

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2008

課題番号：18580126

研究課題名 (和文) 機能性食品素材としての蜂産品に関する基礎的研究

研究課題名 (英文) Studies on the honeybee products as functional foods

研究代表者

熊澤 茂則 (KUMAZAWA SHIGENORI)

静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授

研究者番号：10295561

研究成果の概要：本研究は、蜂産品の中でもプロポリスを中心に、その構成成分および抗酸化活性や血管新生抑制活性などについて研究を行った。その結果、プロポリスの採取地域による成分の違いを明らかにした。また、新たな起源植物を見出し、血管新生抑制活性についても興味深いデータを得ることができた。さらに、プロポリス生産に関わるミツバチの行動学的解析を進めるとともに、ハチミツについても成分分析と抗酸化活性評価を実施した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,200,000	0	1,200,000
2007年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	660,000	4,060,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：蜂産品, プロポリス, ハチミツ, ミツバチ, 血管新生

1. 研究開始当初の背景

蜂産品とはミツバチの生産物のことであるが、研究代表者は特にプロポリスに関する研究を中心に進めていた。プロポリスとはミツバチが周辺の植物を集め、自分の巣に持ち帰って蓄えた樹脂状物質である。日本では、主に健康食品の素材として用いられているが、プロポリスに関する基礎的な研究は遅れていた。研究代表者は、平成15年度より研究助成を受けた科学研究費(基盤研究C)「プロポリスとその起源植物に関する化学生物学的研究」において、これらの事項を解明することを目指した。そして、この研究は順調に成果

を上げることができ、プロポリスの構成成分の分析においては、世界各地のプロポリスの多様性を解明するとともに、研究が遅れていたアジア地域のプロポリスの成分研究にも着手し、日本産や韓国産のプロポリスの構成成分を明らかにした。さらに、日本の中でも沖縄産プロポリスに特異な成分が含まれることを発見した。起源植物の探索研究に関しては、ブラジル産プロポリスの起源植物を世界で初めて解明し、キク科の一種の植物を同定した。このような化学的研究だけでなく、プロポリス成分の体内動態研究も実施し、プロポリス由来のフラボノイドが体内に吸収されること

を初めて実証することにも成功した。一方で、プロポリスや起源植物に対するミツバチのバイオアッセイ系も確立することができ、ミツバチの行動学的側面から、すなわち起源植物やプロポリスに対するミツバチの誘因性の解析からも、プロポリスを考察することが可能となった。

2. 研究の目的

1の「研究開始当初の背景」にも記載したように、研究代表者はプロポリス研究において数々の実績を上げることができたが、プロポリスを機能性食品として正しく評価するためには、生化学的な面からの検証も必要である。そこで、研究分担者として新たに太田が加わり、プロポリスの研究については、これまでの成分化学的な研究に加え、プロポリスを機能性食品素材として適切に評価するため、ガン血管新生抑制活性について詳細に研究を進めていくこととした。

また、蜂産品としては、プロポリスよりもハチミツの方が代表的である。近年、抗菌作用を持ったものや、蜜源を生薬植物に限定した「薬蜜」も商品化されて、ハチミツ市場でも機能性で差別化が図られるようになってきた。しかし、その科学的根拠はまだ十分に得られているとは言えなかった。このようなことから本研究は、蜂産品の中でもプロポリスだけでなく、ハチミツも研究対象とすることにした。プロポリスについては、従来の成分化学的研究を基盤に、ガン血管新生抑制作用に関する研究を進め、ハチミツに関しては、機能性を有するとされているハチミツの成分分析を中心に、機能性解明につながるデータの取得を目指した。また、プロポリス、ハチミツとも、実際のミツバチの行動学的側面からの生物学的な解析も引き続いて実施した。

3. 研究の方法

(1) プロポリスの構成成分の分析

未だ構成成分が解明されていないプロポリスの成分分析を実施した。特に、中国やアルゼンチン各地で採取されたプロポリスの成分分析を行った。また、従来の研究により、沖縄産や済州島産（韓国）のプロポリスに、他産地には見られない成分の存在が確認されたため、これらの成分の解明も進めた。

