

令和元年6月18日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00874

研究課題名(和文) シイタケフレーバー前駆体による高嗜好性・高機能性食品の創製

研究課題名(英文) Production of functional foods with high sensory properties by using flavor precursor of shiitake mushrooms

研究代表者

熊谷 日登美 (KUMAGAI, Hitomi)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：20225220

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：シイタケフレーバーの前駆体であるレンチニン酸の検出法を確立し、シイタケからレンチニン酸を単離し検量線を作成した。次に、品種、栽培方法、加工方法の異なるシイタケ中のレンチニン酸含量を測定した。さらに、レンチニン酸高含有シイタケ抽出物(Shiitake-H)の血中エタノール濃度上昇抑制作用を測定した。Shiitake-Hの経口投与により、血中エタノール濃度の上昇が抑制された。その作用メカニズムは、レンチニン酸が胃および小腸からのエタノールの吸収を抑制すると共に、肝臓においてアルコールデヒドロゲナーゼおよびアルデヒドデヒドロゲナーゼの活性を亢進し、エタノール代謝を促進することによるものであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、食品の生体調節機能に関する研究が盛んに行われているが、その多くは、生理機能にのみ着目し、嗜好性も視野にいれた研究は少ない。本研究は、無味・無臭であるシイタケフレーバー前駆体を用いて、その機能性を明らかにした。本研究の成果は、食品科学において、新たな機能性成分の発見という点でも意義があるが、さらに、シイタケフレーバー前駆体を高含有するシイタケ抽出物が、血中エタノール濃度上昇抑制作用を有することを見出したことから、多成分を含む食品の状態でも、効果が発揮されるということを示した点でも意義がある。本研究の成果は、嗜好性と機能性が高い新たな食品の創製につながることを期待できる。

研究成果の概要(英文)：The method to evaluate the amount of lentinic acid, a flavor precursor of shiitake mushrooms, was established. Then, the amount of lentinic acid in shiitake mushrooms of different species, cultivation method, and processing mushrooms was compared. In addition, the suppressive effect of shiitake extract with high lentinic-acid content on the elevation of ethanol concentration in blood was examined. The orally-administered shiitake extract with high lentinic-acid content suppressed the elevation in blood ethanol concentration. Shiitake extract with high lentinic acid suppressed ethanol absorption from stomach and small intestine and promoted ethanol metabolism by inducing alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase.

研究分野：食品科学

キーワード：シイタケフレーバー前駆体 レンチニン酸 血中エタノール濃度上昇抑制 エタノール吸収抑制 エタノール代謝促進

1. 研究開始当初の背景

食品の三次機能の概念が明確になって以来、様々な食品成分の生体調節機能特性に関する研究が数多く行われてきている。しかし、国内外の研究の多くは、試薬レベルの単一の化合物を用いて機能の評価しており、多成分を含む食品として、嗜好性にも配慮した生体調節機能に関する研究は限られている。食品は複合系であり、また、経口により摂取するため、好ましい嗜好性(味・香り・テクスチャー等)を有し、他成分と相互作用をしても活性を保持し、消化・吸収後にターゲット部位で機能性を発揮する必要がある。研究代表者は、良好な嗜好性を有し、生体内において機能を発揮する食品素材の開発および、その機能性成分の作用機序の解明に関する研究を行ってきた。

ニンニクの臭気前駆体であるアリルシステインスルフォキシド(ACSO)に関しては、生体内で、血小板凝集抑制作用、血中アルコール濃度上昇抑制作用等の様々な薬理効果を示すことを、既に明らかにしている。ACSOは、ニンニク中の酵素C-Sリアーゼで分解されると、ジアリルジスルフィドやジアリルトリスルフィド等の生理活性物質となるが、これらは脂溶性の臭気成分のため、食品への利用が困難である。一方、ACSOは、無味・無臭・水溶性で、さらに、甘味、うま味、塩味等の呈味増強作用を有することから、嗜好性と生体調節機能特性の高い食品成分としての利用が可能である。

シイタケにおいては、細胞が破壊されると、レンチニン酸に、 γ -グルタミルトランスフェラーゼおよびC-Sリアーゼが作用し、レンチオニン等の環状硫黄揮発性成分が生成する。研究代表者は、レンチオニンが、ニンニク臭気成分のスルフィド類と類似の生理活性を示すことを既に明らかにしている。

2. 研究の目的

シイタケ中のフレーバー前駆体物質であるレンチニン酸は、ニンニク中のACSOと類似の構造をしており、また、フレーバー生成機構も類似していることから、ACSOと同様の生理作用を有することが期待できる。しかしながら、レンチニン酸は合成が困難であるため、単一物質を用いた生理活性の評価は困難である。そこで本研究では、まず、シイタケからレンチニン酸を精製して検量線を作成し、レンチニン酸の定量法を確立した後、シイタケの品種や加工法が、レンチニン酸含量に及ぼす影響について検討した。さらに、レンチニン酸を高含有するシイタケ抽出物とレンチニン酸未含有抽出物を調製し、これらを用いて、レンチニン酸の血中アルコール濃度上昇抑制作用およびその作用メカニズムについて検討した。

