

New Food Industry

2021
9

New food indust. 63 (9): 2021.

原著

- ◆ こんにゃく芋の加熱処理またはアルカリ浸漬したものの
エタノール水溶液中での粉碎物の顕微鏡観察
- ◆ 長寿遺伝子関連蛋白発現度に食用キノコ抽出物が及ぼす影響
— 末梢血単核細胞に発現するsirtuin 2濃度の経時的変化

シリーズ7回目 健康食品の有効性・安全性評価におけるヒト試験の現状と課題

- ◆ — ヒト臨床試験(ヒト試験)において
前後比較デザインを採用する場合の統計学的留意事項 —

コーヒー博士のワールドニュース

- ◆ 肝臓病予防に一番よく効くコーヒーとは

伝える心・伝えられたもの

- ◆ — 顕微鏡に出会う —

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	医療法人財団 聖蹟会 埼玉県中央病院 院長
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



その透きとおった肌のヒミツは、なに？

保湿
美白
バリア機能改善

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

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

美容素材 パイナップルセラミド

パインセラ

自然の恵みを運ぶ
丸善製薬株式会社

食品営業部

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

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

自然の力で健康を

天然物から抽出・精製した多彩な製品

・カシスエクス (Cassinol®)

- ブルーベリーエクス
- 鉄クロロフィリンナトリウム
- イチョウエクス (国産葉使用)
- イソフラボン (20%~80%)
- 茶抽出物
- グリーンレイボスエクス (アスパラチン含量20%以上)
- オレアノール55 (オレアノール酸55%)
- アメリカンジンセンエクス (総ジンセノイド15%以上)
- EPAパウダー300/DHAパウダー300
- DHA (22%~70%)
- EPA (18%~70%)
- γ-リノレン酸 (月見草油)

**弊社独自の製品を健康食品、一般食品など
あらゆる商品企画にお役立て下さい。**



タマ生化学株式会社

本社 東京都新宿区西新宿1-23-3 〒160-0023
Tel (03) 5321-6051 Fax (03) 5321-6055

原著

- こんにゃく芋の加熱処理またはアルカリ浸漬したものの
エタノール水溶液中での粉碎物の顕微鏡観察

釘宮 正往, 大野 婦美子, 石永 正隆 631

- 長寿遺伝子関連蛋白発現度に食用キノコ抽出物が及ぼす影響
— 末梢血単核細胞に発現する sirtuin 2 濃度の経時的変化

遊道 和雄, 山本 正和, 唐澤 里江, 杉下 陽堂,
鈴木 由妃, 児島 義昭, 中島 将 639

シリーズ 7 回目 健康食品の有効性・安全性評価におけるヒト試験の現状と課題

- — ヒト臨床試験（ヒト試験）において前後比較デザインを採用する場合の統計学的留意事項 —

鈴木 直子, 田中 瑞穂, 野田 和彦, 波多野 絵梨, 金子 拓矢,
中村 駿一, 柿沼 俊光, 馬場 亜沙美, 山本 和雄 645

連載解説

- 複雑な病気セリアック病 1

瀬口 正晴, 吉野 精一 652

母乳の力

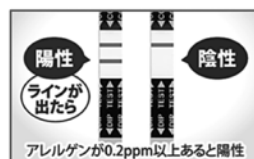
- 母乳タンパク質の生体防御機能

大谷 元 661

食品工場のアレルゲン管理に！ アレルゲンアイ® クイック

- 食品製造ラインのふき取り検査に（アレルゲン残留の確認）
- 抽出は不要、ふき取った溶液につけるだけで10分後にアレルゲンの有無を判定
- 特定原材料すべてに対応＋推奨品目（大豆・ごま）

詳しくはこちらのURLをご覧ください ▶ https://www.primaham.co.jp/news/2021/post_339.html



無償サンプル
あります ▶ Emailにて
お申し込み
ください



ラインナップは全8種

おいしい、ふれあい。
PRIMA HAM

発売元：プリマハム株式会社 基礎研究所 製造販売元：株式会社つくば食品評価センター 検査試験事業部
〒300-0841 茨城県土浦市中向原635 TEL：029-841-8950 Email：Allergeneye@primaham.co.jp

連載 野山の花 — 身近な山野草の食効・薬効 —

- クリ *Castanea crenata* Siebold et Zucc.
(ブナ科 Fagaceae)

白瀧 義明 684

連載 コーヒー博士のワールドニュース

- 肝臓病予防に一番よく効くコーヒーとは

岡 希太郎 688

伝える心・伝えられたもの

- —顕微鏡に出会う—

宮尾 茂雄 691

News Release

- ◆ 京都大学との共同研究の成果が国際的な学術誌
『npj Science of Food』に論文掲載！ 株式会社サン・クロレラ

703

世界から、優れた「自然の恵み」を提供します

アンデスの母なる穀物 **キヌア**



南米アンデ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。

取扱製品

- ◆キヌア粒
- ◆有機キヌア粒



大日本明治製糖株式会社 本店営業部

〒100-0011 東京都千代田区千代田二丁目1番1号 飯野ビルディング10階
電話 03-5510-1871

<http://www.dmsugar.co.jp>

希少糖含有シロップ RSS

THE RARE SUGAR BRAND

香川発素材
|
希少糖



希少糖 は、自然界には存在量が少ない単糖で、
香川大学の何森先生の研究により大量生産が可能となりました。
希少糖の D- プシコース (アルロース) や D- アルロースは、豊富な
機能性を持つことから注目が集められています。
ブドウ糖・果糖・希少糖をバランス良く含む 希少糖含有シロップ
(商品名：RSS)、は砂糖の 9 割の甘味度で自然な甘さです。

美味い甘味料として様々な食品にご使用頂けます。

炭酸・スポーツ飲料

デザート・冷菓

ベーカリー

菓子類

惣菜

栄養ドリンク

サプリメント

健康食品

トクホ

希少糖含有シロップ RSS



異性化糖

でんぷん

ぶどう糖

果糖

D- プシコース
(アルロース)

D- アルロース

ヘルシーな理想バランス甘味料

発売元



株式会社レアスウィート 高松事務所
香川県高松市番町 1-1-5 ニッセイ高松ビル7階
TEL 087-823-1689 FAX 087-823-1691

販売者
お問合せ



松谷化学工業株式会社
兵庫県伊丹市北伊丹 5 丁目 3 番地
TEL 072-771-2010 FAX 072-771-7455

こんにゃく芋の加熱処理またはアルカリ浸漬したものの エタノール水溶液中での粉碎物の顕微鏡観察

釘宮 正往 (KUGIMIYA Masayuki)^{1*} 大野 婦美子 (OHNO Fumiko)² 石永 正隆 (ISHINAGA Masataka)³

Key Words : こんにゃく芋, グルコマンナン粒子, 表面付着物, 細胞壁, 中葉, ペクチン, メチレンブルー染色

Microscopic observation of the konjac corms heat-treated or alkaline-immersed in advance and then crushed with blender in aqueous ethanol solution

Authors: Masayuki Kugimiya^{1*}, Fumiko Ohno² and Masataka Ishinaga³

***Corresponding author:** Masayuki Kugimiya

Affiliated institutions:

^{1,2} Former Kurashiki Sakuyo University, The Faculty of Food Culture
(3515, Tamashima-nagao, Kurashiki-shi, Okayama 710-0292, Japan)

³ Sanyo Women's College (1-1, Sagata-honmachi, Hatukaichi-shi, Hiroshima 738-8504, Japan)

Key Words: konjac corms, glucomannan granules, surface deposits, cell walls, middle lamellas, pectins, methylene blue staining

Abstract

In this study, we investigated the adherence of cell walls, middle lamellas and other cellular deposits on the surface of glucomannan (GM) granules and their removal using konjac corms produced in Hiroshima prefecture. The crushing treatment of the raw corm slices, steamed corm slices or alkaline-immersed corms slices was performed using a blender under the condition that the swelling and dissolution of the GM granules were suppressed. We observed the obtained crushed material under a microscope and determined the presence or absence of surface deposits using a methylene blue stain. As a result of crushing the raw corm slices by adding a 45% ethanol aqueous solution, many granules with a part of the tissue attached to the surface were observed. The corm slices were either steamed at 118°C for 30 minutes or immersed in an alkaline 0.1 mol/l sodium hydroxide aqueous solution for 1 week at room temperature and crushed by adding 45% ethanol aqueous solution. In either case, many granules without surface deposits were seen. Our results clarified that the surface deposits on GM granules may be removed by heat-treating or alkali-treating konjac corm slices and then crushing them.

* 責任著者: 釘宮 正往¹ E-mail: kugimiya@forest.ocn.ne.jp

^{1,2} 元くらしき作陽大学食文化学部 (〒 710-0292 岡山県倉敷市玉島長尾 3515)

³ 山陽女子短期大学 (〒 738-8504 広島県廿日市市佐方本町 1-1)

著者らは前の報告¹⁾で、試料として用いた広島県産のこんにゃく精粉（以下、精粉）を適切な濃度のエタノール水溶液に浸漬して、得られた膨潤粒子の顕微鏡観察を行った結果、精粉のグルコマンナン（以下、GM）粒子表面には、精粉製造工程中に部分的に損傷・破壊された芋組織由来の細胞壁や中葉の一部または断片（以下、付着物）が残存・付着していることを明らかにした。参考のために試料として用いた群馬県産の精粉（2商品）、プロポールA〔高純度GM、清水化学(株)製〕、試薬GMの場合も、同様に粒子表面に付着物があることが明らかになった。また、付着物は、メチレンブルーに加えて、トルイジンブルー、ルテニウムレッドによっても染色されたことから、主として、ペクチンを含む細胞壁や中葉から構成されていると考えた。

これまで、こんにゃく芋やこんにゃく粉から、粒子表面に細胞壁や中葉などの付着物がほとんどないGM粒子が得られたという報告は見られない。そこで、こんにゃく芋を用いて、GM粒子の周りの付着物を除去する方法について探索した。

細胞壁や中葉に含まれるペクチンは、加熱によって、中性（高温）²⁾またはアルカリ性（室温）³⁾の溶液中で、 β -脱離反応による低分子化で溶解しやすくなることが知られている。加熱処理またはアルカリ処理によって、細胞壁や中葉の物理的強度が低下すれば、処理後に粉砕処理することによって付着物の除去が可能ではないかと考えた。

これらのことを踏まえて、本研究では、広島県産のこんにゃく芋（以下、生芋）を用いて、GM粒子の膨潤・溶解を抑制した状態で、加熱処理またはアルカリ処理の後にミキサーを用いた粉砕処理でGM粒子の周りの付着物が除去できるか否か、その可能性を検討した。

なお、本報告では、ペクチンを含む細胞壁や中葉がメチレンブルー（以下、MB）で染色される^{4,5)}ことに着目して、粒子表面にMB染色物がほとんど付着していないGM粒子を“付着物のない粒子”，MB染色物が付着しているGM粒子を、付着物の多少に関わらず、“付着物のある粒子”とそれぞれ定義して用いた。

1. 実験方法

1-1. 供試材料

こんにゃく芋は、(株)森岡商店（広島県神石郡神石高原町近町）から購入したもので、在来種の2年物である。なお、生芋の粉砕物（以下、生芋粉砕物）の作製には2018年産を、加熱芋の粉砕物（加熱芋粉砕物）とアルカリ浸漬芋の粉砕物（アルカリ浸漬芋粉砕物）の作製には2019年産をそれぞれ用いた。生芋を水洗、剥皮し、その切片（約5×10×20mm）を粉砕処理、加熱（蒸し）処理、またはアルカリ浸漬した。エタノールは試薬一級を、MBは関東化学(株)製の試薬特級をそれぞれ用いた。

1-2. 加熱芋（蒸し芋）の作製方法

圧力鍋（T-fal、アクティクック シンプルー、高圧の場合85kPa）を用いて、沸騰水の上に生芋切片の適当量を並べた中かご（蒸し器）を置き、所定の温度、時間で加熱して作製した。

1-3. アルカリ浸漬芋の作製方法

芋切片約10gに水酸化ナトリウム水溶液（0.02～0.10mol/L NaOH）100mLを加えて、常温、暗所で1週間放置した。浸漬切片（約6～7片、約4～5g）を取り出して、水で数回、引き続いて45%エタノール水溶液で数回洗浄した。その際、洗浄切片の表面のおよそのpHを試験紙で5～6になることを確認した。

1-4. 生芋、加熱芋、およびアルカリ浸漬芋の粉砕方法

生芋粉砕物は、生芋切片約10gに各種濃度のエタノール水溶液〔25, 35または45%（v/v）〕100mLを加えて、家庭用ミキサーを用いて、高速または低速で一定時間粉砕処理を行って作製した。加熱芋粉砕物は、加熱芋約10gに45%エタノール水溶液100mLを加えて、同様に、高速で3分間粉砕処理を行って作製した。アルカリ浸漬芋粉砕物は、浸漬芋を水洗し、続いて45%エタノール水溶液で洗浄した切片約4～5gに45%エタノール水溶液100mLを加えて、同様に、粉砕処理して作製した。

つぎに、これらの粉砕物の懸濁液の一部を試験管（直口、 $\phi 15 \times 150$ mm）に取り、十分攪拌して約1分間静置した。上澄み液の大部分を捨て、残りの懸濁液に粉砕処理に用いたエタノール水溶液と同じ濃度の

エタノール水溶液を加えて、十分攪拌し、約1分間静置し、上澄み液の大部分を捨てた。この洗浄操作を上澄み液がほぼ透明になるまで、数回繰り返した。GM粒子が主要構成要素と考えられる、比較的重たい粒子を集めて、その懸濁液を顕微鏡観察に供した。

ミキサーはパナソニック(株)製MX-X301、ファイバーミキサー(回転数は1,000mL水負荷時、低速で7,900rpm、高速で10,300rpm)を用いた。ミキサーの粉碎強度(回転数と粉碎時間)は、エタノール水溶液濃度の影響を調べる際は、高速で3分間とした。粉碎強度の影響を調べる際は、低速で30秒間および1分間、また、高速で3分間を5分間隔で3回、合わせて9分間とした。

1-5. MB染色

エタノール水溶液で洗浄して得られた粒子の懸濁液の適当量をスライドガラスに滴下し、これに、粉碎処理に用いたエタノール水溶液と同じ濃度のエタノール水溶液を用いて調製した0.25% (w/v) MB溶液の適当量を加えて、顕微鏡観察を行った。

1-6. 顕微鏡観察

顕微鏡はオリンパス光学工業(株)製の高級システム生物顕微鏡BX50を用いて、前報¹⁾の方法に準じて顕微鏡観察を行った。写真はパワーポイントを用いて、明るさ/コントラストを修整したものを示した。なお、本研究は、粉碎処理によって得られた様々な粒子について、その表面付着物・表面構造の特徴に着目して観察したものであり、定量的な観察・計測は行っていない。ただし、特徴的な粒子の多少については言及した。

2. 実験結果

2-1. 生芋粉碎物の顕微鏡観察

i) 粉碎処理におけるエタノール水溶液濃度の影響

GM粒子の膨潤・溶解は水中では容易に起こるが、エタノール水溶液中では抑制される。すなわち、膨潤・溶解は、エタノール水溶液濃度の増加に伴って抑制の度合いがより大きくなり、40～50% (v/v) を境に、これより高い濃度ではほぼ完全に抑制されることが報告されている^{6,7)}。また、こんにゃく粉の精製には、40～50%のエタノール水溶液が用いられることが多い^{6,8-10)}。

そこで、生芋などの粉碎時に加える、GM粒子の膨潤を完全に抑制するエタノール水溶液の適切な濃度を明らかにするために、45%以下の濃度の影響を調べた。粉碎強度は高速で3分間とし、エタノール水溶液濃度は、25、35および45%とした。45%の場合の顕微鏡写真の1例を図1に示した。

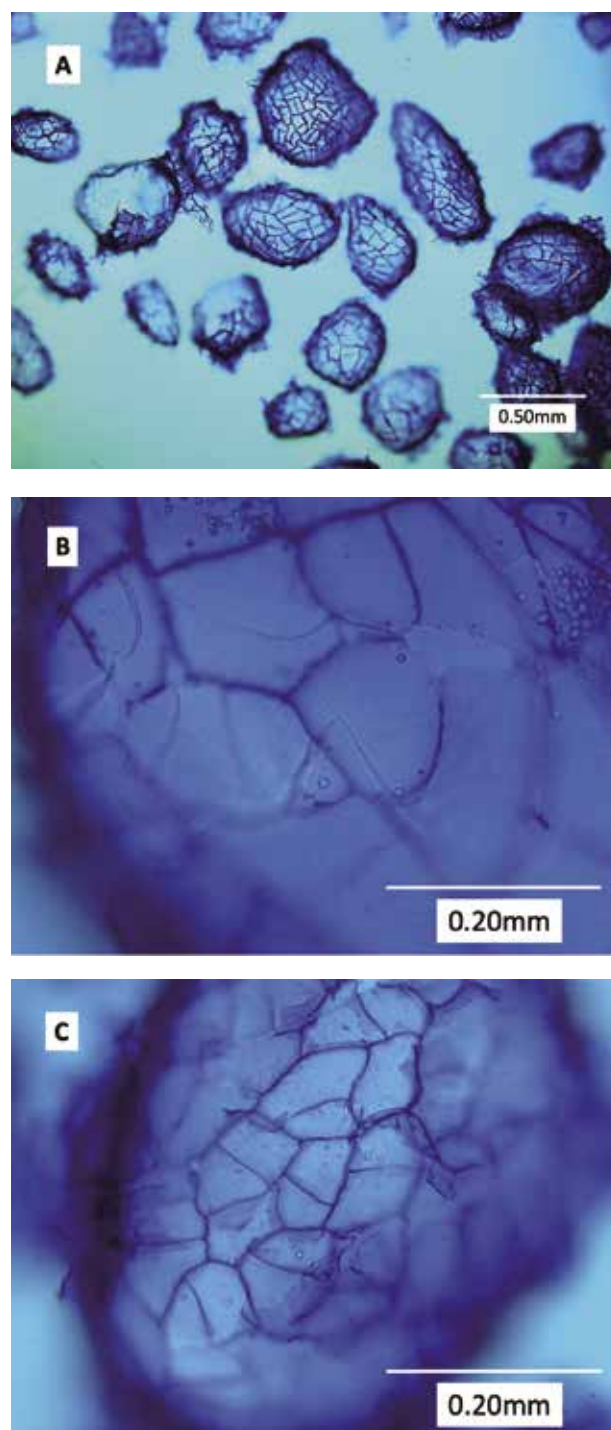


図1 生芋切片に45%エタノール水溶液を加えて得られた粉碎物の顕微鏡写真

MB染色して撮影した写真である。写真は4倍または20倍の対物レンズを使用して撮影した。

① 45% エタノール水溶液を加えての粉碎処理

粉碎物の特徴は、図示していないものを含めて、以下の通りであった。

染色の有無に関わらず、

- a) 付着物のある粒子が多く観られた。すなわち、粒子の表面は、様々な形態の小さな布片に相当するもの（以下、パッチという）が前後・左右に縫い合わされているように見える“パッチワーク模様”（以下、PW 模様）を呈し、さらに粒子の周囲にひげ状または薄片状のものが付着している粒子が多く観られた（図 1 の A）。
- b) 付着物の一部が剥がれ落ちたと思われる粒子が観られた (A)。しかし、その割合は少なかった。
- c) 粒子のなかには、特に拡大すると、複数の亀裂を呈する粒子が観られた (B)。この亀裂は比較的大きく、浅く、長短様々で、不規則であった。

これら以外に、染色時にのみ観られる特徴としては、

- a) PW 模様の MB 染色の度合は、パッチに相当する部分（以下、パッチ部分）が薄く、縫い目に相当する部分（以下、縫い目部分）は濃かった (A)。粒子によってはパッチ部分の染色度合に濃淡が観られた。
- b) 縫い目部分にパッチ部分の断片（切れ端）が付着している粒子が観られた (C)。
- c) 縫い目部分の一部が表面にわずかに食い込んで見える粒子が観られた (C)。また、このような粒子で、表面の一部に縫い目部分が剥がれ落ちたと思われる痕跡のある粒子が観られた。

クロスニコル下での特徴は、十字の暗線（以下、偏光十字）、接近した二本の双曲線様の暗線、不規則な明暗模様を呈する粒子が観られた。粒子によっては、表面の一部にカラー（オレンジ色、褐色、青色など）を呈する粒子も観られた。

なお、2019 年産の生芋切片に 45% エタノール水溶液を加えて粉碎処理して得られた粒子の顕微鏡観察結果は、2018 年産の場合とほとんど同じであった。

② 35%、25% エタノール水溶液を加えての粉碎処理

45% エタノール水溶液の場合との特徴的な違いは、表面に、粒子を覆っている組織（付着物）の一部が破裂して生じたと思われる亀裂（以下、破裂跡）が観られたことである。35% の場合は、小さな破

裂跡が粒子によっては観られたが、25% の場合は、ほとんどの粒子で大きな破裂跡が観られた。

ii) 45% エタノール水溶液を加えての粉碎処理における粉碎強度の影響

粉碎強度の影響を調べ、前述の高速で 3 分間粉碎した場合の結果と比較した。低速で 30 秒間および 1 分間の粉碎処理の場合、粉碎時間が短いほど、付着物がより多く観られた。高速で 9 分間の粉碎処理を行った場合、3 分間の場合に比べて、付着物が剥がれ落ちた粒子がわずかに多く観られた。

以上の結果を踏まえて、加熱芋およびアルカリ浸漬芋の粉碎時の条件として、加えるエタノール水溶液の濃度は 45%、粉碎はミキサーで高速、3 分間とした。

2-2. 加熱芋粉碎物の顕微鏡観察

各種の条件下で作製した加熱（蒸し）芋の粉碎物の顕微鏡観察を行った。

i) 118℃で 30 分間の蒸し

作製した蒸し芋切片は、手で押すと煮崩れする程度に軟らかかった。これに 45% エタノール水溶液を加えて、粉碎処理して得られた粒子の顕微鏡観察を行った。顕微鏡写真の 1 例を図 2 に示した。結果は図示していないものを含め以下の通りであった。

- a) 表面が滑らかで、表面に付着物のない粒子が多く観られた (A)。これらの粒子のなかには、特に拡大すると、複数の亀裂（割れ目）を呈する粒子が観られた。亀裂は比較的大きく、浅く、長短様々で、不規則であった (B)。また、亀裂とは別に多数の細かい凹凸模様を呈する粒子が観られた (B)。また、付着物のない粒子の MB 染色度に濃淡が観られ、染色されにくいものと、染色されるものがあった (A)。
- b) 表面にパッチ部分、縫い目部分などの一部が付着している粒子が観られた。この粒子の特徴は、つぎの通りであった。① MB 染色によって、PW 模様を呈する粒子が観られ、縫い目部分が濃く染まり、パッチ部分が薄く染まった、または、ほとんど染まっていない粒子が観られた (C)。② MB 染色によって、表面の一部に、縫い目部分

が付着しており、粒子の周りに縫い目部分やパッチ部分の断片（切れ端）が付着している粒子も観られた (C)。このような粒子のなかには、縫い目部分が、表面に食い込んでいるように見える粒子が観られた (C)。◎粒子によってはパッチ部分に多数の細かい凹凸模様が観られた。

c) クロスニコル下では、偏光十字や二つの接近した双曲線様の暗線を呈する粒子も観られたが、不規則な明暗模様を呈する粒子が多く観られた。

ii) 118℃で 20 分間または 40 分間の蒸し

20 分間または 40 分間蒸した際の蒸し芋切片の状

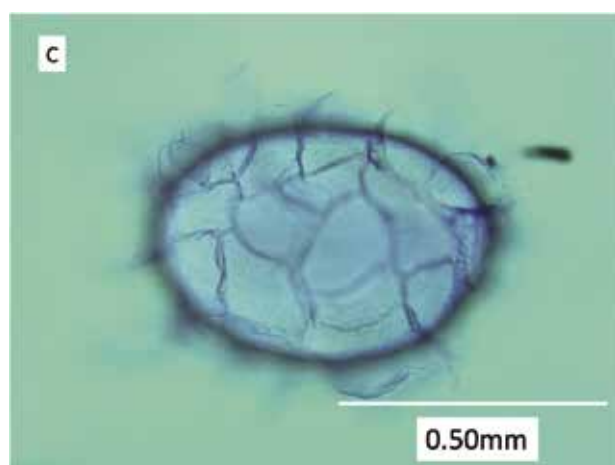
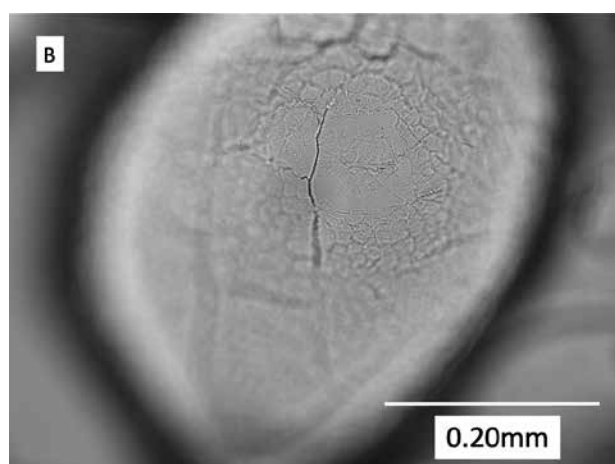
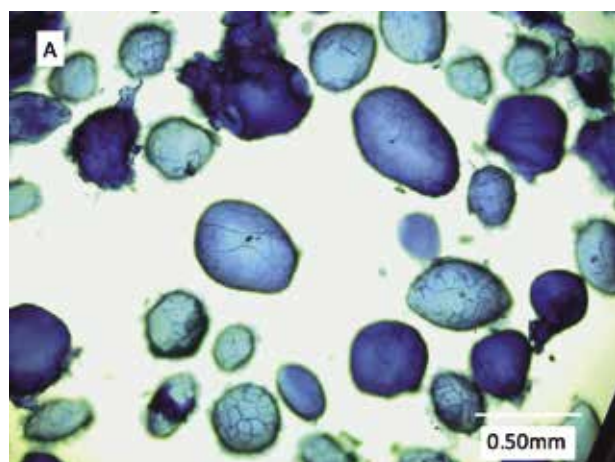


図 2 118℃で 30 分間加熱処理したものに 45% エタノール水溶液を加えて得られた粉碎物の顕微鏡写真

A と C は MB 染色して、B は MB 染色なしで撮影した写真である。撮影時の対物レンズは、4、10 または 20 倍を使用した。

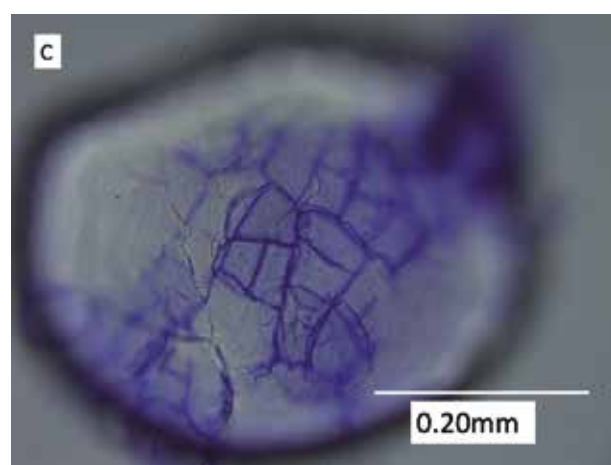
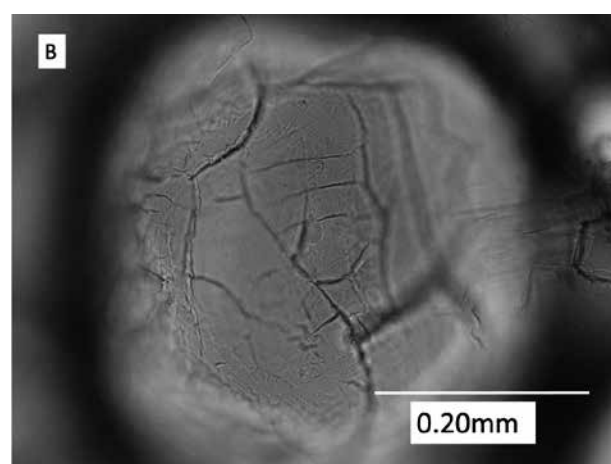
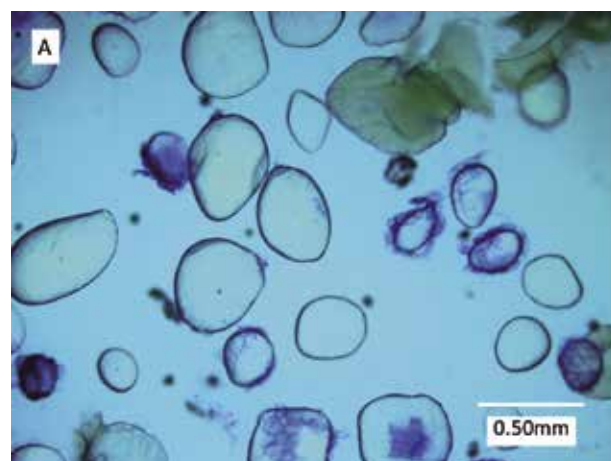


図 3 生芋切片を 0.1mol/l NaOH 水溶液に常温で 1 週間浸漬したものに 45% エタノール水溶液を加えて得られた粉碎物の顕微鏡写真

A と C は MB 染色して、B は染色なしで撮影した写真である。撮影時の対物レンズは 4 または 20 倍を用いた。

態は 30 分間蒸した場合とほとんど同じであった。粉碎物の顕微鏡観察結果は、定性的には、30 分間蒸した場合に比べて、20 分間蒸した場合は付着物のない粒子の割合がやや少ないようで、40 分間蒸した場合はわずかに多いように見られた。

2-3. アルカリ浸漬芋粉碎物の顕微鏡観察

NaOH 水溶液濃度の影響を調べた結果、0.06mol/L までは濃度の増加に伴って、付着物のない粒子の割合が徐々に多くなり、付着物のある粒子の割合が少なくなった。0.08mol/L と 0.10mol/L では、付着物のない粒子が多く観られた。0.10mol/L NaOH の場合の顕微鏡写真の 1 例を図 3 に示した。粒子の特徴は以下の通りであった。

- a) 染色の有無に関わらず、表面が滑らかで、表面に付着物のない粒子が多く観られた (A)。これらの粒子のなかには、特に拡大すると、複数の亀裂や、細かい多数の凹凸模様を呈する粒子が観られた (B)。亀裂は、比較的大きく、浅く、長短様々で、不規則であった。
- b) 表面の全体または一部に染色された付着物のある粒子が観られた (A)。これらの粒子のなかには、パッチに相当する部分に染色物がなく、縫い目部分のみが観られ、この縫い目部分が表面に食い込んで見えるように見える粒子 (C)、表面の一部に縫い目部分が剥がれ落ちたと思われる痕跡が見られる粒子が観られた (C)。
- c) クロスニコル下では、偏光十字、接近した二つの双曲線様の暗線、不規則な明暗模様を呈する粒子が観られた。

3. 考察

3-1. 生芋粉碎時のエタノール水溶液濃度の影響

生芋粉碎物で観られた表面付着物の特徴は、加えたエタノール水溶液の濃度で著しく影響されることが分かった。エタノール濃度が 25% および 35% の場合、45% の場合と異なっており、表面に MB 不染色の破裂跡が見られた、すなわち、付着物が裂ける現象が見られた。しかし、裂けても付着物（染色物）は粒子表面に留まっていた。この破裂跡の大きさは、25% の場合の方が 35% に比べてより大きかった。これは、エタノール水溶液中での GM 粒子の膨潤に起因すると考えられ、その度合の違いを反映した

ものと推測される。

付着物の破裂とエタノール水溶液の濃度との関係から、付着物は GM 粒子の膨潤力に抗しきれずに破裂したことになる。すなわち、膨潤力が付着物の物理的強度を上回ったと考えられる。一方、45% のエタノール水溶液濃度では、GM 粒子の膨潤が抑制されているために、表面付着物はほとんど影響受けなかったものと推測される。

45% エタノールでの生芋粉碎物中の多くの粒子は、PW 模様を呈する染色物で覆われていたことや、クロスニコル下で明暗模様を呈し、複屈折性を有していたことから、規則構造（球晶¹¹⁾）がある程度保たれていることが分かった。したがって、45% エタノールの添加によって、多くの GM 粒子の膨潤はほぼ完全に抑制されていると考えられる。

