

# New Food Industry

2021

2

*New food indust. 63 (2): 2021.*

## 総説

- ◆ 植物由来微生物およびヒノキ樽に生息する微生物がもたらす自然発酵による食品の機能性とその実態

## Essay

- ◆ Live the world of COVID-19 steadily!  
“Academic and social issues observed in Mexico”.
- ◆ Live the world of COVID-19 steadily!  
“Education, Learning and Research Current Effects”.
- ◆ ポストコロナ時代の教育を考える

# New Food Industry Editorial Board

## ■ボードメンバー敬称略(五十音順)

大石 隆介	Ryusuke Oishi	明海大学 経済学部経済学科
岡 希太郎	Kitaro Oka	東京薬科大学
具 然和	Yeunhwa Gu	純真学園大学 放射線技術科学科
古賀 邦正	Kunimasa Koga	(一財)自然環境研究センター
齋藤 忠夫	Tadao Saito	東北大学
坂上 宏	Hiroshi Sakagami	明海大学歯科医学総合研究所(M-RIO)
史 海霞	Haixia Shi	上海交通大学医学院第九人民医院
白瀧 義明	Yoshiaki Shirataki	城西大学薬学部生薬学講座
須見 洋行	Hiroyuki Sumi	倉敷芸術科学大学
瀬口 正晴	Masaharu Seguchi	神戸女子大学, 日本穀物科学研究会会長
早田 邦康	Kuniyasu Soda	自治医科大学附属さいたま医療センター
津田 孝範	Takanori Tsuda	中部大学応用生物学部食品栄養科学科
友村 美根子	Mineko Tomomura	明海大学 総合教育センター
日比野 康英	Yauhide Hibino	城西大学大学院 薬学研究科
豊崎 俊幸	Toyosaki Toshiyuki	香蘭女子短期大学 食物栄養学科
牧 純	Jun Maki	松山大学薬学部 医療薬学科
増田 宜子	Yoshiko Masuda	松本歯科大学 歯科保存学講座
松郷 誠一	Seiichi Matsugo	金沢大学
宮尾 茂雄	Shigeo Miyao	東京家政大学大学院
山口 正義	Masayoshi Yamaguchi	University of Hawaii Cancer Center
山田 正子	Masako Yamada	東京家政学院大学 現代生活学部 食物学科
肖 黎	Li Xiao	日本歯科大学 生命歯学部薬理学講座
渡部 保夫	Yasuo Watanabe	愛媛大学大学院農学研究会



その透きとおった肌のヒミツは、なに？



外部試験機関にて臨床データを取得  
ヒト経口摂取による試験にて、「保湿効果」、「バリア機能改善効果」  
さらには「美白効果」も確認されました。

初めまして。  
食べて身体の中からキレイになる、  
パイナップルから生まれたセラミド。

美容素材 **パイナップルセラミド**

**パインセラ**<sup>®</sup>

自然の恵みを運ぶ

食品営業部

**丸善製薬株式会社**

【東京】東京食品課 〒150-0021 東京都渋谷区恵比寿西2-6-7 TEL(03)3496-1521 FAX(03)3496-1641

【大阪】大阪食品課 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町2-6-6(塩野日生ビル6F) TEL(06)6203-6918 FAX(06)6233-3606 <http://www.maruzenpcy.co.jp>

## 酸化防止剤

B H A  
B H T  
サステン乳液A  
サステン乳液T

# Sustane



**日揮エニバーサル株式会社**

化成品部 / 東京都品川区大崎1-6-3 日精ビル

電話(03)5436-8470 FAX(03)3493-9125

### 総説

#### ■ 植物由来微生物およびヒノキ樽に生息する微生物がもたらす自然発酵による食品の機能性とその実態

本藤 和彦, 馬場 亜沙美, 原 太一, 和泉 達也, 吉田 雄介 93

1. 発酵食品の歴史..... 94
2. 発酵食品の機能性と作用機序..... 94
3. 酵素栄養学に基づく発酵物の利用..... 95

#### 第1部 植物発酵製品の製造過程

1. 植物発酵製品の製造過程..... 96
2. 発酵に関わる酵母・乳酸菌..... 101
3. 発酵後の酵素力価..... 107

#### 第2部 植物発酵製品の生化学的性質

1. 抗酸化効果..... 110
2. 抗糖化効果..... 113

#### 第3部 植物発酵製品の細胞レベルでの抗酸化作用

1. 表皮細胞におけるストレス保護作用..... 117
2. 褐色脂肪細胞および骨格筋細胞におけるミトコンドリア賦活作用..... 118
3. マクロファージにおける成長因子発現促進作用..... 120
4. 表皮細胞における成長因子発現促進作用..... 121
5. マクロファージにおける炎症抑制作用..... 121

#### 第4部 「植物発酵液 SW」の美白・育毛における機能性

1. 正常ヒト線維芽細胞における植物発酵液 SW の影響..... 125
2. 正常ヒト毛乳頭細胞における植物発酵液 SW の影響..... 129

#### 第5部 ヒト試験による機能性評価

1. ヒトに対する植物発酵ペースト AO の酸化ストレス改善作用および肌健全化作用..... 135
2. ヒトに対する植物発酵液 SW の美白効果および肌健全化作用..... 138

#### 第6部 植物発酵製品の整腸作用と生体における機能性

1. ヒトにおける植物発酵液末 EX の整腸作用..... 141
2. マウスにおける植物発酵ペースト SW の整腸作用..... 142
3. ヒト腸上皮細胞における植物発酵ペースト SW の整腸作用..... 143

## 連載解説

### ■ グルテンフリー食品のラベリングと規制上の問題

瀬口 正晴, 竹内 美貴, 中村 智英子 153

## New Year's essay

### ■ Live the world of COVID-19 steadily! “Academic and social issues observed in Mexico”.

Ángel David Paulino-González 164

### ■ Live the world of COVID-19 steadily! “Education, Learning and Research Current Effects”.

Alejandro Mena Acra 166

### ■ ポストコロナ時代の教育を考える

戴 秋娟 169

## 連載 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —

### ■ セリ *Oenanthe javanica* (Blume) DC. (セリ科 Umbelliferae APG 体系: Apiaceae)

白瀧 義明 172

世界から、優れた「自然の恵み」を提供します

アンテスの母なる穀物 **キヌア**



南米アンテス原産のヒユ科アカザ亜科の雑穀です。インカ帝国の時代より食され、栄養価の高さから伝承的に「母なる穀物」として重用されてきました。食物繊維や鉄・マグネシウムなどのミネラル、すべての必須アミノ酸を含む、栄養バランスに優れたグルテンフリーの雑穀で、スーパーフードとして世界的にも注目されています。

「茹でる」「炊く」が1番ポピュラーな食べ方で、フクフクとした食感を楽しめます。スープ・雑炊・サラダ・雑穀米など様々な料理に使われています。

取扱い製品

◆キヌア粒

◆有機キヌア粒

# ミルク

至高の食品がわかる

伊藤 敏敏 著

■A5版 / 156ページ ■定価：(1900円 + 税)

■発行：エヌエフアイ

## ミルク

至高の食品がわかる 伊藤 敏敏 著



本書はミルクについて平易に解説された専門書です。著者が日本大学生物資源科学部において教鞭を執られていた際に執筆し、これまで教科書として発刊していましたが、本書が教科書だけでなく広く牛乳・乳製品工場の技術者にも役立つ参考書としてエヌエフアイより発刊いたしました。

まえがきより

世に出ている牛乳の科学や製造学の参考書の多くは、堅くて難しくすぐに頭の痛くなるような専門書か、一般読者向けの啓蒙書でも、ことさら健康的価値や機能性などばかりを取り上げたものが多く、また一方では、牛乳は体に有害であるかのごとく書かれた本までが出回る有様で、ミルクの本当の姿をじっくりと知りたい者にとっての適書が見当たりません。本書はその要求を満たすものとして、一般読者にもよく解るように、また大学の教科書としても使えるように、さらには牛乳・乳製品工場で働く技術者の再勉強にも役立つようにと考えて書いたものです。この本を通してミルクに関する理解が少しでも増えて、食材としての価値がもっと見直されることを願うものです。

### 第1章 ミルクの科学的特性 一秘められた力

1. ミルクは食糧として作り出される唯一の天然物
2. 牛乳、母乳その他の動物の乳はどのように違うのだろう
3. 乳はなぜ白いのだろう
4. 乳の成分の特性とそのパワー
5. 牛乳の構成成分のまとめ
6. 牛乳のアレルギー性
7. 乳児用調製粉乳はどこまで母乳の代用になるか
8. 牛乳に人の免疫力を付けられるか
9. 特定保健用食品（機能性食品）は乳の研究から生まれた
10. 牛乳はどのようにして作られるか（餌が牛乳にかわるまで）
11. 牛乳成分の含量はいつも同じなのだろうか

### 第2章 乳製品の知識と製造の基本原則

1. 日本ではどの位の牛乳・乳製品が食べられているのだろう
2. 農家で搾った牛乳が工場に入るまで
3. 牛乳・乳製品の分類と規格
4. 牛乳の加熱殺菌について
5. 牛乳の均質化処理（ホモジナイズ処理）
6. 発酵乳と乳酸菌
7. チーズ
8. バター
9. アイスクリーム
10. 濃縮乳（練乳、コンデンスミルク、エバミルク）
11. 粉乳

■著者 / 伊藤 敏敏 (いとう たかとし)

◆農学博士

1937年愛媛県生まれ。東北大学大学院農学研究所修士課程修了後、1962年株式会社ニチレイ入社。1963年東北大学農学部助手。1976年同大学助教授。1989年同大学農学部教授を経て2001年日本大学生物資源科学部教授。東北大学名誉教授。

◆ご注文は FAX またはメールにて FAX:042-312-0845 info@nfi-llc.co.jp

# 植物由来微生物およびヒノキ樽に生息する微生物が もたらす自然発酵による食品の機能性とその実態

本藤 和彦 (HONDOU Kazuhiko)<sup>1\*</sup>, 馬場 亜沙美 (BABA Asami)<sup>2</sup>, 原 太一 (HARA Taichi)<sup>3</sup>,  
和泉 達也 (IZUMI Tatsuya)<sup>4</sup>, 吉田 雄介 (YOSHIDA Yusuke)<sup>5</sup>

Key Words: 酸化ストレス, 糖化ストレス, 炎症, 免疫, 老化, ミトコンドリア, ATP

## The functionality of food products by natural fermentation of plant-derived microorganisms and microorganisms living in cypress barrels

**Authors:** Kazuhiko Hondou<sup>1\*</sup>, Asami Baba<sup>2</sup>, Taichi Hara<sup>3</sup>, Tatsuya Izumi<sup>4</sup>, Yusuke Yoshida<sup>5</sup>

**\*Corresponding author:** Kazuhiko Hondou

**Affiliated institutions:** <sup>1</sup>Yagumo Kousan Co., Ltd., <sup>2</sup>ORTHOMEDICO Inc., <sup>3</sup>Faculty of Human Sciences, Waseda University.,  
<sup>4</sup>Hiroo Dermatology Clinic & Mentors Inc., <sup>5</sup>SakuLab Science, Inc.

Key Words: Oxidative stress, Glycation stress, Inflammation, Immunity, Aging, Mitochondria, ATP

### Abstract

Throughout human history, useful fermented foods have been developed through trial and error. With the progress in life sciences, the efficacy of fermented foods has been scientifically verified. Moreover, the utility of fermented foods in terms of health has been widely investigated, such as improving not only lifestyle-related diseases but also the quality of life, including sleep, skin condition and intestinal environment. We investigated the usefulness of fermented plant products obtained from more than 100 kinds of ingredients, such as vegetables, fruits, seaweed, mushrooms and cereals, and naturally fermented and matured by yeasts and lactic acid bacteria present in the ingredients and fermentation barrels. As a result, the usefulness of fermented plant products was comprehensively confirmed through biochemical, cellular and clinical studies, including antioxidant and antiglycation activities, regulation of an intestinal environment, hair growth, skin brightening, fat burning, immunostimulatory effects and anti-inflammatory effects. Fermentation and ripening by yeasts and lactic acid bacteria, respectively, plays an important role in the manufacturing process and are key processes to all of these functionalities. We hypothesised that the compounds derived from the ingredients and microorganisms obtained in this process exert their functions in the body as biogenic, either directly or through the improvement of intestinal microbiota, for overall health. In this review, we introduced the functionalities and appeal of fermented plant products based on the scientific knowledge and displayed its beneficial effects on health.

### 抄録

人類は長い歴史の中で、試行錯誤を繰り返しながら有用な発酵食品を見出してきた。それに付随して生命科学の発展と共に、発酵食品の有効性について科学的検証が進められてきた。その有用性は幅広く、慢性疾患などの医学的疾患や生活習慣病の改善に寄与するだけでなく、睡眠や肌質の改善、整腸作用など生活の質 (QOL) の向上に効果的であることが確認されている。我々は発酵食品の中でも 100 種類以上の野菜・果物・海藻・キノコ類・穀物等を原料として、原料や発酵樽に存在する酵母や乳酸菌による自然発酵・熟成を経て得られる植物発酵物に着目し、その有用性を検証してきた。その有用性は抗酸化作用にはじまり、抗糖化作用、整腸作用、育毛作用、肌健全化作用、美白作用、脂肪燃焼作用、免疫賦活・抗炎症作用などが生化学・細胞・ヒト試験により総合的に確認された。いずれの作用も植物発酵物の製造工程で重要となる酵母や乳酸菌の発酵・熟成がキーポイントとなり、この工程によって得られる野菜・果物・海藻・キノコ類・穀物等の微生物由来の化合物がバイオジェニックスとして体内に直接もしくは腸内細菌叢の改善を介して全身の健康への機能性を発揮すると推測する。この総説では科学的知見をもとに植物発酵製品の機能性とその魅力を紹介していきたい。

\* 責任著者：本藤 和彦 (Kazuhiko Hondou)  
所属機関 / Affiliated institutions :

<sup>1</sup>八雲香産株式会社, <sup>2</sup>株式会社オルトメディコ, <sup>3</sup>早稲田大学 人間科学学術院,  
<sup>4</sup>広尾皮フ科クリニック, <sup>5</sup>株式会社サクラボサイエンス

## はじめに

### 1. 発酵食品の歴史

発酵食品は、細菌（例：乳酸菌や枯草菌）、酵母（例：出芽酵母や分裂酵母）、真菌類（例：コウジカビやアオカビ）などの微生物とその酵素の働きによる有機物を代謝する過程（発酵）を経て得られる。これら微生物は発酵原料に使用される野菜や果物、穀類などの食物に存在する他、発酵に用いられる器具や容器、また発酵させる場所の環境中にも生息する<sup>1)</sup>。発酵に関わる微生物の構成比は発酵過程に影響を与え、その他に発酵に使用した食物素材に含まれる糖質類や栄養成分、酵素、発酵過程にかける時間や温度、湿度、季節なども発酵に影響を与える要因となる<sup>1)</sup>。

発酵食品の誕生は、食品の保存手段の一つとして人類が見出してきたことが最初と言われるが、その発酵過程で得られる独特の風味や食感、見た目などの変化が楽しめるようになり、現在でも発酵食品は世界中の多くの人々に消費されている<sup>2)</sup>。発酵食品といっても発酵させる方法はいくつかあり、意図的に発酵を促進させるために乳酸菌などの微生物を人為的に加える方法と、素材や環境などに存在する微生物を利用した自然発酵の方法に大別され、日本を含むアジアでは後者の方法で発酵食品を作ることが多い<sup>2)</sup>。

近年、発酵食品の健康に関する機能性に着目した総説や研究論文、書籍などが多数発表され<sup>1,3-7)</sup>、機能性が確認される発酵食品の種類は様々で、発酵乳や穀物発酵物、野菜および果物発酵物、肉および魚の発酵物など、幅広い発酵形態で明らかにされている<sup>8)</sup>。このように発酵食品は嗜好品という枠組みを超えて、今では健康における機能性が期待される食品と位置付けられている。

### 2. 発酵食品の機能性と作用機序

人類はその歴史において試行錯誤を繰り返し有用な発酵食品を見出し、近代科学の発展とともに発酵食品の有用性について科学的検証が進められてきた。酵母由来（主に清酒など）の発酵食品では睡眠の質を高めるバイオジェニクス（後述）としての機能が報告されており<sup>9)</sup>、その他プロバイオティクスとしての機能や抗酸化作用、免疫系の調節に関わることも確認されている<sup>10)</sup>。乳酸菌由来の植物発酵物において抗アレルギー機能<sup>11)</sup>や中性脂肪低減機能<sup>12)</sup>、血糖値上昇抑制効果<sup>13)</sup>、睡眠の質改善効果<sup>14)</sup>、整腸効果<sup>15)</sup>など、さまざまな機能が報告されている。

八雲香産（株）が独自開発する「植物発酵ペースト AO」や「植物発酵液 SW（低分子コラーゲン含有）」（以下、植物発酵液 SW とする。）は抗酸化作用を持つ野菜や果物を原材料とし、発酵・熟成の製造工程後においても抗酸化能を有することが確認されている<sup>16,17)</sup>。野菜や果物、ハーブなど食品としての抗酸化物質は体内における酸化ストレスおよび炎症ストレス緩和に有効であり<sup>18)</sup>、糖尿病や高血圧症、脂質異常症などの慢性疾患の改善に寄与する報告もされている<sup>19)</sup>。このようにヒトの健康を維持する上で、植物を利用した発酵物は重要な役割を果たしている食品と言える。

発酵食品は、それらがもつ作用メカニズムの違いによりプロバイオティクス、プレバイオティクス、バイオジェニクスの3つに分類されている。プロバイオティクスは「腸内微生物のバランスを改善することにより宿主動物に有益に働く微生物添加物」とされ、発酵微生物の生菌がその対象となる<sup>20)</sup>。これは生きた菌を摂取することで腸内フローラを改善して体調調節を行うことであるが、摂取した生きた菌を腸内にて発酵・定着させるのは困難とされている。プレバイオティクスは「結腸内の有用菌の増殖を促進したり有害菌の増殖を抑制し、その結果、腸内環境改善によって宿主の健康に有利に作用する難消化性成分」とし、発酵食品中に含まれる食物繊維やオリゴ糖などが腸内の善玉菌の増殖を促進し腸内フローラのバランスを整える作用とされる<sup>21)</sup>。バイオジェニクスは「直接あるいは腸内菌叢を介して免疫賦活、コレステロール低下、血圧降下、抗血栓などの生体調節・生体防御に働く食品成分」と定義され、有機化合物など微生物の二次代謝産物（微生物そのものの生存に関係しない代謝）が直接または腸内フローラを介して間接的に身体に働きかける作用を意味している<sup>22)</sup>。このように発酵食品に存在する微生物（生菌・死菌問わず）や代謝産物、糖・食物繊維により生体への機能性がもたらされている。

### 3. 酵素栄養学に基づく発酵物の利用

酵素栄養学の創始者であるアメリカのエドワード・ハウエル博士は「生の野菜や果物などの食物酵素を摂ることで食品の消化が助けられ、体内の消化酵素が温存される分、体内の代謝酵素が活性化される」という理論<sup>23)</sup>を提示している。生の野菜や果物などの摂取による食物酵素の補完は、疾病発症にも関わると考えられており、1947年にレンショー博士によって、雑誌「Annals of Rheumatic Disease」にリウマチ性疾患の要因が腸の萎縮、および“タンパク質の消化と代謝に十分に対処することができないこと”である可能性が報告されている<sup>24)</sup>。レンショー博士は食物酵素の欠乏が多くの疾患の原因であるという自身の理論を検証するために、700人以上の様々な悩みを持つ患者に酵素を補給させ、その結果、関節リウマチ、変形性関節炎、強直性脊椎炎、スチル病の患者のほとんどが非常に良好な反応を示したことを報告している。さらに、レンショー博士は自身の仮説として立てたリウマチ性疾患の要因が腸の萎縮、および“タンパク質の消化と代謝に十分に対処することができないこと”については、自己免疫疾患、アレルギー、精神状態などの疾患とも関連するであろうと考察した。このように、植物発酵物の摂取、すなわち食物酵素の摂取は体内酵素の補助的機能を示し、ヒトの健康に寄与することが示唆されている。

植物発酵物の製造で用いられる同種の生の野菜や果物における酵素力価を示した文献は多く、生食野菜類におけるアミラーゼ<sup>25)</sup>やキノコ類の糖質加水分解酵素<sup>26)</sup>、果実におけるタンパク質分解酵素<sup>27,28)</sup>などが報告されている。実際に、八雲香産(株)が独自開発した「植物発酵液末EX」にはアミラーゼ、酸性プロテアーゼおよび中性プロテアーゼ活性が確認されている<sup>29)</sup>。また、八雲香産(株)が扱う「植物発酵ペーストAO」や「植物発酵液SW」には抗酸化作用が確認されている<sup>16,17)</sup>。このことから、植物発酵物は食物酵素の補完および抗酸化・抗炎症作用という二つのアプローチによってヒトの健康の維持・増進をもたらす魅力あふれる食品であると考えられる。本総説では、原材料や製造工程において様々な微生物が織りなす産物である植物発酵物の人の健康における機能性について生化学的および細胞レベル、ヒト試験レベルでの検証試験結果を述べ、その魅力について語っていききたい。

## 第1部 植物発酵製品の製造過程

### 1. 植物発酵製品の製造過程

八雲香産(株)が独自開発した植物発酵製品は目的に応じて製造工程が異なる。植物発酵製品の製造には、表1の「植物発酵製品の製造で使用される野菜・果物・海藻などの種類」に記載された品目の中からさまざまな野菜や果物、海藻、キノコ類、穀物等が利用される(図1-1, 1-2)。各原材料は裁断された後、粗糖をまぶし(図2)、ヒノキ樽の中に詰込まれる(図3-1)。ヒノキ樽を紙と木蓋で塞ぎ(図3-2)、保管される(図3-3)、1週間から10日間ほど寝かすことで粗糖の浸透圧により原材料からエキスが抽出される(図4)。エキスを濾過した後に(図5)、適した温度と湿度に設定した環境で発酵させる(図6)。図7は発酵・熟成時の容器内の液体表層の様子である。数か月間の発酵・熟成後、殺菌の工程を経て、「植物発酵液末EX」<sup>29)</sup>や「植物発酵ペーストAO」<sup>30)</sup>、「植物発酵液SW」<sup>31,32)</sup>、「植物発酵ペーストSW」<sup>30)</sup>、「植物発酵液HB」<sup>31,32)</sup>など、それぞれの製造工程を経て製品化される(図8)。発酵の特徴として、野菜・果物・海藻・キノコ類・穀物等に由来する酵母や乳酸菌に加えヒノキ樽に生息する酵母・乳酸菌等の微生物を利用していることが挙げられる。ヒノキ樽は繰り返し利用することで野菜・果物・海藻・キノコ類・穀物等を由来とする酵母や乳酸菌が木の繊維の隙間に蓄積・着菌し、それらが原材料由来の微生物と混じり合うことから独自の微生物叢を形成すると考えられる。図9-1は繰り返し利用されたヒノキ樽中の微生物の様子を調べるために一部をカットした様子である。図9-2と図9-3はその木片への付着が確認された微生物の電子顕微鏡画像であり、酵母や乳酸菌と思われる微生物が確認される。このように、微生物が付着したヒノキ樽を繰り返し利用することで、原材料だけを使用した発酵以上の発酵能力がもたらされていると考えられる(図8)。

表1 植物発酵製品の製造で使用される野菜・果物・海藻などの種類

アオサ, 青じそ, 青大豆, 青パパイヤ, 赤パプリカ, 赤米, あさつき, あしたば, アスパラガス, 小豆, アボカド, 甘夏, アルファルファスプラウト, 杏, いちご, いちじく, いよかん, いんげん, うど, うめ, うり, エシャロット, えだまめ, えのきたけ, エリンギ, 大麦, オクラ, オリーブ, オレガノ, オレンジパプリカ, カーボロネーロ, カイラン, かいわれ大根, 柿, かつお菜, かぶ, かぼす, かぼちゃ, からし菜, カリフラワー, 黄色パプリカ, キウイフルーツ, キビ, キャベツ, きゅうり, きんかん, 空心菜, くまざさ, クランベリー, 栗, グリーンリーフ, グレープフルーツ, クレススプラウト, クレソン, 黒ごま, 黒米, 黒豆, 黒もちあわ, ケール, ゴーヤ, こごみ, ごぼう, 小松菜, コリアンダー, こんぶ, ザーサイ, サイシン, さくらんぼ, ザクロ, さつまいも, さといも, サニーレタス, サラダ菜, サンショウ, 山東菜, サンチュ, しいたけ, ししとう, しどけ, シソ, しめじ, じゃがいも, しょうが, 食用菊, 春菊, しろまいたけ, すいか, ずいき, スダチ, ズッキーニ, セージ, スモモ, セロリ, そら豆, タアサイ, 大根, 大豆, 大豆もやし, タイム, 高菜, タケノコ, たまねぎ, タラの芽, チシャ, チャービル, 茶葉, チンゲン菜, つまみ菜, とうがん, とうもろこし, トマト, 長芋, なし, なす, 菜の花, なめこ, にら, にんじん, にんにく, ねぎ, のり, パイナップル, 白菜, バジル, パセリ, 八朔, パッションフルーツ, はと麦, バナナ, ハナビラタケ, パパイア, ピーマン, ビート, ひじき, ひらたけ, びわ, びわ葉, フェネル, ふき, ぶどう, ブラックベリー, プラム, ブルーベリー, プルーン, ブロccoli, ブロccoliースプラウト, 文旦, ほうれん草, ホースラディッシュ, ぼんかん, まいたけ, マジョラム, マスタードスプラウト, マッシュルーム, マンゴー, みかん, 水菜, みつば, 緑ピーマン, ミントマト, みぶな, みょうが, ミント, 紫キャベツ, 芽キャベツ, メロン, もちあわ, もち玄米, もも, モロッコインゲン, モロヘイヤ, やまいも, ゆず, ゆりね, よもぎ, ライム, ラズベリー, らっきょう, ラディッシュ, 緑豆スプラウト, 緑豆もやし, りんご, ルッコラ, レタス, レモン, レモングラス, れんこん, ローズマリー, ローリエ, わかめ, わけぎ, わさび
---



図1-1 製造に使用される植物類



図1-2 原料の準備



図2 材料の裁断と粗糖処理

発酵原料の準備 図1-1, 1-2  
リンゴ・ダイコン・しいたけ・あずき・わかめ・青パパイア・メロン・バナナなど

材料の裁断と粗糖処理 図2



図3-1 粗糖をまぶしヒノキ樽に詰める



図3-2 ヒノキ樽を紙と木蓋で閉じる

樽詰め・一次発酵 図3-1, 3-2, 3-3



図3-3 ヒノキ樽での一次発酵



図4 粗糖の浸透圧によるエキスの抽出

浸透圧抽出 図4

濾過 図5



図5 濾過工程

二次発酵 図6, 7

熟成工程



図6 発酵・熟成工程

水分除去・調合

粉末化

植物発酵液末EX

水分蒸発・調合

ペースト化

植物発酵ペーストAO

調合

液体

植物発酵液SW

植物発酵液HB

調合

残渣（ペースト化）

植物発酵ペーストSW



図7 発酵・熟成時の神秘的な画像

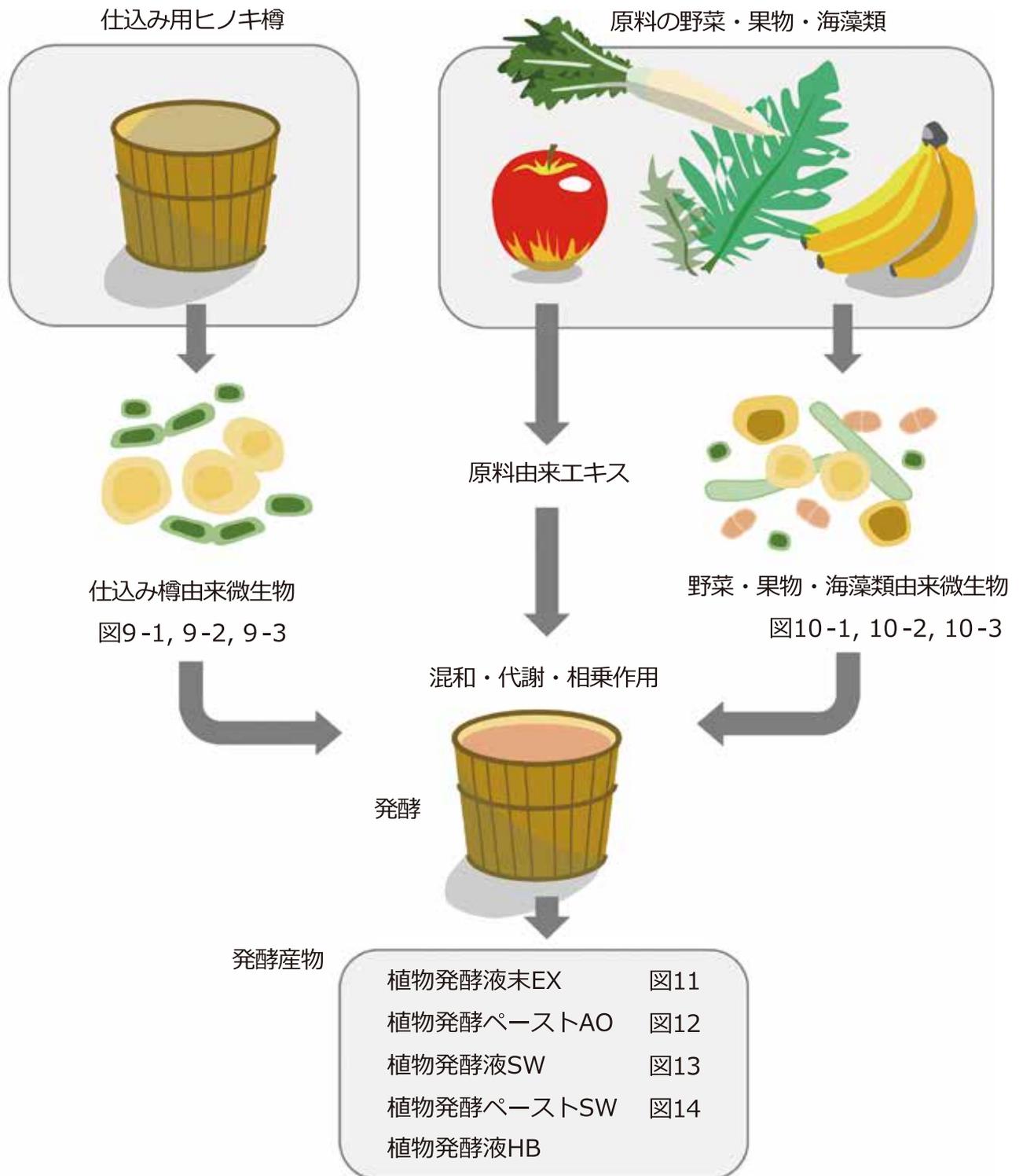


図8 発酵樽および原料由来微生物による発酵過程



図 9-1 微生物の様子を顕微鏡で観察するために、ヒノキ樽の一部をカット

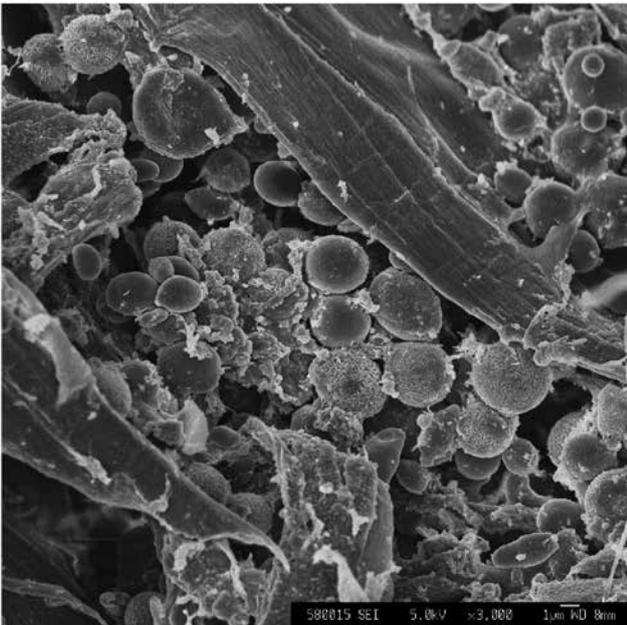


図 9-2 ヒノキ樽の繊維の隙間に生息する酵母・乳酸菌の電子顕微鏡観察像 (3,000 倍)

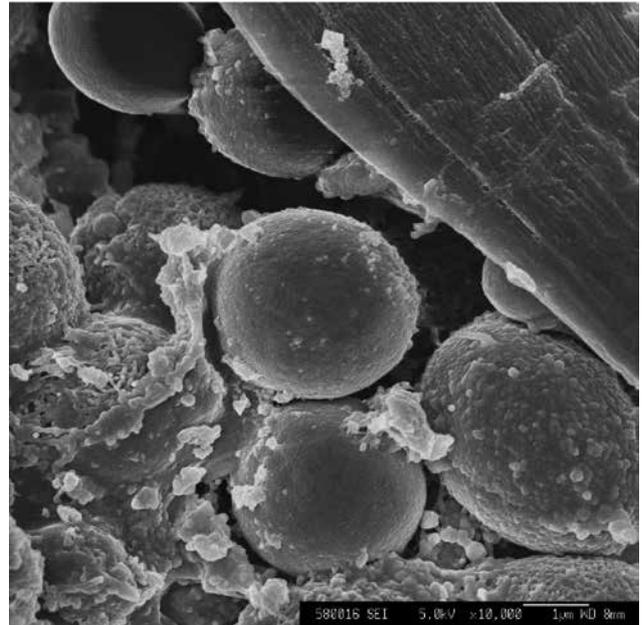


図 9-3 ズームアップした酵母・乳酸菌の電子顕微鏡観察像 (10,000 倍)

## 2. 発酵に関わる酵母・乳酸菌

### 2-1. 各原材料由来の酵母・乳酸菌

発酵微生物の中でも酵母、乳酸菌は、分布や性質上多くの発酵食品に利用されてきた。酵母は真菌類に属し、形態的に円形もしくは楕円形をなし、栄養は外部の有機物を分解および吸収することによって得ている。代表的酵母として主に出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) や分裂酵母 (*Schizosaccharomyces*) が存在し、出芽酵母は糖をアルコールに分解することからパンや酒類の発酵に利用され、人類にとって最も馴染みの深い微生物の一つである。一方、分裂酵母もまた醤油製造における発酵など一部の発酵食品で利用されてきた。

乳酸菌は代謝により乳酸を産生する細菌類の総称である。一般に、乳酸菌と呼ばれて利用されることが多い代表的な細菌は、発酵によって多量の乳酸を産生するだけでなく、比較的低い pH 条件下でよく増殖する。これらの菌にとって乳酸は発酵の最終産物であると同時に、それを作り出して環境を酸性に変えることで他の微生物の繁殖を抑え、自身の増殖を有利に導く役割を持つと考えられている。そのため、様々な種類の乳酸菌が発酵乳製品や味噌、漬物などの発酵食品に利用されてきた。また、ヒト消化管内では、乳酸菌は常在細菌として腸内フローラ（腸内細菌叢）を形成することから、「善玉菌」として位置付けられている。

酵母および乳酸菌は野菜や果物に常在し<sup>33,34)</sup>、両者が共存する発酵は世界各国の伝統的発酵において数多く確認される<sup>35,36)</sup>。そこで本植物発酵製品の原材料に常在する酵母、乳酸菌を観察した。

本植物発酵製品の発酵に用いた 100 種類以上の原材料のうち代表的なリンゴ、ダイコン、しいたけ、あずき、わかめ、青パパイヤ、バナナ、メロンについて各素材由来の酵母、乳酸菌の観察を試みた。各素材の直接観察では十分な微生物量を得ることができないことから、素材を適切な条件下で培養することで観察に必要な微生物を得ることとした。グルコースを含み pH を調整した培養液を入れた培養瓶に裁断した各素材を入れ、バナナ、メロンは 6 日間、リンゴ、ダイコン、しいたけ、わかめ、青パパイヤは 7 日間、あずきは 16 日間 25°C の条件下で培養した。培養液から微生物を回収し、電子顕微鏡解析により各素材由来の酵母・乳酸菌を観察した。なお、本論文では微生物の分類を便宜的に定義した。

リンゴ、ダイコン、しいたけ、あずき、わかめ、青パパイヤ、バナナ、メロンなどの野菜・果物・海藻由来微生物の電子顕微鏡画像 (3,000 倍率) を図 10-1 に示した。図 10-1 において細胞長が 1–4 μm で細胞幅が 1 μm 程度の乳酸菌と考えられる細菌の中に細胞長が 2–6 μm の円形もしくは楕円形の酵母とされる微生物が確認された。図 10-2 において同素材の電子顕微鏡画像 (10,000 倍率) より、大きさおよび形状から出芽酵母 (赤色に着色) または桿菌状酵母類、海洋性酵母類 (黄色に着色) と想定される微生物が認められた。リンゴ、ダイコン、わかめ由来微生物では桿菌状酵母類または海洋性酵母類が確認され、しいたけ、あずき、青パパイヤ、バナナ、メロンは出芽酵母が確認された。

一方、図 10-3 において乳酸菌として大きさおよび形状から乳酸菌類 (*Lactobacillus* 属: 青色に着色)、桿菌状乳酸菌類 (ヨーグルト性乳酸菌など: 紫色に着色)、大型乳酸菌 (黄色に着色)、球状乳酸菌類 (ビフィズス菌やチーズ発酵菌など: 緑色に着色) に分類した。素材別にみるとリンゴおよびわかめには乳酸菌類、ダイコンには乳酸菌類および桿菌状乳酸菌類、しいたけおよびあずきには桿菌状乳酸菌類に加え球状乳酸菌類が確認された。青パパイヤには乳酸菌および球状乳酸菌類、バナナには桿菌状乳酸菌類のみが確認された。メロンについては、乳酸菌類、桿菌状乳酸菌類および大型乳酸菌の 3 種の細菌類が認められた。

素材として扱われるリンゴ、ダイコン、しいたけ、あずき、わかめ、青パパイヤ、バナナ、メロンなどは、灘吉利晃の「素顔の天然酵母たち」<sup>34)</sup> の中でも天然酵母の素材として紹介されている。素材によって酵母の顔は多種多様であり、球体に近い形を示すものから桿状様の形を示すものが確認される。また、乳酸菌とは生育に必要なエネルギーを得るためにブドウ糖や乳糖などの糖を分解して乳酸をつくり出す細菌の総称であるが、細胞の形状の違いから、棒状あるいは円筒状の形をした乳酸桿菌と球形の乳酸球菌に分類されている。今回の観察解析では形態から各菌種を推定し分類したが、正確な菌種の同定には酵素活性測定や遺伝子解析が必要である。古くから伝統的発酵において乳酸菌と酵母は共存していることが知られている<sup>37)</sup>。したがっ

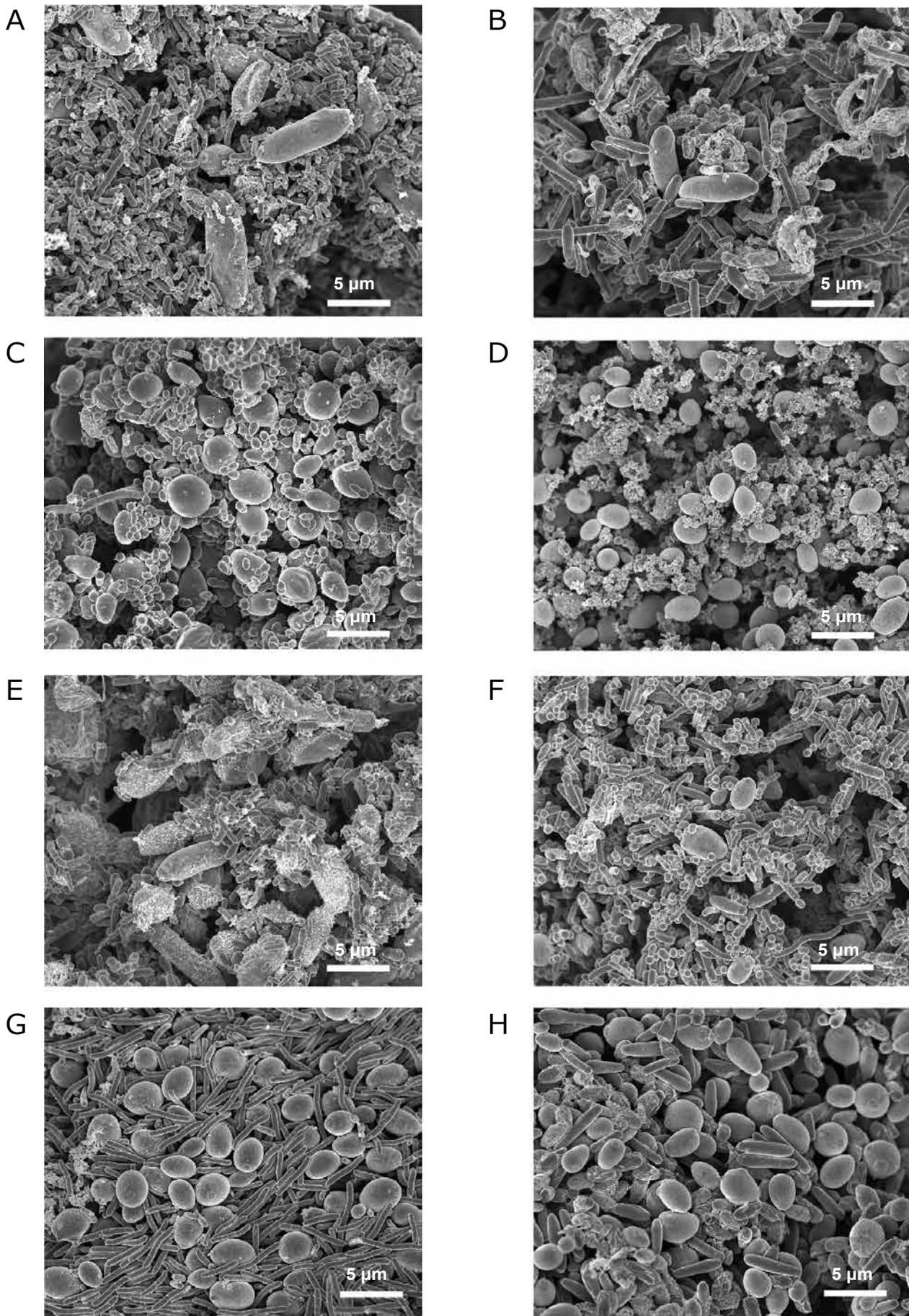


図 10-1 野菜・果物・海藻由来微生物の電子顕微鏡画像 (3,000 倍)

