

佐賀県資源の新産業活用を目指した 市場ニーズに基づく健康・美容製品の開発（第3報）

食品コスメ部

岩元彬 柘植圭介

岩瀬コスファ株式会社営業本部 ヘルスケア事業部

松浦洋一 霜尾毅 瀧見尚史 中村剛 夏目莉紗子

西九州大学健康栄養学部健康栄養学科

四元博晃 満田(武山)藍

佐賀県内で毎年 500t 以上廃棄されているイチゴ葉の産業活用のため、アトピー様モデルマウスへの影響を検証した。50% (v/v) エタノールを用いて抽出したイチゴ葉抽出物およびイチゴ葉ポリフェノールの影響を評価したところ、イチゴ葉抽出物を投与したマウスでは皮膚の角質水分量が増加した。また、イチゴ葉抽出物およびポリフェノール投与群では、アレルギーマーカーとして知られる血清中 IgE やヒスタミン濃度が低下した。一方、IgA や IgG, IgM の濃度には変化はなかった。脾臓細胞の RT-qPCR 解析でも同様に、イチゴ葉抽出物およびポリフェノール投与したマウスでは IgE mRNA 発現は低下したが、IgA や IgG, IgM mRNA 発現に変化はなかった。加えて、イチゴ葉抽出物およびポリフェノール投与群では IgE の産生増強に関与する IL-4 mRNA 発現が低下した。これらの結果は、イチゴ葉抽出物およびイチゴ葉ポリフェノールの摂取がアトピー症状やアレルギー反応の予防・改善に有用であることを示唆するものであった。

1. はじめに

近年、環境保全と経済的・社会的発展の実現を両立させる「サステナビリティ」に配慮した食品・化粧品市場は急速に拡大しており、特に農業副産物である未利用部を有効利用したサステナブル原料の活用が環境維持の観点から世界中で求められるようになってきた。また、健康食品における新たな制度である機能性表示食品制度の導入を受け、消費者の裾野拡大も進んだことから、健康美容機能を有する食品や化粧品市場は安定した成長が見込まれている。そのため、このような意識の高い食品化粧品関連企業を中心として農業副産物を有効利用した原料や製品の開発ニーズが高まっていることから、健康美容機能の維持や改善が期待できる農作物素材を使用した食品や化粧品が活発に開発、販売されるようになってきた。

当センターでは、このようなマーケットニーズの変化に対して佐賀県資源の高付加価値化や未利用部分の有効活用に関する研究を行い、イチゴ葉がメニン合成抑制作用やコラーゲン産生増強作用、コラーゲン活性抑制作用、紫外線炎症反応抑制作用など健康・美容効果を有する可能性を見出してきた¹⁻³⁾。

イチゴは佐賀県の主要な農作物であるが、同時に

未利用部であるイチゴ葉の排出は年間 500 t 以上と見積もられており、これらの廃棄処理が生産者の大きな負担となっている。そのため、このような農業副産物を有効利用することは、生産者にとっても負担軽減に繋がることから、イチゴ葉の新産業活用への展開が切望されている。

しかしながら、新規性の高い素材と考えられるイチゴ葉の活用実績はほとんどなく、機能性素材として製品化するためには、さらなる機能の明確化が必要である。

そこで、本報ではイチゴ葉およびイチゴ葉ポリフェノールのアトピー様モデルマウスへの影響を検証し、機能性素材としての有用性を評価した。

2. 実験方法

2.1 イチゴ葉抽出物の調製

“いちごさん” 茎葉（令和 5 年 5 月佐賀県農業試験研究センターより提供）を採取し、水洗後に減圧乾燥法により乾燥させ粉碎した後、遮光密封下 4℃ で保管した。これらの試料は茎を含むが、本研究ではイチゴ葉とした。

続いて、得られたイチゴ葉乾燥粉末に 20 倍量の 50%(v/v)エタノールを添加し、常温で 4 時間攪拌抽

出した。その後、不溶性残渣を含む懸濁物を遠心して (12,000 x g, 30 分) 上澄み液を回収した。回収した上澄み液は減圧濃縮により乾固させ、イチゴ葉抽出物とした。