3-2. 付着物のある粒子について

45% エタノールでの生芋粉碎物で、④粒子の表面に PW 模様、⑤粒子の周囲にひげ状または薄片状のもの、⑥縫い目部分にパッチ部分の断片（切れ端）の付着が観られたことから、表面に細胞壁や中葉、またはその一部が付着していることが明らかである。したがって、45% エタノールでの生芋粉碎物で得られた多くの粒子は、付着物のある粒子と言える。

PW 模様における染色度合は、縫い目部分が濃く、パッチ部分が薄かった。この染色度合の違いは、中葉と細胞壁でのペクチン含量の違いやパッチ部分の細胞壁の有無を反映しているのではないかと推測される。

パッチ部分の染色度合の濃淡については、④パッチ部分がほとんど無染色の場合は、表面に GM 細胞壁が付着していない、⑤わずかに染色している場合は、GM 細胞壁のみが付着している、⑥濃く染色している場合は、GM 細胞壁と柔細胞壁が付着し、さらには GM 細胞と柔細胞を接着している中葉が付着している、とそれぞれ推測される。

一方、MB で濃く染色される縫い目部分は、主として、GM 粒子表面に存在する、GM 細胞と複数の柔細胞を接着する中葉に起因すると考えられる。

加熱芋およびアルカリ浸漬芋の粉碎処理で得られた粒子の中にも、付着物のある粒子が観られた。本研究で用いた粉碎条件では、GM 粒子から、そ

の周りの付着物のすべてを除去することは困難であった。

3-3. 付着物のない粒子について

GM 粒子は、加熱処理やアルカリ処理で物理的・化学的な影響を受けると考えられる。例えば、アルカリ浸漬によって GM は脱アセチル化¹²⁾され、ゲル化、すなわち GM 粒子が不溶化¹³⁾する可能性が推測される。しかし、アルカリ浸漬によって、粒子に膨潤の形跡が観られなかったことや、複屈折性が観られたことから、GM 粒子の規則的な構造はある程度維持されていると考えられる。粒子に対する物理的・化学的影響の有無に関わらず、本研究では付着物のない粒子が観られるか否かに焦点をあてた。

加熱芋では、118℃で 30 分間の蒸し芋を作製し、また、アルカリ浸漬芋では、0.10mol/L NaOH 水溶液に 1 週間浸漬した芋を作製し、それぞれの芋に 45% エタノール水溶液を加えて、粉碎処理して得られた粒子の中に、表面に付着物のない粒子が多く観られることが分かった。

付着物の剥落には、ペクチンの分解による細胞壁等の物理的強度の低下や粉碎処理という物理的エネルギー以外に、加熱の場合には、GM 粒子の部分的な膨潤や GM 粒子と付着物の間の接着力の弱化などの関与、またアルカリ浸漬の場合には、GM やセルロースなどの水酸基の電離による分子間の反発などの関与も推測される。

加熱芋およびアルカリ浸漬芋の粉碎物で観られた付着物のない粒子の表面には、複数の亀裂（割れ目）が観られ、また、この亀裂とは別に多くの細かい凹凸模様が観られた。

一方、45% エタノール水溶液での生芋粉碎物で観られた付着物のある粒子のなかには、その表面に、染色の有無に関わらず亀裂が観られ、MB 染色した場合は、染色度に濃淡はあるけれども、複数の、比較的浅い亀裂を呈する粒子が観られた。このような亀裂が観られる付着物のある粒子の表面のパッチ部分は、MB でほとんど染色されていないか、または、薄く染色されていた。このことは、亀裂が観えるパッチ部分は、細胞壁でほとんど覆われていないか、または GM 細胞壁のみで覆われていることを示唆している。すなわち、表面の亀裂が直接的にまたは間

接的に観えている可能性がある。

生芋での観察結果を考えると、加熱やアルカリ浸漬で観られた亀裂は、芋組織の中に存在する粒子の表面にもともと存在していたものではないかと推測される。また、凹凸模様についても、亀裂の場合と同様に、芋組織中に存在する粒子の表面にもともと存在していたものではないかと推測される。しかし、加熱やアルカリによって表面で非常にわずかな膨潤が起こり、この部分がエタノールによって脱水・収縮することによって、亀裂や凹凸模様が形成されたという可能性も否定できない。今後の検討課題である。

なお、加熱処理で得られた付着物のない粒子に MB で染色されるものが観られた。この原因については、表面に正味の電荷が陰イオン性の不純物（例えば、タンパク質）が存在するためではないかと推測される。しかし、詳細は不明である。

3-4. GM 粒子表面の付着物が除去されにくい要因について

生芋、加熱芋およびアルカリ浸漬芋の粉碎物で観られた付着物のある粒子について、その周りに付着していた細胞壁や中葉の形態や存在状態は様々であった。ここで用いた粉碎条件ではこれらの付着物のすべてを除去することはできなかった。その要因について考察する。

中葉部分の表面へのわずかな食い込みについてである。食い込みは、生芋だけでなく、加熱芋およびアルカリ浸漬芋の場合にも観察された。したがって、一部の付着物が除去されにくくなる要因の一つと考えられる。この食い込みは芋組織固有の特性と考えられるけれども、一部の粒子表面で観られたこと、また、粒子表面の一部に、中葉部分が剥がれ落ちたと思われる痕跡が認められたことなどから、すべての付着物が除去されにくい要因とは考えにくい。なお、中葉部分の表面への食い込みは、「GM 細胞の成長によって生ずる膨圧とその周囲に存在する柔細胞との接触圧迫」¹⁴⁾に起因すると推測される。

4. 要約

本研究では、広島県産のこんにゃく芋を試料として、GM 粒子表面に付着している細胞壁や中葉など（付着物）を除去できるか否かを検討した。すなわ

ち、GM 粒子の膨潤・溶解が抑制された条件下でミキサーを用いて、生芋切片、蒸し芋切片、またはアルカリ浸漬芋切片の粉碎処理を行い、得られた粉碎物の顕微鏡観察を行った。付着物の有無は MB 染色で判定した。生芋切片に 45% エタノール水溶液を加えて粉碎処理を行った結果、表面に付着物の多い粒子が多く観られた。一方、118°C、30 分間で作製した蒸し芋切片、または、0.1mol/L NaOH 水溶液

に 1 週間、常温で浸漬したアルカリ浸漬芋切片に、45% エタノール水溶液を加えて粉碎処理した結果、いずれの場合も、付着物のない粒子が多く観られた。以上の結果から、こんにゃく芋を予め加熱処理やアルカリ処理を行い、その後粉碎処理することによって、粒子表面の付着物を除去できる可能性があることが明らかになった。

参考文献

1. 釘宮正往, 大野婦美子: こんにゃく精粉におけるグルコマンナン粒子表面の付着物. 日食工誌 **68**(8): 360-367, 2021.
2. Albersheim, P., Neukom, H. and Deuel, H.: Splitting of pectin chain molecules in neutral solutions. *Arch. Biochem. Biophys.* **90**: 46-51, 1960.
3. Neukom, H. and Deuel, H.: Alkaline degradation of pectin. *Chem. Ind.* **1958**: 683, 1958.
4. D. F. カトラ著, 遠山益訳: 「入門応用植物解剖学」. 東京, 共立出版, 1-18, 1981.
5. Estevez, J. M., Leonardi, P. I., and Alberghina, J. S.: Cell wall carbohydrate epitopes in the green alga *Oedogonium Bharuchae* F. Minor (Oodogoniales, Chlorophyta). *J. Phycol.* **44**: 1257-1268, 2008.
6. Zhao, J., Zhang, D., Srzednicki, G., Kanlayanarat, S., and Borompichaichartkul, C.: Development of a low-cost two-stage technique for production of low-sulphur purified konjac flour. *Int. Food Res. J.* **17**: 1113-1124, 2010.
7. Li, L., Ruan, H., Ma, L., Wang, W., Zhou, P., et al.: Study on swelling model and thermodynamic structure of native konjac glucomannan. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* **10**(4): 273- 279, 2009.
8. Xu, W., Wang, S., Ye, T., Jin, W., Liu, J., et al.: A simple and feasible approach to purify konjac glucomannan from konjac flour- Temperature effect. *Food chem.* **158**: 171-176, 2014.
9. 滝口強: こんにゃく製造原料の品質改善—加工過程での劣化防止等の研究—. 食の科学 **260**: 32-40, 1999.
10. 小笠原至玄, 山崎仁, 布村渉: コンニャクマンナンを支持体とする電気泳動法の試み. 生物物理化学 **31**(3): 155-158, 1987.
11. 山田信夫: 球晶 (I). 高分子 **7**: 621-632, 1958.
12. Maekaji, K.: The mechanism of gelation of konjac mannan. *Agric. Biol. Chem.* **38**: 315-321, 1974.
13. 特開 2018-164450 こんにゃく粉末及びその製造法.
14. 西田彰三: 蒟蒻粉に関する研究. 商学討究 **1**: 209-245, 1926.

長寿遺伝子関連蛋白発現度に食用キノコ抽出物が及ぼす影響 — 末梢血単核細胞に発現する sirtuin 2 濃度の経時的変化

遊道 和雄 (YUDOH Kazuo)^{1*}

山本 正和 (YAMAMOTO Masakazu)² 唐澤 里江 (KARASAWA Rie)¹ 杉下 陽堂 (SUGISHITA Yodo)¹

鈴木 由妃 (SUZUKI Yuki)³ 児島 義昭 (KOJIMA Yoshiaki)² 中島 将 (NAKAJIMA Sho)²

Key Words : 長寿遺伝子関連蛋白, アガリクス, 靈芝, コプリヌス, 健康長寿

Effect of edible mushroom extracts on the expression level of longevity gene-related proteins
-Temporal changes in the concentration of sirtuin 2 expressed in peripheral blood mononuclear cells

Authors: Kazuo Yudoh^{1*}, Masakazu Yamamoto², Rie Karasawa¹, Yodo Sugishita¹, Yuki Suzuki³,
Yoshiaki Kojima², Sho Nakajima²

***Corresponding author:** Kazuo Yudoh

Affiliated institutions:

¹ Institute of Medical Science St. Marianna University, School of Medicine
(2-16-1, Sugo, Miyamae-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa 216-8512, Japan)

² Shinto Chemical CO., LTD. (3-13-2, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan)

³ Department of Obstetrics & Gynecology, St. Marianna University School of Medicine
(2-16-1 Sugao, Miyamae-ku, Kawasaki, Kanagawa 216-8511, Japan)

Key Words: sirtuin, agaricus, bracket fungus, coprinus, health and longevity

Abstract

Sirtuin 2, which is mainly present in cytoplasm, has an important part in mammalian development, caloric restriction, metabolic regulation, genomic stability, cellular antioxidant potential, DNA repair and the regulation of aging. We have previously reported that the protein level of sirtuin 2 in human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) decreases with aging in healthy volunteers, suggesting that sirtuin 2 level in PBMCs may have a potential as a useful surrogate-biomarker monitoring a health condition and an aging.

In the present study, we had 25 healthy volunteers take in edible mushroom extracts (agaricus, bracket fungus, coprinus) once a day for three months and, collected peripheral blood (10 mL/donor) from healthy volunteers at initial phase and every one month after the clinical study start. The level of expression of sirtuin 2 in PBMCs was analyzed by an enzyme linked immunosorbent assay. In the control group without an intake of mushroom extracts (5 healthy volunteers), no significant changes in the level of sirtuin 2 expression in PBMCs were observed during the study period. In contrast to the control group, the expressions of sirtuin 2 in PBMCs gradually increased in the group taking in 3 kinds of mushroom extracts (agaricus, bracket fungus, coprinus) (10 healthy volunteers) and the group taking in extract of bracket fungus (10 healthy volunteers). These findings suggest that the mushroom extracts may have a potential to increase the level of sirtuin 2 expression in PBMCs.

It has been demonstrated that Resveratrol (polyphenols) and its derivative induce the expression of sirtuin having an nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)-dependent deacetylation enzyme activity associated with the cellular metabolism, energy production, genomic stability and realization of the prolongation of lifespan. Although further studies are needed to clarify the mechanism of inducible effect of the mushroom extracts on sirtuin expression in PBMCs, we conclude that 3 kinds of mushroom extracts may have a potential to induce the sirtuin 2 activity.

* 責任著者: 遊道 和雄¹ E-mail: yudo@marianna-u.ac.jp

¹ 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター (〒 216-8511 神奈川県川崎市宮前区菅生 2-16-1)

² 株式会社シントー化学 (〒 113-0033 東京都文京区本郷 3 丁目 13-2)

³ 聖マリアンナ医科大学産婦人科学教室 (〒 216-8511 神奈川県川崎市宮前区菅生 2-16-1)

はじめに

近年、国内外の老化学・長寿科学に注目が集まり、細胞・組織・臓器の老化のメカニズムならびに老化克服・寿命延長の具体的方法や薬剤開発が精力的に進められている。米国マサチューセッツ工科大学ガレンテ博士が2000年に発見した長寿遺伝子 Sir2 の関連蛋白 sirtuin は、nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) 依存性脱アセチル化酵素活性を有し、核酸修復酵素の活性化、生命維持に必要な細胞エネルギー産生量の調整および染色体・テロメア保護作用を持つことが報告されており¹⁻³⁾、長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin の発現度と健康度・疾患との関連についても国内外で精力的な研究が進められている。

我々はこれまでに、「長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin 活性と細胞老化のメカニズムとの関連」ならびに「sirtuin の活性・発現度の老化・健康評価のバイオマーカーとしての有用性」について研究を進め、加齢に伴う sirtuin 蛋白発現度の変化について知見を得てきた。近年、sirtuin 蛋白の発現を誘導する因子、特にレスベラトロールなどポリフェノール類に関する研究も国内外で行われており¹⁻³⁾、我々も食用キノコ抽出物がヒト末梢血単核細胞に発現する sirtuin レベルを増強させることを *in vitro* で確認し、研究を進めている。

本試験では、健常者25名(20～70歳代)を対象に、食用キノコ〔姫マツタケ(アガリクス)、紫雲芝、コプリヌス〕抽出物を毎日1回3ヶ月間摂取してもらい、1ヶ月毎に末梢血単核細胞に発現する長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin 2 濃度を解析し、キノコ抽出物の摂取による sirtuin 2 発現誘導効果を明らかにした。

研究の背景

1. 高齢化社会における健康寿命

急速な高齢化に伴い、2025年には我が国の65歳以上の高齢者人口は30%を超え、寝たきり人口も450万人強になると予想されており、2025年の年間医療費は59兆円、介護費を加えると94兆円にも上るという試算もある⁴⁾。超高齢化社会においては、医療費負担の激増はいうに及ばず、労働・生産人口の減少によって社会基盤そのものの脆弱化が危惧されており、その対策が社会的急務とされている。

我が国は超高齢化社会を迎えたが、外出や社会生

活を楽しめる「健康寿命」は実際の寿命より男性、女性共に約10年も短縮しているという^{4,5)}。高齢化社会において、長寿で健康な日常生活の活動性を保ち、健康寿命を延伸させるためには、神経・運動・感覚器や臓器(循環器、呼吸器、消化器等)の機能の現状を総合的に把握して、維持または改善していくことが肝要である。そのために我々は、組織・臓器横断的な健康指標や老化の程度をモニターするバイオ(サロゲート)マーカーの研究開発を進めてきた。

2. 長寿遺伝子関連脱アセチル化蛋白 sirtuin について

近年、明らかにされた長寿遺伝子に関する知見から、国内外の長寿科学に注目が集まり、細胞・組織・臓器の老化のメカニズムならびに、老化克服・寿命延長の具体的方法や薬剤開発に熱い視線が注がれている¹⁾。米国マサチューセッツ工科大学ガレンテ博士が2000年に発見した長寿遺伝子 Sir2 の関連蛋白 sirtuin family (sirtuin 1-7) は、活性化すると解明されている100近くの老化関連因子・遺伝子が活性化または抑制され、その結果、肌、血管、脳など様々な器官の細胞組織の老化が遅延し、寿命にも影響すると考えられている^{2,3)}。NAD 依存性脱アセチル化酵素活性を持つ sirtuin は、核酸修復酵素の活性化、生命維持に必要な細胞エネルギー量の調整および染色体テロメア核酸保護作用を有することも報告されており、老化・長寿科学を研究するうえで重要な因子の一つであると考えられている^{6,7)}。

現在、国内外において、実際の加齢・老化に伴う老化遺伝子や長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin の発現度の変化、ならびにこれらの因子の疾患との関連について国内外で精力的に研究が進められている。これまでに我々は、加齢に伴う sirtuin 蛋白発現度の変化を解析するため、健常者約100名の末梢血単核細胞における sirtuin の発現度を解析し、sirtuin は加齢に伴って減少することを示唆する知見を得てきた⁸⁾。

最近、sirtuin 蛋白の発現を誘導する因子に関する研究も国内外で盛んに行われており、レスベラトロール(ポリフェノール)や、その誘導体などについて sirtuin 活性化に関する基礎研究、臨床研究の報告がある^{6,7)}。我々も、食用キノコの抽出物がヒト末梢血単核細胞における sirtuin 2 の発現度を増強させることを *in vitro* 実験系で確認し、その機序の

解明に向けて研究を進めている。

本試験では、健常被験者 25 名を対象に、食用キノコ抽出物 [姫マツタケ (アガリクス)、紫雲芝、コプリヌス] を毎日 1 回 3 ヶ月間摂取してもらい、摂取前、摂取開始後 1 ヶ月毎に末梢血検体を採取し、長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin 2 発現度を解析した。

研究の対象・方法

1. 対象

本研究は、株式会社シントー化学と聖マリアンナ医科大学難病治療研究センターに所属する研究者および研究協力者で、下記の条件を満たす 25 名 (30 歳～70 歳代、男性 11 名・平均年齢 52.4 歳、女性 14 名・平均年齢 42.6 歳) を対象とした。

- 本試験にエントリーする時点で入院治療を要する慢性疾患を抱えておらず、日常生活行動に支障のないこと。
- 食用のキノコにアレルギーがない、またはキノコアレルギーの既往のないこと。
- 本試験にエントリーする前 6 か月以内に、長寿遺伝子関連蛋白の発現に影響することが報告されているポリフェノール類を成分に含むサプリメントを継続的に服用していないこと。
- 聖マリアンナ医科大学の生命倫理委員会の承認を得た臨床試験同意説明文書でインフォームドコンセントの説明を受けて、その内容を理解し文書で同意がとれていること。

本研究は、聖マリアンナ医科大学の生命倫理委員会の承認を得て (承認番号 5033)、ヘルシンキ宣言 (2013 年改訂) および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守して実施した。

2. 方法

本研究の目的と内容の説明を同意説明文書で受けて、その内容を理解し文書で同意を得た被験者 25 名を 3 群に分け、i) キノコ抽出物 3 種摂取群: 11 名 (男性 4 名、女性 7 名、平均年齢 47.3 歳) に食用キノコ [姫マツタケ (アガリクス)、紫雲芝、コプリヌス] 3 種類を等量を含むキノコ抽出物 20 mg を、ii) 紫雲芝抽出物摂取群: 10 名 (男性 3 名、女性 7 名、平均年齢 43.7 歳) に紫雲芝の抽出物 20 mg を、毎日 1 回 3 ヶ月間摂取してもらい、iii) 4 名 (男性 4 名、平均年齢 53.7 歳) はキノコ抽出物摂取を

しないコントロール群とした。被験者全員から被験物質の内服開始直前、採取開始後 1 ヶ月目、2 ヶ月目、3 ヶ月目の計 4 回について、10 mL の末梢血の採血を行った。

採取した検体から既報に則って、血清と末梢血単核細胞由来蛋白質を分離し、末梢血単核細胞に発現する長寿遺伝子関連脱アセチル化酵素 sirtuin 2 濃度を蛍光酵素抗体法による Sirtuin 2 activity assay kit (Abcam public limited company, Cambridge, UK) を用いて測定し、血清中の各種肝機能検査値 [総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP)、コリンエステラーゼ (ChE)], 免疫グロブリン [immunoglobulin (Ig) G, IgM] および β -D- グルカン濃度は SRL 株式会社に測定依頼して解析した。解析したデータの統計学的解析には、Student's *t*-test を用いた。

結果

1. 末梢血単核細胞に発現する sirtuin 2 濃度の経時的変化

本研究に参加した全ての被験者について、研究期間中に有害事象や健康の変化はみられなかった。コントロール群については、試験開始前、1 ヶ月目、2 ヶ月目および 3 ヶ月目の平均 sirtuin 2 濃度に有意な変化はみられなかった (図 1A)。紫雲芝抽出物摂取群ならびにキノコ抽出物 3 種摂取群においては、各々摂取開始前に比べて経時的に平均 sirtuin 2 濃度は上昇する傾向がみられ、摂取開始時に比べて有意に平均濃度が高かったのは紫雲芝抽出物摂取群の 2 ヶ月目、キノコ抽出物 3 種摂取群の 2 ヶ月目および 3 ヶ月目であった (図 1B, 1C, * $p < 0.05$)。

3 群間の平均 sirtuin 2 濃度を比較すると、摂取開始前の時点では 3 群間の同因子濃度に差は認めなかったが、1 ヶ月目、2 ヶ月目および 3 ヶ月目においてコントロール群に比べてキノコ抽出物 3 種摂取群で有意な上昇がみられた (図 2, * $p < 0.05$)。紫雲芝抽出物摂取群の平均 sirtuin 2 濃度は各時点においてコントロール群よりも高値を示す傾向がみられたが、統計学的有意差は認められなかった。

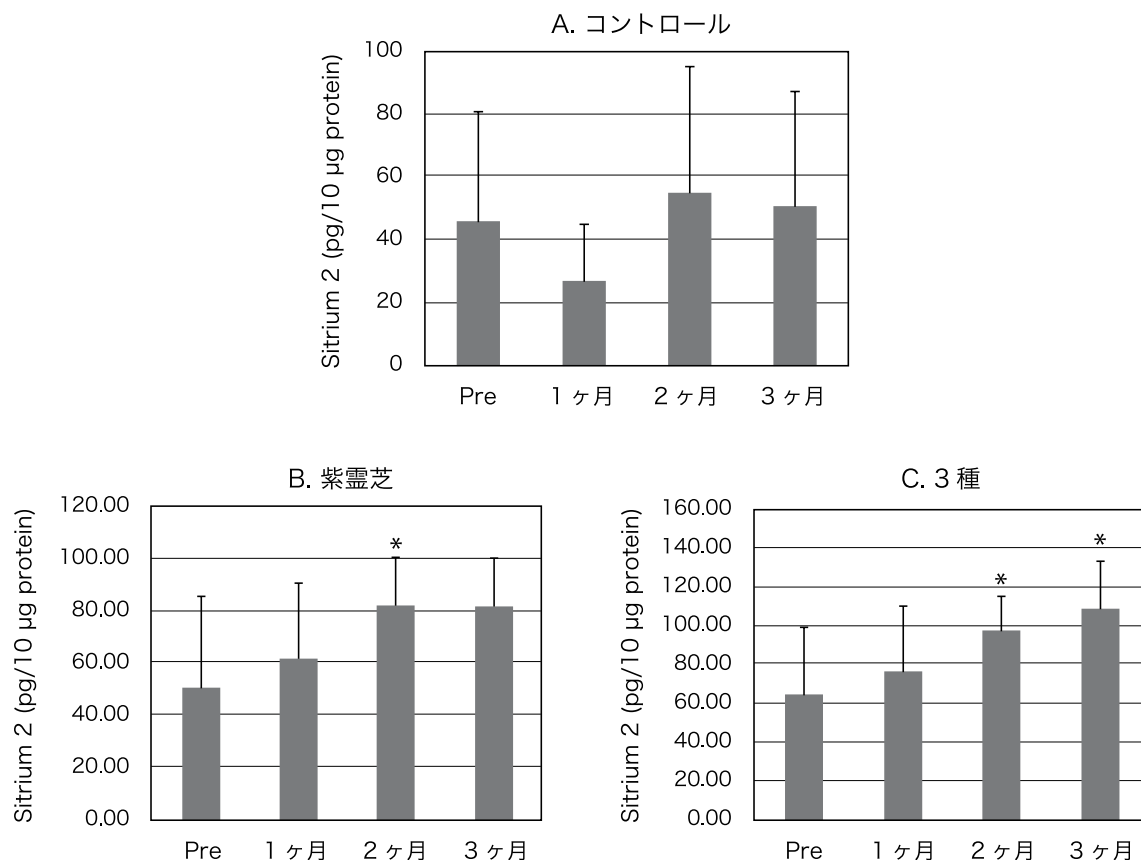


図1 末梢血単核細胞に発現する sirtuin 2 濃度の経時的変化
A: コントロール群の平均 sirtuin 2 濃度の経時的変化
B: キノコ抽出物 3 種摂取群の平均 sirtuin 2 濃度の経時的変化、* $p < 0.05$
C: 紫靈芝抽出物摂取群の平均 sirtuin 2 濃度の経時的変化、* $p < 0.05$

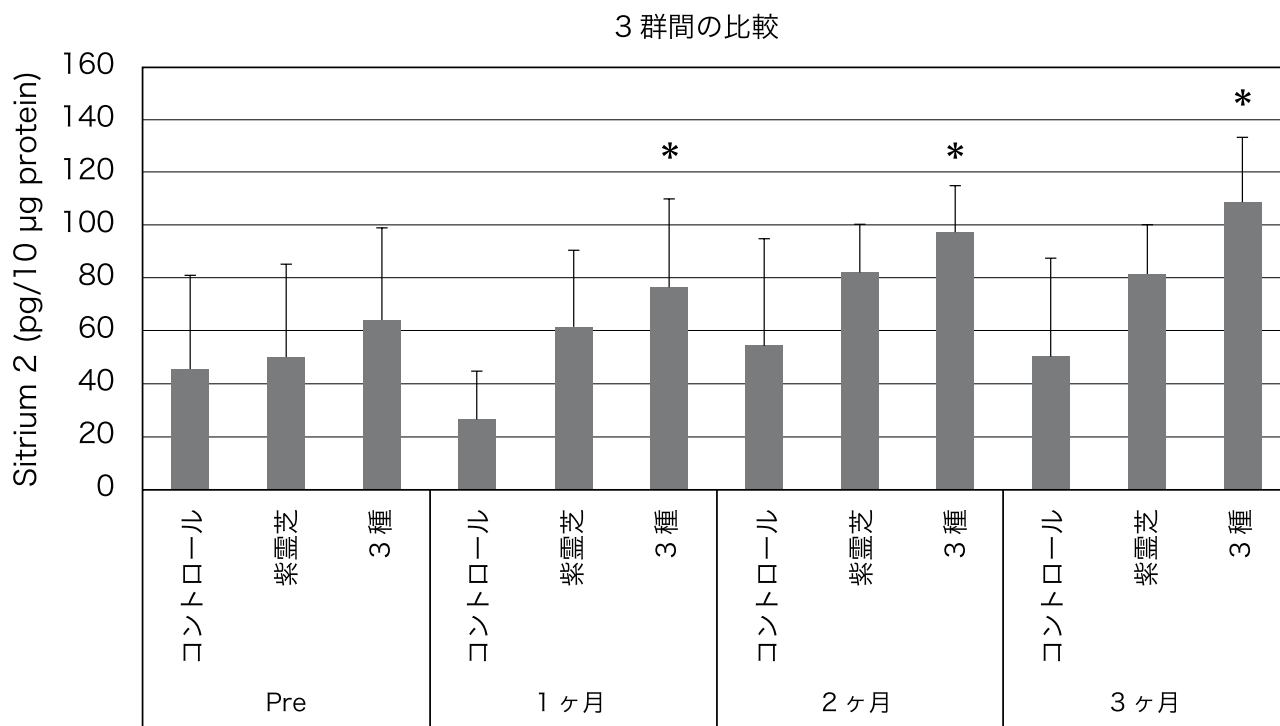


図2 キノコ抽出物 3 種摂取群、紫靈芝抽出物摂取群およびコントロール群の平均 sirtuin 2 濃度の群間比較
1 ヶ月目 コントロール群 versus キノコ抽出物 3 種摂取群、* $p < 0.05$
2 ヶ月目 コントロール群 versus キノコ抽出物 3 種摂取群、* $p < 0.05$
3 ヶ月目 コントロール群 versus キノコ抽出物 3 種摂取群、* $p < 0.05$

2. キノコ抽出物摂取が肝機能検査値、免疫グロブリンおよび β -D-グルカン濃度に及ぼす影響

キノコ3種混合摂取群、紫雲芝摂取群およびコントロール群のいずれにおいても、摂取試験開始前と摂取試験終了3ヶ月後の各種肝機能検査値、免疫グロブリンIgGおよびIgM、ならびに β -D-グルカン濃度に有意な変化は認められなかった。

考察

本研究から、食用キノコ〔姫マツタケ（アガリクス）、紫雲芝、コプリヌス〕の継続的摂取によって、末梢血単核細胞に発現する長寿遺伝子関連蛋白 sirtuin 2 濃度は上昇する可能性が示唆された。長寿遺伝子 Sir2 の関連蛋白 sirtuin family (sirtuin 1-7) は NAD 依存性脱アセチル化酵素活性を有し、核酸修復酵素の活性化、生命維持に必要な細胞エネルギー量の調整および染色体・テロメア保護作用など細胞活性を制御する多様な働きを持つことが報告されている⁴⁻⁷⁾。本研究で解析した sirtuin 2 は細胞質に豊富に発現しており、主に細胞核に発現する sirtuin 1 や、ミトコンドリアに発現する sirtuin 3 よりも、核またはミトコンドリア分画の分離抽出操作を必要としない分だけ容易に解析することが可能である。Sirtuin 2 は生体内のほぼ全ての細胞の細胞質にユビキタスに発現していることから、その発現度を解析することで、特定の組織・臓器を構成する細胞の活性だけでなく、組織・臓器横断的な全身性の細胞活性のレベルを評価することができると考えている。

我々は、sirtuin 2 に注目し、全身性の細胞活性を反映した健康度や老化の程度をモニターするバイオマーカー・サロゲートマーカーの開発に向けて研究を進め、加齢に伴う sirtuin 蛋白発現度の変化について知見を得てきた⁸⁾。本研究では、被験者25名の末梢血単核細胞の sirtuin 2 発現度に関して、性別による違いや加齢に伴う発現度減少の傾向など、性別・年齢と sirtuin 2 発現度との相関関係はみられなかったが、本試験条件での当該相関の有無の検証にはさらに例数を増やして評価する必要があると考える。

これまでに、60歳以上の高齢者において、身体的フレイル状態の高齢者に比べて非フレイル状態の高齢者の方が sirtuin 発現度が高いことが報告さ

れ、運動・身体活動が sirtuin 活性の誘導因子であることが示唆されている^{9,10)}。近年、sirtuin 蛋白の発現を誘導する因子、特にレスベラトロールなどポリフェノール類に関する研究も国内外で行われており、sirtuin の発現度・活性度を向上させることで、組織・臓器横断的な全身性の健康度ならびに活動性を改善させることが期待されている。

本研究において、食用キノコ抽出物の継続的摂取による末梢血単核細胞の sirtuin 2 発現度の誘導効果が示唆されたことから、これらのキノコ含有成分にレスベラトロール等のポリフェノール類のような sirtuin 活性化因子が存在する可能性が示唆された。キノコ類には、 β -グルカンなどの多糖類、ビタミン、ミネラル、リノール酸やパルミチン酸といった脂質、アミノ酸が含まれており、本研究で用いたアガリクスや紫雲芝には抗癌効果や免疫賦活作用を持つ β -グルカン等の多糖類、コプリヌスには抗酸化作用を持つエルゴチオネイン等のアミノ酸を豊富に含有することが知られている^{11,12)}。今後、本研究におけるキノコ抽出物のうち、どのような因子が sirtuin 2 発現度に影響するのか検討する必要がある。

本研究では、食用キノコ抽出物の毎日・3ヶ月間の摂取による明瞭な有害事象、肝機能障害および免疫グロブリン値の変化はみられなかったことから、食用キノコ抽出物を長寿遺伝子関連蛋白の活性化を目的とする健康補助食品として日常生活の中で安全に摂取できると考えている。また、 β -D-グルカン濃度についても、3群ともにキノコ抽出物摂取開始前と摂取終了後の有意な変化に認めなかったが、濃度の変化がみられた被験者もいたことから、今後被験者数および試験期間を増して検討し、キノコ抽出物の影響の有無について評価する必要があると考える。

本研究において、食用キノコ〔姫マツタケ（アガリクス）、紫雲芝、コプリヌス〕の継続的摂取によって、末梢血単核細胞の sirtuin 2 発現度が誘導される可能性が示唆されたが、実際の健康度にどのような影響があるか否かについては今後の検討課題である。今後、sirtuin 2 発現度の誘導と自覚的・他覚的健康度の影響について研究していく必要があると考える。

謝辞

本研究に参加していただいた被験者，ならびに検体を用いた実験を担当した佐藤淑子氏，田中愛美氏，小松梨恵氏に深謝する。

文 献

1. Haigis MC, Sinclair DA: Mammalian sirtuins: Biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol.* **5**: 253–295, 2010.
2. Guarente L: Sirtuins, aging, and metabolism. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* **76**: 81-90, 2011.
3. Satoh A, Stein L, Ima S: The role of mammalian sirtuins in the regulation of metabolism, aging, and longevity. *Handb Exp Pharmacol* **206**: 125–162, 2011.
4. 令和 2 年版高齢社会（内閣府）；<https://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2020/html/zenbun/index.html>
5. 令和 2 年版厚生労働白書（厚生労働省）；<https://www.mhlw.go.jp/stf/wp/hakusyo/kousei/19/backdata/01-01-02-06.html>
6. Wątroba M, Szukiewicz D: The role of sirtuins in aging and age-related diseases. *Adv Med Sci.* **26**, **61**(1): 52-62, 2015.
7. Yudoh K: Sirtuin biology in medicine, targeting new avenues of care in development, aging, and disease. Kenneth maiese; chapter 21, 341-351, Academic Press, Elsevier, 2021.
8. Yudoh K, Karasawa R, Ishikawa J: Age-related decrease of sirtuin 2 protein in human peripheral blood mononuclear cells. **8**(3): DOI: 10.2174/1874609808999150831112, *Current Aging Science*, 2015.
9. Kumar R, Mohan N, Upadhyay AD, Singh AP, Sahu V, Dwivedi S, Dey AB, Dey S: Identification of serum sirtuins as novel noninvasive protein markers for frailty. *Aging Cell.* **13**(6): 975-80. DOI: 10.1111/accel.12260. Epub 2014.
10. Katya Vargas-Ortiz, Victoriano Pérez-Vázquez, Maciste H Macías-Cervantes: Exercise and sirtuins: A way to mitochondrial health in skeletal muscle. **20**(11): 2717. doi: 10.3390/ijms20112717, *Int J Mol Sci*, 2019.
11. 水野卓：川合正充編著，キノコの化学・生化学，学会出版センター，pp. 211-221, 1995.
12. 清水邦義, ZHU Qinchang, 吉村友里, 海淵寛, 桑原李佳, 大貫宏一郎：植物資源の機能性開発 霊芝の多機能性薬理効果に関する近年の科学的検証. *Foods & Food Ingredients Journal of Japan*, **221** (2): 111-116, 2016.

