

農林水産研究推進事業委託プロジェクト研究
次世代育種・健康増進プロジェクト
地域の農林水産物・食品の機能性発掘のための研究開発
令和2年度 最終年度報告書

個別課題番号	16808863
個別課題名	地域の農林水産物・食品の機能性発掘のための研究開発

研究実施期間	平成28年度～令和2年度（5年間）
代表機関	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門
研究開発責任者	小堀 真珠子
研究開発責任者 連絡先	TEL : 029-838-8011
	FAX : 029-838-7996
	E-mail : kobori@affrc.go.jp
共同研究機関	国立研究開発法人 国立がん研究センター 社会と健康研究センター
	茨城県産業技術イノベーションセンター(工業技術センター（～2018.06）)
	国立大学法人 筑波大学医学医療系
	沖縄県農業研究センター
	国立大学法人 琉球大学 (農学部、熱帯生物圏研究センター、大学院医学研究科)
	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 九州沖縄農業研究センター
普及・実用化 支援組織	タカノフーズ(株)
	(株)サンエー
	ツルヤ(株)
	(有)グリーンフィールド
	沖縄県農業協同組合

<別紙様式3>最終年度報告書

I-1. 年次計画

研究課題	研究年度					担当研究機関・研究室	
	H28	H29	H30	R1	R2	機関	研究室
1. 多目的コホート研究における農林水産物・食品ならびに機能性成分と健康長寿との関連についての検討						国立がん研究センター	社会と健康研究センター 疫学・予防研究グループ
2. 健康を増進する国産大豆を使った機能性表示納豆等の食品開発 (1) 納豆及び納豆・大豆成分の機能性評価 (2) 粘性物質高含有大豆製品の研究開発 (3) 大豆製品のヒト介入試験 (4) γ -ポリグルタミン酸高含有納豆及び豆腐の製造技術の開発 (5) マーケティング及び、商品設計、商品価値の検証の研究						農研機構食品研究部門 茨城県工業技術センター 筑波大学 タカノフーズ(株) タカノフーズ(株)	栄養健康機能ユニット、食品機能評価ユニット 地場食品部門 医学医療系
3. 健康を増進する機能性表示野菜の開発 (1) 野菜漬物の腸内環境改善効果の解明と安全性試験 (2) 野菜漬物の減塩手法の開発 (3) 野菜漬物の機能性評価のための介入研究 (4) 野菜中の機能性乳酸菌の探索と応用 (5) 野菜漬物および野菜由来乳酸菌・成分の抗メタボリックシンドローム機能の評価と作用機序の解明 (6) 機能性成分が保持された嗜好性の高い新たな野菜漬物の開発 (7) 介入試験用機能性野菜漬物の開発と						農研機構食品研究部門 農研機構食品研究部門 国立がん研究センター 信州大学 信州大学 長野県工業技術総合センター 長野県工業技術総合センター 長野県野菜花き試験場	栄養健康機能ユニット 感覚機能解析ユニット 社会と健康研究センター 予防研究部 農学研究科 学術研究院 (農学系) 食品技術部門 加工食品部

品質評価						
(8) 機能性成分を高含有する野沢菜の選定	←	機能性成分抗含有野沢菜の選定	→	(株)竹内農産		
(9) 機能性・嗜好性の高い野沢菜漬けの開発と製造	←	機能性野沢菜漬けの製造	→	(株)竹内農産		
(10) 機能性野沢菜の販売戦略の策定	←	販売戦略策定	→			
4. 健康を増進する機能性表示へちま、からし菜等の開発				沖縄県農業研究センター	野菜花き班	
(1) へちまの栽培技術の開発	←	へちま周年栽培法開発	→	沖縄県農業研究センター	農業システム開発班	
(2) へちまの加工・調理技術の開発	←	へちまの加工法開発	→	琉球大学	農学部	
(3) へちま等の新規加工技術の開発	←	へちまの新規加工法開発	→	沖縄県農業研究センター	野菜花き班	
(4) からし菜等の栽培技術の開発	←	からし菜栽培法開発	→	農研機構・九州沖縄農業研究センター	作物品質グループ	
(5) からし菜等の加工・調理技術の開発	←	からし菜加工法開発	→	琉球大学農学部	農学部、熱帯生物圏研究センター	
(6) 沖縄伝統野菜の機能性、作用機序の解明	←	へちま、からし菜の機能性	→	琉球大学	大学院医学研究科、琉球大学熱帯生物圏研究センター	
(7) 沖縄伝統野菜のヒト介入試験	←	へちま、からし菜ヒト試験	→	(株)サンエー		
(8) 機能性沖縄伝統野菜のビジネスモデル構築	←	沖縄野菜流通ビジネスモデル構築	→			

I - 2. 実施体制

研究項目	担当研究機関・研究室		研究担当者
	機関	研究室	
研究開発責任者	農研機構食品研究部門	食品健康機能研究領域	◎小堀真珠子 前任者山本（前田）万里（～2018.03）
1. 多目的コホート研究における農林水産物・食品ならびに機能性成分と健康長寿との関連についての検討	国立がん研究センター	社会と健康研究センター 予防研究グループ	○ 津金昌一郎 前任者笹月静（～2017.03） 後任者澤田典絵（2017.04～） 島津太一 森渚 前任者井上真奈美（～2017.03） 前任者野末みほ（～2017.03） 後任者 山極洋子（2017.04～） 後任者Thomas Svensson（2017.04～） 後任者Calistus Wilunda（2018.07～）
2. 健康を増進する国産大豆を使った機能性表示納豆等の食品開発			
(1) 納豆及び納豆・大豆成分の機能性評価	農研機構食品研究部門	食品健康機能研究領域	○田村基 小堀真珠子
(2) 粘性物質高含有大豆製品の研究開発	茨城県産業技術イノベーションセンター（名称変更 2018.07～） 工業技術センター（～2018.06）	地場食品部門	△後任者 浅野俊之（2019.4～）吉浦貴紀 前任者（2018.4～） 前任者 中川力夫（～2017.3） 久保雄司 野口友嗣
(3) 大豆製品のヒト介入試験	筑波大学	医学医療系	△橋本幸一 前任者 笹井浩行（～2017.3） 後任者 鈴木浩明（2017.4～）

<p>(4) γ-ポリグルタミン酸高含有納豆及び豆腐の製造技術の開発</p>	<p>タカノフーズ(株)</p>		<p>荒木理沙 △ 松本賢輝 後任者(2018.4~) 前任者 原修一 (~2018.3) 川根政昭 西川宗伸 池澤将也</p>
<p>(5) マーケティング及び、商品設計、商品価値の検証の研究</p>	<p>タカノフーズ(株)</p>		<p>△小田篤 市村真二</p>
<p>3. 健康を増進する機能性表示野菜の開発</p>	<p>農研機構食品研究部門</p>	<p>食品健康機能研究領域</p>	<p>○前任者 渡辺純 (~2020.4) 後任者 河合崇行 (2020.4~) 富田理</p>
<p>(1) 野菜漬けの腸内環境改善効果の解明と安全性試験</p>		<p>食品生物機能開発研究領域 食品健康機能研究領域</p>	<p>白井展也 (2020.4~)</p>
<p>(2) 野菜漬けの減塩手法の開発</p>	<p>農研機構・食品研究部門</p>	<p>食品健康機能研究領域</p>	<p>△河合崇行</p>
<p>(3) 野菜漬の機能性評価のための介入研究</p>	<p>国立がん研究センター</p>	<p>社会と健康研究センター 予防研究部</p>	<p>△武藤倫弘</p>
<p>(5) 野菜漬けおよび野菜由来乳酸菌・成分の抗メタボリックシンドローム機能の評価と作用機序の解明</p>	<p>信州大学</p>	<p>学術研究院(農学系) 近未来農林総合科学教育研究センター</p>	<p>△田中沙智</p>
<p>(7) 介入試験用機能性野菜漬けの開発と品質評価</p>	<p>長野県工業技術総合センター</p>	<p>食品技術部門 加工食品部</p>	<p>△栗林剛 水谷智洋 山崎慎也</p>
<p>(8) 機能性成分を高含有する野菜の選定</p>	<p>長野県野菜・花き試験場</p>	<p>野菜部</p>	<p>△矢ヶ崎和弘 中塚雄介 芹澤啓明</p>
<p>(9) 機能性・嗜好性の高い野菜漬けの開発と製造</p>	<p>(株)竹内農産</p>	<p>育種部 生産部 品質管理</p>	<p>△竹内武史 後任者 (2019.10~) 前任者 高賀茂克弥 (~2019.9)</p>

(10) 機能性野菜の販売戦略の策定	(株)竹内農産		△竹内武史 浅野嘉健
4. 健康を増進する機能性表示へちま、からし菜等の開発			
(1) へちまの栽培技術の開発	沖縄県農業研究センター	野菜花き班	△棚原尚哉 宮城悦子 (2018. 4～)
(2) へちまの加工・調理技術の開発	沖縄県農業研究センター	農業システム開発班	△前田剛希 花ヶ崎敬資 (2018. 4～2020. 3) 恩田聡 (～2019. 3) 土田永渡 (2020. 4～)
(3) へちま等の新規加工技術の開発	琉球大学	農学部	△和田浩二
(4) からし菜等の栽培技術の開発	沖縄県農業研究センター	野菜花き班	玉城盛俊 (～2018. 3) △棚原尚哉 (2018. 4～) 宮城悦子 (2018. 4～)
(5) からし菜等の加工・調理技術の開発	農研機構九州沖縄農業研究センター	作物品質グループ	○澤井祐典 石川千秋 (2018. 4～) 西場洋一 (2018. 4～)
(6) 沖縄伝統野菜の機能性、作用機序の解明	琉球大学	農学部、熱帯生物圏研究センター	△高良健作 大西竜子 (2018. 4～) 岩崎公典
(7) 沖縄伝統野菜のヒト介入試験	琉球大学	熱帯生物圏研究センター、大学院医学研究科、医学部	△等々力英美 大屋祐輔 東上里康司(2018. 4～) 名嘉地めぐみ (2018. 10～) 伊藤早苗 (2018. 4

<p>(8) 機能性沖縄伝統野菜 のビジネスモデル構築</p>	<p>(株)サンエー</p>		<p>～) 水野正一 (2018.4 ～) △中西淳</p>
-------------------------------------	----------------	--	--

(注1) 研究開発責任者には◎、小課題責任者には○、実行課題責任者には△を付すこと。

I-3. 研究目的

我が国は、超高齢社会を迎え、国民の健康維持増進への関心は非常に高まっている。医食同源という言葉があるように、食品は健康の維持増進や疾病予防に大きな役割を果たしている。2015年4月から新たな機能性表示食品制度がスタートし、地域特産物を機能性表示食品として付加価値を高めようという機運が全国で高まっている。一方、国立がん研究センターによる長年にわたる多目的コホート研究などから、健康の維持・増進に関わる農産物として、大豆食品、アブラナ科野菜などがクローズアップされてきた。そこで、茨城の納豆・豆腐等大豆製品、長野の野沢菜、沖縄のへちま、からし菜などについて、さらなる疫学調査を行うとともに、各地域でコンソーシアムを形成して、各機能性成分を維持・向上させる栽培・加工技術の開発、機能性表示に必要なエビデンス（ヒト介入試験による検証、作用機序解明）を取得する。また、ビジネス化に向けた戦略を策定し、大豆加工食品、野沢菜や沖縄伝統野菜を利用した漬物などの加工食品をあわせて3品以上の機能性表示食品を開発する。さらに、研究で得られたプロセスの手引書を作成し、公表する。

このため本研究では、

1. 多目的コホート研究における農林水産物・食品ならびに機能性成分と健康長寿との関連についての検討では、多目的コホート（全国11カ所、14万人、15年間、138品目の食事調査）のデータ、対象者の生体試料データの解析により、生活習慣病改善効果を有する地域の農産物の発掘、大豆製品、野沢菜、沖縄野菜についての詳細な疫学調査、機能性食品成分摂取量を反映する代謝産物マーカーの同定、生活習慣病発症リスクとの関連性解析、データベース等による情報の公開、
2. 健康を増進する国産大豆を使った機能性表示納豆等の食品開発では、機能性納豆や豆腐の機能性や関与成分の解明、機能性成分高含有納豆、豆腐の製造技術開発、ヒト介入試験による効果の検証、販売戦略の策定、機能性表示食品の届出、
3. 健康を増進する機能性表示野沢菜漬けの開発では、野沢菜の機能性や関与成分の解明、機能性成分量を向上させる栽培・加工技術開発、減塩技術開発、ヒト介入試験による効果の検証、販売戦略の策定、機能性表示食品の届出、
4. 健康を増進する機能性表示へちま、からし菜等の開発では、へちま、からし菜の機能性や関与成分の解明、機能性成分量や収量を向上させる栽培・加工技術開発、機能性成分含量が高い系統・品種の選抜、加工・調理技術の開発、ヒト介入試験による効果の検証、販売戦略の策定、機能性表示食品の届出、を開発目標とする。

その結果、

1. 地域農産物を活用した3品以上の新たな機能性表示食品が開発され、地域農産物の付加価値が高まるとともに、国民の健康維持・増進に寄与する。
2. 機能性食品開発のための「手引書」が公開され、地域農産物の機能性表示を介した消費拡大、他地域での機能性表示食品開発への応用に資する。

I-4. 研究方法

(1) 多目的コホート研究における農林水産物・食品ならびに機能性成分と健康長寿との関連についての検討

- 1) 妥当性が検証済みの、詳細な食物摂取頻度調査票（FFQ）を用いた地域性食品と生活習慣病・健康関連指標の関連解析：1990年より全国14万人を対象に11か所で行われている

多目的コホート研究で収集された、食習慣に関するアンケート：FFQ、がん・循環器疾患・糖尿病などの罹患、死因別ならびに全死亡、体格・健診に関する情報を用い、これまでに機能性が示唆されている食品が健康長寿につながるかどうかを検討する。特に、本研究プロジェクト全体で扱う食品であり、これまでの疫学研究で機能性を有することが示唆されている大豆製品、野沢菜、沖縄野菜等について検討を行う。また、生活習慣病リスクとの関連についてこれまで疫学的な研究が十分になされていないその他の機能性成分を有する食品についても検討し、さらなる機能性表示食品の開発へとつなげる。

- 2) FFQからの機能性成分摂取量の推定と妥当性、再現性の検討および生活習慣病・健康関連指標との関連解析：該当の食品、あるいは食品群のFFQからの摂取量推定の妥当性・再現性を検討し、曝露要因としての精度を担保するとともに、公開された機能性成分表を用いて、FFQならびに食事記録データから機能性成分を算出し、妥当性の検証や健康アウトカムとの関連解析を進めていく。
- 3) 機能性成分摂取を反映する生体指標の同定：食品成分摂取量と疾病発症リスクと関連性を検討する場合、アンケートより推算した機能性食品成分摂取量を用いると、誤分類により真の関連性をとらえられない可能性が示唆されている。そこで、コホート研究のサブサンプルにおいてすでに収集されている血液、尿などの生体試料、食事記録調査・食物摂取頻度調査票の情報を用い、機能性成分摂取を反映する生体指標について、質量分析法などによる候補分子の測定、メタボローム解析など網羅的解析により摂取のマーカーとなる代謝産物の同定を行う。候補分子については機能性成分摂取を反映する生体指標に関しての系統的レビューを行い、有望なマーカーについて、コホート対象者の生体試料を用いて生活習慣病リスクとの関連を検討する。

(2) 健康を増進する国産大豆を使った機能性表示納豆等の食品開発

- 1) 納豆成分 γ -ポリグルタミン酸 (γ -PGA) および γ -PGA含有量が高い納豆についての抗メタボリックシンドローム効果の検討をはじめとするマウスを用いた栄養試験を基盤とした機能性評価試験を行い、 γ -PGAおよび γ -PGA含有量が高い高 γ -PGA納豆の機能性を明らかにするとともに、生化学試験や遺伝子発現解析を用いた機能性評価法を活用して作用機序解析を行う。
- 2) HPLCを活用し、納豆に含まれる機能性成分である γ -PGAの抽出方法を確立し、 γ -PGA含量、分子量、 γ -PGA構成グルタミン酸DL比を測定する。
- 3) 被験食として高 γ -PGA納豆、対照食として γ -PGA含有量が低い納豆を用いてヒト介入試験を実施するとともに、高 γ -PGA納豆の機能性表示食品届出に必要なデータ提供を行う。
- 4) 納豆の粘りの主成分である γ -PGAには機能性が期待されることから、 γ -PGA含有量が高い大豆製品（納豆及び豆腐）の機能性表示食品をタカノフーズが有する既存の納豆および豆腐製造技術を活用して製造・開発する。
- 5) 高 γ -PGA納豆についてのマーケティングを行うために、商品ポジション、ターゲットを計画し、コンセプトを決める。想定販売価格設定、目標販売数を立案する。機能性表示食品申請手続きを行う。

(3) 健康を増進する機能性表示野沢菜の開発

野沢菜漬けに含まれる機能性には、活きた乳酸菌とグルコシノレートの関与が考えられる。そこで、信州大学農学部（長野県上伊那郡）で試験的に製造された野沢菜漬けや各地で製造されている野沢菜漬けより有用乳酸菌を見つけること、ブロッコリースルフォラファンに代表されるアブラナ科植物に含まれるグルコシノレートの摂取量を増やすこと、さらには、塩分を低減することを目的として、新たな野沢菜加工品の製造に着手する。その野沢菜加工品に期待する機能性がヒトに対しても効果を示すか否かを介入試験により検証する。同時に、漬物としてのみ食されてきた野沢菜を新たな形状の商品にした場合の消費者受けについても検討する。

（４）健康を増進する機能性表示へちま、からし菜等の開発

へちまの施設栽培による安定生産技術の開発に向け、天敵による防除効果や花粉媒介昆虫による受粉効果を検討する一方で、蒸し、茹でなどの加熱調理による機能性成分の変動を調査するとともに、へちまの特徴フレーバーに関する研究を行った。また、動物試験において単回・反復の血圧上昇抑制効果を確認するとともに、ヒト介入試験を実施した。

からし菜についても収穫時期別の成分含量の調査などを行うとともに、動物試験を実施した。

I-5. 研究結果

（１）多目的コホート研究における農林水産物・食品ならびに機能性成分と健康長寿との関連についての検討

- 1) 妥当性が検証済みの、詳細な食物摂取頻度調査票（FFQ）を用いた地域性食品と生活習慣病・健康関連指標の関連解析：

納豆等大豆製品、野沢菜漬を含むアブラナ科野菜、へちまなどの沖縄野菜について、がん・循環器疾患のみならず、糖尿病、白内障、血圧、脂質・血糖値マーカー、体重変化など複数の健康長寿に資するアウトカムとの関連について、現在まで、論文出版17報を報告し、2テーマが解析中・投稿中である。研究期間全体で15~50（中央値32.5）テーマの論文化を目指していたため、おおむね目標は達成している。

- 2) FFQからの機能性成分摂取量の推定と妥当性、再現性の検討および生活習慣病・健康関連指標との関連解析機能性成分：

機能性成分として、イソチオシアネート・総ポリフェノールについて機能性成分表の作成を行い、食物摂取頻度調査票からの摂取量と詳細な食事調査からの摂取量について、妥当性、再現性の検証を実施した。イソチオシアネート摂取量、および、総ポリフェノールの摂取量の検討を行い2テーマが投稿中であり、その後の健康指標との関連解析の正確性を裏付けるものとなる。

- 3) 機能性成分摂取を反映する生体指標の同定：

尿試料のイソチオシアネート代謝産物を測定し、摂取量との妥当性を検討する。尿・血漿検体のキャピラリー電気泳動・質量分析(CE-MS)によるメタボローム解析を実施し、個人間・個人内変動について検討し、論文化中である。さらに、発酵性・非発酵性大豆食品、および、アブラナ科野菜と関連する尿中・血漿中のマーカー同定を検討し、論文化を行っている。

