

- クリプトキサンチン研究最近の進歩

矢野昌充・生駒吉識・杉浦 実

独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構

果樹研究所カンキツ研究部

424-0292 静岡県静岡市

Recent Progress in β -Cryptoxanthin Research

Masamichi YANO, Yoshinori IKOMA and Minoru SUGIURA

Department of Citrus Research, National Institute of Fruit Tree Science .
Shizuoka, Shizuoka, 424-0292, Japan

Summary

Beta-cryptoxanthin (β -cry) is a carotenoid pigment, that is especially rich in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruit, a major citrus in Japan. Recent epidemiological studies suggested that β -cry is one of the major carotenoid in human blood and that daily intake of β -cry is effective to prevent from several disease. Carotenoids are known to contribute to the body's defense against reactive oxygen species, which cause oxidative damage to biological macromolecules. Therefore, it is considered that β -cry is a beneficial substance on health promotion for Japanese because the main source of β -cry for the Japanese is Satsuma mandarin which is the most consuming fruit in Japan. The current researches concerned with β -cry, i.e., the carotenoid biosynthesis in the citrus fruit, the epidemiological evidences of risk reducing effect for cancer and other diseases, and investigations corresponding to disease prevention using animal experiments were reviewed. The possibilities for breeding of β -cry enriched citrus cultivars and industrial preparation of β -cry from citrus are also discussed.

Key words: antioxidant micronutrients, β -cryptoxanthin, biosynthesis, cancer, carotenoids, diabetes, health promotion, osteoporosis, Satsuma mandarin

1. はじめに

カロテノイドはプロビタミンA活性, 抗酸化作用, 発がん抑制作用, 免疫賦活作用など各種の生理機能を有する (Faure et al., 1999; Chew and Park, 2004). β -クリプトキサンチン (β -cry) は β -カロテン, α -カロテン, リコペン, ゼアキサンチン, ルテインとともにヒト血液中に存在する6種類の主要カロテノイドのひとつで, ヒトの健康増進に貢献している成分と考えられるが, 生理機能研究については β -カロテン, リコペンなどに

比較し著しく遅れている. ウンシュウミカンには β -cry が高濃度で含まれるが, 我が国のように日常的に食す習慣がない諸外国では, 血液中や母乳中の β -cry 濃度が低く (Michaud et al., 1998; Sugiura et al., 2002a; Canfield et al., 2003), 他のカロテノイドほど重要視されなかったと推察される.

我が国ではウンシュウミカンが最も消費量の多い果実であり, β -cry 摂取量・血中濃度の高い人が諸外国とは比較にならないほど多い. したがって, β -cry が人の健

康に対して及ぼす影響も著しいと考えられる。このような観点から、近年我が国では β -cry を対象とするプロジェクト研究が積極的に推進され、 β -cry の生理機能研究は急速な進展を遂げている（果樹研究所, 2003; Yano, 2004）。また、諸外国でも高度化、大規模化した疫学研究手法によって β -cry の生理機能が明らかとなり、その重要性が注目を集め始めている。

本稿では世界に先駆けて活発化した β -cry の生理機能研究、カンキツにおける蓄積メカニズム及び産業での利用、加えて諸外国の疫学研究で明らかにされている疾病罹病リスク低減作用などを中心に最近の進歩を概説する。 β -cry に富むウンシュウミカンがかつて我が国の重要な果実であった（Kitagawa and Kawada, 1986）にもかかわらず、最近では生産・消費ともに減少し最盛期の3分の1程度にまで落ち込んでいる。急速に解明が進む β -cry の優れた生理機能を考え併せたとき、この特性を国民の健康増進、果樹産業振興の両面に役立てなければ大きな損失であろう。本稿が果樹産業の振興に関する研究の一助となることを期待したい。

2. β -cry 供給源としてのカンキツの重要性

米国食品を対象とした分析結果に基づいて構築されたカロテノイドデータベース（USDA-NCC Carotenoid Database, Holden et al., 1999）によれば、 β -cry の供給源は、赤ピーマン以外はほとんどが果実である。その果実もタンジェリン、パパイア、カキ、ピワなどのわずかな種類に限られる。もちろん、米国食品で示された含量値は我が国の食品にも準用できるが、品種・栽培方法・気候条件の違いによる含量の変動が予想されるため、我が国での β -cry 供給源の実態を知るには、国内消費の食品について独自の調査が必要である。我が国にはカロテノイド含量を体系的に調査した報告がないので、果樹研究所カンキツ研究部では国内で入手した果実・果実加工品を対象に10種類のカロテノイド含量について調査した（Yano et al., 2004）。

調査した90品目のうち、 β -cry 含量1.0mg / 100 g 生重を上まわった食品は、ウンシュウミカンなどマンダリン系のカンキツとその加工品、パパイア、カキ、ピワの計20品目で、最も高含量はサンライズ種パパイアの3.182mg / 100 g 生重、ついで8月収穫のハウス栽培ウンシュウミカン2.986mg / 100 g 生重であった。20品目中16品目はカンキツ類であった点が注目される。カンキツ類ではウンシュウミカン類が主であったが、不知火、はるみなど近年、生産・消費の高まりを見せている品種でも1.0mg / 100 g 生重を上まわる高含有であった。

USDA-NCC Carotenoid Database では、タンジェリン（マンダリン）類の含量を0.485 mg / 100 g 生重としているが、我が国ではこれをはるかに上まわる品目が多かった。1.0mg / 100 g 生重には及ばないまでも、清見、ポンカン、イヨカンなど多くの品種が > 0.1mg / 100 g 生重であった。これらの結果は我が国では β -cry の供給源が世界に例がないほど豊富であることを示している。

カンキツ以外ではカキ、ピワに多く含まれる。これらも β -cry の貴重な供給源である。両果実とも0.1mg / 100 g 生重から1.0mg / 100 g 生重を上まわる品種まで存在し品種間差が大きい。その他ではパパイアが高含有であるが、我が国では消費量が極めて少ないことから重視すべき果実とは言い難い。しかし、熱帯地方など生産・消費の多い地域では重要な供給源（Rodriguez-Amaya, 1999）となり得る。

我が国ではウンシュウミカンを育種親とした新品種が次々に発表され普及が進んでいる。これらの品種における β -cry 含量はウンシュウミカンの1.0 ~ 1.5mg / 100 g 生重に比べ低含量な品種から高含量な品種と様々である。従来、ウンシュウミカン出荷期が終わる3月以降は β -cry 含量の低いアマナツ、イヨカン、ハッサクがカンキツ消費の中心であった。しかし最近ではこれらに代わって清見、不知火、はるみなどが消費の主役になりつつあり、これらの品種はいずれも β -cry に富む。これまで中晩柑に β -cry を供給できるカンキツは少なかったが、今後新たな普及が見込まれる含有品種により供給拡大が可能となる。中晩柑の出荷終了後の6 ~ 9月は国産カンキツの端境期にあたる。この時期に出回る輸入カンキツであるグレープフルーツにはまったく、パレンシアオレンジにはごくわずかにしか β -cry は含まれず供給源としては期待できない。この端境期に販売されるハウスミカンは生産・消費量ともに少ないもののウンシュウミカンの2 ~ 3倍量の β -cry を含んでいることから、国内産果実で通年的に β -cry を供給することが可能となった。

世界的にみても β -cry の供給源の多くは果実（Trichopoulou et al., 2003）、とりわけカンキツ類（Heinonen et al., 1989; O'Neill et al., 2001）で、全供給量に占めるカンキツの割合はスペインの調査で約68%（Galicia-Closas et al., 2004）、米国で約87%（Chug-Ahuja et al., 1993）と算出されている。一方摂取量は、一人一日あたり平均約0.03 ~ 0.3mg とされている（Chug-Ahuja et al., 1993; Wahlqvist et al., 1994; Pelz et al., 1998; Schuurman et al., 2002; Tangney et al., 2004）。我が国での算出例はないが、ウンシュウミカンを中心に高含有カンキツが多い（Yano et al., 2004）上に、ウンシュウミカンの摂取量も

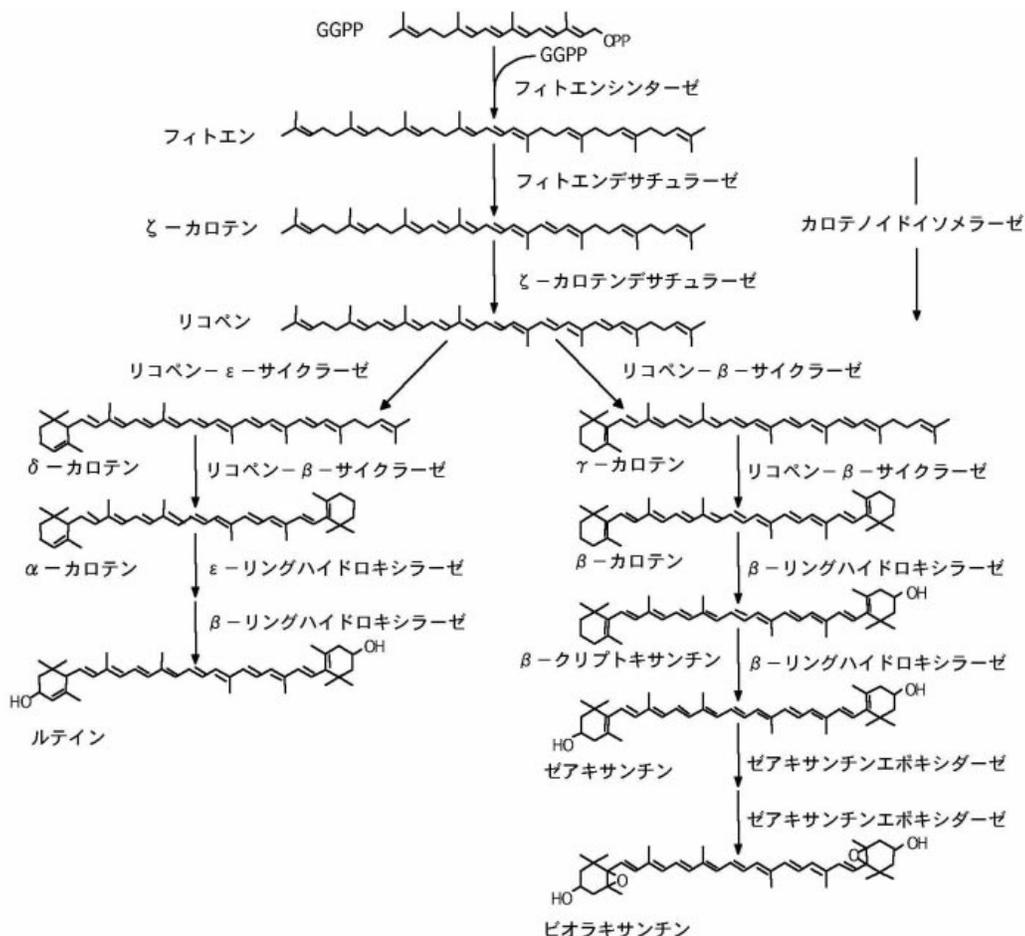
多く、血液中濃度の高さ(Sugiura et al., 2002a; 2004b)、母乳中濃度の高さ (Canfield et al., 2003) から、諸外国の平均値を大きく上回っている人が多いと推測される。

