



オリーブ葉成分による卵巣機能及び 骨形成能の改善・向上

筑波大学・生命環境科学研究科・
北アフリカ研究センター
教授 宮崎均

トピックス



オリーブ葉成分を用いた

- 1) 暑熱ストレスによる排卵数減少の改善
- 2) 動脈硬化・高血圧の予防・改善
- 3) 骨粗鬆症の予防・改善

食機能探査科学 (研究背景)



疾病予防・健康向上を目的とした食品・医薬品産業
への有効利用を目指し、生物資源から有用機能性
化合物を探査すると共に、それらの作用機序を分子
レベルで探査する。

カテキンの効果



中性脂肪(トリアシルグリセロール)

2003 162 mg/100 ml *

2004 94 mg/100 ml

2005 132 mg/100 ml

2006 100 mg/100 ml

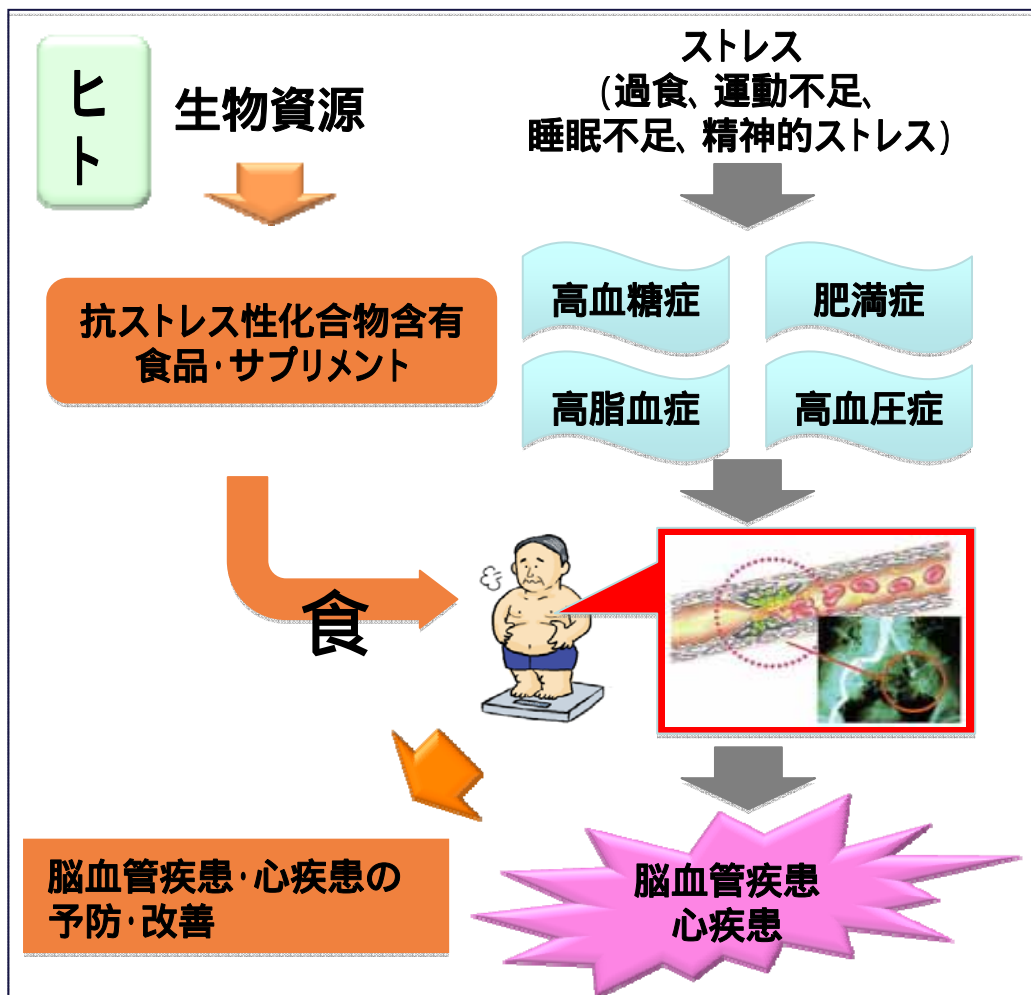


***高脂血症(脂質代謝異常)**

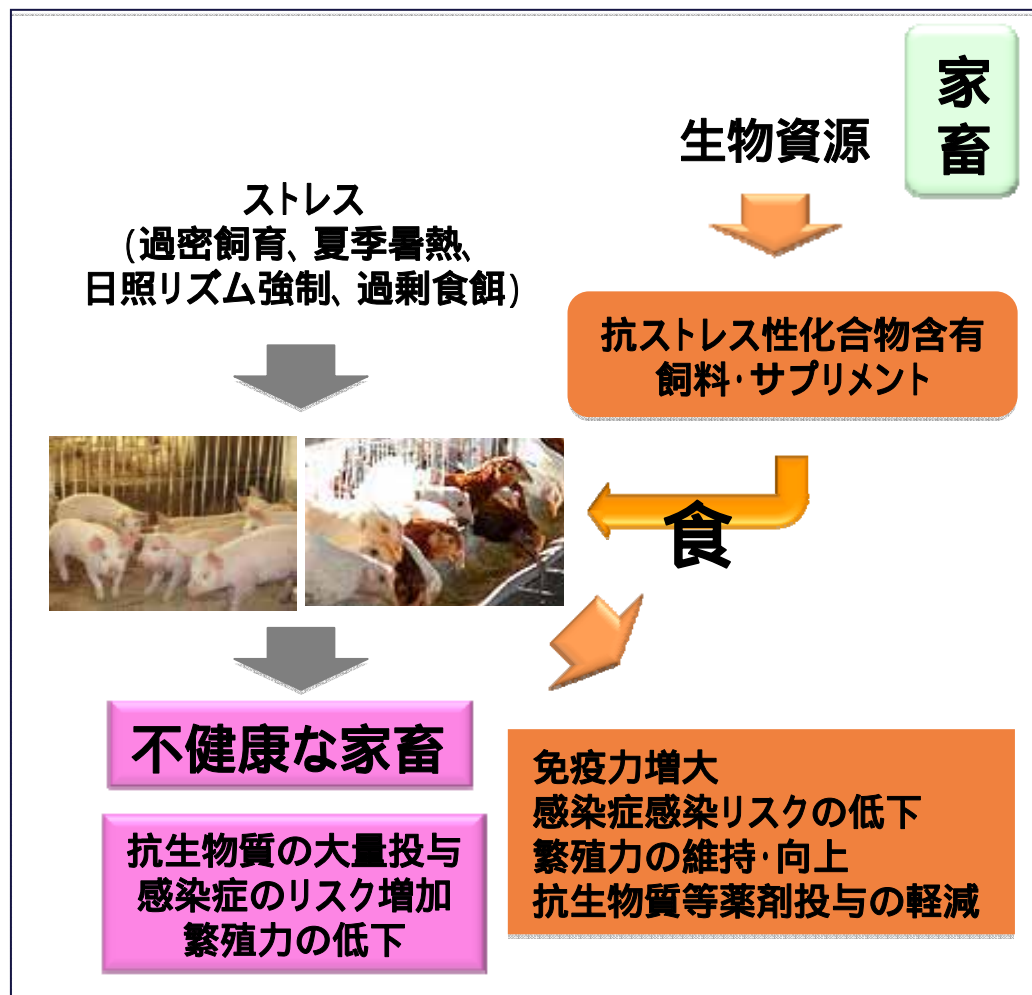


抗ストレス性化合物を用いた人と家畜の健康維持と疾病予防 (研究背景)

抗ストレス性化合物を用いたメタボリック症候群・ 動脈硬化の予防



抗ストレス性化合物を用いた健康な家畜の飼育



具体的研究背景



- ・畜産分野では夏季の暑熱ストレスによる繁殖力低下が深刻な問題。要因として雌の排卵数減少(種付け受胎率の低下)。

畜産農家の経営状態の悪化

- ・人においても種々のストレスによる排卵異常、不妊の問題が存在。
出生率の低下

- ・動脈硬化は脳血管疾患・心疾患の根底病変。高血圧はメタボリック症候群のファクターの一つ。

生活習慣と共に増加

- ・高齢化による骨粗鬆症の問題が深刻化。
寝たきり高齢者の増加

- ・上記の疾病等に酸化ストレスが関与。

- ・当研究室で種々の抗酸化化合物の機能性を探査中。

オリーブ

筑波大学北アフリカ研究センター

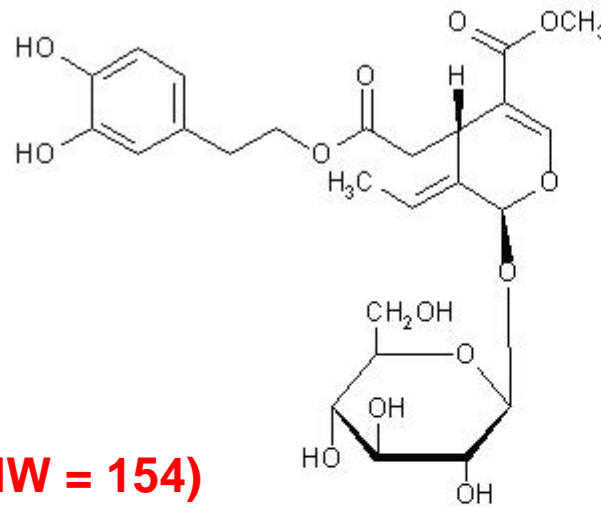


- ・北アフリカの生物資源の産業化を目指した有効利用
(チュニジアとのプロジェクト)
- ・チュニジアは世界第4位のオリーブオイル生産国

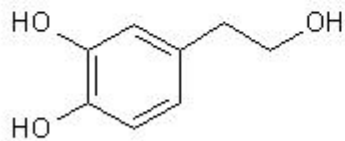
オリーブ葉に含まれる主要な5成分



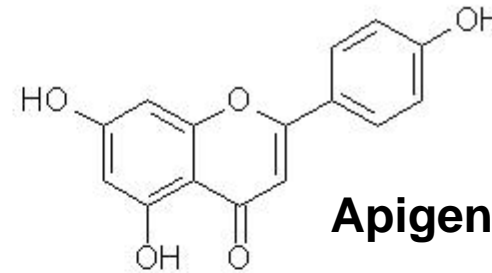
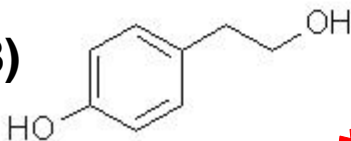
Oleuropein (MW = 541)



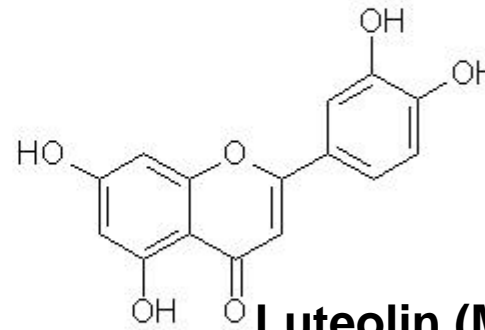
Hydroxytyrosol (MW = 154)



