

生物資源の食品および化粧品への利活用と  
それに関わる評価法に関する研究

Study on use and application of biological resources for  
food and cosmetics and related evaluation method

宮 下 忠 芳

## 目次

第1章	生物資源の食品および化粧品としての利活用とその変遷	1
1.	序論	2
2.	生物資源と人間社会の進化と変遷	4
3.	美と健康産業における生物資源	8
第2章	植物資源カムカムの血管内皮機能に及ぼす影響の検討	12
1.	緒言	13
2.	方法	14
3.	結果	16
4.	考察	17
第3章	動物資源エミューオイルの血管内皮機能に及ぼす影響の検討	28
1.	緒言	29
2.	方法	31
3.	結果	33
4.	考察	35
第4章	植物資源カムカムの化粧品素材としての安全性評価	43
1.	緒言	44
2.	方法	45
3.	結果と考察	46
第5章	動物資源エミューオイルの化粧品素材としての機能性および安全性 評価	60
1.	緒言	61
2.	方法	63

3. 結果	66
4. 考察	68
第6章 官能評価におけるイメージ展開技法の開発	86
1. 緒言	87
2. 方法	88
3. 結果と考察	91
参考文献	109
要旨	126
英文要旨 (Abstract)	130
謝辞	135

## 第 1 章

### 生物資源の食品および香粧品としての利活用とその変遷



## 1. 序論

人間は、誕生してから今日まで、地球上に存在しているあらゆる生物資源の享受により生命活動を維持し、進化してきた。生物資源とは、広義においては植物、動物、空気、水、そして人間も含めたあらゆる地球の産物とされている。

人間は誕生直後から生物資源を狩猟や捕獲などの方法で入手し、食用として、「生きる」という基本的な生命維持活動のために用いる期間が長く続いた。しかし約 1 万数千年前のドメスティケーションによる社会変化以降、「自然を支配して生きる」という、人間の思考行動の著しい変化が見られた。このことは、人間が自然環境の中で他の生物資源とは著しく異なる性質を有することを示している。これらの人間を取り巻く環境の変化は、脳の「五感」に新たな多くの情報を与え、その結果として思考の多様化につながり、現代においては「美しく」「健やかに」「不老長寿」を目指すという思考を持つように変遷し現在に至っている。一方で、五感や欲望の満足と反して、人間が健康を損ねて様々な現代病に蝕まれているのも事実である (Vital statistics of Japan. 2016, Estimates of national medical care expenditure. 2014)。その結果、「美と健康」を維持したい現代の人々は高価な薬、健康食品、サプリメント、化粧品などの利用に多額な出費をしている。この様な傾向は、サプリメントの 2015 年度の売上高、1 兆 6000 千億円 (president one line 調べ)、化粧品、1 兆 8000 億円 (輸入品を含む) (化粧品工業会調べ) という数字に表れている。また、サプリメントの売上高で「美肌・肌ケア」のサプリメントが約 1400 億円を占め、増加の一途を辿っている。

化粧品以外においても、サプリメントに対して「美と健康」のケアに体の内部からのケアを期待する傾向が強くなり、化粧品とのコラボレーションの効果を訴求する製品が増加してきた。健康食品やサプリメントがもたらす、体内および体

外からの効果を体感しやすい皮膚の「美と健康」に対するサプリメントへの需要が高まっていることは、「美と健康」において内外美容への関心が高まっていることを表していると考えられる。

皮膚の美しさは皮膚のケアによる直接的な外観美であるが、体の内部から生じる「美」と密接な関係がある。人間は皮膚に自律神経終末（痛感、温感、冷感）やマイスネル小体（触覚）などの感覚機能を有しており、視覚、触覚でこの外観の美を最も早く認識することが出来る。この外見の美を代表する製品として、化粧品が存在している。化粧品（Cosmetics）の語源は宇宙（Cosmos）を意味し、このコスモスに対比する言葉はカオス（混沌、無秩序）である。科学は宇宙のカオスからコスモという「自然界の秩序」の法則を構築し、ギリシャ人は宇宙に存在する「美的な調和や秩序」を探求する事が科学の出発点であったと考えていた。Cosmetics はギリシャ語の「美の秩序」そのものを意味し、ギリシャにおいては、コスモスがマクロコスモス（大宇宙）とミクロコスモス（小宇宙）に二分化されていた。このことは、太陽や惑星が大きな宇宙を支配する法則と小さな宇宙としての人間の身体の秩序があることを意味し、大宇宙のレスポンス（万物照応）がミクロコスモスの人間の体にある作用を及ぼし影響を与えるという思想であったことが記されている。

現代においても、人間の知的な発達には「肉体（身体）と精神（心）」のバランス（調和や秩序）が重要であり、世界保健機関の健康の定義においても定められている。精神的満足度は行動に影響を及ぼし、満足度が高ければより活動的な行動変容となり、結果として身体的健康へと繋がる。化粧品による外観への自信が健康を左右する要因の一つだと考えられ、「美と健康の心身相関」と考えることができる。

これらのことから、「美と健康」を科学するには、「心と身体」、身体の「内面と外面」を総合的に考察する必要があると考えられる。また、美と健康に関与し

ている生物資源の薬理的，生薬的成分が体内および皮膚の美の効果の両面に作用するものを選択してそれを証明できれば，それは真のコスモ(美の秩序)の集大成としての「内外美容」(インナービューティー，アウタービューティー)という科学的方法論を確立できると考えられる。

## 2. 生物資源と人間社会の進化と変遷

### 2.1. 生物資源の進化の歴史

今から138億年前のビックバーンの後，約46億年前に地球は誕生し，最初の生物体は地球の高熱熱中水噴出からエネルギーを取り出すことが出来るバクテリア「好熱菌」であったとされている。学問的には「LUCA=Last Universal Common Ancestor：最終共通先祖」若しくは「MRCA=Most recent common ancestor」と呼ばれる(Fitch et al. 1987)。これは1977年にカール・ウーズらによって原核生物が古細菌と真正細菌からなることが提唱され，これら原始的バクテリアは「細胞膜」「代謝・恒常性」「複製」の3つの機能を持っていることから生物のLUCAであると定義づけられた。

その後，光合成をおこなう細菌(シアノバクテリア藻類など)類が誕生し，酸素の供給が始まった。そして，真核生物の出現，多細胞生物の出現が今日の生物資源の多様化の原点(約6億年前)となった。光合成が盛んに行われ，それにより大気中の酸素濃度は20%にまで達し，オゾン層が形成され紫外線の光毒性量が減少して生物資源は多く地上で生存できるようになった。その後大きな生物の進化，変革はカンブリア爆発に起因する。この5.41億年前に始まるカンブリア大爆発は生物の歴史を大きく変え，生物資源には魚類，植物などの区分などの進化が起こった。そして植物のように光合成により自らエネルギーを作り出す独立栄養生物が明確に存在し，他の生物を食べ生存エネルギーを

得る動物の様な従属栄養生物がはっきりと区分されるようになった。これら生物資源の進化，種類の増加にと共にその恩恵を最大限利用して来たのが，今日の人間である。

## 2.2. 人類の進化の歴史

人類の祖先は約 700 万年からアフリカのチンパンジーと別れてまったく別の進化を経てきた(人とチンパンジーの遺伝子は 99%同じである)。人属がチンパンジー亜族と人亜族に分かれ人亜族が人属に分類され，約 25 万年，今日我々現代人類であるホモサピエンス(*Homo sapiens*)誕生に至るまで複雑で多岐にわたる進化を遂げた。人類の進化は生物資源との共存にあり，生物資源と人との関わり合いは，明らかに人間が動物，植物を食用として「生きる」という従属栄養摂取型動物であるため，常に適宜に移動して，あらゆる動植物を食用として来た。そこから，従属栄養型人間の「生きる」「より合理的に生きる」という必然的行動および思考が人間の進化に繋がっている。結果として二足歩行，火の発見および道具の利用は脳の発達を促した。人間の脳の発達はいろいろな説がある。このなかで，レイモンド・ダートは，知能の発達説の一要因は，狩猟仮説，すなわち効率よく捕獲する行動および肉食による摂取エネルギーの増加が脳の発達に関与していることを提唱した。また 2004 年にユタ大学デニス・ブランブル博士は「長距離歩行能力」広い範囲での行動，適応能力などの認知的錯誤が関与しているという報告している。心理学者ニコラス・ハンフリーは複雑化してきた社会活動すなわち協力行動，相手を見る行動，複雑な社会，人間を理解する「心の理論」が発達の原点と主張している。さらに，大脳皮質の発達と生活上の変数(植生，配偶システム)と群の規模の大きさなどの相関が脳発達の役目を果たしているという報告もある(Dunbar et al. 2001)。人類の脳は，生物資源の捕獲と狩猟を続けながら自然界に適応した人間の集団生

活の中で徐々に発達してきたことは事実である。人間の欲望は、「生きる」「より合理的に生きる」という本能的欲望の段階から今日の「より美しく生きる」「より健やかに生きる」ことへと変化が生じた。特に先進国においては食物供給が安定し、飽食で美食を楽しむことへの「五感の働きの変化」が生まれ、狩猟時代には見られなかった、偏った生物資源を摂取する栄養のアンバランスが健康を損なう現象が多く報告されている。

### 2.3. 生物資源と人間の関わり

人間が農耕、牧畜を始める1万年以前までは狩猟・採取時代が続いた。狩猟・採取時代には生物圏の中で育まれた人間圏の存在が確立した、この時代は人間・動物・植物の理想的循環社会(生態学循環)であり、生物資源を主役としての理想的な生態圏が存在していた。狩猟採取で手に入れる食物からは理想的な栄養が得られたことが、化石化した骨格の成分分析から明らかになっている。何十万年もわたって人間は環境に十分適応していたと考えられる。そして古代の狩猟・採取民族は、農耕民族よりも飢えや栄養不良は少なかったと考えられる。一般に背が高く健康であったが、子供の死亡率が高く平均寿命としては30~40歳と短かった。最初の数年を生き延びる子供は、60歳まで生存できる可能性が高く、80歳代もいたと推測されている。また、これらの原因として食物の多様性が考えられており、一定の場所に定住する農耕民族は、コメ、ジャガイモ、麦など身近でとれるものを常食としていたため摂取食物が偏っていたが、狩猟民族は、移動先地域の多種多様なものを食べることで栄養のバランスが良かったとされている。健康に良い多様な食物、短い労働時間、広範囲な歩行移動、感染症(はしか、天然痘、結核など)の少なさを考え合わせた多くの先行研究においては、1万年前の農耕社会以前の狩猟社会つま

り生物圏と人間圏の共存社会を「原始の豊かな社会」と定義している。農耕と牧畜の始まりは、英語でドメスティケーション(Domestication)と呼ばれている(Halan et al. 1992)。人間が地球上に出現してしばらくは、その生活活動のほとんどすべての時間を、食料源として野生の植物を採集し、野生の動物を狩猟することに費やす採集・狩猟生活が続いた。そして今からおよそ1万年前の新石器時代に、農耕・牧畜生活という植物や動物に人間が密接に関わり合って食料生産をおこない、それに依存する生活様式をとるようになった。このような生活様式の転換の過程で、人間は多くの植物や動物をドメスティケートしてきた。

約1万年前から、人間は定住して農耕、牧畜の生産効率を上げるために便利な道具や機械の生産と利用を始めた。生物資源の中で植物支配をすすめる農耕は約1万1000年前、動物を支配する牧畜は約1万5000年前、鉱物を支配する冶金技術は約9000～9500年前から存在している。これは生物資源とは異なる物質圏の台頭であり、「生物圏・人間圏共存」から農耕、牧畜を始めることで徐々に「物質・人間圏」へのウエイトのシフトが始まったといえる。ドメスティケーション以後、利便性の追求に伴い「生物圏と人間圏」のバランスが崩れ、「自然を支配したい」という欲望が強まる傾向を示してきた。

#### 2.4 生物資源と人間の脳の(五感)発達

視覚、聴覚、触覚、味覚、嗅覚の5つの感覚器官は発達した脳と強い係わり合いを持ち、五感の感性(感受性)が本能に働きかけて自己欲望を高めてきた。つまり、美しいものを求める「視覚」、美味しいものを求める「味覚、嗅覚」、快感を求める「触覚」、などの欲望というモチベーションが高くなった。五感の欲望としての感性の中に、人間は古くから「美しく健やかで出来れば不老長寿」を願う

欲求を抱いてきた。生物資源は、その人間の「美と健康」の欲求に恩恵を与えてきた。動物や花、葉、実、根などに存在するある種の物質は人間の美容や健康に有益な成分であり、ある種の原料は薬として珍重がられて来た。その歴史はインド大陸の伝統的医学であるアーユルヴェーダ (Subhose et al. 2005)、ギリシャ・アラビアの医学であるユナニ医学、そして中国医学の世界三大伝統医学として伝承され、相互に影響し合って発展した。この事は、生物資源と人間の「健康」との関わり合いを代表する事例の一つである。また、化粧品も伝承医学と同様古くから「美」を求める女性の欲望を満たす重要なものであった。皮膚は内臓の鏡、心の鏡と言われ、体の一番外側に位置する内臓である。したがって個々の人間の「美と健康」の疾患は視覚的に観察できるバロメーターで、理想的な「美と健康」を維持するためには体内外の共通効果のある生物資源によるケアが必要であると考えられる。

### 3. 美と健康産業における生物資源

#### 3.1. 食用による生物資源の体内への影響

現在地球上の土壌、空気、水質、温度環境に適応した生物資源の種類は判っているもので約 175 万種、未知の種が約 5000~3 万種とも言われている。既知の生物資源を植物資源と動物資源に大別できる。人間が食用として享受できる維管束植物は約 27 万種であり、その中で人間に毒となる成分を有する植物は 100 種以上 (中には濃度や利用の仕方で薬になるものもある) あり、更に植物性生薬 (薬用植物) がある。動物資源は哺乳動物が約 6000 種、鳥類が 9000 種、昆虫が 95 万種以上と、植物に比べ圧倒的に多い。動物資源は狩猟時代には殆どすべてが常食に利用されたが、今日では常食にされるのは家畜として飼育された動物が殆どである。

健康を維持するためには必須 5 大栄養素(蛋白質, 脂質, 炭水化物, 無機物, ビタミン)はもとより, 体内でほぼ作り出すことの出来ない栄養素, 体内に欠乏してはならない栄養素を考慮する必要がある。現代社会では人間の食物摂取の種類や量はかなり規制されているが, 実際われわれは日常生活において, 栄養よりも, 美味しく好きなものを優先させる傾向が強い。

人間には約 90 種類の必須栄養素が必要であるが, 現実に体内で作ることが出来ない或は不足しがちな栄養素はミネラルである。必須ミネラルは Ca, Fe, Mg, Zn, K, P, Na, I, Se, Cr, Mn, Cu, S, CLなどで, 一日 100 mg の摂取が推奨されている。これらミネラルの摂取が不足している要因の一つとして, 植物栽培の生育に用いる化学肥料の影響による土壌環境の変化が考えられている。一方, 20 世紀半ばまで食物中の脂肪は必須栄養素とみなされなかったがその後多くの報告により, 脂肪酸は体内での不可欠栄養素であることが判明した。特に必須脂肪酸として人の体内で  $\omega$ -6 脂肪酸のリノール酸と  $\omega$ -3 脂肪酸リノレン酸は合成する事が出来ず必須脂肪酸とされている。人における一日の摂取量はリノール酸 4-5 g, リノレン酸 2g が推奨されている。 $\omega$ -6 脂肪酸には血液凝固作用, 抗炎症作用があり  $\omega$ -3 脂肪酸には抗炎症作用, 動脈硬化を抑える働きがあることが報告されている。

現代社会でのストレスやゆったりとした食事環境の欠如などから, 上記の影響バランスの管理, 知識, 摂取方法は理想的とは言えなくなっている。そこで栄養の補給としてサプリメント機能性食品を補助品として常用している。しかし栄養の長期アンバランスは不眠やストレス, 便秘, 冷え性, 免疫機能の低下を引き起こし, これらが様々な疾病にも繋がっている。その影響は内臓の鏡でもある皮膚においても, 肌荒れ, しわ, しみ, アクネ, 敏感肌, 肌色の悪さなどとして顕著に現れてきている。これらの容姿への悪影響が, 更なる「心と身体」のアンバランスを引き起こすことは近年多く報告されている。



### 3.2. 化粧品による生物資源の肌への影響

化粧品に用いられている汎用生物資源は、延べにして数百種を超えると報告されている。植物資源からの化粧品使用成分は植物の根、葉、莖、実などから抽出した水溶性のエキス類が大半を占める。市場においてはそれぞれの成分の皮膚効果をデータ化して安全性確認後、化粧品に使用可能な原料となる。主な皮膚への訴求効果は原料メーカーにより多少分類が異なるが、メディエーター制御、抗炎症、基底膜保護、コラーゲン保護、ヒアルロン酸保護、エラスチン保護、むくみ改善などが挙げられる。抗酸化、紫外線防御および免疫賦活などの訴求カテゴリーもある。

動物資源は、化粧品としては動物油の油脂効果が注目されていたが、牛由来の油脂(牛脂)、硬化牛脂などは狂牛病問題以来使用が減少した。このため、植物由来のパーム油、硬化パーム油など植物由来油に代替されてきた。一方貴重な動物油である豚、馬、鳥(ダチョウ、エミューなど)、魚などから取れる油、硬化油については、現在も使用されている。これらの油脂類は化粧品の基剤、特にクリーム、乳化製品のエモリエント剤として重要で、またシャンプー・トリートメントの過脂肪剤感触改良剤、メーキャップの粉体結合剤などの化粧品の主要原料でもある。今日では酸化安定性の高い植物油脂と同等の動物由来油剤が求められている。特に不飽和脂肪酸を有する動物油脂の皮膚効果には、イコサノイド(=エイコサノイド=eicosanoid)の合成、細胞膜の強化、皮膚再生促進、老化防止などにおいて不可欠である重要な資源となる。必須脂肪酸の欠乏は皮膚の病変、老化の一要因となっており、エミューなどのリノール酸、リノレン酸を含む原料の皮膚への効果は重要であると考えられる。このことから、動物油脂は化粧品主要基材として本来の化粧品の基本機能を高め、かつ生理機能を改善する一層の効果が期待できる。

これまでに述べたように、ヒトは有史以来、天然の動植物や農水畜産物および微生物などの生物資源を利活用しながら生活をしている。原始時代は、生命活動を営むために必要不可欠なエネルギー源や生体構成成分の補給のための栄養分としての利用が主であったと考えられる。しかし、文明の発展とともに、生物資源の利活用の目的は変遷し、現在ではヒトの嗜好性や健康の維持促進を目的とした利用法など多岐にわたっている。生物やこれらが作り出す有機物などの生物資源には、ヒトの生活向上に関わる機能性を有するものが数多く存在する。これらを利活用した製品、すなわち、高血圧や糖尿病等の生活習慣病の予防など、ヒトの内臓機能を維持・改善する機能を利用した「機能性食品」、肌や毛髪的美しさを保持・改善する機能を利用した「化粧品」、香り等の作用によりリラックス効果やストレス解消機能などを有した「トイレットリー製品」が日々開発されている。

そこで、本研究では、生物資源の食品および化粧品への利活用のために、第2および3章において、食品としての動植物資源がヒトの血管機能に与える影響を評価する手法を新規に構築した。また、第4および5章においては、化粧品としての動植物資源の安全性試験および抗炎症性の評価を実施した。さらに、第6章においては、視覚や言葉のイメージから「香り」を創るための新規技法を開発し、化粧品やトイレットリー製品への応用を可能とした。

## 第 2 章

### 植物資源カムカムの血管内皮機能に及ぼす影響の検討

## 1. 緒言

植物性資源の食品原料としての可能性を検討するために、現在は食品原料残渣として扱われているカムカムの果皮に着目した。カムカム (*Myrciaria dubia*) は、南米ペルーのアマゾン川流域の熱帯雨林に自生するフトモモ科の常緑低木である。従来、ペルーにおいてカムカムは、魚の餌や薪として使われる程度であった。しかし近年、その果実にビタミンCやポリフェノールなどの機能性成分が豊富に含まれていることが明らかになったことから、カムカム果実の加工品が製造・輸出されるようになり、ペルーの農村地域を支援する新規産業として注目されている。

現在、カムカムの果実は、飲料や食品、化粧品など多岐にわたる製品の材料としての需要が高まっている。一方、全重量の約40%にあたる残渣が産業廃棄物として処理されている。しかし、近年の研究により、廃棄物であるカムカム果皮の抽出物が、高い抗酸化性や抗菌性を示すことが明らかにされ、産業廃棄物である果皮の有効活用が注目されている (Myoda et al. 2010, Kaneshima et al. 2013, Kaneshima et al. 2015, Kaneshima et al. 2016, Kaneshima et al. 2017)。さらに、2007年、櫻村らは、高血圧自然発症ラットを用いた研究により、カムカム果皮抽出物が高血圧を抑える働きを持つことを示唆し、果皮が、血管機能の改善に有効である可能性が示された (櫻村ら、2007)。

心血管疾患は、日本人の死因において、悪性新生物(ガン)に次いで2番目に多い疾患である (Vital statistics of Japan, 2016, Estimates of national medical care expenditure, 2014)。近年の生活習慣の変化による、脂質異常症や動脈硬化などがその主な要因であると考えられており、これらの疾患に対し予防効果のある機能性食品の市場が拡大している。一方、食品成分がヒトの

血管機能へ及ぼす効果については、摂取した食品以外の要因が影響するため、特定の食品の機能性を明確に検討することは困難であった。この問題に着目し、血管の血流依存性血管拡張反応(Flow-mediated vasodilation : FMD)を用いた評価法に、独自の食事制限プロトコルを併用することで、食品のFMDに対する機能性を評価する方法が報告されている。これまでに、この方法により食用サチャインチオイルの経口投与が人におけるFMDを向上させることが明らかになっている(Minami et al. 2017)。そこで、本研究ではこの手法を用いてカムカム果皮抽出物がヒトのFMDに与える影響を検討した。

## 2. 方法

### 2.1. 対象

被験者は本研究に同意し、循環器系の疾患および病歴を有せず、その他いかなる疾患の治療および服薬を行っていない大学生20名(21.4 ± 1.0歳:男性10名, 21.2 ± 0.6歳, 女性10名, 21.6 ± 1.3歳)を対象とした。対象者の身体的特徴は表1に示した。対象者に対し、研究の趣旨と内容について書面および口頭で十分な説明を行い、対象者の自由意思の下で文書により同意を得た。なお、本研究は東京農業大学ヒトを対象とした研究倫理規定(承認番号1713)に従い実施した。

### 2.2. 摂取試料(カムカム果皮抽出物)

1.5 kgの乾燥したカムカム果実の果皮に、2倍量の50%エタノールを添加して2時間攪拌した。これを濾紙でろ過してろ液を集めた。残渣に対して同量の50%エタノールを添加して上述と同様の操作を2回繰り返した。ろ液をまとめてエバポレーターに供し、溶媒を留去した後、凍結乾燥して乾固した(Fig. 1)。

1回の投与量は、食用ソフトカプセル(松屋)に直接抽出物を封入した状態で3粒(25 mg/粒)75 mgとし実験開始の3時間前に摂取させた。対照実験時のカプセルは同量の水を封入し用いた。

### 2.3. 食事制限プロトコル併用FMD測定法

本研究におけるFMD測定は、摂取するカムカム果皮抽出物以外の食品による影響を除外するために、実験前日の3食と実験当日の朝食をすべての被験者において統一する食事制限プロトコル併用FMD測定法(Minami et al. 2017)を用いた(Fig. 2)。

各被験者における食事制限は、身体活動量質問票(坂手ら, 2008)を用いて1日あたりの消費カロリー量を算出し、同量の栄養補助食品(シスコーン, 日清食品)を摂取させた。平均的な1食(40 g)の主な栄養素は、たんぱく質1.8 g, 脂質0.28 g, 炭水化物36.0 g, ナトリウム218.0 mg, カルシウム123.0 mg, 鉄4.0 mg, ナイアシン4.0 mg, パントテン酸0.72 mg, ビタミンA 110.0 µg, ビタミンB<sub>1</sub> 0.3mg, ビタミンB<sub>2</sub> 0.07 mg, ビタミンB<sub>6</sub> 0.48 mg, ビタミンB<sub>12</sub> 0.20 µg, ビタミンC 32.0 mgおよび葉酸60.0 µgであった。また、栄養補助食品摂取において日本人の食事摂取基準に定められている推奨量の牛乳を使用した。

FMD測定は日本循環器学会ガイドラインに則り実施した。FMD測定前に各被験者の安静時血圧を血圧計(ES-P2000, テルモ)にて測定し、10分以上の安静後に、安静時血圧からさらに40 mmHg加圧したカフにより前腕を5分間駆血した。安静時から駆血解放後110秒までの上腕動脈を超音波画像診断装置(LOGIQ P6, GE Healthcare, Little Chalfont, UK)で心電図波形と共に撮影し録画を実施し、心筋収縮期の上腕動脈径を FMDscope software(メディアクロス)により算出した。その後、血管拡張率(%FMD)を下記の式を用いて算出した。

$$\%FMD = \frac{\text{最大拡張血管径(mm)} - \text{安静時血管径(mm)}}{\text{安静時血管径(mm)}} \times 100$$

## 2.4. 統計処理

実験結果は、平均値±標準偏差で表記し、群間有意差の有無は、対応のあるt検定を用いて統計学的分析を行った。p 値が0.05 以下を有意とした。

## 3. 結果

### 3.1. 安静時血圧および上腕動脈径

カムカム果皮抽出物非投与時および投与時の安静時血圧および安静時上腕動脈径をTable 1に示した。安静時血圧は男女ともに、収縮期および拡張期のいずれにも、カムカム果皮抽出物投与による変化は認められなかった。同様に、安静時上腕動脈径においても男女ともにカムカム果皮抽出物摂取による変化は認められなかった。

### 3.2. FMD

カムカム果皮抽出物の投与が血流増大時の血管径に与える影響を明らかにするため、安静時と血流増大時の血管径を比較し、その拡張率を%FMDとして求めた。その結果、男性においてカムカム果皮抽出物非投与時の%FMDが $9.1 \pm 1.8\%$ であったのに対して、カムカム果皮抽出物投与時では、 $11.5 \pm 1.8\%$ であり、カムカム果皮抽出物の投与により有意に%FMDが増大した(Fig. 3,  $p < 0.01$ )。女性においてもカムカム果皮抽出物非投与時が $9.8 \pm 2.3\%$ に対して、カムカム果皮抽出物投与時が $12.2 \pm 3.6\%$ であり、カムカム果皮抽出物の投与

により有意に%FMDが増大した(Fig. 3,  $p < 0.05$ )。また, 男女の総計においてもカムカム果皮抽出物非投与時が $9.4 \pm 2.0\%$ , カムカム果皮抽出物投与時が $11.8 \pm 2.7\%$ であり, カムカム果皮抽出物の投与により有意に血管拡張率が増大した(Fig. 3,  $p < 0.01$ )。一方, カムカム果皮抽出物による%FMD上昇作用の男女間差異を明らかにするため, カムカム果皮抽出物投与時の%FMDから水投与時の%FMDを差し引いた $\Delta\%$ FMDを比較した。その結果, 男性のカムカム果皮抽出物による拡張率は $2.4 \pm 2.2\%$ , 女性で $2.4 \pm 4.0\%$ であり, 男女間で有意差は認められなかった(Fig. 4)。

#### 4. 考 察

カムカムは, ペルーのアマゾン川流域に自生する植物である。近年, その果実にビタミンCやポリフェノールなどの有効性成分が豊富に含まれていることが明らかになったことから, その需要が増大し, カムカムの栽培や加工品の製造など, ペルーに新規の産業が創出されている。一方でカムカム果実の加工工程において, 果皮は廃棄物として処理されていた。近年, カムカム果皮からの抽出液が, 高血圧自然発症ラットへの血管収縮などに関与するアンジオテンシンIIタイプ1受容体の発現を減少させ, 血圧上昇を抑制することが報告されている(櫻村ら, 2007, 櫻村ら, 2008, 田中ら, 2014)。また, 本研究により, ヒト介在試験においても, カムカム果皮抽出物がFMDを向上させることが明らかになった。これらのことから, カムカム果実は, これまで廃棄されていた果皮を用いた機能性食品への応用など, さらなる産業の創出が期待される。

血管内皮機能の障害は, 冠動脈疾患などを含む様々な血管疾患と関連が高いことが報告されている(Pajendran et al. 2013, Deanfield et al. 2007, StLeger et al. 1979)。血管張力は, 血管収縮因子であるアンジオテンシンII,



トロンボキサン, エンドセリン-1およびセロトニンなどと, 血管拡張因子であるNO, ブラジキニンおよびプロスタサイクリンなどにより調整されている。この中でも, L-アルギニンを基質とした血管内皮細胞由来のNOは, 血管緊張調節において重要な役割を果たしている(Pajendran et al. 2013)。これらの血管緊張調節と食品の関係において, ポリフェノール化合物との関連性がいくつか見出されてきた。例えば, 赤ワインに含まれるポリフェノール化合物 (Red Wine Polyphenolic Compounds; RWPC)によるLDLコレステロールの酸化抑制作用 (Frankel et al. 1993), 血清酸化抑制 (Whitehead et al. 1995), 血小板凝集を原因とする血栓症の阻害作用 (Demrow et al. 1995)などが報告されてきた。また, ラットの血管においてRWPC濃度依存的に血管内皮依存性の血管弛緩作用が増大することが報告されている(利ら. 2005)。健常成人を対象とした急性の影響に関しては, 黒大豆種皮由来ポリフェノールが, 培養した血管内皮細胞において用量依存的にNO産生量の増加および内皮細胞型NO合成酵素発現量を増加させることが報告されている(難波ら. 2013)。さらに, ココアの単回摂取においてフラボノール濃度依存性に, 血管内皮依存性の一酸化窒素レベルおよび血管張力調整低下に関与するアルギナーゼの活性を低下することが報告されている(Oliver et al. 2008)。これらの先行研究の結果は, ポリフェノール化合物が血管内皮細胞へ何らかの作用を示し, これが引き金となって血管拡張反応が引き起こされることを示唆している。カムカム果実において, 果汁には豊富なポリフェノールが含まれていることが示されているが, 果皮中には, さらに多くのポリフェノールが含まれていることが報告されており(Zanatta et al. 2005), 本研究で使用した果皮抽出液中にも, 129 mg/gのポリフェノール化合物が含まれていた(data not shown)。したがって, 今回我々が示したカムカム果皮抽出物によるFMD向上においても含有されるポリフェノール化合物が影響を及ぼした可能性が考えられる。FMDは, 日本循環器学会において測定の手引

が示され血管内皮機能の指標とされている。本研究もその指針に基づいて実施した。また、用量依存性の判定を用いていない先行研究 (Oliver et al. 2008, Davide et al. 2008) をモデルとして、対象服用物以外の経口摂取物を全て統一し実施した。しかし、人を対象とした本手法においては、カムカム果皮抽出物が血流依存性血管拡張反応の機序を明らかにすることは困難であると考えられる。今後さらに、血管内皮機能を直接的に向上させるのか、または、血管平滑筋の収縮を抑制することで拡張反応が向上するのかなどの機序および作用する成分同定など詳細な検討が必要であると考えられる。また、本研究では、循環器系に病歴のない18~28歳の被験者を対象とした実験を実施した。Fig. 3に示すように、本研究の被験者の平常時のFMDは、およそ6~8%付近であった。一般的にFMDが6%を下回る場合、血管内皮の機能が低下していると考えられることから、今回の被験者は、血管内皮の機能に異常はないと言える。したがって、今回の研究では、カムカム果皮が「正常なFMD」を“さらに拡張促進”させる働きがあることが示された。一方、何らかの循環器系疾病を発症していないが、血管内皮の機能が低下した被験者、すなわち、“未病”と呼ばれる対象者を対象とした研究を進めることで、低下した循環器機能の“改善”への影響を明らかにすることができるものと期待される。

Table 1. Characteristics of the subjects, serum measurement and blood pressure.