A) リンゴ, B) ダイコン, C) しいたけ, D) あずき, E) わかめ, F) 青パパイア, G) バナナ, H) メロン

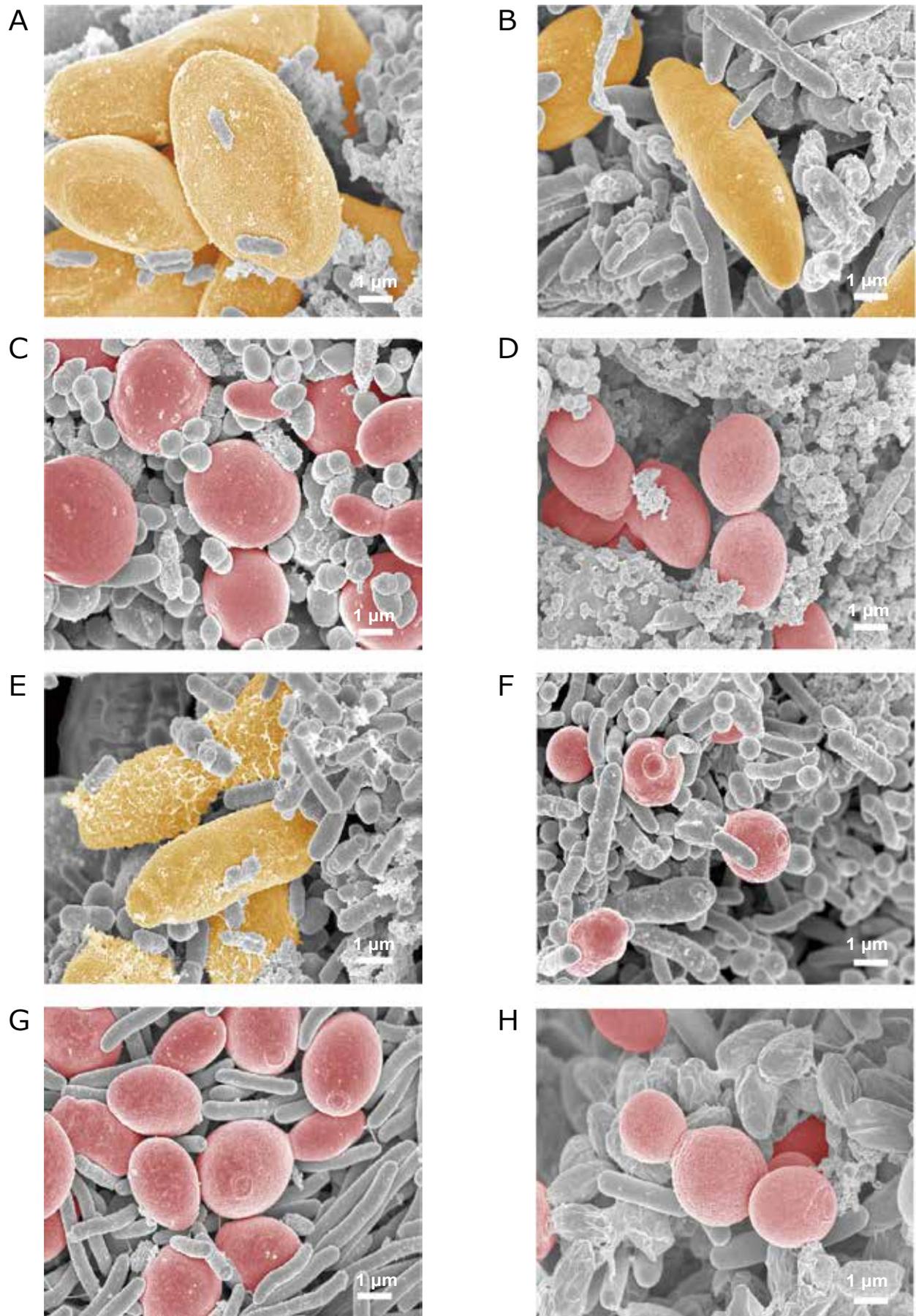


図 10-2 野菜・果物・海藻由来微生物(酵母)の電子顕微鏡画像(10,000倍)

A) リンゴ, B) ダイコン, C) しいたけ, D) あずき, E) わかめ, F) 青パパイヤ, G) バナナ, H) メロン  
赤色) 出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 黄色) 桿菌状酵母類, 海洋性酵母類(分裂酵母など)

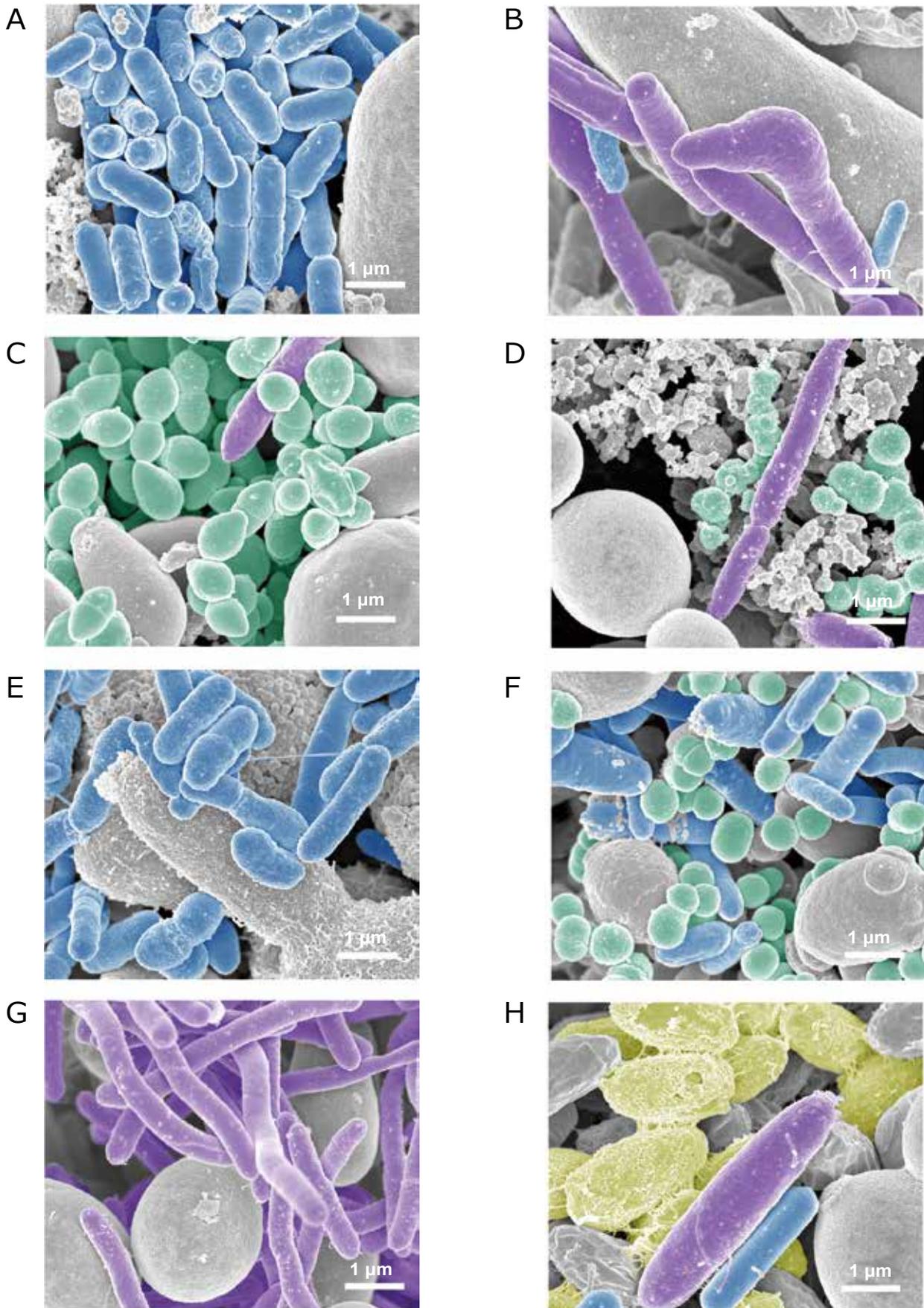


図 10-3 野菜・果物・海藻由来微生物(代表的細菌)の電子顕微鏡画像(10,000倍)

A) リンゴ, B) ダイコン, C) しいたけ, D) あずき, E) わかめ, F) 青パパイヤ, G) バナナ, H) メロン  
青色) 乳酸菌類(*Lactobacillus*属), 紫色) 桿菌状乳酸菌類(ヨーグルト性乳酸菌など)  
黄色) 大型乳酸菌類, 緑色) 球状乳酸菌類(ビフィズス菌やチーズ発酵菌など)

て、本観察においても、リンゴ、ダイコン、しいたけ、あずき、わかめ、青パパイヤ、バナナ、メロンでの原材料の培養系において乳酸菌および酵母の両者の共生関係により発酵環境が適度に整った結果として、両者の共存を電子顕微鏡下で観察できたものと考えられる。

## 2-2. 各製品の酵母・乳酸菌

前項では各原材料由来の酵母と乳酸菌の存在や形態を観察した。「1. 植物発酵製品の製造過程」で述べたように各原料由来微生物およびヒノキ樽に生息する微生物により原材料成分を栄養源として発酵し、最終的に発酵産物（各製品）が出来上がる。発酵産物である各製品における酵母および乳酸菌を観察したところ、いずれの植物発酵製品においても酵母や乳酸菌と推察される微生物が確認された。

「植物発酵液末 EX」を図 11 に、「植物発酵ペースト AO」を図 12、「植物発酵液 SW」を図 13、「植物発酵ペー

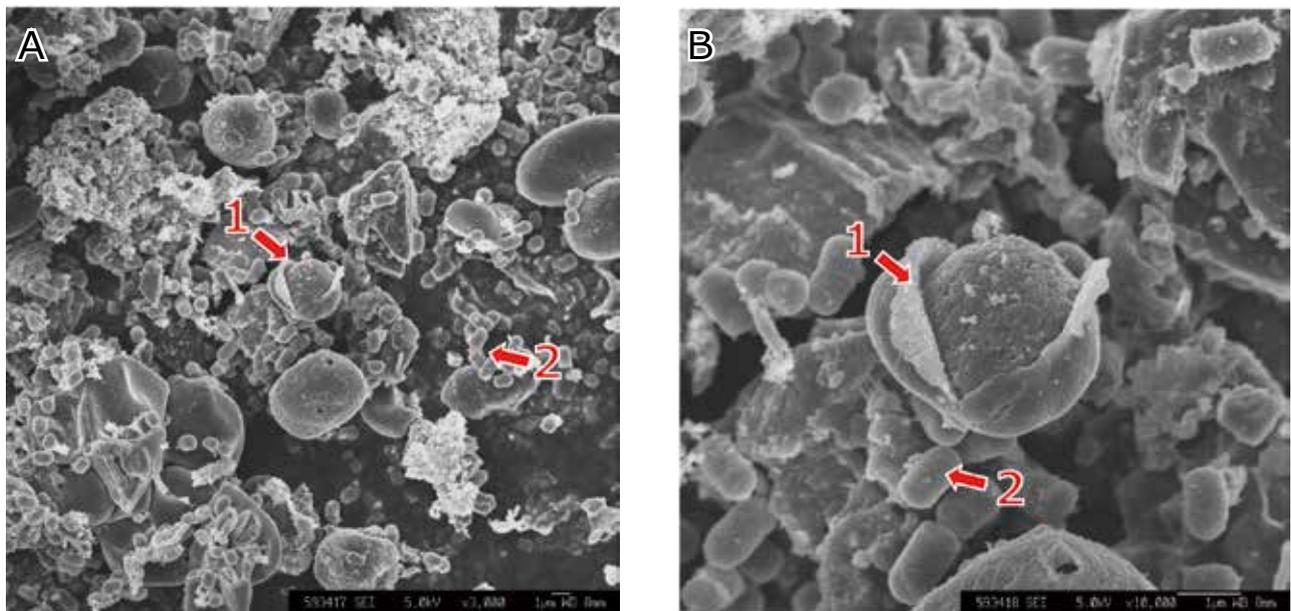


図 11 植物発酵液末 EX における微生物観察像

A) 3,000 倍, B) 10,000 倍 矢印 1: 酵母, 矢印 2: 乳酸菌

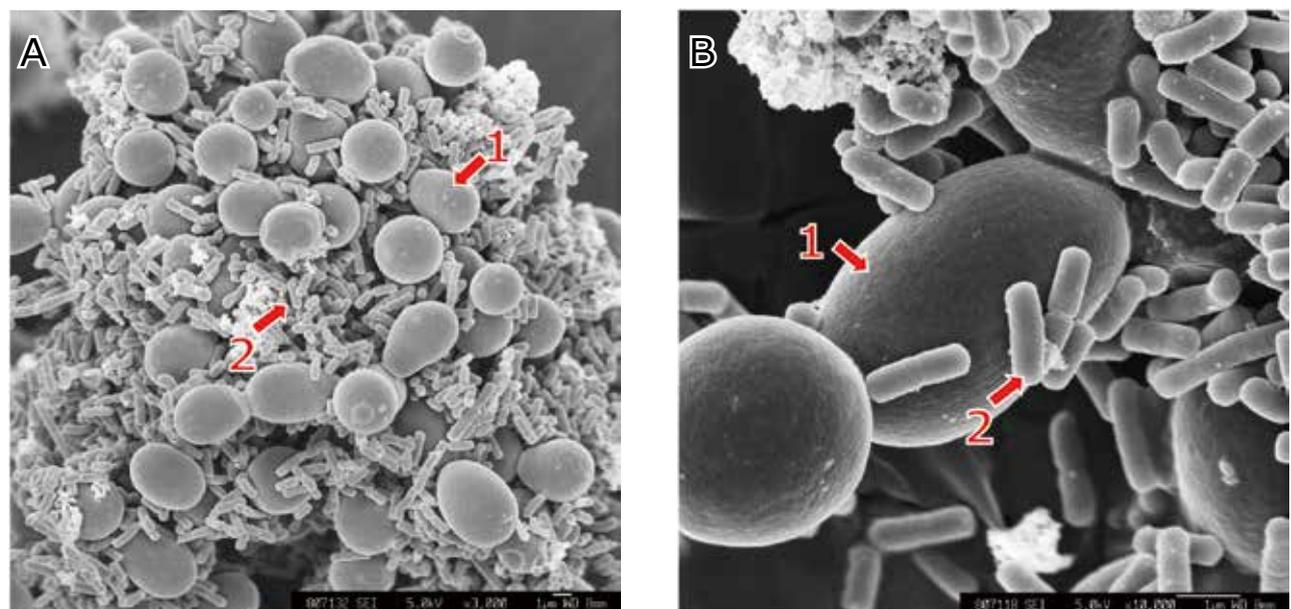


図 12 植物発酵ペースト AO における微生物観察像

A) 3,000 倍, B) 10,000 倍 矢印 1: 酵母, 矢印 2: 乳酸菌

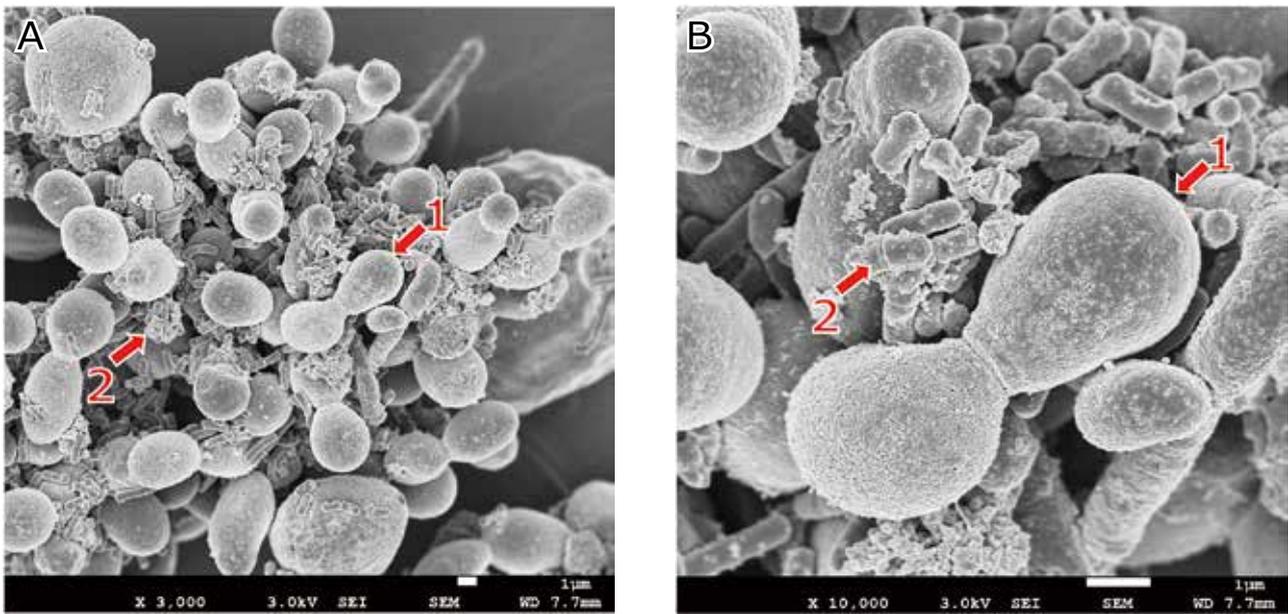


図 13 植物発酵液 SW における微生物観察像

A) 3,000 倍, B) 10,000 倍 矢印 1: 酵母, 矢印 2: 乳酸菌

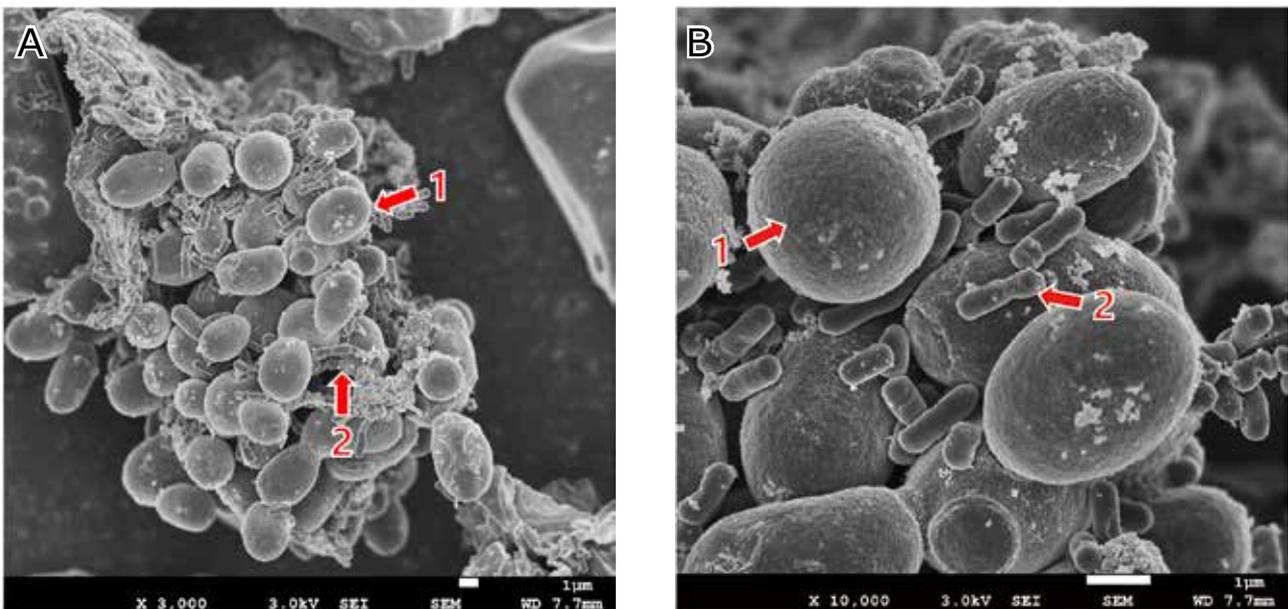


図 14 植物発酵ペースト SW における微生物観察像

A) 3,000 倍, B) 10,000 倍 矢印 1: 酵母, 矢印 2: 乳酸菌

スト SW」を 図 14 に示す。各観察像における球体微生物が酵母（矢印 1）、冠状体微生物が乳酸菌（矢印 2）であると考えられる。各種製品に酵母または乳酸菌と予測される微生物が確認されたが、現時点では各製品に存在する酵母および乳酸菌の同定は行われていない。しかしながら、植物発酵製品の製造過程でガスの発生が確認されることや（図 7）、pH が酸性域であることなどから、形態や性状から酵母および乳酸菌の存在が示唆されている。製品の中でも「植物発酵液末 EX」の酵母は他製品のそれと異なり酵母細胞壁が剥がれている様子が確認された。これはその製造において水分除去過程により細胞に圧力がかかり、酵母細胞壁が剥がれたと考えられる（図 11, B, 矢印 1）。これにより酵母細胞内成分が植物発酵液末に含まれていることが考えられる。これら製品中の電子顕微鏡観察像から発酵により十分な酵母および乳酸菌が存在することが確認できた。

### 2-3. 植物発酵製品と製造原料における酵母数および乳酸菌数の比較

前項では原材料および製品における酵母および乳酸菌の存在を示す定性的解析結果であった。各菌の定量的知見を得るために製造原料の一部であるリンゴおよびわかめに常在する酵母および乳酸菌数を測定したところ、リンゴでは酵母数が2,000個/g、乳酸菌数が3,000個/g以下、わかめでは酵母数が100個/g以下、乳酸菌数が3,000個/g以下であった(表2)。一方、製品である植物発酵液SWでは酵母数が7,300,000個/g、乳酸菌数が300,000個/gであった。製品中の菌量は素材で確認された酵母および乳酸菌数より遥かに多い数が確認された。この定量的結果から素材中の酵母および乳酸菌が発酵・熟成する過程で菌量が相乗的に増えたことが考えられ、様々な菌種の共存する発酵が重要であることが分かる。

表2 植物発酵液SWおよび原料植物の乳酸菌数・酵母数

		乳酸菌数	酵母数
発酵産物	植物発酵液SW	300,000個/g	7,300,000個/g
原料植物	リンゴ	3,000個/g以下	2,000個/g
	わかめ	3,000個/g以下	100個/g以下

### 2-4. 各容器別の植物発酵液HBの酵母数および乳酸菌数の比較

本植物発酵製品は、発酵過程において繰り返し使用されたヒノキ樽を発酵槽として用いていることが特徴であり、独自の発酵・熟成に重要な要素の一つであると考えられる。その所見を検証した結果を表3に示す。表3では植物発酵製品の一つである植物発酵液HBをヒノキ樽の他にポリタンクや陶器、ステンレスなどの容器で発酵・熟成させた場合の酵母数および乳酸菌数を示した。酵母数は、ヒノキ樽が130,000個/g、ポリタンクが27,000個/g、陶器が19,000個/g、ステンレスが6,400個/gであり、ヒノキ樽を用いて発酵・熟成をすることで約5倍から20倍ほどの酵母数を得ることができた。一方の乳酸菌数は、ヒノキ樽が69,000個/g、ポリタンクが8,500個/g、陶器が7,700個/g、ステンレスが3,700個/gであり、ヒノキ樽で発酵・熟成をすることで約8倍から19倍の乳酸菌数の増殖が認められた。図9-2および図9-3で示したように、ヒノキ樽を繰り返し使用することで木片内に酵母や乳酸菌が棲み着くため、そのヒノキ樽を用いて発酵・熟成した際には素材がもつ酵母や乳酸菌の他に、木片内の酵母や乳酸菌も発酵・熟成過程に関わることから、他の容器で発酵・熟成するよりも多くの微生物が確認されたものと考えられる。

表3 植物発酵液HBの容器別 乳酸菌数・酵母数

容器の種類	乳酸菌数		酵母数	
ヒノキ樽	69,000個/g	ヒノキ樽比	130,000個/g	ヒノキ樽比
ポリタンク	8,500個/g	<8.1倍	27,000個/g	<4.8倍
陶器	7,700個/g	<9倍	19,000個/g	<6.8倍
ステンレス	3,700個/g	<18.6倍	6,400個/g	<20.3倍

## 3. 発酵後の酵素力価

植物発酵製品の中には、製品化後においても酵素力価が確認されるものもあり、発酵手順を一部変えた「植物発酵液末EX」は、他の植物発酵食品とは異なる酵素力価を有した食品でもある。酵素力価とは、酵素の有する触媒活性量を定量的に示す尺度である。「植物発酵液末EX」で確認した酵素力価はアミラーゼ、酸性プロテアーゼ、中性プロテアーゼであり、それぞれグラム(g)当たりのユニット(unit)を計算したところ、49,000unit/g、10unit/g、220unit/gであり、他の比較製品(他社)においてはいずれの力価も検出限界値以下であった(表4)<sup>29)</sup>。アミラーゼ様活性については、生の大根の重量を1,000gとして換算した場合、「植物発酵液末EX」の1g当たりに大根約1.6本分の失活していないアミラーゼが存在することになる。同時に調査した「植物発酵液末EX」のアミノ酸スコア<sup>38)</sup>は、86であった(表5)。これは、酵素栄養学の創始者であるアメリカのエドワード・ハウエル博士の「生の野菜や果物などの食物酵素を摂ることで食品の消化が助

けられ、体内の消化酵素が温存される分、体内の代謝酵素が活性化される」という理論<sup>23)</sup>を十分に再現した製品といえる。この「植物発酵液末 EX」製品中の酵母の多くに細胞壁が剥けた状態が観察されている(図 11, B, 矢印 1)。「植物発酵液末 EX」独自の製造工程において酵母の細胞壁が破壊されたと思われ、それにより細胞内の酵素を含む成分が製品中に溶出したものと考えられる。したがって「植物発酵液末 EX」の顕著な酵素力価の上昇は、植物由来の酵素に加え酵母からのプロテアーゼやアミラーゼ由来によるものが多いと考えられる。

表 4 植物発酵液末 EX および市販製品 (他社) の酵素力価 1

	自社	比較例 1	比較例 2	比較例 3	比較例 4	比較例 5	比較例 6
	植物発酵液末 EX	市販製品 1	市販製品 2	市販製品 3	市販製品 4	市販製品 5	市販製品 6
アミラーゼ力価 [unit/g]	49,000	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出
酸性プロテアーゼ力価 [unit/g]	10	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出
中性プロテアーゼ力価 [unit/g]	220	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出	未検出
アミノ酸スコア	86	0	-	-	-	-	-
食品の形態	粉末状	液状	ペースト状	カプセル状	粒状	粒状	液状

表 5 植物発酵液末 EX および対照品の酵素力価 2

	自社	参考例 1	参考例 2
	植物発酵液末 EX	大根	野菜ジュース
アミラーゼ力価 [unit/g]	49,000	30	未検出
酸性プロテアーゼ力価 [unit/g]	10	未検出	未検出
中性プロテアーゼ力価 [unit/g]	220	未検出	未検出
アミノ酸スコア	86	-	-
食品の形態	粉末状	-	-

## 小括

微生物の共培養については、Woods (1953 年) がその重要性を説いて以来、多くの研究者が関心を寄せることとなり<sup>39)</sup>、Challinor (1954 年) によってはじめて酵母と乳酸菌の共培養に関する研究成果が発表された<sup>40)</sup>。この Challinor (1954 年) の研究は、ある種のビタミン、核酸またはアミノ酸が欠損した培地では生育できない乳酸菌が、酵母との共培養によって生育できるようになったという内容である<sup>40)</sup>。国内における酵母と乳酸菌の共培養に関する研究は Nakamura ら (1961 年) が報告しており、その中で酵母と乳酸菌は互いにそれぞれの菌数へ影響を及ぼし、その傾向は培地成分にも影響を受けることが示されている<sup>41)</sup>。これは、両者の微妙な存在バランスが重要であると推測されるが、実際に醤油製造過程のもろみにおいて、両者のバランスや培養条件によっては互いの生育が拮抗する場合もあると言われている<sup>42,43)</sup>。

しかし、伝統的発酵食品では酵母と乳酸菌の共存バランスが保たれている。これは両者の共培養は何らかの利点があると推察される。酵母の多くは、多糖やタンパク質、脂質などの分解酵素を菌体外に分泌できない。一方のグラム陽性菌である乳酸菌は、菌体外に多様な酵素を分泌するが多い。これは、酵母がブドウ糖など単糖の糖を含む果物を基質にした環境で生育する場合には大きな問題はないが、多糖やタンパク質、脂質などを含む穀物を基質にした環境で生育する場合には、乳酸菌の菌体外酵素が重要な要素になるものと考えられる。また、乳酸菌は一般に栄養要求性が高く、例えば、アミノ酸、不飽和脂肪酸、ビタミンなどを要求する。先述した Challinor (1954 年) の研究<sup>40)</sup> より、酵母との共培養によってアミノ酸やビタミン、核酸などが発酵過程中に補われることが明らかにされていることから、乳酸菌は貧栄養環境下でも酵母と共

存すれば生育が可能となる場合があるものと推察される。さらに、酵母は酸素存在下では乳酸をはじめとする有機酸を資化することができる。乳酸菌は自ら生産した乳酸により死滅する場合があるが、その環境は酵母との共存により緩和されると考えられる。以上のように、酵母と乳酸菌は、植物がもたらす炭水化物やタンパク質などを栄養源に、相互に協力しながら進化してきたと考えられ、彼らが共存しているのは偶然ではなく、必然であるとも言える。

このようなことから、本植物発酵製品は 100 種類以上の原材料およびヒノキ樽由来の酵母や乳酸菌などの微生物が原材料からの有機物を栄養素として、相互に関連しながら代謝・発酵することで独自の発酵物が得られたと考えられる。

## 第2部 植物発酵製品の生化学的性質

### はじめに

ヒトは生命維持のために酸素 ( $O_2$ ) を空気中から取り込み、その酸素は赤血球に含まれるヘモグロビンに結合して全身に運ばれる。最終的に酸素は細胞内のミトコンドリアにおいてエネルギーの ATP 産生に関わるグルコース分解に利用される。酸素は相手分子から電子を奪いやすい性質 (酸化力) が強いので、生物はエネルギー生産の場で電子伝達機構の電子受容体として利用されてきた<sup>44)</sup>。このように酸素は人体のエネルギー産生に不可欠な分子であるが、その性質がゆえに電子受容過程において不安定な活性酸素分子種 (Reactive Oxygen Species: ROS) が発生する。体内における酸素の 1-3% はさまざまな条件によって ROS に変化する。ROS は反応性が高いラジカル (不対電子を持つ) と不対電子を持たない非ラジカルに大別される<sup>45)</sup>。ラジカルにはスーパーオキシドラジカルやヒドロキシラジカル、一酸化窒素などが該当し、非ラジカルには過酸化水素や一重項酸素、オゾンなどが該当する。また、酸素に由来せず不対電子を持つラジカル (DPPH ラジカルなど) も存在する。

これら ROS は酸化ストレス状態への移行に関わり、酸化ストレスは肌や身体の老化<sup>46,47)</sup> の他に、糖尿病、脂質代謝異常、動脈硬化症、心血管疾患などの疾患の発症・進行に関与する<sup>48)</sup>。また、ROS は糖化最終生成物 (Advanced Glycation End Products: AGEs) の生成促進にも関連する。生体中ではアミノ酸やタンパクとグルコースなどの還元糖が非酵素的に反応し、不可逆的な物質の糖化タンパクであるアマドリ化合物となる。アマドリ化合物は 3-デオキシグルコソン (3-deoxyglucosone: 3DG), グリオキサール (glyoxal), メチルグリオキサール (methylglyoxal), グリセルアルデヒド (glyceraldehyde), グルタルアルデヒド (glutaraldehyde) などのカルボニル化合物を中心とする中間体生成を経て、AGEs に至る。タンパク質が AGEs 化するとタンパク質間で架橋形成され、組織間が硬化するために弾力性や柔軟性が低下する。AGEs は受容体となる RAGE (receptor for AGEs) と結合し、細胞内シグナルを活性化させ、炎症性サイトカインの発生を誘発する。そのため、生体中の AGEs 生成や蓄積は細胞や組織に障害をもたらすこととなる<sup>49)</sup>。AGEs の生成は皮膚の老化や糖尿病、動脈硬化、神経変性疾患などさまざまな状態や疾患の要因と考えられている<sup>49)</sup>。

以上を踏まえると、ROS の除去や AGEs 生成の阻害は老化現象の抑制やヒトの健康を維持する上で重要なアプローチと言える。各植物発酵製品は抗酸化物質を含むさまざまな野菜・果物・海藻類を原料としていることや、抗酸化性などの機能性が微生物による発酵過程で変化することなどから、植物発酵製品の抗酸化作用が期待され、これまでに各植物発酵物における ROS に対する作用や ROS の過剰生成によって促進される糖化作用に対する効果が検証されてきた<sup>50)</sup>。第2部では生化学的性質の調査より得られた各植物発酵製品の機能の可能性について述べる。

### 1. 抗酸化効果

#### 1-1. 植物発酵ペースト AO の抗酸化作用<sup>16)</sup>

植物発酵ペースト AO においては、スーパーオキシドラジカルやヒドロキシラジカル、過酸化水素などに対する消去能を検証した。なお、植物発酵ペースト AO 非添加のコントロール区との比較により、消去能の評価を行った。

スーパーオキシドラジカル消去能を評価した試験では WST 還元法を用いた。発生したスーパーオキシドラジカルにより WST (指示薬) が還元されると黄色に発色するため、スーパーオキシドラジカルを消去した場合、その発色は減少することを示している。この手法により 0.83% 以上の植物発酵ペースト AO 溶液において著しい発色の低下が示され、高いスーパーオキシドラジカル消去能が認められた (図 15, A)。植物発酵ペースト AO の 50% 阻害濃度 ( $IC_{50}$ ) は 0.018% であった。

ラジカル消去能を評価した試験では、2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) を用いたラジカル消去能を評価した。DPPH は通常、ラジカル状態で紫色を呈している。抗酸化物質により DPPH からラジカルが奪われた場合、液色は無色に変化することで評価物質のラジカル消去能を評価できる。0.5% 濃度以上の植物発酵ペースト AO 溶液において液色の減少を示し、90% 以上のラジカル消去能が認められた。これは陽性対照であるアスコルビン酸 (ビタミン C) と比較しても高いラジカル消去能であった (図 15, B)。植物発酵ペースト AO の 50% 阻害濃度 ( $IC_{50}$ ) は 0.15% であり、陽性対照であるアスコルビン酸の  $IC_{50}$  値が 1.08 mM であったことから植物発酵ペースト AO は約 1 mM のアスコルビン酸相当の抗ラジカル能を有すると考えられる。

ヒドロキシラジカルに対する消去能は、Hydroxyl Radical Antioxidant Capacity (HORAC) 活性より換算した。標準抗酸化剤である Gallic acid (GAE) のラジカル消去をもとに標準曲線を作成し、植物発酵ペースト AO のヒドロキシラジカル消去能を GAE 相当量として算出した結果 (HORAC 値), 47.3  $\mu$ Mole GAE/g であった。

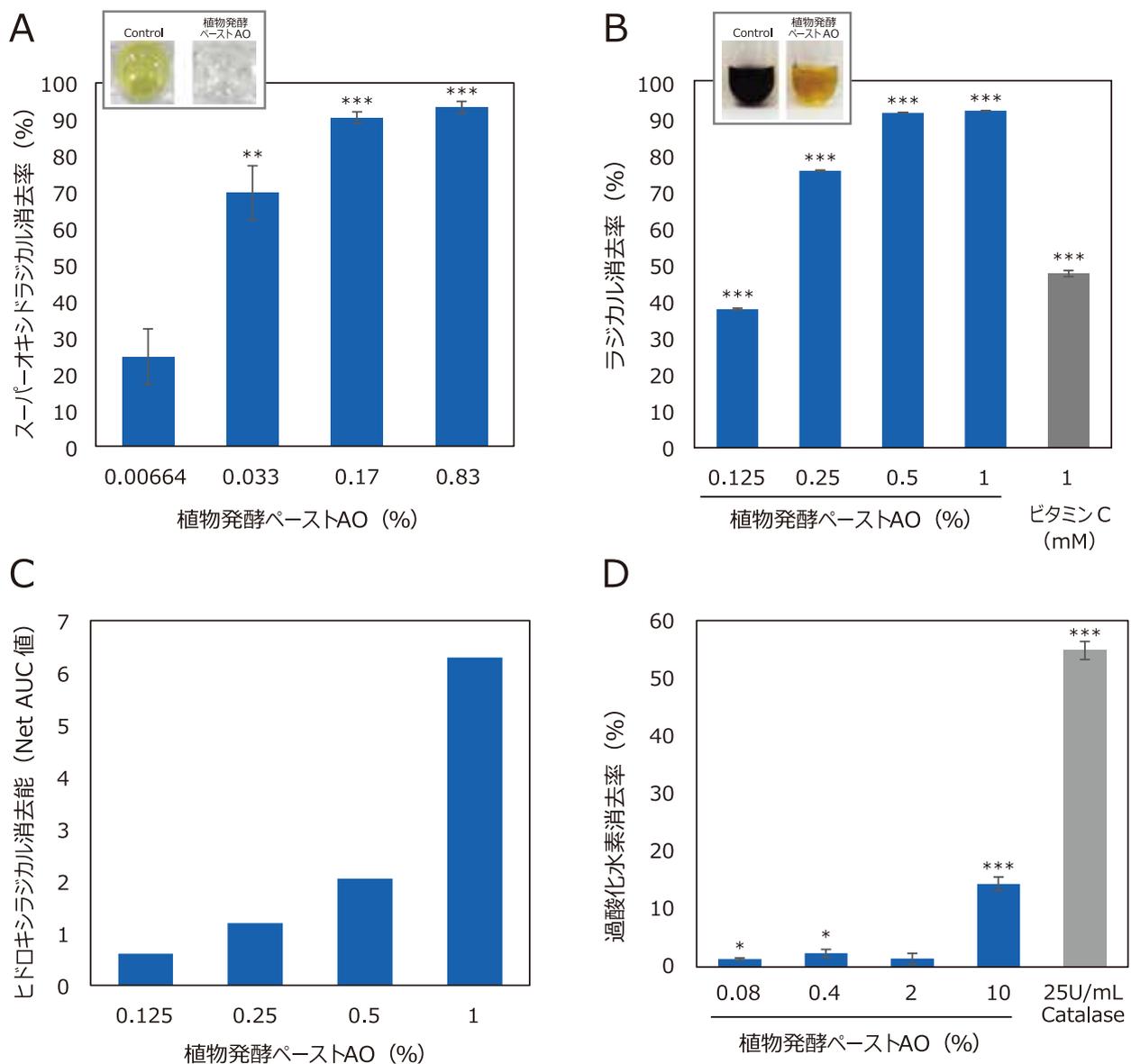


図 15 植物発酵ペースト AO の抗酸化効果

A) 抗スーパーオキシドラジカル ( $n = 5$ ), B) 抗ラジカル試験 ( $n = 5$ ),

C) 抗ヒドロキシラジカル ( $n = 1$ ), D) 抗過酸化水素 ( $n = 5$ )

平均値  $\pm$  標準誤差

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  (vs. Control)

た (図 15, C)。ニンジンの HORAC 値が 1.07  $\mu\text{Mole GAE/g}$ 、キュウリは 1.58  $\mu\text{Mole GAE/g}$  であることから、それらの約 30 倍のヒドロキシラジカル消去能があると考えられる<sup>51)</sup>。

過酸化水素に対する消去能は過酸化水素指示薬の変色を用いて評価された。過酸化水素に指示薬が反応すると紫色に発色する。過酸化水素が評価物質により分解された場合、その発色は減少することで抗過酸化水素能を評価することができる。その結果、10% 濃度の植物発酵ペースト AO 溶液において約 14% の過酸化水素消去を示した。陽性対照であるカタラーゼは 25 U/mL の濃度において約 50% の過酸化水素の消去を示した (図 15, D)。

4 種の ROS に対する消去能を評価したところ、特にスーパーオキシドラジカルおよびヒドロキシラジカル、フリーラジカル消去能において優れた効果を示すことが確認された。

### 1-2. 植物発酵液 SW の抗酸化作用<sup>17)</sup>

植物発酵液 SW においても、植物発酵ペースト AO 同様の手法にてスーパーオキシドラジカルやヒドロキシラジカル、過酸化水素などに対する消去能を検証し、それらの程度は植物発酵液 SW 非添加のコントロー

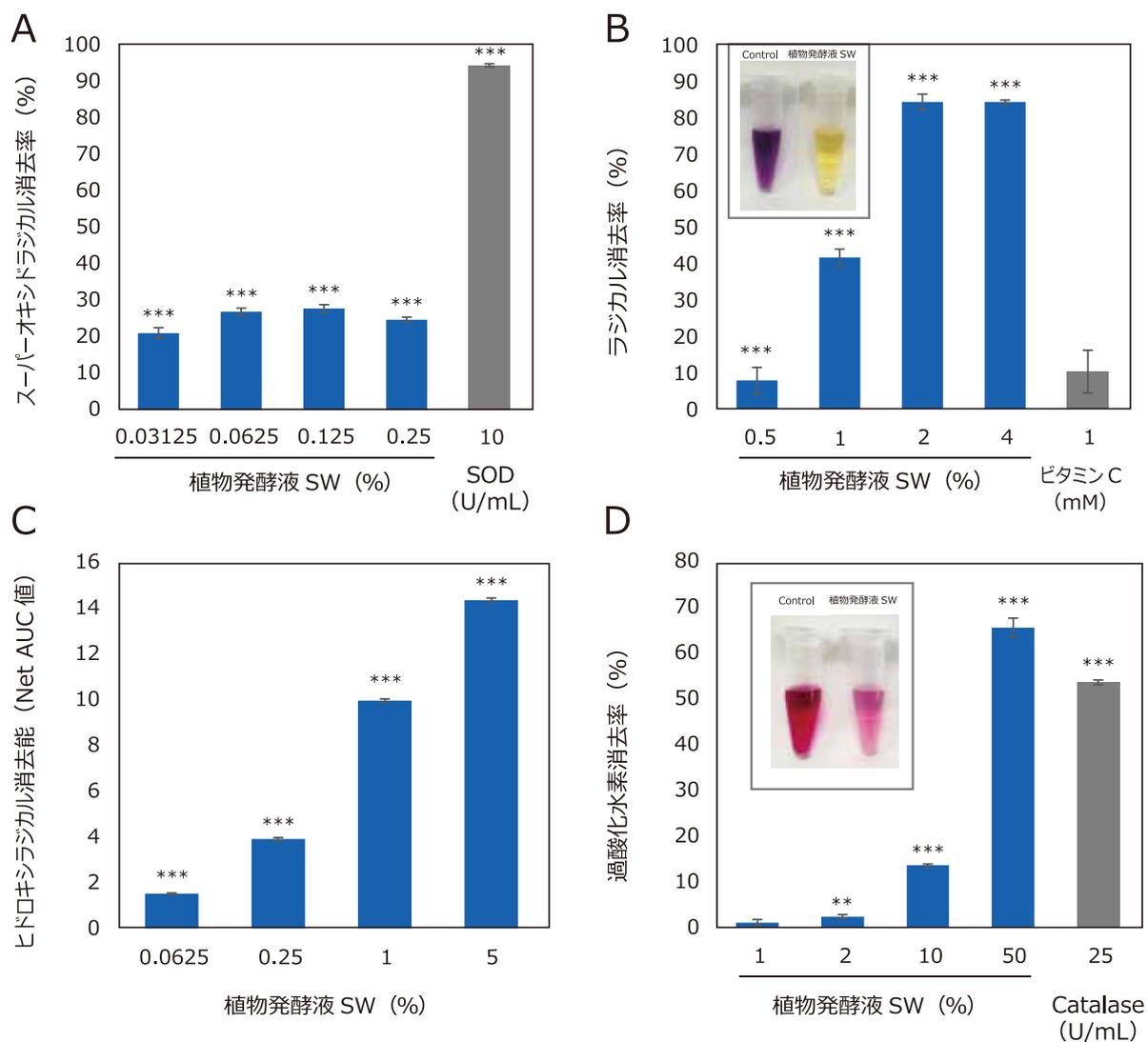


図 16 植物発酵液 SW の抗酸化効果

A) 抗スーパーオキシドラジカル ( $n = 5$ ), B) 抗ラジカル試験 ( $n = 5$ ),

C) 抗ヒドロキシラジカル ( $n = 5$ ), D) 抗過酸化水素 ( $n = 5$ )

平均値  $\pm$  標準誤差

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  (vs. Control)

ル区との比較により評価した。

スーパーオキシドラジカルに対する影響を検証した結果、陽性対照区として設定したスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) よりも消去率は劣るものの、設定した全ての植物発酵液 SW 添加区において約 20–30% のスーパーオキシドラジカル消去率が確認された (図 16, A)。

植物発酵液 SW のラジカルに対する影響を評価した結果、植物発酵液 SW 2–4% 濃度を飽和として著しい発色の低下を示し、高いラジカル消去能が認められた (図 16, B)。陽性対照として設定したビタミン C 添加区においてもラジカル消去能が確認されたが、植物発酵液 SW 1% 濃度区以上ではビタミン C 添加区よりもラジカル消去率が高かった (図 16, B)。

ヒドロキシラジカルに対する影響を評価した結果、植物発酵液 SW は濃度依存的にヒドロキシラジカル消去能を示すことが確認された (図 16, C)。さらに GAE 標準曲線をもとに植物発酵液 SW のヒドロキシラジカル消去能を GAE による消去能として算出した結果 (HORAC 値), 161.9  $\mu\text{Mole GAE/g}$  であった。これは植物発酵ペースト AO より高いヒドロキシラジカル消去能であった。

過酸化水素に対する影響を検証した結果、2% 以上の植物発酵液 SW 添加区において反応液色の減少が確認され、過酸化水素消去能が認められた (図 16, D)。50% 植物発酵液 SW 添加区に至っては、陽性対照として設定したカタラーゼ添加区の消去率よりも高い値が確認された (図 16, D)。