— ヒト臨床試験（ヒト試験）において 前後比較デザインを採用する場合の 統計学的留意事項 —

鈴木 直子 (SUZUKI Naoko)^{1*} 田中 瑞穂 (TANAKA Mizuho)¹ 野田 和彦 (NODA Kazuhiko)¹
波多野 絵梨 (HATANO Eri)¹ 金子 拓矢 (KANEKO Takuya)¹ 中村 駿一 (NAKAMURA Shunichi)¹
柿沼 俊光 (KAKINUMA Toshihiro)¹ 馬場 亜沙美 (BABA Asami)¹ 山本 和雄 (YAMAMOTO Kazuo)¹

Key Words：ヒト臨床試験，ヒト試験，特定保健用食品，機能性表示食品，前後比較試験

Current Status and Issues of Clinical Trials for Efficacy and Safety Evaluation of Health Foods
— Statistical considerations when adopting a before-after comparative design in clinical trials —

Keywords: clinical trials, Foods for Specified Health Uses (FOSHU), Foods with Function Claims, Before-after trial

Authors:

Naoko Suzuki^{1*}, Mizuho Tanaka¹, Kazuhiko Noda¹, Eri Hatano¹, Takuya Kaneko¹, Shunichi Nakamura¹,
Toshihiro Kakinuma¹, Asami Baba¹, Kazuo Yamamoto¹

*Correspondence author: Naoko Suzuki

Affiliated institution

¹) ORTHOMEDICO Inc.

2F Sumitomo Fudosan Korakuen Bldg., 1-4-1 Koishikawa, Bunkyo-ku, Tokyo, 112-0002, Japan.

はじめに

第2回から第5回にかけて、ランダム化比較試験(RCT)について紹介してきた。RCTは、機能性表示食品の制度下において推奨されている試験デザインであるが、第6回でも紹介したように、RCTの実施が困難な状況は存在する。本稿では、RCTの代替法の一つである、単群での前後比較試験(Before-after trial)における統計学的留意事項について紹介する。

1. RCTの限界

RCTは、Fisherが提唱したランダム割付を伴う比較試験のことを指し、臨床試験において最も信頼性の高い試験デザインである。ランダム割付のメリットとして、比較群の背景を自動的に類似させることや、系統誤差を偶然誤差に転化させることにより、

妥当な有意性検定を行えることなどが挙げられる。RCT実施に向けて、盲検化の有無や、プラセボ対照かどうか、対象集団の大きさなどを試験計画時に検討するが、特定保健用食品、機能性表示食品制度で採用されることが多いのは、「二重盲検ランダム化プラセボ対照並行群間比較」である。しかしながら、実際にはこのデザインを設定できない状況がある。以下、いくつかの状況を説明する。

1-1. 二重盲検の設定が困難な状況

盲検化は、試験結果に偏りを生じさせる危険性を減少又は最小化する重要な方法である¹⁾。盲検化の内、試験に関わるすべての関係者が割り付けられた介入を知らずに実施される方法を二重盲検と呼ぶ。

臨床試験はヒトを対象とした治療を兼ねた試験で

¹ 株式会社オルトメディコ * 責任著者

〒112-0002 東京都文京区小石川1-4-1 住友不動産後楽園ビル2階

Tel: 03-3818-0610 / Fax: 03-3812-0670

あるため、診療の一部として認識されている。それ故、特に医薬品の研究において、二重盲検の実施を、医師に受け入れてもらうのは容易ではない。さらに、心血管イベントを評価する臨床試験では数年にわたり研究を行うが、その間どのような介入を受けているかわからないまま試験を実施することは、患者の不安などの精神的負担が非常に大きい。そこで、1980年代後半により実施可能性の高い PROBE (prospective randomized open blinded endpoint) と呼ばれるデザインが欧米において新しく開発された²⁾。PROBE 試験はランダム化オープン比較試験であるが、エンドポイントの評価を、参加者がいずれの群に割り付けられたかを知らない臨床試験実施機関から独立した組織が行うことにより、オープン試験の弱点を補っている。二重盲検との違いを表1にまとめた。

PROBE 試験はオープン試験であることから、試験期間中には、医師や患者のバイアスが入り込む余地がある。また、介入実施者が割付内容を知っているため、恣意的に参加者を脱落させる危険性があり、結果を解釈する際には特に脱落の評価に注意が必要である。アウトカムにおいても、疾患による入院などの評価者の主観が入り込むようなソフトエンドポイントが設定されている場合は、アウトカムの評価頻度の調整が可能であるため注意が必要である。従って、エンドポイントの評価は、主観的評価ではなく、血圧低下の程度のような客観性のあるハードエンドポイントであることが条件となる。

1-2. ランダム化ができない状況

ランダム化の目的は、対象の選択・割付けでのバイアスを避け、介入以外の全ての要因をそろえて比較可能な集団を作ることである。特に、プラセボを

対照とした RCT は、研究上最も信頼度が高いといわれる方法であるが、プラセボの投与あるいはランダム化のそれぞれが研究倫理において争点となっている。何が問題であるかという点、プラセボは薬効成分を含まない偽薬であるため、プラセボを摂取する参加者の健康状態が改善されない可能性がある。従って、プラセボを摂取させることは、医療行為という点において倫理的問題がある。一方、ランダム化は、ランダムに2つ以上の群に割付け、それぞれの群に介入を行うが、タバコが肺癌の1つの原因であることを証明することを RCT で行うとすると、ランダムに割付けられたどちらかの群にタバコを与えなければならない。極端な例ではあるが、場合によってはランダム化に倫理的問題があると言える。実際には、様々な理由により RCT を実施することが不可能で、コホート研究などの観察研究の結果から、推測される関連について因果関係を評価しなければならない場面は多く存在する。

1-3. 対照集団を十分に確保できない状況

N-アセチルグルタミン生成酵素 (NAGS) 欠乏による高アンモニア血症の発症者は世界で約50例と報告されている³⁾。このような希少疾患を対象とする臨床試験の場合、十分な参加者を収集することは困難である。通常の臨床試験に必要な症例数を、合理的な時間枠の中では集めることができない場合に実施される試験を Small Clinical Trial (SCT) と呼ぶ。

SCT は、少数例での試験になるため、適切なランダム化や盲検化がされていないゆえにバイアスを回避できず、大きい治療効果が得られる傾向があるというメタ・アナリシスの報告がある^{3,4)}。また、少数例の試験では一般化可能性が欠如してしまうなどの問題がある。しかしながら、日本製薬工業協会

表1 PROBE 試験と二重盲検試験の比較

	PROBE	二重盲検
各群への割付け	ランダム割付	ランダム割付
エンドポイント評価の信頼性	高い	高い
費用	比較的安い	高い
研究者、対象者のバイアス	バイアスがかかる可能性あり	バイアスは排除できる
日常臨床との類似性	日常臨床に近い	日常臨床とは異なる
患者のアドヒアランス	高い	低下しやすい
エンドポイント	制約あり	制約は少ない

は、この状況において有効性を示すために、評価変数、比較対象、エビデンスの質と量、情報の表し方の4点を整理するよう提言している³⁾。これら4点の試験計画時における留意事項を下記にまとめた。

SCTは、参加者が少ないため1例あたりのデータに重みがある。精度の低い測定を用いると、標準誤差が大きくなる要因となるので、精度の高い測定を積極的に採用することを検討すべきである。また、評価する変数において、通常の試験では、1つの評価変数の最終時点だけを用いた推測が行われることが多いが、SCTでは、参加者が少ない分、経時的な変化を測定するなど1例あたりの情報量を増やすことを検討すべきである。経時測定データの場合には、時間を含む統計モデルを利用することにより、個人差を誤差から分離した分析が可能となる。比較対象については、ヒストリカル・コントロールを用いた外部対照試験やベースライン対照試験を用いて、医薬品が開発された例があるが、少数例ではバイアスの影響を受けやすいため、可能な限り同時対照の設定を検討すべきである。

SCTでは、十分な検出力($1-\beta$)を確保できないため、有意水準(α)の設定も考慮すべき事項である。実際に米国で承認された事例でも、不十分な検出力の下で検定を行い、統計的有意差が得られていないにも関わらず承認されたものがある³⁾。一般に、 α は5%、 $1-\beta$ は80%から90%に設定されるが、これらは絶対的な数値ではない。試験計画時に、 α と β の非線形の関係を示したうえで、調整された α に基づいて評価を行うことも重要な考え方である。

2. 前後比較試験とは？

RCTの限界について上述したが、食品の機能性評価におけるRCTの限界として挙げられるのが、

生鮮食品等のプラセボの作製が難しい商品である。生鮮食品においては、機能性関与成分の作用機序が解明されており、その機能性関与成分におけるプラセボ対照RCTの研究レビューを通して届出することができるが、最終製品を用いるとなるとRCTの実施が難しい。その解決策として、RCTの代替法の1つである前後比較試験がある。本章では、単群での前後比較試験における、デザインの基本的な枠組みや、統計解析手法および解析における留意点を解説する。

2-1. デザインの基本的な枠組み

前後比較試験のデザインの概略図を図1に示した。前後比較試験は、名称の通り、同一の試験参加者の摂取前と摂取後の結果値を比較するデザインである。個人内での比較のため精度は高く、症例数が少なく済むメリットがある。一方、同時対照群がないため比較可能性の問題や、オープン試験になるため、評価にバイアスがかかってしまうなどのデメリットがある。

2-2. 対応のあるt検定

前後比較試験において、データが連続変数で標本が2つの場合にt検定が用いられる。一般的に、対応のある2標本のデータは、差あるいは比を求めて1変量として扱う。例として、血圧低下を評価する試験の模擬データを表2に示した。

まず、母集団における介入前の母平均(μ_a)、介入後の母平均(μ_b)の帰無仮説(H_0)と対立仮説(H_1)は以下の通りである。

$$\begin{aligned} H_0: \mu_a &= \mu_b \\ H_1: \mu_a &\neq \mu_b \end{aligned} \quad (1)$$

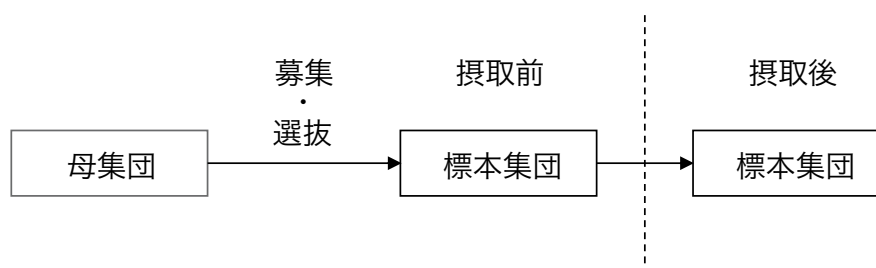


図1 前後比較デザインの概略図

表 2 2 時点の前後比較デザインの模擬データ

試験参加者	摂取前	摂取後	平均	差（摂取後－摂取前）
No. 1	125	119	244	-6
No. 2	128	124	252	-4
No. 3	114	116	230	2
No. 4	120	114	234	-6
No. 5	130	110	240	-20
No. 6	119	123	242	4
No. 7	124	111	235	-13
No. 8	135	125	260	-10
No. 9	124	119	243	-5
No. 10	115	109	224	-6
平均	123	117	240	-6
標準偏差	6.26	5.62	9.94	6.56
標準誤差	1.98	1.78	3.14	2.07

表 3 3 時点の前後比較デザインの模擬データ

試験参加者	時点 1	時点 2	時点 3	行平均
No. 1	125	120	119	121
No. 2	128	127	124	126
No. 3	114	110	116	113
No. 4	120	119	114	118
No. 5	130	113	110	118
No. 6	119	117	123	120
No. 7	124	120	111	118
No. 8	135	132	125	131
No. 9	124	125	119	123
No. 10	115	110	109	111
平均	123	119	119	121

これらのデータは前後で対応があり，変化量（ δ ）を計算することにより 1 標本にすることができる。

$$H_0 : \delta = \mu_a - \mu_b = 0 \quad (2)$$

$$H_1 : \delta = \mu_a - \mu_b \neq 0$$

この仮説を，模擬データを用いて両側有意水準 5% として検定する。対応のある t 検定は，変化量（ δ ），不変標準偏差（ S ），および自由度（ n ）を用いて以下の式で表される。

$$t = \frac{\sqrt{n}\delta}{S} \quad (3)$$

この式（3）にデータを代入すると，「 $|t| = 3.092 > t(9, 0.05) = 2.262$ 」となり，有意確率 5% を下回っていることが分かる。ここで注意しなければならない

ことは，検定に用いるのは変化量の平均値とその標準偏差であって，介入前後の実測値の平均値とその標準偏差ではないということである。論文などで，介入前後の実測値のグラフを見かけることがあるが，そのようなグラフでは変化量の標準偏差についての情報は得られず，検定結果について見当をつけることはできない。従って，結果を表すには，変化量とその 95% 信頼区間で表現するのが合理的である。

2-3. 対応のある反復測定データにおける解析

上記で，2 標本に対する検定を紹介したが，実際には反復測定を実施する試験もしばしばある。そのような試験における解析手法についてまとめる。例として，表 2 を拡張させ，測定時点を 3 つにした

模擬データを表3に示した。このデータの場合、データを変動させる要因は、個人差と時点の2つと考えられる。例えば、試験参加者ごとの全ての時点の平均値がばらついているのは、個人差のためであり、時点ごとの全ての試験参加者の平均値がばらついているのは時点による変化と考えられる。このように、データを変動させる意味のある要因が2つある場合に、2元配置分散分析が用いられる。この分析方法は、個人差を誤差から分離して効率の良い分析をすることができる。

表3のデータを一般化したものが表4であり、それぞれのデータを y_{ab} (a : 試験参加者, b : 時点) とすると、2元配置分散分析は以下の統計モデルで表すことができる。

$$y_{ij} = \mu + a_i + b_j + \varepsilon_{ij} \quad (4)$$

ここで、 a , b , ε はそれぞれ試験参加者 (個人差)、時期の効果、誤差を表す。このモデルに従って、平方和、自由度、平均平方和などを算出すると、表5のような分散分析表が作成される。以下、分散分析表作成のステップを紹介する。

まず、分散分析表を構成する要素である平方和を算出する。全体 (S_T)、個人差 (S_A)、時点 (S_B)、誤差 (S_R) それぞれの平方和は以下の式を用いて算出する。

$$S_T = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (y_{ij} - m_T)^2 \quad (5)$$

$$S_A = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (m_{i.} - m_T)^2 \quad (6)$$

$$S_B = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (m_{.j} - m_T)^2 \quad (7)$$

$$S_R = S_T - S_A - S_B \quad (8)$$

全体、個人差、時点、誤差それぞれの自由度 (ϕ) は、以下の通りである。

$$\phi_T = ab - 1 \quad (9)$$

$$\phi_A = a - 1 \quad (10)$$

$$\phi_B = b - 1 \quad (11)$$

$$\phi_R = \phi_T - \phi_A - \phi_B = \phi_A \times \phi_B \quad (12)$$

最後に、表5に示した式で平均平方和および分散比を算出することにより、分散分析表は完成する。分散比まで求めることができれば、あとは F 確率分布にあてはめて有意確率を算出するだけである。表3のデータを用いて分散分析表を作成したものが表6である。ここで算出された結果を解釈するために、個人差、時点の効果の統計学的仮説を整理する。個人差の帰無仮説は「 H_0 : 試験参加者ごとの平均値は全て等しい。」となり、時点の帰無仮説は「 H_0 : 時点ごとの平均値は全て等しい。」となる。まず、個人差の検定では、有意確率5%を下回ったことから、試験参加者ごとの平均値はばらついていることが分かる。しかし、この個人差は効果を分析するのが目的ではなく、誤差を減らすことが目的であるため、分散比の方が重要となる。今回の結果では、個人差の分散は、誤差の分散の約6倍であったことから、誤差から個人差を分離し、解析の効率が良くなっていることが理解できる。次に、この分析の主目的である時点の検定については、有意確率5%を下回っていることから、帰無仮説は棄却され、対立仮説「 H_1 : 時点ごとの平均値は異なる。」が採用さ

表4 前後比較デザインの一般化データ

要因	B_1	B_j	B_b	計	平均
A_1	y_{11}	y_{1j}	y_{1b}	$T_{1.}$	$m_{1.}$
$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$
A_i	y_{i1}	y_{ij}	y_{ib}	$T_{i.}$	$m_{i.}$
$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$
A_a	y_{a1}	y_{aj}	y_{ab}	$T_{a.}$	$m_{a.}$
小計	$T_{.1}$	$T_{.j}$	$T_{.b}$	T_T	-
平均	$m_{.1}$	$m_{.j}$	$m_{.b}$	-	m_T

表5 前後比較デザインの分散分析表

要因	平方和 (S)	自由度 (ϕ)	平均平方和 (分散) (V)	分散比 (F)
A	S_A	ϕ_A	$V_A = S_A / \phi_A$	$F_A = V_A / V_R$
B	S_B	ϕ_B	$V_B = S_B / \phi_B$	$F_B = V_B / V_R$
残差	S_R	ϕ_R	$V_R = S_R / \phi_R$	-
全体	S_T	ϕ_T	-	-

表6 前後比較デザインの模擬データにおける因子に時点と個人差を含む分散分析表

要因	平方和 (S)	自由度 (ϕ)	平均平方和 (分散) (V)	分散比 (F)	有意確率
時点	210.200	2	105.100	6.468	0.000
個人差	888.033	9	98.670	6.073	0.008
誤差	292.467	18	16.248	-	0.001
全体	1390.700	29	-	-	-

表7 前後比較デザインの模擬データにおける因子が時点のみの分散分析表

要因	平方和 (S)	自由度 (ϕ)	平均平方和 (分散) (V)	分散比 (F)	有意確率
時点	210.200	2	105.100	2.404	0.109
誤差	1180.500	27	43.722	-	-
全体	1390.700	29	-	-	-

れる。

では、個人差を誤差から分離しなかったらどのようなのかを検証する。表7に個人差を誤差に含めた分散分析の結果を示した。表6と表7を比べると誤差の分散が大きくなり、その結果、時点の検定結果が有意確率5%を上回るなど、検定や推定の精度が悪くなることが理解できる。ヒトを対象とした試験のデータは個人差が大きいものが多いため、個人差を誤差から分離して解析することは必要不可欠であると言える。

今回は、時点の水準数は3を想定したが、水準数を2にすると、両側検定の対応のあるt検定と一致する。対応のあるt検定よりも分散分析のほうが細かい分析が可能のため、対応のある2標本の平均値を両側検定で比較したい時は、分散分析を用いたほうが便利である。

3. 前後比較試験を採用する際の留意点

機能性表示食品に関する質疑応答集において、表8に示した記載があった⁵⁾。ここで、前後比較は、機能性の科学的根拠として不十分であることについてまとめた。

ヒトを対象とした介入効果を検証する試験では、

心理的なバイアスの制御が重要である。介入結果には、3つの心理的要因が影響することが知られている。1つ目は、効果を期待することにより効果が表れる「プラセボ効果」、2つ目は、介入を受ける者が評価・観察者の期待に応えようとする「ホーソン効果」、介入実施者が期待をもって関わることによる「ピグマリオン効果」である⁶⁾。二重盲検ランダム化プラセボ対照並行群間比較が推奨されている理由は、これらの心理的要因を排除できることが理由の1つであると考えられる。一方、単群の前後比較試験の場合、プラセボ効果やホーソン効果、ピグマリオン効果の影響を排除することができない。また、プラセボ効果は、実質的效果と分離して測定することは不可能で、本来の結果とみなす必要がある。従って、前後比較試験で得られた結果は、このような心理的要因が含まれていることを念頭に置かなければならない。

まとめ

本稿は、機能性表示食品制度下における前後比較試験について統計学的留意事項をまとめた。前後比較試験は、対照を設定できない場合でも実施できることや、少人数での実施が可能のため、コストがか

表 8 機能性表示食品に関する質疑応答集⁵⁾

問 45. ガイドラインにおいて、「本ガイドラインにおける「臨床試験（ヒト試験）」は、「特定保健用食品の表示許可等について」（平成 26 年 10 月 30 日付け消食表第 259 号消費者庁次長通知）の別添 2「特定保健用食品申請に係る申請書作成上の留意事項」で規定する「ヒトを対象とした試験」を指す。」とあるが、機能性については、試験食摂取群とプラセボ食摂取群との群間比較の差（有意差検定）で評価する必要はあるか。

最終製品を用いた臨床試験（ヒト試験）を科学的根拠とする場合は、特定保健用食品と同様に試験食摂取群とプラセボ食摂取群との群間比較により肯定的な結果が得られる必要がある。

研究レビューを科学的根拠とする場合は、レビューワーが適切に判断することが前提なので、研究レビューに前後比較の論文を含めることは差し支えないが、前後比較での有意差しかみられない論文のみでは、機能性の科学的根拠として不十分であるため注意する必要がある。

機能性表示食品に関する質疑応答集（2017 年 9 月 29 日付け消食表第 463 号）より引用

からないことなどのメリットがある。しかし、心理的要因などのバイアスを強く受けるため、エビデンスレベルは低くなってしまふ。機能性表示食品制度

への届出を目的とする最終製品を用いたヒト試験ならば、前後比較試験ではなく、RCT を実施するべきである。

参考文献

1. 厚生労働省. 臨床試験の一般指針
(2021 年 6 月 28 日アクセス可能: <https://www.pmda.go.jp/files/000156372.pdf>)
2. Hansson L, Hedner T, Dahlöf B.: Prospective randomized open blinded end-point (PROBE) Study. A novel design for interventional trials. *Blood Pressure*, **1**: 113-9, 1992. (DOI: <https://doi.org/10.3109/08037059209077502>)
3. 日本製薬工業協会. Small Clinical Trials による薬効評価の考え方
(2021 年 6 月 28 日アクセス可能: http://www.jpma.or.jp/medicine/shinyaku/tiken/allotment/pdf/trials_01.pdf)
4. Nuesch E., Trelle S., *et al.*: Small study effects in meta-analyses of osteoarthritis trials: meta-epidemiological study. *BMJ*, **341**: c3515, 2010.
5. 消費者庁. 機能性表示食品に関する質疑応答集
(2021 年 6 月 28 日アクセス可能: https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/foods_with_function_claims/assets/foods_with_function_claims_210322_0004.pdf)
6. 多賀谷昭. 介護研究における介入効果の検証方法. 長野県看護大学紀要, **16**: 13-23, 2014.

複雑な病気セリアック病 1

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

Key Words: セリアック病、歴史、遺伝学

本論文「複雑な病気セリアック病 1」は“Celiac Disease and Gluten” (by Herbert Wieser, Peter Koehler and Katharina Konitzer) 2014 の第 1 章 Celiac Disease-A Complex Disorder の一部を翻訳紹介するものである。

1. 歴史

人類は新石器時代までの何十万年もの間はグルテンに晒されていなかった。わずか 1 万年前、穀物農業はチグリス、ユーフラテス、アッパーナイル地域を含む中東で始まり、小麦と大麦が主要作物として徐々にヨーロッパ全体に広がった。製パンの加工法は、約 5000 年前にエジプトで開発され、ギリシャを経由してローマ人に、そして他のヨーロッパ地域に広がった。小麦とライ麦パンが西洋人の主食になった。その結果、グルテン消費量が大幅に増加した。多くの人々がこの「新しい」食品に適応できず、免疫寛容を発達させられなかったようだ¹⁾。

1 世紀から 2 世紀にかけてローマとアレクサンドリアで活躍たギリシャの医師であるカッパドキアのアレタエウスは、今日のセリアック病 (CD) に似た腸の障害を記述した最初の人物である。それは慢性下痢患者に関する一般的な報告だが、CD 患者がその中に含まれていることを示唆する文章である。彼は次のように書いている：「下痢が 1～2 日間、わずかな原因で進行したのでないならば場合、さらに、全身の萎縮により全身が衰弱したならば、慢性のセリアックスプルー（下痢）が形成される。」彼はこれらの患者を、単に腹部を意味するギリシャ語の「koilia」に従って「koiliakos」と呼んだ。彼は病気が食物の部分的な消化不良によって引き起こされると信じた。そして、それは休息と断食によってス

トレスから腸を解放ことによって治療されると信じていた。考古学的な場所 Cosa で見つかった紀元 1 世紀の若い女性のケースは、CD のような障害が古代に存在したことを印象的に実証した^{2,3)}。彼女は、身長が低い、骨粗鬆症、歯のエナメル質形成不全、および貧血の間接的な兆候などの栄養失調の臨床徴候を特徴としており、これらはすべて CD を強く示唆している。骨および歯からのデオキシリボ核酸 (DNA) に続いてヒト白血球抗原 (HLA) を入力すると、CD のリスクが最も高いハプロタイプである HLA-DQ2.5 が示された。

イギリスの小児科医 Samuel Gee が、CD の臨床症候群の最初の正確な説明を発表したのは 1888 年で、それまではみられなかった。彼は「セリアック病」という用語を使用し、この病気は「あらゆる年齢の人がおこす一種の慢性消化不良だが、特に 1 歳から 5 歳までの子供におこる」と定義した。

彼は沈殿要因 (precipitating factors) を知らずに食物による治療を薦めた：「食物を調節することが治療の主要部分である」および「患者が完全に治癒できる場合、それは食事によるために違いない」⁴⁾。その後の数十年間にさまざまな食事療法が推奨された。たとえば、1908 年、Christian Herter は、脂肪は炭水化物よりも許容性が高いと述べた。1918 年、George F. Still はパンの許容度が低いことに注意をひいた。1921 年、John Howland は炭水化物に対す

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 1.1 Willem Karel Dicke (1905-1962)

る不耐性を認めた。1924 年, Sidney V. Haas は, バナナを除くすべての炭水化物源 (パン, シリアル, ジャガイモ) を除外することを推奨した⁵⁾。それにもかかわらず, ほとんどの CD 患者は深刻な臨床的特徴をもち, 15-20% の子供たちは急性下痢, 代謝異常および電解質異常, および体重減少を特徴とするいわゆるセリアック病で死亡した。

オランダの小児科医 Willem K. Dicke (図 1.1) は, 第二次世界大戦中に穀物とパンが不足したオランダで CD の減少を観察した。彼の論文中, Dicke は, 小麦, ライムギ, およびオートムギ粉が食事から除外されたとき, CD の子供たちが劇的に回復すると述べた⁶⁾。その後, 小麦の有害な影響が胃腸の研究によって明らかになった^{7,8)}。小麦ドゥを水溶性アルブミン, グルテン, デンプンに分画し, これらの画分の生体内試験により, 小麦ドゥのゴム状タンパク質塊であるグルテン (図 1.2) は有毒であるのに対し, デンプンとアルブミンは毒性がないという結論に至った⁹⁾。それ以来, CD の引き金となるすべての穀物タンパク質は CD の分野で「グルテン」または「グルテンタンパク質」と呼ばれ, 無グルテン食が CD の従来の治療として成功した。同時に, John W. Paullly は, CD 患者の小腸から得られた粘

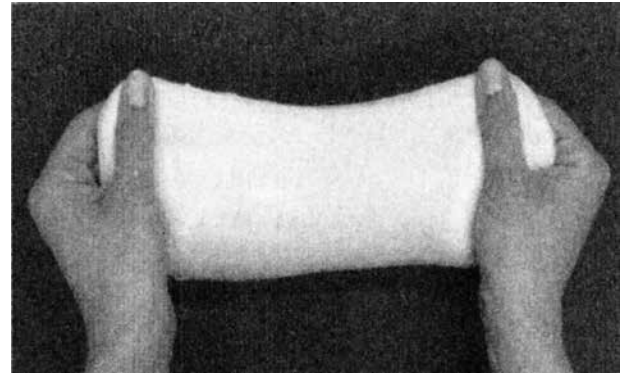


図 1.2 小麦グルテン, セリアック病 (CD) 認知最初の穀物成分

膜組織の異常を確実に実証した最初の人だった¹⁰⁾。この発見は, 今日までの診断基準である Margot Shiner と William H. Crosby^{11,12)} による小腸の経口生検の導入によって確認された。このように, 環境的沈殿要因 (precipitating factor) グルテンの検出と腸粘膜萎縮の証拠は, CD の研究活動の出発点となった。

2. 疫学

これまで CD は乳児期のまれな疾患であると考えられていた。1950 年に発表された初期の疫学研究により, イギリスでの CD 様スプルー (下痢) 症候群の有病率は 1:10,000 から 1:5000 の間であることが確立された¹³⁾。当時, 診断は主に下痢や脂肪便などの典型的な症状の検出に基づいていた。その後, 腸生検などの特定の診断ツールにより, CD の診断が改善された。1970 年代には, ヨーロッパでの有病率は約 1:500 から 1:1000 までになり, 以前よりもかなり高いと推定された。ヨーロッパで最も高い割合がアイルランドで発見され, ゴールウェイ地域の一般人口で 1:300 から 1:450 であった¹⁴⁾。1975 年から 1989 年に生まれた子供に対して 1990 年から 1992 年に実施された多施設研究では, ヨーロッパのさまざまな地域で 1:3200 (コペンハーゲン, デンマーク) から 1:239 (ノルコエピン, スウェーデン) の大きな変動率が見つかった¹⁵⁾。ヨーロッパ以外では, CD の認識と診断の可能性は低く, この病気はまれであると考えられていた。しかし, 過去数十年の間に, CD の認識はかなり珍しい腸疾患から一般的な多臓器疾患に変化した。

1992 年, Logan は頻繁に引用される「セリアッ

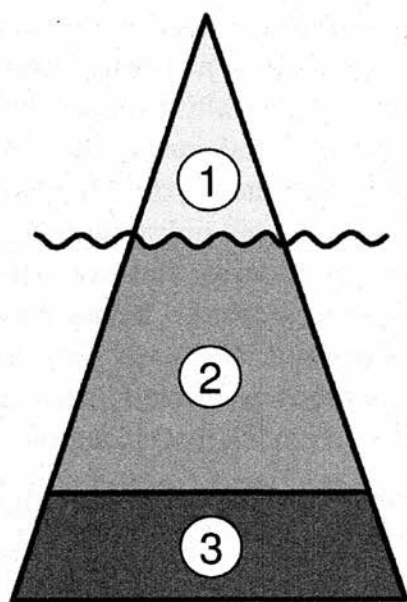


図 1.3 セリアック病 (CD) の冰山モデル
①=診断された患者, ②=未診断の沈黙する患者, ③=未診断の沈黙する可能性ある CD 患者。Ref. 17

ク冰山」モデルを発表した。これは、古典的な症状の CD 患者（無症候性 CD）が無症候性患者と比較してごく少数であることを示すためである¹⁶⁾。

それ以来、3, 4, または 5 つのコンパートメントを持つさまざまな冰山モデルが提案されており、コンパートメントのさまざまな定義が含まれている。図 1.3 は、最も単純な 3 セクションモデルを示している¹⁷⁾。したがって、氷山の先端は、生検で診断され、現在グルテンを含まずに生きており、正常な粘膜を示す患者によって形成される。