			Male	Female	Total
Hight (cm)			168.5 ± 4.2	155.7 ± 4.8	162.1 ± 7.9
Weight (kg)			57.3 ± 4.8	49.7 ± 4.8	53.5 ± 6.1
Blood pressure at rest (mmHg)	Systolic	Cont	115.8 ± 10.0	93.6 ± 14.2	104.7 ± 16.5
		Camu	109.8 ± 9.6	94.0 ± 9.1	101.9 ± 12.2
	Diastolic	Cont	65.8 ± 10.8	59.3 ± 5.7	62.6 ± 9.1
		Camu	64.1 ± 6.8	57.6 ± 7.8	60.9 ± 7.9
Arterial diameter (mm)		Cont	3.57 ± 0.32	3.05 ± 0.47	3.31 ± 0.47
		CamuCamu	3.45 ± 0.31	2.88 ± 0.34	3.23 ± 0.45

Data represents the mean of all subjects, and standard deviation.

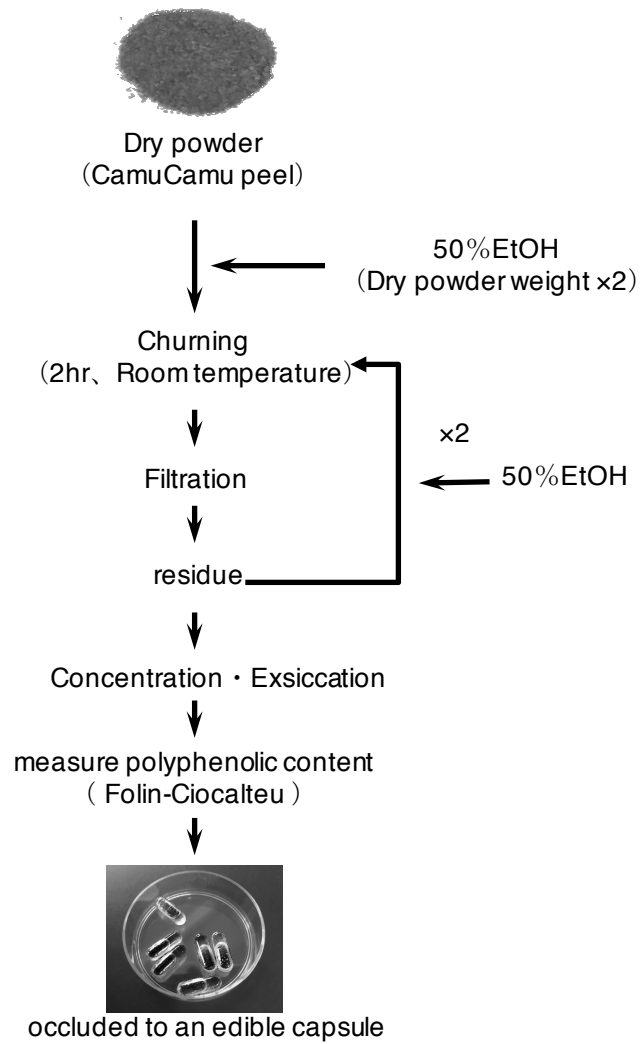
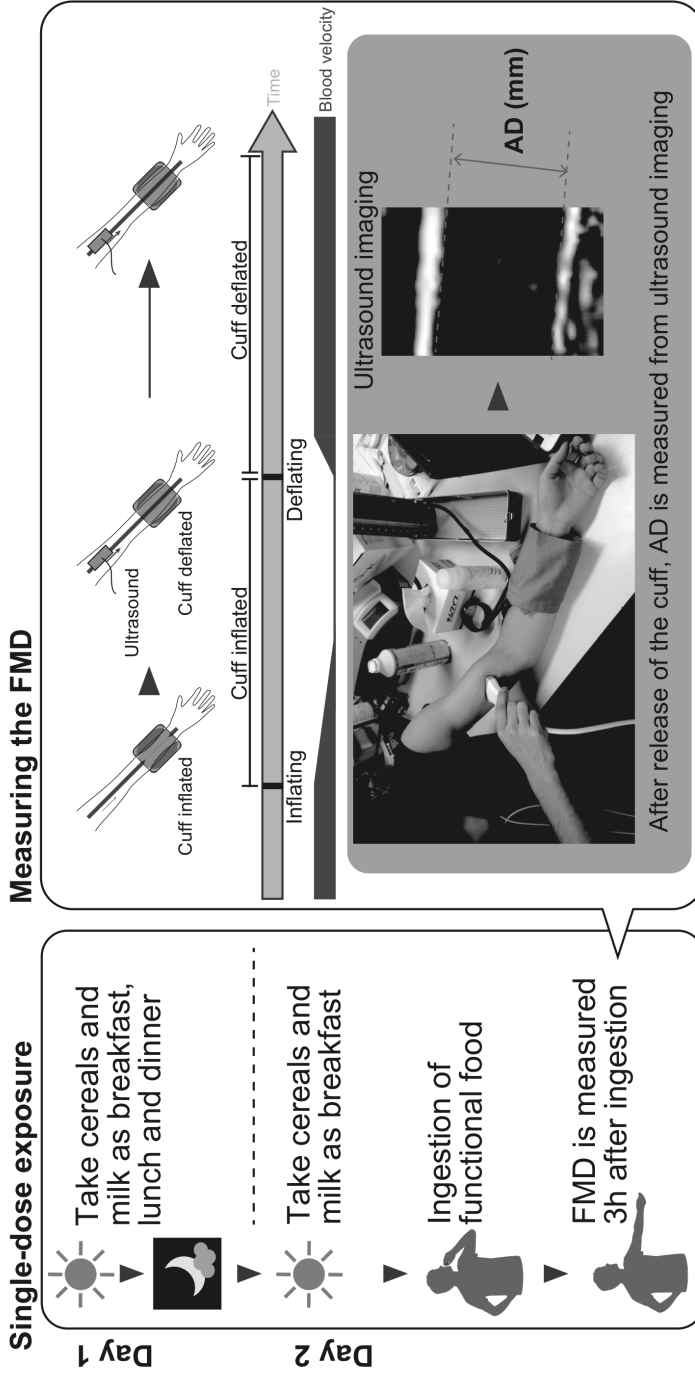


Fig.1. Preparation of extract from CamuCamu peel.



## FEFF-VH method (FMD-based evaluation of functional food for vascular health)

Fig. 2. FMD-based Evaluation of Functional Food for Vascular Health (FEFF-VH) method. In this method, a single dose of the functional food to be evaluated is administered under conditions of dietary restriction to avoid confounding (left). Flow-mediated dilation (FMD) is then measured (right). Following food restriction, the subjects were given a capsule containing the Sacha-inchi oil or a placebo. After 3 h, the FMD response was measured. After avascularization with a cuff for 5 min, blood flow is released by deflating the cuff. Monitoring of the brachial artery by ultrasound imaging is initiated concurrently with cuff deflation. Arterial diameter (AD) is measured from the ultrasound imaging. The FMD is calculated as  $(AD_{max} - AD_{at rest}) / AD_{at rest}$ .

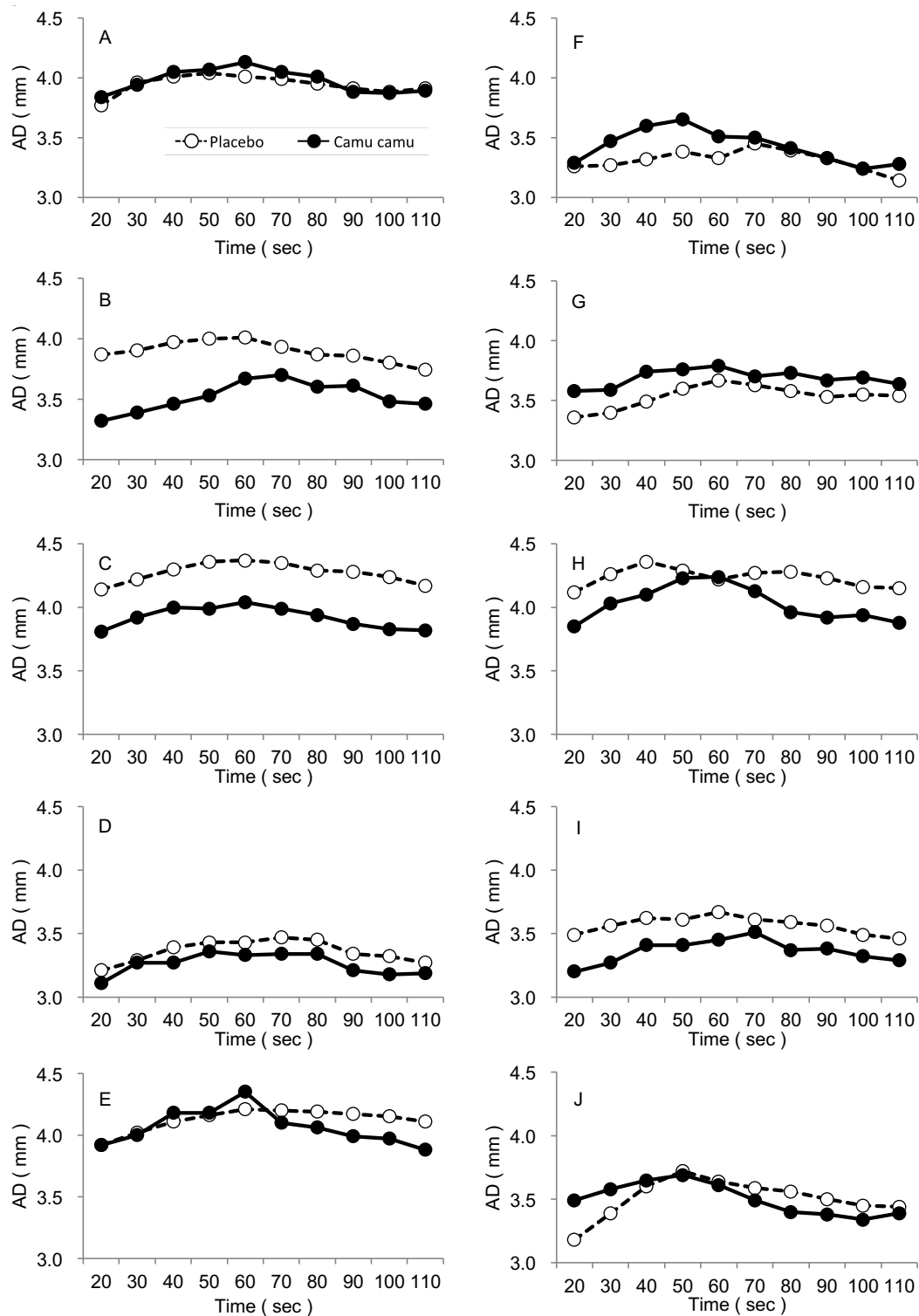


Fig.3. Change in the arterial diameter after releasing pressure applied to the antebrachial region via a pressure cuff in CamuCamu or placebo dosed Male.

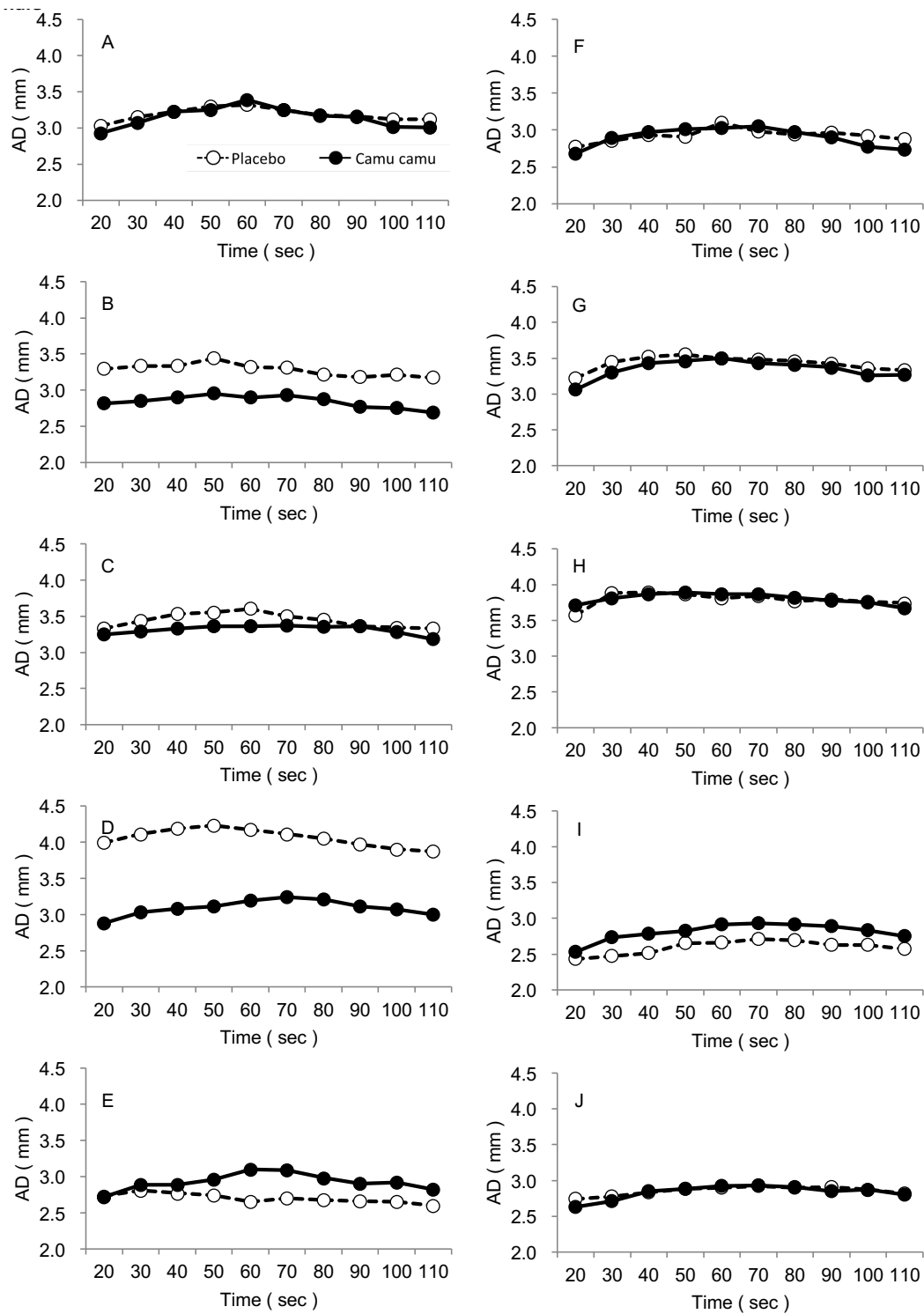


Fig.4. Change in the arterial diameter after releasing pressure applied to the antibrachial region via a pressure cuff in CamuCamu or placebo dosed Female.

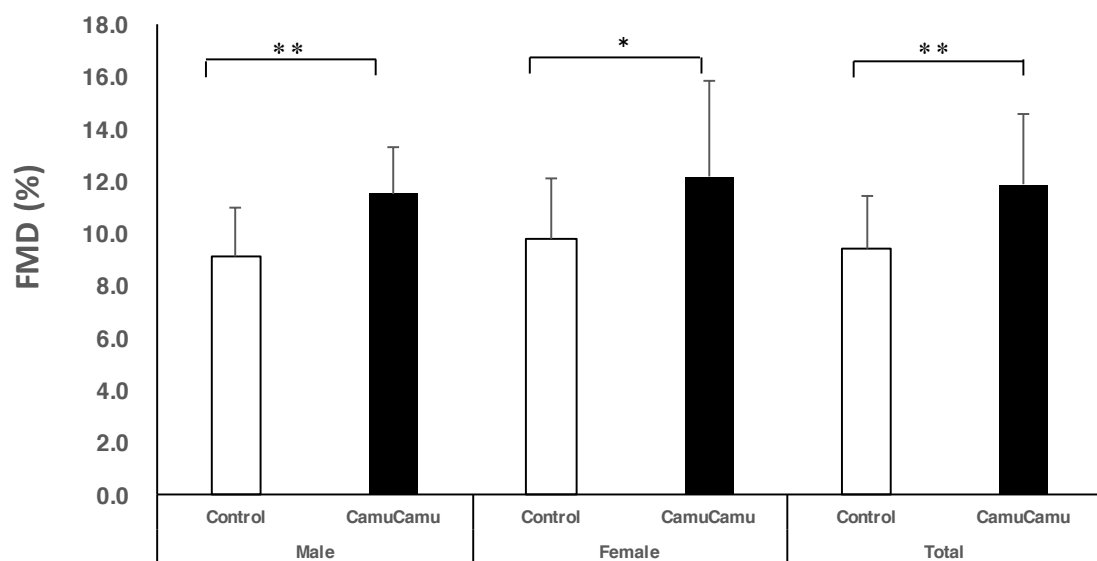


Fig. 5. Expansion rate of the FMD at baseline and after a single-dose administration of CamuCamu peel extract or placebo (water). Data represents the mean of all subjects, and the error bars indicate the standard deviation. \*\*,  $p < 0.01$ .



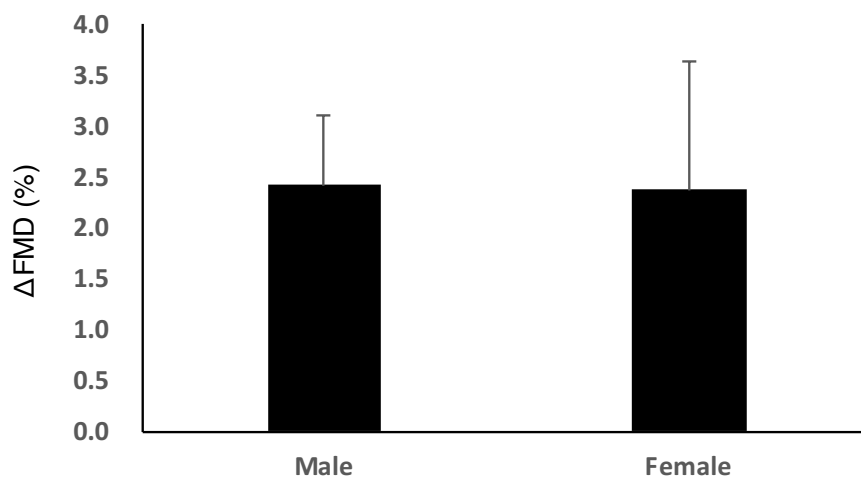


Fig. 6. Change of the FMD after a single-dose administration of CamuCamu.  $\Delta$ FMD=(FMD at after single-dose CamuCamu) –(FMD at single-dose water). Data represents the mean of all subjects, and the error bars indicate the standard deviation.

### 第 3 章

#### 動物資源エミュールオイルの血管内皮機能に及ぼす影響の検討

## 1. 緒言

動物性資源の食品原料としての可能性を検討するために、現在は主に化粧品原料として使用されているエミューオイルに含まれる不飽和脂肪酸に着目し検討を実施した。心血管疾患による死者は、日本人の死因において、悪性新生物(ガン)に次いで、2番目に多く、医療費ベースでは、日本において最もコストのかかる疾患の一つとなっている(厚生労働省. 2014, 厚生労働省. 2016)。現在、喫煙、高血圧、高コレステロールなど、循環器系への負担となる短期リスクは、公衆衛生や啓蒙活動により、徐々に低下しつつある(Berry et al. 2012)。しかし、これらの要因とは関係なく、食生活などの生活習慣管理が、心血管疾患への生涯リスクに影響することが報告されている(Berry et al. 2009, Marma et al. 2010)。一方、 $\alpha$ -リノレン酸などの不飽和脂肪酸である $\omega$ -3脂肪酸は、脂質代謝を促進する機能をもち(Alexander et al. 1998, Kummerow et al. 1983, Zammit et al. 1999, Lin et al. 1999)、冠動脈疾患のリスクを軽減することが示されている(Hong et al. 2012, Puca et al. 2008, 梅村ら. 1993)。また、 $\omega$ -3脂肪酸を多く含む食品が、心血管疾患の予防に有用であるとの報告から、生活習慣病としての循環器疾患を予防する効果をもつ食品として広く注目されている(Adkins et al. 2010, Kromhout et al. 2012, Wang et al. 2012)。

エミューオイルは、オーストラリア原産の走鳥類の一種であるエミュー(*Dromaius novaehollandiae*) (Yokohama et al. 2014)の皮下脂肪組織および腹膜脂肪組織から抽出されるオイルである(Beckerbauer et al. 2001)。エミューオイルは、食用としても利用が可能で、オレイン酸やリノール酸、 $\alpha$ -リノレン酸などの必須脂肪酸を多く含む。このうち、 $\alpha$ -リノレン酸は $\omega$ -3脂肪酸の一種であり、体内でのエイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸合成の基となる。しかし、

エミューオイルの経口摂取による機能性については、ほとんど検討されていない。

これまでに血管機能への影響を検討した研究のほとんどは、実験動物あるいは培養細胞を用いたものである。また、ヒトを対象とした研究も実施されているものの、現在、実施されている血圧測定法や脈波伝播速度測定法では、摂取した食品以外の要因が影響を及ぼすため、食品の機能性を明確に検討することは困難であった。Minamiらは、血管の血流依存性血管拡張反応(Flow mediated vasodilation, FMD)を利用した新規の血流依存性血管拡張反応の測定法を確立した(Minami et al. 2017)。

一酸化窒素(Nitric oxide, NO)は、血管緊張を調節する因子であり、血管内皮細胞によって産生され、血管径を拡張する働きをもつ。NOは血液の流れによって生じる“ずり応力”によっても産生されるため、血流の増大に対して血管を拡張させることで血管緊張を調節している。この血流の増大に応じた血管径の拡張を測定することで血管機能を評価する方法がFMDの測定である。FMDの測定は、統一された手法が提唱されており、医薬の血管機能改善に対する有効性を評価する手法として広く利用されている(NHLBI. 2013, Vital statistics of Japan. 2016)。このFMDを用いた評価法に、さらに独自の食事制限プロトコルを併用することで、食品の血管機能に対する有効性を評価する方法が確立された(Minami et al. 2017)。本研究では、食事制限プロトコル併用FMD測定を用いた評価法により、食用エミューオイルの単回投与が若年成人の血管機能に与える影響を検討した。

## 2. 方法

### 2.1. 対象

被験者は本研究に同意し、循環器系の疾患および病歴を有せず、その他いかなる疾患の治療および服薬を行っていない大学生20名 (21.4 ± 1.0歳: 男性10名, 21.2 ± 0.6歳, 女性10名, 21.6 ± 1.3歳)を対象とした。対象者の身体的特徴はTable 1に示した。対象者に対し、研究の趣旨と内容について書面および口頭で十分な説明を行い、対象者の自由意思の下で文書により同意を得た。なお、本研究は東京農業大学ヒトを対象とした研究倫理規定に従い実施した。

## 2.2. 摂取試料(エミューオイル)

エミューオイルは、東京農業大学バイオインダストリー製のエミューオイル(ミリスチン酸0.21%, パルミチン酸19.82%, パルミトレイン酸3.46%, ステアリン酸17.68%, オレイン酸46.34%, リノール酸11.79%,  $\alpha$ -リノレン酸0.70%)を使用した(Fig. 1)。投与量は、50.00 mgとし、食用カプセル(松屋)に封入した。また、プラセボとして同量の水をカプセルに封入して投与した。

各試験試料の投与は、実験開始の3時間前とし、同一被験者の実験は2週間以上の間隔を開けた。なお、食用エミューオイルとプラセボ試料の投与順序は無作為に決定した。

## 2.3. 食事制限プロトコル併用FMD測定法

本研究におけるFMD測定は、摂取するエミューオイル以外の食品による影響を除外するために、実験前日の3食と実験当日の朝食をすべての被験者において統一する食事制限プロトコル併用FMD測定法(Minami et al. 2017)を用いた。

各被験者における食事制限は、身体活動量質問票(坂手ら, 2008)を用い1日あたりの消費カロリー量を算出し、同量の栄養補助食品(シスコーン, 日清食品)を摂取させた。平均的な1食(40.00 g)の主な栄養素は、たんぱく質1.80

g, 脂質0.28 g, 炭水化物36.00 g, ナトリウム218.00 mg, カルシウム123.00 mg, 鉄4.00 mg, ナイアシン4.00 mg, パントテン酸0.72 mg, ビタミンA 110.00 µg, ビタミンB<sub>1</sub> 0.30mg, ビタミンB<sub>2</sub> 0.07 mg, ビタミンB<sub>6</sub> 0.48 mg, ビタミンB<sub>12</sub> 0.20 µg, ビタミンC 32.00 mgおよび葉酸60.00 µgであった。また, 栄養補助食品摂取において日本人の食事摂取基準に定められている推奨量の牛乳を使用した。

FMD測定は日本循環器学会ガイドラインに則り実施した。FMD測定前に各被験者の安静時血圧を血圧計(ES-P2000, テルモ)にて測定し, 安静時血圧からさらに40 mmHg加圧したカフにより前腕を5分間駆血した。安静時から駆血解放後110秒までの上腕動脈を超音波画像診断装置(LOGIQ P6, GE Healthcare, Little Chalfont, UK)で心電図波形と共に撮影し録画を実施した。その後, 心筋収縮期の上腕動脈径を FMDscope software(メディアクロス)により算出した。その後, 血管拡張率(%FMD)を次項の式を用いて算出した。

$$\%FMD = \frac{\text{最大拡張血管径}(mm) - \text{安静時血管径}(mm)}{\text{安静時血管径}(mm)} \times 100$$

#### 2.4. 血清脂質

各試料摂取3時間後の血中高比重リポ蛋白コレステロール(HDL-C)および低比重リポ蛋白コレステロール(LDL-C)をアリーアナライザーAS100(Alere Inc., Waltham, MA, USA)により測定した。

#### 2.5. 統計処理

実験結果は, 平均値±標準偏差で表記し, 群間有意差の有無は, 対応のあるt検定および二元配置分散分析およびTukeyの多重比較を用いて統計学的分析を行った。p 値が0.05 以下を有意とした。

### 3. 結果

#### 3.1. エミューオイル投与の安静時血圧および血中脂質に対する影響

エミューオイル非投与時および投与時の安静時血圧および血中脂質の結果をTable 1に示した。安静時血圧は男女ともに、収縮期および拡張期のいずれにも、エミューオイル投与による変化は認められなかった。同様に、HDL-CおよびLDL-Cにおいても男女ともにエミューオイル摂取による変化は認められなかった。

#### 3.2. エミューオイル投与の安静時上腕動脈径に対する影響

エミューオイル投与が通常の血流条件下での上腕動脈径に与える影響を明らかにするために、安静時上腕動脈径を超音波画像診断装置によって測定した。その結果、男性においてエミューオイル非投与時の上腕動脈径が $3.74 \pm 0.44$  mmであったのに対して、エミューオイル投与時のそれは、 $3.51 \pm 0.36$  mmであり2条件間に有意差は認められなかった。女性においてもエミューオイル非投与時が $2.99 \pm 0.48$  mm、エミューオイル投与時が $2.93 \pm 0.39$  mmであり2条件間に有意差は認められなかった。また、男女の総計においてもエミューオイル非投与時が $3.36 \pm 0.60$  mmに対して、エミューオイル投与時が $3.22 \pm 0.39$  mmであり2条件間に有意差は認められなかった(Fig. 3)。一方、エミューオイル非投与および投与のいずれの条件においても、男性の安静時上腕動脈径は、女性のそれよりも大きかった(Fig. 3,  $p < 0.01$ )。

#### 3.3. エミューオイル投与のFMDに対する影響

エミューオイルの投与が血流増大時の血管径に与える影響を明らかにするため、安静時と血流増大時の血管径を比較し、その拡張率を%FMDとして求め

た。その結果、男性においてエミューオイル非投与時の%FMDが $9.1 \pm 1.6\%$ であったのに対して、エミューオイル投与時では、 $11.6 \pm 1.1\%$ であり、エミューオイルの摂取により有意に%FMDが増大した(Fig. 4,  $p < 0.01$ )。

女性においてもエミューオイル非投与時が $10.0 \pm 1.1\%$ に対して、エミューオイル投与時が $12.0 \pm 1.2\%$ であり、エミューオイルの投与により有意に%FMDが増大した(Fig. 4,  $p < 0.01$ )。また、男女の総計においてもエミューオイル非投与時が $9.6 \pm 1.6\%$ 、エミューオイル投与時が $11.8 \pm 1.1\%$ であり、エミューオイルの摂取により有意に血管拡張率が増大した(Fig. 4,  $p < 0.01$ )。一方、エミューオイルによる%FMD上昇作用の男女間差異を明らかにするため、エミューオイル投与時の%FMDからプラセボ投与時の%FMDを差し引いた $\Delta\%$ FMDを比較した。その結果、Fig. 5に示したように男女間で有意差は認められなかった。

#### 4 考 察

本研究では、先に確立された食事制限プロトコル併用FMD測定法 (Minami et al, 2017) を利用し、食用エミューオイルの単回投与が若年成人の血管機能に与える影響を検討した。その結果、エミューオイルの単回投与は、通常時の血管径には影響しないが、血流の増大時にのみ血管拡張反応の増大を引き起こした。このことから、エミューオイルの単回投与は、血流増大にともなって血管拡張を増大させることで血圧の上昇を抑制する効果があることを示唆している。すなわち、本研究の成果から、エミューオイルを経口的に摂取することによりヒトのFMDを高める機能があることが初めて示された。

血流の増加に伴う血管拡張反応であるFMDは、血流にともなう“ずり応力”に対して血管内皮細胞によって産生されたNOが血管の拡張を引き起こす反応の指標の一つとされている。これまでに、血管内皮細胞と脂肪酸の関係について



て、ラットから摘出された血管を用いた試験においては、 $\omega$ -3脂肪酸に対し濃度依存的に血管拡張作用が増大することが報告されている(Yin et al. 2016)。この報告では、血管内皮細胞を除去した場合には、血管拡張反応が低下することから、 $\omega$ -3脂肪酸による血管拡張作用には、血管内皮細胞が関与している可能性が示唆された。また、Englerらも、ラット摘出大動脈血管の内皮細胞除去により $\omega$ -3脂肪酸による血管拡張反応が減少することを報告している(Engler et al. 1994)。また、我々はこれまでに、高い $\omega$ -3脂肪酸含量を示すサチャインチオイルの単回経口投与による血管拡張反応の促進を報告している(Minami et al. 2017)。これらの先行研究の結果は、 $\omega$ -3脂肪酸が血管内皮細胞へ何らかの作用を示し、これが引き金となって血管拡張反応が引き起こされることを示唆しており、今回の我々の結果と一致する知見である。しかし、サチャインチオイルに含まれる $\omega$ -3脂肪酸が全脂肪酸中45.5%と非常に高い割合であるのに対し、本研究のエミューオイルに含まれる $\omega$ -3脂肪酸( $\alpha$ -リノレン酸)は、0.70%と非常に低い値であった。FMD測定は、血管内皮機能評価の一つとされているが、血管内皮機能を起因とした血管張力調節において、血管内皮機能にかかわらず、血管平滑筋の弛緩作用が増大した場合においてもFMDが向上する可能性が考えられる。

これまでに、脂肪酸が血管に与える影響として、 $\omega$ -3および $\omega$ -6系脂肪酸が血管弛緩作用を持つことが報告されている(Engler et al. 1992)。本研究で用いたエミューオイルに含まれる $\omega$ -6系脂肪酸であるリノール酸は、サチャインチオイル全脂肪酸中の35.50%より低値の11.79%であった。Silviaらは、豚の冠動脈においてナトリウム・カリウムポンプを介して、リノール酸濃度依存性に弛緩、過分極が誘発されることを報告している(Silvia et al. 1998)。これらのことから、本研究における流量依存性血管拡張反応の促進は、リノール酸による血管弛緩作用も関与していることが推察される。また、直接的な比較は出来ないが、

血管拡張反応に影響を及ぼす $\omega$ -3および $\omega$ -6系脂肪酸の合計含有割合がエミューオイルでは、12.49%であるのに対して、サチャインチオイルでは81.00%と非常に高いことが%FMDの違いに影響を及ぼしていることも推察される。本研究結果から、エミューオイルがFMD反応を促進する機序は明らかにできないが、サチャインチオイルと比較して $\omega$ -3および $\omega$ -6系脂肪酸含有割合の低いエミューオイルの経口摂取においてもFMD反応が促進される事が明らかになった。

この他にも、血管緊張の調節には、血管収縮性作動物質に対する受容体の上方制御(Chen et al. 1996, Cocks et al. 1983)や脱感作(Johnson et al. 2000, Shimaoka et al. 1998)など多岐にわたっている。しかし、本研究においてエミューオイルがどのような機序でFMDを向上させたかを特定することは困難である。このことから、今後は、エミューオイルに含まれる $\omega$ -3脂肪酸以外の成分が血管拡張反応に与える影響についても検討を進める必要があると考えられる。さらに、動物実験や培養細胞を用いた実験などを併用することで、エミューオイルが循環器系に与える影響を網羅的に解析する必要がある。

一方、Fig. 6に示すように、血管内皮機能の低下が、心血管疾患に繋がる事が報告されており(Rajendran et al. 2013, Deanfield et al. 2007)、エミューオイルの摂取は、血管拡張作用とともに血管疾患の予防・改善に繋がる事が予想される。したがって、単回投与による影響だけでなく、日常的なエミューオイルの摂取が血管機能に与える影響を調べる必要があるだろう。また、本研究では、循環器系に病歴のない被験者を対象とした実験を実施したが、循環器系の機能が低下した被験者を対象とした研究を進めることで、循環器機能の改善への影響を明らかにすることができるものと期待される。

Table 1. Characteristics of the subjects, serum measurement and blood pressure.

			men	women	total
	Age (yr)		21.2 ± 0.6	21.6 ± 1.3	21.4 ± 1.0
	Hight (cm)		170.9 ± 5.1	156.6 ± 7.1	163.8 ± 9.5
	Body weight (kg)		62.4 ± 7.5	52.4 ± 5.8	57.4 ± 8.3
Serum	HDL-C (mg/dl)	Cont	64.6 ± 13.1	62.3 ± 18.0	63.5 ± 15.4
		Emu	67.0 ± 15.5	64.8 ± 17.2	65.9 ± 16.0
	LDL-C (mg/dl)	Cont	73.4 ± 30.4	70.6 ± 15.3	72.0 ± 23.4
		Emu	69.9 ± 24.1	57.4 ± 25.3	63.2 ± 24.4
Blood pressure	Systolic (mmHg)	Cont	116.7 ± 5.6	106.0 ± 9.2	111.6 ± 9.1
		Emu	116.9 ± 10.8	105.0 ± 9.3	111.3 ± 11.6
	Diastolic (mmHg)	Cont	63.4 ± 5.1	65.5 ± 7.6	64.4 ± 6.3
		Emu	60.7 ± 5.8	63.9 ± 8.3	62.2 ± 7.0

Data represents the mean of all subjects, and standard deviation.

