ORYZA OIL & FAT CHEMICAL CO., LTD.

月見草

EVENING PRIMROSE

オリザ油化株式会社

ver. 7.2 JT

月見草

EVENING　PRIMROSE

１．　はじめに

月見草は、アカバナ科マツヨイグサ属の植物です。種子から搾油される月見草油はγ－リノレン酸を豊富に含み、ヨーロッパでは医薬品として扱われております。現在、肥満、糖尿病、高コレステロール血症、PMS (月経前症候群) をはじめとする種々の疾病に適用されています。

オリザ油化株式会社は植物種子中の**ポリフェノール類**に着目し、その機能性についての研究・開発をすすめています。ポリフェノール類は、疾病や老化の原因となる活性酸素を消去することが知られています。**月見草**には、他に類をみない高いポリフェノール含量と、強い抗酸化性を有することを見出しました。さらに、新たな生理活性として、**月見草**がもつ抗糖尿病作用、胃がん細胞に対するアポトーシス誘発作用を発見し、複数の学術論文に発表しました。

２．　月見草について

① 月見草

一般に月見草と呼ばれているものは以下の 4 種類です。本書では、メマツヨイグサを原料とした月見草種子抽出物（以下 月見草エキス）を実験用として作製し、使用しました。

・マツヨイグサ　（*Oenothera striata*）
・メマツヨイグサ　（*Oenothera biennis*）
・コマツヨイグサ　（*Oenothera laciniata*）
・オオマツヨイグサ　（*Oenothera erythrosepala*）

②月見草の食経験

月見草は、古くから北米や中国で栽培されています。北アメリカンインディアンは、全草を腫れ物の治療に、根を痔疾の治療と体力増進に使用してきました。また中国では、根を解熱に、種子を感冒と咽喉炎に使用してきました。

現在、月見草種子は健康補助食品のγ－リノレン酸の原料として広く使われています。全草および葉の抽出物は、お茶として飲用されています。また、根はピクルスとして食され、種子はスープに混ぜて飲まれ、あるいはマフィンに練り込んで食されます。このように、月見草は、世界各地で古くからの食経験がある食品であるといえます。

③ ポリフェノール含量

月見草種子抽出物と、ポリフェノール含量が高いといわれているバナバ葉、グァバ葉、ブドウ種子、ギムネマ葉抽出物のポリフェノール含量を測定しました。その結果、**月見草**には他に類のない､きわめて多くのポリフェノールが含量されていることを確認しました (図1)。

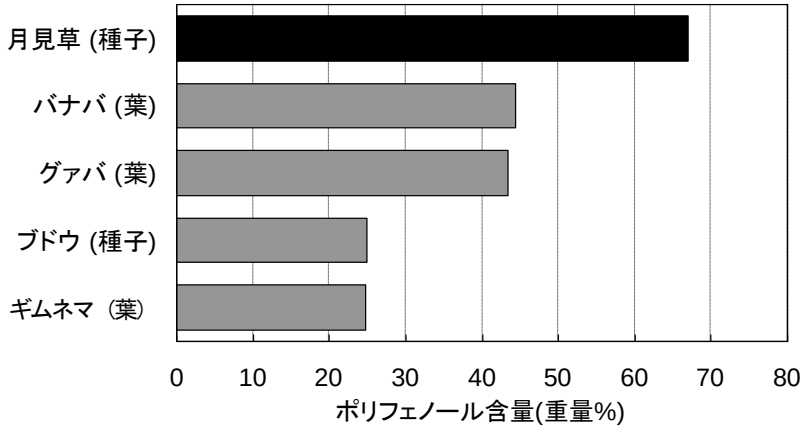

図 1.　各植物抽出物中のポリフェノール含量 (没食子酸当量)

④月見草に含まれるポリフェノール類

月見草に含まれるポリフェノール類には、没食子酸、エラグ酸、ペンタガロイルグルコース、カテキン、プロアントシアニジンなどがあります (図 2)。ポリフェノール類は総じて抗酸化活性を有しますが、没食子酸には収斂作用、エラグ酸にはメラニン生成抑制作用、ペンタガロイルグルコースには抗炎症作用、カテキンには消臭作用や抗菌作用、プロアントシアニジンには動脈硬化予防作用といった様々な機能が報告されています。