Tyrosol (MW = 138)



Apigenin (MW = 270)



Luteolin (MW = 286)

* オレウロペインはヒドロキシチロソールの前駆体であり、体内でヒドロキシチロソールに変換される。

* 葉乾燥重量の5 - 20%がオレウロペイン

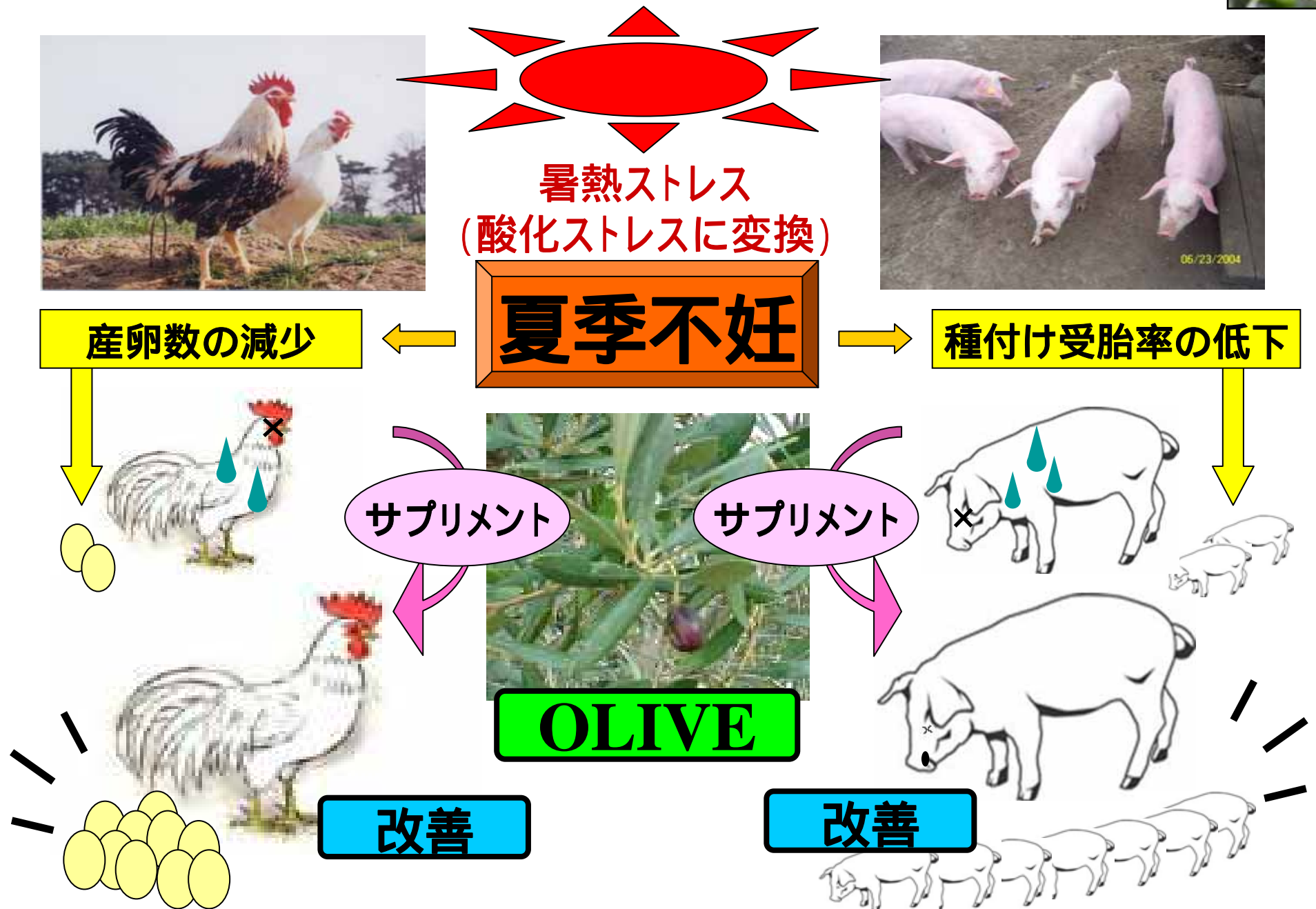
DPPH法によるin vitro抗酸化活性の比較

Luteolin > Hydroxytyrosol = Oleuropein > Trolox Apigenin = Tyrosol

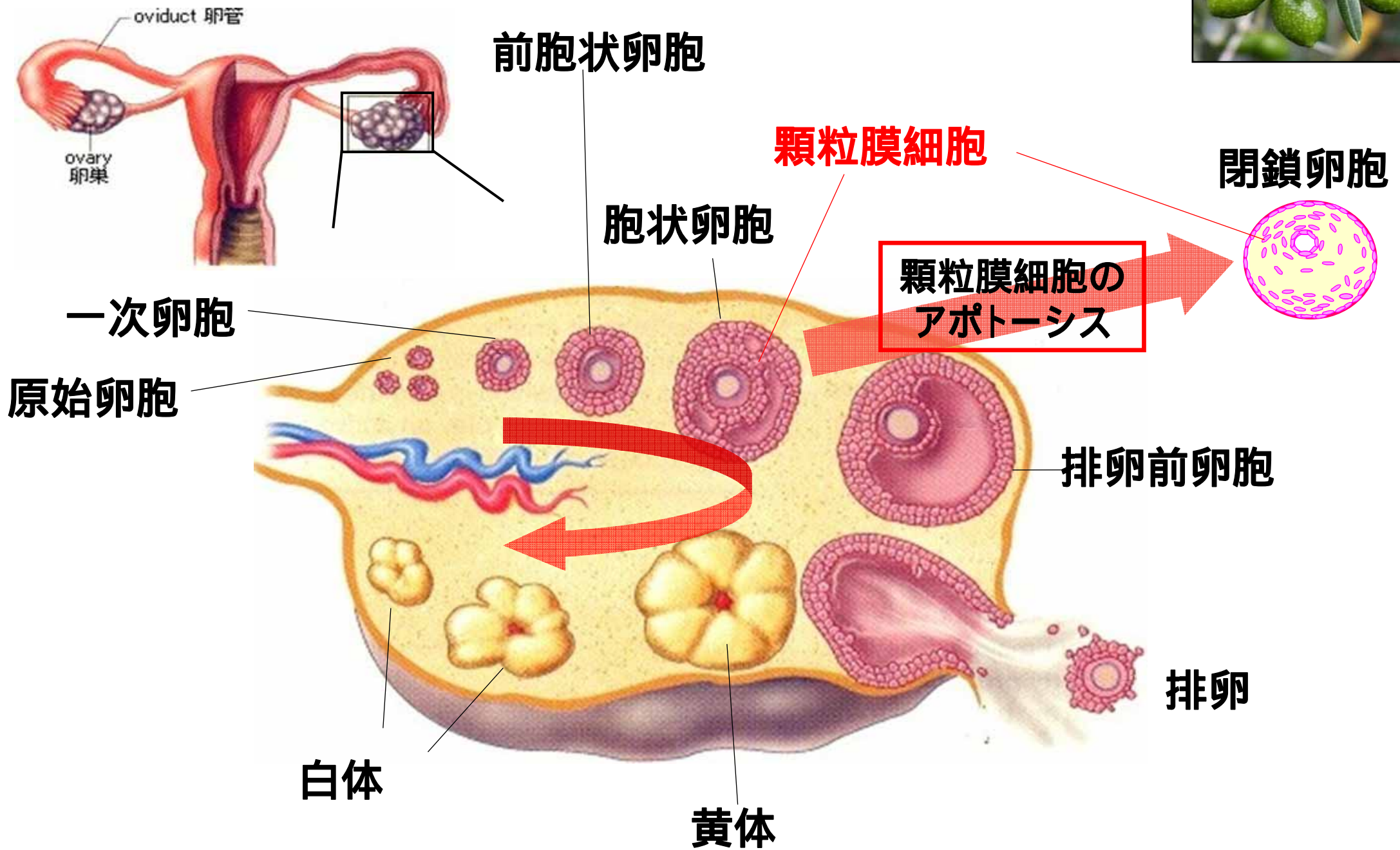


暑熱ストレスによる排卵数減少の改善効果

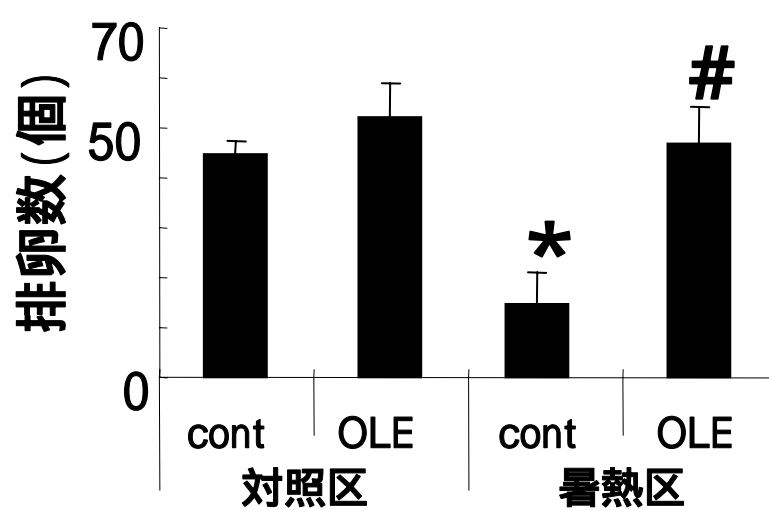
オリーブ葉成分を用いた家畜の夏季不妊の改善



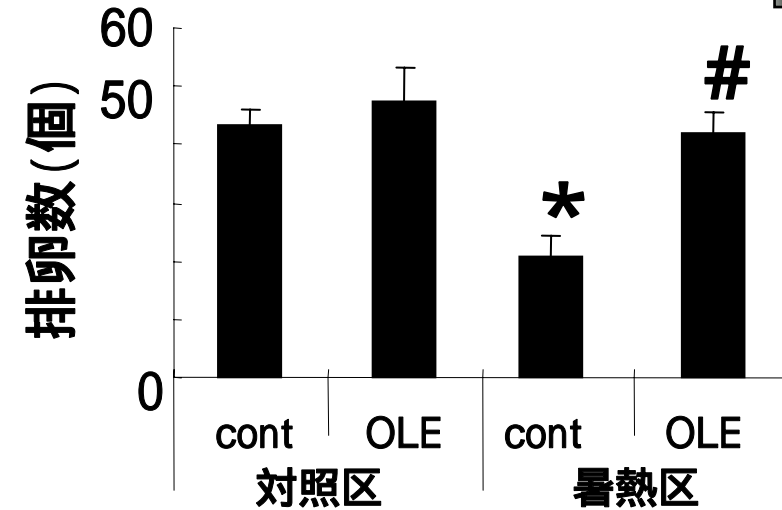
卵巢性周期に伴う卵胞発育



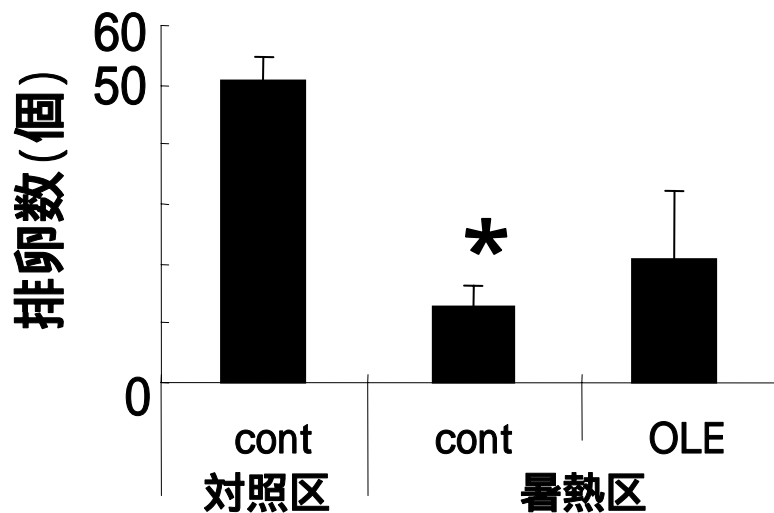
暑熱ストレス依存的なラット排卵数の減少を オレウロペインは完全に防止する



