

「脱脂粉乳を利用した機能性ミルク・みそ」のヒトによる試験 —アンギオテンシンII抑制効果—

宮崎大学農学部 食品機能化学講座 教授 六 車 三治男
宮崎大学医学部 応用生理学講座 教授 丸 山 眞 杉
株式会社ユニカフェ R&Dセンター長 中 村 豊 郎
ヤマエ食品工業株式会社 製造部長 久寿米木 一 裕

要 約

高血圧予防効果が期待できるアンギオテンシン変換酵素（ACE）阻害活性を有し、さらにカルシウム含量の多い「機能性ミルク・みそ」を作製し、動物実験でそれらの効果を確認した結果、高血圧自然発症ラット（SHR）を用いた経口投与の実験で顕著な血圧降下作用が確認されWister系ラットで骨密度の改善効果が認められた。さらに昨年度ヒトによる試験を行った結果、3ヶ月間の摂取により、血圧の変化は認められなかったものの、ミルクみそ摂取群において血中アンギオテンシンIIレベルの有意な低下が認められた。アンギオテンシンIIの減少はミルクみそがアンギオテンシン II産生の律速酵素であるACEの阻害活性を持つペプチドを含有することから、ミルクみそ摂取による影響であると考えられた。ACE阻害剤は顕著な血圧降下をもたらさないレベルでも、心血管系や腎臓を含む主要臓器の臓器障害を減弱させ、動脈硬化や心不全の防止に効果があると考えられていることから、ミルクみその摂取によりアンギオテンシンII濃度の低下が認められたことは、ミルクみそがこれらの疾患に対して予防効果を持っている可能性が示唆された。

そこで今年度は、昨年度に観察されたミルクみそによるアンギオテンシンII濃度低下作用について、補強証拠を得ることを第一の目的として実験を行った。

その結果、ミルクみそによるアンギオテンシンII降下作用は確実であることが明らかになった。アンギオテンシンIIは様々な生活習慣病の増悪因子として知られている。アンギオテンシンIIの阻害により生活習慣病に起因する死亡率が有意に抑制されることも知られている。ある程度血圧が高くても、アンギオテンシンIIの濃度を抑制することが出来れば、臓器障害を防ぐことが可能であり、血圧の厳密なコントロールは必要ないとの考えもある。アンギオテンシンIIの抑制は現在の成人病予防の観点から非常に注目を浴びている分野であり、すぐれた機能性食品としてのミルクみその可能性が期待される。

キーワード

脱脂粉乳、みそ、血圧降下作用、ACE阻害活性、アンギオテンシンII、生活習慣病予防、臓器障害予防、カルシウム、骨密度

目 的

脱脂粉乳は製菓、製パン、乳飲料および家庭用スキムミルクなど多方面で原料として利用されている。これにはタンパク質、乳糖、カルシウム、リン、ビタミンなどがバランスよく含まれている。特に、乳タンパク質は人間の成長、健康、美容などに欠かせない必須アミノ酸のすべてを含んでいる最も優秀なタンパク質の一つと言われている。しかし近年、脱脂粉乳の過剰在庫問題が酪農・乳業界の大きな課題となっている。そのため、関係各方面では脱脂粉乳のもつ栄養成分や機能性に着目しつつ、消費の促進や新しい需要の開発等に努力を傾注しているが、まだ、斬新かつ有効なアイデア等は見出されていなかった。

一方、みそは1000年以上の歴史を有し、わが国食文化の形成に重要な役割を果たしてきた。このようにわが国の食文化形成に深く関わってきた基本調味料であるみその生産については多数の研究開発があるが、植物性原料のみそに動物性原料である脱脂粉乳を利用し新たな栄養価や機能性が付与されて、日本国内だけでなく国際的にも受け入れられるみその開発・研究が望まれていた。

そこで、良質の栄養素を含む脱脂粉乳を利用して、わが国で栄養所要量にまだ到達していない栄養素であるカルシウムも豊富に含み、醸造技術によりさらに乳由来の生理活性機能性も付加されたニュータイプのみその開発研究を行ってきた。その結果、良質な栄養素を含む脱脂粉乳を利用して、わが国で栄養所要量にまだ到達していないカルシウムも豊富に含み、醸造技術によりさらに乳由来の生理活性機能も付加したニュータイプのみその開発に成功した(1-7)。