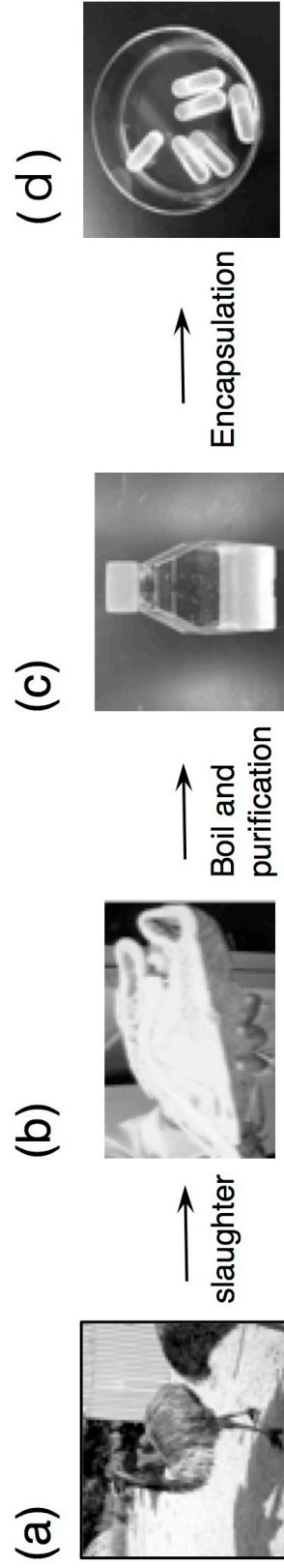


Fig. 1 Emu and emu oil capsules. (a) Emu. (b) Subcutaneous fat of emu. (c) Purified emu oil. (d) Capsules containing emu oil.

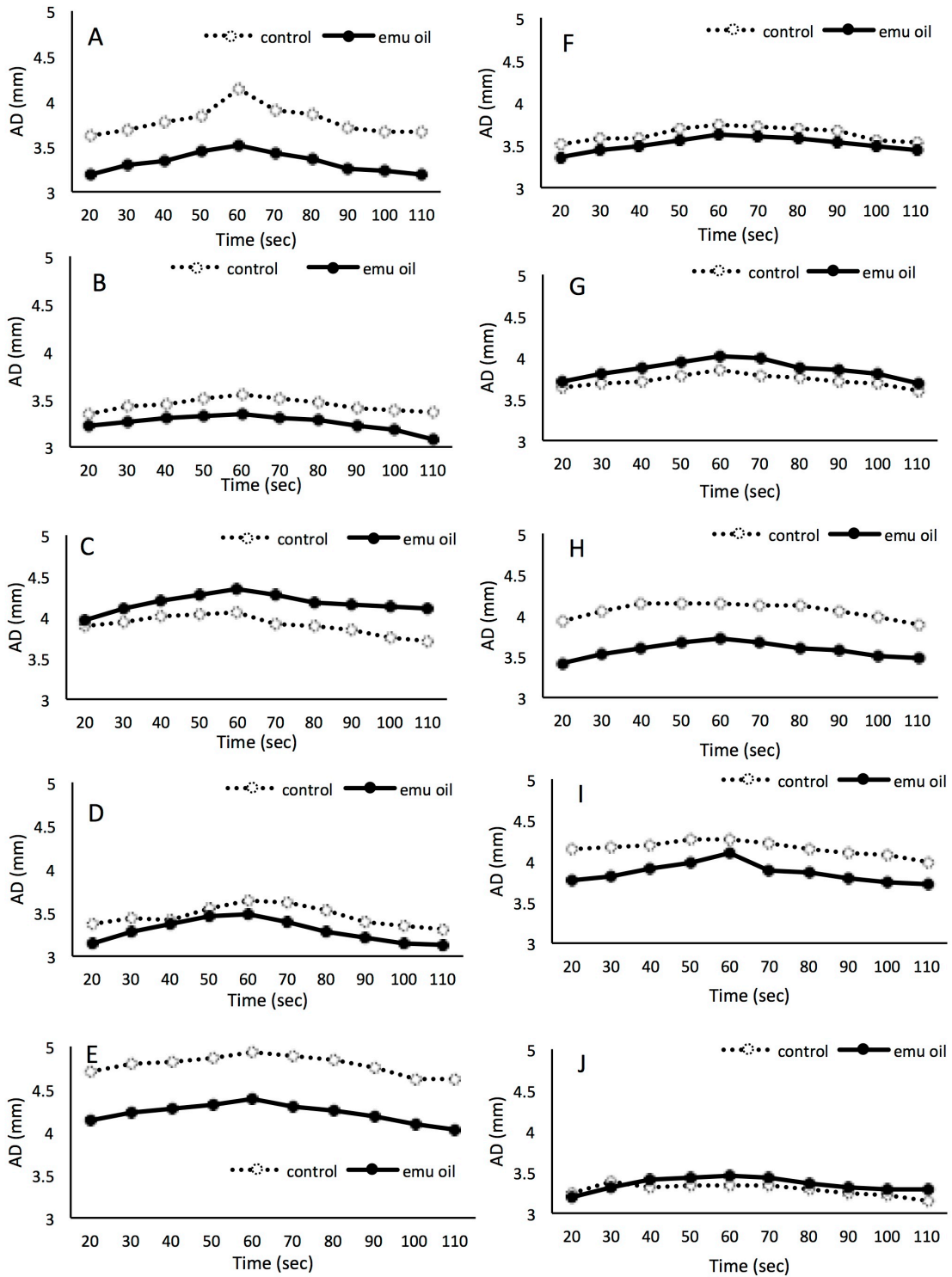


Fig. 2. Change in the arterial diameter after releasing pressure applied to the antebrachial region via a pressure cuff in emu oil or placebo dosed Male.

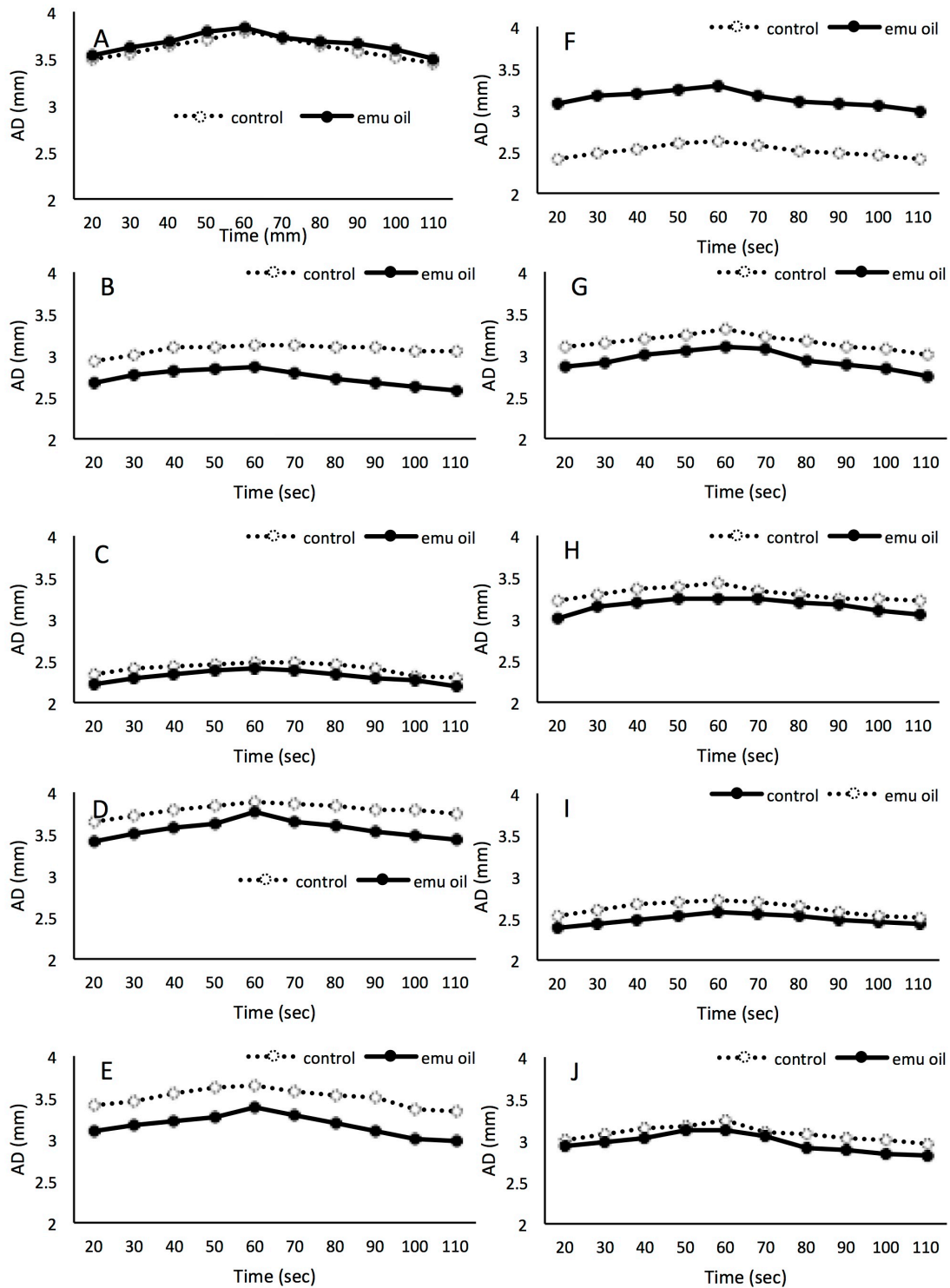


Fig. 3. Change in the arterial diameter after releasing pressure applied to the antebrachial region via a pressure cuff in emu oil or placebo dosed Female.

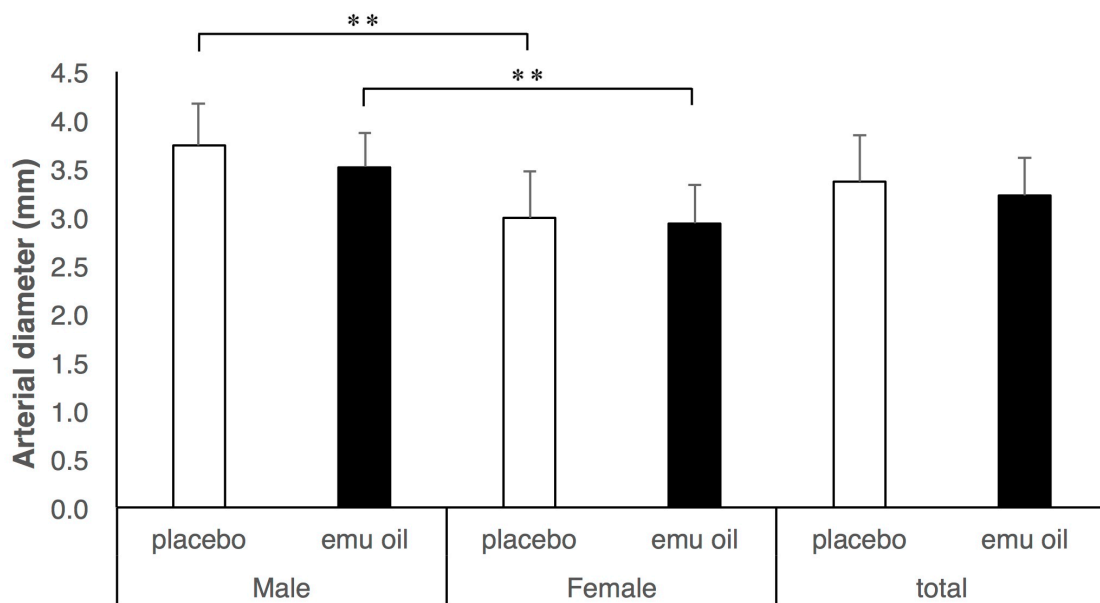


Fig. 4. Arterial diameter at baseline after a single-dose administration of Emu oil or placebo (water). Data represents the mean of all subjects, and the error bars indicate the standard deviation. \*\*,  $p < 0.01$ .

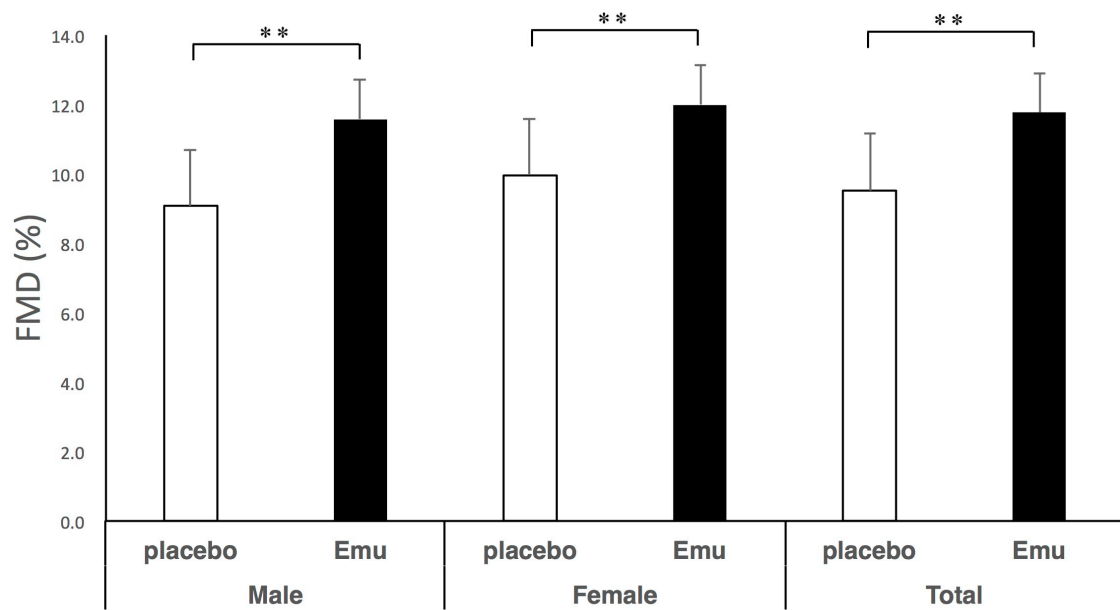


Fig. 5. Expansion rate of the FMD at baseline and after a single-dose administration of Emu oil or placebo (water). Data represents the mean of all subjects, and the error bars indicate the standard deviation. \*\*,  $p < 0.01$ .



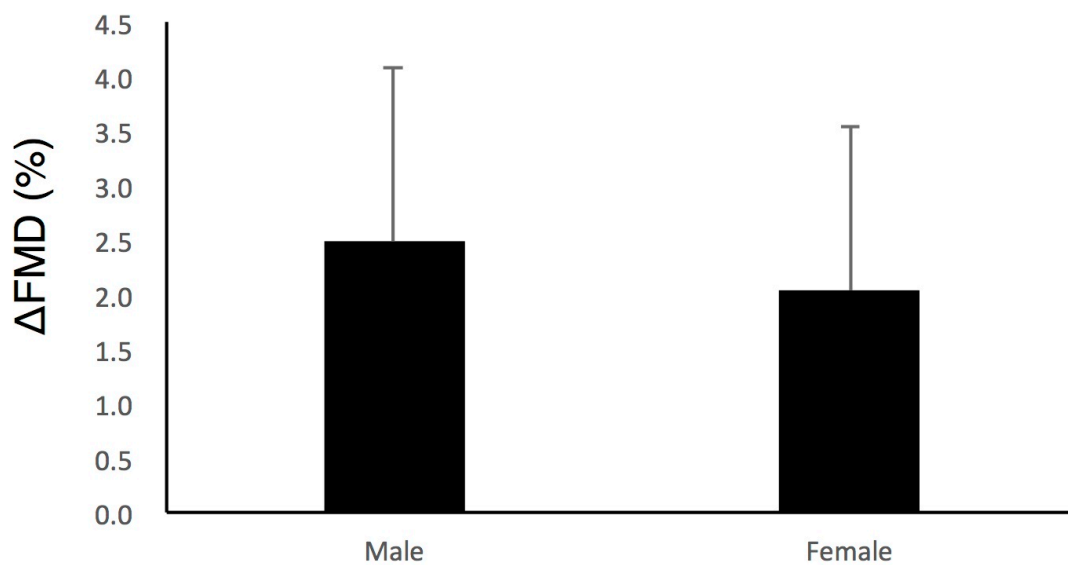


Fig. 6. Change of the FMD after a single-dose administration of Emu oil.  $\Delta\text{FMD} = (\text{FMD at after single-dose Emu oil}) - (\text{FMD at single-dose water})$ . Data represents the mean of all subjects, and the error bars indicate the standard deviation.

## 第 4 章

### 植物資源カムカムの化粧品素材としての安全性評価

## 1. 緒言

カムカム (*Myrciaria dubia*) は、南米ペルーのアマゾン川流域の熱帯雨林に自生するフトモモ科の常緑低木である。従来、ペルーにおいてカムカムは、魚の餌や薪として使われる程度であった。しかし近年、その果実にビタミン C やポリフェノールなどの機能性成分が豊富に含まれていることが明らかになったことから (Zanatta et al. 2007, Myoda T et al. 2010)、カムカム果実の加工品が製造・輸出されるようになり、ペルーの農村地域を支援する新規産業として着目されている。

現在、カムカムの果実は、飲料、食品および化粧品など多岐にわたる製品の材料としての需要が高まっている。一方、全重量の約 40% にあたる残渣が産業廃棄物として処理されている。しかし、近年の研究により、廃棄物に含まれるカムカム果皮の抽出物が、高い抗酸化性や抗菌性を示すことが明らかにされ、産業廃棄物である果皮の有効活用が注目されている。檜村ら (2007) は、高血圧自然発症ラットを用いた研究により、カムカム果皮抽出物が高血圧を抑える働きを持つことを示唆し、果皮が、血管機能の改善に有効である可能性が示された。さらに、カムカム果皮抽出物に含まれるポリフェノール類類には収斂作用が認められており、エミューオイルと同様に、体内 (インナー) だけでなく、皮膚などの体外 (アウトター) における製品としても有効性を活かした製品開発が可能であると考えられる。

カムカム果皮は、エミューオイルと同様に食品として認可されており、食品としての安全性は担保されている。本研究では、化粧品原料としてカムカム果皮を用いるための安全性を調べるため、男性 3 人、女性 17 人を含む 20 人の参加者 (22~59 歳) に対する単回投与による閉塞ヒトパッチテストを実施した。

## 2. 方法

### 2.1. 対象

皮膚刺激性試験は、男性 2 人、女性 18 人を含む 20 人の成人を対象に行った。(24～58 歳)。対象は、以下の除外基準に抵触しない者を選択した。また対象が試験に参加する前には、説明文書・同意文書を被験者に渡し、本試験の目的や内容等について十分に説明を行った。

#### 被験者の除外基準

1. 乾癬および/または活動性アトピー性皮膚炎を有する者、その他の皮膚疾患を有する者
2. 薬物アレルギーを有する者
3. 外傷または蕁麻疹などのアレルギー反応を有する者
4. 試験結果を妨害する全身または局所の薬物または薬物の使用である者
5. 薬物またはアルコール依存症の病歴を有する者
6. 妊娠期間、授乳期間、または妊娠予定期間である者
7. 試験の 2 週間前に試験結果を妨害する投薬中である者
8. 試験の 4 ヶ月以内のパッチテストの履歴
9. 主任研究者の意見により、試験への参加資格が不十分な参加者

本試験はヘルシンキ宣言(世界医師会)ならびに人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(文部科学省、厚生労働省)に示された倫理規範を踏まえ、被験者の人権保護に配慮して実施した。

### 2.2. 試料

試料として用いたカムカム果皮粉末は、下記のとおりに調製した。1.5 kgの乾燥したカムカム果実の果皮に、2倍量の50%エタノールを添加して2時間攪拌した。これを濾紙でろ過してろ液を集めた。残渣に対して同量の50%エタノールを添加して上述と同様の操作を2回繰り返した。ろ液をまとめてエバポレーターに供し溶媒を留去した後、凍結乾燥して乾固した。注射用蒸留水で1%に希釈した試料を15  $\mu$ l塗布した。

陰性対照として、白色ワセリン、生理食塩水、注射用蒸留水を用い、塗布量はそれぞれ20  $\mu$ l, 15  $\mu$ l, 15  $\mu$ lとした。

### 2.3. パッチユニットの貼付・除去の方法

パッチテストユニット Finn Chamber on Scanpor Tape(スマートプラクティス ジャパン)を用いて、各試料を被験者の上背部(傍脊椎部)に24時間閉塞貼付した。貼付回数は1回とした。貼付24時間後にパッチテストユニットを除去した。

### 2.4. スケジュールと評価方法

パッチテストユニットを用いて試料を貼付し、24時間後に、パッチテストユニットを除去した。除去の1時間後に観察および写真撮影を行い、皮膚反応を判定した。除去の24時間後に観察および写真撮影を行い、試験判定医師が皮膚反応を判定した。判定は、本邦判定基準(Kawamura et al. 1970, Table 1)に従った。

## 3. 結果と考察

カムカム果実および種皮のエキスについては既にこれらを用いた化粧品が販売されている。一方、本研究試料であるカムカム果皮エキスは有用な化粧品素材と考えられるが、未だ利用されていないものであり、化粧品素材として使用するためには安全性を確認する必要がある。本研究では化粧品の安全性評価法のひとつである、単回投与のパッチテストを実施した。

パッチユニットを貼付する前、パッチユニット除去後 1 時間後および 24 時間後に撮影した皮膚の写真 (10 人分) を Fig. 1–Fig. 8 に示した。基準に従って反応の程度を評価した結果を Table 2 に示した。カムカム種皮の塗布は、20 人の対象全てにおいて皮膚の状態に影響を及ぼさなかった。

須貝 (1995) は、各被験者の皮膚反応を評点化し (Table 3)、下記の式にあてはめてその化粧品の安全性を安全品、許容品、要改良品、危険品に分類することを提唱した。

$$\text{皮膚刺激指数} = \frac{24 \text{ 時間後と } 48 \text{ 時間後の判定のうち反応が強う方の評点の総和}}{\text{被験者数}} \quad \dots \text{式 } 1$$

今回の結果を式 1 に代入して計算したところ、カムカムの皮膚刺激指数は 0 であり、安全品に分類された。一般に、化粧品に含まれる植物エキスの濃度は通常 1% 程度である。本研究では、カムカム果皮粉末は注射用蒸留水に 1% の濃度で希釈して貼付しており、この条件で安全性が認められた事は、カムカムエキスを化粧品原料として使用しても安全であることを強く示唆している。

化粧品の安全性は、最終製品はもとよりその原料全てにおいて安全であることが求められている。原料の安全性評価としては、単回投与毒性、皮膚一次刺激性、連続皮膚刺激性、皮膚感作性、光毒性、光感作性、眼刺激性、遺伝毒性などがある (佐々. 2015)。2001 年以降、多くの植物成分が化粧品原料と

して採用されているが、安全性を十分に担保されていないものが多く含まれているとの見方もある(中山, 2005) 今回の単回貼付はヒトを対象にした簡便な方法であり、さらなる安全性を担保するためには、まず累積刺激試験および感作性試験を実施する必要がある。

食品原料の安全性試験は動物実験がいまだ可能であり、植物エキスの安全性評価としてラットなどを用いた毒性試験が行われている(樋口ら, 2015)。一方、EUでは2013年から化粧品とその原料について動物実験が禁止され、動物実験を実施した製品は販売できなくなった(宮澤, 2015)。このような社会情勢を受け、日本でも多くの化粧品企業が動物実験をしないことを宣言している。この時代背景から、今後は細胞、組織による代替法およびヒト試験のみで安全性を評価することが必須になると考えられる。

本研究ではカムカム果皮エキスの安全性を確認したが、化粧品素材としての機能性や有用性については不明な点が多く、植物資源としてカムカム果皮は多くの可能性を有していると考えられる。各種培養細胞およびヒトによる安全性試験を積み重ねるとともに、カムカム果皮エキスの未だ未知である機能性を明らかにしてゆくことで、化粧品素材としての付加価値が上がるものと期待できる。

Table 1. Evaluation of patch test reaction.

Readings	Reactions	Point
–	No reaction	0
±	Slight erythema	0.5
+	Clear erythema	1.0
++	Erythema and papules or edema	2.0
+++	Strong vesicular reaction	2.0
++++	Extreme bullous reaction	4.0



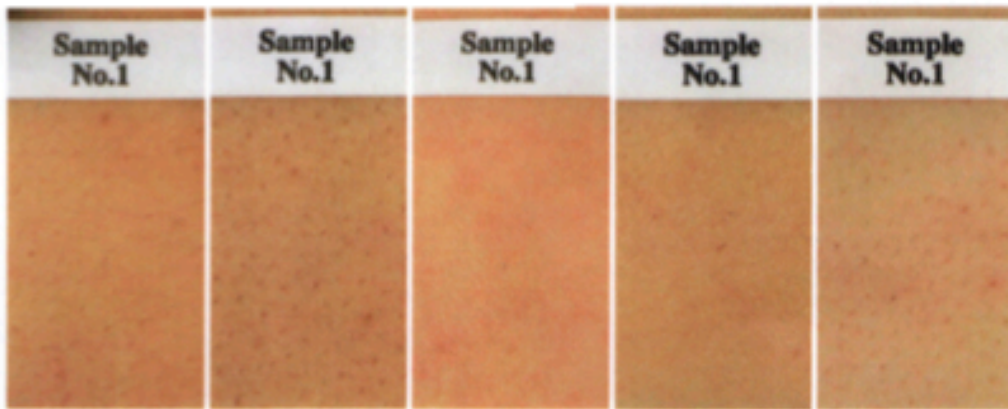
Table 2. Results of skin sensitization test. The reaction of the skin was observed at 1 and 24 h after removal of the sample tape. Times were expressed as 24 and 48 h for the observation at 1 and 24 h after the tape removal, respectively.

Samples	Camu-camu		White petrolatum		Physiological saline		Distilled water for injection	
	24	48	24	48	24	48	24	48
Readings	Hours							
—	20	20	20	20	20	20	20	20
±	0	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0	0	0	0
++	0	0	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0	0	0

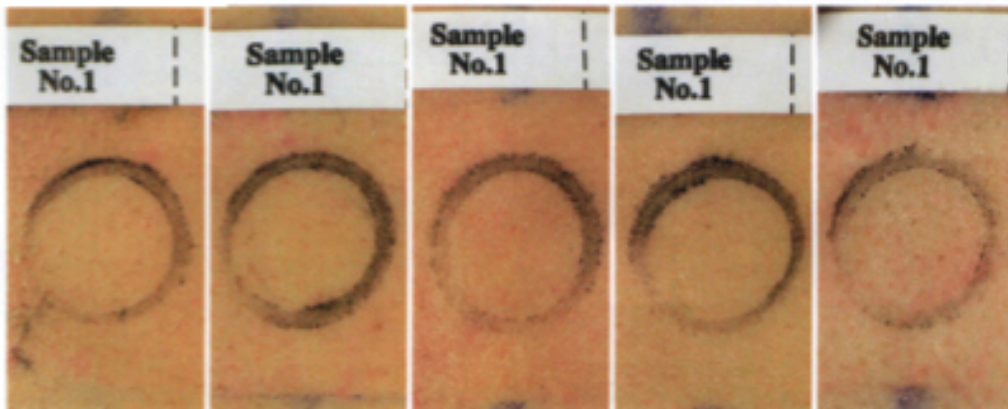
Table 3. Categorization for safeness of cosmetic.

Skin irritation index	Category
< 5	Safety products
5 - 15	Acceptable products
15 - 30	Products to be improved
> 30	Hazardous products

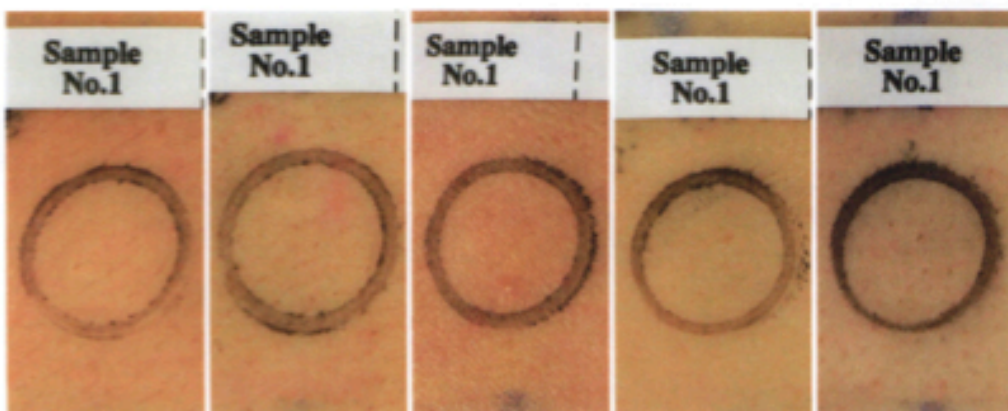
Pre-treatment



24 h



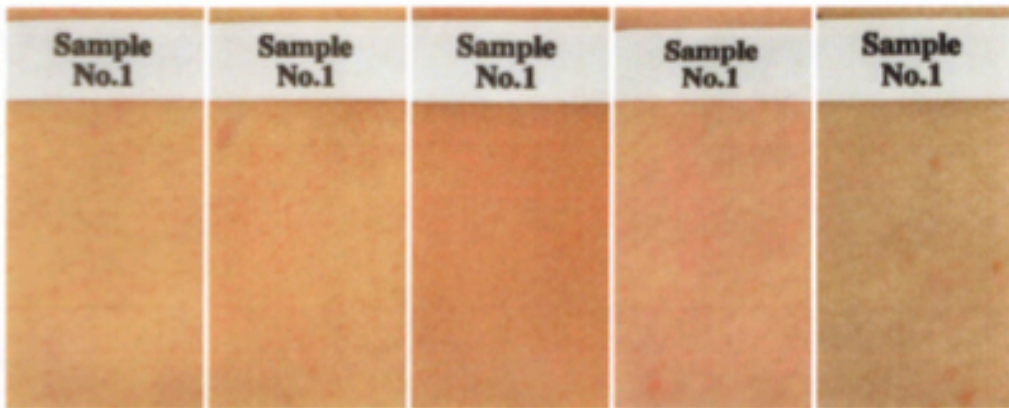
48h



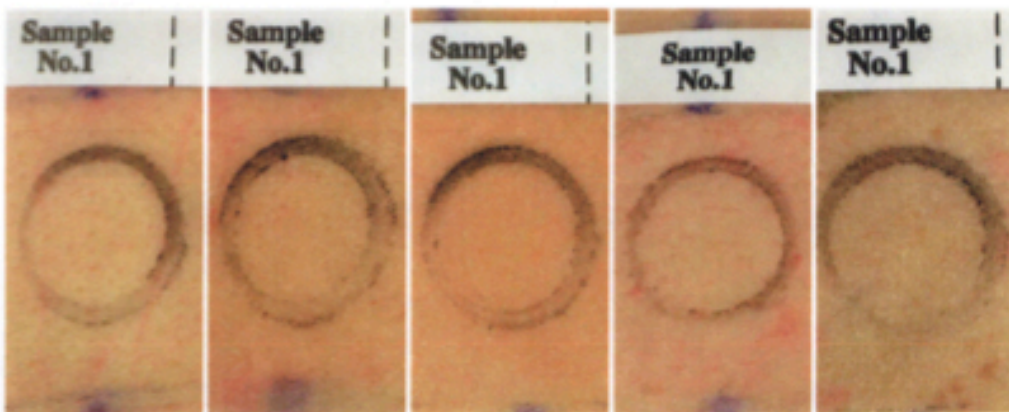
1 2 3 4 5

Fig. 1. Skin reaction of CamuCamu-treated subjects (1-5).