境界線の下には、不規則な、最小限の、または不足している不満のために診断されない無症候性のケースの 2 つの大きなグループがある。これらの個人は、平らな粘膜（「沈黙」；氷山の中央部）を持っているか、または免疫学的異常（増加した上皮内リンパ球 IELs）または抗トランスグルタミナーゼ血清抗体 TGAs)) を持っているか、あるいは正常な粘膜（「潜在的」；氷山の下部）を持っているかである。潜在的な CD は、CD のまれな形式ではない。レトロスペクティブ（後ろ向き）研究では、すべての評価されたセリアック患者の 18.3% の有病率が明らかにされ¹⁸⁾、正常な絨毛形態を有する 62 人の子供（19%）が別の研究によって血清学陽性の 320 人の子供の中から特定された¹⁹⁾。

粘膜生検と組織学的判断が続く非常に高感度で特

異的な血清学的検査の開発は、臨床的に非定型の CD の予期せぬ高頻度をもたらした。

ヨーロッパで診断された成人患者と未だ診断されていない成人患者の比率は、およそ 1:3（フィンランド）から 1:16（イタリア）であると推定されている²⁰⁾。これらの患者は通常、医師によって認識されないままであり、第一度近親者や自己免疫疾患患者を含むリスクの高い個人のスクリーニングによってのみ検出されるか、または他の理由で行われた内視鏡検査および生検によって識別された場合である。

診断されず無症候性の人は、骨粗鬆症などの長期合併症のリスクにさらされるか（サイレント型）、後期に典型的な CD を発症するリスクがある（潜在型）。血清学的検査と腸生検の両方を含む現代の診断方法は、ほとんどの西洋人集団で 1:70 から 1:200 の間の有病率を明らかにし、平均有病率は約 1% に相当した^{20, 21)}。5.6% に達する世界で最も高い頻度の 1 つは、北アフリカのベルベルアラビア起源のサハラ難民の間で報告されている²²⁾。黒人のアフリカ人では CD は報告されてない。世界的な有病率の正確な数値は、人口、年齢、測定年、および CD の定義方法によって異なる。

CD の世界的な罹患率についての知識は不完全だが、民族グループ間で違いがあるようだ。この病気は明らかに白人で特によく見られる。過去数十年間に大幅な増加が提案されている²³⁾。これは、意識の向上と診断技術の向上に一部起因する可能性があるが、小麦とグルテンの消費量の増加と環境の変化も主要な原因と考えられている²⁴⁾。さらに、現代の小麦の育種も、有病率の増加に寄与している可能性がある²⁵⁾。しかし、米国の 20 世紀と 21 世紀のデータの調査は、小麦の育種がグルテン含有量に比例してタンパク質含有量も増加させた可能性を支持しない²⁶⁾。

対照的に、1995 年から 2010 年の間に発表された 500 以上の関連論文の統計的評価により、一般集団における CD の平均有病率は一定のままであることが明らかになった（ $\approx 1:160$ ）。それは過去数十年にわたって安定していたようで、地理的な地域によって大きく変化しない²⁷⁾。したがって、一般集団における CD の有病率は近年過大評価されているようであり、これは主に唯一の診断ツールとし

ての血清学的検査の使用によるものである²⁷⁾。それでも、CDは最も頻繁に見られる食べ物不耐性の1つである。

それはもはや小児期疾患ではなく、あらゆる年齢で発症する可能性がある。新しい症例の半数以上は、50歳以上の個人で発生する²⁸⁾。ほとんどの自己免疫疾患と同様に、この疾患は男性よりも女性に多く見られる(2:1～3:1の比率)。おそらく、必要なHLA-DQ2/8対立遺伝子が男性患者よりも女性に多いためであろう²⁹⁾。一等親血縁者の有病率は非常に高いと報告されており(約10～20%)、一卵性双生児の割合は約75～80%であり、CDにおける強い遺伝的影響を示している。CDの有病率は、1型糖尿病や自己免疫性甲状腺疾患などの自己免疫疾患、およびダウン症候群などの遺伝的に関連する疾患で顕著に増加する。伝統的な米を食べるアジア諸国でも、小麦が主食になりつつある。これらの栄養の傾向により、アジアの人口におけるCDの有病率の増加が近い将来に予想される可能性がある。

環境(グルテン)および遺伝(HLA-DQ2/8)要因の重要な役割を考慮して、Abadieと同僚は、CDの有病率、小麦消費量、および地球のさまざまな地域の対立遺伝子に対するHLA-DQ2/8の頻度をまとめた³⁰⁾。驚くべきことに、これら3つのパラメーター間の有意な相関性は観察されなかった。ただし、アウトライナーの国々(アルジェリア、フィンランド、メキシコ、北インド、およびチュニジア)が排除された後、CDの有病率は小麦消費、HLA-DQ2/8の頻度、および両方のリスク要因の組み合わせとは有意に相関した。明確な異常値の存在と相関係数がかなり低いという事実は、他の環境的および遺伝的要因がCDの発達に寄与していることを示唆する。

3. 遺伝学および環境要因

CDは多因子の病気であり、その発生は遺伝的および環境的危険因子の組み合わせによって制御される。CDの遺伝的素因は複雑であり、HLA-DQ2/8遺伝子を主要な要因として含んでいる。これらは、CDの遺伝的感受性の約40%を説明すると推定される。他の60%は、未知の数の非HLA遺伝子間で共有されており、各遺伝子はわずかなりリスク効果のみ

に寄与すると推定されている。遺伝的感受性と食事性グルテンは必要だが、病気の発症には十分ではない。したがって、グルテン摂取に加えて環境要因が病気の発症に寄与する。たとえば、感染症、微生物叢、グルテン導入年齢、グルテンの初期投与量、母乳育児が重要であると考えられてきた。

3-1. 遺伝学

CDなどの複雑な疾患には、それぞれ固有の遺伝的構造がある。今日知られているCDの主な遺伝因子はHLA遺伝子である。CDのHLA対立遺伝子へのリンクに関する最初の洞察は、1973年に発表された^{31,32)}。その時以来、CDは他の多くの一般的な複雑な病気よりも強い遺伝的要素を持っていることが明らかになった。一卵性双生児間の一致率は75～80%であり、第一度近親者間の一致率は約10%であるため、CDに対する顕著な遺伝的素因は明らかである。後者は一般人口の約10倍である。HLAクラスII対立遺伝子HLA-DQ2およびHLA-DQ8は、染色体座位6p21の主要組織適合遺伝子複合体(MHC)にあり、CDと最も強い関連性がある。

実際、ほぼすべてのCD患者がこれらのHLA分子の少なくとも1つを発現している。HLA-DQタンパク質は、抗原提示細胞(APC)によるグルテンペプチドのCD特異的結合の原因となる α および β 鎖を持つヘテロダイマーである。CD患者の大部分(約90～95%)はDQ2陽性である。残りはDQ8が陽性である。一般的なDQ2アイソフォームには、2つのDQ2.5およびDQ2.2が見つかった。ほとんどのDQ2患者は、DQA1*05(α -鎖)およびDQB1*02(β -鎖)によってコードされるDQ2.5アイソフォームを持ち、これら2つの遺伝子(DQA1*0501,DQB1*0201)は、同じDR3-DQ2ハプロタイプ(1つの親染色体上)のシス(*cis*)位置にあり、あるいはトランス(*trans*)位置にあり、ここでは α 鎖(DQA1*0501,DQB1*0201)は1つの染色体上のDR5-DQ7ハプロイドにコードされており、および β -鎖上(DQB1*0202)は他方の染色体(各親の1染色体の)DR7-DQ2ハプロタイプ上にコードされている³⁰⁾(図1.4)。

DQ2.2ヘテロダイマーは、DR7-DQ2ハプロタイプのDQA1*0201およびDQB1*0202対立遺伝子によってエンコードされる。DQ8ヘテロダイマーは、

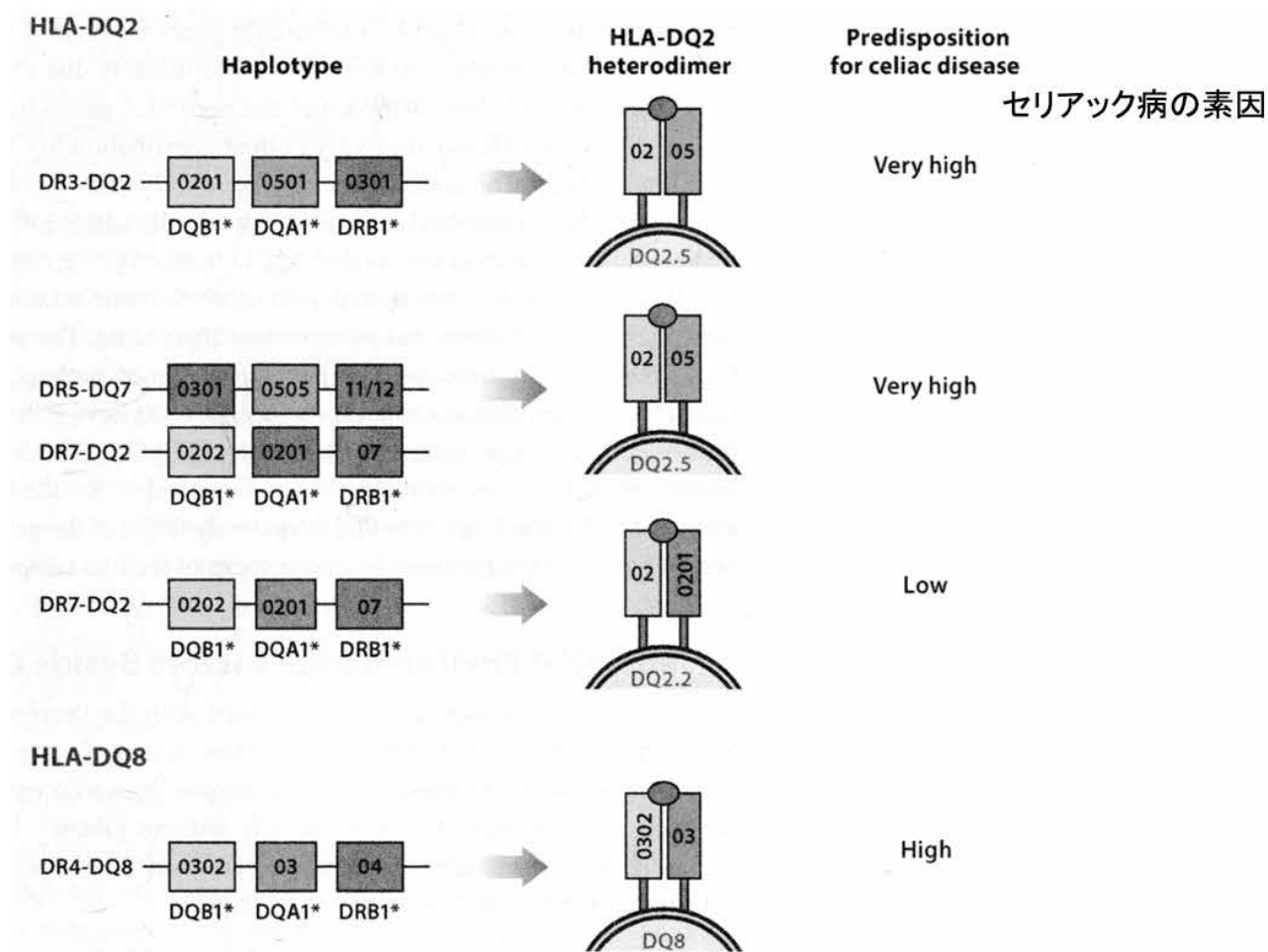


図 1.4 セリアック病 (CD) の関係するヒト白血球抗原 (HLA)。

大多数の (CD) 患者は, HLA-DQ2.5 ヘテロダイマーを発現。HLA-DQ2.5 ヘテロダイマーは, DQ8 および DQ2.2 ヘテロダイマーよりも CD と強く関連。Ref.30

DR4-DQ8 ハプロタイプ上で, それぞれ DQA1*03 および DQB1*0302 によってコードされる α 鎖および β 鎖によって形成される。患者の少数のサブセットは, DQ2 と DQ8 の両方の対立遺伝子を保有している。その結果, これらの患者は, DQ2 および DQ8 に加えて, 2 種類の混合 DQ2/8 トランスダイマー (DQA1*05/DQB1*03 および DQA1*03/DQB1*02 でエンコード) を発現する可能性がある³³⁾。DQ2 も DQ8 も陽性ではない (約 6%) 患者が DQ2 ヘテロダイマーの α -鎖, β -鎖の両方をもつ³⁴⁾。

HLA-DQ2.5 遺伝子型は CD のリスクが非常に高く, 続いて DQ8 (高) および DQ2.2 (低) と関連する³⁰⁾。この疾患の感受性は, ヘテロ二量体の異なる用量効果によって説明されている³⁵⁾。さらに, DQ2.2 よりも DQ2.5 のリスクが高いことは, 2 つの HLA 分子が異なるグルテンペプチドと安定した複合体を形成する能力の違いと相関している³⁶⁾。さらに, Fabris と同僚は, HLA-GI 対立遺伝子を保有

する HLA-DQ2 陽性個体で CD を発症するリスクが高いことを説明した³⁷⁾。

CD 患者のほぼ 97% は HLA-DQ マーカーをもつが, これらの対立遺伝子はまた一般のヒトの約 30% にもある; 結果, 殆どのヒトは DQ2 あるいは DQ8 をもつが決して CD を起こさない。したがって, HLA-DQ2 または -DQ8 は CD になるのに必要であると考えられているが, 十分ではない。ただし, これらの遺伝子が存在しないことは, CD の信頼できる負の予測因子である。個人が DQ2/8 対立遺伝子を持っていない場合, CD を持っている可能性は低い。HLA-DQ 対立遺伝子は CD に対する遺伝的感受性の約 40 ~ 50% のみを占めると考えられているという事実により, 主に非 HLA 遺伝子に焦点を当てたリスク因子を特定するためのさらなるゲノム研究が行われた。多くの免疫候補を含む, 多くの新しい遺伝子座 (2q33, 5q31-33, 19p13.1 など) が特定されている³⁸⁻⁴⁰⁾。現在までに, 60 を超える候補遺伝

子を含む約 40 のそのようなゲノム領域が報告されている。これらの遺伝子座のほとんどは、免疫関連遺伝子、特に適応免疫応答の制御に関与する遺伝子を含んでいる⁴¹⁾。残念ながら、結果はほとんど同意を得ておらず、非 HLA 遺伝子のそれぞれが比較的控えめな効果を持っていることを示しているだけである。さらに、CD に対する貢献度は個人によって異なる。現在知られているすべての非 HLA 遺伝子の寄与は、10% 未満を占めると推定されている⁴⁰⁾。したがって、CD に関連する非 HLA 遺伝子の同定は継続的な課題である。多くの非 HLA CD リスク遺伝子座は、他の免疫関連疾患、特に 1 型糖尿病および自己免疫性甲状腺炎と共有されている。これらの疾患間で共有されている遺伝的背景は、共通の病原性経路を指し示している^{41,42)}。ゲノムワイド関連研究 (GWAS) は、CD に寄与するさらなる遺伝的要素を明らかにし始めている⁴³⁾。GWAS の結果は、対象の表現型の原因となる遺伝子および / または経路を頻繁に特定するが、課題は、遺伝的関連の主要なターゲットを見つけ、真の因果リスクバリエーションの機能的結果を明らかにすることである。

3-2. グルテン以外の潜在的な環境要因

CD の発症に関連する主な環境要因はグルテンであり、グルテン消費量は CD の有病率と相関するいくつかのパラメーターの 1 つである。グルテンが食事から取り除かれると、病気は寛解する：「グルテンなしの CD なし」。グルテンに加えて、他の環境的トリガー（「二次ヒット」）が CD の進行に重要であると考えられている⁴⁴⁾。

アデノウイルス 12 および C 型肝炎ウイルスを含むさまざまな病原体による感染は CD と関連しており、小児胃腸炎の最も一般的な原因であるロタウイルス感染後の CD 発症の増加に関する記述がある⁴⁵⁾。後続の CD 進行リスクの増加は、おそらく腸の障壁の破壊とグルテンペプチドの浸透の促進によるものである。実際、二本鎖リボ核酸 (RNA) ウイルスは、CD 病因の重要なプレーヤーであるインターフェロン- γ (IFN- γ) およびインターロイキン (IL) -15 の強力な誘導因子である⁴⁶⁾。驚くべきことに、夏に生まれた素因がある人は、冬に生まれた人よりも CD を取得するリスクが高いと提案された。感染症と CD の因果関係は実証されていないが、

ロタウイルスや他の腸内病原体は、食餌性グルテンに対する免疫応答を開始および促進する炎症誘発性環境を作り出す可能性がある。

29,000 人以上の CD 患者と 140,000 人以上のコントロールに関する全国調査では、夏の出産（3 月～8 月）とその後の CD 診断との関連性が調査された⁴⁸⁾。この結果は、CD の夏の出産の小さなリスクを示しており、リスク因子は 2 歳未満の CD の子供で最も顕著だった。著者らは、感染症などの幼少期の季節性暴露が CD の主な原因になる可能性は低いと結論づけた。別の多施設研究では、特に 15 歳未満で診断された男児において、出生時期も CD の環境リスクである可能性のあることが提案された⁴⁹⁾。

同様に、健常者と比較して、CD 患者では腸内微生物叢の不均衡が報告されている⁵⁰⁾。腸内微生物叢は、調節性免疫応答を促進する細菌と炎症性免疫応答を促進する細菌で構成されている^{51,52)}。

CD 患者では、規制細菌 *Faecalibacteriumprausnitzii* および *Bifidobacterium* 属の減少が報告され^{50,53)}、大腸菌やブドウ球菌などの潜在的に病原性の細菌集団が拡大した⁵⁴⁾。2 つのプロバイオティクス株、*Bifidobacteriumlongum* および *Bifidobacteriumbifidum* は、炎症性環境の有害な影響を逆転させることが示された⁵⁵⁾。これらの調査結果は、CD 療法への関心の将来の展望を保持する可能性がある。新生児の細菌定着は将来の CD のリスクと関連しているが、すべての研究で確認されたわけではない⁵⁶⁾。帝王切開で生まれた子供は、後の CD のリスクがわずかに高く、皮膚細菌群集に似た植物相を抱えているが、膣から生まれた子供には、母親の膣内細菌叢に似た微生物叢がある⁵⁷⁾。

先進工業国での高い衛生レベルがアレルギーや自己免疫疾患の増加につながったと仮定する、いわゆる衛生仮説は、フィンランドの CD (1.0%) と隣接するロシアのカレリア (0.2%) での大きく異なった広がりを説明するのに使われて来た。両方の集団の小麦消費レベルは類似しており、HLA ハプロタイプの頻度は同等だが、カレリアは衛生基準が低いという特徴がある⁵⁸⁾。しかし、ドイツで見つかった低い有病率 (0.3～0.5%)²⁰⁾ は、この仮説と矛盾している。

CD を発症するリスクの低下は、グルテン導入時の母乳育児とグルテン曝露の量とタイミングの両方

に関連している⁵⁹⁻⁶¹⁾。グルテンへの最初の暴露時に母乳で育てられた子供は、たとえ高用量であっても、粉ミルクで育てられた子供よりもCDを発症するリスクが低いことを示した。この影響の原因は不明である。栄養同様微生物叢、そして母乳の免疫システムを支える要因は、胃腸の病気の減少に寄与する可能性があり、この感染の減少は母乳育児の時間を超えて広がる。

1980年代半ばに観察されたスウェーデンの子供の間でのCDの流行は、離乳中のグルテンの量がCDの発生に極めて重要な役割を果たすことを示唆している⁶²⁾。後の発見は、離乳中に導入されたグルテンの量が症候性CDの発症に影響する可能性があることを示したが、無症状または無症候性のCDの影響から子供を保護するものではない⁶³⁾。グルテン導入のタイミングも関連しているようである。グルテンへの最初のCD曝露で4ヶ月未満および7ヶ月以上の子供は、4-7ヶ月の子供と比較してCDのリスクが高くなる⁶⁴⁾。したがって、ESPGHAN委員会と国際プロジェクトPREVENTCDは、子供がまだ母乳で育てられている間にグルテンの早期（4か月未満）および遅い（7か月超）導入と少量のグルテンの漸進的導入の両方を避けることを推奨している^{65,66)}。しかし、症状の発症が遅れているのか、CDに対する永続的な保護が提供されているのかは明らかではない。グルテン導入、母乳育児期間、および感染に関する親から報告されたデータを含む、スウェーデンの9408人の子供に関する研究では、母乳育児、グルテン導入年齢、および将来のCDの間に関連性は認められなかった⁶⁷⁾。

グルテン導入時の感染は、CDの主要な危険因子ではなかった。82,167人の子供のコホートで324人のノルウェーの子供を対象とした研究では、6か月後にグルテンを導入された子供のリスクがより高

く、12か月後に母乳で育てられた子供のリスクがより高いことが示された⁶⁸⁾。

進行中の研究により、最適な実践が決定されることが期待された。特に、グルテンの遅い導入（>7ヶ月）に関連する可能性のあるリスクは、さらなる確認に値する。人生の最初の段階でのCD予防のための新しい戦略を探すために、現在いくつかの集団研究が実施されている⁶⁹⁾。重要な問題は、以下を決定することである。

1. 母乳育児の長期的な影響と保護効果の分子論的基盤；
2. 導入中のグルテンのタイミングと用量の役割。
3. プロバイオティクスとプレバイオティクスの役割。

3-3. 遺伝学と環境の相互作用

Abadieと共同研究者は、CD感受性のスペクトルを、遺伝子と環境の間の複雑な相互作用として説明した³⁰⁾。HLA-DQ2/8対立遺伝子の一方では、多数の非HLA遺伝子、および環境へのヒットが必要な限られている個人がいる。このグループの患者は、グルテンが食事に取り入れられるとすぐにCDを受け取るかもしれない。一方、遺伝的危険因子の数が限られている人（例：正しいHLA遺伝子であるが、非HLA遺伝子の数は限られている）は、CDをおこすために複数の環境ヒットを必要とする。このグループは、CDをおこすことは決してないかもしれないし、人生の後半におこすかもしれない。グルテンが病気の発症にどのように影響するかは、グルテンの量と食事に摂取される時期によって異なる。これはさらに、遺伝的危険因子と環境の間の複雑な相互作用を示唆する。

References

1. Feldman M., Sears E.R.: The wild gene resources of wheat. *Sci Am.* **1981**; 98-109.
2. Gasbarrini G., Miele L., Corazza G.R., Gasbarrini A.: When was celiac disease born? The Italian case from the archeological site of Cosa. *J Clin Gastroenterol.* 2010; **44**: 502-503.
3. Gasbarrini G., Rickards O., Martínez-Labarga C., Pacciani E., Chilleri F., Laterza L. *et al.*: Origin of celiac disease: how old are predisposing haplotypes? *World J Gastroenterol.* 2012; **18**: 5003-5004.
4. Gee S. On the coeliac affection. *St Bart's Hosp Rep.* 1888; **24**: 17-20.
5. Losowsky M.S.: A history of coeliac disease. *Dig Dis.* 2008; **26**: 112-120.
6. Dicke W.K.: Investigation of the harmful effects of certain types of cereals on patients with coeliac disease [Ph.D. thesis]. University of Utrecht; 1950.
7. Anderson C.M., French J.M., Sammons H.G., Frazer A.C., Gerrard J.W., Smellie J.M. Coeliac disease; gastrointestinal studies and the effect of dietary wheat flour. *Lancet.* 1952; **1**: 836-842.
8. Dicke W.K., Weijers H.A., van de Kamer J.H.: Coeliac disease. II. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease. *Acta Paediatr.* 1953; **42**: 34-42.
9. van de Kamer J.H., Weijers H.A., Dicke W.K. Coeliac disease. IV. An investigation into the injurious constituents of wheat in connection with coeliac disease. *Acta Paediatr.* 1953; **42**: 223-231.
10. Paulley J.W. Observations of the aetiology of idiopathic steatorrhoea; jejunal and lymph-node biopsies. *Br Med J.* 1954; **2**: 1318-1321.
11. Shiner M. Duodenal biopsy. *Lancet.* 1956; **270**: 17-19.
12. Crosby W.H., Kugler H.W. Intraluminal biopsy of the small intestine; the intestinal biopsy capsule. *Am J Dig Dis.* 1957; **2**: 336-341.
13. Davidson L.S.P., Fountain J.R. Incidence of the sprue syndrome; with some observation on the natural history. *Br Med J.* 1950; **1**: 1157-1161.
14. McCarthy C.F. Coeliac disease: its Irish dimensions. *Ir J Med Sci.* 1975; **144**: 1-13.
15. Greco L., Maeki M., di Donato F., Visakorpi J.K. Epidemiology of coeliac disease in Europe and the mediterranean area. In: Auricchio S., Visakorpi J.K., eds.: Common food intolerances 1: epidemiology of coeliac disease. Basel (Switzerland): Karger; 1992: 25-44.
16. Logan R.A.F. Problems and pitfalls in epidemiological studies on coeliac disease. In: Auricchio S., Visakorpi J.K., eds.: Common food intolerances 1: epidemiology of coeliac disease. Basel (Switzerland): Karger; 1992: 14-24.
17. Feighery C. Fortnightly review: coeliac disease. *Br Med J.* 1999; **319**: 236-239.
18. Biagi F., Trotta L., Alfano C., Balduzzi D., Staffieri V., Bianchi P.I. *et al.*: Prevalence and natural history of potential celiac disease in adult patients. *Scand J Gastroenterol.* 2013; **48**: 537-542.
19. Tanpowpong P., Broder-Fingert S., Katz A.J., Camargo J r. C.A.: Characteristics of children with positive coeliac serology and normal villous morphology: potential coeliac disease. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand.* 2013; **121**: 266-271.
20. Mustalahti K., Catassi C., Reunanen A., Fabiani E., Heier M., McMillan S. *et al.*: The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med.* 2010; **42**: 587-595.
21. Schuppan D., Junker Y., Barisani D. Coeliac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology.* 2009; **137**: 1912-1933.
22. Catassi C., Ratsch I.M., Gandolfi L., Pratesi R., Fabiani E., El Asmar R. *et al.*: Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara? *Lancet.* 1999; **354**: 647-648.
23. Ludvigsson J.F., Rubio-Tapia A., van Dyke C.T., Melton III L.J., Zinsmeister A.R., Lahr B.D. *et al.*: Increasing incidence of celiac disease in a North American population. *Am J Gastroenterol.* 2013; **108**: 818-824.
24. Lohi S., Mustalahti K., Kaukinen K., Laurila K., Collin P., Rissanen H. *et al.*: Increasing prevalence of coeliac disease overtime. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007; **26**: 1217-1225.
25. van den Broeck H.C., de Jong H.C., Salentijn E.M.J., Dekking L., Bosch D., Hamer R.J. *et al.*: Presence of celiac disease epitopes in modern and old hexaploid wheat varieties: wheat breeding may have contributed to increased prevalence of celiac disease. *Theor Appl Genet.* 2010; **121**: 1527-1539.
26. Kasarda D.D.: Can an increase in celiac disease be attributed to an increase in the gluten content of wheat as a consequence of wheat breeding? *J Agric Food Chem.* 2013; **61**: 1155-1159.
27. Biagi F., Klersy C., Balduzzi D., Corazza G.R.: Are we over-estimating the prevalence of coeliac disease in the general population? *Ann Med.* 2010; **42**: 557-561.
28. Goddard C.J.R., Gillett H.R. Complications of coeliac disease: are all patients at risk? *Postgrad Med J.* 2006; **82**: 705-712.
29. Megiorni F., Mora B., Bonamico M., Barbato M., Montuori M., Viola F. *et al.*: HLA-DQ and susceptibility to celiac disease: evidence for gender differences and parent-of-origin in effects. *Am J Gastroenterol.* 2008; **103**: 997-1003.
30. Abadie V., Sollid L.M., Barreiro L.B., Jabri B. Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. *Annu Rev Immunol.* **2011**: 29493-29525.
31. Falchuk Z.M., Rogentine G.N., Strober W.: Predominance of histocompatibility antigen HL-A8 in patients with gluten-sensitive enteropathy. *J Clin Invest.* 1972; **51**: 1602-1605.
32. Stokes P.L., Asquith P., Holmes G.K., Mackintosh P., Cooke W.T.: Histocompatibility antigens associated with adult coeliac disease. *Lancet.* 1972; **2**: 162-164.
33. Kooy-Winkelaar Y., van Lummel M., Moustakas A.K., Schweizer J., Mearin M.L., Mulder C.J. *et al.*: Gluten-specific T cells cross-react between HLA-DQ8 and the HLA-DQ2 α /DQ8 β transdimer. *J Immunol.* 2011; **187**: 5123-5129.
34. Karell K., Louka A.S., Moodie S.J., Ascher H., Clot F., Greco L. *et al.*: HLA types in celiac disease patients not carrying the DQA1*05-DQB1*02 (DQ2) heterodimer: results from the European genetics cluster on celiac disease. *Hum Immunol.* 2003; **64**: 469-477.
35. Vader W., Stepniak D., Kooy Y., Mearin L., Thompson A., van Rood J.J. *et al.*: The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T-cell responses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; **100**: 12390-12395.
36. Fallang L.E., Bergseng E., Hotta K., Berg-Larsen A., Kim C.Y., Sollid L.M.: Differences in the risk of celiac disease associated with HLA-DQ2.5 or HLA-DQ2.2 are related to sustained gluten antigen presentation. *Nat Immunol.* 2009; **10**: 1096-1101.
37. Fabris A., Segat L., Catamo E., Morgutti M., Vendramin A., Crovella S.H.L.A.-G.: 14bp deletion/insertion polymorphism in celiac

- disease. *Am J Gastroenterol*. 2011; **106**: 139-144.
38. Tjon J.M.L., Bergen J., Koning F.: Celiac disease: how complicated can it get? *Immunogenetics*. 2010; **62**: 641-651.
39. Hunt K.A., Zhernakova A., Turner G., Heap G.A.R., Franke L., Bruinenberg M. *et al.*: Newly identified genetic risk variants for celiac disease related to the immune response. *Nat Genet*. 2008; **40**: 395-402.
40. Trynka G., Wijmenga C., van Heel D.A.: A genetic perspective on coeliac disease. *Trends Mol Med*. 2010; **16**: 537-550.
41. Gutierrez-Achury J., Coutinho de Almeida R., Wijmenga C.: Shared genetics in coeliac disease and other immune-mediated diseases. *J Intern Med*. 2011; **269**: 591-603.
42. Cotsapas C., Voight B.F., Rossin E., Lage K., Neale B.M., Wallace C. *et al.*: Pervasive sharing of genetic effects in autoimmune disease. *PLoS Genet*. 2011; **7**: e1002254.
43. Kumar V., Wijmenga C., Withoff S.: From genome-wide association studies to disease mechanisms: celiac disease as a model for autoimmune diseases. *Semin Immunopathol*. 2012; **34**: 567-580.
44. Ivarsson A., Myleus A., Wall S.: Towards preventing celiac disease - an epidemiological approach. In: Fasano A., Troncone R., Branski D., eds. *Frontiers in celiac disease*. Basel (Switzerland): Pediatric and Adolescence Medicine; 2008:198-209.
45. Stene L.C., Honeyman M.C., Hoffenberg E.J., Haas J.E., Sokol R.J., Emery L. *et al.*: Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study. *Am J Gastroenterol*. 2006; **101**: 2333-2340.
46. Meresse B., Ripoché J., Heyman M., Cerf-Bensussan N. Celiac disease: from oral tolerance to intestinal inflammation, autoimmunity and lymphomagenesis. *Mucosal Immunol*. 2009; **2**: 8-23.
47. Ivarsson A., Hernell O., Nystrom L., Persson L.A. Child ren born in the summer have increased risk for coeliac disease. *J Epidemiol Community Health*. 2003; **57**: 36-39.
48. Lebowitz B., Green P.H.R., Murray J.A., Ludvigsson J.F. Season of birth in a nationwide cohort of coeliac disease patients. *Arch Dis Child*. 2013; **98**: 48-51.
49. Tanpowpong P., Obuch J.C., Jiang H., McCarty C.E., Katz A.J., Leffler D.A. *et al.*: Multicenter study on season of birth and celiac disease: evidence for a new theoretical model of pathogenesis. *J Pediatr*. 2013; **162**: 501-504.
50. Collado M.C., Donat E., Ribes-Koninckx C., Calabuig M., Sanz Y.: Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease. *J Clin Pathol*. 2009; **62**: 264-269.
51. Hooper L.V., Littman D.R., MacPherson A.J.: Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*. 2012; **336**: 1268-1273.
52. Maynard C.L., Elson C.O., Hatton R.D., Weaver C.T.: Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*. 2012; **489**: 231-241.
53. de Palma G., Nadal I., Medina M., Donat E., Ribes-Koninckx C., Calabuig M. *et al.*: Intestinal dysbiosis and reduced immunoglobulin-coated bacteria associated with coeliac disease in children. *BMC Microbiol*. 2010; **10**.
54. Sanchez E., Ribes-Koninckx C., Calabuig M., Sanz Y.: Intestinal Staphylococcus spp. and virulent features associated with coeliac disease. *J Clin Pathol*. 2012; **65**: 830-834.
55. Medina M., de Palma G., Ribes-Koninckx C., Calabuig M., Sanz Y.: Bifidobact triggered by the large intestinal microbiota of coeliac patients. *J Inflamm*. 2008; **5**: 19.
56. Roberts S.E., Williams J.G., Meddings D., Davidson R., Goldacre M.J.: Perinatal risk factors and coeliac disease in children and young adults: a record linkage study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009; **29**: 222-231.
57. Dominguez-Bello M.G., Costello E.K., Contreras M., Magris M., Hidalgo G., Fierer N. *et al.*: Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; **107**: 11971-11975.
58. Kondrashova A., Mustalahti K., Kaukinen K., Viskari H., Volodicheva V., Haapala A.M. *et al.*: Lower economic status and inferior hygienic environment may protect against celiac disease. *Ann Med*. 2008; **40**: 223-231.
59. Silano M., Agostini C., Guandalini S.: Effect of the timing of gluten introduction on the development of celiac disease. *World J Gastroenterol*. 2010; **16**: 1939-1942.
60. Akobeng A.K., Ramanan A.V., Buchan I., Heller R.F.: Effect of breast feeding on risk of coeliac disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Arch Dis Child*. 2006; **91**: 39-43.
61. Henriksson C., Bostrom A.M., Wiklund I.E.: What effect does breastfeeding have on coeliac disease? A systematic review update. *Evid Based Med*. 2013; **18**: 98-103.
62. Ivarsson A., Persson L.A., Nystrom L., Ascher H., Cavell B., Danielsson L. *et al.*: Epidemic of coeliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr*. 2000; **89**: 165-171.
63. Carlsson A., Agardh D., Borulf S., Grodzinsky E., Axelsson I., Ivarsson S.A.: Prevalence of celiac disease: before and after a national change in feeding recommendations. *Scand J Gastroenterol*. 2006; **41**: 553-558.
64. Norris J.M., Barriga K., Hoffenberg E.J., Taki I., Miao D., Haas J.E. *et al.*: Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *J Am Med Assoc*. 2005; **293**: 2343-2351.
65. Agostoni C., Decsi T., Fewtrell M., Goulet O., Kolacek S., Koletzko B. *et al.*: Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008; **46**: 99-110.
66. Szajewska H., Chmielewska A., Piescik-Lech M., Ivarsson A., Kolacek S., Koletzko S. *et al.*: Systematic review: early infant feeding and the prevention of coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012; **36**: 607-618.
67. Welander A., Tjernberg A.R., Montgomery S.M., Ludvigsson J., Ludvigsson J.F.: Infections disease and risk of later celiac disease in childhood. *Pediatrics*. 2010; **125**: e530-e536.
68. Stoerdal K., White R.A., Eggesboe M.: Early feeding and risk of celiac disease in a prospective birth cohort. *Pediatrics*. 2013; **132**: e1201-e1209.
69. Nova E., Pozo T., Sanz Y., Marcos A. Dietary strategies of immunomodulation in infants at risk for celiac disease. *Proc Nutr Soc*. 2010; **69**: 347-353.