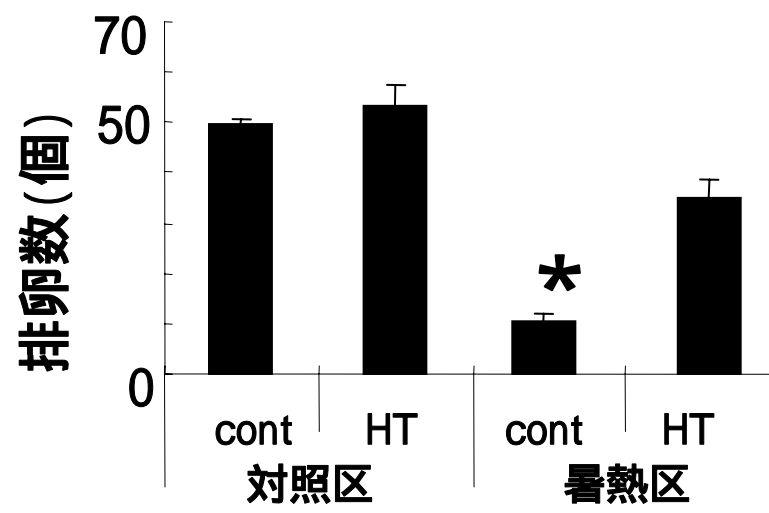
5.0 mg/kg 体重 投与



1.5 mg/kg 体重 投与



0.5 mg/kg 体重 投与



1.5 mg/kg 体重 投与
(モル数にしてOLEの5 mg相当)

* $P < 0.05$ v.s. 対照区 cont
$P < 0.05$ v.s. 暑熱区 cont

OLE : オレウロペイン

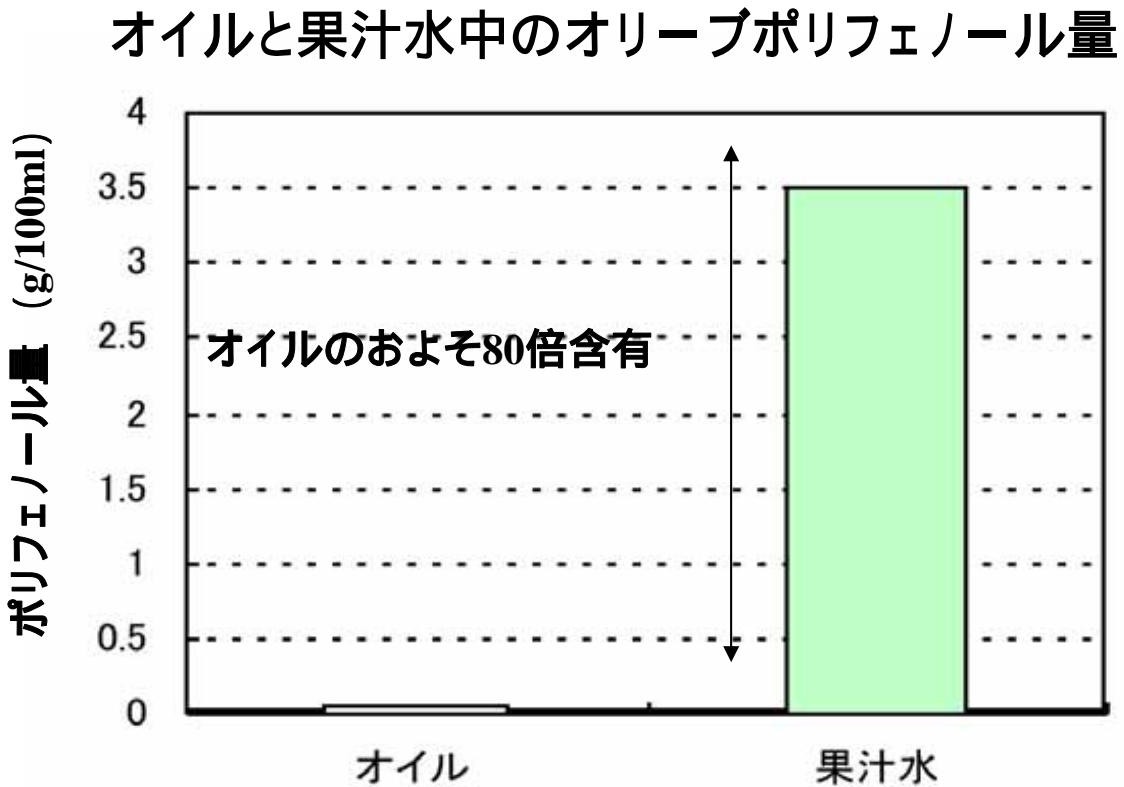
HT : ヒドロキシチロソール

小豆島のオリーブ果汁(東洋オリーブ株式会社)



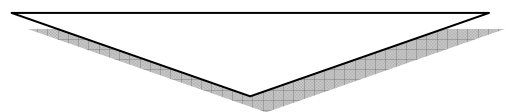
小豆島産オリーブ

- < 成分組成 >
- オイル 20%
 - 繊維質 30%
 - 果汁 50%



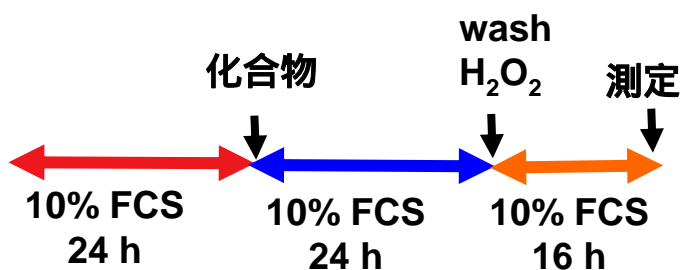
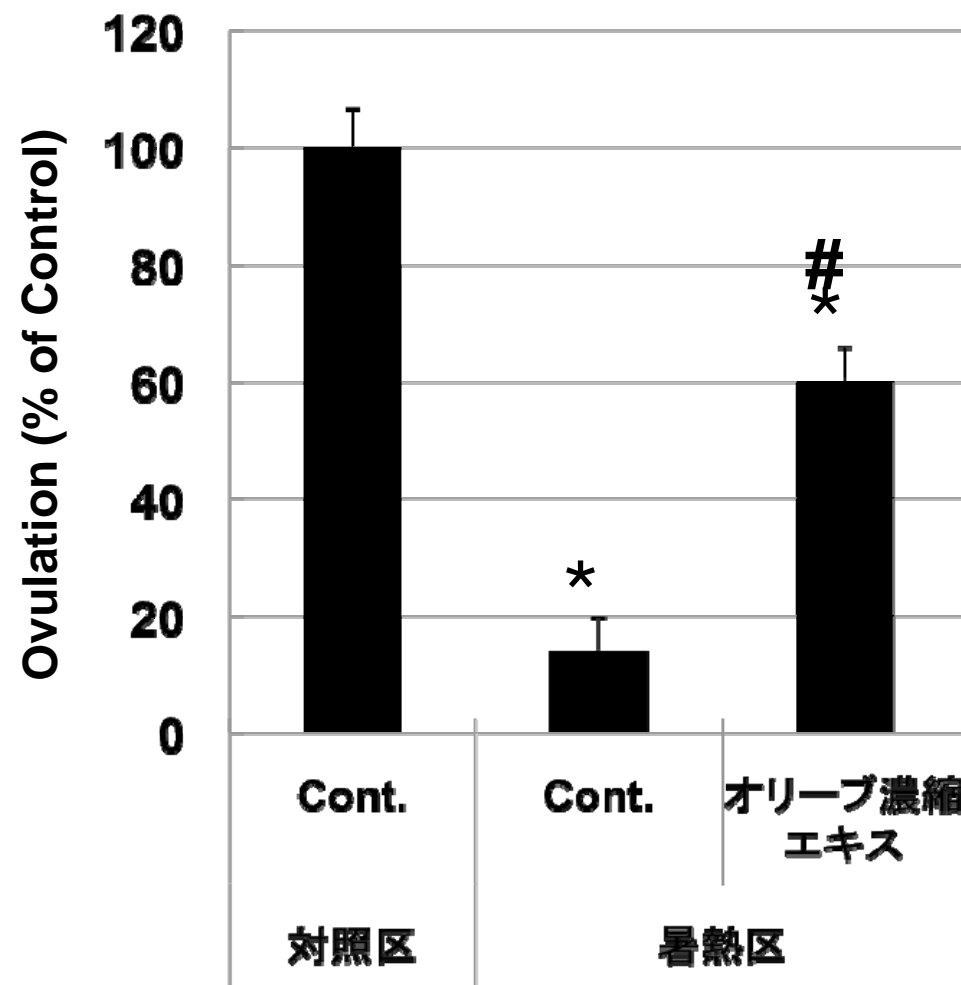
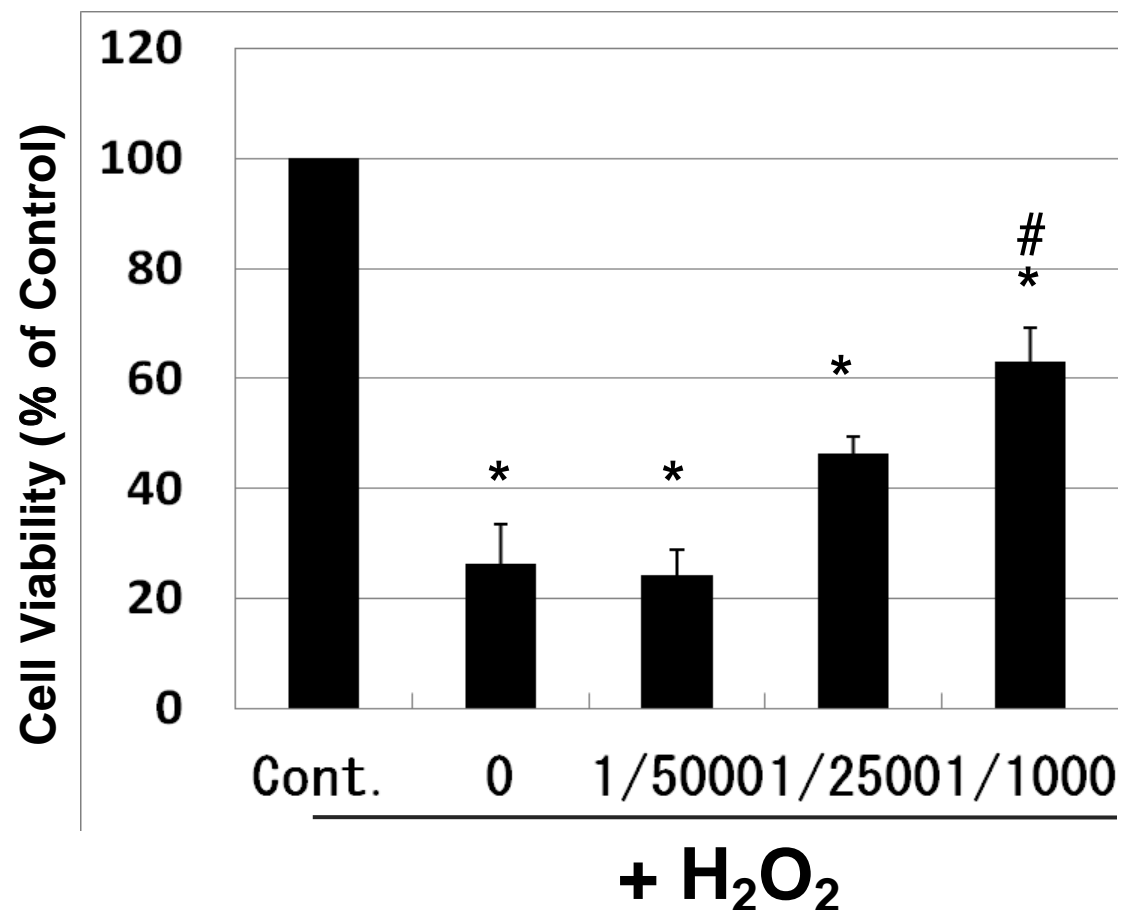
香川県産業技術センター調べ
ポリフェノールは没食子酸として計算