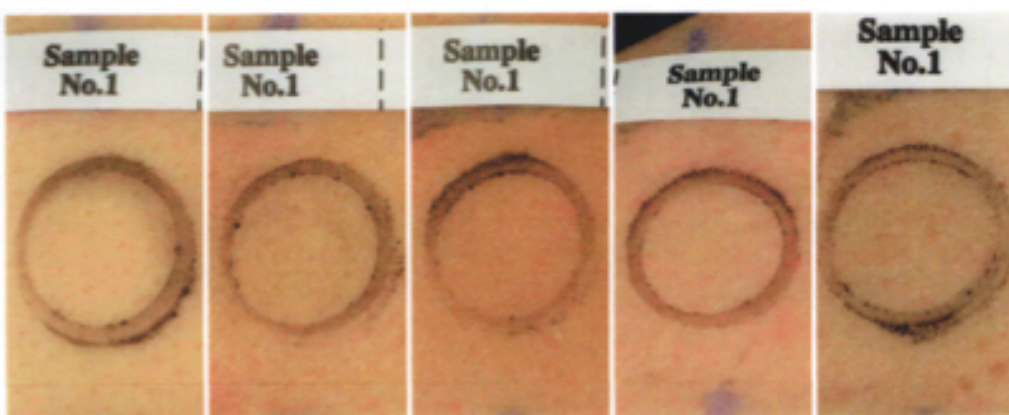
Pre-treatment



24 h



48h



6

7

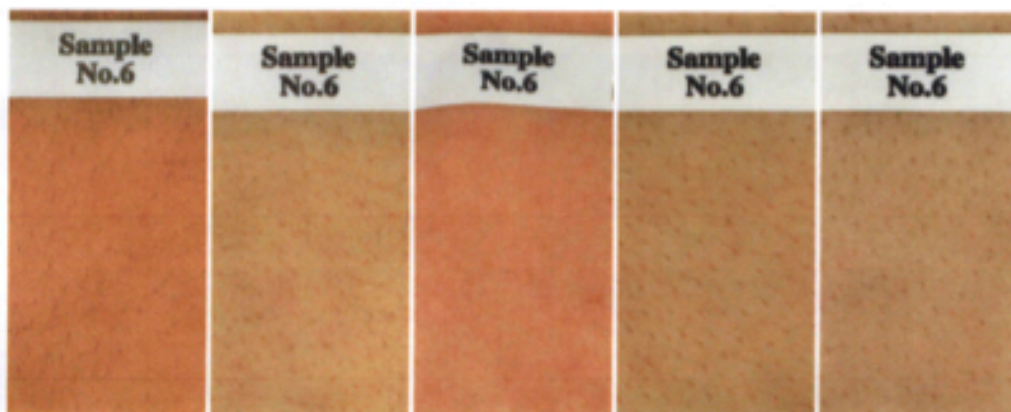
8

9

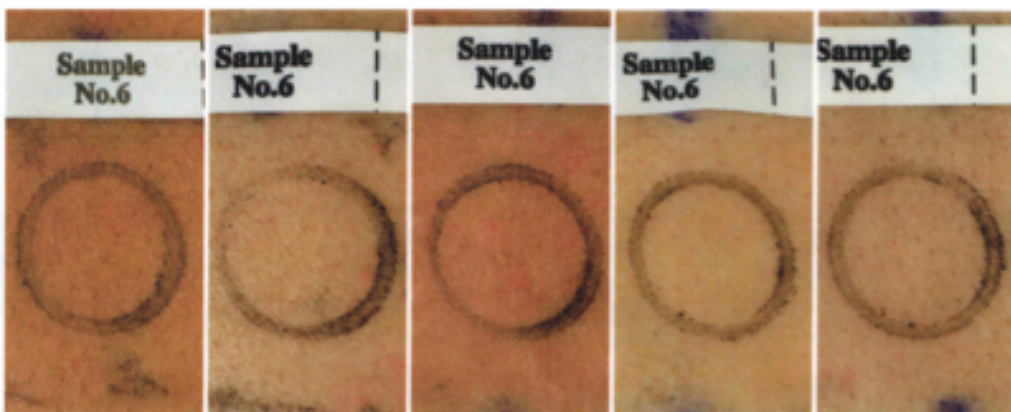
10

Fig. 2. Skin reaction of CamuCamu-treated subjects (6-10).

Pre-treatment



24 h



48h

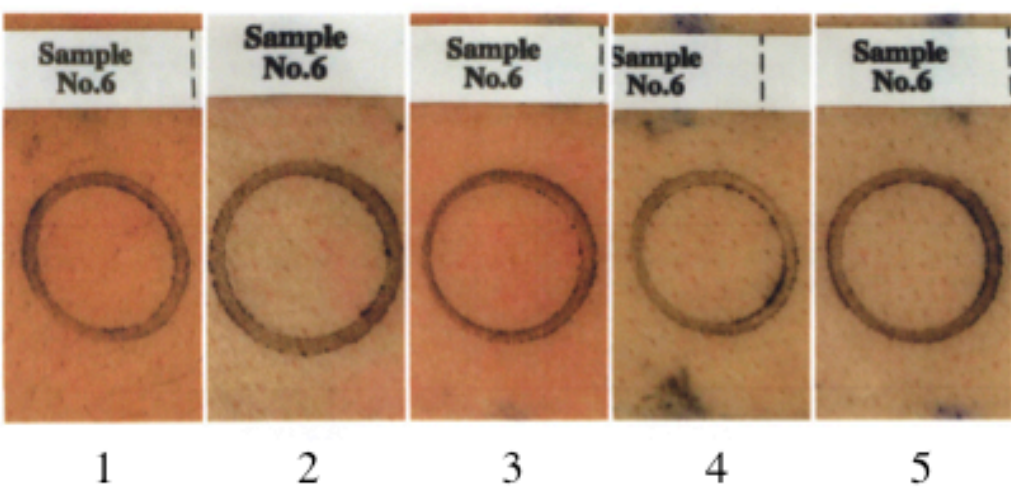
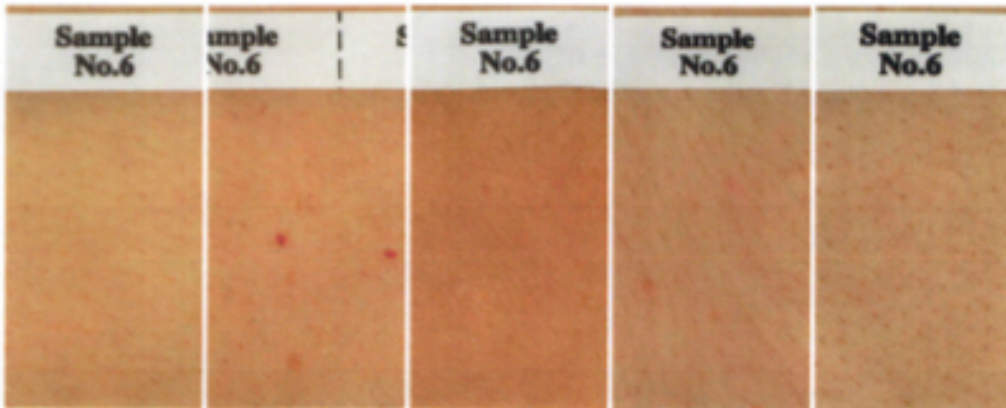


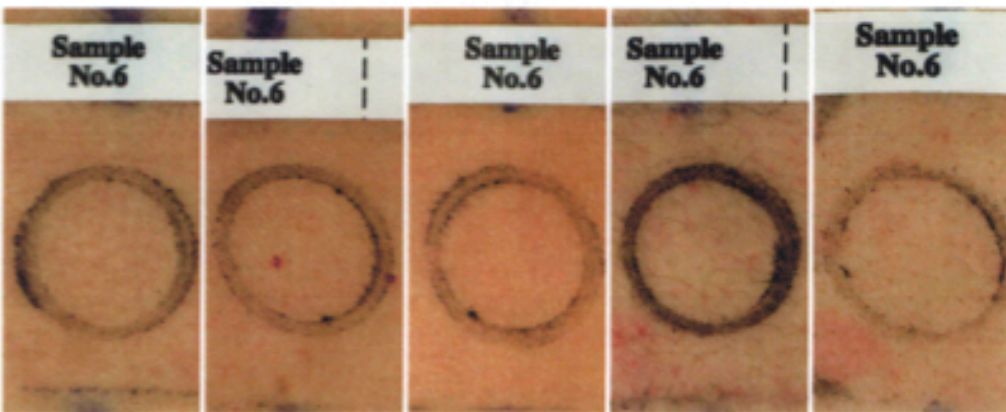
Fig. 3. Skin reaction of white petrolatum-treated subjects (1-5).



Pre-treatment



24 h



48h

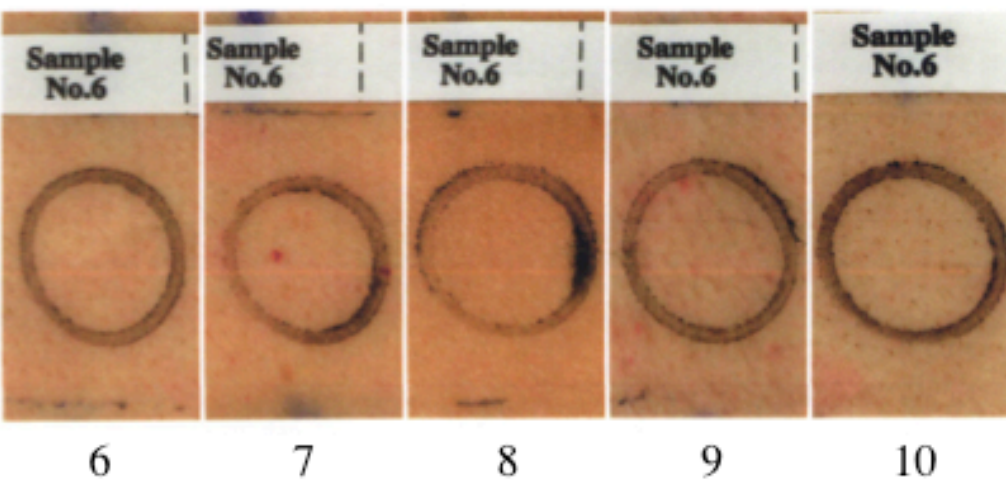
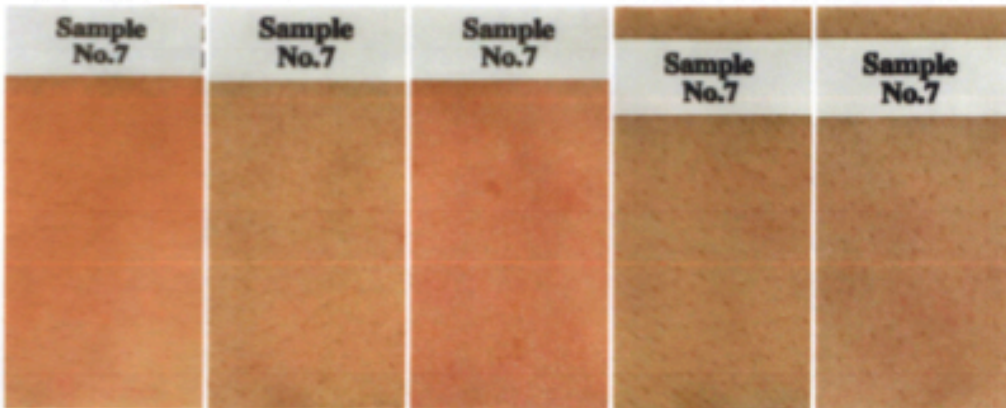
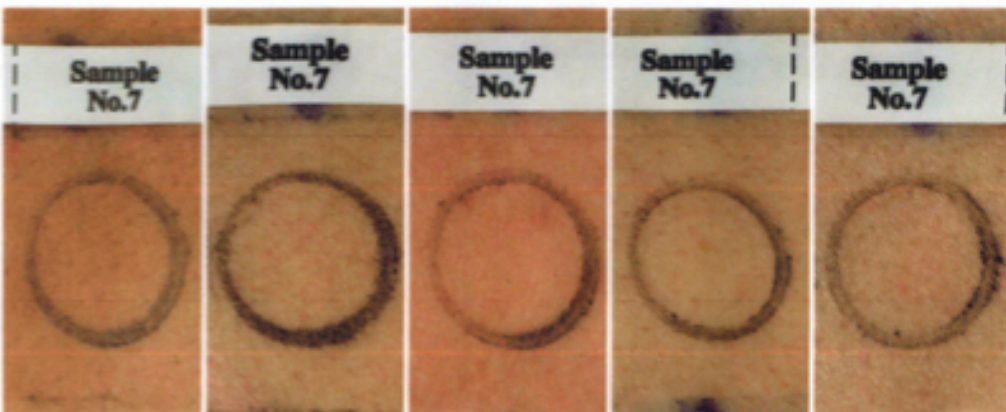


Fig. 4. Skin reaction of white petrolatum-treated subjects (6-10).

Pre-treatment



24 h



48h

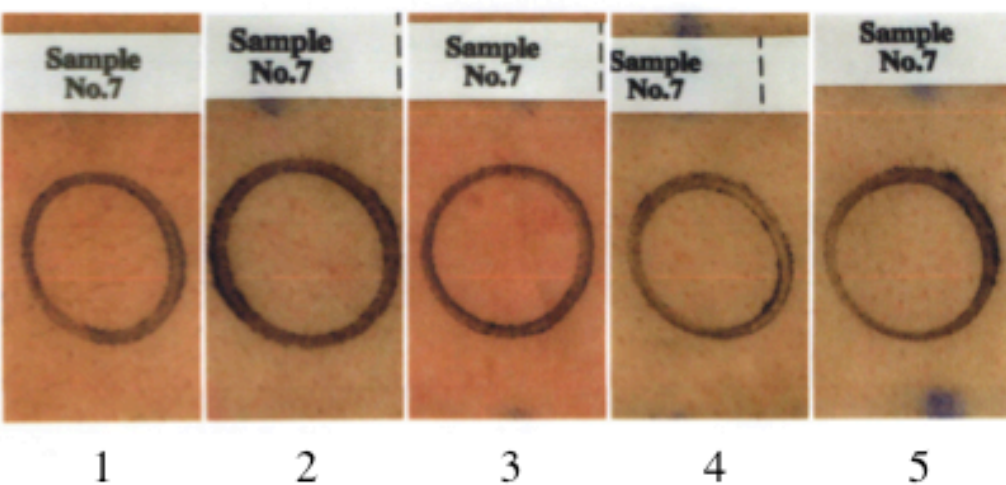
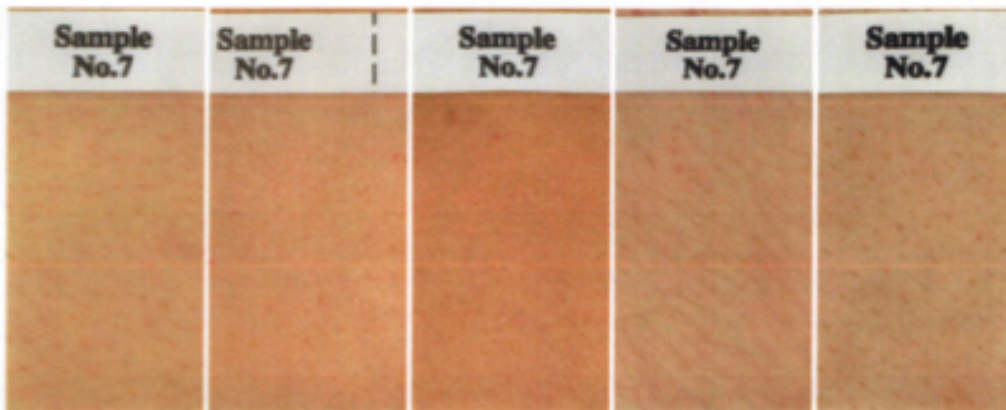
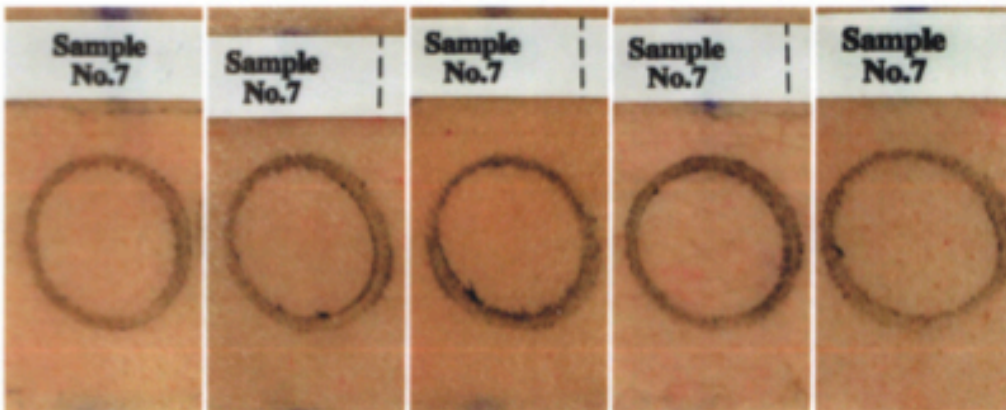


Fig. 5. Skin reaction of physiological saline-treated subjects (1-5).

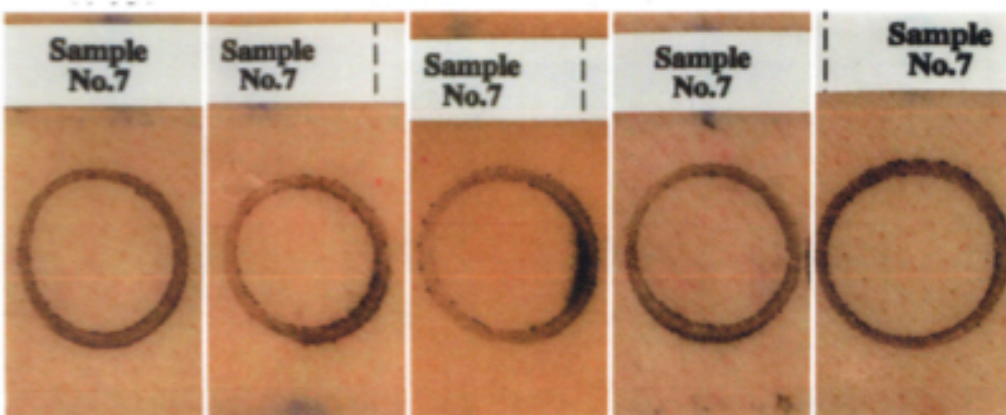
Pre-treatment



24 h



48h



6

7

8

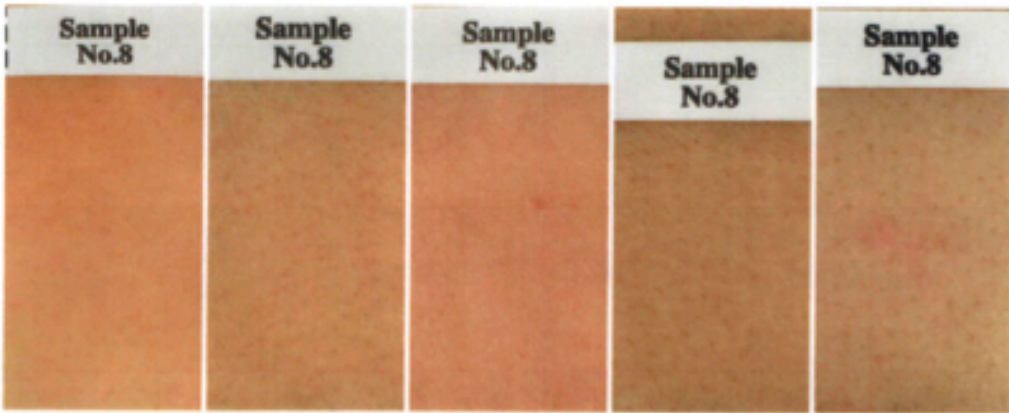
9

10

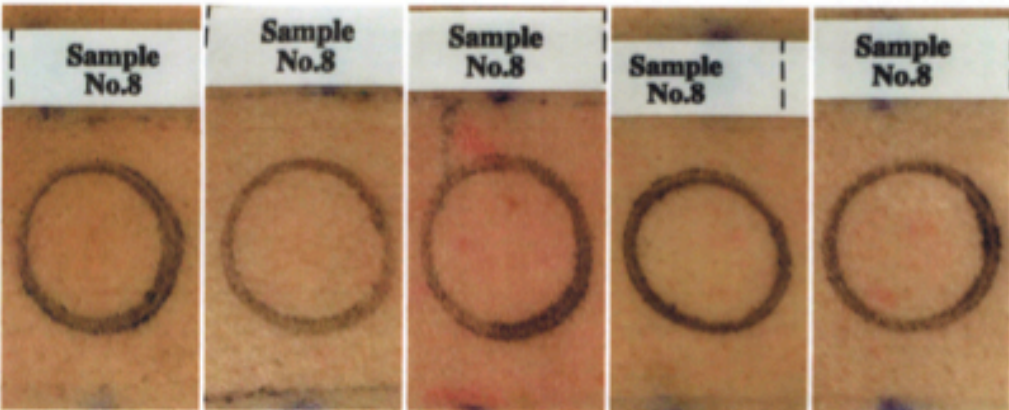
Fig. 6. Skin reaction of physiological saline-treated subjects (6-10).



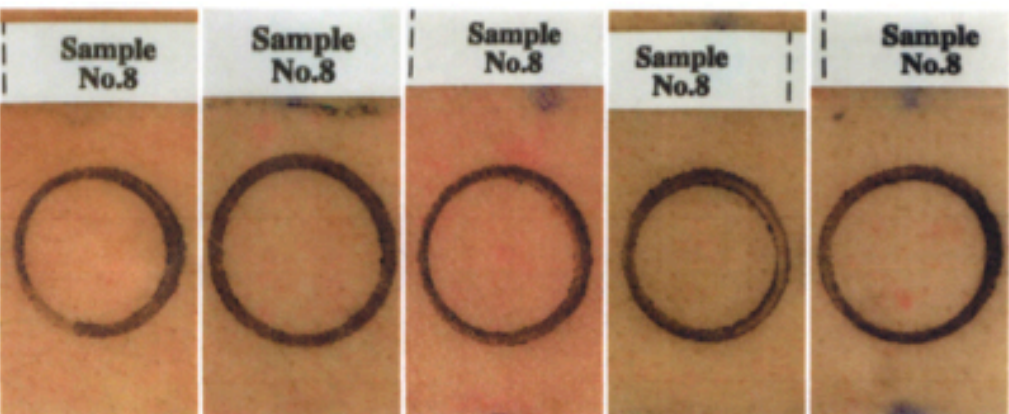
Pre-treatment



24 h



48h



1

2

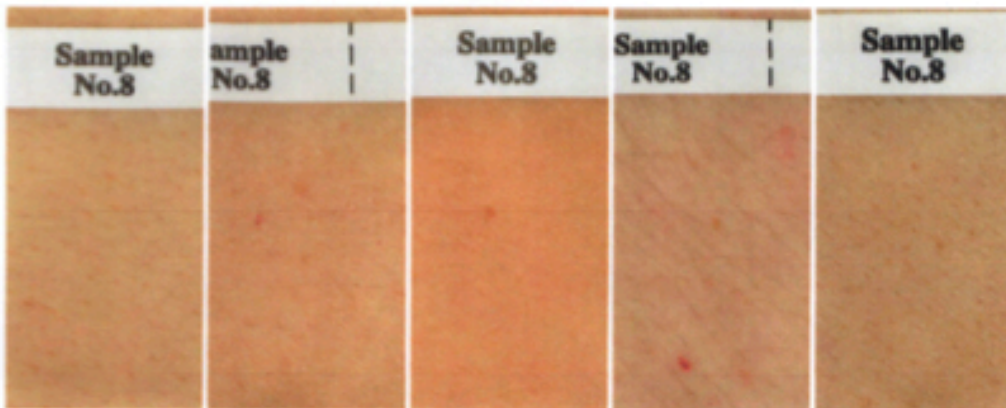
3

4

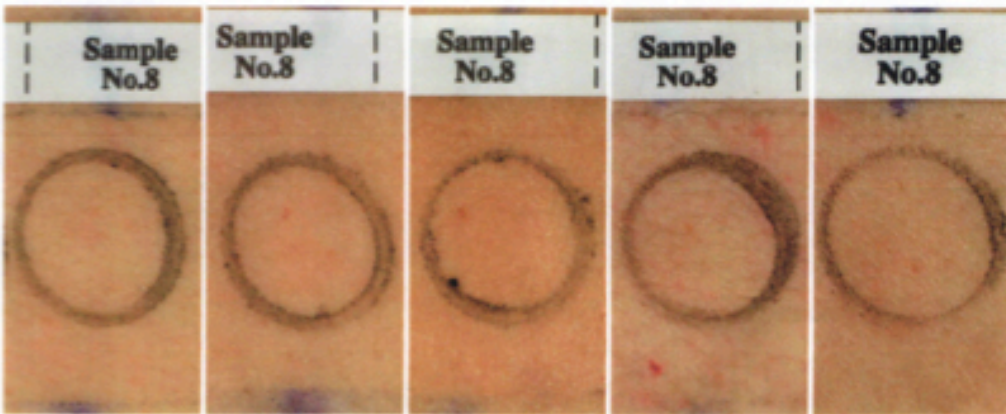
5

Fig. 7. Skin reaction of distilled water-treated subjects (1-5).

Pre-treatment



24 h



48h

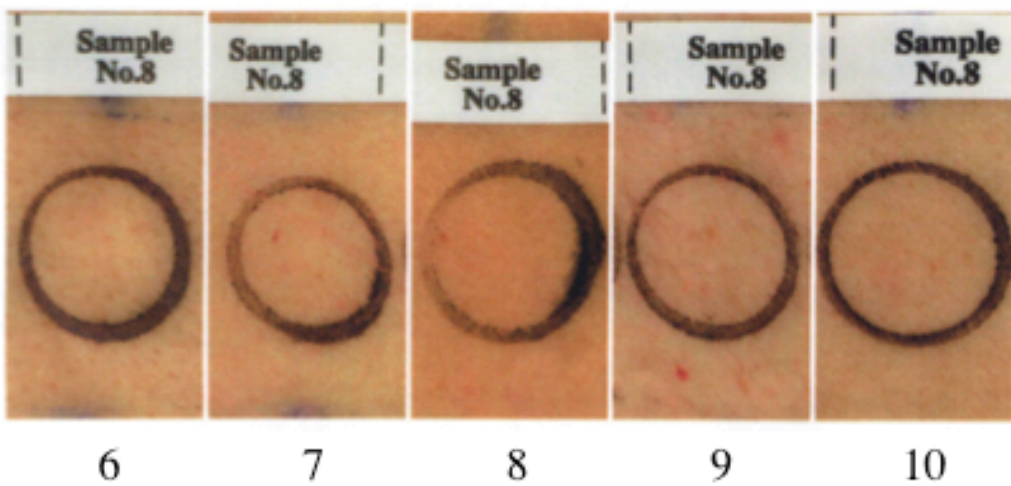


Fig. 8. Skin reaction of distilled water-treated subjects (6-10).