（２）健康を増進する国産大豆を使った機能性表示納豆等の食品開発

- 1) については、食餌性0.5% γ -PGAは糖尿病モデルKK-*AY* マウスの腸内菌叢に影響を及ぼし、乳酸菌等を増加させることを見出した。マウスを用いた澱粉負荷試験では、 γ -PGAは澱粉負荷後の血糖の上昇を穏やかにすることを見出した。また、 γ -PGA長期投与マウスは γ -PGAを投与しないマウスに比べて血糖値が有意に低値を示すことを見出した。 γ -PGAは澱粉の吸収を穏やかにすることで血糖値低下作用を発揮する可能性を確認した。
- 2) については、納豆中 γ -PGA含量測定法の検討の過程において、酸分解時間、クロロホルム抽出、トリクロロ酢酸沈殿、添加する塩の種類を検討して、納豆中 γ -PGA含量測定プロトコルを最適化することで、納豆中の γ -PGA含量を高精度で定量することを可能にした。プルラン標準品 (SHODEX P-82) を用いたゲル濾過クロマトグラフ分析を行い、 γ -PGA高含有納豆サンプル中 γ -PGA分子量の測定条件を決定した。ヒト介入試験用 γ -PGA高含有納豆サンプルの γ -PGA分子量を測定した。その結果、当該分子量が消費者庁で定める機能性関与成分の分類 (分子量1,500以上) に該当することを確認して、機能性表示食品の届出に備えた基礎データを取得した。
- 3) については、探索的な単回摂取試験において、非肥満かつ非糖尿病の20-64歳男女を対象とし、高 γ -PGA納豆と低 γ -PGA納豆を用いたランダム化2群クロスオーバー試験を行い、高 γ -PGA納豆食摂取時の食後45分の血糖変化量は 33.4 ± 5.0 (Mean \pm SE) mg/dLと、低 γ -PGA納豆食摂取時の 45.9 ± 6.2 mg/dLに比べ低値であることを見出した ($p < 0.05$)。食後30分、45分のインスリン濃度変化量も、低 γ -PGA納豆食摂取時に比べて高 γ -PGA納豆食摂取時に低値を示した (いずれも $p < 0.05$)。さらに、単回摂取試験の検証試験として、健常人36名を対象とし、食後血糖上昇抑制効果を検討するための食事負荷試験 (ランダム化単盲検クロスオーバー比較試験) を実施した。高 γ -PGA納豆食摂取時の血糖IAUCは、米飯摂取時に比べ、全時点で低値だった (いずれも $p < 0.001$)。さらに、0-15, 0-30, 0-45分の血糖IAUCは、低 γ -PGA納豆食摂取時に比べて高 γ -PGA納豆食摂取時に低く (0-15, 0-30分: $p < 0.001$ 、0-45分: $p < 0.01$)、高 γ -PGA納豆の摂取が特に食直後の血糖上昇抑制に有効となる可能性が期待された。以上のことから、高 γ -PGA納豆の同時摂取は、特に食後早期における血糖値およびインスリン濃度の上昇抑制に有効であり、その効果は、米飯摂取後の血糖変動が大きい人により得られやすくなる可能性が考えられた。
- 4) については、大豆品種を収集し、収集した大豆41品種 (大粒18品種、中粒14品種、小粒6品種、極小粒3品種) 全てについて、納豆試作した結果、いずれも大豆表面に良好な納豆菌の被りが見られ、納豆特有の粘り物質が確認された。 γ -PGA高含有として有望である大豆品種「ことゆたか」を見出した。 γ -PGAをより高含有させることを可能にする納豆の製法を検討し、A.納豆菌株の種類、B.煮豆へのグルタミン酸添加、C.大豆品種の種類、が重要であることが分かった。これらの製法を組みあわせることにより、 γ -PGA量が、従来より挽割りで1.8倍、中粒で1.5倍程度多くなった。納豆製造のロット間誤差についても調査したところ、高 γ -PGA納豆では 803.6 ± 77.9 mg/100g納豆、低 γ -PGA納豆では 104.2 ± 26.6 mg/100g納豆という結果であった。また、納豆の長期冷凍での γ -PGA量の変化調査を実施し、製造2日後、冷凍3ヵ月後、冷凍6ヵ月後においても γ -PGA量の減少が見られないことを確認した。豆腐については、食感と γ -PGA添加量のバランスから450~550mg/豆腐100g程度が良いことが示唆された。 γ -PGA添加豆腐の製造スケールアップ試験 (中ロット試作 大豆10kg程度) を実施し、ポンプ位置や

静止ミキサーでの攪拌による製造が可能であることを明らかにした。

5) については、アンケート調査により、納豆・豆腐の機能性表示食品の購入意向を調査。

【是非買いたい+まあまあ買いたい】のTOP2を見ると納豆は49%、豆腐51%と豆腐のほうがやや高い結果。男性と女性とで比較すると、女性の関心度が高い結果となった。納豆摂取の魅力点では「普段食べる納豆で血糖値の上昇を制御できることが魅力的」「糖質の吸収を抑えて糖尿病予防として」等が挙がっており、日常の食事で健康予防ができる点が評価された。消費者アンケートにおいて、精度の高いサンプル数を確認し、消費者アンケートにおいて、400サンプル以上の人数で調査設計が必要だと確認した。100サンプルで標本誤差が10%。400サンプルは標本誤差が5%未満。標本誤差5%以下が有意水準であった。消費者アンケートの結果、糖尿病に対して健康不安を感じて生活されている方は約半分程度おり、比較的男性に多い。様々な症状に対し、日常的な食品である「納豆」で健康対策できることへの期待値は非常に高く、全体の約7割が興味関心があることがわかった。

(3) 健康を増進する機能性表示野沢菜の開発

信州大学に保管されている野沢菜漬け由来乳酸菌株の中から低pH耐性、胆汁酸耐性を基に#4G2およびK5G3の2株を選抜した。それらの生菌（凍結乾燥末）を高脂肪食に混ぜてマウスに与えたところ、K5G3株に肥満抑制効果があることが明らかとなった。野沢菜に安定した品種がなく、不安定な株が継代されている状態であるため、グルコシノレート含量に幅がある。そこで、葉や茎から13分でグルコシノレート含量を測定できる多点簡易迅速定量法を確立した上で、グルコシノレート含量の多い株・少ない株を継代栽培し、高含有No. 2株と低含有（プラセボ用）No. 9株を決定した。野沢菜加工品中のグルコシノレート類を精度よく定量するための固相抽出法も合わせて確立した。これらの乳酸菌、野沢菜を用いて試験食を4種類製造し、体脂肪変化を主要評価項目とするヒト介入試験を行った。試験食は、1食あたり塩分量を0.1g以下となるように調整した。ヒト介入試験の結果、高グルコシノレート食を12週間摂取することにより血液中中性脂肪値が低下する可能性が示唆された。試験食と野沢菜加工品を用いて、ホームユーステストを行ったところ、機能性説明があった場合の受容価格帯は400～500円/パック程度であることが明らかとなった。

(4) 健康を増進する機能性表示へちま、からし菜等の開発

へちまの施設栽培においては、天敵製剤および土着天敵を利用することで害虫被害が抑制され、農薬散布の回数が大幅に減少し、安定生産につながった。

へちまは茹で調理することで血圧上昇抑制効果のあるGABAが茹で汁に溶出することがわかった。また、へちまの品種や調理法の違いにより特徴フレーバー、特に土臭さに関連する成分の形成が異なることを定量的に明らかにすることができた。動物試験において単回・反復の血圧上昇抑制効果を確認できた。これらの結果をもとにへちまを用いたヒト介入試験を実施した。

生鮮へちまは真空包装することによりGABAが増加することを明らかにし、機能性表示食品とすることとした。

からし菜についても収穫時期によって一定以上のGABAが含まれることを明らかにすることができた。また動物試験において血糖値上昇抑制効果を確認できた。

I-6. 今後の課題

(1) 多目的コホート研究における農林水産物・食品ならびに機能性成分と健康長寿との関連についての検討

妥当性・再現性を検証した機能性成分である、イソチオシアネートおよび総ポリフェノールについて、食事からの摂取量と健康アウトカムとの関連についての研究を推進すること、また、本研究で示された、健康寿命延伸に資する可能性のある、納豆、アブラナ科野菜について、これらの農産物に含まれる、その他の機能性成分の発掘と健康影響を検証することが今後の課題である。さらに、メタボローム研究において、発酵性・非発酵性大豆食品、および、アブラナ科野菜と関連する尿中・血漿中のマーカーを検討し、自身の摂取を知ることで行動変容につなげられる、より客観的な簡便なマーカーを同定することが今後の課題である。

(2) 納豆及び納豆成分の機能性評価

機能性表示食品の届出を完了する。

(3) 健康を増進する機能性表示野沢菜の開発

届出に向け、介入試験の血液検査の結果等、一部データがまだ揃っていない。全データが揃ったのち、さらなる機能性検証解析を進め、論文化する。ホームユーステストの回答より、もっとやわらかい形状の野沢菜加工品であった方が好まれると思われた。野沢菜加工品流通を持続可能な形で維持するためにも、引き続き機能性成分を担保したまま形状等の改善を続ける必要がある。製造コストについても、再考する必要がある。

(4) 健康を増進する機能性表示へちま、からし菜等の開発

機能性表示食品届出後のGABA含量モニタリングの実施方法を決定する必要がある。

小課題番号	課題①	小課題 研究期間	平成28～ 令和2年度
小課題名	多目的コホート研究における農林水産物・食品ならびに機能性成分と健康長寿との関連についての検討		
小課題 代表研究機関・研究室・研究者 名	国立がん研究センター 社会と健康研究センター 予防研究グループ 津金昌一郎、笹月静、島津太一、澤田典絵、森渚、野末みほ、山極洋子、Thomas Svensson、Calistus Wilunda、村井詩子		

II. 小課題ごとの研究目的等

1) 研究目的

多目的コホート研究により、地域農産物、食品・機能性成分の摂取と生活習慣病リスク・健康関連指標との関連解析から、リスク低下効果が期待される地域農産物・食品・機能性成分を明らかにする。

2) 研究方法

- (1) 妥当性が検証済みの、詳細な食物摂取頻度調査票 (FFQ) を用いた地域性食品と生活習慣病・健康関連指標の関連解析：1990年より全国14万人を対象に11か所で行われている 多目的コホート研究で収集された、食習慣に関するアンケート：食物摂取頻度調査票 (FFQ)、がん・循環器疾患・糖尿病などの罹患、死因別ならびに全死亡、体格・健診に関する情報を用い、これまでに機能性が示唆されている食品が健康長寿につながるかどうかを検討する。特に、本研究プロジェクト全体で扱う食品であり、これまでの疫学研究で機能性を有することが示唆されている大豆製品、野沢菜、沖縄野菜等について検討を行う。また、生活習慣病リスクとの関連について、これまで疫学的な研究が十分になされていないその他の機能性成分を有する食品についても検討し、さらなる機能性表示食品の開発へとつなげる。
- (2) FFQからの機能性成分摂取量の推定と妥当性、再現性の検討および生活習慣病・健康関連指標との関連解析：該当の食品、あるいは食品群のFFQからの摂取量推定の妥当性・再現性を検討し、曝露要因としての精度を担保するとともに、公開された機能性成分表を用いて、FFQならびに食事記録データから機能性成分を算出し、妥当性の検証や健康アウトカムとの関連解析を進めていく。
- (3) 機能性成分摂取を反映する生体指標の同定：食品成分摂取量と疾病発症リスクとの関連性を検討する場合、アンケートより推算した機能性食品成分摂取量を用いると、誤分類により真の関連性をとらえられない可能性が示唆されている。そこで、コホート研究のサブサンプルにおいてすでに収集されている血液、尿などの生体試料、食事記録調査・食物摂取頻度調査票の情報を用い、機能性成分摂取を反映する生体指標について、質量分析法 などによる候補分子の測定、メタボローム解析など網羅的解析により摂取のマーカーとなる代謝産物の同定を行う。候補分子については機能性成分摂取を反映する生体指標に関しての系統的レビューを行い、有望なマーカーについて、コホート対象者の生体試料を用いて生活習慣病リスクとの関連を検討する。

3) 研究結果

(1) 妥当性が検証済みの、FFQを用いた地域性食品と生活習慣病・健康関連指標の関連解析：

納豆等大豆製品、野沢菜漬を含むアブラナ科野菜、へちまなどの沖縄野菜について、がん・循環器疾患のみならず、糖尿病、白内障、血圧、脂質・血糖値マーカー、体重変化など複数の健康長寿に資するアウトカムとの関連について、現在まで、論文出版17報を報告し、2テーマが解析中・投稿中である。研究期間全体で15～50（中央値32.5）テーマの論文化を目指していたため、おおむね目標は達成している。

納豆等大豆製品については、発酵性大豆製品を多く摂取する群で、高値血圧発症リスク、循環器疾患罹患リスク、進行乳がんリスクの低下がみられ、BMI25以上の群では納豆摂取と血中脂質に負の関連をみとめた。また、みそ摂取が多い群で男性の肝がんリスクの低下がみられた一方で、大豆・豆腐類を多く摂取する群で膵がんリスクの上昇、および、大豆・みそを多く摂取する群で前立腺がん死亡の上昇がみられた。

野沢菜漬けを含むアブラナ科野菜については、アブラナ科野菜が多い群で、死亡リスク、肺がん罹患リスク、男性の白内障リスクの低下がみられた。野菜摂取の多い群で、肝外胆管がんのリスク低下が、また、野菜摂取量が増えると体重減少と関連があることを示した一方で、アブラナ科野菜との関連は認められなかった。さらに、アブラナ科野菜と大腸がん、膵がんとの関連は認められなかった一方で、野菜摂取量が多い群で膵がんのリスク上昇がみとめられた。

へちまなどの沖縄野菜については、沖縄野菜摂取量と循環器疾患罹患・糖尿病発症リスクとの関連は認められなかった。

本プロジェクトでの成果から、大豆食品、野菜において、疾病との関連や、疾病の中間マーカーとの関連において、リスクが上がるものもあれば、下がるものもあることがわかったが、総じて、納豆や野沢菜漬けを含むアブラナ科野菜については、本コホート研究において、健康に対する明確な悪影響は検出されておらず、死亡リスク低下など健康寿命延伸に資する方向のエビデンスが得られた。

(2) FFQからの機能性成分摂取量の推定と妥当性、再現性の検討および生活習慣病・健康関連指標との関連解析機能性成分：

機能性成分として、イソチオシアネート・総ポリフェノールについて機能性成分表の作成を行い、食物摂取頻度調査票からの摂取量と詳細な食事調査からの摂取量について、妥当性、再現性の検証を実施した。イソチオシアネート摂取量、および、総ポリフェノールの摂取量の検討を行い2テーマが投稿中であり、その後の健康指標との関連解析の正確性を裏付けるものとなる。

尿中イソチオシアネートを用いた、イソチオシアネート摂取量の妥当性について、加熱調理によりイソチオシアネートに分解するミロシナーゼが失活することを考慮して、検討を行ったが、イソチオシアネート摂取量と尿中イソチオシアネートの相関は加熱を考慮してもあまり変わらなかった。腸内細菌などによりイソチオシアネートに分解される影響が考えられた。また、アブラナ科野菜の摂取量が多い冬で、尿中イソチオシアネートと摂取量（食事記録）の相関が高くなり、季節による違いがみられ、FFQでは季節性を把握しきれない可能性がある。

総ポリフェノール摂取量の妥当性について、食事記録とFFQの摂取量は中程度の相関が得られた。欧州人では、総ポリフェノールの寄与食品がコーヒー、リンゴ・なし、ワインの順であったのに対し、日本人では、男性で緑茶、ビール、しょうゆの順に、女性で緑茶、インスタントコーヒー、しょうゆの順であり、緑茶が最も寄与している食品であることが特

徴的であった。

(3) 機能性成分摂取を反映する生体指標の同定：

尿試料のイソチオシアネート代謝産物を測定し、摂取量との妥当性を検討する。尿・血漿検体のキャピラリー電気泳動・質量分析(CE-MS)によるメタボローム解析を実施し、個人間・個人内変動について検討し、論文化中である。さらに、発酵性・非発酵性大豆食品、および、アブラナ科野菜と関連する尿中・血漿中のマーカー同定を検討し、論文化を行っている。

4) 成果活用における留意点

大豆食品、野菜において、疾病との関連や、疾病の中間マーカーとの関連において、リスクが上がるものもあれば、下がるものもあることがわかった。個別の研究は一つのエビデンスであり、一つのエビデンスをより確実なものとするためには、ほかの研究からのエビデンスの蓄積や、より大きなコンソーシアムでの検討などにより、総合的に評価する必要があることに留意すべきであるが、納豆や野沢菜漬けを含むアブラナ科野菜については、本コホート研究において、健康に対する明確な悪影響が検出されておらず、死亡リスク低下など健康寿命延伸に資する方向のエビデンスが得られている。今回の特異的な機能性以外の健康アウトカムにも良い影響を及ぼす可能性が示唆される。

5) 今後の課題

妥当性・再現性を検証した機能性成分である、イソチオシアネートおよび総ポリフェノールについて、食事からの摂取量と健康アウトカムとの関連についての研究を推進すること、また、本研究で示された、健康寿命延伸に資する可能性のある、納豆、アブラナ科野菜について、これらの農産物に含まれる、その他の機能性成分の発掘と健康影響への検証が、今後の課題である。

さらに、メタボローム研究において、発酵性・非発酵性大豆食品、および、アブラナ科野菜と関連する尿中・血漿中のマーカーを検討し、自身の摂取を知ることで行動変容につなげられる、より客観的な簡便なマーカーを同定することが今後の課題である。

小課題番号	課題②	小課題 研究期間	平成28～ 令和2年度
小課題名	健康を増進する国産大豆を使った機能性表示納豆等の食品 開発		
小課題 代表研究機関・研究室・研究者 名	農研機構食品研究部門・栄養健康機能ユニット・田村基 名		

II. 小課題ごとの研究目的等

1) 研究目的

- (1) 納豆成分 γ -ポリグルタミン酸(γ -PGA)および γ -PGA含有量が高い納豆についての機能性評価試験を行い、 γ -PGAおよび γ -PGA含有量が高い高 γ -PGA納豆の機能性を明らかにするとともに、生化学試験や遺伝子発現解析を用いて作用機序解析を行う。
- (2) 納豆に含まれる機能性成分である γ -PGAの定量及び定性法を検討し、測定技術を確立する。確立した γ -PGAの測定技術を用いて、タカノフーズが試作したヒト試験用納豆、動物試験用納豆粉末の γ -PGAの測定を行う。
- (3) 納豆特有の成分である γ -PGAの機能性に着目し、機能性大豆食品がヒトの健康増進に及ぼす影響について、介入試験を実施して検討する。
- (4) γ -PGA高生産が期待される国産大豆品種の選抜や、 γ -PGAをより高含有させる納豆の製造方法の開発を行う。また、 γ -PGA高含有豆腐の製造方法の研究開発を行う。開発した製造方法をもとにして、ヒト介入予備試験のための大豆製品サンプル製造、ヒト介入本試験のための大豆製品サンプル製造、工場スケールでの製造方法の検討を行う。 γ -PGA含有量が高い納豆についての機能性表示届出を行う。
- (5) γ -PGA含有量が高い納豆についてのマーケティング及び、商品設計、商品価値の検証を行う。納豆の主成分である γ -PGAには機能性が期待されることから、 γ -PGA含有量が高い大豆製品(納豆及び豆腐)の開発を行うため、アンケート等を用いて、マーケティングを行うとともにビジネスモデルを構築し、開発した大豆製品についての機能性表示食品届出を行う。

2) 研究方法

- (1) 納豆成分 γ -PGAおよび高 γ -PGA納豆についての抗メタボリックシンドローム効果の検討をはじめとするマウスを用いた栄養試験を基盤とした機能性評価試験を行い、 γ -PGAおよび高 γ -PGA納豆の機能性を明らかにするとともに、生化学試験や遺伝子発現解析を用いた機能性評価法を活用して作用機序解析を行う。
- (2) HPLCを活用し、納豆に含まれる機能性成分である γ -PGAの抽出・分析方法を確立し、 γ -PGA含量、分子量、 γ -PGA構成グルタミン酸DL比を測定する。
- (3) 被験食として高 γ -PGA納豆、対照食として γ -PGA含有量が高い納豆を用いてヒト介入試験を実施するとともに、高 γ -PGA納豆の機能性表示食品届出に必要なデータ提供を行う。
- (4) 納豆の粘りの主成分である γ -PGAには機能性が期待されることから、 γ -PGA含有量が高い大豆製品(納豆及び豆腐)の機能性表示食品をタカノフーズが有する既存の納豆および豆腐製造技術を活用して製造・開発する。

(5) 高 γ -PGA納豆についてのマーケティングを行うために、商品ポジション、ターゲットを計画し、コンセプトを決める。想定販売価格設定、目標販売数を立案する。機能性表示申請手続きを行う。

3) 研究結果

(1) については、食餌性0.5% γ -PGAは糖尿病モデルKK-*A^J*マウスの腸内菌叢に影響を及ぼし、乳酸菌等を増加させることを見出した。マウスを用いた澱粉負荷試験では、 γ -PGAは澱粉負荷試験で血糖の上昇を穏やかにすることを見出した(図 2-1)。また、 γ -PGA長期投与マウスは γ -PGAを投与しないマウスに比べて血糖値が有意に低値を示すことを見出し(図 2-2)、 γ -PGAは澱粉の吸収を穏やかにすることで血糖値低下作用を発揮する可能性を確認した。 γ -PGA高含有納豆を投与したマウスは、対照食を投与したマウスと比べて、血糖値が有意に低い結果となった($P < 0.05$)。 γ -PGA高含有納豆群と対照群では、腸内菌叢の構成に違いが認められ、高 γ -PGA含有納豆群は対照群よりも*Actinobacteria*占有率が有意に低く、*Firmicutes*と*Bacteroidetes*の占有率が有意に高い結果となった(図 2-3)。肝臓の遺伝子発現解析では、 γ -PGA高含有納豆を投与したマウスは肝臓の*Fxr*遺伝子発現量が有意に高値を示した(図 2-4)。小腸の*Tgr5*(図 2-5)と*Pyy*の遺伝子発現量(図 2-6)が有意に高値を示した。 γ -PGA高含有納豆は、消化管ホルモン産生に関与している可能性が示唆された。