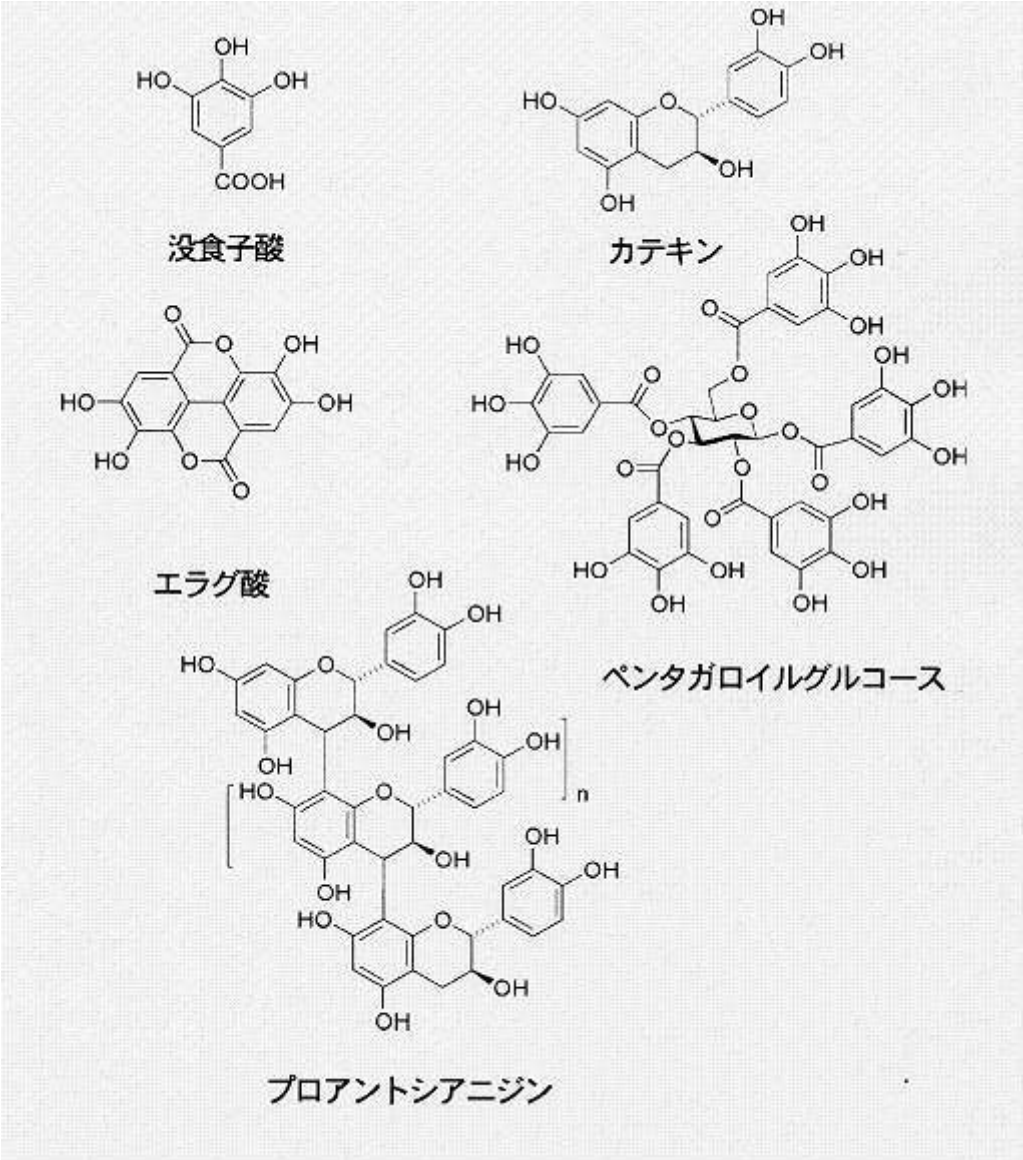

図２　月見草に含有される主なポリフェノール類

３．月見草の機能性

①月見草の抗酸化力

生体内の活性酸素やフリーラジカルを除去するような食品を摂取することは、動脈硬化をはじめとする生活習慣病の予防、老化の予防に効果があるといわれています。月見草種子抽出物は、ポリフェノール含量が高いといわれているバナバ葉、グァバ葉、ブドウ種子、ギムネマ葉抽出物と比較しても、きわめて強い抗酸化力を持っていることが分かりました。

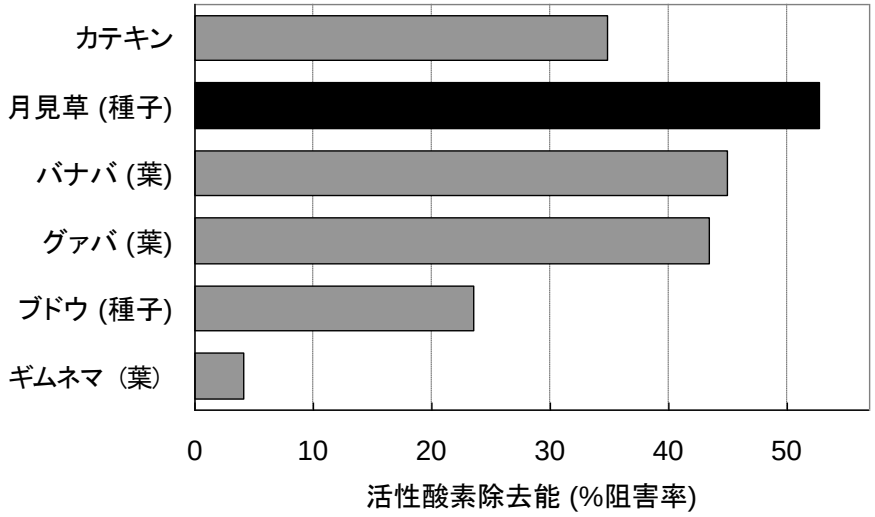

図 3.　カテキン、および植物抽出物の SOD 様活性
[サンプル濃度 0.05 mg/ml]
数値が大きいほど､活性酸素除去能が強い。

表 1　月見草エキスのスーパーオキシド消去活性

分析試験項目	結果	分析方法
スーパーオキシド消去活性	3.5×10^5 単位/ g	電子スピン共鳴 (ESR) 法

分析依頼先　財団法人日本食品分析センター
試験成績書発行年月日　平成 14 年 1 月 21 日
試験成績書発行番号　第 302010023-001 号

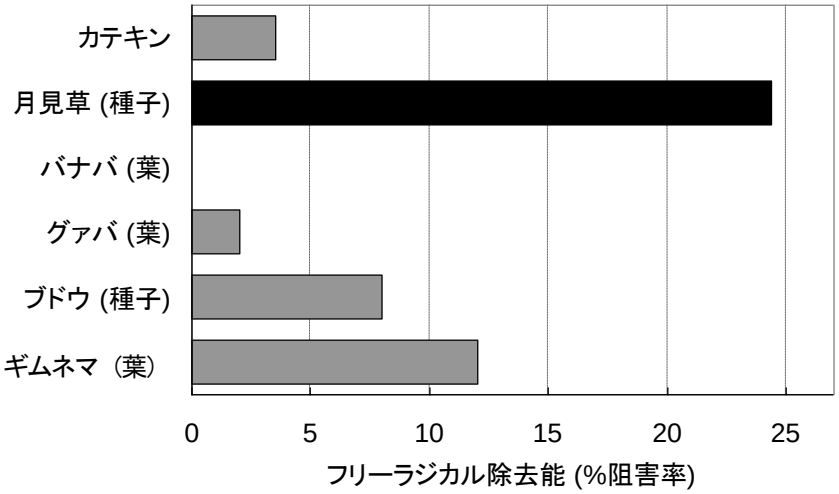

図4.　カテキン、および各植物抽出物の DPPH フリーラジカル除去活性 [サンプル濃度 0.1 mg/ml]
数値が大きいほど、フリーラジカル除去能が強い。

②糖質分解酵素阻害作用（*in vitro*）

消化酵素のα－アミラーゼ、α－グルコシダーゼは、それぞれデンプンと二糖類 (ショ糖など) の消化を担っています。これらの酵素が協調して働くことにより、糖質はブドウ糖として吸収され、血糖値を上昇させます (図 5)。