3. カンキツにおける -cry 生合成調節機構

3.1. カロテノイド生合成経路

植物体内では、-cry 等のカロテノイドは、第1図のように生合成される (Cunningham and Gantt, 1998; Ronen et al., 1999; Isaacson et al., 2002; Park et al., 2002)。第1段階では、2分子のゲラニルゲラニルピロリン酸がフィトエンシンターゼにより縮合し、フィトエンが生成される。さらにフィトエンデサチュラーゼ及び - カロテンデサチュラーゼにより4個の二重結合がフィトエンに導入され、リコペンが生成される。リコペンの生成には、システトランス体に変換する機能を有するカロテノイドイソメラーゼも関与する (Isaacson et al., 2002; Park et al., 2002)。リコペンまでは、直鎖状の構造を有するカロテノイドが生合成されるが、リコペン以降は、リコペン -

- サイクラゼ及びリコペン - - サイクラゼにより直鎖の末端が環化されたカロテノイドが生成される。すなわち、直鎖の片方の末端がリコペン - - サイクラゼにより環化されると、もう一方の末端はリコペン - - サイクラゼにより環化されるため、環と環を有する - カロテンが生成される。これに対して、直鎖の片方の末端がリコペン - - サイクラゼにより環化されると、もう一方の末端もリコペン - - サイクラゼで環化されるため、両端に環を有する - カロテンが生成される。このように、リコペン以降のカロテノイド生合成系は、環と環を有するカロテノイド(ここでは、- カロテノイドと称する)を生合成する経路と、環を2個有するカロテノイド(、- カロテノイドと称する)を生合成する経路に分岐する。分岐後、水酸化酵素やエポキシ化酵素により水酸基やエポキシ基が導入され、、- カロテノイド系列ではルテイン、、- カロテノイド系列では -cry、ゼアキサンチン、ピオラキサンチン等が生合成される。



第1図

3.2. カロテノイド生合成経路の転換による生合成調節機構

カンキツ果皮において、リコペン - サイクラゼ及びリコペン - サイクラゼの遺伝子発現を解析した結果、緑色の段階では、リコペン - サイクラゼ遺伝子の発現が高く、 β -カロテノイドの生合成が活性化されていることが示された (Ikoma et al., 2001; Kato et al., 2004). 一方、着色が始まると、リコペン - サイクラゼ遺伝子の発現が低くなるのに対して、リコペン - サイクラゼ遺伝子の発現が高くなり、もう一方の経路である β -カロテノイドの生合成が活性化することが示された (Kato et al., 2004). この結果は、カロテノイド生合成経路が着色に伴って、 β -カロテノイド生合成から、 β -カロテノイド生合成の方向に転換することを示唆している (カロテノイド生合成経路の転換). 一方、カンキツの果肉部では、果皮が緑色の段階 (8月) でも、 β -カロテノイドが主なカロテノイドとなっていること、さらにリコペン - サイクラゼ遺伝子の発現も観察されなかったことから、既にこの時点で、 β -カロテノイドの生合成経路が活性化されており、カロテノイド生合成経路の転換は、果皮より早い段階 (少なくとも8月以前) で起こると推定された (Kato et al., 2004). カロテノイド生合成経路の転換という生理現象が果肉で果皮より早い段階で起こることは、カンキツで古くから観察されてきた果肉先熟という現象の一側面であると考えられる. 以上のような生合成経路の転換現象は、カロテノイド生合成を β -cry 生成の方向に転換させるのに重要な生合成調節機構であると考えられる.

3.3. 遺伝子発現の一斉上昇による生合成調節機構

カンキツの果皮や果肉では、カロテノイド生合成経路の転換の後に、急激に β -カロテノイドの集積が認められるようになる (Ikoma et al., 2001; Kato et al., 2004). この時点の遺伝子発現を解析すると、生合成経路の転換に関連するリコペン - サイクラゼのほかに、それよりも上流に位置する酵素 (フィトエンシターゼ, フィトエンデサチラーゼ, β -カロテンドサチラーゼ) やそれより下流に位置する酵素 (β -リングヒドロキシラーゼ, ゼアキサンチンエポキシダーゼ) の遺伝子群の発現が、全て一斉に高くなる現象が観察された (Kato et al., 2004). このような遺伝子発現の一斉上昇は、この時期に、 β -カロテノイドが急増するという、カロテノイド生合成の量的変化に直接的に関与する重要な生合成調節機構であると考えられる.

3.4. β -cry の特異的集積のための生合成調節機構

上記のような生合成経路の転換や遺伝子発現の一斉上昇という調節機構は、着色期の急激な β -カロテノイドの集積については説明できるが、ウンシュウミカン果肉で見られるような β -cry が特異的に集積する現象については説明できない. β -cry が特異的に集積する機構には、 β -cry を生成するキー酵素の β -リングヒドロキシラーゼが関連していると考えられる. β -リングヒドロキシラーゼは、 β -カロテンを基質とし、 β -カロテンの片方の環に水酸基を1個付加して、 β -cry を生成する反応 (第1段階目の反応) だけでなく、生成された β -cry を基質とし、もう一方の環に2個目の水酸基を付加して、ゼアキサンチンを生成する反応 (第2段階目の反応) も進める. 実際に、試験管内や大腸菌内で β -カロテンを基質にして、 β -リングヒドロキシラーゼを作用させると、当該酵素反応の最終産物であるゼアキサンチンが主な産物として集積し、当該酵素反応の中間産物である β -cry の集積は少ない (Hundle et al., 1993; Sun et al., 1996; Bouvier et al., 1998). 一方、大腸菌内で同様の実験を行った場合に、中間産物である β -cry が最終産物のゼアキサンチンよりも多量に集積する場合があることも報告されており、その原因については、 β -リングヒドロキシラーゼの第1段階目の反応 (β -カロテンから β -cry を生成) の効率が、第2段階目の反応 (β -cry からゼアキサンチンを生成) 効率よりも高いため、 β -cry の集積が多くなったと考察されている (Sun et al., 1996). このような β -リングヒドロキシラーゼの反応効率の差から、Katoら (2004) は、 β -カロテンが過剰な場合や、 β -カロテンに対して β -リングヒドロキシラーゼが過少な場合には、 β -カロテンを継続的に基質として利用できるため、反応効率の高い第1段階目の反応が優先的に進行し、 β -cry が集積すると推察している.

カンキツでは、 β -cry を急速に集積するウンシュウミカン果肉と、ピオラキサンチンを急速に集積するバレンシアオレンジ果肉を用いて、カロテノイド生合成系の遺伝子発現の品種間差が解析され、その結果から、果肉の β -カロテンや β -リングヒドロキシラーゼの生成量が推定されている (Kato et al., 2004). この報告において、ウンシュウミカン果肉では、バレンシアオレンジ果肉に比べて、 β -カロテンを生合成する遺伝子群の発現が高くなること、逆に、 β -リングヒドロキシラーゼ遺伝子の発現が低くなることが明確に示された. すなわち、ウンシュウミカンではバレンシアオレンジに比べて、 β -カロテンの生成が多く、 β -リングヒドロキシラーゼの発現が低い条件下となることを示唆した. このよ

うな条件下になると、前述のとおり、 β -カロテンを継続的に基質として利用できるため、反応効率の高い第1段階目の反応が優先的に進行し、 β -cryが集積したと考察されている (Kato et al., 2004)。一方、バレンシアオレンジでは、 β -カロテンの生成に関わる遺伝子群の発現が低かったこと、 β -リングヒドロキシラーゼ遺伝子の発現が高かったことから、ウンシュウミカンよりも β -カロテンの生成が少なく、 β -リングヒドロキシラーゼの発現が高い条件下となることが示唆された (Kato et al., 2004)。このような条件下では、基質となる β -カロテンは消耗しやすくなるため、反応効率は低いが β -cryを基質として利用する第2段階目の反応が優先されるようになり、ゼアキサンチンが集積したと考察されている (Kato et al., 2004)。さらに、オレンジでは、ゼアキサンチンエポキシダーゼ遺伝子の発現も高かったことから、生成されたゼアキサンチンは、ピオラキサンチンに代謝されたと考察されている (Kato et al., 2004)。このように、 β -cryが特異的に集積するのに重要な調節機構として、基質となる β -カロテンの生合成遺伝子群と β -リングヒドロキシラーゼ遺伝子の間の発現バランスが関与していると考えられる。

3. 5. β -cryの高含有化

以上のように、カンキツでは、 β -カロテノイド生成への生合成経路の転換と、 β -カロテノイド生成に関連する遺伝子発現の一斉上昇により、着色期における β -カロテノイドの劇的な集積が起こると考えられた。さらに、遺伝子発現の一斉上昇の際に、 β -カロテンを生成する遺伝子群の発現が高く、 β -リングヒドロキシラーゼ遺伝子の発現が低いウンシュウミカンのような遺伝子発現バランスとなれば、 β -cryが集積すると考えられた。このような生合成調節機構から見ると、 β -cryを高含有化するためには、 β -カロテンを生成する遺伝子群の発現を高めることが重要となる。