季節性のある素材であるため、有効活用するには保管する方法を考えなければならない



濃縮して保管する技術を確立

オリーブ果汁濃縮エキ스는酸化ストレスから 卵巣顆粒膜細胞を保護し排卵減少を改善する



暑熱ストレス

ROS ↑

Oleuropein
Hydroxytyrosol

PI3K

Akt

抗酸化酵素

(HO-1, Catalase, GPx, SOD1, SOD2)

ROS

ROS

JNK p38

Apoptosis

顆粒膜細胞

正常な排卵

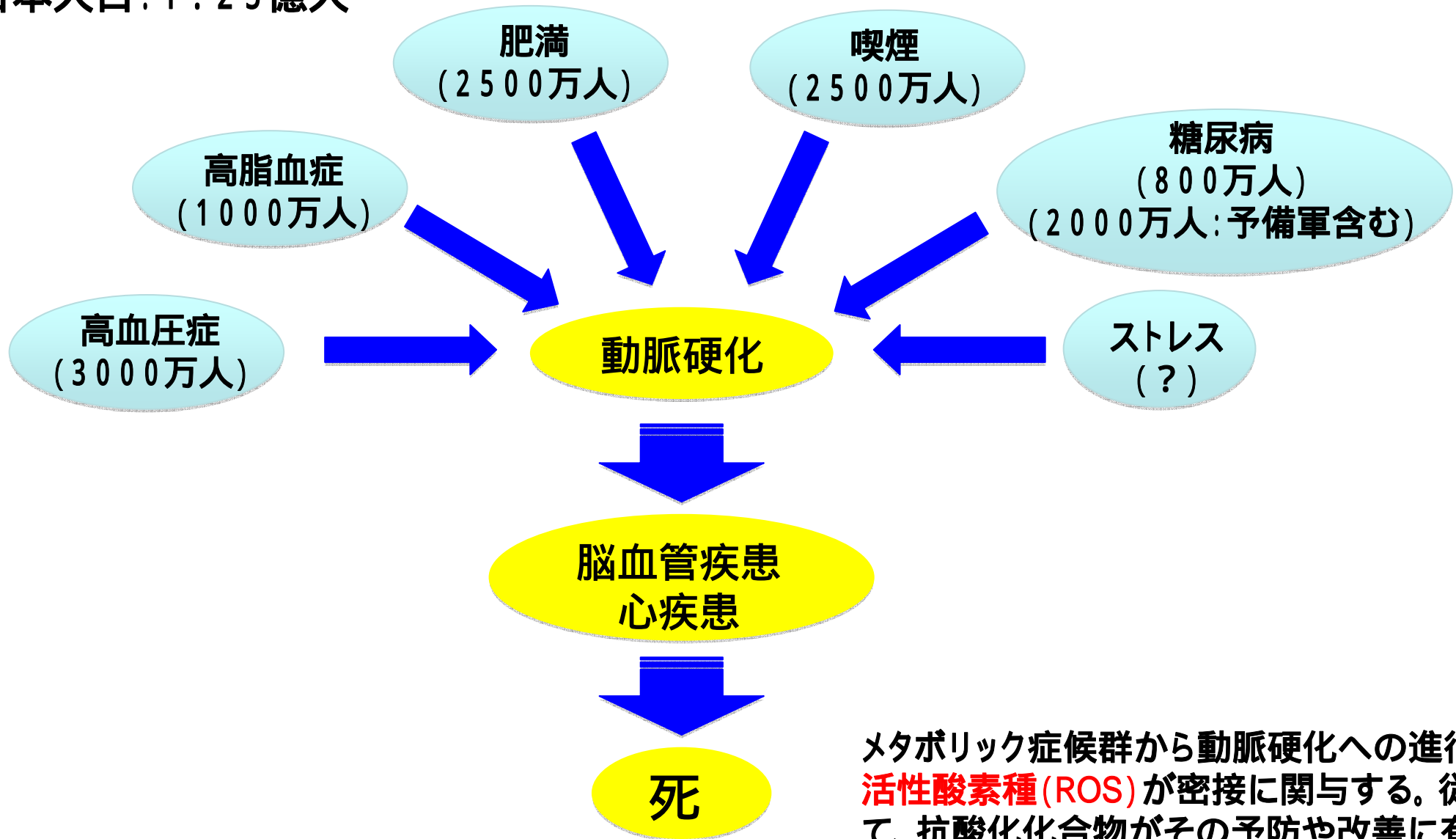
家畜の夏季不妊の改善
人の排卵障害・不妊症の改善



動脈硬化・高血圧の予防・改善

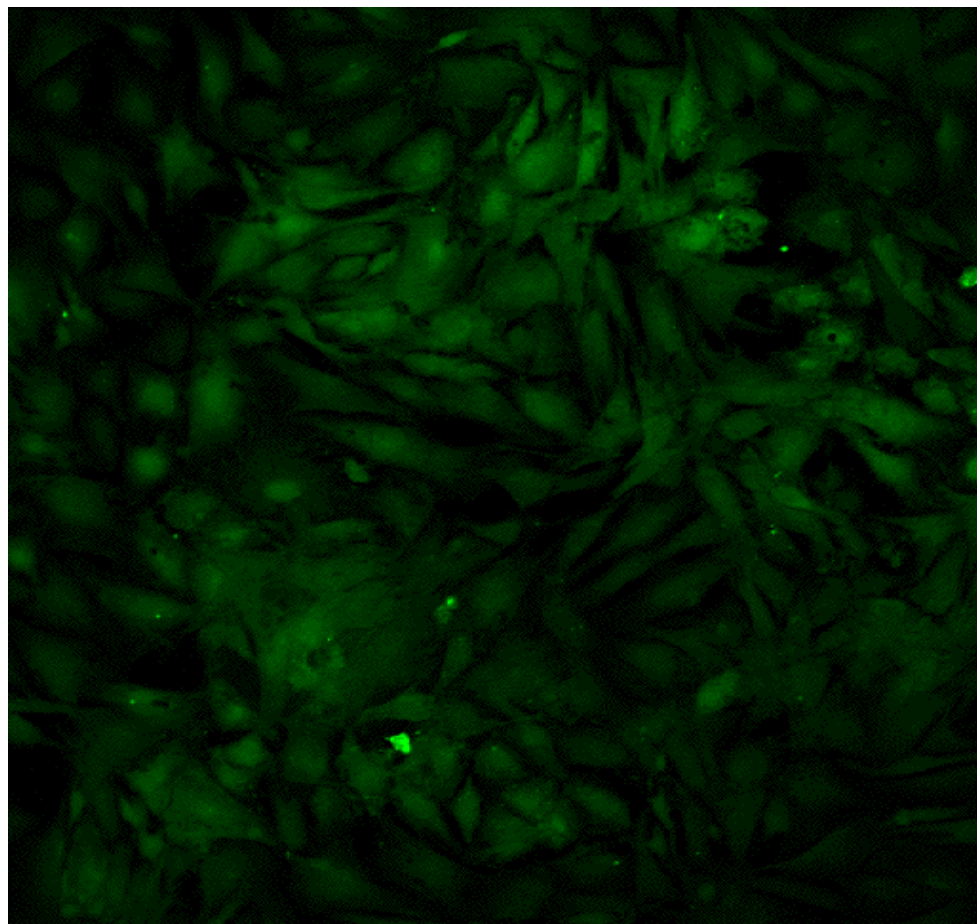
生活習慣病(メタボリック症候群)から動脈硬化へ

日本人口: 1.25億人

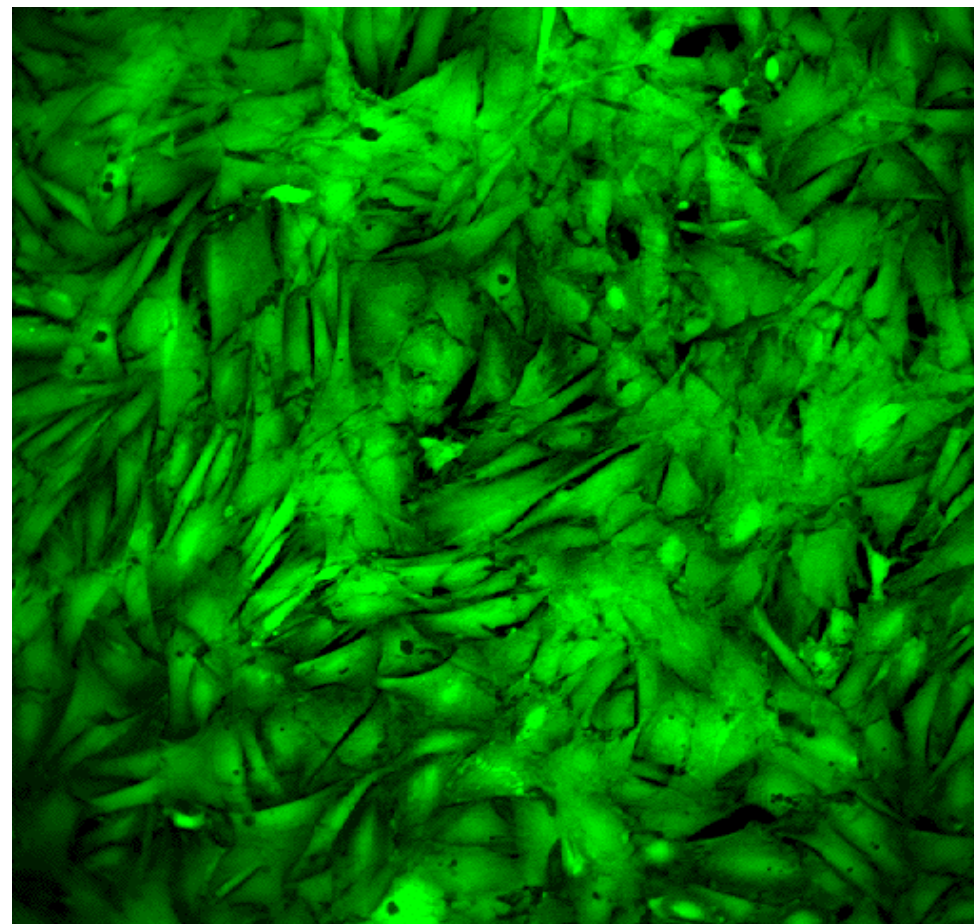


メタボリック症候群から動脈硬化への進行に**活性酸素種(ROS)**が密接に関与する。従って、抗酸化化合物がその予防や改善に有効であると考えられる。

グルコースは細胞内活性酸素を増加させる (平滑筋細胞)



5 mM

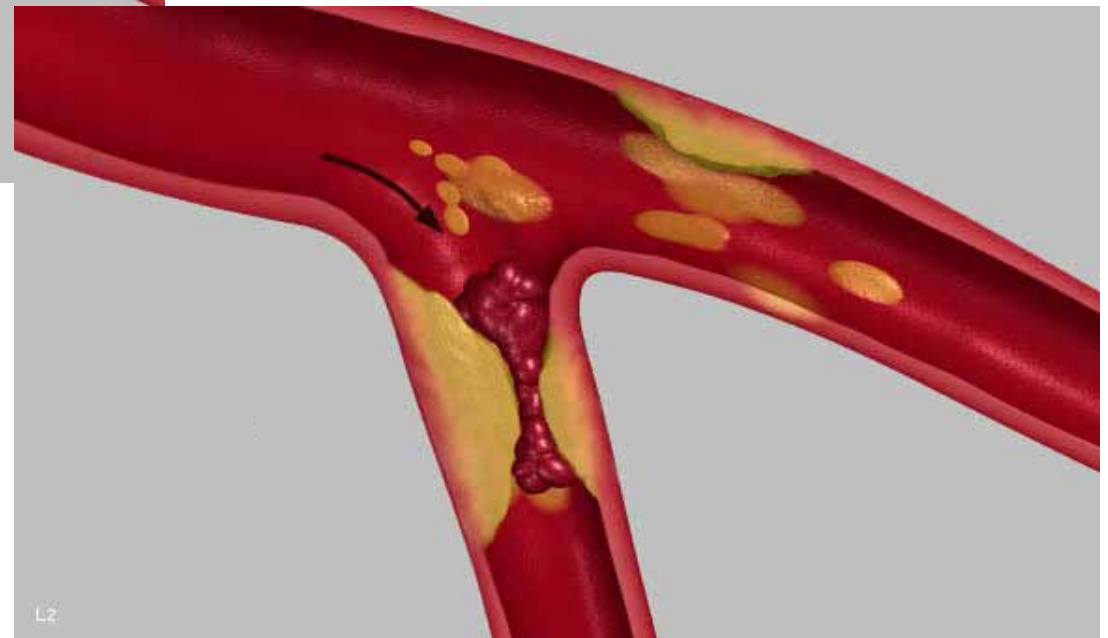
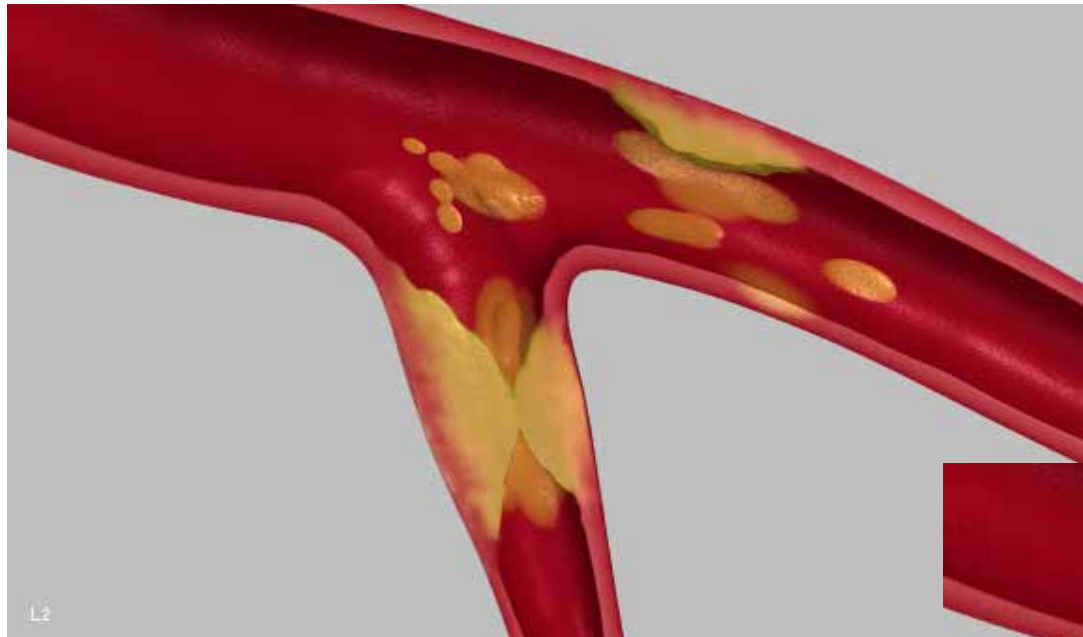


