

認知機能の維持・改善に資する、高溶解ヘスペリジン食品の開発

食品開発支援センター	主任研究員	中山久之
食品開発支援センター	専門研究員	宮田裕次
食品開発支援センター	主任研究員	森友美
長崎県立大学地域連携センター	特任教授	田中一成

摘果される未熟な青ミカンは大量に廃棄されているが、フラボノイドの一種であるヘスペリジンを豊富に含む。動物実験において、ヘスペリジンの摂取は血流改善機能等を有することが報告されており、健康寿命の延伸に寄与する可能性が示されているが、水への溶解性が低いため、体内への吸収が悪く、食品への展開が困難である。

本研究では、ヘスペリジンの可溶化に関する基盤技術を応用した、ヘスペリジンの高溶解食品素材を開発するとともに、本素材からヘスペリジンを高収率でエキス回収し、粉末化する技術を確認する。さらに、高溶解ヘスペリジン素材を使った、ヒトでの認知機能の維持・改善効果を検証し、機能性表示食品として商品化することを目標とする。本報では、高溶解ヘスペリジン素材の長期摂取が認知機能に及ぼす影響について報告する。

1. 緒言

ミカンに含まれるヘスペリジンは、血流改善などの機能性を有することが報告されている成分で^[1]、成熟した果実よりも摘果される未熟果に高濃度に含まれる。しかし、ヘスペリジンは水に極めて難溶のため、体内への吸収量が少ないことから^[2]、食品への加工展開が困難である。これまでに、摘果した果実を緑茶三番茶葉とともに製茶機械で揉み込んで乾燥させることで、テルペン系の香りを有する発酵茶（以下、ミカン発酵茶）が製造でき、含まれるヘスペリジンの水への溶解性が向上することを明らかにしてきた^[3]。そこで、本センターでは、県内外の大学や食品企業と共同で、ミカン発酵茶のヒトでの機能性を追究している。

これまでの研究で、ミカン発酵茶の摂取は体内へのヘスペリジン吸収が促進されること、また、冷え、肩のこり、疲労感、睡眠の質といった、不定愁訴を改善する効果があることが明らかになった^[4]。これら改善効果は、ヘスペリジンによる血流改善機能と密接に関連することが推察されている。

日本の高齢者人口の割合は世界で最も高く、総人口に占める65歳以上の割合は約3割に及ぶ^[5]。人生100年時代を迎え、定年退職後も働き続けたいと考える労働者らの健康寿命の延伸は社会的問題であるが、加齢に伴い、注意力、判断力、記憶力といった脳機能（認知機能）は低下する。認知機能の低下は、日常生活に多大な支障をきたすため、本機能の低下を抑制することは重要な意義をもつ。加齢による慢性的な血流量不

足によって、脳への血流障害が起こり、認知機能が低下することが報告されていることから^[6]、ヘスペリジンの体内吸収性を高めたミカン発酵茶が、認知機能に対して改善機能を発揮する可能性がある。

そこで、本研究では、中高齢者を対象に、ミカン発酵茶の12週間摂取が認知機能に及ぼす影響について検討した。

2. 対象と方法

1) 被験者

ヒト試験は、長崎県立大学一般研究倫理委員会の審査および承認を受けたうえで実施した。被験者の選択基準は、①60歳以上90歳未満の男女、②認知機能の衰えを自覚している者、③試験期間中の暴飲暴食を控えることが可能な者、④試験の目的・内容について十分な説明を受け、同意能力があり、よく理解した上で自発的に参加を志願し、書面で試験参加に同意した者とした。また、被験者の除外基準は、①認知症と診断された者、②重度の脳神経疾患・精神疾患や内臓疾患の既往歴のある者、③試験期間中に紅茶や緑茶の多量摂取を止めることができない者、④紅茶あるいは緑茶にアレルギー症状を起こすおそれのある者、⑤他の食品の摂取や薬剤を使用する臨床試験、化粧品および薬剤などを塗布する臨床試験に参加中の者、参加の意思がある者、⑥カフェインを摂取することにより体調不良を起こす者、⑦アルコール依存者、⑧事前に行われる試験の説明に対し、その趣旨に賛同できない者、

