

New Food Industry

New food indust. 63 (6): 2021.

2021
6

論説

- ◆ 焼酎およびブランデーによる
t-PA(tissue-plasminogen activator)産生促進
- ◆ ランヤタイ 瑯琊台酒(中国酒)の機能性:
t-PA産生と血小板凝集阻害効果

研究解説

- ◆ チャーガ, コーヒー, ココア配合物における抗糖尿効果に関する研究

連載解説

- ◆ グルテン-沈殿要因-1

海外レポート

- ◆ COVID-19パンデミック下での海外留学生活
～スイス・ベルン大学に留学して～

コーヒー博士のワールドニュース

- ◆ ヒラタケが世界のキノコになる?

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

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

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：2090円（本体1900円）
■発行：エヌエフアイ



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か
3. 乳はなぜ白いのだろうか
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か
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科修士課程修了後、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

論説

- 焼酎およびブランデーによる
t-PA (tissue-plasminogen activator) 産生促進

須見 洋行, 丸山 真杉, 矢田貝 智恵子 419

- ランヤタイ 瑯琊台酒 (中国酒) の機能性：
t-PA 産生と血小板凝集阻害効果

須見 洋行 423

研究解説

- チャーガ, コーヒー, ココア配合物における抗糖尿効果に関する研究

具 然和, 山下 剛範, 井上 登太 427

連載解説

- グルテン - 沈殿要因-1

瀬口 正晴, 吉野 精一 437

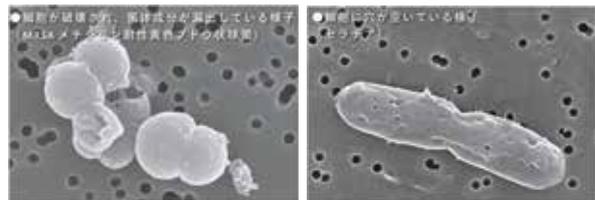
海外レポート

- COVID-19 パンデミック下での海外留学生活
～スイス・ベルン大学に留学して～

日野 峻輔 455

食品工場用低発泡除菌剤

バイオサイド[®] Neo



- ・ 細菌類はもとより、酵母やウイルスにも強い効力を発揮します。
- ・ 低発泡性で、泡切れが良く、べたつきも少ないため、作業適性に優れています。
- ・ 食品工場の機械器具類、床・腰張り・壁等の除菌や、踏み込み槽の除菌液などにお勧めします。

(徳島大学名誉教授高麗氏より提供)



詳しい内容はこちらへ→

コーヒー博士のワールドニュース

■ ヒラタケが世界のキノコになる？

岡 希太郎 461

連載 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —

■ ザクロ *Punica granatum* L. (ミソハギ科 Lythraceae)

白瀧 義明 464

随想

■ アルコール発酵をする酵母 新しい胞子形成用培地を作る

兎束 保之 467

News Release

◆ 低分子で使いやすく、甘みを有する液状タイプの食物繊維素材 『テトラリング®』を6月3日に新発売

株式会社林原 481

◆ グアーガム酵素分解物は腸肝軸を介して脂肪性肝疾患の進行を抑制 ～脂肪性肝疾患モデルマウスに対する効果を発表～

太陽化学株式会社 484

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

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
 堂迫 俊一 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 鈴木 明 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 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

焼酎およびブランデーによる t-PA (tissue-plasminogen activator) 産生促進

須見 洋行 (SUMI Hiroyuki)^{1*}, 丸山 眞杉 (MARUYAMA Masugi)², 矢田貝 智恵子 (YATAGAI Chieko)³

Key Words: 焼酎, ブランデー, 血管内皮細胞, t-PA, β -フェネチルアルコール

要旨

HeLa細胞を用いてt-PA(組織プラスミノゲンアクチベーター)産生能を調べた。t-PA産生能はバラの香り成分である β -フェネチルアルコールの添加で著しく高まることが分かった。同様の反応はヒト血管の内皮細胞でも起こると考えられ、焼酎あるいはブランデーでもそれが確認された。

主としてヒト血管の内皮細胞で産生され循環血液中に分泌されるt-PAは、527個のアミノ酸からなる分子量約7万の糖たんぱくで、そのアミノ末端からフィンガー領域、EGF領域、2個のクリングル領域および活性領域から構成される(図1)。このt-PAは現在、虚血性脳血管障害、急性肺塞栓症および急性冠症候群に対する最も強力な血栓溶解薬として高い有効性が証明されている^{1,2)}。

HeLa細胞を用いて香り成分(β -フェネチルアルコール)を添加し、24時間後の合成基質分解活性を比較したところ、t-PA産生増加が認められた。また、ヒト血管の内皮細胞による焼酎およびブランデーにも同様の添加効果が認められたので報告する。

材料および方法

香り成分である β -フェネチルアルコールは和光純薬より購入したものを、焼酎(乙類)は日本製、ブランデーはフランス製を使用した。

・細胞培養

t-PA産生細胞としてHeLaS3細胞あるいはヒト血管の内皮細胞HUVECの培養を行った³⁾。細胞は24

ウェルプレートで、コンフルエント状態になるまで培養し、培養液をアスピレーターで吸出後、細胞をPBS(-)400 μ Lで2回洗浄し、新しい培養液360 μ Lおよび試料40 μ Lを添加し、37 $^{\circ}$ C、5%CO₂の条件下で24時間培養を行った。培養後、サンプリングして得られた培養液は1st mediumとして-20 $^{\circ}$ Cで保存した。サンプリング後の細胞はPBS(-)400 μ L

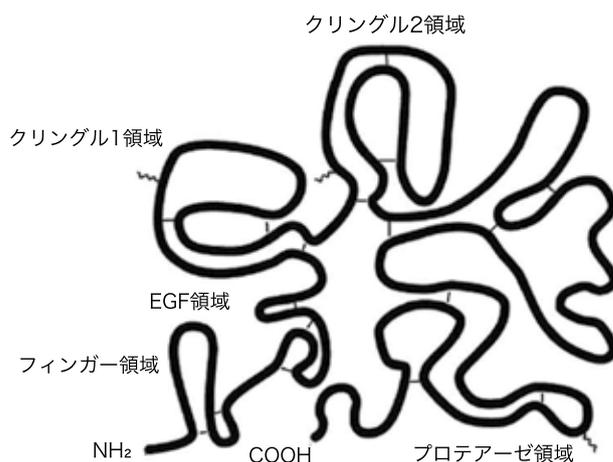


図1 t-PAの分子構造

モンテプラーゼ、アルテプラーゼあるいはパミテプラーゼなどの名称でヒトに投与され心筋梗塞など血栓防止に利用されている。特にアルテプラーゼは天然型t-PAと同じアミノ酸配列を持つ。

¹ 連絡先: 倉敷芸術科学大学 名誉教授
〒712-8505 岡山県倉敷市連島町西之浦 2640 番地
e-mail: yatagai@kusa.ac.jp

² 一般社団法人日本健康倶楽部宮崎支部診療所 医師, ³ 倉敷芸術科学大学 准教授

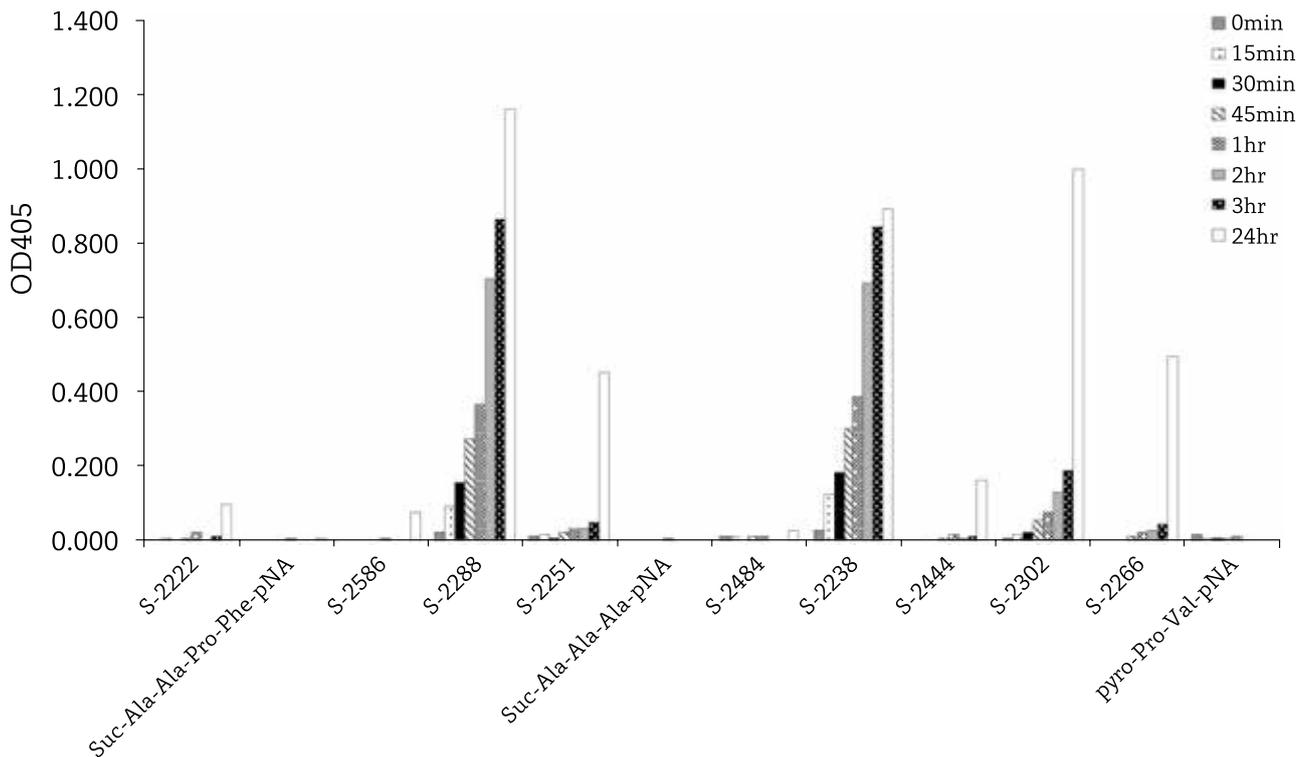


図2 t-PA 産生細胞 (HeLa) と種々のアミド基質分解活性
HeLa の培養系に β -フェネチルアルコール 500ppm を添加し、各アミド基質分解活性を調べた。

で2回洗浄し、培養液 400 μ L を加えさらに 24 時間培養を行った。培養後の培養液は 2nd medium として -20 $^{\circ}$ C で保存した。また、培養後の細胞は PBS (-) で2回洗浄し、トリプシン -EDTA で細胞を剥離後、Trypsin Neutralizing Solution 100 μ L と PBS (-) 200 μ L を加え懸濁し、吸光度 600nm を測定し、検量線を用いて細胞数を算出した。

・合成基質分解法

t-PA に特異的な合成基質 (S-2288) を含む 12 種類の合成基質を用いて分解活性を測定した⁵⁾。合成基質は終濃度 0.5mM になるように DMSO で調整した。96 ウェルプレートへ 0.1M リン酸緩衝液 (pH7.4) を 50 μ L、合成基質 10 μ L を混合し、37 $^{\circ}$ C、10 分間プレインキュベーションを行った。その後培養液 40 μ L を加え、37 $^{\circ}$ C、10 分間の吸光度 405nm におけ

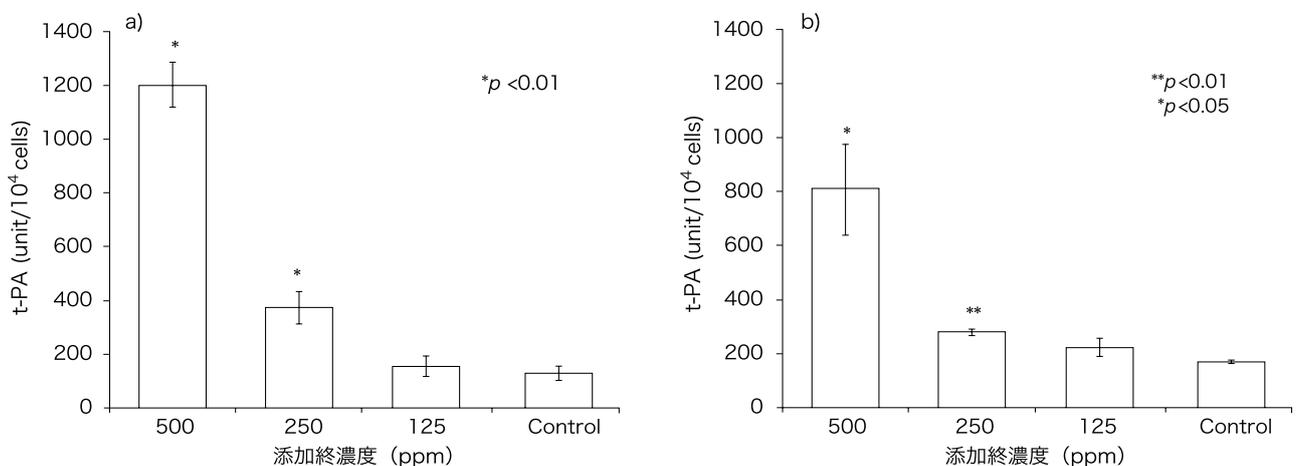


図3 β -フェネチルアルコール添加による t-PA 活性亢進効果 (HeLa 細胞)
a: 1st medium b: 2nd medium
平均値 \pm 標準偏差を 1 万細胞あたりで表した (n=9)。

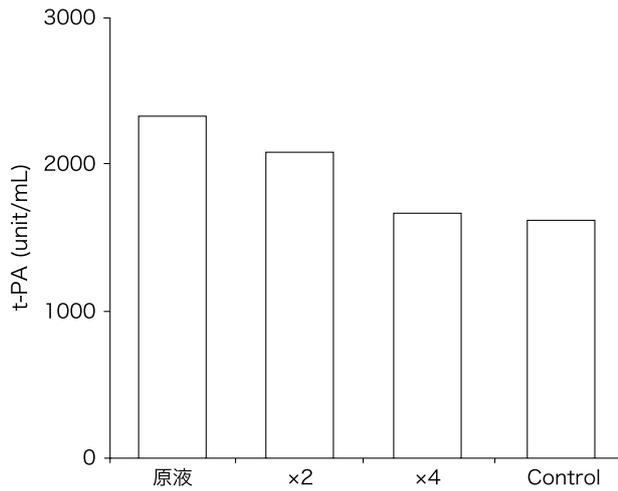


図4 β-フェネチルアルコール添加のt-PA活性への影響
25% アルコールを原液試料として、各希釈液（内皮細胞：1st medium）を用いた。

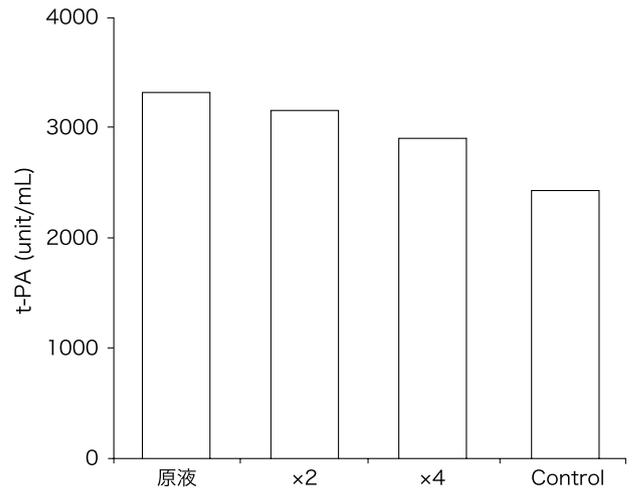


図5 焼酎のt-PA活性への影響
25% アルコールを原液試料として、各希釈液（内皮細胞：1st medium）を用いた。

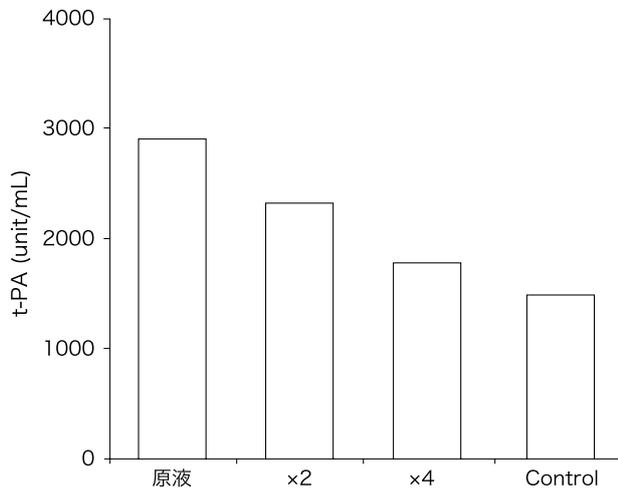


図6 ブランデーのt-PA活性への影響
36% アルコールを4倍に希釈したものを原液試料として、各希釈液（内皮細胞：1st medium）を用いた。

培養におよぼす影響をみたところ、1stあるいは2nd mediumのいずれもt-PA活性の著しい上昇がみられ、有意に増強することが分かった(図3)。また、血管内皮細胞HUVECの培養系に焼酎あるいはブランデーを添加してみたところ、いずれも有意ではないがβ-フェネチルアルコールと同様のt-PA活性亢進が認められた(図4~6)。

考察

第二次世界大戦時にナチスによって爆撃されたイギリスでは、長時間の高ストレス条件下におかれた患者は心臓病を引き起こしやすいことが経験上明らかにされている。著者らはヒトが飲酒時のようにリラックスした状態にあることは重要で、そこでは自らのt-PA(あるいはu-PA)を増加させ、血栓性疾患のリスク低減に働いているのではないかと考えている⁵⁻⁸⁾。特に、焼酎のβ-フェネチルアルコールはバラの香りの主成分でもあり、酒の香りを豊かにするため様々なところで高生産酵母の開発が進められているが⁷⁾、この成分がt-PA産生細胞に働き活性を亢進したことは意義深い(図2~4)。

いずれにせよこのような酒類の効能は虚血性脳血管障害あるいは急性肺塞栓症の予防に働く新しい機能性素材として血液生理学上価値あるものと思われる。

今後、焼酎およびブランデーの飲酒による疫学調査の結果を期待している。

る初速度を測定し、検量線よりt-PA活性をunit/mLで算出した^{2,4)}。

結果

12種類の基質のうち、t-PA産生系であるHeLa培養細胞にβ-フェネチルアルコールを加え生じた酵素活性を測定した。t-PA活性を示すS-2288分解活性と共にトロンビン(S-2238)あるいはカリクレイン(S-2302)などの活性が亢進されることが分かった(図2)。その他、尿中カリクレイン(S-2266)あるいはプラスミン(S-2251)に対する分解活性も確認できた。

同じくβ-フェネチルアルコールのHeLa細胞の

参考文献

1. P. Wallén, N. Bergsdorf and M. Rånby: Purification and identification of two structural variants of porcine tissue plasminogen activator by affinity adsorption on fibrin, *Biochim. Biophys. Acta.*, **719**: 318-328, 1982.
2. The National Institute of Neurological Disorders and Stroke t-PA Stroke Study Group: Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke, *N. Engl. J. Med.*, **333**:1581-1587, 1995.
3. H. Sumi, C. Yatagai, S. Naito, T. Ohsugi, E. Yoshida, *et al.*: Shochu and Brandy increased t-PA release from human endothelial cells and inhibited platelet aggregation, 22nd International Congress on Fibrinolysis & Proteolysis, P36(p.190), Marseille, France, 2014.
4. 須見洋行, 山口優也, 徳留瞬, 梶原康博, 高下秀春ら: 焼酎香気成分によるプラスミノゲンアクチベーター (t-PA) 産生促進, 並びに血小板凝集阻害作用, *日本アルコール薬物医学会誌*, **47**: 75-81, 2012.
5. 須見洋行: 本格焼酎一泡盛の機能性, *醸造協会誌*, **96**: 513-517, 2001.
6. H. Sumi, H. Hamada, H. Tsushima and H. Mihara: Urokinase-like plasminogen activator increased in plasma after alcohol drinking, *Alcohol & Alcohol.*, **23**:33-43, 1988.
7. 須見洋行: エッセンシャルオイルおよび焼酎アロマが持つ線溶亢進効果, *Aroma Res.*, **4**: 60-63, 2003.
8. 須見洋行, 内藤佐和, 矢田貝智恵子, 丸山真杉: 本格焼酎の初留分画にみられた抗血小板凝集活性, *日本アルコール薬物医学会誌*, **46**: 297-301, 2011.

ランヤタイ 瑯琊台酒（中国酒）の機能性： t-PA 産生と血小板凝集阻害効果

須見 洋行 (SUMI Hiroyuki)¹

Key Words: 瑯琊台酒, t-PA, 血小板凝集阻害, 血栓溶解

要旨

瑯琊台酒（中国酒）には強い線溶系亢進と血小板凝集阻害能のあることがわかった。前者はヒト HeLa 細胞からの t-PA（組織プラスミノゲンアクチベーター）産生量で、また後者はヒト血液の ADP を惹起物質として用いた場合の血小板凝集に対する阻害能で調べた。飲むだけでなく香りを嗅ぐだけでも体に作用する新しいカテゴリーの機能性酒といえよう。

酒は飲む前の香りの段階で、すでにセラピューティック効果（自然治癒効果）があると考えられている¹⁾。中国の茅台酒は1億円以上で落札されるなど人気は高いが、「燃えるような酒」といわれる瑯琊台酒は我が国ではほとんど知られていない。著者は北京を訪れた際に非常に優れた芳香を放つ瑯琊台酒に出会い、人間の組織プラスミノゲンアクチベーター（t-PA）産生細胞に影響するのではないかと考え、本実験を行った（図1）。

その結果、日本の焼酎^{2,3)}にも劣らない、t-PA 産生細胞に対する強力な添加効果および血小板凝集阻

害能を見出したので報告する。

材料および方法

アルコール度数 70 度の瑯琊台酒を用いた（図2）。

・細胞培養

t-PA 産生細胞として HeLaS3 細胞を用いた。イーグル MEM 培地に牛胎児血清（FBS）、イーグルアミノ酸培地、L-Glu、重炭酸ナトリウムを加えた培養液を用い、37°C、5%CO₂ 分圧下で 25cm²、または 75cm² の培養用フラスコで増殖、継代を行った。24 ウェルプレートでコンフルエント状態まで培養後、

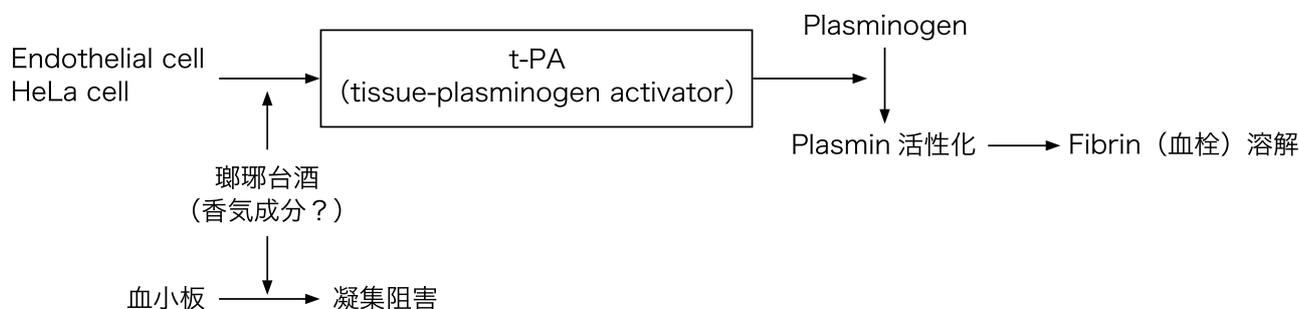


図1 t-PA 産生系および血小板凝集阻害能

¹ 連絡先：倉敷芸術科学大学 名誉教授
〒712-8505 岡山県倉敷市連島町西之浦 2640 番地
e-mail: yatagai@kusa.ac.jp

古い培養液を捨て FBS (-) 500 μ L で 2 回洗浄を行い新しい培養液 450 μ L, 試料 50 μ L を加え, 24 時間培養後に回収した培養液を 1st medium とした。細胞を FBS (-) 500 μ L で 2 回洗浄を行い新しい培養液 500 μ L を加えてさらに 24 時間の培養を行い, 回収した培養液を 2nd medium とした。



図 2 瑯琊台酒
青島瑯琊台集团股份有限公司

・フィブリン平板法

培養液中の血栓溶解活性を t-PA 産生量として測定した。0.5% フィブリンノーゲン溶液 (0.17M ホウ酸 - 生食緩衝液 :pH7.8) 20mL と 50U/mL のトロンビン 200 μ L を用いて平板を作製し, 培養液 10 μ L をのせ, 37 $^{\circ}$ C でインキュベーションし, 24 時間後に生じる溶解面積 (mm²) を測定した。

・血小板凝集阻害能

ヒト PRP190 μ L に酒の希釈液 (アルコール度数を 30 度, 40 度に調整) を 10 μ L 加え, 37 $^{\circ}$ C, 5m 分間プレインキュベーションした。次に, 凝集惹起物質として ADP22 μ L (終濃度 2.5 μ M) を加え, 37 $^{\circ}$ C, 5 分間, PPP の光透過率を 100% とした場合の血小板凝集率をアグリゴメーター (PAT-4A) で測定した。なお, control として中国酒と同濃度のエタノールを用いた。

結果

ヒト t-PA 産生細胞に対し直接試料 (4 ~ 64 倍希釈) を添加することにより, 著しい血栓 (フィブリン) 溶解反応が認められた。図 3 に示すように瑯琊台

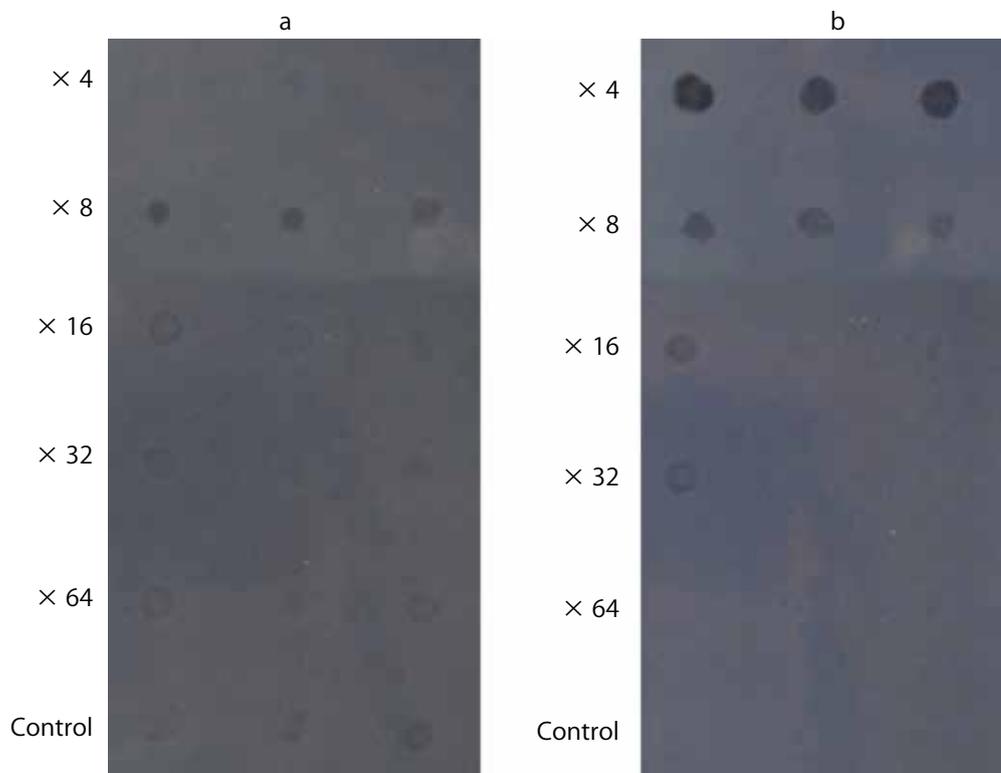


図 3 瑯琊台酒添加による t-PA 活性
a : 1st medium ; b:2nd medium
標準フィブリン平板である。各 10 μ L の試料を apply した (3 回測定)。

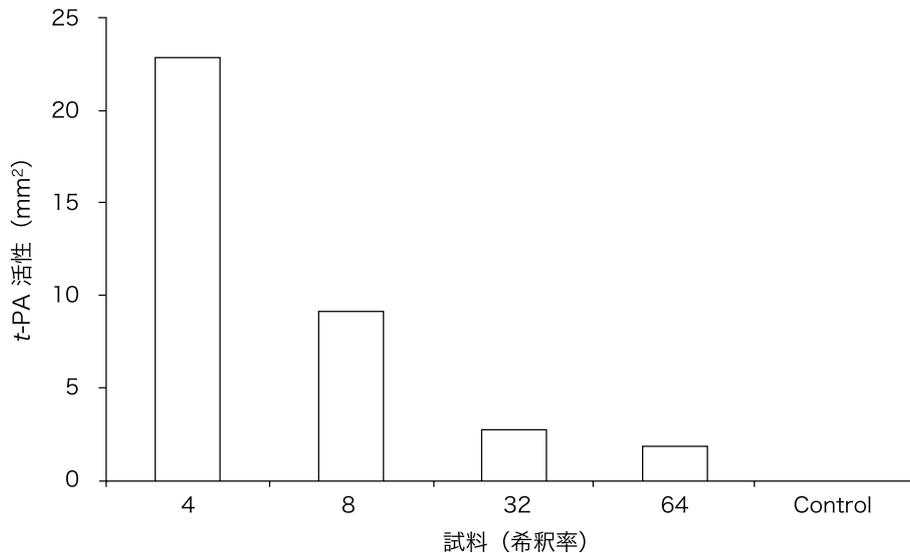


図4 瑯琊台酒による t-PA 産生 (2nd medium)
 t-PA 活性は 37°C, 24 時間後に生じた溶解面積 (mm²) で測定した。

酒は 2nd medium の 4 倍希釈において最も t-PA 活性が高かった。その t-PA 活性を示したものが図 4 である。

さらに、この酒には弱いながらも血小板凝集阻害効果が認められた (図 5)。血小板の凝集惹起物質として終濃度 2.5μM の ADP を用いた場合、control では阻害はほとんどみられなかったのに対し、中国酒は①、②、③と濃度 dependent に凝集阻害することが確認された。

考察

本実験において、瑯琊台酒が t-PA 産生にこれほどまで強い影響を及ぼすという意外な結果が得られた。また、これまで焼酎やワインなどで血小板凝集阻害が認められていたが^{4,5)}、中国酒では初めてのことと思われる。なお、同じ中国酒の茅台酒には血小板凝集阻害に関与する芳香成分やピラジン化合物などが含まれている^{6,7)}。中国酒の機能性効果に関しては、主原料となる高粱^{コウリヤン}や非常に多くの微生物が関わる中国酒の製法⁸⁾に寄与するところが大きいと考えられる。

飲酒は t-PA 放出^{2,9)} および血小板凝集阻害²⁾ の両者に働くこと、またこれまでの研究結果から焼酎や中国酒など、ある種の酒は血栓溶解、すなわち脳梗塞や心筋梗塞に対して予防的に働くものと考えられる (図 1)。

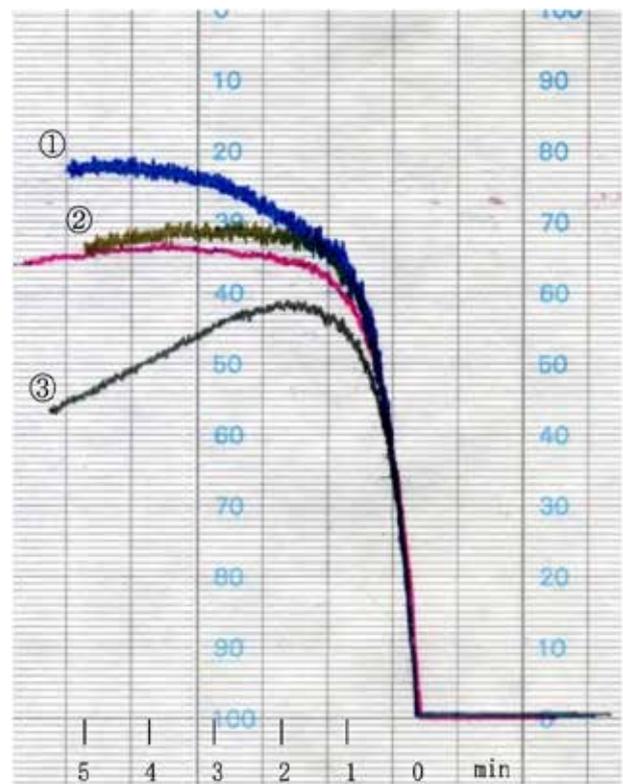


図5 血小板凝集阻害効果
 ① Control, ② 30度調整瑯琊台酒, ③ 40度調整瑯琊台酒
 ヒト血液中の PRP は ADP により凝集が起こるが、その反応を瑯琊台酒は阻害した。

飲むだけでなくその香りをかぐだけでも健康効果が発揮されるとすれば、単なる嗜好品を越えた全く新しいカテゴリーの市場が開けるものと期待している。

参考文献

1. 須見洋行: 飲酒について一特に血栓溶解効果について一, 洋酒技術研究会会報, **26**: 31, 2003.
2. 須見洋行: 本格焼酎一泡盛の機能性, 醸造協会誌, **96**: 513-517, 2001.
3. H. Sumi, H. Hamada, H. Tsushima and H. Mihara: Urokinase-like plasminogen activator increased in plasma after alcohol drinking. *Alcohol & Alcohol.*, **23**: 33-43, 1988.
4. 須見洋行, 内藤佐和, 矢田貝智恵子, 丸山真杉: 本格焼酎の初留分画にみられた抗血小板凝集活性, 日本アルコール薬物医学会誌, **46**: 297-301, 2011.
5. A. Umar, V. Guerin, M. Renard, M. Boisseau, C. Garreau, *et al.*: Effects of armagnac extracts on human platelet function *in vitro* and on rat arteriovenous shunt thrombosis *in vivo*, *Thromb. Res.*, **110**: 135-140, 2003.
6. S. Zhu, X. Lu, K. Ji, K. Guo, Y. Li, *et al.*: Characterization of flavor compounds in Chinese liquor Moutai by comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta.*, **597**: 340-348, 2007.
7. W. Fan, Y. Xu and Y. Zhang: Characterization of pyrazines in some Chinese liquors and their approximate concentrations, *J. Agric. Food Chem.*, **55**: 9956-9962, 2007.
8. 岡崎直人: アジアの伝統的酒類と麴, 温古知新, **48**: 1-11, 2011.
9. P. M. Ridker, D. E. Vaughan, M. J. Stampfer, R. J. Glynn and C. H. Hennekens: Association of moderate alcohol consumption and plasma concentration of endogenous tissue-type plasminogen activator, *JAMA*, **272**: 929-933, 1994.