この「機能性ミルク・みそ」は脱脂粉乳を一部加えたみそでクリーミーな風味を有すると共に必須アミノ酸含量が増加し、カルシウム含量も高く、さらに、高血圧予防効果が期待できるACE阻害活性も有していた。さらに、それらの機能性を動物実験で確認したところ、前者では骨粗鬆症ラットで骨密度に改善が見られ、後者ではSHRを用いた経口投与の実験でも顕著な血圧降下作用が確認された(3, 5, 7)。

そこで、昨年度の研究では基礎試験や動物試験だけでなく、ヒトによる試験も必要との考えから、「脱脂粉乳を利用した機能性ミルク・みそ」のヒトによる試験を行った。その結果、試験期間が比較的短く、被験者数も少数であったが、3ヶ月間の摂取により、血圧の変化は認められなかったものの、ミルク・みそ摂取群において血中アンギオテンシンIIレベルの有意な低下が認められた。アンギオテンシンIIの減少はミルク・みそがアンギオテンシン II産生の律速酵素であるACEの阻害活性を持つペプチドを含有することから、ミルク・みそ摂取による影響であると考えられた。ACE阻害剤は顕著な血圧降下をもたらさないレベルでも、心血管系や腎臓を含む主要臓器の臓器障害を減弱させ、動脈硬化や心不全の防止に効果があると考えられていることから、ミルク・みその摂取によりアンギオテンシンII濃度の低下が認められたことは、ミルク・みそがこれらの疾患に対して予防効果を持っている可能性が示唆された(4, 6)。

今回の実験では2004年度に観察されたミルク・味噌によるアンギオテンシンII低下作用について、補強証拠を得ることが第一の目的である。また、長期に亘る投与を行い、血圧および骨、カルシウ

ムに与える影響についても再度検討を加えることを目的に実験を行ったので報告する。

方 法

1. 使用みそ

みそ原料としての豆類には大豆を、穀類としては米、大麦を使用した。塩原料は国内産の並塩を使用し、目標とする仕込み食塩濃度を10.5%、水分約43%とした。脱脂粉乳を混合したみそを製造する場合はみそ原料のうち大豆、米、大麦の使用量を減じて、よつ葉乳業製の脱脂粉乳で代替した。なお、脱脂粉乳の代替率を20%とした。麴菌にアスペルギルス・オリゼを用いて調製した米麴、麦麴1.4に対して1の割合で大豆蒸煮物および塩を混合し、さらに耐塩性酵母としてのチゴサッカロミセス・ルキシー及び耐塩性乳酸菌としてのペディオコッカス・ハロフィラスを混合し、麴混合材料を仕込んだ。熟成工程では、仕込んだ麴混合材料を20～25℃の製造室で発酵熟成した。脱脂粉乳の混合は製造工程の途中で行い、脱脂粉乳を混合後約3ヶ月間熟成した。

2. 被験者の概要およびグループ分け

健康人ボランティア33人を対象としてミルク味噌の摂取実験を行った。その内わけは、男性7名女性26名で、年齢は42 ± 10歳であった。被験者には実験の目的、実施方法に関する説明会および文書配布を行い、同意書に署名を得た後、実験を行った。

3. 投与実験

被験者は2004年度の実験と異なりグループ分けは行わず、すべて1グループとしてミルク味噌を摂取した。摂取開始約1ヶ月前および摂取開始直前に採血採尿、血圧測定を行いコントロールデータとした。この間是对照の味噌を摂取してもらった。2回目の検査翌日よりミルク味噌を摂取の方法は問わず一日15g以上、4ヶ月間にわたって毎日摂取してもらった。従って、今回の実験では2004年度の実験と比較して摂取量にバラツキがあると考えられるが、毎日のおおまかな味噌摂取量を被験者本人に記録してもらい摂取量の確認を行った。

4. 検査項目および検査方法

検査項目は表1に示したものをを行った。

表1 検査項目

WBC	γ-GTP	Fe
RBC	CPK	血糖
ヘモグロビン	LDH	総蛋白
ザーリー	中性脂肪	アルブミン
色素指数(CI)	総コレステロール	骨型ALP
ヘマトクリット	HDLコレステロール	アルドステロン
MCV	LDLコレステロール	アンギオテンシンII
MCH	尿素窒素	デオキシピリジノリン
MCHC	クレアチニン	尿糖
血小板数	尿酸	蛋白
総ビリルビン	Na	ウロビリノーゲン
GOT	Cl	潜血
GPT	K	骨密度
ALP	Ca	血圧