母乳タンパク質の生体防御機能

大谷 元 (OTANI Hajime) (信州大学 名誉教授)

Key Words: 母乳, 母乳タンパク質, ペプチド, 生体調節機能, 牛乳カゼイン, ラクトフェリン

1. 母乳タンパク質とその消化により生じるペプチドの生体防御機能

第1章では、母乳タンパク質の一般的性質と顕在的生体調節機能の一部を紹介しました。母乳タンパク質は消化管で消化され、アミノ酸、ジペプチド、トリペプチドとして腸管で吸収されるまでの間に、様々なペプチドを遊離します。それらのペプチドの中には、生体調節機能を持つものがあることは周知のところでは。

母乳タンパク質由来のペプチドの生体調節機能、すなわち潜在的調節機能への関心は、1950年に発表された“牛乳カゼインがリンタンパク質であることの意義”に関する論文に始まるのかもしれませんが。しかし、実際にカゼインホスホペプチドの生体調節機能が分ったのは、それから30年以上も経ってからです。その間、母乳タンパク質の消化により生じるペプチドの生体調節機能の報告は殆どなされませんでした。

1979年の牛乳カゼインの消化物に、オピオイドペプチド（鎮痛ペプチド）が存在するという報告に端を発し、母乳タンパク質消化物の生体調節ペプチドの特性づけが一躍世界的に脚光を浴びるようになりました。わが国においても多くの研究がなされ、貴重な成果が得られています。それらの中には、牛乳カゼインの消化物から分離されたカゼインホスホペプチドやアンジオテンシンI変換酵素阻害ペプチドのように、わが国が世界に先駆けて法律的に制定した食品である“特定保健用食品（トクホ）”の原料になっているものもあります。

一方、感染防御機能を始めとした生体防御機能は、

母乳タンパク質の重要な機能です。牛乳カゼインの消化物にオピオイド（鎮痛）ペプチドが存在することが報告されたのと同様、フランスの研究グループは人乳カゼインのトリプシン消化物に食細胞を活性化するペプチドが存在することを報告しました。これが母乳タンパク質の潜在的な生体防御機能に関する最初の報告です。今では、母乳タンパク質由来の多くの生体防御ペプチドの性質が明らかにされています。

本項では、母乳タンパク質とその消化により生じるペプチドの生体防御機能を自然免疫促進機能と獲得性免疫調節機能の観点から紹介します。合わせて、母乳タンパク質とその消化により生じるペプチドの新生児の生体防御系における意義を考察します。

(1) 自然免疫促進ペプチド

私たちを取り巻く環境には、無数のウイルス、細菌、カビなどの感染性微生物がいます。無菌状態の母親の子宮から生まれてくる新生児が、それら微生物に感染することなく健康に発育できるのは、母親から食物として受け取る母乳によるところが大きいのです。

私たちの体は無数の細胞によって構成されており、それら細胞の増殖と死のバランスにより生命は維持されています。中でも、異常細胞を取り除くためのアポトーシスと呼ばれるプログラミングされた細胞死は、生命存続のための不可欠な現象です。母乳タンパク質やその消化によりできるペプチドの中には、アポトーシスを誘導してがん細胞を処理する細胞傷害作用を有するものもあります。

表 3-1 ラクトフェリンの消化により生じる抗菌性および細胞傷害性ペプチドの性質

ペプチド名	ラクトフェリンの起源と一次構造上の領域	殺傷する微生物と細胞
ラクトフェリシン B	牛乳ラクトフェリンの 17-41 域	枯草菌, 連鎖球菌, ブドウ状球菌, リステリア菌, 大腸菌, サルモネラ菌などの細菌の一部に抗菌作用, 酵母やカビに抗微生物作用, ヒト白血病患者由来の細胞の一部にアポトーシスを誘導
ラクトフェリシン H	人乳ラクトフェリンの 1-47 域	大腸菌, ブドウ状球菌などの細菌の一部に抗菌作用
名前はついていません	牛乳ラクトフェリンの 20-25 域	抗微生物作用
名前はついていません	牛乳ラクトフェリン 1-16 域と 43-48 域のジスルフィド結合物	サルモネラ菌, 大腸菌, ブドウ状球菌, リステリア菌などの細菌の一部に抗菌作用
名前はついていません	牛乳ラクトフェリンの C 末端側の 90 残基	抗ウイルス作用
名前はついていません	人乳ラクトフェリンの 25-37 域	抗マラリア作用
名前はついていません	山羊乳ラクトフェリンの 20-35 域	大腸菌に対して抗菌作用
名前はついていません	牛乳ラクトフェリンの 472-538 域	虫歯菌に対して抗菌作用

本項では、母乳タンパク質の消化物から分離された抗菌性ペプチド、細胞傷害性ペプチドおよび食細胞活性化ペプチドなどの自然免疫促進ペプチドを紹介します。

なお、一般にテトラペプチド（アミノ酸 4 個からなるはペプチド）以上の大きさのペプチドは、腸管から能動的な吸収は出来ません。そのために、テトラペプチド以上のペプチドは、健康なヒトの全身免疫系に直接作用する可能性は低いものと思われます。しかし、それらのペプチドでも、腸管関連リンパ組織にある免疫細胞とは直接接する可能性があります、局所免疫の調節を行えるものと思われます。

1) ラクトフェリンの消化により生じる抗菌性および細胞傷害性ペプチド

母乳は、分娩後約 1 週間以内のものと、それ以降のものに区別され、前者を初乳、後者を常乳（成熟乳とも言います）と言っています。初乳は常乳と比べて、多量の生体防御物質を含みます。母乳中の生体防御物質の濃度は、一般に分娩日から約 1 週間の間は経時的に減少しますが、それ以降は殆ど変わりません。

ラクトフェリンは、ウシ初乳、ウシ常乳、ヒト初乳およびヒト常乳 100 mL に、それぞれ約 80mg, 10 ~ 40mg, 500 ~ 700mg および 100 ~ 300 mg 含まれます。ラクトフェリンは、鉄の要求性が高い病原性細菌の鉄の利用を妨げることや、グラム陰性菌の外膜のリポポリサッカライドを膜から遊離させる

ことにより、静菌作用や抗菌作用を示します。

ラクトフェリンは、ヒト免疫不全ウイルス、B 型肝炎ウイルス、C 型肝炎ウイルス、ヘルペスウイルス、ロタウイルス、アデノウイルスなど多くのウイルスに対して、抗ウイルス作用を示します。抗ウイルス作用は、ラクトフェリンが宿主の細胞やウイルスに結合することにより、ウイルスが宿主の細胞に結合できなくなることにより生じます。

表 3-1 に示したように、牛乳、人乳および山羊乳ラクトフェリンの消化物から分離されたペプチドが、種々の病原性細菌を殺傷することが明らかにされています。これらの中でも、牛乳ラクトフェリンの 17-41 域に相当するラクトフェリシン B は、ラクトフェリンの数十倍の抗菌活性を持っています。ラクトフェリシン B は、グラム陰性菌やグラム陽性菌などの細菌だけではなく、酵母やカビなどの微生物にも強い殺傷作用があります。

ラクトフェリシン B は、塩基性アミノ酸を多く含みます。特に、ラクトフェリシン B の Arg-Arg-Trp-Gln-Trp-Arg 域が殺菌作用に深く関係しており、この領域の Arg と Trp がそれら微生物の細胞膜のリン脂質と結合することが明らかにされています。

ラクトフェリシン B は、細胞内活性酸素の生産や $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 依存性エンドヌクレアーゼの活性化により、白血病患者由来の細胞にアポトーシスを誘導し、その細胞を殺傷することも明らかにされています。一方、ラクトフェリンやラクトフェリシンの経口投与により、マウスでは感染症に対して、ラッ

表 3-2 牛乳 α -ラクトアルブミンの消化物から分離されている抗菌性ペプチドの性質

α -ラクトアルブミンの一次構造上の領域	作用
1-5 域	枯草菌, 球菌, ブドウ状球菌などの細菌の一部に抗菌作用
17-31 域と 109-114 域のジスルフィド結合物	枯草菌, ブドウ状球菌などの細菌の一部に抗菌作用
61-68 域と 75-80 域のジスルフィド結合物	枯草菌, ブドウ状球菌などの細菌の一部に抗菌作用

トでは直腸ガンに対して、さらに仔ブタではエンドトキシンショックに対して延命効果があります。また、ブドウ状球菌に感染したマウスへの経口投与では、腎臓のブドウ状球菌数が減少することや、脾臓細胞による IFN- γ と IL-10 の生産が促されます。

これらのラクトフェリンやラクトフェリシンの作用は、抗菌作用によるよりも、食細胞の活性化によるものと考えられています。その根拠は、ラクトフェリンやラクトフェリシを経口的に摂取した動物は、脾臓細胞による IFN- γ の生産性の増強、マクロファージによる殺菌作用の増強、IFN- γ の生産を誘導する IL-18 の生産性の増強などが見られるからです。

ラクトフェリンが、高等動物の胃に入ると、タンパク質消化酵素のペプシンにより、ラクトフェリシンが遊離することは周知のところですが。このことから、ラクトフェリンを添加した乳幼児用ミルク、ヨーグルト、チューインガム、健康食品、栄養補助食品、仔牛用混合飼料、養殖水産用混合飼料、ペット用特別飼料などが工業的に製造され、販売されています。また、ラクトフェリンやラクトフェリシンを含む米の開発が試みられています。

2) α -ラクトアルブミンの細胞傷害性とその消化により生じる抗菌性ペプチド

α -ラクトアルブミンは、カルシウム結合タンパク質であり、乳糖の合成に不可欠なタンパク質です。母乳中の α -ラクトアルブミンは本来、単量体(1分子でと言う意味です)として溶解しています。しかし、人乳中には複数の α -ラクトアルブミンが重合したものがあります。重合した α -ラクトアルブミンは、連鎖球菌に対して抗菌作用を示すことや、白血病患者由来 T 細胞、肺ガン患者由来細胞および腎臓ガン患者由来細胞にアポトーシスを誘導して殺傷することが知られています。

一方、表 3-2 に示したように、牛乳 α -ラクトアルブミンの消化物から、グラム陽性細菌に対して抗菌活性を示すペプチドが分離されています。

一般に、ペプチドの抗菌活性の発現には、塩基性アミノ酸と疎水性アミノ酸が重要な役割を担っているとされています。ラクトフェリシンにおいても、塩基性アミノ酸の Arg と疎水性アミノ酸の Trp が細胞膜との結合において重要であることは、既に述べた通りです。

α -ラクトアルブミン由来の抗菌性ペプチドの中でも、1-5 域に相当するペプチドのアミノ酸配列は、Glu-Gln-Leu-Thr-Lys です。本ペプチドにも塩基性アミノ酸の Lys と疎水性アミノ酸の Leu が含まれています。このことは、 α -ラクトアルブミンの 1-5 域に相当する抗菌性ペプチドにおいても、塩基性アミノ酸と疎水性アミノ酸が抗菌活性の発現に寄与していることを示唆しています。

3) カゼインの消化により生じる抗菌性および細胞傷害性ペプチド

母乳タンパク質で最も多いカゼインは消化性に優れています。そのために、カゼインの機能はアミノ酸の供給源としてのみ考えられてきました。しかし、牛乳カゼインの消化物から、オピオイド(鎮痛)ペプチドが分離されて以来、多種多様な生体調節ペプチドが母乳カゼインの消化物から分離されるようになりました。今では、カゼインの潜在的な生体調節機能は、新生児の健全な発育のために不可欠な機能と考えられています。4 種の牛乳カゼインのうち、表 3-3 に示したように、 β -カゼイン以外のカゼインの消化物から、抗菌性ペプチドや細胞傷害性ペプチドが分離されています。

カゼイン由来のペプチドの中でも κ -カゼインの 17-21 域に相当する κ -カゼシジンのアミノ酸配列は、Phe-Phe-Ser-Asp-Lys です。この配列は、前述した α -ラクトアルブミンの 1-5 域に相当する抗菌性ペプチド(Glu-Gln-Leu-Thr-Lys)と同様に、C-末端アミノ酸は Lys です。また、僅か 5 個のアミノ酸の中に、酸性アミノ酸、水酸基を持つアミノ酸および疎水性アミノ酸が含まれます。このペプチド

表 3-3 牛乳カゼインの消化により生じる抗菌性および細胞傷害性ペプチド

ペプチド名	カゼインの 一次構造上の領域	作用
カソシジン -1	α_{S2} - カゼインの 165-203 域	連鎖球菌や大腸菌の一部に抗菌作用
イスラシジン	α_{S1} - カゼインの 1-23 域	連鎖球菌や酵母の一部に抗菌作用
名前はありません	α_{S2} - カゼインの 164-179 域	大腸菌や連鎖球菌の一部に抗菌作用
名前はありません	α_{S2} - カゼインの 183-203 域	大腸菌, 連鎖球菌, 枯草菌およびリステリア菌などの細菌の一部に抗菌作用
κ - カゼシジン	κ - カゼインの 17-21 域	ブドウ球菌, 枯草菌, 大腸菌, サルモネラ菌などの細菌の一部に抗菌作用 マウス脾臓細胞, 牛乳中の細胞, 白血病患者由来株化 T および B 細胞などの細胞の一部にアポトーシスの誘導による細胞傷害
α - カゼシジン	α_{S1} - カゼインの 1-3 域, 101-103 域, および 104-105 域	マウス T 細胞, マウス B 細胞, 白血病患者由来 T および B 細胞にネクローシスによる細胞傷害

の抗菌作用や細胞傷害作用の発現には、N- 末端の疎水性アミノ酸である Phe と C- 末端の塩基性アミノ酸である Lys が不可欠であることが明らかにされています。

一方、 α_{S1} - カゼインのトリプシン消化物から分離された細胞傷害性トリペプチドとジペプチドの α - カゼシジン (Arg-Pro-Lys, Leu-Lys-Lys, Tyr-Lys) も塩基性アミノ酸と疎水性アミノ酸を含んでいます。しかし、 α - カゼシジンによる細胞傷害は、 κ - カゼシジンのようにアポトーシスではなく、ネクローシスです。また、 α - カゼシジンには抗菌作用はありません。これらのことから、低分子ペプチドのアポトーシスの誘導や抗菌作用の発現には、塩基性アミノ酸と疎水性アミノ酸に加えて、酸性アミノ酸や水酸基を持つアミノ酸が必要であることが示唆されます。

なお、抗菌作用や細胞傷害作用を持つペプチドは、 α_{S1} - カゼイン、 α_{S2} - カゼイン、 κ - カゼインおよび α - ラクトアルブミンの消化物から分離されています。しかし、 β - カゼインや β - ラクトグロブリンの消化物からは分離されていません。同じ牛乳中の主要タンパク質でも、タンパク質の種類により生じるペプチドの作用が異なることは偶然なのか、それとも合目的なのかは気になることです。

4) 母乳タンパク質の消化により生じる食細胞活性化ペプチド

食細胞活性化とは、マクロファージや好中球の食作用を促進することです。1979 年、人乳カゼイン

のトリプシン消化物が食細胞を活性化することが報告されました。その 5 年後、食細胞活性化ペプチドは、人乳 β - カゼインの 54-59 域に相当するヘキサペプチドと同定されました。このことにより、母乳カゼイン消化物中の免疫調節ペプチドのアミノ酸配列が世界で初めて明らかになりました。

トリプシン消化で生じるペプチドの C- 末端アミノ酸は、すべて塩基性アミノ酸でなくてはなりません。ところが、この人乳 β - カゼインの 54-59 域に相当する食細胞活性化ペプチドの C- 末端アミノ酸は、芳香族アミノ酸のチロシンです。このことは、人乳 β - カゼインはトリプシン消化したにもかかわらず、実際には、市販トリプシン標品を汚染していたキモトリプシンの作用で遊離したペプチドが食細胞活性化作用を持っていたことを意味しています。世界で最初に同定された母乳タンパク質消化物中の免疫調節ペプチドは、その研究者が意図した消化酵素の作用で出来たのではなく、汚染していた消化酵素の作用によるものであったということは、非常に嬉しい偶然です。しかし、トリプシンとキモトリプシンは本来、消化管では一緒に存在していることから、この発見は偶然ではなく、必然的であったのかも知れません。

表 3-4 に、牛乳タンパク質やその消化物中の食細胞活性化ペプチドを示しました。食細胞やリンパ球には、 μ - レセプターと呼ばれる受容体を持つものがあります。 μ - レセプターに結合できる β - カゾモルフィンのようなオピオイド（鎮痛）ペプチドは、食細胞を活性化します。また、ブラジキニンと呼ば

表 3-4 食細胞活性化機能を持つ牛乳タンパク質とその消化により生じるペプチド

ペプチドの大きさ	タンパク質と一次構造上の領域
ジおよびトリペプチド	α_{S2} - カゼイン 23-24 域, α_{S1} - カゼイン 91-92 域, β - カゼイン 74-76 域, β - カゼイン 84-86 域, β - カゼイン 191-193 域, κ - カゼイン 108-110 域, α - ラクトアルブミン 18-20 域, α - ラクトアルブミン 50-52 域, β - ラクトグロブリン 78-80 域, β - ラクトグロブリン 81-83 域, β - ラクトグロブリン 102-103 域, β - ラクトグロブリン 104-105 域
オリゴペプチド	α_{S1} - カゼイン 23-27 域, α_{S1} - カゼイン 28-34 域, α_{S1} - カゼイン 102-109 域, α_{S1} - カゼイン 142-147 域, α_{S1} - カゼイン 157-164 域, α_{S1} - カゼイン 194-199 域 (α - カゾキニン -6 と呼ばれている), α_{S2} - カゼイン 174-179 域, α_{S2} - カゼイン 174-181 域, α_{S2} - カゼイン 189-193 域, α_{S2} - カゼイン 189-197 域, α_{S2} - カゼイン 190-197 域, α_{S2} - カゼイン 198-202 域, β - カゼイン 60-66 域 (β - カゾモルフィン -7 と呼ばれている), β - カゼイン 63-68 域, β - カゼイン 108-113 域, β - カゼイン 114-121 域, β - カゼイン 177-183 域 (β - カゾモルフィン と呼ばれている), β - カゼイン 193-198 域, β - カゼイン 193-209 域, β - カゼイン 193-202 域 (β - カゾキニン -10 と呼ばれている), β - カゼイン 199-204 域, κ - カゼイン 24-26 域, κ - カゼイン 25-34 域 (κ - カゾキニン C と呼ばれている), α - ラクトアルブミン 99-108 域, α - ラクトアルブミン 104-108 域, α - ラクトアルブミン 105-110 域, β - ラクトグロブリン 9-14 域, β - ラクトグロブリン 15-20 域, β - ラクトグロブリン 22-25 域, β - ラクトグロブリン 32-40 域, β - ラクトグロブリン 94-100 域, β - ラクトグロブリン 106-111 域, β - ラクトグロブリン 142-146 域, β - ラクトグロブリン 142-148 域
ポリペプチド	α_{S1} - カゼイン 1-23 域 (イスラシジン), α_{S1} - カゼイン 23-34 域 (カゼインドデカペプチド), ラクトフェリン 17-41 域 (ラクトフェリン B)
タンパク質	β - カゼイン, α - ラクトアルブミン

れるペプチドは、食細胞活性化ペプチドです。ブラジキニン¹はキニナーゼと呼ばれるカルボキシペプチダーゼの作用により、食細胞活性化作用を失います。キニナーゼ阻害ペプチド（アンジオテンシン I 変換酵素阻害ペプチドとも言います）は、その名のとおり、ブラジキニンのキニナーゼによる分解を阻害するペプチドです。その結果、ブラジキニンの食細胞の活性化能は持続されます。このことから、オピオイド（鎮痛）ペプチドとキニナーゼ阻害ペプチドも食細胞活性化ペプチドに入れています。

食細胞活性化ペプチドは、 α_{S1} - カゼイン、 α_{S2} - カゼイン、 β - カゼインおよび κ - カゼインのすべての牛乳カゼインの消化物や、 α - ラクトグロブリンや β - ラクトグロブリンなどの主要牛乳ホエイタンパク質の消化物から、多数分離されています。それら食細胞活性化ペプチドは、ジペプチドやオリゴペプチドなどの低分子ペプチドから未消化の β - カゼインに至るまで、分子量が非常に多岐にわたっています。これらのことは、腸管での局所免疫だけではなく、全身免疫においても、牛乳タンパク質やその消化ペプチドが食細胞の活性化に寄与している可能性を示唆しています。

(2) 獲得液性免疫調節ペプチド

腸管には、免疫を担う細胞が多数存在し、それらが病原性生物を認識して免疫応答を行うことにより、私たちは感染から免れています。また、母乳として摂取した母乳タンパク質やその消化物は、腸管の免疫細胞と直接接する可能性があります。すなわち、母乳タンパク質やその消化により生じるペプチドは、腸管のマクロファージ、樹状細胞、ヘルパー T 細胞などに作用し、サイトカインの生産調節を介して、獲得液性免疫を調節する可能性があります。

本項では、母乳タンパク質とその消化により生じるペプチドの獲得液性免疫調節機能、言い換えますと抗体産生調節機能を紹介します。

1) 抗体産生促進ペプチド

獲得免疫において、抗原を無毒化する物質は抗体とキラー T 細胞です。牛乳タンパク質やその消化物の獲得免疫促進機能として、現段階で最もよく検討されているのは、リンパ球の増殖促進作用や抗体産生促進作用です。表 3-5 に、それらの活性を持つ牛乳タンパク質およびその消化により生じるペプチドを示しました。なお、リンパ球には、抗体産生細胞に分化する B 細胞や抗体産生を調節

表 3-5 獲得液性免疫促進機能を持つ牛乳タンパク質と消化により生じるペプチド

ペプチドの大きさ	タンパク質およびペプチド名 タンパク質の一次構造上の領域	作 用
ジペプチド	イムノペプチド κ- カゼインの 38-39 域	リンパ球の増殖促進
トリペプチド	イムノペプチド α- ラクトアルブミンの 18-20 域と 50-51 域	リンパ球の増殖促進
オリゴペプチド	β- カゾモルフィン-7 β- カゼインの 60-66 域 β- カゾキニン-10 β- カゼインの 193-202 域	低濃度でリンパ球増殖抑制・高濃度で促進 低濃度でリンパ球増殖抑制・高濃度で促進
ポリペプチド	イスラシジン α _{S1} - カゼインの 1-23 域	抗体応答の促進
	C- 末端イムノペプチド β- カゼインの 192-209 域	リンパ球にマイトージェン活性
	カゼインホスホペプチド α _{S1} - カゼインの 59-79 域, β- カゼインの 1-25 域, β- カゼインの 1-28 域, α _{S2} - カゼインの 1-32 域	リンパ球にマイトージェン活性を示し, IL-5 および IL-6 の生産促進により粘膜 IgA 産生促進
	パラ-κ- カゼイン κ- カゼインの 1-105 域	IgM 産生促進
	ラクトフェリシン ラクトフェリンの 17-41 域	IL-6 の生産促進
タンパク質	β- カゼイン	IL-1β の産生促進, リンパ球の増殖促進, IgM, IgG および IgA 産生促進
	κ- カゼイン	IgM 産生促進
	α- ラクトアルブミン	IL-1β の産生促進
	β- ラクトグロブリン	IgG および IgA 産生促進
	ラクトフェリン 脂肪球被膜タンパク質	IgG および IgA 産生促進 IgA 産生促進

する T 細胞があります。また、IL-1β はリンパ球を活性化し、IL-5 と IL-6 は粘膜 IgA の産生を促します。これらのことから、リンパ球に対して増殖促進活性やマイトージェン活性（有糸分裂誘導活性）を持つタンパク質やペプチド、並びにサイトカインの生産を促すタンパク質やペプチドも抗体産生促進ペプチドとして示しました。

リンパ球の増殖や抗体産生を促すペプチドは、ジペプチドからタンパク質まで分子量的には多岐にわたっています。また、β- カゾモルフィンのように、低濃度ではリンパ球の増殖を抑制し、高濃度では促進するペプチドもあります。

抗体の産生を促進するペプチドの中でも、カルシウム感受性カゼインである α_{S1}- カゼイン、α_{S2}- カゼインおよび β- カゼインの消化により生じるカゼインホスホペプチド（ホスホセリン集中域を持つペプチドの総称）の IgA 産生促進機能については、詳細に研究されています。本章では、カゼインホスホ

ペプチドの特長と IgA 産生促進メカニズムについて紹介します。また、次章において、カゼインホスホペプチドを経口的に摂取した動物の免疫系とその産業的利用について紹介します。

カゼインホスホペプチドは、カルシウム感受性カゼインに哺乳動物の腸の主要タンパク質消化酵素であるトリプシンを作用させた時や、ヒトやマウスが牛乳や乳製品を食べた時に腸で出来ます。マウスやヒトにおいて、食品として摂取したカゼインホスホペプチドは、腸管で分解されることや腸から吸収されることなく糞便として排出されます。カゼインホスホペプチドは、腸管に滞在中にホスホセリン集中域を介してカルシウムの吸収を促します。わが国では、カゼインホスホペプチドのカルシウム吸収促進機能に着目した特定保健用食品が認可されています。

マウス脾臓細胞やウサギパイエル板細胞の培養系に、牛乳 α_{S1}- カゼインのトリプシン消化物を加え

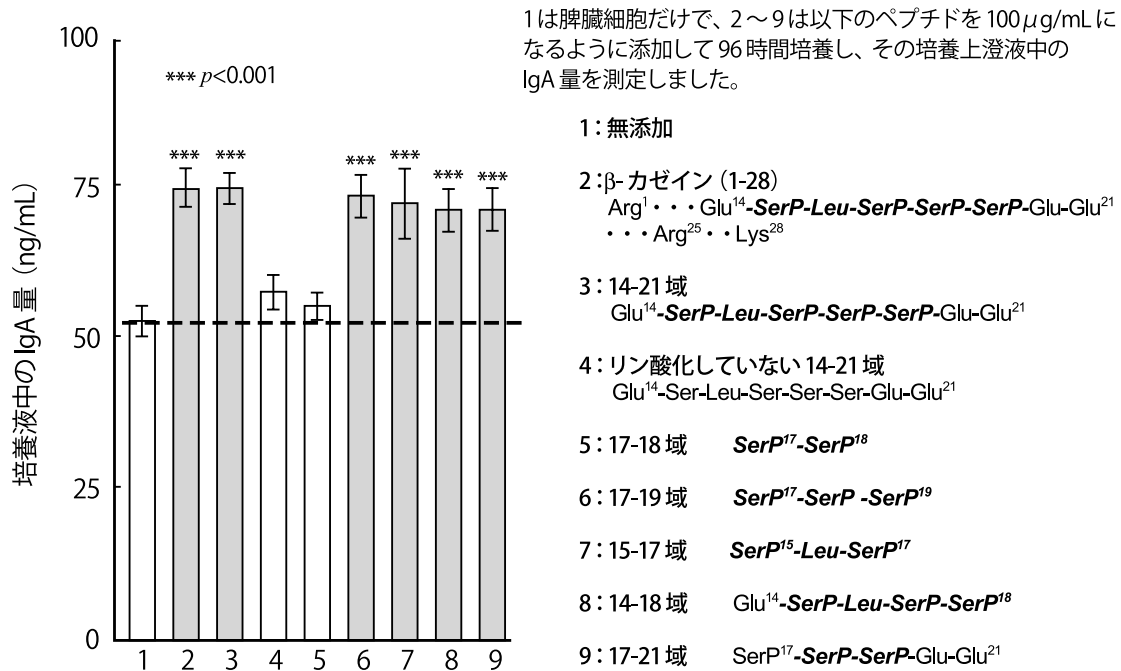


図 3-1 β-カゼインの 1-28 域から派生する各種ペプチド存在下で培養したマウス脾臓細胞培養液中の IgA 量

て培養すると、B 細胞や T 細胞の増殖や IgA 産生が促進されることが 1998 年に世界で初めて報告されました。また、それらを促進するペプチドは α_{s1}-カゼインの 57-79 域に相当するペプチドと同定されました。α_{s1}-カゼインの 57-79 域にはホスホセリン集中域があります。そのホスホセリン集中域がリンパ球の増殖や IgA 産生の促進に関係していることが、α_{s2}-カゼインや β-カゼインのトリプシン消化物から分離したカゼインホスホペプチドにも、同様の作用があることにより確認されました。このことは、IgA 産生促進作用は、カルシウム感受性カゼインの重要な機能の一つであることを示唆しています。