25 mM

グルコース濃度

動脈硬化

脳卒中、心筋梗塞

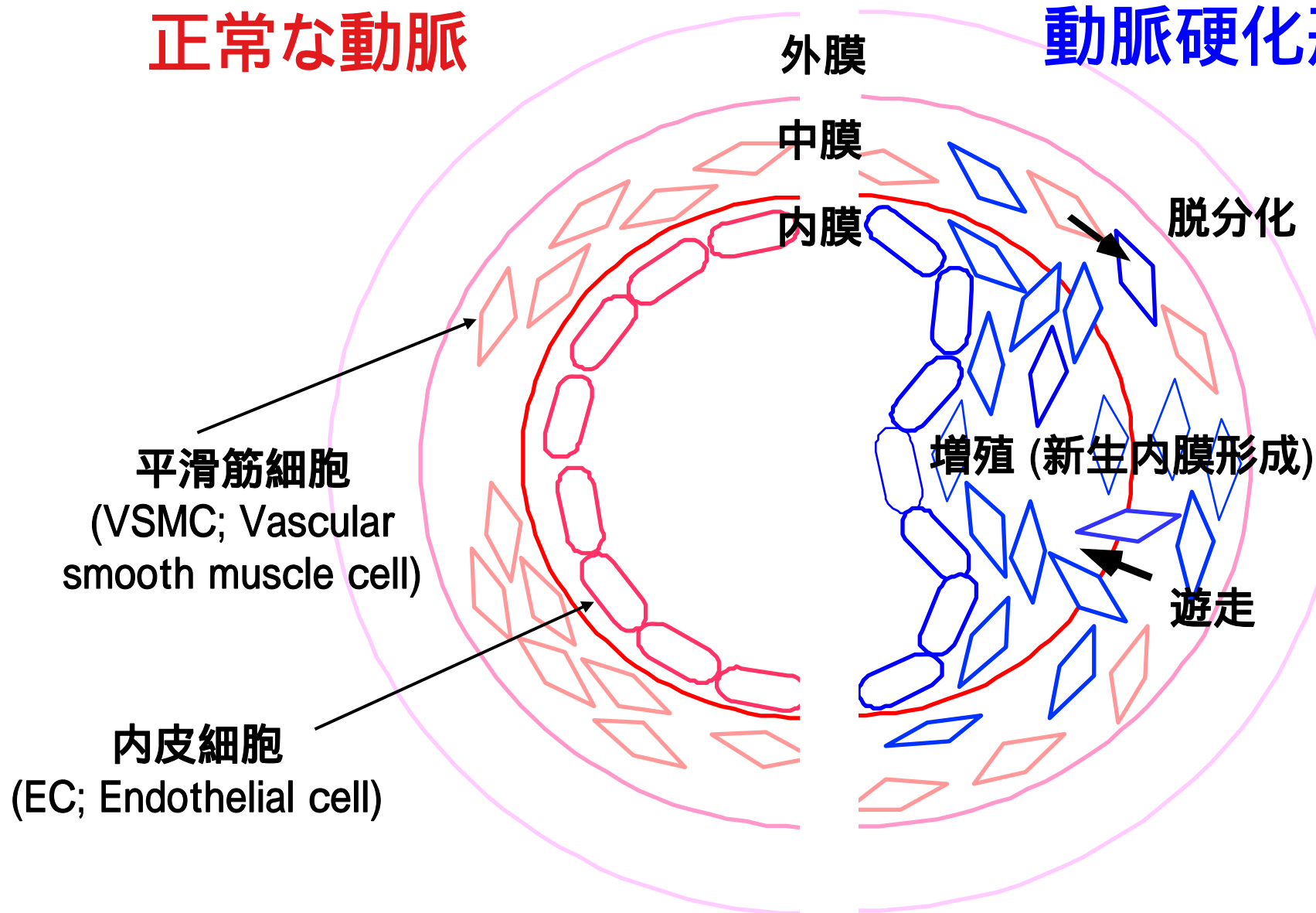


内皮細胞の傷害は平滑筋細胞の脱分化、 遊走、増殖を促す

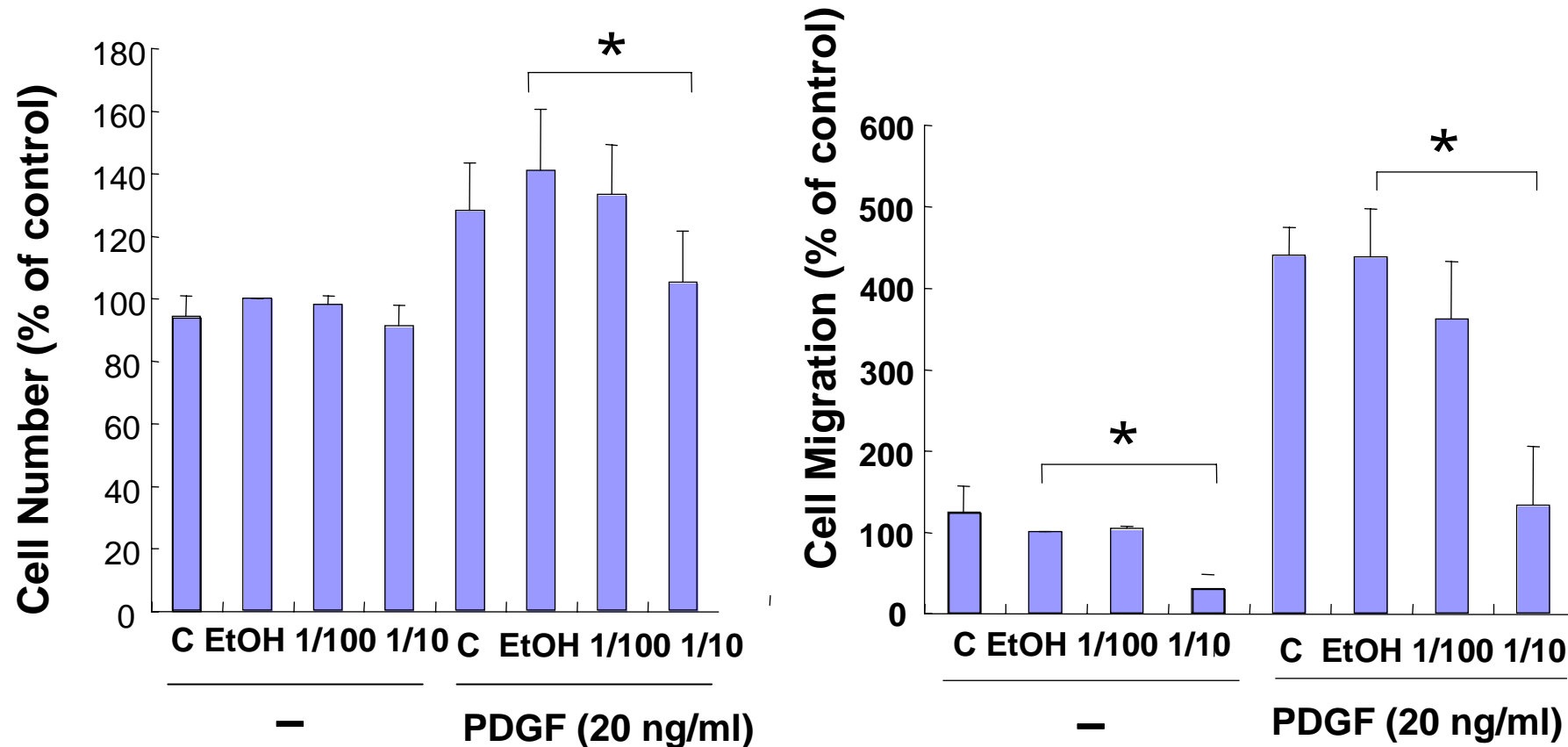


正常な動脈

動脈硬化形成段階

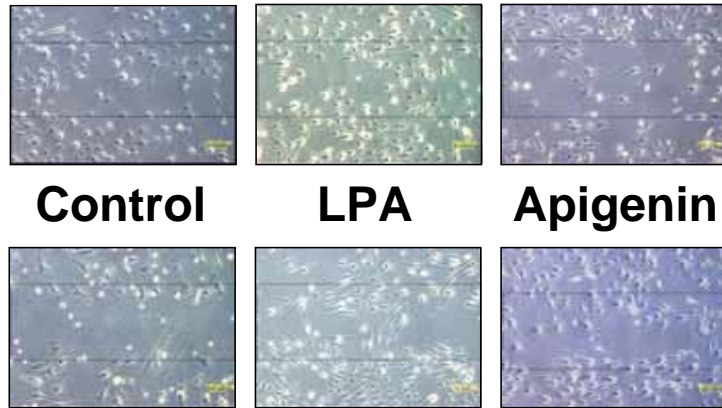


オリーブ葉抽出液は血管平滑筋細胞の増殖・遊走を抑制する

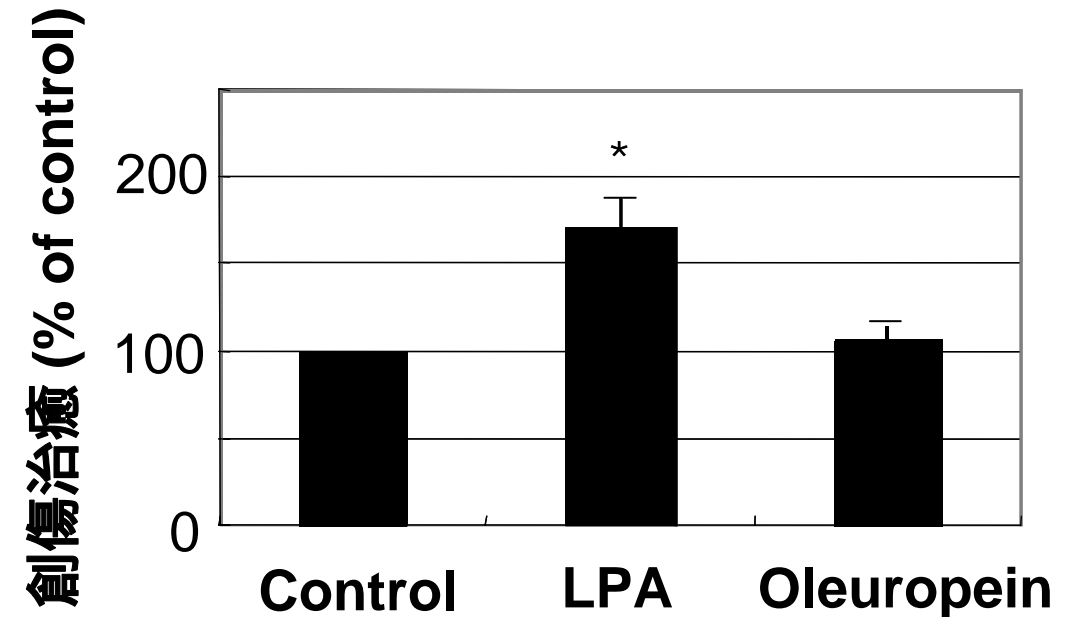
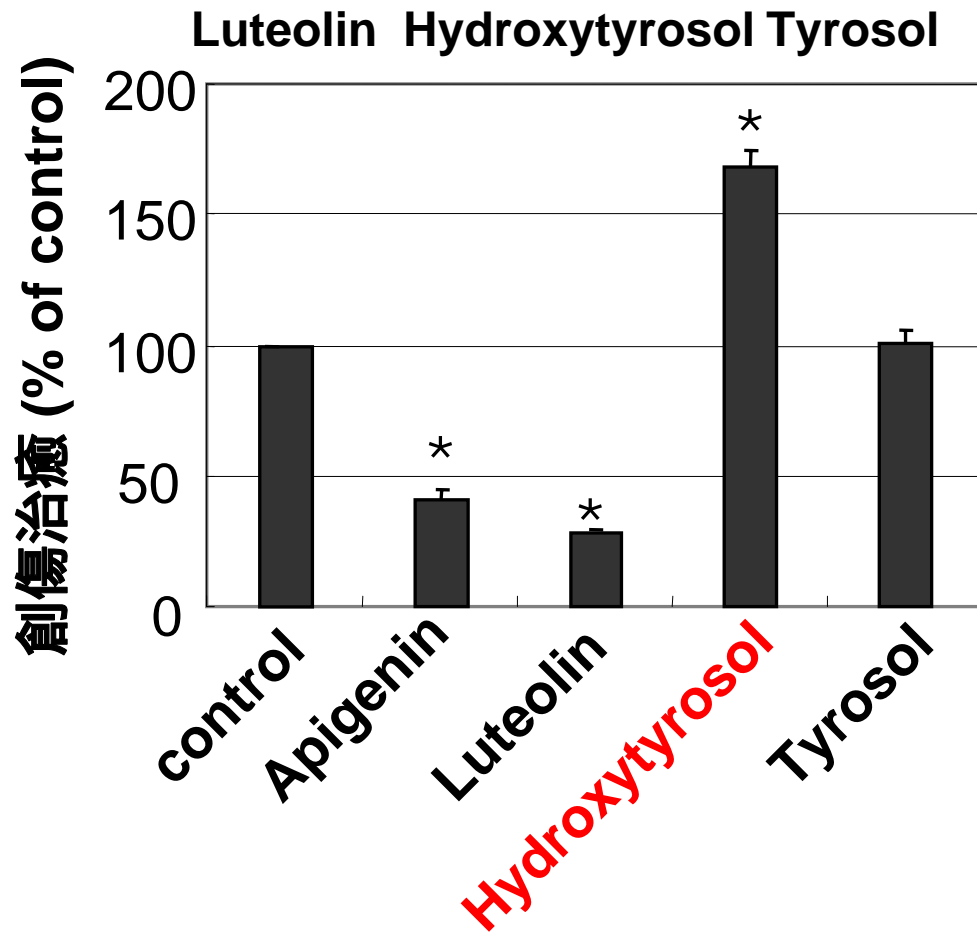


* オレウロペイン、アピゲニン、ヒドロキシチロソールが増殖・遊走抑制効果を示す。

ヒドロキシチロソールは血管内皮細胞の創傷治癒を促進するが、アピゲニンとルテオリンは逆に抑制する



Compound: 30 μ M
Stimulation time: 24 h



オレウロペインは高血圧ラットの血圧を低下させる

WKY: ウィスター京都ラット(血圧正常)