血圧の測定は連続して5回行い、最高、最低血圧それぞれの最も高い値および最も低い値を削除して、残り3回の平均値を求め、最高および最低血圧とした。血清アルドステロン濃度、アンギオテンシンII濃度はラジオイムノサッセイ（RIA法：アルドステロンは硫酸塩析法、アンギオテンシンIIはビーズ固相法）を用いて測定した。骨関連の特殊検査であるデオキシピリジノリン量は酵素免疫測定法（EIA法）にて測定した。採血、採尿、血圧測定は日内周期変動を考慮して、なるべく朝の9時から10時までの同時刻に実施した。

5. 統計処理

摂取1ヶ月前及び摂取直前のデータとの有意差を、対応のあるt検定にて行った（両側検定）。

結果および考察

摂取実験開始直後に被験者一名（女性）より、ミルクミその匂いが授乳中に経験した母乳の匂いを思い出させ、不快であり、摂取継続が困難との訴えがあった。この被験者は摂取実験より除外せざるを得なかった。風味にいわゆる「乳臭い」ところがあるのは無視できない問題であると考えられ、改善の余地があると思われる。被験者の味噌消費日記より概ね全被験者が一日15グラムのみそを摂取していたと思われる。

今回の実験においても、前回と同じく、収縮期血圧（図1）、拡張期血圧（図2）には有意な変化

は認められなかった。また、骨関連の指標である血清カルシウム（図3）、骨型アルカリフォスファターゼ（骨型ALP、図4）、尿中デオキシピリジノリン（図5）にも有意な差を認める事はなかった。

