

食品の機能性研究における疫学調査と機能性表示食品への展開

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
果樹茶業研究部門 杉浦 実

【はじめに】

近年、ビタミン類やカロテノイド類、フラボノイド類、テルペノイド類等の食品に含まれる機能性成分に関する研究が盛んに行われるようになり、これら機能性成分の摂取が、がんや循環器系疾患、糖尿病等の生活習慣病の予防に有効ではないかとする結果が多く報告されるようになってきた。

「Functional Food」という概念を欧米よりも早く取り入れた日本国内における食品機能性研究の水準は高く、これまでに多くの研究成果を上げてきた。一方、人が普段の食生活から摂取する食品に健康維持・増進効果を期待する以上、ヒトレベルでの検証は必要不可欠な課題となる。本稿では、疫学研究の概要について解説するとともに国内外におけるコホート研究の成果を紹介しながら、食品機能性研究における栄養疫学の重要性、また疫学研究から得られた知見を科学的根拠として機能性表示食品に届出た例としてウンシュウミカンについて紹介する。

1. 疫学研究について

疫学とは、実験動物や培養細胞ではなく、実際の人口集団を対象として、疾病とその規定要因との関連を明らかにする科学であり、明確に規定された人間集団の中で出現する健康関連のいろいろな事象の頻度と分布およびそれらに影響を与える要因を明らかにして、健康関連の諸問題に対する有効な対策の樹立に役立てることを目的とする。

近年、食品の健康機能性に関する研究が大きく伸展し、様々な食品やこれらの食品に含有される機能性成分の疾病予防効果が次々に明らかにされている。しかしながら培養細胞や実験動物等を用いた実験研究で得られたデータのみでは、これら食品の摂取が疾病予防に本当に効果が期待出来るかは未知数である。人が普段の食生活から日常的に摂取する食品がどのような健康効果を有するかを明らかにするためには、最終的には直接ヒトを対象とした栄養疫学調査や無作為割付臨床試験が必要になってくる。

ヒト介入研究では、特定の食品あるいは食品成分をサプリメント等にしてその効果を検討した研究報告が数多くあるが、横断研究や症例対照研究、追跡研究（前向きコホート研究）など多くの観察研究といわれる疫学調査では、果物や野菜というように比較的大きな範疇での食品群として解析され、これら食品群の摂取量とアウトプットとしての健康指標（有病率や罹患率、死亡率、あるいは検査値など）との関連が解析されている。どのような食品（群）や栄養素、機能性成分がどのような健康影響を及ぼすかを栄養疫学的に精度高く解析出来るかは、食行動調査において用いる調査手法に依存する。またある食品（群）の摂取量を反映する特徴的な生体指標（バイオマーカー）があれば、健康指標との関連を詳細に解析することが可能になることもある。

1-1. 疫学研究のデザイン

疫学研究のデザインには大きく分けると、表1に示すように地域相関研究・断面研究・症例対照研究・コホート研究・無作為割付臨床試験（介入研究）などがあり、因果関係を明らかに出来るという点においては一般に前向きコホート研究や介入研究ほど信頼性の高い情報が得られると考えられる。また研究の規模や調査の精度により評価は異なる。

表1 疫学研究のデザイン

概要	無作為割付臨床試験	前向きコホート研究	後ろ向きコホート研究	コホート内症例対照研究	症例対照研究	断面研究	地域相関研究
対象者を無作為に介入群と対照群に分け、栄養補助剤の投与や栄養指導を行い、対照群にはプラセボの投与や栄養指導無しで経過観察を行う。両群を一定期間追跡調査し、疾病の罹患率や死亡率を比較する。	健康な集団の日常的な生活習慣を調査し、その後一定期間追跡調査を行い、疾病の罹患率や死亡率を確認する。調査しようとする食品や栄養素の摂取量が多い集団と少ない集団とで罹患率や死亡率を比較する。	特定の要因(ダイオキシンや環境ホルモルなど)に高濃度に曝露した集団を対象に追跡調査を行い、疾病の罹患率や死亡率を確認する。対象集団の発症頻度を性別や年齢分布が等しい一般集団での期待値と比較する。	前向きコホート研究の参加者から血液などの生体試料を採取保管しておき、追跡調査で疾病の罹患率や死亡を確認した症例群と健康である対照群の生体試料を測定し、血中濃度を測定比較する。	疾病に罹患した症例群と性別・年齢などをマッチさせた健康者にさらなる対照群を選び、過去の日常的な食生活を調査し両群で比較する。	疾病の有無と曝露要因を同時に調査し比較する。	国や地域などの集団を対象に食品や栄養素の消費量・摂取量と疾病の罹患率・死亡率との関連を調査する。	
研究の単位	個人	個人	個人	個人	個人	個人	集団
疾病頻度の指標	罹患率・死亡率	罹患率・死亡率	罹患率・死亡率	疾病頻度は比較出来ない	疾病頻度は比較出来ない	有病率	罹患率・死亡率
関連性の指標	相対危険度	相対危険度	標準化死亡比など	オッズ比	オッズ比	オッズ比	相関係数・回帰係数
長所	バイアスと交絡の影響が最も少なく、曝露要因と疾病との因果関係について最も信頼性の高い情報が得られる。	疾病に罹患する前に調査するので、思い出しバイアスの影響を受けず、栄養と疾病の時間的前後関係を正しく評価出来る。	疾病に罹患する前の曝露要因を調査するので、曝露と疾病の時間的前後関係を正しく評価出来る。	コホート研究の一部の参加者の生体試料を分析するのみのため、疾病に罹患する前の曝露要因を調査するので、曝露と疾病の時間的前後関係を正しく評価出来る。	比較的簡単に調査が行える。追跡調査が不要	比較的簡単に調査が行える。追跡調査が不要	比較的行える。追跡調査が不要
短所	費用と時間がかかる。数年月から数年、数十年の追跡調査が必要。無作為割付が困難な場合がある。	費用と時間がかかる。数年から数十年の追跡調査が必要。	数年から数十年の追跡調査が必要。個人の曝露要因を定量的に評価出来ないことが多い。交絡要因の影響を十分に制御できないことが多い。	費用と時間がかかる。数年から数十年の追跡調査が必要。	思い出しバイアスの影響を受けやすい。性別と特性のそろった対象者を選択することが困難な場合がある。	疾病の有無と曝露要因を同時に調べるので両者の時間的前後関係を正しく評価できない。	交絡要因の影響を受けやすい。集団の結果を個人に適用できるとは限らない。

南江堂「栄養疫学」坪野吉孝・久道茂 共著より抜粋改変。バイアス:バイアスとは、曝露要因と疾病との実際の関連を過大評価したり過小評価したりして、誤った研究結果を導いてしまう現象をいう。バイアスには様々な要因があるが、大きくは情報バイアスと選択バイアスに大別される。交絡:交絡とは曝露要因と疾病との関連性が第三の要因の影響によって過大評価されたり過小評価されたりする現象をいう。相対危険度:相対危険度は曝露要因がある場合と無い場合(または曝露要因が多い場合と少ない場合)の疾病リスクの比である。通常は罹患率の比で表される。オッズ比:オッズ比は曝露要因が多い場合と少ない場合の疾病リスクの比の近似値である。オッズ比は罹患率を直接測定出来ない症例対照研究や断面研究で用いられることが多く(コホート研究でも用いられる)、無作為割付臨床試験や前向きコホート研究における相対危険度に相当する。

現在、国内外を含めて非常に多くの疫学研究が行われているが、食と健康との関連に着目した栄養疫学研究も日本国内で多く行われている。疫学研究では調査を始めるにあたり、集団の設定や調査方法など研究デザインに関わる多くの重要なことをよく練らなければならない。どの様な集団をどのような方法で調査するのか、また得られた結果は母集団を反映するものなのか、つまり研究成果を平均的な日本人に当てはめて考えられるのか等である。通常、栄養疫学研究では、ある特定の食品に焦点を当てその食品の健康効果を疫学的に検出しようとする試みは少なく、多くは食品群としての解析が行われる。近年では緑茶や大豆に着目した解析結果が多く報告されるようになってきたが、これらの研究は緑茶や大豆の摂取量が特に多い集団を設定して、研究が行われたというものではない。

現在、農研機構果樹茶業研究部門ではウンシュウミカン（以下、ミカン）の健康効果をヒトレベルで検証することを目的として、国内のミカン主要産地である静岡県浜松市北区三ヶ日町の住民を対象にした栄養疫学調査（三ヶ日町研究）を実施している。近年の日本国内におけるミカンの摂取量を考えると、平均的な日本人を反映する集団では、ミカンの健康影響を疫学的に検出するのは難しいであろう。その点、静岡のようなミカン産地では、殆ど食べない人からミカンシーズンになると毎日たくさん食べる人まで幅広く分布している。このような地域住民を疫学研究の調査対象集団に設定すれば、ミカンの有用性を疫学的に検出できることは十分期待できる。ミカンをたくさん食べている集団という点においては、偏った集団ではあるが、食品の機能性を疫学的に検出するためには有効な手段といえる。

1-2. 疾病頻度の指標

食品や栄養素の摂取状況と疾病との関連を明らかにするためには、調査対象にした集団から発生する疾病の頻度を解析し、調べようとしている食品や栄養素の摂取量をもとに層別化して、各摂取量で発生する疾病の頻度を比較することで検討を行う。最も一般的な疾病頻度の指標としては、有病率（Prevalence）、罹患率（Incidence）、死亡率（Mortality）等がある。