カゼインホスホペプチドの 1 つである牛乳 β-カゼインの 14-21 域 (Glu-SerP-Leu-SerP-SerP-SerP-Glu-Glu; SerP はホスホセリンです) と、そのペプチドの N-末端や C-末端のアミノ酸の幾つかを失った 7 種のペプチドのマウス脾臓細胞培養系での IgA 産生に及ぼす影響を、図 3-1 に示しました。SerP-X-SerP の配列 (X は 20 種類のどのアミノ酸でも、SerP でもよいことを意味しています) が、IgA 産生促進機能を発現するために不可欠であることが明らかです。

カゼインホスホペプチドの 1 つである β-カゼインの 1-28 域に相当するペプチドをマウス脾臓細胞培養系に加えて培養すると、IL-5 と IL-6 の生産が

促され、IgA 産生量が増加します。しかし、1-28 域に相当するペプチドとともに、IL-5 や IL-6 の作用を中和する抗 IL-5 や抗 IL-6 を加えて培養すると、IgA 量は増加しません。これらのことは、カゼインホスホペプチドは、IL-5 や IL-6 の生産を促すことにより、IgG や IgM の産生に影響を与えることなく、IgA 産生を特異的に促進することを示しています。

一般に免疫調節作用は、調節物質が免疫細胞の特定の受容体に結合することが引き金となり起こります。カゼインホスホペプチドは、図 3-2 に示したように、Toll 様受容体 4 (TLR4) に結合して IgA 産生を促進します。

病原性細菌やガン細胞に作用して無毒化する抗菌性ペプチドや細胞傷害性ペプチドなどの自然免疫促進ペプチドは、β-カゼインや β-ラクトグロブリンの消化物から分離されていないことを前述しました。一方、抗体産生を促す獲得液性免疫促進ペプチドは β-カゼインの消化物中に多く、β-ラクトグロブリンも IgA 産生を促進します。自然免疫を促進しない β-カゼインと β-ラクトグロブリンが、獲得液性免疫を促進することは偶然なのか、それとも合目的なのかは気になるところです。

2) 免疫抑制、抗炎症性および抗アレルギー性ペプチド
炎症とは、様々な侵襲に対して起こる生体の反応

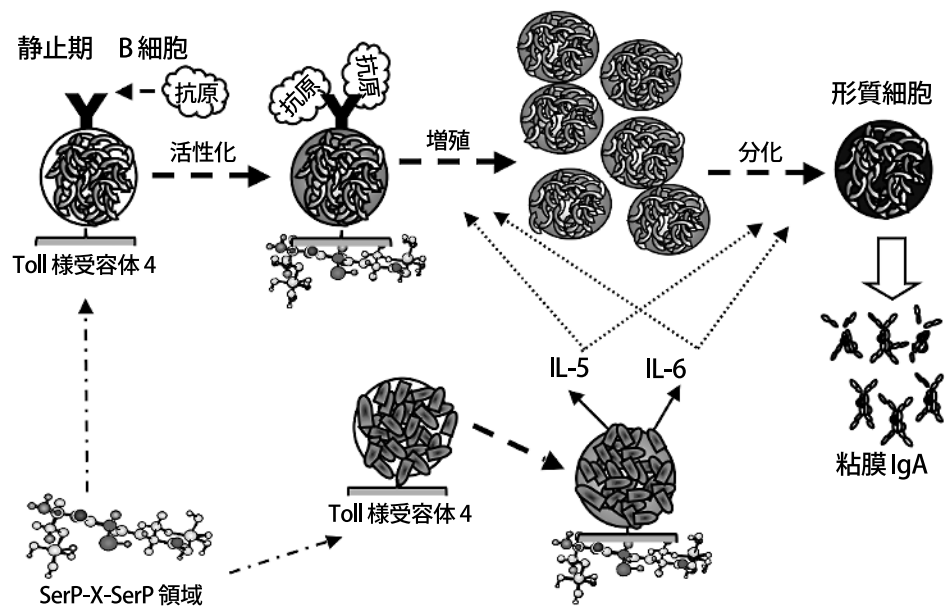


図 3-2 カゼインホスホペプチドによる粘膜 IgA 産生促進模式図

です。炎症により生じる典型的な症状は、発赤、腫瘍、疼痛および発熱です。

炎症は本来、生体防御のために必要な反応です。しかし、IL-1 や TNF- α などの炎症性サイトカインが過剰生産されることにより、病態の症状を起こします。例えば、獲得液性免疫の過剰炎症反応がアレルギーです。特に、腸管における過剰な炎症反応は、

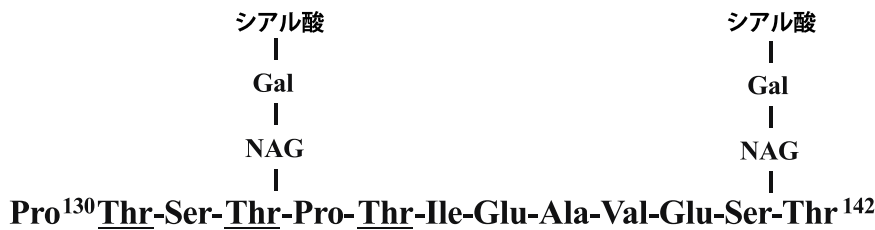
感染や食物アレルギーの原因になるために、防御機能は重要です。

表 3-6 に、免疫抑制、抗炎症および抗アレルギー機能を持つ牛乳タンパク質とその消化により生じるペプチドの性質を示しました。

κ -カゼインとラクトフェリンは、モルモットの受身皮膚アナフィラキシー反応を抑制します。ラク

表 3-6 免疫抑制、抗炎症および抗アレルギー機能を持つ牛乳タンパク質とその消化により生じるペプチド

ペプチドの大きさ	タンパク質およびペプチド名 タンパク質の一次構造上の領域	作用
オリゴペプチド	κ -カゼシジン κ -カゼイン 17-21 域	リンパ球の増殖抑制
ポリペプチド	κ -カゼイノグリコペプチド κ -カゼイン 106-169 域	リンパ球の増殖抑制、抗原提示による IL-1 レセプターアンタゴニストの生産誘導、T 細胞の IL-2 受容体の発現抑制、IgG 産生阻害、抗アナフィラキシー作用 IL-8 の生産促進
	ラクトフェリシン B ラクトフェリン 17-41 域	
	κ -カゼイン α ラクトアルブミン	抗アナフィラキシー作用 リンパ球の増殖阻害、TNF- α 生産阻害、IL-6 生産阻害
	ラクトフェリン	リンパ球の増殖阻害、IL-1 生産阻害、IL-2 生産阻害、IL-6 生産阻害、IL-8 生産阻害、IFN- γ 生産阻害、TNF- α 生産阻害、GM-CSF 生産阻害、抗アナフィラキシー作用
タンパク質		抗体産生阻害
	IgG	リンパ球の増殖阻害
	分泌片	リンパ球の増殖阻害
	ラクトペルオキシダーゼ	リンパ球の増殖阻害
	トランスフェリン	抗自己免疫疾患
	ブチロフィリン	

κ-カゼイノグリコペプチドのマクロファージとの結合領域κ-カゼイノグリコペプチドのヘルパーT細胞との結合領域

シアル酸を含む糖鎖が 141 番目のセリンと、131 番目、133 番目および 135 番目のいずれかのスレオニンか、それらの複数のスレオニンに結合しているときに、κ-カゼイノグリコペプチドはマクロファージやヘルパー T 細胞に結合できます。

図 3-3 マクロファージとヘルパー T 細胞に特異的に結合すると考えられている κ-カゼイノグリコペプチドの糖鎖構造とその近辺のアミノ酸配列

トフェリンは、炎症性サイトカインである IL-1 や TNF-α の生産を抑制します。また、抗炎症機能や免疫抑制機能を持つタンパク質の多くは、ラクトフェリン、トランスフェリン、ラクトペルオキシダーゼなどの抗菌性タンパク質であることは興味深いところです。

表 3-6 に示したペプチドやタンパク質の中でも、κ-カゼインの 106-169 域に相当する κ-カゼイノグリコペプチドによるリンパ球の増殖抑制作用と、IgG の抗体産生阻害機能については、詳細に研究されています。κ-カゼイノグリコペプチドによるリンパ球の増殖抑制作用については、本項で紹介し、IgG の抗体産生阻害機能については次項で紹介します。

κ-カゼイノグリコペプチドは、母乳を飲んだ新生児の胃において、タンパク質の消化により最初に遊離するペプチドです。牛乳 κ-カゼイノグリコペプチドをマウス脾臓細胞培養系や腸管パイエル板細胞培養系に加えて培養すると、B 細胞と T 細胞の増殖や IgG 産生が抑制されます。また、人乳 κ-カゼ

イノグリコペプチドを、マウス脾臓細胞培養系やヒト白血病患者由来細胞培養系に加えて培養すると、ペプチドの濃度が低い時は細胞の増殖が抑制され、ペプチドの濃度が高くなると細胞はアポトーシスにより殺傷されます。

κ-カゼインは糖タンパク質ですが、すべての糖鎖は、κ-カゼイノグリコペプチド域に結合しています。また、その糖鎖は構成糖の違いにより複数種あります。牛乳 κ-カゼイノグリコペプチドのリンパ球増殖抑制作用は、ペプチド鎖に結合している糖鎖の構造により異なります。

図 3-3 に示したように、B 細胞の増殖抑制作用は、シアル酸を 1 個含む糖鎖が κ-カゼイノグリコペプチド 1 分子当たり 2 本結合しているペプチドにより生じます。T 細胞の増殖抑制作用は、B 細胞の場合と同じ糖鎖を持つペプチドに加えて、シアル酸を 2 個含む糖鎖が κ-カゼイノグリコペプチド 1 分子当たり 2 本結合しているペプチドにより生じます。

図 3-4 に示したように、κ-カゼイノグリコペ

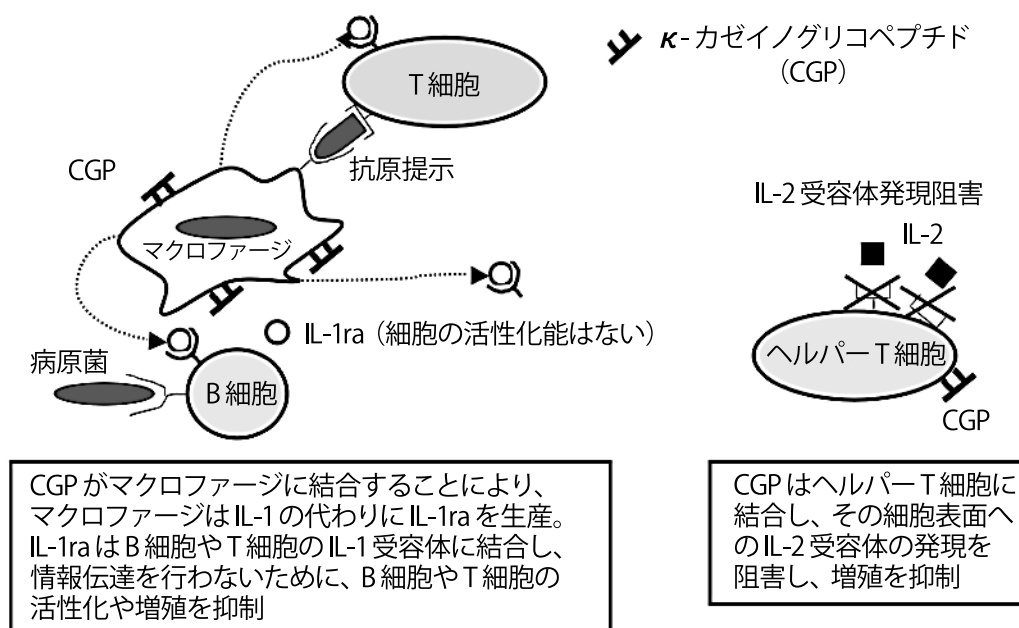


図 3-4 κ-カゼイノグリコペプチドの免疫抑制模式図

チドのリンパ球増殖抑制メカニズムは、そのペプチドがマクロファージに結合してIL-1レセプターアンタゴニストの生産を誘導することと、ヘルパーT細胞に結合してIL-2レセプターの発現を阻害することによるものです。

κ-カゼイノグリコペプチドには、胃のタンパク質消化酵素であるペプシンにより切断されるペプチド結合が多数あります。しかし、腸のタンパク質消化酵素であるトリプシンやキモトリプシンにより切断されるペプチド結合は比較的少ししかありません。

一般に、新生児の胃酸やペプシンの分泌量は少なく、かつ、母乳成分の強い緩衝作用により、母乳タンパク質は胃においてκ-カゼインの105番目と106番目のフェニルアラニルメチオニン結合のみが切断されると言われています。胃でκ-カゼインの消化で生じたパラ-κ-カゼインとκ-カゼイノグリコペプチドは、他のカゼインやホエイタンパク質とともに、胃では消化を受けることなく、小腸に移行すると考えられています。したがって、小腸でκ-カゼイノグリコペプチドが、抗体産生の抑制や抗炎症作用を示すことは十分に考えられるところです。

κ-カゼイノグリコペプチドが、新生児の小腸でリンパ球の増殖や分化を抑制することの意義は、母乳に含まれて新生児の小腸に移行した母親のリンパ球や食細胞などの体細胞の無毒化であると考えられます。体細胞は、新生児の生体防御のために含まれ

ると考える研究者がいます。しかし、著者は、その考えには否定的です。その理由は、リンパ球をはじめとした体細胞は、主要組織適合抗原Iという自己と非自己を区別するタンパク質を持っています。主要組織適合抗原Iが異なると、免疫拒絶反応が生じます。

主要組織適合抗原は、母子間でも一致するとは限りません。そのために、母子間の臓器移植においても、免疫拒絶反応が生じる場合があるのです。このことは、母乳の体細胞は、新生児の小腸で免疫拒絶反応の原因となることもあることを示しています。

母乳に含まれる体細胞の役割は、本来、新陳代謝の活発な母親の乳腺を防御するためのものです。母親の乳腺において、その目的を達成した体細胞が、乳腺で炎症反応を伴う分解処理を受けることは好ましくありません。そのために、その体細胞は母乳に移行します。しかし、母乳の体細胞は、乳児に危害を及ぼす可能性があります。そのために、母乳にはκ-カゼインが含まれ、胃で緩慢な消化を受けることにより、κ-カゼイノグリコペプチドを遊離します。そのκ-カゼイノグリコペプチドは小腸において、前述したようなメカニズムで母親由来の体細胞を無毒化することにより、新生児の小腸での炎症を防いでいると著者は考えるのです。

生後一定期間を過ぎると、新生児の胃酸の分泌量やペプシン活性は強くなります。その結果、母乳中

の体細胞は、胃酸で無毒化されます。また、 κ -カゼインも胃において、 κ -カゼイノグリコペプチドよりもさらに小さなペプチドに消化され、免疫抑制作用を失ったペプチドとして小腸に移行します。

私たち成人の胃の pH は 1～3 であり、ペプシン活性も非常に強いことが知られています。それ故に、私たちが多量の牛乳を飲んでも、また、 κ -カゼイノグリコペプチドを直接食べても、リンパ球の増殖や分化が影響を受けることはありません。

(3) 母乳タンパク質とその消化により生じるペプチドの乳児の生体防御系における意義

上述した母乳タンパク質およびその消化により生じるペプチドの生体防御機能を、図 3-5 に模式的に示しました。

腸管の病原性生物、ウイルス感染した細胞、ガン化した細胞などは、IgA、IgM、IgG などの抗体やリゾチームなどにより無毒化されます。また、ラクトフェリン、 α -ラクトアルブミン、それらの消化物および κ -カゼインの消化物の抗菌作用や細胞傷害作用も、無毒化に寄与します。

一方、 β -カゼイン、 β -ラクトグロブリン、カルシウム感受性カゼインの消化により生じるカゼインホスホペプチドおよび β -カゼインの消化物は、腸管 IgA 産生を促し、感染予防や食物アレルギーの腸管からの吸収を抑制します。また、腸管で、それらのタンパク質や消化物存在下において、特定の病原性生物やアレルギーに感作されて分化した IgA 産生前駆細胞は、ホーミングにより乳腺や気管などの粘膜組織へと移行し、腸管で感作された抗原と特異的に反応する粘膜 IgA を産生します。産生された粘膜 IgA は、その組織で感染防御やアレルギー軽減のために働きます。それら IgA 産生前駆細胞の一部は、血液に入り、全身免疫系において、感染防御やアレルギー軽減のために働きます。

他方、ラクトフェリン、 κ -カゼインおよびそれらの消化物は、腸管において、脱顆粒反応の抑制や抗炎症性サイトカインの生産を促して、過剰な炎症反応やアレルギーの発症を抑制します。また、 α s1-カゼイン、 β -カゼイン、 κ -カゼイン、 β -ラクトグロブリンなどの消化物は、粘膜免疫系や全身免疫系の食細胞を活性化し、感染防御に寄与します。

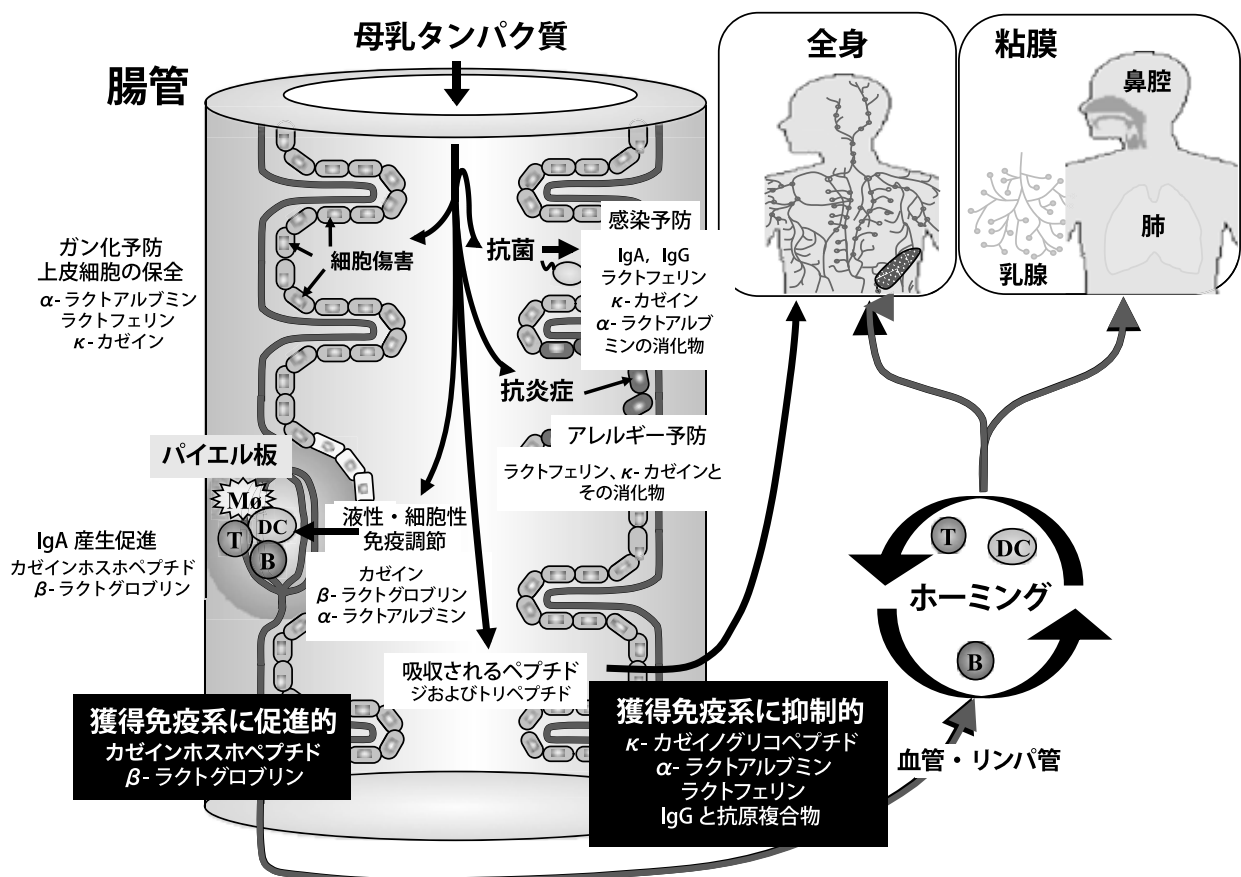


図 3-5 母乳タンパク質とその消化により生じるペプチドの生体防御模式図

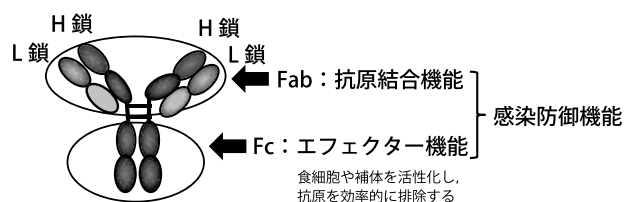


図 3-6 母乳 IgG の模式図と機能

すなわち、母乳タンパク質の中でも、ラクトフェリン、 κ -カゼインおよび α -ラクトアルブミンは自然免疫を促し感染防御に寄与し、獲得液性免疫の主役である抗体産生を抑制して、過剰な炎症反応やアレルギーを抑制します。これに対して、 β -カゼインや β -ラクトグロブリンは抗体産生を促し、獲得粘膜液性免疫を促すと結論されます。

母乳の主要ホエイタンパク質である β -ラクトグロブリンと α -ラクトアルブミンの関係、また、カルシウム感受性カゼインとカルシウム非感受性カゼインの関係は、獲得液性免疫において、それぞれ反対の作用を持っています。このことは、偶然ではなく、母乳に秘められた神秘の一面と考えるのは、著者の考え過ぎでしょうか。

なお、以上述べたことの殆どは、細胞培養系や試験管内で観察されたことであるとともに、著者の希望的観測を述べた箇所も多々あることを付記しておきます。

本章の次項以降では、牛乳 IgG、パン酵母とそれに特異的なヤギ乳 IgG の混合物、およびウシ初乳をマウスに経口的に与えた時の生体防御機能を紹介します。

2. 牛乳 IgG の獲得液性免疫抑制機能

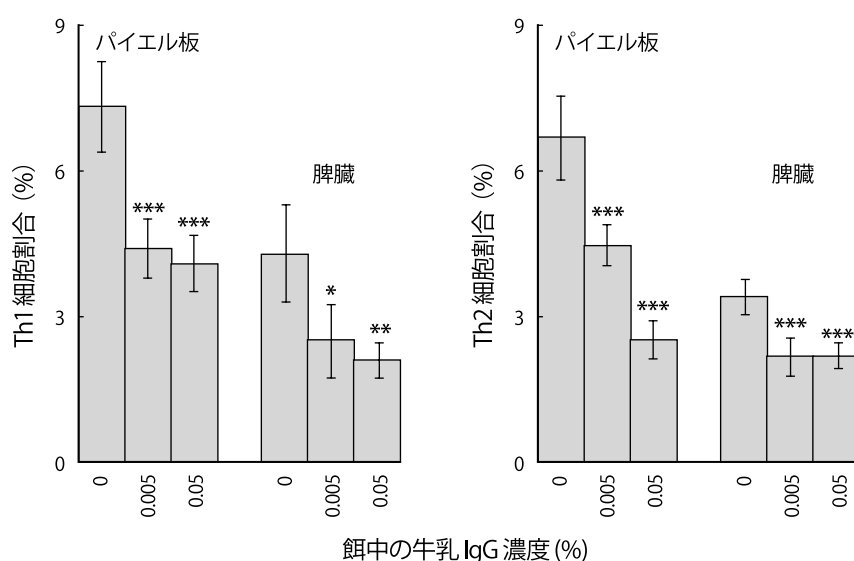
血液を介した全身免疫の主役を演じる抗体は IgG です。図 3-6 に示したように、一般に、教科書に書かれている IgG の機能は、①抗原と特異的に結合し（抗原結合機能と呼んでいます）、②それを無毒化する系を活性化すること（エフェクター機能と呼んでいます）です。

ところが、牛乳 IgG を含む餌でマウスを飼育すると、牛乳 IgG を含まない餌で飼育した時と比べて、抗体産生が抑制されることや、I 型アレルギー症状が軽減することが観察されています。この観察は、IgG には従来の抗原結合機能とエフェクター機能以外の機能が備わっていることを示しています。

本項では、牛乳 IgG のマウスにおける獲得液性免疫抑制機能と I 型アレルギー症状に及ぼす影響を紹介します。

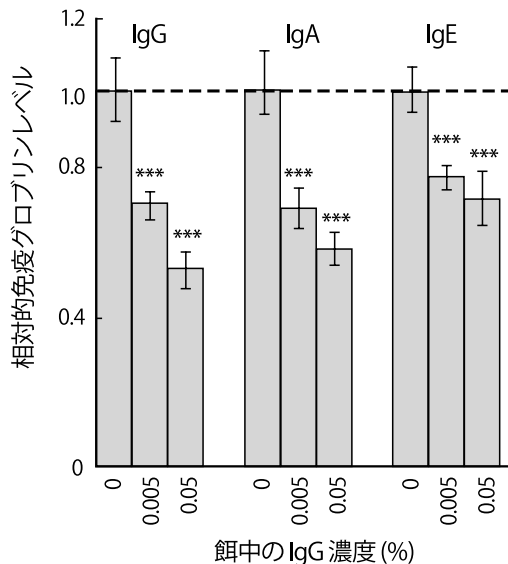
(1) 牛乳 IgG の抗体産生調節機能

体重 60kg のヒトが 1 日 290mL の牛乳を飲んだ時に摂取する IgG に相当する量を、体重当たりで換算して、マウスの 1 日の餌に加えて 5 週間与えました。牛乳 IgG を全く加えない餌を与えたマウスと比べて、牛乳 IgG を含む餌を与えたマウスは、粘膜免疫系の中樞器官であるパイエル板と全身免疫系のそれである脾臓の、マクロファージの数や殺菌能が顕著に高くなりました。また、ガン細胞を殺傷するナチュラルキラー細胞数とそのヒト白血病細胞



印は牛乳 IgG 無添加の時と比べて統計的有意差があることを示します： $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$

図 3-7 IgG を含む餌で 5 週間飼育したマウスのパイエル板と脾臓の Th1 細胞と Th2 細胞の割合



*印は牛乳IgGを加えていない餌で飼育したマウスと比べて統計的有意差があることを示します：*** $p < 0.001$

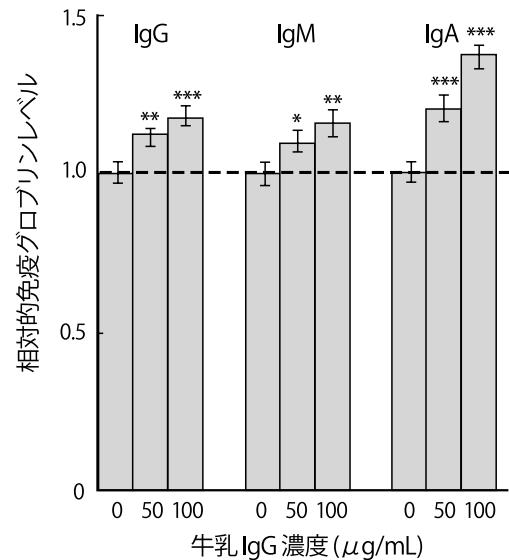
図3-8 牛乳IgGを加えた餌で飼育したマウスの血清中の免疫グロブリンレベル

に対する殺傷活性も顕著に高くなりました。

さらに、図3-7と図3-8に示したように、パイエル板と脾臓のTh1細胞割合とTh2細胞割合、並びに血清のIgG、IgAおよびIgEレベルは、牛乳IgGを加えた餌を与えた方が、加えない餌を与えたものよりも顕著に少なくなりました。すなわち、これらのことは、牛乳IgGを食べたマウスは、自然細胞性免疫が促される一方で、Th2細胞数が減少することにより、獲得液性免疫における抗体の産生が抑制されることを示しています。

牛乳IgGを食べたマウスにおいて、何故、このような現象が起きたかは興味のあることです。その理由を知る目的で、マウスパイエル板細胞培養系に牛乳IgGを加えて培養し、培養液中のIgG、IgMおよびIgAレベルを調べました。

図3-9に示したように、マウスパイエル板細胞培養系において、牛乳IgGはIgG、IgMおよびIgA産生を促し、その作用は、特にIgA産生に対して顕著であることがわかります。また、図には示していませんが牛乳IgGを加えることにより、粘膜IgA産生に不可欠であるIL-5やIL-6のmRNA発現レベルが、牛乳IgGを加えないで培養した時よりも顕著に高くなりました。これらのことは、細胞培養系で牛乳IgGは、IL-5およびIL-6の産生を促すことにより、IgA産生を促進することを示唆しています。さらにこのことは、マウスが牛乳IgGを食べた時



印は牛乳IgGを加えない場合との間に統計的有意差があることを示します： $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

図3-9 牛乳IgGを加えて培養したマウスパイエル板細胞培養液中の相対的免疫グロブリンレベル

に抗体産生に及ぼす作用とは、全く逆の作用であることを示しています。

腸には、腸管関連リンパ組織と呼ばれるリンパ組織があります。腸管関連リンパ組織の中でもパイエル板は、比較的大きな分子をM細胞から活発に取り込むことができます。

パイエル板には、抗原提示細胞である樹状細胞、T細胞、B細胞など種々の免疫細胞が含まれています。それらの細胞の多くは、細胞表面に、IgGのFc領域と結合する受容体を持っています。その受容体は、FcγRI、FcγRIIb、FcγRIIIなどと名付けられています。

FcγRIは抗原と結合していないIgGと結合できませんが、FcγRIIbおよびFcγRIIIは抗原と結合したIgGとの結合が強いことが知られています。IgGがFcγRIを介して免疫細胞に結合すると、粘膜IgA産生に必要なIL-6の産生が促され、FcγRIIbを介して結合するとIL-6の産生は抑制されます。

前述したように、マウスパイエル板細胞培養系に牛乳IgGを加えて培養すると、加えない場合よりもIgAレベルが顕著に高くなりました。この細胞培養系には、牛乳IgGと結合できる抗原は含まれていません。したがって、細胞培養系では、図3-10に示したように、牛乳IgGはFcγRIに結合してIgA産生を促進したものと考えられます。

一方、牛乳IgGを餌に加えてマウスに与えた時は、

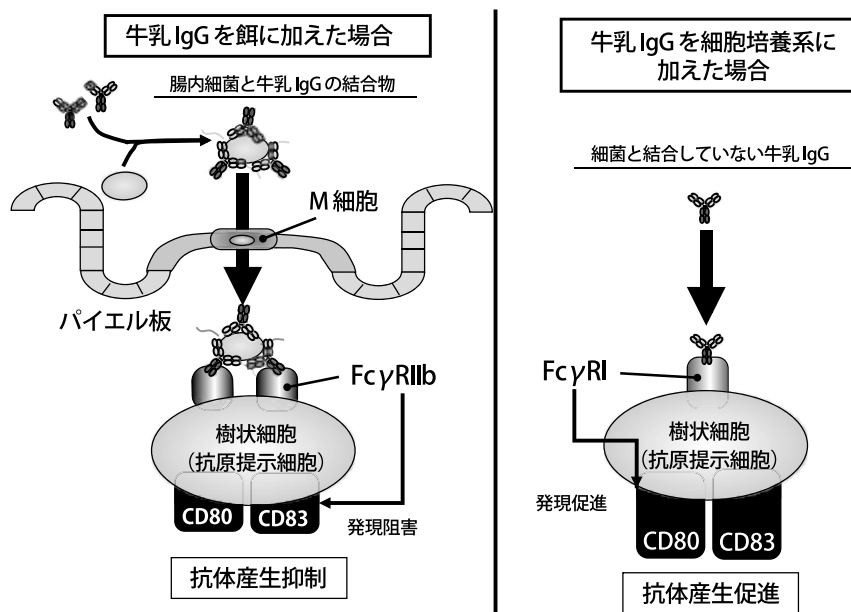


図 3-10 牛乳 IgG の抗体産生調節メカニズム

牛乳 IgG とマウスの腸内細菌との間で抗原抗体複合物ができ、それが FcγRIIb を介して免疫細胞に結合したために、抗体産生が抑制されたものと考えられます。

事実、牛乳 IgG を加えた餌で飼育したマウスのパイエル板細胞には、牛乳 IgG が FcγRIIb を介して結合していました。しかし、牛乳 IgG を加えない餌で飼育したマウスのパイエル板細胞に、牛乳 IgG を加えて培養した時には、牛乳 IgG は FcγRI を介して結合しました。また、大腸菌と大腸菌には特異的でない牛乳 IgG、並びに大腸菌と大腸菌に特異的な牛乳 IgG をそれぞれマウスパイエル板細胞に加えて培養すると、前者の場合は、抗体産生に必要な抗原提示細胞の CD80 や CD83 の発現が促されるが、後者の場合は、それらの発現は抑制されました。