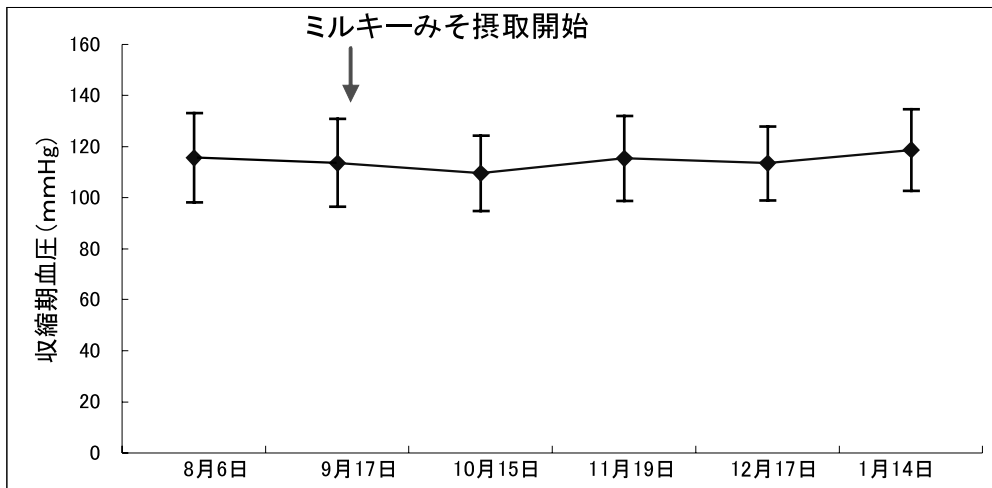


図1 収縮期血圧

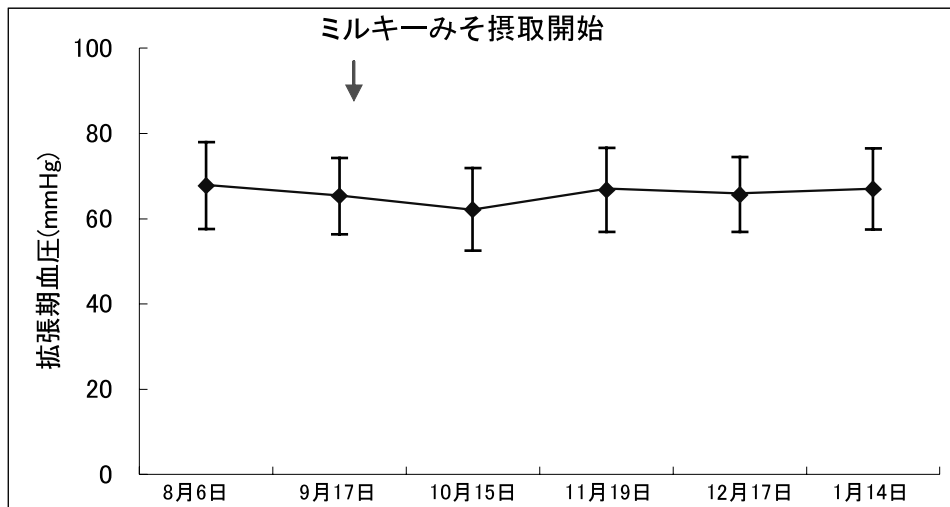


図2 拡張期血圧

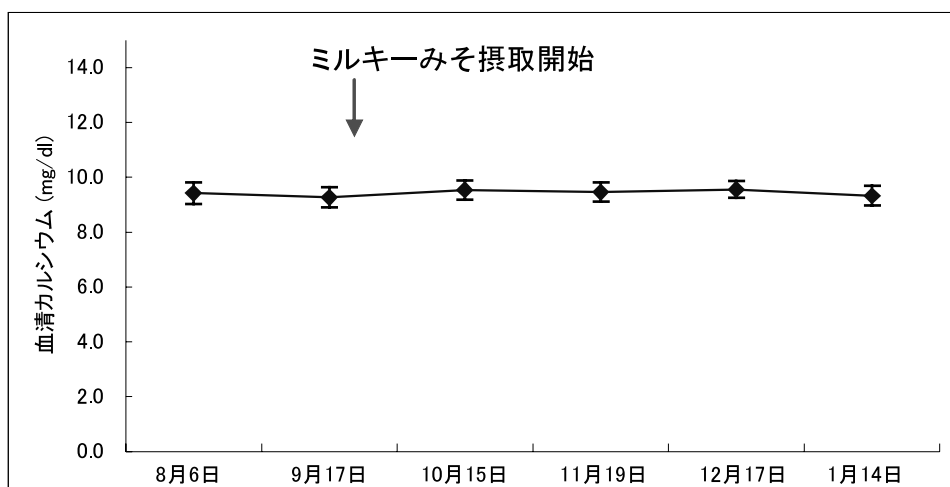


図3 血清カルシウム

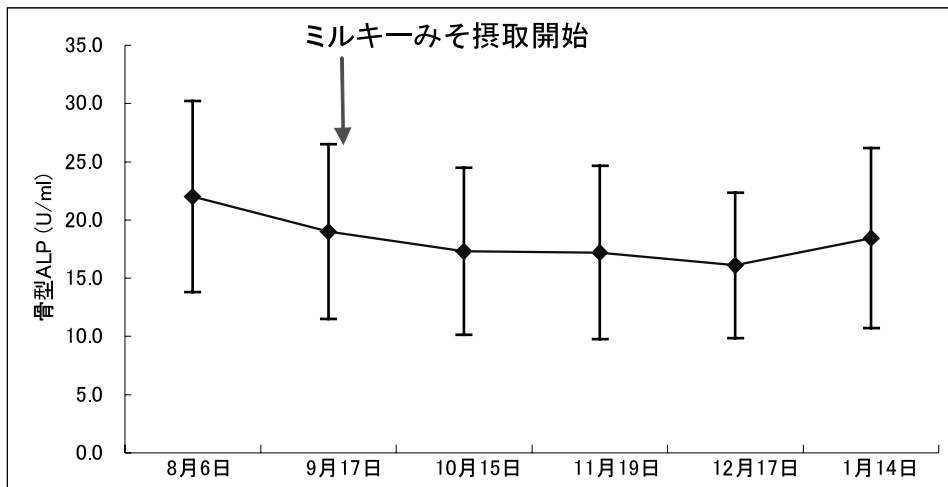


図4 骨型ALP

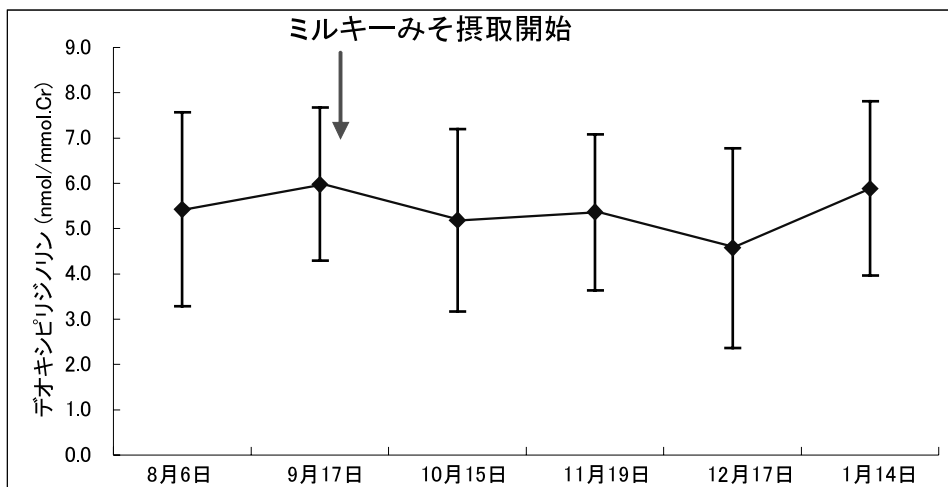


図5 尿中デオキシピリジノリン

しかし、レニン-アンギオテンシン-アルドステロン系に関しては、前回と同様、血清カリウム (図6)、アルドステロン濃度 (図7) には有意差が見られなかったが、アンギオテンシンII (図8) については第1回のコントロールデータに対してはミルクミーみそ摂取後すべての検査結果において非常に小さな危険率をもって高い有意差が認められた。また、摂取直前のデータに対しても摂取後は明らかにアンギオテンシンII濃度のばらつきが減少しており、摂取一ヶ月後には有意差 ($p < 0.05$) を持って低下していた。みそ摂取後のアンギオテンシンIIの低下は比較的早期に観察された。摂取開始1ヶ月前と比較して摂取直前のアンギオテンシンIIの値も有意に低下している ($p < 0.05$) が、その理由は不明である。対照として使用したみそにもアンギオテンシンII低下作用があるとも考えられるが、2004年に行った二重盲検法による結果では、対照みそによるアンギオテンシンIIの低下は認められていなかった。