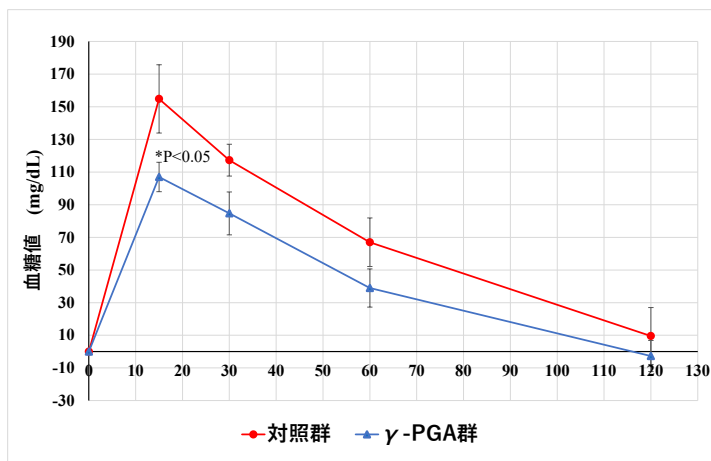


図 2-1. 澱粉負荷試験の結果、 γ -PGAは、澱粉投与15分後の血糖値が対照群よりも有意に低値を示した。

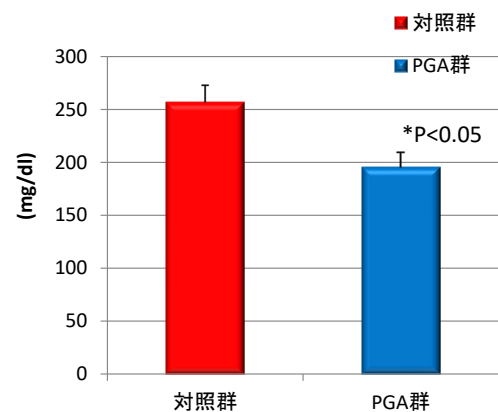


図 2-2. 0.1% γ -PGA添加食の長期投与は対照群よりも血糖値を低下させた。

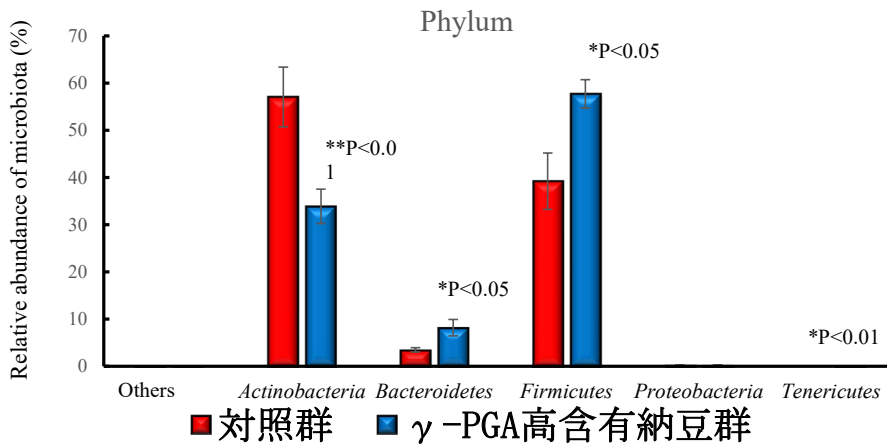


図 2-3 腸内菌叢の解析結果 高 γ -PGA含有納豆群は対照群よりも *Actinobacteria* 占有率が有意に低く、*Firmicutes* と *Bacteroidetes* の占有率が有意に高い結果となった。

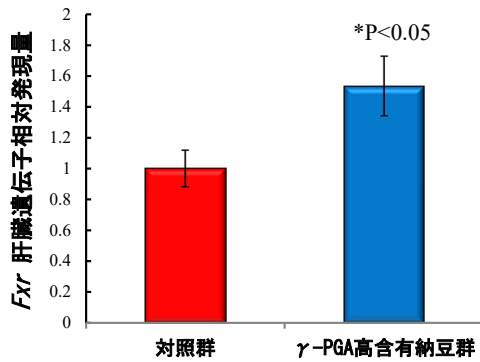


図 2-4 γ -PGA含有納豆を投与したマウスは肝臓の *Fxr* 遺伝子発現量が有意に高値を示した。

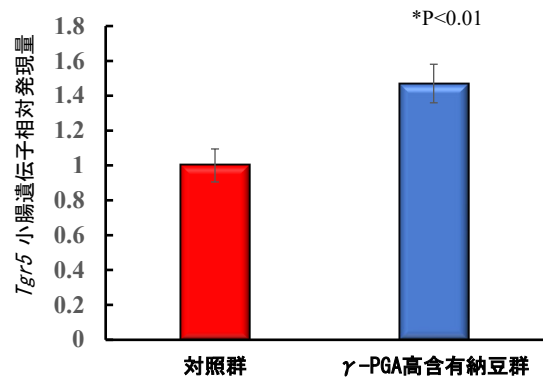


図 2-5 γ -PGA含有納豆を投与したマウスは小腸の *Tgr5* 遺伝子発現量が有意に高値を示した。

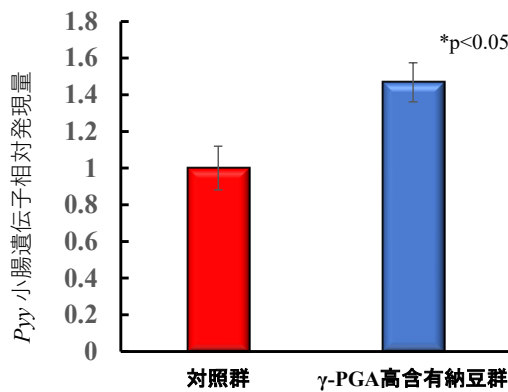


図 2-6 γ -PGA含有納豆を投与したマウスは小腸の *Pyy* 遺伝子発現量が有意に高値を示した。

(2) については、納豆中 γ -PGA含量測定法の中で、酸分解時間、クロロホルム抽出、トリクロロ酢酸沈殿、添加する塩の種類を検討して、納豆中 γ -PGA含量測定プロトコールを最適化することで、納豆中の γ -PGA含量を高精度で定量することを可能にした。プルラン標準品 (SHODEX P-82) を用いたゲル濾過クロマトグラフ分析を行い、 γ -PGA高含有納豆サンプル中 γ -PGA分子量の測定条件を決定した。ヒト介入試験用 γ -PGA高含有納豆サンプルの γ -PGA分子量を測定した。その結果、当該分子量が消費者庁で定める機能性関与成分の分類(分子量1,500以上)に該当することを確認して、機能性表示食品の届出に備えた基礎データを取得した(図2-7)。動物試験における給餌用サンプルの γ -PGA含量を測定した結果、 γ -PGA高含有納豆、 γ -PGA低含有納豆ともにサンプル受取時の γ -PGA含有量を保持していることを確認した(図2-8)。タカノフーズ(株)から提供された、発酵室内2か所(上段, 下段)で製造された最終製品(予定)サンプルの γ -PGA含量を測定した。その結果、発酵室(上段)製造サンプルの γ -PGA含量は 856.7 ± 29.2 (mg/納豆100g)、発酵室(下段)製造サンプルの γ -PGA含量は 685.9 ± 80.7 (mg/納豆100g)であった(図2-9)。以上より、現場では製造環境の違いにより製品中の γ -PGA含量が異なる場合があるということが明らかになった。

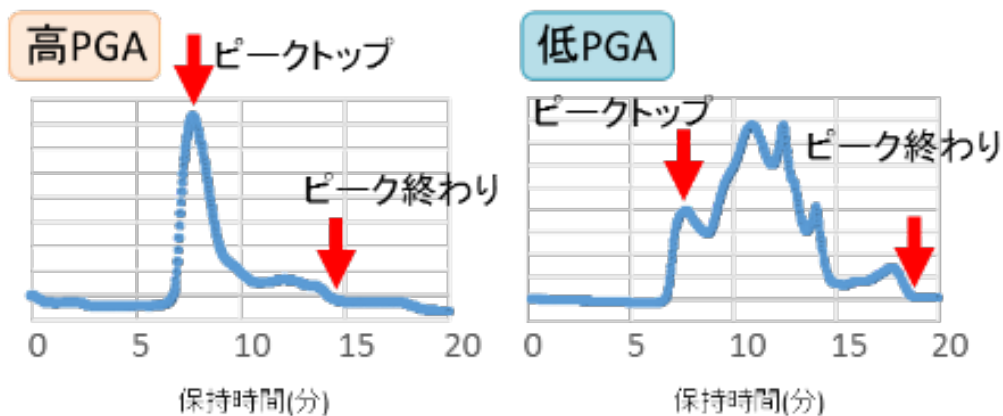


図2-7. ヒト介入試験用納豆サンプルの γ -PGA分子量測定におけるHPLCクロマトグラム

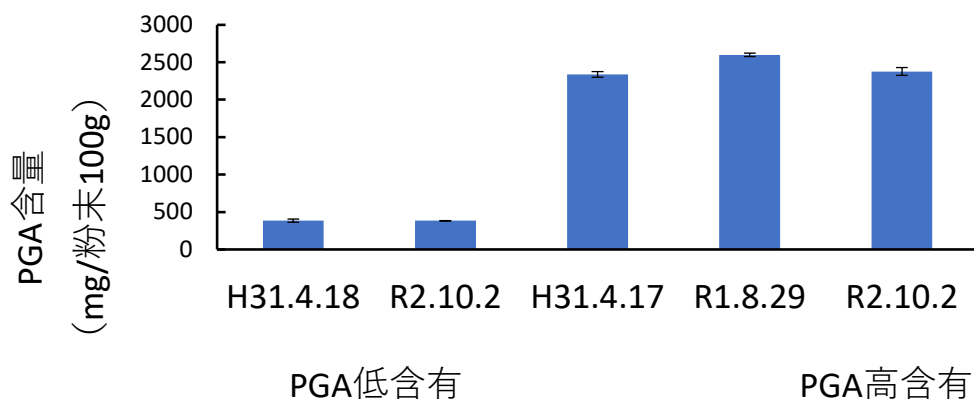


図2-8. 動物試験給餌用サンプルは、PGA高含有、低含有納豆ともにサンプル受取時のPGA含有量を保持していることを確認した。(N=3)

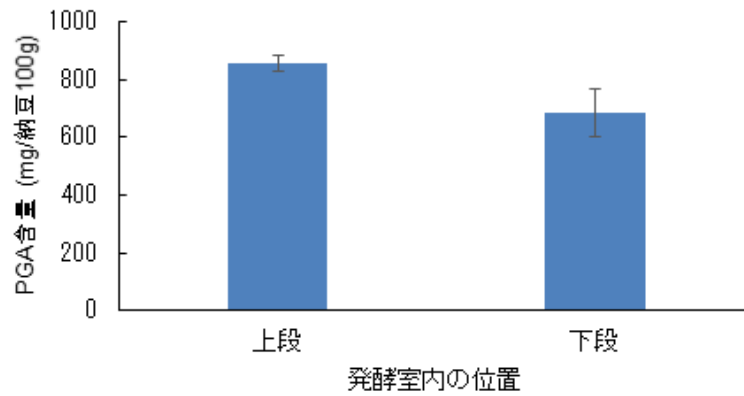
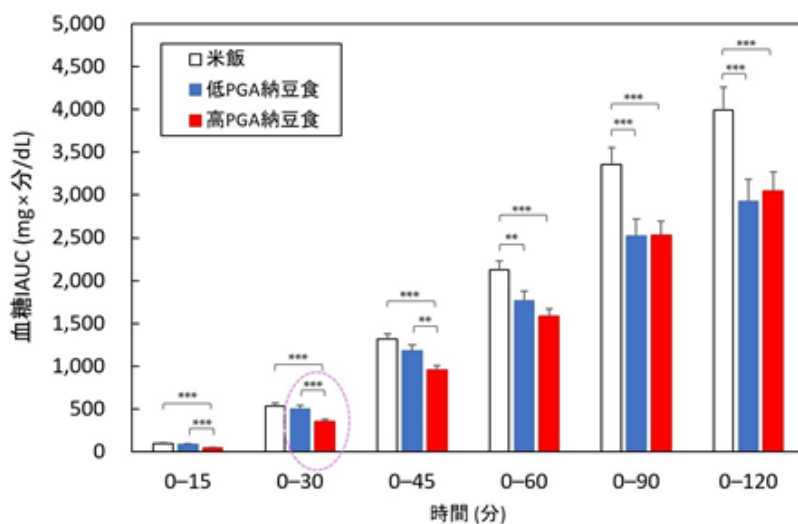


図2-9. 発酵室内2か所で製造された最終製品(予定)サンプルのγ-PGA含量

(3) については、探索的な単回摂取試験において、非肥満かつ非糖尿病の20-64歳男女を対象とし、高γ-PGA納豆と低γ-PGA納豆を用いたランダム化2群クロスオーバー試験を行い、高γ-PGA納豆食摂取時の食後45分の血糖変化量は 33.4 ± 5.0 (Mean \pm SE) mg/dLと、低γ-PGA納豆食摂取時の 45.9 ± 6.2 mg/dLに比べ低値だった ($p < 0.05$)。食後30分、45分のインスリン濃度変化量も、低γ-PGA納豆食摂取時に比べて高γ-PGA納豆食摂取時に低値を示した (いずれも $p < 0.05$)。さらに、単回摂取試験の検証試験として、健常人36名を対象とし、食後血糖上昇抑制効果を検討するための食事負荷試験 (ランダム化単盲検クロスオーバー比較試験) を実施した。高γ-PGA納豆食摂取時の血糖IAUCは、米飯摂取時に比べ、全時点で低値だった (いずれも $p < 0.001$)。さらに、0-15、0-30、0-45分の血糖IAUCは、低γ-PGA納豆食摂取時に比べて高γ-PGA納豆食摂取時に低く (0-15、0-30分: $p < 0.001$ 、0-45分: $p < 0.01$)、高γ-PGA納豆の摂取が特に食直後の血糖上昇抑制に有効となる可能性が期待された(図2-10)。以上のことから、高γ-PGA納豆の同時摂取は、特に食後早期における血糖値およびインスリン濃度の上昇抑制に有効であり、その効果は、米飯摂取後の血糖変動が大きい人でより得られやすくなる可能性が考えられた。



データは推定平均±標準誤差で示した。
解析には各時点の血糖IAUCを従属変数、被験者を変量効果、試験食と群を固定効果とした線形混合モデルを用いた。 **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

図2-10. 食事負荷試験時の血糖IAUC (インクリメンタルAUC) の変化

(4) については、大豆品種を収集し、収集した大豆41品種（大粒18品種、中粒14品種、小粒6品種、極小粒3品種）全てについて、納豆試作した結果、いずれも大豆表面に良好な納豆菌の被りが見られ、納豆特有の粘り物質が確認された。γ-PGA高含有として有望である大豆品種「ことゆたか」を見出した。γ-PGAをより高含有させることを可能にする納豆の製法を検討し、A. 納豆菌株の種類、B. 煮豆へのグルタミン酸添加、C. 大豆品種の種類、が重要であることが分かった。これらの製法を組みあわせることにより、γ-PGA量が、従来より中粒で1.5倍程度多くなった(図2-11)。納豆製造のロット間誤差についても調査したところ、高γ-PGA納豆では 803.6 ± 77.9 mg/100g納豆、低γ-PGA納豆では 104.2 ± 26.6 mg/100g納豆という結果であった。また、納豆の長期冷凍でのγ-PGA量の変化調査を実施し、製造2日後、冷凍3ヵ月後、冷凍6ヵ月後においてもγ-PGA量の減少が見られないことを確認した(図2-12)。豆腐のγ-PGA添加量については、食感とγ-PGA添加量のバランスから450~550mg/豆腐100g程度が良いことが示唆された。γ-PGA添加豆腐の製造スケールアップ試験（中ロット試作 大豆10kg程度）を実施し、ポンプ位置や静止ミキサーでの攪拌による製造が可能であることを明らかにした。市販納豆とのγ-PGA量比較を行い、タカノフーズがヒット試験用に製造した高γ-PGA納豆が最もγ-PGA含有量が高いことを確認した(図2-13)。

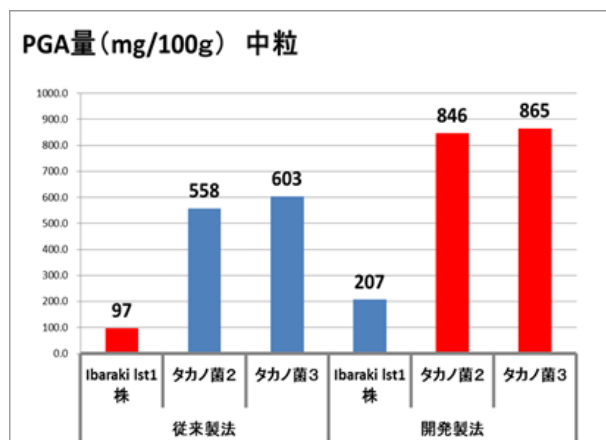


図 2-11. 各種納豆菌を用いて、グルタミン酸添加（開発製法）した際のγ-PGA量の違い

各種納豆菌を用いて、グ

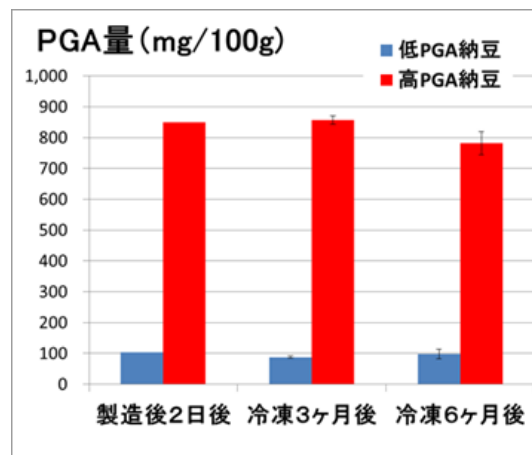


図 2-12. 納豆製造2日後、冷凍3ヵ月後、冷凍6ヵ月後のγ-PGA含量

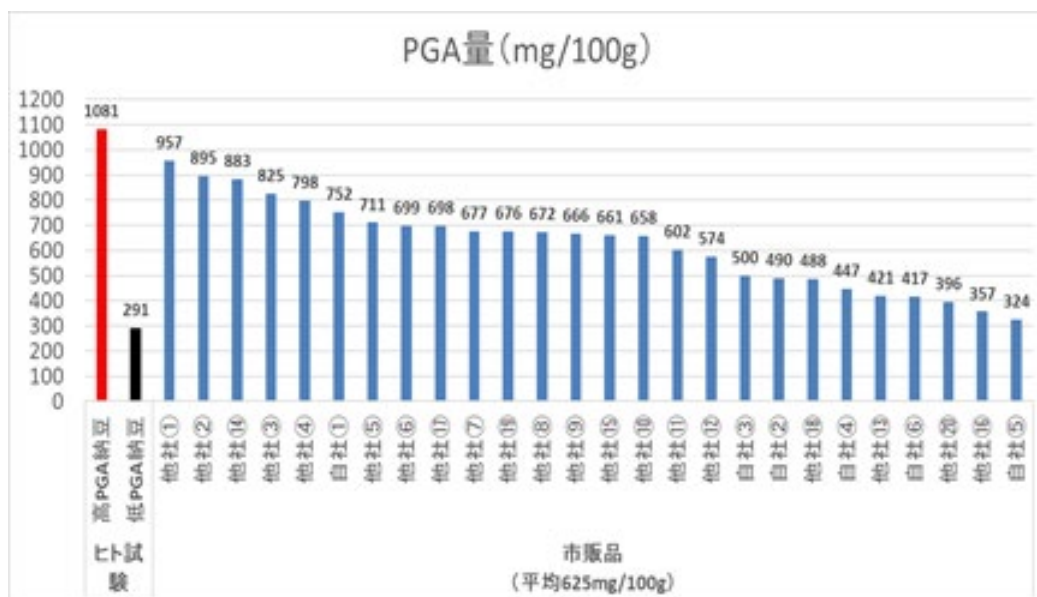


図 2-13. タカノフーズがヒト試験用に製造した高 γ -PGA納豆と市販納豆との γ -PGA量比較結果

(5) については、アンケート調査により、納豆・豆腐の機能性表示食品の購入意向を調査。

【是非買いたい+まあ買いたい】のTOP2を見ると納豆は49%、豆腐51%と豆腐のほうがやや高く、女性の関心度が高い結果となった(図2-14)。納豆摂取の魅力点では「普段食べる納豆で血糖値の上昇を制御できること」や「糖質の吸収を抑えて糖尿病予防として」等が挙がっており、日常の食事で健康維持ができる点が評価された。消費者アンケートにおいて、精度の高いサンプル数を確認し、400サンプル以上の人数で調査設計が必要だと確認した。消費者アンケートの結果、糖尿病に対して健康不安を感じて生活されている方は約半分程度おり、比較的男性に多い。様々な症状に対し、日常的な食品である「納豆」で健康対策できることへの期待値は非常に高く、全体の約7割が興味関心があることがわかった。消費者へグループインタビュー(図 2-15)の結果、「血糖値リスクへ不安のある」ターゲットのみならず「糖質を控えたい」ターゲットも狙える商品であることを確認できた。

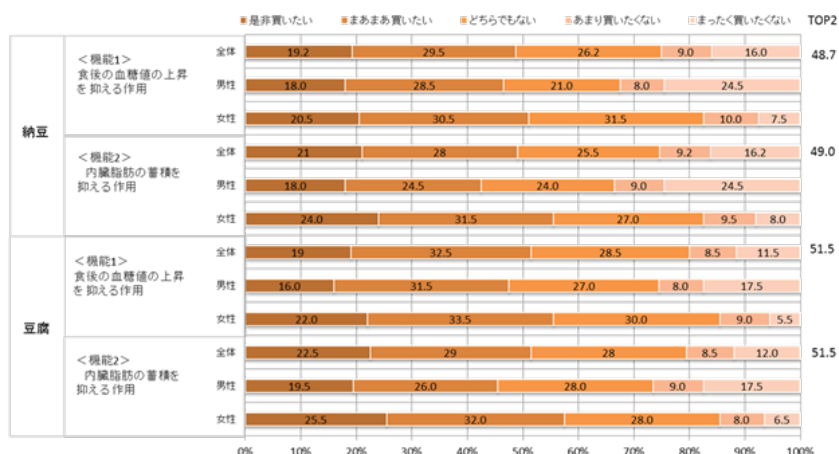


図 2-14. 納豆・豆腐製品の機能性商品の受容性についてアンケート調査結果

糖質の摂りすぎによる食後血糖値の上昇抑制を
 ポリグルタミン酸高含有のFFC納豆で対策したいと思うか、
 仮説ストーリーを構築し、血糖値ケア・糖質ケアの両層で検証。