ウンシュウミカンのカロテノイドを経時的に分析すると、成熟の後期では、カロテノイド生合成経路の上流に位置するフィトエンが多量に集積し、 β -カロテンまで生合成が進行しにくくなることが示された (Kato et al., 2004)。このようなフィトエンの集積は、成熟後期でもフィトエンシターゼ遺伝子の発現が高く維持されていたにも関わらず、その代謝を進めるフィトエンデサチウラーゼおよび β -カロテンデサチウラーゼ遺伝子の発現が低下することに起因する (Kato et al., 2004)。ウンシュウミカンは現状でもトップクラスの β -cry高含有カンキツであるが、一層の高含有化のためには、成熟後期でもフィトエンデサチウラーゼおよび β -カロテンデサチウ

ラーゼの遺伝子発現を高く維持し、 β -カロテンへの生合成を進めることが重要と考えられる。これを実現するための手段として、成熟後期でもフィトエンデサチウラーゼおよび β -カロテンデサチウラーゼの遺伝子発現が低下しないカンキツ系統を探索し、当該系統をウンシュウミカンと交配するなどが考えられる。

4. 疫学研究における血液中 β -cry濃度測定的重要性

4. 1. 栄養疫学研究におけるバイオマーカーの有用性

果実や野菜を対象とした生理機能に関するヒトレベルでの研究 (疫学研究) は、欧米を中心として多くの研究報告がある。これらの疫学研究では果実と野菜をひとくくりにした聞き取り調査が多く、個別に調査した報告は少ない。生活習慣病に関する栄養疫学研究では、平均的な食品摂取量を長期間個人レベルで調査し、摂取量と疾病リスクとの関連を明らかにすることが目的の中心となる。そのためには簡便に被験者の食行動を調査する必要がある。これまで研究者により様々な食品摂取頻度調査法が考案され、疫学研究で幅広く用いられている。食品摂取頻度調査は数十から百数十ほどの質問からなる調査票を用いて食品の習慣的な摂取頻度を質問し、その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を把握できるという利点がある。反面、被験者の過去の記憶に頼るという問題点や、百数十という質問数に被験者が負担を感じる場合もあり、調査する対象集団によって精度が異なる。

食品摂取頻度調査等の食行動調査から、食品群や栄養素の摂取量を算出する調査方法に対し、血液や爪・尿などの生体試料中に存在する食品由来成分を測定する方法がある。測定値は食品の摂取量を推定するバイオマーカーとなり、食品摂取頻度を過去の記憶に依存する必要がなくなり、より詳細且つ正確な情報源となる。特定の食品の摂取量を推定するためのバイオマーカーとして求められる条件は、長期間体内に蓄積され、すぐには排泄されないこと、マーカーの値は摂取量に依存して変化すること、特定の食品に特徴的に含まれる成分であることの3点である。バイオマーカーに関する研究は精力的に行われており、果実・野菜中に含まれるフラボノイド類、カロテノイド類、そしてビタミン類の血液中あるいは尿中における濃度などが検討されている。しかし、これらビタミン類や植物性二次代謝産物であるカロテノイド類やフラボノイド類は共通して果実・野菜に存在しており、特定の食品の摂取量のみを反映するバイオマーカーとはなりにくい。

カロテノイド類の血液中濃度と食品摂取に関する研究では、果実・野菜の摂取頻度と血液中カロテノイド濃度との相関関係が解析されている (Campbell et al., 1994; Drenowski et al., 1997; Michaud et al., 1998; Tucker et al., 1999; van Kappel et al., 2001; Olmedilla et al., 2001; Papas et al., 2003)。例えばこれらのバイオマーカーと血圧値や血糖値、あるいは血液中コレステロール値 (Sugiura et al., 2004b) 等の疾患マーカーとの関連を解析することで、食品の摂取頻度で解析するよりもより詳細な疾患との関連が解析できる。近年、血液中カロテノイド濃度が高いほどがんや循環器系疾患に罹るリスクが低いとする研究結果が相次いで報告されている (Stahelin et al., 1991; Gey, 1993; Omenn et al., 1996; Comstock et al., 1997; Woodson et al., 1999; Smith-Warner et al., 2000; Schiff et al., 2001; Holick et al., 2002)。

血液中カロテノイド濃度は果実や野菜の摂取頻度がある程度反映するが、 β -カロテンやルテイン、ゼアキサントンは緑黄色野菜に共通して存在しているため、血液中のカロテノイド濃度から特定食品の摂取頻度を推定することは難しい (Mangel et al., 1993; Holden et al., 1999; Breithaupt et al., 2001; Goodner et al., 2001)。一方、 β -cry はカキ、ピワ、モモ、ウメなどにも存在するが、ウンシュウミカンに多く含まれる上、他の果実とは比べものにならないほど摂取量も多い。したがって血清中 β -cry 濃度は、我が国で最大の β -cry 供給源であるウンシュウミカンの摂取頻度・量を反映するバイオマーカーとして最適である (Sugiura et al., 2004a)。果樹研究所カンキツ研究部では現在、国内主要果実であるウンシュウミカンの保健機能について、栄養疫学的研究により様々な疾患との関連について明らかにしようとしている。この研究を実施するにあたり、ウンシュウミカンの摂取量を客観的に評価するためのバイオマーカーとして血清中 β -cry 濃度に注目している。

4. 2. ウンシュウミカン摂取と血液中 β -cry 濃度との関係

ウンシュウミカン産地の地域住民を対象に、ウンシュウミカンの摂取頻度と血清中 β -cry 濃度との関連について調査を行った (Sugiura et al., 2002a)。その結果、血清中 β -cry 濃度はウンシュウミカンの摂取頻度に依存してウンシュウミカン流通期に著しく上昇することを見いだした。血液中 β -cry 濃度に関するこれまでの研究報告と比較すると、上記研究におけるウンシュウミカン産地地域住民の測定値は著しく高く、欧米での報告に比べて数倍から数十倍であった (Michaud et al., 1998; Wahlqvist et al., 1994; Albanes et al., 1997; Fotouhi et al., 1996; Nierenberg et

al., 1997)。更に β -cry の血液中濃度はウンシュウミカンを食べない夏場でも摂取頻度に依存して有意に高く、長期間体内に保持されることも判明した。

摂取量と血清中 β -cry 濃度に関する内外の研究報告を調べると興味深いことが解る。主に欧米のデータによると、 β -cry 摂取量が β -カロテンなどのカロテノイドに比べて数十分の 1 と極めて少ないのに対し、血清中濃度のオーダーは他のカロテノイド類と変わらない。これらのデータは β -cry が他のカロテノイド類に比べて体内に吸収・蓄積されやすいことを示している (Wahlqvist et al., 1994; Albanes et al., 1997)。体内に吸収されたカロテノイド類は肝臓でリポタンパク粒子に取り込まれ、その後、血液循環により様々な臓器へ移行する (Tanumihardjo et al., 1990; Kaplan et al., 1990; Schmitz et al., 1991; Stahl et al., 1992)。カロテノイド類の体内動態に関しては数多くの報告があるが、 β -cry のようなキサントフィルは植物体内では炭素数 12 ~ 18 の脂肪酸と結合したエステル体として存在している (Wingerath et al., 1995; Breithaupt et al., 2001)。 β -cry をヒトが摂取したときには腸管のエステラーゼにより脂肪酸が加水分解され、フリーのキサントフィルとして吸収される。ヒトの皮下組織を採取して β -cry の含有量を調べた研究報告によると、 β -cry は組織では再び脂肪酸エステル体となって蓄積されることが明らかとなっている (Wingerath et al., 1995)。おそらく水酸基をひとつ有するために β -カロテンなどの炭化水素型カロテノイドよりもはるかに吸収されやすく、長期間体内に保持されやすいと考えられる。

4. 3. 血液中 β -cry 濃度に影響するウンシュウミカン以外の要因

ウンシュウミカンの摂取頻度に依存して血液中 β -cry 濃度が著しく上昇することが解った。次にウンシュウミカンの摂取量と血液中 β -cry 濃度との関係、また体内に保持される期間を検討した。さらに性差や年齢による違い、食生活や喫煙・飲酒習慣などの生活習慣の違いによる血液中濃度の変化を調査した (Sugiura et al., 2004a)。

調査は健康な男女 27 名の協力を得て、1 ヶ月おきに 1 年間にわたり食品摂取頻度調査を行うとともに血液中 β -cry 濃度を測定した。また、身長・体重から算出した肥満度、飲酒・喫煙歴についても調査した。得られたデータについては重回帰分析で解析し、血液中 β -cry 濃度に影響する要因について検討した。

その結果、血液中 β -cry 濃度は 9 月の調査開始からウンシュウミカンの摂取量が増加するに従って上昇し、1 月の検査時には最高に達した。重回帰分析の結果から、血液中 β -cry 濃度に影響する食品はウンシュウミカンの

みであった。ウンシュウミカン以外にもカキ、ピワ、モモ、ウメなどの果実やウンシュウミカンジュースなどの -cry 含有食品があるが、いずれも調査した集団では日常の食生活での摂取頻度が低く、有意な関連要因にはならなかった。さらに血液中 -cry 濃度に影響する要因は、(a) 検査時におけるウンシュウミカン摂取量、(b) 検査 2ヶ月前のウンシュウミカン摂取量、(c) 検査する時期、(d) 年齢、加えて男性では (e) 飲酒歴、(f) 喫煙歴が、女性では (g) 肥満度が選択され、血液中の -cry 濃度はこれらの変数でほぼ説明できることが明らかとなった。検査 2ヶ月前のウンシュウミカン摂取量が影響するのは -cry が他のカロテノイド類に比べて長期間体内に保持されることを示唆するものである。さらに同じ個数のウンシュウミカンを食べていても、若い人よりも高齢者、男性よりも女性で血液中レベルが高くなりやすく、逆に喫煙・飲酒習慣を有する人や肥満度が高い人では血液中濃度が低くなる傾向が明らかとなった。