(2) 牛乳 IgG を含む餌で飼育したマウスのパイエル板細胞遺伝子の網羅的解析

免疫系をはじめとする生体防御系の調節には、多種多様なタンパク質が関係します。それらのタンパク質が合成される量は、ゲノムから転写されて発現される各々のタンパク質の合成に関与する mRNA 量によります。したがって、栄養素や機能性成分の生体への影響を、それら栄養素や機能性成分を与えた場合と与えない場合の mRNA の発現レベルを比較すること、すなわちニュートリゲノミックスが最

近世界的に注目されています。

大腸菌と大腸菌に特異的な牛乳 IgG の混合物を加えた餌で飼育したマウスは、それらを加えない餌で飼育したマウスと比べて、表 3-7 に示したように、獲得液性免疫応答や、I 型アレルギーを抑制する遺伝子の発現が増強されます。

表 3-7 に基づいて、I 型アレルギー発症模式図において大腸菌と大腸菌に特異的な牛乳 IgG の混合物が作用するところを、図 3-11 に示しました。

大腸菌と大腸菌に特異的な牛乳 IgG の混合物を加えた餌で飼育したマウスは、免疫グロブリンの産生に不可欠な抗原提示細胞、Th2 細胞および形質細胞が少なくなり、抗体産生を抑制する制御性 T 細胞が増加することが示唆されます。このことは、前述した牛乳 IgG を含む餌で飼育したマウスの抗体産生は、無添加の餌での飼育の場合よりも低下したことを支持しています。なお、図には示していませんが、牛乳 IgG の Fc 領域を加えた餌で飼育したマウスは、免疫グロブリンの産生が抑制される方向での遺伝子発現ではありません。Fc は Fcγ 受容体とは結合できますが、抗原とは結合できません。そのため、餌に加えた Fc 領域は、抗原と結合していない IgG が結合するのと同じ受容体である FcγRI に結合したことが示唆されます。

一方、大腸菌と大腸菌に特異的な牛乳 IgG の混合物を加えた餌で飼育したマウスも、牛乳 IgG の

表 3-7 大腸菌と大腸菌に特異的な牛乳 IgG を加えた餌で飼育したマウスパリエル板細胞の生体防御関連遺伝子の発現レベル

翻訳によりできるタンパク質名	機 能	大腸菌と牛乳 IgG を加えない餌で飼育した場合に対する相対的発現レベル
デサイシン	成熟樹状細胞マーカー	0.270
CD80	抗原提示補助分子	0.520
CD28	T 細胞受容体補助因子	0.759
IL-18 受容体	Th1 細胞への分化マーカー	1.470
IL-4	Th2 細胞への分化マーカー	0.841
TGF- β	Th3 細胞への分化マーカー	2.093
IL-10	Th2 サイトカイン	0.580
CD10	未熟 B 細胞マーカー	2.599
CD122	制御性 T 細胞マーカー	2.030
α サブユニット	IgE 受容体構成分子	0.457
β サブユニット	IgE 受容体構成分子	0.613
γ サブユニット	IgE 受容体構成分子	0.336
Fc 受容体様 3	Fc 受容体様 3	0.451
ATM	ガン抑制遺伝子	3.021
BRCA1	ガン抑制遺伝子	2.142
p53	ガン抑制遺伝子	2.104

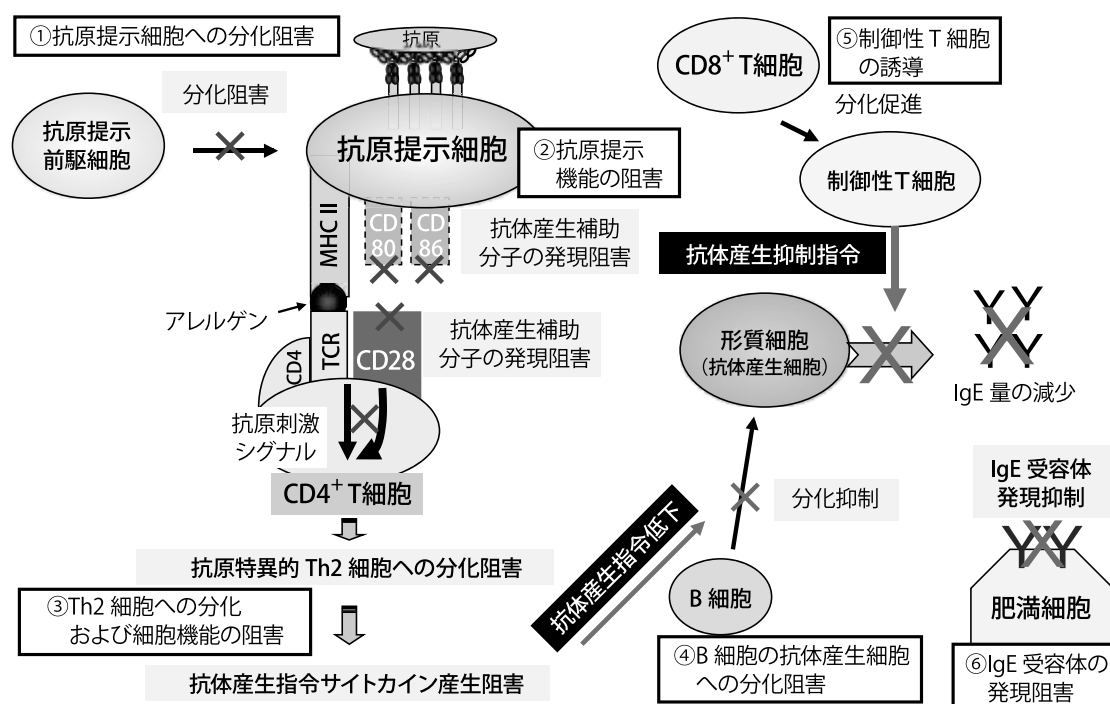


図 3-11 大腸菌と大腸菌に特異的な牛乳 IgG を加えた餌で飼育したマウスのパリエル板細胞から抽出した遺伝子の解析結果から予測される大腸菌と大腸菌に特異的な牛乳 IgG のマウス I 型アレルギーの軽減メカニズム

Fc 領域を加えた餌で飼育したマウスもともに、IgE 受容体の α サブユニット、 β サブユニットおよび γ サブユニットの mRNA の発現レベルやリウマチ患者に多く発現する Fc 受容体様 3 の mRNA の発現レベルが、それらを加えていない餌を与えたマウスよりも顕著に低下します。

以上のことは、大腸菌と大腸菌に特異的な牛乳 IgG の混合物を含む餌で飼育したマウスは、それらを含まない餌で飼育したマウスよりも、花粉症やダニアレルギーなどの I 型アレルギーの発症が抑えられることを示唆しています。

3. パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の I 型アレルギー軽減作用

大腸菌と大腸菌に特異的な牛乳 IgG の混合物を含む餌で飼育したマウスは、獲得液性免疫が強く抑制されます。また、花粉症やダニアレルギーなどの I 型アレルギーの発症に関係するタンパク質を合成する遺伝子発現がアレルギーを軽減する方向に変動します。これらのことは、大腸菌と大腸菌に特異的な母乳 IgG の混合物は、I 型アレルギー軽減食品素材として利用できる可能性を示唆しています。

しかし、大腸菌を食品に加えることは、食品衛生上許可されません。そこで、食経験のあるパン酵母を抗原に用いて、パン酵母に特異的な IgG を含むヤギ乳 IgG を調製しました。

本項では、パン酵母とそれに特異的なヤギ乳 IgG の混合物を含む餌で飼育した健常マウスや、I 型アレルギー発症モデルマウスの免疫系の特徴を紹介します。

(1) パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物を含む餌で飼育した健常マウスの免疫系

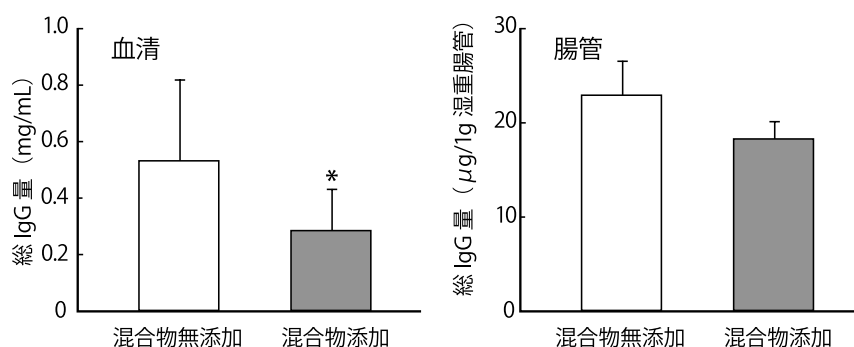
分娩 1 カ月前のシバヤギに、市販パン酵母を Freund 完全アジュバント（抗体産生促進剤）とともに筋肉内注射し、分娩日から 1 週間目までの初乳と、分娩 8 日目から 63 日目までの常乳を、それぞれ別途に集めました。初乳と常乳をそれぞれ遠心分離、カゼインの等電点沈殿処理、40% 飽和硫酸アンモニウム処理および凍結乾燥処理を行い、ヤギ乳 IgG を調製しました。得られた初乳 IgG と常乳 IgG 中のパン酵母に対する IgG 割合は、殆ど同じであることから、初乳と常乳 IgG を混合し、パン酵母特異的 IgG としました。

パン酵母、パン酵母特異的 IgG およびそれらの混合物を、健常マウスのパイエル板細胞の培養系に加えて培養すると、I 型アレルギーの発症に関与するタンパク質の遺伝子発現は、混合物を加えて培養した時に最も抑制され、逆に、I 型アレルギーを抑制するタンパク質の遺伝子発現は最も促進されます。これらのことは、パン酵母やヤギ乳 IgG 単独ではなく、それらの混合物を摂取することにより、I 型アレルギーが軽減することを示唆しています。

図 3-12 に示したように、混合物を含む餌で 5 週間飼育した健常マウスの血清と腸管の総 IgG 量は、それらを加えない餌で飼育したマウスよりも明らかに少なく、獲得液性免疫応答が抑制されたことを示しています。また、それらのマウスの腸管パイエル板細胞から抽出した遺伝子の網羅的解析結果の一部を図 3-13 に示しました。

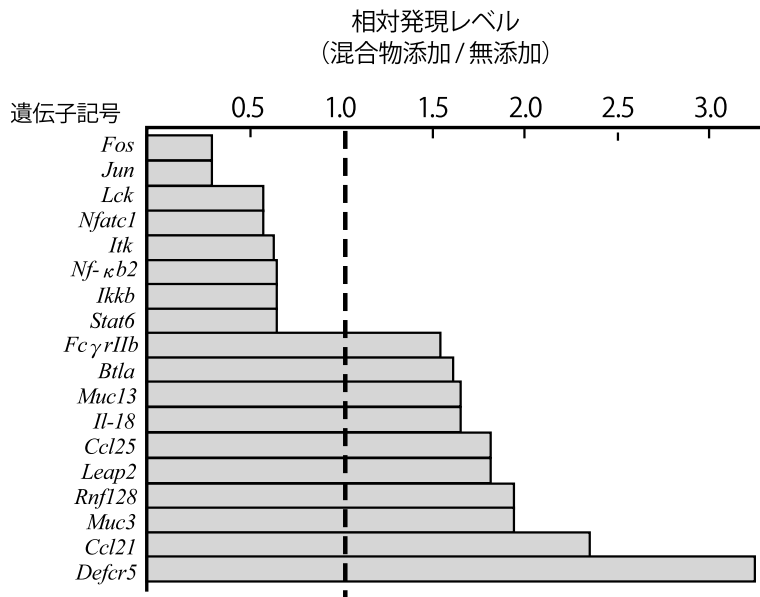
混合物を添加した餌で飼育すると、遺伝子記号 *Fos*, *Jun*, *Lck*, *Nfatc1*, *Itk*, *Nf- κ b2*, *Ikkb* および *Stat6* で表す mRNA 発現が、混合物を含まない餌で飼育した時の 2/3 以下になります。逆に、*FcyrIIb*, *Btla*, *Muc13*, *Il-18*, *Ccl25*, *Leap2*, *Rnf128*, *Muc3*, *Ccl21* および *Defcr5* で表す遺伝子の発現が 1.5 倍以上になります。

Fos, *Jun*, *Lck*, *Nfatc1*, *Itk*, *Nf- κ b2*, *Ikkb* および *Stat6* の転写により、*Fos*, *Jun*, *Lck*, NFAT, *Itk*, NF- κ B2, *IkkB* および *Stat6* と呼ばれるタンパク質が作られます。また、*FcyrIIb*, *Btla*, *Muc13*, *Il-18*, *Ccl25*, *Leap2*, *Rnf128*, *Muc3*, *Ccl21* および *Defcr5* の転写により、*FcyrIIb*, *Btla*, ムチン 13, IL-18, CCL25, 肝臓抗菌ペプチド 2 (*Leap2*), GRAIL, ムチン 3, CCL21 およびディフェンシンと呼ばれるタンパク質が作られます。



無添加の餌との間の統計的有意差：* $p < 0.05$

図 3-12 パン酵母とパン酵母特異的 IgG の混合物を含む餌を与えた健常マウスの血清および腸管の総 IgG 量



* 相対発現レベル1は混合物を加えない餌を与えた時と同じであることを意味し、0.5は混合物を加えることにより半分に、2は混合物を加えることにより2倍になったことを意味しています。

図 3-13 パン酵母とパン酵母特異的 IgG の混合物を含む餌を与えた健康マウスのパイエル板細胞免疫関連遺伝子の発現レベル

NF-κB の活性化は獲得免疫応答において不可欠です。IkkB は NF-κB の活性化において不可欠なタンパク質として知られています。Lck は T 細胞の活性化に必要なプロテインキナーゼの 1 つです。抗原提示細胞上での CD80 の発現は、獲得液性免疫応答のために不可欠です。しかし、この発現は、FcγIIb により阻害されます。さらに、IL-18 は制御性 T 細胞の誘導において必要です。すなわち、これらのことと図 3-13 に示した結果は、パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物を含む餌で飼育したマウスは、獲得液性免疫応答が抑制されることを示唆しています。

一方、Jun や Fos の重合体である AP-1 は、肥満細胞の脱顆粒に関与するタンパク質として知られています。NFAT は、エフェクター T 細胞が IL-4 遺伝子を発現するために必要なタンパク質です。Stat6 は、I 型アレルギーの発症に必要な IL-4 の生産を促し、Th2 細胞優位にするタンパク質です。また、Itk は、T 細胞や肥満細胞により生産されるタンパク質であり、その量が少ないと脱顆粒によるヒスタミンの放出量が減少すると言われています。さらに、GRAIL は、制御性 T 細胞の膜タンパク質です。すなわち、これらのことと図 3-13 に示した結果は、パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物を含む餌で飼育したマウスは、I 型アレルギーを

患い難くなることを示唆しています。

他方、CCL21 と CCL25 は、CC-ケモカインファミリーと呼ばれるタンパク質です。CCL21 は樹状細胞の食作用を促し、CCL25 は腸管で IgA 産生細胞のホーミングに関係します。ディフェンシンと LEAP-2 は、ともに抗菌性スペクトルの広いタンパク質です。特に、ディフェンシンは抗菌性タンパク質であるとともに、獲得免疫の調節にも関与していると言われています。Leap2 は、腸管組織で生産される“体内の天然抗生物質”と呼ばれるタンパク質です。さらに、ムチン 3 の保護タンパク質であり、ムチン 13 は胃腸管の上皮層に存在するタンパク質です。これらのタンパク質は、ともに腸管のバリア形成において重要です。すなわち、これらのことと図 3-13 に示した結果は、

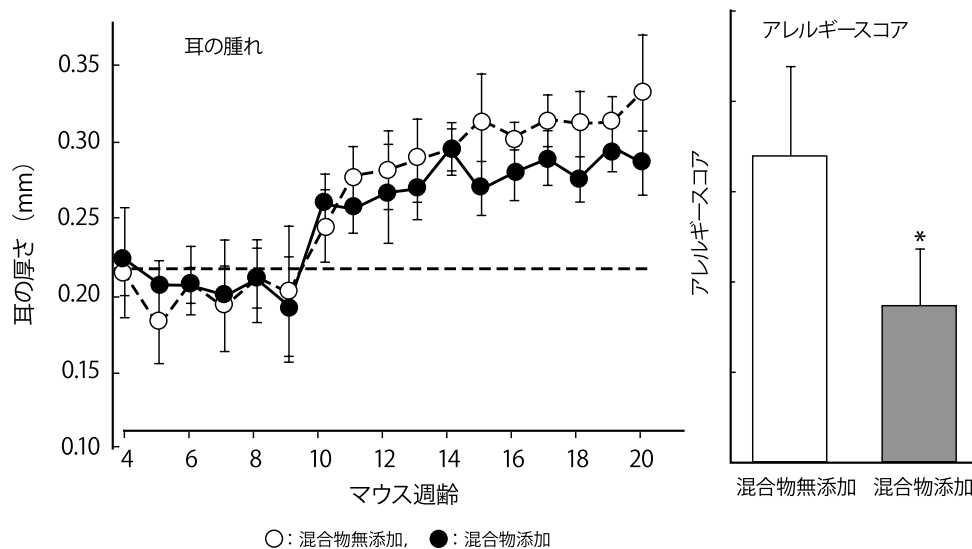
パン酵母とパン酵母に特異的な IgG の混合物を含む餌で飼育したマウスは、腸の自然免疫系が増強されることを示唆しています。

すなわち以上のことから、パン酵母とともに、パン酵母に特異的なヤギ乳 IgG を含む餌で育てたマウスは、I 型アレルギーを患い難くするとともに、腸粘膜の自然免疫系が増強されることが示唆されます。

(2) パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物を含む餌で飼育した遺伝的 I 型アレルギー自然発症マウスのアレルギー症状

遺伝的 I 型アレルギー自然発症マウス (NC/Nga 系マウス) に、パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物を毎日 1 回、経口的に与えながら、市販マウス用飼料で 16 週間飼育しました。飼育期間中に、ダニ抗原によりマウスにダニアレルギー (I 型アレルギー) を誘導しました。なお、混合物を与えずに、市販マウス用飼料で飼育しながら、ダニ抗原で I 型アレルギーを誘導したマウスを対照としました。

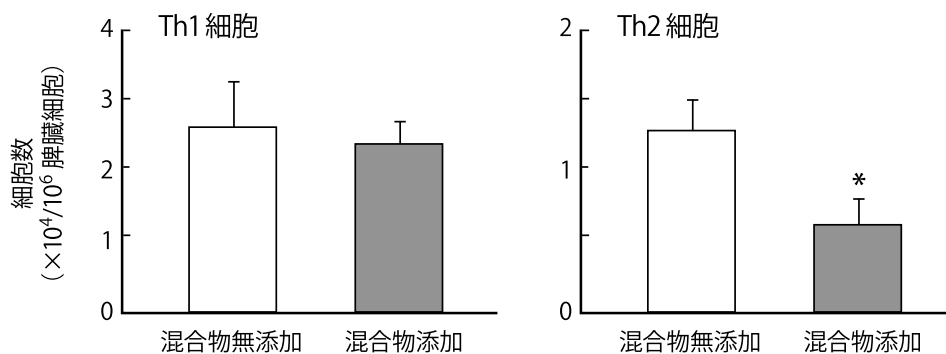
図 3-14 に示したように、I 型アレルギー症状の一つである耳の腫れ (厚さ) は、混合物を与えたマウスの方が与えないマウスよりも小さくなり、21 週齢における外観的なアレルギー症状は、混合物を



点線は試験試料投与前の耳の厚さを示します。

印は混合物無添加の餌で飼育したマウスとの間に統計的有意差 ($p<0.05$) があることを示しています。

図 3-14 パン酵母とパン酵母特異的 IgG の混合物を含む餌で飼育した遺伝的 I 型アレルギー自然発症マウス のアレルギー症状



印は混合物無添加の餌で飼育したマウスと統計的有意差 ($p<0.05$) があることを示しています。

図 3-15 パン酵母とパン酵母特異的 IgG の混合物を含む餌で飼育した遺伝的 I 型アレルギー自然発症マウス の脾臓における Th1 細胞数と Th2 細胞数

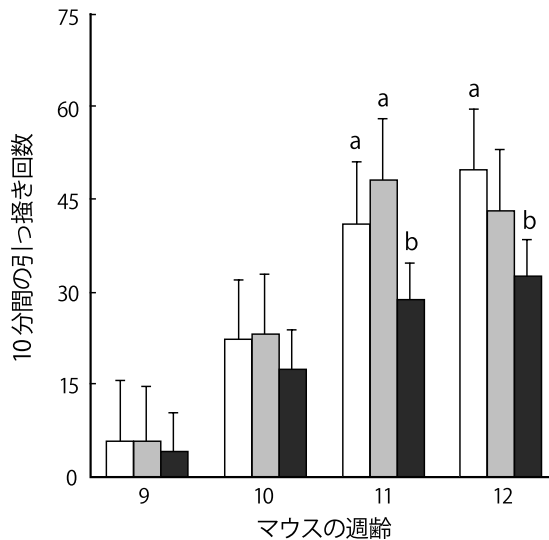
与えたマウスの方が与えなかったマウスよりも顕著に低いことが確認されています。

また、図 3-15 に示したように、21 週齢時の脾臓の Th2 細胞数は、混合物を与えたマウスの方が与えなかったマウスよりも顕著に少なくなっています。

I 型アレルギーは、Th2 細胞の免疫応答により産生された IgE が、肥満細胞上で抗原と結合して、脱顆粒を起こすことにより発症します。図 3-15 に示した結果は、遺伝的 I 型アレルギー自然発症マウスに、パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物を経口的に与えることにより、Th1/Th2 細胞バランスが改善され、アレルギー症状が軽減したことを示唆しています。

(3) パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物を含む餌で飼育した後天的アレルギー発症マウスのアレルギー症状

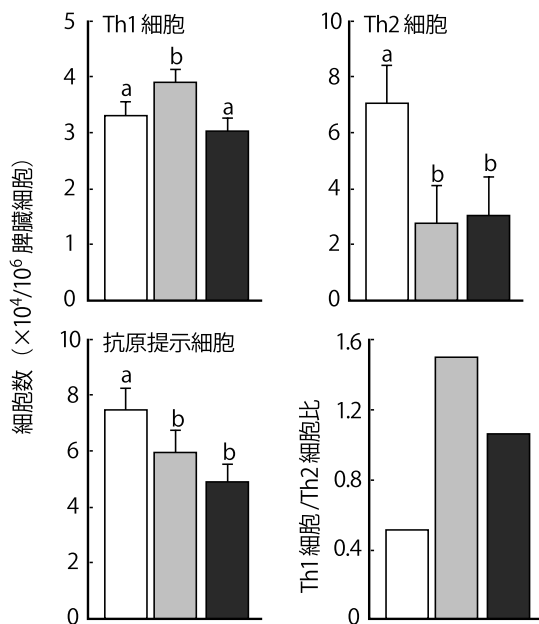
前述した実験で用いた NC/Nga 系マウスは、遺伝的 I 型アレルギー自然発症マウス、言い換えれば先天性 I 型アレルギー自然発症マウスです。一方、BALB/c 系マウスは、本来健常マウスですが、腹腔に卵白アルブミンを注射した後に、鼻腔に卵白アルブミンを連続投与すると、卵白アルブミンに対するアレルギー（後天的 I 型アレルギー）が誘導されます。そのために、BALB/c 系マウスに誘導した卵アレルギーは、花粉症や食品アレルギーなどの I 型アレルギーのモデルとして用いられています。



□：無添加の餌、■：パン酵母を添加した餌、■：混合物を添加した餌
異なるアルファベットを記述した間には統計的有意差（ $p<0.05$ ）があります。

図 3-16 パン酵母とパン酵母特異的 IgG の混合物を含む餌で飼育した卵アレルギーマウスの引っ掻き回数

5 週齢の BALB/c 系マウスを、パン酵母を含む餌、パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物を含む餌およびパン酵母もヤギ乳 IgG も含まない餌（以後、無添加と言います）で 12 週齢になるまで飼育しました。その間、腹腔と鼻腔に卵白アルブミンを投与して卵アレルギーを誘導しました。



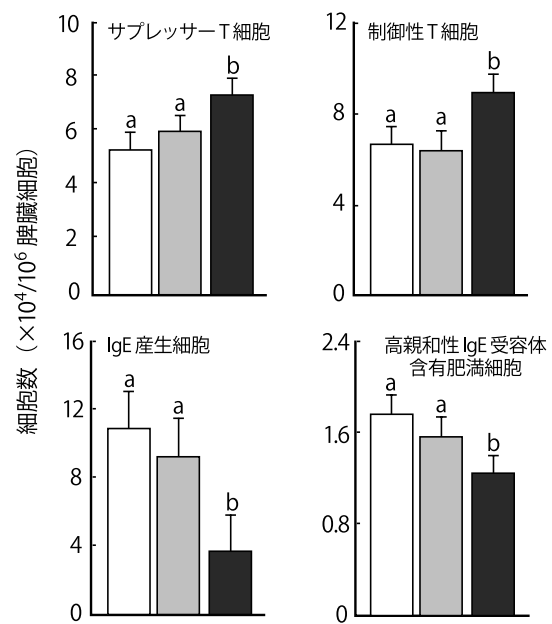
□：無添加の餌、■：パン酵母を添加した餌、■：混合物を添加した餌
異なるアルファベットを記述した間には統計的有意差（ $p<0.05$ ）があります。

図 3-17 パン酵母とパン酵母特異的 IgG の混合物を含む餌で飼育したマウスの Th1 細胞数、Th2 細胞数、抗原提示細胞数および Th1/Th2 細胞比

図 3-16 に示したように、11 週齢と 12 週齢時のアレルギーの指標である引っ掻き回数は、無添加の餌やパン酵母を添加した餌で飼育したマウスよりも、混合物を添加した餌で飼育したマウスの方が顕著に減少します。このことは、餌中のパン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物が卵白アレルギー症状を軽減したことを意味しています。

図 3-17 に示したように、Th1 細胞数はパン酵母を含む餌での飼育により、無添加や混合物を加えた餌での飼育よりも顕著に多く、Th2 細胞数と抗原提示細胞数は、パン酵母や混合物を加えた餌での飼育の方が、無添加の餌での飼育よりも、顕著に少なくなります。また、Th1/Th2 細胞比はパン酵母を加えた餌での飼育において最も高く、次いで混合物を加えた餌、無添加の餌の順でした。すなわち、これらのことは、図 3-16 に示した混合物を加えた餌での飼育がアレルギー症状を軽減したのは、Th1/Th2 細胞バランスの改善や抗原提示細胞数の減少に起因するのではないことを示しています。

図 3-18 に示したように、サプレッサー T 細胞数と制御性 T 細胞数は、無添加やパン酵母を加えた餌での飼育よりも、混合物を加えた餌での飼育により顕著に多く、IgE 産生形質細胞と高親和性 IgE 受容体含有肥満細胞



□：無添加の餌、■：パン酵母を添加した餌、■：混合物を添加した餌
異なるアルファベットを記述した間には統計的有意差（ $p<0.05$ ）があります。

図 3-18 パン酵母とパン酵母特異的 IgG の混合物を含む餌で飼育したマウスのサプレッサー T 細胞数、制御性 T 細胞数、IgE 産生細胞数および高親和性 IgE 受容体含有肥満細胞

容体を持つ肥満細胞数は有意に少ないことがわかります。

これらの結果は、パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物を食べることによる I 型アレルギーの軽減は、サプレッサー T 細胞数や制御性 T 細胞数の増加による IgE 産生細胞数の減少や、高親和性 IgE 受容体を持つ肥満細胞数の減少によることを示唆しています。

腸管を始めとした局所免疫の主要抗体は粘膜 IgA です。しかし、腸管には IgG も存在します。また、腸管の免疫細胞は複数種の IgG 受容体を持っています。

パン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物を食べたマウスは、遺伝的 I 型アレルギー症状も後天的 I 型アレルギー症状も軽減します。母乳 IgG は、pH4 以下の酸性領域では酸変性を起こし、抗原との結合能を失います。したがって、マウスに経口的に与えたヤギ乳 IgG は、胃で酸変性を受け、ペプシンにより消化される可能性があります。

ところが、マウスの胃の pH は 5.5 付近であり、マウスに牛乳 IgG を経口的に与えると、腸管や糞便に抗原や免疫細胞との結合能を持った多くの牛乳 IgG を確認することができます。これらのことは、マウスが経口的に摂取した大腸菌やパン酵母と、それらに対する牛乳 IgG やシバヤギ乳 IgG は抗原抗体複合物形成能や免疫細胞との結合能を有した状態で腸に移行し、腸で抗原抗体複合物を形成し、免疫細胞に結合できることを示しています。

すなわち、これらのことから、食経験のあるパン酵母とパン酵母に特異的なヤギ乳 IgG の混合物は、マウスにおいて M 細胞からパイエル板に取り込まれて FcγIIb 受容体を介して樹状細胞に結合するものと考えられます。また、図 3-11 に示した I 型アレルギー発症メカニズムにおいて、様々な免疫細胞に作用することにより、I 型アレルギーを軽減することが示唆されます。

以上のことから、食経験のある微生物とそれに特異的な母乳 IgG を原料にすることにより、花粉症軽減食品の開発が期待されます。しかし、その開発に際して明らかにしておかなくてはならない問題があることも事実です。

例えば、経口的に摂取した牛乳やシバヤギ乳の IgG がヒト腸管の免疫細胞の受容体、特に免疫抑

ヒト IgG1 ²⁵⁶ I PEVTCVVVD VSHE D P ²⁷¹
ウシ IgG1 ²⁷⁷ I PEVTCVVVD VGHD D P ²⁹²
ウシ IgG2 ^{???} I PEVTCVVVD VGHD N P ^{???}

ヒト IgG1 のヒト FcγIIb との結合領域のアミノ酸配列と牛乳 IgG のおよそ 90% を占めるウシ IgG1 のその領域に相当するアミノ酸配列は極めて類似しています。

図 3-19 ヒト FcγIIb との結合領域のヒト IgG1 のアミノ酸配列とその領域に相当するウシ IgG サブクラスのアミノ酸配列

制型の FcγIIb 受容体に結合できることの確認です。

図 3-19 に示したように、ヒト FcγIIb 受容体と結合するヒト IgG1 領域とウシ IgG1 領域のアミノ酸配列は極めて類似しています（ウシ血清では IgG1 と IgG2 のサブクラスがほぼ同量含まれるが、乳汁ではおよそ 9 割が IgG1 です）。このことから、牛乳 IgG と微生物との複合物がヒトの FcγIIb 受容体に結合できることは十分に考えられるところです。

また、母乳 IgG は pH4 以下の酸性領域では酸変性を受け、抗原や免疫細胞との結合能を失うことが考えられます。事実、ヒトの胃の pH は 1～3 と言われており、明らかに母乳 IgG が抗原結合能を失う pH 領域です。しかし、この問題は、酸性領域において安定で弱アルカリ領域で溶解する食素材を用いて、抗原とそれに特異的な母乳 IgG をカプセル化することにより克服できるものと思われます。

(4) 微生物とその微生物に特異的な母乳 IgG の混合物を含む餌で飼育したマウスの免疫系に基づいた I 型アレルギーの発症に関する一考察

先進国において花粉症や蕎麦アレルギーなどの I 型アレルギーの患者数が激増しています。その激増する説明として、「アレルギーの衛生仮説」があることは、既に述べた通りです。

すなわち、「アレルギーの衛生仮説」は、近年、ヒトの清潔志向が過剰になり過ぎたために、乳幼児期に感染菌を始めとした微生物と接する機会が少なくなり、胎児期の Th2 細胞優位の状態が成長後も維持されるために、I 型アレルギーを患うというものです。言い換えれば、この仮説は、Th2 細胞優位の乳児でも、乳幼児期に様々な感染菌や微生物と接することにより、Th1/Th2 細胞バランスが改善されて、I 型アレルギーを患うことはないということです。

しかし、乳幼児期に感染菌や微生物と接すると、どのような機構でTh1/Th2 バランスが改善され、何故、I型アレルギーに陥らないのかという十分な説明にはなっていません。

本章で紹介した、大腸菌やパン酵母と、それらに特異的な母乳IgGの混合物を経口摂取したマウスの免疫系の結果に基いて、著者は、I型アレルギーの発症には、腸管のIgGクラスの抗体と免疫細胞の持つIgG受容体が重要な役割を担っていると考えています。著者の考えでは、「アレルギーの衛生仮説」は、次のように表すことができます。