2.2 イチゴ葉ポリフェノールの精製

イチゴ葉抽出物のポリフェノール精製は合成吸着剤 HP-20 (三菱ケミカル (株)) を用いて行った。まず、HP-20 をアセトンで洗浄し、エタノールで平衡化した後、5%(v/v) エタノールに溶解したイチゴ葉抽出物をアブライした。その後、5%(v/v) エタノールで洗浄し、40%(v/v) エタノールにより溶出した。この溶出画分を濃縮乾燥させた粉末をイチゴ葉ポリフェノールとした。イチゴ葉抽出物中のポリフェノール画分の回収率は 18.3%、総ポリフェノール量は没食子酸当量で 1.46 g/g であった。

2.3 HR-1 マウスを用いた経口投与試験

4 週齢、メスの HR-1 マウスは日本 SLC から購入した。これらのマウスは 12 時間明暗転サイクルが保たれた SPF (Specific pathogen free) 環境下で飼育し、給餌および給水は自由摂取とした。

1 週間の予備飼育後、試験飼料としてアトピー様症状未誘導群にはラボ MR ストック (日本農産工業 (株))、アトピー様症状誘導群には HR-AD (日本農産工業 (株))、イチゴ葉抽出物群には HR-AD にイチゴ葉抽出物を 5% もしくは 1% の割合で混合した飼料、イチゴ葉ポリフェノール群には HR-AD にイチゴ葉ポリフェノールを 1% もしくは 0.2% の割合で混合した飼料を与えた。試験飼料の給餌開始から 1 週間毎にマウスの体重量および角質水分量、経費水分蒸散量を測定した。角質水分量の測定には Corneometer (Courage+Kazaka)、経費水分蒸散量の測定には Tewameter 300 (Courage+Khazaka) を用いた。試験開始 7 週間後にイソフルラン麻酔下において採血を行い、血清中の総 IgA および IgE、IgG、IgM、ヒスタミン濃度を酵素抗体法により測定した。また、肝臓については重量を測定し、脾臓については RT-qPCR により抗体およびサイトカイン mRNA の発現量を調べた。

本研究は西九州大学動物実験委員会 (R03-02) に承認を得て実施された。全ての実験は動物福祉に関する法律「動物の愛護及び管理に関する法律」を遵守し、また「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」に従って実施された。

2.4 統計解析

得られたデータは、GraphPad PRISM 10 (GraphPad Software Inc.) を用い、one-way ANOVA で解析した。

3. 結果および考察

3.1 体重および肝臓重量

HR-1 マウスの体重量を図 1 に示した。マウスの体重量は、7 週目にアトピー様症状未誘導群に誘導群と差異が認められたが、イチゴ葉抽出物群およびイチゴ葉ポリフェノール群については差はなかった。また、図 2 に示した肝臓重量についても、アトピー様症状誘導群に誘導群と差異が認められたが、イチゴ葉抽出物群およびイチゴ葉ポリフェノール群には差はなかった。

3.2 角質水分量および経皮水分蒸散量

マウス背部の角質水分量を図 3 に示した。アトピー様症状誘導群の角質水分量は未誘導群と比べ、試験開始 1 週間目から低い値を示し、保湿能が低下した。7 週間目にはイチゴ葉抽出物 1% 群と 5% 群でアトピー様症状誘導群よりも高い角質水分量を示し、保湿能の低下抑制が確認された。また、図 4 に示した経皮水分蒸散量では、アトピー様症状誘導群は経時的に増加し、未誘導群と比べ皮膚バリア機能の低下が認められた。一方、イチゴ葉抽出物 1% 群では 6 週間からアトピー様症状誘導群よりも経皮水分蒸散量が低下し、角質の保湿能やバリア機能が向上したことが示唆された。

また、試験終了時のマウス背部の様子を図 5 に示した。アトピー様症状未誘導群では健全な皮膚の様子が確認されたのに対し、誘導群ではシワや赤みが見られた。これに対し、イチゴ葉抽出物群やイチゴポリフェノール群ではこの症状が緩和された様子が確認された。

3.3 血中抗体濃度およびヒスタミン濃度

マウス血清中の抗体濃度を図 6 に示した。アトピー様症状誘導群は未誘導群と比べ、IgE 濃度が上昇した。これに対し、イチゴ葉抽出物 1% 群および 5% 群、イチゴ葉ポリフェノール 0.2% 群では優位に IgE 濃度が低下した。一方、生体防御に関与する IgA と IgG、IgM においては、アトピー様症状誘導群とイチゴ葉抽出物群、イチゴ葉ポリフェノール群での変化は認められなかった。