有病率はある一時点での有病者の割合を示し、これは「病気になった人の割合」ではなく「病気にかかっている人の割合」を表す。これに対し、罹患率は集団から一定期間に新たに発生する患者の数であり、病気に罹る割合を示す指標である。罹患率はコホート研究の結果から導き出される指標であるため、横断研究の解析結果である有病率とは結果の意味が大きく異なる。罹患率を求める際に用いる観察人年とは1人を1年間観察すれば1人年に相当する。10人を10年間観察しても5人を20年間観察しても100人年に相当することになる。また罹患率を求める際の分母として観察人年ではなく、観察開始時の集団の人数を用いる場合を累積罹患率といい、例えば1万人の集団を10年間観察したところ15人の胃がんが発症したとすれば、この集団での胃がんの10年累積罹患率は15人÷1万人で0.15%となる。罹患率の単位は対年（year）で表されるが、累積罹患率の場合、単位は無名数である。このため累積罹患率では〇年間での累積罹患率というように観察期間を定義して表す必要がある。

1-3. 関連性の指標

調査の対象とする集団の中で一定期間にある疾病に罹患する確立や死亡する確率、あるいは調査した一時点での罹患している割合をリスクという。食品や栄養素の摂取状況（暴露要因）と疾病との関連性を明らかにするためには、暴露要因である食品や栄養素の摂取量が多い場合と少ない場合で疾病のリスクを比較することで検討を行う。このときに用いる代表的な指標として、オッズ比（odds ratio: OR）や相対危険度（relative risk: RR）等がある。

オッズとはある出来事が発生しない確率に対する発生する確率の比を示し、オッズ比は二つのオッズの比を現す。オッズ比は暴露要因がある場合と無い場合（または多い場合と少ない場合）の疾病リ

スクの比の近似値である。オッズ比は罹患率を測定できない症例対照研究や有病率を疾病頻度の指標とする横断研究で用いられることが多い（コホート研究でも用いられる）。

相対危険度は暴露要因がある場合と無い場合（または多い場合と少ない場合）の疾病リスクの比である。この場合は罹患率の比で表される。相対危険度は集団の罹患率を測定することが出来る前向きコホート研究や無作為割付臨床試験で用いられる指標である。

1-4. 疫学研究の結果の因果関係について

実際にある集団を対象にして疫学調査を行い、例えば目的とする食品（栄養素）の摂取量が多いグループでの糖尿病の発症率が摂取量の少ないグループに比べて有意に低い結果が得られたとしよう。この結果から、即座にその食品（栄養素）と糖尿病との因果関係が明らかにされたと考えることは出来ない。疫学研究の重要な目的の1つは、結果（疾病）と原因（暴露要因）との因果関係を明らかにすることであるが、特に疫学研究では①偶然（chance）、②バイアス（bias）、③交絡（confounding）の要因が研究結果に影響を及ぼす。

疫学研究でいう偶然とは、測定値の確率変動が研究結果に及ぼす影響のことである。疫学研究では非常に多くの対象者について、それぞれの個人の健康指標や栄養摂取状況を測定して集団として解析し、暴露要因と疾病との関連を評価する。しかしながら、各調査対象者に対する1回の測定で得られたデータがそのままその個人の特性を正確に反映しているとは限らない。同じ人に対して限りなく繰り返し測定し、得られたデータの平均値をとればその人の真の値を得ることができるが、実際にはこのようなことは不可能である。そのため1回の測定で得られたデータを解析に用いることが多い。このように測定値は確率変動の影響を受けるため、得られたデータはその人の本当の値よりも大きいこともあれば小さいこともある。同様に測定値の確率変動は集団の特性を測定するときにも作用する。つまり母集団から標本集団を抽出して測定する場合、繰り返し標本集団を抽出して測定すれば母集団の特性についての真の値に近づく。しかしながら実際はこのようなことは不可能なので、有限の標本を1回抽出して得られたデータが解析に用いられる。疫学研究ではこのような偶然の影響を小さくすることが必要になる。標本集団の人数が大きければ大きいほど偶然の影響は小さくなり、データはより安定したものとなる。

疫学研究におけるバイアスとは暴露要因と疾病との実際の関連性を過大に評価したり、あるいは逆に過小に評価したりして、誤った研究結果を導き出してしまうことをいう。バイアスの大きな原因になるものとして、大きくは情報バイアスと選択バイアスがある。情報バイアスは暴露要因や疾病に関する情報の測定に問題があるために実際の関連性が誤って評価されてしまうことをいう。情報バイアスには思い出しバイアスと過剰診断バイアスがあり、前者は食品や栄養素の摂取量などの暴露要因に関する情報を対象者が正確に思い出せないために疾患との関連性を誤って評価してしまうことを云い、後者は疾病に関する情報バイアスの1つである。

選択バイアスとは疫学研究の対象者の選択に問題があるために、暴露要因と疾病との関連性を過大評価したりあるいは逆に過小評価したりしてしまうことを云う。つまりある目的で調査を行おうとしたときに、調査に参加した集団の特性が当初の目的としていた集団の特性と異なっていたりすると生じる可能性がある。疫学調査の対象者には日頃から健康意識の高い人が積極的に協力することが多く、また逆に既に疾病に罹っているために自分の健康状態を心配して調査に参加する場合もある。このように調査の対象とした集団の特性が偏った特性を持つと暴露要因と疾病との関連を正しく評価できなくなる可能性がある。

交絡は疫学調査で得られたデータを用いて、暴露要因と疾病との関連性を解析する際に考慮しなくてはならない最も重要な要因の1つでもある。交絡とは暴露要因と疾病との関連性が第3の要因によ

って過大評価されたり過小評価されたりしてしまう現象を云う。これら第3の要因を交絡要因または交絡変数と云う（図1）。

例えばアルコールと胃がんの関連性を調べようとした場合、喫煙が大きな交絡要因となる。すなわち喫煙は胃がんの危険因子であるが、飲酒習慣と喫煙習慣は正相関することが知られている。そのためアルコールという暴露要因と胃がんという疾病との関連性が喫煙という交絡要因によってゆがめられてしまうことになる。このように疫学研究を行う際には暴露要因と疾病との関連性を検討する上で交絡要因を十分に考慮

する必要がある。交絡要因を考慮（制御）する統計学的方法としては層別化解析や多変量解析がある。これらの方法を用いて交絡要因の影響を取り除くことを補正（adjustment）という。

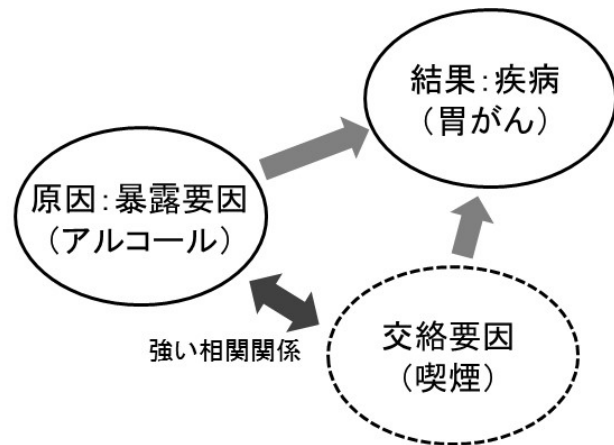


図1 交絡要因

2. 疫学研究における食行動調査

食品や栄養素の健康影響を疫学的に明らかにする分野を特に栄養疫学研究と云うが、当然ながら栄養疫学調査では協力者がどのような食品（栄養素）をどれくらい摂取しているのかを調べる必要がある。疫学研究で食行動調査を行う際には、研究の目的に応じて最適な調査方法を選択することが重要となる。栄養摂取と生活習慣病との関連を調査する栄養疫学研究においては、多数の対象者について長期間の平均的な摂取量を個人レベルで把握する必要がある。

栄養疫学研究における食行動調査には、①食事記録法、②24時間思い出し法、③陰膳法、④食物摂取頻度調査票、⑤生体指標（バイオマーカー）の5つがある。①の食事記録法には、対象者に目安量を調査票に記入してもらった「目安量」と、実際に食べた食物の重量を量る「秤量法」がある。食事記録法では、食物の摂取時点で調査票に記録するため、対象者の記憶に頼らないという長所がある。そのため、他の食事調査法の精度を評価する際の参照基準に使われる。しかしながら対象者への負担が大きく、また作業としても大変なために対象者が普段よりも簡便な食事にしてしまうなどの問題もある（その逆もある）。②の24時間思い出し法は調査日前の1日分、または調査時点からさかのぼって24時間分の食事内容をフードモデルや写真を用いて調査員が対象者に問診し記録する。この方法は対象者への負担が比較的小さいが、熟練した調査員が必要であり、また対象者の記憶に依存するという欠点がある。③の陰膳法は被験者が摂取した食物と同じ物・量を取り分けておいてもらい、後日それを回収して化学分析により栄養摂取量を算出する。これも対象者の記憶に依存しないという長所があるが、対象者への負担が大きく、通常の食生活と異なる可能性もあり、また試料の分析に手間と費用がかかるという短所がある。

栄養疫学調査は用いる研究デザインにもよるが、通常は数千人から数万人の対象者に対して食行動調査や生活習慣、健康指標等の調査を行う。そのため、①～③のように食行動調査に大きな手間が掛かる方法を大規模な疫学調査で用いるのは現実的ではない。またこれらの食行動調査では普段の食生活をどれくらい正確に反映しているかなどの疑問は残る。このようなことから、より対象者への負担が少なく簡便に食行動を把握出来る調査方法として、④の食物摂取頻度調査法（FFQ: Food Frequency Questionnaire）が考案された。この調査では数十から百数十ほどの食物の習慣的な摂取頻度を調査票を用いて質問し、摂取頻度に関する回答から食品群や栄養素の摂取量を計算する。この調査は簡便に

行え、また個人の習慣的な摂取量にある程度把握できることから、現在、国内外で行われている大規模な栄養疫学調査の多くで採用されている。しかしながら、十分な妥当性評価が行われている FFQ にもやはり限界はあり、必ずしも被験者の正確な食行動を完全に把握出来るわけではない。また食事記録法や 24 時間思い出し法と同様に調査データから算出される栄養値はいずれも栄養成分表の精度に依存するという短所がある。