(2) プロポリスの起源植物の解明

プロポリスの分析化学的な研究とミツバチの行動学的解析とを組み合わせ、沖縄および岡山産プロポリスの起源植物の解明を試みた。

(3) プロポリスのガン血管新生抑制の解明

ブラジル産プロポリスの主要成分であるアルテピリンCを中心に、ガン血管新生抑制作用を調べた。また、この成分以外のプロポリ

ス中の成分について同様な解析を行うとともに、分子レベルでの作用メカニズムの解析を行った。

(4) ミツバチの行動学的解析に基づくプロポリス生産の解明

ミツバチの行動パターンとプロポリスの生産に関して調査した。

(5) ハチミツ中の機能性成分の分析

ピロリ菌に対する抗菌性が報告されているニュージーランド産マスカハチミツをはじめ、世界中の様々なハチミツについても抗酸化、抗菌活性を比較した。

4. 研究成果

(1) プロポリスの構成成分の分析

韓国済州島より採取されたプロポリスに、他産地に見られない成分が含まれていることが見出されたため、これらの成分を単離して構造解析を行った。その結果、新規カルコン化合物であることを明らかにした（図1）（雑誌論文14）。また、沖縄産プロポリスの成分分析も行い、新規化合物を含むプレニルフラボノイドを複数同定した（雑誌論文12）。また、中国およびアルゼンチンの各地域で採取されたプロポリスの成分分析と抗酸化活性の評価を行った（雑誌論文10, 1）。

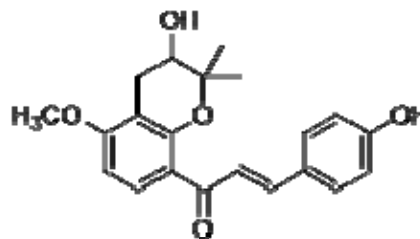


図1. 韓国済州島産プロポリスより単離、同定した新規カルコン

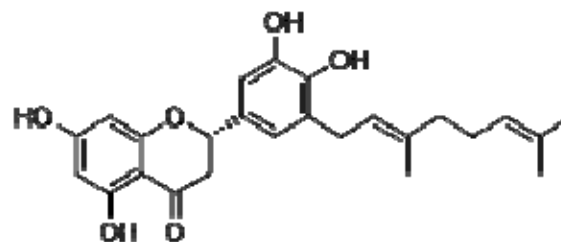


図2. 沖縄産プロポリスより単離、同定した新規プレニルフラボノイド

(2) プロポリスの起源植物の解明

プロポリスの分析化学的な研究と、現地におけるミツバチの行動学的な調査を行うことで、岡山および沖縄産プロポリスの起源植物を解明することに成功した。岡山産プロポリスは、広葉樹ヌルデであった（雑誌論文7）。

一方、沖縄産プロポリスの起源植物はトウダイグサ科の植物オオバギであった(雑誌論文 8)。沖縄産プロポリスの起源植物の発見は、世界的な蜂産品のウェブサイトである *Apitherapy News* でも大きく取り上げられ、現代化学の表紙も飾った(図 3)(雑誌論文 3)。

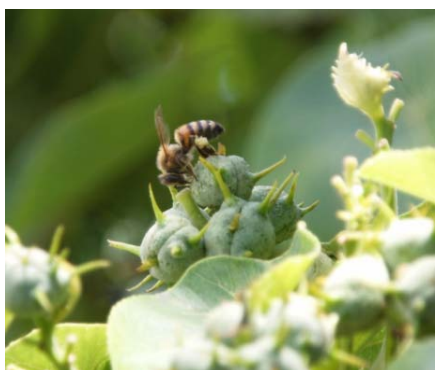


図 3. オオバギを採取するミツバチ

(3) プロポリスのガン血管新生抑制の解析
ブラジル産やその他の地域のプロポリスを用いて血管新生抑制活性を調べた(図 4)。また、ブラジル産プロポリスの主要成分であるアルテピリン C を中心に、ガン血管新生抑制作用を調べ、活性を確認した(雑誌論文 11)。また、この成分以外のプロポリス中の成分について同様な解析を行うとともに、分子レベルでの作用メカニズムの解析を行った(雑誌論文 2, 4)。