⑨その他、試験担当医師が被験者として不相当と判断した者とした。被験者には毎日の体調変化、有害事象の有無、表1に示す被験食品摂取の有無および医薬品等服用の有無を、試験開始から終了まで、被験者日誌に記載させた。

表1 被験食品の詳細

	プラセボ食品	試験食品
ミカン発酵茶葉(g)	— x	0.89
乳糖(g)	0.86	—
デキストリン(g)	0.28	0.29
プルラン(g)	0.02	0.02
カラメル色素(g)	0.04	—
合計(g)	1.20	1.20
うち ヘスペリジン量(mg)	検出限界未満	36.7

x — : 配合していない

2) 試験デザイン

試験はランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験で実施した。本試験に先立ち、認知機能スコアを評価するJapanese version of Montreal Cognitive Assessment (MoCA-J)を実施し、年齢、MoCA-Jスコアを考慮して、被験者を試験食品群22名とプラセボ食品群21名に割り付けた。被験者の背景を表2に示す。群分け後の試験対象からの辞退者およびデータの欠損した者はいなかった。被験者には、試験食品あるいはプラセボ食品1日1包を湯あるいは水に混ぜて夕食時に12週間摂取させるとともに、試験食品あるいはプラセボ食品を摂取することを除いて、それまでの日常生活を変えないように指導した。摂取開始日、摂取6週後および12週後の計3回、Trail Making Test 日本版(TMT-J)検査を実施し、併せて被験者に対して有害事象の確認を行った。

表2 被験者の背景

	プラセボ食品 (n=21)	試験食品 (n=22)
男/女(人)	4/17	8/14
年齢(歳)	70.6 ± 6.7	67.8 ± 5.6
MoCA-J(点)	26.4 ± 0.6	26.5 ± 0.6

年齢：平均値±標準偏差

MoCA-J：平均値±標準誤差

3. 結果

TMT-Jは、紙にランダムに書かれた1~26の数字を順番通りにできるだけ早く正確に線で結んでいく検査

方法で、被験者にはTMT-Jの課題遂行中は紙を動かさないこと、鉛筆を紙から離さないことを指示し、課題遂行時間、間違った回数(誤反応回数)および紙から鉛筆を離した回数(鉛筆離し回数)を記録した。TMT-Jの課題遂行時間を図1に示す。摂取6週後および12週後の課題遂行時間を摂取開始日(0週)に対する変化量で算出したところ、摂取12週後で試験食品群はプラセボ食品群より有意に低値を示した。

誤反応回数に関しては、有意な変動および各測定時における群間での差は認められなかった(表3)。鉛筆離し回数については、プラセボ食品群および試験食品群とも経時的に減少する傾向にあったが、0週との間に差はなかった。また、いずれの測定時に関しても群間で差は認められなかった(表4)。

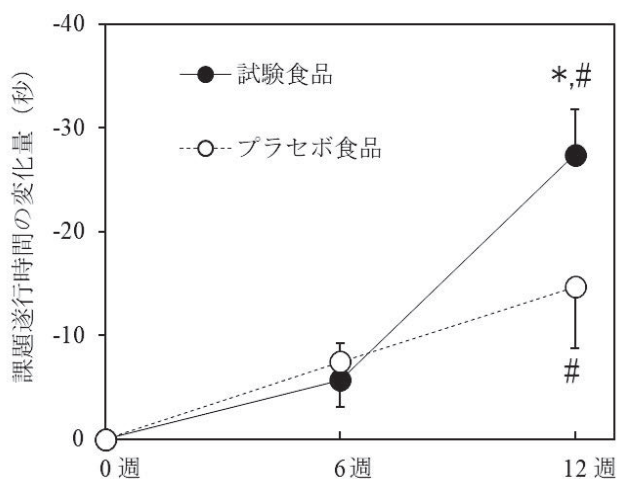


図1 課題遂行時間(変化量)の推移

平均値±標準誤差

* $p < 0.05$ (プラセボ食品と比較して有意差あり)

$p < 0.05$ (0週と比較して有意差あり)

表3 誤反応回数の推移(単位:回)

群	摂取開始日	摂取6週後	摂取12週後
プラセボ食品	0.10 ± 0.07	0.14 ± 0.08	0.05 ± 0.05
試験食品	0.09 ± 0.06	0.09 ± 0.06	0.00 ± 0.00