チャーガ, コーヒー, ココア配合物における 抗糖尿病効果に関する研究

具 然和 (GU Yeunhwa)¹, 山下 剛範 (YAMASHITA Takenori)², 井上 登太 (INOUE Tota)³

Key Words: チャーガ, コーヒー, ココア, 抗糖尿病, 解毒作用

Anti- type 2 diabetic effect in *fuscoporia obliqua*, coffee and cocoa combinations.

Author: Yeunhwa Gu¹, Takenori Yamashita² and Tota Inoue³

Corresponding author: Yeunhwa Gu¹ email: gu.y@junshin-u.ac.jp

¹ Chairperson International Affairs Department of Radiological Science,
Graduate School of Health Science, Faculty of Health Science Junshin Gakuen University
1-1-1 Chikushigaoka, Minami-ku, Fukuoka 815-8510 Japan.

² Suzuka University of Medical Science

³ Mie breathing swallowing rehabilitation clinic

Key Words: Charga, Fuscoporia oblique, Cofee, Cocoa, Anti-diabetic effect, Detoxification

Abstract

A tendency to increase has a diabetic now. Danger of a complication becomes a problem as one of the lifestyle-related diseases greatly, too. Diabetes is divided into type one and type 2 model. Type one model deiabetic is caused by destruction of β cell of pancreas, and it occurs for the childhood period. Type 2 diabetes is caused by insulin secretion imperfection, insulin resistance to happen by a habit or a hereditary factor. Type 2 diabetes holds 95% of a diabetic in Japan. We studied an effect of quality of natural product for this type 2 diabetes this time. Treatment of diabetes includes medical therapy and insulin medical treatment mainly. There is a weak point that both have many a side effect and mental physical burdens to suddenly decrease blood sugar level. It is said that an antidiabetes effect is provided in few side effects for quality of natural product as for charga (*Fuscoporia Obliqua*). However, an effect is slow, and continuous drinking is expected. There can be the thing that a unique flavor obstacles of charga on it continues, and drinking it. For this reason, we observed whether the antidiabetic effect could be obtained by combining the luxury products that we drink on a daily basis.

The number of the lymphocytes. It was 12 weeks, and a meaningful difference was seen in a chaga + coffee treated group of BALB/c mice in comparison with control group. As for the lymphocyte measurement result of KK-Ay mice, increase of the number of the lymphocytes was seen in a chraga+ coffee treated group, charga+ cocoa treated groups in comparison with control group. A meaningful difference was recognized by a charga + coffee treated group in two weeks in particular, a chraga+ cocoa treated group in eight weeks.

The glucose level. We passed in each crowd to BALB/c mice, KK-Ay mice, and the big change was not seen in the blood glucose level of time. The insulin density. It was BALB/c mice, and an upward trend of the insulin density was seen in a charga + coffee treated group, charga + cocoa treated groups in comparison with control group. Each the crowd big change was not seen in KK-Ay mice. Therefore, it is thought that an antidiabetes effect and an immunity reinforcement effect are provided when they put a chaga and luxury goods (coffee, cocoa) together in this study.

具 然和 (Yeunhwa Gu) (責任著者)¹

¹ 純真学園大学保健医療学部放射線技術科学科 〒 815-8510 福岡県福岡市南区筑紫丘 1 丁目 1-1
TEL: 092-554-1255 e-mail: gu.y@junshin-u.ac.jp

² 鈴鹿医療科学大学大学院保健衛生学研究科 〒 510-0293 三重県鈴鹿市岸岡町 1001 番地 1

³ みえ呼吸嚥下リハビリクリニック 〒 519-0171 三重県亀山市アイリス町 14-7

要旨

現在糖尿病患者は増加傾向にある。また、合併症の危険も大きく、生活習慣病の一つとして問題になっている。糖尿病はⅠ型及びⅡ型に分けられ、Ⅰ型糖尿病は膵臓のβ細胞の破壊に起因し、幼少期に発生する事が多くある。Ⅱ型糖尿病は生活習慣や遺伝的素因などにより起こるインスリン分泌不全・インスリン抵抗性に起因している。日本では糖尿病患者の95%をⅡ型糖尿病が占めており、本はこのⅡ型糖尿病に対する天然物質の効果について研究を行った。糖尿病の治療には主に薬物療法やインスリン療法がある。どちらも血糖値を急激に低下させるために副作用や精神的・肉体的な負担が多いという欠点がある。チャーガ (*Fuscoporia Obliqua*) は天然物質のため少ない副作用で抗糖尿効果が得られると言われている。しかし効果は緩やかで、継続的な飲用が望まれる。継続飲用を行うにあたり、チャーガの独特な風味が障害になることがある。このため、日常的に飲用されている嗜好品と組み合わせた場合でもチャーガの抗糖尿効果が得られるか否かを検討した。

本研究では雄のBALB/cマウス, KK-Ayマウスを用いて, control群, FO + cocoa投与群, FO + coffee投与群に分類し, 体重変化, 血球細胞数, グルコース濃度およびインスリン濃度に対するチャーガと嗜好品であるコーヒー, ココアとの組み合わせによる抗糖尿効果について検討した。

白血球数については, BALB/cマウス, KK-Ayマウス共にcontrol群と比較してFO + coffee投与群, FO + cocoa投与群に白血球数の増加が見られた。KK-Ayマウスでは8週におけるFO + cocoa投与群に有意な差が認められた。リンパ球数については, BALB/cマウスのFO + coffee投与群に12週でcontrol群と比較して有意な差が見られた。KK-Ayマウスにおいては, control群と比較してFO + coffee投与群, FO + coffee投与群共にリンパ球数の増加が見られた。特に2週におけるFO + coffee投与群, 8週におけるFO + cocoa投与群に有意な差が認められた。

グルコース濃度については, BALB/cマウス, KK-Ayマウス共に各群において経時的な血中グルコース濃度に大きな変化は見られなかった。

インスリン濃度については, BALB/cマウスではcontrol群と比較してFO + coffee投与群, FO + cocoa投与群共にインスリン濃度の上昇が見られた。KK-Ayマウスには各群大きな変化は見られなかった。チャーガと嗜好品であるコーヒー, ココアを組み合わせた場合にも抗糖尿効果, 並びに免疫増強効果が得られると考えられる。

1. はじめに

令和2年(2020)糖尿病の患者数は, 約1,000万人で有り, 年間医療費は, 1兆2,239億円に昇る。年間死亡数は, 1万3,969人である。男性の割合は男性19.7%, 女性10.8%であり, 年々増加傾向にある。また, 網膜症, 腎症, 神経障害などといった糖尿病の三大合併症の他に, 糖尿病による動脈硬化が狭心症や心筋梗塞の原因になり, これらを含む心疾患は死亡原因の2位を占めている。また, 動脈硬化は脳梗塞や脳内出血などの脳血管障害を誘発させる原因ともなり, 脳血管疾患による死亡原因の3位を占める。糖尿病はこれらの合併症の危険も大きく, 生活習慣病の一つとして問題になっている¹⁻³⁾。

糖尿病はⅠ型及びⅡ型に分けられる。Ⅰ型糖尿病は膵臓のβ細胞の破壊に起因し, 幼少期に発生する事が多くある。Ⅱ型糖尿病はエネルギー過剰摂取, 運動不足, ストレスなどの生活習慣や遺伝的素因などにより起こるインスリン分泌不全・インスリン抵抗性に起因している¹⁻³⁾。日本では糖尿病患者の95%をⅡ型糖尿病が占めており, 本はこのⅡ型糖尿病に対する天然物質の効果について研究した。

糖尿病の治療法に現在根治的な方法は確立してお

らず, 糖尿病による合併症の危険性を回避するために, 血糖値を低下させるための方法がとられている。糖尿病の治療には, 運動療法や食事療法が基本となり, 重症の場合には経口血糖降下薬を用いる内服療法と, インスリンを注射で補充するインスリン療法の薬物療法が行われる。運動療法や食事療法の効果は個人の判断や意志に委ねられており, 確実な効果に結びつき難い。また, これらを効果的に行うためには日常生活に支障が出る事も多く, 患者の負担も大きい。薬物療法やインスリン療法はどちらも血糖値を急激に低下させるために, 低血糖症によるショックなどの重篤な副作用や, 前後の運動の規制が多く, 精神的・肉体的な負担が大きいという欠点や, 合併症の治療薬との多剤併用が困難になる場合がある。また, 生活上の規制が, 社会的な活動に影響する事も多々ある²⁻⁴⁾。

チャーガは天然物質のため少ない副作用で抗糖尿効果が得られることが先行研究で報告されている⁵⁻⁶⁾。副作用が少ないことで, チャーガを飲用した場合にも日常生活に支障が出る事はほとんどないと考えられる。しかし効果は緩やかなため, 継続的な飲用が望まれる⁵⁾。継続飲用を行うにあたり,

チャーガの独特な風味が障害になることがある⁵⁾。この独特な風味を減少させることでチャーガの継続的飲用を可能にしたいと考える。

そこで、本研究では日常的に飲用されている嗜好品であるコーヒーおよびココアと組み合わせた場合でもチャーガの持つ抗糖尿効果が得られるか否かを検討した。

1. 研究方法

1-1. 研究材料

チャーガは学名 *Fuscoporia obliqua* (以下、FO と表記) と言う。和名ではカバノアナタケである。植物分類学的にタバコウロコタケ科 (*Hymenochaetaceae*) に属す^{5,6)}。

チャーガは白樺に着床してその樹液を吸って成長する天然のキノコで、シベリアを中心とした広大なタイガ地域の木森林地帯で自生する。チャーガは、白樺に菌が侵入して寄生するキノコで、白樺2万本中に1本発見されるかという極めて貴重なものである。チャーガの菌核は径10～20センチメートルで、表面には亀裂が走り、一見したところ石炭のようで黒く硬く、切面は黄褐色で、味はやや苦い^{5,6)}。

有効成分はβ-(1-3)-Dグルカン、リグニン、ポリフェノールなどで、効能は抗酸化作用、抗癌作用、血糖値降下作用などが先行研究で報告されている⁵⁾。

チャーガは、ロシア、シベリア、ポーランドで民間薬として知られ、昔からさまざまな疾患や糖尿病の治療に用いられている^{5,6)}。その煎じ液は、血糖値を20%程度下げる作用があり、最大で、摂取後1.5～3時間の間に糖のレベルが15.8～29.9%減少

したと報告されている。血糖値を下げるこの作用はチャーガの内側を煎じた液によるもので外側のエキスにはこの特性のないことが確認されている⁵⁾。

チャーガの菌核チャーガおよび菌糸体から多糖類を抽出・分画し、正常マウスに注射したところ、血糖値を降下させる効果が認められた。注射後3時間で効果が現れ、48時間後まで効果が持続したという研究発表が行われている⁵⁾。

1-2. 実験動物および飼育条件

日本クレア(株)よりBALB/cマウスおよびKK-Ayマウスの雄、5週齢を購入し、本研究の飼育条件に適應させるために1週間の予備飼育を行った。実験環境は室温24±1°C、湿度60～65%の下の12時間の明暗サイクルとした。また、飼料(CE-2)及び上水道を自由摂取とした。

BALB/cマウス、KK-Ayマウスそれぞれcontrol群、FO+cocoa投与群、FO+coffee投与群に分類し各群8匹とした。

1-3. 投与方法

一週間の予備飼育の後、実験終了まで毎日胃ゾンデを用いた経口投与を行った。FO+cocoa投与群、FO+coffee投与群共に濃度500mg/kg/day、混合比はそれぞれ1:1で行った。control群には同量の蒸留水を投与した。

1-4. 測定機器

- ・キュピタリー遠心分離機
- ・分光光度計UV-1200(島津)

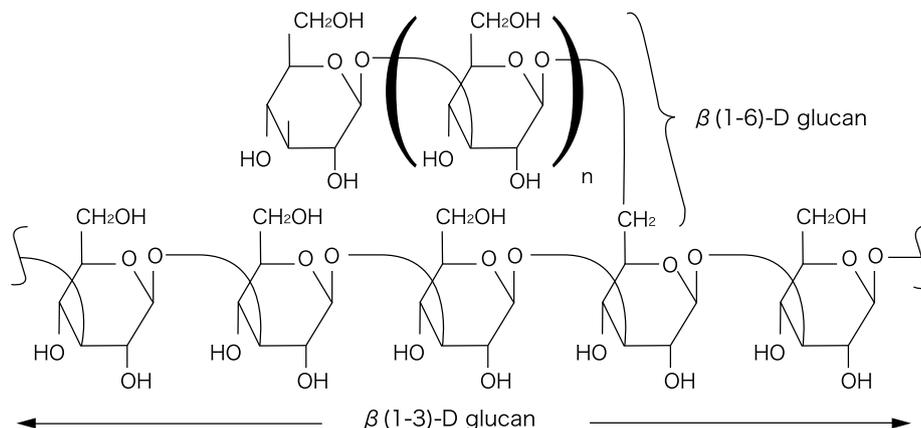


Fig.1. β-(1,3)-D グルカン, β-(1,6)-D グルカンの化学構造

1-5. 測定方法

(1) 体重測定

マウス一匹ずつの体重を4日おきに測定、各群の平均値を算出した。

(2) 血球測定

固定したマウスの尾静脈からスピッツメスを用い、キュピラリーチューブにて10 μ Lの採血を行った。自動血球測定器にて測定した。測定項目は白血球数、リンパ球数とし、経時的な変化を観察するために4週間ごとに測定を行った。

(3) グルコース濃度測定方法

グルコース濃度測定にグルコースC II - テストワコー (和光純薬工業 (株)) を用いた。溶液中のD-グルコースは α -D-グルコース63.5%の割合で平衡を保っている⁷⁾。そのため、グルコースオキシターゼは β -D-グルコースにのみ特異的に作用し、 α 型には作用しない。すなわち β -D-グルコースが消費されてはじめて α -D-グルコースの β 型への転移が起こる。したがって α -D-グルコースを β 型に転移させるムタロターゼを併用して反応を短縮させる測定法がより正確な方法であると報告されている⁸⁾。本法はこの方法を用いた。

試薬に発色試薬を作用させると、試薬中のグルコースは発色試薬に含まれるムタロターゼの作用により α 型から β 型へ速やかに変換する。 β -D-グルコースはグルコースオキシターゼの作用を受けて酸化され、同時に過酸化水素を生じる。生成した過酸化水素は、共存するペルオキシターゼの作用により発色試薬中のフェノールと4-アミノアンチピリン

とを定量的に酸化縮合させ、赤色の色素を生成させる。この赤色の吸光度を測定することにより試料中のグルコース濃度を求めた⁹⁾。

固定したマウスの片目の眼底からヘマトクリット毛細管を用いて75 μ Lの採血を行い、遠心分離機で血清を分離した。得られた血清0.02mLに発色試薬3.0mLを加え、37 $^{\circ}$ Cで5分間加温し、分光光度計を用い波長505nmで測定した。経時的な変化を観察するために2週間ごとに測定を行った。

(4) インスリン濃度測定方法

インスリン濃度測定はグラザイム Insulin-EIA TEST (和光純薬工業 (株)) を用いた。本法はガラスビーズを固相としたワンステップ・サンドイッチ酵素免疫測定法に基づく。ガラスビーズに抗インスリン抗体を結合させた抗体ビーズおよび酵素 (ペルオキシターゼ) を標識した抗インスリン抗体と試料中のインスリンを反応させると、「抗インスリン抗体 (ビーズ) - インスリン - 酵素標識インスリン抗体」のサンドイッチ状の複合体が形成される。抗体ビーズに結合した酵素の量は試料中のインスリン量に比例するので、その酵素活性の発色試薬 (O-フェニレンジアミンとH₂O₂) を用いて測定することにより、あらかじめ含有既知の標準液を用いて作成した検量線から検体中のインスリン量を求めることができる。

エーテルで麻酔下のマウスの心臓より採血を行った。得られた血液を10分、1000rpmで遠心分離を行い、血清を分離した。得られた血清100 μ Lに酵素標識抗体液を500 μ L加え、抗体ビーズを加えた。

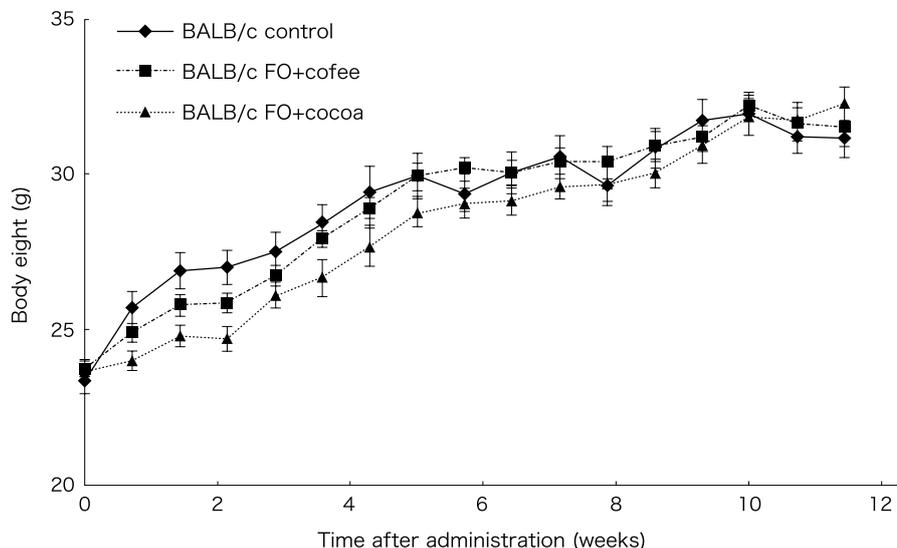


Fig.2. This graph showed a change of BALB/c mice body weight (g). Each line represents the mean value S.E.

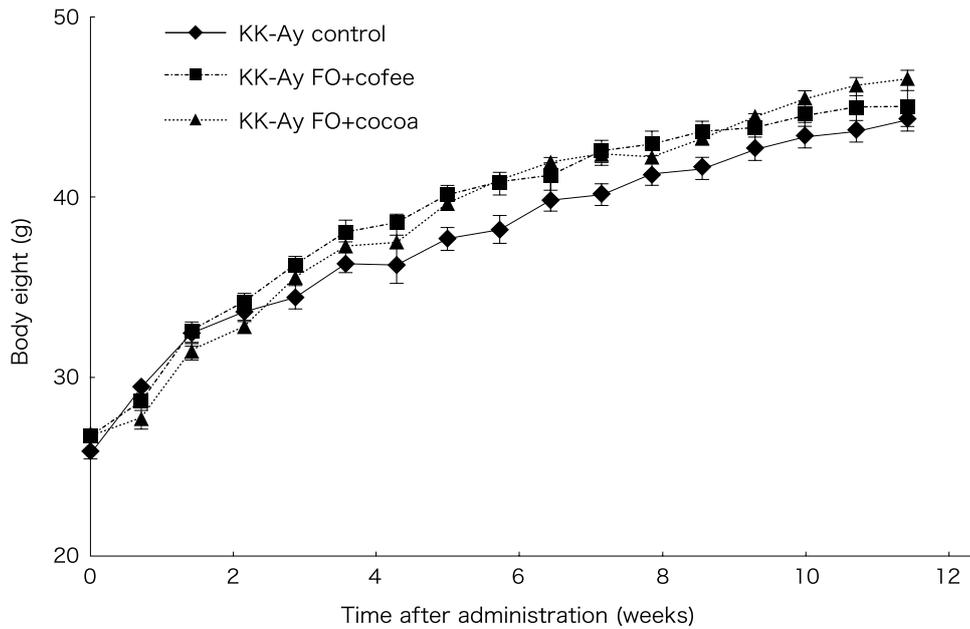


Fig.3. This graph showed a change of KK-Ay mice body weight (g). Each line represents the mean value S.E.

37°Cで30分加温し、3回洗浄した。抗体ビーズを新しい試験管に移し、気質発色液 1.5mL を加え、よく混和し室温に5分間放置後、吸光度を分光光度計 492nm にて測定した。

2. 研究結果

2-1. 体重測定結果

BALB/c マウスの体重測定結果を Fig.2 に、KK-Ay の体重測定結果を Fig.3 に示す。縦軸に体重、横軸に経過時間をとった。

経時的な体重増加にて、control 群と比較して FO+coffee 投与群、FO+cocoa 投与群に体重の大きな増減は見られなかった。

2-2. 血球測定結果

(1) 白血球数測定結果

測定した結果を BALB/c マウスについては Table 1 および Fig.4 に、KK-Ay マウスについては Table 2 および Fig.5 に示し、縦軸に白血球数、横軸に経過時間をとった。

Table 1. The number of leukocytes in BALB/c mice. Data represents the mean value S.E ($\times 10^2/\mu\text{L}$). Analyzed by Dunnett-test ($n=8$).

Group	Time	0w	4w	8w	12w
Control	average	140.8	169.7	206.5	121.8
	S.E.	5.9	7.7	19.9	8.2
FO+coffee	average	140.8	101.7	190.1	152.0
	S.E.	5.9	8.8	12.3	10.0
FO+cocoa	average	140.8	111.4	243.9	151.1
	S.E.	5.9	7.9	11.3	7.0

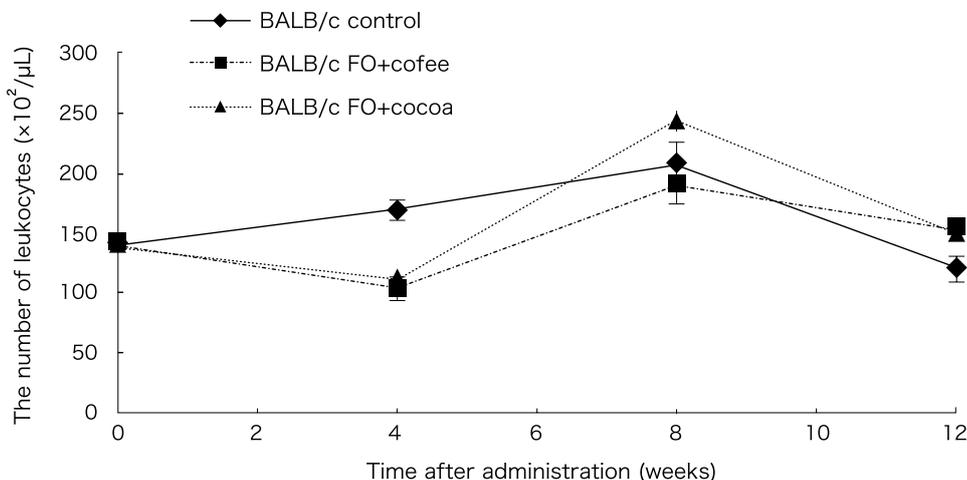


Fig.4. This graph showed a change in number of leukocyte in the blood taken from the vein of BALB/c mice. Each line represents the mean value S.E. Analyzed by Dunnett-test ($n=8$).

Table 2. The number of leukocytes in BALB/c mice. Data represents the mean value S.E($\times 10^2/\mu\text{L}$). Analyzed by Dunnett-test($n=8$). * $P<0.01$

Group	Time	0w	4w	8w	12w
Control	average	115.6	163.8	111.4	181.2
	S.E.	8.5	12.8	10.0	19.9
FO+coffee	average	115.6	143.7	129.0	194.3
	S.E.	8.5	13.9	16.3	46.1
FO+cocoa	average	115.6	173.3	191.0**	210.9
	S.E.	8.5	19.3	11.3	13.5

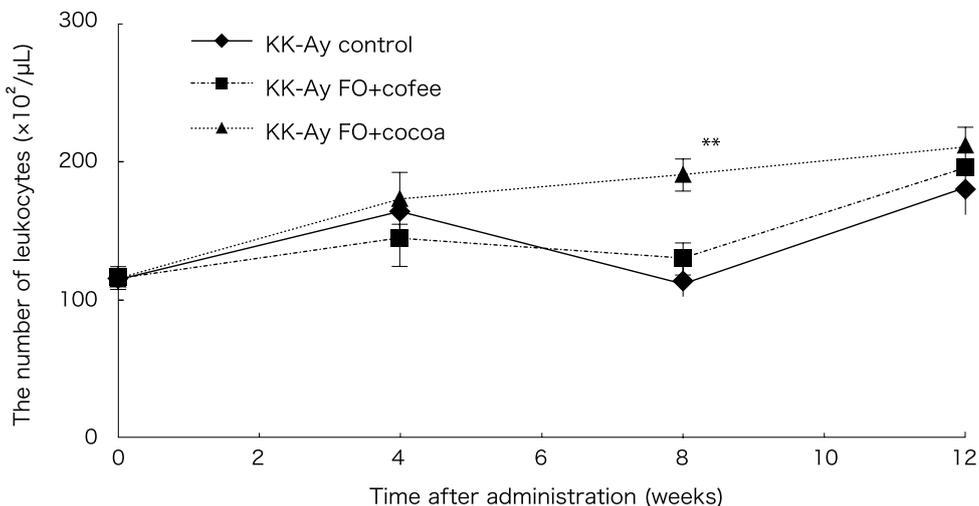


Fig.5. This graph showed a change in number of leukocyte in the blood taken from the vein of KK-Ay mice. Each line represents the mean value S.E. Analyzed by Dunnett-test ($n=8$). ** $P<0.01$

Table 3. The number of lymphocytes in BALB/c mice. Data represents the mean value S.E($\times 10^2/\mu\text{L}$). Analyzed by Dunnett-test ($n=8$). * $P<0.05$

Group	Time	0w	4w	8w	12w
Control	average	79.4	87.1	45.8	82.2
	S.E.	7.4	8.8	4.4	5.9
FO+coffee	average	79.4	63.3	74.3	89.2
	S.E.	7.4	6.4	8.4	15.6
FO+cocoa	average	79.4	85.2	88.5*	109.4
	S.E.	7.4	8.2	9.8	9.6

白血球数は BALB/c マウス, KK-Ay マウス共に 8 週以降に control 群と比較して FO+coffee 投与群, FO+cocoa 投与群に白血球数の増加が見られた。KK-Ay マウスでは 8 週における FO+cocoa 投与群に有意な白血球の低下抑制が認められた。

(2) リンパ球測定結果

測定した結果を BALB/c マウスについて

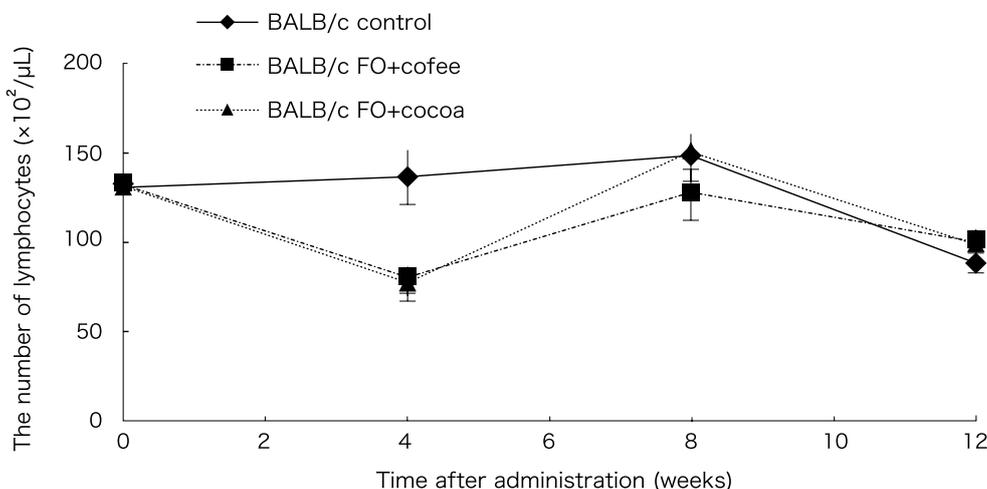


Fig.6. This graph showed a change in number of lymphocytes in the blood taken from the vein of BALB/c mice. Each line represents the mean value S.E. Analyzed by Dunnett-test ($n=8$). * $P<0.05$

Table 4. The number of lymphocytes in KK-Ay mice. Data represents the mean value S.E ($\times 10^2/\mu\text{L}$). Analyzed by Dunnett-test ($n=8$). * $P<0.05$

Group	Time	2w	4w	6w	8w	10w	12w
Control	average	221.0	135.3	230.7	263.2	303.1	270.7
	S.E.	21.7	5.6	30.6	39.6	31.6	29.7
FO+coffee	average	283.1	246.6	206.6	321.4	285.6	379.9
	S.E.	9.8	14.9	26.4	46.7	28.3	56.7
FO+cocoa	average	279.2	261.9	219.2	318.3	354.6	439.0
	S.E.	32.7	26.2	13.4	23.2	19.7	57.0

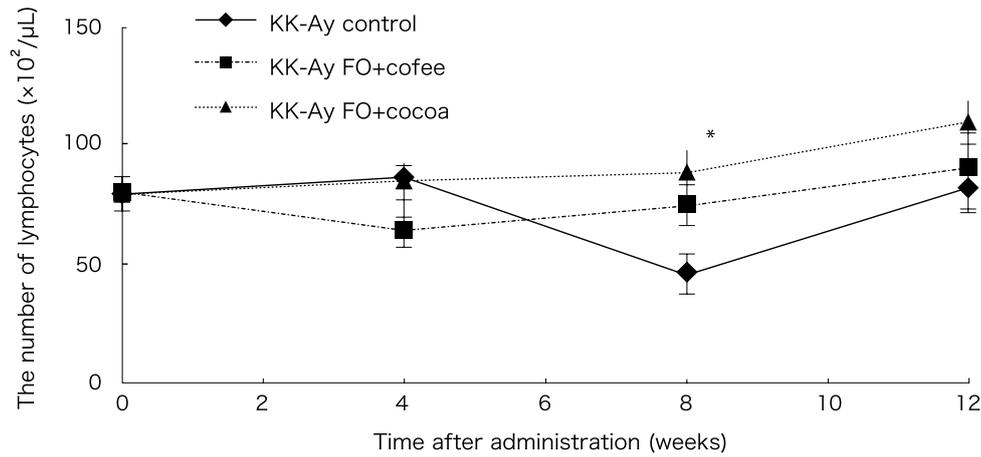


Fig.7. This graph showed a change in number of lymphocytes in the blood taken from the vein of KK-Ay mice. Each line represents the mean value S.E. Analyzed by Dunnett-test ($n=8$). * $P<0.05$

Table 5. The blood glucose density in BALB/c mice. Data represents the mean value S.E (mg/dL). Analyzed by Dunnett-test ($n=8$).

Group	Time	2w	4w	6w	8w	10w	12w
Control	average	109.4	269.1	120.8	127.5	113.5	147.2
	S.E.	3.6	17.4	3.1	5.9	3.0	8.5
FO+coffee	average	147.5	132.8	137.0	129.3	142.2	145.7
	S.E.	9.1	6.7	7.5	4.7	9.0	6.7
FO+cocoa	average	134.8	130.8	125.5	127.2	126.6	136.5
	S.E.	5.8	6.8	7.1	7.8	6.7	3.6

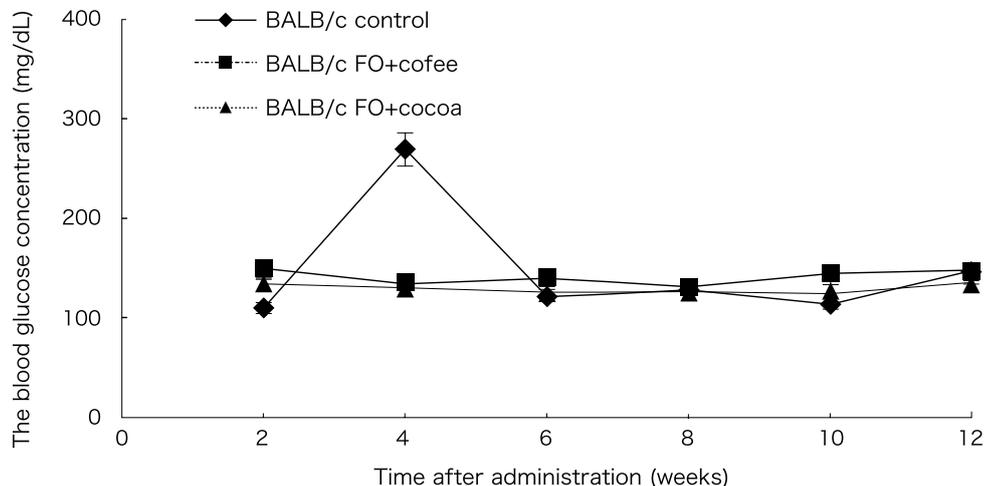


Fig.8. This graph showed a change of the glucose density in BALB/c mice. Each line represents the mean value S.E. Analyzed by Dunnett-test ($n=8$).

Table 6. The blood glucose density in KK-Ay mice. Data represents the mean value S.E (mg/dL). Analyzed by Dunnett-test (n=8).