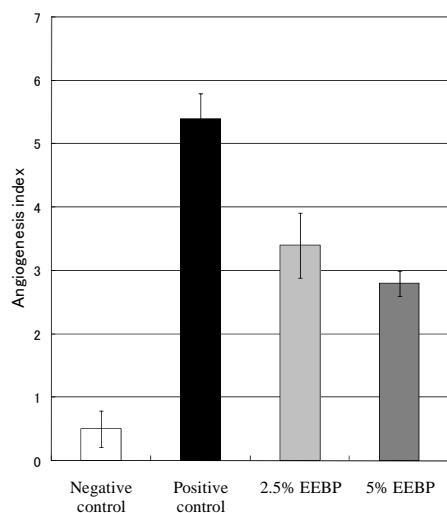


図 4. ブラジル産プロポリスのエタノール抽出物 (EEBP) による血管新生抑制活性

(4) ミツバチの行動学的解析に基づくプロポリス生産の解明

ミツバチの行動パターンとプロポリスの生産に関する調査を行い、同じ巣箱由来のプロポリスでも季節などにより変動があることを明らかにした。

(5) ハチミツ中の機能性成分の分析

国産や外国産を含めた様々な蜜源由来のハチミツの抗酸化活性を評価し、蜜源植物の違いにより、活性や構成成分が異なることを明らかにした。そして、高い抗酸化活性が認められたペパーミントハチミツより活性成分を単離し、いくつかのフラボノイドを同定した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 14 件)

1. Shigenori Kumazawa, Mok-Ryeon Ahn, Takunori Fujimoto, and Masashi Kato: Radical-scavenging activity and phenolic constituents of propolis from different regions of Argentina. *Natural Product Research*, in press.
2. Kazuhiro Kunimasa, Mok-Ryeon Ahn, Tomomi Kobayashi, Ryoji Eguchi, Shigenori Kumazawa, Yoshihiro Fujimori, Takashi Nakano, Tsutomu Nakayama, Kazuhiko Kaji, and Toshiro Ohta: Brazilian propolis suppresses angiogenesis by inducing apoptosis in tube-forming endothelial cells through inactivation of survival signal ERK1/2. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, in press.
3. 熊澤茂則: ミツバチに学ぶ有用植物資源—沖縄産プロポリスの意外な起源植物—。現代化学, **459**, 49-54, 2009.
4. Shanta M. Messerli, Mok-Ryeon Ahn, Kazuhiro Kunimasa, Miyako Yanagihara, Tomoki Tatefuji, Ken Hashimoto, Lan Kluwe, Victor Mautner, Yoshihiro Uto, Hitoshi Hori, Shigenori Kumazawa, Kazuhiko Kaji, Toshiro Ohta, and Hiroshi Maruta: Artepillin C (ARC) in Brazilian green propolis selectively blocks the oncogenic PAK1 signaling and suppresses the growth of NF tumors in mice. *Phytotherapy Research*, **23**, 423-427, 2009.
5. Mok-Ryeon Ahn, Kazuhiro Kunimasa, Shigenori Kumazawa, Tsutomu Nakayama, Kazuhiko Kaji, Yoshihiro Uto, Hitoshi Hori, Hideko Nagasawa, and Toshiro Ohta: Correlation between antiangiogenic activity and antioxidant activity of various components from propolis. *Molecular Nutrition and Food Research*, **53**, 643-51, 2009.
6. 太田敏郎, 熊澤茂則, 加治和彦: プロポリスの血管新生抑制活性. バイオサイエン