植物発酵液 SW によるスーパーオキシドラジカルおよび過酸化水素、ヒドロキシラジカル、DPPH ラジカルの消去能を評価した結果、いずれの活性酸素ならびにフリーラジカルに対しても消去能を示すことが確認された。植物発酵ペースト AO と植物発酵液 SW の抗酸化能を比較した場合、スーパーオキシドラジカルおよびラジカル消去能は植物発酵ペースト AO の方が強く (同濃度比較)、過酸化水素に対する消去能は両者で同程度であった。一方、植物発酵液 SW のヒドロキシラジカル消去能は植物発酵ペースト AO の約 3.5 倍であった。これらの結果からそれぞれの植物発酵製品の製造手法の違いにより特異的な抗酸化能を取得すると考えられる。

## 2. 抗糖化効果

### 2-1. 植物発酵製品の抗糖化作用<sup>52)</sup>

植物発酵ペースト AO の抗糖化作用を検証するためにソルボース (糖) とアルギニン (アミノ酸) との糖化反応における抑制効果を検証した。その結果、2% 以上の植物発酵ペースト AO で有意な糖化抑制が認められた (図 17-1)。

植物発酵液 SW のグリセルアルデヒド -AGEs 生成過程に及ぼす影響を検証したところ、0.125% 以上の植物発酵液 SW において有意にグリセルアルデヒド -AGEs の産生が阻害された (図 17-2)。一方、糖化阻害物

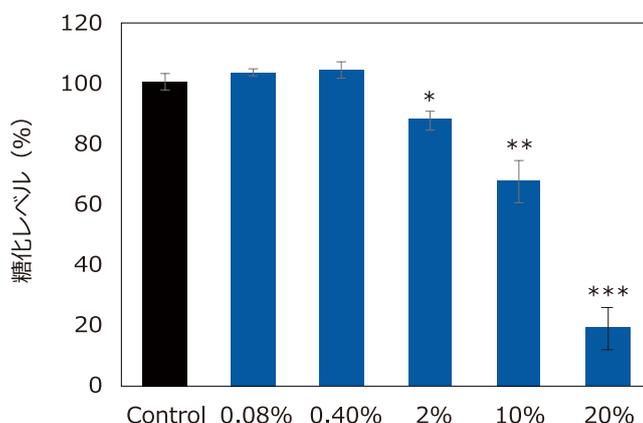


図 17-1 植物発酵ペースト AO の抗糖化作用 (ソルボース・アルギニンメイラード反応)

平均値 ± 標準誤差

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  (vs. Control)

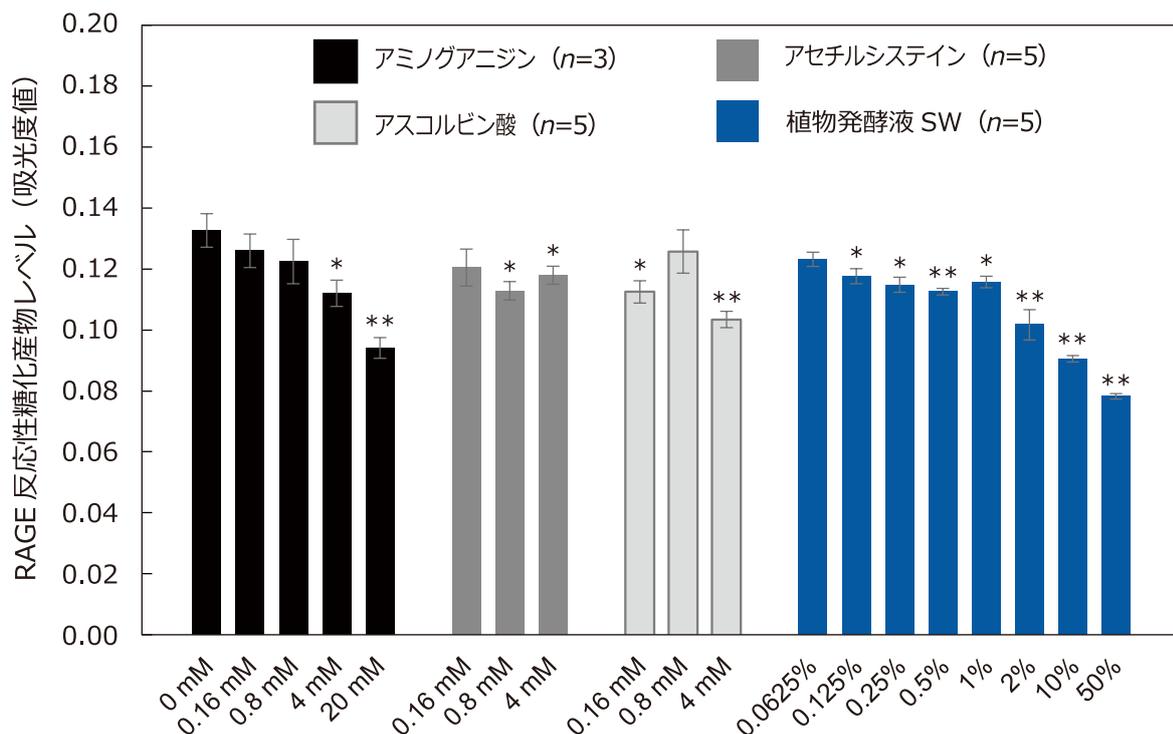


図 17-2 植物発酵液 SW の抗糖化作用 (RAGE 反応性糖化試験)

平均値 ± 標準誤差

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  (vs. アミノグアニジン 0mM)

質であるアミノグアニジンでは阻害作用を確認した (図 17-2)。また、参考物質であるアスコルビン酸およびアセチルシステインにおいても阻害作用が確認された (図 17-2)。

グリセルアルデヒド-AGEs は、グリセルアルデヒドとタンパク質の反応で生成され、グリセルアルデヒドは解糖系で生じるグリセルアルデヒド-3-リン酸とポリオール経路で生じるフルクトースの代謝物であるフルクトース-1-リン酸が反応することで生成される。この生成経路は一部の AGEs 生成経路に過ぎないが、植物発酵ペースト AO や植物発酵液 SW が AGEs 阻害作用を示すことは明らかとなった。

### 小括

ROS の生成過程において酸素が紫外線などで励起した状態が一重酸素であり、これに 1 電子が供与されるとスーパーオキシドアニオンラジカルとなる。スーパーオキシドアニオンラジカルが 2 分子重合すると過酸化水素となり、過酸化水素が均等分裂した状態がヒドロキシラジカルとなる。この一連の ROS 生成過程が生体内のエネルギー産生過程 (電子伝達過程) で生じる。これら一重酸素およびスーパーオキシドアニオンラジカル、過酸化水素、ヒドロキシラジカルの分子種が活性酸素と呼ばれる一方で、他の分子種がこれらの活性酸素により電子 (ラジカル) 転移を受けて活性化した分子をフリーラジカルと呼ぶ (図 18)。植物発酵ペースト AO や植物発酵液 SW は、これら ROS に対して速やかに電子を供給する、つまり抗酸化作用を示すことで ROS を消去することが上記の実験より確認された。さらに植物発酵液 SW においては AGEs 阻害作用 (抗糖化作用) についても確認された。植物発酵液 SW の抗酸化作用により、それと関連する糖化反応も抑制されたと考えられる。これらの結果より植物発酵製品は抗酸化作用や抗糖化作用を介して、酸化ストレスや糖化を起因とする肌や身体の老化<sup>46,47)</sup> や糖尿病などの状態ならびに疾患を改善または予防に貢献する可能性が明らかにされた。

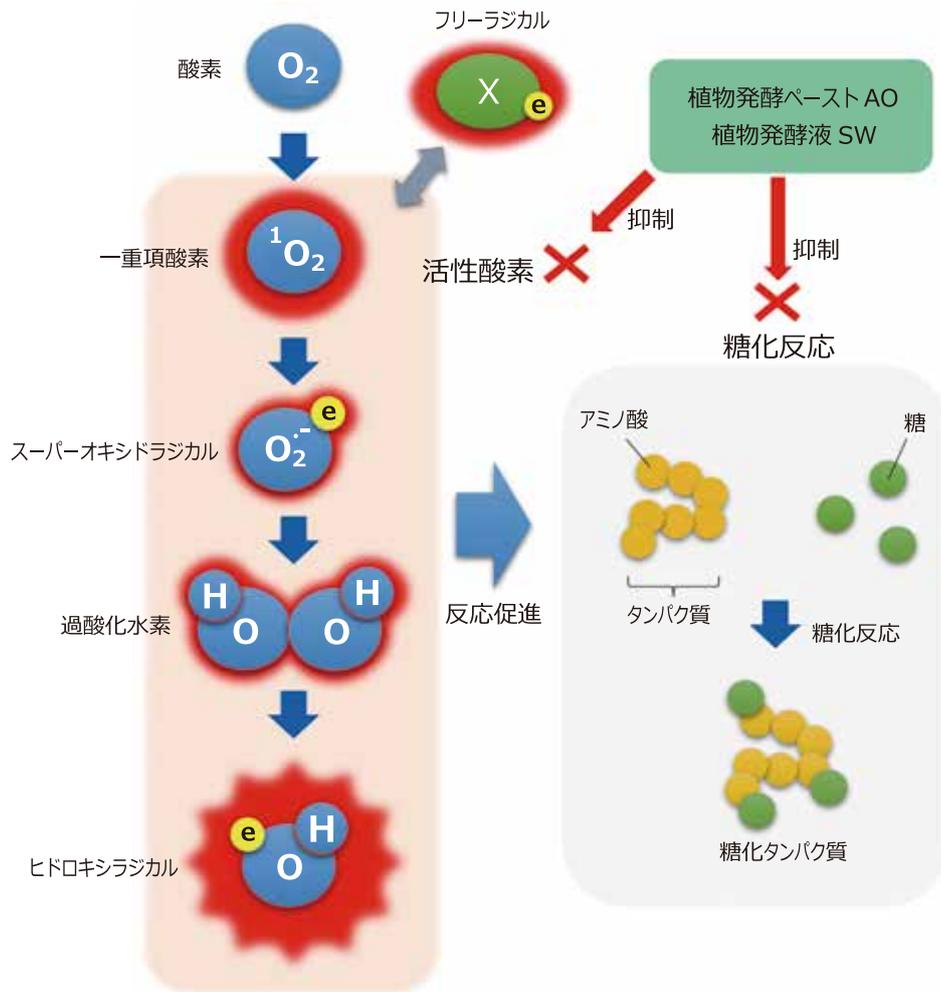


図 18 植物発酵ペースト AO および植物発酵液 SW の抗酸化・抗糖化作用

### 第3部 植物発酵製品の細胞レベルでの抗酸化作用

#### はじめに

第2部で述べたように ROS は、DNA やタンパク質、脂質など生物を構成する要素を酸化し損傷を与える。生物では太陽からの紫外線が ROS 産生に大きく関与している。短波長紫外線 (UV-B) 照射は NADPH oxidase (NOX) と呼吸連鎖反応を活性化することでスーパーオキシドアニオンラジカルが発生する<sup>53,54)</sup>。さらに、長波長紫外線 (UV-A) は、NOX の活性化と AGEs の光増感反応によりスーパーオキシドアニオンラジカルを発生させる。また、リボフラビンやポルフィリンなどクロモアフォア系を介した光増感反応により一重項酸素が発生し、AGEs では RAGE を介して細胞内 ROS レベルを上昇させる<sup>55,56)</sup> (図 19)。一方、内因性要因としてミトコンドリアや様々な代謝反応過程で ROS が発生する。ヒトが生命を維持する上で必要なエネルギーである ATP は細胞内のミトコンドリアから産生され、酸素を消費するミトコンドリアではその過程において ROS が発生する。その一方、ミトコンドリアは自身から発生した ROS の危険性に常に晒されている (図 19)。ミトコンドリアは細胞内のイオン調整や ROS 産生と除去、細胞の代謝などにも関わる。ミトコンドリアの機能が低下すると ROS 除去の機能も低下することから、過剰に産生された ROS が細胞膜脂質や DNA、タンパク質などを損傷させ<sup>57-59)</sup>、老化や老化に起因する代謝疾患、神経変性疾患などを引き起こす要因となる<sup>60-63)</sup>。特に外見の変化として、細胞の代謝機能の低下やタンパク質の変性に伴い、肌ではシワやシミなどの現象が確認される<sup>64,65)</sup>。

上述のような ROS の一次的作用の他に二次的作用も生体に大きな影響を及ぼす。ROS は activator protein-1 や nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) などの転写因子の生理的活性化因子であり、これらの転写因子は tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8 などの炎症性サイトカインの転写を調節することが知られている<sup>66)</sup>。炎症状態の慢性化はインスリン抵抗性や 2 型糖尿病、心血管疾患などいくつかの疾患の病因とも考えられている<sup>67,68)</sup>。さらに、AGEs の RAGE への結合は NF- $\kappa$ B の活性化を引き起こし、炎症性サイトカインを誘発する他、RAGE 自体の発現も高め、炎症反応を促進する<sup>69)</sup>。

このように ROS や AGEs は細胞機能の低下や炎症反応を促進する要因となるため、抗酸化作用や抗糖化作用を介したこれら反応の抑制を試み、植物由来のポリフェノールやフラボノイド類などに着目した研究が数多く行われてきた<sup>70)</sup>。第2部で述べた植物発酵製品の生化学的性質の調査では、植物発酵ペースト AO お

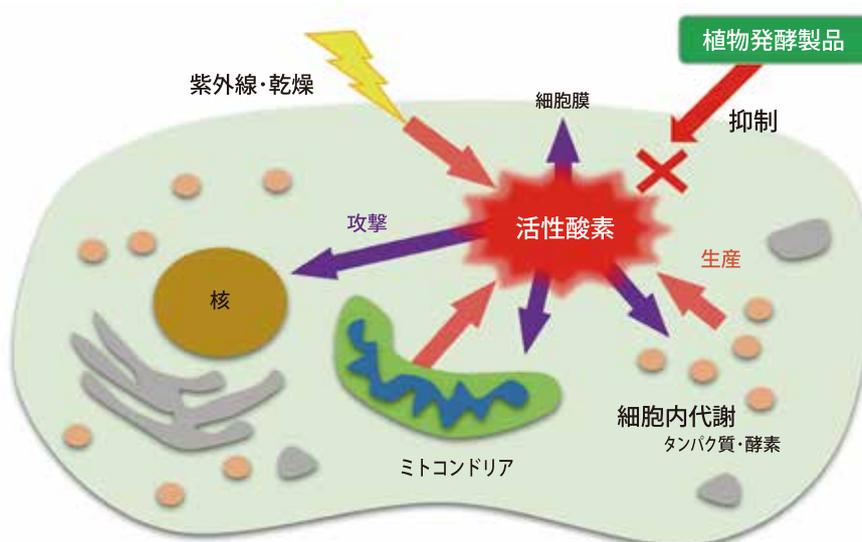


図 19 細胞における活性酸素生産と植物発酵製品による抗酸化作用

よび植物発酵液 SW において抗酸化作用が確認され<sup>16, 17)</sup>、植物発酵液 SW については抗糖化作用<sup>52)</sup>も示すことが明らかになった。そこで、我々は各植物発酵製品が示す抗酸化作用および抗糖化作用がもたらす細胞への影響を検証することとし、表皮細胞、褐色脂肪細胞、骨格筋細胞またはマクロファージにおいて各種ストレスにおける保護作用やミトコンドリア賦活作用、成長因子発現促進作用、炎症抑制作用などを調査した(図 19)。第 3 部ではこれら評価の結果について述べる。

### 1. 表皮細胞におけるストレス保護作用<sup>16, 71)</sup>

ROS に関連したストレスに対する評価では、酸化ストレスおよび紫外線ストレスに加え、乾燥ストレスに対する効果も検証した。皮膚組織において「紫外線ストレス・酸化ストレス」と「乾燥ストレス」は密接に

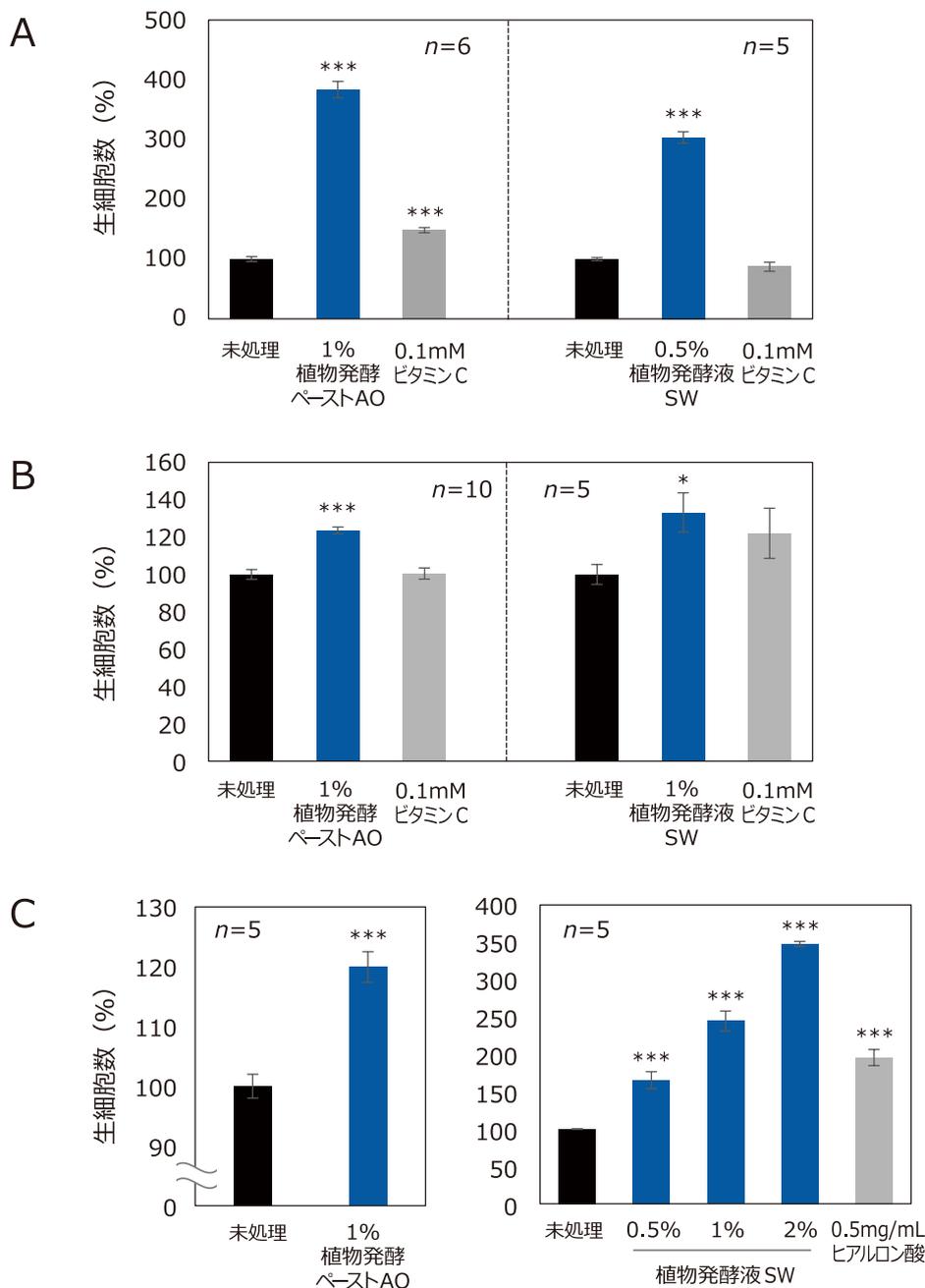


図 20 表皮細胞におけるストレス保護作用 (植物発酵ペースト AO, 植物発酵液 SW)

A) 酸化ストレス後の生細胞数, B) 紫外線ストレス後の生細胞数, C) 乾燥ストレス後の生細胞数

平均値 ± 標準誤差

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  (vs. ストレス負荷時の未処理)

関連しており、紫外線により ROS ストレスが上昇することで皮膚の乾燥が促進することが知られている<sup>72)</sup>。実際に冬季の乾燥期にはヒト皮膚の酸化ストレスマーカーであるカルボニル化タンパク質が上昇するが、乾燥からの保護は ROS ストレスから間接的に守ることもあると考えられている<sup>73)</sup>。また、紫外線の暴露も ROS 産生の要因となり、皮膚細胞における DNA 損傷をもたらすことが明らかにされている<sup>74)</sup>。

植物発酵ペースト AO において<sup>16)</sup>、表皮細胞を用いて酸化ストレスに対する保護作用を評価した試験では、ストレス刺激前に植物発酵ペースト AO を細胞培養する培地に添加することで酸化ストレスに対して保護性を示すことが確認され、代表的な抗酸化物質であるビタミン C よりその効果は顕著であった (図 20, A)。紫外線ストレス (UV-B) に対する保護作用を評価した試験では、ストレス刺激と同時に植物発酵ペースト AO を細胞培養する培地に添加することで有意な保護性が認められた (図 20, B)。乾燥ストレスに対する保護作用を評価した試験では、ストレス刺激前に植物発酵ペースト AO を細胞培養する培地に添加することで乾燥ストレスに対して保護作用を示すことが確認された (図 20, C)。

植物発酵液 SW では<sup>71)</sup>、酸化ストレス下において、植物発酵液 SW 処理区で有意に保護性を示し、陽性対照であるビタミン C より強い保護性を示した (図 20, A)。また、紫外線ストレス下においては、植物発酵液 SW 処理区でビタミン C と同程度の保護性が確認された (図 20, B)。乾燥ストレス下において植物発酵液 SW 処理区で濃度依存的に有意に保護性を示し、陽性対照であるヒアルロン酸添加区より保護性が強かった (図 20, C)。

これらの結果より、植物発酵ペースト AO および植物発酵液 SW はそれらに含まれる抗酸化物質の作用を介して細胞を直接的に酸化ストレスから保護している可能性が考えられる。さらに植物発酵物を含む成分が細胞内の抗酸化遺伝子を誘導し、それにより間接的に酸化耐性や乾燥耐性をもたらしたことが示唆された。

## 2. 褐色脂肪細胞および骨格筋細胞におけるミトコンドリア賦活作用<sup>16)</sup>

前述のように、植物発酵製品には細胞レベルにおける抗酸化作用が認められた。細胞内での最大の ROS 発生源であるミトコンドリアは、過度な呼吸活動により発生した ROS の毒性に常に曝されている。過剰発生した細胞内 ROS を抑制することでミトコンドリアを ROS 毒性から保護し、ミトコンドリア機能を向上させることが期待される。そこで、植物発酵製品による褐色脂肪細胞および骨格筋細胞のミトコンドリア賦活作用を検証した。褐色脂肪は代謝的熱生産を行う特異的な脂肪組織においてエネルギーを消費することで体温維持やエネルギー調整を行なっている<sup>75)</sup>。多くのミトコンドリアが存在する褐色脂肪細胞を植物発酵ペースト AO 存在下で7日間培養した後に、細胞のミトコンドリアを特異的に染色する MitoTracker Red 染色を実施した。その結果、植物発酵ペースト AO の添加により染色されたミトコンドリアが多く確認された (図 21, A)。MitoTracker Red はミトコンドリアの膜電位依存的に染色することができる染色試薬で、健全なミトコンドリアをミトコンドリア量依存的に検出することができる。染色画像からミトコンドリア量を定量化したところ植物発酵ペースト AO 処理によりミトコンドリア量が有意に増加することが確認された。一方、ミトコンドリアの酵素活性を指標とする MTT 法にてミトコンドリア活性を検証した。その結果、植物発酵ペースト AO 存在下においてミトコンドリア活性が有意に増加することが確認されたが、両評価においてポリフェノールの一種であるレスベラトロールにはその効果は認められなかった (図 21, A)。骨格筋組織もまた多くのミトコンドリアが存在し、運動に伴うエネルギー消費に寄与する骨格筋細胞において、植物発酵ペースト AO 存在下で2日間培養しミトコンドリア賦活作用を検証した。その結果、植物発酵ペースト AO においても MitoTracker Red 染色量の増加が示され、ミトコンドリア量の有意な増大が確認された (図 21, B)。一方、ミトコンドリア活性はコントロールと有意な差異は認められなかった (図 21, B)。これらの結果より、植物発酵ペースト AO には褐色脂肪細胞においてミトコンドリア量と活性を高める機能があり、骨格筋細胞においてはミトコンドリア量を増大させる機能があることが考えられた。

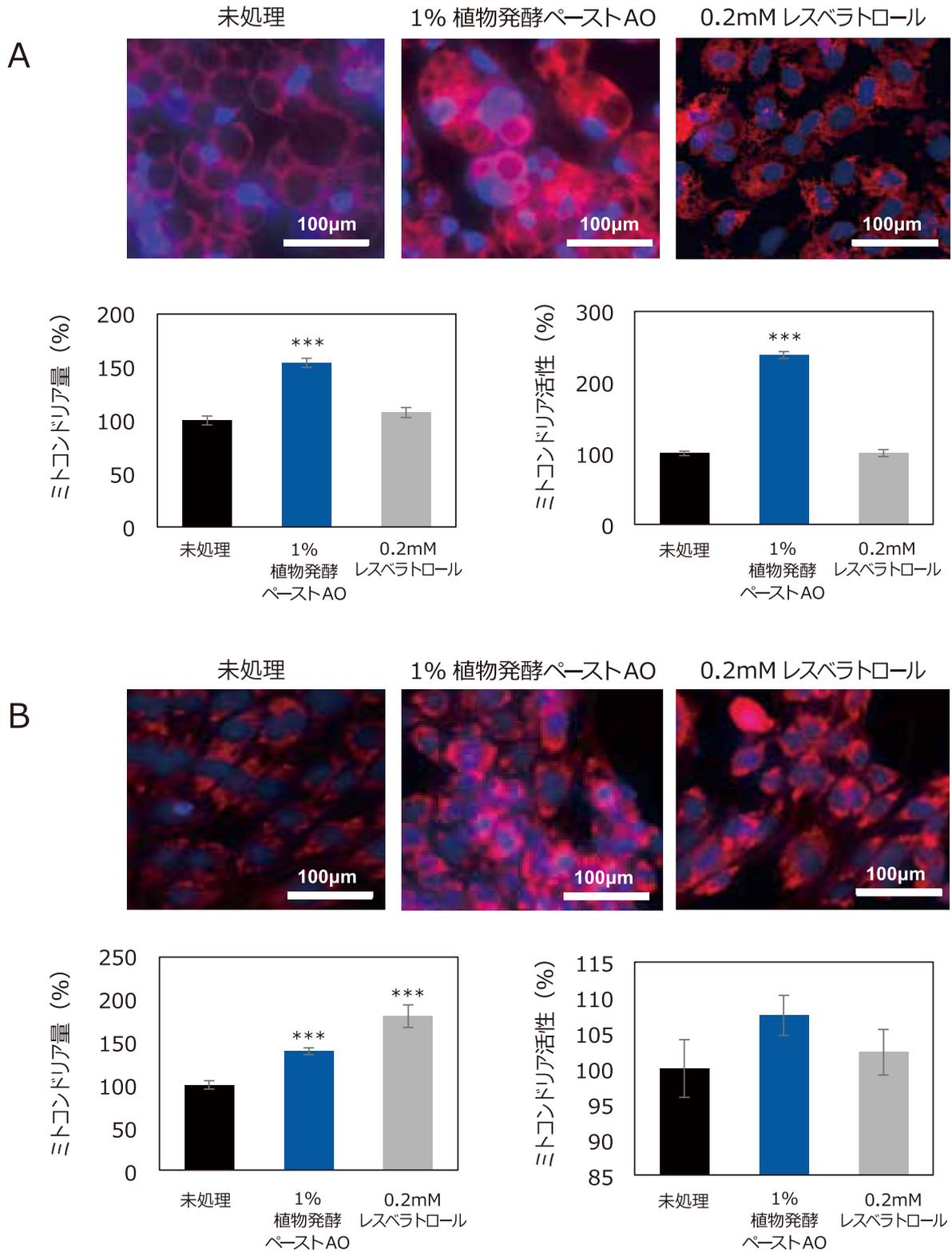


図 21 植物発酵ペースト AO によるミトコンドリア賦活作用

- A) 褐色脂肪細胞におけるミトコンドリア賦活作用  
 3日間培養後の MitoTracker Red 染色像 (赤), ヘキスト核染色 (青)  
 ミトコンドリア量 (7日間培養:  $n = 32$ ), ミトコンドリア活性 (7日間培養:  $n = 32$ )
- B) 骨格筋細胞におけるミトコンドリア賦活作用  
 2日間培養後の MitoTracker Red 染色像 (赤), ヘキスト核染色 (青)  
 ミトコンドリア量 (2日間培養:  $n = 8$ ), ミトコンドリア活性 (2時間培養:  $n = 8$ )

平均値 ± 標準誤差

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  (vs. 未処理細胞)

### 3. マクロファージにおける成長因子発現促進作用<sup>16, 76)</sup>

植物発酵製品によるミトコンドリア賦活作用が認められたことで効率的にエネルギーを獲得することによる細胞機能の向上が予想される。また、マクロファージは免疫の重要な因子であるが、皮膚組織においては皮膚の再生に重要な働きを担う細胞であることから、植物発酵製品がマクロファージの細胞機能の向上に寄与する可能性がある。マクロファージから分泌された線維芽細胞成長因子 (FGF) や表皮成長因子 (EGF) は皮膚組織の線維芽細胞や表皮細胞の細胞分裂を促進し、皮膚の再生を行うとされている。マクロファージからの成長因子遺伝子発現における植物発酵ペースト AO の作用を検証したところ、植物発酵ペースト AO により FGF-1, FGF-2 および EGF 遺伝子の発現が促進された (図 22, A, B, C)。一方、植物発酵液 SW では

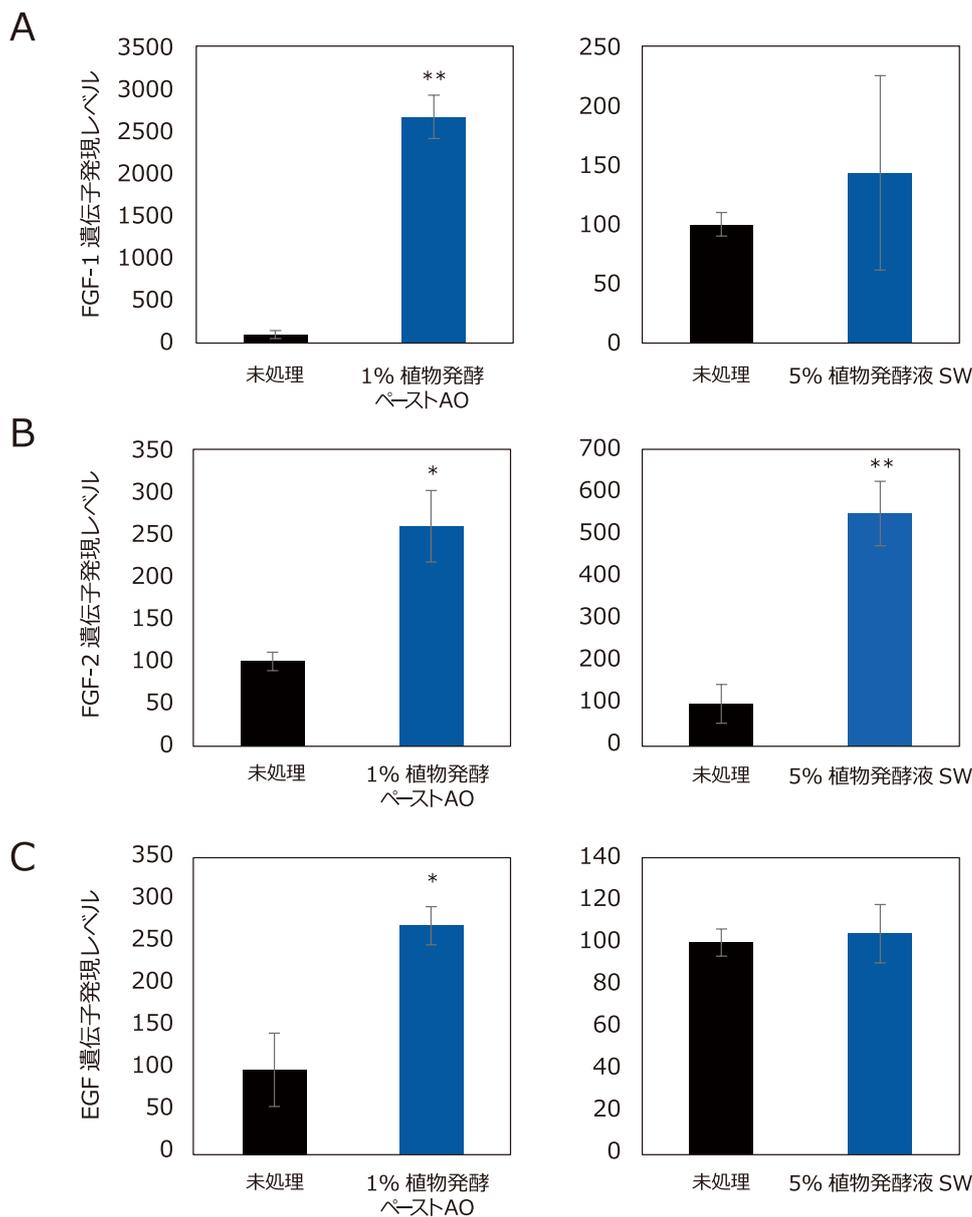


図 22 マクロファージにおける成長因子発現促進作用 (植物発酵ペースト AO, 植物発酵液 SW)

- A) FGF-1 遺伝子発現レベル (n = 3)  
植物発酵ペースト AO (2 時間処理), 植物発酵液 SW (24 時間処理)
- B) FGF-2 遺伝子発現レベル (n = 3)  
植物発酵ペースト AO (5 時間処理), 植物発酵液 SW (24 時間処理)
- C) EGF 遺伝子発現レベル (n = 3)  
植物発酵ペースト AO (2 時間処理), 植物発酵液 SW (24 時間処理)

平均値 (相対値) ± 標準誤差  
\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  (vs. 未処理細胞)

FGF-1 および EGF 遺伝子において有意な差異は認められなかった (図 22, A, C)。一方, FGF-2 遺伝子発現解析においては有意に発現が促進されることが確認された (図 22, B)。

これらの結果より, 植物発酵ペースト AO および植物発酵液 SW がマクロファージからの成長因子分泌を促進させ, 皮膚細胞の増殖を促進, 皮膚の健全性を維持していることが考えられた。

#### 4. 表皮細胞における成長因子発現促進作用<sup>16, 71)</sup>

植物発酵製品のマクロファージからの成長因子促進能が確認されたため, 次にマクロファージ同様に成長因子を分泌する表皮細胞での有効性を検証した。植物発酵ペースト AO および植物発酵液 SW を含む培地を調製し, 培養 2 時間後および 24 時間後の FGF-2 遺伝子の発現量を確認したところ, それぞれ FGF-2 遺伝子の発現が有意に高まることが確認された (図 23, A)。さらに植物発酵液 SW では EGF 遺伝子の発現促進が確認された (図 23, B)。これらの結果より植物発酵ペースト AO および植物発酵液 SW が表皮細胞からの成長因子分泌を促進させ, マクロファージと同様に皮膚の健全性を維持していることが考えられた。

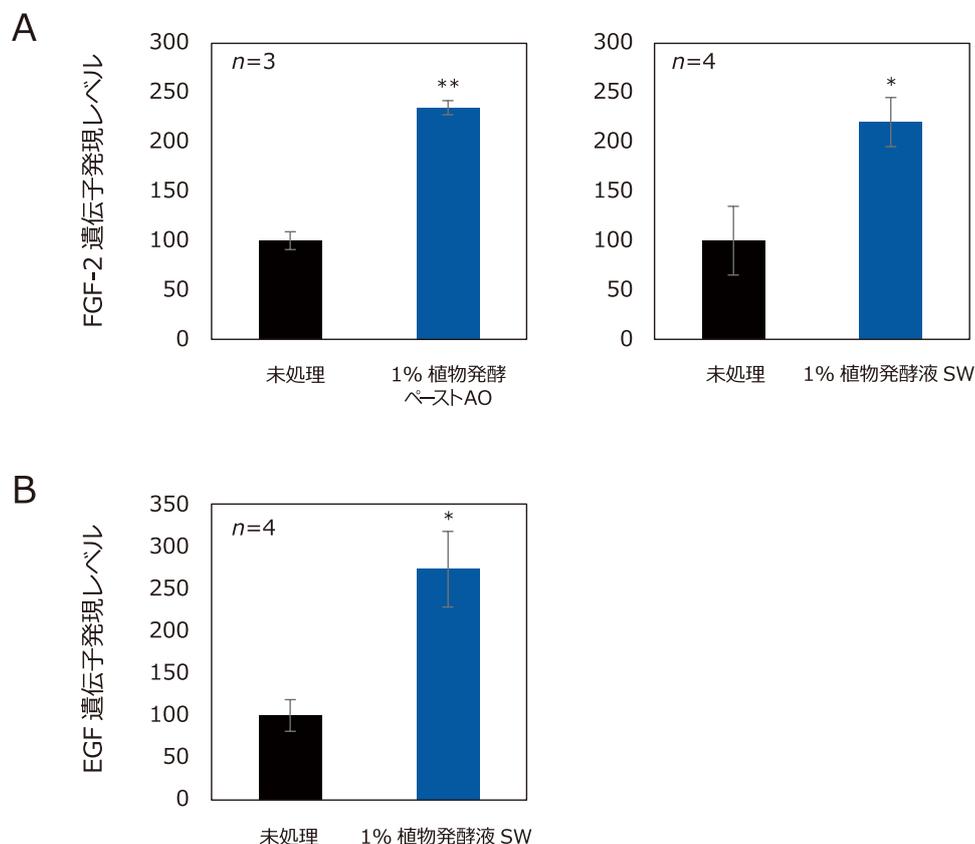


図 23 表皮細胞における成長因子発現促進作用 (植物発酵ペースト AO, 植物発酵液 SW)

- A) FGF-2 遺伝子発現レベル  
植物発酵ペースト AO (2 時間処理), 植物発酵液 SW (24 時間処理)
- B) EGF 遺伝子発現レベル (n = 3)  
植物発酵液 SW (24 時間処理)
- 平均値 (相対値) ± 標準誤差  
\*P < 0.05, \*\*P < 0.01 (vs. 未処理細胞)

#### 5. マクロファージにおける炎症抑制作用<sup>16, 76)</sup>

植物発酵製品のマクロファージへの有効性が認められたことから, マクロファージでの免疫機能についても検証した。マクロファージ分化誘導条件下において植物発酵ペースト AO を添加して 5 日間培養したところ, マクロファージ細胞数の増加が確認された (図 24, A)。これは植物発酵ペースト AO にマクロファ-

ジ分化誘導能があることを意味すると考えられる。また、細菌の構成成分であるリポ核酸 (LPS) でマクロファージを刺激することにより擬似的に炎症反応を誘導するとマクロファージから炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$  や IL-1 $\alpha$  が分泌される。これら炎症性サイトカインは細菌等に感染した細胞を、アポトーシスを介して細胞死をもたらす組織の修復へと繋げるが、過剰な炎症性サイトカインは正常細胞まで攻撃してしまう。炎症刺激剤として LPS で刺激し炎症状態を誘導した条件で植物発酵ペースト AO を添加して 2 時間培養したところ、炎症刺激で誘発される TNF- $\alpha$  および IL-1 $\alpha$  の遺伝子発現量が減少することが認められた (図 24, B, C)。一方の植物発酵液 SW では、添加後 2 時間の培養により LPS 刺激後の TNF- $\alpha$  および IL-1 $\alpha$  の遺伝子発現誘導が低下することが確認された (図 24, B, C)。これらの結果から植物発酵製品がマクロファージの免疫機能にも作用することが示された。

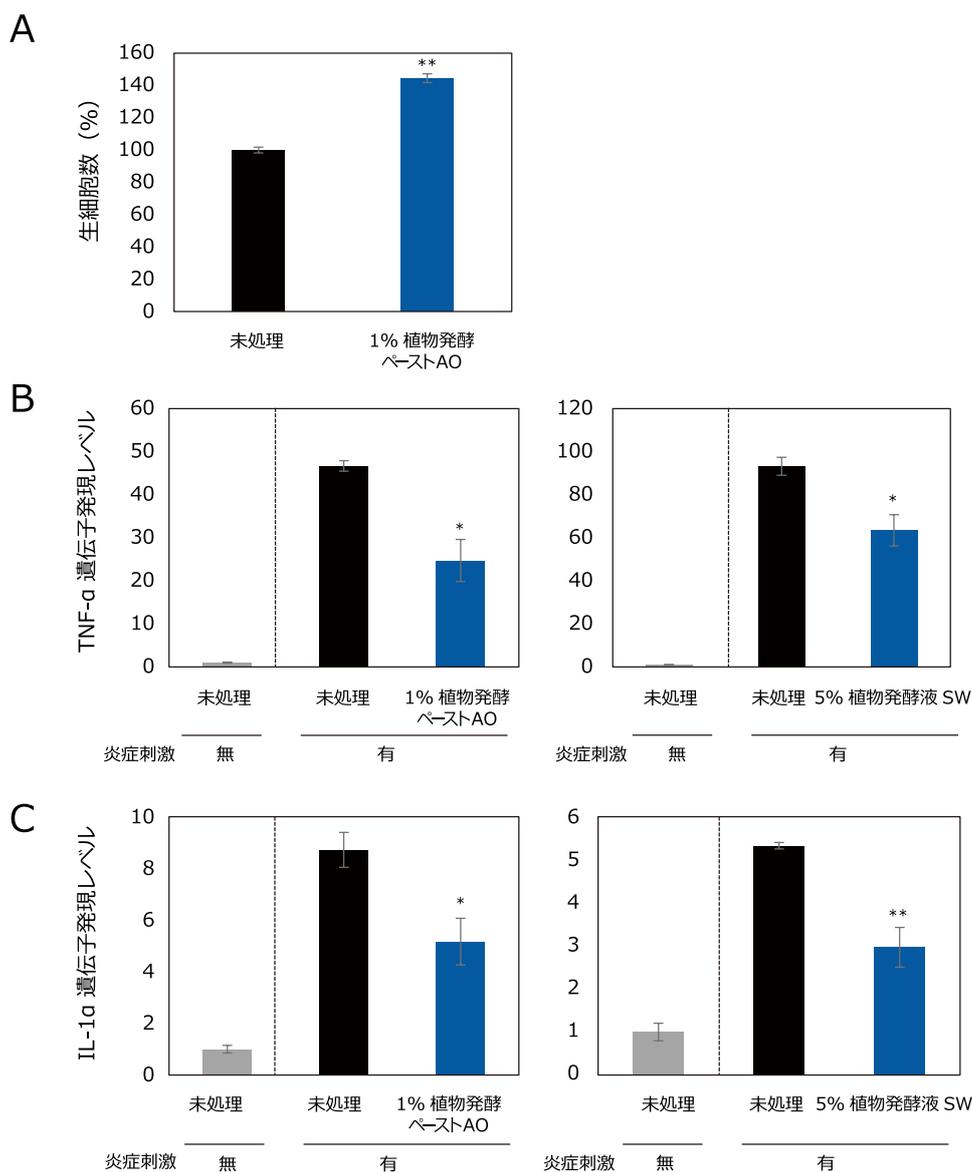


図 24 マクロファージにおける炎症抑制作用 (植物発酵ペースト AO, 植物発酵液 SW)

- A) マクロファージ分化誘導条件下での植物発酵ペースト AO による細胞賦活作用 (5 日間処理:  $n = 5$ )
- B) 炎症刺激 (LPS) 後の TNF- $\alpha$  産生抑制作用 (2 時間処理:  $n = 3$ )
- C) 炎症刺激 (LPS) 後の IL-1 $\alpha$  産生抑制作用 (2 時間処理:  $n = 3$ )

平均値 (相対値)  $\pm$  標準誤差

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  (vs. 炎症刺激時の未処理細胞)