Group	Time	2w	4w	6w	8w	10w	12w
Control	average	221.0	135.3	230.7	263.2	303.1	270.7
	S.E.	21.7	5.6	30.6	39.6	31.6	29.7
FO+coffee	average	283.1	246.6	206.6	321.4	285.6	379.9
	S.E.	9.8	14.9	26.4	46.7	28.3	56.7
FO+cocoa	average	279.2	261.9	219.2	318.3	354.6	439.0
	S.E.	32.7	26.2	13.4	23.2	19.7	57.0

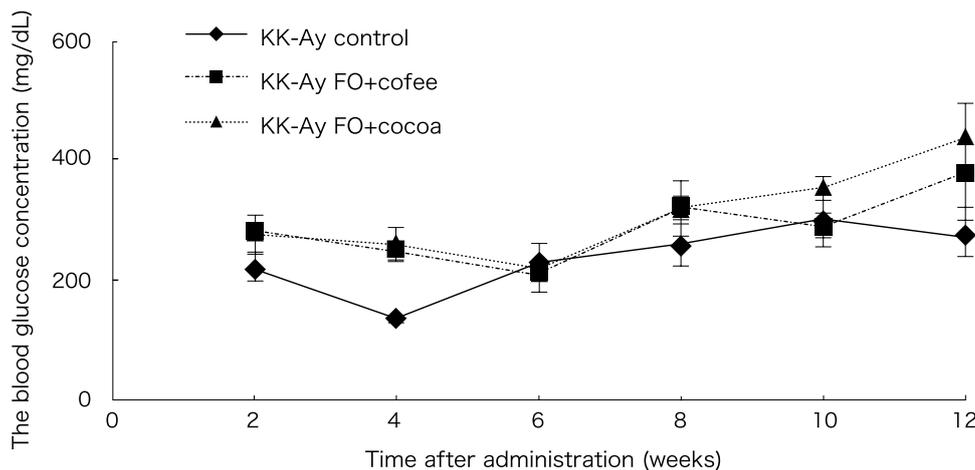


Fig.9. This graph showed a change of the glucose density in KK-Ay mice. Each line represents the mean value S.E. Analyzed by Dunnett-test(n=8).

ては Table 3 および Fig.6, KK-Ay マウスについては Table 4 および Fig.7 に示し、縦軸にリンパ球数、横軸に経過時間をとった。

BALB/c マウスでは、control 群と比較して FO+coffee 投与群に 12 週で有意なリンパ球数の増加が見られた。また、KK-Ay マウスでは、control 群と比較して FO+coffee 投与群、FO+cocoa 投与群共に 8 週以降のリンパ球数の増加が見られた。特に 8 週における FO+cocoa 投与群に有意なリンパ球数の増加が見られた。

Table 7. The blood insulin density in BALB/c mice. Data represents the mean value S.E (mg/dL). Analyzed by Dunnett-test (n=8).

Group	Time	12w
Control	average	12.1
	S.E.	3.4
FO+coffee	average	28.3
	S.E.	9.2
FO+cocoa	average	18.8
	S.E.	2.7

2-3. グルコース濃度測定結果

測定した結果を BALB/c マウスについては Table 5 および Fig.8 に、KK-Ay マウスについては Table 6 および Fig.9 に示し、縦軸にグルコース濃度、横軸に経過時間をとった。

BALB/c マウスでは、経時的な血中グルコース濃度に変化は見られなかった。また、KK-Ay マウスでは、2～6 週において FO+coffee 投与群、FO+cocoa 投与群共に血中グルコース濃度の低下傾向が見られた。

Table 8. The blood insulin density in KK-Ay mice. Data represents the mean value S.E (mg/dL). Analyzed by Dunnett-test (n=8).

Group	Time	12w
Control	average	240.8
	S.E.	28.0
FO+coffee	average	222.5
	S.E.	12.1
FO+cocoa	average	239.9
	S.E.	17.7

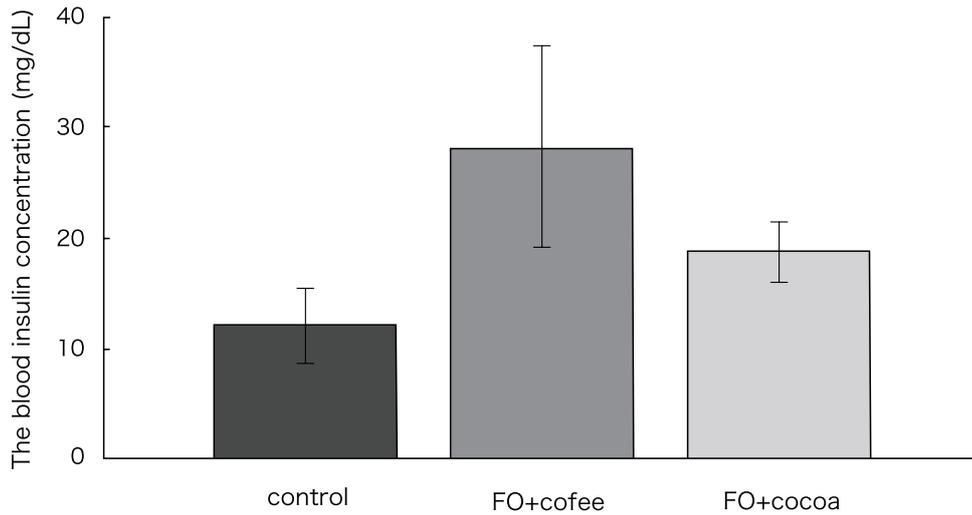


Fig.10. This graph showed the insulin density in BALB/c mice. Each line represents the mean value S.E. Analyzed by Dunnett-test ($n=8$).

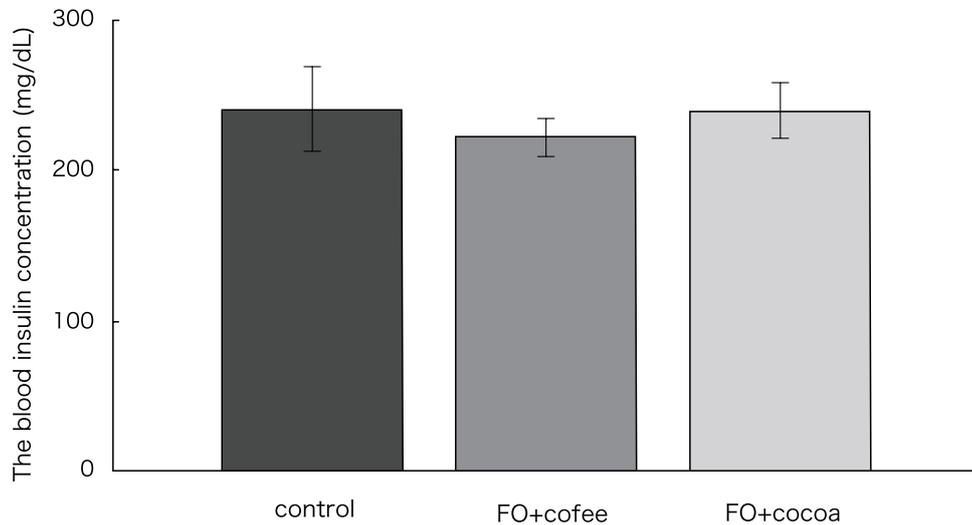


Fig.11. This graph showed the insulin density in KK-Ay mice. Each line represents the mean value S.E. Analyzed by Dunnett-test($n=8$).

3-4. インスリン濃度測定結果

投与開始後 12 週後に心臓採血によって得られた血清からインスリン濃度を測定した。測定した結果を、BALB/c マウスについては Table 7 および Fig.10 に、KK-Ay マウスについては Table 8 および Fig.11 に示す。

BALB/c マウスでは、control 群と比較して FO+coffee 投与群、FO+cocoa 投与群共にインスリン濃度の上昇が見られた。特に FO+coffee 投与群は大きくインスリン増加の傾向が見られた。

KK-Ay マウスでは、control 群と比較して FO+coffee 投与群、FO+cocoa 投与群共にインスリン濃度に変化は見られなかった。

3. 考察

3-1. 体重に対する影響

本研究において、control 群と比較して FO+coffee 投与群、FO+cocoa 投与群共にマウスの体重の増加に目立った増減は無かった。このことからチャージが嗜好品であるコーヒーやココアと組み合わせた場合にも毒性がなく、安全に摂取出来ると考えられる。

3-2. 血球数に対する影響

本研究において control 群と比較して FO+coffee 投与群、FO+cocoa 投与群共に白血球数の増加が見られた。また、control 群と比較して FO+coffee 投与群、FO+cocoa 投与群共にリンパ球数の増加が見られた。このことから、白血球中のリンパ球の増加が

見られたと考えられる。これはチャーガにおける免疫増強効果によるものと考えられる。よってチャーガによる免疫増強効果もまた、嗜好品と組み合わせた場合にも得られると思われる。

3-3. 血中グルコース濃度に対する影響

本研究において control 群と比較して FO+coffee 投与群, FO+cocoa 投与群共に血中グルコース濃度の変化に大きな増減は見られなかった。

3-4. 血中インスリン濃度に対する影響

BALB/c マウスにおいて, control 群と比較して FO+coffee 投与群, FO+cocoa 投与群共にインスリン濃度の増加傾向が見られた。

チャーガの有効成分である β -(1-3)-D グルカン強い抗酸化作用を持ち, 活性酸素を除去する⁹⁾。活性酸素は多量の場合, 身体に様々な悪影響を与えるが, その中にインスリン等のホルモン分泌を阻害する作用も持つ¹⁰⁾。よって抗酸化効果によってホルモン分泌機能が正常になり, インスリン分泌が向上され, 血糖値が低下すると考えられる^{1,10,11)}。

本グルコース濃度の低下は見られなかったが, インスリン濃度の増加傾向が見られたことからチャーガの長期的な継続飲用によって, インスリンの作用が促進され, グルコース濃度が低下する事が予測される^{1,2)}。

また, β -(1-3)-D グルカンにはインスリンと結合

し, インスリンの作用を伝達する蛋白質であるインスリン受容体の作用を整える働きがある。インスリン受容体にインスリンが結合すると, IRS 蛋白がリン酸化されて PI3- キナーゼとのカップリングが起こり, 糖の輸送担体である GLUT4 が細胞膜表面に移行して糖が取り込まれると考えられている。このためインスリン受容体が正常化することでインスリンの効果が正常に働く^{1,2)}。

β -(1-3)-D グルカンの他にチャーガにはリグニン等の食物繊維が豊富に含まれている。これらの食物繊維はブドウ糖が吸収されるのを防ぎ, 肥満を改善することによってインスリン抵抗性の減弱も期待される⁵⁾。

4. 結論

本研究により, チャーガはコーヒー, ココアといった嗜好品と組み合わせた場合にもチャーガの抗糖尿効果は得られると考えられる。また, チャーガの持つ免疫増強効果もまた, 嗜好品と組み合わせた場合にも得られるものと考えられる。

チャーガには, 即効性はなく穏やかな効果が得られるために, 現在糖尿病治療の主流になっている薬物療法に比べ少ない副作用で抗糖尿効果が得られる。このため, 継続的な長期的摂取が望まれ, 嗜好品と組み合わせる事で困難であった継続飲用が可能になることが示唆された。

参考文献

1. 前中俊宏, 余川丈夫, 石原則幸, 具 然和, ジュネジャ・レカ・ラジュ: 糖質負荷後の血糖値上昇および糖質分解酵素に及ぼすグアーガム分解物の作用, 機能性食品と薬理栄養, **4**(3): 195-201, 2007.
2. Yeunhwa Gu, Yuka Itokawa, Yasuyuki Tatagi, Toshihiro Maenaka, akenori Yamashita, Masami Oshima, Takeo Hasegawa, Ikukatsu Suzuki, Masahiro Iwasa, Hroyuki Iwasa, Kazumasa Kobayashi, and Torao Ishida: Antihyperlipidemic Effect of *Enterococcus Faecalis* 2001 (EF 2001). *Med. Bio.*, **151**(10): 319-323, 2007.
3. 長谷川武夫, 具 然和, 前田佳子, 福山篤司, 天野守計, 安藤聡志, 宮田勝行, 暮木実智弘, 小林龍徳, 安田俊文, 高橋 徹, 小森幹生: 混合茶(甘減茶)投与マウスにおける生理活性に関する研究. *Med. Bio.*, **149**(4): 61-74, 2005.
4. Yeunhwa Gu, Takashi Nakamura, Takenori Yamashita, Yasuyuki Takagi, Masami Oshima: Anti-glycosuric effect of *Gymnema sylvestre*. *Med. Bio.*, **148**(6): 38-42, 2004.
5. Maenaka T, Oshima M, Itokawa Y, Masubuchi T, Takagi Y, Choi JS, Ishida T, Gu Y: Effects of *Fuscoporia obliqua* on postprandial glucose excursion and endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients. *J. Tradi. Chi. Med.*, **28**(1): 49-57, 2008.
6. YeunHwa GU: Antidiabetic Effects and Antioxidant Effect of Hydrogen Water in KK-Ay Diabetic Mice. *Med. Bio.*, **153**(6): 210-217, 2009.
7. Tomiyasu Koyama, YeunHwa Gu, Akira Taka. Fungal medicine, *Fuscoporia obliqua*, as a traditional herbal medicine: its bioactivities, *in vivo* testing and medicinal effects. *Asian Biomedicine*. **2**(6): 459-469, 2008.
8. Satoshi Takagi, Toshihiro Miura, Chinami Ishibashi, Takanori Kawata, Eriko Ishihara, Yeunhwa Gu and Torao Ishida: Effect of corosolic acid on hydrolysis of disaccharides. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **54**: 266-268, 2008.
9. Gu YH, Yamashita T, Oshima M, Takagi Y. Immunological enhancement effect in PASSION FRUIT (MARACUJYA). *Med Bio.* **148**(1): 20-25. 2004.
10. Gu YH, Itokawa Y, Maenaka T, Yamashita T, Oshima M, Nakamura T, Young-nam Kang, Takeo Hasegawa, Ikukatsu Suzuki, Insuk Choi, Tano Kaori, Torao Ishida: The Blood Estradiol-17 β , Testosterone and Progesterone of Male and Female Mice Change by *Lepidium meyenii* Walp (MAX-180) and *Muiria Puama*. *Med Bio.* **150**(4): 159-168. 2006.
11. Gu YH, Yamashita T, Oshima M, Takagi Y: The blood estradiol-17 β , Testosterone and progesterone of male and female mice change by *Lepidium meyenii* Walp (MAX-180). *Med Bio.* **148**(1): 14-73. 2004.

グルテン – 沈殿要因–1

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)^{1,2} 吉野 精一 (YOSHINO Seiichi)³

Key Words: セリアック病, グルテン, グルテンフリー

本論文「グルテン–沈殿要因–1」は“Celiac Disease and Gluten” (by Herbert Wieser, Peter Koehler and Katharina Konitzer) 2014 の第 2 章 Gluten- The Precipitating Factor の一部を紹介するものである。

1. シリアル概要

穀物は世界中で最も重要な主食である。主な穀物は小麦、トウモロコシ、米、大麦、モロコシ、ヒエ、オートムギ、ライムギである。世界の耕作地のほぼ 60% で栽培されている。トウモロコシ、米、小麦は穀物の栽培地域の大部分を占め、量は最も多くなる (2012 年にはそれぞれ 875, 718, 675 百万トン¹⁾)。食品および動物飼料の生産に使用される。穀類は、穀粒と呼ばれる乾燥した一種子の実で穎果の形で生産され、果皮は種皮に強く結合している。穀物のサイズと重量は、かなり大きなトウモロコシ粒から小さなヒエ粒まで大きく異なる。穀物の構造はかなり均一で：果皮と種皮（ふすま）は胚と胚乳を囲み、

後者はデンプン質の胚乳とアリューロン層で構成されている (図 2.1)。オートムギ、大麦、米、および一部の小麦種 (例：スペルト、エマー、インコーン) では、一般的な小麦やライ麦などの「裸の」穀物のように、穀は果皮と融合し、脱穀だけでは簡単に除去できない。

植物学的には、穀物は単子葉植物イネ科 (草科) に属する草である。コムギ (*Triticum*)、ライムギ (*Secale*)、およびオオムギ (*Hordeum*) は、*Pooideae* (イネ科) の亜科および *Triticeae* (小麦連) の族と密接に関連するメンバーである (図 2.2)²⁾。エンバク (*Avena*) は亜科 *Pooideae* 内の *Triticeae* に比べて遠く、イネ (*Oryza*)、トウモロコシ (*Zea*)、ソルガム (*Sorghum*)、およびヒエ (*Pennisetum*) は別々の進化系統を示す。栽培小麦は、5 種から構成される；六倍体 (ゲノム AABBDD) 普通小麦 (*Triticum aestivum* L.) およびスペルト小麦 (*Triticum spelta* L.); 四倍体 (ゲノム AABB) デュラム小麦 (*Triticum durum* Desf.) およびエマー (*Triticum dicoccon* (Schrank) Schübler), および二倍体 (ゲノム AA) *einkorn* (*Triticum monococcum* L.) である。パン小麦とも呼ばれる普通の小麦は、約 1 万年前に *Triticum turgidum* (ゲノム AABB) と *Aegilops tauschii* (ゲノム DD) の自発的な交配によってできた。

Triticale は、デュラム小麦とライムギの人工ハイブリッド (ゲノム AABBRR) である。まれに使用

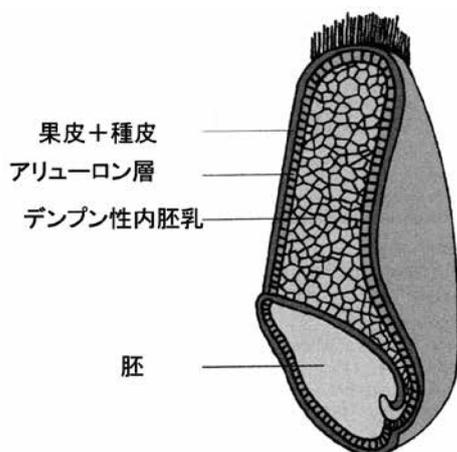


図 2.1 小麦粒の切断面図, 主部分: デンプン性内胚乳, アリューロン層, ふすま (果皮+種皮), 胚

¹ 神戸女子大学, ² 日本穀物科学研究会前会長, ³ 辻調理専門学校

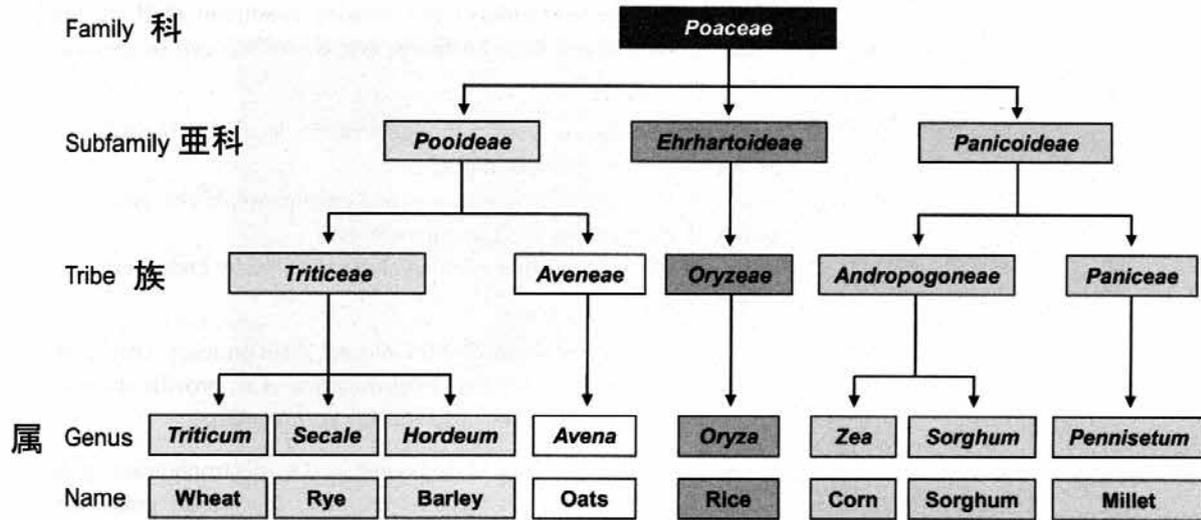


図 2.2 単子葉植物イネ科に属する穀物の系統

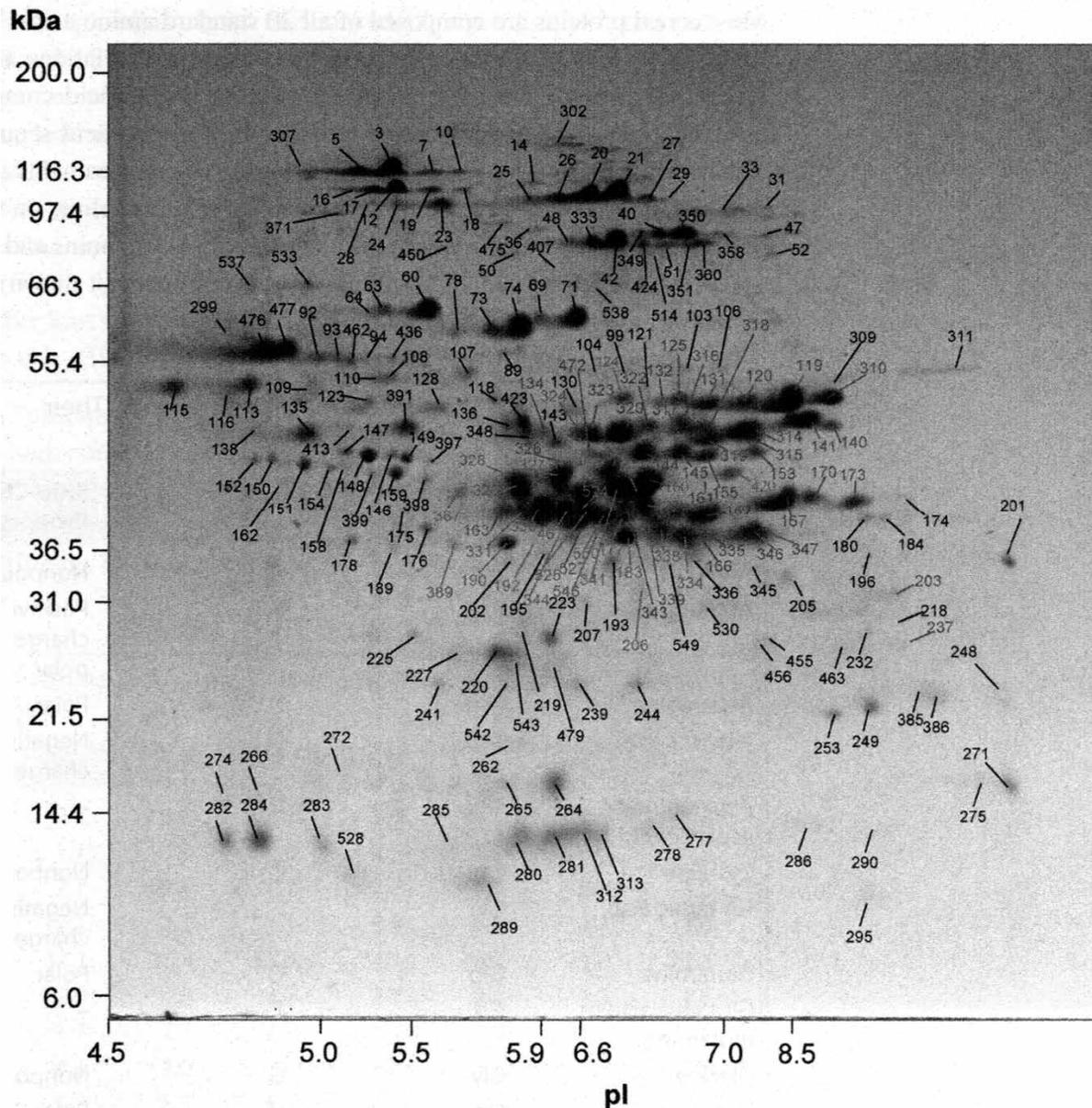


図 2.3 小麦粉タンパク質の 2 次元電気泳動 Dupont *et al.*, (4)

されるシリアルは、カムット[®]、テフ、ラギ、およびジョブズティアーズである。各穀物種の中には、農業、技術、および栄養の最適化のために育種によって生産された多くの品種が存在する。穀物の化学組成は、多糖類の形の炭水化物の含有量が高いことを特徴としている³⁾。栄養的に利用可能な炭水化物の中で、胚乳に沈着したデンプンが優勢である(56~74%)。主にふすまにある利用できない繊維(アラビノキシラン、 β -グルカン、セルロースなど)は、2%から13%の範囲である。成分の2番目に重要なグループはタンパク質であり、平均範囲8~12%に含まれる。特に、一部の穀物の貯蔵タンパク質は、セリアック病(CD)の促進因子(沈澱要因)として特定されている。したがって、穀物タンパク質については、次のセクションで詳細に検討する。穀物脂質は、オートムギ脂質(\approx 7%)を除き、微量成分(2~4%)に属する。ミネラル含有量の範囲は1.0%から2.5%である。シリアルは、ビタミンB群とトコフェロールの優れた供給源である。ミネラルとビタミンは両方とも、アリューロン層と胚芽に集中している。

2. 穀物タンパク質

2-1. 組成

1950年代以来、穀物タンパク質はCD(Celiac Disease)特異的免疫応答の抗原であることが知られている。穀物のタンパク質含量は、遺伝子型(穀物、種、品種)および成長条件(土壌、気候、施肥)に応じて、6%未満から20%以上の幅広い範囲にある。機能の観点から、穀物タンパク質は3つのタイプに分類できる。

1. 穀物やデンプン粒の外側にある膜タンパク質などの構造タンパク質。
2. 主にアリューロン層と胚に存在する酵素や酵素阻害剤などの代謝タンパク質。
3. デンプン質胚乳にのみ存在する貯蔵タンパク質(図2.1)。

貯蔵タンパク質は、全穀物タンパク質の約70~80%を占める。それらの構造は穀物に特有であり、その主な機能は発芽中に穀物胚に窒素とアミノ酸を提供することである。

穀物タンパク質の分析に2次元(2-D)電気泳動が導入されて以来、穀物にはさまざまなタンパク質

の複雑な混合物が含まれていることが明らかになった。たとえば、小麦粉には数百のタンパク質成分が検出されている⁴⁾(図2.3)。伝統的に、穀物タンパク質は、溶解度の違いにより4つの画分(オズボーン画分)に分類される。(1)アルブミン、(2)グロブリン、(3)プロラミン、(4)グルテリン⁵⁾。アルブミンは、水および希塩溶液に可溶。グロブリンは純水には溶けないが、塩溶液には溶ける。両方の画分は、主に代謝タンパク質で構成される。

プロラミンは、古くから水および塩溶液には溶けないが、アルコール水溶液(60~70%エタノールなど)には溶ける穀物タンパク質として定義されている。それらは主にモノマーとして存在する。グルテリンは鎖間ジスルフィド結合により重合化する。もともとは、アルブミン、グロブリン、プロラミンの抽出後も不溶性のままであるが、希酸または塩基で抽出可能であるとOsborneによって説明されている⁵⁾。しかし、グルテリンの顕著な部分は酢酸などの弱酸に不溶であり、強酸または強塩基で抽出すると、一次構造に影響を与える可能性がある。今日、グルテリンの完全な抽出は、水性アルコール(60%エタノールまたは50%プロパノール)の混合物、還元剤(たとえば、2-メルカプトエタノールまたはジチオスレイトール)を含む溶媒により、高温(たとえば50°C)で達成される。そして、化合物(例えば、尿素またはグアニジン)を分解する⁶⁾。

この処理を使用すると、ジスルフィド結合が切断され、グルテリンがモノマーサブユニットとして得られ、さらに、プロラミンなどの水性アルコールに可溶性単量体サブユニットとしてグルテリンが得られる。プロラミンとグルテリンは両方とも貯蔵タンパク質である。小麦粉タンパク質の小さなグループは、4つの溶解度画分のいずれにも該当しない。デンプンを水を使って除去後、さまざまな穀物の貯蔵タンパク質には、小麦ではグリアジン(プロラミン)、グルテニン(グルテリン)という一般名が付けられている；ライムギではセカリン；大麦ではホルデイン；オートムギではアベニン；トウモロコシではゼイン；米ではオリジン；そしてヒエとモロコシではカフィリンである。小麦粉生地を水で洗浄してデンプンと可溶性成分を除去した後に残るタンパク質性の塊は、グリアジンとグルテニンから成り、穀物の化学と技術の分野ではグルテンと呼ばれている。ほ

とんどの穀物タンパク質は、20個すべての標準アミノ酸で構成される。これらは表 2.1 にリストされている。さらに、表 2.1 は、3文字コード（通常はアミノ酸組成の表示に使用）と1文字コード（アミノ酸配列の表示に使用）として略語を示している。また、アミノ酸側鎖の化学的性質も示している。

アルブミンとグロブリン、プロラミンとグルテリンは、アミノ酸組成が大きく異なる。アルブミンとグロブリンはバランスによって特徴付けられ、バランスのとれた「普通の」組成物（図示せず）。プロラミンとグルテリンは、バランスの取れていない「異常な」組成物を示している（表 2.2 と 2.3）⁷⁾。すべてのプロラミンおよびグルテリン画分に典型的

なのは、酸性アミノ酸、特にグルタミン酸の高度なアミド化である。したがって、グルタミン酸は、ほぼ完全にグルタミンとしてアミド化された形で存在し、このアミノ酸は一般に優勢である（15.5～37.1mol%）。すべての貯蔵タンパク質に共通するその他の特徴は、必須アミノ酸であるリジン（0.0～4.0%）、メチオニン（0.5～2.4%）、およびトリプトファン（0.0～0.8%）の含量が低いことである。このため、穀物貯蔵タンパク質の生物学的価値はかなり低い。栄養の観点からこの側面を考慮すると、グルテンフリー食（GFD）は消費者にとって不利ではない。

“プロラミン”という名前はプロリン、グルタミ

表 2.1 標準アミノ酸一般名、略名、側鎖の性質

Amino Acid	Three-Letter Code	One-Letter Code	Side-Chain Properties
Alanine	Ala	A	Nonpolar
Arginine	Arg	R	Positively charged, polar
Asparagine	Asn	N	Polar
Aspartic acid	Asp	D	Negatively charged, polar
Asparagine or aspartic acid	Asx	B	—
Cysteine	Cys	C	Nonpolar
Glutamic acid	Glu	E	Negatively charged, polar
Glutamine	Gln	Q	Polar
Glutamic acid or glutamine	Glx	Z	—
Glycine	Gly	G	Nonpolar
Histidine	His	H	Polar
Isoleucine	Ile	I	Nonpolar
Leucine	Leu	L	Nonpolar
Lysine	Lys	K	Positively charged, polar
Methionine	Met	M	Nonpolar
Phenylalanine	Phe	F	Nonpolar
Proline	Pro	P	Nonpolar
Serine	Ser	S	Polar
Threonine	Thr	T	Polar
Tryptophan	Trp	W	Nonpolar
Tyrosine	Tyr	Y	Polar
Valine	Val	V	Nonpolar

表 2.2 各穀物 [7]^a のプロラミン中アミノ酸組成 (mol%)^aAA, アミノ酸; WH, wheat; RY, rye; BA, barley; OA, oats; RI, rice; MI, millet; CO, corn.^bSum; asparagine (Asn) と glutamine (Gln).

AA	WH	RY	BA	OA	RI	MI	CO
Ala	2.8	3.0	2.3	5.5	9.1	13.5	13.6
Arg	1.7	1.9	2.0	2.7	4.7	0.8	1.2
Asx	2.7	2.4	1.7	2.3	7.3	6.8	4.9
Cys	2.2	2.2	1.9	3.3	0.8	1.1	1.0
Glx	37.1	35.4	35.3	34.1	19.6	21.8	19.4
Gly	2.9	4.5	2.2	2.7	5.8	1.5	2.6
His	1.7	1.2	1.2	1.1	1.5	1.3	1.1
Ile	4.1	3.0	3.6	3.3	4.6	5.2	3.9
Leu	6.9	5.8	6.1	10.6	11.8	13.4	18.5
Lys	0.8	1.0	0.5	1.0	0.5	0.0	0.0
Met	1.1	1.0	0.9	2.1	0.5	1.7	1.1
Phe	4.6	4.5	5.8	5.3	4.8	4.9	4.9
Pro	16.6	18.4	23.0	10.2	5.1	7.8	10.2
Ser	5.9	6.6	4.6	3.8	7.5	6.4	6.9
Thr	2.3	2.6	2.1	2.3	2.9	3.8	3.1
Trp	0.4	0.4	0.6	0.3	0.5	1.5	0.0
Tyr	2.0	1.7	2.3	1.7	6.1	2.1	3.6
Val	4.2	4.4	3.9	7.7	6.9	6.4	4.0
Amide ^b	37.5	34.7	34.9	31.6	23.3	23.0	23.0

表 2.3 各穀物 [7]a のグルテリン (+ 残留タンパク質) 中アミノ酸組成 (mol%)

^aAA, アミノ酸; WH, wheat; RY, rye; BA, barley; OA, oats; RI, rice; MI, millet; CO, corn.^bSum; asparagine (Asn) と glutamine (Gln).