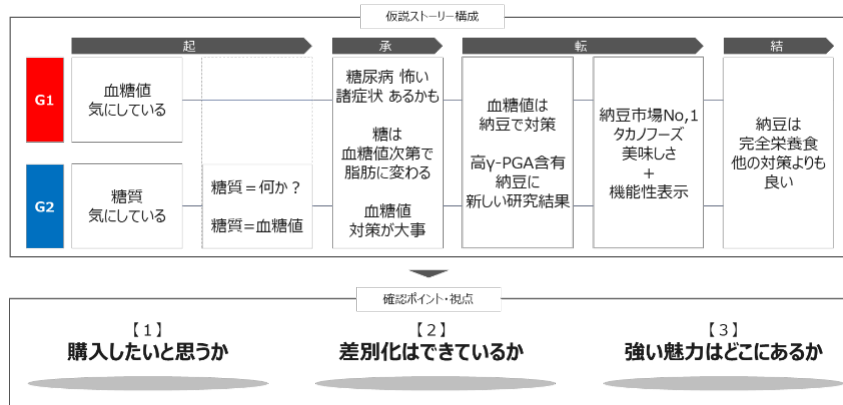


図 2-15. 商品ターゲットの設定とパッケージへの評価を目的にグループインタビュー調査を行った際の確認ポイント

4) 成果活用における留意点

高γ-PGA納豆の同時摂取は、特に食後早期における血糖値およびインスリン濃度の上昇抑制に有効であり、その効果は、米飯摂取後の血糖変動が大きい人でより得られやすくなる可能性がある。

高単価商品のマーケットが広がってきており、機能性食品を販売するには良い状況となってきた。

5) 今後の課題

機能性表示食品の届出を早めに完了する。

小課題番号	課題③	小課題 研究期間	平成28～ 令和2年度
小課題名	健康を増進する機能性表示野沢菜の開発		
小課題 代表研究機関・研究室・研究者 名	農研機構食品研究部門・感覚機能解析ユニット・河合崇行 名		

II. 小課題ごとの研究目的等

1) 研究目的

長野県は健康長寿の県として知られ、健康長寿への葉菜類を始めとする野菜の摂取の寄与が示唆されている。野沢菜漬けは特に長野県で生産・消費される地域農産物である。そこで、本小課題では、グルコシノレート類等の機能性成分を高含有する野沢菜品種を選定し、分離した機能性植物性乳酸菌を用いて機能性・嗜好性が高く、減塩の達成された野沢菜加工品の製造技術を確認する。機能性野沢菜の販売戦略を策定するとともに、介入試験を実施して機能性表示食品としての届出を目指す。

2) 研究方法

野沢菜漬けに含まれる機能性には、活きた乳酸菌とグルコシノレートの関与が考えられる。そこで、信州大学農学部（長野県上伊那郡）で試験的に製造された野沢菜漬けや各地で製造されている野沢菜漬けより有用乳酸菌を見つけること、ブロッコリースルフォラファンに代表されるアブラナ科植物に含まれるグルコシノレートの摂取量を増やすこと、さらには、塩分を低減することを目的として、新たな野沢菜加工品の製造に着手する。その野沢菜加工品に期待する機能性がヒトに対しても効果を示すか否かを介入試験により検証する。同時に、漬物としてのみ食されてきた野沢菜を新たな形状の商品にした場合の消費者受けについても検討する。

(1) 有用乳酸菌の選抜と機能性評価

野沢菜漬けの抗肥満効果を検証するために、野沢菜原料と食塩水（食塩は原料の7%重量）をポリ袋に入れ、10℃で漬け込み、原料と漬け込み後28日目の野沢菜漬けの熱水抽出物を調製し、高脂肪含有飼料に混ぜて、C57BL/6マウス（雄、7週齢）に30日間摂取させる。野沢菜原料および野沢菜漬け抽出物の摂取量は、20 mg/mouse/dayとする。毎日マウスの体重および摂取量を、摂取開始から30日後にマウスから精巣上体周囲脂肪組織の重量を測定する。

乳酸菌の機能性には死菌で効くものや生菌で効くものがある。本プロジェクトでは機能性表示食品の届出を目指していることから、生菌で効く機能性をターゲットとする。野沢菜漬け由来乳酸菌のうち、生きて腸内まで届く株を探索するために、菌株ライブラリの低pH耐性および胆汁酸耐性をin vivo実験により調べる。

マウスに高脂肪食を摂取させ肥満を誘導し、ブランチング野沢菜とスターター醗酵野沢菜漬け、乳酸菌、およびその両者を投与し、体重の推移・脂肪組織重量等を比較する。肝臓・脂肪組織・腸管等での遺伝子発現解析を計測し、作用を推定する。

(2) 高グルコシノレート野沢菜株の選抜とグルコシノレート定量法の確立育種選抜するため

には、生育中の野沢菜株よりグルコシノレート量を迅速に測定する必要がある。そこで、芹澤・唐沢メソッドを改良し、島津製作所製質量分析装置LCMS-2020に取り付けたDevelosil HB C30-UG-3カラムを用いた多点簡易迅速定量法を開発する。その手法に基づき、作期別の野沢菜の葉および茎に含有されるグルコシノレート量を測定し、季節変動を検討する。また、サカタのタネより入手した種より野沢菜を栽培し、葉および茎に含有されるグルコシノレート量を測定することにより、高含有株・低含有株を選抜する。選抜した株を増やし、介入試験に供することができる量を確保するとともに、グルコナピン量が維持されているか否かを確認する。

グルコシノレート類の分析方法として、質量分析計を用いた定量方法の検討や、固相抽出による目的成分の精製・濃縮を検討する。その後分析方法を改良し、室間共同試験による妥当性確認を行った上で、分析方法として確立する。その分析方法を用いて、介入試験用野沢菜加工品および関連する試料のグルコシノレート類の消長に関するデータを蓄積する。介入試験用野沢菜加工品を作製するために、スチーム等最適な加熱方法の選択、減圧乾燥等、最適な乾燥方法の選択等、機能性を保持する最適な野沢菜の加工法を確立する。

- (3) 野沢菜加工品の減塩技術と設計野沢菜を食するにあたり、現行の漬物のままでは塩分が高く、機能性があっても推奨する訳にはいかない。機能性野沢菜漬けに必要と考えられるものは、①活きた乳酸菌、②乳酸醗酵させた野沢菜、③グルコシノレートを多く含む野沢菜である。野沢菜漬け由来の乳酸菌の中には、高い機能性が期待できる菌や美味しい醗酵産物が期待できる菌があると考えられる。そこで、今年度は①と②と③に分けて調整し、食する直前に混ぜ合わせることを考え、それぞれを調整した。①には、動物実験より高機能性が期待できる乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* K5G3株を食品用培地で培養し、スキムミルクとともに凍結乾燥粉末としたものを準備する。②には、竹内農産で製品原料として使用している野沢菜（下漬け済みのもの）および刻み生菜（茎の部分）を元に、美味しい醗酵産物が期待できる乳酸菌 *Lactobacillus curvatus* #4G2株を用いて、10度で7日間、減塩醗酵を試みる。③には、グルコシノレート含有量の高い野沢菜の葉の部分を中心に、みじん切りにし、内在性グルコシノレート分解酵素（ミロシナーゼ）を失活させてからペースト状にする。①、②、③を合わせた最終形態で、100gあたり塩分0.75g、かつ、グリーン臭や苦味を抑えた味つけになるよう調整する。塩味は、食品中に含まれる水分に対する濃度に応じて決まることが知られている。そこで、Wetな漬物状ではなく、Dryな板海苔状の野沢菜加工品を開発する。低グルコシノレート試験食については、野沢菜を洗浄後、調味液を添加してフードカッターで粉砕する。袋詰めして1時間以上静置したのち、85℃以上の湯で殺菌する。これらを25g（1食分）ずつ、トレーに詰め、60℃で4時間、40℃で12時間以上乾燥させる。一方、高グルコシノレート試験食については、野沢菜を洗浄後、100℃の蒸気で20分間蒸した後、調味液を添加してフードカッターで粉砕したものを袋詰めし、85℃以上の湯で殺菌する。これらを25g（1食分）ずつ、トレーに詰め、60℃で4時間、40℃で12時間以上乾燥させる。工程ごとにサンプリングし、グルコシノレート含有量をLC-MSにて確認する。乳酸菌添加試験食については、上記の野沢菜乾燥物の片面に60~80mg/枚の乳酸菌凍結乾燥粉末を載せ、少量のオリーブオイルを噴霧することで乾燥物に固定する。
- (4) 野沢菜加工品を用いた機能性評価ヒト介入試験。まず、新規な野沢菜加工品の機能性を証明するための本試験立案のために、BMIが25以上30未満の20歳以上65歳以下の健康な男女22名に介入試験用野沢菜漬けを1日200g摂取してもらうパイロットスタディーを実施する。3週間毎日摂取してもらうこととし、1日あたり200gの野沢菜漬けを1週間あたり5

日以上食べることできた人の割合を求める。さらには、体重、BMI、体脂肪率、腸内細菌叢の変化についても解析する。次に、有用乳酸菌と野沢菜含有グルコシノレートの機能性を評価するために、BMIが25以上30未満の20歳以上65歳以下の健康な男女110名に1日2枚の板海苔状の野沢菜加工品2枚摂取してもらう“2x2 factorial design”の介入試験を実施する。1日分としてShinshu N-07株100億個含有、あるいはグルコシノレート2.5mg含有、両方を含むもの、含まないものの4種類の介入食を準備する。3週間毎日摂取してもらい、体脂肪率、体重、BMI、血清脂質値、便通、腸内細菌叢の変化について解析する。

- (5) 新規野沢菜加工品に関する消費者テスト介入試験用に製造する野沢菜加工品(板海苔状)を用いて、シート状とフレーク状の2形態のサンプルを用意し、家庭で自由に飲食してもらうことで、新商品の受容性を確認し、今後の新商品開発の指針を得る(ホームユーステスト)。40~69歳の女性でかつ、既婚、同居家族が3人以上、自宅で作る料理、同居家族と一緒に食べることが多い、健康意識(特に生活習慣病に対する意識)が高い条件を満たす実験参加者を集める。(家族で)「漬物」を食べる頻度-週2回以上/月に1回以下と2グループに分類、商品に対して機能性説明の有無2グループに分類にわけて解析する。最終日以降、120分間のフォーカスグループインタビューを行い、意見を回収する。

3) 研究結果

- (1) 有用乳酸菌の選抜と機能性評価野沢菜原料および野沢菜漬け(漬け込み後28日目)から熱水抽出物を調製し、マウスに30日間摂取させたところ、コントロールに比べて、野沢菜漬けの抽出物を摂取させたマウスでは、体重増加が有意に抑制され、野沢菜原料の抽出物を摂取させたマウスでは体重増加の抑制はみられなかった(図3-1左)。同様に、精巢上体周囲脂肪組織の重量においても、コントロール群に比べて野沢菜漬け摂取群では有意に低下した(図3-1右)。以上のことから、乳酸発酵をさせた野沢菜漬けに抗肥満効果があることが示唆された。野沢菜漬け由来乳酸菌のうち約80菌株の低pHおよび胆汁酸耐性を調べたところ、5菌株(#2F2、#4G2、K4G1、K4G4、K5G3)が消化管内環境でも生存可能と考えられた(表3-1)。中でも低pH耐性の強い#4G2とK5G3を選び機能性表示乳酸菌候補とした。野沢菜由来乳酸菌株*L. plantarum* K5G3株の摂取によって、食事誘導肥満マウスモデルにおいて体重増加の抑制傾向、脂肪組織重量の有意な抑制、血清中コレステロール値および血糖値の低下傾向が見られた。介入食品と同様な組成物である、ブランチング野沢菜、スターター醗酵野沢菜漬け、乳酸菌K5G3株を含む食品を高脂肪食に添加してマウスに投与し、脂肪蓄積の抑制傾向、有害事象の見られないことを確認した(図3-2, 3)。脂質代謝関連遺伝子であるPPAR γ およびアセチルCoAカルボキシラーゼの肝臓における発現がK5G3株摂取により高脂肪食のみを摂取したマウスと比較して有意に低下した(図3-4)。

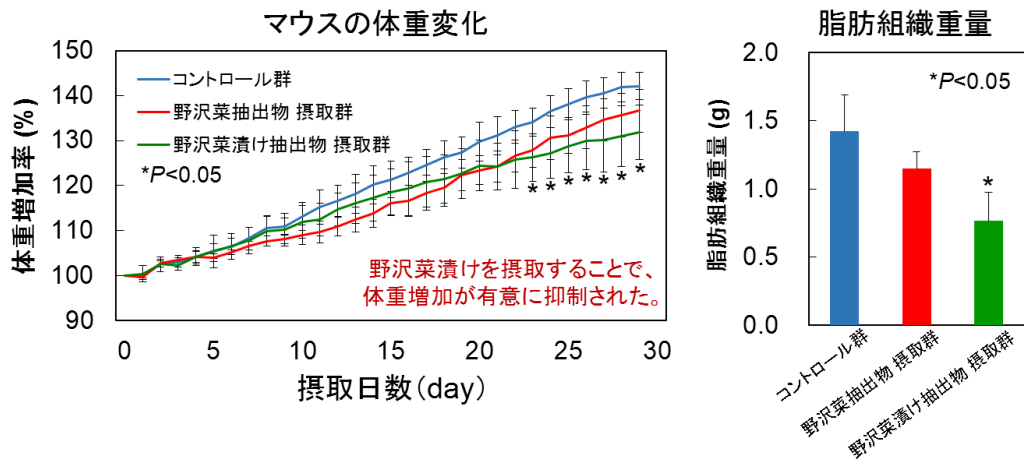


図3-1. 野沢菜漬け抽出物を摂取させたマウスの体重変化および脂肪組織重量

表3-1. 腸まで生きて届く乳酸菌株の選抜

菌株名	Bile acid tolerance	Low pH tolerance	コレステロール吸着	Bile hydrolase	腸管バリア機能維持	IL-10産生誘導能
#2F2	+	±	+	+	-	+
#4G2	+	+	+	+	-	+
K4G1	+	±	+	+	+	
K4G4	+	±	-	ND	-	+
K5G3	+	+	-	+	++	-

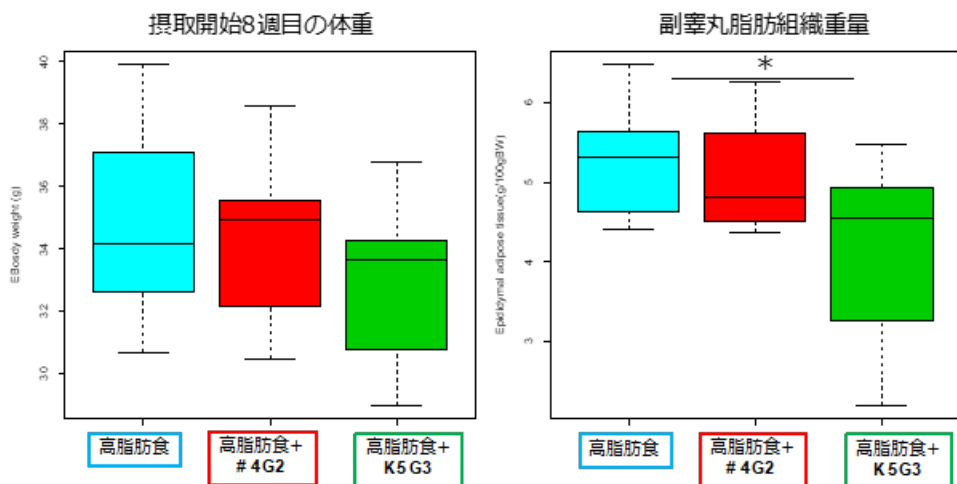


図3-2. 野沢菜漬け由来乳酸菌による食事誘導肥満抑制効果

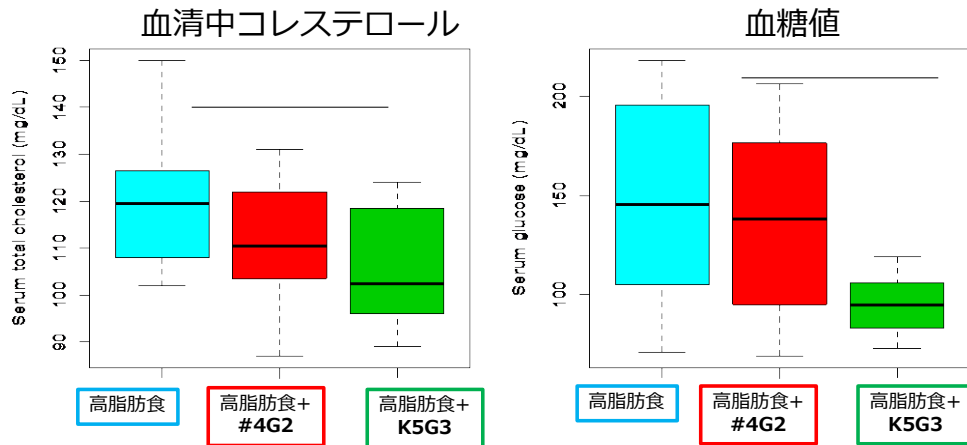


図3-3. 野沢菜漬け由来乳酸菌による血液成分値変化

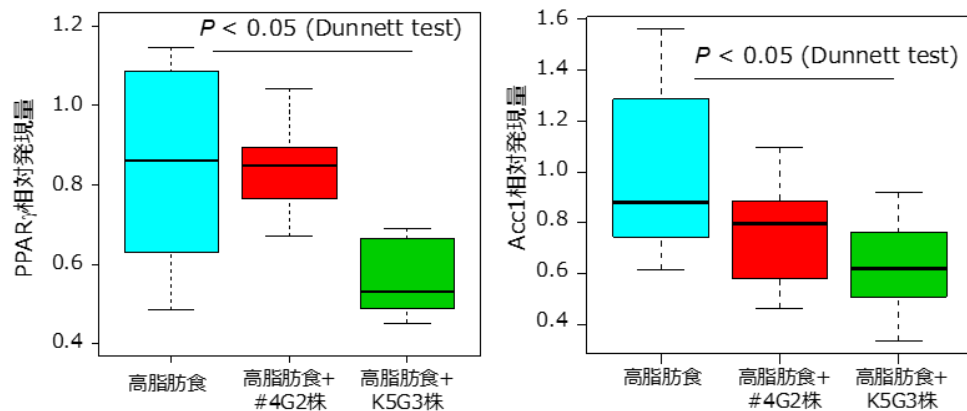


図3-4. マウス肝臓における脂質代謝関連遺伝子PPAR_γとアセチルCoAカルボキシラーゼ発現

(2) 高グルコシノレート野沢菜株の選抜とグルコシノレート定量法の確立

多点簡易迅速定量法により、一般的にグルコシノレート分析に用いられているデスルホ体変換法と比較して、1サンプルの抽出、前処理にかかる時間が17時間17分から13分に短縮し、コストも大幅に削減した。LC-MSを用いた多点簡易迅速定量法により、野沢菜に含有されるグルコシノレート類12成分(シニグリン:SG、グルコナピン:GNP、プロゴイトリン:PG、グルコラファニン:GR、グルコラフェニン:GRE、グルコブラッシシン:GBS、グルコブラシカナピン:GBC、グルコエルシン:GE、グルコイベリン:GI、シナルビン:SNB、グルコラファサチン:GRS、グルコバルバリン:GBB)を分析したところ、前者6成分で定量可能であった(図3-5)。本法を用いて野沢菜の葉及び茎に含有されるグルコナピンを作期別に比較したところ、5月で低く、8月で高くなる傾向が見られた(図3-6)。また、野沢菜(サカタのタネ)を用いた試験で、グルコナピン含有量が0~180mg/100gFWになる変異が認められたため、これらの中から100mg/100gFWを超える高含有6個体を株上げした(図3-7)。選抜系統のうち、高含有系統No.2、プラセボ系統として低含有系統No.9をビニールハウス内で栽培し、自殖交配及び採種を実施した。各系統について計画した種子量を確保した。現地ほ場夏作では、グルコナピン含有量が300mgを超える個体があり、含有量が高い傾向を示した。市販野沢菜のグルコナピン含有量の平均値は101mgでNo.2の257mgに劣ったが、中には高含有個体も含まれた。試験場秋作(露地、9月中旬は種)では11月上旬に収穫・調査を実施した。選抜系統の生育は市販品種並みで、グルコナピン含有量は現地ほ場夏作に比

べると全体的に低い傾向にあった。No. 2自殖後代の株全体（葉身+葉柄）のGNP含有量は3~149mgとバラツキが残るが、概ね高い含有量を示した。No. 9自殖後代は供した12個体中11個体で含有量0 mg（1個体のみ8 mg）であった（図3-8）。

野沢菜中のグルコシノレート抽出および定量には、はじめに野沢菜の凍結乾燥粉末と50%(v/v)メタノールを合わせて、50℃で10分間超音波処理した後放冷し、遠心分離により上清を採取した。同様の操作を2回繰り返し上清を集め、定容した。定容した液をメンブレンフィルターに通してから一部分取し、内部標準液と合わせて固相抽出を行った。固相抽出後の液は純水で2倍希釈し、LC/MS測定に供した。