これらの重回帰分析の結果は、血液中 -cry 濃度からウンシュウミカンの摂取量を正確に導き出すことができ、また逆にウンシュウミカンの摂取量を聞き取ればその被験者の血液中 -cry 濃度を算出できることを示している。食品摂取のバイオマーカーを用いた疫学研究が多数報告されているが、-cry は特定の食品摂取量を正確に反映するマーカーとして他に類をみないほど優れている。ウンシュウミカンの生体調節機能をヒトレベルで検討する (Sugiura et al., 2004a) 際に、血液中 -cry 濃度は非常に優れたバイオマーカーとなることが示唆された。血液中 -cry 濃度と疾患とを関連づけた研究報告は数多くあるが、いずれも血液中濃度が低い集団での調査である。-cry の有用性を正確に評価するためにはウンシュウミカンを多く食べ、血液中 -cry 濃度が著しく高い集団を調査することにより、疾患との関連がより詳細に解析できるものと考えられる。

5. 疫学研究で明らかにされた生理機能

5.1. 疾病罹病リスク低減作用

ビタミン C、E やカロテノイドなど抗酸化物質の疾病リスク低減作用を解明するため、血液中濃度あるいは摂取量と慢性疾患への罹病リスクとの関係が検討されている。-cry が調査対象となっている研究報告の中に、疾病罹病リスク低減作用が抗酸化物質中で突出していたとされる例がある。がんに関するものが 7 例、食道、子宮頸部、膀胱が 3 例 (De Stefani et al., 2000; Goodman et al., 2000; Zeegers et al., 2001)、肺が 4 例 (Voorrips et al., 2000; Yuan et al., 2001; Yuan et al., 2003; Mannisto et al., 2004) で、

肺に対する研究例が際だっている。肺の 4 例のうちの 1 例 (Mannisto et al.; 2004) は特に興味深い。これまで欧米で実施された 7 件のコホート研究の結果をプールして計算した研究である。7 ~ 16 年間にわたり 399,765 人、肺がん発症 3,155 人を対象に -cry 摂取の少ない群の相対危険率を 1 としたとき、摂取量の多い集団では 0.76 と有意に低下することを明らかにした。-cry 以外のカロテノイドや抗酸化物質には同様な低減作用は認められていない。肺がんについて他の研究をみると、Voorrips ら (2000) の報告では相対危険率 0.71、Yuan ら (2001) は 0.42、Yuan ら (2003) は 0.63 となっている。この場合も -cry 以外のカロテノイドや抗酸化物質に低減作用は認められない。肺以外でも、食道で 0.16 (De Stefani et al., 2000)、子宮頸部で 0.4 (Goodman et al., 2000)、膀胱で 0.74 (Zeegers et al., 2001) と有意に低い値を示した。このように -cry にリスク低減作用が認められる例が多かったが、前立腺がんの場合だけ相対危険率 1.56 とリスクの増大が報告されている (Schuurman et al., 2002)。

疫学研究の中では精度の低い研究手法である症例・対照研究により明らかにされた果実と野菜の発がん予防作用が数年前までは広く認められていた (World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research Expert Panel, 1997)。しかし、研究手法の高精度、大規模化 (症例・対照研究から前向きコホート研究) により、果実と野菜の発がんリスク低減作用が否定されることが多くなった (坪野, 2002)。このような背景の中で、継続的な調査と多数の被験者を対象とする前向きコホート研究で得られた -cry の発がんリスク低減作用は意義深い。今後のメカニズム研究により -cry の有用性がより一層明らかとなり、臨床ヒト介入試験による予防研究への発展が期待される。

がん以外では糖尿病、リウマチについてそれぞれ 1 件、罹病リスクを低減するという結果が得られている。いずれも -cry の摂取量は罹病危険率と負の相関を有していた。糖尿病に関する Montonen ら (2004) の研究では相対危険率 0.58、リウマチに関する Cerhan ら (2003) の研究では 0.59 である。しかも他のカロテノイドや抗酸化物質には有意差は認められていない。我が国の研究では高血糖症に関する症例対照研究があり (Suzuki et al., 2002)、-cry は他のカロテノイドとともに血液中濃度は高血糖の指標である HgA1c (ヘモグロビン糖化物) との間に負の相関が認められ、オッズ比は 0.35 であった。

5.2. 罹病者の血液中抗酸化成分

慢性疾患の罹病者と健常者の間で、血液中抗酸化成分の濃度を比較する症例・対照研究が実施されている。仮

に罹病者の血液中抗酸化成分の濃度が有意に低ければ、その成分の不足が疾病の発症や進展の一要因と考えられ、その成分を補填することで予防や進展の抑制を可能とするかもしれないとする疾病予防戦略が成り立つからである。血液中抗酸化成分を対象とした研究例としては、糖尿病、高血糖症に関してFordら(1999)、Suzukiら(2000)、Polidoliら(2000)が、微量アルブミン尿症に対してRowley(2003)が、白内障に関してはBrownら(1999)、Lyleら(1999)、Galeら(2001)が、アンギナペクトリスに関してはFordら(2000)、Merajiら(2000)の報告がある。罹病者は β -cry、 β -カロテン、 α -カロテン、リコペン、ルテイン、ゼアキサンチンなどいずれも血液中濃度に有意な低下が認められる。カロテノイド濃度の低下で消去しきれなくなった活性酸素種が疾病の発症・進行を促した可能性、あるいは発症・進行により活性酸素種の増大がカロテノイドを消費した可能性が考えられる。白内障を除き、糖尿病、高血糖症、微量アルブミン尿症、アンギナペクトリスでは β -cryが罹病者に有意な濃度低下が認められることから、二つの可能性に β -cryが大きく関与していると考えられる。4.1でも述べたように β -cry高摂取あるいは血液中高濃度が肺がんリスクを低減とする研究が目立つが、肺がん患者と健常者の血清カロテノイド濃度を比較した研究もあり、肺がん患者は健常者に比較して β -cry濃度が25.5%も低く、ヒト血液中に含まれる主要カロテノイド6種の中では最も差が大きいことは示唆に富む(Comstock et al., 1997)。

疾病ではないが慢性疾患に対する最重要危険因子である喫煙の影響に関してRossら(1995)、Bradyら(1996)、Buiattiら(1996)、Marangonら(1998)、Weiら(2001)、Albergら(2000)、Alberg(2002)の報告がある。喫煙者に β -cry、 β -カロテン、 α -カロテンの血液中濃度が低いことが明らかにされているが、喫煙によって発生する活性酸素種が血液中のビタミンCを含め、血液中抗酸化成分の濃度を低下させることが喫煙の疾病罹病危険要因の一つと考えられている。

β -cryの疾病罹病リスク低減作用の意義を考える際に注意すべき点がふたつある。一点は我が国の食習慣等の特殊性である。5.1., 5.2.で紹介した疫学研究成果はほとんど欧米で行われ、そこでの生活習慣、食習慣での研究成果である。我が国での食習慣で β -cryの意義を考えるについては、我が国の食に関する特殊事情を考慮しなくてはならない。4.3.でも述べているようにウンシュウミカンという決定的な β -cryの供給源がない諸外国では摂取量、血液中濃度は我が国に比べて明

らかに低い。したがって、摂取量が多く、血液中濃度の高い人が多い我が国で本格的なコホート研究を行うことで、 β -cryの疾病罹病リスク低減作用がより正確に評価できると考えられる。二点目は β -cryは我が国ではウンシュウミカン摂取のバイオマーカーであること(上述)、諸外国では同じくカンキツ摂取量のバイオマーカー(Cerhan et al., 2003; Mannisto et al., 2004)であることを考慮しなければならない。 β -cry高摂取者あるいは血液中高濃度者は、すなわちウンシュウミカンやカンキツの高摂取者であり、他のカンキツ成分をも多量に摂取していることを忘れてはならない。 β -cryと他のカンキツ成分との共同作用か、あるいは β -cryとは無関係に他のカンキツ成分によって罹病リスク低減作用がもたらされている可能性も考慮しなければならない。

6. 動物実験から明らかにされた生理機能

6.1 発がん予防作用

Tsushimaら(1995)は代表的な発がんプロモーターであるTPA(12-O-テトラデカノイルホルボル-13-アセテート)によって誘導されるRaji細胞内潜伏感染Epstein-Barrウイルスの初期抗原発現の抑制効力を指標として、カロテノイド類の発がんプロモーション抑制効力スクリーニングテストを行った。その結果によると、 β -cryは調査した51種のカロテノイドのうち、最も抑制活性が高いグループに属した。この結果に注目した西野らのグループにより β -cryの発がん修飾作用に関する一連の研究が化学発がんモデルを使って行われ、抑制作用はマウス皮膚(塗布によるプロモーション抑制)、飲用によるイニシエーション抑制)、ラット大腸(短期: aberrant crypt fociの発生抑制、長期: 腫瘍発生の抑制)、マウス肺の3部位、5種類の実験で認められている(Narisawa et al., 1999; Nishino et al., 2000; Nishino et al., 2002)。

一方、隅田らのグループによりウンシュウミカン搾汁工程から β -cry高含有パルプを製造する技術が開発された(Sumida et al., 1999a; 1999b; 1999c)。このパルプを用いて作成した β -cryを高濃度を含むパルプやウンシュウミカン果汁飲料を用いて発がん抑制試験が行われた。その結果、大腸、肺、舌で発がん抑制作用を認めている(Kohno et al., 1999; Tanaka et al., 2000; Kohno et al., 2001; Tanaka and Kohno, 2002)。なお、いくつかの臓器で、非腫瘍部に比べ腫瘍部における β -cryを含むカロテノイド量が低値であることが報告されている。例えば大腸腫瘍では β -cry、 β -カロテン、ゼアキサンチン、ルテインの量が、周囲粘膜に比して有意に低いことが判明してい

る (Muhlhofer et al., 2003). このことは -cry などのカロテノイドが発がん予防に役立つ可能性を示唆している.

発がんの分子メカニズムは極めて複雑であり, またそれに関与する遺伝子やタンパク質は臓器によって異なる. 疫学研究で見られた -cry の発がんリスク低減作用や, 本稿で紹介した動物を対象とした発がん修飾作用の作用機序を特定することは困難である. しかし, 発がんに関連した生化学的現象に対する作用機序を詳細に検討していくことが大切である. これまでに明らかになった -cry の発がん抑制の分子メカニズム (矢野, 2003) には以下のようなものがある.