AA	WH	RY	BA	OA	RI	MI	CO
Ala	4.4	7.3	5.6	6.5	7.9	10.1	9.4
Arg	2.7	3.8	2.5	6.0	6.1	3.5	3.2
Asx	3.7	7.1	4.9	9.3	9.5	7.6	5.5
Cys	1.4	0.8	0.5	1.2	1.2	1.7	1.8
Glx	30.1	19.7	24.2	19.0	15.5	16.8	16.0
Gly	7.9	9.2	6.4	7.9	7.4	6.9	6.9
His	1.8	2.0	2.0	2.4	2.1	2.3	3.3
Ile	3.5	3.7	4.0	4.6	4.5	4.1	3.4
Leu	6.9	7.4	7.5	7.8	8.4	9.1	10.9
Lys	2.1	4.0	2.8	3.2	3.3	3.1	2.4
Met	1.3	1.6	1.3	1.3	2.4	1.6	2.8
Phe	3.6	3.8	4.0	4.8	4.3	3.7	3.3
Pro	11.9	9.4	14.2	5.5	5.1	8.4	11.5
Ser	7.3	6.9	6.7	6.6	6.7	5.9	6.1
Thr	3.6	4.7	4.2	4.2	4.2	5.1	4.2
Trp	0.6	0.4	0.3	0.7	0.8	0.6	0.3
Tyr	2.4	2.3	1.7	2.8	3.6	2.9	2.9
Val	4.8	5.9	7.2	6.2	7.0	6.6	6.1
Amide ^b	31.0	21.3	23.6	20.2	16.6	16.4	16.4

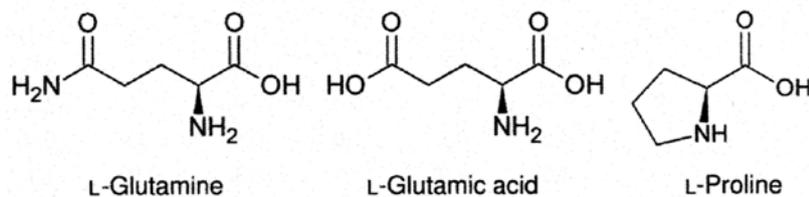


図 2.4 Amino acids L-glutamine, L-glutamic acid, and L-proline の構造

ンの高含量のアミノ酸組成の特徴から来るが、それは特に小麦、ライ麦、大麦 (35-37% グルタミン、17-23% プロリン) のプロラミンがそうである。アミノ酸のグルタミンとプロリン (図 2.4) は両方とも、貯蔵タンパク質の機能において重要だが異なる役割を果たす。ほとんどのアミノ酸とは対照的に、グルタミンには2つの窒素 (N) 原子が含まれている。これは、発芽の最初の段階での胚の窒素供給に重要である。プロリンに特有なのは、タンパク質鎖内にねじれを引き起こす二次アミノ基であり、したがって、デンプン質の胚乳におけるタンパク質鎖の密なパッキングを可能にする。さらに、プロリン残基は、外部の酵素攻撃による貯蔵タンパク質の分解を防ぐ。CD の文脈では、グルタミンとプロリンも非常に重要である。

プロリンが豊富な性質により、グルテントタンパク質は胃腸内腔での完全なタンパク質分解に抵抗性があるため、長いペプチド断片は胃と小腸で生き残る。さらに、プロリン残基は、ヒト白血球抗原 (HLA) -DQ 結合に好ましいペプチドの左利きのポリプロリン II ラセン構造の形成に寄与する。グルタミンに富むペプチドは、腸組織酵素トランスグルタミナーゼ 2 (TG2) の優れた基質である。プロリンは、グルタミンに対する酵素の特異性に影響を与えるため、特定のグルタミン残基のみが脱アミド化およびアミド交換の基質であり、どちらも CD 病態メカニズムに典型的である。

小麦、ライムギ、および大麦のプロラミンは、グルタミン (35 ~ 37%) およびプロリン (17 ~ 23%) の最高値を示し、その後にロイシン (6 ~ 7%) およびフェニルアラニン (5 ~ 6%) が続く。ヒスチジン (1-2%), リジン (\approx 1%), メチオニン (\approx 1%), およびトリプトファン (<1%) は微量である。米、ヒエ、モロコシ、トウモロコシのプロラミンは、グルタミン (19 ~ 22%) とプロリン (5 ~ 10%) が少ないが、ロイシン (12 ~ 19%) とア

ラニン (9 ~ 14%) が豊富である。オートムギのプロラミンは中程度の位置にある: グルタミン含有量 (34%) はコムギのプロラミンと似ており、プロリン (10%) とロイシン (11%) の値は米、ヒエとトウモロコシに近い。したがって、プロラミンのアミノ酸組成は、穀物の系統発生 (図 2.2) およびその CD 毒性と密接な関係を示している⁸⁾。プロラミンと比較して、グルテリンと残留タンパク質は、主にグルタミンとプロリンが少なく、他のほとんどのアミノ酸の値が増加して、よりバランスのとれたアミノ酸組成を示す。プロラミンと同様に、小麦、ライムギ、大麦 (一方で) と米、ヒエ、トウモロコシ (他方で) の間には、オートムギが中間の位置にあり明確な違いが明らかである。

オズボーン画分の含量はかなり異なり、遺伝子型と成長条件に依存する。さらに、段階的なオズボーン画分の結果は実験条件によって強く影響され、得られた画分は明確ではない。したがって、オズボーン画分の定性的および定量的組成に関する文献のデータは異なり、部分的に矛盾する。平均して、総タンパク質の最小割合がグロブリン画分に存在し、次にアルブミン画分が存在する。例外はオートムギグロブリンであり、総タンパク質の 50% 以上に相当する。ほとんどの穀物では、プロラミンが主要な部分である。オートムギプロラミンは、しかし、マイナーなタンパク質であり、米はプロラミンがほとんどない。オズボーンの各画分は、部分的に関連する多数のタンパク質で構成されている。現在では、酸性ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE)、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS-) PAGE、等電点電気泳動 (IEF) 単独または SDS-PAGE (2-D 電気泳動; 図 2.3)、および逆相 (RP-) およびゲル浸透 (GP-) HPLC などの高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、これらの方法はすべて、各画分の複雑なタンパク質組成を確認できる。これらの方法を使用した単一成分の調製により、さらなる構造特性評価と分類が可

能になり、さらに機能性、アレルギー性、CD 毒性のテストが可能になった。

2.2. 小麦, ライ麦, 大麦, オート麦の貯蔵タンパク質

小麦, ライムギ, 大麦, およびオートムギのプロラミンおよびグルテリン画分は, 部分的に密接に関連する多数のタンパク質で構成されている。この不均一性の理由は, 穀物の進化中の遺伝子変異 (置換, 削除, および DNA 核酸塩基の挿入) であり, アミノ酸配列に多くの変更が生じた。例として, 選択された 9 つの α -グリアジンの N 末端アミノ酸配列 (位置 1 ~ 40) を **図 2.5** に示した。配列の相同性により, 多数のタンパク質成分を少数の異なるタンパク質タイプに減らすことができる。タンパク質分離技術の進歩に伴い, プロラミンモノマーとグルテリンサブユニットの命名法は段階的に開発されてきたため, かなり混乱し, 矛盾している。一方で, タンパク質は電気泳動移動度の違いに基づいて命名された (例 : ω -, α -, β -, および γ -グリアジンまたは ω - および γ -セカリン)。一方, 用語は分子量の違いに基づいている (例, 高分子量グルテニンサブユニット (HMW-GS) と低分子量グルテニンサブユニット (LMW-GS), または D-, C-, および B-hordeins)。電気泳動またはクロマトグラフィーの移動度に基づく命名法は, 後で決定される一次構造 (アミノ酸配列) による分類と必ずしも一致しない。例えば, アミノ酸配列の研究により, α -グリアジンと β -グリアジンが 1 つのタイプに分類され, ほとんどが α

タイプ, 時には α/β タイプと呼ばれることが明らかになった。タンパク質分類の最も重要な基準は, 一次構造 (アミノ酸配列) である。

過去数十年で, ほぼ完全に DNA シーケンスによって決定された穀物貯蔵タンパク質の多数の配列が, 出版物またはデータベースのいずれかで公開された。データは, 系統発生 (**図 2.2**) およびアミノ酸組成 (**表 2.2** および **2.3**) に従って, 小麦, ライムギ, 大麦, および一部のオートムギ (プロラミンのみ) の貯蔵タンパク質は密接に関連しており, 他の穀物のものと決定的に異なることを示している。相同アミノ酸配列と類似の分子量に基づいて, Triticeae とオートムギ (プロラミンのみ) の貯蔵タンパク質は 3 つのグループに分けることができる (**表 2.4**)¹²⁾ :

1. HMW グループ;
2. 中分子量 (MMW) グループ;
3. LMW グループ。

各グループには, さまざまなタイプに割り当てることができる多数の関連タンパク質が含まれている。タンパク質は, 部分的にモノマーとして, 部分的に鎖間ジスルフィド結合によってリンクされたポリマーとして存在する。

HMW グループは, (1) 小麦の HMW-GS, (2) ライムギの HMW-セカリン, および (3) 大麦の D-ホルデインの 3 つのタイプで構成されている。このグループにはオートムギはない。HMW-GS と HMW-セカリンは, 分子量と反復単位の数が異なる x 型と y 型に細分化できる。HMW グループのタンパク質は, 分子量 70,000 ~ 90,000 に対応する

	1	40
a	VRVPV	QLQPQNPSQQQPQEQVPLVQQQQFPGQQQFPPQ
b	VRVPV	QLQPQ S PSQQQPQEQVPLVQQQQFPGQQQFPPQ
c	VRVPV	QLQP K NPSSQQQPQEQVPLVQQQQFPGQQQFPPQ
d	VRVPV	QLQPQNPSQQQPQ K QVPLVQQQQFPGQQQ P FPPQ
e	VRVPV	QPQPQNPSQP P Q R QVPLVQQQQFPGQQQFPPQ
f	VRVPV	QPQPQNPSQP P Q G QVPLVQQQQFPGQQQFPPQ
g	VRVPV	QLLQNPSQQQPQEQVPLVQ E QQF Q GQQQ P FPPQ
h	VR F PV	QLQPQNPSQQQPQEQVPLVQQQQF L GQQQ P FPPQ
i	VRVPV	QLQPQNPSQQQPQEQVPLVQQQQF L GQQQ P FPPQ

図 2.5 α -gliadins の N-末端アミノ酸配列例, 太字は DNA 内の突然変異による変化

表 2.4 Pooideae 貯蔵タンパク質^a の分類と比率

Group	Wheat	Rye	Barley	Oats
HMW	HMW-GS (p) 11%	HMW-Secalins (p) 9%	D-Hordeins (p) 5%	-
MMW	ω1,2-Gliadins (m) 4%	ω-Secalins (m) 18%	C-Hordeins (m) 36%	-
	ω5-Gliadins (m) 3%	-	-	-
LMW	LMW-GS (p) 22%	γ-75k-Secalins (p) 48%	B-Hordeins (p) 27%	-
	γ-Gliadins (m) 27%	γ-40k-Secalins (m) 25%	γ-Hordeins (m) 32%	Avenins 100%
	α-Gliadins (m) 33%	-	-	-

HMW, high-molecular-weight; MMW, medium-molecular-weight; LMW, low-molecular-weight; GS, glutenin subunit.

^aWheat, Monopol (9); rye, Halo (10); barley, Golden Promise (11); m=monomeric; p=polymeric.

表 2.5 小麦, ライ麦, 大麦の High-Molecular Weight グループタンパク質のアミノ酸組成 (mol%)

AA	HMW-GSx	HMW-GSy	HMW-SECx	HMW-SECy	D-HOR
Ala	2.9	3.8	2.4	3.5	3.2
Arg	1.2	2.7	1.6	2.1	1.6
Asn	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9
Asp	0.5	0.6	0.7	0.7	0.6
Cys	0.5	1.1	0.5	1.1	1.4
Gln	35.8	32.3	33.5	33.9	25.7
Glu	2.1	2.7	2.5	3.9	2.2
Gly	20.0	17.9	20.1	17.7	15.8
His	0.5	2.3	0.8	2.5	3.1
Ile	0.5	1.1	0.5	0.8	0.7
Leu	4.4	3.8	3.7	3.2	4.1
Lys	0.7	1.1	0.9	1.0	1.2
Met	0.3	0.6	0.3	0.6	0.4
Phe	0.3	0.3	0.3	0.3	1.3
Pro	13.0	11.0	14.7	12.4	10.5
Ser	6.0	6.6	5.3	5.5	10.8
Thr	2.9	3.6	3.8	3.6	7.1
Trp	1.0	0.9	0.5	0.6	1.2
Tyr	5.7	5.2	6.4	4.8	4.1
Val	1.7	2.4	1.5	1.8	4.1
Residues	815	637	760	716	686
Code ^b	Q6R2V1	Q52JL3	Q94IK6	Q94IL4	Q40054

^aAA, アミノ酸; HMW-GSx, wheat high-molecular-weight glutenin subunit x-type; HMW-GSy, wheat high-molecular-weight glutenin subunit y-type; HMW-SECx, rye high-molecular-weight secalin x-type; HMW-SECy, rye high-molecular-weight secalin y-type; D-HOR, D-hordein.

^bAccession number of proteins in database Uni Prot KB used for calculation.

約 600 ~ 800 のアミノ酸残基で構成されている。アミノ酸組成は、総アミノ酸残基の約 60% を占めるグルタミン (約 26 ~ 36%), グリシン (約 16 ~ 20%), およびプロリン (約 10 ~ 15%) の高い含有量によって特徴付けられる (表 2.5)。アミノ酸配列は、3 つの構造ドメインに分割できる (図 2.6): (1)

約 100 残基の非反復 N 末端ドメイン A, (2) 約 500 ~ 700 残基の反復中央ドメイン B, および (3) 約 40 残基の非反復ドメイン C。ドメイン A および C は、ほとんどまたはすべてのシステインと荷電アミノ酸 (グルタミン酸, アルギニン) を含む, 比較的バランスの取れたアミノ酸組成によって特徴付けら

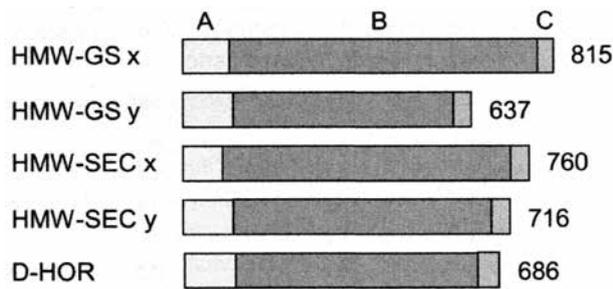


図 2.6 小麦, ライ麦, 大麦の High-molecular-weight (HMW) グループタンパク質の概略構造 (A, N-末端ドメイン; B-くりかえしドメイン; C, C-末端ドメイン; 各タンパク質は表 2.5 に対応。HMW-GSx, wheat high-molecular-weight glutenin subunit x-type; HMW-GSy, wheat high-molecular-weight glutenin subunit y-type; HMW-SECx, rye high-molecular-weight secalin x-type; HMW-SECy, rye high-molecular-weight secalin y-type; D-HOR, D-hordein)。

れる。ドメイン B には, QPQGQ などの多数の反復ヘキサペプチドがバックボーンとして含まれている。これらは頻繁に変更され, YYPTSP などのヘキサペプチドや QQP や QPG などのトリペプチドによって散在している。

HMW グループのサブユニット間の違いは, 主に単一の残基の変更と反復の数と配置によるものである。例えば, x タイプは短いドメイン A と長いドメイン B によって y タイプとは異なる。小麦の製パン品質にとって HMW-GS の重要性のため, 単一のサブユニットはコーディングに従って番号が付けられている。ゲノム (1A, 1B, または 1D), タンパク質タイプ (x または y), および SDS-PAGE の移動度 (元々は 1 番から 12 番)。命名法の例は, HMW-GS1Ax1, 1Bx7, および 1Dy10 である¹³⁾。一般に, HMW グループのタンパク質はプロラミン画分にモノマーとしては存在しないが, 鎖間ジスルフィド結合によって重合され, グルテリン画分に存在する。ジスルフィド結合の還元後, 得られたサブユニットはプロラミンのようにアルコールに可溶である。

MMW グループは, 小麦の同種の ω 1,2- グリアジン, ライ麦の ω -セカリン, および大麦の C-ホルデインで構成される。これらのタンパク質には 300 ~ 400 の残基が含まれており, 約 40,000 の分子量

表 2.6 小麦, ライ麦, 大麦 a の Medium-Molecular-Weight グループタンパク質のアミノ酸組成 (mol%)

AA	ω 5-GLI	ω 1,2-GLI	ω -SEC	C-HOR
Ala	0.2	0.5	0.3	1.5
Arg	1.0	0.5	1.8	0.9
Asn	0.0	0.5	0.3	0.9
Asp	0.2	0.0	0.0	0.6
Cys	0.0	0.0	0.0	0.0
Gln	53.1	41.6	39.6	37.3
Glu	1.9	1.4	2.7	1.5
Gly	0.7	0.8	0.6	0.6
His	1.4	0.5	0.3	0.6
Ile	4.3	1.6	4.7	3.4
Leu	3.1	4.0	4.4	8.6
Lys	0.7	0.5	0.3	0.9
Met	0.0	0.0	0.0	0.0
Phe	9.3	8.4	7.4	7.7
Pro	19.8	29.0	29.3	29.1
Ser	2.9	5.9	4.4	2.5
Thr	0.5	2.4	0.9	1.2
Trp	0.0	0.3	0.0	0.6
Tyr	0.7	1.6	1.2	1.8
Val	0.2	0.5	1.8	0.3
Residues	420	373	338	328
Code ^b	Q40215	Q6DLC7	Q04365	Q40055

^aAA, amino acid; ω 5-GLI, ω 5-gliadin; ω 1, 2-GLI, ω 1, 2-gliadin; ω -SEC, ω -secalin; C-HOR, C-hordein.

^bAccession number of proteins in database Uni Pro KB used for calculation.

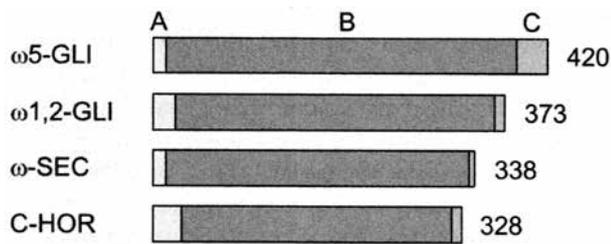


図 2.7 小麦, ライ麦, 大麦の medium-molecular-weight グループタンパク質の概略構造 (A, N-末端ドメイン; B, くりかえしドメイン; C, C-末端ドメイン; 各タンパク質は表 2.6 に対応; ω5-GLI, ω5-gliadin; ω1, 2-GLI, ω1, 2-gliadin; ω-SEC, ω-secalin; C-HOR, C-hordein).

に相当する。さらに、小麦には、400 以上の残基と約 50,000 の分子量を持つユニークな ω5- グリアジンが含まれている。MMW グループに対応するタンパク質はオートムギには存在しない。MMW グループのタンパク質は、通常、グルタミン、プロリン、およびフェニルアラニンの含有量が非常に高く、アミノ酸残基全体の約 80% を占める非常に不均衡なアミノ酸組成を持っている (表 2.6)。それらは主

にモノマーとして発生し、水性アルコールに、そして部分的には水にさえ容易に溶解する。それらはほぼ完全に反復配列で構成されており、短い非反復 N 末端ドメインと C 末端ドメイン (最大 30 残基まで) しかない (図 2.7)。中央ドメインには、主にグルタミン、プロリン、フェニルアラニンからなるリピートが含まれている。ω1,2- グリアジン、ω- セカリン、C- ホルデインの典型的な繰り返し単位は、QPQQPF などのヘプタペプチドである。ω5- グリアジンのものは、リピートの数と組成 (QQQPF) が異なる。

LMW グループは、単量体タンパク質と高分子タンパク質に分類できる。単量体タンパク質には、α- および γ- グリアジン (小麦), γ-40k- セカリン (ライムギ), γ- ホルデイン (大麦), およびアベニン (オートムギ) が含まれる。高分子タンパク質は、LMW-GS (小麦), γ-75k- セカリン (ライムギ), および B- ホルデイン (大麦) である。それらの配列は、γ-75k- セカリン (≒ 430 残基, 分子量 ≈ 50,000) お

表 2.7 小麦, ライ麦, 大麦, オート麦 a の Low-Molecular-Weight グループタンパク質のアミノ酸組成 (mol%)

AA	α-GLI	γ-GLI	LMW-GS	γ-75k-SEC	γ-HOR	B-HOR	AVE
Ala	2.2	2.9	3.9	2.3	2.1	2.6	5.2
Arg	2.2	1.3	2.5	0.9	1.7	2.6	3.0
Asn	2.6	1.3	0.7	1.4	1.7	0.7	1.5
Asp	0.4	0.7	0.3	0.0	0.7	0.0	0.5
Cys	2.2	2.6	2.8	2.0	3.5	2.9	4.0
Gln	35.9	36.1	32.2	38.3	28.0	30.3	33.0
Glu	1.8	0.7	1.8	1.4	2.5	1.8	2.5
Gly	2.6	2.9	3.2	1.6	3.2	2.9	1.8
His	2.2	1.3	1.1	1.4	1.4	1.5	0.5
Ile	4.7	4.9	4.3	3.0	3.9	4.4	4.0
Leu	8.0	7.2	8.2	4.8	7.0	8.0	8.9
Lys	0.4	0.7	0.3	0.5	1.7	0.7	0.5
Met	0.7	1.6	1.8	0.9	1.7	1.1	2.0
Phe	3.7	4.9	4.3	5.0	5.6	4.7	6.4
Pro	14.3	17.5	12.8	21.8	16.8	19.4	10.8
Ser	5.1	5.5	8.9	6.9	5.6	4.7	2.5
Thr	1.8	2.0	3.5	1.6	2.8	2.2	2.5
Trp	0.4	1.0	0.7	0.0	0.7	0.7	0.0
Tyr	3.7	0.3	1.4	0.9	2.1	2.6	2.0
Val	5.1	4.6	5.3	5.3	7.3	6.2	8.4
Residues	273	308	282	436	286	274	203
Code ^b	Q9M4M5	Q94G91	Q52NZ4	Q9FR41	P17990	P06470	Q09072

^a AA, アミノ酸; α-GLI, α-gliadin; γ-GLI, γ-gliadin; LMW-GS, wheat low-molecular-weight glutenin subunit; γ-75k-SEC, γ-75k-secalin; γ-HOR, γ-hordein; B-HOR, B-hordein; AVE, avenin.

^b Accession number of proteins in database Uni Prot KB used for calculation.

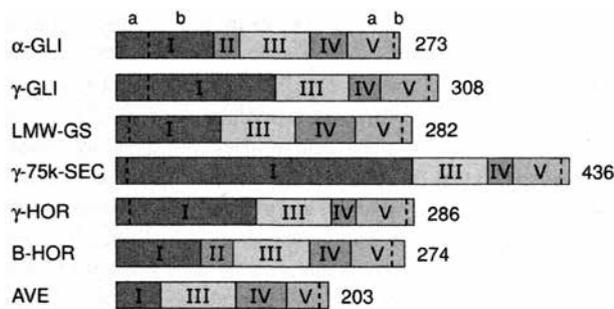


図 2.8 小麦, ライ麦, 大麦, オート麦の low-molecular-weight (LMW) グループタンパク質の概略構造 (sections I-II, N 末端ドメイン; sections III-V, C 末端ドメイン; 各タンパク質は表 2.7 に対応; α-GLI, α-gliadin; γ-GLI, γ-gliadin; LMW-GS, wheat low-molecular-weight glutenin subunit; γ-75k-SEC, γ-75k-secalin; γ-HOR, γ-hordein; B-HOR, B-hordein; AVE, avenin).

よびアベニン (≈ 200 残基, 分子量 ≈ 23,000) を除いて, 約 28,000–35,000 の分子量に対応する約 300 のアミノ酸残基で構成されている。アミノ酸組成は, 優勢なグルタミン (28 ~ 36%) とプロリン (11 ~ 22) に加えて, ロイシン (5 ~ 9%) やバリン (5 ~ 8%) などの疎水性アミノ酸の含有量が比較的高いことを特徴としている (表 2.7)。構造的相同性によれば, アミノ酸配列は, セクション I および II を含む N 末端ドメインと, セクション III, IV, および V を含む C 末端ドメインに細分化できる (図 2.8)。

N 末端ドメインはグルタミンとプロリンに富んでいるが, C 末端ドメインは, よりバランスのとれた組成を持ち, グルタミンが少なく, プロリン含有量が大幅に減少しているが, 荷電残基 (グルタミン酸, リジン, アルギニン) と疎水性側鎖 (ロイシン, イソロイシン, バリン) を持つ。N 末端ドメインは, 比較的短い非反復配列 (セクション Ia) で始まる。これは, 最大 32 残基長で, 各タイプに固有である。セクション Ia は B ホルデインにはない。セクション Ib は, グルタミン, プロリン, フェニルアラニンが豊富で, QPQPFPQPYPY (α-グリアジン), QQPQPFP (γ-グリアジン, γ-75k-セカリン, γ- および B-ホルデイン), QQPFS (LMW-GS), または PFVQQQ (アベニン)。タンパク質の種類によって, セクション Ib の長さは大きく異なり, 22 残基 (アベニン) から 273 残基 (γ-75k-セカリン) の範囲である。セクション II は, α-グリアジンと B-ホルデインにのみ存在するため, これらのタンパク質タイプに固有である。

α-グリアジンは最大 18 残基長のポリグルタミン配列を含んでいるが, B-ホルデインはグルタミンとロイシンが豊富な 30 アミノ酸残基の配列で構成されている。セクション III では, 長さ (68 ~ 73 残基) と組成の高い相同性が示される。セクション IV に関して, LMW グループのタンパク質は, 長さが異なる (25 ~ 55 残基) 部分的に相同で部分的にユニークな配列を持っている。セクション V は, 相同セクション Va と短い固有セクション Vb に分けることができる。それらの長さは類似している (42 ~ 55 残基) が, それらの相同性の程度はセクション III と比較して低くなっている。

タンパク質のすべての HMW, MMW, および LMW グループの最も特徴的な機能は, 反復配列であり, これまでに特定されたほとんどの CD 活性ペプチドはこれらのセクションから派生している (セクション 3.5 を参照)。それらの組成は, グルタミン (Q) とプロリン (P) が優勢である。さらに, フェニルアラニン (F), チロシン (Y), ロイシン (L) などの疎水性アミノ酸残基が頻繁に発生する。例外は, 高グリシン (G) 含有量によってさらに特徴づけられる HMW グループタンパク質の反復配列である。反復単位は長さや頻度が異なり, 単一のアミノ酸残基の交換, 挿入, または削除によって変更される。各タンパク質タイプには, 反復単位のユニークなプロフィールがある。図 2.9 は, 小麦とオートムギのアベニンの貯蔵タンパク質タイプの反復シーケンスの例を示している。ω1,2- および γ-グリアジンに存在するペプチドモチーフ QQPQPFP は, 明らかに反復配列の先祖のモチーフの 1 つである。

これらは, ω5-グリアジンの QQQFP ユニットと, α-グリアジンの QQPFP および PQQYP ユニットに変更される。LMW-GS は, QQPFS などの反復単位により大きく異なる。HMW-GS は, QPQPQP ユニットと, トリペプチド (QPG または QQG) およびヘキサペプチド (YYPTSP) の挿入によって形成される骨格によって特徴付けられる。ライムギ (セサリン) およびオオムギ (ホルデイン) の貯蔵タンパク質は, 小麦のさまざまなグリアジンおよびグルテニンタイプと相同であり (表 2.4), 対応する反復配列を含む。オートムギアベニンには, PFVQQQ および QPQLQVF の 2 つの反復シーケンスユニットがある (図 2.9)。小麦, ライムギ,

ω5 (Q40215) (191-274)^a	ω1,2 (Q6DLC7) (167-285)^a	α(Q9M4M5) (33-95)^b
¹⁹¹ QQQFP ¹⁹⁶ QQQFP ²⁰¹ QQQFP ²⁰⁶ QQQFP ²¹¹ QQEFP ²¹⁶ QQQQFP ²²² QQQIA ²²⁷ RQPQQLP ²³⁴ QQQQIP ²⁴⁰ QQPQQFP ²⁴⁷ QQQQFP ²⁵³ QQQSP ²⁵⁸ QQQQFP ²⁶⁴ QQQQLP ²⁷⁰ QKQFP	¹⁶⁷ QPQQPIP ¹⁷⁴ VQPQQSFP ¹⁸² QSSQQSQPF ¹⁹³ QPQQLFP ²⁰⁰ ELQQPIP ²⁰⁷ QQPQQPFP ²¹⁵ LQPQQPFP ²²³ QQPQQPFP ²³¹ QQPQQSFP ²³⁹ QQPQQPYP ²⁴⁷ QQQQSFP ²⁵⁴ QQPQQPFP ²⁶² PTTTKFP ²⁷⁰ QQPQQPFP ²⁷⁸ LRPQQPFP	³³ QQQFPFP--PQQPYP ⁴⁵ QPQFPFP--SQQPYL ⁵⁷ QLQFPFP-QPQLPYS ⁷⁰ QPQFPFR--PQQPYP ⁸² QPQPQYSQPQQPIS AVE (Q09072) (21-41/125-161)^b ²¹ PFVQQQQ ²⁸ PFVQQQQ ³⁵ PFVQQQQ ¹²⁵ QPQLQ--QQVF ¹³⁴ QPQLQLQQQVF ¹⁴⁵ QPQLQ--QQVF ¹⁵⁴ QPQLQ---QVF
γ(Q94691) (20-147)^b	LMW (Q52NZ4) (14-100)^b	HMW (Q6R2V1) (241-390)^a
²⁰ QLQQPLS ²⁸ QQPQQTFP ³⁵ QPQQTFP ⁴² HQPQQQVP ⁵⁰ QPQQPQQPFL ⁶⁰ QPQQPFP ⁶⁷ QQPQQPFP ⁷⁵ QTQQPQQPFP ⁸⁵ QQPQQPFP ⁹³ QTQQPQQPFP ¹⁰³ QQPQQPFP ¹¹¹ QTQQPQQPFP ¹²¹ QLQQPQQPFP ¹³¹ QPQQQLP ¹³⁸ QPQQPQQSFP	¹⁴ QQQPLFP ²¹ QQTLPFP ²⁷ QQQFPFP ³³ QQQPPFS ⁴⁰ QQQSFPS ⁴⁷ QQQPPFS ⁵⁴ QQQPILP ⁶¹ QPPFS ⁶⁶ LQQQPVLFP ⁷⁴ QQSPFS ⁸⁰ QQQQLILP ⁸⁸ PQQQQQLP ⁹⁶ QQQIP	²⁴¹ QQPGQGQQG ²⁵⁰ QQLGQGQQG ²⁵⁹ YYPTSLQQSGQGQPG ²⁷⁴ YYPTSLQQLGQGQSG ²⁸⁹ YYPTSPQQFGQG ³⁰¹ QQFGQL ³⁰⁷ QQPAQG ³¹³ QQPGQGQQG ³²² QQPGQGQQG ³³¹ QQFGQG ³³⁷ QQPGQGQPG ³⁴⁶ YYPTSPQQSGQGQPG ³⁶¹ YYPTSSQQPTQS ³⁷³ QQPGQGQQG ³⁸² QQVGQGQQG

図 2.9 小麦グルテンタンパク質タイプとオートアベニンの繰り返しユニット (タンパク質は表 2.5-2.7 に相当) ; 繰り返し配列の a 一部 ; b 完全繰り返し配列

大麦のタンパク質タイプとは大きく異なる。プロリンが豊富な反復配列を含むタンパク質の空間的コンフォメーションは、αヘリックスとβシート構造の欠落によって特徴付けられる。それらは、ポリ-L-プロリン I および II 構造を含む伸びた立体構造を持っている。これらの構造の重要な立体構造上の特徴は、逆回転 (βターンまたはβベンド) である。それらは、ペプチド鎖が突然方向を変えるコーナーで発生する。HMW-GS の場合、このようなコーナーには、主にプロリン、グルタミン、グリシンを含む 4 つのアミノ酸が含まれる。

Tatham と共同研究者は、これらのサブユニットの定期的に繰り返されるβターン (QPGQ) は、結合組織タンパク質エラスチン (VPGV) に似たゆるいらせん構造 (βらせん) を形成するように組織化することを提案した¹⁴⁾。両方のらせんは、タンパ

ク質に弾性特性を付与すると考えられている。グルテンタンパク質のプロリンが少ない非反復配列はαヘリックスが豊富で、鎖内ジスルフィド結合によって安定化されたコンパクトな球状構造を形成する。プロリンが豊富な反復配列で構成されるタンパク質セクションは、消化管での酵素分解に耐性がある。リジンおよびアルギニン残基 (K-X, R-X) の後にペプチド結合を切断するトリプシンは、これらのアミノ酸が不足しているため無効である。ペプシンとキモトリプシンの活性は、通常、疎水性アミノ酸残基 (例えば、L-X, F-X, Y-X) の後に (ペプシン、前にも) 切断される。L-P, F-P, Y-P, およびこれらの特定のペプチド結合は、ペプシンとキモトリプシンによってほとんど切断されない。

このような結合は、穀物の発芽に有効なプロリルエンドペプチダーゼによってのみ切断されるか、特

殊な細菌や真菌によって生成されるが、ヒトの消化管には存在しない。反復配列の違いから判断すると、HMW グループと LMW-GS のタンパク質は、Y-Y (HMW-GS) や F-S (LMW-GS) などの切断可能なペプチド結合のため、酵素消化に対して最も感受性が高いようである。頻繁に存在する。前述のように、貯蔵タンパク質の定量的組成は、遺伝子型と成長条件に強く依存している。それにもかかわらず、いくつかの一定のデータが観察できる (表 2.4)。HMW グループのタンパク質は微量成分に属し、LMW グループのタンパク質は最も豊富である。LMW グループ内では、小麦の場合のように単量体タンパク質が高分子タンパク質を上回るが、ライムギと大麦は単量体タンパク質よりより重合化タンパク質の方が上回る。MMW グループのタンパク質の割合は、低範囲の ω -グリアジン、中範囲の ω -セカリン、および高範囲の C-ホルデインとは大きく異なる。オートムギのグルテリンはグロブリン様タンパク質に対応するため、LMW グループに属するアベニンはオートムギ貯蔵タンパク質の唯一のタイプを表す。

2.3. 小麦グルテン

1745 年、イタリアの生化学者 Jacopo Beccari¹⁵⁾ は、小麦グルテン (図 1.2) を植物由来の最初のタンパク質として「Defrumento」(穀物に関する) の記事で説明した。それ以前は、タンパク質は動物起源の材料にのみ存在すると信じられていた。小麦の世界的な収量に基づいて、推定 5,000 万トンの小麦グルテンが毎年生産されており、植物タンパク質の中でも主要クラスとなっている。小麦グルテンの特別な物理的および化学的特性は、小麦粉の独特のベーキ

ング特性のために、穀物の中で小麦の例外的な位置を占めている。グルテンは通常の状態では水に溶けない。その不溶性と疎水性にもかかわらず、グルテンはその乾燥重量の約 2 倍の水を吸収する。水和グルテンネットワークが形成されるため、小麦粉は水と混合すると粘着性の粘弾性生地を形成する。したがって、生地は発酵中に生成されたガスを保持し、これによりパンを焼いた後に均一に穴が開いた弾力のあるパンになる。グルテンは、主に小麦粉の 2 つの主要なタンパク質画分で構成されている：(1) グリアジンと (2) グルテニン¹⁶⁾。