固相抽出はジーエルサイエンス社のInertSep NH2を用いた。当初、固相カラムに成分を吸着させてから溶出することで成分の濃縮を試みたが、一部成分の回収率低下がみられた。そこで条件を変更し、夾雑成分の除去を目的として用いることで、クロマトグラムの夾雑ピークを減少させることができ、目的成分ピークの分離が改善された（図3-9）。LC/MSの測定条件については、使用する分離カラムをImtakt社のCadenza CD-C18に変更し、ピーク分離を改良した。またそれにともない試料溶媒の影響による一部のピークの崩壊が見られたが、注入する試料の有機溶媒濃度を25%以下にすることで改善できた。内部標準試料には、他のグルコシノレートや夾雑成分との重なりが無かったシニグリン、およびグルコモリンギンを用いた。以上の分析方法により予備試験として添加回収試験および並行精度確認試験を行った結果、添加回収率は98~105%、並行精度は相対標準偏差3.3%以下で、良好な精度を示した。介入試験用野沢菜加工品の製造におけるミロシナーゼの最適失活方法として、スチームによる方法が最適であることを見出した（図3-10）。野菜花き試験場により選抜されたグルコシノレート高含有、低含有野沢菜のグルコシノレート含有量を測定したところ、両者の間に20倍程度の相違が認められた。スチーム処理後、粉碎、真空凍結乾燥後の試料についても、同程度の相違が認められ、加工処理を行っても、グルコシノレートが保持されることが認められた。ヒト介入試験には、野沢菜裁断(茎と葉に分割) → 洗浄・殺菌 → 蒸す(茎7分、葉10分) → 冷却(流水で5分) → ペースト(調味、デキストリン添加) → 計量(18g) → 乾燥(50℃ 8時間)により高グルコシノレート加工品を、野沢菜裁断(茎と葉に分割) → 洗浄・殺菌 → ペースト(調味、デキストリン添加) → 計量(18g) → 乾燥(50℃ 8時間)により低グルコシノレート加工品を製造した野沢菜加工品を供した。

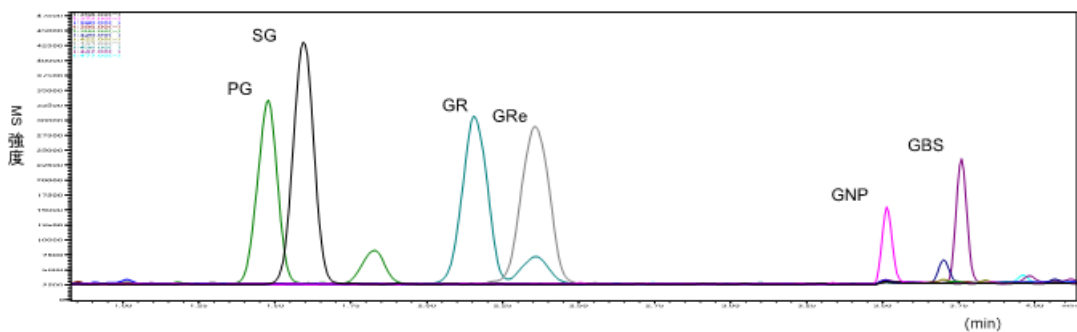


図3-5. 多点簡易迅速定量法による標品のクロマトグラム
(PG:プロゴイトリン、SG:シニグリン、GR:グルコラファニン、GRe:グルコラフェニン、GNP:グルコナピン、GBS:グルコブラッシン)

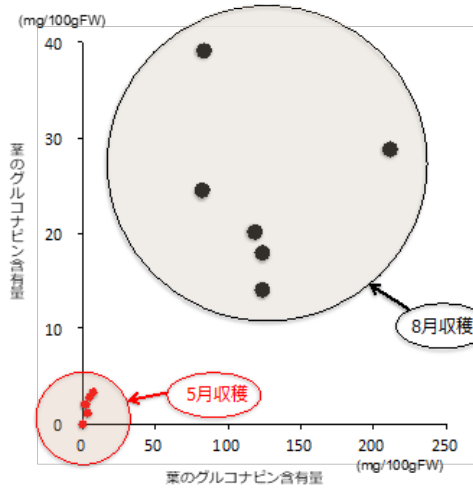


図3-6. グルコナピン含有量の季節変化

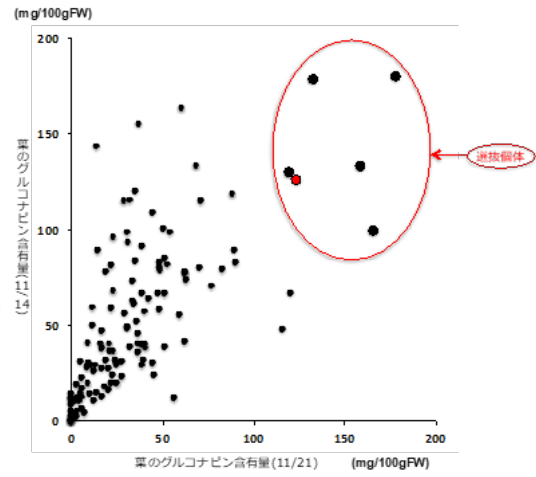


図3-7. グルコナピン含有量の株による違い

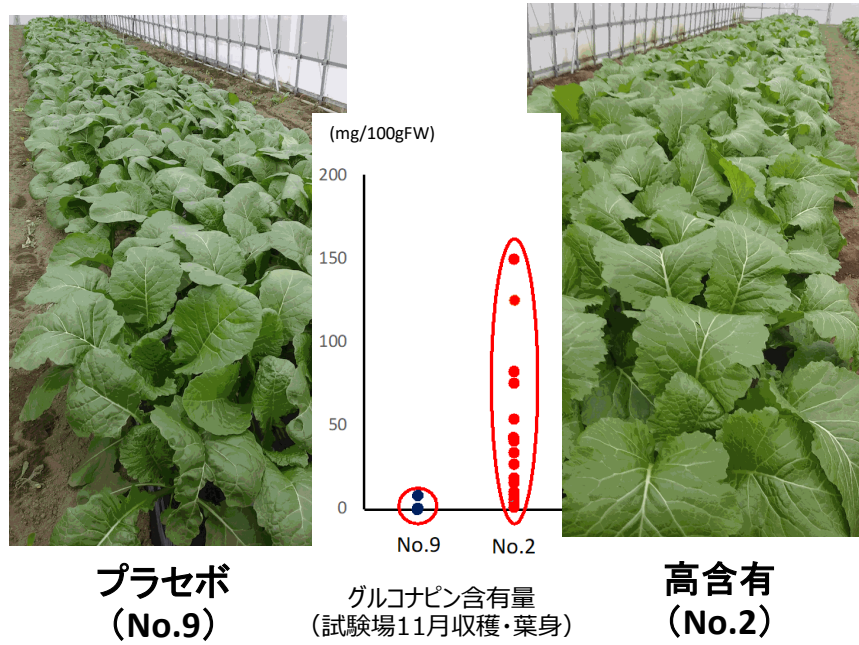


図3-8. 野菜花き試験場内パイプハウス（長野県塩尻市、標高745m）で栽培されたヒト試験プラセボ用野沢菜とグルコシノレート高含有野沢菜。

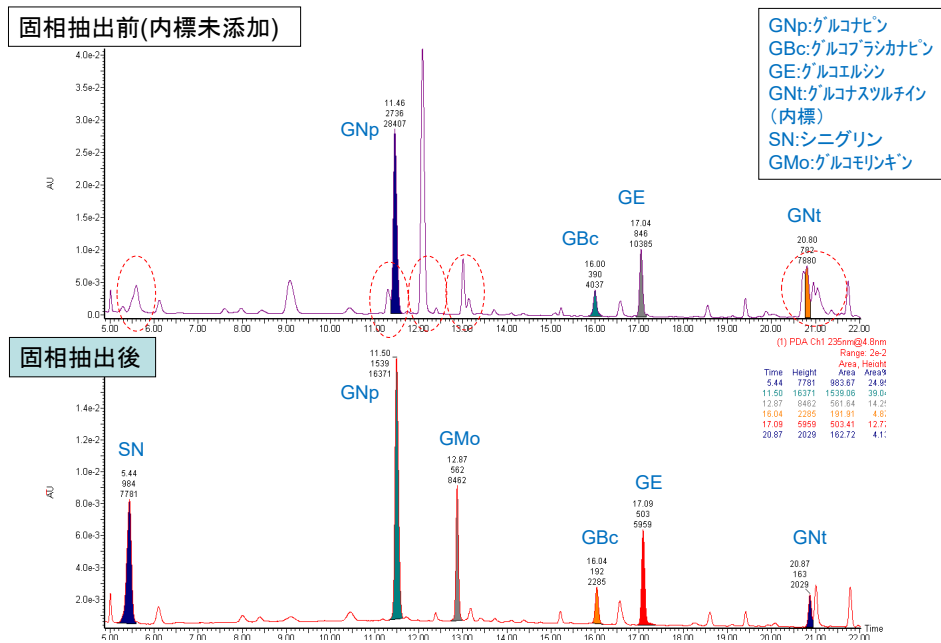
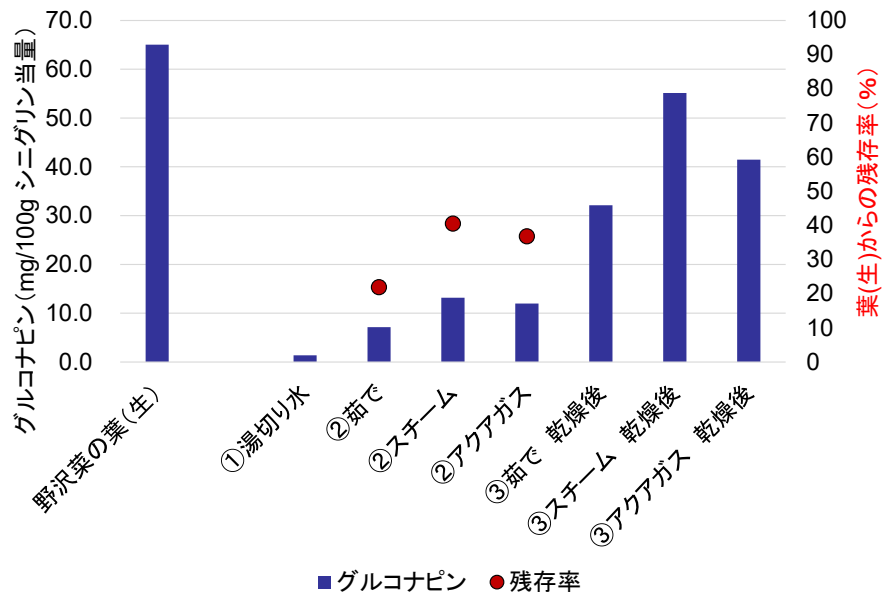


図3-9. 改良された固相抽出条件による夾雑成分の除去



(※残存率は、葉(生)の数値を基準に、調味液等による希釈分を補正して計算した)

図3-10. 野沢菜中のグルコシノレート量を残す製法の検討

(3) 野沢菜加工品の減塩技術と設計

機能性乳酸菌100億個を摂取することを目標とするために、喫食50gに対し、乳酸菌-スキムミルク凍結乾燥粉末を40mg加えることになった。粉末が白いので、脱脂ごま粉末0.2gと本かつおだし顆粒0.25gを混ぜることでふりかけ風の色合いにした(図3-11)。ふりかけの色あいを気にしないのであれば、脱脂ごま粉末を使う必要はない(図-12)。浅漬け製造工程中の下漬け野沢菜原料(6%以上の塩水を使用)は、水洗行程を経ても塩分濃度が1%を超えていたため、乳酸菌添加する前に真水を加えて塩分調整することにより、塩分濃度を1%程度に抑えた野沢菜漬け材料を得ることができた。刻み野沢菜を使用し、分量の6%

食塩水で下漬けした後、2.5倍量の真水で塩分調整してから乳酸菌を添加した菜は、適度な醗酵臭と味を呈した。下漬け塩分濃度を2.5%以下で行ったものでは、菜中の塩分濃度を1%以下に抑えることができたが、菜の味・食感ともに悪く、採用には至らなかった。塩分1%程度に調整した下漬け済みの菜に乳酸菌を播種し、10度で1週間発酵させたものは、好ましいレベルの醗酵臭があるため、調味液で味を調える必要はないと考えられる。乳酸菌の追醗酵による袋内でのガス発生を少しでも抑え、消費期限を延ばすために、袋詰めしてからの加熱処理を試みたところ、90度で1分を超える加熱では、苦味やオフフレーバーが出てくることが分かった。葉の部分フードプロセッサーでみじん切りにしたものは、ヘキセナール系のグリーン臭や苦味があるので、醤油ベースで甘味を強めた調味液を添加して、味を調えた。塩分は0.5%程度に抑えることができた。さらに残る苦味は、うま味添加でマスキングすることに成功した。うま味添加は、食塩無添加の昆布だし顆粒、食塩無添加の本かつおだし顆粒を機能性乳酸菌と混和することにした。このようにして、完成した介入試験用野沢菜漬け食品は、醗酵野沢菜漬け25g入り袋、味付け野沢菜ジュレ25g袋、乳酸菌入りふりかけ0.5g入り袋の3袋を1つのパックに入れた形態が好ましいのではないかと考えられた。食べる直前に3袋を開封し、1皿に載せることとした。1食あたり塩分0.38gまで減らすことに成功した。この試験食を用いて、予備介入試験を実施したところ、参加者の内約3分の1が12週食べるなら50g/日が限界、3分の1が味が薄すぎる、7分の1がジュレの部分が美味しくないとの回答を得た。ご飯が進む味だというポジティブな意見も散見された。

野沢菜を板海苔状に加工することで、1食あたり塩分0.1gまで減らすことに成功した。これらの技術を利用し、竹内農産の工房にて、介入試験食4種類「グルコシノレート（高/低）×乳酸菌（有/無）」計9000食を製造した。乾燥機1台あたりの最大生産可能量を1500枚/日程度にまで効率化し、2台体制の場合に3000枚/日程度まで可能となった。完成品（ヒト介入試験食）の写真を図3-13に示す。いずれも、1食あたり食塩は0.1g未満であった。介入食のグルコシノレート量を定量したところ、高グルコシノレート食では50mg/100gを超える含有量、低グルコシノレート食では5mg/100g未満の含有量であることが確認（図3-14）でき、介入試験食として満足するものであった。凍結乾燥させたN-07乳酸菌を野沢菜加工品にあと載せし、オリーブオイル等で空気中の水分との接触を防ぐことで、活きたN-07乳酸菌を効率良く摂取させることが可能となった。4種類の野沢菜加工品（図3-15）を製造し、被験者割り付け会社を介して、被験者に試験食を届けた。



図3-11. 介入用野沢菜漬け (50g)
乳酸醗酵野沢菜25g (塩分0.25g) の上に、みじん切り野沢菜葉25g (塩分0.12g) を載せ、さらに乳酸菌入りふりかけ0.5g (塩分0.01g) をかけている。

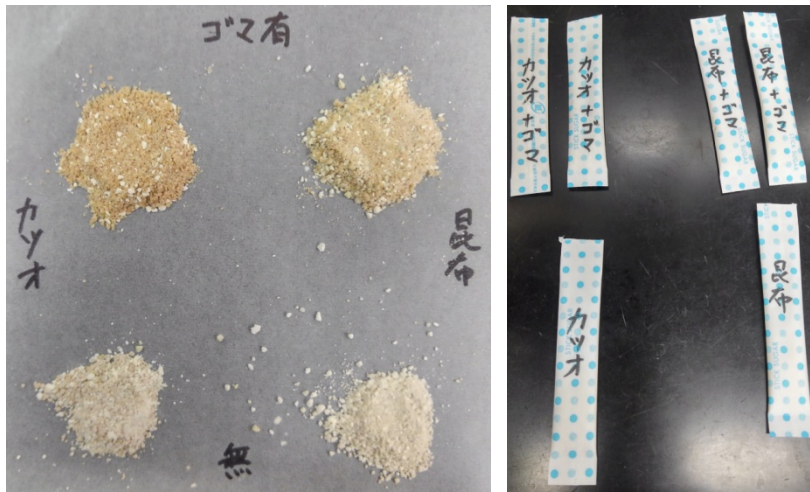


図3-12. 乳酸菌入りふりかけ
 左：かつおだし顆粒、昆布だし顆粒に乳酸菌を加えた際の色合い比較。上段はゴマ有り、下段はゴマ無し。
 右：1回分のふりかけをスティック包装したもの。



図3-13. 野沢菜加工品 左) 高グルコナピン食、右) 低グルコナピン食 いずれも1食当たり食塩0.1g未満

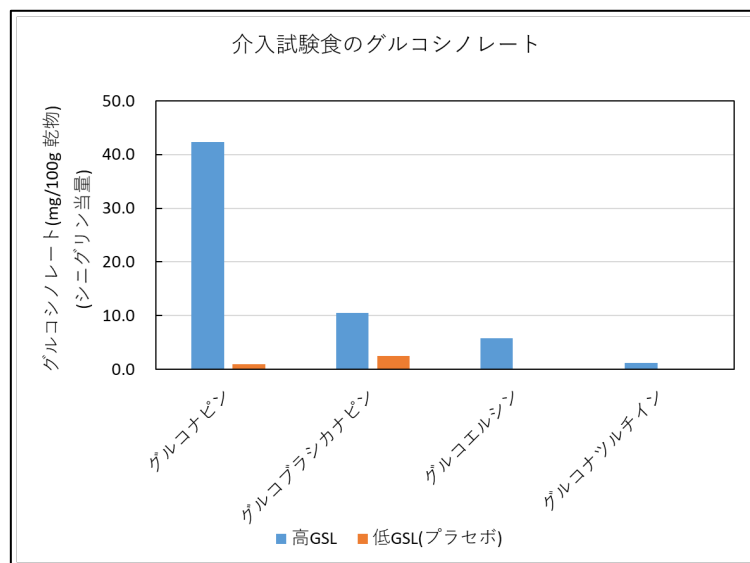


図3-14. 介入試験食のグルコシノレート含有量 (長野県工業技術センター測定)

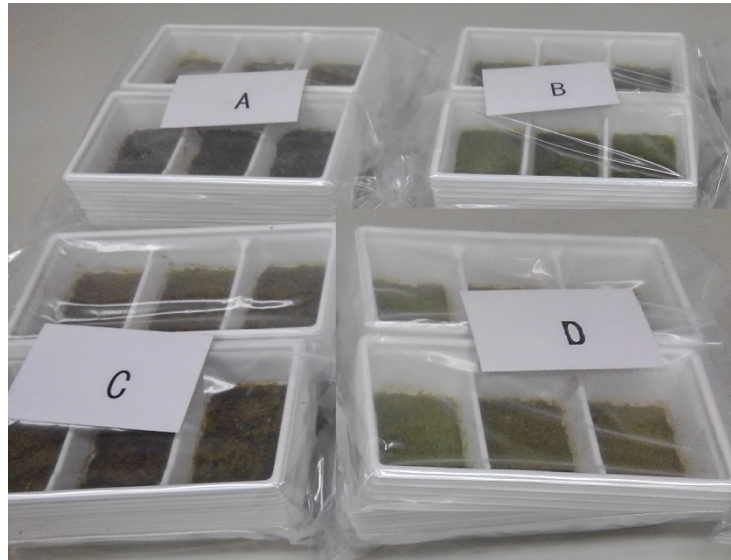


図3-15. 送付用介入試験食1ヶ月分パック。A：高グルコシノレート、乳酸菌あり、B：高グルコシノレート、乳酸菌あり、C：低グルコシノレート、乳酸菌なし、D：低グルコシノレート、乳酸菌なし

(4) 野沢菜加工品を用いた機能性評価ヒト介入試験

パイロット試験では、1日に1パックでも食した日をカウントすると摂取率=99.5であった。HDL cholesterol、体脂肪率、BMIは減少傾向ではあるが、有意な差を認めなかった。血糖値、HbA1c、Kの値が微妙に上昇したが、正常範囲内であった。野沢菜摂取により、排便回数が増えていることが示された。味は、2.8点と3点（普通）よりも若干美味しいという評価であった。3ヵ月食べることの量は2.2パックと算出された。

本試験では、コロナ感染症拡大懸念の影響もあり、計画通りの110名の参加者を集めることができなかった。2020年1月6日～2020年8月31日（約8ヶ月間）に、37名のエントリーがあり、高グルコシノレート、乳酸菌あり8名、高グルコシノレート、乳酸菌あり11名、低グルコシノレート、乳酸菌なし11名、低グルコシノレート、乳酸菌なし名7名にふりわけた。試験の結果、重篤な有害事象の報告はなかった。主エンドポイントである体脂肪率において、乳酸菌Shinshu N-07株（ 1×10^{10} CFU）含有野沢菜加工品やグコシノレート高含有野沢菜加工品は、改善効果が認められなかった。副エンドポイントである総コレステロールにおいて、乳酸菌Shinshu N-07株（ 1×10^{10} CFU）含有野沢菜加工品やグコシノレート高含有野沢菜加工品は、改善効果が認められなかった。しかし、副エンドポイントである中性脂肪値において、グコシノレート高含有野沢菜加工品に、改善効果が認められた。全データが揃ったのち、さらなる解析を進める予定である。

表3-2：介入試験開始前の参加者背景

	A群： 高グルコシノレ ート、乳酸菌あ り	B群： 高グルコシノレ ート、乳酸菌あ り	C群： 低グルコシノレ ート、乳酸菌な し	D群： 低グルコシノレ ート、乳酸菌な し
人数（名）	8	11	11	7
男性人数（名）	4	3	3	2
年齢（歳）	43.1±6.9	47.4±5.3	41.5±8.7	40.4±11.5
身長（cm）	162.9±10.9	160.7±10.2	162.9±8.7	160.4±6.2
体重（kg）	58.0±10.6	61.0±12.2	58.9±11.0	59.3±11.1
BMI平均	26.8	27.0	26.6	27.1
体脂肪率	33.4	32.6	35.1	36.4

施設名：深谷赤十字病院（22例）、筑波大学附属病院（7例）、石川消化器内科(6例)、徳島大学病院（2例）

表 3-3：12 週間介入による体脂肪率の変化について

	上昇した人数	低下した人数	総数
乳酸菌あり	8(42.1%)	11(57.9%)	19
乳酸菌なし	8(44.4%)	10(55.5%)	18
Risk ratio(95%信頼区間)	1	0.98(0.45-1.98)	
高グルコシノレート	9(47.4%)	10(52.6%)	19
低グルコシノレート	7(38.9%)	11(61.1%)	18
Risk ratio(95%信頼区間)	1	1.22(0.58-2.57)	