また、図 7 に示したヒスタミン濃度において、アトピー様症状誘導群では未誘導群と比べ上昇したが、イチゴ葉抽出物 1% 群と 5% 群、イチゴ葉ポリフェノール 0.2% 群ではヒスタミン濃度の上昇が抑制された。したがって、イチゴ葉抽出物とイチゴ葉ポリフェノールは IgE 濃度およびヒスタミン濃度を低下させることにより、アレルギー反応を抑制したことが示唆された。

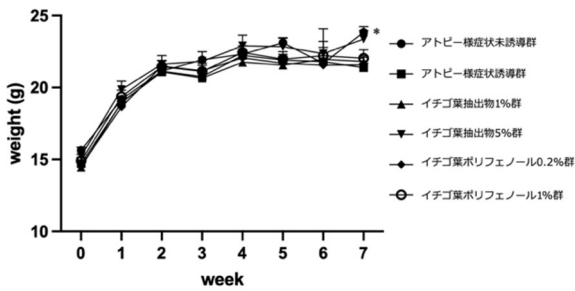


図1 マウスの体重量

測定値は 9 匹の平均値であり、エラーバーは標準誤差を示す。

*p<0.05 vs アトピー様症状誘導群を示す。

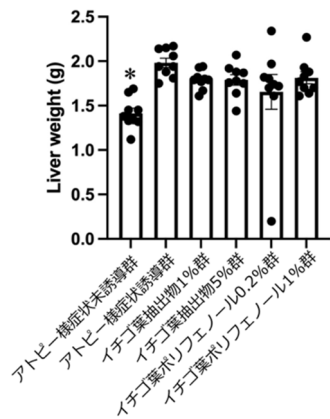


図2 マウスの肝臓重量

測定値は 9 匹の平均値であり、エラーバーは標準誤差を示す。

*p<0.05 vs アトピー様症状誘導群を示す。

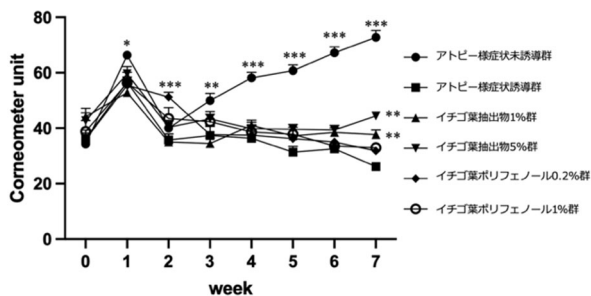


図3 背部の角質水分量

測定値は 9 匹の平均値であり、エラーバーは標準誤差を示す。

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs アトピー様症状誘導群を示す。

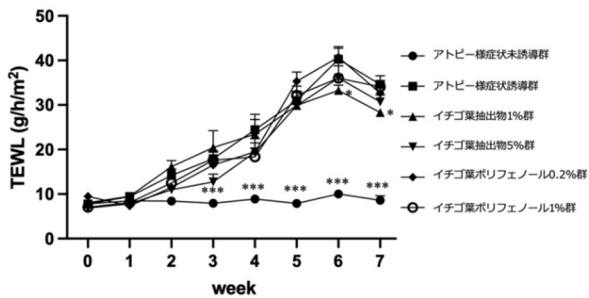