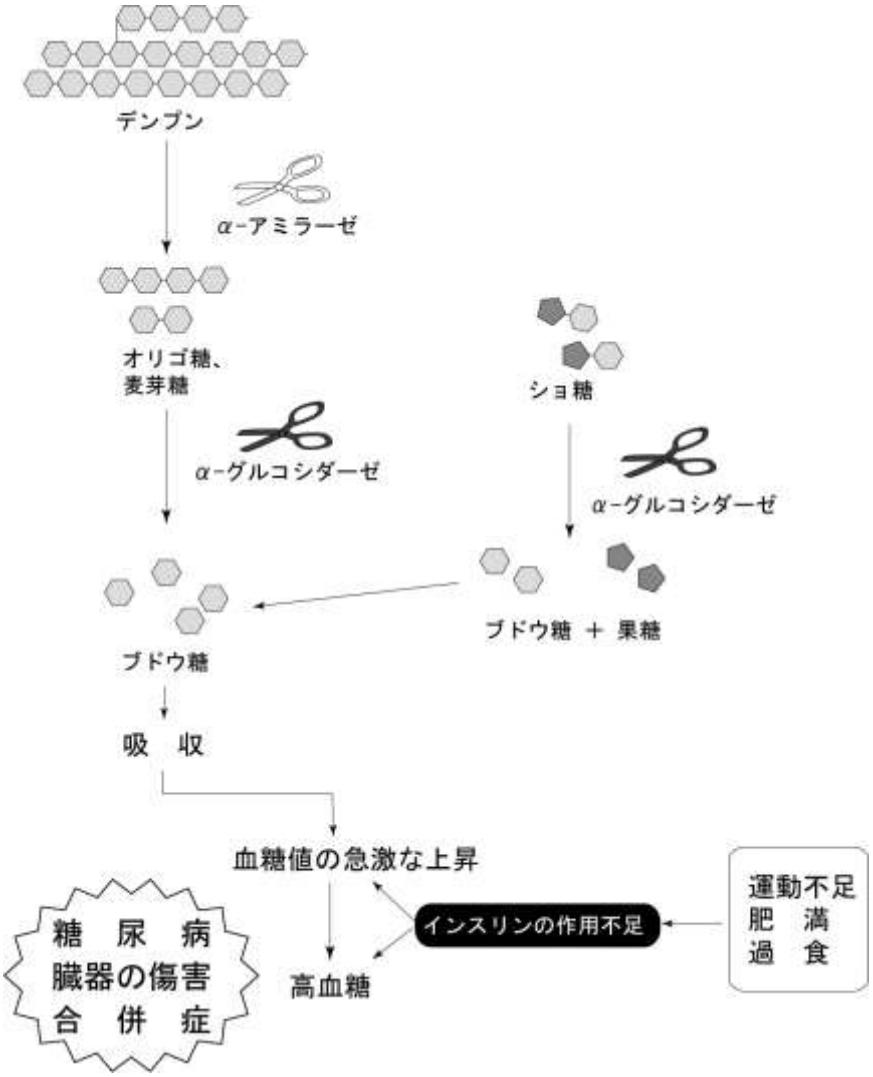

図 5.　糖質の摂取と血糖値の上昇、および糖尿病との関係

そこで、**月見草エキス**がこれらの酵素をどれほど阻害するのかを調べました。比較のため、ポリフェノール含量が高いといわれているバナバ葉、グァバ葉、ギムネマ葉の各抽出物、α－アミラーゼを阻害するといわれている白インゲン豆の抽出物、およびα－グルコシダーゼを阻害する物質 (デオキシノジリマイシン) を含むクワ葉の抽出物について、同様の試験を行ないました。

月見草エキスのα－アミラーゼの阻害活性 (図 6) は、ポリフェノールを多く含むバナバ葉、グァバ葉、ギムネマ葉の各抽出物中で最も強いことが分かりました。クワ葉のα－アミラーゼの阻害活性はそれほど強くなく、クワ葉抽出物はα－グルコシダーゼに特異的に働くといえます。また、白インゲン豆には阻害活性がほとんど認められませんでした。

月見草エキスのα－グルコシダーゼの阻害活性 (図 7) は、ポリフェノールを多く含むバナバ葉、グァバ葉、ギムネマ葉の各抽出物中で最も強いことが分かりました。また、クワ葉の抽出物には非常に強い阻害活性があることが、弊社試験からも示されました。

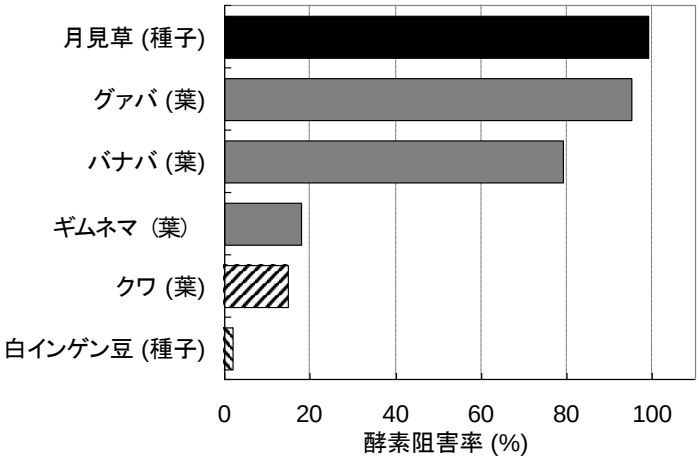

図 6.　植物抽出物のα－アミラーゼ阻害率
[サンプル濃度 0.1 mg/ml]

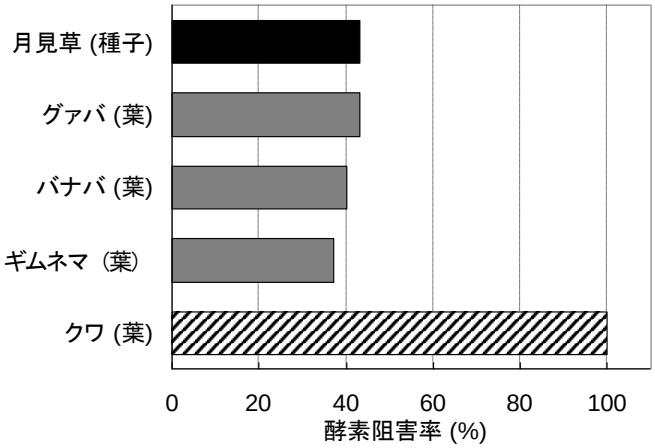

図 7.　植物抽出物のα－グルコシダーゼ阻害率
[サンプル濃度 0.05 mg/ml]