## 第 5 章

### 動物資源エミュールオイルの化粧品素材としての機能性および安全性評価

## 1. 緒言

心身を健康に保つために必要な体の機能として、免疫反応が挙げられる。免疫反応は、創傷や病原体、腫瘍細胞の形成などから生体を防御するための重要な役割を担っている。一方、過度の免疫反応は、炎症につながり生体に不利益をもたらす。過度の紫外線 (ultra violet; UV) やアクネ菌などによる刺激は、皮膚に炎症反応を引き起こす (Pillai et al. 2005, Younis et al. 2016)。また、皮膚の炎症により生じるサイトカインや活性酸素は、細胞外基質を分解する酵素の発現を促進し、コラーゲンやエラスチンなどの減少を引き起こして皮膚の老化を促進させる (Mao et al. 2015)。このように、炎症を抑制することは皮膚の老化を防ぐ重要な手段であり、抗炎症作用を有する素材が薬用化粧品に求められている。炎症は組織の細胞や免疫担当細胞の複雑な相互作用により進行するが、中でもマクロファージは炎症の初期において重要な役割を果たしている。マクロファージは細菌や傷害を受けた細胞などを貪食すると、サイトカインの産生や抗原の提示などを介して炎症反応を誘発するため、多くの研究でマクロファージの機能に対する効果が抗炎症性の指標として用いられている (Shi et al. 2002, Kuda et al. 2012, Zhang et al. 2014)。

エミュー (*Dromaius novaehollandiae*) は第3章に記したようにオーストラリア原産の鳥である。オーストラリアの先住民族であるアボリジニや西洋からの入植者は、古くからエミューの皮下脂肪を創傷の治療や痛みの緩和のために用いてきた (Jeengar et al. 2015)。ここ20年、エミューオイルの抗炎症効果に関する研究がなされてきている。Lindsayら (2010) は、ラットの5-フルオロウラシル (FU) 誘発腸炎モデルにおいて、エミューオイルの経口投与により小腸の炎症反応と粘膜の損傷が改善されることを報告した。また、エミューオイルは、皮膚組織における炎症作用においても有効であることが見出されており、クロトン

油の処置により炎症を惹起したマウスの耳介にエミューオイルを塗布すると、厚さ、重量および組織中のサイトカイン量が減少することが報告されている (Yoganathan et al. 2003)。このことからエミューオイル化粧品原料としても抗炎症作用を有する可能性があり、それを証明できれば付加価値を上げる事ができる。しかし、エミューオイルの抗炎症効果の作用機序は、細胞レベルではほとんど調べられていない。本研究では、培養マクロファージを用いて炎症反応に対するエミューオイルの効果について検討した。

一方、経験的にエミューオイルが高い保湿性や皮膚浸透性を持つ事から化粧品素材として優れていると考えられており、既にエミューオイルを含む化粧品は数多く販売され、製品の一部では安全性試験も実施されている (伊藤ら、2017)。しかし、化粧品素材としてのエミューオイル原料の安全性は未だ不明である。動物資源を化粧品として利用するためにはその安全性の担保は不可欠である。そこで本実験では、エミューオイルの単回投与による皮膚反応を閉塞ヒトパッチテストを実施し、安全性を検証した。

## 2. 方法

### 2.1. マクロファージの炎症性反応に対するエミューオイルの効果

#### 2.1.1. 細胞培養とエミューオイル処理

マウスマクロファージ株化細胞RAW 264は理研バイオリソースセンターから購入した。RAW 264はウシ胎仔血清 (FCS; 10%)、ペニシリン (100 U/ml) およびストレプトマイシン (100  $\mu$ g/ml) を添加したダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) を用いてCO<sub>2</sub>インキュベーターで培養した。培養液は2-3日に一度交換した。エミューオイル (東京農大バイオインダストリー) の影響を調べるときは、

脂肪酸不含ウシ血清アルブミン(BSA)を乳化剤として用い (Azzam et al. 2012, Ito et al. 2016), 4%脂肪酸不含BSAを添加したDMEM(DMEM-BSA)にエミューオイルが0.001, 0.005あるいは0.01%となるように添加して用いた。デキサメタゾン<sup>®</sup>は, ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解したストック溶液(1 mM)を最終濃度が1  $\mu$ Mになるように培養液に希釈して用いた。

### 2.1.2. 貪食能の測定

貪食能は, Babcockら(2013)の方法を改変して測定した。48穴培養プレートに細胞を $2 \times 10^4$  /cm<sup>2</sup>となるように播種して一晩培養した。翌日, 培養液をエミューオイルとLPS(100 ng/ml)を含むDMEM-BSAに交換し, 24時間培養した。直径1 mmの蛍光微粒子(Fluoresbrite carboxylate YG microsphere; Polysciences, PA, USA)を,細胞数と微粒子数の比が1:100になるようにDMEMに添加した試験溶液を作成し, この試験溶液中で細胞をCO<sub>2</sub>インキュベーター内で2時間インキュベートした。細胞をハンス緩衝液(HBSS)で3回洗浄した後, 貪食されずに細胞に結合している微粒子の蛍光を消光するため, トリパンブルー消光溶液(0.2% トリパンブルー, 20 mM クエン酸, 150 mM NaCl, pH 4.5)を細胞に加えて4°Cで10分間静置した。細胞をHBSSで3回洗浄した後, 0.4% Triton X を含むリン酸緩衝液(PBS)を加えて4°Cで30分間静置して細胞を溶解した。細胞溶解液の蛍光強度を, 蛍光分光光度計を用いて励起波長480 nm, 蛍光波長520 nmで測定した。測定した蛍光強度は, 細胞数の違いを基準化するため, 細胞溶解液中のタンパク質濃度で除して表記した。タンパク質濃度は, 市販のキット(Pierce, IL, USA)を用いてBCA法で測定した。

### 2.1.3. NOとTNF- $\alpha$ の産生量の測定

一酸化窒素(NO)とtumour necrosis factor(TNF)- $\alpha$ を測定するときは、細胞を96穴培養プレートに $1 \times 10^4$  /cm<sup>2</sup>となるように播種して一晩培養した。翌日、培養液をエミューオイルを含むDMEM-BSAに交換し、24時間培養した。培養液をLPS(100 ng/ml)を含む培養液に交換して20時間培養した後、培養上清を回収した。NO産生の指標として、上清中の亜硝酸量をグリース反応を利用して測定した。100  $\mu$ lの培養上清と、同量のグリース・ロミン亜硝酸試薬(40 mg/ml; キシダ化学)を混合して室温で10分間静置し、マイクロプレートリーダーを用いて550 nmの吸光度を測定した。亜硝酸ナトリウム(NaNO<sub>2</sub>)を用いた検量線から亜硝酸イオン(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)の濃度を算出した。TNF- $\alpha$ は市販のELISAキット(R & D Systems, MN, USA)を用いて測定した。

細胞のタンパク量を前項と同様に測定し、細胞数の違いを基準化するために亜硝酸とTNF- $\alpha$ の量を細胞のタンパク量で除して表記した。

#### 2.1.4. iNOSの発現量の測定

誘導型NOS(iNOS)の発現量は、ウエスタンブロット法により測定した。細胞を直径10 cmの培養ディッシュに $1 \times 10^4$  /cm<sup>2</sup>となるように播種して一晩培養したのち、前項と同じ要領でエミューオイルとLPSによって処理した。細胞をPBSで洗浄してエッペンチューブに回収し、Cell Lysis Buffer (Cell Signaling Technology, MA, USA) 50  $\mu$ lで懸濁し、4°Cで30分間静置した。遠心後、上清50  $\mu$ lを回収してSDSサンプルバッファー( $\times 3$ )を25  $\mu$ l加えて懸濁し、5分間煮沸して試料とした。試料を7.5%アクリルアミドゲルを用いて電気泳動した後、ニトロセルロース膜に転写した。ニトロセルロース膜を3% スキムミルクと0.05% Tween-20を含むトリス緩衝液(SM-TBST)に浸し60分間室温でブロッキングした後、SM-TBSTで1,000倍希釈した抗NOS2抗体(Rabbit anti-NOS2 IgG, Santa Cruz Biotechnology, MN, USA)あるいは抗アクチン抗体(Goat

anti-actin IgG, Santa Cruz Biotechnology)に浸して一晩4°Cで振とうした。TBSTでニトロセルロース膜を洗浄し,SM-TBSTで1,000倍希釈した二次抗体に浸し,室温で60分間振とうした。二次抗体には,iNOSを検出するときは抗ウサギIgG抗体 (Goat anti-rabbit IgG HRP, Santa Cruz Biotechnology)を,アクチンを検出するときは抗ヤギIgG抗体 (Donkey anti-goat IgG HRP, Santa Cruz Biotechnology)を用いた。ニトロセルロース膜をTBSTで洗浄し,化学発光基質 (Merck, Germany)を用いてバンドを化学発光させ,バンド強度を画像解析ソフトImage J(v1.38)で数値化した。

iNOSのバンド強度をアクチンのバンド強度で除し,相対的なバンド強度を算出した。

#### 2.1.5. 統計処理

実験結果は平均値±標準偏差で示し, Non-repeated measures ANOVA および Bonferroni 検定により有意差検定を行った。

## 2.2. エミュールオイルの安全性評価

### 2.2.1. 対象

皮膚刺激性試験は,男性3人,女性17人を含む20人の成人を対象に行った。(22~59歳)。対象は,以下の除外基準に抵触しない者を選択した。また対象が試験に参加する前には,説明文書・同意文書を被験者に渡し,本試験の目的や内容等について十分に説明を行った。除外基準は,第2章と同様とした。



本試験はヘルシンキ宣言(世界医師会)ならびに人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(文部科学省, 厚生労働省)に示された倫理規範を踏まえ, 被験者の人権保護に配慮して実施した。

#### 2.2.2. 試料

試料として用いたエミュールオイルは東京農大バイオインダストリーから購入した。エミュールオイルは15  $\mu$ l塗布した。

陰性対照として, 白色ワセリン, 生理食塩水, 注射用蒸留水を用いた。塗布量はそれぞれ20  $\mu$ l, 15  $\mu$ l, 15  $\mu$ lとした。

#### 2.2.3. パッチユニットの貼付・除去の方法

パッチテストユニット Finn Chamber on Scanpor Tape(スマートプラクティス ジャパン)を用いて, 各試料を被験者の上背部(傍脊椎部)に 24 時間閉塞貼付した。貼付回数は1回とした。貼付 24 時間後にパッチテストユニットを除去した。

#### 2.2.4. スケジュールと評価方法

パッチテストユニットを用いて試料を貼付し, 24 時間後に, パッチテストユニットを除去した。除去の 1 時間後に観察および写真撮影を行い, 皮膚反応を判定した。除去の 24 時間後に観察および写真撮影を行い, 試験判定医師が皮膚反応を判定した。判定は, 本邦判定基準(Kawamura et al. 1970, Table 1)に従った。

### 3. 結果

### 3.1. 貪食能に対するエミューオイルの効果

マクロファージの貪食能に対するエミューオイルの効果調べるため、細胞に貪食された蛍光微粒子の蛍光強度を測定した(Fig. 1)。LPSでRAW 264を処理すると、有意ではないが蛍光強度が若干増加した。一方、LPS刺激と同時にRAW 264をエミューオイル0.001–0.01% で処理しても、いずれの濃度のエミューオイルも蛍光強度に影響を及ぼさなかった。

### 3.2. NO産生とiNOS発現に対するエミューオイルの効果

最近我々は、RAW 264をエミューオイル存在下で72時間培養すると、LPS刺激によるマクロファージのNO産生が抑制されることを報告した(伊藤ら、2017)。本研究では、より短時間の処理でもNOの産生が抑制されるか検討するため、エミューオイルの前培養は24時間とした。Fig. 2に示すように、LPS刺激によりNO産生量は大きく増加し、この増加は、細胞をエミューオイルで24時間前培養することで、有意に抑制された。NO産生に対するエミューオイルの抑制効果は、デキサメタゾンよりも小さかった。

次に、NOを合成する酵素であるiNOSの発現に対するエミューオイルの効果調べるため、ウエスタンブロットで調べた。LPS刺激により、iNOSの発現は大きく増加した(Fig. 3)。RAW 264をエミューオイルで24時間前培養すると、LPS刺激によるiNOS発現の増加は有意に抑制された。

### 3.3. TNF- $\alpha$ 産生に対するエミューオイルの効果

最後に、炎症性サイトカインであるTNF- $\alpha$ の産生に対するエミューオイルの効果調べるため、TNF- $\alpha$ の産生量はELISAで測定した。Fig. 4に示した通り、RAW 264をLPSで刺激するとTNF- $\alpha$ の産生量は大きく増加した。細胞を0.005あるいは0.01%のエミューオイルで前培養すると、TNF- $\alpha$ の増加は有意に抑制された。

TNF- $\alpha$ の産生に対するエミュールオイルの抑制効果は、デキサメタゾンよりも小さかった。

#### 3.4. エミュールオイルの単回投与による皮膚反応

パッチユニットの貼付前，除去してから1時間後および24時間後に撮影した皮膚の写真(10人分)をFig. 6 – Fig. 13に示した。基準に従って反応の程度を評価した結果をTable 2に示した。エミュールオイルによる皮膚反応は全て陰性であった。

#### 4. 考察

消費者のスキンケア商品に対するニーズは年々高まっており，薬用化粧品の成分として抗炎症作用を有する素材が強く求められている。特に天然素材は，合成化学物質よりも効果が穏やかで消費者のイメージもよいため化粧品原料として適しており，ハーブ植物 (Jeong et al. 2013) ，ターメリック (Jurenka et al. 2009) ，カピバラオイル (Marinho et al. 2013) など様々な天然素材の機能が研究されている。エミュールオイルは保湿性，浸透性が高く (増子ら. 2014, Jeengar et al. 2015) ，化粧品素材としてさらなる需要の増加が期待できる。これまでに，クロトン油処理で炎症を惹起したマウスの耳介にエミュールオイルを塗布すると，耳介の厚さ，組織中のサイトカイン量が減少したことが報告されている (Yoganathan et al. 2003) 。しかしエミュールオイルがどのような機序で抗炎症作用を発揮するかは不明である。本研究では，薬用化粧品の素材としてのエミュールオイルの抗炎症作用の機序を明らかにするため，培養マクロファージの炎症性反応に対するエミュールオイルの効果を調べた。

生体において、炎症が治癒する最初のステップは、マクロファージが貪食によって炎症の原因となる病原体や傷害のある細胞を除去することである。Calderら(1990)はマクロファージの貪食能に対する脂肪酸の影響を調べ、不飽和脂肪酸がマクロファージの貪食能を抑制する一方、不飽和脂肪酸が貪食能を増強することを示した。エミューオイルは飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の両方を含むが(Mashtoub et al. 2013, Jeengar et al. 2015)、本研究の実験条件では、エミューオイルはマクロファージの貪食能に影響を及ぼさなかった(Fig. 5A)。

また、炎症を抑制するためには、様々な細胞が産生する炎症性物質を抑制する必要がある。NOはマクロファージから産生され、癌細胞や細菌を除去する役割を持つが、過剰なNOの産生は組織に障害を与え、皮膚においても炎症を増悪させることが報告されている(Dasら. 2015)。一方、TNF- $\alpha$ はマクロファージや角化細胞などから産生されるサイトカインで、皮膚においては免疫細胞を誘引し、生体防御に重要な役割を果たす。しかし過剰なTNF- $\alpha$ の産生は炎症性細胞の集簇と活性酸素の産生を増大させ、炎症を増悪し、さらに貪食細胞によるアポトーシス細胞の除去を低下させる(Feng et al. 2011)。本研究により、エミューオイルは、LPS刺激によるiNOSの発現を抑制することでNOの産生を減少させること、TNF- $\alpha$ の産生を抑制することが明らかとなった(Fig. 5C, D)。貪食能に対するエミューオイルの効果と合わせて考えると、エミューオイルは炎症の修復に必要な貪食能を抑制することなく、炎症性物質の産生を減少させるという、炎症の治癒に適した作用を有する可能性がある。

エミューオイルの抗炎症作用が、どの成分によるものかは不明である。エミューオイルは抗炎症作用を持つとされるオレイン酸、 $\alpha$ リノレン酸などの不飽和脂肪酸を多く含んでおり(Mashtoub et al. 2013, Jeengar et al. 2015)、エミューオイルの抗炎症効果はこれらの不飽和脂肪酸によるものであることが考えられる。マクロファージをLPSで刺激すると、転写因子であるNF- $\kappa$ Bが細胞質から核へと

移行し、iNOSやシクロオキシゲナーゼおよび炎症性サイトカインなどの発現を増加させる(Yoon et al. 2010, Xu et al. 2013)。 $\alpha$ リノレン酸などの $\omega$ -3脂肪酸は、NF- $\kappa$ B関連シグナルを抑制してマクロファージの炎症反応を抑制することが報告されていることから(Oh et al. 2010)、エミューオイルの抗炎症作用にはこれらのシグナルが関連している可能性がある。一方、エミューオイルの抗炎症効果は不飽和脂肪酸以外の成分による可能性を示唆する報告もある。

Yoganathanら(2003)は、クロトン油処理によりマウス耳介に炎症を惹起し、魚油、亜麻仁油、オリーブオイルおよびエミューオイルを塗布して治癒効果を比較した。耳介の厚さ、組織中のIL-1 $\alpha$ の濃度はエミューオイルの塗布により最も大きく減少した。これらのオイルの中で、不飽和脂肪酸を最も多く含むのはオリーブオイルであり、不飽和脂肪酸だけではエミューオイルの抗炎症効果を十分に説明することはできない。今後、エミューオイルが炎症に関連する細胞の機能に及ぼす影響をさらに調べるとともに、エミューオイルのどの構成成分が抗炎症効果に寄与しているかを明らかにすることが必要であろう。

エミューオイルの脂肪酸組成からは高い保湿効果や皮膚浸透性を持つことが考えられ、そのような効果を期待した化粧品はすでに市場で数多くは販売されている。また、エミューオイルを含む化粧品の安全性評価を行い、その製品が安全であると結論した報告もある(伊藤ら. 2017)。一方、原料であるエミューオイルそのものの安全性については未だ確認されていない。本研究では単回投与のパッチテストを実施し、安全性を検証した。エミューオイルは皮膚反応を惹起しないことから、化粧品素材として安全である事が示唆された。また、第3章と同様に、須貝(1995)による皮膚刺激指数を計算したところ、その値は0であり、安全品として分類されることが分かった。これらのことから、本研究で使用した、網走産エミューの皮下脂肪を精製したエミューオイルは化粧品原料として安全に使用しうるものであることが明らかとなった。

本研究により、エミューオイルはマクロファージの貪食能に影響を及ぼさず、炎症を増悪するNOやTNF- $\alpha$ の産生を抑制することが明らかとなった。さらに、化粧品原料として安全であることがパッチテストの結果で示された。本研究は、エミューオイルはスキンケア化粧品に適する抗炎症作用を持ち、かつ安全であるという優れた動物資源である事が強く示唆するものであり、エミューオイルを化粧品素材として用いる際の重要な知見であると考えられる。

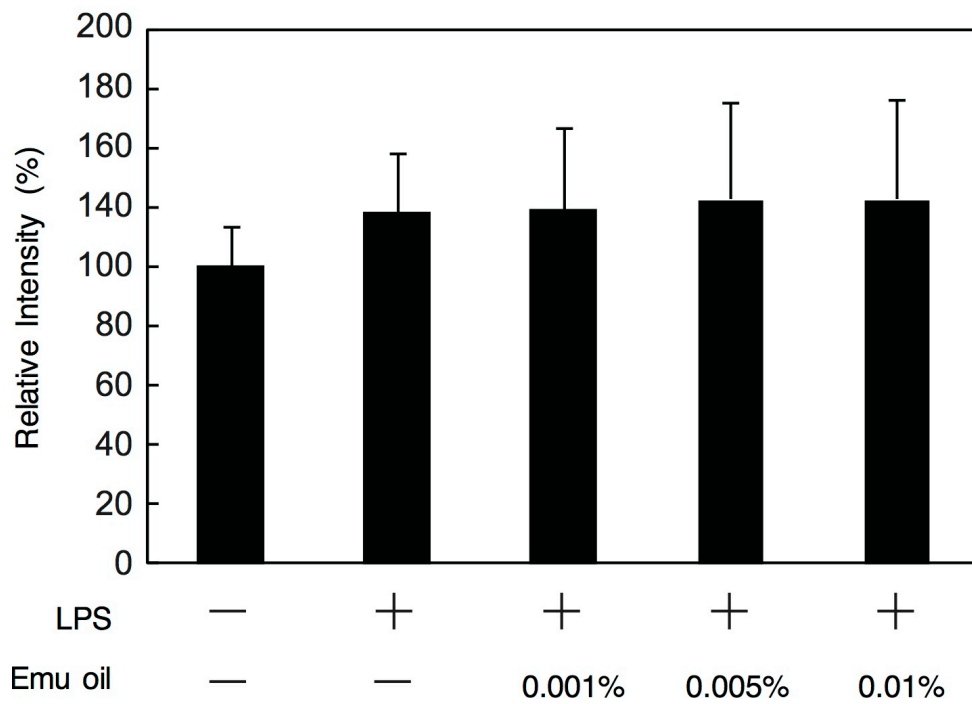


Fig. 1. Effect of the emu oil on the phagocytotic capacity of the macrophage RAW246. The values were expressed as the mean with error bar indicating standard deviation (n=12-14).

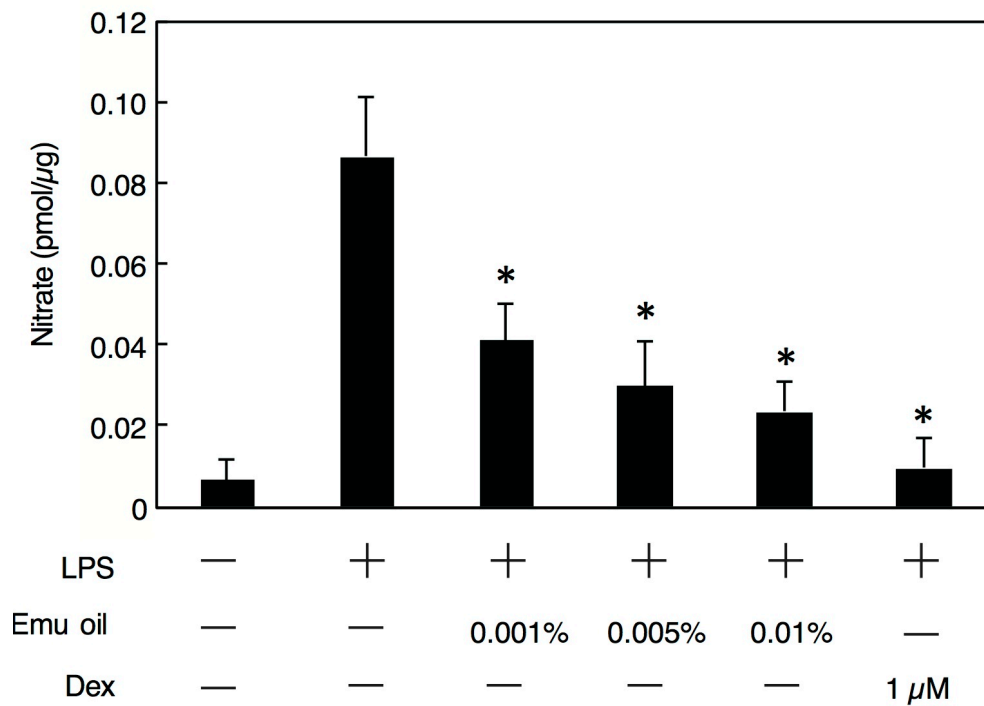


Fig. 2. Effect of emu oil on the NO production of RAW246 macrophages. The values are expressed as means, with error bars indicating one standard deviation (n=9). Significant differences ( $p < 0.05$ ) compared to the NO production by cells with LPS and without emu oil are indicated by asterisks.



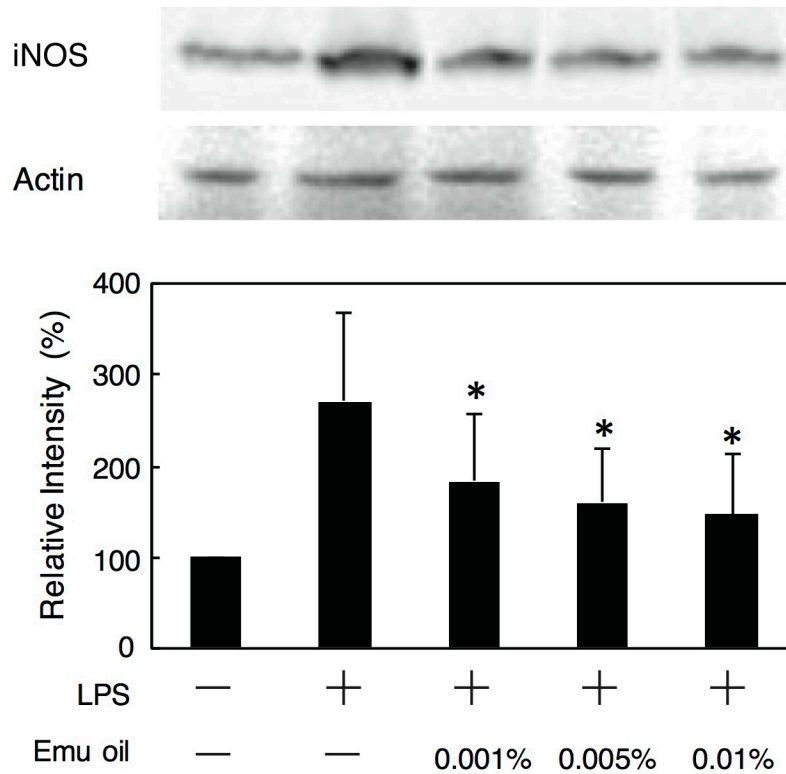


Fig. 3. Effect of emu oil on the iNOS production of RAW246 macrophages. The iNOS produced by the cells was detected by western blotting using the iNOS antibody (upper panels). Staining intensities for iNOS were divided by those for actin, to derive the relative intensity. The values are expressed as means, with error bars indicating one standard deviation ( $n=7$ ). Significant differences ( $p < 0.05$ ) compared to the iNOS production by cells with LPS and without emu oil are indicated by asterisks.

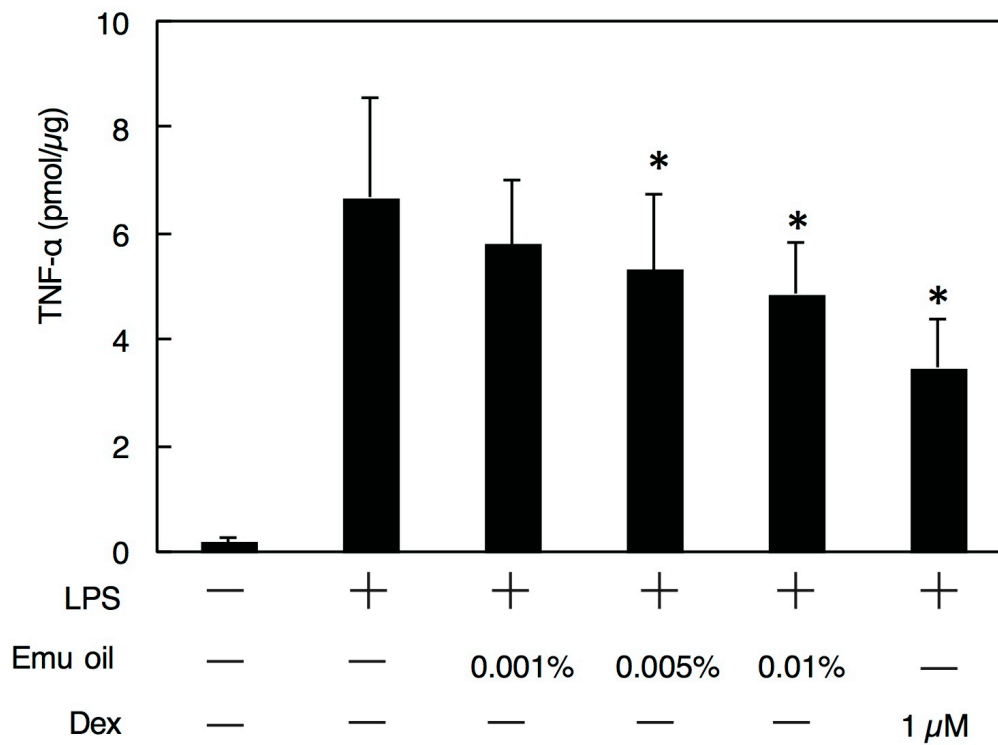


Fig.4. Effect of emu oil on the TNF- $\alpha$  production of RAW246 macrophages. The values are expressed as means, with error bars indicating one standard deviation (n=6). Significant differences ( $p < 0.05$ ) compared to the TNF- $\alpha$  production by cells with LPS and without emu oil are indicated by asterisks.

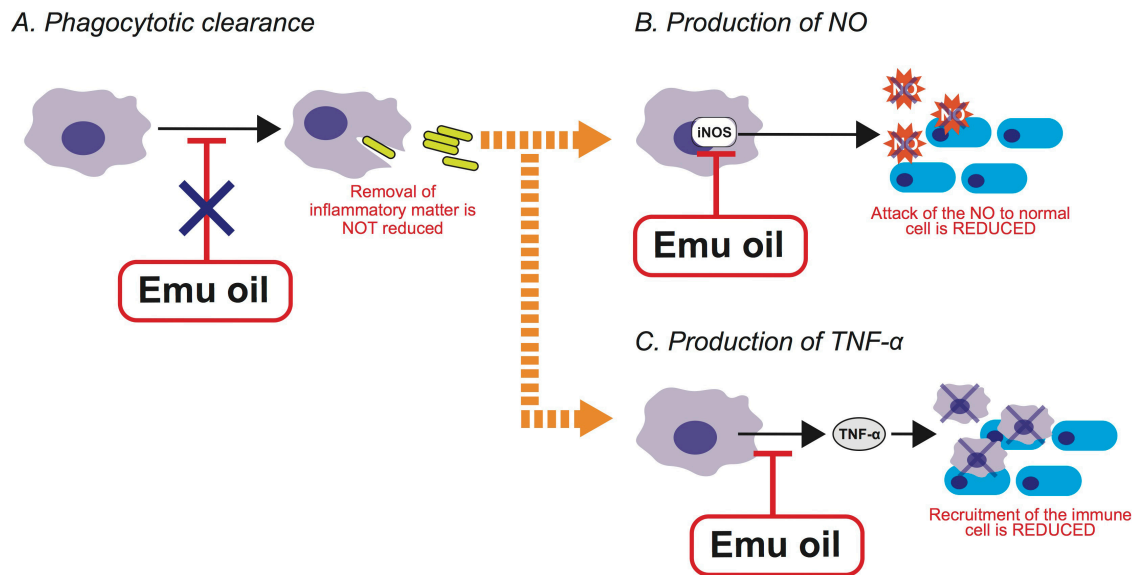
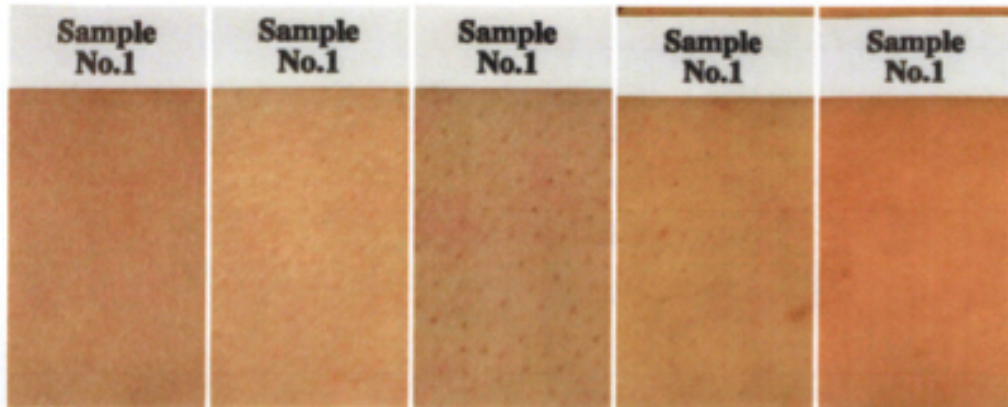
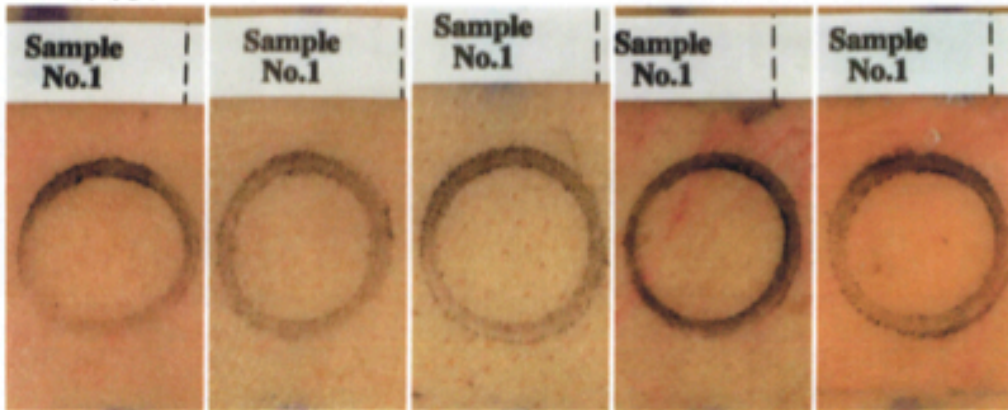


Fig. 5. Schematic summary of the results of this study. A. Emu oil does not affect the phagocytotic clearance of inflammatory matter by macrophages. B. In LPS-induced macrophages, emu oil suppresses iNOS production, which results in reduced NO production. This result indicates that emu oil reduces the attack of normal cells by NO under inflammatory conditions. C. Emu oil suppresses the TNF- $\alpha$  production that plays a role in the recruitment of immune cells, under inflammatory conditions. Over-recruitment of immune cells leads to damaged normal cells.

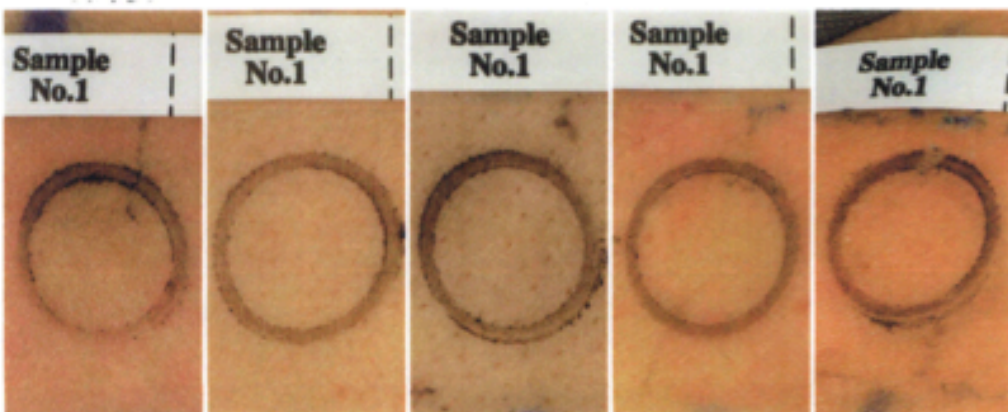
Pre-treatment



24 h



48h



1

2

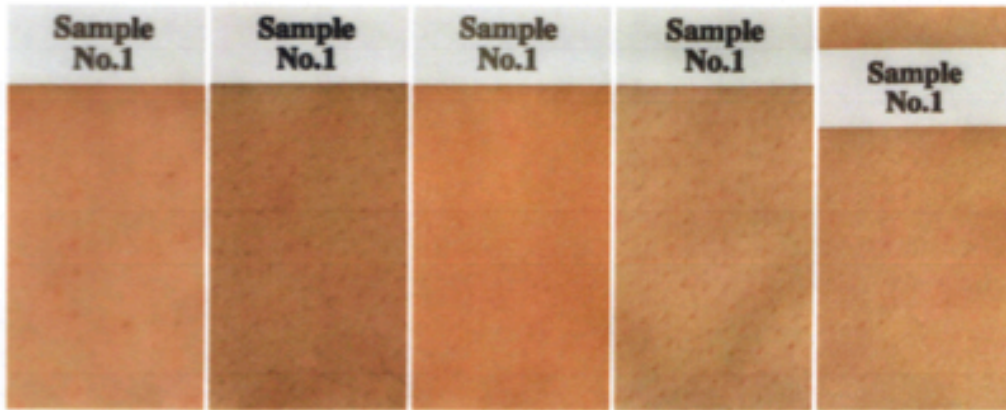
3

4

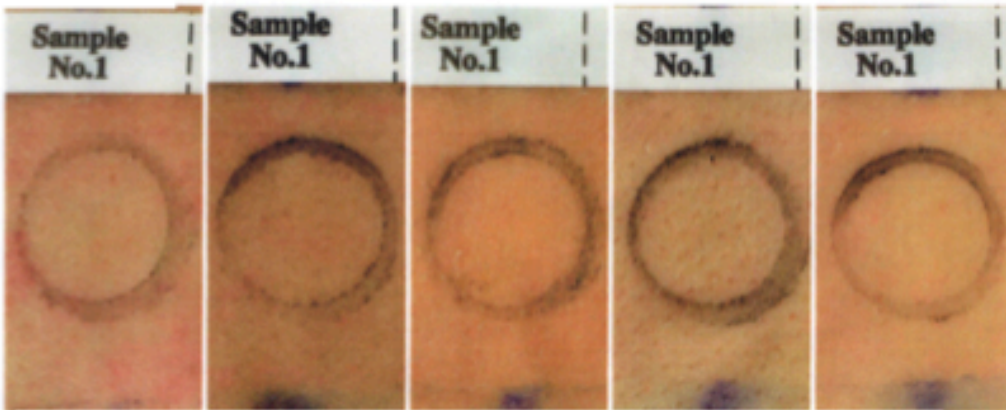
5

Fig. 6. Skin reaction of emu oil-treated subjects (1-5).