表3-4：12週間介入による空腹時中性脂肪値の変化について

	上昇した人数	低下した人数	総数
乳酸菌あり	6(37.5%)	10(62.5%)	16
乳酸菌なし	6(42.9%)	8(57.1%)	14
Risk ratio(95%信頼区間)	1	1.09(0.61-1.98)	
高グルコシノレート	2(14.3%)	12(85.7%)	14
低グルコシノレート	10(62.5%)	6(37.5%)	16
Risk ratio(95%信頼区間)	1	2.29(1.17-4.46)	

(5) 新規野沢菜加工品に関する消費者テスト

Webアンケートの結果、機能性表示食品の認知状況及び購入経験は、64.9%であった。

漬物の機能性表示食品が販売された場合の購入希望者は42.3%に上り、機能性表示食品の野沢菜漬けが販売された場合の購入意向者が11.7%、興味ありと回答した消費者まで合わせると59.2%にのぼった。機能性表示食品として販売された「野沢菜漬け」に期待する効果としては「体脂肪を減らす」「コレステロール値を下げる」「中性脂肪を下げる」「肥満予防」「美肌効果」などに期待が寄せられた。お漬物の購買行動や意識では、「多少値段が高くても、値段に見合ったお漬物ならば購入する(55.0%)」「同じお漬物を買っている(49.3%)」が高く選択された。お漬物のポジティブイメージでは「和食に合う」「伝統的」「庶民的」「親しみやすい」「野菜がたくさん食べられる(21.9%)」、一方ネガティブイメージでは「塩分が多くて身体に悪そう(21.3%)」が挙げられた。以上の結果を総括すると、健康意識の高い消費者、漬物ヘビーユーザーとも機能性表示のある野沢菜に高い関心を示し、値段が高くともより良い製品(機能性表示食品)を選択する可能性が高い。効果効能としては体脂肪関係に関心が高く、減塩を嗜好する傾向にあることが明らかとなった。

ホームユーステストの結果、調理したメニューの6割が「良い」「やや良い」と評価された。「調理法」は「そのまま(トッピング・敷く)」「和える」など過熱しない方法が半数以上を占めた。メニューの評価は「機能性説明あり」グループは「良い」が45.7%と高かった。「利用シーン」は「夕食」が最も高く74.3%。次いで「昼食」(57.1%)、「朝食」(40.6%)と続く。「機能性説明なし」グループのほうが利用機会は48.0%と高かった。「調理法」は「そのまま(トッピング/敷く)」が最も高く26.0%。次いで「和える」(22.6%)、「焼く」(16.4%)。「機能性説明あり」グループは「和える」のほうが数値が高かった。「調理形状」は、「シート状」「フレック状」とともに「砕く・刻む・切る」方法が最も多く44.1%。次いで「フレックそのまま」(23.2%)、「シート」(15.8%)と続いた。見た目は「海苔」。しかし、味や形状(厚み・硬さ)から調理法が難しいと感じる人がみられた。「野沢菜」としては「見た目の色が良くない」「風味が足りない」「フレッシュさが無い」などやや否定的な意見があった。形状は、「シート状」は特に「海苔」のイメージが強かったためか、「硬い/厚い」「割れてしまう」「そのままでは使えない」との評価が多かった。

逆に「厚み」は「フムスに乗せても負けない」と「フィンガーフードになる」との評価をする人もあり。また、使い勝手から「粉末(粉)」形状を望む人が多かった。機能性説明ありグループでは「パウダーになると機能性のイメージ、栄養があることが連想される」との意見もあった。「色」は自然な緑っぽい方が良く、特に機能性説明ありグループで意見が多かった。「味」「食感」は機能性説明なしグループで「なにかと混ぜると苦くなる」「口に残る」「硬い」など、評価が悪かった。そのまま食べる(シートのまま)は「おつまみとしてよかった」の意見あり。健康食品として売るならば、「ドライフルーツやいりこ等と混ぜた方が良さそう」との意見が多かった。購入意向は、「今のままでは買わない」と厳しい意見が機能性説明なしのグループで多かった。受容価格帯は400~500円。売り出すために必要なことはほぼ全員が「使い方の説明・試食」を挙げた。理由は「使い方が難しい」「海苔と間違えやすいから」との意見があった。改善点は、「レシピは増える」との理由で、「シート状が巻けるようになる」との意見が挙げられた。

4) 成果活用における留意点

活きた乳酸菌の機能性を担保するためには、購入した野沢菜加工品に熱をかける、湯に入れるなどの処理を行わないようにする。

5) 今後の課題

介入試験において、血液検査の結果等、一部データ揃っていない。全データが揃ったのち、さらなる機能性検証解析を進め、論文化する。ホームユーステストの回答より、もっとやわらかい形状の野沢菜加工品であった方が好まれると思われた。野沢菜加工品流通を持続可能な形で維持するためにも、引き続き機能性成分を担保したまま形状等の改善を続ける必要がある。製造コストについても、再考する必要がある。

<引用文献> なし

小課題番号	課題④	小課題 研究期間	平成28～ 令和2年度
小課題名	健康を増進する機能性表示へちま、からし菜等の開発		
小課題 代表研究機関・研究室・研究者 名	九州沖縄農業研究センター・作物開発利用研究領域・作物 品質グループ・澤井祐典		

II. 小課題ごとの研究目的等

1) 研究目的

(1) へちまの栽培技術の開発

へちまの施設栽培による安定生産技術の開発に向け、天敵による防除効果や花粉媒介昆虫による受粉効果を検討する。

(2) へちまの加工・調理技術の開発

へちまの欠点である褐変防止を目的に、漬物の低pHを利用した技術を開発する。さらに、蒸し、茹でなどの加熱調理による機能性成分の動向を検討する。

(3) へちま等の新規加工技術の開発

へちまの特徴フレーバーの検索、加熱条件と特徴フレーバー生成との関連等を分析し、幅広い嗜好性に対応できる調理法に関する基礎的な知見を得る。

(4) からし菜等の栽培技術の開発

からし菜（シマナー、アカナー）等のアブラナ科野菜について、機能性成分が高い系統・品種の選抜や栽培条件の違いによる機能性成分の変動を把握する。

(5) からし菜等の加工・調理技術の開発

からし菜等の機能性成分含量を維持した加工・調理技術の開発に向け、調理特性を解明するために、加熱調理等による成分の消長を検討する。

(6) 沖縄野菜の機能性、作用機序の解明

へちまの血圧上昇抑制効果を、ヒト介入試験に用いる被験食の成分含量の設定に向けた動物実験を行う。また、からし菜の辛味成分の抗肥満作用への関与を明らかにするとともに、動物試験を行いカラシナ摂取により変化するパラメーターを明らかにし、ヒト介入試験に資するデータを収集する。

(7) 沖縄伝統野菜のヒト介入研究

へちまの機能性表示に向けて、ヒト介入試験を行い、へちま摂取での降圧効果を確認する。

(8) 機能性沖縄伝統野菜のビジネスモデル構築

へちま、からし菜等を対象として、ビジネスモデルを構築する。また、加工品を試作し、生鮮品あるいは加工品の試験販売等を通してマーケティングを実施、最終的に機能性表示食品届出を行う。

2) 研究方法

(1) へちまの栽培技術の開発

へちまの施設栽培における天敵および害虫の密度推移や農薬散布回数、クロマルハナバ

チによる虫媒受粉と人工受粉の収量および果実品質や受粉作業時間を調査した。

(2) へちまの加工・調理技術の開発

加工技術開発として、乳酸菌スターターを用いた低塩漬物モデル系を構築して乳酸菌を選抜し、へちま漬物を開発した。調理技術開発として、へちまの調理によるGABA含有量の変動を調査した。加えて、へちまの部位別、受粉後日数別のGABA含有量の変化を調査した。

(3) へちま等の新規加工技術の開発

へちまの土臭さおよび青臭さに関連する成分について、GC/MSにより定量分析を行った。真空包装したへちまの香気成分の変化について、GC/FID/MS分析により解析した。

(4) からし菜等の栽培技術の開発

からし菜の収集系統や品種の栽培時期におけるGABA含量を調査した。

(5) からし菜等の加工・調理技術の開発

収穫時期別からし菜のGABA含量の調査を行った。からし菜を蒸し調理し、GABA含量の調査を行った。

(6) 沖縄野菜の機能性、作用機序の解明

へちまの血圧上昇抑制効果を、動物実験により確認した。へちまの食餌性肥満モデルマウスにおける脂質代謝関連指標に及ぼす影響を調べた。からし菜を用いた動物試験において、血糖値上昇抑制効果を調べた。

(7) 沖縄伝統野菜のヒト介入研究

へちま摂取の血圧に与える影響を明らかにするために、無作為化二重盲検並行群間比較試験を実施した。介入に参加した最終のベースライン対象者は、153名であり85%(130名)が、3ヶ月間参加した。介入は、栄養成分を残存させたへちま(「蒸し調理」群)または調理加工過程(茹で調理)で栄養成分を逃したへちま(「茹で調理」群)を普段の食事に加えて介入中毎日摂取し、比較のため、へちまを摂取しない群を設けた(へちま無し群)。盲検化のため、スムージー状にして摂取した。

(8) 機能性沖縄伝統野菜のビジネスモデル構築

へちま及びからし菜(類似食材:「高菜」「野沢菜」)の一般的な調理法を網羅的に把握するためのデスクリサーチを実施した。沖縄県内消費者に対し、へちまとからし菜の嗜好度(好き嫌い)や利用状況をWEB調査した。ピクルスなどの漬物、チルドカットへちまなどの商品試作を行った。生鮮へちまを真空包装し、GABA含量の測定を行った。

3) 研究結果

(1) へちまの栽培技術の開発

へちまの施設栽培におけるクロマルハナバチを利用した虫媒受粉と人工受粉における収量および果実品質に有意差はなかった。天敵製剤および土着天敵を利用することで害虫被害が抑制され、農薬散布の回数が大幅に減少した。さらに、天敵利用により農薬散布が減少したことで、クロマルハナバチが栽培期間を通して利用することができるため人工受粉作業を完全に省略することができた(表4-1、表4-2)。

表4-1 現地圃場の栽培概要の年次比較

年度	栽培方法	施設概要	栽培面積 (m ²)	定植 (月日)	収穫期間 (月日)
2016年	農家慣行 (人工受粉・天敵なし)	10m×33m ×2連棟	660	10月20日	12月18日～6月23日
2017年	クロマルハナバチ +天敵	10m×33m ×2連棟	660	10月31日	12月27日～6月20日

表4-2 人工授粉時間および農薬散布の年次比較

年度	栽培方法	人工受粉 時間(時)	農薬散布		
			回数 (回)	時間 ² (時)	剤数 (剤)
2016年	農家慣行 (人工受粉・天敵なし)	300 ³	25	25	8
2017年	クロマルハナバチ +天敵	0	10	8.5	4

²農薬散布時間は受粉以降1時間/1回、粉剤および放飼前散布は15分で換算した。

³栽培面積および受粉期間から算出した推定値

(2) へちまの加工・調理技術の開発

乳酸菌スターターを用いた低塩漬物モデル系（1%食塩、10℃で1週間の乳酸発酵）において、乳酸発酵によるGABA増強と褐変抑制を見出した（表4-3）。カットへちまを沸騰水で15分間水煮（ブランチング）することでGABA含有量は約1/3に減少し、さらに脱水処理によって約1/10まで減少し、調理により溶脱した（図4-1）。へちまのGABAは可食部全体に含まれており、特に胎座部に多かった（図4-2、図4-3）。また、へちまのGABAは果実肥大に伴い減少し、出荷サイズに達する頃に下げ止まった（図4-4）。

表4-3 へちま乳酸発酵試験

供試乳酸菌株	pH	生菌数 (CFU/mL)	有機酸(mg/100mL)		アミノ酸(mg/100g)			食味評価			
			乳酸	酢酸	GABA	Glu	Cit	色	香り	食感	食味
<i>Lb. brevis</i> NBRC 12005	4.3	3.6×10 ⁸	102.2	32.8	23.8	2.0	36.8	3.0	2.9	2.9	2.9
<i>Lb. brevis</i> NBRC 12520	3.9	4.9×10 ⁸	207.1	75.8	19.2	2.0	21.5	3.8	3.7	3.8	3.2
<i>Lb. brevis</i> NBRC 3345	4.0	3.7×10 ⁸	211.5	86.2	17.0	1.8	14.0	3.4	2.9	3.1	3.1
<i>Lb. brevis</i> NBRC 13110	3.8	4.4×10 ⁸	325.7	80.2	17.6	1.9	14.5	3.2	3.1	3.4	2.6
<i>Lb. sakei</i> MMF-LS151	3.7	9.3×10 ⁷	431.2	24.0	17.4	7.3	21.6	1.6	2.9	2.6	2.3
<i>Lb. casei</i> L-14	4.2	1.6×10 ⁷	120.3	0.0	20.9	1.8	34.6	3.0	2.1	2.9	2.6
<i>Lc. lactis</i> 527	4.3	1.7×10 ⁷	166.4	0.0	17.8	1.2	22.6	3.8	3.2	3.0	2.8
<i>Lc. lactis</i> NH-61	4.5	9.7×10 ⁶	135.2	0.0	18.3	1.7	25.8	4.2	3.4	3.4	3.4
(対照)	5.3	—	0.0	0.0	5.3	5.8	32.8				

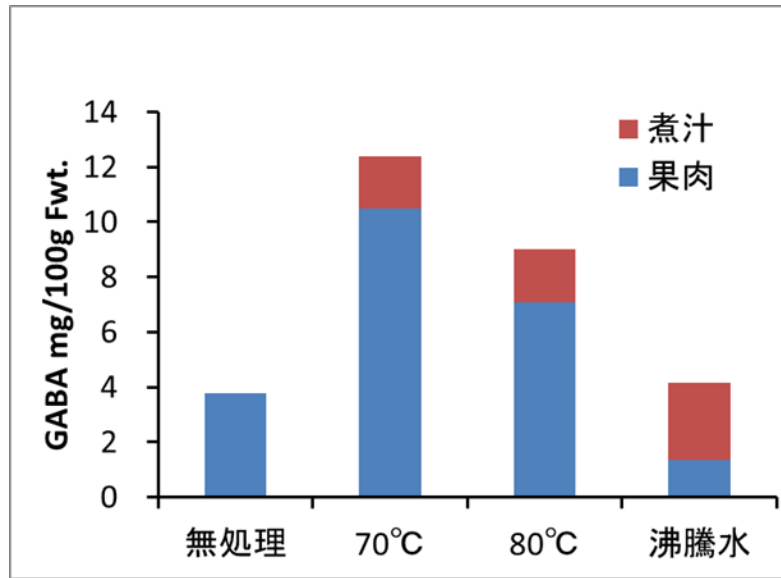


図4-1 水煮へちまのGABA含量

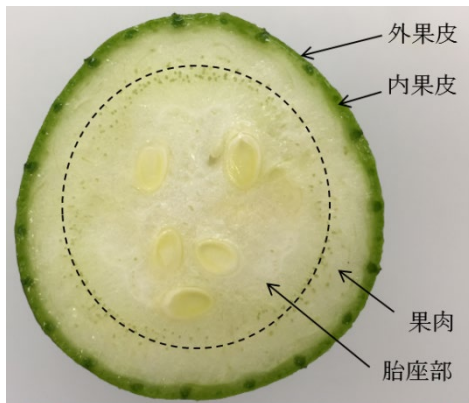


図4-2 へちま果実の断面

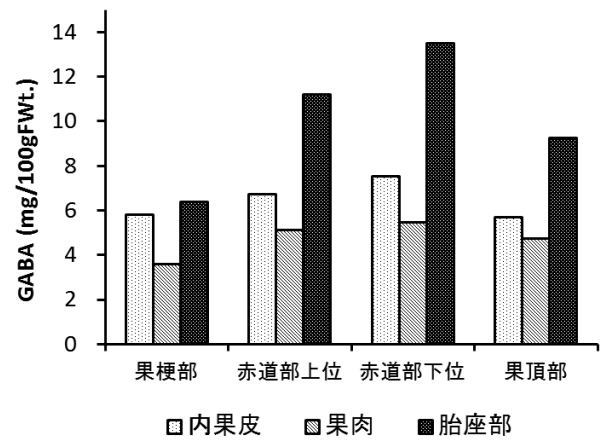


図4-3 “サザンヘチマ”における部位別のGABA含量

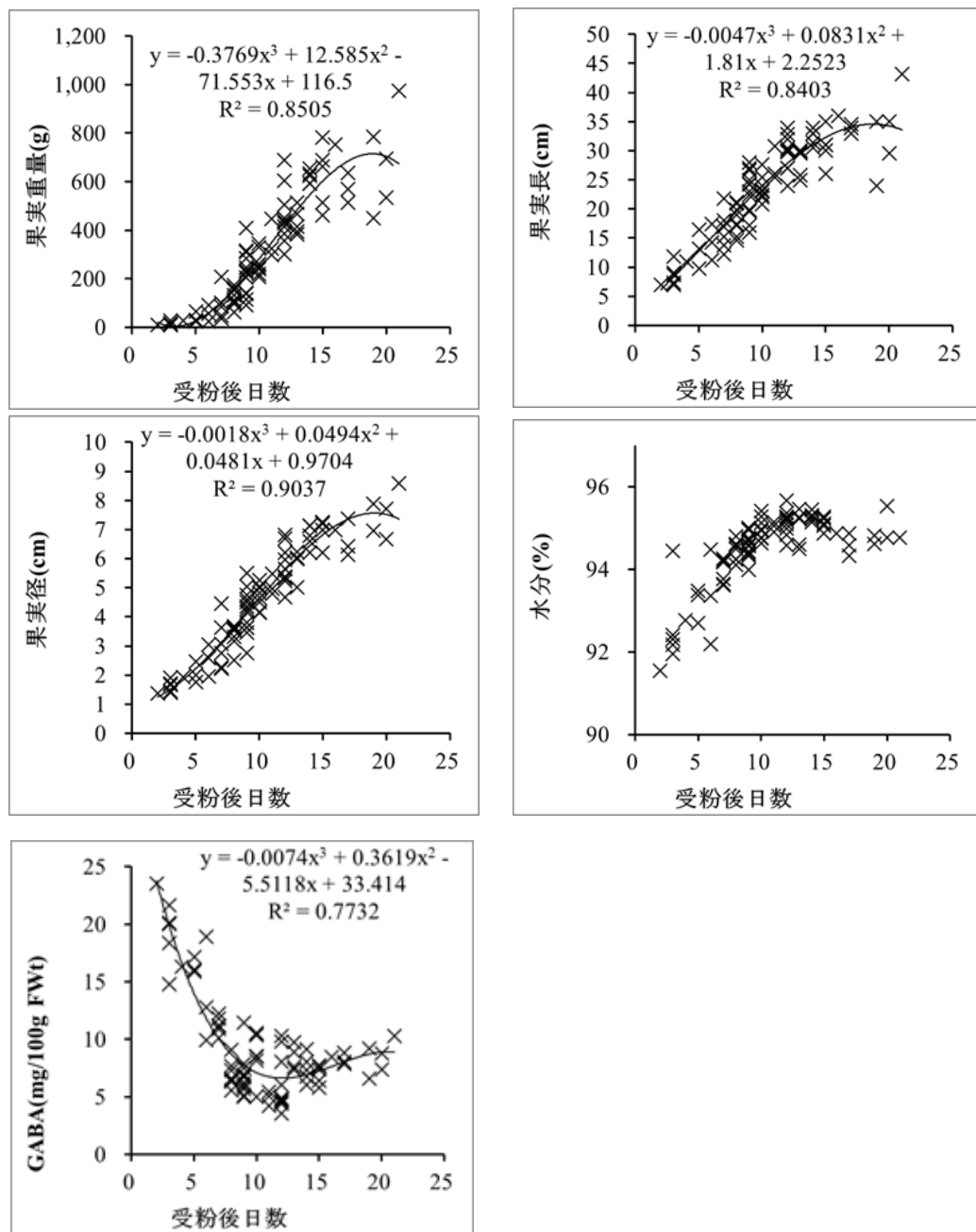


図4-4 へちまの受粉後日数と果実サイズ、水分、GABA含量の関係

(3) へちま等の新規加工技術の開発

へちまの品種や調理法の違いにより特徴フレーバー、特に土臭さに関連する成分の形成が異なることを定量的に明らかにすることができた(表4-4)。また、へちまのGABA含量を増加させるための冷蔵下での真空パック保存において、香り成分を指標として真空パック保存のへちま青果物の品質への影響がないことを確認した(図4-5)。