図4 背部の経皮水分蒸散量

測定値は 9 匹の平均値であり、エラーバーは標準誤差を示す。

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs アトピー様症状誘導群を示す。

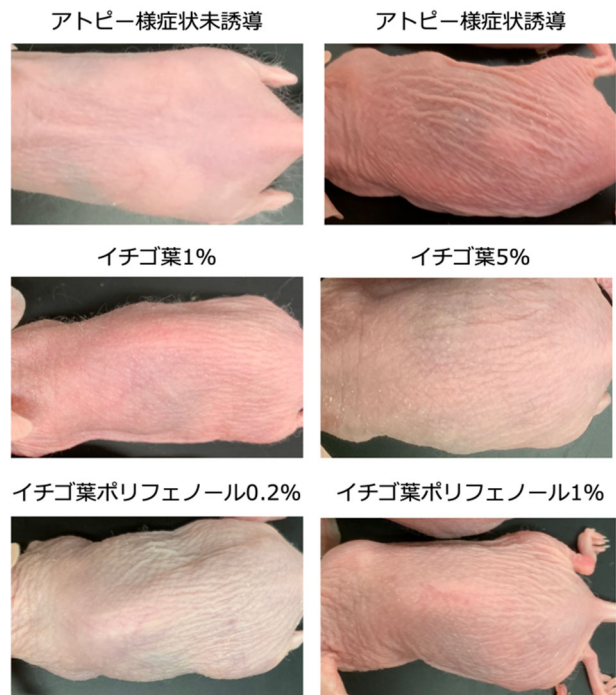


図5 マウス背部の様子

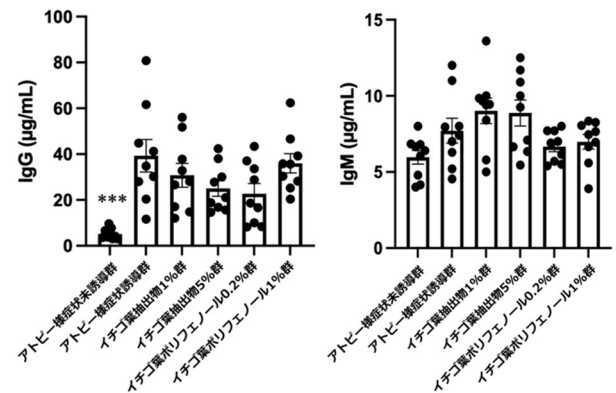
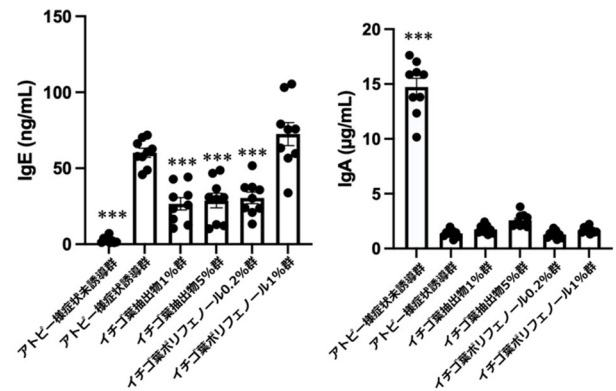


図6 血清中抗体量

測定値は 9 匹の平均値であり、エラーバーは標準誤差を示す。

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs アトピー様症状誘導群を示す。

3.4 マウス脾臓細胞の解析

脾臓は免疫細胞の生産等、生体の免疫応答に関わる代表的なリンパ器官である。イチゴ葉抽出物およびイチゴ葉ポリフェノールの脾臓細胞への影響は

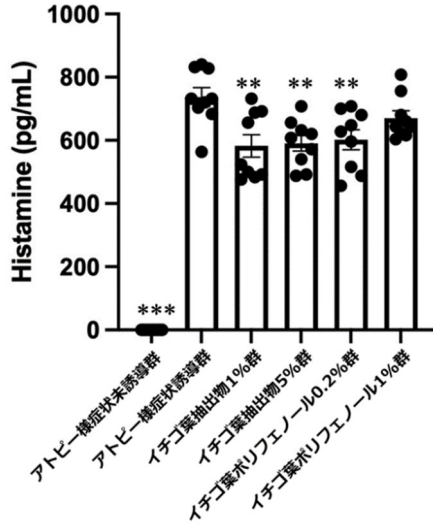


図7 血清中ヒスタミン量

測定値は9匹の平均値であり、エラーバーは標準誤差を示す。
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs アトピー様症状誘導群を示す。