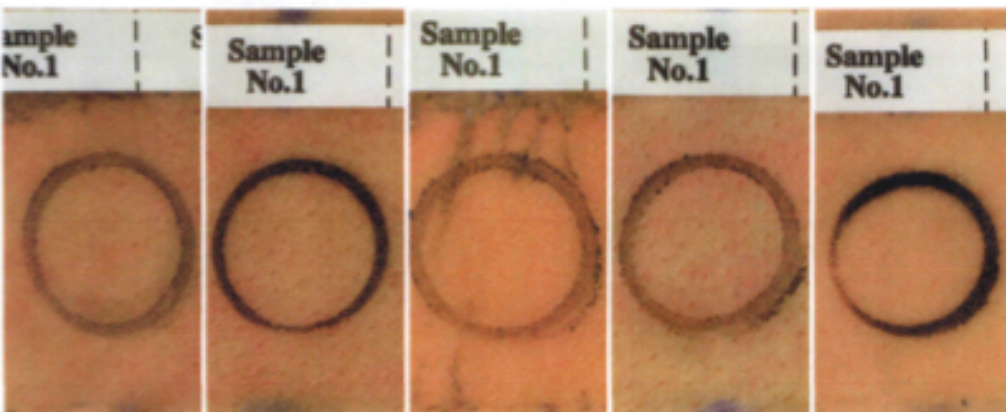
Pre-treatment



24 h



48h



6

7

8

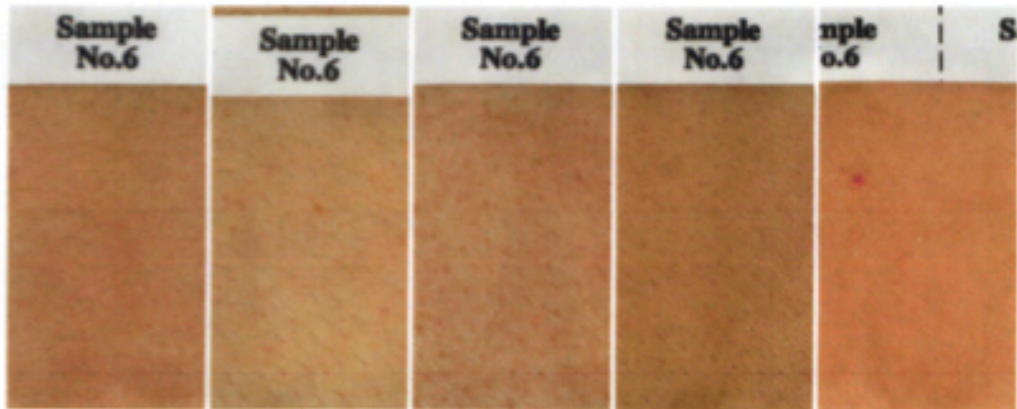
9

10

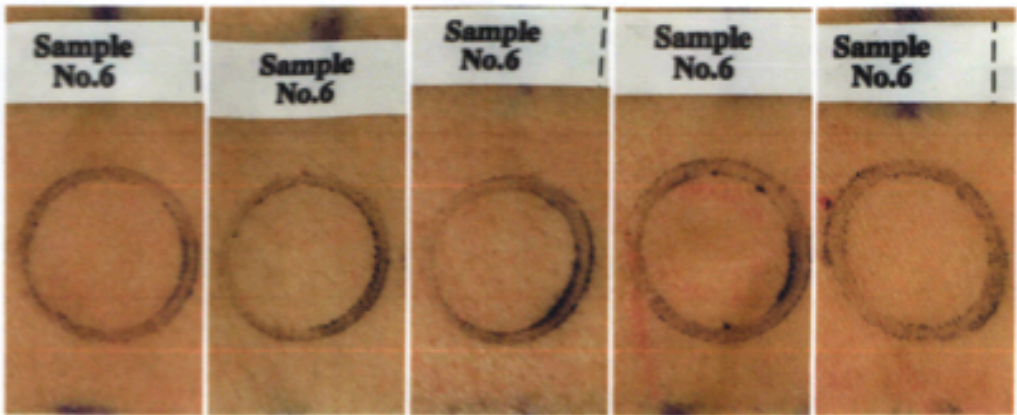
Fig. 7. Skin reaction of emu oil-treated subjects (6-10).



Pre-treatment



24 h



48h

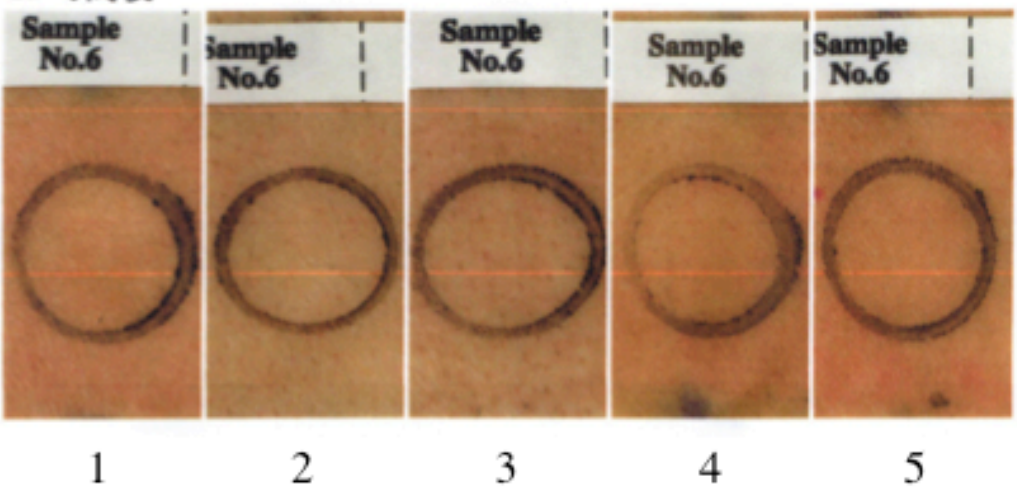
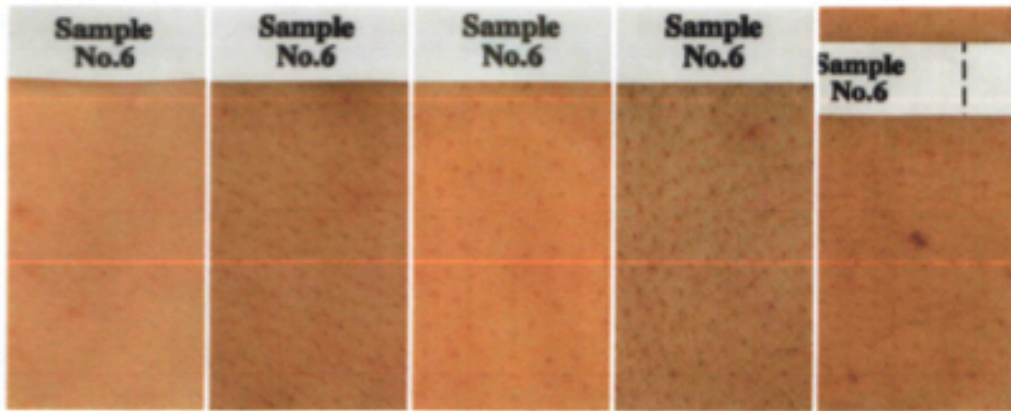
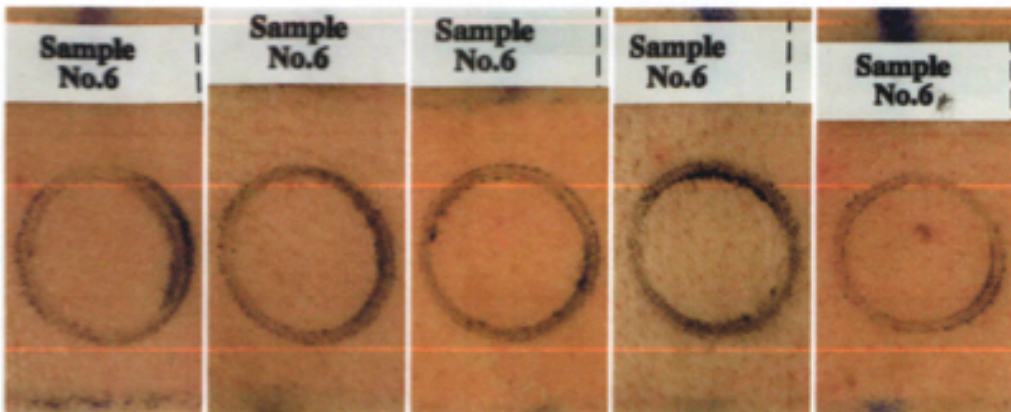


Fig. 8. Skin reaction of white petrolatum-treated subjects (1-5).

Pre-treatment



24 h



48h

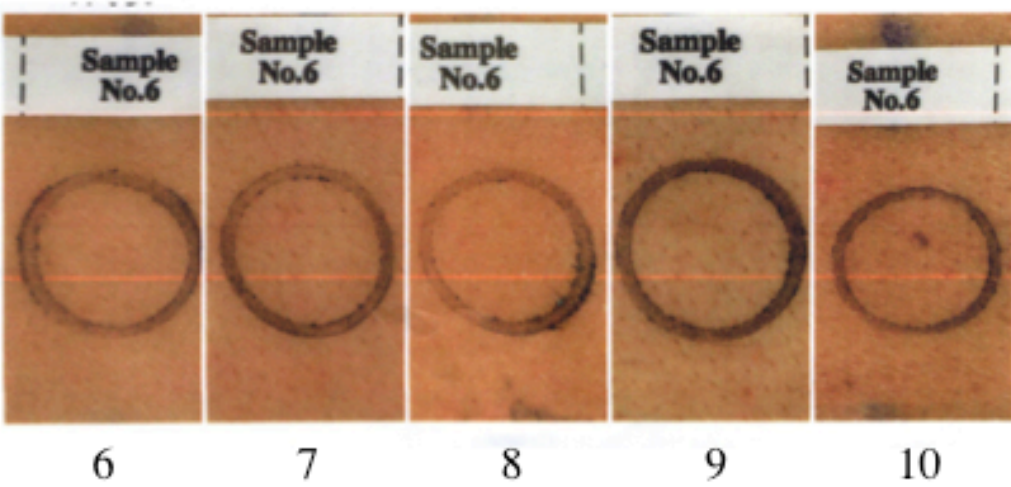
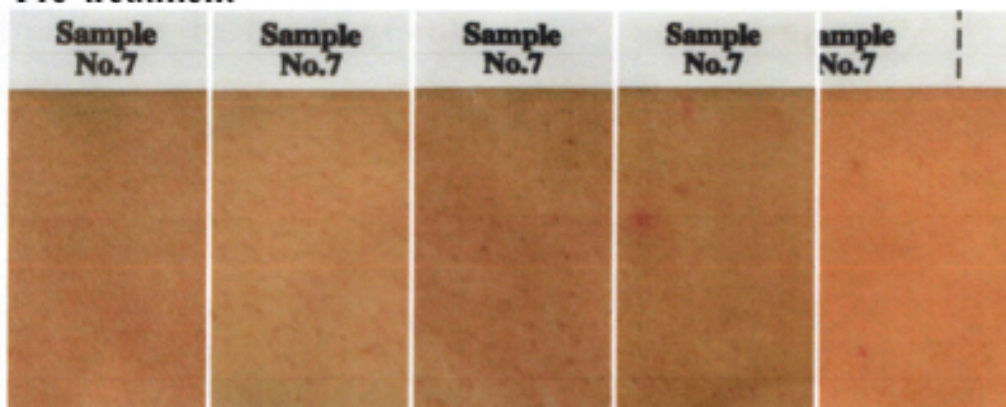
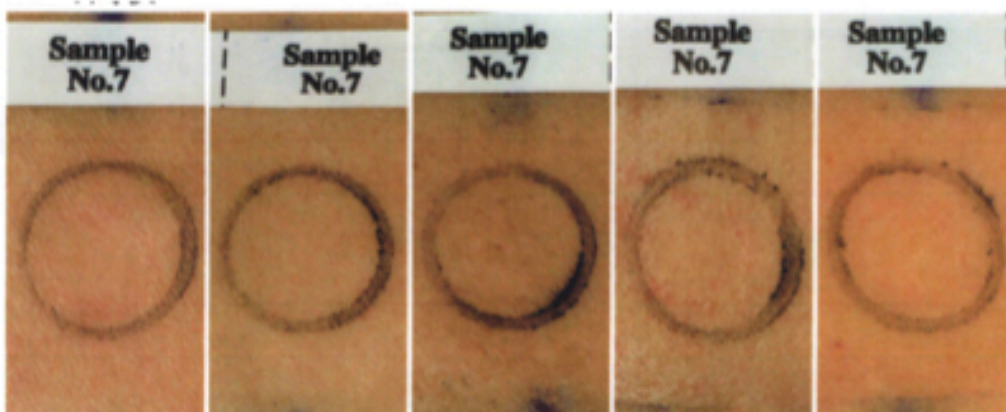


Fig. 9. Skin reaction of white petrolatum-treated subjects (6-10).

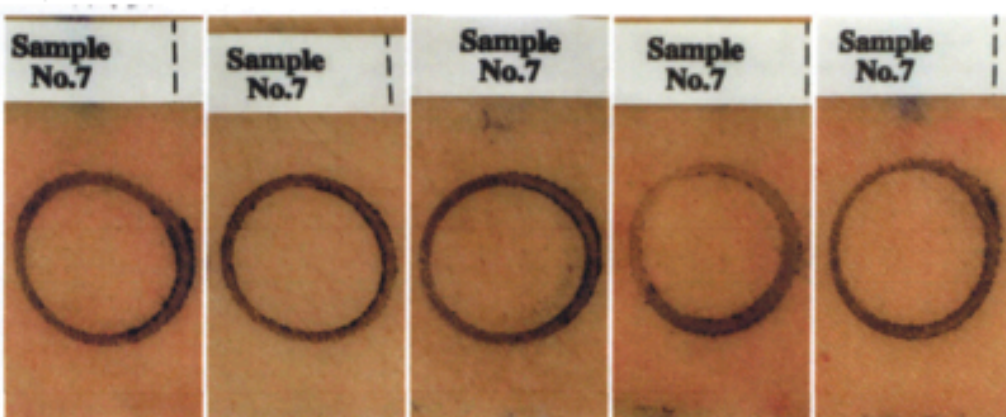
Pre-treatment



24 h



48h



1

2

3

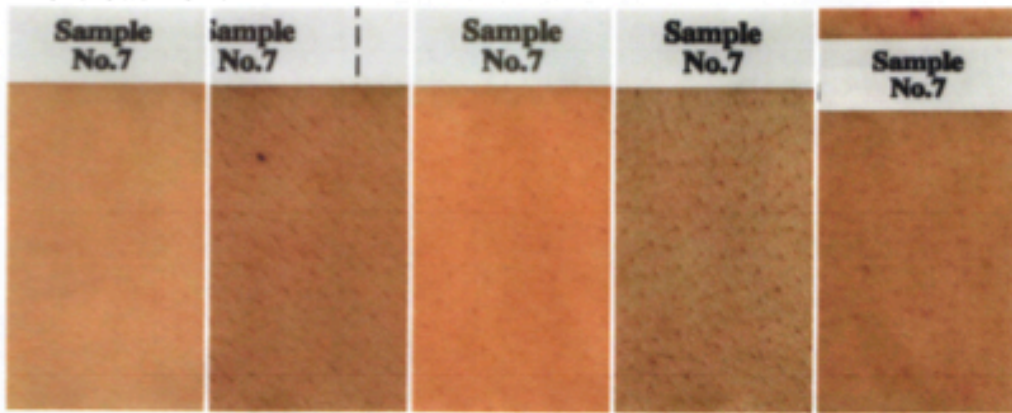
4

5

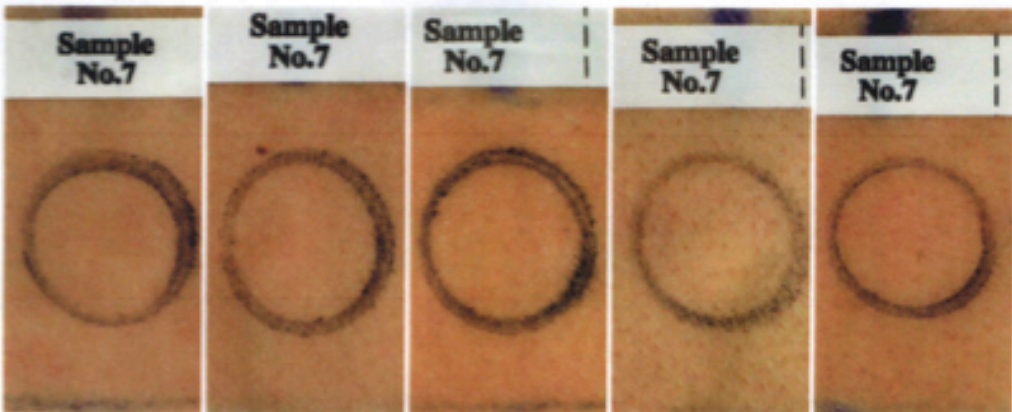
Fig. 10. Skin reaction of physiological saline-treated subjects (1-5).



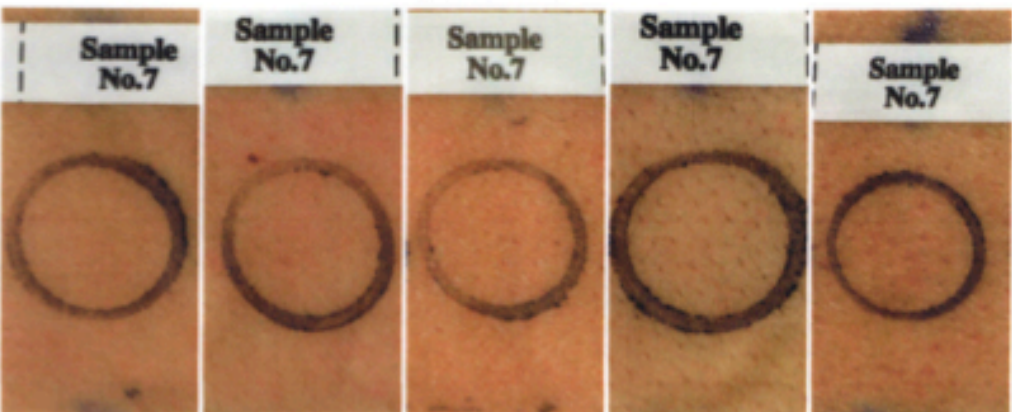
Pre-treatment



24 h



48h



6

7

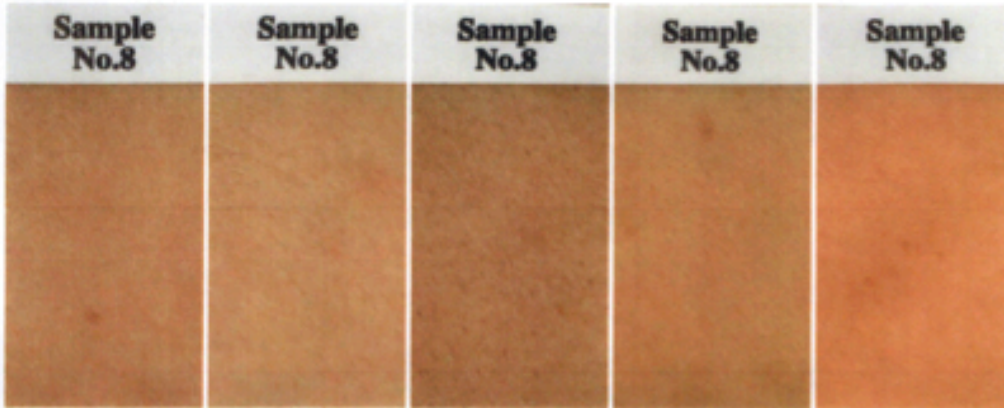
8

9

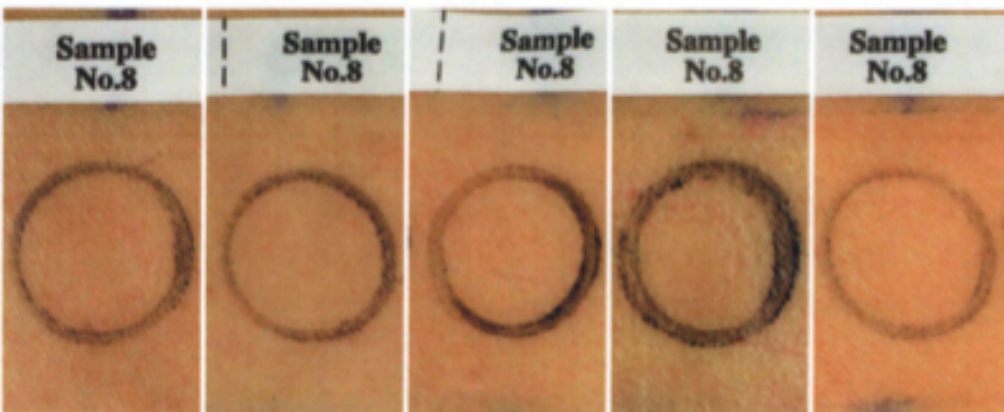
10

Fig. 11. Skin reaction of physiological saline-treated subjects (6-10).

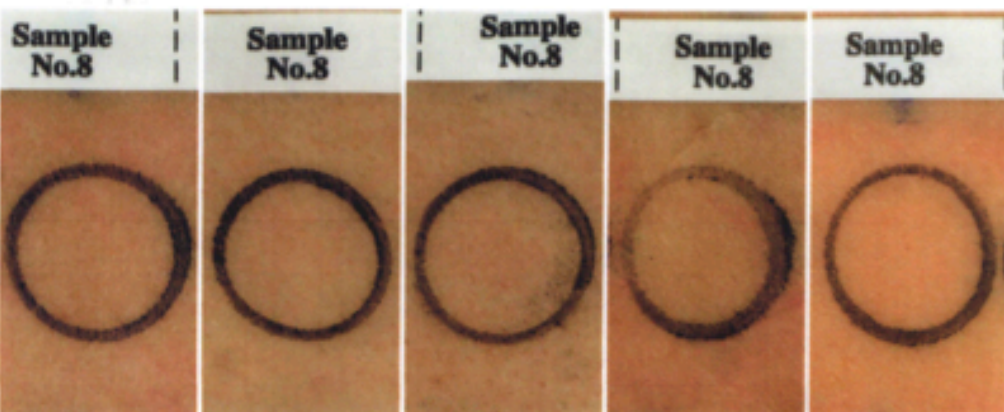
Pre-treatment



24 h



48h



1

2

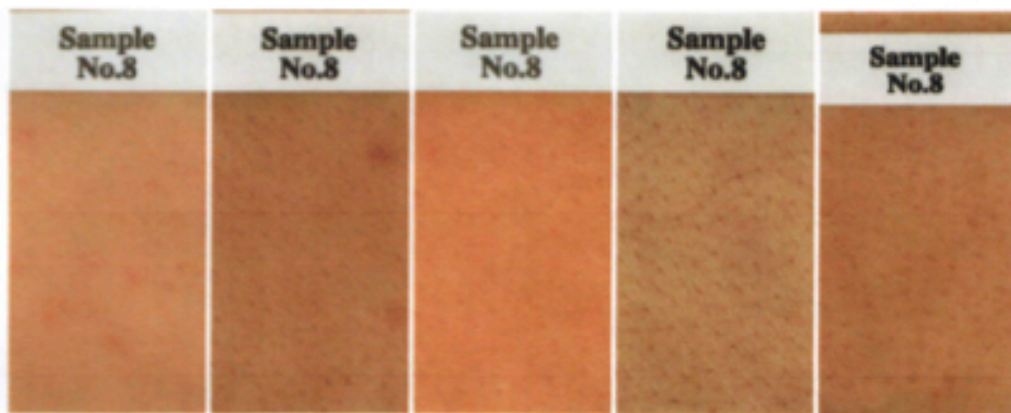
3

4

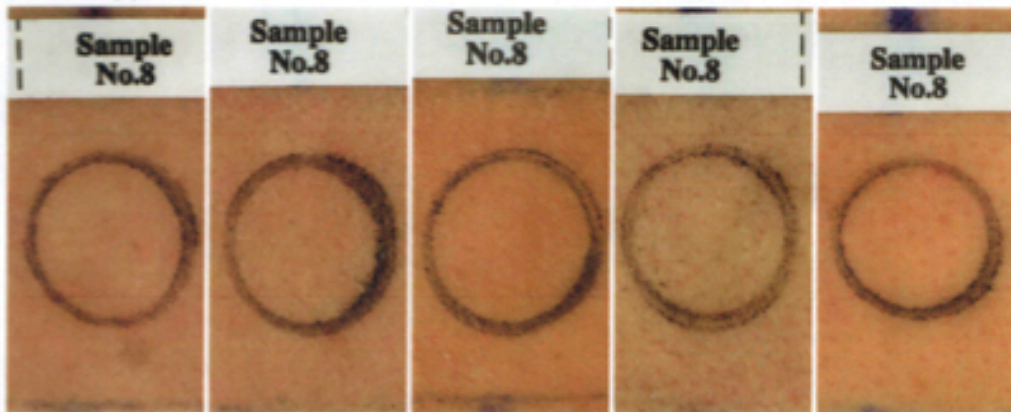
5

Fig. 12. Skin reaction of distilled water-treated subjects (1-5).

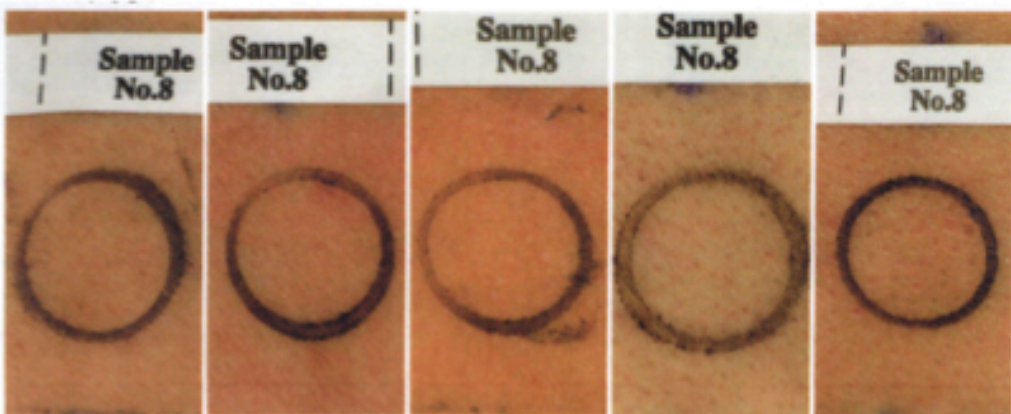
Pre-treatment



24 h



48h



6

7

8

9

10

Fig. 13. Skin reaction of distilled water-treated subjects (6-10).

Table 1. Results of skin sensitization test. The reaction of the skin was observed at 1 and 24 h after removal of the sample tape. Times were expressed as 24 and 48 h for the observation at 1 and 24 h after the tape removal, respectively.