栄養疫学は 1980 年にハーバード大学の Walter Willett らが FFQ を開発したころから始まり、様々な食品・栄養素と疾病についての研究が 1980 年代後半以降、爆発的に進展した。現在、FFQ を用いて食品・栄養素の摂取とがんや循環器系疾患のリスクとの関連をコホート研究により明らかにしようとする取り組みが国内外で多数行われている（表 2）。FFQ の開発以降、栄養疫学研究は飛躍的に進展し、近年、果物や野菜などの食品群、また食物繊維やビタミン・ミネラル類などの栄養素と様々な疾病との関連について次々と新たな知見が報告されるようになってきた。

FFQ での質問項目はそれぞれの研究者が対象とする集団によって様々な検討が行われている。基本的に重要なことは、対象とする集団の平均的な食生活において目的とする栄養成分に寄与する食品の割合を調査し、寄与率の高い食品（食品群）を FFQ の質問項目にすることである。その際、累積寄与率を何パーセントまでにするかはそれぞれの研究者の判断によるが、いずれにせよ普通の食生活において摂取量が少ないような食品、また限られた地域でしか食されないような特産物など、平均的な食生活において寄与率が低い食品は栄養疫学研究の指標にはなりにくい。

3. 食物摂取頻度調査法を用いた国内外のコホート研究からの知見

現在、食事調査の結果からどのような食品や栄養素を多く摂ることが疾患リスクの低減に役立つのかを明らかにするための栄養疫学研究が国内外で数多く行われている。ここでは代表的な幾つかのコホート研究の知見について紹介する。

3-1. フラミンガム心臓研究 (Framingham Heart Study)

フラミンガム心臓研究は米国東部ボストン市のフラミンガムで 1948 年にスタートした世界で最初の疫学研究であり、世界中の循環器疾患分野における研究に多大な影響を与え続けてきた。開始当時、米国の死因の 80% が循環器疾患によって占められていたが、冠動脈疾患の原因を疫学的に追及し、その後 30 年間で米国の心血管疾患発症率を半減させた。フラミンガム心臓研究は 1948 年の開始当初の集団であるオリジナルコホートに始まり、その後オリジナルコホートの配偶者とその子供を対象にしたオフスプリングコホート（1971 年開始）、さらにその子供である第三世代コホートなど合計 6 つのコホートからなる総計 1 万 5 千人を対象とした疫学研究である。冠動脈疾患の原因、すなわち「危険因子（リスクファクター）」という用語を最初に用いたのがこのフラミンガム心臓研究である。この研究から喫煙、年齢、高コレステロール、高齢、高血圧などの危険因子が同定され、また統計手法の開発も行われ、後に続く疫学研究に多大な影響を与え続けている。

初期のフラミンガム心臓研究では FFQ を用いた食行動調査は行われていなかったが、先述したハーバード大学の Walter Willett らによって FFQ が開発された以降は、フラミンガム心臓研究においても食品・栄養素と生活習慣病リスクとの関連について報告されるようになった。代表的な研究成果としては、炭水化物の中でも特に低 GI 食の摂取が心血管系疾患の発症予防に有効であること、リコペンの摂取が心血管系疾患だけでなく、骨折のリスク低減にも有効であることなどを栄養疫学的に明らかにした。フラミンガム心臓研究ではビタミン E のサプリメントは期待するほどの予防効果が認められないことも見出している。またソフトドリンク類の摂取が、肥満や高血糖、高血圧、高中性脂肪血症と関連することからメタボリックシンドロームのリスクファクターになることも示されている。

表2 食事調査が行われている国内外の大規模栄養疫学研究

研究	国(集団)	人数(おおよそ)	開始年	保存生体試料
The Framingham Heart Study (6 Cohorts)	米国(男女)	総計1万5千人	1948	血液
Seven Countries Study	日米欧州7ヶ国(男性)	1万3千人	1957	血液
Nurses' Health Study (2 Cohorts)	米国(女性)	総計18万5千人	1980	血液、爪、尿
Health Professionals Follow-up Study	米国(男性)	5万2千人	1986	血液
National Health and Nutrition Examination Survey III (NHANES III)	米国(男女)	2万3千人	1988	血液
Canadian Breast Screening Study	カナダ(女性)	5万7千人	1982	なし
The Alpha-tocopherol Beta-carotene Cancer Prevention Study	フィンランド(男性)	2万9千人	1985	血液
The Cardiovascular Risk Development in Young Adults Study (CARDIA)	米国(男女)	5千人	1985	血液
Netherlands Cohort Study	オランダ(男女)	12万1千人	1986	なし
European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)	欧州9ヶ国(男女)	4万2千人	1991	血液
American Cancer Society	米国(男女)	18万4千人	1992	なし
Singapore Chinese Health Study	シンガポール(男女)	6万3千人	1993	血液、尿
National Cancer Institute	米国(男女)	54万人	1995	なし
JPHC Study (2 Cohorts) 厚労省	日本(男女)	14万人	1990	血液
JACC Study 文科省	日本(男女)	11万人	1988	血液
Ohsaki Study 東北大	日本(男女)	5万2千人	1994	血液
Takayama Study 岐阜大	日本(男女)	3万3千人	1992	なし

他にも多数あり

最近では果物・野菜中に含まれるフラボノイド類が2型糖尿病のリスク低減に関与することや、ヨーグルトの摂取がメタボリックシンドロームのリスク低減に有効であるなど数多くの成果を発表している。

3-2. 世界7か国共同研究 (Seven Countries Study)

食文化と心血管系疾患の関連を検討した国際共同研究である世界7ヶ国共同研究は7ヶ国40～59歳の男性16集団(日本、アメリカ、オランダ、フィンランド、ギリシャ、イタリア、旧ユーゴスラビアの計12,763人)を対象に1957年から開始された。本コホート研究の特徴として、栄養疫学のさきがけともなった詳細な食事調査(陰膳法)を行ったことがあげられる。25年間の追跡調査の結果、血中総コレステロール値が心血管系疾患と有意に関連すること、血中コレステロール値が低い日本ではギリシャとともに心血管系疾患が最も少ないことが明らかにされた。その他にも飽和脂肪酸の摂取量と心血管系疾患による死亡リスクが関連することなどが明らかにされた。

世界7ヶ国共同研究での特筆すべき研究成果としてあげられるのが、心筋梗塞などの心血管系疾患の罹患率を各地域で比較し、その差が食事内容の違いに寄るところが大きいことを示したことである。地域によって罹患率に違いがどうして生じるのか、各地域における食習慣など生活習慣の違いから検

証し、摂取する脂肪の種類が大きく関与していることを示した。7カ国研究の対象地域のうち、アメリカ、フィンランド、オランダでは心血管系疾患が多く、ギリシャ、イタリア、ユーゴスラビア（地中海諸国）と日本では少なかった。調査開始から10年後の追跡調査の結果、日本とギリシャなど地中海諸国では心血管系疾患の罹患率が低かったのに対して、フィンランドやアメリカでは多いことが判明した。各地域での食事内容を分析した結果、フィンランドやアメリカでは脂肪摂取のエネルギー比率が40%であり、脂肪の中でも肉やバターに含まれる飽和脂肪酸が総脂肪の半分を占めていた。これに対して日本では総脂肪摂取比率は10%以下、飽和脂肪酸はわずか3%以下であった。米を主食とする日本では、動物性を含めた脂肪の摂取量が欧米人に比べて極めて少なく、血中コレステロール値も低く、そのため心血管系疾患の罹患率が低かったと結論付けられている。一方、ギリシャや旧ユーゴスラビアにおけるエネルギー比率でみた脂肪摂取割合は20~30%であり、摂取している脂肪ではコレステロール上昇の原因となる飽和脂肪酸の摂取率が10%以下、さらに総脂肪に対する一価不飽和脂肪酸の摂取割合が高いという特徴があった。すなわち、地中海諸国では日常の食事から脂肪を日本人よりも多く摂っているが、脂肪酸の質が異なるために血中コレステロール値が上昇せず、心血管系疾患の発症リスクが低いことが明らかにされた。地中海式の食事では、日常的にオリーブオイルを使うことに加え、豊富な果物と野菜、海産物、ヨーグルトなどの乳製品、更にナッツ類などの摂取が心血管系疾患を始めとする生活習慣病の予防に有用であることがその後の多くの研究からも明らかにされている。

3-3. 米国医療従事者を対象にした疫学研究

米国ハーバード大学による女性看護師を対象にした Nurses' Health Study (1976年開始、総計12万人) と男性保健専門職を対象にした Health Professional Follow-up Study (1986年開始、総計5万2千人) は、FFQを初めて開発したハーバード大学の Walter Willett が指揮している世界的に有名な大規模栄養疫学研究である。Walter Willett は2万3千人の一般地域住民を対象にした National Health and Nutrition Examination Survey III (NHANES III) においてもFFQを用いた栄養調査を行っており、これらの米国における大規模な調査から、疫学的な根拠に基づいた食生活指針（ヘルシーフードピラミッド、図2）を提唱し、また2007年の世界がん研究基金とアメリカがん研究協会による、7000以上の研究から分析したがん予防の報告書の作成にも関わっている。この報告書では「がん予防の15箇条」がまとめられているが、栄養疫学研究の知見からがん予防と食事について下記のことが挙げられている。