両方の画分が小麦生地の物理的特性 (凝集性、粘度、伸展性、弾性) を決定的に説明することは一般的に受け入れられている。これらは、これらのプロパティの重要な貢献者であるが、機能は異なる。水和グリアジンは弾性がほとんどなく、グルテニンよりも粘着性が低い。それらは主に生地の粘度と伸展性に寄与する。対照的に、水和グルテニンは粘着性で弾力性があり、生地の強度と弾力性に関与する。したがって、小麦グルテンは「2 成分接着剤」であり、グリアジンはグルテニンの可塑剤または溶媒として機能する⁶⁾ (図 2.10)。望ましい生地とパンの特性を得るには、2 つの適切な混合物 (≒ 2:1) が不可欠である。グルテンは、非常に複雑な化学構造によって特徴付けられる。

小麦貯蔵タンパク質に対応する数百のタンパク質成分で構成され、小麦粒のデンプン質の胚乳で形成される。同様に、それらは異なるグリアジン型 (ω 5-, ω 1, 2-, α -, および γ -グリアジン) およびグルテニン型 (HMW- および LMW-GS)¹⁶⁾ に分類される (セクション 2.2 を参照)。アミノ酸配列に加えて、タ

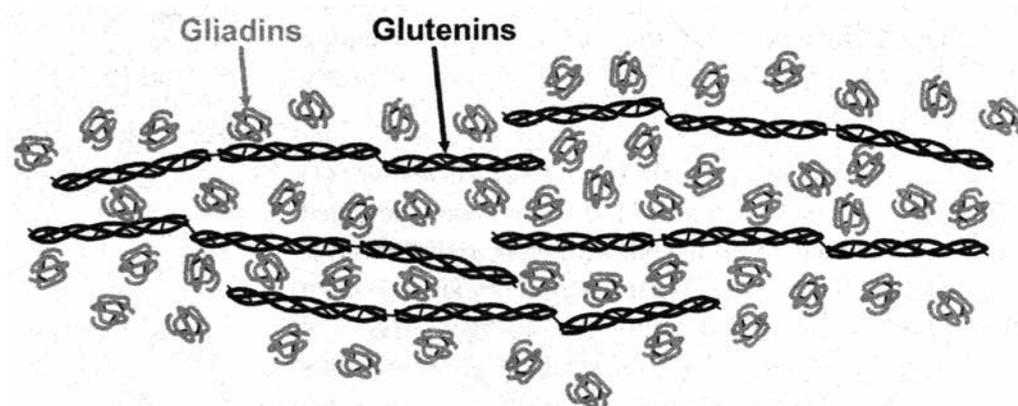


図 2.10 gliadins, glutenins で形成された 2 成分接着剤のグルテン概略図

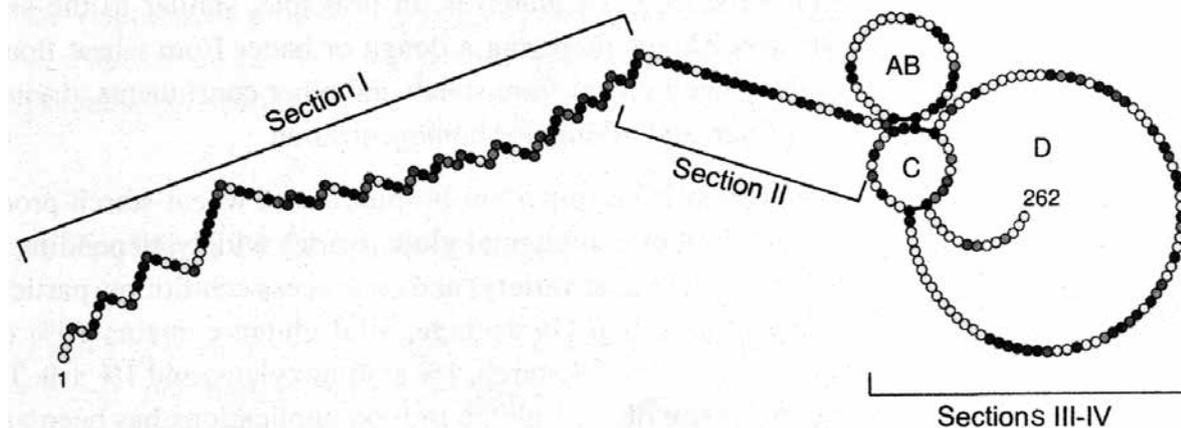


図 2.11 α-gliadin をセクション I, II, III-V に分けた時の 2 次元構造

タンパク質の共有結合および非共有結合と分子量分布により、グルテンのユニークな化学的および物理的特性が決まる。ジスルフィド結合は、グルテンの「構造」の最も重要な決定要因の 1 つである。それらは、システイン残基のスルフヒドリル基間で、単一のタンパク質内（鎖内）またはタンパク質間（鎖間）で形成される¹⁷⁾。いくつかの例外を除いて、 ω 5- および ω 1, 2- グリアジンはシステインを含まず、モノマーとして存在する。ほとんどの α - グリアジンと γ - グリアジンはそれぞれ 6 個と 8 個のシステインを含み、配列セクション III と V の間にまたは間に存在する 3 つまたは 4 つの相同鎖内ジスルフィド結合を形成する（図 2.8）。 α グリアジン構造の 2 次元モデルを図 2.11 に示す。N 末端ドメイン（セクション I および II）にはシステインがなく、その結果、ジスルフィド結合がない。C 末端ドメイン（セクション III, IV, および V）には、2 つの小さな環（AB および C）と大きな環（D）を形成する 3 つの鎖内ジスルフィド結合に参与する 6 つのシステイン残基が含まれる¹⁸⁾。

8 つのシステインを持つ γ - グリアジンは、別々の環 A と B で 4 つの鎖内ジスルフィド結合を形成する¹⁹⁾。LMW-GS には 8 つのシステイン残基が含まれており、そのうち 6 つは、 α - および γ - グリアジンのものと相同な 3 つの鎖内ジスルフィド結合を形成する。セクション I および IV にある 2 つのシステイン残基は LMW-GS に固有であり、それらは主に同じタイプのシステインとの鎖間結合に参与している。同様に、HMW-GS は鎖内および鎖間ジスルフィド結合を形成し、後者はエンドツーエンド重合に参与している。したがって、グルテニン凝集体

は、鎖間ジスルフィド結合で結合された LMW-GS ポリマーと HMW-GS ポリマーで構成されている（図 2.12）。重合は、グルタチオンやシステインなどのいわゆるターミネーターによって停止される。ジスルフィド結合に加えて、水素結合などの非共有結合、および程度の低いイオン結合や疎水結合が複雑なグルテン構造に寄与している⁶⁾。

グルテンのさらなる特徴は、タンパク質の分子量分布が広いことである³⁾。単量体グリアジン（ ω 5-, ω 1, 2-, α -、 γ - グリアジン）の分子量は約 30,000 ～ 55,000 である。モノマーに加えて、アルコール可溶性グリアジン画分には、分子量がおおよそ 60,000 から 600,000 の範囲のオリゴマーが含まれている。それらは、修飾されたグリアジン（奇数のシステインを含む）と鎖間でリンクされた LMW-GS で構成されている。それらは、HMW グリアジン、凝集グリアジン、またはエタノール可溶性グルテニンとは異なる名前が付けられている。アルコール不溶性グルテニン画分には、LMW- および HMW-GS のポリマーが結合しており、分子量が 600,000 から 1,000 万を超える。グルテニンマクロポリマーと呼ばれる最大のポリマーは、自然界で最大のタンパク質に属している可能性がある²⁰⁾。ライムギ粉には小麦粉タンパク質と相同のタンパク質が含まれているが、グルテンを形成する能力は失われている。構造の違い（ジスルフィド構造、分子量分布、モノマーとポリマーの比率など）が理由として議論されている²¹⁾。

さらに、ライムギ粉のアラビノキシラン含有量が高いため、ドウの混合中に貯蔵タンパク質の凝集がライムギグルテンを形成するのを防ぐようである²²⁾。小麦グルテンは実験室で小麦粉と水を混ぜ

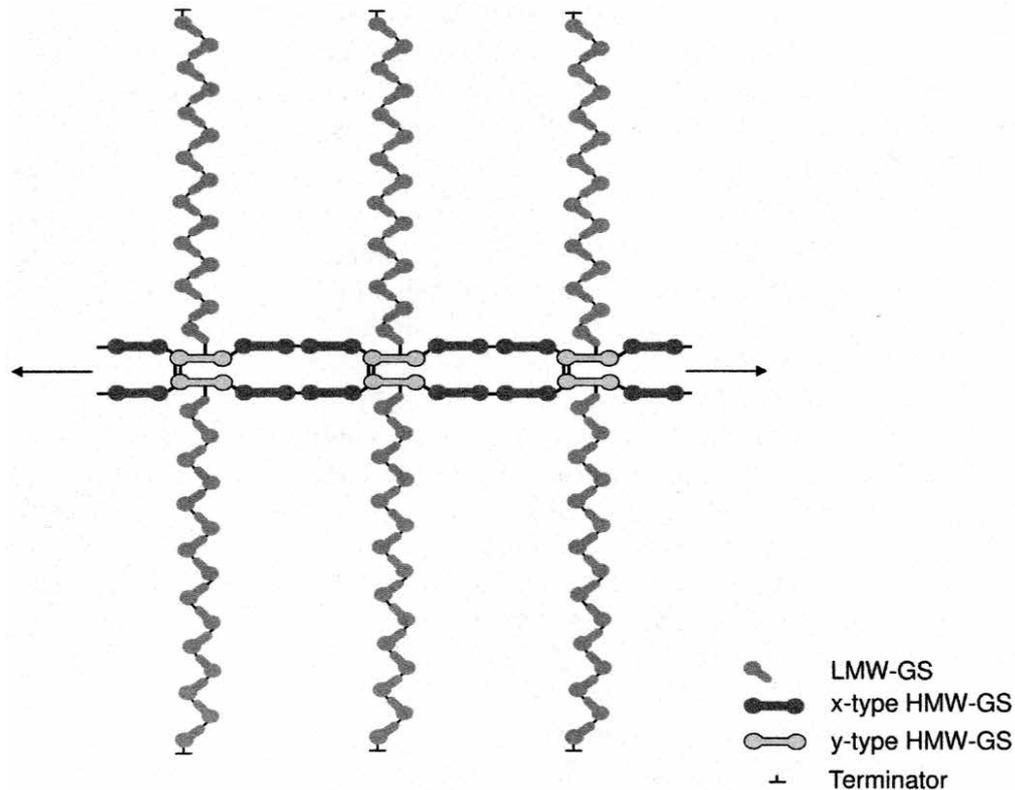


図 2.12 x- と y-type HMW-GS と LMW-GS からなる重合化した glutenin のブロック構造モデル

てドウにし、手動でまたは特定の機器（Glutomatic[®], Perten Instruments）でデンプンと水溶性物質を水流で洗い流すことで簡単に調製できる。このプロセスにより、いわゆるウェットグルテンが得られる。このグルテンは、乾燥させて、粉碎してバイタルグルテンとして知られる製品にすることができる。グルテンの工業的大規模生産は、原則として、単純な実験室手順に似ている：小麦粉からドウまたはバターを準備し、凝集したグルテンをデンプンおよび他の成分から分離し、リングドライヤーでグルテンを乾燥させ、均質化のために粉碎する。重要なグルテンは小麦デンプン生産の重要な副産物である。

市販のグルテンの組成は、出発材料（小麦の種類）およびプロセス条件、特に洗浄の程度に応じて大きく異なる。平均して、バイタルグルテンには、タンパク質 80%、脂質 7%、水 6%、デンプン 5%、アラビノキシラン 1%、および灰 1% が含まれている。伝統的に、食品用途における重要なグルテンの主な使用は、ベーカリーおよび製パン産業であり、現在も続いている。グルテンは小麦粉改良製品の重要な成分であり、高タンパク質含有量と水分吸収、生地取り扱いの改善、パンの品質向上を保証する。さらに、パン屋は、さまざまな量のグルテンを追加し

て、さまざまな焼き製品の要件を満たすことができるため、使用する小麦粉の焼き品質が異なっても、製パンプロセスを標準化できる。

さらに、ペットフード業界ではかなりの量のグルテンが使用されている。CD 患者は、多くの複合食品に「隠れた」グルテンが予期せず存在することに注意する必要がある^{23,24)}。食肉および魚産業は、小麦粉グルテンのユニークな接着性と熱硬化性を、ひき肉、テクスチャー加工肉、肉類、缶詰ハム、ソーセージ、鶏肉ロール、シーフード類などの製品に使用している。水和グルテンのユニークな粘弾性特性は、模造モッツァレラなどの合成チーズの製造に活用できる。グルテンの水結合と増粘特性は、アイスクリーム、インスタントプディング、スープ、ソース、ケチャップ、マリネ、ドレッシングの品質を改善するために使用される。グルテンは、コーンフレークやパフライスなどの朝食用シリアル製造にも使用される。グルテンは、ビタミンやミネラルのサプリメントを結合し、製品の強度とサクサク感を改善するのに役立つ。酸によって部分的に加水分解されたグルテンタンパク質は、高い乳化能力と良好な溶解性を持ち、コーヒークリーマーなどで添加剤として使用される。

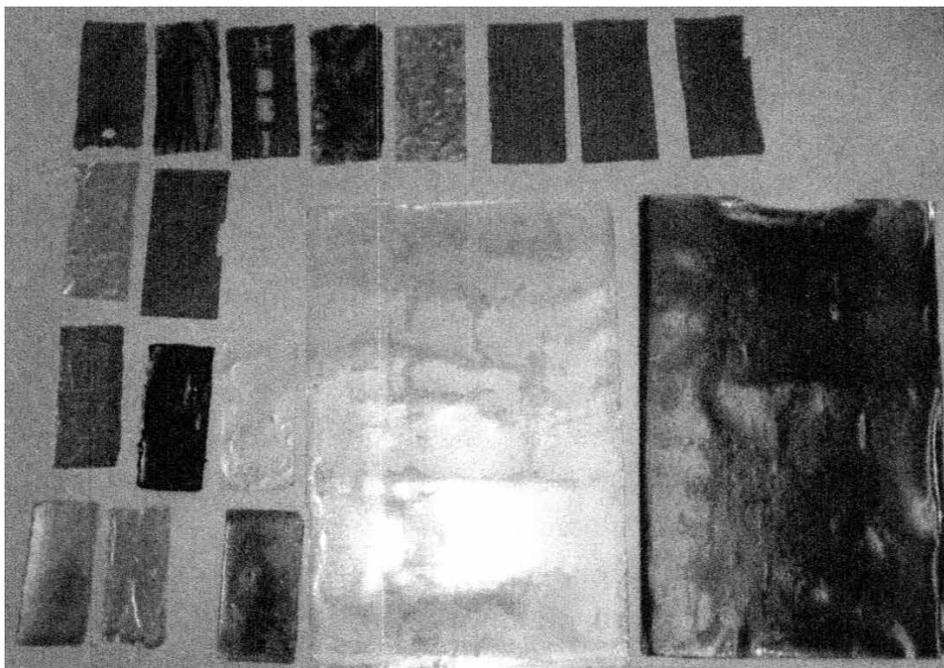


図 2.13 高圧処理後、食品色素で染色したグルテンフィルム

小麦グルテンには、非食品産業でも多くの用途がある（接着剤、コーティング、洗剤、ホイルなど）（図 2.13）。食用グルテン箔（例えば、果物やチーズのコーティング用）が市場に導入された後、コーデックス規格 163-1987 は、本来グルテンを含まない食品へのこれらの箔の使用を禁止した。グルテンは、一部の医薬品、切手糊、および化粧品（口紅など）に含まれている場合がある。アミノ、カルボキシ、カルボキサミド、およびチオール基の化学修飾または酵素処理により、グルテンの粘弾性特性のさまざまなバリエーションが可能になる。また、グルテンは容易に生分解され、再生可能で持続可能な原料から製造されるため、石油ベースのポリマーの代替品としてのグルテンにも関心がある。

2.4. トウモロコシ、米、モロコシ、ヒエの貯蔵

タンパク質トウモロコシ、米、モロコシ、ヒエの貯蔵タンパク質は、小麦、ライムギ、大麦、オートムギの貯蔵タンパク質とは大きく異なる。アミノ酸組成には、グルタミンとプロリンが少なく、ロイシンなどの疎水性アミノ酸が多く含まれている（表 2.2 および 2.3）⁷⁾。トウモロコシ貯蔵タンパク質（ゼイン）は、アルコール可溶性モノマーゼインと、加熱時またはジスルフィド結合の還元後のみアルコール可溶性である架橋ゼインに分類できる。構造の違いによると、ゼインは 4 つのサブクラスに細分

化されている²⁵⁾。主要なサブクラスである α ゼイン（全ゼインの 71～85%）、続いて γ -ゼイン（10～20%）、 β -および δ -ゼイン（各 1～5%）。 α -ゼインは、分子量 19,000 および 22,000 の単量体タンパク質である。それらのアミノ酸配列には、グルタミンとプロリンが豊富な最大 10 個の反復単位が含まれているが、これらは、小麦およびオートムギのものとは異なる。他のサブクラスのゼインはジスルフィド結合によって架橋されており、そのサブユニットの分子量は 18,000 および 27,000 (γ -ゼイン)、18,000 (β -ゼイン)、10,000 (δ -ゼイン) である。ソルガムとヒエの貯蔵タンパク質（カフィリン）は、ゼインと密接に関連しており、類似している。

カフィリンは、溶解度、分子量、およびアミノ酸配列に基づいて、 α 、 β 、 γ 、および δ サブクラスにも細分化される²⁶⁾。 α -カフィリンは単量体タンパク質であり、主要なサブクラスであり、総カフィリンの約 65%～85% を占めている。他のサブクラスのタンパク質は、高度に架橋されており、ジスルフィド結合の還元後のみアルコールに可溶である。平均して、これらのそれぞれは総カフィリンの 10% 未満を占めている。イネ（オリジン）の貯蔵タンパク質は、プロラミンとグルテリンの比が非常に不均衡であるという特徴がある（ $\approx 1:30$ ）。両方の画分は、穀物貯蔵タンパク質の中で最も低いプロリン含有量（約 5mol%）を示している²⁷⁾。プロラミン成分の分

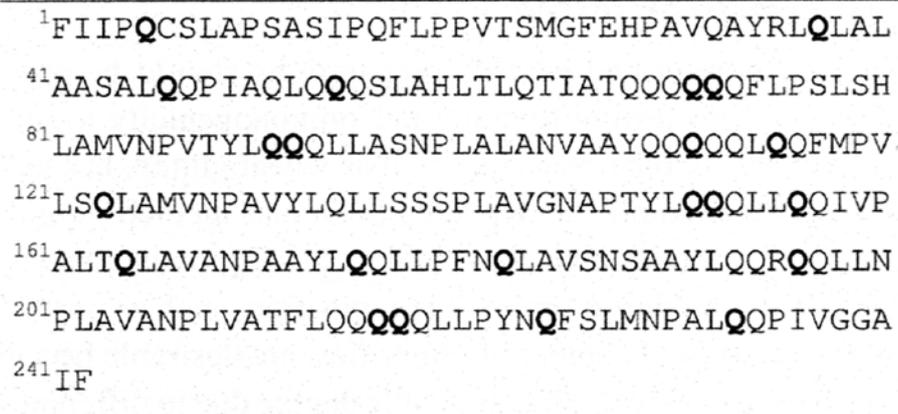


図 2.14 トウモロコシ・ゼイン cZ22A1(28)(accession number Q9SBC4: database Uni Prot KB) のアミノ酸配列, 太字(Q)は潜在的に TG2 で脱アミド化されたグルタミン残基である。

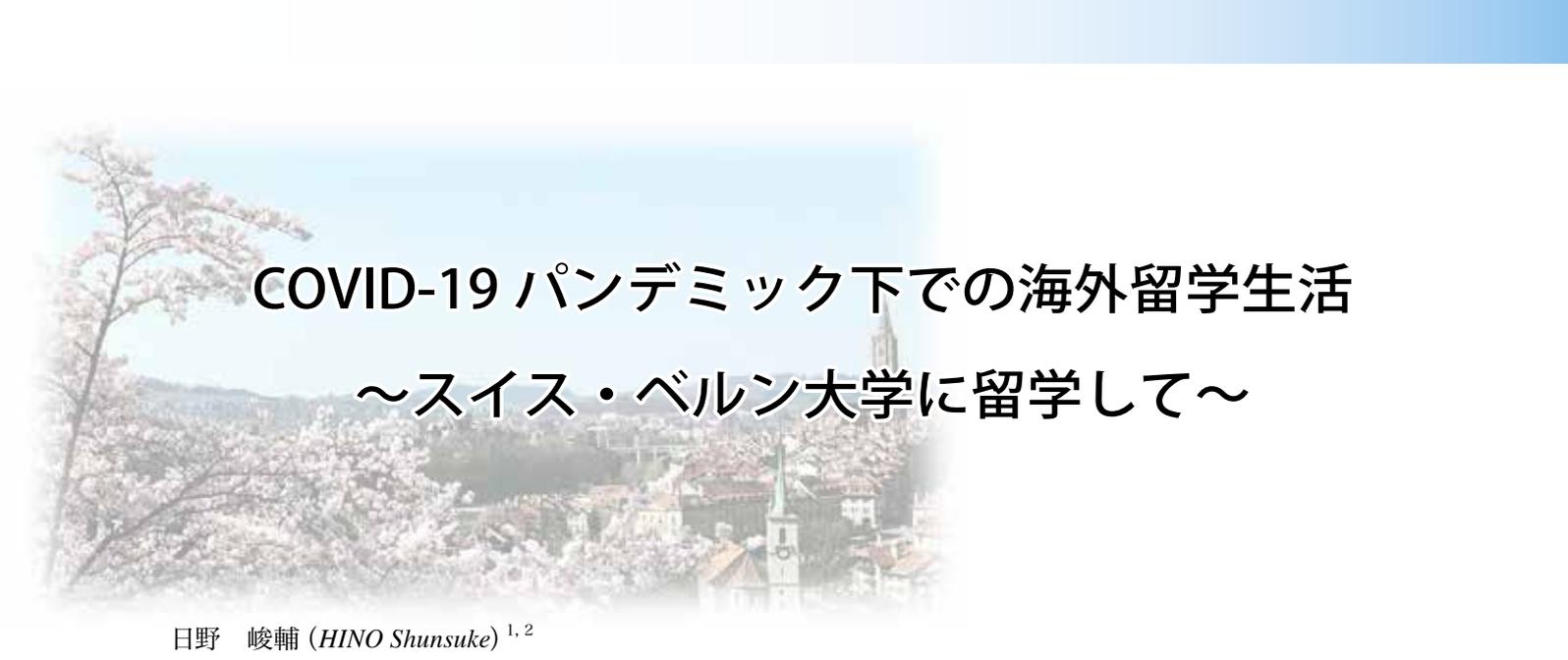
子量は 17,000 から 23,000 の範囲であり, グルテリンサブユニットの分子量は 20,000 から 38,000 の範囲である。トウモロコシ, 米, モロコシ, およびヒエからの貯蔵タンパク質のアミノ酸配列は, 知られている限り, グルテリタンパク質のものとは完全に異なる。図 2.14 は, 例としてのゼイン cZ22A1 (α -ゼイン) の配列を示している²⁸⁾。

グルタミンのアミド分解のアルゴリズムによれば, ゼインは TG2 によって頻繁にアミド分解される。しかし, このタンパク質タイプは消化管の酵素によって十分に消化される。ペプシン, トリプシン, キモトリプシンによるインシリコ (コンピューター上で) フラグメンテーションは, 8 アミノ酸残基 (8 ~ 18, 63 ~ 74, 233 ~ 241) を超える長さの

3 つのペプチドのみを生成する。それらの構造は, HLA-DQ バインディングの要件に適合しない。対照的に, Chabrera-Chavez と共同研究者は, *in silico* 分析により, ゼインの消化性トリプシン消化物中のいくつかの免疫反応性 α -ゼインペプチドを同定した²⁹⁾。彼らは, トウモロコシプロラミンは CD 患者の限られたサブグループにとって有害であり, このサブグループは GFD に加えてトウモロコシフリーの食事療法に従うべきであると仮定した³⁰⁾。しかし, ゼインの前に免疫原性と毒性に関する包括的な *in vivo* および 試験を実施する必要がある, それに対応して, CD 患者に無害な食品成分としてトウモロコシが問題になっている。

References

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat3.fao.org> [accessed December 2013].
2. Bouchenak-Khelladi Y., Salamin N., Savolainen V., Forest F., van der Bank M., Chase M.W. *et al.*: Large multi-gene phylogenetic trees of the grasses (Poaceae): progress towards complete tribal and generic level sampling. *Mol Phylogenet Evol.* 2008; **47**: 488-505.
3. Koehler P., Wieser H.: Chemistry of cereal grains. In: Gobbetti M., Gaenzle M., eds.: Handbook of sourdough biotechnology. New York: Springer; 2013:11-45.
4. Dupont F.M., Vensel W.H., Tanaka C.K., Hurkman W.J., Altenbach S.B.: Deciphering the complexities of the wheat flour proteome using quantitative two-dimensional electrophoresis, three proteases and tandem mass spectrometry. *Proteome Sci.* 2011; **9**: 10.
5. Osborne T.B. Vegetable proteins. London: Longmans Green; 1924.
6. Wieser H., Bushuk W., MacRitchie F.: The glutenins. In: Wrigley C., Bekes F., Bushuk W., eds. Gliadin the unique balance of wheat quality. *St. Paul International*; 2006: 213-240.
7. Wieser H., Seilmeier W., Eggert M., Belitz H.D.: Tryptophangehalt von Getreideproteinen. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1983; **177**: 457-460.
8. Wieser H., Seilmeier W., Belitz H.D.: Vergleichende Untersuchungen über partielle Aminosäuresequenzen von Prolaminen und Glutelinen verschiedener Getreidearten. I. Proteinfractionierung nach Osborne. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1980; **170**: 17-26.
9. Wieser H., Kieffer R.: Correlations of the amount of gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a micro-scale. *J Cereal Sci.* 2001; **34**: 19-27.
10. Gellrich C., Schieberle P., Wieser H.: Biochemical characterization and quantification of the storage protein (secalin) types in rye flour. *Cereal Chem.* 2003; **80**: 102-109.
11. Lange M., Vincze E., Wieser H., Schjoerring J.K., Holm P.B.: Suppression of C-hordein synthesis in barley by antisense constructs results in a more balanced amino acid composition. *J Agric Food Chem.* 2007; **55**: 6074-6081.
12. Wieser H.: Cereal protein chemistry. In: Feighery C., O'Farely C., eds. Gastrointestinal immunology and gluten-sensitive disease. Dublin (Ireland): Oak Tree Press; 1994: 191-202.
13. Payne P.I., Nightingale M.A., Krattinger A.F., Holt L.M.: The polymeric and glutenin: (USA): AACC relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. *J Sci Food Agric.* 1987; **40**: 51-65.
14. Tatham A.S., Mifflin B.J., Shewry P.R.: The β -turn conformation in wheat gluten proteins: relationship to gluten elasticity. *Cereal Chem.* 1985; **62**: 405-412.
15. Bailey C.H.: A translation of Beccari's lecture "concerning grain" (1728). *Cereal Chem.* 1941; **18**: 555-561.
16. Wieser H.: Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiol.* 2007; **24**: 115-119.
17. Grosch W., Wieser H.: Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid. *J Cereal Sci.* 1999; **29**: 1-16.
18. Mueller S., Wieser H.: The location of disulfide bonds in α -type gliadins. *J Cereal Sci.* 1995; **22**: 21-27.
19. Mueller S., Wieser H.: The location of disulfide bonds in monomeric γ -type gliadins. *J Cereal Sci.* 1997; **26**: 169-176.
20. Wrigley C.W.: Biopolymers: giant proteins with flour power. *Nature.* 1996; **381**: 738-739.
21. Koehler P., Wieser H. Comparative studies of high Mr subunits of rye and wheat. III. Localisation of cysteine residues. *J Cereal Sci.* 2000; **32**: 189-197.
22. Eckert B., Amend T., Belitz H.D.: What is unique about wheat gluten? Microscopic observations on flour particles of various cereals. Gluten proteins 1993. Detmold (Germany): Association of Cereal Proteins; 1994: 498-504.
23. Bushuk W., Wadhawan C.: Wheat gluten is good not only for breadmaking. In: Pomeranz Y., ed. Wheat is unique. St. USA): AACC; 1989: 263-275.
24. Day L., Augustin M.A., Batey I.L., Wrigley C.W.: Wheat-gluten uses and industry needs. *Trends Food Sci Technol.* 2006; **17**: 82-90.
25. Esen A.: A proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins (zeins) of maize (*Zea mays* L.). *J Cereal Sci.* 1987; **5**: 117-128.
26. Shull J.M., Watterson J.J., Kirleis A.W.: Proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins (kafirins) of Sorghum bicolor (*L. Moench*) based on molecular weight, solubility, and structure. *J Agric Food Chem.* 1991; **39**: 83-87.
27. Juliano B.O.: Polysaccharides, proteins, lipids. In: Juliano B.O., ed. Rice chemistry and technology. 2nd ed. St. Paul (USA): AACC; 1985: 98-142.
28. Rubenstein I., Geraghty D.E.: The and genetic organization of Paul (MN, zein. In: Pomeranz Y., ed. Advances in cereal science and technology. vol. VIII. St. Paul (USA): AACC; 1986: 297-315.
29. Cabrera-Chavez F., Iametti S., Miriani M., de la Barca A.M.C., Mamone G., Bonomi F.: Maize prolamins resistant to peptic-tryptic digestion maintain immune-recognition by IgA from some celiac disease patients. *Plant Foods Hum Nutr.* 2012; **67**: 24-30.
30. Ortiz-Sanchez J.P., Cabrera-Chavez F., de la Barca A.M.C.: Maize prolamins could induce a gluten-like cellular immune response in some celiac disease patients. *Nutrients.* 2013; **5**: 4174-4183.



COVID-19 パンデミック下での海外留学生活 ～スイス・ベルン大学に留学して～

日野 峻輔 (*HINO Shunsuke*)^{1,2}

Key Words: ベルン, 留学, 新型コロナウイルス感染症, COVID-19, Bern, Switzerland

Studying abroad under the COVID-19 pandemic

Keywords: Bern, Switzerland, Study abroad, COVID-19

*Correspondence author: Shunsuke Hino^{1,2}

Affiliated institution

¹Department of Cranio-Maxillofacial Surgery, Inselspital, Bern University Hospital,
University of Bern, Bern, Switzerland.

²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Saitama Medical Center, Saitama Medical University
1981 Kamoda, Kawagoe, Saitama 350-8550, Japan
Tel & Fax: +81-49-228-3687 E-mail: shunhino@saitama-med.ac.jp

Abstract

Currently, it is very difficult to have international academic exchange during the COVID-19 pandemic. In the midst of such a pandemic, I studied abroad at the University of Bern, Switzerland, and will describe the valuable experiences and circumstances that I was able to gain during my time there.