## 小括

植物発酵製品が表皮細胞，褐色脂肪細胞，骨格筋細胞またはマクロファージにおいて酸化損傷やそれに付随するミトコンドリア機能や細胞の代謝機能の低下を抑制することが確認された。これらの結果から考えられる植物発酵製品における機能の作用機序を図 25 に示した。ROS は細胞膜脂質や DNA，タンパク質などを直接損傷<sup>57-59)</sup>させ、さらに損傷が進行すると細胞機能に関わるミトコンドリアなどの細胞小器官の損傷・機能低下へと繋がる。植物発酵製品の抗酸化作用によって過剰な ROS が除去されることで、表皮細胞における酸化・紫外線・乾燥ストレスの保護作用，ミトコンドリア機能の保全作用をもたらすと考えられる。ROS によるミトコンドリア損傷の回避はミトコンドリア機能の保全のみならず呼吸活性の補助をもたらし、さらなる機能の向上に繋がると考えられる。さらにミトコンドリア賦活作用による細胞機能の維持・促進は、成長因子分泌促進へ二次的に作用すると考えられる。これら直接および間接的作用は植物発酵製品の抗酸化作用による ROS 消去が関与したことがうかがえる。さらに免疫系を司るマクロファージにおける抗炎症作用は植物発酵製品の抗酸化作用による発生根源の抑制もあるが（後述），抗糖化作用による RAGE への結合抑制なども関わった可能性がある。

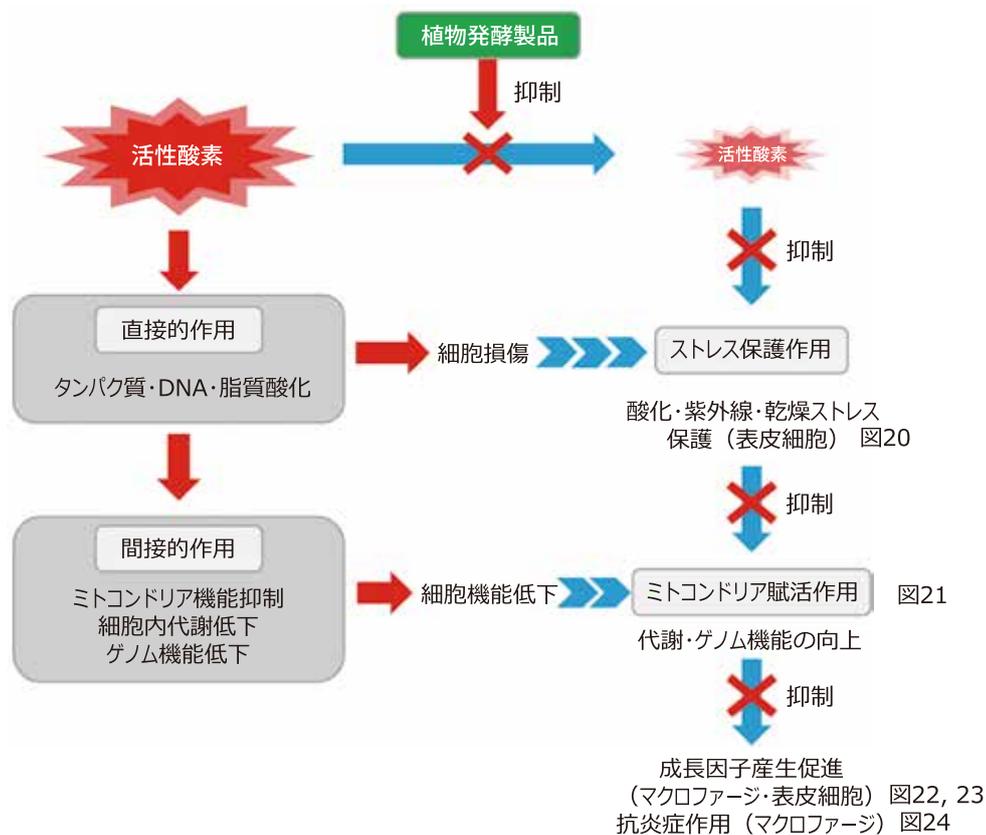


図 25 細胞における植物発酵製品の直接的および間接的抗酸化作用

植物発酵製品の抗炎症作用について少し踏み込んで考えてみると（図 26），マクロファージは自然免疫に該当する細胞であり，外部より細菌・ウイルスなどの異物が侵入した際に，獲得免疫に関わるヘルパー T 細胞にその情報を伝達する役割を担う<sup>77)</sup>。その後，自然免疫系に属する細胞は細菌などの異物排除にあたり，獲得免疫系に属する細胞はヘルパー T 細胞がマクロファージから取得した情報をもとに，液性免疫に属する B 細胞が異物に対して特異的な抗体を産生し，次の侵入時に対抗できるよう身体の防御機能を高める<sup>77)</sup>（図 26, A）。マクロファージはヘルパー T 細胞に対して炎症性サイトカインを産生することで情報を伝達するが<sup>78)</sup>，このような一連の流れも適切な範囲で機能が働くことが重要であり，時にマクロファージからの過剰な信号伝達が，正常細胞に対する排除機能をもたらしてしまうことがある（図 26, B）。このよ

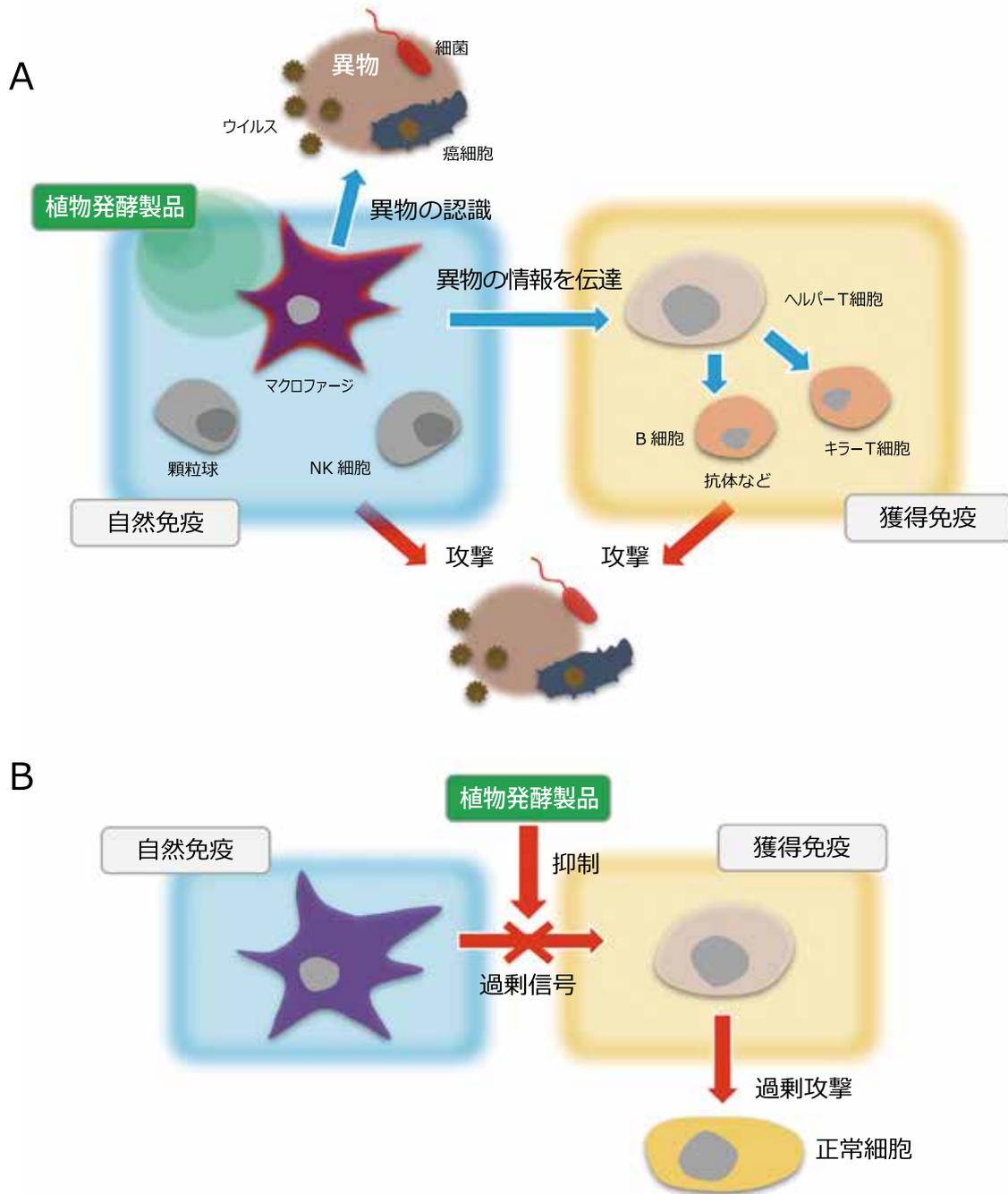


図 26 植物発酵製品の免疫賦活・抗炎症作用

- A) マクロファージは細菌などの異物を認識しヘルパー T 細胞などの獲得免疫細胞に異物情報を伝達する。それにより異物の特性に応じた攻撃が可能となる。植物発酵製品はマクロファージの分化誘導性を促進し免疫を賦活すると考えられる。
- B) マクロファージから獲得免疫への信号が過剰となると異物でない正常細胞まで攻撃してしまう (炎症反応)。植物発酵製品はマクロファージからの信号を適度に調整することで炎症を抑制 (抗炎症作用) すると考えられる。

うに免疫系では外敵に対して即座な対応 (アクセル) と過剰反応の抑制 (ブレーキ) のバランスが重要となる。植物発酵ペースト AO ではマクロファージ分化促進性が確認された。これはアクセルとなる免疫能を促進させることが考えられる。一方、マクロファージを用いた炎症性試験では植物発酵製品の炎症性サイトカイン産生抑制作用を確認した。この結果より、植物発酵製品は免疫系におけるアクセルとブレーキのバランスを保ち免疫の健全性に関与することが考えられた。これまでのように細胞レベルでは植物発酵製品の抗酸化作用および抗糖化作用さらに二次的な細胞機能の向上や免疫機能の維持など多岐に及ぶ細胞機能に作用することが期待されるが、より確証を得るために動物やヒトなど生体レベルにおける調査を進めた (第 5 部, 6 部)。

## 第4部 「植物発酵液 SW」の美白・育毛における機能性

### はじめに

第3部では、植物発酵ペースト AO および植物発酵液 SW の抗酸化作用ならびに抗糖化作用に起因する表皮細胞、褐色脂肪細胞、骨格筋細胞、マクロファージにおけるミトコンドリア機能の向上を介しての細胞機能への促進性を明らかにした。特に皮膚組織は紫外線や乾燥などの外的要因ストレスの環境に曝されており、酸化ストレスによる細胞機能やミトコンドリア機能の低下を招きやすい組織である。ROS の過剰生成は肌のターンオーバー機能低下やそれに起因する色素沈着との関連も報告されているため<sup>79)</sup>、植物発酵液 SW の抗酸化作用は ROS 消去能を介して美白効果が期待される。

また、我々は皮膚組織と同様に環境からのストレスに曝されている毛組織にも着目し研究を進めた。毛髪の成長と後退のサイクル（ヘアサイクル）は、毛包細胞間の血管内皮増殖因子（VEGF）や線維芽細胞増殖因子（FGF）などのシグナル分子によって制御されている<sup>80-82)</sup>。それらのシグナル分子の中で、血小板由来増殖因子（PDGF-AA）は、毛包の形成および、成長期の誘導と維持に重要な役割を担う<sup>83)</sup>。PDGF-AA はミトコンドリアの賦活化を介して ATP 生産を促すことが報告されている<sup>84)</sup>。また酸化ストレスが発毛遅延に関与することが示唆されており<sup>85)</sup>、その背景にはミトコンドリアの機能低下による活性酸素レベルの上昇が存在すると考えられている<sup>86)</sup>。したがって、ヒト頭髪毛乳頭細胞における植物発酵製品のミトコンドリア賦活化作用を介した毛髪機能の向上が期待される。

植物発酵液 SW は、主に皮膚組織に作用すると考えられるコラーゲンを含有しており、皮膚に関連した組織での有効性の向上が期待されている。第4部では植物発酵液 SW の肌機能性や美白効果、育毛効果に特化した検証結果を述べる。

### 1. 正常ヒト線維芽細胞における植物発酵液 SW の影響<sup>71, 87)</sup>

皮膚組織は表皮細胞が積層した表皮層と線維芽細胞からなる真皮層からなり、両者を基底膜が隔てている。表皮層は主に乾燥から皮膚を守り、真皮層は皮膚組織に弾性や潤いを与えている。正常ヒト線維芽細胞において植物発酵液 SW 添加存在下で経時的に顕微鏡観察したところ、細胞分裂ならびに細胞端から伸びる突起部の伸展が活発になることが確認された（図27）。これは植物発酵液 SW が線維芽細胞に作用し、動的に活性化していることが考えられる。

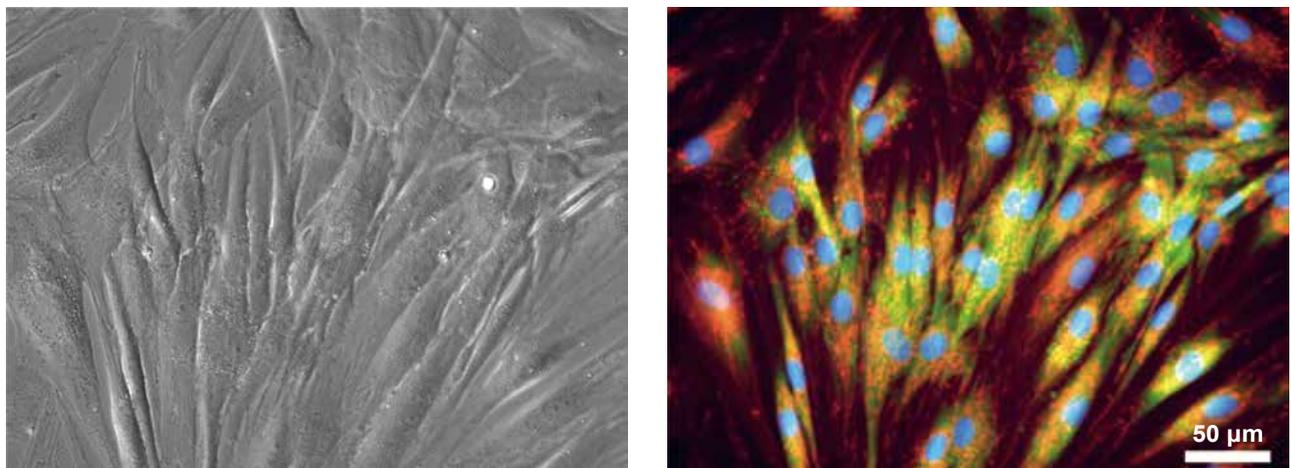


図27 植物発酵液 SW 添加時の正常ヒト線維芽細胞の細胞観察像

左：透過光観察像

右：蛍光観察像 ミトコンドリア（赤）、核（青）、細胞質（緑）

そこでエネルギー産生場であるミトコンドリアに与える影響を検証した。ミトコンドリア賦活剤の一つとして知られるレスベラトロールでは、ミトコンドリア賦活作用は認められなかったが、0.25%以上の植物発酵液 SW を添加することでミトコンドリア活性の有意な上昇が確認された (図 28-1)。レスベラトロールは骨格筋細胞では長寿遺伝子と呼ばれるサーチュイン遺伝子を介して PGC-1 $\alpha$  (ミトコンドリア合成遺伝子) を誘導することが知られているが、本研究において線維芽細胞では確認されなかった<sup>88)</sup>。一方、レスベラトロールはサーチュイン遺伝子を介して転写因子の p53 遺伝子の発現を抑制することで細胞老化を抑えること

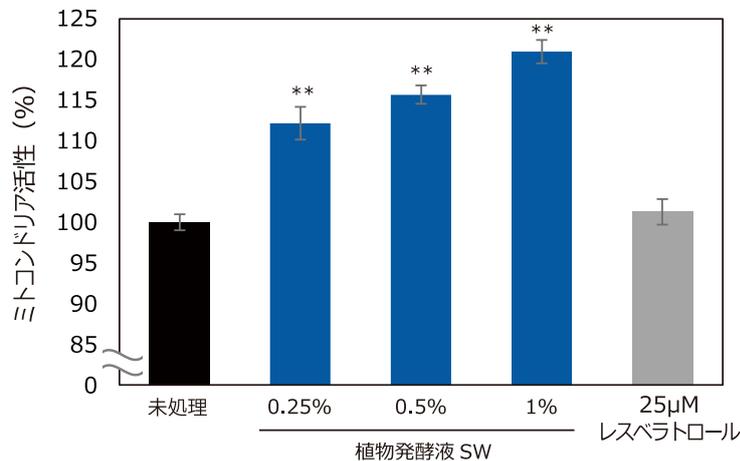


図 28-1 線維芽細胞における植物発酵液 SW によるミトコンドリア賦活作用  
 正常ヒト線維芽細胞に植物発酵液 SW を 3 日間処理しミトコンドリア活性を測定 (n = 6)  
 平均値  $\pm$  標準誤差  
 \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 (vs. 未処理細胞)

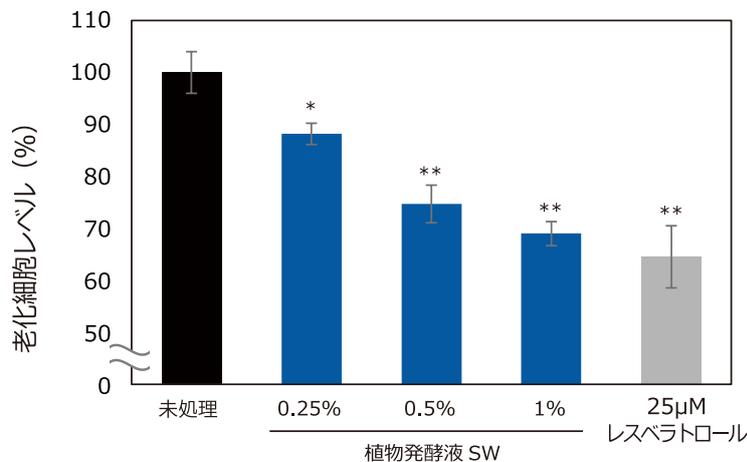
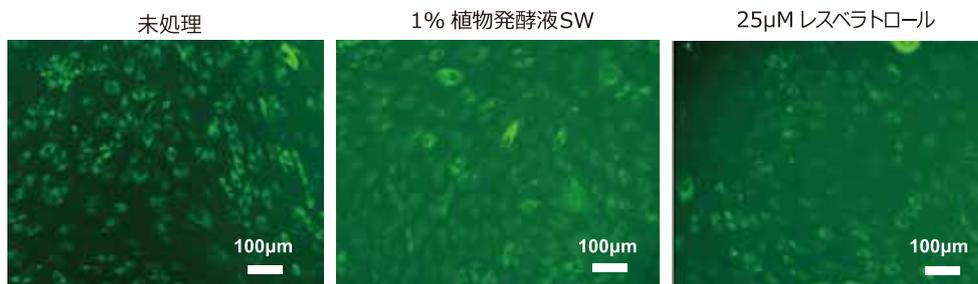


図 28-2 線維芽細胞における植物発酵液 SW による抗老化作用  
 上：正常ヒト線維芽細胞に植物発酵液 SW を 7 日間処理した $\beta$ ガラクトシダーゼ活性染色像  
 下：細胞レベルの $\beta$ ガラクトシダーゼ (老化マーカー) 活性 (n = 6)  
 平均値  $\pm$  標準誤差  
 \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 (vs. 未処理細胞)

が知られている<sup>89,90)</sup>。そこで植物発酵液 SW の細胞老化への影響について検討した。継代培養を繰り返した線維芽細胞を植物発酵液 SW 存在下で長期培養し、老化マーカーである  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性染色により細胞老化を検証した。老化が進行した細胞と細胞内  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性は相関関係であることが知られている<sup>91)</sup>。したがって、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性染色により染色程度（濃淡）に依存して細胞の老化状態を検証することができる。その結果、レスベラトロール添加区で未処理と比較して染色の低下、つまり老化抑制が認められた（図 28-2）。一方、植物発酵液 SW では 0.25% 濃度区から染色の低下が認められ、1% 濃度区においてレスベラトロールと同等以上の抗老化作用が認められた（図 28-2）。これらの結果から植物発酵液 SW はレスベラトロールと似た仕組みで老化を抑制している可能性があるが、ミトコンドリア賦活作用においては異なるメカニズムで作用していると考えられる。

皮膚・真皮層では線維芽細胞が I 型コラーゲンを産生し、コラーゲンなどの細胞外マトリックスの網目構造を足場として細胞層が構築され皮膚としての弾性を維持している。正常ヒト線維芽細胞におけるヒト I 型コラーゲン産生量に対する植物発酵液 SW の影響を検証したところ、0.25% 以上の添加区においてヒト I 型コラーゲン量の有意な増加が認められた（図 29）。植物発酵液 SW 由来のコラーゲンと測定したコラーゲンは由来生物種が異なることから線維芽細胞由来のコラーゲンを特異的に検出している。これらの結果から植物発酵液 SW に線維芽細胞からの I 型コラーゲンの産生を促進する作用があることが考えられる。また、植物発酵液 SW 中のコラーゲンが線維芽細胞の機能を促進させる可能性も考えられる。コラーゲンを経口摂取した後、大部分はヒドロキシプロリンを主成分としたオリゴペプチドやアミノ酸へ消化・分解され、吸収される。吸収されたコラーゲン成分は骨や軟骨、皮膚に作用すると考えられている<sup>92)</sup>。

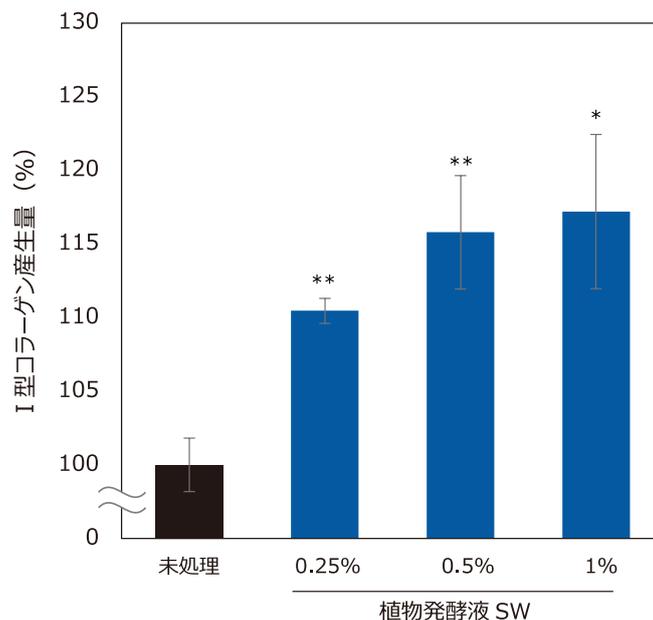


図 29 線維芽細胞における植物発酵液 SW による I 型コラーゲン産生  
 正常ヒト線維芽細胞に植物発酵液 SW を 3 日間処理し培養上清中の I 型コラーゲン量を測定 (n = 5)  
 平均値 ± 標準誤差  
 \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 (vs. 未処理細胞)

一方、I 型コラーゲン以外に III 型コラーゲンは創傷治癒における重要な因子であり、新生児の皮膚において多く存在していることが明らかになっている。正常ヒト線維芽細胞に 0.01% 以上の植物発酵液 SW を添加することで III 型コラーゲンを産生する COL3A1 遺伝子の顕著な発現増加が認められた（図 30, A）。III 型コラーゲンは、I 型コラーゲンと比較して加齢とともに減少しやすいことが確認されていることより、I 型コラーゲンに対する III 型コラーゲンの割合を高めることが皮膚の弾力性や柔軟性の維持に重要であると考えられて

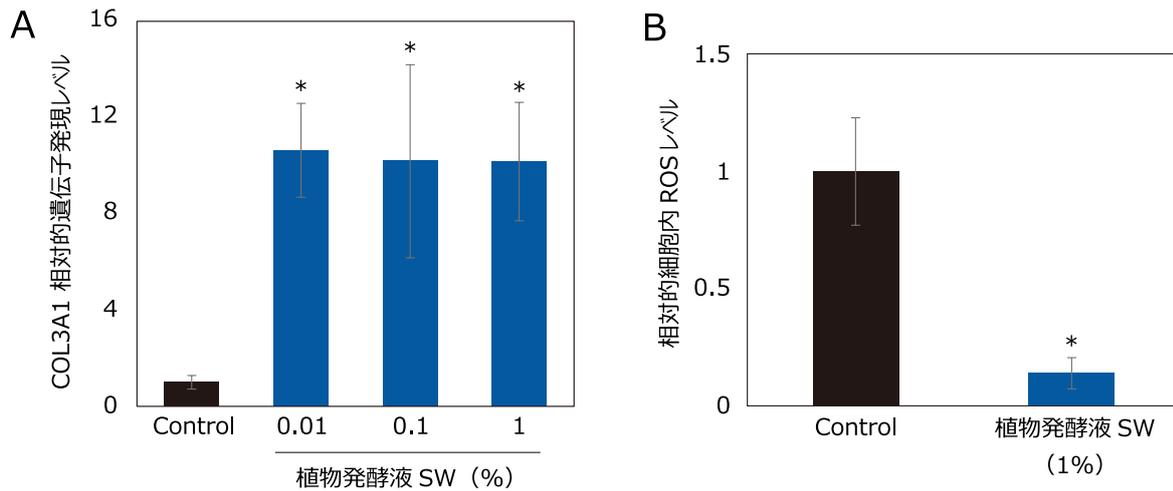


図 30 線維芽細胞における植物発酵液 SW による III 型コラーゲン遺伝子発現誘導

- A) 正常ヒト線維芽細胞に植物発酵液 SW を処理し細胞における III 型コラーゲン遺伝子発現レベルを検証
- B) 正常ヒト線維芽細胞に植物発酵液 SW を処理し細胞内 ROS レベルを検証

平均値 ± 標準誤差

\* $P < 0.05$  (vs. 未処理細胞)

いる<sup>93,94)</sup>。さらに、III 型コラーゲンは、ハリのもとになる伸縮性の高いコラーゲンの線維化に関与していることが分かっている<sup>95)</sup>。これらのことから、III 型コラーゲンは「ベビーコラーゲン」とも称され、近年では肌の老化予防や健康維持のための標的分子として注目されている。また、食品成分の一部では III 型コラーゲンの合成を促進することや、皮膚老化モデルマウスの真皮における III 型コラーゲンの密度を上昇させることも報告されている<sup>96)</sup>。さらに、加齢によって皮膚の創傷治癒機能が低下するため、傷の治癒が遅れ、傷痕が残るなどの問題が起きるが、III 型コラーゲンの合成を促進することで、修復機能を回復できることが報告されている<sup>97)</sup>。以上のことから、III 型コラーゲンの増加が見込まれる植物発酵液 SW は、加齢に伴う肌機能の低下を抑制する効果が期待される。

ROS と COL3A1 遺伝子との関連について、ROS の増加は COL3A1 の遺伝子発現を減少させることが報告されている<sup>98)</sup>。さらに、ヒト線維芽細胞は老化の進行に伴い細胞内の ROS レベルが増加することが明らかになっている<sup>99)</sup>。植物発酵液 SW は細胞内 ROS レベルを有意に減少させることや (図 30, B)、過酸化水素による酸化ストレスダメージによる細胞毒性を抑制することが示されることから、皮膚の酸化ストレス障害を予防する新たな食品シーズとしての利用も期待される。

皮膚・表皮層ではメラノサイトがメラニンを合成し紫外線を遮断することで細胞を保護している。メラノサイトでのメラニン合成はチロシンを基質としてチロシナーゼが中心的な役割をなし、紫外線や炎症刺激により合成が促進される。過剰なメラニン蓄積はシミやソバカスの原因となることから多くの化粧品ではメラニン合成を抑制する機能 (美白作用) を持つ化合物が開発されている<sup>100)</sup>。メラノサイトに 2% 植物発酵液 SW を添加しメラニン産生を評価したところ、メラニンの産生量が抑制され、ビタミン C と同程度の抑制効果が確認された (図 31-1)。さらに、メラニン合成酵素であるチロシナーゼに対する阻害作用は、植物発酵液 SW 1.25% 以上の濃度において顕著な阻害作用が確認され、その活性阻害作用はビタミン C およびアルブチンよりも高い阻害率であった (図 31-2)。メラニン合成は酸化反応の連鎖的反応であることから、ビタミン C などの多くのチロシナーゼ阻害物質は抗酸化能を有する。植物発酵液 SW もまた抗酸化作用を有することからこの作用によりチロシナーゼ活性を阻害し、細胞レベルにおいてメラニン産生を抑制したと考えられる。

肌に対する機能性を検証した試験において、線維芽細胞のミトコンドリア活性の亢進や抗老化作用が確認された。ミトコンドリアは細胞代謝に関与しており<sup>101)</sup>、ヒト皮膚由来線維芽細胞では老化による代謝低下はミトコンドリアの機能低下を介した酸化ストレスが原因であることが示唆されている<sup>102)</sup>。このようにミ

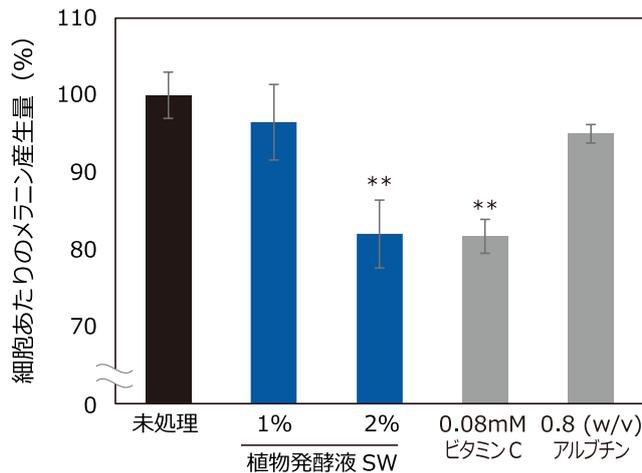


図 31-1 ヒトメラノサイトにおけるメラニン産生抑制試験  
正常ヒト線維芽細胞に植物発酵液 SW を 3 日間処理し細胞中のメラニン量を測定 (n = 5)

平均値 ± 標準誤差

\*P < 0.05, \*\*P < 0.01 (vs. 未処理細胞)

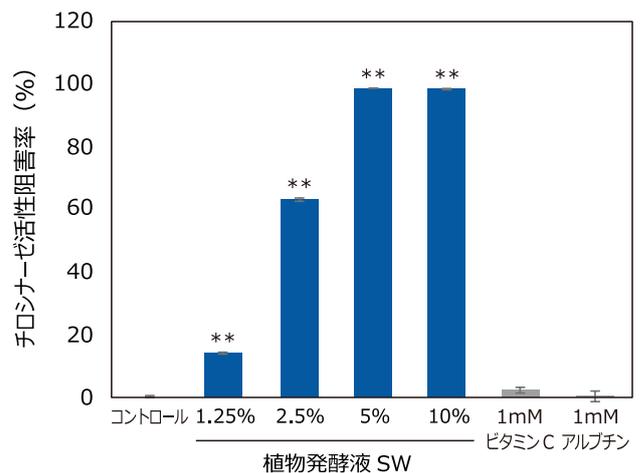


図 31-2 チロシナーゼ阻害試験

チロシナーゼ (マッシュルーム) 活性に及ぼす植物発酵液 SW の効果を検証 (n = 5)

平均値 ± 標準誤差

\*P < 0.05, \*\*P < 0.01 (vs. コントロール)

トコンドリア機能と細胞老化は密接に関連しており、サーチュイン遺伝子を介した両者の制御が知られる一方で、サーチュインを介さずミトコンドリアと老化が相互作用することも知られている<sup>90)</sup>。植物発酵液 SW は線維芽細胞のミトコンドリア機能を向上させる他、第 2 部で述べたように抗酸化作用および抗糖化作用を有することから<sup>17, 52)</sup>、植物発酵液 SW のミトコンドリア賦活化作用および抗酸化作用によって細胞代謝が向上したことにより抗老化作用を示したと考えられる。

線維芽細胞において植物発酵液 SW により I 型コラーゲン産生および III 型コラーゲン遺伝子発現が増加したが、これは植物発酵液 SW 中の何らかの成分が線維芽細胞を賦活し、これらコラーゲンの産生を促進したと考えられる<sup>92)</sup>。フラバノン、フラボン、およびフラボノールがヒト皮膚線維芽細胞におけるコラーゲン産生に及ぼす影響を網羅的に解析した研究から、これらポリフェノール類がコラーゲン産生量を増加させることが報告されている<sup>103)</sup>。植物発酵液 SW はポリフェノール類を多く含む食品を原料としていることから、ポリフェノール類によってコラーゲン産生が促進された可能性があった。I 型コラーゲンは皮膚の真皮層に多く存在し、肌のハリやその他の皮膚機能に関与すると考えられている<sup>104)</sup>。

美白作用においては植物発酵液 SW 自体の抗酸化作用によりもたらされた可能性以外に、メラニンの沈着や維持にはエンドセリン -1 が関与すると言われ<sup>105)</sup>、没食子酸構造を含むエピガロカテキンゲレートやレスベラトロール、ケルセチンなどはエンドセリン -1 の発現を低下させることが報告されている<sup>106, 107)</sup>。没食子酸の存在が確認されている<sup>17)</sup> 植物発酵液 SW においても本試験でメラニン量の減少が認められたことから、エンドセリン -1 の発現を低下させることが予測される。

## 2. 正常ヒト毛乳頭細胞における植物発酵液 SW の影響<sup>108)</sup>

毛髪形成において毛乳頭細胞は中心的な役割を担っている<sup>109)</sup>。毛髪成長を終えた毛組織 (毛周期における休止期) において刺激を受けた毛乳頭細胞が毛母細胞への分化・増殖促進の信号を送る。やがて毛母細胞は細胞ごとケラチンを積層することで毛髪を伸長させていく (毛周期における成長期)。このように毛乳頭細胞は毛髪形成の開始と維持を担う重要な細胞である。正常ヒト毛乳頭細胞を植物発酵液 SW 添加存在下で経時的に顕微鏡観察したところ、細胞分裂ならびに活動が活発になることが確認された (図 32)。これは植物発酵液 SW が毛乳頭細胞に作用し、動的に活性化していることが考えられる。

また、植物発酵液 SW 添加後の毛乳頭細胞における MitoTracker Red 染色を実施したところ、非添加およびミノキシジル添加と比較して染色されたミトコンドリアの増加が認められた (図 33, A)。顕微鏡画像より

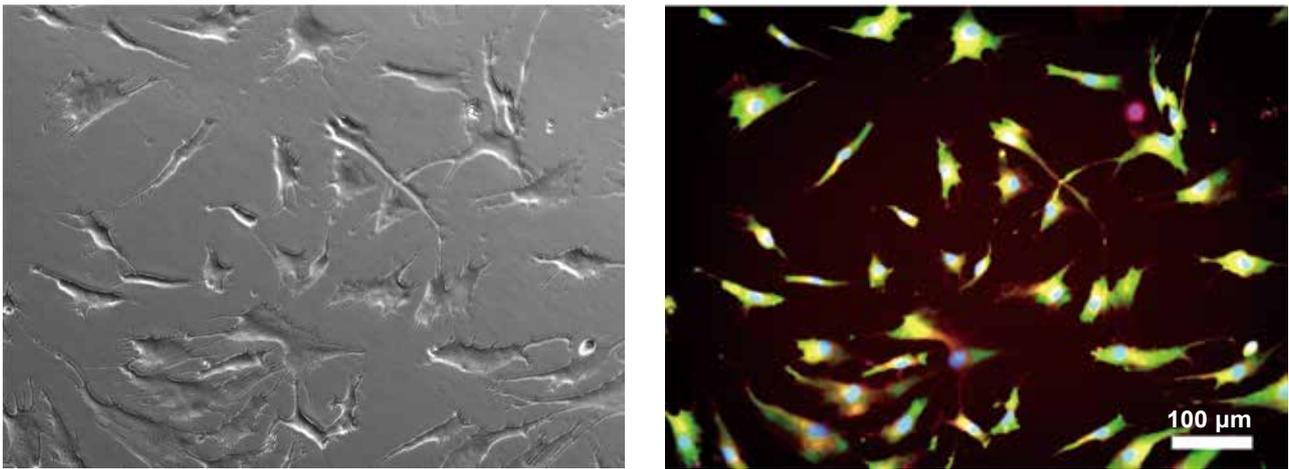


図 32 植物発酵液 SW 添加時の正常ヒト毛乳頭細胞の細胞観察像  
左：透過光観察像，右：蛍光観察像 ミトコンドリア（赤），核（青），細胞質（緑）

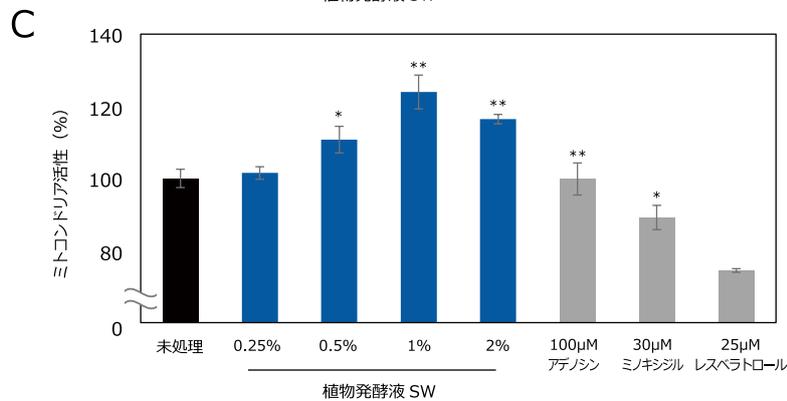
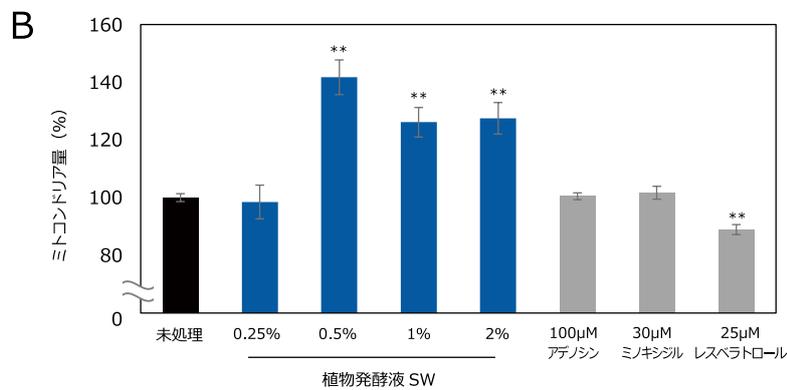
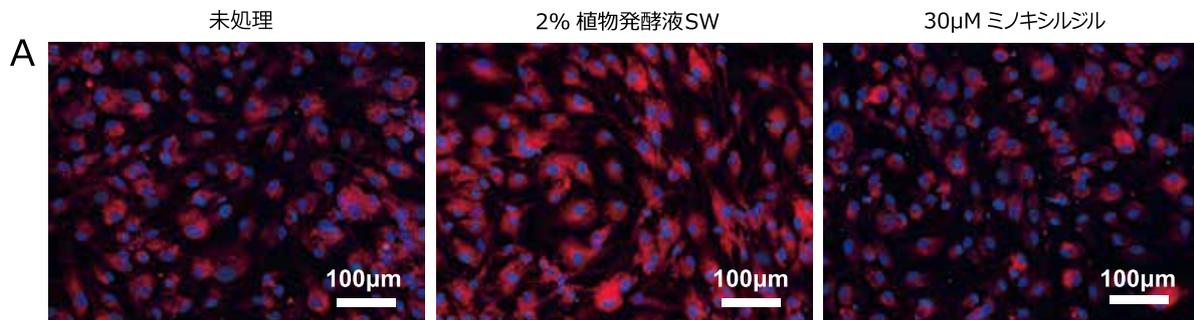


図 33 正常ヒト毛乳頭細胞における植物発酵液 SW によるミトコンドリア賦活作用

A) 14 日間培養後の MitoTracker Red 染色像 (赤)，ヘキスト核染色 (青)

B) 14 日間培養後の細胞内ミトコンドリア量 ( $n = 6$ )

C) 14 日間培養後の細胞内ミトコンドリア活性 ( $n = 6$ )

平均値 ± 標準誤差

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  (vs. 未処理細胞)

ミトコンドリア量を定量化したところ、0.5% 植物発酵液 SW 以上の添加で有意にミトコンドリア量が増大することが確認された (図 33, B)。一方、毛乳頭細胞に対し賦活作用があることが知られるミノキシジルやアデノシン、ミトコンドリア賦活作用が考えられるレスベラトロールなどは、毛乳頭細胞のミトコンドリア量には差異が認められなかった。さらに、ミトコンドリア活性について検証したところ 0.5% 植物発酵液 SW 以上の添加でミトコンドリア活性の上昇が認められた。ミトコンドリア量と同様にミノキシジルやアデノシン、レスベラトロールにおいてミトコンドリア活性の上昇は認められなかった (図 33, C)。

さらに線維芽細胞と同様に抗老化性についても検証したところ、植物発酵液 SW 添加により  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性染色量の低下が認められたことにより細胞老化の抑制が確認された (図 34)。一方、ミノキシジルやアデノシンでは抗老化作用は認められなかったものの、抗老化剤として知られるレスベラトロールでは細胞老化の抑制が確認された (図 34)。これらの結果から、植物発酵液 SW に毛乳頭細胞のミトコンドリア賦活作用および抗老化作用が認められ、既存の育毛薬成分のミノキシジルやアデノシンとは異なる薬理作用が存在することが考えられる。

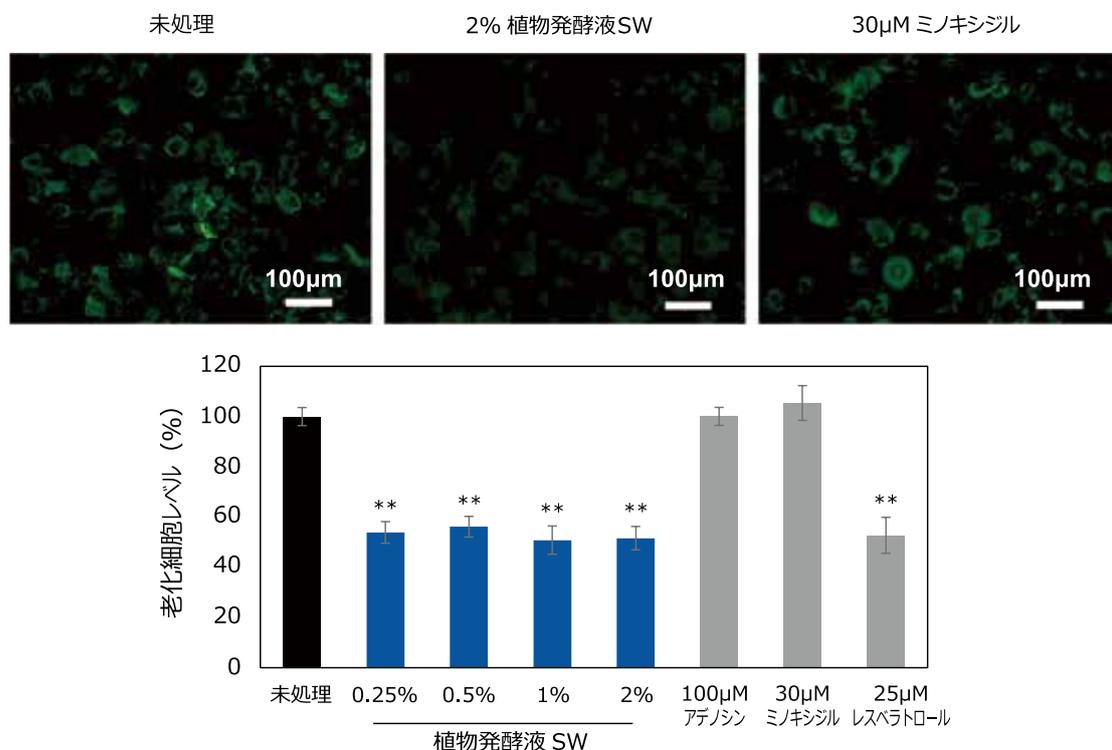


図 34 正常ヒト毛乳頭細胞における植物発酵液 SW による抗老化作用

上：正常ヒト線維芽細胞に植物発酵液 SW を 14 日間処理した  $\beta$  ガラクトシダーゼ活性染色像  
下：細胞レベルの  $\beta$  ガラクトシダーゼ (老化マーカー) 活性 (n = 5)