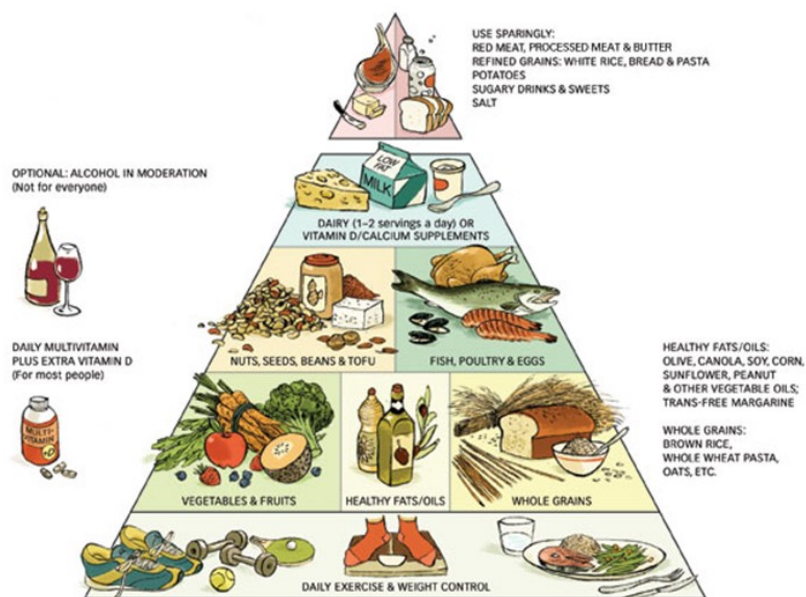


図2 ハーバード大学医学部公衆衛生大学院のウォルター・ウィレットらが提唱している食生活指針（ヘルシーフードピラミッド）

<http://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/what-should-you-eat/pyramid>

1. 植物性食品を基本とし、多様な食べ物を食べる。野菜や果物、穀類、豆類などを毎日多めに食べる。
2. 四季を通じ野菜・果物を1日 400g～800g。1日5品目以上を目安に食べる。
3. 多種類の穀物、豆、根菜類を1日 600g～800g。精製した砂糖を控える。精製度を抑えた穀類（玄米等）や、イモ類、豆類をたくさん食べる。
4. アルコールは控えめにする。
5. 赤身の肉は少なめにし、できれば魚で摂る。牛肉、豚肉、羊肉は1日80g以下に、魚、鶏肉が望ましい。
6. 総脂肪や油は抑えて。動物性脂肪を控え、植物性脂肪を適度に摂る。
7. 食塩、塩蔵物は1日6g以下にする。ハーブやスパイスを使用して塩分を抑える。

日常の食生活において上記のことを守ることで部位によっては半数以上のがんが予防できると考えられている。また上記の3つの大規模コホート研究からは、がん予防の観点のみならず、糖尿病や循環器系疾患、骨粗しょう症・骨折リスク、認知機能、また加齢黄斑変性や白内障などの疾患と食事との関連について数多くの知見が得られている。代表的な研究成果としては、先述した地中海式食事が心血管系疾患や脳卒中のリスクを下げること、ナッツ類や全粒粉も同様の効果を有する食品であること、これに対して精製炭水化物やトランス脂肪酸は逆に心血管系疾患のリスクを高めることなどを明らかにしている。また緑黄色野菜の摂取と様々な部位でのがんの発症リスクとの関連が解析されているが、Nurses' Health Study では認知機能障害のリスクを下げることも明らかにしている。更に果物・野菜類の摂取が2型糖尿病や循環器系疾患の発症リスクを低下させることも明らかにされている。果物と糖尿病の発症リスクとの関連については現在、世界中の大規模コホート研究で解析が行われ、数多くの研究成果が報告されるようになってきたが、リスクを下げたとする報告もあれば関連無しとする報告もあり、今後の研究結果が期待される。一方、果物は生で食する分には様々な効果が期待できるが、果汁飲料として摂取した場合には、逆にインスリン抵抗性のリスクを高めることが上記の大規模コホート研究から示されており、これについては他のコホート研究からも同様のことが報告されている。

3-4. 多目的コホート研究（JPHC Study）

多目的コホート研究（多目的コホートに基づくがん予防など健康の維持・増進に役立つエビデンスの構築に関する研究）は全国の11保健所と国立がん研究センター、国立循環器病研究センター、大学等との共同研究として行われている。本研究は岩手県二戸、秋田県横手、長野県佐久、沖縄県石川、東京都葛飾区葛飾の各保健所管内の地域住民を対象に1990年に開始したコホートⅠと茨城県水戸、新潟県柏崎、高知県中央東、沖縄県宮古、大阪府吹田の各保健所管内の地域住民を対象に1993年より開始したコホートⅡからなる、総計14万人を対象にした国内でも最大規模のコホート研究である。

JPHC StudyにおいてもFFQを用いた食事調査が行われ、栄養・食品摂取とがんを始めとする様々な生活習慣病リスクとの関連が解析されている。代表的な成果としては、果物・野菜の摂取が胃がんや食道がんの発症リスクを下げるということが報告されている。しかしながらJPHC Studyでは、肺がん、大腸がん、前立腺がんでは有意なリスク低下は認められず、肝がんでは緑黄色野菜のみにリスク低減効果が認められたと報告している。その他、果物・野菜では循環器系疾患の発症リスクとの関連が解析され、特に柑橘類の摂取が多いほど循環器疾患の発症リスクが低いという結果が報告されている。また一方で糖尿病の発症リスクには有意な関連は認められなかった。その他、大豆・イソフラボンと乳がん・前立腺がん・肺がんのリスク低下（女性の肝がんリスクは上昇）、緑茶と胃がんリスク低下、コー

ヒーと肝がん・大腸がん・子宮体がんのリスク低下（膀胱がんはリスク上昇）との関連について報告されている。JPHC Study は日本国内のコホート研究であるため、日本人の食生活で摂取量が多い緑茶や大豆について数多く解析が行われている。特に緑茶の摂取が胃がんや循環器系疾患、脳卒中等の発症リスク低減に効果があったことから、緑茶が日本人の健康長寿に大きく貢献していることが期待される。

日本国内の大規模コホート研究は紹介した JPHC Study 以外にも数多く有り、食と健康に関する知見が近年数多く得られつつある。しかしながら個々の疾患リスクとの関連についてはまだ報告が少なく、また海外の研究結果と必ずしも一致した結果が得られている訳では無い。そのため日本国内での分野における今後の研究が更に必要と考えられる。

4. 食品機能性研究における疫学研究の重要性について

食品の機能性研究において、細胞や疾患モデル動物等を用いた実験室レベルでの研究は科学的な根拠の裏付けとして重要であることはいまでもなく、また、より効果の期待できる食品成分を探索する上でのモデル実験系を用いたスクリーニングからは有益な情報が得られる。しかしながら通常の食生活で人が摂取したときにそれらの効果が真に期待できるものなのかは全くの未知数でしかない。このようなことから、食品機能性研究分野において栄養疫学的手法によるヒトレベルの研究は必要不可欠な課題であるのに、個々の食品（農産物）レベルで着目した取り組みは極めて少ないのが現状である。今後は、農学分野の食品機能性研究と基礎医学研究分野の疫学研究という異分野の研究領域が協力することにより、食品の健康機能性に関するヒトレベルでの研究を加速させる必要がある。

先述したように、栄養疫学研究は 1980 年にハーバード大学の Walter Willett らが FFQ を開発したころから始まり、様々な食品・栄養素と疾病についての研究が 1980 年代後半以降、爆発的に進展した。しかしながら日本国内における栄養疫学的なエビデンスは十分ではないのが現状である。欧米における栄養疫学の研究成果は日本人にとって参考になるデータではあるが、日本人と欧米人とはもともとそれぞれの疾患の罹患率は大きく異なる。たとえばがんについてみると、日本人では胃がんや肝がん（これは肝炎ウイルスによるせいであるが、現在では肝炎ウイルスに対する対策が行われている）が多いのに対し、北米では前立腺がん、肺がんが多く、ヨーロッパでは皮膚がん・肺がんが多いのが特徴である。また日本人には海外と比べて虚血性心疾患や骨折リスク等が少ないことが知られている。このような国地域による各疾患の罹患率の違いがみられるのは、遺伝的な違いや生活習慣の違いと考えられているが、特に食生活習慣の違いによる影響が大きいものと考えられている。そのため欧米の栄養疫学研究の結果をそのまま単純に日本人に当てはめて考えることは難しく、日本での調査が必要になる。日本の食素材が健康の維持増進に重要かは日本人を対象にした調査研究で初めてその有用性を明らかにできるものと考えられる。また日本が他の国と比べて、生活習慣病が少なく長寿国であることから、日本の食素材は機能性研究の宝庫であるとも考えられる。

我々が取り組んでいる三ヶ日町研究では、調査対象者のミカンの摂取量は幅広く分布している。ミカンシーズン（10月～翌年2月頃まで）での摂取量は、「毎日食べない」、「毎日1, 2個程度」、「毎日3, 4個以上」の3グループにほぼ均等にわかれている。最も摂取量の多いグループでは毎日300～400g以上にもなり、これは平均的な日本人の果物摂取量と比較すると、3, 4倍以上にもなる。そのため、ミカンの健康効果が検出しやすい集団ということが云える。近年、JPHC Study の成果として、果物を最も多く食べているグループで循環器系疾患のリスクが19%低いという結果が報告されたが、この最も多く食べているグループでも平均摂取量が一日あたり180gであり、国民栄養調査の平均摂取量よりも70gほど多い程度である。仮にもっと果物摂取量が多い集団を対象にすれば、リスク低下はもっと低い結果になっていたかも知れない。またリスクとの関連が認められなかった疾患について

も有意な結果となっていたかも知れない。緑茶と胃がんについての疫学調査結果もまだ一致した見解が得られていないが、JPHC Study の解析では最も緑茶の摂取量が多いグループでも 5 杯以上となっており、静岡等の地域であればもっと高頻度に摂取している人が多いため、よりクリアな結果が得られるのではないかと考えられる。このように、平均的な日本人集団を対象にするのではなく、それぞれの食品の摂取量がかなり多い人が高頻度にいる集団を対象にすれば（もちろん摂取量が少ない人もある程度いる）、その食品の健康影響を疫学的に検出しやすくなることが予想される。