3. 研究の方法

(1) レンチニン酸の精製および定量

生シイタケからメタノール-水混液(3:1)で可能性画分を抽出後、イオン交換クロマトグラフィー、HPLCを用いて、抽出物からレンチニン酸を精製した。精製物を、¹H NMR分光分析およびLC/MS分析を行い、レンチニン酸であることを確認した。

また、レンチニン酸をFmoc誘導体化後、LC/MS分析を行い、検量線を作成した。次に、栽培方法、品種、加工法の異なるシイタケから得られたメタノール-水抽出液を同様にFmoc誘導体化し、レンチニン酸の定量を行った。

(2) シイタケ抽出物の血中アルコール濃度上昇抑制効果

加熱により酵素を失活させレンチニン酸の分解を阻害したレンチニン酸高含有シイタケ抽出物および酵素を作用させレンチニン酸を分解したレンチニン酸未含有抽出物の2種類を調製し、HPLCにて各抽出物中のレンチニン酸含量を測定した。次に、SD系雄性ラットに対して20%エタノールと共にレンチニン酸含有抽出物、レンチニン酸未含有抽出物を経口投与し、経時的に採血し、血中エタノール、アセトアルデヒド、酢酸濃度を測定した。

(3) シイタケ抽出物の血中アルコール濃度上昇抑制メカニズムの解明

シイタケ抽出物の胃および小腸からのエタノール上昇抑制作用について検討した。ラットの胃および小腸上部を結紮し、門脈にカテーテルを留置した。その後、レンチニン酸含有抽出物およびレンチニン酸未含有抽出物を20%エタノールと共に結紮した胃および小腸に注入し、門脈血中のエタノール濃度の経時的变化を60分間測定した。

次に、シイタケ抽出物のエタノールの代謝促進効果について検討した。レンチニン酸含有抽出物および未含有抽出物を20%エタノールと共にラットに経口投与し、投与60分後に胃および肝臓を採取した。採取した胃および肝臓はホモジナイズ後、細胞質画分とミトコンドリア画分に分画し、細胞質画分中のアルコールデヒドロゲナーゼ (ADH) 活性、および、細胞質画分とミトコンドリア画分のアルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH) 活性を測定した。

4. 研究成果

(1) レンチニン酸の精製および定量

生シイタケから精製した物質は、¹H NMR分光分析およびLC/MS分析の結果から、レンチニン酸であることが確認された。このレンチニン酸をFmoc化しLC/MS分析により検量線が得られた。品種や栽培法が異なる生シイタケおよび加熱調理したシイタケからメタノール-水混液(3 : 1)により抽出物を調製し、その中のレンチニン酸含量を定量した結果、同一品種で栽培方法(原木または菌床栽培)の異なるシイタケ中では、菌床栽培のシイタケは原木栽培のシイタケと比べ、4.2倍のレンチニン酸含量であった。原木栽培で品種の異なるシイタケ4種類については、品種間でレンチニン酸含量は異なり、H3のシイタケが最もレンチニン酸含量が高かった。また、加熱法の違いでは、電子レンジでの加熱が最もレンチニン酸残存量が多く、その次が茹で加熱、蒸し加熱の順であった。これらの結果から、レンチニン酸を効率的に摂取する上でのシイタケの選抜法、加工調理法が明らかとなった。

(2) レンチニン酸の血中アルコール濃度上昇抑制効果

レンチニン酸含有および未含有抽出物中のレンチニン酸含量は、22.4 mg/g-抽出物と0 mg/g-抽出物であった。ラットを用いた動物実験では、20%エタノールのみを投与したコントロール群と比較して、レンチニン酸含有抽出物群では血中エタノールとアセトアルデヒド濃度の上昇が有意に抑制された。一方、レンチニン酸未含有群では、コントロール群よりもやや低く、レンチニン酸含有群よりもやや高くなったものの有意差は認められなかった。血中酢酸濃度に関しては、レンチニン酸含有群では、360分で低下傾向が見られたが有意差は認められなかった。以上のことから、シイタケ抽出物は、血中エタノール濃度の上昇抑制効果を有し、レンチニン酸は、その中の有効成分の1つであると考えられた。

(3) シイタケ抽出物の胃および小腸からのアルコール吸収抑制作用

シイタケ抽出物の胃および小腸からのエタノール上昇抑制作用について検討した結果、レンチニン酸含有抽出物は、胃および小腸のいずれに注入した場合でも、コントロール群と比較し、門脈血中エタノール濃度の上昇が有意に抑制した。