Samples	Emu oil		White petrolatum		Physiological saline		Distilled water for injection	
	24	48	24	48	24	48	24	48
Readings								
hours								
—	20	20	20	20	20	20	20	20
±	0	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0	0	0	0
++	0	0	0	0	0	0	0	0
+++	0	0	0	0	0	0	0	0

## 第 6 章

### 官能評価におけるイメージ展開技法の開発



## 1. 緒言

これまでに本論文では、生物資源の機能性と安全性を実証することが有効な生物資源の利活用に必須であることを述べてきた。一方、第1章で論じたように、実際の市場においては、実験により得られるデータのみでなく、消費者の感性に適合する商品を開発することが重要である。しかし、五感に依存する感性を定量的に示すことは困難であり、その方法論は確立されていない(西崎ら、2016)。そこで本章では、食品や香粧品のいずれにも必要な香りについて、一般消費者の感性を定量化し、製品開発にとりいれる方法の開発を試みた。

現在行なわれている一般的な創香方法としては、1)ある人物・風景・言語等異質のイメージからクリエイトする。2)既存香水等の香りからヒントを得てクリエイトする。3)ある香りの一部分を置換することによってより新しさを得る。4)天然香料やニューケミカル等の新しい香料の素材を生かしてクリエイトする。などの方法が考えられる。これらどの方法においても調香師の独創的イメージが香りに反映されているが、特に1)の方法は最も独創性が需要で難しい創香方法とされている。この原因として、2)、3)、4)の方法では具体的な香りを用いてイメージを創り上げていくことが可能なのに対し、1)の方法は、イメージ自体を描くことの困難さもあるが、さらに描いたイメージをどのように表現するか、またその表現をいかに香りに反映させるかが明確にされていないためであると考えられる(鈴木ら、2013)。

そこで筆者は、香りの表現方法、伝達方法に着目し、描かれたイメージをどのように具体的な香りを表現する用語(専門用語)にまで展開していくか、その方法の開発を試みた。本研究では、官能用語を専門用語に展開するために従来の調香師の固有技術に頼る方法ではなく、イメージが一般的な用語でどのように表現されるかを被験者のアンケートに基づいて調査した。そしてそれに統計

的処理をほどこして官能用語と専門用語の客観的な対応データを作製する技術変換を行ない、あるイメージをもとに、実際の香りを創るための方法を開発した。

## 2. 方法

### 2.1 イメージコンセプトの確立と展開の流れ

イメージから出発して創香する場合には、イメージのコンセプトを決定することが重要であり、これには人から言語・絵・写真などによって与えられる場合と、自分が描いたイメージを言語や写真によって表現し確立を計る場合がある。本研究では、“ヤング・ユニセックス・すがすがしさ”を最初の言語イメージとした。また、視覚イメージとして Fig. 1 の写真を採用した。

これらのイメージから、Table 1 に示す流れでイメージを展開した。展開を実行するパネラーは、商品企画を担当する男女 5 人とした(展開パネラー)。官能用語の選定は文献、雑誌、パンフレットなどから 293 語を選び、KJ 法で 24 グループに分類したのち、33 用語を設定した。専門用語は、5 名の調香師パネラー(調香パネラー)により香料分類用語から 17 語を選抜した。これらの専門用語にはそれぞれに対応した単品香料が存在する。官能用語と専門用語の対応実験の方法は 2.4 節に記述した。

### 2.2 イメージの展開

#### 2.2.1 アナロジー用語への展開(1 次展開)

選定したイメージコンセプトをアナロジー用語へ展開した。アナロジー用語の定義は、“ある刺激やコンセプトに対し、人間が環境の中で具体的に遭遇して

きた自然界や固有のあらゆる事象に反応する言葉”とした。パネルラーがイメージコンセプトから類推される言葉を列挙した。

#### 2.2.2 イメージ用語への展開(2次展開)

展開パネルラーにより選定されたアナロジー用語を、さらにイメージ用語に結びつけて展開した。ここでイメージ用語とは香りを創るうえではまだ間接的な表現用語で、“アナロジーとして出現した固有の具体的代用特性に対し、それはどのように感じるかを言語で表現したもの”とした。

#### 2.2.3 官能用語への展開(3次展開)

展開パネルラーにより、イメージ用語を官能用語に展開した。ここで官能用語とは、“香りを表現するにあたって適切な言葉”であり、この言葉を用いれば、香りの特徴やタイプの表現が可能である。官能用語は文献・雑誌・パンフレット・市場調査のフリーアンサー等から293項目を収集した。これをJK法により24グループに分け、各グループの代表用語の香りを表現するのに適切かどうかを一般パネルラーに調査した結果をもとに33項目を選定した。このようにして選んだ官能用語をTable 2に示した。

#### 2.2.4 官能用語と専門用語の対応実験と専門用語への展開(4次展開)

3次展開までで選定された官能用語を、専門用語へ技術変換した。この技術変換は、従来は調香師の固有技術にゆだねられていたが、本研究では、以下に示す官能用語と専門用語の対応実験で得られた結果に統計的処理を施したデータを用いて、官能用語から専門用語に客観性をもって技術変換を行なった。



本研究では、官能用語と専門用語を対応させるために、100種類の香料について官能用語と専門用語で評価してその対応を調べた。専門用語は日常パフューマー間で使用しているものと専門誌等から収集し、世界各香料会社の分類用語を参照しながら、調香師パネラー5人によって17の用語を選定した。このようにして選んだ専門用語をTable 3に示した。今回の実験では、官能用語の1から19までは両軸、20から33までは単軸、専門用語はすべて単軸とした。

香りを評価するために、各香料のサンプルを一定量匂い紙にとりTable 4に示す評価用紙を用いて、香料を表現する用語で評価した。評価は7段階のS.D法(市原ら、2009)を用いて官能用語と専門用語の計50項目について行なった。

#### 2.2.5 イメージを表現する香りの製作とその評価

イメージコンセプトを展開して導かれたタイプの香りを実際に調合し、その香りが元のイメージをどの程度表現しているのか一般パネラー141名を対象に検証した。

評価用紙(Table 4)で得られたそれぞれの言葉に対する評価を点数化し、そのプロフィールを目標値とした。言語イメージから導かれた「グリーンシトラス」タイプの香りは、「さわやかな・軽い・自然な」に重点を置いて目標値を設定した。具体的には「さわやかな」の目標は、Table 4の単軸尺度の「どちらともいえない」を0とし、「感じる(2)」と「非常に感じる(3)」の中間の2.5に設定した。そして、展開された結果から得られた数値に基づいて香りを調合した。調合した香り一般パネラーに嗅いでもらい、そのイメージをTable 4の評価用紙で評価してもらった。得られた官能値がどの程度目標値に近づいているか、また官能用語

間のバランスは保たれているかどうかを検証した。1回目の評価の後、調香パネルの固有技術で香りを修正してもらい、さらに2回目の評価を行った。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 イメージコンセプトから官能用語への展開

本研究では、イメージコンセプトとして、実際に企業における企画部門からのイメージの提示方法としてよく用いられる「言語イメージ」と「視覚イメージ」を取り上げた。言語イメージとして「ヤング・ユニセックス・すがすがしさ」という3つの言葉を、視覚イメージとしては、Fig. 1 に示す写真について展開を試みた。これらのイメージを専門用語にまで展開した結果を Table 5 に示した。

「ヤング・ユニセックス・すがすがしさ」という言語イメージを1次展開すると、そよ風、水辺、新芽などのアナロジー用語が得られた。これを2次展開すると、「涼しい、いきいきした、朝のような」などのイメージ用語で表現された。これをさらに3次展開すると、「さわやかな、躍動的な、清潔感のある」などの9項目の官能用語が得られた。同様の方法で視覚イメージとして Fig.1 の写真からイメージ展開を行なったところ、3次展開までで、「深みのある、アダルト的、ロマンティックな」などの9項目の官能用語にまで展開された。

官能用語から専門用語への対応実験の結果を Table 6 に示した。縦軸にサンプル 100 品、横軸に官能用語 33、専門用語 17 項目をとり、数値はパネル 10 名の合計点を示している。以後、調香パネルの 5 人の評価の平均点で検討した。官能用語を目的変数  $Y$  とし、1つの官能用語を 17 項目の専門用語  $X_i$  で説明するためには、各々の説明変数が独立していることが望ましい。そこで専門用語間の相関関係を計算した (Table 7)。グリーンという言葉を含む 3 項目を除

いて他の項目同士は係数値が小さく、おのおの独立と見る事ができると考えられた。

つぎに重回帰分析を試みた。重回帰分析は一般的に

$$Y=l_1x_1+l_2x_2+\dots+l_kx_k+\dots+l_nx_n \quad \dots \textcircled{1}$$

と表わされ、k は専門用語の項目番号で n=17 である。①式で各 x が標準化されている場合の重みは、その標準偏回帰係数 1 個の大きさで表される。例えば、「さわやかな」という官能項目の l 値は、 $l_1$ (シトラス)=5.9、 $l_2$ (ハーバルグリーン)=0.27、 $\dots$ 、 $l_{10}$ (フローラルフレッシュ)=2.4、 $l_{11}$ (ミントイ)=3.4、 $\dots$ 、 $l_{17}$ (バルサミック)=1.2 となる。ここで l 値の大きいものに注目し、

◎ :  $l \geq 4.0$

○ :  $4.0 > l \geq 2.5$

△ :  $2.5 > l \geq 1.5$

とすると、シトラスに◎、フローラルフレッシュに△、ミントイに○がつくことになる。同様の方法をすべての官能用語に適用し、ある官能用語を感じるのに重要な意味を持つ専門用語をマトリックス表示したものを Table 8 に示した。ここでは、1つの官能項目が反対語関係にある2つの官能用語から成っていることを考慮し、結果的には l 値の正負で対応された 33 項目の 2 倍の 66 の官能用語についての情報が得られた。

このようにして導かれたデータを、今まで言語イメージと視覚イメージから展開してきた各 9 個の官能用語についてあてはめた結果を、それぞれ Table 9 と Table 10 に示した。Table 9 の、言語イメージから展開された用語に注目してマトリックス表を各専門用語について縦に見てみると、例えば「シトラス」では「さわやかな・躍動的な・明るい・自然な・清潔感のある」の 5 項目に◎、「軽い・淡

白な」の2項目に△がついている。ここで◎, ○, △にそれぞれ3, 2, 1点を与えると、合計17点となる。このような計算を専門用語17項目に適用すると、Table 9の上部のヒストグラムが得られた。このヒストグラムから、「ヤング・ユニセックス・すがすがしさ」という言語イメージを表現するには、シトラスを主体とし、グリーンとミンティを少し加えれば良いこと、すなわち香りのタイプとしては「グリーンシトラス」に近づければ良いと考えられた。一方、Table 10に示す視覚イメージからは、前者とは全く異なった形のヒストグラムが得られ、フローラルスイートを主体としアルデハイドとグリーンを特徴にもち、ウッディ・パウダリィ、アニマルでふくらみをもたせた「シプレがかったアルデハイドグリーンフローラル」という香りが導かれた。以上のように、あるイメージコンセプトから出発し4次展開まで行なうことにより、感覚的なイメージを具体的な香りのタイプに変換することができた。

本研究で導かれたタイプの香りを実際に調合し、その香りが元のイメージをどの程度表現しているのかを検証調査を行なった。一般パネラー141名に、調合した香りをTable 3に示す評価シートで評価してもらった(1回目)。その結果をTable 11に示した。表の右端は目標値のプロファイルを示しており、官能用語による評価が目標値のプロファイルに近いほど、調合された香りが最初のイメージをよく再現していることになる。

調査の結果、言語イメージを再現した香りの評価は、“さわやかな”は $x=2.42$ であり、これは目標値の97%に達していた。“自然な”は目標値2に対し調査結果は $x=1.16$ で達成率は73%、“軽い”は目標値2に対し $x=1.4$ で、達成率は71%であった。一方、“丸みのある”はこのように感じる方向に0.5の目標値をおいたが、調査結果は $x=-0.26$ となり、これは感じない方向に受け止められていると考えられた。そこで、この香りにパフューマーの固有技術を用い修正を加えた

香りを用いて2回目の調査を行った。その結果、評価は目標値に近づき、言語イメージを香りによく再現することができた。

視覚イメージから出発した「シプレがかったアルデハイドグリーンフローラル」タイプの香りは、“静的”と“女性的な”にポイントを置き目標値を設定したところ、Table 12 に示すような結果を得た。Table 10 の ヒストグラムに基づいて調査した香りは、第1回調査では“女性的な”が103%とやや強調されすぎていた。一方、他の項目は、バランスはとれているが目標値より値が低かった。これらの結果を修正した香りを用いて第2回調査を行ったところ、結果はより目標値に近づいたが、言語イメージの結果に比べるとその達成度は低かった。これは、イメージが複雑で香りの作製が難しかったためであると考えられる。

食品や化粧品を開発して販売するにあたっては、消費者の感性を考慮に入れることが重要であるということは再三指摘されている(相良, 2009, 菅沼, 2011, 山下, 2013)。しかし、消費者が五感で感じている主観的な感性は非常にあいまいなものであり、それを定量化することが大変困難であることは心理学の分野で以前から指摘されている(Hershら, 1976)。しかし生物資源を有効活用し、健康に貢献する製品を開発するためにはこの課題を解決することは必須であり、そのためには化学、生物学、心理学や感性工学など、様々な学問を融合した総合的な研究が必要である。今回の研究により、あるイメージコンセプトをアナロジー用語、イメージ用語、官能用語へと展開し、さらに専門用語へ4次展開まで行なうことで、具体的な香りが作製できることがわかった。さらにその香りに対して、一般者と専門家の描くイメージがかなり一致していることが、検証調査により裏付けられた。このことは、一連の展開方法を用いることにより、商品のイメージの統一化が計られ、研究者間での意思の疎通、および宣伝・起用モデル・ネーミング等において、企画側から消費者まで1つのコンセプトが客観的に共有できることを示唆している。このことから、本研究で開発した展

開方法, はヒトの五感を考慮にいれた製品開発に非常に有用な知見であると  
考えられる。



Fig. 1. 視覚イメージとして用いた写真.

Table 1. 実験方法の概要

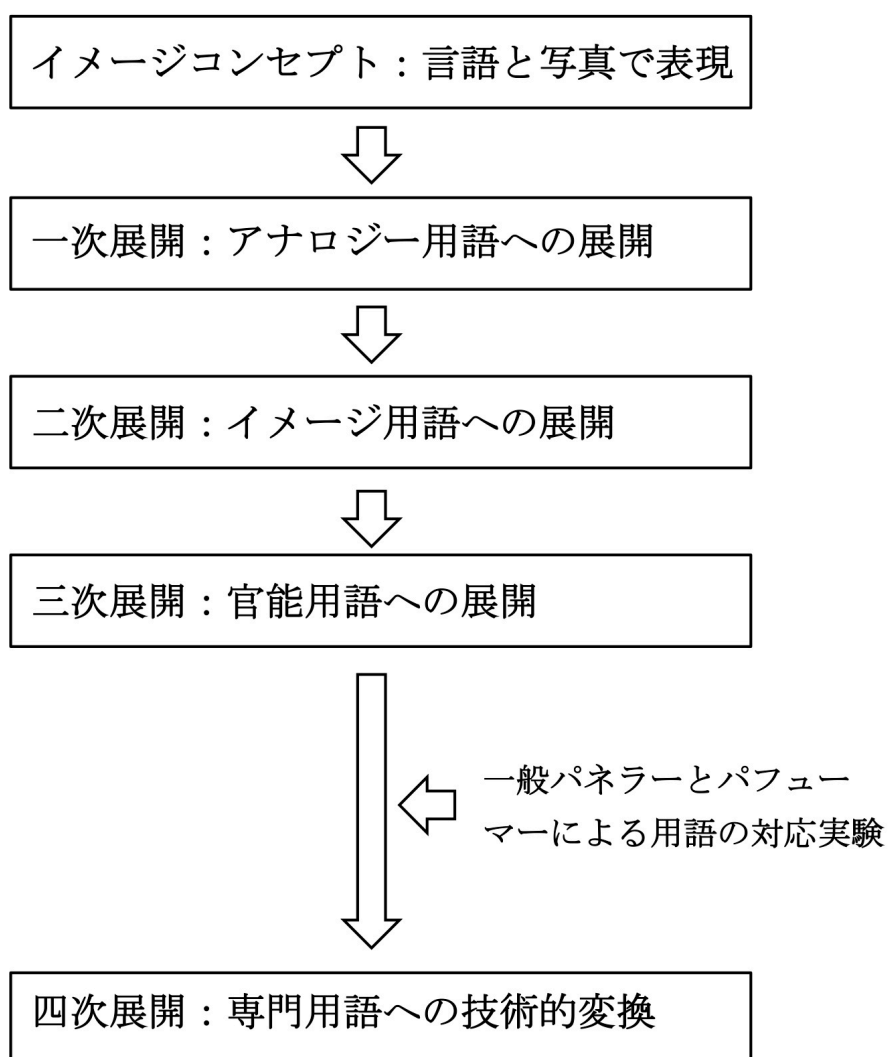




Table 2. 官能用語

---

1.	自然な-人工的な
2.	表面的な-深みのある
3.	甘い-にがい・からい
4.	ヤング的-アダルト的
5.	シンプルな-複雑な
6.	重い-軽い
7.	幻想的な-現実的な
8.	斬新な-ありふれた
9.	丸みのある-シャープな
10.	素朴な-華やかな
11.	個性的な-平凡な
12.	男性的な-女性的な
13.	繊細な-粗野な
14.	明るい-暗い
15.	躍動的な-静的な
16.	濃厚な-淡泊な
17.	ソフトな-固い
18.	暖かい-冷たい
19.	好き-嫌い
20.	さわやかな
21.	オイリー・ワクシーな
22.	拡がりのある
23.	力強い
24.	ケミカルな
25.	印象的な
26.	親しみやすい
27.	セクシーな
28.	メディカルな
29.	石けんのような
30.	清潔感のある
31.	高級な
32.	洗練された感じの
33.	ロマンティックな

---

Table 3. 専門用語

---

1.	シトラス
2.	ハーバルグリーン
3.	バルサミックグリーン
4.	アロマティックグリーン
5.	アルデハイディック
6.	フルーティ
7.	スパイシイ (オイゲノール調)
8.	スパイシイ (その他)
9.	フローラルスイート
10.	フローラルフレッシュ
11.	ミンティ
12.	パウダリイ
13.	モッシイ
14.	レザリイ
15.	アニマル
16.	ウッディ
17.	バルサミック (スイートレジン)

---

Table 4. 評価用紙

各々のサンプルの香りをみて、次に掲げる項目について、あなたの評価をお聞かせ下さい。該当するところの点数をそれぞれの  に記入して下さい

サンプル番号	7	6	5	4	3	2	1	氏名
(○○←)	非常に○○だ	○	やや○	どちらともいえない	やや×	×	非常に××だ	(→××)
(1) 自然な	_____						人工的な	<input type="text"/>
(2) 表面的な	_____						深みのある	<input type="text"/>
(感じる←)	非常に感じる	感じる	やや感じる	どちらともいえない	あまり感じない	感じない	全く感じない	(→感じない)
(20) さわやかな	_____						<input type="text"/>	
(50) パルサミック (スイートレジン)	_____						<input type="text"/>	

Table 5. イメージ展開の結果.

イメージ展開  イメージ コンセプト	1次展開 (アナロジー用語)	2次展開 (イメージ用語)	3次展開 (官能用語)	4次展開 (専門用語)																
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
				シトラス	ハーバルグリーン	バルサミックグリーン	アロマティックグリーン	アルデハイディック	フルーティ	スパイシイ (オイゲノール調)	スパイシイ (その他)	フローラルスイート	フローラルフレッシュ	ミンティ	パウダリイ	モツシイ	レザリイ	アニマル	ウツディ	バルサミック (スイートレジン)
言語イメージ ヤング ユニセックス すがすがしさ	そよ風, 水辺, 湖畔	涼しい	さわやかな	39	◎								△	○						
	新芽, 新緑, スポーツ	いきいきした	躍動的な	29	◎					△		△								
	朝もや, 朝日, 早起き	朝のような	明るい	27	◎	△			△		△	△								
	小川, せせらぎ	澄んだ	軽い	12	△				△			△								
	自然, 森林, 山頂	雄大な	自然な	1	◎	◎	○										△	△		
	こもれ日, 初夏	おだやかな	丸みのある	17							○		△				△	△		
	初恋, 朝顔, レモン	純粋な	素朴な	19		○												△		
	谷間にさくスズラン, クリスタル	さっぱりした	淡白な	22	△							△								
	新雪, 新しい畳	フレッシュな	清涼感のある	59	◎						△	△	◎	△						
	視覚イメージ 写真参照 (Fig. 1)	日本的, 内面的に充実した	充実感のある	深みのある	4			○				○		△			△	△		
大人の女性, 知的な		成熟した	アダルト的	8			△				○		△		○	△				
しとやかな, おっとりした		静かな	静的な	30							○					○				
古典的, 伝統を重んじる		古風な	印象的な	49			△	△				△				○				
きりっとした, 上品な		気品のある	高級な	61	○		△				◎		○			○	○			
清楚な, 洗練された		洗練された	洗練された感じの	63	◎	○			△		◎		○			△	○			
余裕のある, やさしい		ふくらみのある	華やかな	20			△	△			◎									
内に秘めた情熱		女らしい	女性的な	24	△						◎		◎				△			
あこがれの		夢のある	ロマンティックな	65		△	△		○	△	△			△						

Table 6. 官能用語から専門用語への対応実験の結果(一部抜粋).

評価項目 サンプルN。	官能用語						専門用語					
	1 自然な   人工的な	2 表面的な   深みのある	3 甘い   にがい・からい	...i...	32 洗練された感じの	33 ロマンティックな	1 シトラス	2 ハーバルグリーン	3 バルサミックグリーン	...k...	16 ウツデイ	17 バルサミック (スイートレジン)
1	61	53	41	.....	36	35	70	44	15	.....	23	12
2	55	38	29	.....	38	30	45	65	34	.....	21	15
3	53	26	48	.....	36	37	14	23	35	.....	24	36
⋮ ⋮ j ⋮	$y_{j1}$	$y_{j2}$	$y_{j3}$	$y_{ji}$	$y_{j32}$	$y_{j33}$	$x_{j1}$	$x_{j2}$	$x_{j3}$		$x_{j16}$	$x_{j17}$
98	53	28	56	.....	39	45	21	23	24	.....	14	25
99	35	44	48	.....	20	24	15	12	15	.....	21	21
100	41	45	29		28	25	31	19	16	.....	17	11

Table 7. 専門用語間の相関関係.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
シトラス	ハーバルグリーン	バルサミックグリーン	アロマティックグリーン	アルデハイデック	フルーティ	スパイシイ (オイゲノール調)	スパイシイ (その他)	フローラルスイート	フローラルフレッシュ	ミンティ	パウダリイ	モツシイ	レザリイ	アニマル	ウツデイ	バルサミック (スイートレジン)	
	0.50	0.08	0.43	0.47	0.26	-0.19	-0.01	-0.11	0.47	0.21	-0.49	-0.27	-0.40	-0.38	-0.33	-0.44	1
		0.65	0.81	0.37	-0.04	-0.04	0.13	0.06	0.48	0.06	-0.34	0.10	-0.19	-0.33	-0.21	-0.23	2
			0.43	0.08	-0.05	0.18	0.25	0.21	0.21	0.03	-0.04	0.51	0.15	-0.03	0.03	0.26	3
				0.38	0.01	-0.18	0.05	-0.06	0.44	0.12	-0.48	0.15	0.38	-0.37	-0.37	-0.34	4
					0.20	-0.18	-0.17	0.02	0.15	-0.16	-0.34	-0.12	-0.23	-0.25	-0.29	-0.26	5
						-0.16	-0.09	0.31	0.18	0.00	-0.26	-0.23	-0.22	-0.19	-0.33	-0.01	6
							0.50	0.17	0.07	-0.03	-0.26	0.31	0.43	0.07	0.23	0.27	7
								0.12	0.11	0.39	0.06	0.23	0.28	-0.14	0.10	0.11	8
									0.53	-0.18	0.09	0.02	0.04	-0.01	-0.18	0.21	9
										0.05	-0.34	-0.24	-0.33	-0.37	-0.38	-0.34	10
											-0.19	-0.17	-0.20	-0.29	-0.25	-0.22	11
												0.43	0.56	0.27	0.53	0.58	12
													0.60	0.38	0.48	0.63	13
														0.43	0.54	0.53	14
															0.14	0.54	15
																0.30	16
																	17

Table 8. 重回帰分析による官能用語と専門用語の相関.

官能用語 \ 専門用語		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
		シトラス	ハーバルグリーン	バルサミックグリーン	アロマティックグリーン	アルデハイデック	フルーティ	スパイシイ(オイゲノール調)	スパイシイ(その他)	フローラルスイート	フローラルフレツシュ	ミンテイ	パウダリイ	モツシイ	レザリイ	アニマル	ウツデイ	バルサミック(スイートレジン)	
1	自然な	◎	◎	○												△		△	
2	人工的な				◎	△					○			○					
3	表面的な				△		△					△							
4	深みのある			○						○			△			△	△		
5	甘い						◎			○			△					◎	
6	にがい・からい		△											△					
61	高級な	○		△						◎			○			○	○		
62	高級でない				△		△		△						△				
63	洗練された感じの	◎	○			△				◎			○			△	○		
64	洗練された感じのない				△		△								○				
65	ロマンティックな		△	△		○		△	△					△					
66	ロマンティックでない	○									○		△						

Table 9. 官能用語から専門用語への技術展開(言語イメージ).

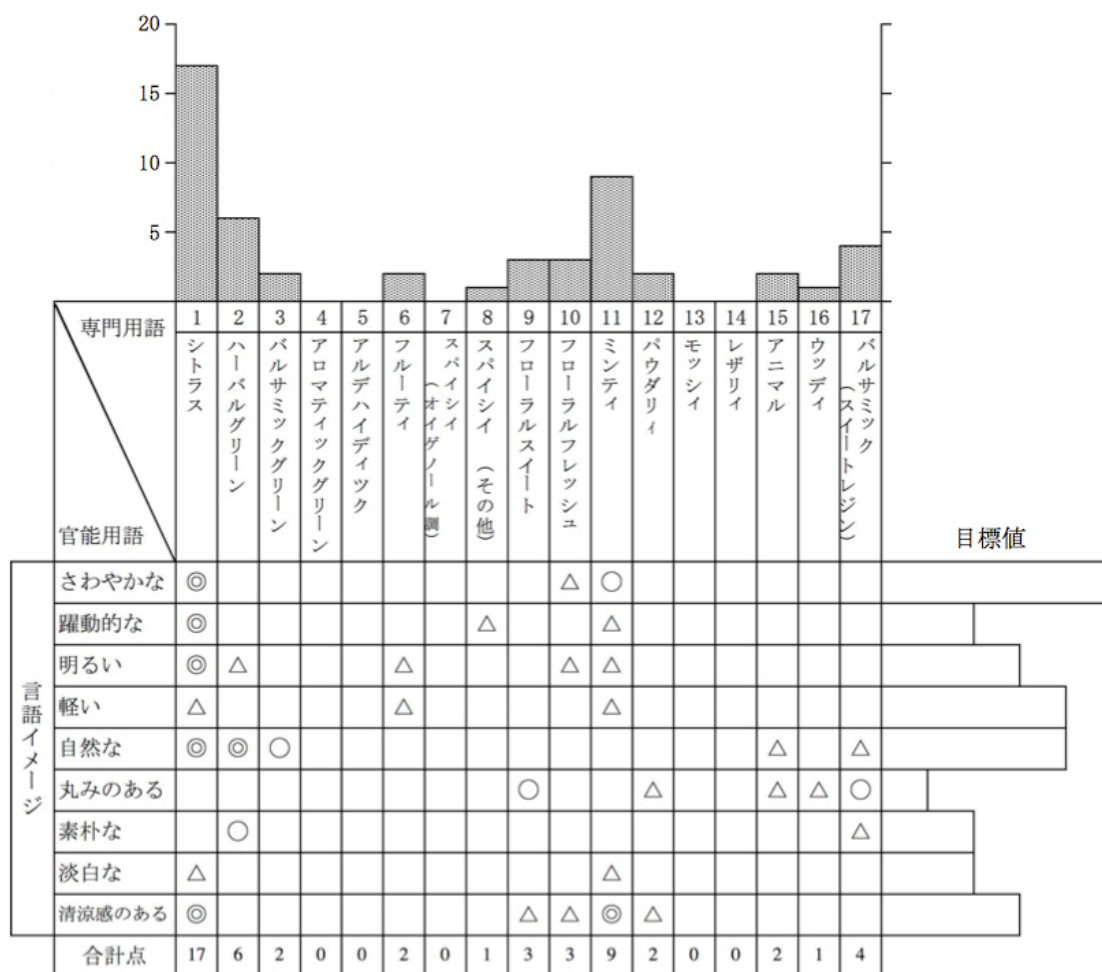




Table 10. 官能用語から専門用語への技術展開(視覚イメージ).

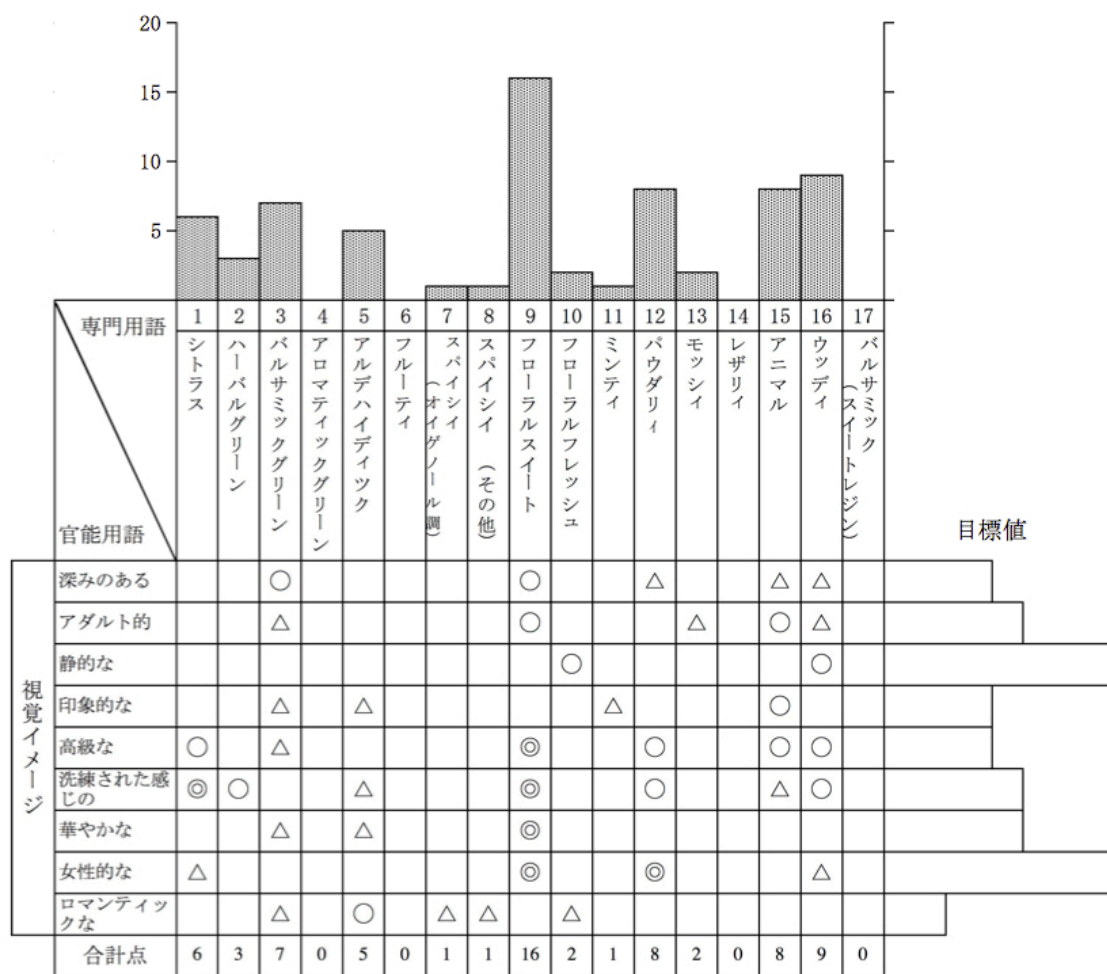
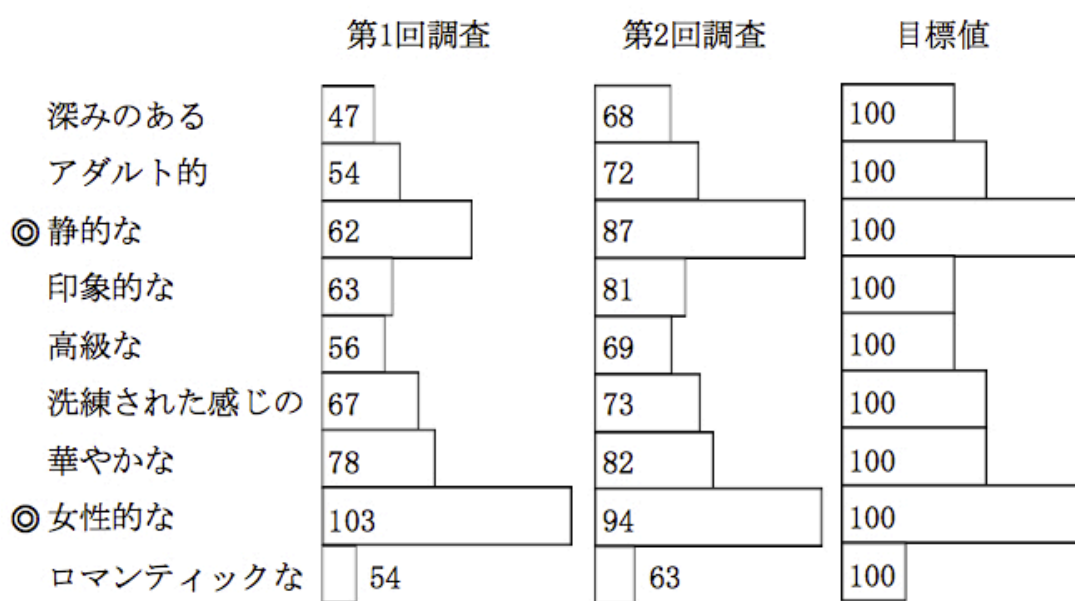


Table 11. イメージ展開の検証(言語イメージ).

	第1回調査	第2回調査	目標値
◎ さわやかな	97	92	100
躍動的な	67	86	100
明るい	65	79	100
軽い	71	85	100
◎ 自然な	73	91	100
丸みのある	-52	83	100
素朴な	64	85	100
淡白な	51	74	100
清涼感のある	62	87	100

Table 12. イメージ展開の検証(視覚イメージ).



## 参考文献

### 第1章

Fitch WM, Upper K: The phylogeny of tRNA sequences provides evidence for ambiguity reduction in the origin of the genetic code. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 52 : 759~767, (1987)

Dumbar RIM, Kudo H : Neocortex size and social network size in primates. *Animal Behav.*, 62 : 711~722, (2001)

Harlan, JR : Origin and processes of domestication. G. P. Chapman (ed.) *Grass Evolution and Domestication*. Cambridge Univ. Press. Cambridge, pp. 159~175, (1992)

Subhose V, Srinivas P, Narayana A : Basic principles of pharmaceutical science in Ayurvēda. *Bull Indian Inst. Hist. Med. Hyderabad* 35 : 83~92, (2005)

Ministry of Health, Labour and Welfare : Estimates of national medical care expenditure 2014, Tokyo, Japan (2014).