また健康的な日本型食生活の効果を明らかにすることも国内の機能性研究において重要なテーマであるが、このような検証は実験研究では非常に困難である。しかしながら、栄養疫学的手法を用いることで個別の食品に的を絞った解析だけでなく、様々な食材の組み合わせ効果を層別化解析や因子分析によって検証することが可能になる。我々はこれまでにミカンに特徴的に多いβ-クリプトキサンチンの血中濃度と骨粗しょう症リスクとに有意な負の関連があることを見出してきたが、これらの関連にはビタミンCの関与が大きいことも報告してきた。このような食品成分（あるいは食素材）の組み合わせ効果は疫学研究である程度探ることが可能になる。このような研究手法を用いることで、日本型食生活が何故重要なのかを明らかにすることが出来るのではないかと考えられる。

これまでの食品の機能性研究では、細胞等を用いた試験管レベルでの基礎的な実験研究 → 実験動物を用いた研究 → 介入試験によるヒトレベルでの検証、という流れが主流であった。しかしながら、先述したように先ずは人が普段の食生活で摂取するレベルで本当に効果があるのかを明らかにする必要がある。実験研究で得られた結果だけではヒト介入研究を行う上で有益な情報には成りにくく、また妥当な研究デザイン的设计も難しいものとなる。その点、はじめに栄養疫学調査でスタートした機能性研究であれば、疾患リスクと関連が認められた知見を実験研究でその作用機序を詳細に検証し、そして綿密な研究デザインに基づいたヒト介入試験へと展開することが可能になる。今後、国内の機能性研究において疫学的な検証が活発に取り組まれることを期待したい。

5. 食行動調査におけるバイオマーカーの有用性

先述した食行動調査の結果を用いて食品（食品成分）の摂取量と疾患リストの関連を解析する方法に対して、血液や尿などの生体試料中に存在する食品成分を測定し、バイオマーカーとして疫学研究の指標とすることが出来れば、健康指標との関連についてより詳細な解析を行うことが可能となる。栄養疫学研究においてバイオマーカーを用いる大きな利点は3つある。1つは対象者の過去の記憶に頼らないこと、2つめに実際に生体が利用した量を反映することである。食品摂取頻度調査法では用いる栄養成分表の精度に依存するため、品種間・産地間、あるいは収穫時期による栄養素含有量の違い、また調理方法や摂取する食品の組み合わせにより各食品成分の含有量や吸収性に違いが生じる点を考慮出来ない。これに対して、バイオマーカーでは実際に摂取した各栄養素（機能性成分）の生体内での状態を把握出来る。更に利点の3つめとして、実際に摂取した各栄養素の生体内での状態を把握出来るため、栄養疫学研究においてより直接的に疾患との関連を詳細に解析できるということである。

バイオマーカーを用いた食行動調査は、より客観的で詳細な健康指標との関連についての解析が可能となるが、生体試料の採取と分析に手間と費用がかかるほか、試料採取時の条件（空腹か否かなど）に影響を受ける場合がある。また個人の習慣的な摂取量の指標として生体試料の有用性は栄養素によって異なり、また目的とする食品成分の摂取量以外にも代謝・吸収に関連した要因にも影響を受ける場合が多い。ある食品（群）の摂取量を反映するバイオマーカーとして求められることは、①体内における半減期がある程度長く、直ぐには排泄されないこと、②摂取量に依存してバイオマーカーの値も高くなること、③その食品に特徴的に含まれること、の3点である。特に①の項目である生体内に

おける半減期は重要な要因となる。疫学調査において採血・採尿を行う際、被験者は通常検査前日の夜から食事を控えるため、いくら日常的に摂取している食品であっても、目的とする食品成分が比較的短時間で代謝され、尿や血液中からすぐに消失してしまうものではバイオマーカーにはならない。近年では質量分析計等を用いた分析技術の精度向上により、生体試料中でかなり低レベルの食品成分も分析・検出できるように開発されているが、多数の検体を分析しなくてはならない疫学研究等においては、より簡便で精度高く分析可能なバイオマーカーとその分析手法が望まれる。またバイオマーカーを測定する試料も、尿中あるいは血液中に存在するものである方がより現実的である。これらの試料は健康診断等においても採取されるものであるし、被験者からのインフォームドコンセントを得られやすい。一方、尿・血液以外の生体試料として、毛髪や爪、あるいは皮下脂肪組織なども考えられるが、これらの試料を実際の疫学調査で採取することは困難である場合が多い。

これまでに血液や尿などの生体試料中に存在する食品成分を分析して、栄養疫学の指標にしようとする試みが多くなされ、これらバイオマーカーと様々な疾患マーカーとの関連について明らかにされつつある。食品から摂取する栄養素には脂質・タンパク質・炭水化物・食物繊維・ビタミン類・ミネラル類があるが、それぞれの栄養素の摂取量と疾病との関連についてはこれまでに膨大な数の研究があり、また生体試料中の脂質やビタミン類・ミネラル類についての研究も数多い。個々の食品に含まれる栄養素にそれぞれ大きな違いはあるものの、全ての食品は非常に多くの栄養成分を含んでおり、これらの栄養成分をバイオマーカーとしても、ある食品（群）の摂取量を反映するものではない。また目的とする食品（群）の摂取量に季節変化があるような場合、調査する時期によってはバイオマーカーとしての解析精度は低下する。

果物・野菜の摂取量を反映すると考えられているバイオマーカーとして、血中のカロテノイドやビタミンCがあり、これらの血中濃度と疾患マーカーとの関連が解析されている。カロテノイドの中でも特にユニークなバイオマーカーとしてβ-クリプトキサンチンがある。β-クリプトキサンチンはオレンジやカキなどに含まれるカロテノイド色素の一つであるが、特に日本のウンシュウミカンに特徴的に多く含まれている。我々は、ミカン産地の住民を対象にした調査から、血中β-クリプトキサンチンレベルがミカンの摂取頻度に依存して著しく上昇し、血中β-クリプトキサンチン濃度に影響する要因は食品ではミカンのみであることをこれまでに明らかにしてきた^{1, 2)}。またミカンを高頻度に

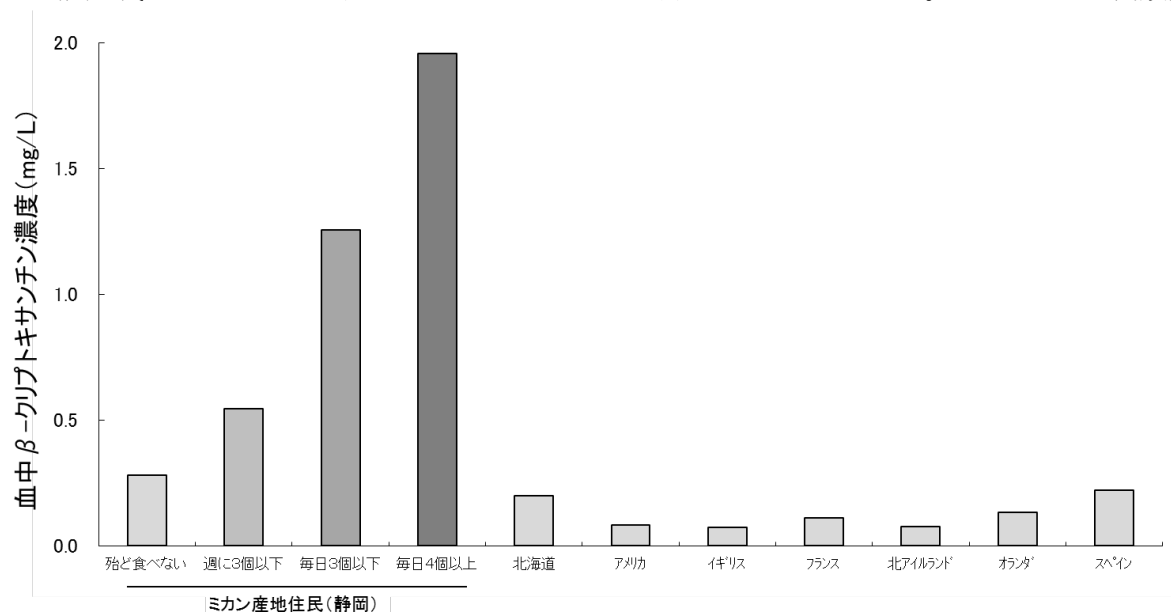


図3 ミカンの摂取量と血中β-クリプトキサンチン濃度—ミカン産地住民と他の地域との比較

摂取している地域住民の血中 β -クリプトキサンチンは他の地域に比べて極めて高いことが明らかになっている（図3）。我々は、平成15年からミカン産地住民を対象にした栄養疫学調査（三ヶ日町研究）を10年間に渡って取り組んできた。その結果、ミカンを良く食べ血中の β -クリプトキサンチンレベルが高い者では、そうでない者と比べて、骨粗しょう症や2型糖尿病、肝機能障害等の発症リスクが有意に低下することを10年間のコホート研究で明らかにしてきた。

6. 三ヶ日町研究から機能性表示食品へ

平成27年4月より、消費者庁において「新たな食品の機能性表示制度」が開始された。本制度ではミカンなどの生鮮物にもその科学的根拠を示せば事業者の責任で機能表示が可能になり、今後、生鮮物の消費拡大のための大きな起爆剤になることが期待されている。

本制度のガイドライン（機能性表示食品の届出等に関するガイドライン 平成27年3月30日制定（消食表第141号）平成28年3月31日改正（消食表第234号）³⁾では、「サプリメント形状の加工食品を販売しようとする場合は、摂取量を踏まえた臨床試験で肯定的な結果が得られていること、また、その他加工食品及び生鮮食品を販売しようとする場合は、摂取量を踏まえた臨床試験又は観察研究で肯定的な結果が得られている必要がある。ただし、観察研究については原則として縦断研究（前向きコホート研究や症例対照研究等）のみを対象とする。観察研究のうち、横断研究については因果の逆転が生じやすいため、横断研究を用いる場合は原則として、機能性関与成分による臨床試験との組み合わせ等により機能性を実証することが求められる。」とされている。つまり果物・野菜等の生鮮物では疫学研究で肯定的な結果が得られていれば、機能性表示食品として販売できることになる。生鮮物としてのミカン、あるいは100%果汁などの一次加工品については、これまで蓄積されてきた数多くの科学的知見により、本制度への申請が可能になる。今回の表示制度では当初からミカンが最も可能性の高い生鮮食品と期待されており、静岡県浜松市のJAみっかびでは早くから申請に向けての準備が行われた。