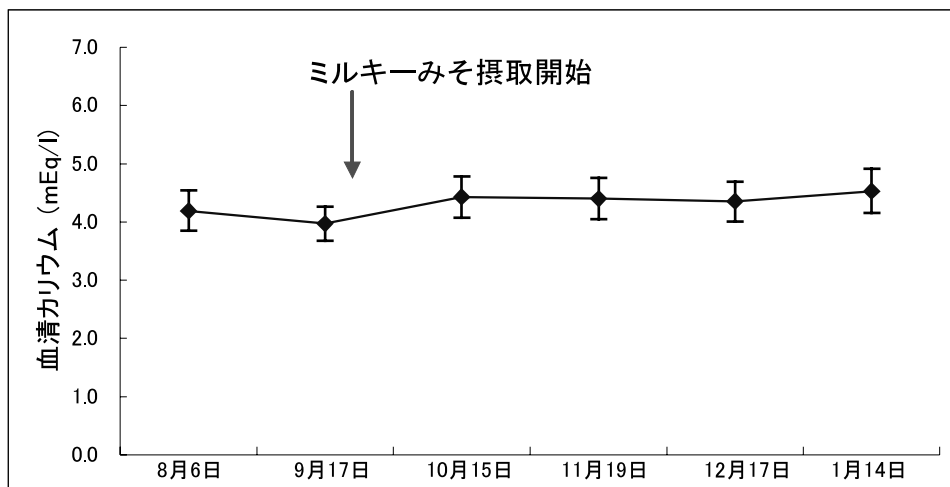


図6 血清カリウム

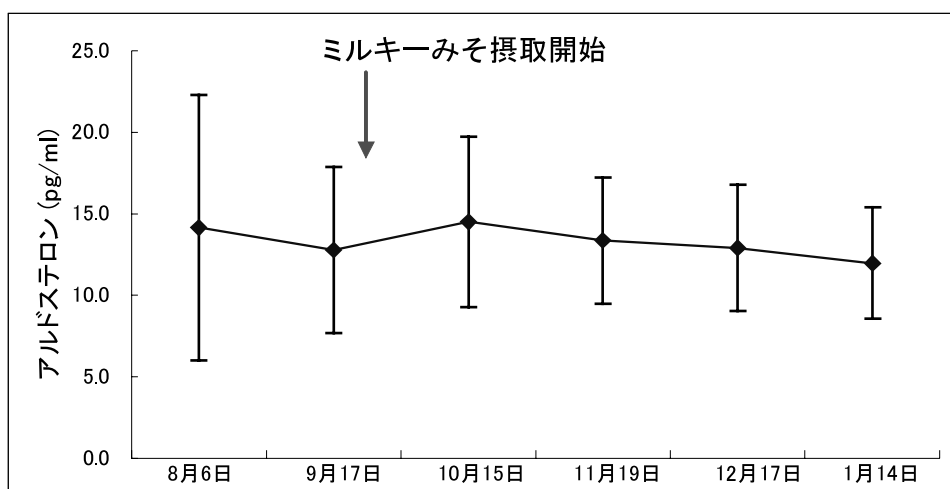


図7 アルドステロン

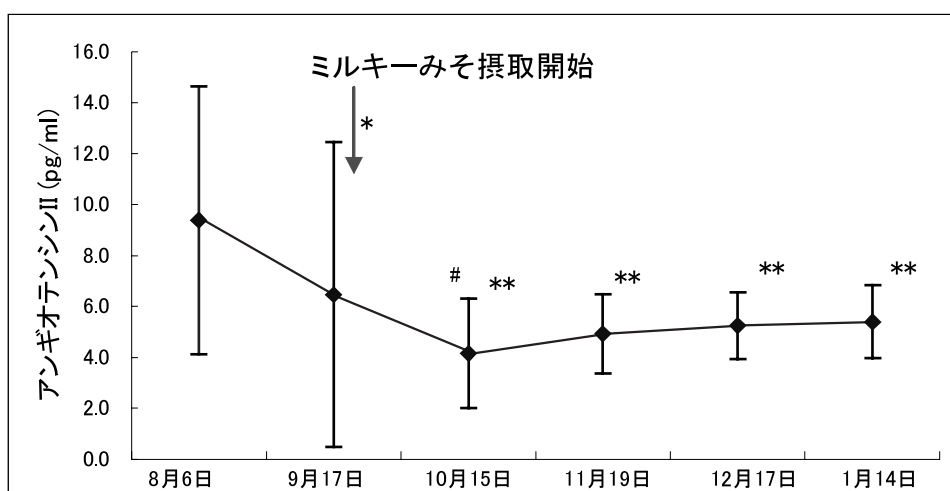


図8 アンギオテンシンII

* : p<0.05, **: p<0.0002 vs 8月6日

: p<0.05 vs 9月17日

いずれにしても、今回の実験および以前の結果（文献4および6）よりミルク・みそによるアンギオテンシンII降下作用は確実であると考えてよいと思われる。アンギオテンシンIIは様々な生活習慣病の増悪因子として知られている(8-17)。アンギオテンシンIIの阻害により生活習慣病に起因する死亡率が有意に抑制されることも知られている。ある程度血圧が高くても、アンギオテンシンIIの濃度を抑制することが出来れば、臓器障害を防ぐことが可能であり、血圧の厳密なコントロールは必要ないとの考えもある。アンギオテンシンIIの抑制は現在の成人病予防の観点から非常に注目を浴びている分野であり、すぐれた機能性食品としてのミルク・みその可能性が期待される場所である。

今後は疾患を持ったヒトへの影響を知る前に、各種の生活習慣病、例えば糖尿病、動脈硬化、脳梗塞、高血圧、腎臓疾患などのモデル実験動物を用いて、脱脂粉乳分解産物が持つこれらの疾患にたいする改善作用の検討を行う必要があると考えられる。本年度の研究で、機能性ミルク・みそにはアンギオテンシンIIの抑制効果を介して、各種生活習慣病の予防に明らかに効果があることが示唆されたが、各種モデル実験動物を用いた実験のほかに、万人に受け入れられる美味しい機能性ミルク・みその開発も急務であると考えている。原料乳や製造方法によって、脱脂粉乳は機能・特性が異なることが認められている。そこで、現在までの実験で用いてきた汎用タイプの脱脂粉乳に代わって、製菓・製パンや耐熱性が必要な飲料などに適したハイヒートタイプの脱脂粉乳を用いて機能性みそを製造し、毎日美味しく食べていただけるような商品価値の高い製品の開発が必要と考えられる。