(4) シイタケ抽出物のアルコール代謝促進作用

シイタケ抽出物の肝臓におけるADHおよびALDH活性に対する影響について検討した結果、シイタケ抽出物自体にはADHおよびALDH活性増強効果はあるものの、レンチニン酸含有抽出物と未含有抽出物の間で差は見られなかった。一方、胃の細胞質画分でのADH活性、細胞質画分およびミトコンドリア画分でのALDH活性では、レンチニン酸投与群で、コントロール群に比べ有意に活性が上昇した。以上のことから、レンチニン酸は、胃におけるエタノール代謝を促進し、胃および小腸でのエタノール吸収を抑制することが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計13件)

- (1) Shigenobu Ina, Aya Hamada, Tomohiro Kaneko, Natsuko Nakajima, Yusuke Yamaguchi, Makoto Akao, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai, Physicochemical and Surface Properties of Rice Albumin for its Application as a Functional Food Material, 査読あり, *Food Science and Technology Research*, in press
- (2) 熊谷仁, 秋間彩香, 谷米(長谷川)温子, 二宮和美, 熊谷日登美, 嚥下困難者用食品の物性評価 -お年寄りが飲みやすい食品とは?, 査読あり, *化学と生物*, 57巻, 279-288 (2019)
- (3) Harumi Uto-Kondo, Ayumu Hase, Yusuke Yamaguchi, Ayaka Sakurai, Makoto Akao, Takeshi Saito, Hitomi Kumagai, *S*-Allyl-L-cysteine Sulfoxide, A Garlic Odor Precursor, Suppresses Elevation in Blood Ethanol Concentration by Accelerating Ethanol Metabolism and Preventing Ethanol Absorption from Gut, 査読あり, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 82, 724-731 (2018)
- (4) Ryosuke Abe, Narumi Matsukaze, Yusuke Yamaguchi, Makoto Akao, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai, Wheat Gliadin Deamidated by Cation-exchange Resins Induces Oral Tolerance in a Mouse Model of Wheat Allergy, 査読あり, *Journal of Food Bioactives*, Vol. 2, 119-128 (2018)
- (5) 熊谷日登美, おいしさと加工性に優れた食品成分の健康増進機能, 査読なし, *食生活研究会「食と健康」講演会記録*, 第25回, 7-28 (2018)
- (6) Kazumi Ninomiya, Shigenobu Ina, Aya Hamada, Yusuke Yamaguchi, Makoto Akao, Fumie Shinmachi, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai, Suppressive Effect of the α -Amylase Inhibitor Albumin from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) on Postprandial Hyperglycaemia, 査読あり, *Nutrients*, Vol. 10, 1-12 (2018)
- (7) 秋間彩香, 篠原由妃, 岡田紗代子, 矢野智美, 二宮和美, 谷米(長谷川)温子, 熊谷日登美, 熊谷仁, 多糖類ゲルのテクスチャーとその食塊の咽頭部における流動性との関係, 査読あり, *日本応用糖質科学会誌*, 8巻, 1-8 (2018)

- (8) 山口勇将, 熊谷日登美, 酵素反応により生成する含硫フレーバーおよびその前駆体の生理効果, 査読なし, *香料*, 280号, 1-9 (2018)
- (9) 熊谷(佐瀬)日登美, 食品の嗜好性・加工性の改善と健康増進機能の向上に関する研究, 査読あり, *日本食品科学工学会誌*, 65巻, 1-6 (2018)
- (10) Eriko Shimazaki, Akiko Tashiro, Hitomi Kumagai, Hitoshi Kumagai, Analysis of Water Sorption Isotherms of Amorphous Food Materials by Solution Thermodynamics with Relevance to Glass Transition: Evaluation of Plasticizing Effect of Water by the Thermodynamic Parameters, 査読あり, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 81, 743-749 (2017)
- (11) 秋間彩香, 山形文乃, 谷米(長谷川)温子, 熊谷日登美, 熊谷仁, 食品ハイドロコロイドのかたさ・粘度と咽頭部流速, 査読あり, *日本食品科学工学会誌*, 64巻, 123-131 (2017)
- (12) 秋間彩香, 篠原由妃, 谷米(長谷川)温子, 石原清香, 磯野舞, 中馬誠, 中尾理美, 船見孝博, 熊谷日登美, 熊谷仁, 嚥下困難者用介護食の基礎としての食品ゲルの嚥下音に関する音響解析, 査読あり, *日本食品科学工学会誌*, 63巻, 439-449 (2016)
- (13) Shigenobu Ina, Kazumi Ninomiya, Takashi Mogi, Ayumu Hase, Toshiki Ando, Narumi Matsukaze, Jun Ogihara, Makoto Akao, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai, Rice (*Oryza sativa japonica*) Albumin Suppresses the Elevation of Blood Glucose and Plasma Insulin Levels after Oral Glucose Loading, 査読あり, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 64, 4882-4890 (2016)