表4-4 生鮮および加熱調理したへちまの土臭さに寄与する成分の比較

RI	化合物	サザンヘチマ ($\mu\text{g}/100\text{g}$)			沖農1号 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)			におい特性
		生鮮	オープンパン	電子レンジ	生鮮	オープンパン	電子レンジ	
DB-5								
907	methional	0.002	0.018	0.088	0.006	0.040	0.071	皮付きジャガイモ様
920	2-acetyl-1-pyrroline	nd	tr	tr	nd	tr	tr	焼けた紙様・ナッツ様
1048	2-methoxy-3,5-dimethylpyrazine	0.010	0.010	0.004	0.005	0.007	0.002	チョコレート様・ナッツ様
1087	2-methoxy-3-isopropylpyrazine	0.021	0.007	0.007	0.063	0.089	0.012	土臭い

nd: 未検出, tr: 微量

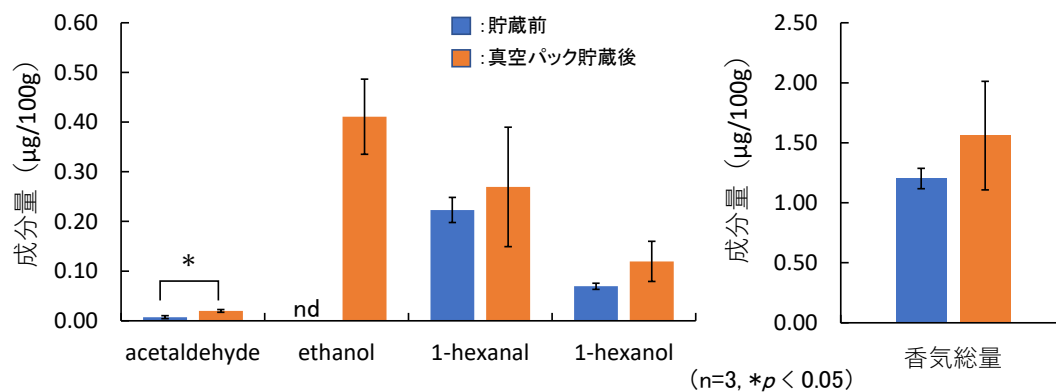


図4-5 真空パックでの冷蔵保存に伴うへちまの香気成分の変化

(4) からし菜等の栽培技術の開発

からし菜の収集系統や品種の栽培時期におけるGABA含量を調査した結果、栽培期間を通して系統間のGABA含量に差はなく、1株重が高く推移した「沖縄からし菜」を選定した(表4-5)。

表4-5 からし菜系統の生育およびGABA含量

系統名	栽培時期	葉長 (cm)	葉幅 (cm)	葉数 (枚)	1株重 (g)	GABA (mg/100g-FW)
沖縄からし菜	8-9月	25.1±1.9	16.1±1.2	8.0±0.7	86.6±15.3	25.8±6.0
多良間	8-9月	24.5±1.1	15.0±1.1	7.8±0.8	73.9±15.2	22.8±2.9
今帰仁	8-9月	24.2±1.1	14.5±0.5	7.3±0.6	74.7±12.6	25.0±5.3
石垣	8-9月	22.8±1.3	14.7±1.0	5.9±0.8	53.7±8.2	29.0±4.6

(5) からし菜等の加工・調理技術の開発

3月、5月、7月、9月、11月収穫のからし菜のGABA含量を調査した。3月、5月収穫のGABA含量は多かったが、7月収穫のGABA含量は少なかった(図4-6)。9月には再びGABA含量は多くなったが、11月にはまた少なくなった。からし菜を蒸し調理し、GABA含量が維持されていることを確認した(図4-7)。

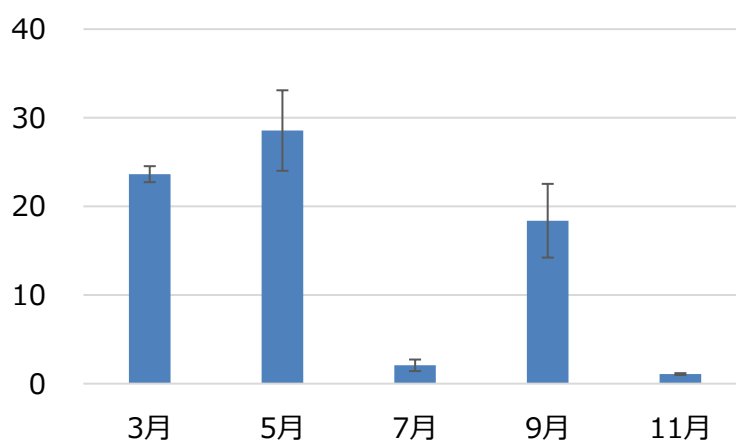


図4-6 からし菜の収穫時期別GABA含量 (mg/100g-FW)

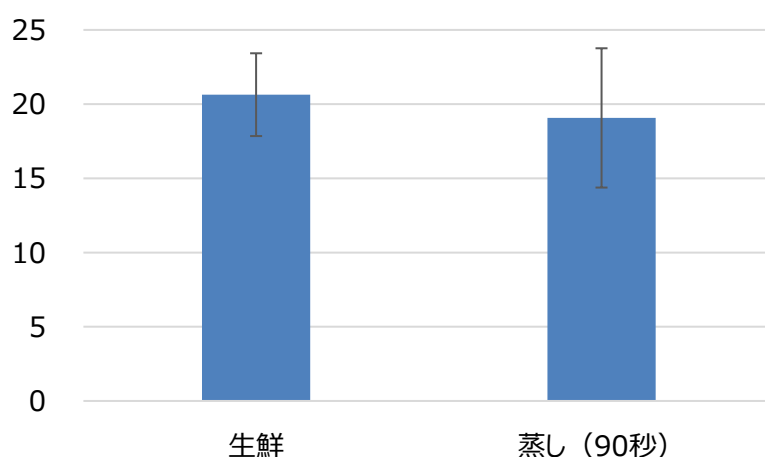


図4-7 からし菜を蒸し調理した際のGABA含量の変化 (mg/100g-FW)

(6) 沖縄野菜の機能性、作用機序の解明

へちまを用いた動物試験において、単回・反復の血圧上昇抑制効果を確認できた(図4-8、図4-9)。へちまの食餌性肥満モデルマウスにおける脂質代謝関連指標に及ぼす影響を調べた結果、腹腔内脂肪蓄積抑制作用と血清総コレステロール濃度低下作用が認められた(図4-10、図4-11)。からし菜を用いた動物試験において、血糖値上昇抑制効果を確認できた(図4-12、図4-13、図4-14)。

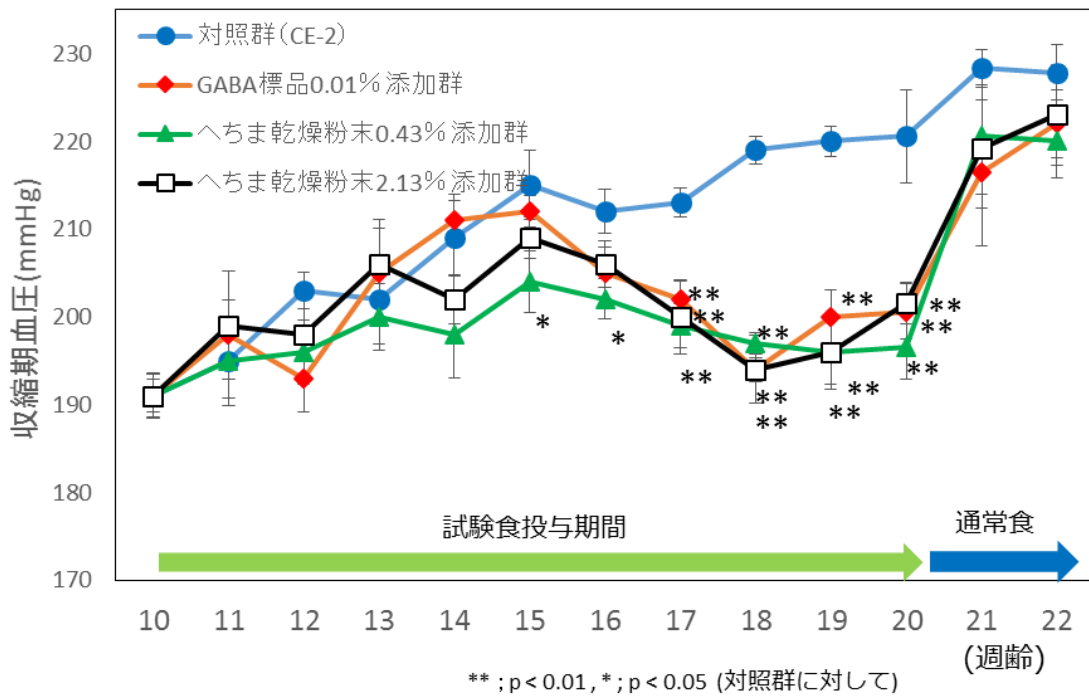


図4-8 へちまの反復投与によるSHRの収縮期血圧の変化

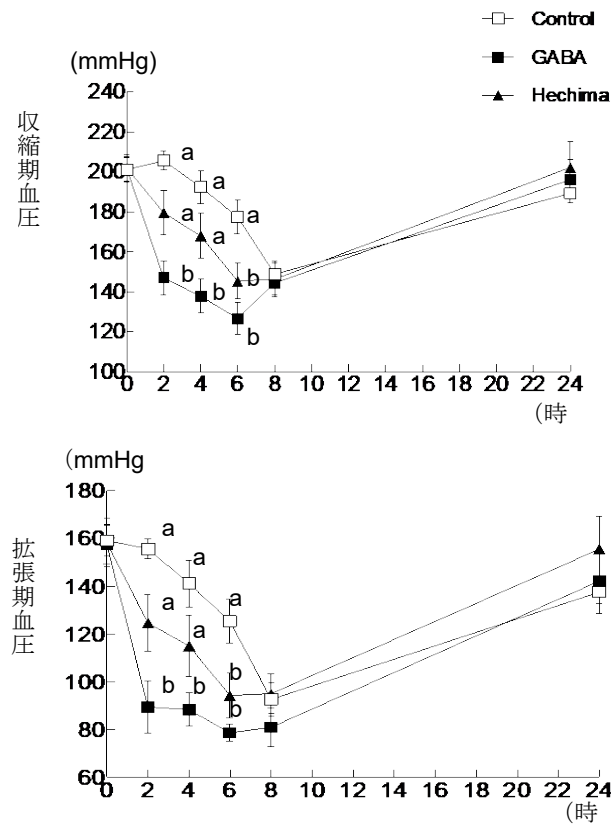


図4-9 SHRへのへちま単回投与における収縮期血圧と拡張期血圧の変化

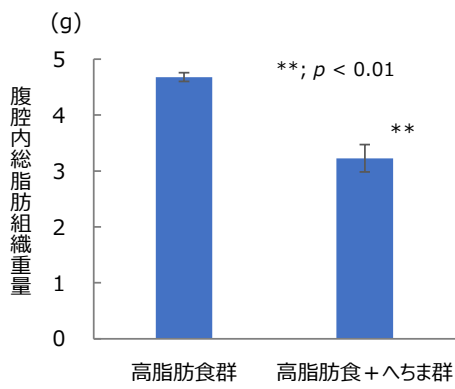


図4-10 腹腔内総脂肪組織重量

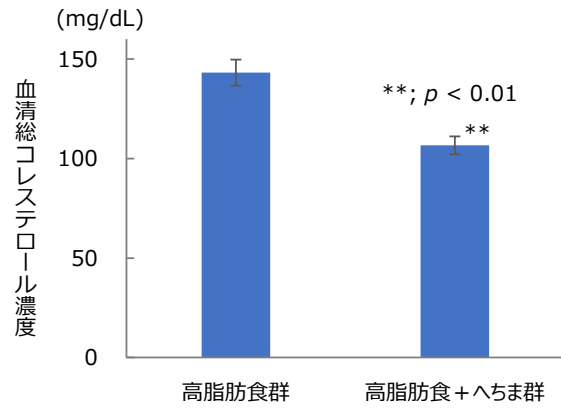


図4-11 血清総コレステロール濃度

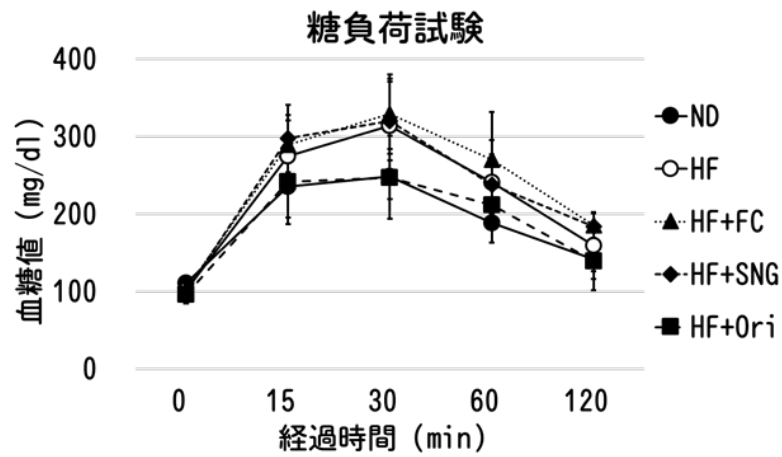


図4-12 糖負荷試験

普通食:ND
 高脂肪食:HF
 高脂肪食+カラシナ相当主要栄養成分(セルロース, カゼイン, ミネラル, ビタミン):HF+FC
 高脂肪食+カラシナ粉末(加熱処理):HF+SNG
 高脂肪食+カラシナ粉末(未処理):HF+Ori

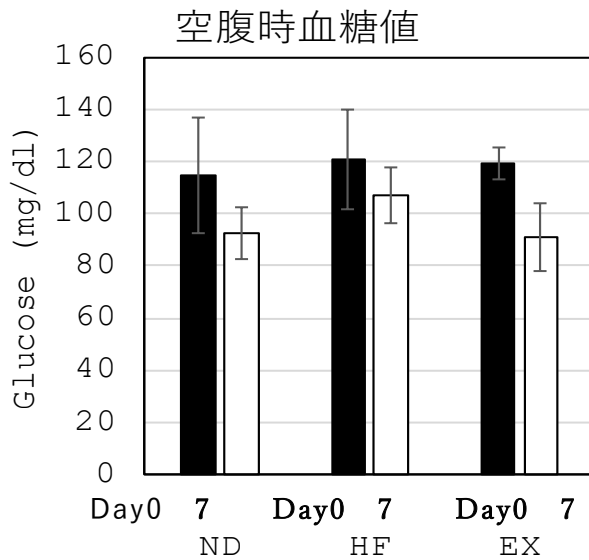


図4-13 空腹時血糖値の変化
 実験開始(Day0), 1週間投与後(Day7), 通常食(ND), 高脂肪食(HF), からし菜10%実験食

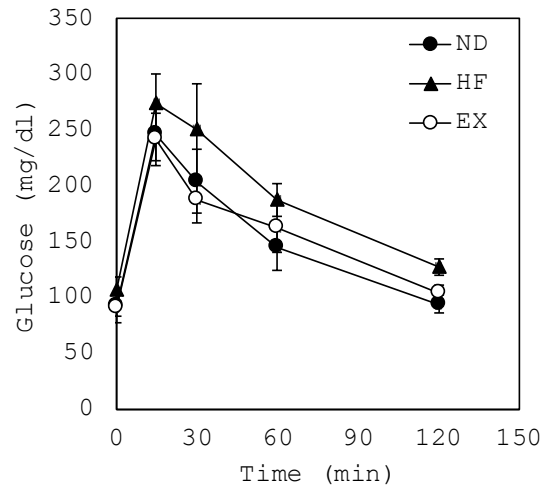


図4-14 糖負荷試験
 通常食(ND), 高脂肪食(HF), からし菜10%実験食(EX)

(7) 沖縄伝統野菜のヒト介入研究

介入前後の血圧の比較を行ったところ、茹で群のSBPにおいて-5.6mmHg有意(前後の比較 $p=0.02$)に低下した。DBPは、低下傾向を示したが、いずれの群とも有意な変化は見いだせておらず、引き続き解析中である(図4-15)。

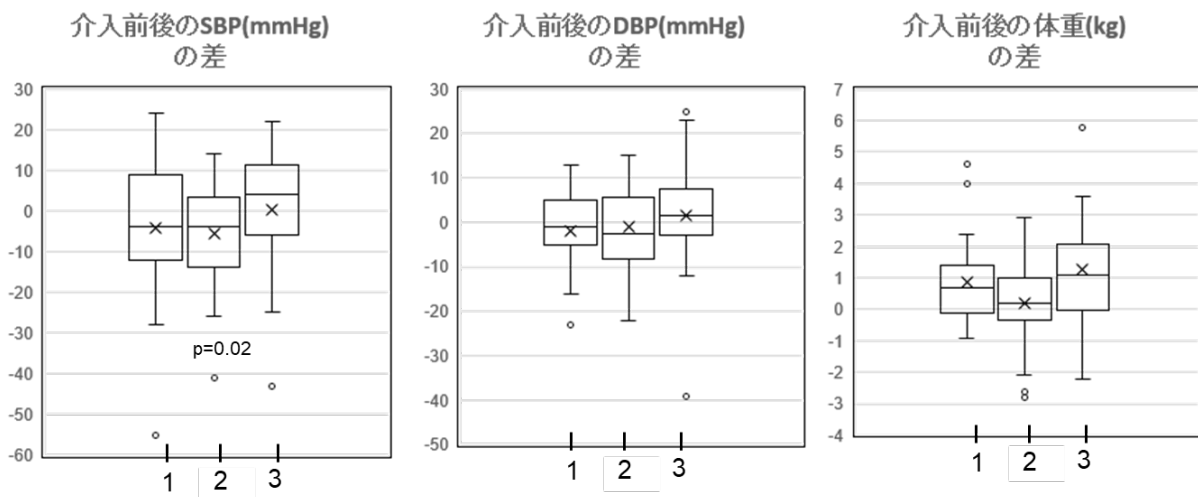


図4-15 介入前後の血圧の差の比較
 正常高血圧+I度高血圧以上 N=91(1: 蒸し調理N=27, 2: 茹で調理N=34, 3: へちま無しN=30)

(8) 機能性沖縄伝統野菜のビジネスモデル構築

沖縄県内消費者400名（男女均等、20代、30代、40代、50代以上各100名）の調査により、食用へちま、からし菜を好む消費者が一定以上確認できた。各種商品試作を行い、ペットボトルのへちま飲料をヒト介入試験の試験食とした。3月から6月にかけて収穫し、2日間真空包装したハウスへちまは、真空包装していないへちまよりもGABAが多かった（図4-16）。真空包装した生鮮へちまに含まれるGABAについて、農林水産省技術会議による「農林水産物の機能性表示に向けた技術的対応について—生鮮食品などの取扱い—」（平成27年8月作成）にしたがって下限値を求め、農研機構で公開されているシステムティックレビューにより機能性表示食品とすることとした（図4-17）。

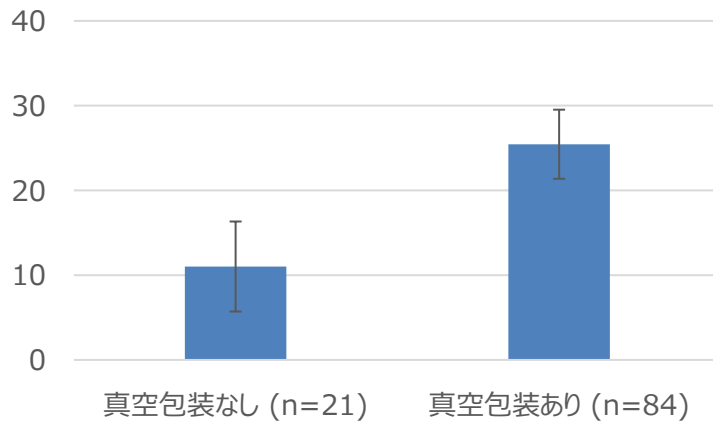


図4-16 2日間真空包装したハウスへちまのGABA含量 (mg/100g-FW)



図4-17 表示見本

4) 成果活用における留意点

(1) へちまの栽培技術の開発

天敵を利用する際、殺虫効果の高い農薬は天敵にも影響するため、天敵に影響の少ない選択性殺虫剤を使用する。また、クロマルハナバチの受粉効果を維持するため、付属の餌や砂糖水を定期的に補給する。

(4) からし菜等の栽培技術の開発

からし菜のGABA含量は、天候や栽培条件に左右されるため、定期的なモニタリングが必要である。

(8) 機能性沖縄伝統野菜のビジネスモデル構築

真空包装したへちまは4日後までGABA含量が増加し続けることを確認している。

5) 今後の課題

(1) へちまの栽培技術の開発

へちま施設栽培の生産拡大および栽培技術の平準化。

(4) からし菜等の栽培技術の開発

からし菜の生産拡大および定期的なGABA含量のモニタリング。

(8) 機能性沖縄伝統野菜のビジネスモデル構築

機能性表示食品届出後のGABA含量モニタリング。

<引用文献>

(1) へちまの加工・調理技術の開発

広瀬ら (2021) Food Sci. Technol. Res., 27(1): 57-61

前田ら (投稿準備中) 日食保蔵誌

(2) へちま等の新規加工技術の開発

Odorous volatiles and methoxypyrazines responsible for the musty-peanut aroma in microwave-heated sponge gourd (*Luffa cylindrica*), Yonathan Asikin, Naoya Tanahara, Goki Maeda, Eito Tsuchida, Naoto Hirose, Moena Oe, Kensaku Takara, Koji Wada, Food Science and Technology Research (2021) 投稿中

(3) からし菜等の栽培技術の開発

澤井ら (2020) 日食科工誌、67(6):203-208

(4) からし菜等の加工・調理技術の開発

石川ら (2020) 日食科工誌、67(12):474-482

(5) 沖縄伝統野菜のヒト介入研究

伊藤ら (2020) 食品と容器、61(10):604-609

Ⅲ 研究成果一覧【公表可】

課題番号 16808863

中課題名 地域の農林水産物・食品の機能性発掘のための研究開発

成果等の集計数

課題番号	学術論文		学会等発表(口頭またはポスター)		出版図書	国内特許権等		国際特許権等		PCT	報道件数	普及しうる成果	発表会の主催(シンポジウム、セミナー等)	アウトリーチ活動
	和文	欧文	国内	国際		出願	取得	出願	取得					
16808863	5	26	29	5	1	1	0	0	0	0	16	1	2	4