また、**月見草エキス**中の成分ごとに検討を行い、最も大きな寄与を与える成分がプロアントシアニジンであることを突き止めました (表 2)。

表 2　月見草エキスのポリフェノール成分の、糖質消化酵素阻害寄与率

成分	含量 (%)	α-アミラーゼ		α-グルコシダーゼ	
		IC_{50} (mg/ml)	寄与率 (%)	IC_{50} (mg/ml)	寄与率 (%)
月見草エキス	100	0.026		0.34	
PGG	2.7	0.05	1.4	0.10	9.3
没食子酸	3.1	N.D.	--	0.19	5.5
PB1 + PB3	1.5	0.041	1.0	> 2.0	< 0.26
カテキン	3.4	0.10	0.9	6.5	0.18
総 PAC	41.4	0.016	68.0	0.27	52.4

PGG:　ペンタガロイルグルコース
PB1:　プロシアニジン B1　PB3:　プロシアニジン B3
PAC:　プロアントシアニジン
N.D.:　not detected

<参考文献>

「月見草エキスの血糖値上昇抑制作用とその関与成分」*日本食品科学工学会誌,* **50** (4), 180 – 187 (2003).

③アルドースレダクターゼ阻害作用

糖尿病者の高血糖状態から、どのようなメカニズムで合併症に至るのかについては、いろいろな説が提唱されています。その中でも最も注目されているのが、アルドースレダクターゼという酵素です。この酵素は水晶体､網膜、末梢神経、腎および血管など、糖尿病合併症が出現する種々の組織に存在しており、ブドウ糖を特別な経路で代謝し、ソルビトールの産生を促します。ソルビトールは細胞内において比較的安定で、いったん産生されると細胞内に蓄積し、細胞内浸透圧の亢進、補酵素バランスの異常、最終生成物 AGE (グリケーション最終生成物)の蓄積から合併症に至ると考えられています。

しかし、高血糖状態であっても、アルドースレダクターゼを阻害することができれば、ソルビトール濃度上昇による合併症の原因の一つを抑制することができます (図 8)。**月見草エキス**は、アルドースレダクターゼを強く阻害することを見出しました (図 9)。