[学会発表] (計9件)

- (1) Ayaka Sakurai, Yusuke Ueno, Yusuke Yamaguchi, Makoto Akao, Harumi Kondo, Takeshi Saito, Hitomi Kumagai, Suppressive Effect on Blood-ethanol Elevation by Shiitake Extract Containing Lentinic Acid, Asia-Pacific Nutrigenomics Nutrigenetics Organisation (APNNO BIENNIAL CONFERENCE), December 2-4, 2018, Tokyo University, Tokyo
- (2) 坂口智哉, 櫻井彩夏, 山口勇将, 近藤春美, 赤尾真, 斉藤武, 熊谷日登美, シイタケ臭気前駆体による血中アルコール濃度上昇抑制, 日本農芸化学会関東支部2018年度大会, 2018年10月13日, 東京理科大学 野田キャンパス(野田)
- (3) 櫻井彩夏, 梅原彩花, 陸陣陣, 山口勇将, 赤尾真, 近藤春美, 斉藤武, 熊谷日登美, シイタケ臭気前駆体レンチニン酸による血中アルコール濃度上昇抑制, 第72回日本栄養・食糧学会大会, 2018年5月11日~13日, 岡山コンベンションセンター(岡山)
- (4) 藤澤望, 中条早紀, 菅田雄大, 権守千晴, 山口勇将, 大槻崇, 赤尾真, 松藤寛, 熊谷日登美, 種々のシイタケ中のレンチニン酸含量の定量, 日本農芸化学会2018年度大会, 2018年3月15日~18日, 名城大学(名古屋)
- (5) Saki Nakajo, Yuta Tsukuta, Chiharu Gonmori, Shoichiro Shimada, Yusuke Yamaguchi, Makoto Akao, Hitomi Kumagai, Encapsulation of Shiitake (*Lentinus edodes*) Flavor in α -Cyclodextrin, The 10th International Conference and Exhibition on Functional Foods, Nutraceuticals and Dietary Supplements (ICoFF 2017), October 22-25 (2017), Jeonbuk (Gunsan), Korea
- (6) Ayaka Sakurai, Ayaka Umehara, Zhenzhen Lu, Yusuke Yamaguchi, Makoto Akao, Harumi Kondo, Takeshi Saito, Hitomi Kumagai, Suppression of Blood-ethanol Elevation by Shiitake Extract

Containing Lentinic Acid, The 10th International Conference and Exhibition on Functional Foods, Nutraceuticals and Dietary Supplements (ICoFF 2017), October 22-25 (2017), Jeonbuk (Gunsan), Korea

- (7) 中条早紀, 島田正一郎, 櫻井彩夏, 関祐作, 赤尾真, 熊谷日登美, シクロデキストリンで包接されたレンチオニンの安定性とその血小板凝集抑制作用, 日本農芸化学会2017年度大会, 2017年3月17日~20日, 京都女子大学(京都)
- (8) 渡辺彩, 荒川遙, 平井眞実, 赤尾真, 熊谷日登美, シイタケ抽出物中のレンチニン酸の検出とその四塩化炭素誘発肝障害抑制効果, 第70回日本栄養・食糧学会大会, 2016年5月13日~5月15日, 武庫川女子大学 中央キャンパス(神戸)
- (9) Hitomi Kumagai, So Hironaka, Makoto Akao, Suppression of Blood-Ethanol Elevation by Compounds Produced from Dipeptide and Amino Acid in Shiitake Mushrooms, 107th AOCs Annual Meeting & Expo, May 1-7 (2016), Salt Palace Convention Center, Salt Lake City, Utah, USA

[図書](計2件)

- (1) 山口勇将, 熊谷日登美, 血流改善成分の開発と応用, 第III編 血流改善素材・成分, 第11章 含硫フレーバー(ニンニク, シイタケ等), pp. 174-181 /Total p.231 (2018), シーエムシー出版(東京)
- (2) Hitomi Kumagai, Reiko Urade, Deamidation of gluten proteins as a tool for improving the properties of bread in "Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention", pp. 3-11 /Total p.501 (2018), Academic Press, Elsevier, London, UK

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称: 血中尿酸値低下剤

発明者: 斉藤武, 熊谷日登美, 近藤春美, 赤尾真, 山口勇将, 渡辺彩

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願2018-077813

出願年月日: 2018年4月13日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

該当なし

※科研費による研究は, 研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため, 研究の実施や研究成果の公表等については, 国の要請等に基づくものではなく, その研究成果に関する見解や責任は, 研究者個人に帰属されます。