はじめに

筆者は、2020年7月からスイス・ベルン大学医学部頭蓋顎顔面外科学講座に Clinical and Scientific fellow として留学している。本来は、2020年4月1日から留学開始の予定で3月下旬の出国を予定していたが、スイスならびに日本国内の新型コロナウイルス感染症患者の増加（2020年4月7日第一回目の緊急事態宣言の発令）、スイスのロックダウンならびに外国人に対する入国制限措置の発出、直前で搭乗予定の航空便が運休するなど想定が全く出来ない事態となったため、止むなく延期することとなった。

その後、スイスの滞在許可証所持者の入国許可の確認と、日本・スイス間の航空便の運航再開など状況が改善したこともあり（2021年5月現在、再び日本からの短期滞在許可・旅行者の入国許可は中断）、ベルン大学への留学が可能となった。今回、機会を頂いたのでコロナ禍の現地の状況について報告したいと思う。

* 埼玉医科大学総合医療センター歯科口腔外科
〒350-8550 埼玉県川越市鴨田1981 Tel & Fax: 049-228-3687
e-mail: shunhino@saitama-med.ac.jp



写真1 ベルン市内（奈良県から贈られたソメイヨシノとベルン旧市街・時計塔・旧市街の町並み）

1. スイス・ベルンについて

スイスは永世中立国で知られ、人口は約866万人で周囲をドイツ・フランス・イタリア・オーストリア・リヒテンシュタインに囲まれた内陸国である。WHO（世界保健機関）やIOC（国際オリンピック委員会）、FIFA（国際サッカー連盟）など多数の国際機関の本部が置かれていることで知られ、欧州全域からの交通アクセスもよく、あとに述べる言語圏を含めて、まさに周囲の欧州各国の特徴が入り込む国である。

首都は筆者が滞在しているベルン市である。人口は約14万人でスイスでは4番目の規模の都市である。連邦議事堂があるほか、12世紀末に作られた時計塔や、高さ100メートルの高さの尖塔をもつ大聖堂があり、特に旧市街は中世の姿が現在まで残るとても美しい町並みでユネスコ世界遺産に登録されている（写真1）。またスイスにおける最大の特徴に言語が挙げられる。地理的・歴史的な背景から、各地域で使用言語が異なりドイツ語・フランス語・イタリア語・ロマンシュ語の4つが公用語として使用されている。

筆者が所属する、ベルン大学医学部附属病院（Inselspital, Bern University Hospital）はスイスの首都ベルン市にあり、1354年にAnna Seilerが創設した感染症療養所を起源とした長い歴史をもつ病院である（写真2）。病床は約1000床でスイス国内でも最も規模の大きな病院の1つである。最先端の医療設備を有するほか、高度の救急医療センターを併設し、頻繁に救急車やドクターヘリでの搬送も受け入れている。時にはスイス国外の欧州各国からヘリコプターで搬送されることもあるような医療拠点となる役割を果たしている病院である。医局からは、ベルン市内が一望出来るほか、ユングフラウ、メンヒ、アイガーなどの4000メートル級の急峻なアルプスの高峰を望むことが出来る（写真3）。



写真2 ベルン大学医学部附属病院



写真3 病院内医局から望む景色。アルプスの高峰が望める。

先に述べたように、スイスには言語圏がある。ベルンはドイツ語圏であるが、病院には多様な言語圏で生活している患者が来院するため、医師やスタッフはドイツ語・フランス語・英語・イタリア語を巧みに使い分け、診察や説明をしていることにとっても驚いた。そのような拠点病院であるため、医師やスタッフは強い責任感を持って職務にあたっており、意識の高さを感じることができた。筆者は、頭蓋顎顔面外科学講座（Schädel-, Kiefer- und Gesichtschirurgie; Prof. Dr. Dr. Tateyuki Iizuka）に所属しており、主に頭蓋顎顔面領域の手術、外来診療、研究1に参加し、貴重な経験をさせていただいている（写真4）。

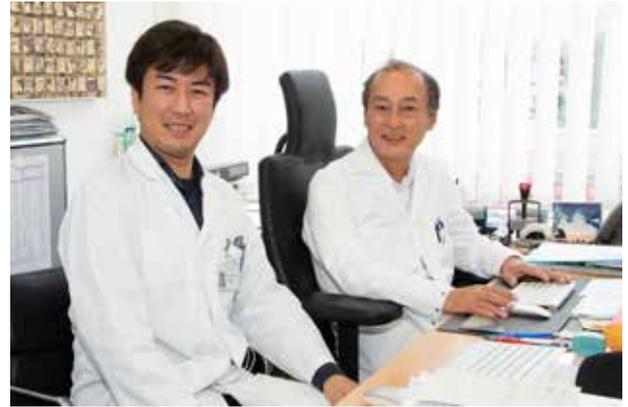


写真4 筆者と Prof. Dr. Dr. Tateyuki Iizuka

2. コロナ禍におけるスイスへの渡航

前述の通り、2020年6月下旬にスイス・チューリッヒ行きの便に搭乘すべく新東京国際空港（成田空港）に向かったが、その行程途中の光景に驚かされた。まず東京駅から乗車した成田エクスプレスは乗客が見渡した限り筆者のみで、空港に到着し向かった出発ロビーにはチューリッヒ便に搭乘するであろう客数名以外はスタッフのみという状況で、今まで見たことがないような閑散としたターミナルであった。航空会社の



写真5 成田空港第一ターミナル制限区域内。大半の店舗が閉鎖され閑散としている。

チェックインカウンターでは、スイス入国許可証の確認と渡航理由を詳細にチェックされ、従来の様な渡航ではないことが伝わってきた。その後、出国手続きをし航空会社ラウンジや免税店が並ぶエリアへ進むが、ここでは免税店がごくわずかに開店するのみで飲食店を含めてほぼ9割以上の店舗が閉店していた（写真5）。仕方なく、搭乗口で時間を潰し搭乗したが、機内の搭乗客は総勢10人に満たない有り様で、皮肉にもスペースを十分過ぎるほど占有し、非常に快適なフライトをすることができた。約12時間のフライト後、チューリッヒに到着したが、入国審査は成田空港でなされた念入りなチェックからは想像出来ないほど全く問題なく通過した。その後は、チューリッヒから鉄道で約1時間移動しベルンに無事到着した。

3. コロナ禍におけるベルンでの生活

スイスは、欧州で新型コロナウイルス（以下、COVID-19）の影響を最も受けた国の1つである。2021年5月1日現在で、感染者数は合計約66万人、死者約1万人である。

筆者がベルンに到着した2020年6月下旬は、日本国内での状況とは全く異なり街中でマスクする人もおらず、店舗も通常営業、レストランのテラス席ではコーヒーやビールを楽しむ人も多く、日本で感じていた状況との違いに驚いたものであったが、次第に公共交通機関内・店舗内のマスク着用義務が発せられた。その後、所謂第二波までの間は比較的落ち着いた生活が出来ていたが、次第に感染者が増加傾向となり、2020年11月2日には1日の感染者数が1万人を突破し一気に緊張感が高まった。その際も、欧州諸国にあるような外出制限などはなかったが、レストランなどの飲食店やスポーツ施設の閉鎖が開始され、容易に観光などに行くことも出来ず病院と家との往復だけの毎日を過ごしていた。



写真6 病院内救急センター外に設けられた COVID-19 検査場

筆者が所属するベルン大学病院での生活自体は変わりなかったが、病床確保のためか手術枠の減少と症例検討会の縮小、論文抄読会の中止など少なからず影響が出た。また病院内の COVID-19 検査場には連日病院敷地外まで達する長い行列が出来ていた（写真6）。街はクリスマスを迎え、本来ならばクリスマスマーケットが各地で開かれ、街はとても賑わうそうだが、飲食物の提供はなく雑貨を扱う露店がわずかに並び、客もまばらな寂しいもので、とても残念であった。新年を迎えてもその影響は変わらず、日用品購入が出来る商店を除き全ての店舗や博物館、美術館などを休業させるほか、在宅勤務を義務付けるなど厳しい措置が再開された。2021年3月に入り

ようやく店舗営業の再開と、4月中旬にようやくレストランのテラス席のみ営業が再開されたような状況である。ちなみに2021年5月現在の病院内は、一部にまだ業務の制限があるものの、手術や外来診療は概ね通常通り行われている。

筆者は感染症専門医でもなければ、COVID-19治療の最前線に立つ医師でもないの、その是非や効果に関する知見を述べる立場にないが、スイスと日本国内での COVID-19 対策で最も違いを感じたことは、所謂 Social distance（最近では Physical distance）の考え方である。日本の小売店やデパートを見ていると、入店ができる人数や他人との接触距離など制限があるわけでもなく、呼び込みなども盛んに行われているように思うが、スイスでは、店舗の広さごとに入店人数が決められており、それを超えた場合は店舗外で距離を保って待機するのが通例である（写真7,8）。まして日本で散見される店員による大声での客の呼び込みなどは皆無で、さらには、マスクの着用に関しても1.5メートルの距離が保てない場合には屋外でもマスクの着用を義務付けるというように、あくまで人と人との距離の確保に重点が置かれている。

また、2020年12月下旬よりいち早く COVID-19 に対するワクチン接種が開始され、75歳以上の高齢者から順に希望者に対して効率良く行われた。筆者も医療従事者の枠で、3月下旬までに2回の予防接種を完了した。申し込みは、接種順位に従い、電話かインターネットで行うことができ、各地域に設けられた接種センターで効率良く行われている印象である。さらには、陽性者を早期に発見するための取り組みとして、2021年4月7日から地域の薬局で COVID-19 の抗原自己検査キットが月5回分を上限として無料で配布されている（写真9）。この簡易検査を自身で行い、結果が陽性となった場合に、個別に PCR 検査の予約を取り



写真7 各店舗入口に設けられた入店制限を表示する液晶モニタ



写真8 チーズ専門店外に距離を取って並ぶ人々



写真 9：無料で配布が開始された COVID-19 抗原迅速検査キット

確定的な結果を判定するものである。このように、日本とは全く違う視点で検査・対策が取られていることを実感している。

4. スイスの食生活

スイスは、日本から見ると非常に物価が高い国の1つである。その一例として、ビックマック指数 (Big Mac index) というものがある²⁾。言わずと知れた世界的ファーストフードチェーンのマクドナルドのメニューであるビックマックの価格をもとに、比較する経済指標のことで、The Economist 誌に 1986 年から毎年報告されている。それによれば、スイスの価格は世界 1 位で 6.5 CHF (日本円換算約 778 円、1CHF=119.71 円として計算) で、日本の 25 位 (390 円) を大きく引き離している。もちろん単品の値段であり、これが飲み物やサイドメニューを追加すると容易に値段が跳ね上がる。その他にも、同じく世界的コーヒーチェーンであるスターバックスでは、やはり日本の約 2 倍の値段がするのである。一般的なレストランで昼食をとった場合でも、簡単に 3000 円を超える値段となることもあり、それだけ外食は、高級レストランでなくても日本からみると費用がかかることがわかる。一方で、スーパーなどの小売店の場合は、外食の値段ほど高額ではなく所謂自炊派にとっては、それなりに節約することができる。

とはいえ、せっかくのスイスでの留学生活ということで、多少なり現地の食事を楽しんでいる。スーパーには、やはりチーズが有名ということもありチーズ専門の売り場が充実し、とても多彩な種類を扱っている (写真 10)。また病院内の職員食堂では、日替わりのピザがあり、その大きさにも驚かされるが生地から目の前の厨房で作った後に、本格的なピザ釜で焼いており、味は職員食堂とは思えぬほど美味し



写真 10：スーパー店舗内のチーズ売り場



写真 11 職員食堂の日替わりピザ・スイス名物料理ラクレット

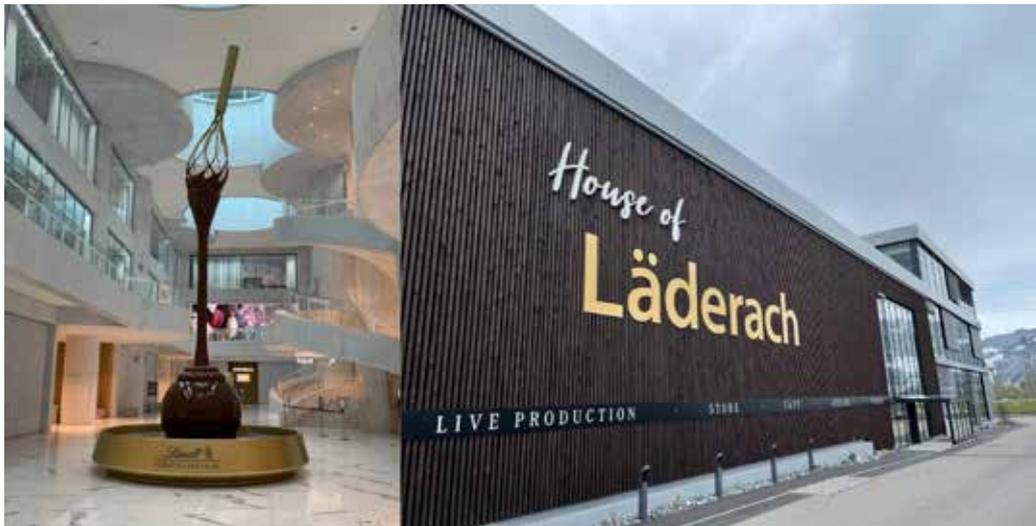


写真 12：スイスを代表するチョコレートメーカーの工場（左；Lindt 社，右；Läderach 社）

く感じる（写真 11）。

また、スイス人が世界で最もチョコレートを食べる国民で、製造量が多いことが知られている。いくつかのブランドは日本でも購入することが出来るが、その数社の工場に休日を利用して見学することが出来た（写真 12）。それらの工場は、長い歴史を持つメーカーが多く、伝統を感じさせられるが、どこも非常に近代的かつ衛生的な施設を有しており、スイスが世界に誇る産業の 1 つであることが、よく認識させられた。

おわりに

今回は、コロナ禍におけるスイス・ベルンでの留学開始から留学中の状況を簡単に報告した。COVID-19 に対する対策や予防の考え方も、日本とスイスで異なる部分があると感じている。日々変化する世界情勢の中での留学生活であるが、このような時期だからこそ学べることが多くあり、とても貴重な経験をさせていただいている。

最後に、このパンデミックが早期に収束することを願ってやまない。

参考文献

1. Hino S, Yamada M, Iijima Y, *et al.*: Change of body composition, physical strength, and nutritional status of patients with mandibular fractures. *J Craniomaxillofac Surg* **49**: 292-297. 2021.
2. Big Mac Index. The Big Book of Dashboards, 210-222. 2017.



ヒラタケが世界のキノコになる？

東京薬科大学名誉教授 岡 希太郎

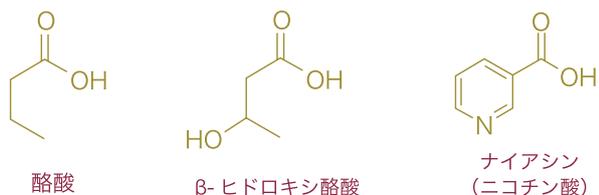
Key Words: ヒラタケ, ナイアシン, ビタミン B₃, 腸内菌, USDA

食べ物としてのキノコの人気は何だろうか？筆者が大学院生だった頃、母校の、とある研究室で、俗名サルノコシカケと呼ばれる霊芝（中医薬のレイシ）の研究が盛んだった。何やら新発見があったようで、水溶性のβ-1,3-グルカンという多糖類が癌に効くとの話題がTVでも報道されたのだが、今では思い出話になってしまった。

今では替りに、キノコはナイアシン（筆者が必死にPRしているニコチン酸のこと）を含む貴重な食べ物であることと、さらに、ごく最近になってからはキノコを食べると腸内菌が活性化するという論文を目にするようになりました¹⁾。

もう1つ、キノコを食べると、腸内の酪酸産生菌が増えるとの論文があります²⁾。この酪酸は、偶然の結果なのですが、腸の上皮細胞のナイアシン受容体（GPR109A）に結合して、主に大腸免疫系のバランスを改善することで、過敏性腸疾患や大腸癌を予防しているとのこと。まとめると、キノコにはナイアシンが含まれていて、食べるとさらに同じ受容体に結合する酪酸ができるのです。この2つにさらにβ-ヒドロキシ酪酸を加えて図1を描いてみました（説明は図に書き込んであります）。

コーヒーとキノコはどちらもナイアシンを含んでいるだけでなく、キノコを食べると、ナイアシンと同じ受容体に結合する酪酸ができてきます。これらはどれもがナイアシン受容体 GPR109A に結合して、潰瘍性大腸炎、過敏性腸疾患、さらには大腸癌の予防に役立っているのです。



これらの腸内菌代謝物は、どれも受容体 GPR109A に結合して、腸管免疫を抗炎症性に調節して、潰瘍性大腸炎や大腸がんの予防に寄与している。また、ごく最近の研究によれば、腸—脳関連に基づく中枢神経疾患の予防と関連している。

図1 腸内菌が作る腸管免疫に寄与する物質

キノコの中でナイアシンを一番多く含んでいるのはヒラタケです。図2に示すように、ナイアシンを含む食べ物は多くありません。普通に、健康的に食べられる量が、ビタミンとしての1日必要量を満たすと思われるものは、更に少なくなります。図2の中でそういう要求を満たしてくれるのはコーヒーとキノコだけです。コーヒーは深煎り、キノコはヒラタケという条件もついてきます。

コーヒーは今や世界の飲料となつて、特に米国での消費量は群を抜いています。ですから米国人の多くはナイアシンをコーヒーに依存しているのです。しかし

ニコチン酸を多く含む食品 (100g)	
コーヒー / 深煎	47.0mg
生キノコ / ヒラタケ	10.7mg
ピーナッツ / 大粒	19.5mg
千葉ワサビノキ / モリンガ	32.2mg



図2 ナイアシン（ニコチン酸）含む食べ物

それだけでは不足であることは明らかで、次なる候補がヒラタケになるかも知れないとの情報は興味深いものです。

米国農務省（USDA）食事ガイドラインにヒラタケが追加される可能性があるとのこと。米国の食品/サプリメント会社ニュートリサイエンスは、「キノコは野菜の一部で栄養素と生理活性化合物の重要な供給源」と主張して、同省の食事ガイドラインにキノコ、特にヒラタケ（Oyster Mushroom）の追加を要望しました。それに先立って、同社は「ヒラタケが含んでいる栄養素の優れている特徴」をまとめた論文を発表したのです³⁾。そして、同社の要望書によれば、米国農務省がホームページに掲載している

「食事ガイドラインピラミッド」に、ヒラタケを加えるように要望したのです。要望の内容は、筆者がピラミッドに加筆して描き込んだようなものです（図3を参照）。また同社の論文によれば、ガイドラインにヒラタケ 84g を追加すると、特にビタミンB₂（リボフラビン）とナイアシン（ニコチン酸）の1日摂取量が、それぞれ18%と11～26%上昇するというものです。

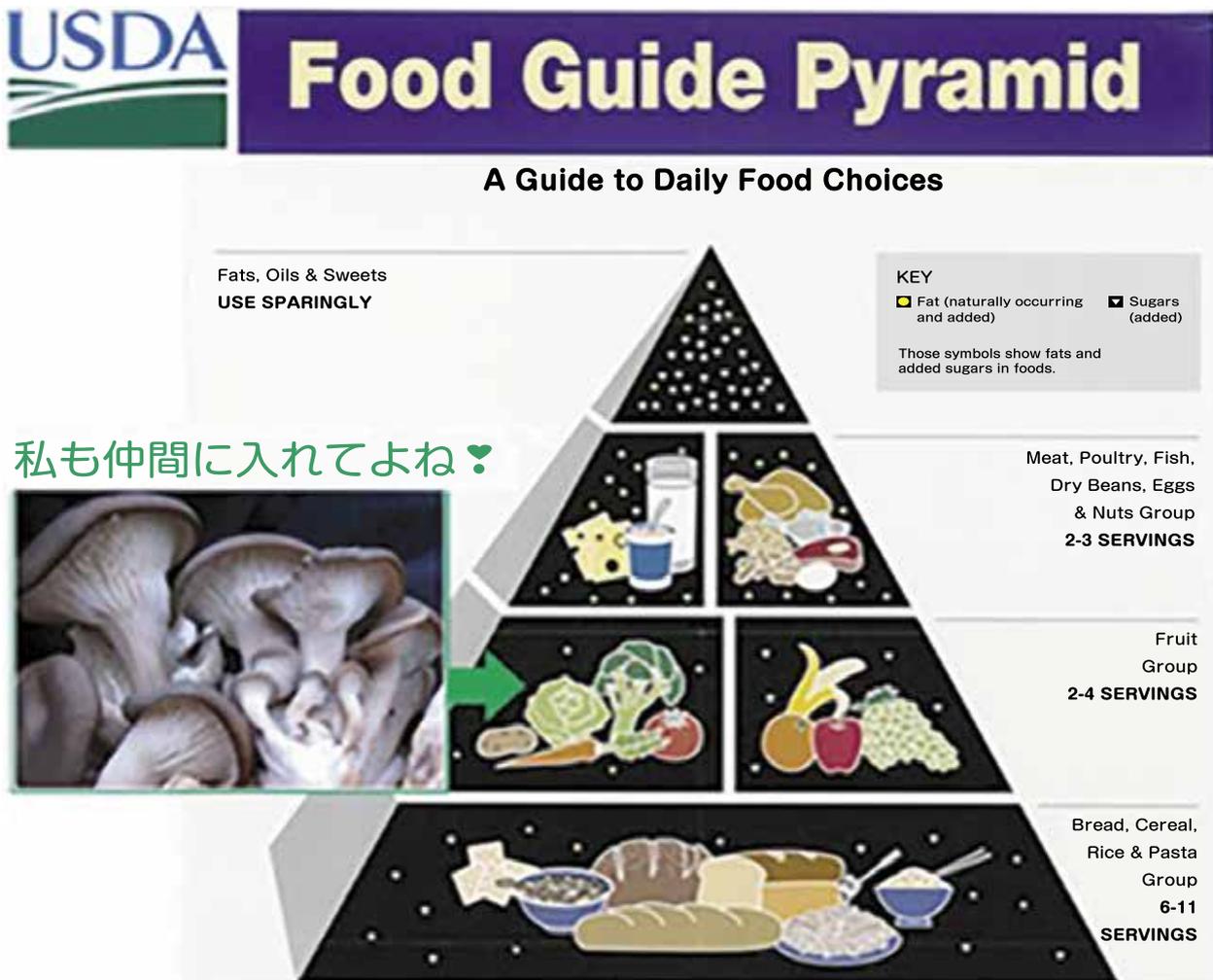


図3 米国の食事ガイドラインピラミッド 要望：2Fにある野菜の部屋にヒラタケを加えて欲しい

話をナイアシンに絞りますと、この11～26%の上昇という数字が何を意味しているかというと、栄養学に詳しい専門家は納得するでしょうが、一般の人は「へえ～ヒラタケってキノコなのお～」ぐらいの受け止め方しかできないと思います。サプリメント大好きな米国の食品会社が、サプリを売るのではなくて、希少なビタミンであるナイアシン（ニコチン酸）を含む植物性食品に注目するのは何故でしょうか？アメリカではナイアシンのサプリメントが安く売られているにも拘らずにです。

そうです、遠回りな話ですが、食品としてはコーヒーとヒラタケしかないナイアシンの大切さを、農務省に宣伝してもらおうとの企業戦略が見て取れます。全国民にナイアシンを知ってもらって、それからヒラタケより手軽に摂れるナイアシン・サプリメントの売り上げ増を狙っているのではないのでしょうか。何ともしたたかな米国企業の戦法です。しかし筆者が思うには、この計画が上手く行く理由として、多くの米国人の高齢化と、それに伴うエネルギー代謝の後退で、フレイルやある種の精神疾患が増えている事実があります。ところで、日本には国産のナイアシンが無く、輸入品も販売されていません。悲しいかなこれが日本の実状なので、高齢者はナイアシンを含む食べ物の重要性について知識を持たないと、やがて日本でもさらなる患者増が確実な高齢者フレイルの恐怖から逃れることは難しいのではないのでしょうか。

若い人は、ナイアシンの代わりにナイアシンアミド（ニコチン酸アミド）を摂れば何の問題もありません。若くて健康な人は、NAD前駆体として、ナイアシンとナイアシンアミドを同等に利用できるからです。ですから若い人は豚肉や牛肉などをそれなりに食べていけばよいのです。しかし、年を取るとナイアシンアミドをNADに変換する酵素が不足するために、高齢者はナイアシンだけが実際にVB₃ということになってしまうのです。

参考文献

1. Morales D, Shetty SA, López-Plaza B, *et al.*: Modulation of human intestinal microbiota in a clinical trial by consumption of a β -D-glucan-enriched extract obtained from *Lentinula edodes*. *Eur J Nutr.* **60**; doi: 10.1007/s00394-021-02504-4. Online ahead of print.
2. Mitsou EK, Saxami G, Stamoulou E, *et al.*: Effects of rich in β -glucans edible mushrooms on aging gut microbiota characteristics: An *in vitro* study. *Clin Trial.* **25**: 2806, 2020.
3. Agarwal S, Fulgoni Iii VL.: Nutritional impact of adding a serving of mushrooms to USDA Food Patterns - a dietary modeling analysis. *Food Nutr Res.* **65**: 5618, 2021.

城西大学薬学部 白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)

ザクロ *Punica granatum* L. (ミソハギ科 Lythraceae)

連絡先：城西大学薬学部
shiratak@josai.ac.jp

梅雨の晴れ間、辺りを散歩していると人家の庭に鮮やかな朱色の花をつけた樹木を見かけることがあります。ザクロは、以前はザクロ科 Punicaceae に分類されていましたが、今ではミソハギ科 Lythraceae に属し、庭木などの観賞用に栽培され、果実は食用になる高さ 5～6m の落葉小高木で樹皮は灰褐色から褐色、生長するにつれ黒っぽくなり、細かく鱗片状に剥がれます。一年枝は 4 稜あり、短枝の先はとげ状になり、葉は対生で楕円形から長楕円形、なめらかで光沢があります。花は子房下位、萼と花弁は 6 枚、雄しべ多数、花弁は薄くてしわしわです。果実は花托の発達したもので球状、果皮は厚く、秋に熟すと赤く硬い外皮が不規則に裂け、赤く透明な多汁性の果肉（仮種皮）の粒が多数現れ、果肉 1 粒ずつの中心に種子があります。ザクロの原産地については、トルコやイランから北インドのヒマラヤ山地にいたる西南アジアとする説、南ヨーロッパ原産とする説、およびカルタゴなど北アフリカ原産とする説などがあります。日本には 9 世紀頃、中国、朝鮮半島経由で渡来したとされています。現在、果物として日本に輸入されているのは、イラン産やカリフォルニア州産が多く輸入品は日本産の果実より大きめのものです。中国語名の「石榴」および「安石榴」とは、「榴」は実が瘤に似ていることに由来し、日本語の「ザクロ」は、石榴、柘榴の字音からと考えられ、また、有力な原産地のひとつとされるティグリス川およびペルシア湾の東方にザグロス山脈があることから「石榴」の字で音訳したともいわれています。木は花木として人気があり果実が熟して割れる美しさから庭木、盆栽などの観賞用に栽培されることが多く、縁起のよい木として庭に植えられ、熟した果実に多数の赤い種子が入っていることから子孫繁栄の意味をもち、世界的にも子宝のシンボルとされています。食用として生食されるのは皮と種子を除いた種衣の部分です。また、果汁をジュースや清涼飲料水のグレナディンの原料とするほか、いろいろな料理に用いられます。

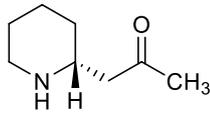
乾燥した樹皮はセキリュウカンピ（石榴幹皮 *Granati Cortex*）、根皮はセキリュウコンピ（石榴根皮



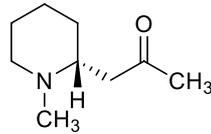
写真 1 ザクロ (花)



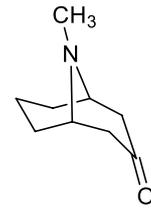
写真 2 ザクロ (果実)



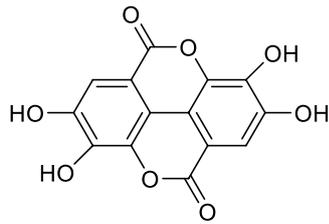
pelletierine
(CAS No. 2858-66-4)



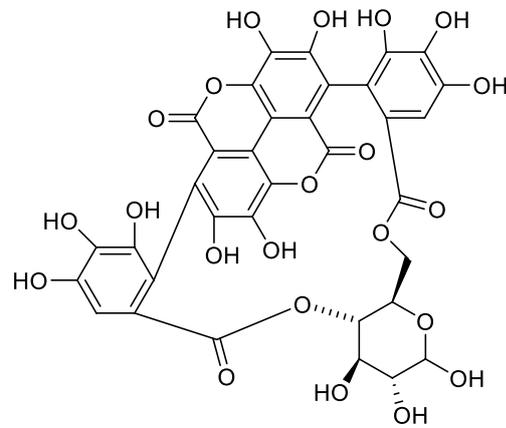
N-methylpelletierine
(CAS No. 40199-45-9)



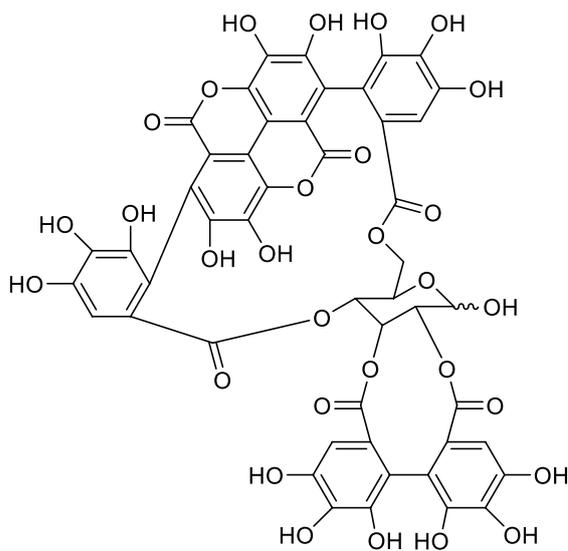
pseudopelletierine
(CAS No. 552-70-5)



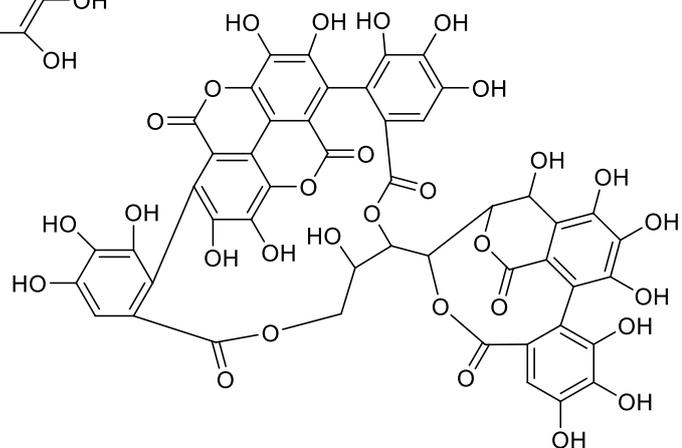
ellagic acid



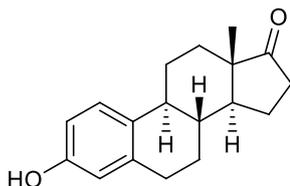
punicalin
(CAS No. 65995-64-4)



punicalagin
(CAS No. 65995-63-3)



puniacortein C
(CAS No. 103488-37-5)



estrone

図1 成分の構造式



写真3 ザクロ（果汁）の入ったジュース



写真4 ザクロ（材）



写真5 生薬 セキリュウヒ（石榴皮）

Granati Radicis Cortex), また, 両者を区別しないでセキリュウヒ（石榴皮 Granati Cortex）といい, 古くから条虫駆除薬（特に有鉤条虫）として用いられてきました。ディオスコリデスの『薬物誌』にも樹皮が駆虫薬として, 日本薬局方には初版より「石榴根皮」として（後にザクロヒ）第7改正まで収載されていました。石榴皮の成分には, 揮発性アルカロイドの pelletierine, N-methylpelletierine, pseudopelletierine など, ellagic acid を構成要素とするエラジタンニンの punicalin, punicalagin, punicacortein C などがあります。『和漢三才図会』では下痢, 下血, 脱肛, 崩漏, 帯下を止めるのに用いるとの記述があり, さらに, 口内炎や扁桃炎のうがい薬にも用いられたそうです。漢方薬では, 石榴根湯（石榴根皮, 苦楝皮, 檳榔子）が駆虫に用いられ, 乾燥した果皮（石榴果皮 Granati Pericarpium）も樹皮や根皮と同様の目的で用いられます（中国では果皮を石榴皮という）。

種子については, 一時, 種子油（酸石榴）にエストロゲン estrogen 様作用があることが見いだされ, この活性がエストロン estrone によることが示され, 更年期障害や乳癌などに対する効果が期待されましたが, エストロンは活性が低く, 経口摂取ではエストロンは肝臓で速やかに代謝されることなどから実質的な効果は疑問視されています。古代ローマでは, ザクロの果皮は皮革をなめすのに用いられたそうですが, これは多量に含まれるタンニンによるものと思われる。また, 材は硬く, 床柱や装飾用の柱に用いられます。

培地成分を吸収する実験に集中しているとのことであつた。山梨大学という研究環境を離れるのであるから、この際に *Sacch.cerevisiae* との対話を経験してみよう、と決心して日本を発った。

研究室の初日、“遠い、遠い日本から来た”

早晩にヒースロー空港に到着し、リムージンバスと列車を乗り継いで西へ向かい、ブリストル市の少し手前にある「バス-スパ (Bath-Spa)」駅で下車した。ローズ教授の研究室へ到着したのは午前中であり、大学院学生達が読んできた文献内容を教授の前で紹介する時間であつた。文献紹介担当者が困惑した表情で、首を傾げながら発音しようとしている物質名がヒオチ酸 (火落酸) だと気がついた。「それはヒオチックアシドと発音します」と発言したが、筆者の第一声であつた。

大きな海外旅行用のカバンを持ち込んできた新参加者が発言したので、好奇心に富んだ眼が集つた。「アルコール飲料の中で日本酒だけが、ある種の乳酸菌に汚染されて黒く腐敗する現象が稀にあり、その現象をヒオチ (火落ち) といっています。その乳酸菌の増殖を引き起こす原因物質がヒオチックアシド、日本語でヒオチ酸とよばれています。国際的に正式な物質名としては、ほぼ同時期に発見報告されてアメリカ人が命名したメバロン酸であり、これはコレステロールが生合成される時の前駆物質です」と、説明した。そして、文献紹介は先へ進んだ。

オーストラリア出身のポールが、「今日は君を歓迎する目的で、研究室の若手全員で昼飯を食べにパブへ行くからそのつもりでいてくれ」、と伝えてくれた。ついでに、君はどこで英会話を学んできたのかと尋ねた。日本でアメリカ人から習ったと答えると、アメリカ流の発音が目立っていたが、それでよかった、と笑顔になった。そのポールの発音は、イギリス人に言わせるとオーストラリア訛りが強いのだそう。

イアンと眼が合ったとき、日本から届いた君の荷物が051室にあるが、どうしてあんなに幾箱もあるのか、と尋ねられた。ある本を読んだら、留学するときには無人島へゆくつもりで身の回りのものを揃えろ、とあつたからだよ、と答えた。それを聞いた連中からは爆笑が起きた。

イギリス人達の心には、近代物質文明の源流は自

分達の国にあり、エジプト、インド、シンガポール、香港という旧植民地を通して世界各地へ広がったという自負がある。英語が日常語としては通用しない“極東の国”日本は、遙か彼方の異文化の国という意識が強い。その意識を持って筆者の発言に興味をそそがれていたところ、日本から見ればイギリス留学は無人島で生活するのと同様といわれ、意表をつかれたらしい。

研究用機器はどこにある？

「この実験台の半分がお前の分だ」といわれたが、周囲を見ても実験器具が何も無い。ガラス器具は学科共通の準備室で受け取ってくるという。使い終わったガラス器具を準備室へ返せば、そこで働く女性達が洗って乾燥してくれるのだそう。試薬類はガラス瓶のまま研究室の一隅に纏められている。研究室を掃除するのは専門職が担当するので、研究室内は出来る限り簡素にしておくのがルールなのだそう。

当然ながら、分析装置は別の部屋にある。それも、日常的に使う装置に限られており、時折しか使わない装置は倉庫に入れてあつた。酵母を培養する恒温室にはマグネチックスターラーが幾つも置いてあつた。その上へ培地を半分ほど入れ、プラスチックで覆われた棒磁石を入れたまま滅菌されている平底フラスコをのせる。棒磁石をフラスコ内で回転させて空気と接触させ、培地組成と温度の均一性を保つという。

筆者の研究室の培養方法とは大違いだった。

アルコール発酵酵母が栄養物質を取り込む速度を測定する

筆者は、アルコール発酵性酵母 (*Sacch.cerevisiae*) が、タンパク質を構成するアミノ酸のひとつであるセリン (serine) を細胞内へ吸収する速度 (取り込み速度) を測定する実験を担当した。炭素骨格に放射性同位元素である ^{14}C が入ったセリンを溶液にしておき、そこへ増殖途上の酵母を入れる。1分おきにサンプルを取り出してメンブランフィルターで濾過・洗浄をし、集めた菌体に取り込まれたセリン量を放射線量から測定した。1分おきにサンプルをとったのは、横軸に時間をとり、縦軸に測定した放射線量をとったグラフ用紙に測定点を書き込むと、