6-1. カロテノイドと骨の健康との関係

最近の実験的研究から、骨芽細胞のアポトーシスや破骨細胞による骨吸収に酸化ストレスが関与していることが明らかになっている。実際に骨密度や骨粗しょう症と酸化ストレスとの関係が疫学研究の結果でも示されている。そのためこれらの酸化ストレスを抗酸化物質が抑えることで骨代謝に良い影響を及ぼしているのではないかと考えられるようになってきた。特に最近では果物・野菜に豊富に含まれるカロテノイドに着目した研究結果が相次いで報告されている。欧米人を対象にした調査からは、 β -カロテンやリコペン、また β -クリプトキサンチンの血中カロテノイド値が健康な閉経女性に比べて有意に低下していることが横断研究の結果が報告されている。また最近、コホート研究の結果が相次いで報告され、アメリカの高齢者男女におけるカロテノイドの摂取量と脊椎骨、腰骨及び橈骨の骨密度の変化との関係を4年間追跡した結果では、カロテノイドの総摂取量が多い人達では骨密度の低下が緩やかであったこと、また17年間にも及ぶ追跡調査から、カロテノイドの中でも特にリコペンの摂取量が多いほど腰骨と非脊椎の骨折のリスクが低減したことが報告されている。調査する対象集団によって結果が異なるのは、それぞれの対象集団の食生活習慣が異なるためと考えられるが、どのようなカロテノイドが特に骨代謝に有益なのかについては今後の更なる疫学研究の結果から明らかになることが期待される。

6-2. 三ヶ日町研究からの知見

調査は三ヶ日町の住民健診受診者のうちインフォームドコンセントが得られた者を調査対象とし

た。協力者に対して、①空腹時採血による血中カロテノイド値の測定、②DXA法（二重エネルギーX線吸収法）による橈骨1/3遠位（非利き腕）における骨密度測定、及び自記式問診票調査等を実施した。問診票によるアンケート調査、骨密度測定、及び血中カロテノイド値の分析が完了した676名（男性222名、女性454名）について、自記式問診票調査から一日当たりの総摂取カロリー、ビタミン・ミネラル摂取量を求め、血中カロテノイド値と骨密度との関連を横断的に解析した^{4,5)}。

骨密度と血中カロテノイド値との関連について、骨密度に影響すると考えられる要因を統計的に調整した上で分析を行ったところ、特に閉経女性では血中β-カロテンとβ-クリプトキサンチン濃度が骨密度と弱いながらも有意に相関していた。更にビタミン・ミネラル類の摂取量を調整してもβ-クリプトキサンチンは有意に相関していた。次に、骨粗しょう症歴を有さない月経の無い女性293名をβ-クリプトキサンチンの血中濃度で4群に分け（最も血中濃度の低いグループQ1から最も高いグループQ4まで）、それぞれのグループにおける多変量調整した骨密度を解析した。その結果、調整骨密度は血中β-クリプトキサンチンレベルが高いほど有意に高い傾向が認められた（図4左）。次にそれぞれのグループで骨密度が低下していると考えられる多変量調整オッズ比を計算した。

データ解析では対象者の数が293名と小規模であったため、最も血中濃度の低いグループ（Q1）とそれ以上のグループ（Q2～Q4をまとめて一つのグループ）とで、骨密度低値の出現割合を計算した。その結果、β-クリプトキサンチンの血中レベルが高いグループでリスクが半分以下となっていた（図4右）。一方、ビタミン・ミネラル類摂取量で更に調整を行うと有意では無くなった。また他のカロテノイドでは有意な関連は認められなかった。

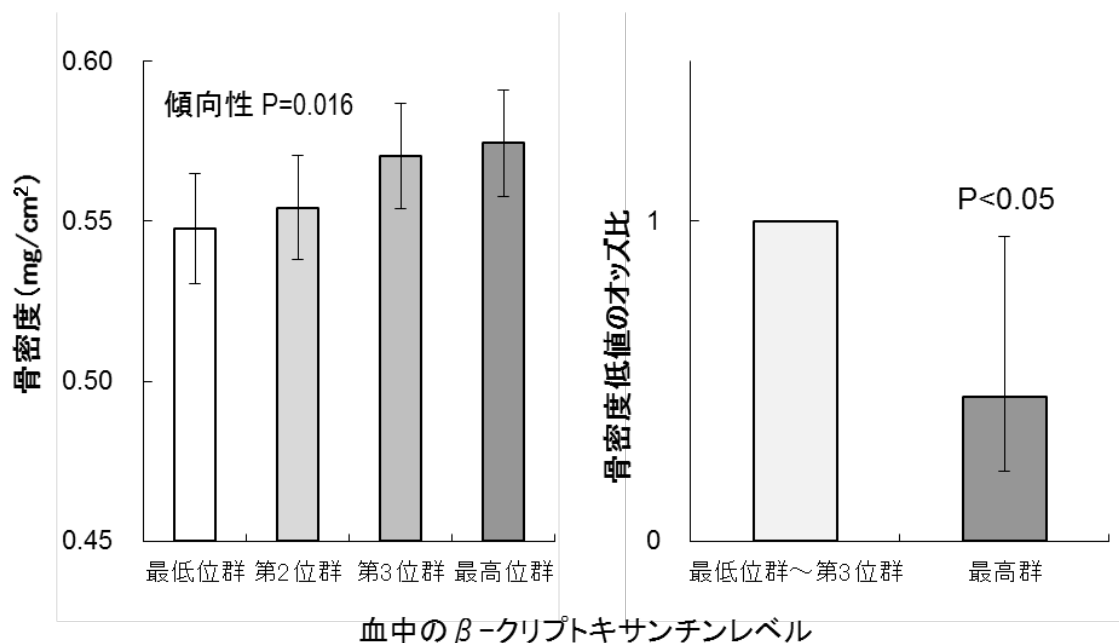


図4 血中β-クリプトキサンチンレベル別に見た骨密度と骨密度低値リスク

三ヶ日町研究では追跡調査を継続して行っているが、平成17年度からの骨密度調査にご協力頂いた方を対象に4年後調査を実施した。次に4年間の追跡調査が完了している被験者について縦断的な解析を行った結果を紹介する⁶⁾。現在、日本国内では日本骨粗鬆症学会の「骨粗鬆症の治療（薬物療法）に関するガイドライン」において、若年成人における平均骨密度値に対する値であるTスコアが70-80%では「骨密度が低下している」、70%未満では「骨粗しょう症の疑いがある」と診断される。追跡調査の結果、調査開始時に既に閉経していた女性においては、ベースライン時に既に骨粗しょう

症と考えられる被験者は 11.8%だったが、4 年後の調査では 18.5%に有意に増加していた。一方、男性被験者と閉経前女性被験者（ベースライン時）では、4 年後の調査においても骨粗しょう症を発症したと考えられる被験者はいなかった。

閉経女性のうち、調査開始時に既に骨粗しょう症を発症していた被験者を除いて、血中のβ-クリプトキサンチン濃度について、低いグループから、高いグループまでの3グループに分け、各グループでの骨粗しょう症の発症率を解析すると、血中のβ-クリプトキサンチンが高濃度のグループにおける骨粗しょう症の発症リスクは、低濃度のグループを1.0とした場合0.08となり、統計的に有意に低い結果が得られた（図5）。またこの関連は、ビタミンやミネラル類の摂取量などの影響を取り除いても統計的に有意であった。同様にβ-カロテンにおいても血中濃度が高いグループほど発症リスクが低くなる傾向が認められたが、有意な結果ではなかった。

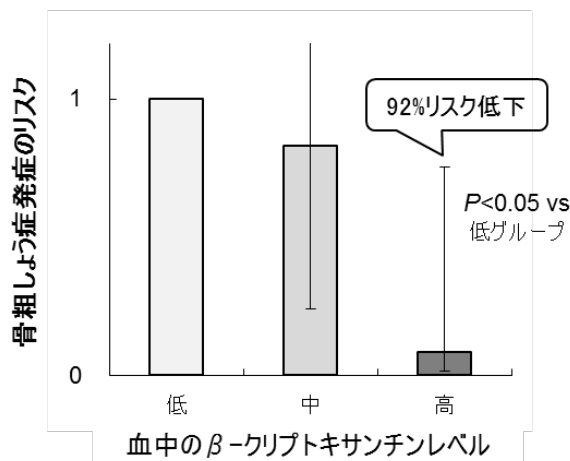


図5 血中β-クリプトキサンチンレベル別に見た骨粗しょう症の発症リスク

6-3. 作用メカニズムに関する研究とヒト介入試験

β-クリプトキサンチンの骨代謝に及ぼす影響についてはこれまで詳細な実験的検証が数多く行われており、山口らは大腿骨組織培養系を用いた実験において、β-クリプトキサンチンは骨代謝マーカーである骨型アルカリフォスファターゼの活性上昇作用や骨中のカルシウム含量を高めることで骨組織中のカルシウム量を有意に増加させ、骨石灰化を増進させることを明らかにしている⁷⁾。また、各種骨吸収促進因子による骨塩溶解（骨吸収）を抑制する作用のあることが明らかになっている。さらに、β-クリプトキサンチンは、骨芽細胞による骨形成に関与する各種タンパク分子（Runx2、α1 collagen、IGF-I 及び TGFβ1）の遺伝子発現を高めることで骨形成を促進する作用のあることが明らかになっている。一方、健常成人を対象にしたヒト介入試験において、β-クリプトキサンチン含有ミカンジュースの長期間摂取により、骨形成の促進と骨吸収の抑制が起きることが骨代謝マーカーの変化から確認されている⁷⁾。これまでのヒト介入試験及び三ヶ日町研究による栄養疫学的な検証から、骨代謝に効果が期待出来るβ-クリプトキサンチンの摂取量は3mg/dayと考えられる。