活性酸素種はDNAを損傷し発がんのきっかけ (イニシエーション) となる. この活性酸素種の体内濃度を低減できれば発がん予防になる. -cry を含め多くの抗酸化物質はフリーラジカル除去能を有し, 活性酸素種低減に寄与していると考えられる. 一方, 体内での活性酸素種の過剰産生を抑制することも重要なメカニズムである. -cry にスーパーオキシドの産生抑制効力はないものの, 一酸化窒素の産生は抑制する (Murakami et al., 2000). 以上のメカニズムを通じ, 酸化ストレスが緩和されることが発がん抑制の分子メカニズムの一部であると推察される.

また, イニシエーションを引き起こす物質だけでは発がんには至らず, プロモーション活性を有する物質との共存が必要である. このプロモーション段階を抑制する優れた活性作用が -cry に認められたことは上述のとおりであるが, 更にイニシエーション, すなわち発がん物質に関わる発がん抑制メカニズムも検討されている. 食品等から摂取した原発がん物質は解毒に関与する第 相 (phase) 酵素群の働きによって究極発がん物質に変換される. この物質は第 相 (phase) 酵素であるグルタチオンS-トランスフェラーゼやキノンレダクターゼの働きで無毒化されて体外に排出される. この第 相酵素が増強されることが発がん抑制の分子メカニズムの一部を担っているとされている. -cry 高含有パルプを飼料として与えたラットでは第 相 (phase) 酵素の増強が観察されている (Kohno et al., 1999).

化学発がんモデルでの発がん修飾作用に関する研究では, がん細胞増殖抑制作用, アポトーシス促進が示されている. また発がん抑制遺伝子からの発がん抑制メカニズムも検討されている. 発がんにはがん抑制遺伝子の機能低下が関わっている. -cry にはp53-RB経路の遺伝子群の活性化があるとされ, 発がん予防の分子メカニズムの一部を担っていると考えられている.

6. 2. 骨粗鬆症予防

骨粗鬆症は老化に伴って骨量が減少する疾病である. 骨量が減少すると服薬による回復は不可能であり予防が重要とされる. 予防には食品栄養因子が役立ち種々の予防食品が開発途上にある.

果実や野菜を十分に摂取している人では骨密度が高い傾向にあることが, 疫学研究によって明らかにされてきた (New, 2003; Macdonald et al., 2004). この結果をカンキツに含まれる機能性成分から考えると, ヘスペリジン (Chiba et al., 2003) や -cry (Yamaguchi and Uchiyama, 2003; Yamaguchi and Uchiyama, 2004; Uchiyama and Yamaguchi, 2004a; Uchiyama and Yamaguchi, 2004b) の生理機能から説明できる.

山口らのグループはウンシュウミカンに注目し, -cry の骨代謝調節作用に関する研究に取り組んでいる. 成長期ラットの骨幹部と骨幹端部組織を用い, 培養系における -cry の作用が調べられた. その結果, 骨組織へのカルシウムの取り込み (骨石灰化) が -cry によって促進された. この促進作用は -cry 独特のもので他のカロテノイドやルチンには認められなかった. メカニズムとしては, 骨石灰化酵素のアルカリフォスファターゼ活性の増大, 骨組織中の細胞数 (DNA量) の増大があり, 蛋白質合成を介していることが明らかになっている.

一方, 骨組織中のカルシウムが減少する現象 (骨吸収・骨塩溶解) に対する -cry の影響も調べられた. 骨吸収は副甲状腺ホルモンやプロスタグランジンE₂によって増進する. すなわち, 大腿骨をこれらの存在下で培養した場合にはカルシウムの減少が観察されるが, この減少は -cry によって有意に抑制された. また, 骨吸収時にはグルコース消費, 乳酸生成増大が伴うが, この増大も -cry によって抑制された. さらに, 骨量減少の重要な機構である骨髄細胞から破骨細胞への分化形成も -cry によって著しく抑制されることが明らかになった. このような試験管レベルの実験を経て, 動物実験, ヒト介入試験へと発展しつつある. ヒトの血液中濃度と同レベルである 10⁻⁷ モル程度の濃度で作用が認められることから, -cry の十分な摂取で骨粗鬆症予防が可能とする朗報を期待したい.

7. 産業への利用

疫学レベル, 動物実験レベルで明らかになった疾病予防作用は当然 -cry の新規利用用途の開発につながる. すなわち保健機能を有する食品の開発, サプリメントへの利用である.

3. 4. で述べているように果実・野菜が -cry を生成する機構は特殊である. その生成・蓄積はウンシュウ

ミカンなど一部のカンキツ、カキ、ピワ、パパイヤなどに限られる。したがって大量調製・産業利用にはウンシュウミカンを原料とするのが最適と思われる。ウンシュウミカンでは果汁産業が発達しているが、果肉、果皮に含まれる β -cry は果汁の搾汁だけでは十分に利用され尽くされてはならず、かなりの部分が廃棄されている。この資源が β -cry 調製原料として用いられる。Sumidaら (1999a; 1999b; 1999c) は果汁製造工程での遠心分離によるパルプ分除去の工程に着目し、特定の画分に β -cry 濃度の高いパルプが得られることを発見した。さらにこのパルプに凍結・融解操作を加えることで β -cry の濃度を高めることに成功し、カロテノイド (主成分は β -cry) 高含有パルプ (CRP) 製造技術を確立した。CRP は β -cry 高含有ウンシュウミカンジュースなどの加工品原料となるほか精製技術も完成し (川井ら, 2000), 化学試薬製造原料としても使用されている。

一方、未利用 β -cry 資源として製造工程で得られる遠心分離沈殿パルプがある。 β -cry が 10 mg / 100 g 程度含まれるパルプを比較的簡単な処理で β -cry 含有食素材として利用する技術が開発され実用化されている (高柳, 2003)。また、この遠心分離沈殿パルプを酵素分解し、CRP とは別の β -cry 高含有素材を製造する技術開発も検討されている。

8. 今後の研究課題

8.1. β -cry 化学構造と生理機能

これまでに紹介した β -cry の生理機能を概括してみると以下のような特徴がある。

β -cry だけではなくヒト血液中の主要カロテノイドすべてにほぼ同様の効能：(文献省略)。

ビタミン A 効力を有する他のカロテノイド類 (β -カロテン, γ -カロテン) とともに共通した性質：喫煙に伴う血液中濃度の低下 (Alberg, 2002)。

ヒドロキシル基 (OH) を有するカロテノイドに共通した性質：疫学研究で確認された健康事象の改善に、OH 型カロテノイドであるルテイン、ゼアキサンチンとともに、 β -cry の血液中濃度の増加を伴っている (Howard et al., 1996; Haeghele et al., 2000; Voorrips et al., 2000)。

OH 型カロテノイドでありながらルテイン、ゼアキサンチンのような白内障リスク低減作用がない (Brown et al., 1999; Gale et al., 2001)。

β -cry のみに突出した性質：発がんプロモーション抑制効力 (Tsuchida et al., 1995), 疫学研究にお

ける数種の発がんリスク低減作用 (Mannisto et al., 2004 ほか), 骨代謝における骨石灰化促進作用, 骨吸収抑制作用 (Yamaguchi and Uchiyama, 2003 ほか)。

β -cry は環化した炭素鎖末端の一方だけに OH 基を有するカロテノイドである。したがってキサントフィルであるにもかかわらず、ビタミン A 効力を有し、カロテンバインディング蛋白にも結合能力を持つ (Rao et al., 1997)。一方で、OH 基を有するため β -カロテンとは異なり、極性物質である。しかし、両端に OH 基を有するルテイン、ゼアキサンチンほどの極性の強さはない。このような物理化学的な性質の違いによって組織・細胞内での局在が他のカロテノイドとは微妙に異なることが、 β -cry のような多様な性質を示すことに関係していると考えられる。その詳細は現在不明であり今後の検討が必要である。

8.2. 糖尿病罹病リスク軽減作用

Sugiuraら (2002b)の研究によれば、糖尿病に対するウンシュウミカン高摂取群は低摂取群との比較でオッズ比 0.47 と有意に低い。Montonenら (2004)の研究から β -cry 高摂取群の低摂取群に対する相対危険率は有意に低く、 β -cry が糖尿病罹病リスク低減因子である可能性がある。糖尿病は我が国における深刻な慢性疾患のひとつである。発がん抑制、骨代謝改善の研究に続く第3の生理機能研究に発展する可能性が高い。

8.3. β -cry の高含有果実の作出

β -cry の保健機能を国民の健康増進に活かす場合、機能性食品やサプリメントの開発が考えられるが、本筋はやはり果実、果実加工品の日常的な摂取にある。そのためは、ウンシュウミカンに限られる β -cry 供給食品の現状を改善し、高含有果実の作出育成が必要である。ウンシュウミカンの育種後代にはウンシュウミカンの 2, 3 倍 (2~3mg / 100g 生重) の含有量を示す系統も存在する。今後は、育種後代に β -cry を高濃度で含有するメカニズムの解明と高濃度化のための育種技術の開発 (DNA マーカーの利用など) が必要である。

摘 要

ヒトの血液中に存在する 6 種類の主要カロテノイドのひとつである β -クリプトキササンチン (β -cry) の主要供給源はウンシュウミカンである。ウンシュウミカンは我が国で最も多く消費される果実であるため β -cry の血中高濃度者が多い。ウンシュウミカン生理機能研究の強化は国民の健康増進、カンキツ産業の発展の観点からも重要であり、果樹研究所を中心として取り組まれ多くの

成果をあげてきた。-cryの生理機能については諸外国の疫学研究からも多くの知見が集積し始めている。

本稿では我が国で成果が上がっている試験管・動物実験レベルにおける発がん抑制，骨代謝改善，-cryの血液中濃度を指標としたみかん産地における栄養疫学研究，-cry供給源としての果実の重要性，カンキツにおける-cry蓄積メカニズム解明，食品産業での利用また諸外国での疫学研究における-cryの疾病罹病リスク低減作用を中心に，-cry研究最近の進歩の全貌を概説した。また，今後の研究についての課題を論じた。