平均値  $\pm$  標準誤差

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  (vs. 未処理細胞)

線維芽細胞での知見と同様に植物発酵液 SW の毛乳頭細胞へのミトコンドリア賦活作用および抗老化作用が認められた。その作用機序は線維芽細胞の場合と同じであると考えられるが、毛乳頭細胞は毛髪器官で特殊な細胞であることから特異的なメカニズムの可能性もあり、本研究ではミトコンドリア機能向上による ATP 産生の増加が示唆される。Mifude and Kaseda の報告<sup>84)</sup>によれば、毛乳頭細胞における ATP 産生増加の可能性は、毛乳頭細胞の賦活化によるものと記載されている。毛組織のヘアサイクルに関わるシグナル分子 PDGF-AA はミトコンドリアの賦活化を介して毛乳頭細胞の遊走活性を高めると言われている。また、同研究では毛乳頭細胞は遊走時に、ATP を多く産生する繊維状ミトコンドリアを利用することが示唆されており<sup>84)</sup>、毛乳頭細胞におけるミトコンドリア機能の賦活化は毛乳頭細胞の活性に重要と考えられる。このことから、

植物発酵液 SW 添加時の経時的観察で示されたように、植物発酵液 SW は Mifude and Kaseda の報告<sup>84)</sup>と同様に毛乳頭細胞の遊走性を高める素材として期待される (図 32)。

### 小括

以上の結果および第 3 部の結果から植物発酵液 SW の肌の健全化、美白および育毛に関する機能性を図 35 にまとめる。これまで得られた知見をまとめると肌健全化作用としては、植物発酵液 SW による表皮細胞のストレス保護作用および成長因子発現促進作用<sup>71)</sup>、マクロファージに対する抗炎症作用および成長因子発現促進作用<sup>71, 110)</sup>が確認された。また、真皮層に存在する線維芽細胞では I 型コラーゲンおよび III 型コラーゲン合成促進作用、ミトコンドリア賦活作用、抗老化作用を示すことが確認された<sup>71)</sup>。肌は外界と体内の境界を隔てる人体の中でも重要な組織である。紫外線、乾燥、病原菌 (細菌やウイルス) などの環境ストレスから人体を守るために皮膚により保護されている。表皮層では表皮細胞が自ら死細胞となり自身の細胞成分 (ケラチン) を積層化することでバリア機能を持たせている。一方、表皮層下の真皮層では線維芽細胞からコラーゲンやヒアルロン酸などの細胞外マトリックスを分泌することで柔軟性の高い構造体を構築し肌に弾性と柔軟性、湿潤性をもたらし、環境ストレスからの防御を高めている。また、防御の甲斐なくそれら環境ストレスに曝された場合、免疫細胞により排除、修復される。その中心的な役割をマクロファージが担っている。

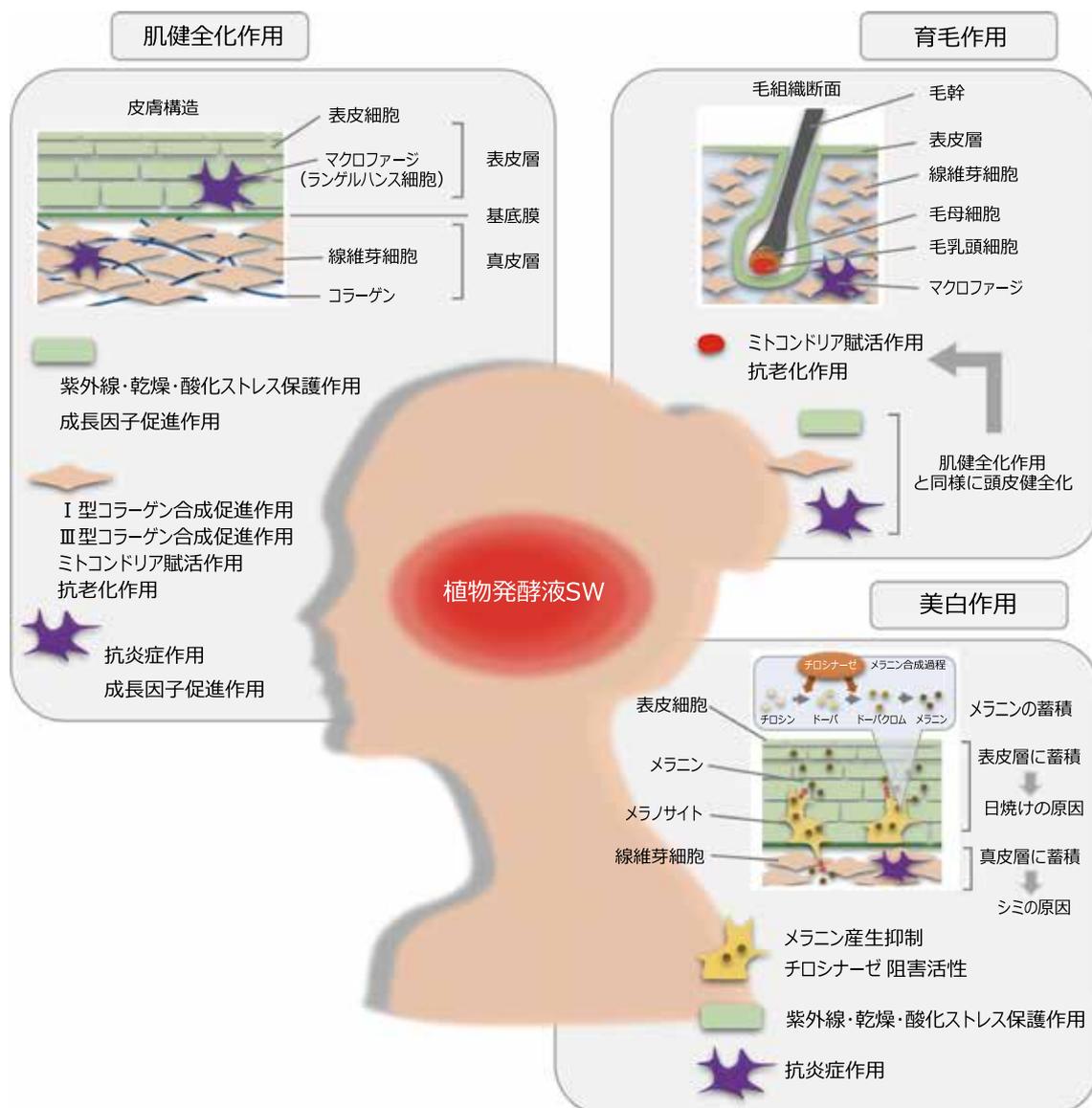


図 35 美白・育毛における植物発酵液 SW の機能的な作用

また、表皮、真皮、免疫系は相互に連携することで肌機能の健全性を維持している。これら皮膚の本質的機能の大部分に植物発酵物を含む成分が有効に機能することが示された。

美白作用では、表皮層に位置するメラノサイトにおけるメラニン産生抑制作用、チロシナーゼ阻害作用が確認された<sup>71)</sup>。このように植物発酵物を含む成分がメラノサイトおよび合成酵素に抑制的に直接作用し美白作用をもたらす。一方でメラノサイトでのメラニン合成は炎症反応が刺激となり促進されることが知られる<sup>110)</sup>。したがって、肌の防御を高め外部からの環境ストレスから守ることで、肌の炎症反応を低下させメラニン合成を抑制し、間接的に美白作用をもたらすことができる。肌健全化作用と同様に肌関連の細胞のミトコンドリア賦活作用やストレス保護作用などを介して細胞代謝を高め<sup>71)</sup>、マクロファージにおける抗炎症作用も加わり<sup>76)</sup>、美白効果をもたらすものと考えられる。

育毛作用としては、植物発酵物を含む成分が毛乳頭細胞の賦活作用をもたらす<sup>108)</sup>、育毛を促進させると推察される。また、頭部皮膚の健全性も育毛に影響する。頭部皮膚が環境ストレスにより炎症反応が促進すると、それにより過剰産生した炎症性サイトカインTNF- $\alpha$ やIL-1により毛乳頭細胞が退化しやがて脱毛をもたらす。したがって、肌機能のガードを高めることや抗炎症作用もまた間接的に育毛を補助することになる。

このように植物発酵物を含む成分は肌の細胞に対してミトコンドリア賦活作用を介し、皮膚組織を健全な状態に回復または維持する可能性があり、ヒトにおいてもその効果が期待された。そこで、我々は第4部まで述べてきた植物発酵物を含む成分の基礎的な効果を実際にヒトにおいて検証することとした。

## 第5部 ヒト試験による機能性評価

### はじめに

ここまで第2部では植物発酵ペーストAO、および植物発酵液SWの抗酸化作用と抗糖化作用に関する生化学的性質を述べ、第3部では細胞レベルでの検証を通じて植物発酵ペーストAO、および植物発酵液SWの抗酸化作用やミトコンドリア賦活性、それに起因すると思われる細胞機能の向上性を検証してきた。第4部では植物発酵液SWの肌機能に特化した検証試験を実施し、皮膚や育毛における機能性を細胞レベルで実証した。第5部では、これら生化学的および細胞レベルでの検証結果がヒトにおいても有効であるかについて検証試験を実施し、その結果について述べる。各試験とヒト試験との相関を図36に示す。

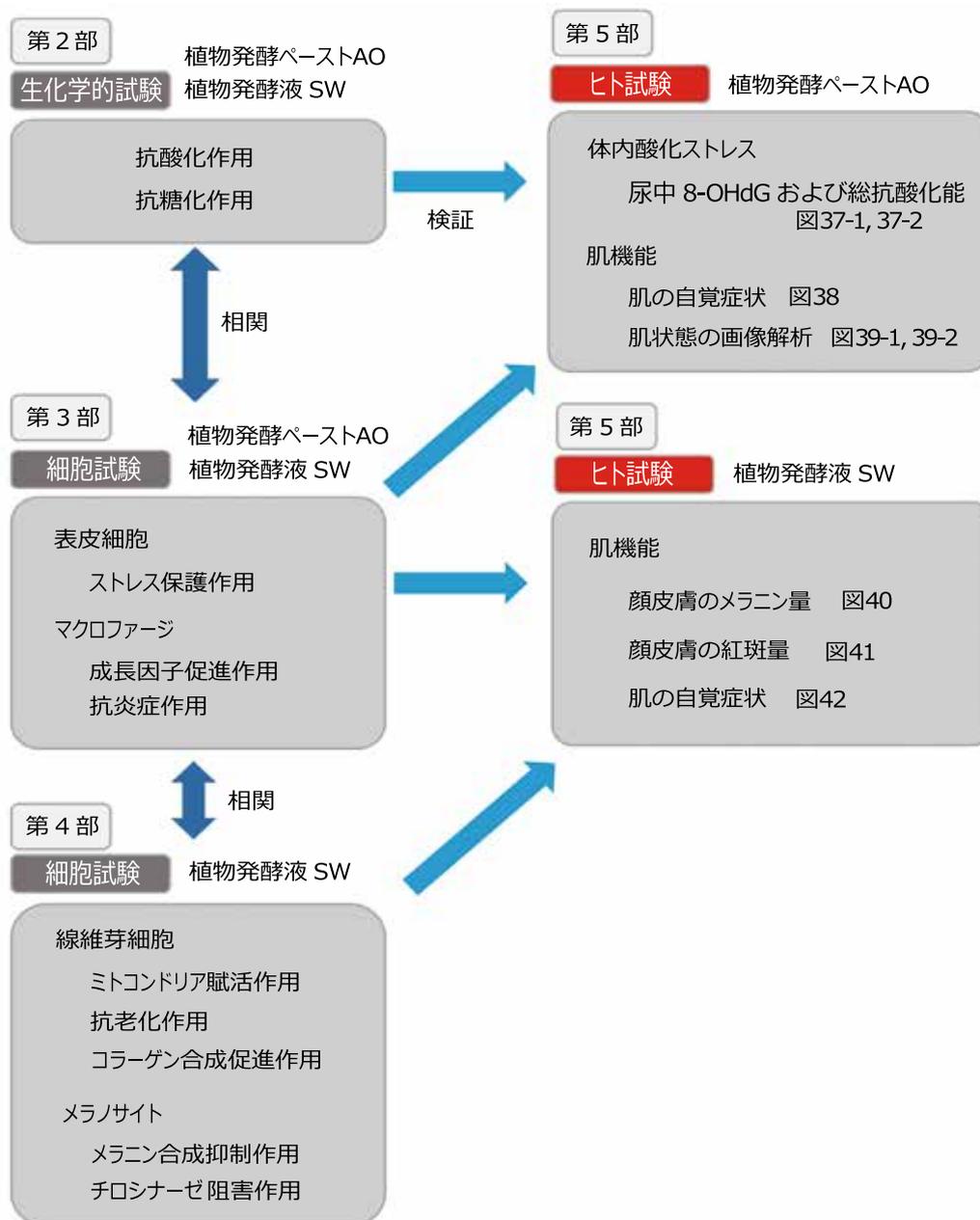


図36 生化学試験・細胞試験・ヒト試験の相関図

## 1. ヒトに対する植物発酵ペースト AO の酸化ストレス改善作用および肌健全化作用<sup>111)</sup>

植物発酵製品の抗酸化作用をヒト試験において検証したところ、植物発酵ペースト AO を 8 週間摂取することで、体内の ROS レベルの上昇に付随する尿中 8-OHdG (DNA 酸化損傷マーカー) 量が減少し、総抗酸化能マーカーの血清抗酸化能 (Potential Anti-Oxidant: PAO) 値の増加が示された (図 37-1)。また、酸化ストレスの程度と酸化ストレスの予防能との関連を検討したところ、植物発酵ペースト AO 摂取後は両者のバランスが良好になった者が多く確認された (図 37-2)。8-OHdG は DNA を構成する塩基の一つであるデオキシグアニンが ROS により酸化されヒドロキシル化された構造を形成する。DNA 中の 8-OHdG は変異原性があることから修復酵素により速やかに細胞外へ放出され腎臓を経て尿中に放出される。このように 8-OHdG は体内 ROS レベルを鋭敏に反映することが知られていること、また、尿中の検体で容易に測定できることから酸化ストレスのバイオマーカーとして利用されている<sup>112)</sup>。一方、血清抗酸化能は銅イオンの還元反応を利用し血清の還元力を数値化したものである。したがって、血清のみならず食品や飲料の抗酸化力を示す一つの指標となっている。これらから植物発酵ペースト AO の摂取により体内の抗酸化力が上昇し、それに伴い体内 ROS レベルが減少したものと考えられる。

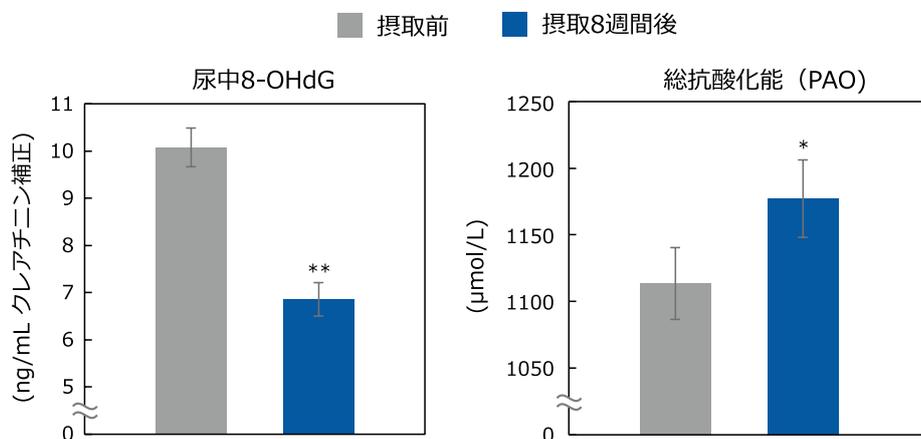


図 37-1 尿中 8-OHdG および総抗酸化能 (PAO: potential anti oxidant) (植物発酵ペースト AO, ヒト試験)  
 平均値 ± 標準誤差 (n = 27), \*P < 0.05, \*\*P < 0.01

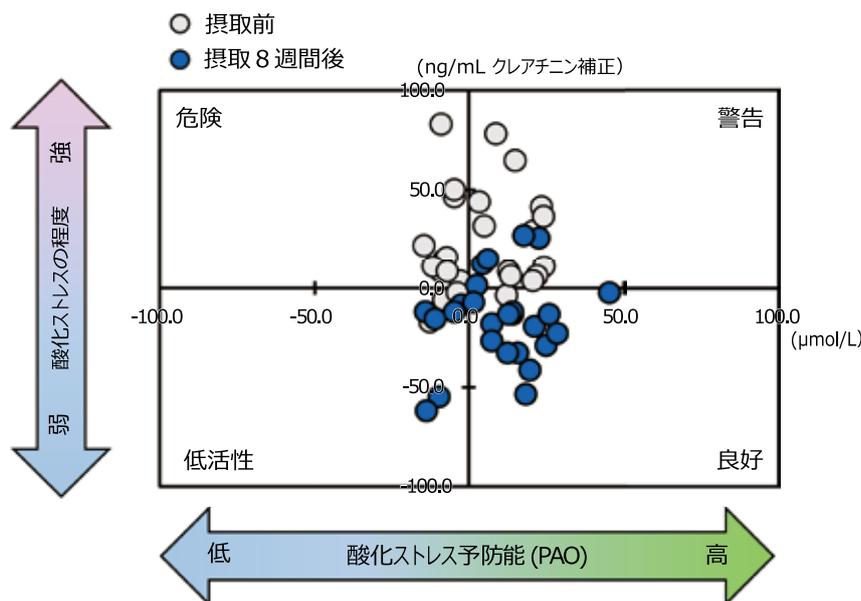


図 37-2 酸化ストレスプロフィール (植物発酵ペースト AO, ヒト試験)

縦軸が 8-OHdG (クレアチニン補正) 値, 横軸が総抗酸化能 (PAO) 値を指し, 全参加者のプロット図を示した。(n = 27)

次に植物発酵ペースト AO に期待される肌健全化作用の検証として、肌に対する自覚症状を調査したところ、8 週間の植物発酵ペースト AO 摂取後に化粧のノリや肌の弾力、潤い、くすみなどの肌に対する自覚が良好になり、さらに肌以外にも体の疲れやむくみ、口内炎など体調面に対する自覚症状も改善された (図 38)。肌の状態は自覚症状だけでなく、客観的評価においてもシワの減少と赤味の増加が確認された (図 39-1)。シミを意味する色素沈着数は肌の状態が安定する者<sup>113)</sup>に絞って確認したところ、植物発酵ペースト AO 摂取によって減少することが認められた (図 39-2)。

植物発酵ペースト AO の酸化ストレス改善作用および肌健全化作用の評価では、ROS の酸化作用によって生じる尿中 8-OHdG 量の減少が認められた。さらに血中抗酸化能の指標となる PAO 値が上昇し、植物発酵ペー

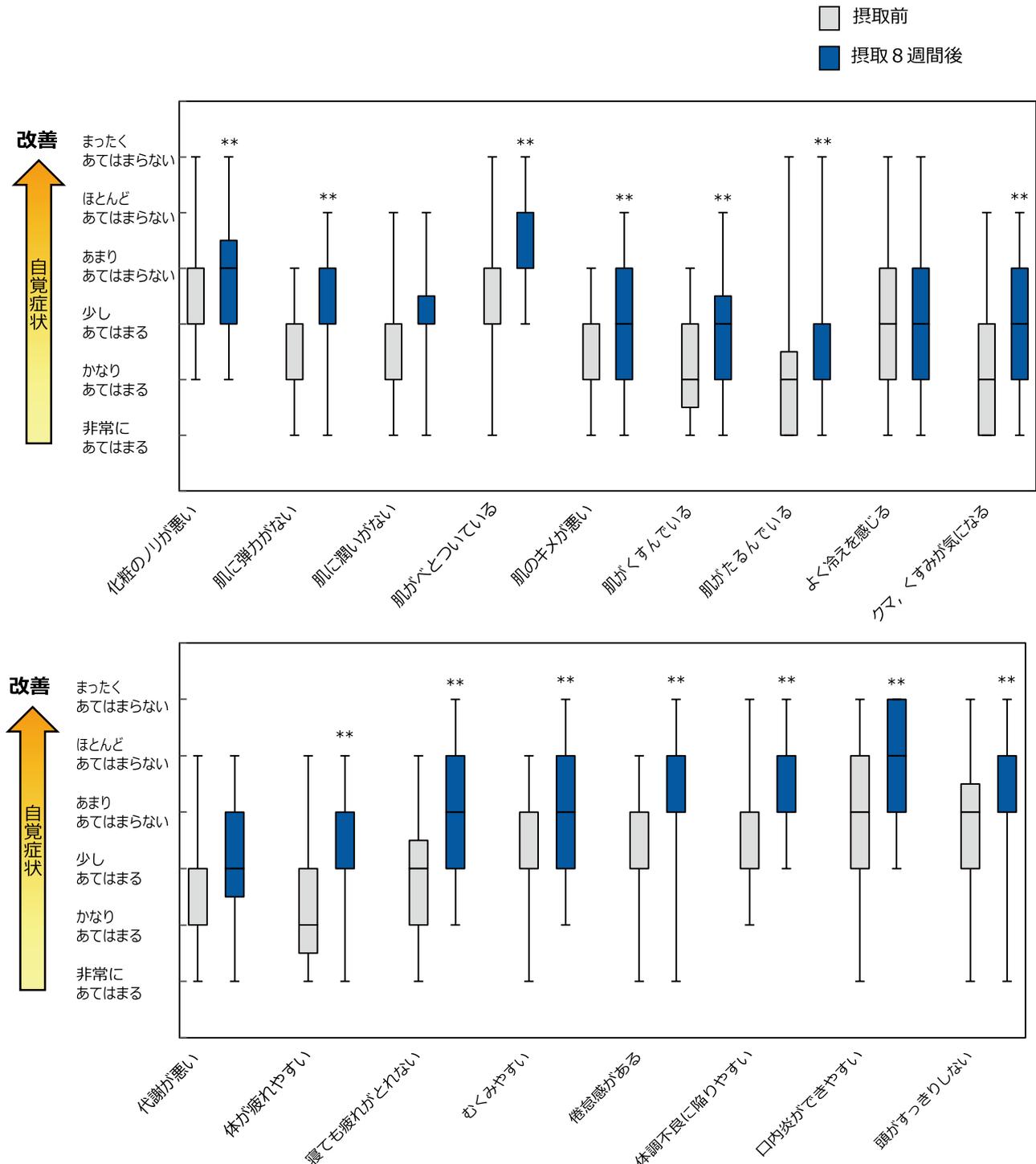


図 38 肌や体調に関する自覚症状 (植物発酵ペースト AO, ヒト試験)  
中央値と四分位範囲 (n = 31). \*P < 0.05, \*\*P < 0.01

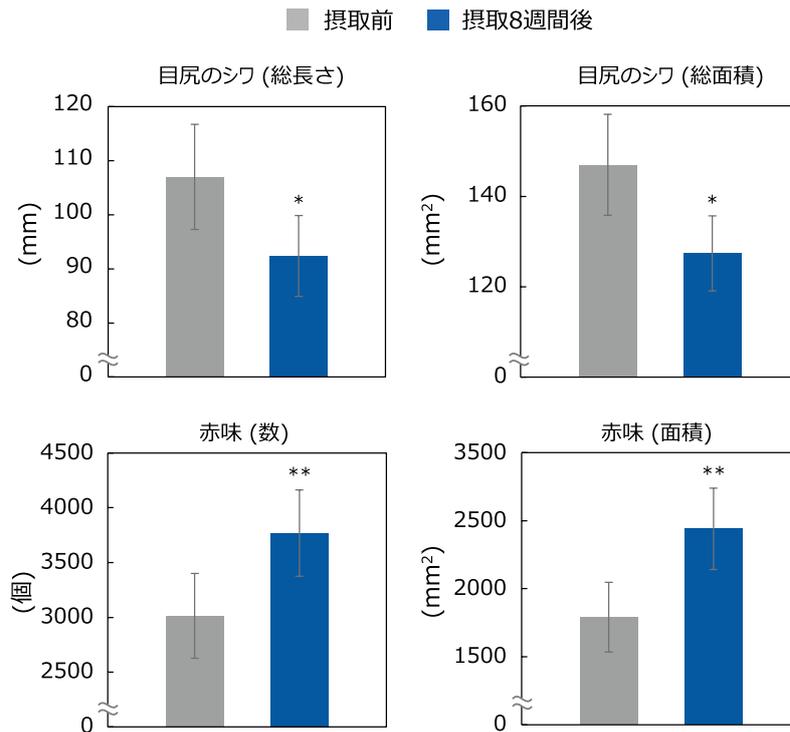


図 39-1 肌状態の画像解析 (植物発酵ペースト AO, ヒト試験)  
 平均値 ± 標準誤差 (n = 27), \*P < 0.05, \*\*P < 0.01

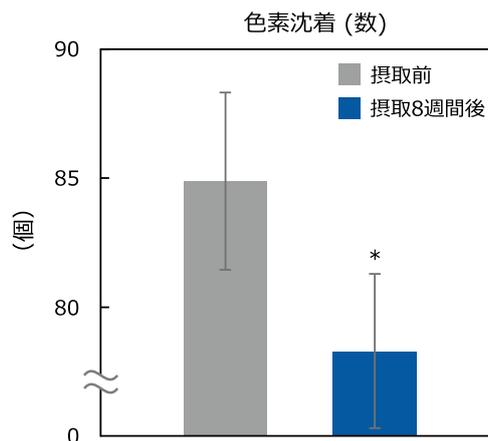


図 39-2 サブグループ解析 (植物発酵ペースト AO, ヒト試験)  
 平均値 ± 標準誤差 (n = 17), \*P < 0.05

スト AO の抗酸化作用<sup>16)</sup> がヒトにおいても確認された。また、植物発酵ペースト AO の摂取によって自覚する肌の状態や客観的評価からシワの減少、シミの減少などが確認されたが、これらの効果については植物発酵ペースト AO のミトコンドリア賦活作用、成長因子発現促進作用、および抗炎症作用が関与したと考えられる<sup>16)</sup>。赤味の増加については、抗酸化作用に優れた食品は血流を改善することが確認され<sup>114)</sup>、血流の増加は顔面の赤味を増加させることが報告されている<sup>115,116)</sup>。したがって、植物発酵ペースト AO の摂取によっ

て顔面における血流が改善されたことで、顔面の赤味が増したと示唆された。肌の状態が安定する者<sup>113)</sup>を対象に確認されたシミの減少について、抗酸化作用を示す食品はメラニン産生抑制効果を示すことが報告されることから<sup>117)</sup>、植物発酵ペースト AO がメラニン産生抑制を介してシミを減少させたことが示唆された。

## 2. ヒトに対する植物発酵液 SW の美白効果および肌健全化作用<sup>118)</sup>

植物発酵液 SW における美白効果をヒト試験にて実施したところ、12 週間の植物発酵液 SW 摂取後において顔の皮膚におけるメラニン量が減少し (図 40)、紅斑量も減少した (図 41)。自覚する肌の状態も植物発酵液 SW の 12 週間摂取によって、化粧のノリや肌の弾力、潤い、くすみ、はり、白さなどの肌に対する自覚が良好になり、体の疲れに対する改善も確認された (図 42)。

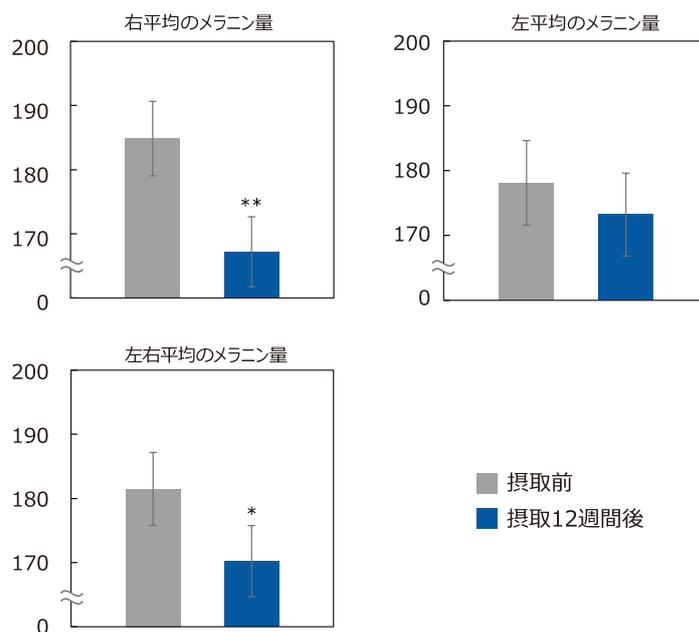


図 40 顔の皮膚におけるメラニン量 (植物発酵液 SW, ヒト試験)

平均値 ± 標準誤差 (n = 31) \*P < 0.05, \*\*P < 0.01

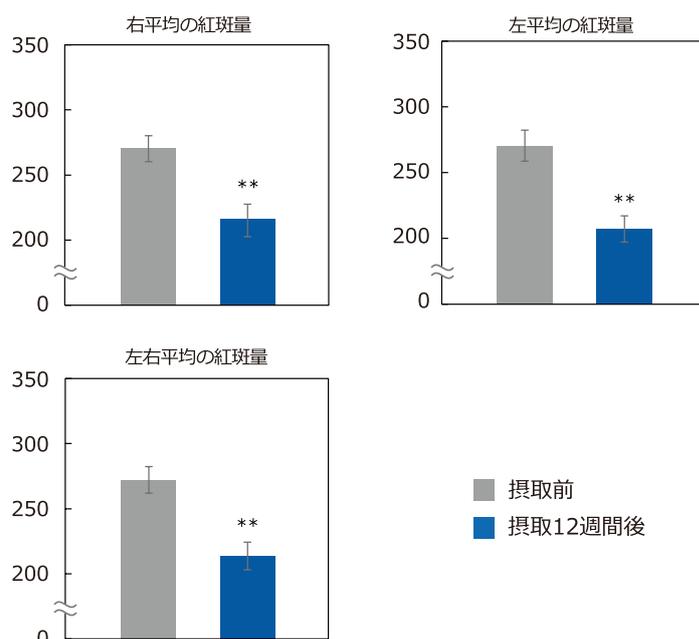


図 41 顔の皮膚における紅斑量 (植物発酵液 SW, ヒト試験)

平均値 ± 標準誤差 (n = 31) \*P < 0.05, \*\*P < 0.01

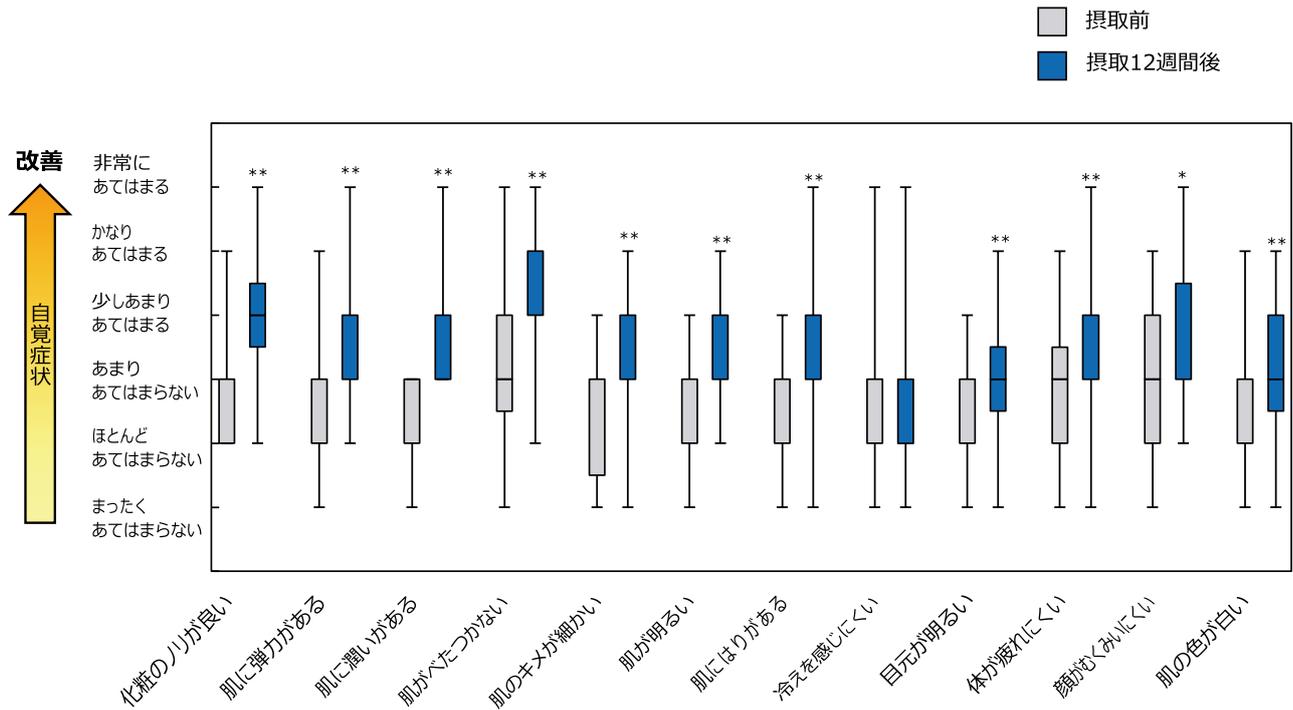


図 42 肌や体調に関する自覚症状 (植物発酵液 SW, ヒト試験)  
中央値と四分位範囲 (n = 31). \*P < 0.05, \*\*P < 0.01

植物発酵液 SW の美白効果について、植物発酵液 SW の生化学および細胞レベルでの知見から、その抗酸化作用により美白効果がもたらされると考えられる。植物発酵液 SW の抗酸化力は 162 μM の没食子酸に相当することが確認されている<sup>17)</sup>。没食子酸を含むポリフェノール類は、B16 メラノーマ細胞におけるメラニン合成の阻害およびメラニン合成に関わるチロシナーゼの活性阻害や発現抑制を示すことが確認されており<sup>119-122)</sup>、植物発酵液 SW はメラニン産生抑制およびチロシナーゼ阻害活性を示すことが確認されている<sup>71)</sup>。したがって、植物発酵液 SW に含まれるポリフェノールがメラニンの合成を阻害するとともに、チロシナーゼ活性を阻害することで皮膚のメラニン量が減少したと考えられる。また、植物発酵液 SW は線維芽細胞のミトコンドリア機能を向上させることが確認されており<sup>71)</sup>、抗酸化作用を示すことが明らかにされている<sup>17)</sup>。通常メラニンは肌の代謝によって体外に排出されるが<sup>123)</sup>、紫外線の暴露などによって活性酸素が過剰にある酸化ストレス状態になると、肌の代謝機能が低下するためメラニンの排出が滞り、肌にメラニンが色素として沈着することでシミとして認識される<sup>124)</sup>。植物発酵液 SW の線維芽細胞でのミトコンドリア賦活作用<sup>71)</sup>および抗酸化作用<sup>17)</sup>により肌関連細胞の代謝が向上したことで、メラニンの排出が促された可能性があり、メラニン量の減少に伴い肌の白さに関する自覚症状を感じる者が多くなったのはこのためと考えられる。

植物発酵液 SW の摂取後に確認された紅斑量について、肌の赤みは紫外線で誘導されるヒスタミンやプロスタグランジンによって惹起されることで生じる<sup>125)</sup>。植物発酵液 SW は抗炎症作用を示すことが確認されていることから<sup>76)</sup>、植物発酵液 SW の摂取によって紫外線で誘発された炎症症状が緩和されたことで、紅斑量が低下したと考えられる。

その他、肌に関する自覚症状への影響として、植物発酵液 SW は線維芽細胞における I 型コラーゲンおよび III 型コラーゲンの遺伝子発現量を増加させることが確認されており<sup>71, 87)</sup>、I 型コラーゲンは皮膚の真皮層に多く存在し、肌のハリやその他の皮膚機能に関与する<sup>104)</sup>と言われている。一方で、III 型コラーゲンは I 型コラーゲンに対して割合を高めることで、皮膚の弾力性・柔軟性の維持に重要であることが示唆され<sup>93, 94)</sup>、III 型コラーゲンは肌のハリの基となる伸縮性の高いコラーゲンの線維化にも関与する<sup>95)</sup>。このことから、植物発酵液 SW を摂取することにより線維芽細胞のコラーゲン量が増加し、肌の弾力やハリを強く自覚するようになったと考えられる。

また、ポリフェノールは抗疲労効果を示すことが報告されており、そのメカニズムには酸化ストレスの抑制が関与していると示唆されている<sup>114)</sup>。「体が疲れにくい」点に改善が認められたことは、植物発酵液 SW が示す抗酸化作用が寄与したと考えられる。先に述べたように体内の酸化ストレスマーカーである 8-OHdG は疲労バイオマーカーの候補と考えられている<sup>112)</sup>。測定数値的に疲労改善作用を示していることになる。

## 小括

植物発酵ペースト AO および植物発酵液 SW は、生化学的性質および細胞学的試験より確認された抗酸化作用や美白作用、肌健全化作用などの細胞レベルでの機能性がヒトにおいても機能することが認められた。この検証結果より、これら植物発酵製品はヒトに対して抗酸化作用、抗糖化作用、表皮細胞におけるストレス保護作用、マクロファージにおける成長因子発現促進作用ならびに炎症性サイトカインの産生抑制作用、線維芽細胞におけるミトコンドリア賦活作用、抗老化作用ならびにコラーゲン合成促進作用、およびメラノサイトにおけるメラニン合成抑制作用ならびにチロシナーゼ阻害作用<sup>16, 17, 52, 71, 76)</sup>などの多くの作用を介して肌の状態を健全化する、または健全な状態を維持することに役立つ食品であることが確認された。

## 第6部 植物発酵製品の整腸作用と生体における機能性

### はじめに

第5部まで植物発酵製品の抗酸化作用および抗糖化作用を起因とした肌に対する効果についてまとめた。第1部で述べたように発酵食品はプロバイオティクス、プレバイオティクス、バイオジェニクスとして作用する<sup>126)</sup>。しかし、植物発酵製品は製造において加熱処理されることで微生物は殺菌されることからプロバイオティクス作用は考えにくい。また、一部製品を除いて食物繊維もほとんど確認されなかったことからプレバイオティクス作用も少ないと考えられる。したがって、植物発酵製品の機能性をもたらす作用メカニズムとしてバイオジェニクスが最も有力と考えられる<sup>22)</sup>。

バイオジェニクスは発酵物成分が直接生体に作用する場合もあるが、腸内細菌叢を整えることでプロバイオティクス様作用やプレバイオティクス様作用のように間接的に生体に作用する場合もある<sup>127)</sup>。腸内細菌叢と宿主の代謝調節機能の関連についての報告はいくつかあり、腸内細菌叢のバランス崩壊によって誘導される炎症や代謝変化は、2型糖尿病や心血管疾患、肥満などの代謝性疾患の発症に関与していると推察されている<sup>128-132)</sup>。腸内細菌は外部から侵入する病原体から腸管バリアを形成することで腸管内の環境を健康に維持し、腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸 (Short-Chain Fatty Acid: SCFA) も健康維持に寄与する<sup>133,134)</sup>。また、腸内細菌が産生する SCFA は腸管上皮細胞に重要な成分であり、腸管バリア機能の強化に貢献する<sup>135,136)</sup>。腸管バリア機能の改善は、血液循環系への微生物や微生物分子の侵入を減少させ、それによって代謝性疾患に関連する免疫応答を減少させる<sup>137)</sup>。バランスのとれた腸内細菌叢の構成は腸内の恒常性維持に重要であるが、そのバランスの崩壊は代謝性疾患を引き起こす要因となり<sup>138)</sup>、2型糖尿病、心血管疾患および肥満はこの腸内細菌叢の構成バランスの崩壊に関わる<sup>139,140)</sup>。このように細菌叢の改善は様々な疾患に有効であることが示されている。バイオジェニクスとしての整腸作用として、乳酸菌の死菌体を含め発酵代謝産物であるフラボノイドやアントシアニン、カテキン、さらに微生物の体表面抗原による免疫賦活作用が認められている<sup>127)</sup>。これらから整腸作用がもたらされると考えられる。

プレバイオティクスとしては食物繊維が着目されており、食物繊維を含む食事は腸内細菌叢の構成や微生物由来の代謝物、それによって宿主の代謝に影響を与える可能性があることが知られている<sup>135,141)</sup>。また、オリゴ糖も腸内細菌叢のバランスを改善することが知られている。腸内細菌叢の中で「善玉菌」の代表であるビフィズス菌 (*Bifidobacterium*) は、オリゴ糖を効率よく利用し増殖することでビフィズス菌が優勢な細菌叢が形成される<sup>142)</sup>。このように植物発酵製品は発酵過程で生じた成分が食物繊維やオリゴ糖のようなプレバイオティクス様作用をもたらすことでバイオジェニクスとして整腸作用に関与することが予想される。

ここでは第1部において製造工程別に紹介した植物発酵液末 EX および植物発酵ペースト SW についての整腸作用について検証するとともに、腸管上皮細胞における抗炎症作用についても言及する。

### 1. ヒトにおける植物発酵液末 EX の整腸作用<sup>143)</sup>

ヒトにおける植物発酵製品の整腸作用を検証するために植物発酵液末 EX を4週間継続摂取後に糞便中の腸内善玉菌の指標であるビフィズス菌 (*Bifidobacterium*) 数を測定した。その結果、プラセボ群ではビフィズス菌

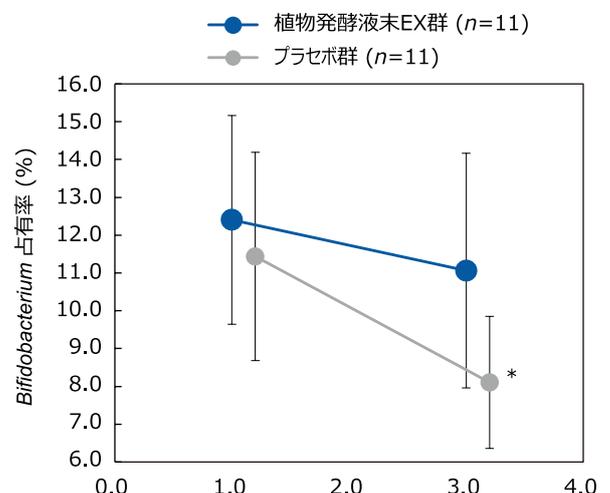


図43 植物発酵液末 EX の整腸効果  
 平均値 ± 標準誤差 \*P < 0.05 (vs. 摂取前)

の割合が摂取後に低下したが、植物発酵液末 EX を摂取させた群ではその低下が抑制された (図 43)。植物発酵液末 EX に含有が期待されるバイオジェニクス成分が腸内細菌叢を調節し、善玉菌であるビフィズス菌の割合の低下が抑制されたと考えられる。

## 2. マウスにおける植物発酵ペースト SW の整腸作用<sup>144)</sup>

さらに、詳細な植物発酵製品の整腸作用を検証するためにマウスにおける腸内細菌叢解析を実施した。マウスにおいて植物発酵ペースト SW を 2 週間摂取させた後に糞便に含まれる腸内細菌叢 (細菌の分布) を解析したところ、植物発酵ペースト SW 摂取群の平均占有率が対照群よりも大きかった項目は *Lactobacillales*, *Clostridium* cluster XVIII および others であった。いずれも植物発酵ペースト SW 投与群と対照群の間に統計学的な差は認められなかったものの *Lactobacillales* の平均占有率は投与群の方が対象群よりも 3.456%