- スとインダストリー, **66**, 240-242, 2008.
7. Masayo Murase, Manabu Kato, Aihua Sun, Takayuki Ono, Jun Nakamura, Tsutomu Sato, and Shigenori Kumazawa: *Rhus javanica* var. *chinensis* as a new plant origin of propolis from Okayama, Japan. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **72**, 2782-2784, 2008.
 8. Shigenori Kumazawa, Jun Nakamura, Masayo Murase, Mariko Miyagawa, Mok-Ryeon Ahn, Syuichi Fukumoto: Plant origin of Okinawan propolis: honeybee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften*, **95**, 781-786, 2008.
 9. 熊澤茂則: プロポリスとその起源植物. バイオメディア (日本生物工学会誌), **85**, 452, 2007.
 10. Mok-Ryeon Ahn, Shigenori Kumazawa, Yumiko Usui, Jun Nakamura, Mitsuo Matsuka, Fang Zhu, and Tsutomu Nakayama: Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, **101**, 1400-1409, 2007.
 11. Mok-Ryeon Ahn, Kazuhiro Kunimasa, Toshiro Ohta, Shigenori Kumazawa, Miya Kamihira, Kazuhiko Kaji, Yoshihiro Uto, Hitoshi Hori, Hideko Nagasawa, Tsutomu Nakayama: Suppression of tumor-induced angiogenesis by Brazilian propolis: major component artemisinin C inhibits in vitro tube formation and endothelial cell proliferation. *Cancer Letters*, **252**, 235-243, 2007.
 12. Shigenori Kumazawa, Reika Ueda, Tomoko Hamasaka, Syuichi Fukumoto, Takunori Fujimoto, and Tsutomu Nakayama: Antioxidant prenylated flavonoids from propolis collected in Okinawa, Japan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 7722-7725, 2007.
 13. Jun Nakamura, and Thomas D. Seeley: The functional organization of resin work in honeybee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **60**, 339-349, 2006.
 14. Shigenori Kumazawa, Shou Suzuki, Mok-Ryeon Ahn, Miya Kamihira, Yu Udagawa, Keuk-Seung Bang, and Tsutomu Nakayama: A new chalcone from propolis collected on Jeju island, Korea. *Food Science and Technology Research*, **12**, 67-69, 2006.
- [学会発表] (計 33 件)
1. 前田容子, 佐々木佳菜子, 福本修一, 熊澤茂則, 矢崎一史: 熱帯樹オオバギにおけるプレニル化フラボノイドの局在と腺鱗の構造解析. 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡). 2009 年 3 月 27~29 日.
 2. 茶山和敏, 長崎聡子, 深川清華, 福本修一, 熊澤茂則: 沖縄産プロポリスと起源植物オオバギの脂肪蓄積抑制作用. 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡). 2009 年 3 月 27~29 日.
 3. 牛田素子, 国政和宏, 太田敏郎, 福本修一, 熊澤茂則, 加治和彦: 沖縄産プロポリスとその起源植物オオバギによる血管新生抑制と内皮細胞アポトーシス誘導の分子機構. 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡). 2009 年 3 月 27~29 日.
 4. 熊谷賢治, 福本修一, 後藤嵩輝, 勝又嘉之, 熊澤茂則: 沖縄野生植物オオバギ (*Macaranga tanarius*) 抽出物の抗菌活性. 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡). 2009 年 3 月 27~29 日.
 5. 百瀬昇, 村瀬真代, 福本修一, 熊澤茂則: 沖縄産プロポリスの起源植物オオバギに含まれるプレニルフラボノイドの定量分析と抗酸化活性. 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡). 2009 年 3 月 27~29 日.
 6. 幡野愛, 野中孝, 熊澤茂則, 田澤茂美, 荒木陽子: レッドプロポリスの抗酸化活性に関する研究. 2009 年度日本農芸化学会大会 (福岡). 2009 年 3 月 27~29 日.
 7. 幡野愛, 野中孝, 田澤茂美, 荒木陽子, 熊澤茂則: ORAC試験法を用いたプロポリスの抗酸化活性評価. 平成 20 年度科学交流フォーラム (第 10 回 静岡ライフサイエンスシンポジウム記念大会) (静岡). 2009 年 3 月 6 日.
 8. 百瀬昇, 村瀬真代, 福本修一, 熊澤茂則: 沖縄産プロポリスの起源植物オオバギに含まれるプレニルフラボノイド化合物の定量分析. 平成 20 年度科学交流フォーラム (第 10 回 静岡ライフサイエンスシンポジウム記念大会) (静岡). 2009 年 3 月 6 日.
 9. 百瀬昇, 村瀬真代, 福本修一, 熊澤茂則: 沖縄産プロポリスの起源植物に含まれるプレニルフラボノイドの定量分析と抗酸化活性. 日本農芸化学会中部支部 第 154 回例会 若手シンポジウム (岐阜). 2008 年 11 月 29 日.
 10. 幡野愛, 野中孝, 田澤茂美, 荒木陽子, 熊澤茂則: ORAC法を用いたプロポリスの