6-4. 機能性表示食品としてのミカン

6-4-1. ミカン中のβ-クリプトキサンチン含有量

興津早生及び青島温州ミカン中のβ-クリプトキサンチン含有量について、特秀・秀・優・良の4等級を分析した結果、何れもβ-クリプトキサンチン含有量は正規分布を示した。等級の高いミカン程糖度は高く、またβ-クリプトキサンチン含有量も有意に高いことが解った（表3）。

糖度とβ-クリプトキサンチン含有量の相関分析を行ったところ、有意な正相関を示した（図6：r=0.687、P<0.001）。現在、多くのミカン産地では光センサー非破壊選果機が導入されているが、光センサーによる糖度選別はβ-クリプトキサンチン含有量を全数検査することにほぼ等しいと考えられ、光センサー選果機による選果がβ-クリプトキサンチン含有量の保証に有効であることが判明した。

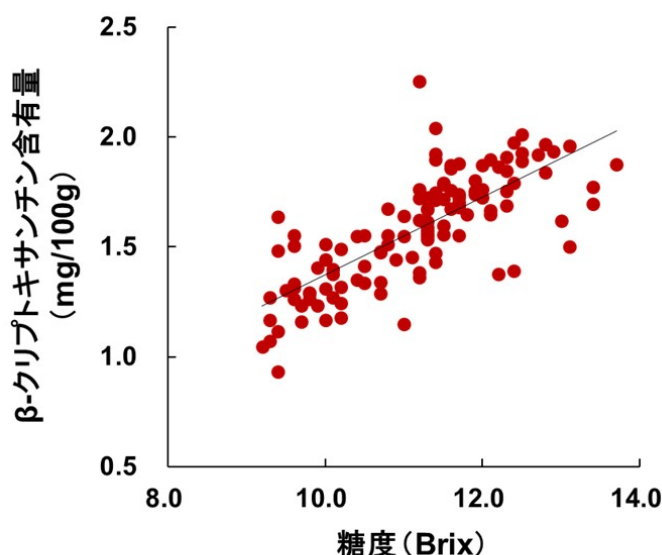


図6 β-クリプトキサンチン含有量と糖度との関係

表3 JAみっかび興津早生のβ-クリプトキサンチン含有量(mg/270g)

	特選品	秀品	優品	良品
平均値	4.85	4.54	4.17	3.49
標準偏差	0.19	0.19	0.25	0.16
95%下限値	4.57	4.22	3.75	3.22

JA みっかび産の興津早生及び青島温州を機能性表示食品として消費者庁に申請するため、一日当たりどれくらいの量のミカンを取れば骨代謝への効果が期待出来る 3mg のβ-クリプトキサンチンを摂取できるかについて検討したところ、最もβ-クリプトキサンチン含有量の低い興津早生の良品でも可食部として270g(中心階級のMサイズをおよそ3個)を取れば3mgのβ-クリプトキサンチンを摂取できることが解った(表3)。興津早生の良品よりも糖度の高い等級(優・秀・特秀)、及び青島温州(全ての等級)には何れもより多くのβ-クリプトキサンチンを含有していることから、JA みっかび産の全てのウンシュウミカン(興津早生及び青島温州の全ての等級)を機能性表示食品として申請可能であることが解った。

以上のように、ミカン中のβ-クリプトキサンチン含有量は糖度と良く相関することから、糖度を保証することで機能性関与成分であるβ-クリプトキサンチンの含有量を保証できることが判明した。通常、生鮮農産物中の機能性成分含有量はその栽培条件や収穫時期、産地で異なり、また貯蔵・流通段階でも変動することが予想され、その含有量を保証することは極めて難しいことが予想される。ミカン中のβ-クリプトキサンチンのように、機能性関与成分の含有量が非破壊センサー等で推定できる指標と相関する場合は含有量の保証も比較的容易であるが、そうで無い場合であっても一定量のサンプリング検査を実施することで統計学的にその含有量を保証することは可能である。農林水産省のホームページ上で、農林水産物の機能性表示に向けた技術的対応として、サンプリング検査の方法について詳細な解説が公開されているので参照されたい⁸⁾。

6-4-2. 生鮮物では初めての機能性表示食品として受理

JA みっかびから申請した「三ヶ日みかん」が、2015年9月8日に生鮮物では始めて機能性表示食品として消費者庁に登録された(受付番号A79)。2015年の早生ミカンから、段ボール等の包装資材に「本品にはβ-クリプトキサンチンが含まれています。β-クリプトキサンチンは骨代謝の働きを助

けることにより骨の健康に役立つことが報告されています」と表記して販売が開始している。また加工品についても（株）えひめが開発したβ-クリプトキサンチン高含有ミカン果汁「POMアシタノカラダ」も機能性表示食品として登録された（受付番号 A105）。その後、各産地での取り組みも広がり、2017年1月の時点で、生鮮物のミカンでは2件、100%果汁飲料で2件、サプリメント形状の加工食品では2件が受理登録されている。本表示制度を活用することで、今後更に、機能性を有する生鮮農作物の消費拡大に繋がることが期待される。

6-5. 三ヶ日町研究の10年間に渡る追跡調査から明らかになったこと

これまでに調査開始時のベースラインデータを用いた横断研究からは、ミカンをよく食べ血中β-クリプトキサンチンレベルが高い人では様々な生活習慣病のリスクが低いことが既に明らかになったが、これらの研究は、結果（病気の有無）と原因（ミカンや血中β-クリプトキサンチン）を同時に調査解析しているので、結果が先なのか原因が先なのかは不明であり、ただ相関が確認されたに過ぎない（横断研究の限界）。そのため、β-クリプトキサンチンが病気を予防したのかを明らかにするためには、次に縦断研究により検討する必要がある。つまり健康な人だけを選び出し、その後何年間も追跡調査を行い、その人達の病気の発症率がミカンをよく食べていた人とそうで無い人とでどのような差がでるかを比較検証する必要がある。三ヶ日町研究では開始当初から10年間の追跡調査を目標にして、ベースライン調査以降も協力者の健康状態の変化を毎年調べるという作業を繰り返し取り組んできた。そして10年間の追跡調査から数々の新たな知見が得られた。

6-5-1. ミカンをよく食べる人では2型糖尿病の発症リスクが有意に低い

インスリン抵抗性はインスリン分泌低下と共に、糖尿病の発症や状態に大きく関わっており、特にインスリン非依存型糖尿病（2型糖尿病）患者で重要な病態である。現在糖尿病でなくてもインスリン抵抗性が高い人ではそうでない人に比べて糖尿病に罹る率が高くなることが近年の疫学研究から明らかとなっており、またインスリンの過剰な分泌は血圧の上昇や脂質代謝の異常も引き起こし、動脈硬化を引き起こす原因にもなる。これまで三ヶ日町研究の横断研究から、血中β-クリプトキサンチンレベルが高い被験者ではインスリン抵抗性のリスクが有意に低いことが明らかになっている⁹⁾。そこで調査開始時に既に糖尿病（空腹時血糖値が126mg/dL以上）であった被験者を除き、調査開始時の血中β-クリプトキサンチン値と2型糖尿病の発症リスクとの関連について調べたところ、血中β-クリプトキサンチン濃度が高かったグループでは低かったグループに比べて2型糖尿病の発症リスクが約57%低くなることが解った（図7）¹⁰⁾。

果物はその甘さ故に高糖・高カロリーと誤解されることが多く、糖尿病には良くないと捉えられることが多いが、実際には大半が水分であり、むしろ低カロリー食品と言える。β-クリプトキサンチンの豊富なミカンを積極的に食べることで糖尿病の予防に繋がるかも知れない大変貴重な知見と云える。

6-5-2. ミカンをよく食べる人では肝機能異常症の発症リスクが有意に低い

これまで三ヶ日町研究の横断研究から、血中β-クリプトキサンチンレベルが高い被験者では、飲酒が原因による血中γ-GTP高値のリスク、及び高血糖者での血中ALT値高値のリスクが有意に低いことがこれまでに明らかになっている^{11, 12)}。そこでベースライン調査の時点で肝機能が正常な被験者を対象にその後10年間にわたり追跡調査を行った。

その結果、ベースライン時の血中β-クリプトキサンチンレベルが高かったグループでは、肝機能異常症（血中高ALT値）の発症リスクが約49%低下することが判明した（図8）¹³⁾。