文 献

- 1) 六車 三治男、森 栄裕、河原 聡、山内 清、工藤真豪、久寿米木 一裕、中出浩二、中村豊郎：脱脂粉乳を利用したニュータイプの機能性味噌について日本畜産学会第103回大会講演要旨、P161（2004）
- 2) 六車 三治男：脱脂粉乳の新しい用途開発に成功－脱脂粉乳を利用したニュータイプの機能性みその開発－；畜産コンサルタント、No.476（8）, 57-63（2004）
- 3) 六車 三治男、森 栄裕、河原 聡、丸山真杉、工藤真豪、久寿米木 一裕、大谷啓一、脇能広、菱沼 毅、中村豊郎：スキムミルクを利用したニュータイプの機能性みその動物試験について 日本畜産学会第104回大会講演要旨、 P164（2005）
- 4) 六車 三治男、丸山真杉、中村豊郎、久寿米木 一裕：「脱脂粉乳を利用した機能性ミルク・みそ」のヒトによる試験について 平成16年度脱脂粉乳の新規需要開拓に関する情報収集・研究報告書、 P143-153（2005）
- 5) 久寿米木 一裕、中村豊郎、菱沼 毅、六車 三治男： 日本醸造協会誌、100, 216-223（2005）
- 6) 六車 三治男、河原 聡、丸山真杉、久寿米木一裕、菱沼 毅、中村豊郎：脱脂粉乳を利用した機能性みそのヒトによる試験について 日本畜産学会第105回大会講演要旨、 P100（2005）
- 7) 六車 三治男、森 栄裕、河原 聡、丸山真杉、中山建男、久寿米木一裕、菱沼 毅、中村豊

- 郎：脱脂粉乳を利用した機能性味噌の開発 食品工業、No.48 (23) , 36-49 (2005)
- 8) 岡本 洋、坂田芳人：不全心における心筋再構築の分子機構—心臓組織レニン—アンジオテンシン系 (RAS) の役割 医学のあゆみ、Vol.194 (2) , 103-107 (2000)
- 9) 浦 信行、進士靖幸：生活習慣病におけるレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系 血管医学、Vol. 5 (4) , 49-56 (2004)
- 10) 堀内正嗣：アンジオテンシン受容体研究の新展開 血管医学、Vol. 5 (4) , 7-16 (2004)
- 11) 熊谷裕生 他：最新の大規模研究から明らかにされたアンジオテンシンIIおよびアルドステロン遮断薬の効果 血管医学、Vol. 5 (4) , 65-74 (2004)
- 12) Hamilton CA et al.: Strategies to reduce oxidative stress in cardiovascular disease. Clin. Sci. (Lond) ., 106 (3) , 219-234 (2004)
- 13) Fujimoto T, Hasebe N, Kikuchi K.: Evidence-based usefulness of Ca antagonists and ACEIs and ARBs for the primary and secondary prevention of major cardiovascular and renal events in patients with hypertension. Clin. Calcium, 15 (10) , 1695-1708 (2005)
- 14) Giacchetti G, Sechi LA, Rilli S, Carey RM.: The rennin-angiotensin- aldosterone system, glucose metabolism and diabetes. Trends. Endocrinol. Metab., 16 (3) , 120-126 (2005)
- 15) Manolis et al.: Arterial compliance changes in diabetic normotensive patients after angiotensin- converting enzyme inhibition therapy. Am. J. Hypertens., 18 (1) , 18-22 (2005)
- 16) Watanabe T, Barker TA, Berk BC.: Angiotensin II and the endothelium: diverse signals and effects. Hypertension, 45 (2) , 163-169 (2005)
- 17) Touyz RM. : Molecular and cellular mechanisms in vascular injury in hypertension: role of angiotensin II - editorial review. Curr. Opin. Nephrol. Hypertens., 14 (2) , 125-131 (2005)