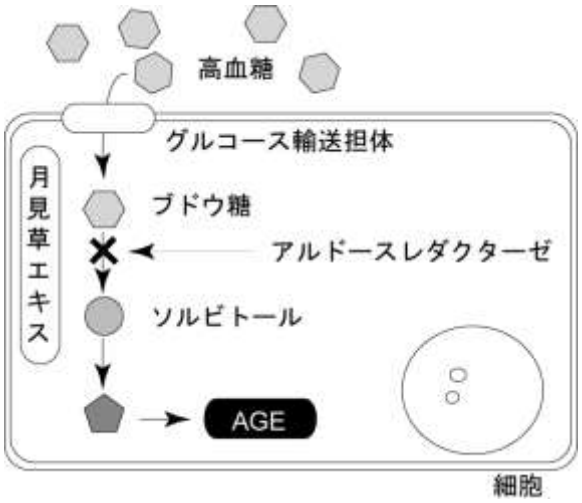

図 8.　細胞内でのアルドースレダクターゼの活性
AGE: グリケーション最終生成物

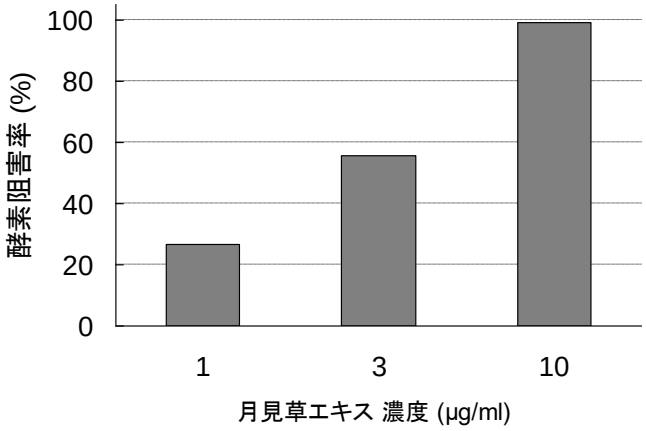

図 9.　**月見草エキス**のアルドースレダクターゼ阻害活性

④ラットにおける血糖値上昇抑制作用

ラットを用いた糖負荷試験において、**月見草エキス**が糖付加後の血糖値の上昇を穏やかにすることが明らかとなりました (図 10)。

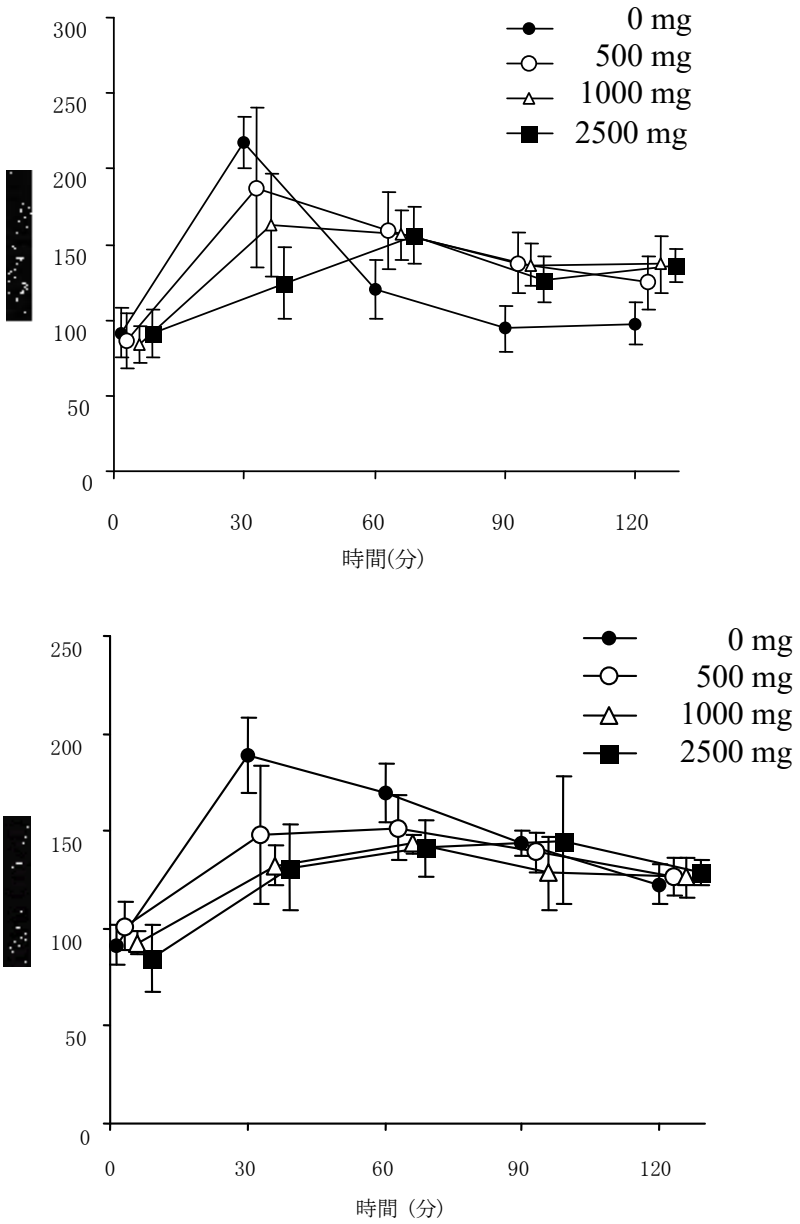

図 10.　糖負荷における血糖値の推移 (ラット, $n = 8 \sim 9$)
デンプンによる負荷(上)およびショ糖による負荷(下)

⑤Ⅱ型糖尿病モデルマウスへの長期摂取試験（*in vivo*）

1%の**月見草エキス**を餌に配合し、非インスリン依存性 (II 型) 糖尿病モデルマウス (KK-Ay) に 6 週間自由摂取させました。血糖値から判断すると、**月見草エキス**摂取群はコントロール群に比べて、糖尿病の進行が抑制されることが明らかになりました (図 11)。

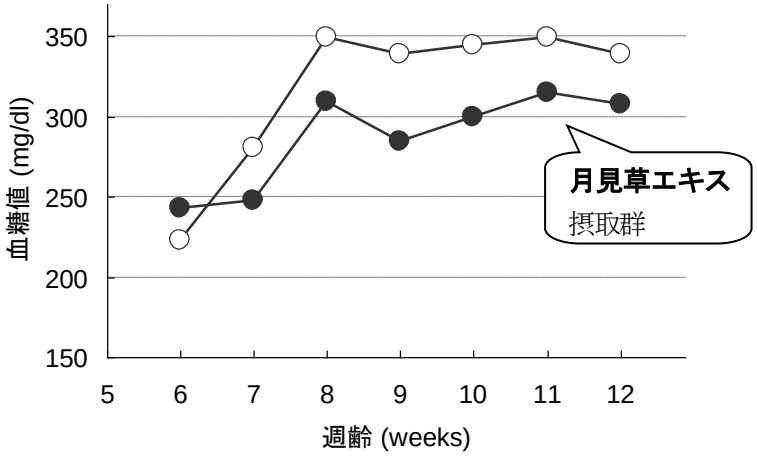

図 11.　**月見草エキス**摂取群と非摂取群における血糖値の経時変化 (II 型糖尿病モデルマウス, $n = 8 \sim 9$)
●月見草エキス摂取群、○月見草エキス非摂取群

⑥健常者における食後の血糖値上昇抑制作用

健康な男性 9 名、女性 7 名を対象とした食事負荷試験において、食後 30 分後の血糖値の上昇が、**月見草エキス**摂取群 (200 mg) ではコントロール群に対して有意に抑制されました (図 12)。

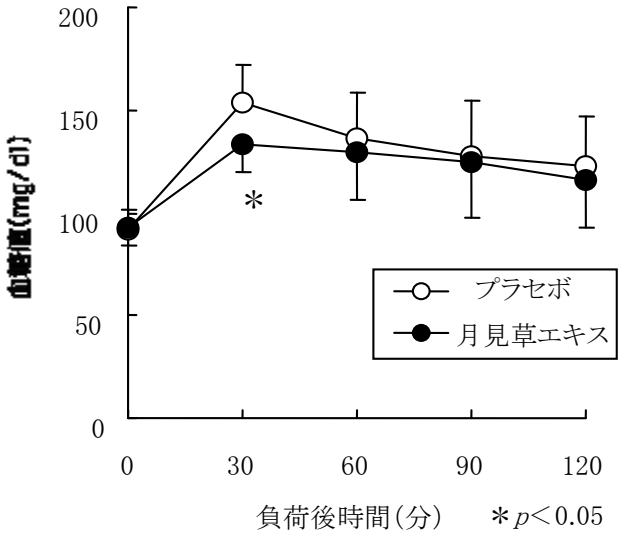

図 12.　健常者における食後の血糖値の推移 ($n = 13$)

⑦糖尿病者における食後の血糖値上昇抑制作用

空腹時血糖値が 110 ~ 180 mg/dl にある軽度糖尿病者 (男性 15 名、女性 3 名) を対象とした食事負荷試験において、**月見草エキス**摂取群 (200 mg) はプラセボ摂取群に比べて、食後の血糖値の上昇が有意に抑制されました (図 13)。

月見草エキスが食事後の急激な血糖上昇を抑制する結果、糖尿病者において、インスリンがより穏やかに分泌されることも明らかとなりました (表 3)。

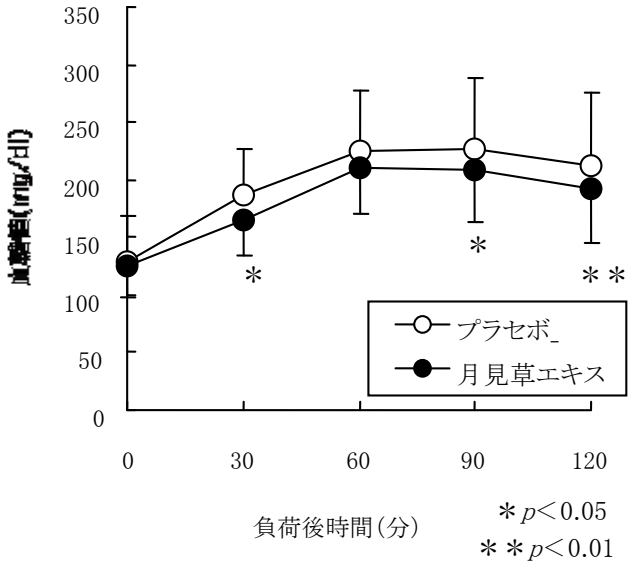

図 12.　糖尿病者における食後の血糖値の推移 (n = 13)