- 抗酸化活性評価. 日本農芸化学会中部支部 第154回例会 若手シンポジウム (岐阜). 2008年11月29日.
11. 幡野愛, 野中孝, 田澤茂実, 荒木陽子, 熊澤茂則: ORAC法によるプロポリスの抗酸化活性評価. 平成20年度日本食品科学工学会 中部支部大会 (名古屋). 2008年11月22日.
 12. 牛田素子, 国政和宏, 太田敏郎, 福本修一, 熊澤茂則, 加治和彦: 沖縄産プロポリスとその起源植物オオバギによる血管新生抑制. 第13回日本フードファクター学会 (東京). 2008年11月17日.
 13. 百瀬昇, 村瀬真代, 福本修一, 熊澤茂則: オオバギ (*Macaranga tanarius* Muell. Arg.) に含まれるプレニルフラボノイドの定量分析と抗酸化活性. 日本農芸化学会中部支部第153回例会 (名古屋). 2008年11月1日.
 14. 前田容子, 佐々木佳菜子, 福本修一, 熊澤茂則, 矢崎一史: 熱帯樹オオバギのフラボノイド特異的プレニル化酵素活性の研究. 日本生薬学会 第55回年会 (長崎). 2008年9月19~20日.
 15. 熊澤茂則, 村瀬真代: 沖縄産プロポリスとその起源植物. 日本プロポリス協議会平成20年度秋のセミナー (東京). 2008年9月17日.
 16. 熊澤茂則: 沖縄産プロポリスとその起源植物の化学. 第二回 岐阜薬科大学高次機能性食品 (蜂産品) 研究講演会 (岐阜). 2008年8月9日.
 17. 太田敏郎, 国政和宏, 安木蓮, 熊澤茂則, 中山勉, 加治和彦: プロポリスとその成分による血管新生抑制. 第二回 岐阜薬科大学高次機能性食品 (蜂産品) 研究講演会 (岐阜). 2008年8月9日.
 18. 村瀬真代, 宮川真理子, 中村純, 福本修一, 熊澤茂則: 沖縄産プロポリスの起源植物に関する研究. 2008年度日本農芸化学会大会 (名古屋). 2008年3月26~29日.
 19. 中村純, 宮川真理子, 熊澤茂則, 村瀬真代, 福本修一: 沖縄県におけるプロポリス起源植物の探索. 第52回応用動物昆虫学会 (宇都宮). 2008年3月26~28日.
 20. 村瀬真代, 宮川真理子, 中村純, 熊澤茂則: ミツバチの行動観察と化学的分析による沖縄産プロポリスの起源植物の解明. 平成19年度科学交流フォーラム (静岡). 2008年3月5日.
 21. Takashi Nonaka, Kazuya Miyazaki, Mok-Ryeon Ahn, Takunori Fujimoto, Shigemitsu Tazawa, Yoko Araki, Yoshinori Yamamoto, Hirokazu Kawagishi, Tsutomu Nakayama, Shigenori Kumazawa: Study on the antioxidant activity of red propolis. 3rd International Conference on Polyphenols and Health (京都). 2007年11月25~28日.
 22. 安木蓮, 太田敏郎, 加治和彦, 中山勉, 熊澤茂則: プロポリス成分による血管新生抑制活性. 平成19年度日本食品科学工学会中部支部大会 (愛知県春日井市). 2007年11月10日.
 23. 熊澤茂則, 安木蓮, 太田敏郎, 加治和彦, 中山勉: プロポリスの抗酸化活性と血管新生抑制活性. 第2回食品薬学シンポジウム (静岡). 2007年10月18~19日.
 24. 熊澤茂則, 中山勉: ブラジル産レッドプロポリスに含まれる抗酸化成分に関する研究. 第4回サプリメント研究会 (apiRAHS) (岐阜). 2007年7月21~22日.
 25. 熊澤茂則: ミツバチ生産物の科学. 平成19年度応用生物化学研究会 (静岡). 2007年6月8日.
 26. 村瀬真代, 加藤学, 孫愛花, 小野誉幸, 中村純, 佐藤努, 熊澤茂則: 岡山県産プロポリスの起源植物に関する研究. 日本農芸化学会2007年度大会 (東京). 2007年3月24~27日.
 27. 熊澤茂則: ミツバチ生産物の科学. 日本農芸化学会中部支部第148回例会 若手シンポジウム (三重大学). 2006年12月9日.
 28. 熊澤茂則: 沖縄産プロポリスに含まれるプレニルフラボノイド. 第10回アピセラピー学術講演会 (名古屋). 2006年11月18日.
 29. Mok-Ryeon Ahn, Kazuhiro Kunimasa, Toshiro Ohta, Shigenori Kumazawa, Miya Kamihira, Kazuhiko Kaji, and Tsutomu Nakayama: Suppression of tumor-induced angiogenesis by Brazilian propolis: major component artepillin C inhibits in vitro tube formation and endothelial cell proliferation. The 7th Japan-China International Symposium on Health Sciences (静岡). 2006年11月5~6日.
 30. Shigenori Kumazawa and Tsutomu Nakayama: Constituents and antioxidant activity of Japanese propolis. The 7th Japan-China International Symposium on Health Sciences (静岡). 2006年11月5~6日.
 31. 宮崎和也, 安木蓮, 上平美弥, 藤本琢憲, 田澤茂実, 山本嘉教, 河岸洋和, 熊澤茂則, 中山勉: ブラジル産レッドプロポリスに関する化学的研究. 日本食品科学工学会第53回大会 (藤沢). 2006年8月29日.

