 内海耕造. フリーラジカルによる生体膜障害とアスタキサンチンによるその防止. *Cyto-protect. Biol.* 1989; **7**: 383-391.
- 5) Miki W. Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure Appl. Chem.* 1991; **63**: 141-146.
- 6) Nishigaki I, Dmitrovskii AA, Miki W, Yagi K. Suppressive effect of astaxanthin on lipid peroxidation induced in rats. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 1994; **16**: 161-166.
- 7) Iwamoto T, Hosoda K, Hirano R, Kurata H, Matsumoto A, Miki W, Kamiyama M, Itakura H, Yamamoto S, Kondo K. Inhibition of Low-Density Lipoprotein Oxidation by Astaxanthin. *J. Atherosclerosis Thrombosis* 2001; **7**: 216-222.
- 8) N. Shimidzu N, Goto M, Miki W. Carotenoids as Singlet Oxygen Quenchers in Marine Organisms. *Fish. Sci.* 1996; **62**: 134-137.
- 9) Miki W. *Carotenoid Sci.* 2001; **4**: 37-38.
- 10) Namikawa K, Miki W. Scavenging activity of α -tocopherol against peroxyl radicals in various lipophilic solvents. In preparation.
- 11) Miki W, Otaki N, Shimidzu N, Yokoyama A. Carotenoids as free radical scavengers in marine animals. *J. Mar. Biotechnol.* 1994; **2**: 35-37.

執筆略歴

針生 仁

1948 年生まれ。専門分野：食品栄養学，食品科学。
1972 年京都大学大学院農学研究科修士課程終了。㈱シ
マヤ研究開発室室長（理事）

西川正純

1960 年生まれ。
専門・研究テーマ：水産化学，脂質生化学，薬理学
1982 年東北大学農学部水産学科卒，同年，大洋漁業㈱
（現，マルハ㈱）入社，現在，中央研究所主管研究員，
薬学博士，医学博士。
最近の主な研究活動：日本油化学会関東支部常任幹事

堂本信彦

1962 年生まれ。専門分野：発酵学，微生物生化学。
1988 年広島大学大学院生物圏科学研究科博士課程前期
修了。日本水産㈱中央研究所，㈱海洋バイオテクノロジー
研究所を経て，現在，日本水産㈱中央研究所主任研
究員。

幹 渉

1951 年生まれ。
専門分野：海洋天然物化学，生物有機化学。
1985 年東大大学院農学系研究科水産学専門課程博士課
程修了（農学博士）。㈱サントリー生物有機科学研究所
研究員，㈱海洋バイオテクノロジー研究所研究室長等
を経て，現在，サントリー㈱食品研究所部長。この間，京
都工業繊維大学客員教授等を歴任。

増田泰伸

1964 年生まれ。専門分野：栄養学。
徳島大学医学部栄養学科卒業。徳島大学大学院栄養学研
究科修士課程修了。キューピー㈱入社。高知医科大学研
究生。現在，キューピー㈱研究所基盤技術研究部チーム
リーダー。医学博士。