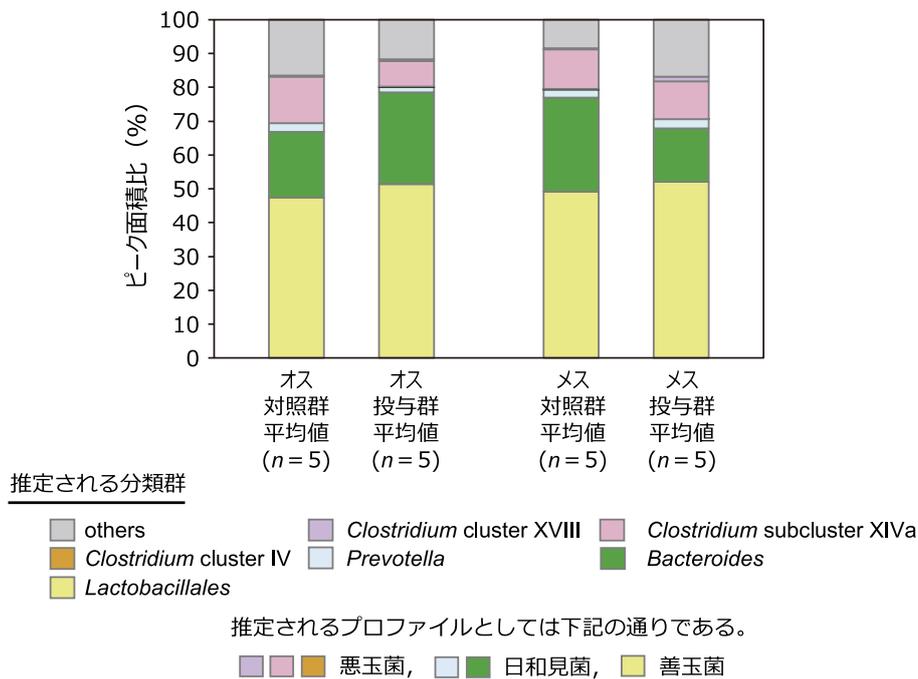


図 44-1 マウスにおける腸内細菌叢の構成 (植物発酵ペースト SW, 腸内環境への影響)

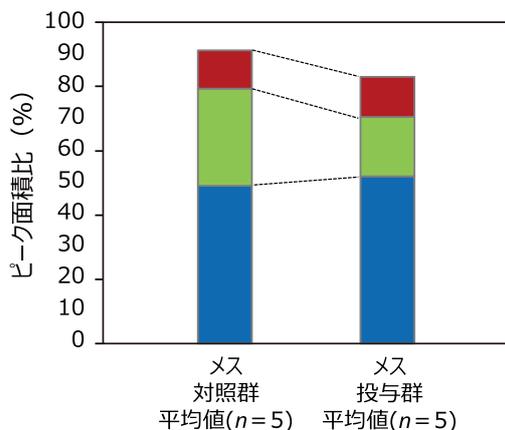


図 44-2 メスマウスにおける腸内細菌叢の構成 (植物発酵ペースト SW, 腸内環境への影響)

大きい傾向となった (図 44-1)。一方、*Bacteroides*, *Prevotella*, *Clostridium* cluster IV および *Clostridium* subcluster XIVa は対照群の方が平均占有率は大きかったが、統計学的な有意差は認められなかった (図 44-1)。

解析された腸内細菌叢を善玉菌、日和見菌、悪玉菌と分類し、植物発酵ペースト SW 投与群および対照群における構成割合の差を検証したところ、マウス (メス) の植物発酵ペースト SW 投与群は対照群と比べて善玉菌、日和見菌、悪玉菌の構成割合の差はそれぞれ +3.0%, -11.7%, +0.5% となり、善玉菌が上昇し、日和見菌は減少、悪玉菌はほぼ変化しないことが示された (図 44-2)。

*Lactobacillales* の占有率の上昇から善玉菌（乳酸菌）の割合が高くなり、腸内 pH は摂取前よりも低い状態と推察される。腸内で乳酸菌から産生された乳酸は他の細菌によって酢酸、プロピオン酸、酪酸などの短鎖脂肪酸に誘導され<sup>145)</sup>、プロピオン酸や酢酸は大腸炎抑制に効果があると報告されている<sup>146,147)</sup>。*Bacteroides* は日和見菌とも言われ、悪玉菌が優勢な場合には有害作用を及ぼすが、*Bacteroides* は有機酸を産生する菌でもあるため<sup>148)</sup>、*Bacteroides* の占有率増加は腸管内の有機酸が増加した結果と考えられる。また、これまで悪玉菌とされていた *Clostridium* に属する菌群も一部は宿主に健康効果をもたらすことも明らかにされており<sup>149)</sup>、すべての *Clostridium* 属が害を及ぼす訳ではない<sup>144)</sup>。占有率の上昇が確認された *Clostridium* cluster XVIII も大腸炎の抑制効果が示唆されている<sup>149)</sup> ことから、植物発酵ペースト SW は腸内細菌叢における善玉菌（乳酸菌）や *Clostridium* cluster XVIII の占有率を高め、免疫機能の向上をもたらす可能性が考えられる。特に、メス投与群における *Clostridium* cluster XVIII はオス・メスいずれの対照群よりも *Clostridium* cluster XVIII の占有率は高いことから、植物発酵ペースト SW が腸内環境に与える影響はメスにおいて顕著に観察される事象であるといえる。

メスにおいては *Clostridium* cluster XVIII の細菌叢変化も確認され、植物発酵ペースト SW が腸内細菌叢構成に与える影響はメスにおいて特に大きいと考えられる。近年、腸内環境の構成には性ホルモンの影響が確認されており<sup>150,151)</sup>、食事が腸内細菌叢に与える影響については性差の存在が示唆されている<sup>152)</sup>。したがって、植物発酵ペースト SW はメスにおいて効果的に腸内環境の改善効果を示す可能性がある。

### 3. ヒト腸上皮細胞における植物発酵ペースト SW の整腸作用<sup>153)</sup>

前項において植物発酵ペースト SW の摂取により善玉菌の維持や細菌叢の変化が確認された。腸内細菌叢のバランスは腸機能においても重要で、「悪玉菌」が優勢となることで腸炎などが発症しその機能が低下することが知られている<sup>154)</sup>。発酵食品が腸管における抗炎症作用を示すことから植物発酵製品における腸上皮細胞における抗炎症作用を検証した<sup>155)</sup>。

ヒト腸上皮細胞 (Caco-2) に植物発酵ペースト SW 処理した細胞に炎症誘導因子である TNF- $\alpha$  で刺激し、それによって誘導される炎症性サイトカインである IL-8 の産生量を検討したところ、炎症刺激下において植物発酵ペースト SW は濃度依存的に IL-8 産生を抑制した (図 45)。さらに炎症無刺激下においても植物発酵ペースト SW 0.5% および 2% 濃度で有意に IL-8 産生の抑制が確認された (図 45)。

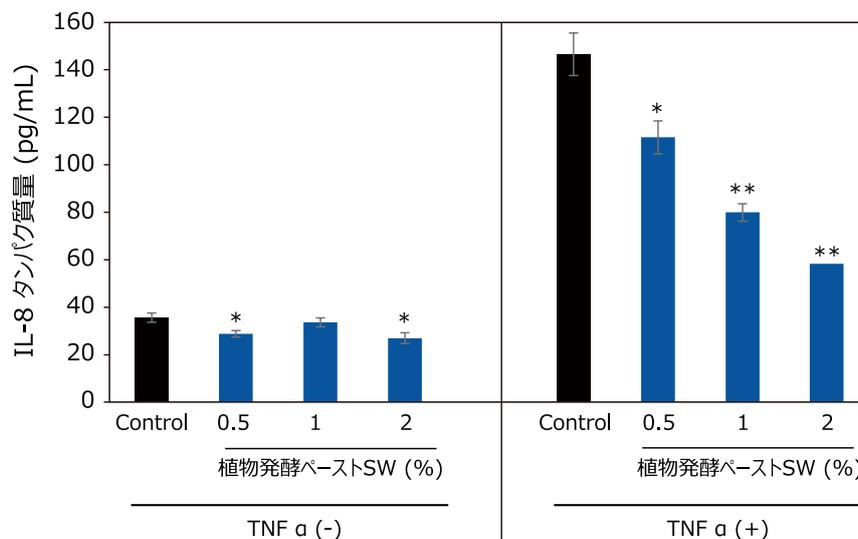


図 45 ヒト腸上皮細胞における IL-8 タンパク質量 (植物発酵ペースト SW, 抗炎症効果)

炎症刺激 (TNF- $\alpha$ ) 後の IL-8 産生抑制作用

TNF- $\alpha$  (-) は炎症無刺激下, TNF- $\alpha$  (+) は炎症刺激下を表す。

平均値  $\pm$  標準誤差 ( $n = 6$ ), \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  (vs control)

IL-8 はマクロファージや上皮細胞、血管内皮細胞など病原体が感染した組織の細胞から分泌され自然免疫系を担う好中球の感染部位への走化性を誘導する。病原菌を認識したマクロファージは TNF- $\alpha$  を分泌し上皮細胞などの周辺細胞にシグナルを伝える。TNF- $\alpha$  を受け取った周辺細胞は IL-8 を分泌することで好中球を誘導し、好中球の貪食作用や ROS を発生させることによる殺菌作用により病原体を殺菌・分解する。しかし、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、および IL-8 などの炎症誘発性サイトカインや ROS の過剰産生により免疫過剰となり自身の健全な細胞をも攻撃することで「炎症」が発生する<sup>156)</sup>。植物発酵ペースト SW 成分により IL-8 産生を適度に抑え、腸管における炎症を抑制することが期待できる。

これまでの研究からポリフェノールまたはグリセロ糖脂質の抗炎症作用が検証されている。ポリフェノールの抗炎症作用について、Shin, *et al.* は Caco-2 細胞においてポリフェノール類のクロロゲン酸が TNF- $\alpha$  刺激によって産生される IL-8 を抑制することを報告している<sup>157)</sup>。一方のグリセロ糖脂質の抗炎症作用については、Kiem *et al.* の報告からガジュマル由来のグリセロ糖脂質がヒト結腸上皮由来細胞の HT-29 細胞における IL-8 産生を抑制することが確認されている<sup>158)</sup>。また、奥らの報告から大麦若葉末由来グリセロ糖脂質が Caco-2 細胞における TNF- $\alpha$  刺激下の IL-8 産生を抑制することが確認されている<sup>159)</sup>。これらの研究で確認された結果と我々が確認した結果は類似しており、本研究で認められた植物発酵ペースト SW による IL-8 産生の抑制は、ポリフェノールおよびグリセロ糖脂質によりもたらされた可能性があった。また、TNF- $\alpha$  非刺激下において IL-8 産生が減少したことにおいて、Chen *et al.* は TNF- $\alpha$  非刺激時におけるクランベリービーンによる IL-8 産生の抑制の結果から、クランベリービーンには炎症に対する予防効果を示唆したと考察しており<sup>160)</sup>、我々の結果も Chen, *et al.* の結果に類似していたことから、植物発酵ペースト SW も炎症に対して予防効果を示すものと考えられる。

### 小括

第 6 部では、植物発酵製品の整腸作用と腸管上皮細胞における抗炎症効果の結果を紹介した。植物発酵製品の発酵過程で生じた成分がバイオジェニクスとして腸内細菌叢に影響を与え得ること<sup>22)</sup>、腸内細菌叢の変化に伴い産生される SCFA によって腸管バリア機能の強化が望まれることなど<sup>135, 136)</sup>、腸管内環境や腸管上皮細胞に対して生体防御機能を高める作用が期待される<sup>137)</sup>。実際に、この仮説をもとに行った実証実験では仮説を支持する結果が得られた<sup>143, 144, 153)</sup>。

これら結果より推定される植物発酵製品の整腸作用を図 46 に示した。現代日本人のほとんどが国で定め

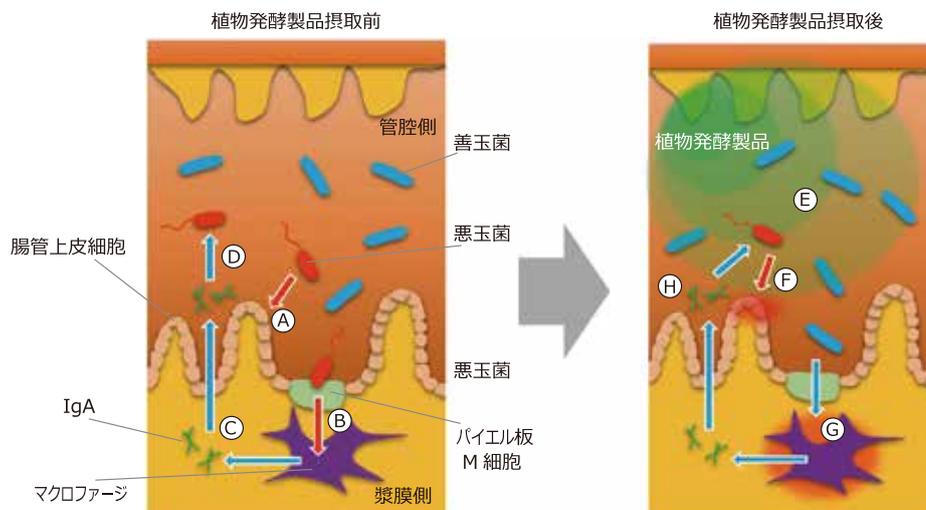


図 46 植物発酵製品による推定される整腸作用

植物発酵製品摂取前：腸内に存在する悪玉菌により腸管上皮細胞の炎症 (A)、血小板を介してマクロファージが悪玉菌の情報を認識し IgA が産生 (B、C)、IgA は管腔側に分泌され悪玉菌を抑制 (D)  
 植物発酵製品摂取後：植物発酵製品による腸内細菌バランスの改善 (E)、抗炎症抑制作用による腸管上皮細胞のダメージ抑制 (F)、善玉菌の認識およびマクロファージの活性化作用による IgA の産生とそれによる悪玉菌の抑制 (G、H)

る食物繊維の目標摂取量（女性 18 g/日以上，男性 21 g/日以上）を満たしていない<sup>161</sup>）。食物繊維摂取量の低下は腸内細菌叢のバランスの崩壊に関わり<sup>132</sup>，腸管内の環境を悪化させる<sup>162</sup>）。植物発酵製品摂取前では，悪玉菌が優位な状態であり，悪玉菌の細胞壁成分（リポ多糖）が腸管組織中のマクロファージや腸上皮細胞の Toll-like receptor 4（TLR4）を介して NF- $\kappa$ B の分泌が促進され炎症がもたらされる<sup>163</sup>）。これにより腸透過性が高まることで<sup>164</sup>，腸管バリア機能の低下を招く恐れがある<sup>165</sup>）。これに対しパイエル板を介してマクロファージが悪玉菌の情報を認識し，T 細胞を介して IgA 抗体の産生，IgA が腸管腔側に分泌され悪玉菌の活動を抑制する一連の流れが想定される<sup>166,167</sup>）。

一方，植物発酵製品摂取後では植物発酵物を含む成分が整腸作用を発揮することで腸内細菌叢のバランスが改善されるとともに，その抗炎症作用によって腸管上皮細胞の損傷を抑制することができる。また，第 3 部で述べたように植物発酵製品のマクロファージ賦活作用があることから，マクロファージが善玉菌を認識およびそれに伴う活性化によって IgA が産生され，悪玉菌を抑制し，腸内細菌叢の改善が行われたことが推測される。

## 総括

本総説では植物由来微生物およびヒノキ樽に生息する微生物がもたらす自然発酵による食品の機能性とその実態について述べてきた。第 1 部において植物発酵製品の製造において，野菜，果物，海藻など原材料由来の微生物とヒノキ樽由来の微生物が醸し出す独自の発酵産物が製造される工程を紹介した。第 2 部では植物発酵製品の生化学レベルでの抗酸化作用<sup>16,17</sup> および抗糖化作用を確認した<sup>52</sup>）。酸素呼吸や代謝により生じた細胞内 ROS は細胞内抗酸化機構により適度に調整されているが，ROS の毒性作用がゆえに酸素呼吸や代謝など細胞機能は ROS 産生レベルが律速となっている。したがって，ROS の除去や ROS を起因とする糖化反応や炎症反応を抑制することが細胞機能の維持・向上に重要となる。これら ROS に関連する抗酸化作用，ミトコンドリア賦活作用，免疫賦活作用，育毛作用，抗炎症作用の細胞レベルでの検証を第 3 部，第 4 部で紹介した。第 5 部ではヒト試験においてこれら生化学および細胞レベルでの知見を裏付ける臨床データを紹介し植物発酵製品の肌健全化および美白効果を示した。さらに第 6 部では整腸作用を紹介し，植物発酵製品の持つ様々な機能性が見出された（図 47）。このような機能性が植物発酵製品中のどのような成分によりもたらされているかは今後の更なる研究が必要であるが，植物発酵製品が 100 種類以上の野菜や果物などを混合して発酵する過程によって得られる微生物や酵素，ポリフェノール類などが関与しているものと考えられる。その候補として植物発酵製品中の抗酸化物質によりもたらされた可能性を本総説にて示した。

植物発酵製品は製造工程の特徴として加熱処理が行われていることから，発酵により得られた微生物は死菌となっている。つまり，植物発酵製品においては生菌として人体に影響を及ぼすプロバイオティクス作用がもたらされる可能性はないと考えられる。また，植物発酵製品中には一部製品を除き食物繊維が認められないことからプレバイオティクス作用もあまりないと考えられる。したがって，ほとんどの植物発酵製品は含有する発酵産物成分などによるバイोजェニクス作用により様々な機能性がもたらされたと考えられる。バイोजェニクスは微生物の死菌でも十分に生体に影響を及ぼす作用機序で近年新たに提唱された。作用因子として微生物由来の菌体ペプチドや生理活性物質，菌体表面抗原，原材料由来の植物フラボノイドや脂肪酸，ビタミン，フェノール類などが機能すると考えられ<sup>22</sup>），その多くが抗酸化能を有している。植物発酵製品においてもバイोजェニクスの作用因子として抗酸化物質が有力と考えられる。また，植物由来成分を微生物が代謝・変換し，植物にはない新たな微生物由来の化合物がバイोजェニクスとして作用することも知られている<sup>168</sup>）。このようなことから，ヒノキ樽を用いた 100 種類以上の野菜，果物，海藻，穀類からなる植物発酵製品は，植物や微生物由来成分や酵素，さらに独自の微生物代謝産物や新規代謝産物が体内に直接作用もしくは整腸作用を介して間接的に作用し，頭皮に始まり，肌の状態，脂肪の燃焼，腸内までの全身へ健康機能をもたらす食品であることが示された。

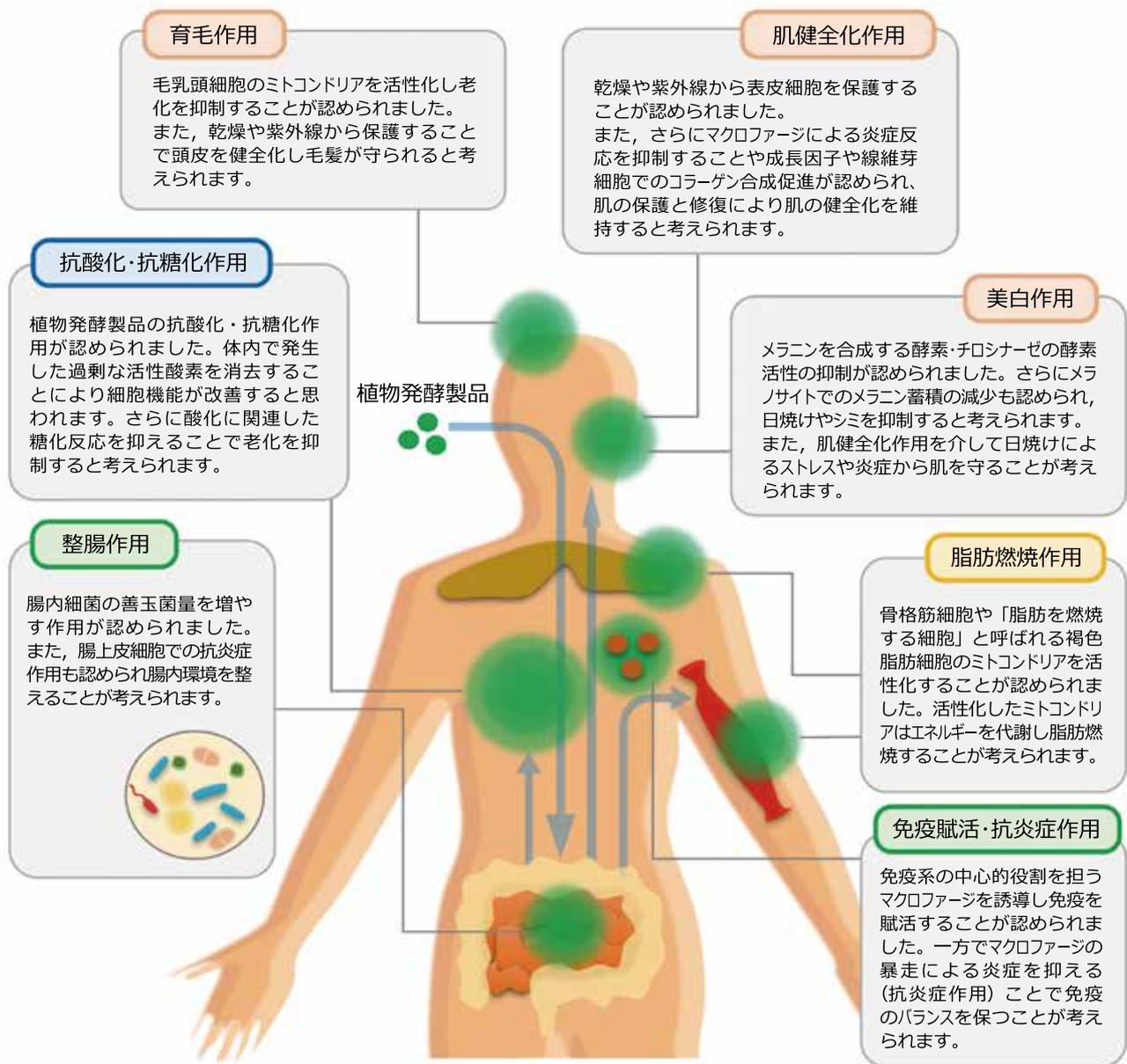


図 47 植物発酵製品の生体における機能性

植物発酵物は奥が深く、この総説が全てを現せているわけではない。ただし、我々の研究活動はその一部を写し出す結果であり、植物発酵物のもつ魅力を科学的に証明する一助になったと考える。今後、植物発酵製品の新規機能やその作用メカニズムの解明など科学的知見を明らかにすることで植物発酵製品の魅力を広く発信し、人々の健康の維持・増進を目指した社会貢献をしていきたい。

## 謝辞

本論の研究において、篠崎 恒雄氏、篠崎 陽一氏、篠崎 直樹氏、篠崎 伸吾氏、吉田 和弘氏、坪井 秀憲氏、川村 秀二氏、八竹 宏和氏、医療法人社団盛心会タカラクリニック 高良 毅氏、医療法人社団健豊会つのおクリニック 角尾 彰信氏、プレシオ国際特許事務所の速水 進治氏および中谷 陽子氏、株式会社オルトメディコ の鈴木 直子氏および山下 慎一郎氏に多大なご協力を頂きましたことを深謝申し上げます。

## 参考文献

1. Frías J, Martínez-Villaluenga C, Peñas E: Fermented Foods in Health and Disease Prevention. 1st ed. Boston, MA, USA: Academic Press, 2016.
2. Tamang JP, Cotter PD, Endo A, Han NS, Kort R, *et al.*: Fermented foods in a global age: East meets West. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **19**:184-217, 2020.
3. Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, *et al.*: Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr. Opin. Biotechnol.* **44**(3): 94-102, 2017.
4. Fardet A, Rock E: *In vitro* and *in vivo* antioxidant potential of milks, yoghurts, fermented milks and cheeses: A narrative review of evidence. *Nutr. Res. Rev.* **31**(1): 52-70, 2018.
5. Pessione E, Cirrincione S: Bioactive molecules released in food by lactic acid bacteria: Encrypted peptides and biogenic amines. *Front. Microbiol.* **7**: 1-19, 2016.
6. Linares DM, Gómez C, Renes E, Fresno JM, Tornadijo ME, *et al.*: Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria with Potential to Design Natural Biofunctional Health-Promoting Dairy Foods. *Front. Microbiol.* **8**: 1-11, 2017.
7. Ogunremi OR, Banwo K, Sanni AI: Starter-culture to improve the quality of cereal-based fermented foods: trends in selection and application. *Curr. Opin. Food Sci.* **13**: 38-43, 2017.
8. Melini F, Melini V, Luziatelli F, Ficca AG, Ruzzi M: Health-Promoting Components in Fermented Foods: An Up-to-Date Systematic Review. *Nutrients* **11**(5): 1189, 2019.
9. Monoi N, Matsuno A, Nagamori Y, Kimura E, Nakamura Y, *et al.*: Japanese sake yeast supplementation improves the quality of sleep: a double-blind randomised controlled clinical trial. *J Sleep Res* **25**(1): 116-123, 2016.
10. Moslehi-Jenabian S, Lindegaard L, Jespersen L: Beneficial Effects of Probiotic and Food Borne Yeasts on Human Health. *Nutrients* **2**(4): 449-473, 2010.
11. Takata K, Kinoshita M, Okuno T, Moriya M, Kohda T, *et al.*: The Lactic Acid Bacterium *Pediococcus acidilactici* Suppresses Autoimmune Encephalomyelitis by Inducing IL-10-Producing Regulatory T Cells. *PLoS One* **6**(11): e27644, 2011.
12. Ueda T, Tategaki A, Hamada K, Kishida H, Hosoe K, *et al.*: Effects of *Pediococcus acidilactici* R037 on serum triglyceride levels in mice and rats after oral administration. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* **64**(1): 41-47, 2018.
13. Östman EM, Nilsson M, Liljeberg Elmståhl HGM, Molin G, Björck IME: On the Effect of Lactic Acid on Blood Glucose and Insulin Responses to Cereal Products: Mechanistic Studies in Healthy Subjects and *In Vitro*. *J. Cereal Sci.* **36**(3): 339-346, 2002.
14. 吉川和彦, 青田啓吾, 高田善浩, 中村剛, 星野智宏, 他: *Lactobacillus brevis* SBC8803 (SBL88™ 乳酸菌) 摂取による睡眠の質改善効果—ランダム化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験—. 薬理と治療 **46**(10): 1723-1738, 2018.
15. 渡邊卓巳, 菅辰彦, 大脇真, 山下慎一郎, 山本和雄, 他: 加熱殺菌した乳酸菌 *Enterococcus faecalis* KH2 株の摂取が健全な日本人成人の腸内環境に及ぼす影響と安全性の検討—ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験—. 薬理と治療 **48**(4): 611-624, 2020.
16. 本藤和彦, 鈴木直子, 山下慎一郎, 吉田雄介: ミトコンドリアおよび抗酸化作用を介した植物発酵ペースト AO の細胞学的効果. 薬理と治療 **45**(7): 1141-1152, 2017.
17. 本藤和彦, 鈴木直子, 山下慎一郎, 吉田雄介: 植物発酵液 SW の抗酸化作用. 薬理と治療 **47**(5): 733-738, 2019.
18. Serafini M, Peluso I: Functional Foods for Health: The Interrelated Antioxidant and Anti-Inflammatory Role of Fruits, Vegetables, Herbs, Spices and Cocoa in Humans. *Curr. Pharm. Des.* **22**(44): 6701-6715, 2016.
19. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR: Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci.* **5**:e47, 2016.
20. Fuller R: Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* **66**(5): 365-378, 1989.
21. Gibson G, Roberfruid M: Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* **125**(6): 1401-1412, 1995.
22. Mitsuoka T: Significance of Dietary Modulation of Intestinal Flora and Intestinal Environment. *Biosci Microflora* **19**(1): 15-25, 2000.
23. Howell E: Enzyme Nutrition: The Food Enzyme Concept. New Jersey: 1985
24. Renshaw A: Intestinal extract in rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.* **6**: 15-26, 1947.
25. 加藤陽治, 照井誉子, 羽賀敏雄, 小山セイ, 日景弥生, 他: 生食野菜類のアミラーゼ活性. 弘前大学教育学部教科教育研究紀要 **17**: 49-57, 1993.
26. 金野尚武: きのご類が生産する糖質加水分解酵素. 木材保存 **39**(2): 60-70, 2013.
27. 井口智文, 松本英子, 角屋堯英: パイナップルに含まれるプロテアーゼを利用した実験教材の開発. 宇都宮大学教育学部紀要 **53**: 15-22, 2003.
28. 森内安子: 果実によるタンパク質分解酵素の活性検査. 神戸女子短期大学紀要 **57**: 27-33, 2012.
29. 篠崎伸吾, 篠崎直樹, 本藤和彦: 特許第 6225128 号. 植物発酵液末の製造方法および植物発酵粉末の製造方法
30. 本藤和彦: 特許第 6283763 号. 植物発酵ペーストの製造方法
31. 篠崎陽一, 篠崎直樹, 本藤和彦: 特許第 6556932 号. 容器詰め植物発酵飲料の製造方法
32. 本藤和彦: 特許第 6801072 号. 植物発酵飲料の製造方法
33. 岡田早苗: 植物性乳酸菌世界とその秘める可能性. 日本乳酸菌学会誌 **13**(1): 23-36, 2002.
34. 灘吉利晃: 素顔の天然酵母たち. ホームメイド協会, 2005.
35. Wood B: The yeast/*Lactobacillus* interaction; A study in stability. in Bushell M, Slater J (eds) : Mixed culture fermentations, Academic press, 1981.
36. Wood B: Yeast-Lactic Acid Bacteria Interactions and their Contribution to Fermented Foodstuffs. in Wood B (ed) : Microbiology of fermented foods, Springer, 1985.
37. 古川壮一, 啓雄片倉: 乳酸菌と酵母の共存と共生. 生物工学会誌 **90**(4): 188-191, 2012.
38. FAO/WHO/UNU: Energy and protein requirements. *World Health Organ Tech Rep Ser* **27**(11): 1985.
39. Woods DD: The Integration of Research on the Nutrition and Metabolism of Micro-organisms: The Inaugural Marjory Stephenson

- Memorial Lecture. *J Gen Microbiol* **9**(2): 151-173, 1953.
40. Challinor SW, Rose AH: Interrelationships between a Yeast and a Bacterium when growing together in Defined Medium. *Nature* **174**(4436): 877-878, 1954.
  41. Nakamura L, Hartman P: Lactobacillus: yeast inter-relationships. *J. Bacteriol.* **81**: 519-523, 1961.
  42. 稲森和夫, 宮内謙吉, 内田一生, 吉野宏: 醤油乳酸菌と酵母の相互作用. 日本農芸化学会誌 **58**(8): 771-777, 1984.
  43. 長谷川要, 門脇清: 醤油諸味中の乳酸菌と酵母の関係について. 日本醸造協会雑誌 **77**(3): 157-161, 1982.
  44. Fridovich I: The biology of oxygen radicals. *Science* **201**(4359): 875-880, 1978.
  45. 渡辺正仁, 由留木裕子, 有末伊織, 藤田浩之, 出田めぐみ, 他: 活性酸素種と水素療法. 保健医療学雑誌 **11**(2): 160-174, 2020.
  46. Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K: Oxidative Stress in Aging Human Skin. *Biomolecules* **5**(2): 545-589, 2015.
  47. Guillaumet-adkins A, Yañez Y, Peris-diaz MD, Calabria I, Palanca-ballester C, *et al.*: Epigenetics and Oxidative Stress in Aging. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2017**: 1-8, 2017.
  48. Taniyama Y, Griendling KK: Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension* **42**(6): 1075-1081, 2003.
  49. Chaudhuri J, Bains Y, Guha S, Kahn A, Hall D, *et al.*: The Role of Advanced Glycation End Products in Aging and Metabolic Diseases: Bridging Association and Causality. *Cell Metab.* **28**(3): 337-352, 2018.
  50. 中村好志, 江崎秀男: 食品の機能性と発酵による変化 -黒茶と大豆食品を例に-. 日本醸造協会誌 **108** (1): 16-24, 2013.
  51. 小松あき子, 原田和樹, 遠藤伸之, 永塚規衣, 永尾慶子: 漬物の抗酸化性および品質に及ぼす調製条件の影響. 日本調理科学会誌 **44**(2): 128-136, 2011.
  52. 本藤和彦, 鈴木直子, 山下慎一郎, 吉田雄介: 植物発酵液 SW の抗糖化作用. 薬理と治療 **47**(3): 431-435, 2019.
  53. Masaki H, Atsumi T, Sakurai H: Detection of Hydrogen Peroxide and Hydroxyl Radicals in Murine Skin Fibroblasts under UVB Irradiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **206**(2): 474-479, 1995.
  54. Jurkiewicz BA, Buettnerf GR: EPR Detection of Free Radicals in UV-Irradiated Skin: Mouse Versus Human. *Photochem. Photobiol.* **64**(6): 918-922, 1996.
  55. Valencia A, Kochevar IE: Nox1-Based NADPH Oxidase Is the Major Source of UVA-Induced Reactive Oxygen Species in Human Keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* **128**(1): 214-222, 2008.
  56. Masaki H, Okano Y, Sakurai H: Generation of active oxygen species from advanced glycation end-products (AGEs) during ultraviolet light A (UVA) irradiation and a possible mechanism for cell damaging. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* **1428**(1): 45-56, 1999.
  57. Srinivas US, Tan BWQ, Vellayappan BA, Jeyasekharan AD: ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox. Biol.* **25**(December 2018): 101084, 2019.
  58. Su L-J, Zhang J-H, Gomez H, Murugan R, Hong X, *et al.*: Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2019**: 1-13, 2019.
  59. Patterson JC, Joughin BA, van de Kooij B, Lim DC, Lauffenburger DA, *et al.*: ROS and Oxidative Stress Are Elevated in Mitosis during Asynchronous Cell Cycle Progression and Are Exacerbated by Mitotic Arrest. *Cell Syst.* **8**(2): 163-167.e2, 2019.
  60. Senoner T, Dichtl W: Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases: Still a Therapeutic Target? *Nutrients* **11**(9): 2090, 2019.
  61. Trist BG, Hare DJ, Double KL: Oxidative stress in the aging substantia nigra and the etiology of Parkinson's disease. *Aging Cell* **18**(6): 1-23, 2019.
  62. Cenini G, Lloret A, Cascella R: Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From a Mitochondrial Point of View. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2019**: 1-18, 2019.
  63. Monserrat-Mesquida M, Quetglas-Llabrés M, Capó X, Bouzas C, Mateos D, *et al.*: Metabolic Syndrome Is Associated with Oxidative Stress and Proinflammatory State. *Antioxidants* **9**(3): 236, 2020.
  64. Stout R, Birch-Machin M: Mitochondria's Role in Skin Ageing. *Biology (Basel)* **8**(2): 29, 2019.
  65. Tsuchida K, Kobayashi M: Oxidative stress in human facial skin observed by ultraweak photon emission imaging and its correlation with biophysical properties of skin. *Sci. Rep.* **10**(1): 9626, 2020.
  66. Nordberg J, Arnér ESJ: Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic. Biol. Med.* **31**(11): 1287-1312, 2001.
  67. Ferrucci L, Fabbri E: Inflammaging: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nat Rev Cardiol* **15**(9): 505-522, 2018.
  68. Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, *et al.*: Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat. Med.* **25**(12): 1822-1832, 2019.
  69. Kierdorf K, Fritz G: RAGE regulation and signaling in inflammation and beyond. *J Leukoc Biol* **94**(1): 55-68, 2013.
  70. Forni C, Facchiano F, Bartoli M, Pieretti S, Facchiano A, *et al.*: Beneficial Role of Phytochemicals on Oxidative Stress and Age-Related Diseases. *BioMed Res. Int.* **2019**: 1-16, 2019.
  71. 本藤和彦, 鈴木直子, 山下慎一郎, 吉田雄介: 植物発酵液 SW の美白効果および肌健全効果. *New Food Indust.* **62**(3): 157-167, 2020.
  72. 河野善行, 宮地良樹: 皮膚と活性酸素-酸化ストレスからの防御-. 炎症 **20**(2): 119-129, 2000.
  73. Kobayashi Y, Iwai I, Akutsu N, Hirao T: Increased carbonyl protein levels in the stratum corneum of the face during winter. *Int J Cosmet Sci* **30**(1): 35-40, 2008.
  74. Hudson L, Rashdan E, Bonn CA, Chavan B, Rawlings D, *et al.*: Individual and combined effects of the infrared, visible, and ultraviolet light components of solar radiation on damage biomarkers in human skin cells. *FASEB J.* **34**(3): 3874-3883, 2020.
  75. 齊藤昌之: 褐色脂肪組織でのエネルギー消費と食品成分による活性化. 化学と生物 **50**(1): 23-29, 2012.
  76. 本藤和彦, 鈴木直子, 山下慎一郎, 吉田雄介: 植物発酵液 SW の抗炎症効果. 薬理と治療 **47**(9): 1417-1424, 2019.
  77. Dunkelberger JR, Song W-C: Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res.* **20**: 34-50, 2010.
  78. Hilhorst M, Shirai T, Berry G, Goronzy JJ, Weyand CM: T Cell-Macrophage Interactions and Granuloma Formation in Vasculitis. *Front. Immunol.* **5**: 1-14, 2014.

79. Skoczyńska A, Budzisz E, Trznadel-Grodzka E, Rotsztejn H: Melanin and lipofuscin as hallmarks of skin aging. *Adv Dermatology Allergol* **34**(2): 97-103, 2017.
80. Stenn K, Paus R: Controls of Hair Follicle Cycling. *Physiol. Rev.* **81**(1): 449-494, 2001.
81. Imamura T: Physiological Functions and Underlying Mechanisms of Fibroblast Growth Factor (FGF) Family Members : Recent Findings and Implications for Their Pharmacological Application. *Biol. Pharm. Bull.* **37**(7): 1081-1089, 2014.
82. Lee A, Bae S, Lee SH, Kweon O, Kim WH: Hair growth promoting effect of dermal papilla like tissues from canine adipose- derived mesenchymal stem cells through vascular endothelial growth factor. *J. Vet. Med. Sci.* **78**(12): 1811-1818, 2016.
83. González R, Moffatt G, Hagner A, Sinha S, Shin W, *et al.*: Platelet-derived growth factor signaling modulates adult hair follicle dermal stem cell maintenance and self-renewal. *NPJ Regen. Med.* **2**: 1-11, 2017.
84. Mifude C, Kaseda K: PDGF-AA-induced filamentous mitochondria benefit dermal papilla cells in cellular migration. *Int J Cosmet Sci* **37**(3): 266-271, 2015.
85. Wang L, Guo L, Wang L, Zhang G, Shang J, *et al.*: Oxidative stress and substance P mediate psychological stress-induced autophagy and delay of hair growth in mice. *Arch. Dermatol. Res.* **307**(2): 171-181, 2015.
86. Jodkauskaitė L, Coulombe P, Schäfer M, Dinkova-Kostova A, Paus R, *et al.*: Oxidative stress management in the hair follicle: Could targeting NRF2 counter age-related hair disorders and beyond? *Bioessays* **39**(8): doi: 10.1002/bies.201700029., 2017.
87. 矢野敏史, 及川哲志, 大畑佳久, 本藤和彦, 山下慎一郎, 他: ヒト線維芽細胞の酸化ストレス障害およびコラーゲン遺伝子発現に及ぼす植物発酵液 SW の影響. *薬理と治療* **48**(7): 1159-1165, 2020.
88. Park S-J, Ahmad F, Philp A, Baar K, Williams T, *et al.*: Resveratrol Ameliorates Aging-Related Metabolic Phenotypes by Inhibiting cAMP Phosphodiesterases. *Cell* **148**(3): 421-433, 2012.
89. Ido Y, Duranton A, Lan F, Cacicedo JM, Chen TC, *et al.*: Acute Activation of AMP-Activated Protein Kinase Prevents H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Induced Premature Senescence in Primary Human Keratinocytes. *PLoS One* **7**(4): e35092, 2012.
90. Zhong Y, Lee K, He JC: SIRT1 Is a Potential Drug Target for Treatment of Diabetic Kidney Disease. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* **9**(OCT): 1-6, 2018.
91. Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, *et al.*: A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **92**(20): 9363-9367, 1995.
92. 小山洋一: 天然素材コラーゲンの機能性. *皮革科学* **56**(2): 71-79, 2010.
93. Cheng W, Yan-Hua R, Fang-Gang N, Guo-An Z: The content and ratio of type I and III collagen in skin differ with age and injury. *Afr. J. Biotechnol.* **10**(13): 2524-2529, 2011.
94. Haydont V, Bernard BA, Fortunel NO: Age-related evolutions of the dermis: Clinical signs, fibroblast and extracellular matrix dynamics. *Mech. Ageing Dev.* **177**: 150-156, 2019.
95. Asgari M, Latifi N, Heris HK, Vali H, Mongeau L: *In vitro* fibrillogenesis of tropocollagen type III in collagen type I affects its relative fibrillar topology and mechanics. *Sci. Rep.* **7**: 1392, 2017.
96. Zhang Y, Wang J, Cheng X, Yi B, Zhang X, *et al.*: Apigenin induces dermal collagen synthesis via smad2/3 signaling pathway. *Eur J Histochem* **59**(2): 98-106, 2015.
97. Ohto-Fujita E, Konno T, Shimizu M, Ishihara K, Sugitate T, *et al.*: Hydrolyzed eggshell membrane immobilized on phosphorylcholine polymer supplies extracellular matrix environment for human dermal fibroblasts. *Cell Tissue Res.* **345**(1): 177-190, 2011.
98. Lago JC, Puzzi MB: The effect of aging in primary human dermal fibroblasts. *PLoS One* **14**(7): e0219165, 2019.
99. 斉藤靖和, 森下愛子, 水戸智美, 辻屋翼, 三羽信比古: ヒト線維芽細胞の老化に伴う細胞内酸化ストレスの増加とアスコルビン酸必要性の亢進. *ビタミン* **88**(5-6): 287-288, 2014.
100. Qian W, Liu W, Zhu D, Cao Y, Tang A, *et al.*: Natural skin-whitening compounds for the treatment of melanogenesis (Review). *Exp. Ther. Med.* **20**(1): 173-185, 2020.
101. Wanet A, Arnould T, Najimi M, Renard P: Connecting Mitochondria, Metabolism, and Stem Cell Fate. *Stem Cells Dev.* **24**(17): 1957-1971, 2015.
102. Kozieł R, Greussing R, Maier AB, Declercq L, Jansen-du P: Functional Interplay between Mitochondrial and Proteasome Activity in Skin Aging. *J. Invest. Dermatol.* **131**(3): 594-603, 2011.
103. Stipcevic T, Piljac J, Vanden Berghe D: Effect of Different Flavonoids on Collagen Synthesis in Human Fibroblasts. *Plant Foods Hum Nutr* **61**(1): 27-32, 2006.
104. Quan T, Fisher GJ: Role of Age-Associated Alterations of the Dermal Extracellular Matrix Microenvironment in Human Skin Aging: A Mini-Review. *Gerontology* **61**(5): 427-434, 2015.
105. Murase D, Hachiya A, Kikuchi-onoe M, Fullenkamp R, Ohuchi A: Cooperation of endothelin-1 signaling with melanosomes plays a role in developing and/or maintaining human skin hyperpigmentation. *Biol. Open* **4**(10): 1213-1221, 2015.
106. Reiter CEN, Kim J, Quon MJ: Green Tea Polyphenol Epigallocatechin Gallate Reduces Endothelin-1 Expression and Secretion in Vascular Endothelial Cells: Roles for AMP-Activated Protein Kinase, Akt, and FOXO1. *Endocrinology* **151**(1): 103-114, 2010.
107. Nicholson SK, Tucker GA, Brameld JM: Effects of dietary polyphenols on gene expression in human vascular endothelial cells. *Proc Nutr Soc* **67**(1): 42-47, 2008.
108. 本藤和彦, 鈴木直子, 山下慎一郎, 吉田雄介: 植物発酵液 SW がヒト毛乳頭細胞のミトコンドリアに与える影響. *Fragrance Journal* **47**(6): 28-34, 2019.
109. Alonso L: The hair cycle. *J. Cell. Sci.* **119**(3): 391-393, 2006.
110. Gasque P, Jaffar-Bandjee MC: The immunology and inflammatory responses of human melanocytes in infectious diseases. *J. Infect.* **71**(4): 413-421, 2015.
111. 本藤和彦, 山下慎一郎, 鈴木直子, 和泉達也: 植物発酵ペースト AO の摂取がヒトの抗酸化能および肌の状態に与える影響—非盲検試験—. *薬理と治療* **45**(7): 1153-1164, 2017.
112. 田中喜秀, 脇田慎一: ストレスと疲労のバイオマーカー. *日薬理誌* **137**(4): 185-188, 2011.
113. 野田艶子, 安東美喜子, 西村翠梨, 阿部芳子: 若年女性の BMI 値にみる健康への増悪因子の検討. *相模女子大学紀要* **73**:

- 47-56, 2009.
114. 三浦健人, 北館健太郎: 新世代のポリフェノール“Oligonol (オリゴノール)”の機能 The Function of the Next Generation of Polyphenol “Oligonol”. 日本補完代替医療学会誌 **5**(3): 163-171, 2008.
  115. 塚田弘行, 武田あきら, 宇山侑男: 皮膚と微小循環の血流. 日本化粧品技術者会誌 **30**(2): 184-189, 1996.
  116. 高橋元次: 皮膚の機能・特性と物理計測 高橋元次. 表面科学 **35**(1): 4-10, 2014.
  117. Furumura M, Sato, Kusaba, Takagaki, Nakayama: Oral administration of French maritime pine bark extract (Flavangenol&reg;) improves clinical symptoms in photoaged facial skin. *Clin Interv Aging* **7**: 275, 2012.
  118. 本藤和彦, 山下慎一郎, 鈴木直子, 原太一, 和泉達也: 植物発酵液 SW (低分子コラーゲン含有) 摂取が女性の美白・美肌に及ぼす影響と安全性の検証: 非盲検試験. *New Food Indust.* **62**(5): 1-14, 2020.
  119. Yamaoka Y, Ohguchi K, Itoh T, Nozawa Y, Akao Y: Effects of Theaflavins on Melanin Biosynthesis in Mouse B16 Melanoma Cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**(6): 1429-1431, 2009.
  120. Sato K, Toriyama M: Depigmenting Effect of Catechins. *Molecules* **14**(11): 4425-4432, 2009.
  121. Lee HJ, Lee WJ, Chang SE, Lee G: Hesperidin: A Popular Antioxidant Inhibits Melanogenesis via Erk1/2 Mediated MITF Degradation. *Int. J. Mol. Sci.* **16**(8): 18384-18395, 2015.
  122. Fujii T, Saito M: Inhibitory Effect of Quercetin Isolated from Rose Hip (*Rosa canina* L.) against Melanogenesis by Mouse Melanoma Cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**(9): 1989-1993, 2009.
  123. 戸川暖子, 駒城素子: 皮膚の構造と分泌物. 生活工学研究 **5**(1): 122-123, 2003.
  124. Orazio JD, Jarrett S, Amaro-ortiz A, Scott T: UV Radiation and the Skin. *Int. J. Mol. Sci.* **14**(6): 12222-12248, 2013.
  125. 小林静子: 紫外線 B 波照射による皮膚障害とその予防・治療 -  $\gamma$ -Tocopherol 誘導体塗布の効果 -. *YAKUGAKU ZASSHI* **126**(9): 677-693, 2006.
  126. 光岡知足: 腸内菌叢研究の歩み. 腸内細菌学雑誌 **25**: 113-124, 2011.
  127. 藤村茂: 感染症に対するプロバイオティクスとバイオジェニックスの位置付けと今後の展望. *Jpn J Antibiot* **71**(6): 259-271, 2018.
  128. Blander JM, Longman RS, Iliiev ID, Sonnenberg GF, Artis D: Regulation of inflammation by microbiota interactions with the host. *Nat. Immunol.* **18**(8): 851-860, 2017.
  129. Jie Z, Xia H, Zhong S-L, Feng Q, Li S, *et al.*: The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat. Commun.* **8**(1): 845, 2017.
  130. Cornejo-Pareja I, Muñoz-Garach A, Clemente-Postigo M, Tinahones FJ: Importance of gut microbiota in obesity. *Eur J Clin Nutr* **72**(S1): 26-37, 2019.
  131. Tilg H, Moschen AR: Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut* **63**(9): 1513-1521, 2014.
  132. Myhrstad MCW, Tunsjø H, Charnock C, Telle-Hansen VH: Dietary fiber, gut microbiota, and metabolic regulation — current status in human randomized trials. *Nutrients* **12**(3): 2020.
  133. Barko PC, McMichael MA, Swanson KS, Williams DA: The Gastrointestinal Microbiome: A Review. *J. Vet. Intern. Med.* **32**(1): 9-25, 2018.
  134. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB: Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol. Rev.* **90**(3): 859-904, 2010.
  135. Makki K, Deehan EC, Walter J, Bäckhed F: The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. *Cell Host Microbe* **23**(6): 705-715, 2018.
  136. Liu H, Wang J, He T, Becker S, Zhang G, *et al.*: Butyrate: A Double-Edged Sword for Health? *Adv Nutr* **9**(1): 21-29, 2018.
  137. Bach Knudsen K, Lærke H, Hedemann M, Nielsen T, Ingerslev A, *et al.*: Impact of Diet-Modulated Butyrate Production on Intestinal Barrier Function and Inflammation. *Nutrients* **10**(10): 1499, 2018.
  138. Underwood MA: Intestinal dysbiosis: Novel mechanisms by which gut microbes trigger and prevent disease. *Prev Med (Baltim)* **65**: 133-137, 2014.
  139. Lin L, Zhang J: Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. *BMC Immunol.* **18**(1): 1-25, 2017.
  140. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JJ: Human gut microbes associated with obesity. *Nature* **444**(7122): 1022-1023, 2006.
  141. Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Bäckhed F: From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell* **165**(6): 1332-1345, 2016.
  142. Katayama T: Host-derived glycans serve as selected nutrients for the gut microbe: human milk oligosaccharides and bifidobacteria. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **80**(4): 621-632, 2016.
  143. 本藤和彦, 山下慎一郎, 鈴木直子, 高良毅: 植物発酵液末 EX の摂取が健常な日本人成人男女の腸内環境に及ぼす影響と安全性—ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験—. *新薬と臨牀* **65**: 352-367, 2016.
  144. 本藤和彦, 鈴木直子, 山下慎一郎, 吉田雄介: 植物発酵ペースト SW がマウス腸内環境に与える影響. *New Food Indust.* **61**(7): 491-499, 2019.
  145. 安藤朗: 腸内細菌の種類と定着: その隠された臓器としての機能. 日本内科学会雑誌 **104**(1): 29-34, 2015.
  146. Smith PM, Howitt MR, Panikov N, Michaud M, Ann C, *et al.*: The microbial metabolites, short chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* **341**(6145): 569-573, 2013.
  147. Maslowski K, Vieira A, Ng A, Kranich J, Sierro F, *et al.*: Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* **461**(7268): 1282-1286, 2009.
  148. 渡辺敏郎: 健康と美容に貢献する「酒粕」の成分. 日本醸造協会誌 **107**(5): 282-291, 2012.
  149. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, *et al.*: Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* **500**(7461): 232-236, 2013.
  150. Harada N, Hanaoka R, Horiuchi H, Kitakaz T, Mitani T: Castration influences intestinal microflora and induces abdominal obesity in high-fat diet-fed mice. *Sci. Rep.* **6**: 1-9, 2016.
  151. Harada N, Hanaoka R, Hanada K, Izawa T, Inui H: Hypogonadism alters cecal and fecal microbiota in male mice. *Gut Microbes* **7**(6): 533-539, 2016.
  152. Bolnick DI, Snowberg LK, Hirsch PE, Lauber CL, Org E, *et al.*: Individual diet has sex-dependent effects on vertebrate gut microbiota. *Nat. Commun.* **5**: 4500, 2014.

153. 本藤和彦, 鈴木直子, 山下慎一郎, 吉田雄介: ヒト腸上皮細胞における植物発酵ペースト SW の抗炎症効果. 薬理と治療 **47**(7): 1059-1064, 2019.
154. 大草敏史: 腸内細菌叢の消化管疾患への関与. モダンメディア **60**(11): 325-331, 2014.
155. 内藤裕二, 高木智久, 鈴木重徳, 福家暢夫: 発酵食品の乳酸菌による腸管炎症抑制効果と下痢型過敏性腸症候群様症状に対する有効性と腸内菌叢の変化. 腸内細菌学雑誌 **34**(1): 1-11, 2020.
156. Biasi F, Leonarduzzi G, Oteiza PI, Poli G: Inflammatory Bowel Disease: Mechanisms, Redox Considerations, and Therapeutic Targets. *Antioxid. Redox Signal.* **19**(14): 1711-1747, 2013.
157. Shin H, Zhao Z, Satsu H, Totsuka M, Shimizu M: Synergistic effect of tumor necrosis factor- $\alpha$  and hydrogen peroxide on the induction of IL-8 production in human intestinal Caco-2 cells. *Inflammation* **34**(5): 440-447, 2011.
158. Kiem P, Minh C, Nhiem N, Cuong N, Tai B, *et al.*: Inhibitory effect on TNF- $\alpha$ -induced IL-8 secretion in HT-29 cell line by glyceroglycolipids from the leaves of *Ficus microcarpa*. *Arch. Pharm. Res.* **35**(12): 2135-2142, 2012.
159. 奥和之, 川崎靖子, 三浦紀称嗣, 山岡伸: 培養細胞を用いた大麦若葉末の炎症性腸疾患抑制作用. 川崎医療福祉学会誌 **27**(2): 385-391, 2018.
160. Chen PX, Zhang H, Marcone MF, Peter K, Liu R, *et al.*: Anti-inflammatory effects of phenolic-rich cranberry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) extracts and enhanced cellular antioxidant enzyme activities in Caco-2 cells. *J. Funct. Foods* **38**: 675-685, 2017.
161. 厚生労働省: 平成 30 年 国民健康・栄養調査報告. 2018.
162. Vedamurthy A, Ananthakrishnan AN: Influence of Environmental Factors in the Development and Outcomes of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* **15**(2): 72-82, 2019.
163. Abreu MT: Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat. Rev. Immunol.* **10**(2): 131-144, 2010.
164. Nighot M, Rawat M, Al-Sadi R, Castillo EF, Nighot P, *et al.*: Lipopolysaccharide-Induced Increase in Intestinal Permeability Is Mediated by TAK-1 Activation of IKK and MLCK/MYLK Gene. *Am. J. Pathol.* **189**(4): 797-812, 2019.
165. Ahmad R, Sorrell MF, Batra SK, Dhawan P, Singh AB: Gut permeability and mucosal inflammation: bad, good or context dependent. *Mucosal Immunol* **10**(2): 307-317, 2017.
166. 吉原晋太郎, 清野宏: 粘膜免疫システムを応用した炎症とアレルギー疾患予防治療法開発. アレルギー **68**(8): 933-941, 2019.
167. 新藏礼子, 岡井晋作, 白井文人: 腸管 IgA 抗体による腸内細菌制御のメカニズム. 腸内細菌学雑誌 **31**(3): 151-157, 2017.
168. 神崎浩: オリーブ二次代謝産物の微生物変換によって得られる新規抗酸化物質の性状解析. コスメトロジー研究報告 **18**: 17-22, 2010.

## 執筆を終えて

弊社はヒノキ樽で発酵させる伝統製法を用いた植物発酵飲料をはじめ、各種植物発酵製品を幅広く市場に提供してまいりました。

近年、植物発酵飲料の市場は健康意識が高い消費者からの根強い需要に支えられ、急成長を遂げています。「プチ断食」「ファスティング」による体質改善がメディアを賑わすようになり、体感のよさと伝統的な発酵食品といった特性が消費者に理解され、一過性のブームに終わらず、健康食品市場に定着しています。しかしながら、なぜ体感性がよいのか科学的に解明されていないことが多々あります。また、自社のこだわりや長い製造の歴史、先人からの言い伝えがあるからといって、科学的な裏付けがあるものばかりとは限りません。

そこで弊社は、生化学的・細胞学的、また医学的な見地から効果効能が証明できるように日々研究を行い、エビデンスとしてデータを蓄積してまいりました。そして、この度、その各種データを元に総説論文として、研究成果をまとめるに至りました。本論文は、弊社がこれまでに明らかにしてきた植物発酵製品の機能性を紹介するとともに、植物由来微生物や製造時に使用するヒノキ樽に生息する微生物がもたらす自然発酵の特徴にも触れ、植物発酵製品の科学的知見と魅力をまとめた総説となります。

微生物を利用した「発酵」という作用によって生まれる食品の奥深さは驚くばかりです。弊社といたしましても研究を始めたばかりですが、これを機会により多くの研究がなされ、今後も人々に役立つ新しい知見が得られることを願っています。

八雲香産株式会社  
代表取締役 本藤 和彦  
(責任著者)

著者略歴



本藤 和彦 / Kazuhiko Hondou

1992年～現在, 八雲香産株式会社 代表取締役  
八雲香産株式会社 / Yagumo Kousan Co., Ltd.  
〒153-0064 東京都目黒区下目黒 2-19-6 F&T ビル 5F



馬場 亜沙美 / Asami Baba

2016年 日本医科大学大学院 医学研究科 内科系小児医学専攻 博士課程修了, 博士(医学)  
2016年～現在, 株式会社オルトメディコ  
株式会社オルトメディコ / ORTHOMEDICO Inc.  
〒112-0002 東京都文京区小石川 1 丁目 4 番 1 号 住友不動産後楽園ビル 2 階



原 太一 / Taichi Hara

2004年 九州大学大学院 医学系学府 分子常態医学専攻 博士課程修了, 博士(医学)  
2004年 東京都臨床医学総合研究所 タンパク質代謝 PT 研究員  
2006年 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科助手  
2007年 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科助教  
2009年 University of Pennsylvania 日本学術振興会 海外特別研究員  
2010年 群馬大学 生体調節研究所 准教授  
2017年 早稲田大学 人間科学学術院 教授  
早稲田大学 人間科学学術院 / Faculty of Human Sciences, Waseda University  
〒359-1192 埼玉県所沢市三ヶ島 2-579-15



和泉 達也 / Tatsuya Izumi

1987年 慶応義塾大学 医学部卒  
1987年 医師免許取得  
2005年～現在, 広尾皮フ科クリニック 院長, 博士(医学)  
所属学会: 日本皮膚科学会, 日本臨床皮膚科医会  
広尾皮フ科クリニック / Hiroo Dermatology Clinic & Mentors inc.  
〒150-0012 東京都渋谷区広尾 5-25-5 広尾柎儀アネックスビル 1・2F



吉田 雄介 / Yusuke Yoshida

2004年 横浜市立大学大学院 総合理学研究科 博士課程修了, 博士(理学)  
2004年 木原生物学研究所 特別研究員  
2006年 独立行政法人 理化学研究所 研究員  
2007年 横浜市立大学大学院 特任助教  
2011年 株式会社エーセル 取締役 研究主任  
2019年～現在, 株式会社サクラボサイエンス 代表取締役  
株式会社サクラボサイエンス / SakuLab Science, Inc.  
〒233-0013 神奈川県横浜市港南区丸山台 2-38-34 港南ビル 202 号室

# グルテンフリー食品のラベリングと規制上の問題

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)<sup>1, 2</sup>

竹内 美貴 (TAKEUCHI Miki)<sup>3</sup> 中村 智英子 (NAKAMURA Chieko)<sup>3</sup>

Key Words: グルテンフリー, ラベリング, 規制

本論文「グルテンフリー食品のラベリングと規制上の問題」は“Gluten-Free Cereal Products and Beverages” (Edited by E. K. Arendt and F. D. Bello) 2008 by Academic Press (ELSEVIER) の第2章 Labeling and regulatory issues by H. Deutsch, R. Poms, H. Heeres, and J. Kamp を翻訳紹介するものである。

## 紹介

最近の研究で、最も一般的な食品不耐性の病気の一つである、セリアック病は、100人中1人が罹患していることがわかっている。セリアック病の唯一の治療法は小麦由来のグルテン、大麦、ライ麦、オート麦あるいはコムギ属品種あるいはそれらの雑種から関連タンパク質を避ける事である。セリアック病患者の食事用にオート麦の利用がグルテンフリー食の改訂基準案 (Codex Committee, 2006a) に使われた。セリアック病患者に加えて、疱疹性皮膚炎を持つ人々もまた食事からグルテン含有食を除去しなければならない。さらに、最近のセリアック病に関する国際会議では、他の病気でもグルテンフリー食にポジティブな効果があるということが議題となった。IgE- 仲介アレルギー反応を示す人々にも穀物ベース食品で引き起こされる反応で、安全な食事が必要となる。

グルテン含有食品、食材中のアレルギー成分の全排斥は健康被害を防ぐためには極めて重要なことであるが、これまでそれを実現することが極めて難しかった。それは (a) 構成成分, (b) 分類名, (c) 技術的理由, 小麦グルテンの利用に関しラベリングの説明不十分なためでもあった。もし混合物の成分が全食品の25%以下なら、全てこれらの混合物成分はラベリングから免除された。

“米—クリスプス”という食品ラベルには、無申

告の小麦粉を表示することが可能であった。クラス名、例えば“デンプン”あるいは“植物タンパク質”のようなものは元々の名前からどんな規制も持ちこまないことを示す。深刻な健康被害は、小麦グルテンのいわゆる「クリーンラベリング」だった。ヨーロッパ諸国では小麦グルテンは食品添加物としては許可されていなかったが、小麦グルテンを含む可溶性小麦タンパク質製品は、宣言なしでいくつかの食品に消費者のグルテンに対する意識を無視して用いられてきた。ラベリング表示の改善は世界中で絶対に必要なものである。

## Codex 規格

### FAO/WHO 食品標準プログラムへの加入 (Joint FAO/WHO Food Standards Programme)

世界98%の国々がCodex規格委員会のメンバーとなっている。委員会の仕事の1つはCodex Standard (標準)を取り入れ、各政府の食品法令に対しガイダンスを与え、世界の貿易に参加する際、国の食品産業を強制するものである。世界中の殆ど全ての政府は、Codex標準を国の法律に取り込んでいる。

### 食品ラベリングに関するCodex標準

オーストリア政府はオーストリア・セリアック病

<sup>1</sup> 神戸女子大学, <sup>2</sup> 日本穀物科学研究会前会長, <sup>3</sup> 神戸女子短期大学

委員会の要望でグルテン含有成分のラベリングの問題を1991年7月のCodex企画委員会セッションでとりあげた。委員会は、“アレルゲンに関するワーキンググループ”を決めワーキングペーパーを作った。ヨーロッパセリアック協会(AO ECS)はオブザーバーとしてワーキングペーパーに貢献した。このペーパーにはグルテン含有物と常にその食品の公表義務が含まれている。また他食品あるいは成分で不耐性あるいはアレルギーを引き起こすものも、そのリストに入れなければならない。アレルギー同様に不耐性をカバーするためにそのリストは“過敏症リスト”と呼ばれた。Codex包装食品ラベリング一般標準(FAD/WHO食品標準プログラムに入る)の改善は、食品ラベリング委員会で1993年から1998年まで検討され、Codex薬事委員会によって1999年6月に取り入れられた(Codex Alimentarius Commission, 1999)。

改善内容：

1. 過敏症リストに述べられた成分の25%ルールは廃止する。他のすべての25%ルールも5%におとし；

4.2.1.3 成分自体が2つ以上の成分からなる食品であるとき、そのような化合物の成分は成分のリスト中でそのまま表示することができるが、その成分のリストを直ちに括弧でくくって下降順にその成分比率(m/m)を追える。化合物の成分とは一食品の5%以下の成分、その成分は最終食品中の技術的機能を与える食品添加物以外のもので、表示は不要。

4.2.1.4 次の食品および成分は過敏症を引き起こすことが知られ、常に表示が必要：

- ・グルテンを含む穀物；例えば小麦、ライ麦、大麦、オート麦、スペルトあるいはこれらの雑種、およびそれらの食品；
- ・甲殻類、その食品；
- ・卵、卵食品；・魚、魚食品；
- ・ピーナッツ、大豆、その食品
- ・ミルク、ミルク製品(ラクトース含)
- ・木の実、ナッツ食品；それと
- ・亜硫酸塩 10mg/kg あるいはそれ以上の濃度。

2. “デンプン”あるいは“植物タンパク質”のような分類名は過敏症リストに使えない：

4.2.3.1 セクション4.2.1.4 にリストされているこれらの成分以外、一般的分類名がもっと欲しい時、次の分類名を用いる事ができる：

3. もし過敏症リストの物質が食品添加物として用いられるなら、それは如何なる免除もなく、あるいは如何なる技術的機能に妥協性もなくラベルする必要がある：

4.2.4.2 技術的機能、加工目的に必要なレベルより低いレベルで食品添加物および加工補助剤が使われる時には表示を成分リストから免除する。セクション4.2.1.4 に述べられた食品添加物とその加工補助剤は免除されない。

包装食品のラベリングのCodex一般標準の改良で、食品中グルテン含有成分を表示しない危険性は解決された。

## 国の法令

スイスが2002年、5月1日、ヨーロッパで最初にCodexリスト(過敏症にセロリと果物を)を法律に採択した国であった。欧州連合(EU)ではグルテン含有デンプンのラベリングが法の中に最初に取り込まれ、他のラベリング改良もその後続いた。AO ECS(ヨーロッパセリアック協会)が欧州委員会に情報を与え、欧州議会が1989年来食品中グルテン含有の不十分なラベル表示についての情報を抱えていたことを覚えておくと、いつか法律に変化が起こるということは自明のことである。1995年欧州議会はグルテン含有デンプンの表示を投票判定し、2000年3月に文面2000/13/ECが公表された(European Directive, 2000)。

## 欧州連合(EU)におけるグルテン含有デンプンと修飾デンプンのラベリング

食品に利用される小麦デンプンのタンパク質含量は、普通0.3%から5%までである。そこで要求される事はグルテン含有デンプンあるいは修飾デンプンと天然のグルテンフリーデンプンを正確に区別する

ためラベルをするのである。上述の点は条項6で示した：しかし付加Iにリスト化された“デンプン”の成分にグルテンが含まれている恐れがある時は、その植物の由来を常に示す記述をしなければならない——しかし付加IIにリスト化された“修飾デンプン”の成分にグルテンが含まれている恐れがある時は、その植物の由来を常に示す記述をしなければならない。

### ヨーロッパのこれからのラベリング改良について

2003年11月欧州議会、評議会は、文面2003/88/EUを採用した(European Directive, 2003)。付加IIIaの文面は殆どCodexリストの過敏症と一致している。“グルテンを含む穀物—その食品”は、リスト中の初めのグループである。Codexリストとの違いは以下の様であり、ナッツ類が特により詳細である；セロリ、マスタード、ゴマ種子、およびそれらの食品がリストに入れられた；亜硫酸塩はさらに二酸化硫黄まで広げられた。2006年12月22日にlupin(ハワチワ豆)、molluscs(軟体動物)とそれらの食品もリストに加えられた。これは文書2006/142/EC(European Directive, 2006)“どんな環境下でも食品にラベルが必要な成分”によるものである。

さらなる食品ラベルのCodex標準との違いは構成成分の2%まで低下させた点で、しかしながらこれは付加IIIaのリストの全ての食品、成分とは関係ない。グルテンを含む穀物、食品はたとえ技術的あるいは加工目的で成分の一部を加えても常に例外なく記述しなければならない。文書2003/89は特にこのことを1条(c)(iv)に；“成分は添加物としてだけではなく加工補助に用いられるのと同じ目的で用いられ、たとえ別の形になってもさらに最終食品中に存在するもの”。

2条では加盟国に要求された：2004年11月25日までに許可に必要な法律、規則、管理上規則を発動、2004年11月25日からこの指導に準拠した食品の販売の禁止、2005年11月25日からこの指導に準拠していないが市場に出されたり、この日の前にラベルされた食品はストックが続く限り販売される事がある。

1条10節中には次のことが述べられている：製品、食品中既に最終製品中にあるものでも、たとえ違った形でも、もともと付加IIIaにリストされてい

る成分は1成分として考え、元々含んでいた物の名前に成分レベルをはっきり参照を付けて示すべきである。しかしながら結果として、「アレルゲンラベリング」の免除は、混乱を避けるために必要である：もし、ある成分あるいは食品がグルテン含有穀物からできたもの、そしてグルテン含量が除去されたものならば、調理済み食品の成分リストに“小麦”を入れることは誤りである。例えばアルコールは小麦からできるが、小麦はグルテンを含むがエタノールは含まないという事である。

1条、11節は、付加IIIaの中のリストはシステム的に再調査し、そこで必要なら更新する。更新することは、付加IIIaから除去する事を含み、もし化学的にある物質が逆反応を引き起こさない事がはっきりした場合である。仮のラベリング免除も要求を聞くために、2004年8月25日前に委員会に送らねばならない。欧州食品安全局と相談の後、委員会はこれら成分リストを採用するが、このリストは一時的に付加IIIaから除去され、最終的な発表される研究の結果をペンデングするが、それは遅くとも2007年11月25日までである。

### ラベリング免除

食品のラベリングに関するCodex標準と欧州ラベリング指導は、正常の消費に対する食品については効果的である。しかしながらラベル免除を議論する時には、少量のグルテンによる不耐性の可能性の疑問も考慮しなければならない。この事は1991年来、Codex栄養と特別食用食品委員会で、あるいはThe Scientific WorldやProlamin Working Groupで、さらにAOECSで議論されてきた。

- ・セリアック病不耐性の人々はグルテンが僅かであつても発症するのか、それはどの程度の量で？
- ・少量グルテンを信頼できる分析方法で追求できるか？
- ・少量のグルテンのコンタミを食品産業は避けているか？
- ・グルテン不耐性の消費者にとり、多品種の安全グルテンフリー食品を利用できるようにするため、さらに法的な防御を達成するため、いかにこれら全ての交付物を彼らに結びつけることができるか？

“グルテンフリー”という言葉は論理的には全てのことにカバーできる。“グルテンフリー”は、

Codex グルテンフリー食品標準の改訂版の中に述べられている。彼らのラベリング免除に関する“意見”では、欧州食品安全局（EFSA）は Codex グルテンフリー食品標準を参照している。

### The European Food Safety Authority (欧州食品安全局)

EFSA は、食品の安全性について直接、間接を問わずその影響を与える全ての事項について、独自の科学的助言を提供するために設立された。権威の主な顧客は欧州委員会であるが、EFSA は欧州議会や加盟諸国からの科学的質問に門戸を開き、さらにそれ自身のためのリスク評価も始める事ができる。リスク評価、危険マネージメント、医学的データの評価は、議論し、印刷物、世論に表明する。世論は立法機関や業界の支持をし、消費者安全を確かなものにする措置を講じるための支援を提供する。

### 仮の免除リスト

2005年3月21日の指令 2005/26/EC は、添付 IIIa (European Directive, 2005) から暫定的に除去された食品成分あるいは物質のリストである。グルテンを含む穀物とその加工食品に関し、次の成分は義務的ラベリングから除外する。

- ・デキストロースを含む小麦ベースのグルコースシロップ
- ・小麦ベースのマルトデキストリン
- ・大麦ベースのグルコースシロップ
- ・スピリッツ蒸留物に用いられる穀物。

2007年5月3日、EFSA はこれらのものに関する第2回目の“世論”を出した。スピリッツの蒸留液に用いる穀物に関し、“専門家は穀物から作る蒸留液は多分ひどいアレルギー反応のトリグガーにはならないと考える (European Food Safety Authority, 2007a)、さらに、小麦ベースのデキストロースを含むグルコースシロップ (European Food Safety Authority, 2007b) と小麦ベースのマルトデキストリン (European Food Safety Authority, 2007c) に関して、EFSA が再度結論しているのは、“セリアック病患者には不利な反応はおそらく起こらないであろう、それは Codex 薬局方の考える (仮の) 食品がグルテンフリーのグルテン量より多くない”という結論であったためである。

Codex 栄養および特別食用食品委員会、Codex グルテンフリー食品標準は栄養的食品として唯一効果のあるものであるが、健常者の消費のためのものではないことに同意した。EFSA の“世論”のため、Codex 委員会はグルテンフリー食品にする許容範囲を検討するとき EFSA の“世論”を考慮しなければならない。

2006年8月、AOECS は欧州委員会に文書で次のように要求した。それはグルテンを含む穀物から作った食品の明確なラベル免除の許可は、もし食品産業がこれらの食品を常に 20mg/kg グルテンの範囲以下か、その範囲を超えないことを請け負うならば、そのときに限って許可すべきであるという内容である。デキストロースを含む小麦ベースのグルコース、および小麦ベースのマルトデキストリン中の残渣グルテンおよびペプチドは、20mg/kg (European Food Safety Authority, 2007b, 2007c) よりずっと下であるため、EFSA によるアドバイスのようにグルテンフリー食品による高い許容範囲を許可する必要はない。

### グルテンフリー食品の Codex 規格修正草案

1992年以來 the codex グルテンフリー食品標準 (Codex Stan 118-1981, 修正 1983) は、Codex 栄養および特別食用食品委員会によって修正されてきた。AOECS は修正を求めたが、Standard Stan 118-1981 がグルテンフリー食品になったほんの僅かなものだけをカバーしていたからで、それは小麦デンプンベースの食品であり、本来グルテンフリーの成分で作られた栄養食品の大きなグループではないからだ (例えばパスタ、あるいは粉ミックスでパンや他の栄養食品である)。研究からこれら栄養食品中にコンタミが非常に多い事がわかり、コンタミの除去に許容範囲設定が必要である。

さらに、利用できる分析方法検討の仕事がまた必要になる。標準の見直しに時間がかかったが、それは適当な分析方法がなかったことと、範囲設定の疑問に関する科学的根拠がなかったためだ。これらの進展にこの2年間費やした。そしてスタンダードは2007年11月に step 8 にまで進むであろう、そして2008年7月の Codex 薬事委員会委員の採用へと進む。

許容限界とオートムギ

Codex グルテンフリー食品標準策定によってカバーされた食品の決定は、2006年10月(Codex Committee, 2006a)に修正された;天然のグルテンフリー食品、鍵括弧で括った20mg/kgの許容限界は除去され、その限界は委員会に受け入れられたことを意味する。グルテンフリー食品の200mg/kgの許容限界が100mg/kgに減らされたが、この許容限界はまだ鍵括弧内であり、この許容限界は次のsessionで検討されることを意味している。グルテン不耐性の人の健康を守るためAOECSは200mg/kgから100mg/kgへ低下(Association of European Celiac Societies, 2005)を2005年11月に要求した。いくつかの小麦デンプンベースの粉ミックスとそれらによる加工食品は、より低い限度に依るようされる。グルテンフリーとされる小麦デンプンベースの食品は、ヨーロッパで40年以上マーケットに出荷され、特に北部ヨーロッパ諸国のセリアック病の人々に利用されてきた。

2つの許容限界が現在消費者用準備食品に述べられているが、それは乾燥物質基本ではない。オート麦はグルテン含有穀物のカテゴリーの中にあるが、注釈がある。グルテンフリー食品の定義のテキストは:

a) 小麦, デューラム小麦, ライ麦, 大麦, オート麦2, あるいはTriticum種, 例えばspelt(*Triticum spelta* L.), kamut (*Triticum polonicum* L.), あるいはそれらの雑種でどのようなプロラミンも含まず, 消費される食品の全ベースでグルテンレベルが20mg/kgを超えないグルテンレベルからなる, あるいは成分のみからなる;

あるいはb) 小麦, ライ麦, 大麦, オート麦あるいはどのようなTriticum種も, 例えばspelt (*Triticum spelta* L.), kamut (*Triticum polonicum* L.), あるいはそれらの雑種で, それらが“グルテンフリー”(100mg/kg)を超えない, そのような成分からなる;

あるいは

c) 例えばa), b)のいかなる混合物も消費される食品の全ベースでグルテンレベルが(100mg/kg)を超えない混合物。

脚注

セリアック病の人は全部ではないが殆ど

の人がオート麦に耐性である。グルテンのコンタミしていないオート麦の利用はセリアック病患者の毎日の食時調整にグルテンフリー食品に許可され、国家レベルで許可されている。

脚注の文面は修正される方がよい:「グルテンでコンタミしない」は論理的ではない。それは「小麦, ライ麦, 大麦でコンタミしない」に置き換えるべきだ。オート麦のある国では許可され、他の国では許可されないならばセリアック病の人々にとってさらに混乱する。この病気は世界中で同一のものであり、オート麦に耐性かどうかは男であろうか女であろうか胃腸病学者の助けで発見されねばならない。科学論文は、オート耐性がグリアジンとアベニンの僅かの構造状の違いによるものなのか、あるいは食品中の少量のグルテン量が各人許容範囲と結びつくのかどうかは断言していない。科学者は1日50gの“適当オート量”を薦めている。オート粉中の非常に低いアベニン含量に比べて、小麦粉の非常に高いグリアジン含量もまた耐性のちがう説明である。

分析方法

分析とサンプリング法に関するCodex委員会は、“enzyme-linked immunoassay sorbent R5 Mendez (ELISA) method”を2005年の仮type1法とした。2006年5月、委員会は最終的にこの方法をtype1とし、そしてセッション報告書に記述した(Codex Committee 2006b)。

R5ELISAはライ麦プロラミンのセカリンに対するモノクローナル抗体をベースにして、天然および加熱加工サンプル(サンドイッチELISA)のグ

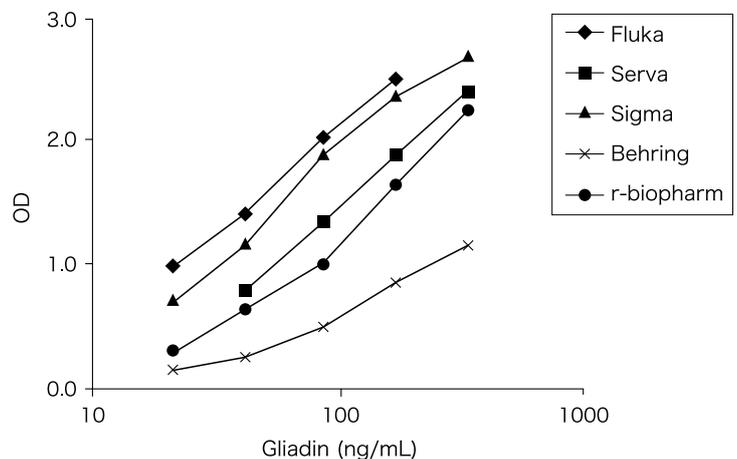


図 3.2 異なったレファレンス gliadins による Ridascreen Gluten アッセイ

リアジンを検知するのに用いられる方法；この抗体は、全てのグリアジン、セカリン、ホールデイン中にあるペントペプチド QQPEP と反応し、またこの QQPEP はセリアック活性エピトープ中にも有り；加水分解したグルテンの検知のため、R5 assay の修正版（競合的 ELISA）が用いられる。この方法についてより詳しいことは第 3 章に述べた。Codex グルテンフリー食品基準中の方法はこの時点で最新の科学的知見に基づくものであることが重要な点である。異なる方法あるいは異なる比較物質、あるいは異なる抗体の使用を認めることは、避けねばならないがそれは異なる結果となるためだ。もしある国でその食品がグルテンフリー食品の許容範囲未満となり、一方近隣の国で同じものが別の方法で別の結果を得てグルテンフリーとして許可されない時、それは非常に大きな混乱となるだろう。図 3.2 は、同一食品サンプルを別の比較サンプルを用いて調べた時、違った結果が得られた時である。この仕事は Austrian Coeliac Society によって始まった研究プロジェクトの仕事の一部である。

### Codex 規格、およびガイドライン

Codex 委員会、特別 Working Group meeting of Session おける AOECs と Codex Commission の仕事で、グルテン不耐性の人々を守るため改良された Codex 規格および Guidances のいくつかに修正が行われた。これまで述べたように規格に付け加え、Codex 規格および Guidelines の適切なテキストがつづく。

### 小麦グルテンを含む小麦タンパク質食品の Codex 規格

過去に小麦タンパク質食品と小麦グルテンの両方を使い、コーティング剤あるいはグルテンフリー食品にそのまま技術加工用にグルテンを利用する理由で研究プロジェクトが作られた。この進歩でグルテンフリー食品の選択は、大きく減少するであろう。これらのプロジェクトは中止した。2001 年 9 月 Codex 薬事委員会は AOECs の要望を支持し、次の文面が規格（Codex Alimentarius Commission, 2001）に加えられた：

小麦グルテンあるいは小麦タンパク質食品はテク

ニカル目的には用いてはならない。たとえば元々グルテンフリー食品のコーティング用とかその加工目的に。

さらに、注意事項の許可は：

8.2. グルテン不耐性の人々に対する注意事項は、国の法律が要求するならラベルに書くべきである。

### チーズに対する Codex 規格

2003 年 Codex 薬事委員会は小麦グルテン、小麦タンパク質食品がチーズでコーティングされたものがセリアック病患者の健康に不利に影響すると認めた（Codex Alimentarius Commission, 2003a）。

委員会は、チーズコーティング物質の成分に関する小麦グルテンを含む（Codex Stan 163-1987, Rev. 1-2001）小麦タンパク質食品のための Codex 規格に、参照を加えることに同意した。この目的のために委員会は以下の脚注を“Cheese Coating”セクションの最初に加えた。

小麦グルテンあるいは小麦タンパク質食品は技術的理由のためには用いてはいけない。例えば、コーティング剤あるいは元々グルテンフリーの食品の加工目的である -- 小麦グルテンを含む小麦タンパク質食品に対する Codex 規格（Codex Stan 163-1987, Rev. 1-2001）。

### チョコレート、チョコレート食品に対する Codex 規格

2003 年 The Codex 薬事委員会は、またチョコレート中に粉やデンプンを入れないことに同意したが、そこには“chocolate a la taza”と“chocolate familiar a la taza”の 2 種の特別のスペイン品種には許可された（Codex Alimentarius Commission, 2003b）。グルテン不耐性の消費者にとり重要な事は次の規格の文面である：

チョコレートとは、以下述べる記述を満たし、表 1 に纏められる均一食品に対する包括的な名前である。他の可食性食品材料、そこには粉、デンプン（この規格の section 2.1.1.1 と 2.1.2.1 の食品以外）除外、が加えられる。

2.1.1.1 Chocolate a la taza.... 最大 8% 小麦、トウモロコシ、または米粉か、あるいはそれらのデンプ

ンを含む。2.1.2.1 Chocolate familiar a la taza... 最大18%小麦，トウモロコシ，または米粉か，あるいはそれらのデンプンを含む。

前述に述べた表1によると，次にリスト化したチョコレートタイプのどれも粉もあるいはデンプンを含まない：

チョコレート，スイートチョコレート，掛け物用チョコレート，ミルクチョコレート，家庭用ミルクチョコレート，掛け物用ミルクチョコレート，白チョコレート，ガンアンド-ジャチョコレート，ガンアンド-ジャミルクチョコレート，チョコレートパラメサ，セミビターチョコレートパラメサ，ビターチョコレートパラメサ，チョコレートパセリ/チョコレートフレーク，ミルクチョコレートパセリ/ミルクチョコレートフレーク，フィレチョコレート(2.2.2)，チョコレートあるいはプラリネ(2.2.3)。

2.2.2 フィールドチョコレートは製品であり，チョコレートアラタザ，チョコレートファミリアアラタザは除外...。フィールドチョコレートには粉菓子，ペーストリー，ビスケット，アイスクリーム食品等は入らない。

2.2.3 チョコレートあるいはプラシネは1口サイズのもの...。製品はチョコレートアラタゼ，チョコレートファミリアアラタゼを除いたものから成る。

さらに，重要な点を記述すると，“アソートチョコレート（詰め合わせ販売）は，チョコレートファミリアアラタザおよび，チョコレートファミリアアラタザを含まない。”もしさらに，グルテン含有成分が用いられていれば（例えばモルトエキストラクト），これらの成分はCodexラベル標準によりラベルしなければならない。

### 遺伝子組み替え食品—バイオテクノロジーによる食品

米の製パンに適するように小麦遺伝子を米栽培品種に入れるという試みの研究プロジェクトは，セリアック病の人々から警告されている。この動きはセリアック病の人々の食事をさらに大きく制限するようになるだろう。2003年来，グルテン不耐性消費者はCodex Alimentarius Commission(2003c)による3つのガイドラインで守られている。

### 組み替えDNA植物で作られた食品の食品安全評価の実施，ガイドライン

このガイドラインからの2つのパラグラフがグルテン不耐性の人々によって重要である：

42. 組み替えDNA植物から食品中に新たなタンパク質が生じてきて，グルテン感受性腸疾患の誘発に何らかの可能な役割を評価しなければならない場合，その誘発した遺伝子材料が小麦，ライ麦，大麦，オート麦あるいは関連の穀物から得られたものかどうか。

43. 一般のアレルギー食品，あるいはグルテン感受性の人々に腸疾患を誘発すると知られる食品からの遺伝子の移動は，移転遺伝子がアレルゲン，あるいはグルテン感受性腸疾患に含まれるタンパク質をコードしてないと判っていない限りさげねばならない。

### 組み替えDNA微生物で作られた食品の食品安全評価の実施，ガイドライン

このガイドラインもグルテン不耐性に関するものである：

47. アレルギー源からの遺伝子はアレルゲンをコードしていると考えられるので，たとえ科学的証拠が示されてなくても避けるべきである。グルテン感受性の人々の中に感受性腸疾患を誘導すると知られた有機体からの遺伝子の転移は，たとえ転移遺伝子がアレルゲンやグルテン感受性腸疾患に関与するタンパク質をコードしないものでも避けるべきである。

### アレルギー評価の可能性添付

このガイドラインはグルテン-感受性腸疾患に関する上述ガイドライン47段落の参照を含む。

### 幼児と子供のための穀物ベース加工食品のCodex標準

コンタミを避けるため，Codex標準は“グルテンフリー”表明を許可する<sup>4</sup>。

8.6.3 食品がグルテンフリー成分と食品添加物でできているとき，ラベルに“グルテンフリー”の記述を示す事ができる。

標準はCodex薬事委員会により2006年7月に採用された(Codex Alimentarius Commission, 2006)。

<sup>4</sup> 脚注はグルテンフリー食品118-1981へのCodex

標準への記述で、これは当時の修正版である。

### 幼児仕込み用標準と幼児用特別医用仕込み

この標準は2部分からなる：Section A：幼児用仕込みのための標準、および Section B；幼児用特別医用の仕込み。何れの標準も 3.1 章必須成分に含む；

3.1.1 全ての成分および食品添加物はグルテンフリーであるべき、3.1.3c) 炭水化物乳児用調製粉乳に添加できるのは、本質的にグルテンフリーの調理済みおよび/または糊化デンプンのみ。

標準は Codex 薬事委員会により 2007 年 7 月に採用された (Codex Alimentarius Commission, 2007)。

### 食品のラベリングと注意

世界中に広がる Codex 標準改良による食品ラベリングのプラスの結果とは、いくつかの国の政府がグルテン含有成分とアレルギーに法的ラベルの義務を考え、国の法律にしたことである。この進歩でグルテン不耐性の消費者は、”クリーンラベル“によって危険から健康へと逃避ができ、それはこの章の始めに述べた通りである。

さらなるプラスの効果とは、全ての Codex 会議による考察と AOECs の書いたコメントのため、グルテン不耐性の注目が世界中の国家と世界中の食品産業界に広がり、それらは Codex 事務局を通じ世界中の政府 98% に配布された。食品産業は、グルテン不耐性の消費者が巨大な数いて、彼らが必要なのは非常に多くの特別のグルテンフリー食事用食品のみならず、正常に消費のグルテンフリー食事用食品 (例えばスープ、ソース、ソーセージ普通製造、特別の製造) に対しても必要な人々のいることに気がついた。ある国 (例えばオーストリア) では、いくつかの肉製品の製造会社がグルテンフリースパイス (薬味)、グルテンフリー成分を彼らの製品に用いている。一般に食品不耐性、食物アレルギー、ラベル無し食品成分入りの健康危険への関心の高まりは重要で、それは単にグルテン不耐性消費者のみならず過敏症リストに述べた他の不耐性あるいは食物アレルギーを持つ人々全てに重要である。所謂 “アレルギー論争” から、いくつかの研究が開始された。欧州委員会の Directo rate General Joint Research Centre

(DGJRC) の研究プログラムは、ELISA, PCR, その他の研究方法で食品中アレルギーの検知を研究するものである。最近の研究は緊急に必要な研究方法の確認と比較材料の利用例を示した。最近のものは、欧州委員会の Standardization (CEN) の新ウオーキンググループ (WG12) 食品の horizontal methods (TC275) の技術委員会の設置である。初めに CEN はピーナッツ、ハーゼルナッツ、ミルクタンパク質、卵、グルテン、大豆からのアレルギーに集中した。ウオーキンググループは特にまた中心リストを作り、その中でこれらアレルギーを使い何か考えられるような試験方法で評価した。さらに、国際的協力効果では、JRC によっていろいろな食料品商品テストキットの検証が調整された。JRC はまた海外の他の国際的基準団体、たとえば AOA CInternational やヨーロッパ内外の研究団体のものと協力し、食品アレルギーは今や世界の国際問題となっている。