引用文献

- 1 . Albanes, D., J. Virtamo, P.R. Taylor, M. Rautalahti, P. Pietinen and O.P. Heinonen. 1997. Effects of supplemental beta-carotene, cigarette smoking, and alcohol consumption on serum carotenoids in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 66: 366-372.
- 2 . Alberg, A.J. 2002. The influence of cigarette smoking on circulating concentrations of antioxidant micronutrients. *Toxicology.* 15: 121-137.
- 3 . Alberg, A.J., J.C. Chen, H. Zhao, S.C. Hoffman, G.W. Comstock and K.J. Helzlsouer. 2000. Household exposure to passive cigarette smoking and serum micronutrient concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* 72: 1576-1582.
- 4 . Bouvier, F., Y. Keller, A. d'Harlingue and B. Camara. 1998. Xanthophyll biosynthesis: molecular and functional characterization of carotenoid hydroxylases from pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *Biochim. Biophys. Acta.* 1391: 320-328.
- 5 . Brady, W.E., J.A. Mares-Perlman, P. Bowen and M. Stacewicz-Sapuntzakis. 1996. Human serum carotenoid concentrations are related to physiologic and life style factors. *J. Nutr.* 126: 129-137.
- 6 . Breithaupt, D.E. and A. Bamedi. 2001. Carotenoid esters in vegetables and fruits: a screening with emphasis on -cryptoxanthin esters. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2064-2070.
- 7 . Brown, L., E.B. Rimm, J.M. Seddon, E.L. Giovannucci, L. Chasan-Taber, D. Spiegelman, W.C. Willett and S.E. Hankinson. 1999. A prospective study of carotenoid intake and risk of cataract extraction in US men. *Am. J. Nutr.* 70: 517-524.
- 8 . Buiatti, E., N. Munoz, I. Kato, J. Vivas, R. Muggli, M. Plummer, M. Benz, S. Franceschi and W. Oliver. 1996. Determinants of plasma anti-oxidant vitamin levels in population at high risk for stomach cancer. *Int. J. Cancer.* 65: 317-322.
- 9 . Campbell, D.R., M.D. Gross, M.C. Martini, G.A. Grandits, J.L. Stavin and J.D. Potter. 1994. Plasma carotenoids as biomarkers of vegetable and fruit intake. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 3: 493-500.
- 10 . Canfield, L.M., M.T. Cladinin, D.P. Davies, M.C. Fernandez, J. Jackson, J. Hawkes, W.J. Goldman, K. Pramuk, H. Reyes, B. Sablan, T. Sonobe and X. Bo. 2003. Multinational study of major breast milk carotenoids of healthy mothers. *Eur. J. Nutr.* 42: 133-141.
- 11 . Cerhan, J. R., K.G. Saag, L.A. Merlino, T.R. Mikuls and A. Lindsey. 2003. Antioxidant micronutrients and risk of rheumatoid arthritis in a cohort of older women. *Am. J. Epidemiol.* 157: 345-354.
- 12 . Chew, B.P. and J.S. Park. 2004. Carotenoids action on the immune response. *J. Nutr.* 134: 257S-261S.
- 13 . Chiba, H., M. Uehara, J. Wu, X. Wang, R. Masuyama, K. Suzuki, K. Kanazawa and Y. Ishimi. 2003. Hesperidin, a citrus flavonoid, inhibits bone loss and decreases serum and hepatic lipids in ovariectomized mice. *J. Nutr.* 133: 1892-1897.
- 14 . Chug-Ahuja, J. K., J. M. Holden, M. R. Forman, A. R. Mangels, G. R. Beecher and E. Lanza. 1993. The development and application of a carotenoids database for fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *J. Am. Diet. Assoc.* 93: 318-323.
- 15 . Comstock, G.W., A.J. Alberg, H.Y. Huang, K. Wu, A.E. Burke, S.C. Hoffman, E.P. Norkus, M. Gross, R.G. Cutler, J.S. Morris, V.L. Spate and K.J. Helzlsouer. 1997. The risk developing lung cancer associated with antioxidants in the blood: ascorbic acid, carotenoids, alpha-tocopherol, selenium, and total peroxyl radical absorbing capacity. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 6: 907-916.
- 16 . Cunningham, F. X. and E. Gantt. 1998. Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 557-583.
- 17 . De Stefani, E., P. Brennan, P. Boffeta, A. RoncoL, M. Mendilaharsu and H. Deneoellegri. 2000. Vegetables, fruits, related dietary antioxidants, and risk of squamous cell carcinoma of the esophagus: a case-control study in Uruguay. *Nutr. Cancer.* 38: 23-29.
- 18 . Drenowski, A., C.L. Rock, S.A. Henderson, A.B. Shore, C. Fisher, P. Galan and P. Hercberg. 1997. Serum -carotene and vitamin C as biomarkers of vegetable and fruit intakes in a community-based sample of French adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 65: 1796-1802.
- 19 . Faure, H., V. Fayol, C. Galabert, P. Glozier, G. Le Moel, J.-P. Steghens, A. Van Kappel and F. Nabet. 1999. Carotenoids : 1. Metabolism and physiology. *Ann. Biol. Clin.* 57: 169-183.

- 20 . Ford, E.S. and W.H. Giles. 2000. Serum vitamins, carotenoids, and angina pectoris: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey . Am. J. Epidemiol. 10: 106-116.
- 21 . Ford, E.S., J.C. Will, B.A. Bowman and K.M. Narayan. 1999. Diabetes Mellitus and serum carotenoids : findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. Am. J. Epidemiol. 149: 168-176.
- 22 . Fotouhi, N., M. Meydani, M.S. Santos, S.N. Meydani, C.H. Hennekens and J.M. Gaziano. 1996. Carotenoid and tocopherol concentrations in plasma, peripheral blood mononuclear cells, and red blood cells after long-term beta-carotene supplementation in men. Am. J. Clin. Nutr. 63: 553-558.
- 23 . Galcia -Closas, R., A. Berenguer, T.M. Jose, S.M. Jose, J.R. Quiro, C. Navarro, R. Amaud, M. Dorronsoro, C.M. Dolores, A. Barricarte, E. Ardanaz, P. Amiano, C. Martinez, A. Agudo and C. Ginzalez. 2004. Dietary sources of vitamin C, Vitamin E, and specific carotenoids in Spain. Br. J. Nutr. 91: 1005-1011.
- 24 . Gale, C.R., N. F. Hall, D. I. Philips and C. N. Martyn. 2001. Plasma antioxidant vitamins and carotenoids and age-related cataracts. Ophthalmology. 108: 1992-1998.
- 25 . Gey, K.F. 1993. Prospects for the prevention of free radical disease, regarding cancer and cardiovascular disease. Br. Med. Bull. 49: 679-699.
- 26 . Goodman, M.T., K. McDuffie, B. Hernandez, J.H. Hankin, L.R. Wilkens, A.A. Franke, L.N. Kolonel, J. Kuypers, N. Kiviat, C.C. Bertram, B. Kessel, C. Sunoo, J. Nakamura and J. Killeen. 2000. The association of plasma micronutrients with the risk of cervical atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS). Asian Pac. J. Cancer Prev. 1: 337-345.
- 27 . Goodner, K.L., R.L. Rouseff and H.J. Hofsommer. 2001. Orange, mandarin, and hybrid classification using multivariate statistics based on carotenoid profiles. J. Agric. Food Chem. 49: 1146-1150.
- 28 . Haegele, A.D., C. Gillete, C. O'Neill, P. Wolf, J. Heimendinger, S. Sedlacek and H.J. Thompson. 2000. Plasma xanthophylls carotenoids correlate inversely with indices of oxidative DNA damage and lipid peroxidation. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 9: 421-425.
- 29 . Heinonen, M. I., V. Ollilainen, E. K. Linkola, P. T. Varo and P.E. Koivisto. 1989. Carotenoids in Finnish Foods; vegetables, fruits, and berries. J. Agric. Food Chem. 37: 655-659.
- 30 . Holden, J.M., A.L. Eldridge, G.R. Beecher, I.M. Buzzard, S. Bhagwat, C.S. Davis, L.W. Douglass, S. Gebhardt, D. Haytowitz and S. Schakel. 1999. Carotenoids content of U.S. food : an update of the database. J. Food Composition Analysis. 12: 69-196.
- 31 . Holick, C.N., D.S. Michaud, R. Stolzenberg-Solomon, S.T. Mayne, P. Pietinen. P.R. Taylor, J. Virtama and D. Albanes. 2002. Dietary carotenoids, serum beta-carotene, and retinol and risk of lung cancer in the alpha-tocopherol, beta-carotene cohort study. Am. J. Epidemiol. 156: 536-547.
- 32 . Howard, A.N., N.R. Willames, C. R. Palmer, J. P. Cambou, A. E. Evans, J. W. Foote, P. Marques-Vidal, E. E. McCrum, J. B. Ruidavets, S.V. Nigdikar, J. Rajput-Williams and D. I. Thurnham. 1996. Do hydroxyl-carotenoids prevent coronary Heart disease? A comparison between Belfast and Toulouse. Internat. J. Vit. Nutr. Res. 66: 113-118.
- 33 . Hundle, B. S., D. A. O'Brien, P. Beyer, H. Kleinig and J. E. Hearst. 1993. In vitro expression and activity of lycopene cyclase and -carotene hydroxylase from *Erwinia herbicola*. FEBS Lett. 315: 329-334.
- 34 . Ikoma, Y., A. Komatsu, M. Kita, K. Ogawa, M. Omura, M. Yano and T. Moriguchi. 2001. Expression of a phytoene synthase gene and characteristic carotenoid accumulation during citrus fruit development. Physiol. Plant. 111: 232-238.
- 35 . Isaacson, T., G. Ronen, D. Zamir and J. Hirschberg. 2002. Cloning of tangerine from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of -carotene and xanthophylls in plants. Plant Cell. 14: 333-342.
- 36 . 果樹研究所 . 2003 . みかんの - クリプトキサンチン ~ 学術研究から消費拡大・産業利用へ ~ (シンポジウム講演要旨集) .
- 37 . Kaplan, L.A., J.M. Lau and E.A. Stein. 1990. Carotenoid composition, concentrations, and relationships in various human organs. Clin. Physiol. Biochem. 8: 1-10.
- 38 . Kato, M., Y. Ikoma, H. Matsumoto, M. Sugiura, H. Hyodo and M. Yano. 2004. Accumulation of Carotenoids and Expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. Plant Physiol. 134: 824-837.
- 39 . 川井悟・矢野昌充・小川一紀・大橋由雄・隅田孝司. 2000. 高純度 - クリプトキサンチン製造法. 特開136181.
- 40 . Kitagawa, H. and K. Kawada. 1986. Production trends around the world, Part 3. Japan. In " Fresh Citrus Fruits " eds. by W.F. Wardowski, S. Nagy and W. Grierson. AVI Publishing. Connecticut. p. 143-151.
- 41 . Kohno, H., M. Maeda, S. Honjo, M. Murakami, R. Shimada, S. Masuda, T. Sumida, Y. Azuma, H. Ogawa and T. Tanaka. 1999. Prevention of colonic preneoplastic lesions by the - cryptoxanthin and hesperidin rich powder prepared from