測定点を結んでできる傾斜から取り込み速度が計算できるからである。

日本では、放射性同位元素の使用は、使用者の健康管理と環境汚染を考慮して、特定の建物内で扱い、廃液の回収までを含めた厳重な管理下でしか許可されていない。ところが、イギリスでは卒業論文研究の学生を含めて、多数の実験者が日常的に使っており、廃液は一般下水に流されていた。帰国後に新聞記事で知った内容だが、イギリス近海で取れた魚には、放射性同位元素が多く含まれているという。さもありなん、と納得できた。

早朝実験は得意技

イギリスの大学では9月に新学年が始まる。筆者がバス大学へ到着したのが11月初旬だったから、その頃には研究室に所属する全員が実験をしていた。問題は、アミノ酸の取り込み実験をする装置が、研究室に1台しかないところにあった。その装置を使う順番表を見ると、午前、午後共に既に満員状態であり、筆者が割り込める余地はなかった。

しばらくはフランスから留学していたクロードと大学院学生のフィリップの実験時間に見学し、本来なら自分で予備実験を繰り返して身につけるべき手技を、頭の中に叩きこんだ。見学と平行して、実験に使用する菌株を培地へ植え付け、増殖経過を記録した。その記録を基にし、前培養から本培養へ入るまでの時間の取り方、本培養へ入るときに植え込む細胞量と増殖速度等の生理学的基礎データを集めた。

実験装置が使える時間帯は夜中か早朝しかない。“そうした事情なら”，と大学院学生時代には得意技にしていた早朝実験を選び、午前9時前には実験を終了することにした。早朝実験では、研究室内にある全ての装置を、競合者が無く自由に使える利点がある。企業にお世話になっていた頃でも、いざというときには早朝実験をしていたので、時間割を立てることに何のためらいもなかった。

単身赴任の留学だったので、前の晩に自分で用意しておいた朝食を午前4時に起床して腹に詰め込み、約40分歩いて大学へ行く。5時過ぎからは実験に使う酵母の増殖経過を確かめる。増殖経過から取り込み実験を開始できるのは何時何分かを見極め、その時刻までに実験に使用する道具を身の回り

に揃える。取り込み実験を終了し、放射線量を測定する液体シンチレーションカウンターに測定試料をセットし終わるころに、午前中に装置を使用する予定者が現れる。前の日の実験でセットしておいた試料の放射線測定結果から、アミノ酸の取り込み速度を計算して昼食。計算結果をグラフに書き、考察を書いて午後2時頃には研究室を後にし、下町へ出て生活用品を購入する。そんな時間配分なら、1週間に3～4回の実験ができた。

思わぬ伏兵に足をすくわれる

順調に進んでいると考えていた実験を、酵母の増殖速度が不安定になったことで中止した。日常的に細胞増殖の経過を観察して「酵母との対話」をしてきた習慣が、“これは異常だ”と感じさせた。アレコレ思い当たるところを修正したが、酵母の増殖経過は一定にならなかった。最後に、菌株を一手に管理しているアシスタントに、実験に使う種菌をもう一度分けて欲しいと頼んだ。寒天斜面培地に植えてもらった種菌を25°Cの恒温室で培養し、2日後に見ると、明らかに色が異なる縞模様になっていた。

研究室全体の世話役になっていたマイケルに、その縞模様を見てもらった。彼は驚愕し、どの時点で雑菌が混入した疑いがあるという筆者の意見を、深刻な眼差しで受け止めた。酵母の増殖速度が一定だった実験だけを選んで、極めて内輪な筆者のレポートとした。

筆者の帰国が迫った頃、スペインからルーカスがやってきた。彼はこの研究室から何年前に出されていた研究論文に、ぜひとも使ってみよう菌株が記載されていたから来たのだという。筆者の帰国後、彼は希望していた菌株を使って実験を始めたが、論文に書かれていたような菌株特性が出てこないと言いつつ、肩を落として帰国したという。

ローズ教授には何時もきめ細かく面倒を見ていただいた。その教授の許で実験した内容が、考えられないような事情で研究論文として発表できなかったのである。筆者が帰国する直前に、昔はサッカー選手として有名だったという教授のお父さんが他界された。色々と重なったので、「私は疲れたよ、まだ妻のジェーンには言っていないが、早く引退したいと考えている」と小声で洩らしていた。

2. ワイン発酵用酵母の亜硫酸耐性

帰国して1週間ばかりは、雑用に追われた。それから徐々に、留守中の研究室の実験経過を聞き、翌月からの活動計画を立てていた。その中で、日本で広く使われていたワイン醸造用酵母 OC2 株の、亜硫酸耐性に関するデータを取っていた研究生の実験の進め方が気がかりだった。実験目的とデータの取り方を聞き、細かい実験方法を説明してもらったが、どうしても納得できないところが残った。

実験に使っていた培地は Wickerham の合成培地であり、しかもオートクレーブ殺菌をする前に pH を 7.0 に調整していた。この培地へ種酵母を植え付ければ、細胞増殖に伴って培地の pH は 3.0 以下にまで低下する (図 2)。一方、亜硫酸は弱酸なので、pH の低下と共に全亜硫酸量に対する水素イオンの解離比率が変化し、亜硫酸の荷電状態も変化する。亜硫酸が細胞に対して示す毒性は、荷電状態が変わるはずであるから、亜硫酸耐性試験を行うには、pH を 7 に調整した Wickerham の合成培地は不適当である、と考えられた。

研究生は大学院進学を希望していただけに、4 年生で行った実験の結果が修士課程で行う実験方向にまで響いてくる。こちらからいろいろと質問をし、質問する背景までを話すうちに、本人も自分の実験

の進め方に論理性を欠いていることに気がついた。それからはひとつの実験が終了する毎に報告書を提出するように義務付け、そこに書かれたデータを中心にした討論をすると決めた。

ワイン醸造と亜硫酸

ワインの原料になるブドウは屋外で栽培されるだけに、果実の表面にはさまざまな微生物が付着している。ブドウ果実の中に含まれる糖分 (主としてブドウ糖) は、大部分の微生物にとって最良の炭素源になる。それだけに、ブドウ果実をつぶし、果汁をアルコール発酵させてワインにするには、雑菌の増殖は抑制したいが、アルコール発酵を進める酵母には増殖阻害がおきないように管理する必要がある。

硫黄を空気中で燃すと、二酸化硫黄 (SO_2) のガス (亜硫酸ガス) が発生する。このガスをそのまま人間が吸い込めば、たちまち息が詰まり、激しい咳が出る猛毒である。そのガスをブドウ果汁に適量加えると、空気中の酸素によるブドウ果汁の酸化を防止でき、果皮および発酵槽に付いた雑菌の大多数が死滅する。ところがアルコール発酵の主役を演ずる *Sacch.cerevisiae* は比較的耐性が強いので生き残り、純粋培養に近い状態でアルコール発酵が進む。発酵後も残留している亜硫酸は、ワインが熟成する間に空気と接触して起こる酸化を防止して優良なワイン製品とし、さらに保存中もワインの酸化を防止する。

ワインを醸造する目的で選抜されたワイン醸造用酵母は、二酸化硫黄が水に溶けた状態の亜硫酸 (H_2SO_3) に対する耐性が強いと利用しやすいといわれていた。日本でワイン醸造用酵母として選抜された菌株は幾つかあるが、長く使われてきた菌株が *Sacch. cerevisiae* OC2 株である。その OC2 株の亜硫酸耐性を調べるのが、前記の学生の卒業論文課題となっていた。

ブドウ果汁が持つ酸性度 (pH) に合わせた培地を作る

ブドウの果実を口の中で噛むと、やや酸味の強い果汁が出てくる。ワイン発酵はその酸味が強い環境下で進むのであるから、実験室でワイン酵母の亜硫酸耐性を試験するにも、酸性度 (pH) をブドウ果汁と同じにする必要があるだろう。ところ

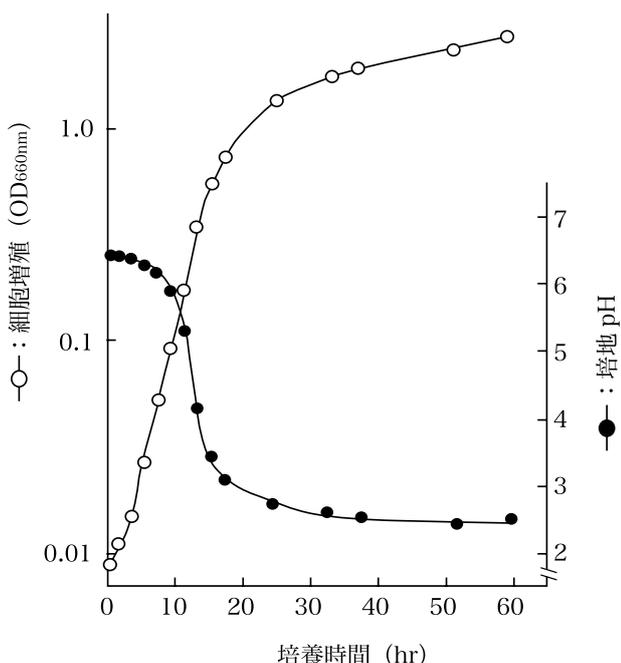


図2 pHを中性付近にしたWickerhamの合成培地へワイン醸造用酵母を培養したときの細胞増殖にともなう培地pHの変化

が、それまでに幾つかの研究室で行われてきた亜硫酸耐性試験では、培養初発時の pH が中性の培地を使っていた。

すでに何人も研究者が使った方法だからといって、文献に書かれた実験方法を無批判で自分の実験に採用するのでは、進歩は生まれない。個々の実験者、研究者が“自分ならこうする”という新しい発想から研究手段を案出し、試みる気概があつてこそ進歩につながる。

生のブドウ果汁が得られるのは夏の終わりから秋の終わり頃までであつて、実験室で日常的に使用できないのは確かである。だからといって、一般的な酵母培養用に広く使われている培地で代用するのでは飛躍が大きすぎる、というのが筆者の見方であつた。

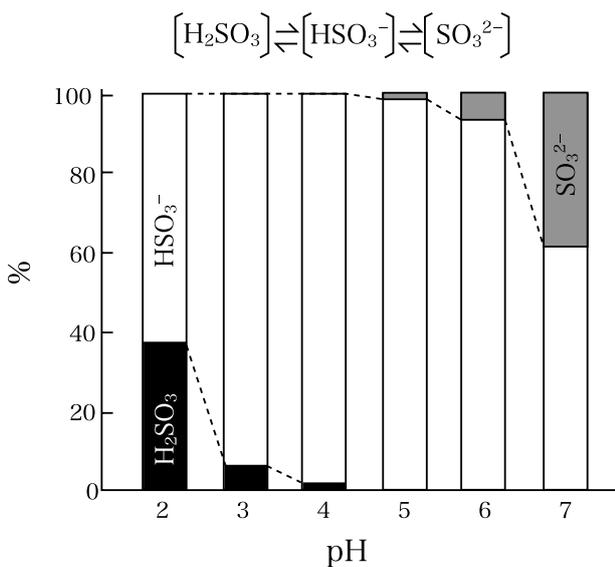
ブドウ果汁の pH は、果実の熟度や品種によって異なる。大まかにいえば、pH 3 から pH 4 の間である。果汁とほぼ等しい組成を持つ合成培地を作るには、果汁を分析した多数の参考データを入手しなければならない。そうしたデータを収集できたとしても、それらから得られた資料が絶対的な信頼性を与えるとは限らない。ブドウ果実の良し悪しは年ごとに異なる降水量や日照時間に左右されるから、それを原料にして製造したワインは何年産であるかが、愛好家がワインを評価するひとつの基準になっているほどである。仮に、信頼できる分析データが揃つ

たとしても、ブドウ果汁に特有な成分を試薬として入手するには困難が伴うであろう。

異論が出てくることは覚悟のうえで、少なくとも pH だけはブドウ果汁に近い合成培地を作ることにした。pH にこだわったのは、先にも述べたように、二酸化硫黄が水に溶けた状態の亜硫酸 (H_2SO_3) は弱酸なので、水素イオンが解離する率が pH によって変化するからである (図 3)。その解離の程度によって酵母細胞に対する毒性が変化する、という事情が大きかつた。

新しい合成培地を得るのに参考になつたのは、*L. starkeyi* の特性を発揮できる培地の開発過程で集積した経験であつた。培地の pH に大きく関わるのは、窒素源として硫安 (硫酸アンモニウム) を使うところにあつた。酵母はアンモニウムイオンの利用量が大きいのに、硫酸イオンの利用量が少ない。したがつて、酵母の増殖が進むにつれて培地中のイオン構成は硫酸の残存量の影響が強くなり、培地は酸性へ傾く。

まず、Wickerham が提案した合成培地を基準にして改良を重ねる方針を持った。窒素源として加える無機塩を硫酸アンモニウムから、炭酸アンモニウム $(NH_4)_2CO_3$ に置き換えた。次に、*Sacch. cerevisiae* の生育に必要な幾つかのビタミン類を加



Henderson-Hasselbalch の式に $pK_{a1}=1.77$ 、 $pK_{a2}=7.22$ を適用して計算

図 3 pH に依存した亜硫酸の解離状態 (%)

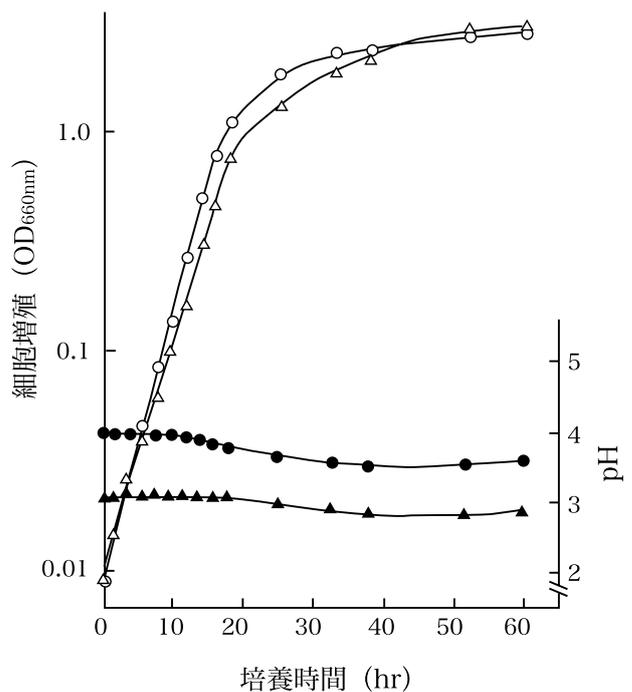


図 4 酒石酸あるいは乳酸で初発 pH を 3 あるいは 4 に緩衝化した培地で *Sacch. cerevisiae* を培養したときの細胞増殖と培地 pH の変化

えた上で、pHを3付近に保ちたい培地には酒石酸を加え、pHを4付近に保ちたい培地には乳酸を加えた。両培地共に、pHは2N水酸化カリウム(KOH)で調整した。酒石酸と乳酸を培地pHの変動を小さくする緩衝剤として使ったのは、それぞれのpKa値が3あるいは4に近かったからである。

これらの新しく開発した培地を使うと、酵母培養中の培地pHの変動巾が狭くなった(図4)。これらの培地を使うワイン酵母の亜硫酸耐性を測定する方法をまとめ、研究論文として発表した(Uzukaら, *J. Ferment. Technol.*, **63** 107-114, 1985 ほか関連論文2報)。

3. オーストラリアのワイン学会から招待状が届いた

研究論文として報告した亜硫酸耐性測定法には、思いがけない反響があった。ひとつは、これらの培地を「兎束培地」と呼称して、酵母の亜硫酸耐性に関する遺伝学的解析を進歩させた論文が出版された。研究者として、自分の名前を付けて呼ばれる内容を持たせたことは、まことに幸運であった。いや、むしろそのように名付けて下さった方々に、筆者のほうからお礼を申し上げたい気持ち一杯である。

次に、オーストラリアのワイン学会から招待講演の依頼状が届いた。オーストラリアではヨーロッパからの移民とその子孫達が盛んにワインを生産しており、生産物の輸出先を広げようとしていた。輸出相手国として日本が注目されていたという事情があったからか、旅費と最高級ホテルの滞在費を全額負担して招待するという招請状が届いたときには、眼を疑い、心臓が高鳴った。喜んでお受けすると返信した。

日本の真夏は南半球のオーストラリアでは真冬である。ワイン生産者にとっては年間で最も時間的余裕が持てる真冬に、年次学会を開いていた。無事に講演を済ませてからは、学会が開かれたサウス・オーストラリア州のアデレード市から、約2,000 kmに及ぶドライブ旅行で各地のワイナリーを訪ねた。案内と運転をして下さったグレイアムリンドさんとは、彼が糖尿病で急死するまで交流が続き、彼が日本へ来た時には筆者が運転手となって、山梨県内外の歴史的建造物と日本酒醸造所等へ案内し、説明した。

4. 絶対的嫌気条件でアルコール発酵酵母を培養する

イギリスのバス大学では、2, 3の大学院生が絶対的嫌気条件下でアルコール発酵酵母を培養していた。培地へ通気をしないという単純な条件ではなく、ボンベに詰められた窒素ガスを、さらに金属鉛と反応触媒を加えた酸素除去装置に通し、痕跡ほどの酸素も残さない窒素ガスを気相にした条件で酵母を培養するのである。

山梨大学へ帰り、機械工場の主任に、直径1 mm程度の鉛のワイヤが入手できるか聞いてみた。機械工場へ出入りする業者が扱っていると分かったので購入し、ワイン酵母のOC2株が絶対的嫌気条件下でも増殖するかを、修士学の研究生に試験をしてもらった。

そして緻密な実験を繰り返し、絶対的嫌気条件下では、不飽和脂肪酸とステロールを培地へ与えないと増殖しないという結論に達した。

5. インドの学会が縁で、安価な連続アルコール発酵装置を開発

イギリスへ留学中に、インドからきた研究者と出会った。ダレル・シン・ダヒヤさんといい、首都のニューデリーから北西へ50 kmほどのパキスタン国境に近いハリアナ州ヒサル市にある、ハリアナ農業大学の微生物学科の教授だった。ちょっとした言葉を交わした程度で、記憶の隅にかろうじて留まっていた名前だが、約10年後に突然手紙が来た。

航空郵便封筒ながら、日本の切手を貼った不思議な手紙であり、数日後には山梨大学へ訪ねてくるという。単なる旧交を温める目的かと思ったら、来意はインドで開かれる国際酵母シンポジウムに来て発表しないか、というお誘いだった。多少のためらいはあったが、開催時期が2月末だと聞いて、入学試験と学年末試験の合間だから何とか出席できると返事をしておいた。

インドの夏は暑い、2月は雨が少なく、朝夕は上着が手放せないほどの気候なので、快適な日々を過ごした。ところが、国際シンポジウム(International Symposium)の筈が、いつの間にかInter-が削られて、National Symposiumに変身していた。さらに、筆者は現地に着いているのにプログラムの配布がない。聞いてみると、この国の交通事情は複雑なので、何処から何日に講演希望者

が到着するのかわからないという。朝になって登録を済ませた講演希望者の中から適当に選んでプログラムを作るという。これがお国柄か、と胸に納めた。

シンポジウムは酵母を中心にすえていたので、*L. starkeyi* による油脂の蓄積には培地に加える微量金属イオンの濃度が重要である、という講演を用意していた。第2日目の朝、ダヒヤさんから今日の午後に20分の講演をするようにと伝えられた。それを済ませたら、今度は前触れなしで座長をしろという。座長役は楽だった。国際会議で日本人に発言させるのとインド人を黙らせるのは難しい、といわれるように、講演が終わると次々と手が上がり口角泡を飛ばす議論が始まる。座長は討論時間終了の合図をするだけでよかった。

うんざりするほどの議論の中心は、アガロースで固定化した酵母を使って連続アルコール発酵をさせるところにあった。アガロースは北米西海岸に自生する海草からとった酸性多糖であり、水に入れると酸性の粘液になる。水に代わってアルコール発酵性酵母の懸濁液を使い、粘液を塩化カルシウム水溶液に滴下すると、アガロースの酸性基はカルシウムと結合して硬くなる。その結果、アガロースのビーズの中に酵母が閉じ込められ、固定化酵母になる。ビーズ状の固定化酵母を筒につめ、糖の溶液を連続的に流すと、糖はビーズの中に沁み込んで酵母は連続的にアルコール発酵をする、という原理である。

議論から出てきた結論は、確かに連続アルコール発酵は起こるが、アガロースの価格が高いので、採算が取れないという現実の厳しさだった。シンポジウムの最後に、招待講演者として批評をしると、突然いわれた。議論が集中した固定化酵母による連続アルコール発酵を模索するなら、固定化材としてアガロースだけを考えるのではなく、インドの国内で産出する安価な物質を上手に利用した新しい方法を考え出してほしい、と希望を出しておいた。

他人様に新しい方法を考えろと発言しながら、自分では何もしないのでは卑怯のそしりを免れない。翌年度、新しい卒業論文学生として研究室に入ってきた研究生が、修士課程まで進学する希望を持っていたので、彼に一計を授けた。

L. starkeyi は、自然界では土壤の中で生活している酵母であり、土壤粒子に吸着されている。アルコール発酵をする *Sacch. cerevisiae* も土壤粒子に吸

着されるだろうか、という期待を込めて実験をしてもらった。間違いなく、しかも大量に吸着されるというデータが得られた。これで方針は定まった。

園芸用の赤玉土をモデル土壤にすると、赤玉土の表面は土壤粒子がむき出しになっているから、そこへ酵母が吸着される。赤玉土は植木鉢に入れて植物を育てても形が崩れない程度の強度をもっている。これを太目のガラス管に詰めて酵母の懸濁液を流し込めば、酵母細胞は赤玉土の表面に吸着され、固定化酵母ができる。あとは糖液をゆっくりと流せば、連続アルコール発酵になる、という原理である。彼は全く手を抜かずに着実に実験を進め、この原理が実用に耐える技術になることを証明した。

市販の赤玉土を酵母担体にするには、実験に使う前に、赤玉土が吸着していた自然界に由来する雑菌を退治しておく必要があった。殺菌には、希釈したホルマリン溶液を、赤玉土を詰めたガラス管へ流して達成できた。

そこへいきなり酵母を吸着させれば、残留してい

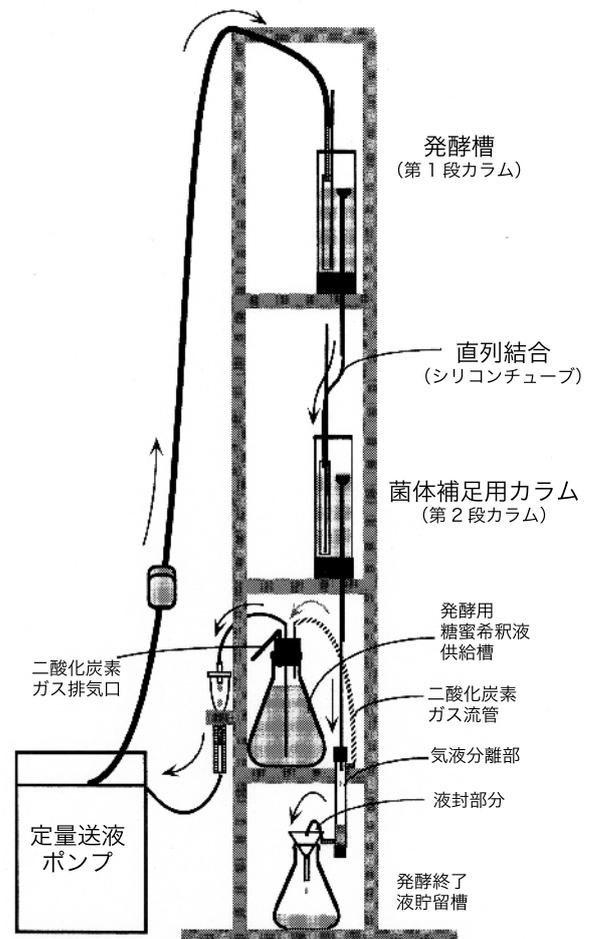


図5 赤玉土を酵母固定相とした連続アルコール発酵装置の概念図

たホルマリンの毒性で酵母が死んでしまう。ホルマリンの毒性を消去するには、亜硫酸塩の水溶液を流せば、ホルマリンと亜硫酸が付加反応で結びつき、両試薬が持っていた細胞毒を相殺できた。ワイン醸造用酵母の *Sacch. cerevisiae* には亜硫酸耐性があるから、亜硫酸が少々残っているガラス管の中でも死滅には至らない。これはワイン醸造では亜硫酸が重要な役割を果たす、という知識が身近にあったからこそ完成できた技術である。

彼はどこの研究室でも簡単に入手できる物品ばかりを利用し、連続発酵装置を作りあげた (図5)。この装置へサトウキビの搾汁から粗糖の結晶を取り除いた廃糖蜜を適宜希釈して送ると、連続1,500時間以上の連続運転に耐えた。

この技術は平素大変お世話になっていた、アルコール飲料会社に全てのデータをお渡しして、特許にさせていただいた。

II. 新しい孢子形成用培地を作る

1. 孢子形成を期待した作業は失敗の連続

酵母 *L. starkeyi* を研究対象にして活動を開始したところから、この酵母の発見者である R.L. Starkey 博士の論文に、孢子形成用培地が記載されているのは心得ていた。その培地には窒素源を与えず、炭素源をエタノール (あるいは乳糖:ラクトース) とし、幾つかの無機塩類が組み合わされていた。

そのエタノール培地を使って孢子を作らせ、孢子を1個ずつ分離した上で、それらから発芽する細胞を増殖させれば、油脂の蓄積が盛んな菌株と不得意な菌株とを選び出せるのではないかと考えた時期があった。単一の孢子から発芽させた幾つかの細胞から、高等動植物の精子と卵子のように性が異なる系統が分離できれば、交配による育種 (改良品種の育成) も夢ではないという、ほのかな希望も持ってもいた。

ところが、年度を変えて何人もの卒業論文学生に孢子形成を試みてもらったが、誰一人として成功しなかった。眼を酵母全体に広げた。孢子形成をしなくなった酵母に再び孢子を形成させるのに成功した、と報告されている幾種類かの培地を探し出して使ってみた。残念ながら、我が目で孢子形成を確認するには至らなかった。

研究に使用する菌株を変更する

そのころ別の問題が浮上した。実験に使っていた菌株 IAM4753 が、分譲元である東京大学応用微生物研究所 (Institute of Applied Microbiology) の組織変更に伴って、菌株の分譲を停止してしまった。

分譲停止になった菌株を使って自分達の研究を継続しても、だれも追試ができない自己満足研究になるから、研究潮流からは取り残される運命にある。それまでの研究で IAM4753 株を使っていたのは、筆者の前任者がこの菌株を使っていたから、というだけの理由である。ならば、この際に由緒正しい type strain と認定されている菌株を自分の実験にも使おう、と決心した。

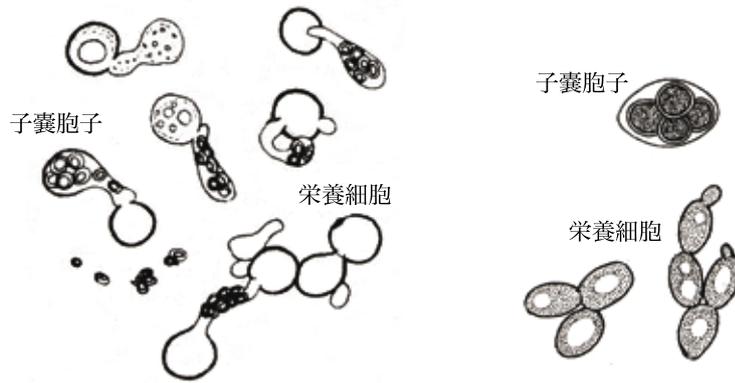
由緒正しい菌株が示した性質

Type strain として入手したのは、R.L. Starkey 博士が初めて土壌から分離して学術論文として印刷公表した菌株である。オランダにあって世界中の酵母の type strain を保存・分譲している CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures) から分譲を受けた 1807 株こそが、*L. starkeyi* の type strain である。

“この際だから”と決心して、IAM4753 株の実験では 30°C で培養していたのを、それ以後の実験では酵母の研究で広く使われている 25°C 培養に切り替えた。そして、この CBS1807 株なら、R.L. Starkey 博士が報告した無窒素エタノール培地を使えば孢子を形成するだろうと、期待を込めて実験した。残念ながら、孢子は全く形成されなかった。

酵母を分類する重要な基準のひとつになっているのが、孢子を作るか作らないかであるのは、現在でも変わらない。*Lipomyces* 属酵母は、細胞の外側に袋に似た形 (孢子囊=子囊:しのう) を作り (生物の一部分で「かばん、あるいは袋状の物入れ」の機能を表わすときには『囊』の字をあてることが多い)、その中へ孢子を複数個つくる。そうした観察結果から子囊酵母に分類されている (図6)。

それなのに type strain を使い、孢子形成用培地として報告された培地を使っても、現実には孢子が観察できたと実感できる状態には到達できないのである。これは一大事である。分類学上の重要基準を満たせないなら、分類学上の位置づけに疑問を出さ



Lipomyces lipofer CBS 944 の子嚢胞子
(The Yeasts II 1970)

Saccharomyces cerevisiae の子嚢胞子
(寺川, 1984), 原図は Luerssen-Rees:
Wettstein, 1924 から引用

図6 子嚢酵母の子嚢と胞子

れても仕方がない。大袈裟に表現すれば、生物がその生物らしい生き方の根本である生存と増殖の方法を変えてしまったら、これは別の種へ進む第一歩、と受け取れなくもない。

「Type strain に胞子を作らせる」という冒険をしよう

酵母といわず、人間といわず、贅沢な暮らしに慣れてしまうと、野性味を失ってゆく。多種類の酵母を収集・保存している機関では、全ての酵母が増殖できる培地を使って菌株の維持をしているのが平常の姿である。多種類の酵母の増殖を支えられる培地には、細胞を構成する栄養素は何でも揃って入っている。したがって、野外で棲息しているときにはなげなしの栄養素を捻出し、細々と増殖していた酵母にとって、人間が管理する研究機関の環境は極楽にも相当する別天地である。極楽で長く生活している間に、節約の生活方法を忘れてしまうのは、無理もない話である。

勝算が有るわけではなかったが、とにかく *L. starkeyi* CBS1807 に胞子形成を誘導する培地を作る試みをしよう、と方針を定めた。酵母 *L. starkeyi* という生物に、本質的には備わっている性質を存分に発揮させれば胞子を作るのだろうが、発揮させる環境を与えられるかどうかは、実験者側の働きかけ方に掛かっている。

成功を約束された実験ではない。試行の全てが失敗に帰することも覚悟してスタートした。このスタートが、後に *Lipomyces* 属酵母を自然界から分離

する技術の開発と、分離した酵母の分類にまで進むとは、予想していなかった。

胞子形成を誘導できる培地を作り出す意義は何処にあるか

酵母を培養するという手段を通して生きている姿の本質に一步でも近づこうと、それまでも努力をしてきたつもりであった。だが、辿ってきた道は、譲り受けた種菌を大元にして、ひとつの細胞から基本的には同じ形質（形態と性質）を持った次の細胞を出芽という手段で作り返す、栄養増殖 (vegetative reproduction) だけを扱っていた同じ形質を持つ酵母の増殖を扱っていたのであるから、増殖を表現するのに proliferation という専門用語にこだわるのではなく、分かりやすい reproduction を用いる方が適切かもしれない。実験室で観察できる酵母の増殖法を代表するのが、出芽による栄養増殖である。筆者は出芽増殖する経過に限定して、*L. starkeyi* という酵母の生きる姿を理解しようとしてきたのである。胞子を形成する培地を作り出すとは、栄養増殖以外の生き方に踏み込むことである。

Lipomyces 属の酵母が胞子を作るときは、栄養細胞の一端に active bud と呼ばれる突起を作り、その突起が延びて湾曲する。やがて突起は大きく膨らんで袋状になり子嚢となる。その子嚢の中に、褐色という共通点はあるが溝のつき方が種によって異なる胞子を、数個から十数個も形成するという特徴的な経過をたどる。それを文献で知っただけでも面白い生物だと思うのだから、目の前で展開してゆく姿

が見られれば楽しいに違いない。それ以上に、単一の胞子の発芽から出芽する新しい栄養細胞群を育てられれば、性が異なる細胞群に分けられる可能性があり、人為的に突然変異株を作りだして遺伝学へ進めるかもしれない、と見果てぬ夢ばかりが大きくなる。

2. 酵母の胞子形成用培地とはどんなものか

研究室内で長期間に亘って継代培養されてきた酵母が、時として胞子を形成できなくなるのは、生物として特有の怠け癖が出るからであろう。過去の研究者達によって、酵母の怠け癖に鞭を与え、忘れていた胞子形成能力を復活させる培地が考案されている。

胞子形成用に考案されていた培地の多くは、天然物を主な原料としていた。肉汁を煮詰めたブイヨン (bouillon)、胃で分泌されるタンパク質分解酵素のペプシンで乳タンパク質を分解したペプトン (peptone)、野菜ジュース (V-8) などがあり、炭素源として酢酸を使う例も多い。栄養源濃度を通常より低くした 1/10 YM 培地、1/10V-8 もある。

それらの何種類かの培地を使い、実験者 (卒業論文学生) を代え、実験年度を変えて何回も試みてきたが、少なくとも *L. starkeyi* IAM4753 菌株では、胞子形成は観察できなかった。

R.L. Starkey 博士によって提案された *Lipomyces* 属酵母の胞子形成用培地は、エタノールを炭素源にしているところが他に類例を見ない組成である。そこから類推し、これから開発しようとしている培地は、かなり特徴がある素材を使わなければならないだろうと予測された。

3. 大学院生の苦闘と喜び

研究室に入ってくる新4年生に卒業論文の課題を与えるときに配慮していたのは、その学生が学部を卒業してからの進路である。大学院修士課程に進学を希望している学生には、3年間で「大きなまとも」になりそうな課題を用意した。学部を卒業したあとは就職を希望する学生には、1年間の研究室活動で「自信をつけて社会へ」飛び出してゆける課題を与えていた。大学院修士課程まで進学した学生とは、比較的長い年月にわたって研究室で顔を合わせていたので、印象に残る事柄が多い。

胞子形成を誘導できる大豆培地

東京の有名私立大学を卒業して、修士課程から山梨大学へ進学してきた研究生がいた。初めの1, 2週間は研究室の様様替えや3年生相手の学生実験を手伝ってもらいながら、本人の性格と行動のとり方を見極める時間にし、それから研究課題を与えた。その課題が「酵母 *Lipomyces starkeyi* に胞子形成を誘導する培地の開発」であった。

彼は陽気な性格だったので、少々の失敗ではへこたれずに、新しい試みに挑戦してゆけるだろうと期待していた。何を材料にして新しい培地を試作しようかという、材料選びと処理方法は、筆者の直感で決めるしかなかった。

この研究課題には、地道な実験の積み上げによって、一定の段階までは到達できたという実感を得るところがない。目指していたとおりの結果が出なければ、新規まき直しをするだけである。研究室内の討論で顔を合わせる度に実験の進捗状況を聞いていた。だが、失敗談ばかりが続いたので、それを伝える彼の表情が段々に生気を失っていった。冬に入った頃には、研究室へ顔を出さない日が増えてきた。

ある夕方、彼の机の上に、「クマのプーさん」を画いたかと思われるペン画が置いてあった。周辺にいた学生に聞くと、昨夜研究室へ来て描いていたという。素人のペン画とは思えない出来栄だったので、その次に顔を合わせたときに、「初めて見たときは出来合いの画をコピーしてきたものかと思ったよ」と話しかけた。彼は無表情に「ペン画は趣味ですから」とだけ答えた。

「次回からは、胞子形成があってもなくとも、顕微鏡で観察したままをペン画にして提出して欲しい」と伝え、これから試すべき材料を幾つか提案した。提案した材料の中に大豆が含まれていた。なぜ大豆か、と問われても明解な説明はできない。大豆は畑の肉と言われるように、通常の植物種子とはちがって、動物にも劣らない良質なタンパク質が含まれている、という単純な知識と直感であった。

それから約6週間後に、彼は珍しくニコニコ顔で、「僕は毎日ディズニーランド通いの気分です」という。その表現の意味が分からなかったので、聞きただした。大豆を蒸留水で膨潤させてからつぶし、大豆組織から得た水抽出物に寒天を加えて殺菌する。それを寒天平面培地にしたところへL.