### コンタミネーション

食品全部門においてグルテン含有穀物の高頻度利用のため、コンタミ否定は重大な問題事である。本来、グルテンフリー穀物にグルテン含有穀物がコンタミする事は起こりえることであり、例えば栽培変更、収穫の間、移動の間あるいは船荷の間、貯蔵の合間等に起こるのだろう。もし同一製粉機械、パッキング設備をグルテンフリー穀物、グルテン含有穀物に用いるならば、当然高レベルのコンタミは起こる。最大レベルの外国穀物輸入には法的規則はない。一般に、契約上、他穀物の 2% が最大リミットと述べられている。しかし研究から、いろいろなサンプル、きび、米、大豆粉でほぼ 1000mg/kg グリアジンであり (Van Eckert *et al.*, 1992)、米粉では 76, 250, 570mg/kg グリアジンで、きび粉では 125mg/kg グリアジン (Fritschy *et al.*, 1985) が検知されている。28 種類の粉サンプル (米、ソバ、トウモロコシ、きび) のセット中で、2つのひどいコンタミ、2000mg/kg, 3000mg/kg がソバ粉で見つかった (Janssen *et al.*, 1991)。オート麦粉では大麦のコンタミが 8.000ppm まで検知された (Hernando *et al.*, 2005)。

一般に利用するソバ、きび、米、あるいはとうもろこし粉はセリアック病を持つ人々にとり、健康危機を有するもので、グルテンフリーパンあるいはグルテンフリーミールの調製時にはさげねばならな

い。国際的に“クロスグレイン—シンボル”マークを持つ粉、あるいは粉ミックスは、グルテンフリー食品として調整され、品質保証された安全なものである。このシンボルの利用は、許容限界、分析方法、モニタリング（監視）を意味するもので AOECs が行っている。生産者は、その供給者を選択することと全ての入ってくる成分を秩序よくコントロールする事で如何なるコンタミの危険も避ける。

高レベルのコンタミは常に小さなパン屋が作るパンで見つかり、近所のグルテン不耐性の人々の好みで見つかる。例えば調整されたグルテンフリー粉ミックスが使われても、工場の器具が適当に清掃されていないとパンや他のものへのコンタミは高くなる。ベーカリーに対しては、別の生産工場とか加工装置が薦められている。

正常消費加工食品のコンタミは、未確認レベル以下、例えば 20mg/kg 以下にコントロールされているが、それはグルテン含有食品の再作業を除外した時とか、加工器具を分けきれいに使った時とか、さらに、十分な危険な分析とクリテカルコントロールした（HACCAP）システムを使った時である。可能な限りグルテン残渣除去するためには、迅速なグルテンテスト—ステック法が有効であると示された。

### 製品責任と食品安全性

EU の製品責任の条例は指令 85/374/EEC (European Directive, 1985) に置かれ、それは責任の必要性、生産者、損傷、検査食品、因果関係、防御方法を特に示した。食物アレルギー、グルテン、何れも過敏症を引き起こすが、基本的には同一方法の食品の安全性に関係した、これとか他の規則で考慮される；アレルギーに関して EU 規制に基づいた包括的レビューが Heeres (2006) によって示された。

主なルールは、生産者（彼、彼女）が自分らの生産物の欠点によるダメージに対して責任を持つということだ。この法律は、生産者に対しはっきりした責任、落ち度のない責任にもとづいている。農家から食品まで生産連携の各食品ビジネスが生産者である。ダメージとは、死からくるダメージ、あるいは人被害のダメージ、欠陥製品自体以外の何らかのダメージに制限される。製品とはあらゆる食品、食品成分とそれらの加工助剤でできる。製品に安全性のないものは欠陥製品であり、その安全性とは人にど

んな状況下でも説明を期待させるものである。グルテンに関する状況は、加工製品で、ラベリングされ、理屈通りに期待される利用性を表明するものである。欠陥とダメージの間の因果関係は証明されねばならない。これを行うのは非常に難しい。例えば食事中、食べた食品の一つにグルテンがあったという根拠である。

食品製造業者にとり最も関連ある 2 つの防御手段とは以下にアウトラインされる：

当時の科学的、技術的知見の状態は、製造者が生産物をその状況の中に置いたとき、欠点を見つけれられる状態ではなかった。例えばある物質のアレルギー的性質が状況下に置かれた時には未知であったが、以後になってこの物質がアレルギー反応の原因物質であることがわかった。

ある材料製造業者にとって防御の手段は、欠点はその材料の取り込まれている製品の設計にあることを示すべきであり、あるいは製品の製造業者によって使われる製造方法によるものであることを示すべきである。例えばある食品業者はアレルギー成分を用いたがこの成分にラベルをしない、一方その時その材料製造業者は明らかにこのアレルギーの存在を成分にラベルを述べていたけど。

過去数年間、多くの関心が一般食品の安全性ポリシーや調整に世界保健機関、食糧農業機関、国家当局と欧州連合で払われてきた。それは規制 178/2002、一般食品法と呼ばれるが、2002 (European Union, 2002) に出された。

HACCP (危機分析重要管理点) は WHO/FAO で最も重要な文面となった。European Union basic principles of hygiene in food stuffs は規制 85c/2004 に置かれた (European Union, 2004)。食品ビジネスのオペレーターは、定位置に置き、定義付けし、永遠の方法、あるいは HACCP 主義に基づく方法を維持すべきと宣言する。HACCP システムは、食品のビジネスオペレーターがより高い食品安全の標準に達することができるよう援助する手段である。グルテンフリー食品に対する HACCP システムには、20mg/kg の限界以下レベルのコンタミの十分な測定値を含む。保証された HACCP システムは、アレルギーのコンタミに関する危険性とそのコントロールポイントを説明し、もしこのコンタミが間違っ生じた時、製造者にコンタミの危険性の低下と高い責

原料の危険性低下に関し助力を与えるであろう。

### **警戒文と放棄声明文—消費者に役立つか？**

“放棄”という言葉は文字通り責任の放棄である。放棄文面とは、読者にある特別の声明からの権利を抜粋することを不可能にすることを示している。以下は、放棄と誤った事例であり、セリアック病患者が目からの情報を得ることがなく混乱させるケースである。

欧州指令 2000/13/EC の記事 2 は食品のラベル (European Union, 2003) に関するもので、誤解させるラベルの除去を求める；

用いるラベリングと方法は以下してはならない：購入者に材料クラス、特に：食品素材の特徴に関し、特に性質、独自性、特徴、成分、量、保存性、由来あるいは起源、食品製造法に関して間違った方向に導びくこと。

食品のラベリングに関する Codex 標準、および EU 法により、その存在がクロス・コンタミ（交叉汚染）によって引き起こされた時にはアレルギーのラベリングは要求しない。しかしながらある製造業者らは、この指示に従わず、たとえ可能なクロス・コンタミと関係なくともどんなケースでもグルテンの存在があればラベリングを選んだ。例として、ある生産者のホームページ上に 2 種類だけ異なった未加工豆がグルテンフリーとリスト化されていて、一方マーケットには 5 種類のもので混乱を起こしたことがある。理由は、3 種類のサプライヤー（代替品）がコンタミの恐れがあり、その責任の理由だけで生の未加工豆をグルテンフリーにしないことを宣言したためであった。誰も全ての未加工処理豆を食べない。たとえ小麦粉が例えば容器中で多少コンタミしても豆を料理する前に洗い流されるのだろう。このケースは、米、レンズ豆等でも報告される。

消費者は食品中のある物質、あるいはある材料に不耐性のとき、成分表を非常に注意深く読む。2-3 年間、「小麦タンパク質を含むかも知れない」、あるいは同様の記述が警戒要請とされ、混乱を引き起こした。セリアック病の患者が知りたいのは、この情報から次にどうしたらよいのか、そしてセリアック

協会にこの製品を食べられかどうかというアドバイスを求めたいのだ。ある 1 例、セリアック協会が食品業者にコンタクトし、この「含まれるかもしれない」の記述の確かさを求めると、ある分析方法で調べてもグルテンは僅かしか検知できず、最悪の場合でも可能なコンタミはいつもそれが 20mg/kg グルテンよりずっと下であると報告され、「小麦タンパク質を含むかもしれない」という企業の警告は法的アドバイザーの意見に基づくものであった。ある別の場合には、食品の分析は拒絶され、「小麦の僅かが含まれるかもしれない」という警告、あるいはそれに似た言葉があるため、いかなる場合も責任を回避する会社のポリシーによる。この考えを進めると食品ラベルは意味のないものになってゆく。

あるいくつかのスーパーマーケットと食品製造業者は、セリアック病患者に対し特別のサービスをしようと考え、グルテンフリーロゴを食品にプリントした。しかしながらその結果は良くなく、スーパーマーケットのチェーンがかれら独自のグルテンフリーのロゴを作り始めると、消費者はロゴの背景にある品質システムが判らないまま幾つかのロゴと向き合うようになる。食品がグルテンフリーであると自明のとき、「グルテンフリー」の警告がラベルにプリントされるとさらに混乱を起こす。この警告はすでにミネラルウォーターのボトルで見られるが、それはグルテン含有のミネラルウォーターが存在するという誤った解釈を導くことになる。グルテンフリー食品の Codex Standard（標準）は、「グルテンフリー」の警告の利用を調整し、考慮しなければならない。特にセリアック病患者用に調製された栄養補助食品、食品（例えば普通小麦粉を含むスープがグルテンフリー粉に置き換えられたもの）にとり、もしも国際的なグルテンフリーシンボルが用いられているなら、それは有用なものとなる；これはセリアック病患者にとって直ちに認識ができるからだ。

### **結論**

世界的規模の食品ラベルの Codex 標準の改良と国家的食品ラベル関連法の改良は、食品中のグルテン含有成分、食品添加物の不十分な発表のために未知のグルテン取り込みで引き起こされる健康危機を解決してくれた。グルテン含量が除かれている派生関連物のラベリング免除は、例えそれがグルテンを

含む成分,あるいは又添加物が使われているようがいまいが,その食品のラベルを読んだ読者がよく理解するのに貢献する。正常消費者用の食品をつくるための加工道具とは分離して,十分にきれいにしてコンタミを無くすように努力すべきだ。「多分含む・・・」という記述は避けるべきで,それは消費

者にとり,この食品を食べる事ができるかできないかを選択するには有用ではないからである。いくつかのCodex標準やガイドラインの改良は,グルテンフリー食品の安全性と大きなバラエティーの変化に貢献し,その結果,グルテン不耐性の人々にとって人生のより良い質的向上を保証するものである。

## References

- Association of European Coeliac Societies (2005). Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses, 27th Session, Bonn Germany, 21-25 November 2005, page 2, Para 11, CRD 13, Comments from AOECS.
- Codex Alimentarius Commission (1999). Report of the Twenty-third Session, Rome, 28 June-3 July 1999: para 130-140.
- Codex Alimentarius Commission (2001). Report of the 24th Session, Geneva, 2-7 July 2001. pp. 26-27, para 191-195.
- Codex Alimentarius Commission (2003a). Report of the 26th Session, Roma, 30 June-7 July 2003: Amendment to the Codex General Standard for Cheese: Appendix; p. 14, para 101-102.
- Codex Alimentarius Commission (2003b). Report of the 26th Session, Roma, 30 June-7 July 2003: Standard for Chocolate and Chocolate Products; p. 6, para 42.
- Codex Alimentarius Commission (2003c). Report of the 26th Session, Roma, 30 June-7 July 2003: Foods Derived from Biotechnology: pp. 7-8, para 51-53.
- Codex Alimentarius Commission (2006). Report of the 29th Session, Geneva, 3-7 July 2006: Standard for Processed Cereal-Based Foods for Infants and Young Children: p. 11, para 91-93.
- Codex Alimentarius Commission (2007). Draft Report of the 30th Session, Roma, 2-7 July 2007: Standard for Infant Formula and Formula for Special Medical Purposes Intended for Infants: pp. 13-14, para 60-63.
- Codex Committee (2006a). Draft Revised Standard for Gluten-free Foods. Report of the 28th Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses, Chiang Mai, Thailand, 30 October-3 November 2006, p. 11. Para 91-108 and pp. 72-74.
- Codex Committee (2006b). Report of the 27th Session of the Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling, Budapest, Hungary, 15-19 May 2006, p. 8, para 68-71.
- European Directive (1985). Directive 85/374/EEC on product liability, Council Directive of 25 July 1985 on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States concerning liability for defective products, amended by Directive 1999/34/EC of the European Parliament and of the Council of 10 May 1999.
- European Directive (2000). Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council of 20 March 2000 on the approximation of the laws of the Member States relating to the labelling, presentation and advertising of foodstuffs.
- European Directive (2003). Directive 2003/89/EC of the European Parliament and of the Council of 10 November 2003 amending Directive 2000/13/EC as regards indication of the ingredients present in foodstuffs.
- European Directive (2005). Commission Directive 2005/26/EC of 21 March 2005 establishing a list of food ingredients or substances provisionally excluded from Annex IIIa of Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council.
- European Directive (2006). Commission Directive 2006/142/EC of 22 December 2006 amending Annex IIIa of Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council listing the ingredients which must under all circumstances appear on the labelling of foodstuffs.
- European Food Safety Authority (2007a). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to a notification from CEPS on cereals used in distillates for spirits, pursuant to Article 6, paragraph 11 of Directive 2000/13/EC; adopted on 3 May 2007.
- European Food Safety Authority (2007b). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to a notification from AAC on wheat-based glucose syrups including dextrose pursuant to Article 6, paragraph 11 of Directive 2000/13/EC; adopted on 3 May 2007.
- European Food Safety Authority (2007c). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to a notification from AAC on wheat-based maltodextrins pursuant to Article 6, paragraph 11 of Directive 2000/13/EC; adopted on 3 May 2007.
- European Union (2002). Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety, amended by Regulation (EC) No 1642/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 July 2003, and Commission Regulation (EC) No 575/2006 of 7 April 2006.
- European Union (2004). (Corrigendum to) Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs.
- Fritschy, F., Windemann, H., and Baumgartner, E. (1985). *Lebensm. Unters. Forsch.* 181, 379-385.
- Heeres, H. (2006). *Detecting Allergens in Food*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, pp. 378-404.
- Hernando, A., Mujico, J. R., Juanas, D. et al. (2005). In: Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity, 16-18 September 2005, Maikammer, Germany, pp. 29-35.
- Janssen, F. W., Hägele, G. H., and de Baaij, J. A. (1991). In: *Coeliac Disease*. Dordrecht: Kluwer Academic, pp. 95-100.
- Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius, Food Labelling, Complete Texts, 4th edn. General Standard for the Labelling of Prepackaged Foods: para 4.2.1.3, 4.2.1.4, 4.2.3.1, and 4.2.4.2 (latest publication: Fourth Edition, Rome 2005).
- Van Eckert, R., Pfannhauser, W., and Riedl, O. (1992). *Ernährung/Nutrition* 16, 511-512.



The topics in which it has become more complicated for undergraduate students, is that many subjects require the face-to-face contact for patient care attention, there are situations such as physical examination that cannot be replaced by telemedicine, however, in the area of dental and medical sciences, the use of augmented reality for teaching is an excellent strategy to achieve meaningful learning.

Research activities have also received the economic impact, some products have increased their prices and also the delivery time of several materials and reagents has increased, but at the same time more young people and the general population are interested in science. Importance of research activities is now on their mind. We hope for a positive change in the mentality of children and young people that can impact the future of our country.



Figure 3. Some people refuse follow the sanitary measures.



Figure 4. The police carry out patrols to avoid parties and remove alcohol from them.

### Social phenomena

During the pandemic, one of the most curious and interesting situations is that it has been found that there are problems between family nucleus, as time goes by, fights between parents and sons have increased, this can be attributed to the fact that they had different routines and they were not even together a long and now it is a combination of factors such as stress, the difficulty of establishing good communication and many people have notice that do not even know their own family, this situation is like meet new people.

Another observed situation is that many people have changed their eating habits and many have fallen into excessive or accelerated losing or gaining weight, the negative effects will surely be seen in the coming years and probably an increase in chronic degenerative diseases.

The selfish attitude of the young population has also been observed because the impatience to go out to have fun or parties has made conditions not improve and we are in a loop from which we cannot get out, because when things seem begin to improve, many people relaxes the sanitary measures and things get worse again.

Many people continue in a mourning phase, missing their life before the pandemic, although it is reasonable there is no doubt that acceptance of the situation is an important step towards adaptation, evolution and personal development, we must continue to take care of ourselves and cultivate a more cooperative and integral attitude.





of what people learn, how they learn, and where and when they learn.

Online platforms were the most popular tool used during school closures ranged from educational content which students could explore at their own discretion and formalized learning programs conducted at their own pace, to real-time lessons led by their teachers using virtual meeting platforms.

Another popular learning arrangement in many countries such as Mexico were television broadcasts providing educational content to continue students' learning. TV programs mostly catered for younger children in primary school, who may have had difficulty using online learning platforms or conducting self-

directed learning. It is also a way to reach students who do not have adequate resources for online instruction. Despite these advantages, broadcasts can be limited to covering only a few subjects due to the short amount of time devoted to these TV programs. Other measures were also used to help students learn at home. For example, in Mexico, a telephone line "Your Teacher Online" has been activated to offer mentoring to students

Technology can enable teachers and students to access specialized materials well beyond textbooks, in multiple formats and in ways that can bridge time and space. Working alongside teachers, intelligent digital learning systems don't just teach students science, but can simultaneously observe how they study, the kind of tasks and thinking that interest them, and the kind of problems that they find boring or difficult.

It can then adapt the learning experience to suit students personal learning styles with great granularity and precision. Similarly, virtual laboratories can give students the opportunity to design, conduct and learn from experiments, rather than just learning about them. Moreover, technology does not just change methods of teaching and learning, it can also elevate the role of teachers from imparting received knowledge towards working as co-creators of knowledge, as coaches, as mentors and as evaluators.

Teachers also had to adapt to new pedagogical concepts and modes of delivery of teaching, for which they may not have been trained. Learners in the most marginalized groups, who do not have access to digital learning resources or lack the resilience and engagement to learn on their own, are at risk of falling behind.

It has showed that just the half of teachers on average let their students frequently or always use information and communication and that younger teachers use technology more frequently in the classroom, but so too do teachers for whom technology was included in their formal training. However, only more than the half of teachers received professional development in online teaching, while less than one quarte reported a high need for development in this area. These figures highlight that teachers need to renew their skills regularly to be able to innovate their practices and adapt to the rapid transformations inherent in the 21st century. This is even more important in the current context, where the COVID-19 health crisis has pushed teachers to adapt very quickly, especially in countries where they do not necessarily have the pedagogical and technical skills to integrate digital tools into learning.

Nowadays students are unlikely to commit large amounts of time and money to consume online content, they go to universities to meet great people, have inspiring conversations with faculty, collaborate with researchers in the laboratory and experience the social life on campus. It is now a big challenge for universities to design learning environments so that digitalization expands and complements, but does not replace, student teacher and student-student relationships.

Countries have traditionally relied on international student mobility to facilitate the immigration of foreign talent and contribute to both knowledge production and innovation nationally.

Universities enrolled in international exchange programs, accepting and having international students for an academic year has been severely compromised, indeed, international student mobility is particularly high for doctoral programs, where one of five students comes from abroad, unfortunately now a decline in international student mobility risks cutting into universities bottom line, affecting their core education services, the financial support they provide to



all the students, as well as productivity in advanced sectors related to innovation, research and development activities in the coming years.

Several steps can be taken to manage the risks and trade-offs, including physical distancing measures, establishing hygiene protocols, revising personnel and attendance policies, and investing in staff training on appropriate measures to cope with the virus. However, the challenges do not end with the immediate crisis. As public funds are directed to health and social welfare, long-term public spending on education is at risk despite short-term stimulus packages. Private funding will also become scarce as the economy weakens and unemployment rises. At tertiary level, the decline in the international student mobility following travel restrictions is already reducing the funds available in countries where foreign students are accepted.

There are unquestionable benefits to reopening educational institutions in terms of supporting the development of knowledge and skills among students and increasing their economic contribution over the longer term. In fact, the learning loss which has already taken place, if left unremedied, is likely to exact an economic toll on societies in the form of reduced productivity and growth. Reopening schools will also bring economic benefits to families by enabling them to return to work, once public health authorities deem that this is feasible. Those benefits, however, must be carefully weighed against the health risks and sanitary measures needed to minimize the health impact of the pandemic. As we enter the COVID-19 recovery phase, it will be critical to reflect on the role of educational systems – and particularly vocational education – in promoting resilient societies. The global health crisis and the lockdown that followed have brought to the fore professions that have often been taken for granted, renewing our awareness of their value to society. This has helped restore a sense of esteem for those workers who have worked relentlessly during this time to keep economies afloat. The outlook is very uncertain. But, if anything, the pandemic has exposed our vulnerability to crises and revealed how precarious and interdependent the economies we have built can be.

## COMMENTS.

### **The financial losses are not limited to higher education institutions.**

In similar ways the pandemic has placed pressure on the global economy and had a severe impact on higher education as universities closed their premises and countries shut their borders in response to lockdown measures, forcing lecturers and students to adapt to the online environment replacing face-to-face lectures with online learning with immediate effect.

### **Technology is also only as good as its use.**

Real change often takes place in deep crises, and this moment holds the possibility that we will not return to the status quo when things return to “normal”.

This new way of thinking and doing is a model for transformed practices.

The current crisis has tested our ability to deal with large-scale disruptions. It is now up to us to build as its legacy a more resilient society.



## References.

- IIEP-UNESCO (2020), What price will education pay for COVID-19?, International Institute for Educational Planning website, <http://www.iiep.unesco.org/en/what-price-will-education-pay-covid-19-13366>.
- OECD (2020), Education at a Glance 2020: OECD Indicators, OECD Publishing, Paris.





写真2 小学生の教室

は、高速のネットワーク環境やハードが求められている。都市部においてはネットワーク環境がほぼ整備されているが、情報化のインフラ整備があまり進んでいない一部の不便な農村地域では、子供たちが数千メートルの山に登って電波の届くところで授業を受ける話もある。また、オンライン授業を受けるためにはパソコンやタブレットなどの設備が必要とされているが、設備を購入できない低所得層の子供の在宅学習の権利を如何に守るかが大きな課題となっている。

### (2) オンライン学習教材の氾濫

オンライン学習教材用のプラットフォームは数えきれないほど多い。学校、区、市、国家レベルで様々なオンライン授業プログラムが制作されたが、そのレベルは様々であり、確立されたプログラムがまだ定着されておらず、バラツキがみられる。また、新型コロナウイルスに対応するために、急いで作られた学習教材も一部あり、それぞれの適用年齢層に合った教材が満足のいかないものもあり、改善する余地がたくさん残っている。

### (3) 教育者のIT素養

オンライン授業は教育者にとって、学習指導をするだけでなく、情報技術の把握とAIなどに対する理解が求められている。そのため、PC、タブレット、web上の各種コンテンツの使いこなしと端末機器の切り換え、授業の録画、録音のノウハウなどを身につけなければならない。さらに、オンライン授業を進める中で、予測できない故障などが起こった場合、問題解決能力が求められている。私もオンライン授業をしているが、プラットフォーム、ネットの安定

性等いつも気にかけているところである。教育者のIT素養はオンライン授業の成否に関わり、授業効果に影響を及ぼしてくる。本来は徐々に身につけていけば差し支えないが、新型コロナウイルスの影響で、教育者は情報化舞台の最先端に押し出されてしまい、それによってプレッシャーを感じている者が少なくない。いきなり押し寄せてきたオンライン教育に対応するために、技術的にも心理的にもまだ準備が必要であろう。

### (4) 家庭と学校の連携

在宅でオンライン授業を受けて、勉強するためには、家庭と学校との歩調を合わせないといけない。しかしながら、保護者全員がPCやタブレット、スマートフォンを使いこなしているとは限らず、特に祖父母が代わりに孫の在宅学習に関わる場合、この問題が特に深刻になる。さらに、学習能力の低い生徒は在宅学習をする際、ついゲームに目が奪われてしまったという話もある。在宅学習の効果に対する懸念から、一部の保護者は不安と焦りを感じ、在宅学習に対して否定的になってしまう。

## 2. オンライン授業の改善策

前節に述べたオンライン授業が抱えている課題について、以下の改善策が考えられる。

- ①誰でも学校のオンライン授業をスムーズに受けられるように、国、市、区など各レベルの政府機関が連携して、学習教材を統合しオンライン授業の環境整備に力を入れ、農村部のインフラ整備を急ぐ必要がある。
- ②テレビ講座やオンライン学習などの学習スタイル

は今まで中国であまり根付いておらず、学習番組制作などのノウハウもあまり蓄積されていない。オンライン授業を受ける生徒の希望に沿った学習教材を提供するためには、海外のオンライン授業や、例えばNHKのテレビ講座などは有意義な参考になるだろう。

- ③教員のIT素養を高めるために、教育管理部门が養成訓練計画を綿密に立てる必要がある。オンライン指導、宿題チェック、情報検索、分析などの応用能力の養成はもちろん、新しい技術を活用しながら、個性的な教育を実施する能力の養成も大切である。
- ④オンライン授業の実施には保護者の協力は不可欠である。そこで、学校と保護者との連携は今まで以上に必要となる。保護者との多様な交流メカニズムを確立することで、保護者のオンライン授業に対する理解を促し、科学的な学習支援を保護者によってサポートすることができる。

このほかに、オンライン授業を補完するためには、コミュニティの組織力を発揮させる必要がある。社会的な移動が制限されている中で、さまざまな集団活動における多様な他者との関わりや対話を通して人を育てることが一層重要となり、同じ団地に住んでいる生徒と保護者との交流を学校、コミュニティが促す必要がある。

### 3. ポストコロナ時代の教育方式

新型コロナウイルス感染症の収束までには、長期戦を覚悟する必要があるが、その中で、学校教育も含めて我々の生活スタイルは大きく変化した。感染症が収束したあとの「ポストコロナ」の時代の学校教育像はどのようなものであろうか。

知識教育を重視する時代、情報技術はあくまでも



写真3 大学の自習室

教育の補助道具であった。しかし今後、オンライン授業と対面指導を結び付けた教育の「ハイブリッド化」が進行してくであろう。情報技術は「ハイブリッド化教育」の一翼を担っていると言えよう。このような新しい教育方式を実践する中で、教員の役割は「知的な権威」から「学びの協力者」に転換していくと思われる。ポストコロナ時代の教育の中心は教員の「教」から学生の「学」にシフトして、学生は学習過程において主役となり、教員は立役者である。教員が情報技術を利用して、教育内容を再構成し、テキストの知識とオンラインプラットフォームで紹介された知識を社会生活と密接に関係する「生」の知識への転換に努めなければならない。さらに、学生の学習意欲を引き出したり、学習行為と結果を判断したり、学習内容、方法の選択も指導しなければならない。学生はこのような教員の指導の下で、学習意欲と創造性学習方法を改善し、バーチャルリアリティーの多種多様な場面で学びながら体験し、最終的に問題解決にたどり着き、学習目標の達成が実現できる。このような新しい教育方式は教員にとっても大きなチャレンジとなるであろう。

城西大学薬学部 白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)

## セリ *Oenanthe javanica* (Blume) DC. (セリ科 Umbelliferae APG 体系: Apiaceae)

連絡先：城西大学薬学部  
shiratak@josai.ac.jp

2月に入り、田畑の畔などにセリが顔を出します。セリの語源は、若葉が競り合うように成長する様子から、「競り（セリ）」とよばれるようになったといわれています。セリは日本原産の常緑多年草で、日本各地、東アジア、インドなどの北半球一帯とオーストラリア大陸に分布し、湿地や田の畔などに群生します。高さは20～80cmで全草に芳香があり長い柄のある葉を盛んに出し、秋～冬は多数の根生葉を叢生し、春～夏は根元から長く長い匍匐枝を伸ばして泥の中や表面を這うように成長します。葉には根際につく根生葉と茎に互生する葉があり、ともに1～2回3出羽状複葉で小葉は卵形、鋸歯があります。7～8月、やや高く直立して花茎を伸ばし、その先端に複傘形花序をつけ小さな白い花を咲かせます。

生薬としては、6～7月、刈り取って乾かした全草をスイキン（水芹）といい、神経痛、リウマチなどの鎮痛、小児の解熱などに用いられます。また、浴湯料としてリウマチ、神経痛、血圧降下などによいとされています。成分として、精油の terpinolene,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, myrcene, benzyl alcohol, diethyl phthalate など、フラボノイドの persicarin, quercetin, その他に vitamin B<sub>1</sub> (thiamine), vitamin C (L-ascorbic acid) など、また、果実や花には、フェニルプロパノイドの myristicin, フラボノイドの persicarin, quercetin, rutin などがあり、精油成分には去痰、利尿、食欲増進、緩下、保温などの作用があり、セリ特有の香り成分は、フタル酸ジエチルエステルなどの精油成分とされ、根の香りはポリアセチレン化合物に由来し、風邪による冷えなどに有効とされています。

セリは、万葉集にも登場し、古くから薬効のある冬の野菜として親しまれ、若い茎と葉が鍋物や油炒め、和え物などにして食べられます。また、「春の七草」の一つに数えられ、伝統料理として「七草粥」が有名です。「七草粥」は、人日の節句（1月7日）の朝に食べられる日本の行事食の一つで、正月最後のこの日は、「七草粥」



写真1 セリ（若い茎葉）



写真2 セリ（全草）

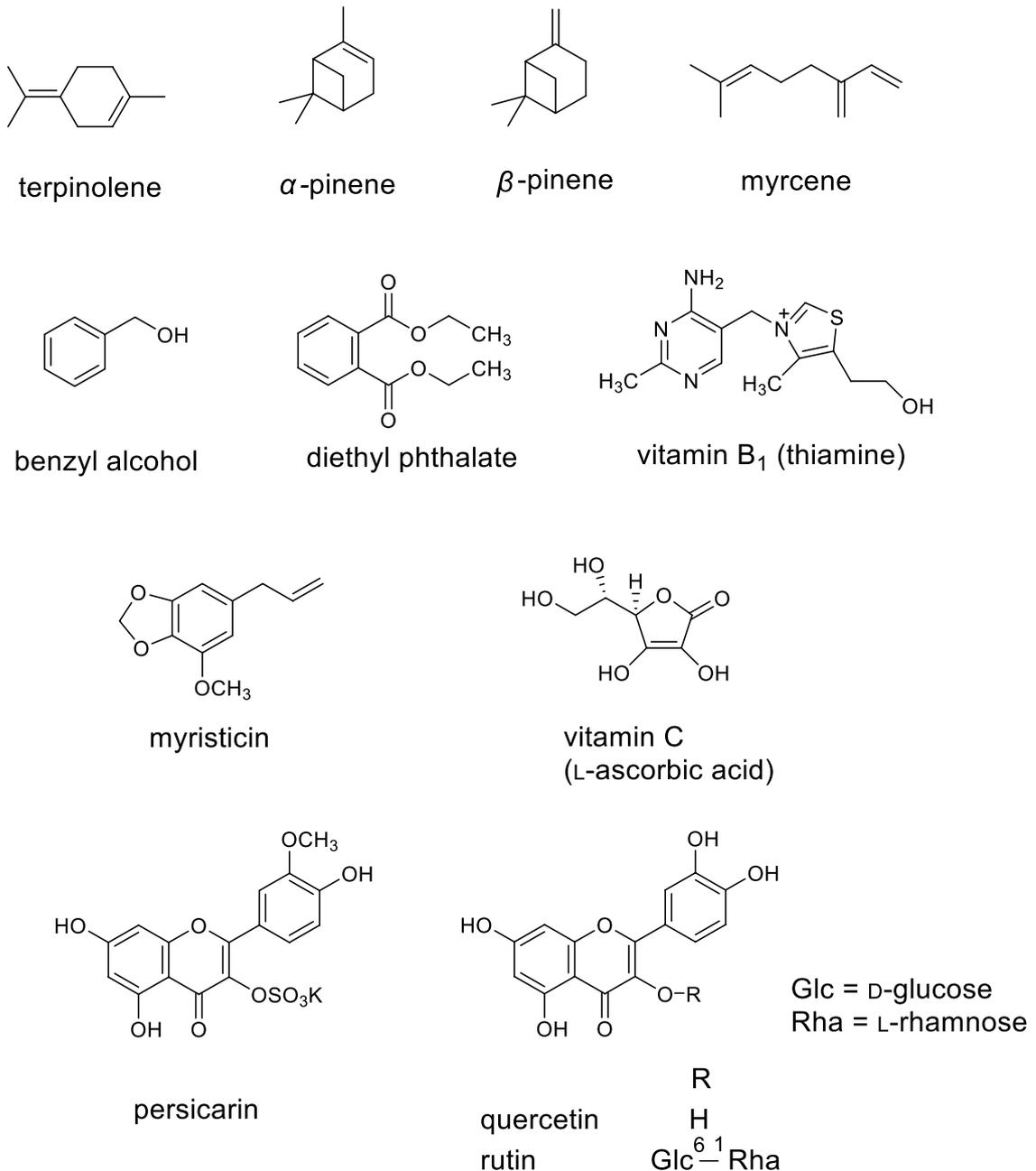


図1 成分の構造式

を食べて1年の豊作と無病息災を願います。七草は、セリ・ナズナ・ゴギョウ・ハコベラ・ホトケノザ・スズナ・スズシロが一般的で、今ではセットにして販売されています。「七草粥」の作法は少し変わっていて、「七草なずな、唐土の鳥が日本の土地に渡らぬ先に…」と、七草嚙子(はやし)を喰いながら、まな板に乗せた七草をすりこ木や包丁でたたきます。米は4~5倍の水に30分間浸し、強火にかけ、吹いてきたら弱火にし、20~30分炊き、火を止める直前に刻んだ七草を入れ、塩で味をつけます(「人日」とは五節句の1番目の節句で、陰暦1月7日のことをいいます。つまり、今の太陽暦では2月上旬をさします)。

ドクゼリ *Cicuta virosa*, ドクニンジン *Conium maculatum*, キツネノボタン *Ranunculus silerifolius* (*R. glaber*) などの有毒植物との違いにも気をつけたいものです。ドクゼリは地下茎が緑色で太くタケノコ状の節があり、横に這わず、セリ独特の芳香がありません。また、セリには白いひげ根があります。ドクニンジンには、ニンジンに似たヨーロッパ原産の植物で、主に草原に生え、葉や根を潰すと不快な臭いがし、小葉の切れ込みの深いのが特徴ですが、個々の小葉だけを取るとセリに似ているので間違える恐れがあります。ドクニンジン



写真3 セリ（花）



写真4 春の七草

の緑の茎には、下半分に、赤か紫のまだらが入っていることが多く、本植物がソクラテスの処刑に毒薬として用いられたことからヨーロッパでは茎の赤い斑点を「ソクラテスの血」とよばれています。間違えやすいのでドクニンジンか否かの見分けがつかない場合は、廃棄することをお勧めします。キツネノボタンもセリと同じような場所に生育しますが、花弁は黄色で花後にコンペイトウのような角のある直径1cmほどの果実がつきます。

白石カルシウムの炭酸カルシウム

炭酸  
カルシウム  
とは？

古くから食品に使用されている安全性・吸収性に優れたカルシウム源です。  
用途も栄養強化はもちろんのこと、練製品の弾力増強などの品質改良、粉体の流動性向上・固結防止といった加工助剤などその目的は多彩です。

分散性・混合性に優れたものや、飲料用として沈殿を抑制したタイプ等、品揃えております。

一般の栄養強化には「ホワイトン」

機能を求めるならば「コロカルソ」

飲料用には、スラリー状の「カルエッセン」

詳細につきましては弊社営業担当にお気軽にお尋ねください。

 白石カルシウム株式会社

食品部：東京都千代田区岩本町1-1-8 TEL03-3863-8913  
本社：大阪市北区中之島2-2-7 TEL06-6231-8265

# 現代チーズ学

編集  
集

齋藤 忠夫 東北大学大学院農学研究科  
雪印乳業株式会社 技術研究所  
井越 敬司 東海大学農学部

# The Contemporary Cheese Science

480 ページ超の大迫力！  
業界第一人者が集結！  
チーズ研究の必携書

チーズ研究の頭脳集結！  
熟成した研究成果を、  
じっくり書き上げた  
問い合わせ殺到の  
究極のチーズ技術書！

PDF 版 いよいよ  
発売!!お問合せは  
エヌエフアイまで

- B5版/496ページ
- 定価:(本体4,500円+税)
- 発行:エヌエフアイ



## 現代チーズ学 目次

- |                             |                        |
|-----------------------------|------------------------|
| 1. チーズの歴史、食文化、分類および生産       |                        |
| 1.1 チーズの起源と歴史               | 大谷 元                   |
| 1.2 チーズの食文化                 | 村山 重信                  |
| 1.3 チーズの分類と名称               | 村山 重信                  |
| 1.4 世界のチーズの生産・輸出入と消費        | 伊藤 晋治                  |
| 2. チーズの基礎科学                 |                        |
| 2.1 乳の成分科学                  | 石田 光晴                  |
| 2.2 チーズ製造の基本フロー             | 齋藤 忠夫                  |
| 2.3 乳酸菌スターターの科学             | 宮本 拓                   |
| 2.4 キモシンによる凝乳機構             | 阿久澤良造                  |
| 2.5 チーズの熟成機構                | 井越 敬司                  |
| 3. チーズの製造技術と衛生管理            |                        |
| 3.1 クリームチーズ                 | 岩附 慧二                  |
| 3.2 モッツアレラチーズ               | 橋本 英夫                  |
| 3.3 カッテージチーズ                | 久米 仁司                  |
| 3.4 熟成型チーズ                  | 田中 穂積                  |
| 3.5 キモシン酵素利用の現状             | 高見 修平                  |
| 3.6 プロセスチーズ                 | 川崎 功博                  |
| 3.7 チーズの包装技術                | 佐々木敬卓                  |
| 3.8 チーズ製造の衛生管理              | 柳平 修一<br>鈴木 明<br>花形 吾朗 |
| 4. チーズの機能性                  |                        |
| 4.1 チーズの微細構造                | 木村 利昭                  |
| 4.2 一次機能                    | 根岸 晴夫                  |
| 4.3 二次機能                    | 井筒 雅                   |
| 4.4 三次機能                    | 堂迫 俊一                  |
| 4.5 チーズとホエイに含まれるタンパク質の免疫科学  | 大谷 元                   |
| 5. ホエイ成分の高度利用               |                        |
| 5.1 チーズホエイとその成分別調製技術        | 元島 英雅<br>野島 一晃         |
| 5.2 機能性オリゴ糖                 | 浦島 匡                   |
| 5.3 機能性ホエイ味噌                | 六車三治男                  |
| 6. チーズの諸制度と知的財産権            |                        |
| 6.1 チーズの規格基準と表示規制           | 石田 洋一                  |
| 6.2 チーズの知的財産権               | 工藤 力                   |
| 7. 近未来のチーズ学                 |                        |
| 7.1 チーズ製造技術の変遷と進歩           | 相澤 茂                   |
| 7.2 近未来のチーズ製造技術             | 市橋 信夫                  |
| 7.3 新しいタイプの機能性チーズの開発        | 松尾 光郎                  |
| 7.4 スターター乳酸菌における遺伝子組替え技術の応用 | 佐藤 英一                  |

お申し込み・お問い合わせは、  
FAX・お電話・WEBにて

電話: 042-312-0836

FAX: 042-312-0845

エヌエフアイ合同会社

好評発売中

- A5版 / 248ページ
- 定価：(本体 3,500円+ 税)
- 発行：食品資材研究会



■ 著者 / 山口 正義 (やまぐち まさよし)

# 骨の健康と食因子

## 骨粗鬆症の予防と修復へのアプローチ

- 第1章 ホルモンと生体機能調節
- 第2章 ホルモンの細胞内への情報伝達とそのしくみ
- 第3章 カルシウム代謝とそのホルモン調節
- 第4章 骨代謝とそのホルモン調節
- 第5章 老化と骨カルシウムホメオスタシス
- 第6章 栄養性ミネラルと骨粗鬆症の予防
- 第7章 生体微量元素と骨粗鬆症の予防
- 第8章 骨粗鬆症を予防する食品由来生理活性因子
- 第9章 骨粗鬆症を予防する食品素材
- 第10章 複合食因子の骨効果と新規サプリメントの開発

◆ご注文は FAX またはメールにて FAX:042-312-0845 info@nfi-llc.co.jp

www.newfoodindustry.com

### ニューフードインダストリー 第63巻 第2号

印刷 令和3年 1月20日  
発行 令和3年 2月1日  
発行人 渡邊 力  
編集人 今西 和政  
発行所 エヌエフアイ合同会社  
〒185-0012 東京都国分寺市本町3-7-23-302  
TEL:042-312-0836(代表)  
FAX:042-312-0845  
振込先:三井住友銀行 国分寺支店 普通2312814  
多摩信用金庫 国分寺支店 普通3073817  
ゆうちょ銀行 〇一九店 当座0324817

印刷所 株式会社メイク  
定価 本体2,500円 + 税 (送料120円)

e-mail:newfood@newfoodindustry.com

# New Food Industry 投稿規定

1. 本誌 New Food Industry は、食品に関する原著論文、総説、ノート、解説、特集原稿、国内新製品紹介、海外レポート、随想および各種研究会会告等を掲載します。
2. 投稿原稿は、日本語または英語を標準とし、欧語は使用しないでください。

和文原著論文、総説、ノート、解説には、和文タイトル、著者名および所属機関名（所在地）、次に英文タイトル、著者名、所属機関名（所在地）をつけ、本文の前に必ず7つ以内のキーワード（英語と日本語）を加える。原著論文、総説、ノートには、400単語程度の英文 Abstract をつけます。また、総説、解説等については出来れば Graphic abstract で本文の概要を説明してください。

英文原稿には、7つ以内の英語のキーワード、末尾に、和文タイトル、著者名および所属機関名（所在地）、7つ以内の和文キーワードおよび和文要約を書き入れてください。
3. 原著論文、ノート、総説については編集委員会にて査読者を選出し査読を行います（総説は査読希望があるものについて査読をします）。また、研究解説、特集等に関しては各著者の責任において投稿いただきます。

査読される原著論文は、未発表の新規知見を含み食品科学・食品の機能性等の発展に寄与するものとし、ノートは、食品業界の発展に寄与する短報とします。総説はすでに発表されたもので新たに加筆、修正をし、食品科学の知見に基づいた機能、官能評価、開発のための価値の高い研究論文などを対象とします。また、研究論文の著者が複数の場合、その責任者（研究室長・教授）等の責任において発表し、査読希望の場合に限り査読を行います。

原稿の取扱いは、編集委員会に一任され、査読を行う原稿は、編集委員会の判断で査読者を2人以上選出し掲載可の判断がされた後、編集作業にかかります。
4. 原稿はすべて A4 ワードドキュメントに、和文は横書きで40字×35行、英文の場合は72字×35行を標準とします。
5. 論文の長さは、本誌印刷時に原著論文では8～12頁（ワード頁で10～20）以内、ノートでは4頁以内とします。
6. 和文原稿はひらがな、新仮名遣いとし、物質名や学術用語などに対して欧語を用いないこと。研究に用いた機器試薬名は一般名と商標登録名、メーカー名、所在地を記載します。
7. 本文および文献中の学名やジャーナル名はイタリック、ジャーナルの巻数はボールドとします。
8. 図・写真・表並びに説明文は、別稿で提出してください。
9. 図表の挿入希望位置は、原稿欄外に指示してください。
10. 数字はすべてアラビア数字を用い、数量の単位は SI 単位を基本とする。単位および述語の略字例は次の通り。  
km, m, cm, mm, L, mL, mL, kg, g, mg, mg, mol, mmol, mM, mM, pH, b.p., f.p., MW, V, A, N, M, Rf 等
11. 引用文献は、本文中での引用順に片括弧付きの上付き番号を付して記載します。
12. 引用文献リストは、本文の後に番号順にまとめて記載します。
13. 原稿の校正は、初校・再校まで著者が行い、大幅な修正、加筆は不可。三校以降は希望があれば行います。
14. 掲載された論文は、論文公開検索システム等に採択されます。掲載論文の著作権は、エヌエフアイ合同会社に帰属します。
15. 掲載された論文は、出版元の許可を得れば頒布、複製、著者 HP での公開をしてもよい。



# New Food Industry

エヌエフアイ合同会社

本社：〒185-0012 東京都国分寺市本町3-7-23-302  
電話 042-312-0836 FAX 042-312-0845

定価： 本体2,500円 + 税  
(送料120円)

雑誌 89591-2



4910895910215  
02500