表 3　食事負荷試験施行時のインスリン値の推移 (n = 13)

	食事負荷試験　インスリン値（μU/dl）					AUC
	負荷前	30 分	60 分	90 分	120 分	（μU･h/dl）
月見草エキス	12.7±9.8	22.4±14.5	35.8±33.1	43.7±35.9	42.7±31.4	39.4±34.5
プラセボ	13.3±15.0	28.4±23.9	40.0±31.1	43.6±28.1	50.1±30.0	46.8±31.2
群間有意差	n.s.	P < 0.1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

AUC: area under curve, n.s.: not significant

<参考文献>

「月見草エキスのヒトにおける食後血糖値上昇抑制作用」　*日本食品科学工学会誌*, **50**(10), 451 – 456, (2003).

冊子　「境界域及び軽度糖尿病者における月見草エキスの食事負荷に対する血糖上昇抑制効果」

⑧ヒト胃がん細胞に対するアポトーシス誘導作用

三重大学医学部の樋廻教授との共同研究により、**月見草エキス**がヒト胃がん細胞に対してアポトーシス誘導作用を有することが発見されました。

蛍光顕微鏡写真から、コントロール群 (A) で変化が見られないのに対し、**月見草エキス**添加群 (B) では、細胞の DNA 断片化がみられ、アポトーシス小体 (矢印) の生成が観察されました。

月見草エキスを添加して培養した胃がん細胞から DNA を抽出し、アガロースゲル電気泳動を行ないました。がん細胞の DNA は**月見草エキス**の濃度依存的に断片化することが明らかとなりました (C)。また、DNA の断片化は、経時的に増強されることも分かりました (D)。このような DNA の断片化は、アポトーシスに特徴的なものです。

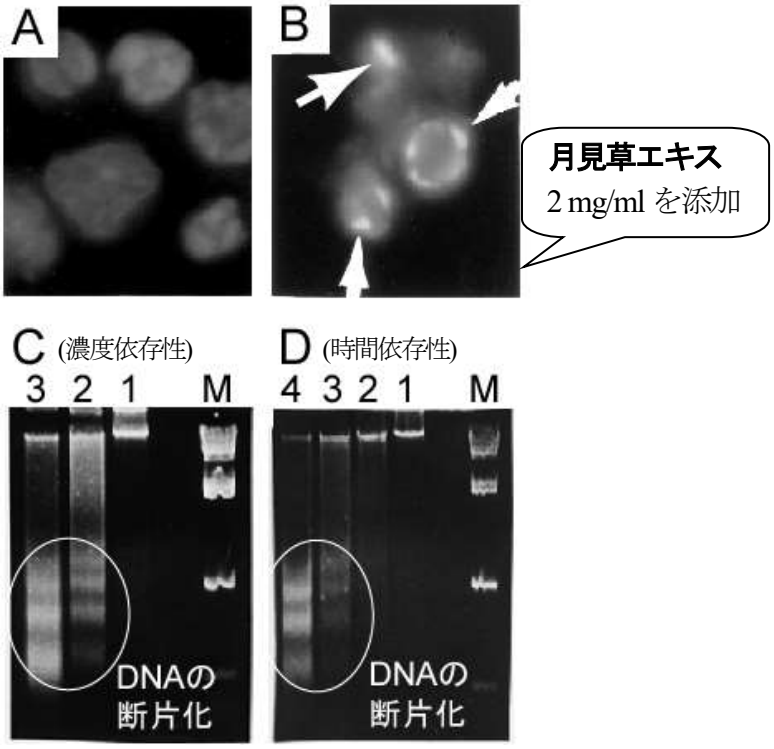

図 13.　ヒト胃がん細胞へのアポトーシスの誘導

A, B:　胃がん細胞の核染色蛍光顕微鏡写真。(A) コントロール群。(B) 月見草エキス (2 mg/ml) 添加群ではアポトーシス小体 (矢印) が観察された。

C, D:　アガロースゲル電気泳動。(C) 胃がん細胞の DNA は月見草エキスの濃度依存的に断片化した。1; コントロール, 2; 月見草エキス 1 mg/ml, 3; 月見草エキス 2 mg/ml, M; DNA マーカー。(D) 胃がん細胞の DNA は月見草エキス (2 mg/ml) の存在下、2~3 日で断片化した。1; コントロール, 2; 月見草エキス添加 1 日間, 3; 月見草エキス添加 2 日間, 4; 月見草エキス添加 3 日間, M; DNA マーカー。

⑨チロシナーゼ阻害活性

しみの本体は、皮膚にあるメラニン色素の沈着です。しみの要因にはホルモンバランスの変化や肌荒れ、紫外線、老化等が挙げられますが，いずれも紫外線が関係しています。紫外線を受けた表皮細胞は、表皮の大部分を占める角化細胞を守るために、メラニンを製造する工場であるメラノサイトに向けて情報伝達物質 (エンドリセンやホスホリパーゼ)を放出します。これを受けて、チロシナーゼという酵素がメラニンを生成するのです。この一連の反応は，有害な紫外線を肌の内部まで侵入させないための体の自然な働きによるものです。

肌の組織は通常 28 日周期で生まれ変わっています。新陳代謝がスムーズに行われると、このメラニン色素も何ヶ月かで古い細胞と共に外へ排出されてしまいます。しかし、皮膚の新陳代謝が低下するにしたがい、メラニン色素が外に排出されることなく皮膚に沈着しやすくなります。年齢を重ねるにしたがってしみができやすくなるのはこのためです。

チロシナーゼの活性阻害作用を有する成分はメラニン産生を抑制することが期待されます。**月見草エキス**は種々の成分と比較した結果、同等もしくはそれ以上の阻害活性がみられました (図 14)。