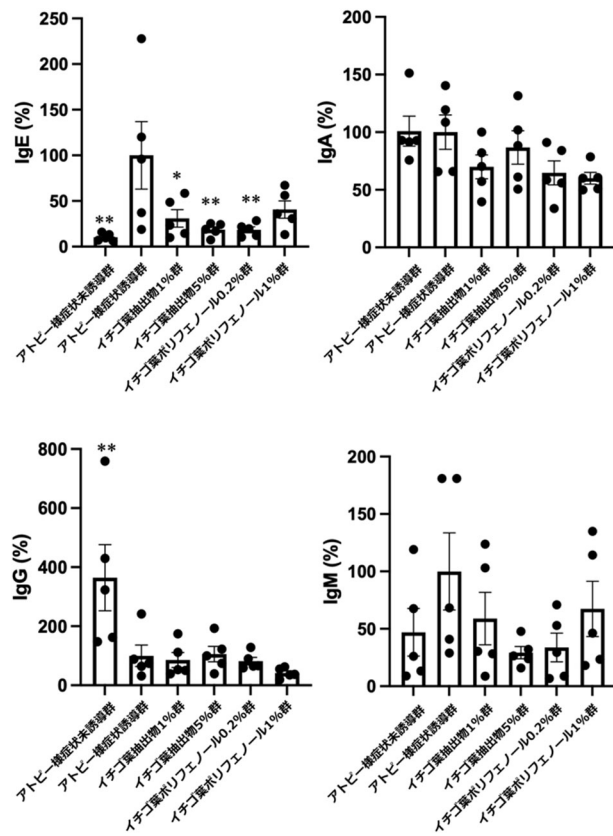


図8 脾臓細胞の抗体遺伝子発現

測定値は9匹の平均値であり、エラーバーは標準誤差を示す。
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs アトピー様症状誘導群を示す。

RT-qPCRにより mRNA 発現を解析することで評価した。それぞれの解析結果を図8に示した。IgE mRNAではアトピー様症状誘導群は未誘導群と比べ発現量が上昇したのに対し、イチゴ葉抽出物1%群および5%群、イチゴ葉ポリフェノール0.2%群では上昇が抑制された。一方で、IgAとIgG、IgM mRNAについては、アトピー様症状誘導群とイチゴ葉抽出物群、イチゴ葉ポリフェノール群での変化は認められなかった。

また、IL-4 mRNAの解析では、図9に示すようにアトピー様症状誘導群は未誘導群と比べ上昇したのに対し、イチゴ葉抽出物1%群および5%群、イチゴ葉ポリフェノール0.2%群では発現量の上昇が抑制された。

I型アレルギーの炎症症状の発症には、アレルゲンを食食し、ペプチド断片化して細胞膜上に発現する抗原提示細胞、その抗原ペプチドを認識してサイトカインを産生するヘルパーT細胞(Th)、IL-4やIL-13などのサイトカインなどによりIgEを産生するB細胞、そしてIgEとアレルゲンの結合により、ヒスタミンやロイコトリエンといった炎症因子を放出するマスト細胞、好塩基球などが関与している⁴⁾。本研究では、イチゴ葉抽出物とイチゴ葉ポリフェノールを与えたマウスにヘルパー2型T細胞のIL-4、B細胞のIgE、マスト細胞や好塩基球のヒスタミンの低下を認めた。これらの結果は、イチゴ葉抽出物およびイチゴ葉ポリフェノールはI型アレルギー反応の抑制に有用であり、これらの抑制により最終的にHR-1マウスのアトピー様症状を予防・改善したことを示唆するものであった。

イチゴ (*Fragaria × ananassa*) は、世界中で幅広い年代に消費される食品であり、ビタミンCや葉酸な

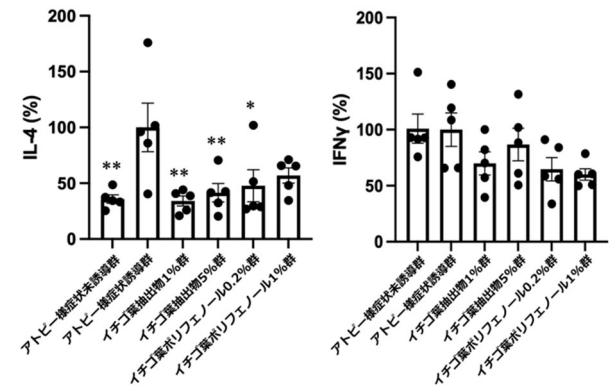


図9 脾臓細胞のサイトカイン遺伝子発現

測定値は9匹の平均値であり、エラーバーは標準誤差を示す。
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs アトピー様症状誘導群を示す。

どのビタミン、アントシアニン、フラボノール、フラバノール、エラグタンニン、ケイ皮酸などのポリフェノール、ペクチンなどの食物繊維が豊富に含まれ、近年の研究で抗酸化作用、抗がん作用、抗炎症作用、抗動脈硬化作用、抗神経変性疾患作用、抗アレルギー作用、抗変異原性作用、認知機能低下の抑制など様々な生理機能を有することが明らかになっており、機能性食品素材として関心を集めている⁵⁻¹¹⁾。