- Citrus unshiu* Marc. Juice in male F344 rats. *J. Toxicol. Pathol.* 12: 209-215.
- 42 . Kohno, H., M. Taima, T. Sumida, Y. Azuma, H. Ogawa and T. Tanaka. 2001. Inhibitory effects of mandarin juice rich in cryptoxanthin and hesperidin on 4-(methylnitrosoamino)-1-butanone-induced pulmonary tumorigenesis in mice. *Cancer Letters.* 174: 141-150.
- 43 . Lyle, B.J., J.A. Mares-Perlman, B.E. Klein, R. Klein, M. Palta, P.E. Bowen and J.L. Greger. 1999. Serum carotenoids and tocopherols and incidence of age related nuclear cataract. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 272-277.
- 44 . Macdonald, H. M., S. A. New, M. H. Golden, M.K. Campbell and D. M. Reid. 2004. Nutritional associations with bone loss during the menopausal transition: evidence of a beneficial effect of calcium, alcohol, and fruit and vegetable nutrients and of a detrimental effects of fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 155-165.
- 45 . Mangel, A.R., J.M. Holden, G. Beecher, M. Forman and E. Lanz. 1993. Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *J. Am. Diet. Assoc.* 93: 284-295.
- 46 . Mannisto, S., S.A. Smith-warner, D. Spiegelman, D. Albanes, K. Anderson, P.A. van den Brandt, J.R. Cerhan, G. Colditz, D. Feskanich, J.L. Freudenheim, E. Giovannucci, R.A. Goldbohm, S. Graham, A.B. Miller, T.E. Roham, J. Virtamo, W.C. Willet and D.J. Hunter. 2004. Dietary carotenoids and risk of lung cancer in a pooled analysis of seven cohort studies. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 13: 40-48.
- 47 . Marangon, K., B. Herbeth, E. Lecomte, A. Paul-Dauphin, P. Grolier, Y. Chancerelle, Y. Artur and G. Siest. 1998. Diet, antioxidants status, and smoking habits in French men. *Am. J. Clin. Nutr.* 67: 231-239.
- 48 . Meraji, S., P. M. Abuja, M. Hayn, G.M. Kostner, G.M. Kostner, R. Morris, S. Oraii, F. Tatzber, W. Wonisch, R. Zechner and K. F. Gey. 2000. Relationship between classic risk factors, plasma antioxidants and indicators of oxidant stress in angina pectoris (AP) in Tehran. *Atherosclerosis.* 50: 403-412.
- 49 . Michaud, D.S., E.L. Giovannucci, A. Ascherio, E.B. Rimm, M.R. Forman, L. Sampson and W.C. Willet. 1998. Associations of plasma carotenoid concentrations and dietary intake of specific carotenoids in samples of two prospective cohort studies using a new carotenoid database. *Cancer Epidemiol. Biomarker Prev.* 7: 283-290
- 50 . Montonen, J., P. Knekt, R. Jarvinen and A. Reunanen. 2004. Dietary antioxidant intake and risk of type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 27: 362-366.
- 51 . Muhlhofer, A., B. Buhler-Ritter, J. Frank, W.G. Zoeller, P. Merkle, A. Bosse, F. Heinrich and H.K. Biesalski. 2003. Carotenoids are decreased in biopsies from colorectal adenomas. *Clin. Nutr.* 22 : 65-70.
- 52 . Murakami, A., A. nakashima, T. Koshiba, T. Maoka, H. Nishino, M. Yano, T. Sumida, O. K. Kim, K. Koshimizu and H. Ohigashi. 2000. Modifying effects of carotenoids on superoxide generation from stimulated leukocytes. *Cancer Lett.* 149: 115-123.
- 53 . Narisawa, T., Y. Fukaura, S. Ohshima, T. Inakuma, M. Yano and H. Nishino. 1999. Chemoprevention by oxygenated carotenoid beta-cryptoxanthin of N-methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *Jpn. J. Cancer Res.* 90: 1061-1065.
- 54 . New, S. A. 2003. Intake of fruit and vegetables: implications for bone health. *Proc. Nutr. Soc.* 62: 889-899.
- 55 . Nierenberg, D.W., B.J. Dain, L.A. Mott, J.A. Baron and E.R. 1997. Effects of 4 y of oral supplementation with beta-carotene on serum concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids. *Am. J. Clin. Nutr.* 66: 315-319.
- 56 . Nishino, H., M. Murakoshi, T. Li, M. Takemura, M. Kuchide, M. kanazawa, X.Y. Mou, S. Wada, M. Masuda, Y. Ohsaka, S. Yogosawa, Y. Satomi and K. Jinnno. 2002. Carotenoids in cancer chemoprevention. *Cancer Metastasis Rev.* 21: 257-264.
- 57 . Nishino, H., H. Tokuda, M. Murakoshi, Y. Satomi, M. Masuda M. Onozuka, S. Yamaguchi, J. Takayasu, J. Turuta, M. Okuda, F. Khachik, T. Narisawa and M. Yano. 2000. Cancer prevention by natural carotenoids. *Biofactors.* 13: 89-94.
- 58 . Olmedilla, B., F. Granada, S. Southon, A. J. Wright, I. Blanco, E. GilMartinez, H. Berg, B. Corridan, A. M. Roussel, M. Chopra and D.I. Thurnham. 2001. Serum concentrations of carotenoids and vitamins A, E, and C in control subjects from European countries. *Br. J. Nutr.* 85: 227-238.
- 59 . Omenn, G.S., G.E. Goodman, M.D. Thornquist, J. Balmes, M.R. Cullen, A. Glass, J.P. Keogh, F.L. Meyskens Jr, B. Valanis, J.H. Williams Jr, S. Barnhart, M.G. Cherniack, C.A. Brodtkin and S. Hammar. 1996. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J. Natl. Cancer Inst.* 88: 1550-1559.
- 60 . O'neill, M.E., Y. Carroll, B. Corridan, B. Olimendilla, F. Granada, I. Blanco, H. Van den Berg, I. Hininger, A.M. Rousell, M. Chopra, S. Southon and D.I. Thurham. 2001. A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and use in a five-country commperative study. *Br. J. Nutr.* 85: 499-507.

- 61 . Papas, A., M. Stacewicz-Sapuntzakis, P. Lagiou, C. Bamia, Y. Chloutsios and A. Trichopoulou. 2003. Plasma retinol and tocopherol levels in relation to demographic, lifestyle and nutritional factors of plant origin in Greece. *Br. J. Nutr.* 89: 83-87.
- 62 . Park, H., S. Kreunen, A. J. Cuttriss, D. DellaPenna and B. J. Pogson. 2002. Identification of the carotenoid isomerase provides insight into carotenoid biosynthesis, prolamellar body formation, and photomorphogenesis. *Plant Cell.* 14: 321-332.
- 63 . Pelz, R., B. Schmidt and H. Hesecker. 1998. Carotenoid intake in the German National Food Consumption Survey. *Z. Ernährungswiss.* 37: 319-327.
- 64 . Polidoli, M.C., P. Mecocci, W. Stahl, B. Parente, R. Cecchetti, A. Cherubini, P. Cao, H. Sies and U. Senin. 2000. Plasma levels of lipophilic antioxidants in very old patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 16: 15-19.
- 65 . Rao, M.N., P. Ghosh and M. R. Lakshman. 1997. Purification and partial characterization of a cellular carotenoids-binding protein from ferret liver. *J. Biol. Chem.* 272: 24455-24460.
- 66 . Rodriguiz-Amaya, D.B. 1999. Latin American food sources of carotenoids. *Arch. Latinoam. Nutr.* 49: 74s-84s.
- 67 . Ronen, G., M. Cohen, D. Zamir and J. Hirschberg. 1999. Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: expression of the gene for lycopene epsilon-cyclase is down-regulated during ripening and is elevated in the mutant *Delta*. *Plant J.* 17: 341-351.
- 68 . Ross, M. A., L. K. Crosley, K. M. Brown, S. J. Duthie, A. C. Collins, J. R. Arthur and G.G. Duthie. 1995. Plasma concentrations of carotenoids and antioxidant vitamins in Scottish males: influences of smoking. *Eur. J. Clin. Nutr.* 49: 861-865.
- 69 . Rowley, K., K. O'dea, Q. Su and A.J. Jenkins. 2003. Low Plasma concentrations of diet-derived antioxidants in association with microalbuminuria in indigenous Australian populations. *Clin. Sci. (Lond).* 105: 569-575.
- 70 . Schuurman, A.G., R.A. Goldbohm, H.A. Rrants and P.A. van den Brandt. 2002. A prospective cohort study on intake of retinol, vitamins C and E, and carotenoids and prostate cancer risk (Netherlands). *Cancer Causes Control.* 13: 573-582.
- 71 . Schiff, M.A., R.E. Patterson, R.N. Baumgartner, M. Masuk, L. van Asseltking, C.M. Wheeler and T.M. Becker. 2001. Serum carotenoids and risk of cervical intraepithelial neoplasia in Southwestern American Indian women. *Cancer Epidemiol. Biomarker Prev.* 10: 1219-1222.
- 72 . Schmitz, H.H., C.L. Poor, R.B. Wellman and J.W. Erdman Jr. 1991. Concentrations of selected carotenoids and vitamin A in human liver, kidney and lung tissue. *J. Nutr.* 121: 1613-1621
- 73 . Smith-Warner, S.A., P.J. Elmer, T.M. Tharp, L. Fosdick, B. Randall, M. Gross, J. Wood. And J.D. Potter. 2000. Increasing vegetable and fruit intake: Randomized intervention and monitoring in an at-risk population. *Cancer Epidemiol. Biomarker Prev.* 9: 307-317.
- 74 . Stahl, W., W. Schwarz, A.R. Sundquist and H. Sies. 1992. Cis-trans isomers of lycopene and beta-carotene in human serum and tissues. *Arch. Biochem. Biophys.* 294: 173-7.
- 75 . Stahelin, H.B., K.F. Gey, M. Eichholzer, E. Ludin, F. Bernasconi, J. Thurneysen and G. Brubacher. 1991. Plasma antioxidant vitamins and subsequent cancer mortality in the 12-year follow-up of the prospective basel study. *Am. J. Epidemiol.* 133: 766-775.
- 76 . Sugiura, M., H. Matsumoto, M. Kato, Y. Ikoma, M. Yano and A. Nagao. 2004a. Multiple linear regression analysis of the seasonal changes in the serum concentration of β -cryptoxanthin. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 50: 196-202.
- 77 . Sugiura, M., H. Matsumoto, M. Kato, Y. Ikoma, M. Yano and A. Nagao. 2004b. Seasonal changes in relationship between concentration of β -cryptoxanthin and serum lipid levels. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 50: 410-415.
- 78 . Sugiura, M., M. Kato, H. Matsumoto, A. Nagao and M. Yano. 2002a. Serum concentration of β -cryptoxanthin in Japan reflects the frequency of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) consumption. *J. Health Sci.* 48: 350-353.
- 79 . Sugiura, M., H. Matsumoto, and M. Yano. 2002b. Cross-sectional analysis of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) consumption and health status based on a self-administered questionnaires. *J. Health Sci.* 48: 366-369.
- 80 . Sumida, T., Y. Azuma, S. Hamada and H. Ogawa. 1999a. Preparation of high carotenoids pulp from Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) juice. In Japanese. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi.* 46: 404-409.
- 81 . Sumida, T., Y. Azuma, S. Hamada and H. Ogawa. 1999b. Concentration of carotenoids in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) pulp by freezing and thawing treatment. In Japanese. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi.* 46: 833-838.
- 82 . Sumida, T., S. Hamada, Y. Azuma and H. Ogawa. 1999c. Quantitative analysis of β -cryptoxanthin in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) juice by C30 stationary phase high performance liquid chromatography. In Japanese. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi.* 46: 467-472.
- 83 . Sun, Z., E. Gantt and F. X. Cunningham. 1996. Cloning and