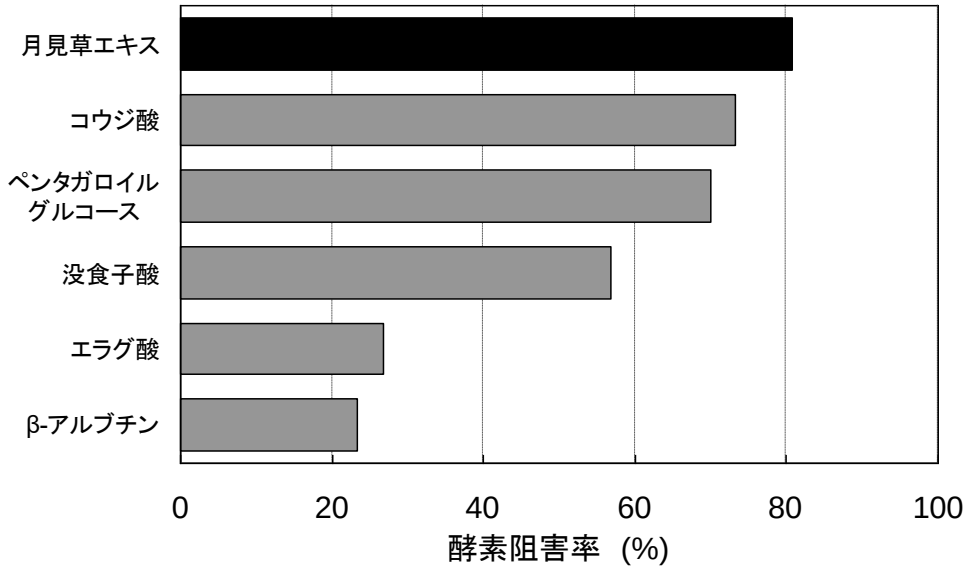

図 14.　チロシナーゼ阻害率
成分濃度 1 mg/ml におけるチロシナーゼ阻害率

⑩保湿性試験

ヒトの皮膚に一定量の試料溶液を塗布し、肌水分量を保湿計で計測しました。蒸留水のみを塗布した場合、ほぼ 5 分で塗布前の水準に戻りましたが、**月見草エキス**溶液塗布では、20 分以上水分を保持することが明らかとなりました (図 15)。

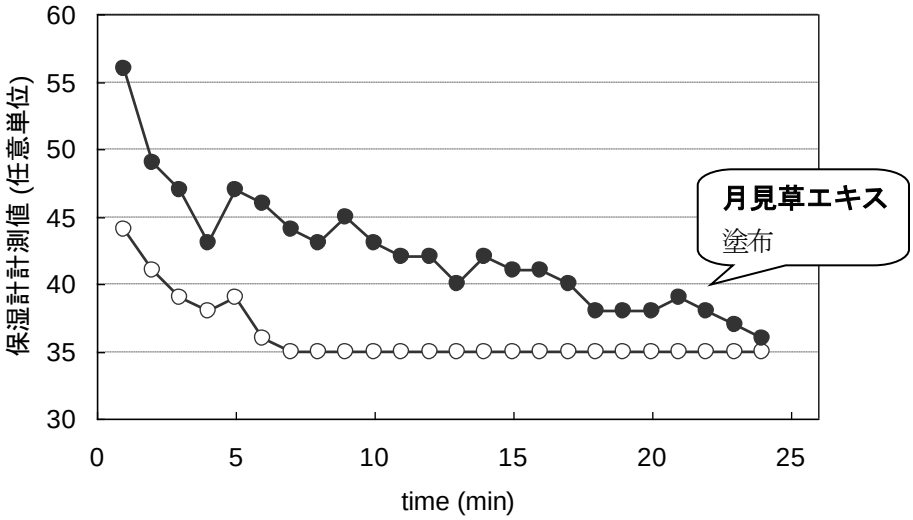

図 15.　肌水分量の推移 (ヒト、女性、$n = 1$)
●月見草エキス、○蒸留水 (コントロール)

12. 国際特許取得（糖質吸収阻害剤）

米国特許権

US006932990B2

(12) **United States Patent**
Konishi et al.

(10) Patent No.: US 6,932,990 B2
(45) Date of Patent: Aug. 23, 2005

ヨーロッパ特許権

(19) europäisches Patentamt / European Patent Office / Office européen des brevets

(11) **EP 1 312 374 B1**

(12) **EUROPEAN PATENT SPECIFICATION**

(45) Date of publication and mention of the grant of the patent:
10.09.2008 Bulletin 2008/37

(51) Int Cl.:
A61K 36/185 (2006.01) *A61K 31/05* (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(21) Application number: **01954345.3**

(86) International application number:
PCT/JP2001/006436

(22) Date of filing: **26.07.2001**

(87) International publication number:
WO 2002/009734 (07.02.2002 Gazette 2002/06)

中国特許権

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[12] 发 明 专 利 说 明 书

专利号 ZL 01816661.X

[51] Int. Cl.
A61K 36/185 (2006.01)
A61K 131/00 (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01)
A61K 31/7024 (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01)

[45] 授权公告日 2006 年 8 月 9 日

[11] 授权公告号 CN 1268351C

試験方法

ポリフェノール含量の定量 (図 1)
80%メタノールに溶解したサンプルを、没食子酸を標準として Folin-Denis 法により測定した。

SOD 様活性測定　(図 3)
サンプル溶液 (0.050 mg/ml)を SOD テストワコー (和光純薬株式会社)を用いて測定した。

DPPH ラジカル消去活性測定 (図 4)
サンプル溶液 (0.10 mg/ml) を DPPH 法により測定した。

α-アミラーゼ活性阻害試験 (図 6)
α-アミラーゼ酵素活性を、アミラーゼテストワコー (和光純薬株式会社)により測定した。96 穴プレートにα-アミラーゼ (ブタ膵由来、Sigma)を含むサンプル溶液 (0.050 mg/ml)を 50 μl 添加し、キット添付の基質液を 40 μl 添加して 37℃で 10 分間、予備加熱を行った。キット添付の発色液を 100μl 添加して室温で 10 分間放置後、650 nm の吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。

α-グルコシダーゼ活性阻害試験 (図 7)
ラット腸管アセトン粉末 (Sigma)にリン酸緩衝液 (pH 7.4)を加え、ホモゲナイズし、遠心分離した上清を粗酵素液とした。96 穴プレートに粗酵素液を含むサンプル溶液 (0.10 mg/ml)を添加し、基質液 (0.33 mM の 4-メチルウンベリフェリルグルコシド)を添加して 37℃で反応させた。遊離したウンベリフェロンを分光光度計で測定した。