32. 熊澤茂則, 中山勉: 沖縄産プロポリスに含まれるプレニルフラボノイド. 第3回サプリメント研究会 (apiRAHS) (岐阜). 2006年7月29~30日.
33. Shigenori Kumazawa, Syuichi Fukumoto, Takunori Fujimoto, Tsutomu Nakayama: Prenylated flavonoids from propolis collected in Okinawa, Japan. IUPAC ICOB-5 & ISCNP-25 (International Conference on Biodiversity and Natural Products) (京都). 2006年7月25日.

[図書] (計2件)

- ① 熊澤茂則: プロポリス. 「食品機能性の科学」, 産業技術サービスセンター, 2008.
- ② 熊澤茂則: プロポリス. 「機能性食品の安全性ガイドブック」, 津志田藤二郎・梅垣敬三・井上浩一・村上明 編, pp343-347, サイエンスフォーラム, 2007.

[産業財産権]

特になし

[その他]

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊澤茂則 (KUMAZAWA SHIGENORI)

静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授

研究者番号: 10295561

(2) 研究分担者

中山勉 (NAKAYAMA TSUTOMU)

静岡県立大学・食品栄養科学部・教授

研究者番号: 50150199

太田敏郎 (OHTA TOSHIRO)

静岡県立大学・大学院生活健康科学研究科・助教

研究者番号: 40285193

中村純 (NAKAMURA JUN)

玉川大学・学術研究所・教授

研究者番号: 30256002

(3) 連携研究者

なし