一方、イチゴ葉は花托（一般的な可食部位）の収穫期後の5~6月に廃棄されているが（生重量 24 kg/a 程度）、その活用に関する報告はほとんどなく、機能活性に関する研究も少ない。また、報告されている作用もメラニン合成抑制作用やヒアルロニダーゼ阻害作用、リパーゼ阻害作用、IL-8 産生抑制作用、コラゲナーゼ産生抑制作用等である^{1-3, 12-14)}。抗アレルギー作用については、寺内ら¹⁵⁾が *in vitro* 試験でラット腹腔マスト細胞の脱顆粒反応を抑制したことを報告しているが、*in vivo* で経口投与試験した知見はなく、本研究で見出した知見は新規性の高いものであった。

4. おわりに

本研究では、イチゴ葉の抗アレルギー効果に対する有用性を検証した。

イチゴ葉抽出物およびイチゴポリフェノールのアトピー様モデルマウスへの影響を調べ、皮膚症状悪化の予防や改善に有用であること、またこの効果が血中 IgE やヒスタミン濃度の抑制によるものであることを明らかにした。

今後は、イチゴ葉の加工特性等、機能性素材としての適正性を評価する予定である。

参考文献

- 1) 岩元彬, 柘植圭介, 松浦洋一, 弥長修一郎, 霜尾毅, 中村剛, 田中一平, 佐賀県資源の新産業活用を目指した市場ニーズに基づく健康・美容製品の開発 (第1報), 令和4年度佐賀県工業技術センター研究報告書, 31, 19-23 (2022)
- 2) 岩元彬, 柘植圭介, 松浦洋一, 弥長修一郎, 霜尾毅, 中村剛, 田中一平, 佐賀県資源の新産業活用を目指した市場ニーズに基づく健康・美容製品の開発 (第2報), in press
- 3) 柘植圭介, 岩元彬, 松浦洋一, 霜尾毅, 植田義敬, 田中一平, 竹田健太郎, イチゴ葉の化粧品・美容食品サステイナブル減量化に関する研究, 令和

- 4年度佐賀県工業技術センター研究報告書, 31, 61-69 (2022)
- 4) Iwamoto A, Inoue Y, Inoue Y, Yamada K, Tachibana H, Kawahara H, Anti-allergic effect of strawberry extract, *J Func Food*, **5**(4), 1947-1955 (2013)
- 5) Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J.M., Battino, M., Strawberry and human health: effects beyond antioxidant activity, *J Agric Food Chem*, **62**(18), 3867-3876(2014)
- 6) Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, Quiles J.L., Mezzetti, B., J.M., Battino, M, The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health, *Nutrition*, **28**(1), 9-19(2012)
- 7) Aaby, K., Wrolstad, R.E., Ekeberg, D., Skrede, G., Polyphenol composition and antioxidant activity in strawberry purees; impact of achene level and storage, *J Agric Food Chem*, **55**(13), 5156-5166(2007)
- 8) Aaby, K., Ekeberg, D., Skrede, G., Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity, *J Agric Food Chem*, **55**(11), 4395-4406(2007)
- 9) Zhang, Y., Seeram, N.P., Lee, R., Feng, L., Herber, D., Isolation and identification of strawberry phenolics with antioxidant and human cancer cell antiproliferative properties, *J Agric Food Chem*,
- 10) Devore, E. D., Kang, K. H., Brereeler, B. M. M., Grodstein, F., Dietary intakes of berries and flavonoids in relation to cognitive decline, *Ann Neurol*, **72**, 135-143(2012)
- 11) Iwamoto A, Inoue Y, Tachibana H, Kawahara H, Alkali-soluble pectin suppress IgE production in human myeloma cell line in vitro, *Cytotechnology*, **71**(2), 573-581(2019)
- 12) 人見英里, 小林奈央, 吉本菜美, イチゴ葉の抗酸化活性及び酵素阻害の検討, 山口県立大学学術情報, **11**, 37-43 (2018)
- 13) 大原祐実, 川越義晴, 鎌田靖志, 野崎勝則, 森本正則, 駒井功一郎, イチゴ葉に含まれる整理活性物質, 近畿大学資源再生研究所報告, **7**, 45-55 (2009)
- 14) Zhu Q, Nakagawa T, Kishikawa A, Ohnuki K, Shimizu K, In vitro bioactivities and phytochemical profile of various parts of the strawberry (*Fragaria ×*

ananassa var. Amaou), *J Funct Foods*, **13**(1), 38-49(2015)

15) 寺内正裕, 松尾健, 豊田安基江, 金森久幸, 柴田賢哉, 藤原朋子, 甲村浩之, 伊藤栄治, 中津沙弥香, 武藤徳男, *生薬学雑誌*, **61** (1), 18-23(2007)