アルドースレダクターゼ活性阻害試験 (図 9)
0.18 M リン酸緩衝液 (pH 7.0, 500 μl)、1.5 mM β-NADPH (100 μl)、100 mM DL-グリセルアルデヒド (100 μl)、蒸留水 (295 μl)および DMSO に溶解したサンプル (10 μl)を混合し、30℃で 5 分間予備加熱した。ここに、アルドースレダクターゼ (以上試薬は和光純薬株式会社, 1 unit/ml, 5 μl)を添加して 30℃で 30 分間インキュベートした。氷冷して反応を停止させた。その後、反応液の 340 nm の吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。

糖負荷試験 (図 10)
6 ~ 7 週齢の Wistar 系雄性ラットを一晩絶食後、ゾンデを用いてデンプンまたはスクロース 2 g /kg と月見草エキス 0 ~ 2,500 mg/kg を蒸留水で懸濁して投与した。経時的に尾静脈から採血し、血糖値を測定した。

月見草エキスの長期摂取試験 (図 11)
日本クレアより購入した 5 週齢の KK-Ay マウスを 1 週間予備飼育後、血糖値を測定し、平均値が同じになるようにコントロール群と月見草エキス群とに分けた。コントロール群には通常食 (CE-2、日本クレア)、試験食群には通常食に月見草エキスを 1%添加した餌を与えた。

餌と水は自由摂取とし、1 週間ごとに尾静脈から採血し、血糖値を測定した。

健常者に対する食事負荷試験 (図 12)
空腹時血糖値が 70～110 mg/dl の健康な男性 9 名、女性 7 名 (平均年齢 32 歳)を対象者に選び、クロスオーバー食事負荷試験を行った。一晩絶食した被験者に、月見草エキス 200 mg またはプラセボとしてデキストリン 200 mg を水で摂取させた。5 分後に市販包装白米 200 g を摂取させた。食後 30 分後、60 分後、90 分後、120 分後の血糖値を小型電極式血糖測定器で測定した。

糖尿病者に対する食事負荷試験 (図 13)
空腹時血糖値が 110 ～180 mg/dl の境界域及び軽度糖尿病者 18 名 (男性 15 名・女性 3 名)を対象者に選び、クロスオーバー食事負荷試験を行った。一晩絶食した被験者に、月見草エキス 200 mg を含有するカプセル、またはプラセボとして米粉 200 mg を含有したカプセルを摂取させた。5 分後に市販包装白米 200 g を摂取させた。食後 30 分、60 分、90 分、120 分に静脈採血を行い、血糖値と血清インスリン値を測定した。

ヒト胃がん細胞へのアポトーシス誘導作用 (図 14)
ヒト胃がん細胞を 10%牛胎児血清含有 RPMI1640 培地で培養した。5×10^5 cells/ml に懸濁したヒト胃がん細胞に、月見草エキスのエタノール溶液 (2 mg/ml)を添加し、3 日間培養した。培養後、細胞を遠心分離により回収し、PBS (-)で洗浄した。細胞核を蛍光染色し、蛍光顕微鏡で形態を観察した。

ヒト胃がん細胞の DNA 断片化作用 (図 14)
ヒト胃がん細胞を 10%牛胎児血清含有 RPMI1640 培地で培養した。5×10^5 cells/ml に懸濁したヒト胃がん細胞に、月見草エキスのエタノール溶液を添加し、3 日間培養した。遠心分離して細胞を回収し、PBS (-)で洗浄した。細胞を lysis buffer に溶解し、以下の方法によりゲノム DNA を抽出した。細胞溶解液に RNase を加えて 50℃で 2.5 時間反応させ、さらにプロテアーゼ K を加えて 50℃で 2.5 時間反応させた。反応液にエタノールを加えて DNA を沈降させた。これを蒸留水に溶解し、2%アガロースゲルで電気泳動した。

チロシナーゼ阻害活性 (図 15)
マッシュルーム由来のチロシナーゼ (Sigma)を用いてチロシナーゼ阻害活性を測定した(測定方法の参照：McLeod SD, Smith C, Mason RS., Stimulation of tyrosinase in human melanocytes by pro-opiomelanocortin-derived peptides., *J. Endocrinol.*, 1995, **146**(3), 439-47.)。試料溶液 50 µl と 1/ 15 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) 45 µl を混合し、1,100 unit/ml 酵素溶液 5 µl を加えて 37℃、10 分間プレインキュベートした。L－DOPA (Sigma) をリン酸緩衝液に溶解し、0.15%の濃度に調整した。プレインキュベートした反応溶液に L－DOPA 溶液を 50 µl 加えて混合し、37℃で 5 分間インキュベートした。冷却して反応を停止し、490 nm における吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。

保湿性試験 (図 16)

月見草エキスを蒸留水に溶解し、1%水溶液とした。この液を被験者の左上腕内側に 1 滴滴下し、2 センチメートル四方の部分に伸ばした。1 分後、ペーパーを軽く押し当てることにより、表面部分に浮いている水溶液を吸い取った。皮膚の水分量を水分計 Corneometer CM825 を用いて経時的に測定した。

オリザ油化株式会社
〒493-8001　愛知県一宮市北方町沼田 1 番地
TEL: (0586)86-5141 (代表)　FAX: (0586)86-6191
URL:　http://www.oryza.co.jp/
E-mail:　info@oryza.co.jp

東京営業所
〒101-0041　東京都千代田区神田須田町 1-24-10 大東京ビル 5F
TEL (03)5209-9150　FAX (03)5209-9151　E-mail: tokyo@oryza.co.jp

＊　本書は原料に使われた植物等の紹介になっております。掲載しております内容は、当社商品自体の効果効能をうたうものではございません。

＊　本書に記載の内容は、化粧品または食品・健康食品企業の方をはじめとするその関連する業務に従事されている方を対象に、適正にご使用いただくことを目的としたものであり、一般消費者向けのものではございません。これらの内容は市販商品における効能を示唆するものではないことにご留意いただき、関連法規制等をふまえ、消費者に向けた広告宣伝や販売等の目的に使用することはお避け下さい。

＊　本書の無断複写及び，流用は，著作権法上の例外を除き，禁じられています。

＊　本書に記載された内容は，都合により変更させていただくことがあります。

今回の改訂箇所
一部文言の変更

制定日　1999 年 9 月 1 日
改訂日　2017 年 10 月 13 日

ORYZA OIL & FAT CHEMICAL CO., LTD.