SHR: 先天性高血圧ラット

SBP: 収縮期血圧

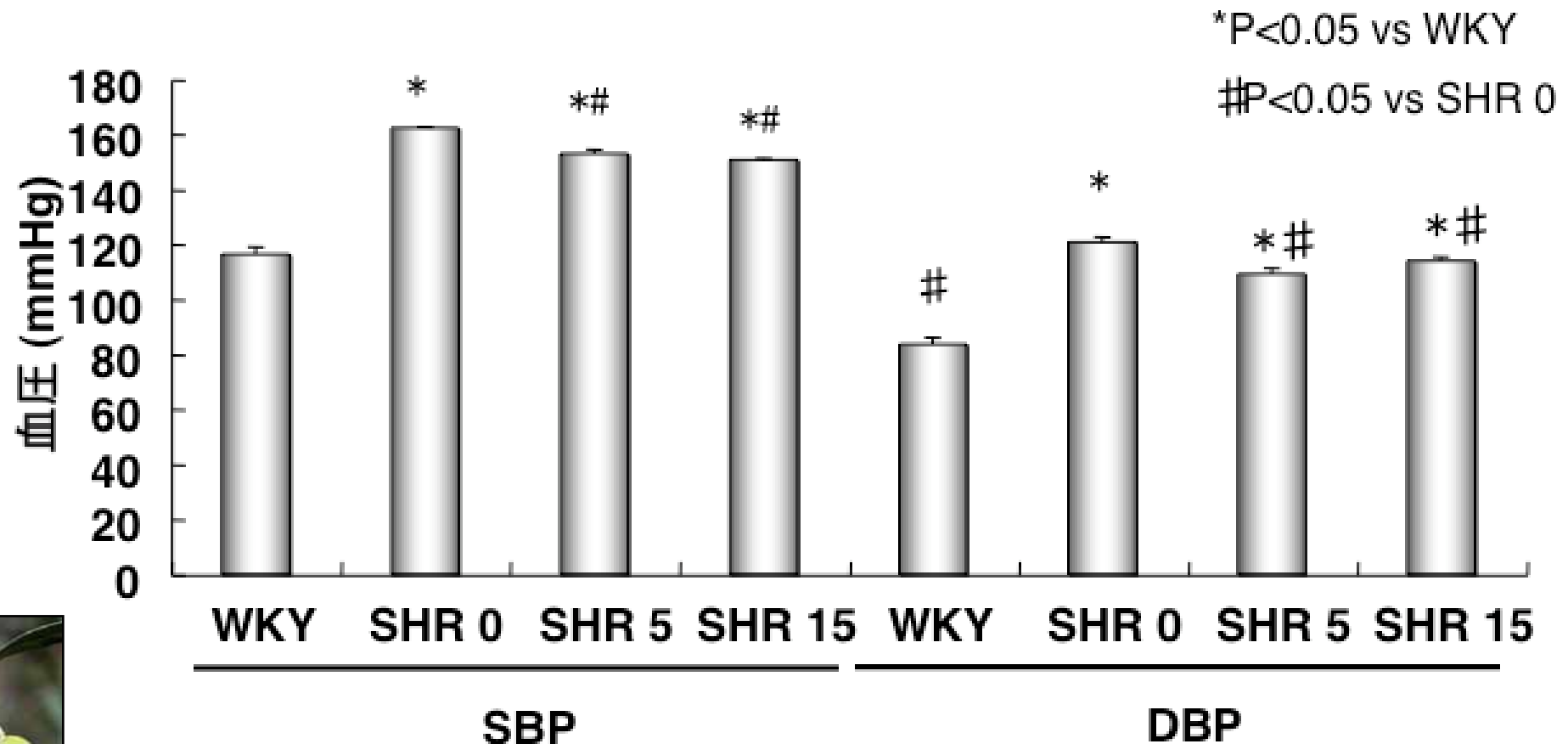
DBP: 拡張期血圧

SHR 0: 0 mg/kg/day

SHR 5: 5 mg/kg/day

SHR 15: 15 mg/kg/day

経口投与: 4週間





骨形成の促進

(桐蔭横浜大学・萩原教授との共同研究)

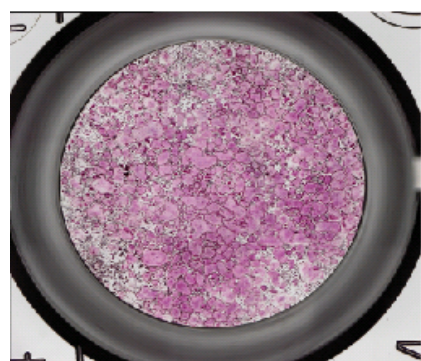
骨芽細胞と破骨細胞の 活性バランスが崩壊すると...



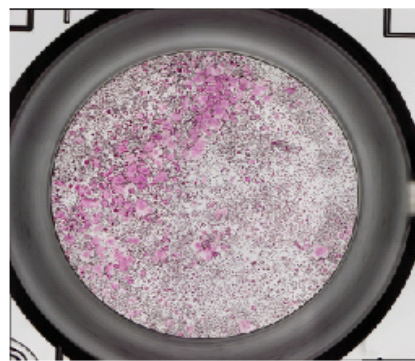
骨芽細胞	>	破骨細胞	=	大理石骨病
骨芽細胞	=	破骨細胞	=	正常
骨芽細胞	<	破骨細胞	=	骨粗鬆症

骨粗鬆症は、患者数約1,000万人
(予備軍を含めると2,000万人)