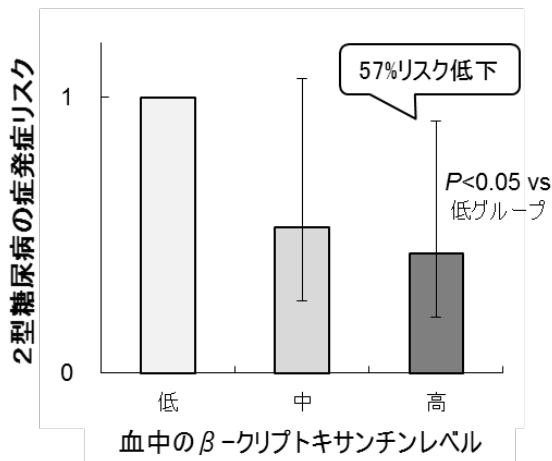


図7 血中β-クリプトキサンチンレベル別に見た2型糖尿病の発症リスク

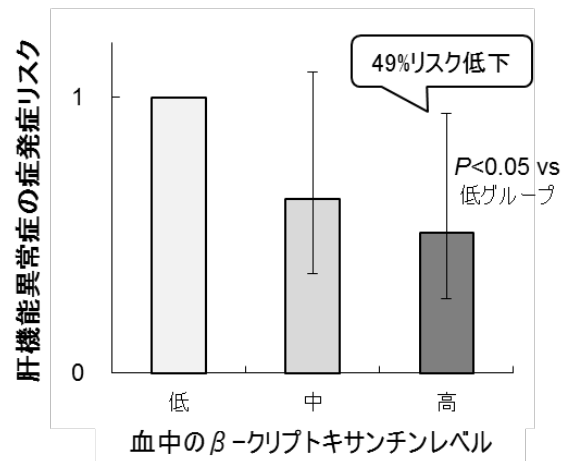


図8 血中β-クリプトキサンチンレベル別に見た肝機能異常症の発症リスク

6-5-3. ミカンをよく食べる人では脂質代謝異常症の発症リスクが有意に低い

これまで三ヶ日町研究の横断研究から、血中β-クリプトキサンチンレベルが高い被験者ではメタボリックシンドロームのリスクが低いことが解っている¹⁴⁾。そこでベースライン調査の時点でメタボリックシンドロームを有さない被験者を対象にその後10年間にわたり追跡調査を行った。その結果、メタボリックシンドロームの発症リスク低減には関連が認められなかったが、ベースライン時の血中β-クリプトキサンチンレベルが高かった人では、脂質代謝異常症（高中性脂肪血症）の発症リスクが約33%低下することが判明した（図9）¹⁵⁾。

6-5-4. ミカンをよく食べる人では動脈硬化症の発症リスクが有意に低い

これまで三ヶ日町研究の横断研究から、血中β-クリプトキサンチンレベルが高い被験者では、上腕-下肢間の脈波速度で評価した動脈硬化指標が有意に低いことがこれまでに明らかになっている¹⁶⁾。そこでベースライン調査の時点で動脈硬化症状を有さない正常な被験者を対象にその後10年間にわたり追跡調査を行った。その結果、ベースライン時の血中β-クリプトキサンチンレベルが高かった人では、動脈硬化の発症リスクが約45%低下することが判明した（図10）¹⁷⁾。

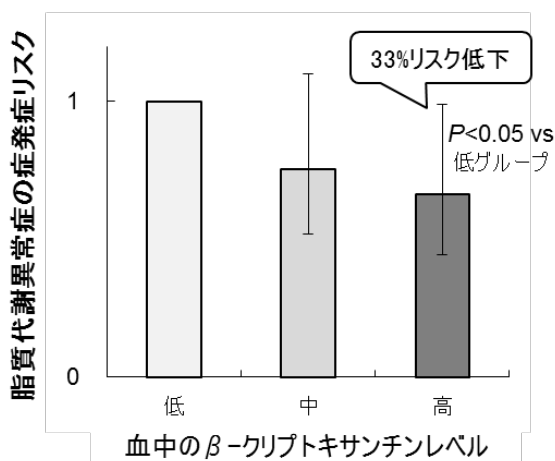


図9 血中β-クリプトキサンチンレベル別に見た脂質代謝異常症の発症リスク

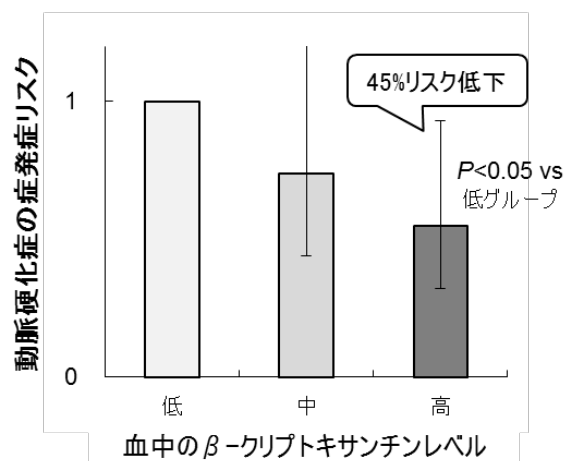


図10 血中β-クリプトキサンチンレベル別に見た動脈硬化症の発症リスク

6-6. 機能性表示食品としてのミカンの普及

現在、各産地におけるミカン中のβ-クリプトキサンチン含有量について調査を行っているが、産地間及び品種間において多少の差は認められるものの、早生及び晩生品種であればミカン3個程度で十分な量のβ-クリプトキサンチンを摂取できることが明らかとなり、何れも機能性表示食品として申請できることが解ってきた。糖度が低い極早生品種については優品などの等級の高いミカンに限り申請が可能と考えられる。光センサー選果機による選別を行うことでβ-クリプトキサンチン含有量を保証することが可能であり、光センサー選果機が導入されている産地のミカンであれば機能性表示食品として申請が可能であると考えられる。また光センサー選果機が導入されていない産地でも、一定量のサンプリング試験を行えば機能性表示食品としての申請は十分に可能と考えられる。また三ヶ日町研究の10年後調査から、骨粗しょう症以外にも糖尿病や肝機能異常症、脂質代謝異常症、動脈硬化症などについてもリスク低下が明らかになっており、今後更に幅広いヘルスクレームが可能になりなると期待される。本表示制度を積極的に活用することで、今後更にミカンの消費拡大に繋がることを期待したい。

【おわりに】

ある特定の農林水産物の健康機能性を栄養疫学研究で検証するためには、それぞれの目的に合致した集団を各産地で立ち上げる必要があるが、そのための人材・ノウハウ・研究資金など現実問題として困難な場合が多い。しかしながら、今後は様々な農林水産物の機能性を網羅的に解析できる大規模なコホートを様々な農業・食品分野の研究者が全国規模で共同して立ち上げ、食品の健康機能性に関するヒトレベルでの研究を基礎医学系の研究者と連携しながら加速させる必要がある。国産の農林水産物を含めた日本型食生活の有用性を疫学的に検証出来るような研究体制を構築すれば、各食品中の機能性成分含有量に関するデータベースの構築やメタボロミクス解析などによる生体中の食品成分についての網羅的解析を疫学研究とリンクさせることが可能になり、新たな食品機能性解明のための研究を展開させることが可能になる。今後、多くの研究者が疫学研究に取り組まれることを期待したい。

【参考図書】

本稿における疫学研究の方法論的なことについては下記の専門書を参考にした。

- 1) 坪野吉孝・久道茂, 栄養疫学, 第1版(南江堂, 東京)(2001).
- 2) 日本疫学会編集, 疫学-基礎から学ぶために, 第1版(南江堂, 東京)(1996).
- 3) 豊川裕之編集, 疫学・保健統計, 第2版(メジカルフレンド社, 東京)(1999).

【10. 引用文献】

- 1) Sugiura M et al., Serum concentration of β-cryptoxanthin in Japan reflects the frequency of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) consumption. *Journal of Health Science* 2002; 48(4): 350-353.
- 2) Sugiura M et al., Multiple linear regression analysis of seasonal changes in the serum concentration of β-cryptoxanthin. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 2004; 50(3): 196-202.
- 3) 機能性表示食品の届出等に関するガイドライン 平成27年3月30日制定(消食表第141号) 平成28年3月31日改正(消食表第234号) 消費者庁
- 4) Sugiura M. et al. Bone mineral density in post-menopausal female subjects is associated with serum antioxidant carotenoids. *Osteoporosis International* 2008; 19(2): 211-219.
- 5) Sugiura M. et al. Dietary patterns of antioxidant vitamin and carotenoid intake associated with bone mineral density: Findings from post-menopausal Japanese female subjects. *Osteoporosis International* 2011; 22(1):

- 143-152.
- 6) Sugiura M. et al. High serum carotenoids associated with lower risk for bone loss and osteoporosis in post-menopausal Japanese female subjects: Prospective cohort study. *PLOS ONE* 2012; 7(12): e52643.
 - 7) Yamaguchi M. β -Cryptoxanthin and Bone Metabolism: The Preventive Role in Osteoporosis. *Journal of Health Science* 2008; 54(4): 356-369.
 - 8) 農林水産物の機能性表示に向けた技術的対応について農林水産省技術会議事務局ホームページ http://www.s.affrc.go.jp/docs/kinousei_pro/reference.htm
 - 9) Sugiura M. et al. The homeostasis model assessment-insulin resistance index is inversely associated with serum carotenoids in non-diabetic subjects. *Journal of Epidemiology* 2006; 16(2): 71-78.
 - 10) Sugiura M. et al. High serum carotenoids associated with lower risk for type 2 diabetes among Japanese subjects: Mikkabi prospective cohort study. *BMJ Open Diabetes Research & Care* 2015; 3:e000147.
 - 11) Sugiura M. et al. High serum carotenoids are inversely associated with serum gamma-glutamyltransferase in alcohol drinkers within normal liver function. *Journal of Epidemiology* 2005; 15(5): 180-186.
 - 12) Sugiura M. et al. Serum carotenoid concentrations are inversely associated with serum aminotransferases in hyperglycemic subjects. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2006; 71(1): 82-91.
 - 13) Sugiura M. et al. High serum carotenoids associated with lower risk for elevated serum alanine aminotransferase among Japanese subjects: Mikkabi prospective cohort study. *The British Journal of Nutrition* 2016; 115(8): 1462-1469.
 - 14) Sugiura M. et al. Associations of serum carotenoid concentrations with metabolic syndrome: Interaction with smoking. *The British Journal of Nutrition* 2008; 100(6): 1297-1306.
 - 15) Sugiura M. et al. High serum carotenoids associated with lower risk for metabolic syndrome and its components among Japanese subjects: Mikkabi prospective cohort study. *The British Journal of Nutrition* 2015; 114(10): 1674-1682.
 - 16) Nakamura M. et al. High β -carotene and β -cryptoxanthin are associated with low pulse wave velocity. *Atherosclerosis* 2006; 184(2): 363-369.
 - 17) Nakamura M. et al. Serum β -cryptoxanthin and risk of high brachial-ankle pulse wave velocity: the Mikkabi cohort study. *Nutrition, metabolism & cardiovascular disease* 2016; 26(9): 808-814.