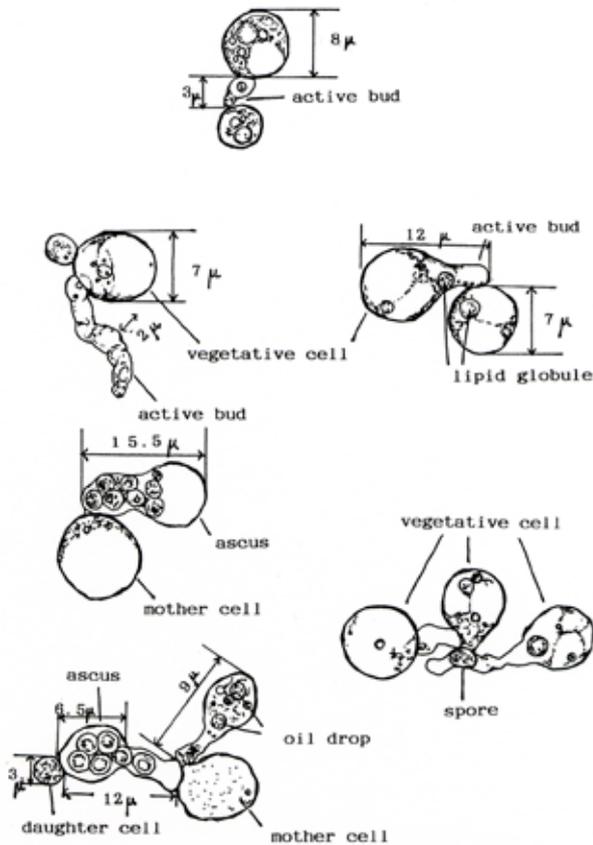


図7 研究生がペン画で描いた *L. starkeyi* の孢子形成

starkeyi CBS1807 を接種すれば、孢子が形成されるという (図7)。

実物を見せてもらった。コロニーの表面は褐色になり、その褐色部分は栄養細胞から袋状に飛び出した孢子囊におさまった孢子であった (図8)。

それからが戦争状態だった。大豆抽出物から作ったので“大豆培地”と呼び、大豆培地を使えば間違いなく孢子ができる実験条件を決める作業に追われた。その間に、近隣の豆腐屋へ御願ひし、豆腐の製造過程にある全ての物質を貰ってきて寒天培地にして大豆培地と比較した。彼は典型的な宵っ張りの朝寝坊だったが、豆腐屋の作業時間に合わせた早朝起床に耐えて実験試料を収集した。

修士論文発表が終わっても、学会発表が残っていた。必要なデータを収集しているうちに、就職先の寮へ送り出す荷物の発送日になった。研究室のほぼ全員が、荷造りと部屋の掃除の手伝いに行ったが、実験中心の生活が何ヶ月も続いていたので、下宿の部屋は惨憺たる状態だった、と笑いながら戻ってきた。春の学会では無事に発表を終わり、彼は晴れ晴れとした表情で就職先の独身者寮へ引揚げていった。

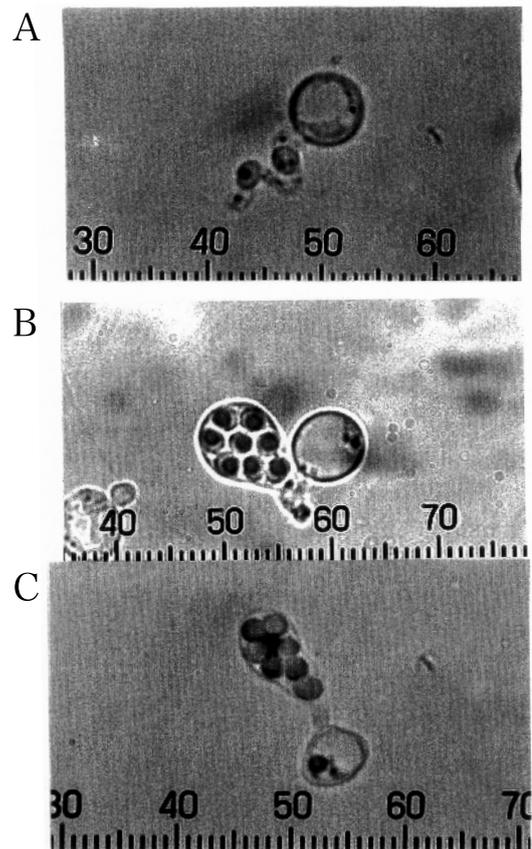


図8 大豆培地で形成された *L. starkeyi* の孢子囊と孢子

大豆培地を基本にして合成培地をつくる

大豆培地は *L. starkeyi* に孢子形成を誘導する優秀な培地である。だが欠点を挙げれば幾つか出てくる。

大豆には用途別に幾つもの品種があり、それらのどれを使っても同じ結果が求められるか、という再現性を確かめる手間が大変である。同じ品種の大豆であっても、生産地、収穫年度によって多少の組成変化があるのは、天然物を原材料にする限り、付きまとう宿命である。次に、大豆を水の中で十分に膨潤させてから組織を砕き、水抽出物を作る準備段階に、相当な時間を要した。

これらの欠点を消去するには、手元で作った大豆培地の組成を分析し、その結果を基準にして試薬を組み合わせる合成培地を作る必要があった。結果を総合して試薬の調合割合をきめた。試薬を調合する際に、どのような窒素源を使うかで頭をひねった。大豆抽出液には揮発性 (主としてアンモニア態) の窒素は含まれていなかったが、どのような有機物質が窒素源になっていたか、というところまでは分析が及んでいなかった。大豆タンパク質にはアスパラギン酸とグルタミン酸が多量に含まれているから、

表 1 *L.starkeyi* に胞子形成を誘導する AF 培地の組成

Sucrose	2850 mg
Aspartic acid	230
Glutamic acid	510
KH ₂ PO ₄	245
KOH	410
MgSO ₄ · 7H ₂ O	660
FeCl ₃ · 6H ₂ O	1,700 μg
MnSO ₄ · 6H ₂ O	510
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	4,500
蒸留水	1,000 mL
寒天	20 g
初発 pH	6.5

というだけの理由で、それ等を窒素源にした。大豆培地に合わせて pH を 2N 水酸化カリウム (KOH) で 6.5 に調整してから寒天を加えて固体培地化し、*L. starkeyi* CBS1807 を植えつくと、約 6 週間後には褐色な胞子の色が観察できた。

この合成培地は胞子嚢形成 (ascus formation) を誘導するという意味で、AF 培地と呼ぶことにした (表 1)。これで天然物を使わずに、世界の何処でも胞子形成実験ができるようになった (Watanabe ら *J.Gen.Appl.Microbiol.*, **43**, 289-293 1997 ほかに関連論文 1)。

酵母の生活環

安定して胞子形成を誘導できる培地ができたので、胞子を使って遺伝学と優秀な形質を持った細胞の育種へ進む可能性を検討しようとした。その希望を実現するには、生活環を明らかにしておかなければならない。生活環とは、前の世代がつくる生殖細胞から出発して次の世代の生殖細胞までを結んだ生活史である。

高等動物を構成する体細胞には、父方からきた遺伝情報(ここでは a とする)と、母方からきた相同の遺伝情報 (ここでは α とする) の両方が含まれている (二倍体: diploid)。この状態を (a/α) と表現する。生殖細胞という特別な細胞では、配偶子 (雄では精子、雌では卵子) を作るのに先立って減数分裂がおき、次の世代へ伝える a' あるいは α' だけを持った配偶子 (一倍体: haploid) になる。雌の配偶子と雄

の配偶子が出会って(受精して) 遺伝情報が 1 対 (a'/α') になると一人前の体細胞 (二倍体) となり、細胞増殖が進行して新しい個体へと成長してゆく。

ところが酵母の世界では、性の分化が明確に観察できる菌株と、曖昧な菌株とがある。

減数分裂してできた配偶子 (一倍体) と考えていた胞子 (a あるいは α) から発芽した細胞 (一倍体) が、それぞれ独立して栄養増殖をし、a の栄養細胞群と α の栄養細胞群として生活するのは珍しくない。そして、独立して生活していた a 細胞と α 細胞が出会うと、接合して二倍体 (a/α) を構成する (ヘテロタリズム)。できた二倍体はそのまま栄養増殖し、あらためて胞子を作るときには減数分裂を経て a' 胞子と α' 胞子になる。

そうかと思うと、胞子から発芽した一倍体細胞 (a あるいは α のいずれか一方) が栄養増殖を開始するが、まだ細胞数が数個のうちに、2 個同士の細胞が接合して二倍体 (a/α) 細胞を形成する現象 (ホモタリズム) も観察されている。魚の世界では、群れの中で最大の個体が雌から雄に変換する例、反対に雄から雌に変換する例が知られている。酵母のホモタリズムは、その原形のようにも見える。

代表的な子嚢酵母であり、生活環が最も克明に解析されている *Sacch. cerevisiae* であっても、生活環を描いてみるとかなり複雑になる (図 9)。この辺りが、単細胞で生活する“未分化な生物”とも表現

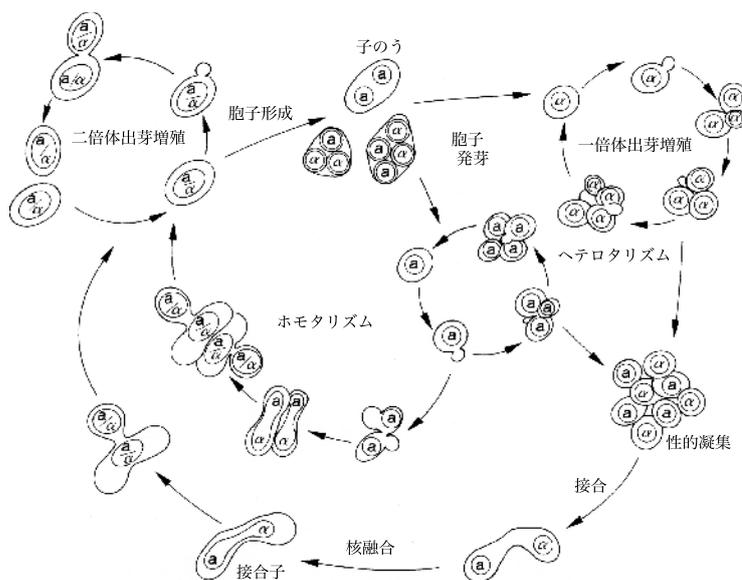


図 9 *Saccharomyces cerevisiae* の生活環

(柳島, 大嶋, 大隅編, 「酵母の解剖」, 講談社, サイエンスフィク 1981 から引用)

できるし、条件次第で生物現象の根幹である増殖方法すら変化ができる“柔軟性”だ、ともいえる。

L. starkeyi の生活環を解析する試み

栄養増殖している細胞が二倍体であり、単一の胞子が一倍体であれば遺伝解析や育種に結びつきやすいと期待していた。L. starkeyi にそれを期待した理由は、一つの胞子囊の中には単独ではなく、数個から十数個もの胞子が形成されるから、胞子形成に先立って減数分裂が起きている可能性がある、と推定したからである。減数分裂がおこっていれば、胞子の遺伝情報量（換言すれば遺伝子の物質の本体である DNA 量）は、親細胞（parent : P）の半分しかないと考えられる。

L. starkeyi CBS1807 がつくった胞子のただ 1 個から発芽して増殖した細胞（F₁ : F は family を表わし、1 は第一世代を表わす）が胞子を作らなければ、ヘテロタリズムの可能性が高まり、育種や遺伝解析への可能性が大きくなる。胞子の DNA 含量が親細胞 P の DNA 量の半分であれば、少なくとも胞子形成の前に減数分裂が起きていることになる。

L. starkeyi CBS1807 に大豆培地あるいは AF 培地上で胞子を作らせ、分離した単一の胞子を YM 培地上で発芽させて生活する細胞群（F₁）にする。その F₁ 細胞群を再び AF 培地に植えて胞子を作らせ、F₁ の単一胞子から細胞群を作らせて F₂ 細胞群ができるだろうか。そして F₂ からは胞子が形成されるだろうか、という期待と不安が混じった実験をした。その結果を図 10 に示した。F₂ 細胞群はでき、F₂ からは胞子が形成された。

F₂ の単一胞子からは F₃ ができるだろうか？そしてその先は？ 忍耐が求められる操作を何代にもわたって繰り返せば、L. starkeyi の生活環が明らかになる。こうした実験を行える人間には、根気良さだけではなく、絶対に誤魔化しをしない正義感が備わっていなければならない。研究室の学生らは F₁₃（十三代目子孫）までも繰り返し継代したが、AF 培地上で胞子形成が終らなかつた。

生活環の全体像を細胞と胞子の DNA 含量から掴もうとした彼らは、世界最高の自転車競技であるツール・ド・フランスの後ろを、自分も自転車で追いかけたという“つわもの”

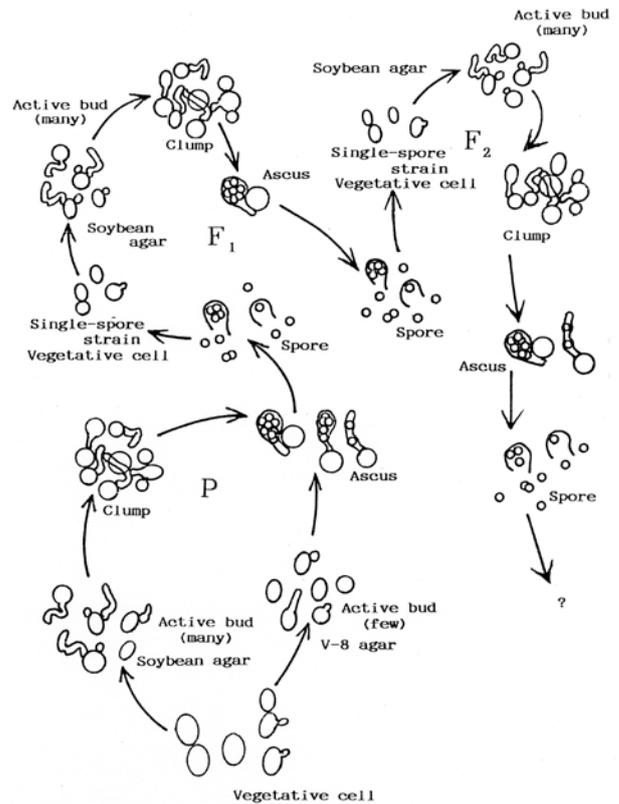


図 10 L. starkeyi CBS1807 を親 (P) とし、そこから形成された単一胞子から得た F₁ 世代と、同様にして得た F₂ 世代までの胞子形成結果 (岡田の修士論文から引用)

である。彼は胞子形成実験の腕を磨く手初めとして、AF 培地が Lipomyces 属に分類されている幾つかの種の type strain に対して、胞子形成を誘導する効果があるという結果を得た (表 2)。

さらに、AF 培地から寒天を除去した液体 AF 培地の組成と培養法を改良し、胞子を形成するまで

表 2 AF 培地による Lipomyces 属の 4 種の酵母の胞子形成

		胞子囊形成率 (%)	
		AF 培地	大豆培地
L. starkeyi	CBS 1807	14.6	15.4
	CBS 1809	9.2	0.7
	CBS 1810	8.2	3.1
L. tetrasporus	CBS 6048	5.4	5.7
	L. kononenkoae	KW-3	3.1
L. lipofer	CBS 5841	0.1	0.1

表 3 L. starkeyi CBS1807 の栄養細胞と胞子の DNA 含量

	細胞数 (× 10 ⁹)	DNA 抽出量 (μg)	DNA 含量 (10 ⁹ 細胞あたり)
L. starkeyi (CBS 1807)			
胞子	1.155	25.14	22.0 (1.00)
栄養細胞	1.063	43.97	43.9 (1.99)
胞子囊形成中の細胞	0.702	43.63	62.1 (2.82)

に要する時間を約半分にまで短縮させた。得られた大量の胞子を精製し、DNA量を測定した。胞子 10^9 個当たりのDNA量は同一数の栄養細胞が持つDNA量の半分であった(表3)。結果は、胞子形成に先立って減数分裂は行われるが、単一胞子が発芽して栄養細胞が出芽増殖する過程のどこかでDNA量を倍増させる、と解釈しなければならなかった。

以上の結果から、少なくとも *L. starkeyi* CBS1807 では、胞子形成に先立って減数分裂がおこっていると判定できた。しかし、単一胞子から発芽して細胞群になる途中で二倍体になるので、図8に示された *Sacch. cerevisiae* の生活環を参考にして考えれば、ホモタリズムの生活環を持っていると判定された(図11)。

この結論は、異なる形質を示す細胞の胞子を使って、交雑(掛け合わせ)によって品種改良をする育種、そして遺伝学への発展は、当面は望めないという結末をもたらした。研究に携わった者としては、先への展望が開けないので残念であった。

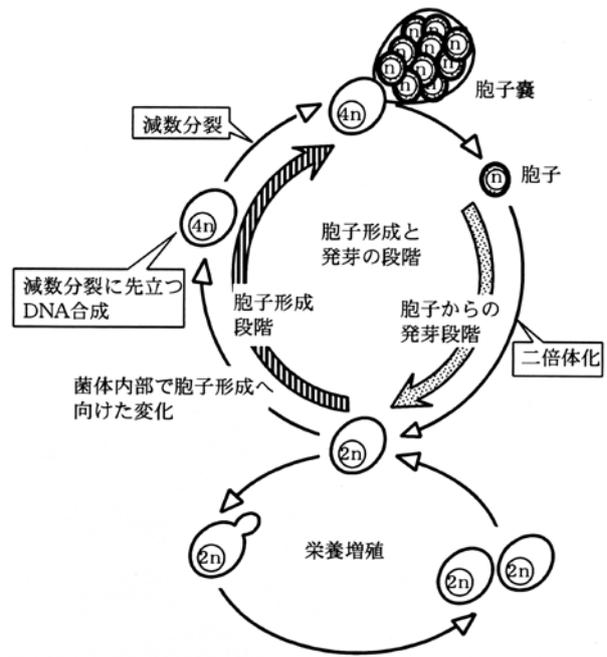


図11 *L. starkeyi* のホモタリズム生活環 (渡辺の修士論文から引用)

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

低分子で使いやすく、甘みを有する液状タイプの食物繊維素材 『テトラリング®』を6月3日に新発売

株式会社林原

このたび、NAGASE グループの株式会社林原（本社：岡山市北区下石井 代表取締役社長：安場直樹）は、新たな機能性製品として水溶性食物繊維素材『テトラリング®』を2021年6月3日に発売いたします。

『テトラリング®』は、原料のでん粉に酵素を作用させて作った水溶性食物繊維で、ほのかな甘みを持つ液状タイプの食品素材です。従来の水溶性食物繊維素材に比べて粘度が低く、食品に利用しやすいという特長を持ちます。低糖質・糖質オフや食物繊維を強化した食品でも、甘み・食感の低下を抑え、健康機能と美味しさの両立を可能とする新世代の食物繊維です。

林原としては、先に発売した粉末状の水溶性食物繊維『ファイバリクサ®』とともに、摂取量が不足しがちな食物繊維を補う素材として、今後活発な販売活動を行っていく予定です。

■ 『テトラリング®』製品仕様

・製品規格（抜粋）	
性状	無色～淡黄色の粘稠な液体で異味・異臭なし
濃度（固形分）	71.0% 以上
pH	3.5 ～ 6.5（30% 水溶液）
食物繊維（酵素-HPLC 法）	72.0% 以上（固形分当たり）
総環状四糖	45.0% 以上（固形分当たり）
グルコース	6.0% 以下（固形分当たり）
・エネルギー	2kcal/g
・甘味度（砂糖を 100 として）	25
・最大無作用量	0.88g/kg- 体重
・荷姿	24kg 缶入り
・保存条件	直射日光、高温多湿な場所を避け、室温で保存
・賞味期限	製造日より 12 ヶ月
・表示例	食物繊維，水溶性食物繊維，食物繊維（環状四糖），環状四糖水飴，水飴

『テトラリング®』は、グルコース4分子が環状に結合したユニークな構造を持つ環状四糖（シクロニゲロシルニゲロース）を主成分とする液状タイプの水溶性食物繊維素材で、でん粉に林原独自の酵素を作用させて作られます。一般的な食物繊維より低分子で、扱いやすく、食品の物性に影響を与えにくいのが特長です。環状四糖は、日本酒や酒粕のような発酵食品に含まれており、日本人が古来より摂取してきた食経験のある成分です。

食物繊維は生活習慣病の予防に重要な役割を果たす栄養素として知られています。日本人の食事摂取基準（2020年版：厚生労働省）によると、1日に必要な食物繊維の目標量は、成人女性で18グラム以上、成人男性で21グラム以上とされています。しかし、実際の食物繊維の摂取量は20歳以上の平均では1日当たり15グラムと、多くの人が食物繊維の摂取量が不足していることが分かります。日々の食事で十分に摂取することが理想ですが、推奨される量を摂取することは容易ではなく、積極的に食物繊維を取り入れることを心がけなければ、十分な量の摂取は難しいといえます。この食物繊維不足を補うために、多くの加工食品で食物繊維強化がなされています。しかしながら今までの食物繊維素材は、甘さが無く、特に菓子では味のバラ

すがとりにくいという課題や、食品加工物性や日持ちに影響が大きく製造に無理がかかるなどの課題がありました。

林原では、すでに水溶性食物繊維として高分子タイプの『ファイバリクサ[®]』を2015年より発売しており、今回の低分子・低粘度タイプの『テトラリング[®]』がラインナップに加わることで、さらに幅広い食品への使用が可能となりました。具体的には、高分子タイプの食物繊維付与によって影響を受けやすいグミやスポンジケーキ、パン、餡、餅などといった食品にも配合が容易となりました。また、作業性においても、水飴形態であるため粉末状の食物繊維素材に必要な溶解操作が不要となり、大幅な作業効率の向上が期待されます。林原としては、甘みも付与できる、液状タイプの分子量の小さな食物繊維として、活発な販売活動を行っていく予定です。

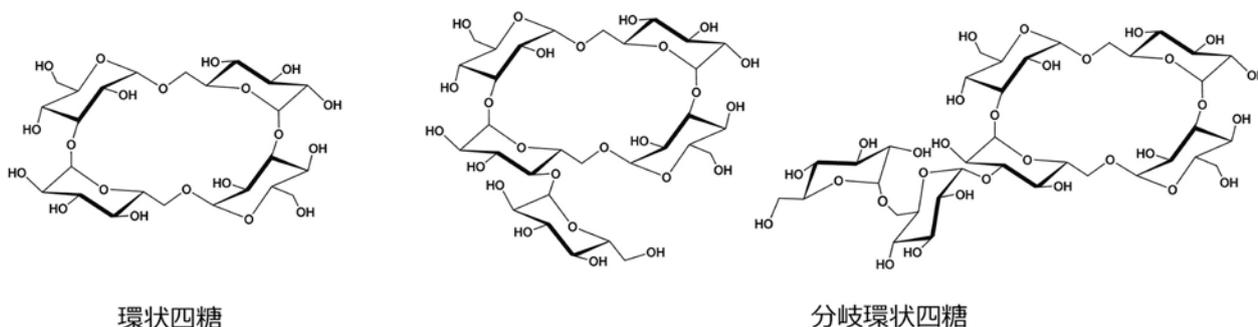
■ 『テトラリング[®]』の特長

- ・甘みを有する食物繊維（すっきりとした甘み、甘味度25）
- ・低粘度な食物繊維
- ・液状タイプ（溶解不要）
- ・低分子な食物繊維（食品物性に影響しにくい）

『テトラリング[®]』は、環状四糖のほか、環状四糖にグルコースが数分子結合した分岐環状四糖などを含んでいます。環状四糖構造の含量を表す総環状四糖は45.0%以上で、栄養成分としての食物繊維含量は72.0%以上です（いずれも固形分当たり）。結合様式は、 α -1,6結合と α -1,3結合がそれぞれ30%程度を占め、でん粉由来の α -1,4結合は10%程度まで減少しています。重量平均分子量は、約800 Daで食物繊維素材としては低値です。粘度は直鎖状の四糖水飴である『テトラップ[®]』（弊社製造品、主成分：マルトテトラオース）と同等であり、市販の水飴と同じように取り扱えます。また、甘味度は25（砂糖を100としたときに）であり、ほどよい甘みを有しています。『テトラリング[®]』のもつユニークな結合様式や低分子であることによる特性を活用すれば、既存の食物繊維素材では難しかった食品応用が可能になると期待されます。

■ 『テトラリング[®]』の主成分の構造

主成分の構造式



環状四糖

分岐環状四糖

■ 使用例

分野	使用例
飲料	炭酸飲料、茶飲料、青汁、酢飲料、アルコール飲料、ゼリー飲料 etc.
製菓	キャンディ、グミ、焼き菓子、餡、餅製品、プリン、プロテインバー etc.
乳製品	ヨーグルト、乳酸菌飲料 etc.
主食	米飯、パン、麺 etc.
調理加工	ハム、ソーセージ、練り物 etc.

■ 『テトラリング®』 製品仕様



グミ (左), スポンジケーキ (右)



食パン (左), わらび餅 (右)



『テトラリング®』 荷姿写真 (左), 『テトラリング®』 液体写真 (右)

◆本プレスリリースに関するお問い合わせ先

株式会社 林原 経営デザイン室 担当：小林 TEL:086-224-4315

グアーガム酵素分解物は 腸肝軸を介して脂肪性肝疾患の進行を抑制 ～脂肪性肝疾患モデルマウスに対する効果を発表～

太陽化学株式会社

京都府立医科大学（学長：竹中 洋）、太陽化学株式会社（本社：三重県四日市市、代表取締役社長：山崎 長宏）らによる研究グループは、グアーガム酵素分解物は腸肝軸を介して脂肪性肝疾患モデルマウスの肝疾患の進行を抑制することを明らかにし、医学分野の学術誌「World Journal of Gastroenterology」に発表しました。

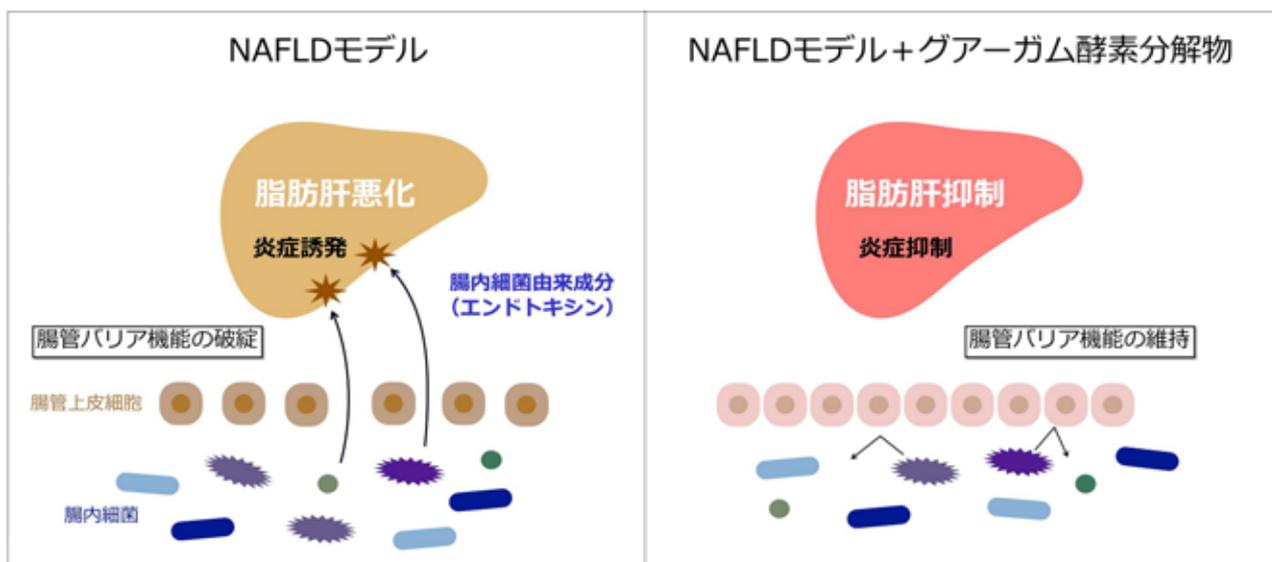
1. 研究背景について

現在、脂肪性肝疾患（Nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD）が増加しており、日本では健康診断を受ける成人の2～3割に上るとみられています。NAFLDは主に肥満やメタボリックシンドロームに伴う肝臓への脂肪蓄積によって引き起こされますが、近年、腸肝軸の関わりについても報告が増えています。すなわち、腸管バリア機能の低下により腸内細菌由来成分（エンドトキシン^{*1}）が血液中へ流出し、肝臓に到達して炎症を引き起こし、NAFLDの増悪に関わると考えられています。

グアーガム酵素分解物（Partially Hydrolyzed Guar Gum : PHGG）は水溶性食物繊維で、腸内細菌叢を改善し、腸内環境を整えることが明らかになっています。さらに、PHGGは腸管バリア機能を高める作用も報告されており、NAFLDに対する有効性が期待できますが、その効果は明らかにされていませんでした。

2. 研究方法について

動脈硬化食^{*2}を摂取させ、低濃度の硫酸デキストラン負荷により腸管バリア機能が破綻したNAFLDモデルマウスを用いました。NAFLDモデルマウスにPHGGを摂取させ、肝機能マーカー（AST; aspartate aminotransferase, ALT; alanine aminotransferase）、肝組織、肝臓のミエロペルオキシダーゼ活性^{*3}、肝臓の遺伝子発現、門脈中のエンドトキシン、腸管バリア機能、腸内細菌叢や代謝物などに与える影響を調べました。



グアーガム酵素分解物の NAFLD 進行抑制メカニズム

3. 主な研究結果について

PHGG の摂取により、腸管バリア機能が維持され、エンドトキシンの腸管からの流出が抑制されました。また、肝臓への脂肪蓄積および肝臓の炎症が抑制され、肝臓の炎症や繊維化に関わる遺伝子の発現が低下し、肝機能マーカーが改善しました。以上のことから、PHGG は腸肝軸を介して NAFLD の進行を抑制する可能性が示されました。

4. 考察と今後の展望

本研究では PHGG の NAFLD に対する有効性が示されました。今後、ヒトでの検証が必要となりますが、腸肝軸をターゲットとした新たな NAFLD の予防法や治療法の開発につながることを期待されます。

■用語説明

※ 1 エンドトキシン

内毒素。細菌の細胞壁の構成成分であるリポ多糖で、積極的には菌体外に放出されず、菌が死ぬことによつて遊離します。体内に入ると免疫細胞を刺激し炎症を引き起こします。腸管バリア機能の破綻により肝臓に到達したエンドトキシンが NAFLD の進行に関わることが示されています。

※ 2 動脈硬化食

通常の餌に脂肪、コレステロール、コール酸を負荷した動脈硬化を誘導するための餌。

※ 3 ミエロペルオキシダーゼ活性

好中球がもつ強力な酸化酵素で、好中球が異物を貪食・消化する際に活性が認められます。肝臓における MPO 活性の上昇は、肝臓に炎症が生じ、肝組織中に好中球が集積していることを示します。

■発表雑誌

雑誌名：World Journal of Gastroenterology

論文名：Partially hydrolyzed guar gum attenuates non-alcoholic fatty liver disease in mice through the gut-liver axis

著者：Shun Takayama, Kazuhiro Katada, Tomohisa Takagi, Takaya Iida, Tomohiro Ueda, Katsura Mizushima, Yasuki Higashimura, Mayuko Morita, Tetsuya Okayama, Kazuhiro Kamada, Kazuhiko Uchiyama, Osamu Handa, Takeshi Ishikawa, Zenta Yasukawa, Tsutomu Okubo, Yoshito Itoh, Yuji Naito

掲載日：2021 年 5 月 10 日

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6号

印刷 令和 3 年 5 月 20 日
発行 令和 3 年 6 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 2,750円 本体2,500円 (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：2,750円 本体2,500円
(送料120円)

雑誌 89591-6



4910895910611
02500