Oleuropeinは破骨細胞形成を抑制する



Vehicle



Ole 10^{-5} M



Ole 5×10^{-5} M



Ole 10^{-4} M



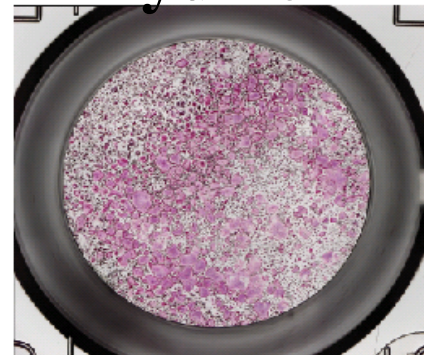
Hyd 10^{-5} M



Hyd 5×10^{-5} M



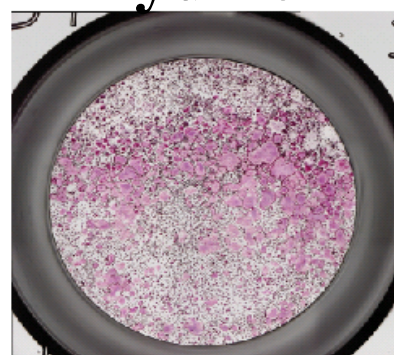
Hyd 10^{-4} M



Tyr 10^{-5} M



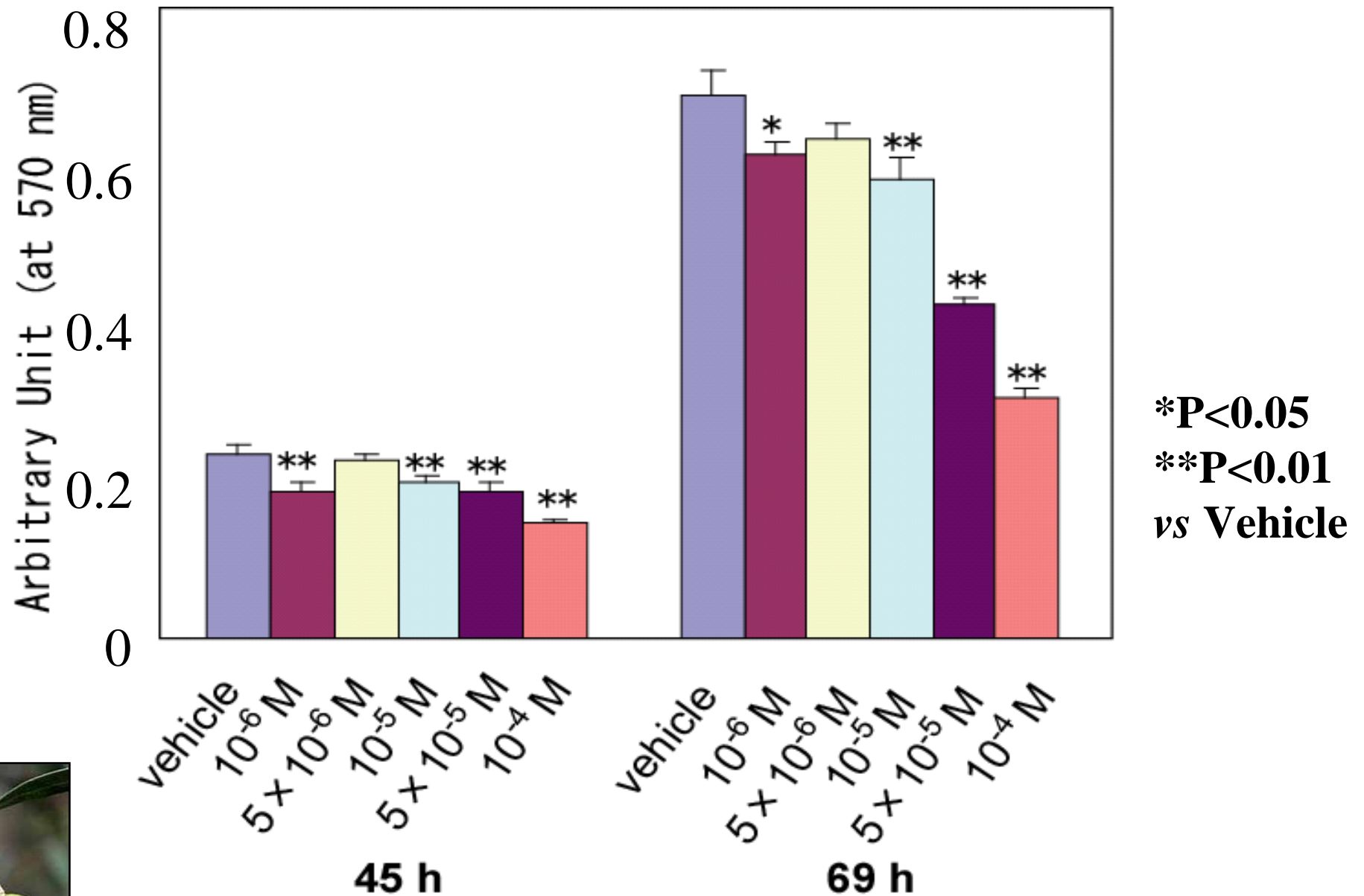
Tyr 5×10^{-5} M



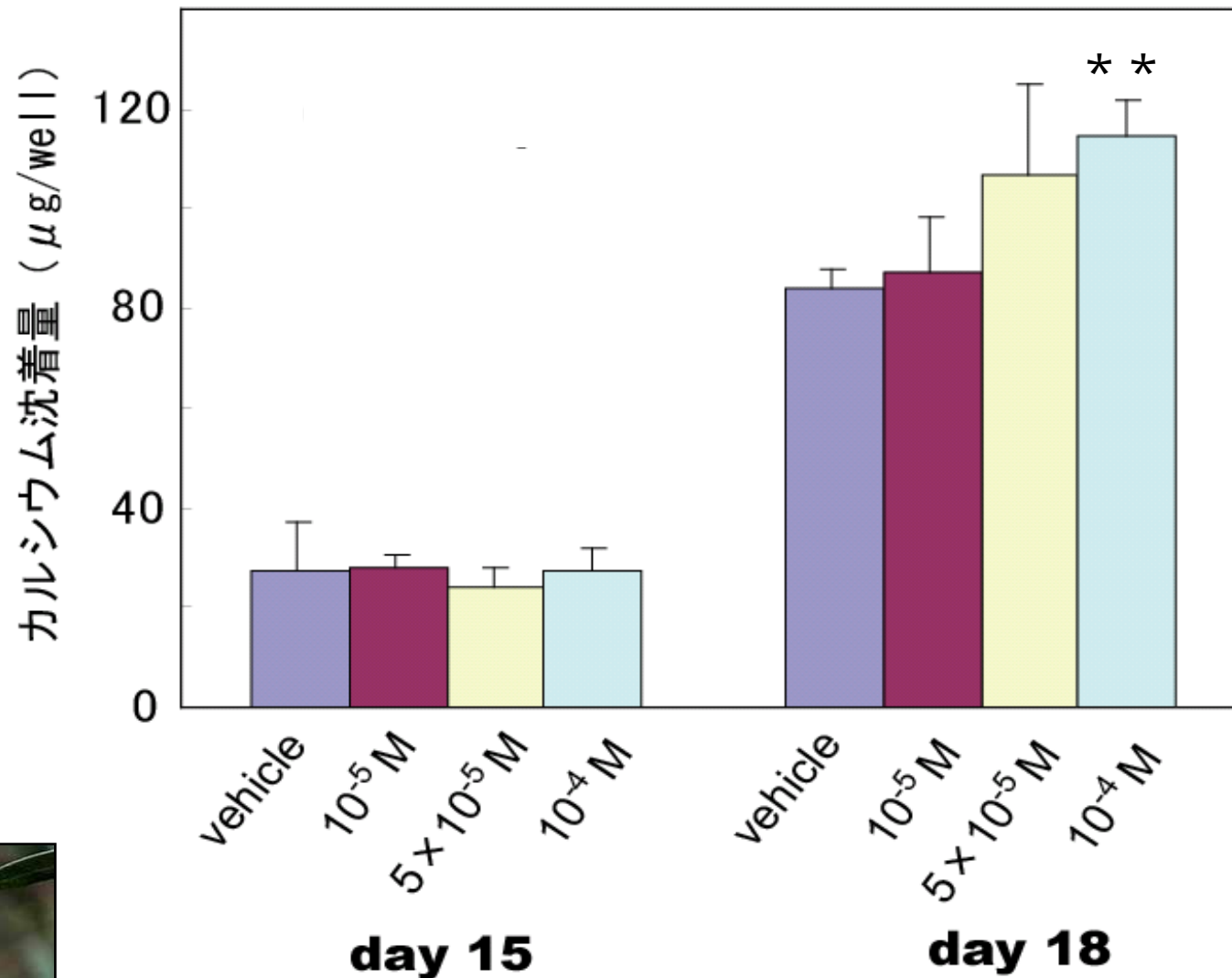
Tyr 10^{-4} M



Oleuropeinは骨芽細胞の増殖を阻害する



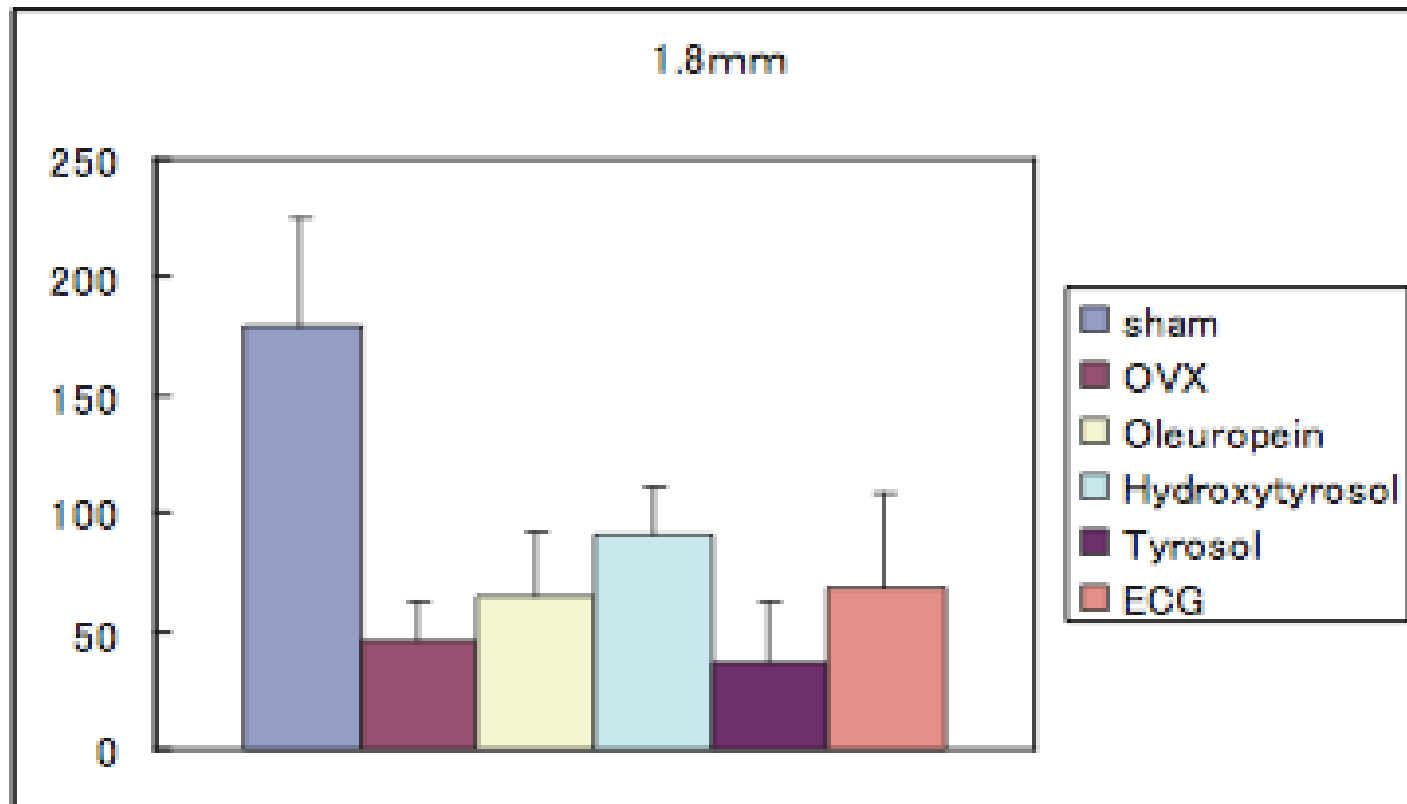
Oleuropeinは濃度依存的に石灰化を促進する



* $P < 0.05$
** $P < 0.01$
vs Vehicle



骨粗鬆症モデルマウスを用いた 各種化合物の海面骨への効果



オレウロペイン、ヒドロキシチロソール、エピカテキンガレートは
骨粗鬆の改善効果あり！！

新技術の特徴・従来技術との比較 (オリーブ葉利用の優位点)



効果が微量で強力！

1.5 mg/kg体重で暑熱ストレス依存的排卵数減少を100%改善

有効成分の含量が高い！

5 - 20% (葉乾燥重量) がオレウロペイン

葉そのものをサプリメントとして精製せずに飼料に添加可能

葉は安価！

果実と異なり未利用

(チュニジアでは枝ごと落として葉は放置し養分に)

(類似効果があるカテキン含有の緑茶葉は高価)

安全性実証！

オレウロペインはサプリメントとして市販(単に抗酸化作用を表示)

地中海沿岸地方での長年に渡るオリーブオイルの食利用

オリーブ葉の安定供給が可能！

(EX. チュニジアには7000万本のオリーブの木)

オリーブ果汁の積極的利用！

チュニジアでは絞った後は放置

環境問題(悪臭)

想定される用途と業界

- 家畜の夏季不妊の改善を目指した飼料への添加
家畜飼料会社
- ペットの健康向上を目指したエサへの添加
ペットのエサ会社
- 魚介類の飼料への添加(ハマチ養殖で効果実証)
養殖飼料会社