(1) 学術論文

区分: ①原著論文、②その他論文

整理番号	区分	タイトル	著者	機関名	掲載誌	掲載論文のDOI	発行年	発行月	巻(号)	掲載ページ
1	①	The relationship between vegetable/fruit consumption and gallbladder/bile duct cancer: A population-based cohort study in Japan	津金昌一郎ら (筆頭著者: 牧内武)	国立がん研究センター	Int J Cancer	doi: 10.1002/ijc.30492	2017	3	140(5)	1009-1019
2	①	Cruciferous vegetable intake is inversely associated with lung cancer risk among current nonsmoking men in the Japan Public Health Center (JPHC) study	津金昌一郎ら (筆頭著者: 森渚)	国立がん研究センター	J Nutr	doi: 10.3945/jn.117.247494	2017	5	147(5)	841-849
3	①	Fermented soy product intake is inversely associated with the development of high blood pressure: the Japan Public Health Center-based Prospective study	津金昌一郎ら (筆頭著者: 野末みほ)	国立がん研究センター	J Nutr	doi: 10.3945/jn.117.250282	2017	9	147(9)	1749-1756
4	①	Cruciferous vegetable intake and mortality in middle-aged adults: A prospective cohort study	津金昌一郎ら (筆頭著者: 森渚)	国立がん研究センター	Clin Nutr	doi: 10.1016/j.clnu.2018.04.012	2018	4	S0261-5614	3016-3-8
5	①	Cruciferous vegetable intake and colorectal cancer risk: Japan public health center-based prospective study	津金昌一郎ら (筆頭著者: 森渚)	国立がん研究センター	Eur J Cancer Prev	doi: 10.1097/CEJ.0000000000000491	2019	9	28(5)	420-427
6	①	Fruit and vegetable intake and pancreatic cancer risk in a population-based cohort study in Japan	津金昌一郎ら (筆頭著者: 山極洋子)	国立がん研究センター	Int J Cancer	doi: 10.1002/ijc.31894	2018	4	144(8)	1858-66
7	①	Association of vegetable, fruit, and Okinawan vegetable consumption with incident stroke and coronary heart disease.	津金昌一郎ら (筆頭著者: 吉崎貴大)	国立がん研究センター	J Epidemiol	doi: 10.1097/CEJ.0000000000000491	2019	9	28(5)	420-7
8	①	Association between Okinawan vegetables consumption and risk of type 2 diabetes in Japanese communities: The JPHC Study.	津金昌一郎ら (筆頭著者: 山本純平)	国立がん研究センター	J Epidemiol	doi: 10.2188/jea.JE20180262	2020	5	30(5)	227-235
9	①	Circulating sex hormone levels and colorectal cancer risk in Japanese postmenopausal women: The JPHC nested case-control study.	津金昌一郎ら (筆頭著者: 森渚)	国立がん研究センター	Int J Cancer	doi: 10.1002/ijc.32431	2019	9	145(5)	1238-44
10	①	Soy food and isoflavones are not associated with changes in serum lipids and glycohemoglobin concentrations among Japanese adults: a cohort study.	津金昌一郎ら (筆頭著者: Wilunda Calistus)	国立がん研究センター	Eur J Nutr	doi: 10.1007/s00394-019-02057-7	2020	8	59(5)	2075-2087
11	①	Intake of vegetables and fruits and the risk of cataract incidence in a Japanese population: the Japan Public Health Center-based Prospective Study.	津金昌一郎ら (筆頭著者: 安達さやか)	国立がん研究センター	J Epidemiol	doi: 10.2188/jea.JE20190116	2021	1	31(1)	21-29
12	①	Associations between changes in fruit and vegetable consumption and weight change in Japanese adults.	津金昌一郎ら (筆頭著者: Wilunda Calistus)	国立がん研究センター	Eur J Nutr	doi: 10.1007/s00394-020-02236-x	2020	4	in press	in press
13	①	Soy Food Intake and Pancreatic Cancer Risk: The Japan Public Health Center-based Prospective Study	津金昌一郎ら (筆頭著者: 山極洋子)	国立がん研究センター	Cancer Epidemiol Biomarkers Prev	doi: 10.1158/1055-9965.EPI-19-1254	2020	6	29(6)	1214-1221
14	①	Why has Japan become the world's most long-lived country: insights from a food and nutrition perspective.	津金昌一郎ら (筆頭著者: 津金昌一郎)	国立がん研究センター	Eur J Clin Nutr	doi: 10.1038/s41430-020-0677-5	2020	7	in press	in press
15	①	Comparison between the impact of fermented and unfermented soy intake on the risk of liver cancer: the JPHC Study	津金昌一郎ら (筆頭著者: 阿部サラ)	国立がん研究センター	Eur J Nutr	doi: 10.1007/s00394-020-02335-9	2020	7	in press	in press
16	①	Fermented soy products intake and risk of cardiovascular disease and total cancer incidence: The Japan Public Health Center-based Prospective study.	津金昌一郎ら (筆頭著者: 野末みほ)	国立がん研究センター	Eur J Clin Nutr	doi: 10.1038/s41430-020-00732-1	2020	9	in press	in press
17	①	Soy and isoflavone consumption and subsequent risk of prostate cancer mortality: the Japan Public Health Center-based Prospective Study.	津金昌一郎ら (筆頭著者: 澤田典絵)	国立がん研究センター	Int J Epidemiol	doi: 10.1093/ije/dyaa177	2020	10	49(5)	1553-1561
18	①	Fermented and nonfermented soy foods and the risk of breast cancer in a Japanese population-based cohort study.	津金昌一郎ら (筆頭著者: 調律子)	国立がん研究センター	Cancer Med	doi: 10.1002/cam4.3677	2020	12	in press	in press
19	①	Effects of γ -Polyglutamic Acid on the Cecal Microbiota and Visceral Fat in KK-Ay/TaJcl Male Mice.	Tamura Mら	食品研究部門	Food Sci Technol Res	https://doi.org/10.3136/fstr.24.151	2018	1	24(1)	151-157
20	①	Effects of γ -Polyglutamic Acid on Blood Glucose and Caecal Short Chain Fatty Acids in Adult Male Mice.	Tamura Mら	食品研究部門	Food Nutr Sci	10.4236/fns.2020.111002	2020	1	11(1)	8-22
21	①	The possibility of suppression of increased postprandial blood glucose levels by gamma-polyglutamic acid-rich natto in the early phase after eating: a randomized crossover pilot study	Araki Rら	筑波大学	Nutrients	10.3390/nu12040915	2020	4	12(4)	915
22	①	Gamma-polyglutamic acid-rich natto suppresses postprandial blood glucose response in the early phase after meals: a randomized crossover study	Araki Rら	筑波大学	Nutrients	10.3390/nu12082374	2020	8	12(8)	2374

23	①	Characterization of Microbiota that Influence Immunomodulatory Effects of Fermented Brassica rapa L.	Bayanjargal Sandagdorj, Chisato Hamajima, Takeshi Kawahara, Jun Watanabe, Sachi Tanaka	信州大学、農研機構	Microbes and Environments	https://doi.org/10.1264/jsme2.ME19003	2019	6	34(2)	206-214
24	①	Lactobacillus plantarum Shinshu N-07 isolated from fermented Brassica rapa L. attenuates visceral fat accumulation induced by high-fat diet in mice	T. Yin, S. Bayanjargal, B. Fang, C. Inaba, M. Mutoh, T. Kawahara, S. Tanaka, J. Watanabe	農研機構、信州大学、国立がん研究センター	Beneficial Microbes	https://doi.org/10.3920/bm2020.0009	2020	10	11	655-667
25	①	Metabolomic evaluation of different starter culture effects on water-soluble and volatile compound profiles in nozawana pickle fermentation	Satoru Tomita, Jun Watanabe, Takeshi Kuribayashi, Sachi Tanaka, Takeshi Kawahara	農研機構、長野県工芸センター、信州大学	Food Chemistry: Molecular Sciences	https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100019	2021	7	2	100019-100019
26	②	PLC-PDAおよびHPLC-MSを用いたグルコンノレート類の分析方法	芹澤啓明	長野県野菜花き試験場	長野野菜花き試報	なし	2021	3	17	
27	①	食用植物中のニコチアミン量と冷蔵保存および調理による変化	高良健作、長嶺伸、安次嶺稜弥、宮城一菜、和田浩二	琉球大学	日本食品保蔵科学会誌	なし	2017	5	43(3)	111-118
28	①	アブラナ科カラシナに含まれる遊離アミノ酸、シニグリン、アリルイソチオシアネートの遮光栽培による影響	澤井祐典、玉城盛俊	農研機構 九州沖縄農業研究センター	日本食品科学工学会誌	doi: 10.3136/nskkk.67.203	2020	6	67(6)	203-208
29	①	湿式加熱調理に伴うカラシナ中成分の変動	石川千秋、澤井祐典、棚原尚哉、西場洋一	農研機構 九州沖縄農業研究センター	日本食品科学工学会誌	doi: 10.3136/nskkk.67.474	2020	12	67(12)	474-482
30	①	GABAを含む食品の健康機能-高血圧予防の可能性-	伊藤早苗、等々力英美	琉球大学	食品と容器	なし	2020	61	10	604-609
31	①	Suitability of lactic acid bacteria for the production of pickled luffa (Luffa cylindrica Roem.)	Hirose N ら	沖縄県農業研究センター	Food Sci.Technol.Res.	doi: 10.3136/fstr.27.57	2021	1	27(1)	57-61

(2) 学会等発表(口頭またはポスター)

整理番号	タイトル	発表者名	機関名	学会等名	発行年	発行月
1	Cruciferous vegetable and lung cancer risk: A prospective study and a meta-analysis	森渚	国立がん研究センター	The 21st International Congress of Nutrition	2017	10
2	Validity and reproducibility of isothiocyanate intake assessed by food frequency questionnaire in the JPHC-next validation study: Comparison with 12-day weighed food records	森渚	国立がん研究センター	European Congress of Epidemiology 2018	2018	7
3	粘り成分γ-ポリグルタミン酸の分子量の違いがマウスに及ぼす影響の検討	田村 基	食品研究部門	日本食品科学工学会 第65回大会	2018	8
4	大豆は健康に寄与する～大豆食品の機能性	田村 基	食品研究部門	農研機構シンポジウム 大豆研究最前線-新時代の大豆を目指して-	2019	3
5	γ-ポリグルタミン酸高含有納豆のマウスの肝脂質と腸内菌叢に及ぼす影響	田村 基	食品研究部門	第24回腸内細菌学会	2020	6
6	大豆品種の違いによる納豆中γ-ポリグルタミン酸含量の分析	野口 友嗣	茨城県産業技術イノベーションセンター	第16回日本分析化学会茨城地区分析技術交流会	2019	11
7	高γ-poly glutamic acid納豆の単回摂取がヒトの食後血糖変動に及ぼす影響の検討	唯根菜々子	筑波大学	第23回日本フードファクター学会・第12回日本ポリフェノール学会・第15回日本カテキン学会合同学術集会	2018	9
8	高γ-poly-glutamic acid(γ-PGA)納豆による食後血糖上昇抑制効果の検討	荒木理沙	筑波大学	日本食品科学工学会第66回大会	2019	8
9	Clinical Trials for a New, High-functional Japanese diet: focusing on natto and brown rice	橋本幸一	筑波大学	ICoFF	2019	12
10	野沢菜漬け由来乳酸菌N-07株と野沢菜粉末による肥満抑制効果の解析	田中 佑奈、澤 陶有子、中嶋 茜、浅見 拓也、遠藤 勝紀、吉倉 陽華、松井 莉奈、田中 沙智	信州大学農学部	日本農芸化学会 2021大会	2021	3
11	免疫調節作用に関与する野沢菜漬け由来乳酸菌種の同定	濱島 知里、山本 佳奈、高橋 楓香、渡辺 純、田中 沙智	信州大学、農研機構	日本食品免疫学会第13回学術大会	2017	11
12	野沢菜漬け由来乳酸菌Lactobacillus plantarum Shinshu N-07株の抗肥満効果の検証	稲葉 千尋、浅見 拓哉、遠藤 勝紀、松井 莉奈、渡辺 純、田中 沙智	信州大学、農研機構	日本食品免疫学会	2019	10
13	野沢菜漬け由来Lactobacillus plantarum Shinshu N-07株の食事誘導肥満抑制作用	渡辺純、Tingyu Yin、Bayanjargal Sandagdorj、Bowen Fang、河原岳志、田中沙智	農研機構、信州大学	日本食品科学工学会	2019	8
14	Anti-obesity effect of Lactobacillus plantarum Shinshu N-07 isolated from fermented Brassica rapa L.	Jun Watanabe, Tingyu Yin, Bayanjargal Sandagdorj, Bowen Fang, Takeshi Kawahara, and Sachi Tanaka	農研機構、信州大学	IPC	2019	6
15	野沢菜漬け由来乳酸菌N-07株と野沢菜粉末による肥満抑制効果の解析	田中 佑奈、澤 陶有子、中嶋 茜、浅見 拓也、遠藤 勝紀、吉倉 陽華、松井 莉奈、田中 沙智	信州大学農学部	日本農芸化学会 2021大会	2021	3
16	へちまの加熱褐変程度評価方法の検討	広瀬直人	沖縄県農業研究センター	沖縄農業研究会	2016	8
17	へちまの施設栽培におけるクロマルハナバチの受粉効果	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	沖縄農業研究会	2016	8
18	からし菜の部位別シニグリン含量とアリルイソチオシアネート生成量	澤井祐典、沖 智之、玉城盛俊	農研機構 九州沖縄農業研究センター	九州農業研究発表会	2017	9
19	からし菜のシニグリン含量とアリルイソチオシアネート生成量	澤井祐典、沖 智之、玉城盛俊	農研機構 九州沖縄農業研究センター	九州沖縄農業試験研究推進会議フードシステム推進部会食品関連技術研究会	2017	10
20	クロマルハナバチによる受粉が促成栽培へちまの収量および果実品質に及ぼす影響	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	園芸学会	2017	9
21	沖縄県のへちま施設栽培における天敵利用の取り組みについて	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	天敵利用研究会	2017	10
22	へちまの施設栽培における花粉媒介昆虫および天敵利用による省力化栽培	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	沖縄農業研究会	2018	8
23	へちまの施設(促成)栽培におけるクロマルハナバチの受粉効果	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	九州農業研究園芸学会九州支部	2018	9
24	からし菜の栽培時期の違いが生育、シニグリンおよびAITC含量に及ぼす影響	玉城盛俊	沖縄県農業研究センター	園芸学会	2018	9

25	ヘチマ施設栽培の現地圃場における天敵利用の効果	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	天敵利用研究会	2018	11
26	カラシナにおける調理加工時のGABA含量の変動	石川千秋、澤井祐典、西場洋一、棚原尚哉	九州沖縄農業研究センター、沖縄県農業研究センター	日本農芸化学会2019年大会	2019	3
27	へちまのGABA含量と部位、受粉後日数、加熱条件の関係	前田剛希、花ヶ崎敬資、広瀬直人、恩田聡、棚原尚哉、玉城盛俊、高良健作、和田浩二	沖縄県農業研究センター	日本食品保蔵科学会第68回大会	2019	6
28	ヘチマの施設栽培における天敵利用による害虫防除効果	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	九州農業研究園芸学会九州支部	2019	8
29	令和元年度 園芸学会九州支部賞 進歩賞「ヘチマの施設(促成)栽培におけるクロマルハナバチの受粉効果」	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	九州農業研究園芸学会九州支部	2019	8
30	からし菜の栽培時期の違いが生育およびGABA含量に及ぼす影響	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	園芸学会	2019	9
31	沖縄県のヘチマ施設栽培における2種カブリダニ製剤を用いた害虫防除	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	天敵利用研究会	2019	11
32	Differences in the amount of functional components in leaf mustard (Brassica juncea) cooked by various methods	Chiaki Ishikawa, Yusuke Sawai, Yoichi Nishiba, Naoya Tanahara	九州沖縄農業研究センター、沖縄県農業研究センター	第7回国際フードファクター会議 (ICoFF2019)・第12回国際機能性食品学会 (ISNFF2019)	2019	12
33	ヘチマの施設栽培における天敵利用の現状と課題	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	沖縄農業研究会	2020	8
34	ヘチマ施設栽培における天敵製剤を利用したハダニ類防除の検討	棚原尚哉	沖縄県農業研究センター	九州農業研究園芸学会九州支部	2020	9

(3) 出版図書

区分: ①出版者書、②雑誌(学術論文に記載したものを除く、重複記載をしない。)、③年報、④広報誌、⑤その他

整理番号	区分	著書名(タイトル)	著者名	機関名	出版社	発行年	発行月
1	②	玄米と納豆の健康機能性	荒木理沙、橋本幸一	筑波大学	食品と容器	2020	9

(4) 国内特許権等

区分: ①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

整理番号	区分	特許権等の名称	発明者	権利者(出願人等)	機関名	出願番号	出願年月日	取得年月日
1	②	新規な抗メタボリックシンドローム作用を有する乳酸菌ならびにこれを用いて得られる漬物およびその製造方法	渡辺純 河合崇行 富田理 田中沙智 河原岳志	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 国立大学法人信州大学	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 国立大学法人信州大学	特願2020-54638(P2020-54638)	2020/3/25	

(5) 国際特許権等

区分: ①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

整理番号	区分	特許権等の名称	発明者	権利者(出願人等)	機関名	出願番号	出願年月日	取得年月日	出願国
1		該当なし							

(6) 報道等

区分: ①プレスリリース、②新聞記事、③テレビ放映、④その他

整理番号	区分	記事等の名称	機関名	掲載紙・放送社名等	掲載年月日	備考
1	③	アブラナ科野菜と死亡	国立がん研究センター	日本テレビ	2018/9/20	
2	④	果物・野菜摂取と膀胱がん罹患の関連について	国立がん研究センター	Medical Tribune	2018/11/5	ウェブ掲載
3	④	果物・野菜摂取と膀胱がん罹患の関連について	国立がん研究センター	Yahooニュース	2018/11/6	ウェブ掲載
4	③	アブラナ科野菜と死亡	国立がん研究センター	テレビ朝日	2019/5/21	
5	③	【林修の今でしょ! 講座】アブラナ科野菜と死亡	国立がん研究センター	テレビ朝日	2019/9/17	
6	③	【林修の今でしょ! 講座】大豆製品・イソフラボン摂取量と前立腺がんとの関連について	国立がん研究センター	テレビ朝日	2019/11/19	
7	④	血中性ホルモン濃度と大腸がん罹患との関連について	国立がん研究センター	健康づくり	2019/10/1	ウェブ掲載
8	③	【名医とつながる! たけしの家庭の医学】アブラナ科野菜と死亡	国立がん研究センター	テレビ朝日	2020/1/21	
9	④	【ヘルスケア+】アブラナ科野菜と死亡	国立がん研究センター	日刊ゲンダイ	2020/1/27	ウェブ掲載
10	④	膀胱がんリスク、野菜だけでなく豆腐でも上昇	国立がん研究センター	Medical Tribune	2020/6/25	ウェブ掲載
11	④	大豆食品で膀胱がんのリスクが上昇か-JPHC研究	国立がん研究センター	CareNet	2020/7/23	ウェブ掲載
12	④	豆腐など「大豆食品」で膀胱がんリスク上昇? 日本での研究より	国立がん研究センター	ダイヤモンドオンライン	2020/9/16	ウェブ掲載
13	④	豆食品摂取量と前立腺がん死亡が関連する理由	国立がん研究センター	ダイヤモンドオンライン	2020/11/8	ウェブ掲載
14	④	大豆食品摂取量と前立腺がん死亡が関連	国立がん研究センター	CareNet	2020/11/11	ウェブ掲載
15	②	へちま栽培における天敵利用圃場現地検討会に関する新聞記事	沖縄県農業研究センター	日本農業新聞	2018/5/10	
16	②	へちま受粉で進歩賞〜園芸学会九州〜	沖縄県農業研究センター	沖縄タイムス	2020/9/11	

(7) 普及に移す成果

区分: ①普及に移されたもの・製品化して普及できるもの、②普及のめどがたったもの・製品化して普及のめどがたったもの、③主要成果として外部評価を受けたもの(複数選択可)。

整理番号	区分	成果の名称	機関名	普及(製品化)年月	主な利用場面	普及状況
1	①、②、③	ヘチマの促成栽培(施設)におけるクロマルハナバチを利用した受粉作業の省力化	沖縄県農業研究センター	2019	3	ヘチマの施設栽培 ヘチマ施設栽培における天敵またはクロマルハナバチの利用(11農家、170a、2021年1月現在)

(8) 発表会の主催(シンポジウム・セミナー等)の状況

整理番号	発表会の名称	機関名	開催場所	年月日	参加者数	備考
1	農業改良普及員試験場研修成果発表会	農研機構・長野県野菜花き試験場	長野県庁	2018/2/9	70	
2	地域農林水産物・食品の機能性発掘シンポジウム	農研機構他、参画機関	Web開催	2021/2/19	140	https://www.fft.gr.jp/page/flight/20210219/poster.pdf

(9) アウトリーチ活動の状況

区分: ①一般市民向けのシンポジウム・講演会及び公開講座・サイエンスカフェ等、②展示会及びフェアへの出展・大学及び研究所等の一般公開への参画、③その他(子供向け出前授業等)

整理番号	区分	アウトリーチ活動	機関名	開催場所	年月日	参加者数	主な参加者	備考
1	①	へちま栽培における天敵利用圃場現地検討会	沖縄県農業研究センター	沖縄県農業研究センターへちま圃場	2018/4/27	40	生産農家、JA営農指導員、普及員、行政	
2	①	天敵利用農家講演会～へちまの施設栽培における天敵利用～	沖縄県農業研究センター	JAおきなわ具志頭支店	2018/12/5	80	生産農家、JA営農指導員、普及員、行政	
3	①	天敵利用圃場現地検討会	沖縄県農業研究センター	沖縄県農業研究センターへちま圃場	2019/5/29	40	生産農家、JA営農指導員、普及員、行政	
4	①	天敵利用促進座談会(パネリスト)	沖縄県農業研究センター	JAおきなわ南風原支店	2019/9/11	150	生産農家、JA営農指導員、普及員、行政	