Ministry of Health, Labour and Welfare : Vital statistics of Japan 2016, Tokyo, Japan (2016)

## 第2章

Davide G, Cristina L, Stefano N, Giovambattista D, and Claudio F :

Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons<sup>1,2,3</sup>. *Am J Clin Nutr*, 81 : 611~614 (2005)

Deanfield JE, Halcox JP, and T Rabelink TJ : Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*, 115 : 1285~1295 (2007)

Demrow HS, Slane PR, Folts JD : Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation*, 91 : 1182~1188 (1995)

Frankel EN, Kanner J, German JB, Parks E, Kinsella JE : Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *The Lancet*, 341 : 454~457 (1993)

Kaneshima T, Myoda T, nakata M, Fujimori T, Toeda K. and Nishizawa M : Antioxidant activity of C-glycoside ellagitannins from the seeds and peel of camu-camu (*Myrciaria dubia*). *LWT-Food Sci. Techol.*, 69 : 76~81 (2016)

Kaneshima T, Myoda T, Nakata M, Fujimori T, Toeda K, Nishizawa M : Rhodomyrtone, an antimicrobial acylphloroglucinol, in the peel of *Myrciaria dubia* (camu-camu). *Food Pres. Sci.*, 41 : 71~76 (2015)

Kaneshima T, Myoda T, Toeda K, Fujimori T, Nishizawa M : Antimicrobial constituents of peel and seeds of camu-camu (*Myrcia dubia*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 81 : 1461~1465 (2017)

Kaneshima T, Myoda T, Toeda K, Fujimori T, Nishizawa M : Antioxidative constituents in camu-camu fruits juice residue. *Food Sci. Technol. Res.*, 19 : 223~228 (2013)

樫村修生, 豊原秀和, 岩本もりえ, 重田公子, 石田裕 : 高血圧自然発症ラットにおいてカムカム果皮ポリフェノールは高血圧を抑制する. *食農と環境*, 4 : 119~124 (2007)

樫村修生, 豊原秀和, 鈴木孝幸, 岩本もりえ, 笹田 陽子, 市原幸文, 石田裕 : カムカム果皮抽出液による高血圧改善硬化における血管内皮細胞の影響. *食農と環境*, 5 : 83~89 (2008)

Minami K, Kashimura O, Maezaki Y, Kiyoyanagi N, Niwa K, Sagane Y, Watanabe T : Flow-mediated vasodilation response to ingestion of omega-3-rich Sacha-inchi oil: A noninvasive evaluation of a functional food that improves human vascular. *Food Preser. Sci.*, 43 : 163~170 (2017)

Ministry of Health, Labour and Welfare : Estimates of national medical care expenditure 2014, Tokyo, Japan (2014).

Ministry of Health, Labour and Welfare : Vital statistics of Japan 2016 :  
Tokyo, Japan (2016)

Myoda T, Fujimura S, Park B J, Nagashima T, Nakagawa J, Nishizawa M :  
Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice  
production. *J. Food, Agric. Environ.*, 8 : 304~307 (2010)

難波文男 : 黒大豆ポリフェノールの抗酸化作用と血流改善作用. *日本醸造協  
会誌*, 108 : 413~419 (2013)

Oliver S, Tatjana B, Tony Y, Mommab P, Kleinbongardc Carl LK, Hagen S,  
Helmut S : Cocoa flavanols lower vascular arginase activity in human  
endothelial cells in vitro and in erythrocytes in vivo. *Arch. Biochem.  
Biophys.*, 476 : 211~215 (2008)

Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi  
G. and Nishigaki I : The vascular endothelium and human diseases. *Int. J.  
Biol. Sci.*, 9 : 1057~1069 (2013)

利美賀子, 石幡 明, 會田智美, 下田智子, 片野由美 : 老化血管に対するポリ  
フェノール含有赤ワイン凍結乾燥物の内皮依存性弛緩作用とその機序 : 若  
齢血管との比較. *山形医学*, 23 : 33~41 (2005)

坂手誠二, 寄本明, 阪上皖庸, 木村隆 : 労働者の身体活動量評価のための  
質問紙の妥当性. *総合健診*, 35 : 227~43 (2008)

St Leger AS, Cochrane AL, Moore F : Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of wine. *The Lancet*, 313 : 1017-1020 (1979)

田中弘之, 櫻村修生 : 高血圧自然発症ラットにおける内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) たんぱく質およびアンジオテンシン II タイプ 1 (AT1) 受容体たんぱく質の発現に及ぼすカムカム (*Myrciaria dubia*) 果皮抽出液の影響. *栄養学雑誌*, 72 : 33~40 (2014)

Whitehead TP, Robinson D, Allaway S, Syms J, Hale A : Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. *Clin. Chem.*, 41 : 32~35 (1995)

Zanatta, C. F., Cuevas, E., Bobbio, F. O., Mercadante, A. Z. Winterhalter, P : Determination of anthocyanins from camu-camu (*myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. *J. Agric. Food chem.*, 30 : 9531~9535 (2005)

### 第3章

Adkins, Y, Kelley, D.S : Mechanisms underlying the cardioprotective effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid. *J. Nutr. Biochem.*, 21 : 781~792 (2010)

Alexander, J.W. Immunonutrition : The role of omega-3 fatty acids. *Nutrition*, 14 : 627~633 (1998)



Beckerbauer LM, Thiel Cooper R, Ahn DU : Influence of two dietary fats on the composition of emu oil and meat. *Poult Sci.*, 80 : 187~194 (2001)

Berry JD, Dyer A, Cai X, Garside DB, Ning H, Thomas A, Greenland P, Horn LV, Tracy RP, Lloyd-Jones DM : Lifetime risks of cardiovascular disease. *New Eng. J. Med.*, 366 : 321~329 (2012)

Berry JD, Liu K, Folsom AR, Lewis CE, Carr JJ, Polak JF, Shea S, Sidney S, O'Leary DH, Chan C, Lloyd-Jones, D.M. Prevalence and progression of subclinical atherosclerosis in younger adults with low short-term but high lifetime estimated risk for cardiovascular disease. *Circulation*, 119 : 382~389 (2009)

Chen HI, Chiang IP, Jen J : Exercise training increases acetylcholine-stimulated endothelium-derived nitric oxide release in spontaneously hypertensive rats. *J. Biomed. Sci.*, 3 : 454~460 (1996)

Cocks TD, Angus J. A. : Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature*, 305 : 627~630 (1983)

Deanfield, JE, Halcox JP, T Rabelink TJ : Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*, 115 : 1285~1295 (2007)

Engler MB, Engler MM, Ursell PC : Vasorelaxant properties of n-3 polyunsaturated fatty acids in aortas from spontaneously hypertensive and normotensive rats. *J Cardiovasc Risk*, 1 : 75~80 (1994)

Engler MB. Effects of omega-3, omega-6 and omega-9 fatty acids on vascular smooth muscle tone. *Eur J Pharmacol.*, 215 : 325~328 (1992)

Hong C, Xin W, He Huang, Shao ZY, Yong Wei G, Teng W, Cong XH : Omega-3 fatty acids in the prevention of atrial fibrillation recurrences after cardioversion: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Intern. Med.*, 51 : 2503~2508 (2012)

Johnson L. R, Laughlin M. H: Chronic exercise training does not alter pulmonary vasorelaxation in normal pigs. *J. Appl. Physiol.*, 88 : 2008~2016 (2000)

厚生労働省:平成 25 年度国民医療費統計調査 (厚生労働省, 東京) (2014)

厚生労働省:平成 27 年度人口動態調査 (厚生労働省, 東京) (2016)

Kromhout D, Yasuda S, Geleijnse JM Shimokawa H : Fish oil and omega-3 fatty acids in cardiovascular disease: do they really work? *Eur. Heart J.*, 33 : 436~443 (2012)

Kummerow FA : Modification of cell membrane composition by dietary lipids and its implications for atherosclerosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 414 : 29~43 (1983)

Lin Q, SE. Ruuska NS. Shaw D. Dong, N. Noy : Ligand selectivity of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Biochemistry*, 38 : 185~190 (1999)

Marma, AK, Berry JD, Ning H, Persell SD, Lloyd-Jones DM : Distribution of 10-year and lifetime predicted risks for cardiovascular disease in US adults: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey 2003 to 2006. *Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes.*, 3 : 8~14 (2010)

Minami K, Kashimura O, Maezaki Y, Kiyoyanagi N, Niwa K, Sagane Y, Watanabe T : Flow-mediated vasodilation response to ingestion of omega-3-rich Sacha-inchi oil: A noninvasive evaluation of a functional food that improves human vascular. *Food Preser. Sci.*, 43 : 163~170 (2017)

Ministry of Health, Labour and Welfare. Vital statistics of Japan 2016, Tokyo, Japan (2016)

NHLBI. Fact Book, Fiscal Year 2012. National Institutes of Health, 35 (2013)

Puca AA, Andrew P, Novelli V, Anselmi CV, Somalvico F, Cirillo NA, Chatgialiloglu C, Ferreri C : Fatty acid profile of erythrocyte membranes as possible biomarker of longevity. *Rejuvenation Res.*, 11 : 63~72 (2008)

Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, Nishigaki I : The vascular endothelium and human diseases. *Int. J. Biol. Sci.*, 9 : 1057~1069 (2013)

坂手誠二, 寄本明, 阪上皖庸, 木村隆:労働者の身体活動量評価のための質問紙の妥当性. *総合健診*, 35 : 227~43 (2008)

Shimaokawa H, Flavahan NA, Lorenz RR, Vanhoutt PM : Prostacyclin releases endothelium-derived relaxing factor and potentiates its action in coronary arteries of the pig. *Br. J. Pharmacol.*, 95 : 1197~1203 (1988)

Silvia I, Pomposiello M, Alva DW, Wilde OA, Carretero : Linoleic acid induces relaxation and hyperpolarization of the pig coronary artery. *Hypertension*, 31 : 615-620 (1998)

梅村 詩子, 小池 和子, 磯 博康, 山海 知子, 嶋本 喬, 佐藤 眞一, 飯田 稔, 飯田 恭子, 小町 喜男 : 食習慣と血清中脂肪酸構成に関する地域比較研究. *日本衛生学雑誌*, 48 : 939~954 (1993)

Wang Q, Liang X, Wang LL, X Huang J, Cao J, Li H, Gu D: Effect of omega-3 fatty acids supplementation on endothelial function: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis*, 221 : 536~543 (2012)

Yin K, Chu ZM, Beilin LJ : Blood pressure and vascular reactivity changes in spontaneously hypertensive rats fed fish oil. *Br J Pharmacol.*, 102 : 991~997 (1991)

Yokohama M : Statistical analyses of emu products (fat and meat). *J. Agri. Sci.*, 59 : 39~43 (2014)

Zammit VA : The malonyl-CoA-long- chain acyl-CoA axis in the maintenance of mammalian cell function. *Biochem. J.*, 343 : 505~515 (1999)

#### 第4章

樋口かよ, 尾形美貴, 木村英生, 飯野久和, 瀧野裕之, 川原信夫 : 摘果モモ果実のプルナシンと安全性評価の予備検討. *日本食品化学学会誌*, 22 : 45~50 (2015)

樫村修生, 豊原秀和, 岩本もりえ, 重田公子, 石田裕 : 高血圧自然発症ラットにおいてカムカム果皮ポリフェノールは高血圧を抑制する. *食農と環境*, 4 : 119~124 (2007)

Kawamura T, Sasakawa S Masuda T, Honda S, Kinoshita M, Harada S, Ishizaki T, Nagai R, Hirokawa K, Anzai T, Anekoji K, Hidano A, Kawano T,

Ikegami I, Sato I, Aoyama T : Basic studies on the standardization of the patch test. *Jpn. J. Dermatol.*, 80 : 301~314 (1970)

宮澤正明 : 安全性における動物実験代替法の現状と展望. *日本化粧品学会誌*, 39 : 114~116 (2015)

Myoda T, Fujimura S, Park BJ, Nagashima T, Nakagawa J, Nishizawa M : Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice production. *J. Food Agric. Environ.*, 8 : 304~307 (2010)

中山秀夫 : 化粧品の安全性に関する基礎知識と, 今後について. *化粧品技術者会誌*, 39 : 264~273 (2005)

佐々齊 : 化粧品の安全性(総論). *日本化粧品学会誌*, 40 周年記念号 : 57~61 (2015)

須貝哲郎 : 化粧品の安全性. *化粧品科学*, 19 : 49~56 (1995)

Zanatta CF, Mercadante AZ : Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Food Chem.*, 101 : 1543~1549 (2007)

## 第5章

Azzam, MOJ, Al-Malah KI, Omari RM : Jojoba oil/water emulsions stabilized by BSA and egg proteins: a study using conductivity technique *J. Dispers. Sci. Technol.*, 33 : 1000~1005 (2012)

Babcock AS, Anderson AL, Rice CD : Indirubin-3'-(2,3 dihydroxypropyl)-oximether (E804) is a potent modulator of LPS-stimulated macrophage functions. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 266 : 157~166 (2013)

Calder PC, Bond JA, Harvey DJ, Gordon S, Newsholme EA : Uptake and incorporation of saturated and unsaturated fatty acids into macrophage lipids and their effect upon macrophage adhesion and phagocytosis. *Biochem. J.*, 269 : 807~814 (1990)

Das LM, Rosenjack J, Au L, Galle PS, Hansen MB, Cathcart MK, McCormick TS, Cooper KD, Silverstein RL, Lu L KQ : Hyper-Inflammation and skin destruction mediated by rosiglitazone activation of macrophages in IL-6 deficiency. *J. Invest. Dermatol.*, 135 : 389~399 (2015)

Feng X, Deng T, Zhang Y, Su S, Wei C, Han D : Lipopolysaccharide inhibits macrophage phagocytosis of apoptotic neutrophils by regulating the production of tumour necrosis factor  $\alpha$  and growth arrest-specific gene 6. *Immunology*, 132 : 287~295 (2011)

Ito M, Minami K, Sagane Y, Watanabe T, Niwa K : Data on melanin production in B16F1 melanoma cells in the presence of emu oil. *Data Brief*, 9 : 1056~1059 (2016)

伊藤実, 渡部俊弘, 丹羽光一 : マクロファージの一酸化窒素産生に対するエミューオイルの効果. *東京農大農学集報*, 61 : 142~146 (2017)

伊藤実, 南和広, 高野圭司, 西谷美雪, 相根義昌, 渡部俊弘, 丹羽光一 : ナノカプセルを処方したエミューオイル含有保湿剤「エミュランス EE セラム」の安全性検討. *皮膚の科学*, 16 : 88~92 (2017)

Jeengar MK, Kumar PS, Thummuri D, Shrivastava S, Guntuku L, Sistla R, Naidu VG : Review on emu products for use as complementary and alternative medicine. *Nutrition*, 31 : 21~27 (2015)

Jeong JB, Shin YK, Lee SH : Anti-inflammatory activity of patchouli alcohol in RAW264.7 and HT-29 cells. *Food Chem. Toxicol.*, 55 : 229~233 (2013)

Jurenka JS : Anti-inflammatory property of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Alternat. Med. Rev.*, 14 : 141~153 (2009)

Kawamura T, Sasakawa S, Masuda T, Honda S, Kinoshita M, Harada S, Ishizaki T, Nagai R, Hirokawa K, Anzai T, Anekoji K, Hidano A, Kawano T,



Ikegami I, Sato I, Aoyama T : Basic studies on the standardization of the patch test. *Jpn. J. Dermatol.*, 80 : 301–314 (1970)

Kuda T, Nakamura S, An C, Takahashi H, Kimura B, Nishizawa M : Effects of holdfast of *Laminaria japonica* on listeria invasion on enterocyte-like Caco-2 cells and NO production of RAW264.7 cells. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 168 : 928~935 (2012)

Lindsay RJ, Geier MS, Yazbeck R, Butler RN, Howarth GS : Orally administered emu oil decreases acute inflammation and alters selected small intestinal parameters in a rat model of mucositis. *Brit. J. Nutr.*, 104 : 513~519 (2010)

増子孝義, 相馬幸作, 石川信雄, 渡部俊弘 : 新たな動物資源からの生産物創出の可能性 – エゾシカとエミュー –. *熱帯農業研究*, 7 : 11~15 (2014)

Mao GX, Xing WM, Wen XL, Jia BB, Yang ZX, Wang YZ, Jin XQ, Wang GF, Yan J : Salidroside protects against premature senescence induced by ultraviolet B irradiation in human dermal fibroblasts. *Int. J. Cosmetic Sci.*, 37 : 321~328 (2015)

Marinho PC, Neto-Ferreira R, Carvalho JJ : Evaluation of therapeutic intervention with natural product in cutaneous wound healing: the use of capybara oil. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 217198 (2013)  
<<http://dx.doi.org/10.1155/2013/217198>>

Mashtoub S, Tran CD, Howarth GS : Emu oil expedites small intestinal repair following 5-fluorouracil-induced mucositis in rats. *Exp. Biol. Med.*, 238 : 1305~1317 (2013)

Oh DY, Talukdar S, Bae EJ, Imamura T, Morinaga H, Fan W, Li P, Lu WJ, Watkins SM, Olefsky JM : GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*, 142 : 687~698 (2010)

Pillai S, Oresajo C, Hayward J : Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation – a review. *Int. J. Cosmetic Sci.*, 27 : 17~34 (2005)

Shin JY, Song JY, Yun YS, Yang HO, Rhee DK, Pyo S : Immunostimulating effects of acidic polysaccharides extract of *Panax ginseng* on macrophage function. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 24 : 469~482 (2002)

須貝哲郎 : 香粧品の安全性. *香粧品科学*, 19 : 49~56 (1995)

Xu N, Yuan H, Liu W, Li S, Liu Y, Wan J, Li X, Zhang R, Chang Y : Activation of RAW264.7 mouse macrophage cells in vitro through treatment with recombinant ricin toxin-binding subunit B: Involvement of

protein tyrosine, NF- $\kappa$ B and JAK-STAT kinase signaling pathways. *Int. J. Mol. Med.*, 32 : 729~735 (2013)

Yoganathan S, Nicolosi R, Wilson T, Handelman G, Scollin P, Tao R, Binford P, Orthoefer F : Antagonism of croton oil inflammation by topical emu oil in CD-1 mice. *Lipids*, 38 : 603~607 (2003)

Yoon WJ, Moon JY, Song G, Lee YK, Han MS, Lee JS, Ihm BS, Lee WJ, Lee NH, Hyun CG : Artemisia fukudo essential oil attenuates LPS-induced inflammation by suppressing NF- $\kappa$ B and MAPK activation in RAW 264.7 macrophages. *Food Chem. Toxicol.*, 48 : 1222~1229 (2010)

Younis S, Blumenberg M, Javed Q : Resistin gene polymorphisms are associated with acne and serum lipid levels, providing a potential nexus between lipid metabolism and inflammation. *Arch. Dermatol. Res.*, 308 : 229~237 (2016)

Zhang YQ, Guan L, Zhong ZY, Chang M, Zhang DK, Li H, Lai W : The anti-inflammatory effect of cherry blossom extract (*Prunus yedoensis*) used in soothing skincare product. *Int. J. Cosmetic Sci.*, 36 : 527~530 (2014)

## 第6章

Hersh HM, Caramazza AA: Fuzzy set approach to modifiers and vagueness in natural language. *J. Exp. Psychol.*, 105 : 254~276 (1976)

市原茂 : セマンティック・ディファレンシャル法 (SD 法) の可能性と今後の課題.  
人間工学, 45 : 263~269 (2009)

西崎友規子, 土井俊央, 山岡俊樹 : メンタルモデルの個人差が製品の選択  
評価に及ぼす影響 - ユーザビリティと見た目を指標として-. 日本感性工  
学会論文誌, 15 : 531~535 (2016)

相良泰行 : 食感性工学のパラダイムと展望. 日本食品科学工学会誌, 56 :  
309~316 (2009)

鈴木隆 : においとことば -分類と表現をめぐって-. におい・かおり環境学会  
誌, 44 : 346~356 (2013)

菅沼薫 : 感性を切り口にした消費者意識と化粧品トレンド. 化粧品技術者会  
誌, 45 : 181~189 (2011)

山下利之 : 心を測る手法の新たな展開 人間工学, 49 : 106~114 (2013)

## 要 旨

ヒトは、有史以来、天然の動植物や農水畜産物、微生物などの生物資源を利活用しながら生活をしている。原始時代は、生命活動を営むために必要不可欠なエネルギー源や生体構成成分の補給のための栄養分としての利用が主であったと考えられる。しかし、文明の発展とともに、生物資源の利活用の目的は、多岐にわたり、現在では、ヒトの嗜好性や健康の維持促進を目的とした利用法など多様化している。生物やこれらが作り出す有機物などの生物資源には、ヒトの生活向上に関わる機能性を有するものが数多く存在する。これらを利活用した製品、すなわち、高血圧や糖尿病等の生活習慣病の予防など、ヒトの内臓機能を維持・改善する機能を利用した「機能性食品」、肌や毛髪的美しさを保持・改善する機能を利用した「化粧品」、香り等の作用によりリラックス効果やストレス解消機能などを有した「トイレットリー製品」が、日々開発されている。

本研究では、食品としての動植物資源がヒトの血管機能に与える影響を評価する手法を新規に構築した。また、化粧品としての動植物資源の安全性試験および抗炎症性の評価を実施した。さらに、視覚や言葉のイメージから「香り」を創るための新規技法を開発し、化粧品やトイレットリー製品への応用を可能とした。

### 1 植物資源カムカムの血管内皮機能に及ぼす影響の評価手法

カムカムは、南米ペルーのアマゾン川支流に自生する植物で、果実中に豊富なビタミン C を含み、主に果汁を利用した飲料原料となっている。一方、果皮を含む果実の約 40%が残渣として処理されている。本研究では、カムカム加工後の残渣が血管内皮機能に与える効果を明らかにするため、新規に確立した食

食事制限プロトコルを併用した血流依存性血管拡張反応試験を用いた評価を行った。その結果、カムカム果皮抽出物をヒトへ単回投与すると、安静時の血圧および上腕動脈径に影響を及ぼさないことが確認された。しかし、血流を増大させたときの上腕動脈径の拡張率が、カムカム果皮抽出物非投与時の  $9.4 \pm 2.0\%$  から、カムカム果皮抽出物投与時の  $11.8 \pm 2.7\%$  へと有意に上昇した。以上のことから、カムカム果皮抽出物がヒトの血管内皮機能を向上させる働きを有することが初めて示された。

## 2 動物資源エミュールオイルの血管内皮機能に及ぼす影響の評価手法

オーストラリア原産のエミュールの皮下脂肪から得られるエミュールオイルは、食用として利用が可能である。本研究では、前章でも用いた食事制限プロトコルを併用した血流依存性血管拡張反応試験による評価法を用い、食用エミュールオイルの血管内皮機能への影響を調べた。その結果、被験者へエミュールオイルを単回投与したとき、安静時の血圧および安静時の上腕動脈径に有意な変化は認められなかった。しかし、血流を増大させたときの上腕動脈径の拡張率は、エミュールオイル非投与時の  $9.6 \pm 1.6\%$  からエミュールオイル投与時の  $11.8 \pm 1.1\%$  へと有意に上昇した。この結果は、エミュールオイルが性別や安静時の動脈径にかかわらず、血流増大時に動脈径を拡張させる機能、すなわち血管内皮機能を向上させる機能を持つことを示している。

## 3 植物資源カムカムの化粧品素材としての安全性評価

本章では、カムカム果皮抽出物の化粧品への利用可能性を評価するため、成人男女 20 名を対象に 24 時間閉塞ヒトパッチテストによる安全性評価を実施した。カムカム果皮抽出物を 1.0% になるように注射用蒸留水で希釈し、被験者の背中に 24 時間貼付した。カムカム果皮抽出物の除去 1 時間後および 24

時間後に皮膚反応を観察し、安全性を判定した。その結果、カムカム果皮抽出物の皮膚刺激指数は、0.0であり、その皮膚への安全性が確認された。

#### 4 動物資源エミューオイルの化粧品素材としての機能性および安全性評価

本章では、エミューオイルの化粧品としての機能性(抗炎症作用)と安全性を評価した。抗炎症作用の評価には、マウス由来マクロファージ株化細胞 RAW 264.7 を用いた。RAW 264.7 を、エミューオイル存在下あるいは非存在下で培養し、リポポリサッカリド(LPS)で刺激して炎症反応を誘発した後、RAW 264.7 の貪食能および一酸化窒素(NO)、誘導型 NO 合成酵素(iNOS)と tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) の産生量を測定した。その結果、エミューオイルは、LPS 刺激による NO, iNOS および TNF- $\alpha$  の産生の増加を有意に抑制したが、貪食能には影響を及ぼさなかった。これらの結果は、エミューオイルがマクロファージの貪食作用による炎症部位の異物除去には影響せず、細胞が産生する炎症性物質の増加を抑制することで、皮膚の炎症や老化を防ぐ機能を有することを示唆した。さらに、ヒトの皮膚にエミューオイルの安全性をパッチテストによって評価した。その結果、エミューオイルの皮膚刺激指数は、0.0であり、皮膚への安全性が確認された。

#### 5 官能評価におけるイメージ展開技法の開発

食品、化粧品の開発においては、消費者の感性を考慮に入れることが必要であるという概念が確立されつつある。しかし、消費者が五感で感じている主観的な感性は非常にあいまいなものであり、それを定量化することは、大変困難である。本研究では、写真や風景、言語など、視覚や聴覚から得られる「香り」とは異なる情報を反映し、香料を作り出す手法を構築した。すなわち、あるイメージコンセプトをアナロジー用語、イメージ用語、官能用語、さらに専門用語へ

と4次展開まで行なう手法で、香りの表現方法へと展開した。さらに、本研究では、官能用語を専門用語に展開するために従来の調香師の固有技術に頼る方法ではなく、イメージが一般的な用語でどのように表現されるかを被験者のアンケートに基づいて調査した。その結果、一般者のイメージした香りが専門家へと伝達され、両者のイメージが一致していることが、検証調査により裏付けられた。

本研究では、生物資源の血管機能への影響の簡便かつ効率的な評価法を確立した。今まで食品の血管機能への影響は、動物試験や細胞試験を基礎とした評価に限られており、ヒトへの影響を直接評価する方法はごく限られていた。しかし、今回、著者らが確立した独自の食事制限プロトコルを併用した血流依存性血管拡張反応試験は、食品がヒトの血管機能に与える影響を直接評価する事を可能にしたことから、今後、様々な食品への応用が期待される。また、本研究では、オーストラリアの原住民により、経験的に傷薬などに使用されていたエミューオイルの抗炎症作用のメカニズムを細胞化学的に解明し、化粧品素材や食品素材としての利用価値を高めたとともに、細胞試験による抗炎症作用評価法を確立することに成功した。一方、著者は、食品香粧品開発において重要な役割を果たす「官能評価法」において、等価変換理論を基に新たに開発した関連言語の展開法を用いたイメージ展開技法を確立した。これにより、商品のイメージを統一化し、開発者間での意思の疎通、宣伝・起用モデル・ネーミング等における企画側から消費者まで1つのコンセプトを客観的に共有することを可能にした。



## Abstract

Throughout history, humans have utilized bioresources such as animals, plants, agricultural products, and bacteria. In primitive times, bioresources were used primarily as a source of nutrition. With the development of civilization, their utility has diversified. They now enhance palatability and improve health. In addition, several bioresources may contribute to the improvement of human life. For instance, they are utilized as ingredients of functional foods, cosmetics, toiletries, etc.

In this thesis, the author constructed methods for validating the effects of ingested bioresources on human vascular functions. The author also investigated the safety and anti-inflammatory function of bioresources in cosmetics. Finally, the author developed a method for making aromas that express the obscure impressions derived from pictures and words.

### 1. Validation method for evaluating the effects of the plant resource camu camu on vascular endothelial function

The fruits of camu camu (*Myrciaria dubia*), which grow in the Amazon River basin in Peru, contain an abundance of vitamin C. They are used as ingredients in beverages. However, 40% of the fruits' weight, including the pericarps, are disposed of as waste. In this study, the author validated the effect of camu camu pericarp extract ingestion on vascular endothelial functions by using a flow-mediated vasodilation (FMD) test combined with a newly-developed dietary restriction protocol. Single oral administration of camu camu pericarp extract had no influence on blood pressure and brachial

arterial diameter during the resting periods. When blood flow increased, the expansion rate of the brachial arterial diameter increased from  $9.4 \pm 2.0\%$  (control subjects) to  $11.8 \pm 2.7\%$  (extract-administrated subjects). These results suggest that camu camu pericarp extract improves vascular endothelial functions.

## 2. Validation method for evaluating the effects of the animal resource emu oil on vascular endothelial function

Emu oil is obtained from the fat deposits of emu birds (*Dromaius novaehollandiae*) that are indigenous to Australia. In this experiment, the author investigated the effects of emu oil ingestion on vascular endothelial functions by using the FMD test adopted in Section 1.

Single oral administration of emu oil had no influence on blood pressure and brachial arterial diameter during the resting periods. When blood flow increased, the expansion rate of brachial arterial diameter increased from  $9.6 \pm 1.6\%$  (control group) to  $11.8 \pm 1.1\%$  (emu oil-administrated subjects). These results suggest that emu oil improves vascular endothelial functions.

## 3. Validation of safety of the plant resource camu camu as a cosmetic ingredient

Skin sensitization tests for camu camu pericarp extract were performed by patch testing 20 healthy participants to validate the safety of the extract in cosmetics. Distilled water containing 1% extract was applied to the participants' backs using tape that was left in place for 24 h. After 1- and 24-h from removal of the tape, the reaction of the participant's skin was judged.

The camu camu pericarp extract did not elicit any skin reactions and the skin stimulation index was 0.0, suggesting that the extract is safe for cosmetic use.

#### 4. Validation of function and safety of the animal resource emu oil as a cosmetic ingredient

In this experiment, the author investigated the anti-inflammatory function and safety of emu oil in cosmetics. A murine macrophage cell line, RAW 264, was incubated in culture media supplemented with or without emu oil and stimulated with lipopolysaccharide (LPS). Then, phagocytic activity, production of nitric oxide (NO) and tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , and the protein expression of inducible NO synthase (iNOS) was examined. The phagocytic activity of RAW 264 cells in the presence of LPS was unaffected by emu oil. In addition, emu oil mitigated the LPS-induced production of NO, TNF- $\alpha$ , and iNOS expression in a dose-dependent manner. These results suggest that emu oil does not reduce the phagocytic clearance rate of inflammatory matter, whereas it does reduce the production of NO and TNF- $\alpha$  in macrophages. In addition, these results suggest that emu oil has anti-inflammatory effects.

To validate the safety of emu oil for use in cosmetics, skin sensitization tests were performed by patch testing 20 healthy participants. Emu oil was applied to the participants' backs using tape that was left in place for 24 h. After 1- and 24-h from removal of the tape, the reaction of the participant's skin was judged. No skin reaction was observed when emu oil was applied, and the skin stimulation index was 0.0, suggesting that emu oil is safe for cosmetic use.

## 5. Development of image expansion technique for sensory evaluation

It has been argued that consumers' feelings should be taken into consideration when developing food and cosmetics. On the other hand, feelings are very difficult to quantify because they are subjective and obscure. In this section, the author developed an image expansion technique by which the impression or concept derived from pictures or words can be converted to technical terms. Thus, impressions and concepts were sequentially expanded to analogy terms, image terms, sensory terms, and technical terms that express an aroma. The expansion of sensory terms to technical terms was performed by panelists, who based the terms on the results of a questionnaire submitted to the general public. By using this technique, the concepts derived from pictures or words could be converted to technical terms, and the aroma created by perfumers based on the expanded technical terms expressed the feelings of the general public well.

In the present study, the author established a simple method for validating the effects of bioresources on vascular functions. Evaluating human vascular functions is generally difficult and laborious. The FMD test (with a newly-developed dietary restriction protocol adopted in the present study) enabled simple evaluation of the effects of foods on human vascular functions. This method that may be applied to other foods.

The author also established methods for evaluating the anti-inflammatory effects by using cultured cells, and raised the added value of emu oil by clarifying the mechanism of its anti-inflammatory effects. In addition, the author developed an image-expanding technique for the expression of

consumers' obscure feelings. This technique will enable planners, technicians, and consumers to have a common understanding of the products.

## 謝 辞

本研究，論文作成に当たり終始懇篤なるご指導，ご鞭撻を受け賜りました東京農業大学生物産業学部教授 渡部俊弘先生のご厚情は筆舌に尽くしがたく，深甚なる感謝の念を表示申し上げますとともに，温厚なるご指導の下で本研究を完成することが出来ました事に心から御礼申し上げます。

また，論文作成に当たり終始熱意をもってご助言，ご指導，ご校閲をして頂きました東京農業大学生物産業部教授 丹羽光一先生，同学部教授 相根義晶先生，同学部教授 南 和宏先生，同学部 妙田貴生准教授，更に応用生物科学部教授 高野克己先生に深く感謝申し上げます

最後に本研究に専念できる時間と助言を与えて下さいました全ての関係各位の皆様心から感謝，御礼申し上げます。