- 降圧作用, 動脈硬化予防、骨粗鬆症予防、性周期異常の改善などを目指した機能性食品・サプリメント
(EX. 清涼飲料水、菓子類、調味料、スイーツ)
食品会社
- 大規模供給
商社

市場

畜産飼料

飼料売り上げ: 1.3兆円

飼料量: 2400万トン

(鶏: 1040万トン、豚: 590万トン、牛: 770万トン)

家畜数: 鶏25000万羽、豚980万頭、牛440万頭

健康食品

1.02兆円(2009年)

ペットフード

2800億円(2007年)

企業への期待

- オリーブに注目を！
日本の緑茶 = 地中海沿岸諸国のオリーブ
効果は歴史が証明
- オリーブ生産国(特にチュニジア)からの積極的なオリーブ葉やオリーブオイルの輸入に期待

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：オレウロペイン、オレウロペイン誘導体又はヒドロキシチロソールを有効成分として含有する不妊治療剤
 - 出願番号：特願2008-033153
 - 出願人：筑波大学、センターオブバイオテクノロジー
 - 発明者：宮崎均、磯田博子、若林由季、Mokhtar Zarrouk
-
- 発明の名称：オレウロペイン及び/又はヒドロキシチロソールを有効成分として含有する骨形成促進剤
 - 出願番号：特願2008-075967
 - 出願人：桐蔭横浜大学、筑波大学
 - 発明者：萩原啓実、宮崎均

産学連携の経歴

- ・ 2004年－ 大学発ベンチャー・アレナビオ設立
- ・ 2007年 (株)クレハと共同研究実施
- ・ 2008年 (株)日本農産工業と共同研究実施
- ・ 2009年－ JST研究成果最適展開支援事業
「静岡発 世界を結ぶ新世代茶飲料と素材の開発」
(テアフラビン等による新規機能性の解明)
- ・ 2009年－2010年 JST地域ニーズ即応型
「オリーブ果汁濃縮エキスの機能性スクリーニングに関する研究」
- ・ 2009年 (株)アレナビオと共同研究実施
- ・ 2009年－2010年 (株)農学研センターと共同研究実施
- ・ 2009年－2010年 (株)リバーソンと共同研究実施
- ・ その他

お問い合わせ先



筑波大学・生命環境科学研究科・宮崎均

TEL 029 - 853 - 7720

FAX 029 - 853 - 7723

e-mail hitomy1@sakura.cc.tsukuba.ac.jp