平均値±標準誤差

表4 鉛筆離し回数の推移(単位:回)

群	摂取開始日	摂取6週後	摂取12週後
プラセボ食品	1.71 ± 0.66	1.10 ± 0.46	0.86 ± 0.57
試験食品	1.27 ± 0.38	0.86 ± 0.28	0.45 ± 0.17

平均値±標準誤差

4. 考察

本試験では、認知機能の衰えを自覚している中高齢者を対象に、ミカン発酵茶の摂取が認知機能に及ぼす影響について検討した。

TMT-J は、幅広い注意、空間的探索、処理速度、衝動性などを総合的に測定でき、とりわけ注意力や作業記憶の評価に特化した検査である^[7]。試験食品の摂取で、TMT-J の課題遂行時間が摂取 12 週後に短縮したことから、ミカン発酵茶の長期摂取は認知機能の一部である注意力と作業記憶を改善することが明らかとなった。

血流量が慢性的に低下すると、脳内炎症が起こること、また、脳内の神経軸索と髄鞘が密集している白質部分が傷害を受け、認知機能が低下することが報告されている^[8]。ヘスペリジンの血流改善機能については複数の報告例があるため、ミカン発酵茶に含まれるヘスペリジンが注意力や作業記憶の改善に重要な役割を果たしていると推察している。現在、神経伝達の重要物質であるアセチルコリンに対して、ヘスペリジンが及ぼす影響を検証中である。

5. 結言

認知機能の衰えを自覚している中高齢者を対象に、ミカン発酵茶の摂取が認知機能に及ぼす影響について検討した。

ミカン発酵茶を 12 週間、継続摂取することにより、TMT-J の遂行時間が短縮したことから、ミカン発酵茶は、認知機能の一部である注意力と作業記憶を改善することが明らかとなった。

参考文献

- [1] Jung UJ, Lee MK, Park YB, Kang MA, Choi MS: Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice, *Int J Biochem Cell Biol*, 38, pp. 1400-1403, 2006.
- [2] Yamada M, Tanabe F, Arai N, Mitsuzumi H, Miwa Y, Kubota M, et al: Bioavailability of glucosyl hesperidin in rats, *Biosci Biotechnol Biochem*, 70, pp. 1386-1394, 2006.
- [3] 中山、田中、宮田、齋藤、松井、荒牧ほか: ミカン未熟果と緑茶三番茶葉を混合して製造した可溶性ヘスペリジン含有発酵茶の開発、*日本栄養・食糧学会誌*, 67, pp. 95-103, 2014.
- [4] 中山、宮田、藤井、山本、大曲、吉野ほか: 未熟ミカンと茶葉を混合揉捻して製造した発酵茶葉由来ヘスペリジン摂取が冷え、肩のこり、疲労感および睡眠の質に及ぼす影響、*薬理と治療*, 47, pp. 1471-1481, 2019.
- [5] 総務省統計局、高齢者の人口、<https://www.stat.go.jp/data/topics/topi1291.html>, Accessed 2022.
- [6] Franceschi M, Alberoni M, Bressi S, Canal N, Comi G, Fazio F, et al: Correlations between cognitive impairment, middle cerebral artery flow velocity and cortical glucose metabolism in the early phase of Alzheimer's disease, *Dementia*, 6, pp. 32-38, 1995.
- [7] 広田、渡辺、谷本、河野、樋口、河野: 地域高齢者を対象とした Trail Making Test の意義、*日老医誌*, 45, pp. 647-654, 2008.
- [8] Miyanohara J, Kakae M, Nagayasu K, Nakagawa T, Mori Y, Arai K, et al: TRPM2 channel aggravates CNS inflammation and cognitive impairment via activation of microglia in chronic cerebral hypoperfusion, *J Neurosci*, 38, pp. 3520-3533, 2018.
- [9] Gao G, Nakamura S, Asaba S, Miyata Y, Nakayama H, Matsui T: Hesperidin Preferentially Stimulates Transient Receptor Potential Vanilloid 1, Leading to NO Production and Mas Receptor Expression in Human Umbilical Vein Endothelial Cell, *J Agric Food Chem*, 36, pp. 11390-11300, 2022.