- functional analysis of the β -carotene hydroxylase of *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 271: 24349-24352.
- 84 . Suzuki, K., Y. Ito, M. Otani, S. Suzuki and K. Aoki. 2000. A study on serum carotenoid levels of people with hyperglycemia who were screened among residents living in a rural area of Hokkaido, Japan. *Nippon Eiseigaku Zasshi.* 55: 481-488.
- 85 . Suzuki, K., Y. Ito, S. Nakamura, J. Ochiai and K. Aoki. 2002. Relationship between serum carotenoids and hyperglycemia: a population-based cross-sectional study. *J. Epidemiol.* 12: 357-366.
- 86 . 高柳雅義 . 2003 . 天然食品素材としての利用 . 果樹研究所編 . みかんの β -クリプトキサンチン ~ 学術研究から消費拡大・産業利用へ ~ (シンポジウム講演要旨集).
- 87 . Tanaka, T. and H. Kohno. 2002. Cancer chemoprevention by citrus components and juice. *Recent Res. Devel. Cancer.* 4: 439-451.
- 88 . Tanaka, T., H. Kohno, M. Murakami, R. Shimada, S. Kagami, T. Sumida, Y. Azuma and H. Ogawa. 2000. Suppression of Azoxymethan-induced colon carcinogenesis in male F344 rats by mandarin juices rich in β -cryptoxanthin and hesperidin. *Int. J.Cancer.* 88: 146-150.
- 89 . Tangney, C.C., J.L. Bienias, D.A. Evans and M.C. Morris. 2004. Reasonable estimates of serum vitamin E, vitamin C, and beta- cryptoxanthin are obtained with a food frequency questionnaire in older black and white adults. *J. Nutr.* 134(4): 927-934
- 90 . Tanumihardjo, S.A., H.C. Furr, O. Amedee-Manesme and J.A. Olson. 1990. Olson. Retinyl ester (vitamin A ester) and carotenoid composition in human liver. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 60: 307-313.
- 91 . 坪野吉孝 . 2002 . 野菜・果実とがんに関する最近の疫学研究 . NEWS LETTER (日本がん予防研究会誌) . No.33: 5-7.
- 92 . Trichopoulou, A., T. Benetou, P. Lagiou, C.h. Gnardellis, M. Stacewicz- Sapunzakis and A. Pappas. 2003. Plasma carotenoid levels in relation to the Mediterranean diet in Greece. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 73: 221-225.
- 93 . Tsushima, M., T. Maoka, M. Katsuyama, M. Kozuka, T. Matsuno, H. Tokuda, H. Nishino and A. Iwashima. 1995. Inhibitory effect of natural carotenoids on Epstein-Barr virus activation activity of a tumor promoter in Raji cells. A screening study for anti-tumor promoters. *Biol. Pharm. Bull.* 18: 227-233.
- 94 . Tucker, K.L., H. Chen, S. Vogel, P.W. Wilson, E.J. Schaefer and C.J. Lammi-Keefe. 1999. Carotenoid intakes, assessed by dietary questionnaire, are associated with plasma carotenoid concentrations in an elderly population. *J. Nutr.* 129: 438-445.
- 95 . Uchiyama, S. and M. Yamaguchi. 2004a. Oral administration of beta-cryptoxanthin induces anabolic effects on bone components in the femoral tissues of rats in vivo. *Biol. Pharm. Bull.* 27: 232-235.
- 96 . Uchiyama, S. and M. Yamaguchi 2004b. Inhibitory effect of beta-cryptoxanthin on osteoclast-like cell formation in mouse marrow cultures. *Biochem. Oharmacol.* 67: 1297-1305.
- 97 . van Kappel, A.L., J.P. Steghens, A. Zeleniuch-Jacquotte, V. Chajes, P. Toniolo and E. Riboli. 2001. Serum carotenoids as biomarkers of fruit and vegetable consumption in the New York Women's Health Study. *Public Health Nutr.* 4: 829-835.
- 98 . Voorrips, L.E., R.A. Goldbohm, H.A. Brants., G.A. van Poppel, F. Sturmans, R.J. Hermus and P.A. van den Brants. 2000. A prospective cohort study on antioxidants and folate intake and male lung cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 9: 357-365.
- 99 . Wahlqvist, M.L., N. Wattanapenpaiboon, F.A. Macrae, J.R. Lambert, R. MacLennan and B.H. Hsu-Hage. 1994. Changes in serum carotenoids in subjects with colorectal adenomas after 24 mo of beta-carotene supplementation. Australian polyp prevention project investigators. *Am. J. Clin. Nutr.* 60: 936-943.
100. Wei, W., Y. Kim and N. Boudreau. 2001. Associations of smoking with serum and dietary levels of antioxidants in adults: NHANES , 1988-1994. *Am. J. Public Health.* 91: 258-264.
101. Wingerath, T., W. Stahl and H. Sies. 1995. Beta-cryptoxanthin selectively increases in human chylomicrons upon ingestion of tangerine concentrate rich in beta-cryptoxanthin esters. *Arch. Biochem. Biophys.* 324: 385-390.
102. Woodson, K., J.A. Tangrea, M.J. Barrett, J. Virtamo, P.R. Taylor and D. Albanes. 1999. Serum alpha-tocopherol and subsequent risk of cancer among male smokers. *J. Natl. Cancer Inst.* 91: 1738-1743.
103. World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research. 1997. Food, Nutrition, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. Washington DC: American Institute for Cancer Research.
104. Yamaguchi, M. and S. Uchiyama. 2003. Effect of carotenoid on calcium content and alkaline phosphatase activity in rat femoral tissues in vitro: the unique anabolic effect of β -cryptoxanthin. *Biol. Pharm. Bull.* 26: 1189-1191.
105. Yamaguchi, M. and S. Uchiyama. 2004. Mol. Beta-cryptoxan-

- thin stimulates bone formation and inhibits bone resorption in tissue culture in vitro. *Mol. Cell Biochem.* 258: 137-144.
106. 矢野昌充 . 2003 . 果実成分による癌の化学予防 . 医学のあゆみ . 204: 45-49.
107. Yano M. 2004. Recent progress in β -cryptoxanthin research in Japan . *Carotenoid Science (Proceedings of the 17th Annual Meeting on Carotenoid Research held by Japanese Society for Carotenoid Research)*. 7: 39-40.
108. Yano, M., M. Kato, Y. Ikoma, A. Kawasaki, Y. Fukazawa, M. Sugiura, H. Matsumoto, Y. Oohara, A. Nagao and K. Ogawa. 2004. Quantitation of carotenoids in raw and processed fruits in Japan. Submitted for publication.
109. Yuan, J.M., R.K. Ross, X.D. Chu, Y.T. Gao and M.C. Yu. 2001. Prediagnostic levels of serum beta-cryptoxanthin and retinol predicts smoking-related lung cancer risk in Shanghai, China. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 10: 767-773.
110. Yuan, J.M., D.O. Stram, K. Arakawa, H.P. Lee, and M.C. Yu. 2003. Dietary cryptoxanthin and reduced risk of lung Cancer: the Singapore Chinese Health Study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 12: 890-898.
111. Zeegers, M.P., R.A. Goldbohm and P.A. van den Brandt. 2001. Are retinol, Vitamin C, Vitamin E, folate and carotenoids intake associated with bladder cancer risk ? Results from the Netherlands Cohort Study. *Br. J. Cancer.* 85: 977-983.