「近年、生活様式の変化により、多様な抗原が反復して腸管に侵入する機会が少なくなりました。そのために腸管には、多様な抗原とIgGクラスの抗体との抗原抗体複合物が少なくなりました。このことにより、腸管免疫細胞に対するFcγRIIbを介した刺激が少なくなり、制御性T細胞が誘導され難いことや、高親和性IgEを持った肥満細胞が増加することにより、I型アレルギーを患う人が多くなりました。」

4. ウシ後期初乳の生体防御機能

母乳の成分組成は、泌乳期により異なります。特に、分娩後1週間までの初乳は、それ以降の常乳に比べて生体防御機能を持つ抗体やラクトフェリンなどのタンパク質を高濃度で含んでいます。そのため、初乳は貴重な機能性食品素材と考えられます。

しかし、わが国では、国が定めた食品衛生法の「乳および乳製品の成分規格等に関する省令」により、分娩後5日以内の乳の出荷は基本的には禁じられています。それ故に、初乳の中でも食品の原料に使用できるのは、基本的には分娩後6日目と7日目のもの（以後、後期初乳と言います）です。

抗体やラクトフェリンなどの生体防御タンパク質は、分娩当日の初乳に最も多く含まれており、その後、経時的に少なくなります。しかし、後期初乳にも、常乳と比べれば、それらのタンパク質が高濃度で含まれるとともに、常乳には含まれない物質が含まれる可能性があります。このことから、ウシ後期初乳の生体防御機能の探索は、意義深い課題です。

本項では、ウシ後期初乳をマウスに経口的に与えた時のマウスの生体防御機能に及ぼす影響と、ヒト花粉症と風邪に及ぼす影響を紹介します。

表 3-8 ウシ母乳の成分濃度

	初乳 (分娩後)	後期初乳標品 6, 7 日目	常乳 8 日目～
	1, 2 日目		
脂肪	3.4%	1.5%	3.8%
乳糖	2.5%	4.0%	4.4%
タンパク質	3.9%	4.5%	3.3%
	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)
ラクトフェリン	1.5	0.5	0.1
IgG	32.0	10.0	0.6
IgA	3.5	1.6	0.08
IgM	8.7	2.9	0.9

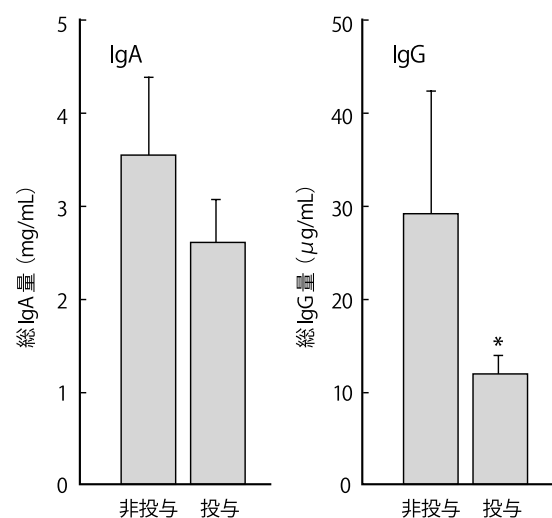
(1) 後期初乳標品のマウス生体防御機能に及ぼす影響

最近、タンパク質が変性しにくい殺菌処理や、膜処理により、後期初乳から、表 3-8 に示したような成分組成を持つ部分的脱脂粉乳（以後、この脱脂粉乳を後期初乳標品と言います）が調製されています。

一般に、脂肪と乳糖の濃度は常乳よりも初乳の方が少なく、タンパク質濃度は初乳の方が多いたことが知られています。また、ラクトフェリン、並びにIgG、IgA および IgM のいずれの抗体もすべて初乳の方が常乳より多いことは周知のところですが。

後期初乳標品においても、ラクトフェリンと3種の抗体濃度は、初乳ほどではないが、常乳よりも明らかに多くなっています。

後期初乳標品を1日8mg、5週間、毎日経口的に投与した健常マウスと、投与しなかった健常マウスの腸管IgA量とIgG量を図 3-20 に示しました。後



無添加の餌との間の統計的有意差：* $p<0.05$

図 3-20 後期初乳標品を経口投与した健常マウス 腸管のIgAおよびIgG量

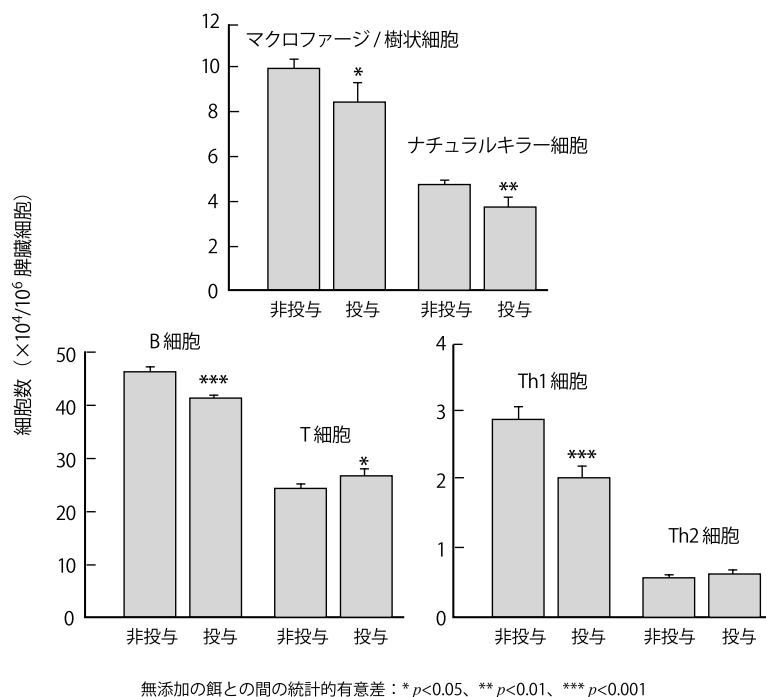


図 3-21 後期初乳標品を経口投与した健康マウス 腸管の免疫細胞数

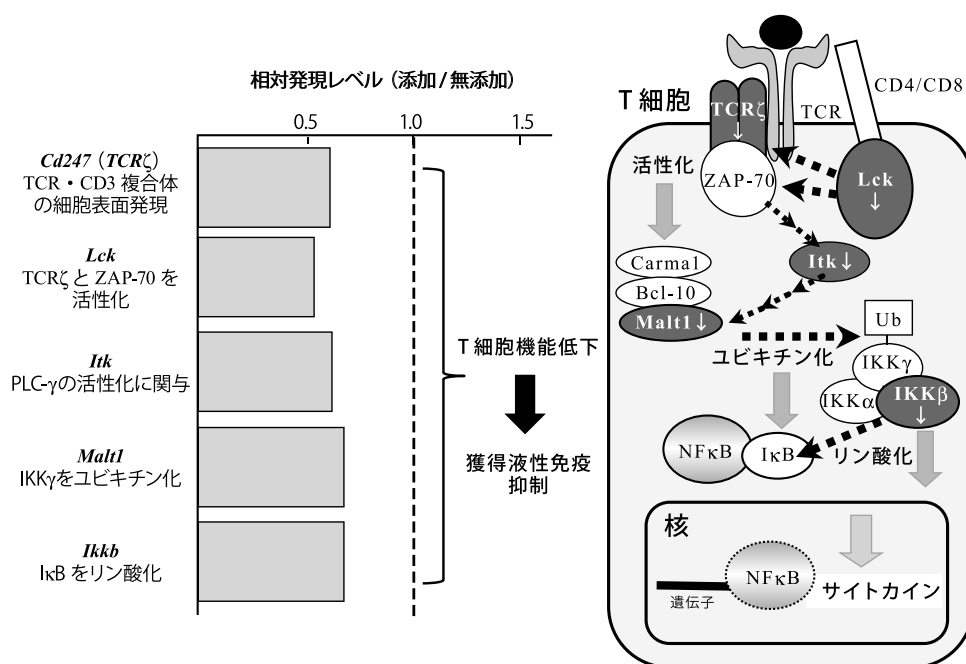


図 3-22 後期初乳を経口投与した健康マウスパイル板細胞の T 細胞情報伝達関連遺伝子の発現

期初乳標品の投与により、非投与の場合よりも腸管の IgA 量は少なくなる傾向にあり、IgG 量は有意に少なくなります。また、図 3-21 に示したように、後期初乳標品の投与により、脾臓のマクロファージ/樹状細胞数、NK 細胞数、B 細胞数および Th1 細胞数は、非投与の場合と比べて、有意に少なくなります。さらに、図 3-22 に示したように、パイル板細胞から抽出した遺伝子の解析により、T 細胞受容体のシグナル伝達に関わるタンパク質を合成する

遺伝子や、図 3-23 に示したように、肥満細胞の脱顆粒反応に関わるタンパク質を合成する遺伝子の発現は、非投与の場合よりも、投与することにより低くなり、制御性 T 細胞の指標タンパク質を合成する遺伝子の発現レベルは高くなります。すなわち、これらのことは、後期初乳標品を経口投与したマウスの獲得免疫は抑制され、アレルギー症状は軽減されることを示唆しています。

事実、遺伝的 I 型アレルギー自然発症マウスであ

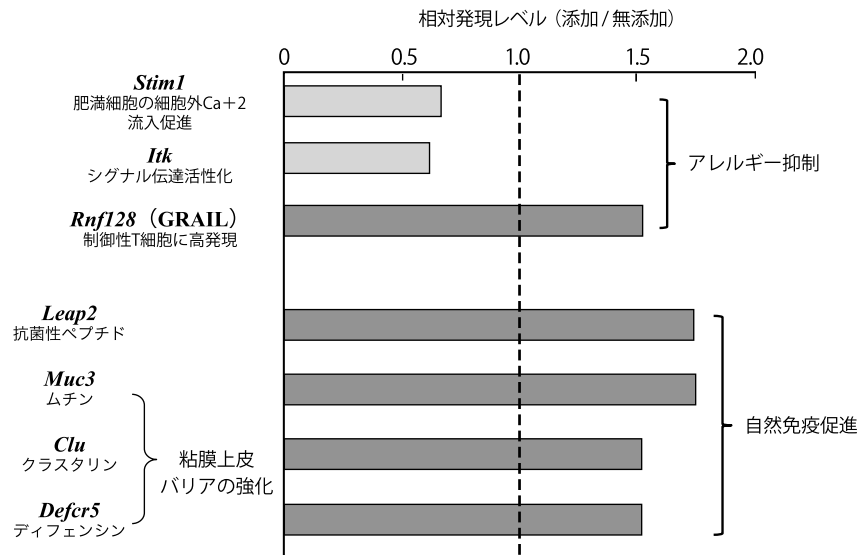


図 3-23 後期初乳標品を経口投与した健常マウスパイエル板細胞のアレルギー関連および自然免疫関連遺伝子の発現

る NC/Nga 系マウスに、ダニ抗原を鼻腔に塗って感作しながら、また、健常マウスである BALB/c 系マウスに、ダニ抗原で後天的 I 型アレルギーを誘導しながら、後期初乳標品を経口的に与えると、両系統のマウスともに、後期初乳標品を与えない場合よりもアレルギー症状が有意に軽減します。このことは、図には示していませんが、両系統のマウスともに、血清中の総 IgE 量やダニ抗原特異的 IgE レベルが、後期初乳標品を経口投与することにより、低くなることにより支持されます。

また、図には示していませんが、後期初乳標品の投与により、投与しない場合よりも、Th2 細胞数の減少、制御性 T 細胞数の増加、肥満細胞膜表面の高親和性 IgE 受容体の発現阻害、肥満細胞の脱顆粒のための情報伝達の阻害などが観察されます。

一方、図 3-23 に示したように、後期初乳標品の健常マウスへの経口投与により、粘膜バリアータンパク質や抗菌性ペプチドを合成する遺伝子発現が、後期初乳を投与しないマウスよりも明らかに高くなります。

すなわち、これらのことは、後期初乳標品を I 型アレルギーモデルマウスが経口的に摂取すると、それを摂取しなかったマウスと比べて、獲得液性免疫やアレルギー症状の発症が抑制され、自然免疫が促されることを示しています。

(2) 後期初乳標品のヒト花粉症と風邪に及ぼす影響

症状が軽度から中程度の花粉症患者 18 名が、花

粉飛散開始の 2 週間以上前から花粉飛散期間中、ウシ後期初乳標品を 1 日 1000 mg 経口的に摂取すると、摂取開始時と比べて、摂取開始 12 週間後のスギ花粉に特異的な IgE レベルが低下したという報告があります。その報告では、鼻腔内所見（下鼻甲介粘膜の腫脹・色調、水性分泌量、鼻汁の性状のスコア合計値）は、後期初乳標品摂取開始 4 週目では差がないが、8 週目では低くなるのが観察されています。さらに、花粉飛散中の花粉症症状が、後期初乳標品の摂取により軽減しました。

一方、3 歳から 9 歳児 196 名が、2 か月間後期初乳標品を 1 日 500mg 経口摂取すると、上気道感染症の発症回数、すなわち風邪の発症回数が、摂取しない場合よりも減少し、特に 3 歳から 6 歳児において顕著であったという報告があります。それらの幼児は、後期初乳標品の経口摂取により、風邪の罹患日数が顕著に短くなりました。

同様の現象は、30 歳から 65 歳の女性 59 名が 1 ヶ月間、後期初乳標品を毎日 1000mg 摂取した場合においても観察されています。すなわち、これらの報告は、マウスにおいて観察された後期初乳標品の経口摂取によるアレルギー症状の軽減や自然免疫の促進作用は、ヒトでも見られることを示しています。

今後、後期初乳標品のヒトの生体防御機能に関するより多くの臨床的結果が蓄積されることが望まれます。

城西大学薬学部 白瀧 義明 (SHIRATAKI Yoshiaki)

クリ *Castanea crenata* Siebold et Zucc. (ブナ科 Fagaceae)

連絡先：城西大学薬学部
shiratak@josai.ac.jp

暑かった夏が過ぎ、虫の音が耳に心地よく響く頃、味覚の秋がやってきます。クリ（栗）の原種は、シバグリ（柴栗）またはヤマグリ（山栗）とよばれ、200 種以上もある栽培品種の多くはシバグリが改良されたものです。大粒で有名なのはタンバグリ（丹波栗）*Castanea crenata* forma *gigantera* Makino で、天津甘栗で知られる渋皮の剥き易いのは中国産のアマグリ（甘栗）*C. mollissima* です。クリの語源には諸説ありますが、果実が黒褐色になることから「黒実」とよばれ、転じて「クリ」となったという説が有力です。クリは、北海道西南部、本州、四国、九州、および朝鮮半島南部の温帯下部から暖帯に広く分布する落葉樹で、とくに冷温帯のブナ林と暖温帯照葉樹林の中間地帯に多く自生し、この中間の植生帯をクリ帯とよぶことがあります。



写真1 クリ（樹皮）

す。クリは、雌雄同株の落葉高木で、高さ約 15 m、幹の直径は 80 cm になり、樹皮は暗灰褐色で厚く、老木の樹皮は縦長に深くて長い裂け目を生じ一年枝は赤褐色、無毛か少し毛が残ります。葉は互生で短い葉柄があり、葉身の長さは 8～15 cm、幅 3～4 cm の長楕円形か長楕円状披針形で先端は鋭く尖り、基部は円形からハート形、やや薄くてぱりぱりしています。葉の表は濃い緑色でつやがあり裏はやや色が薄くて細かい毛で覆われ、淡黄色の腺点が多数あります。葉縁には鋭く突き出した小さな鋸歯が並び、花は、6 月頃に開花し、全体にクリーム色を帯びた白色で花序は長さ 10～20 cm の紐のような穂状で斜めに立ち上がりながら先は垂れ花序の上部には多



写真2 クリ（雄花）



写真3 クリ（雌花）

数の雄花がつき、下部に2～3個の雌花がつきます。クリの雄花の匂いは独特で、すこし精臭を帯びた生臭さを持つのがあり、あたり一帯に特有のむせかえるようなにおいを漂わせます。ブナ科植物は普通、風媒花で花は地味なものが多いのですが、クリは虫媒花で、雄花の匂いをまき散らして昆虫をよびよせ、他花の花粉を運ばせます。一般に雌花は3個の子房を含み、受精した子房のみが肥大して果実となります。秋（9～10月頃）、実が茶色に成熟すると、いがのある殻斗^{かくと}が4分割に裂開して、中から堅い果実（堅果であり種子ではありません）が1～3個現れます。果実は単に「クリ（栗）」、または「クリノミ（栗の実）」とよばれ、普通は他のブナ科植物の果実であるドングリとは区別されます。人類史上、クリの実は、古くから食料として利用されてきましたが、食料だけでなく、建築材、木具材としても重要な樹木で、縄文時代の三内丸山遺跡の6本柱の巨大構造物の支柱にも利用されていました。栽培種のおオグリ（大栗）は、野生種から改良されたもので、石焼きにした甘栗、栗飯（栗ご飯）、栗おこわの具、茶碗蒸しの種、菓子類（栗きんとん、栗羊羹など）の材料に使われ、ヨーロッパでも焼き栗の他、マロングラッセ（マロングラッセに使われるクリの木：*C. sativa*）、モンブラン（ケーキ）や煮込み料理などに使用されます。

薬用としては、栗の実（種仁）は、リッシ（栗子）といい、民間では、食欲不振、下痢、足腰軟弱に良いそうです。樹皮には、タンニン、^{もつしよくしさん}没食子酸 gallic acid, エラグ酸 ellagic acid, ブドウ糖 glucose, 尿素, フラボノイドの quercetin などが含まれ、タンニンは腫れを引かせる消炎作用と細胞組織を引き締める収斂作用が期待されます。葉はリツヨウ（栗葉）といい、タンニン、フラボノール配糖体の hyperin (quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside) などが含まれ、ウルシかぶれ、毒虫刺され、ただれ、湿疹などに煎液で冷湿布する用法が知られ、また、浴湯料としても用いられます。口内炎、のどの腫れ、扁桃炎には煎液でうがいを



写真4 クリ（果実1）



写真5 クリ（果実2）



写真6 クリ（果実3）



写真7 天津甘栗

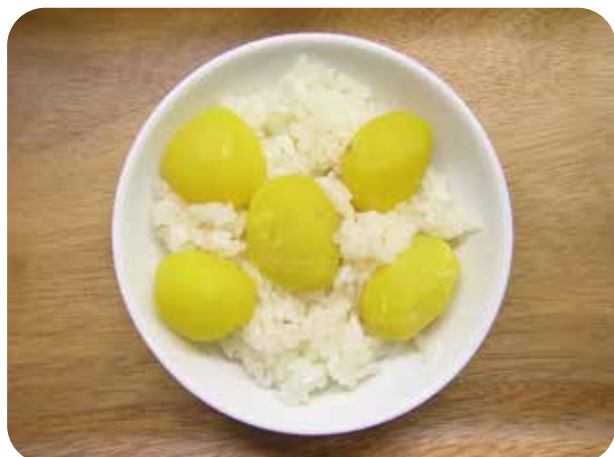


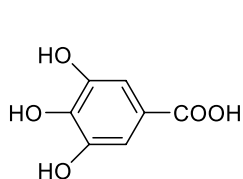
写真8 栗おこわ



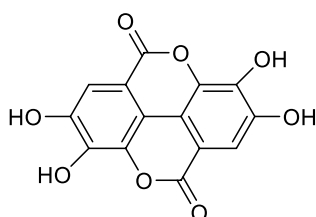
写真9 マロングラッセ

すると良いといわれています。いが（殻斗，総苞）はリツモウキュウ（栗毛毬）といい，タンニン，ピロガロール（焦性没食子酸）pyrogallolなどが含まれ，葉と同様の使用法が知られています。

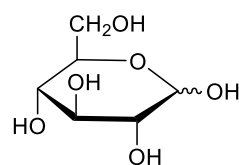
クリを口にする上での唯一の問題点は，何といたっても渋皮の剥皮が困難なことです。そこで，近年，渋皮剥皮性の優れた品種「ぼろたん」が育成され（2007年10月22日品種登録），埼玉県日高市では「ぼろたん」を特産品化しています。クリの材は，堅くて重く，腐りにくい性質から建物の柱や土台，鉄道線路の枕木，家具等の指物に使われます。また，成長が早く，よく燃えるので，細い丸太は薪木やシイタケ栽培のほだ木



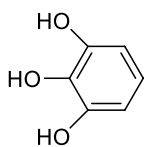
没食子酸 (gallic acid)



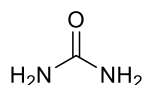
エラグ酸 (ellagic acid)



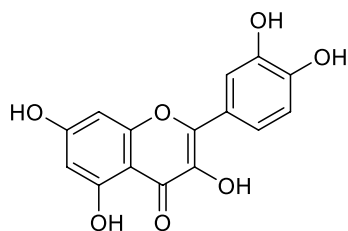
ブドウ糖
(D-glucopyranose)



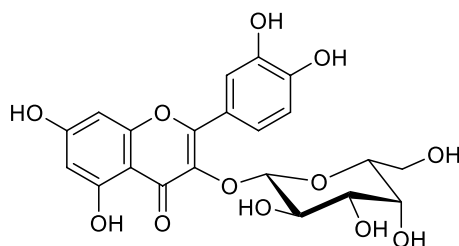
ピロガロール（焦性没食子酸）
(pyrogallol)



尿素 (urea)



quercetin



hyperin
(quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside)

図1 成分の構造式



写真 10 モンブラン（ケーキ）



写真 11 生葉 リツヨウ（栗葉）

として利用されます。クリは、かつては多くの品種が栽培されていましたが、昭和 20 年代、クリタマバチによる被害を受け、現在では、抵抗性のある「銀寄」などが主として栽培され、また、主産地でクリタマバチの天敵であるチュウゴクオナゴバチが放し飼いされたことにより被害は激減しました。収穫後は、クリシギゾウムシによる果実被害があります。以前は、主に臭化メチルによるくん蒸で防除がなされていましたが、温室効果ガス問題が浮上し、代わってヨウ化メチルが登録されました。しかし、ヨウ化メチルによるくん蒸も中止され、現在では、氷蔵処理法と温湯処理法で害虫駆除が行われています。

種を植えてから実が収穫できるまでの期間をあらわす諺に『桃栗 3 年、柿 8 年、柚子は 9 年の成り始め』や『桃栗 3 年、柿 8 年、柚子の大馬鹿 18 年』などがあります。

白石カルシウムの炭酸カルシウム

炭酸
カルシウム
とは？

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

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

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



肝臓病予防に一番よく効くコーヒーとは

東京薬科大学名誉教授 岡 希太郎

Key Words: 肝臓病の予防, 慢性肝臓病, レギュラーコーヒー, デカフェコーヒー, インスタントコーヒー

前世紀から続いた「コーヒーと健康」の疫学研究で、最も信頼できるエビデンスは、毎日飲む2-3杯のコーヒーが、慢性肝炎、アルコール性肝炎、脂肪肝、NASH（非アルコール性脂肪肝）、肝硬変、肝細胞がんなど、肝臓病を幅広く予防することです。では、どんなコーヒーが一番効果的かというと、そのエビデンスはほとんどなく、「とりあえず身近にあるコーヒーを飲みましょう」と言うくらいに留まっています。

●疫学研究でコーヒーと言えば、どんなコーヒーでもコーヒーなのです

これまでの原著論文を読むと、レギュラーとインスタントの区別、およびカフェイン入りとデカフェの区別ぐらいしかありませんでした。イタリア人が飲むカプチーノや、フランス人が飲むカフェオレを飲む人を、レギュラーのブラックを飲む人と区別して調査しているかどうかは判りません。エスプレッソを区別した論文ほんの数編しかありません。更には、砂糖やミルクを加えて飲む人と、ブラックを飲む人が区別されているかということ、そうでもなさそうです。

まとめると、「コーヒーと健康」の疫学研究では、飲んでいるコーヒーの種類を問題にすることは稀で、とりあえず「コーヒーを飲んでいる人」と「コーヒーを飲んでいない人」の区別しかなかったのです。これではあまりにも乱暴ですが、これを明確に区別しようとしても、「区別できない」ことにすぐに気づくのです。何故なら、5年10年もの間、ずっと変わらず厳密にある種類のコーヒーだけを飲んでいる人はごく少数派だからです。

●どんなコーヒーが最も確かに肝臓病を予防するのか？

この難問に取り組んだのは、英国サウサンプトン大学の研究チームです¹⁾。彼らはまず、英国バイオバンクに登録しているコーヒーを飲む384,818人と、飲まない109,767人を抽出しました。この中から慢性肝炎（CLD）3,600人の群を設け、この群に脂肪肝を加えた5,439人の群を別途に設けました。さらに肝細胞がん（HCC）の184人の群と、最後にCLDが原因で死亡した301人の群を分類しました。こうして全部で4群の肝臓病患者を層別したのです。

次に、飲んでいるコーヒーの種類を4つに分けました。デカフェ群、インスタントコーヒー群、エスプレッソを含めたレギュラー群、および全部合わせた全てのコーヒー群の4つです。そして、患者群とコーヒー群

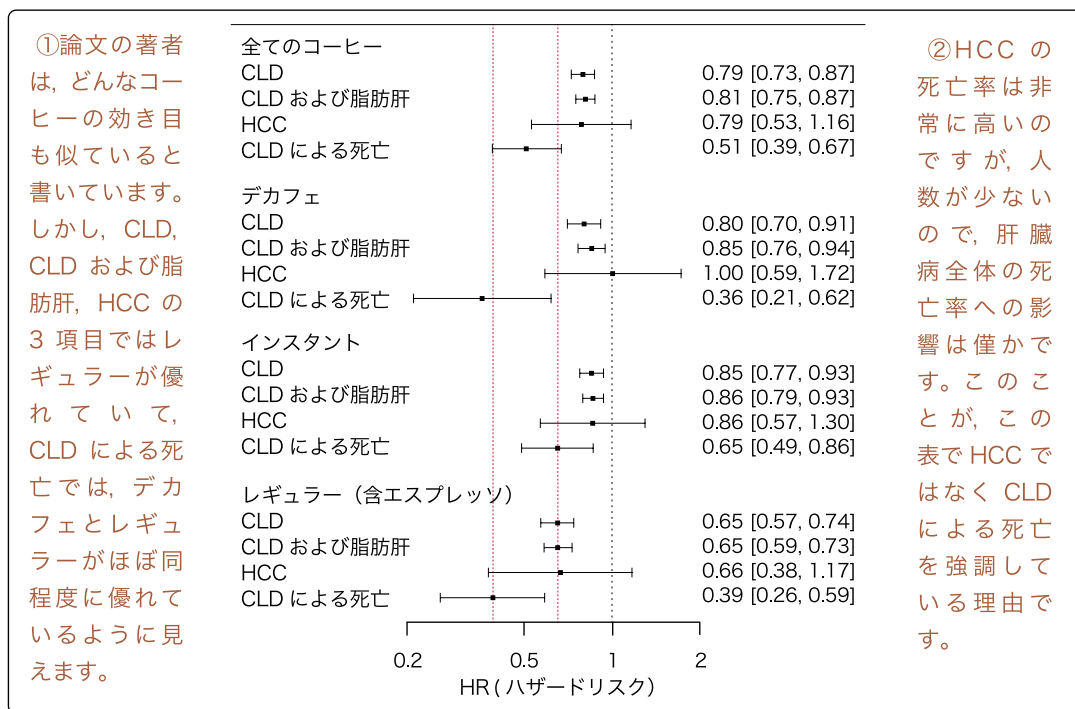


図1 肝臓病を予防するコーヒーの種類とは

の組み合わせを調べたのです。結果を図1にまとめて示します。

先ず強調して指摘しておくことは、この論文の表題“All coffee types decrease the risk of adverse clinical outcomes in chronic liver disease: a UK Biobank study”にあるように、どんなコーヒーであろうとも、コーヒーを飲みさえすれば慢性肝炎（CLD）による死亡リスクは下がるということです。図をよく見ると、インスタントコーヒーでのリスクの下がり方は、デカフェやレギュラーに比べて少ないように見えますが、データの幅には重なる部分があって、統計計算してみると p 値 $\leq 5\%$ の有意差は無いのです。

では、慢性肝炎（CLD）に罹るリスクを比べてみて下さい。どのコーヒーでもデータの幅が狭いので、レギュラーコーヒーによるリスク低下が、他のコーヒーに比べて大きいことが期待されますが、実際に誤差の幅に重なりが無いので、統計学的にもレギュラーが優れているという結果です。CLD に脂肪肝を加えても数値はほとんど動きません。

以上をまとめると、慢性肝炎や脂肪肝の予防にとっては、レギュラーコーヒーが優れているが、死亡リスクで見るとどのコーヒーでも差は見られないということになります。その他、若干の説明を図中キャプション①と②に追記しました。

最後に日本人の肝臓病について触れておきます。日本の人間ドックデータによれば、日本人の3人に1人が脂肪肝で、死亡率は健常者の2倍ということです。早いうちからリスクを軽減するために、生活習慣の改善が大事であると指摘されていますが、筆者がお勧めしたい生活習慣は、毎日欠かさずコーヒーを飲むことです。飲むコーヒーの種類としては、ドリップ式で淹れたレギュラーコーヒーを、砂糖やミルクを入れないブラックで飲むのが一番だと思っています。

後悔は先に立たず・・・知識は力と心得て、体にあった美味しいコーヒーを探してみても如何でしょうか？

参考文献

1. Kennedy OJ, Fallowfield JA, Poole R, *et al.*: All coffee types decrease the risk of adverse clinical outcomes in chronic liver disease: a UK Biobank study. *BMJ Public Health*. 21: 970, 2021.

希太郎ブレンド® Kitaroblend ー美と若さー

コーヒーは「百薬の王」

希太郎ブレンド® は 1 杯のコーヒーに秘められたコーヒーパワーを解明し、珈琲博士：岡 希太郎氏がブレンド法特許に基づいて「クロロゲン酸」と「ニコチン酸」を多く含んだブレンドを創作し製品化しました。

銀色パッケージの浅煎り豆は、「クロロゲン酸」が多く含まれ「美（肌への紫外線をカット）」を追求しています。

茶色のパッケージの深煎り豆は、ビタミンB₃「ニコチン酸」が多く含まれ「若さ」を追求しアンチエイジングが期待されます。

（改質コーヒー製造法：日本特許 4771063, 4771064）（商標番号 6252103）



● 創作ブレンドは 2 種類をご用意

浅煎り・深煎りの割合により「香り」「コク」「栄養成分」を自分好みに楽しむことができます。

美を追求したいという方には・・・

爽やかな香りと酸味が楽しめる「浅煎り 6：深煎り 4」がオススメです。

若さを追求したいという方には・・・

深いコクと香りが楽しめる「浅煎り 3：深煎り 7」がオススメです。

希太郎ブレンド® はフレイルにも配慮したブレンドです。

● 美味しいコーヒーの淹れ方

二人分：20g 程度の豆を中挽きし、セットしたフィルターに挽いたコーヒーを入れ、コーヒーを蒸らすために少量の熱湯（30cc 程度）を中心から外側に静かにドリッパーに注ぎ、20～30 秒ほどコーヒーを蒸らします。その後、熱湯を粉の中心から外側へゆっくりと「のの字」を書くように注ぎ、外側まで行ったあと今度は中心に向けて静かに戻ります。細かな泡（コーヒーの灰汁）が立ち上がり、その泡がドリッパーに残るようにすると円やかでコクのあるコーヒーが抽出されます。

お申し込みは下記サイトから

<https://iyakukeizai.com/page/kitaroblendproduct>

【販売元】 プルミエ 〒275-0026 千葉県習志野谷津 5-4-7 ファースト谷津ハイツ 1-101



伝える心・伝えられたもの

—顕微鏡に出会う—

宮尾 茂雄

(東京家政大学)

2019年12月に確認された新型コロナウイルスによる感染症は、瞬く間に世界中に広がり、全世界の感染者数は1億7743万人を超えた(朝日新聞2021年6月19日:世界の新型コロナ感染者(18日午後5時現在))。ウイルスの電子顕微鏡像は広く人々の心にきざまれている(図1)。感染症の病因である微生物の姿を知ることができたのは、今からおよそ150年前、1876年のコッホ(1843~1910年)による炭疽菌(*Bacillus anthracis*)の発見が最初だった。論文には分離した炭疽菌の顕微鏡による観察図と写真が掲載されている(1871年)。

大学で発酵関係の研究室に入室して以来50年余り、私と顕微鏡との付き合いは長い。当初は単眼の顕微鏡で片目をつぶるようにして観察していたが、双眼顕微鏡になり、両目を使うことで一気に視野が広がった驚きを覚えている。顕微鏡への愛着もあり、今回は江戸時代から明治の初め頃、顕微鏡と出会った人々の物語をふりかえってみたいと思う。

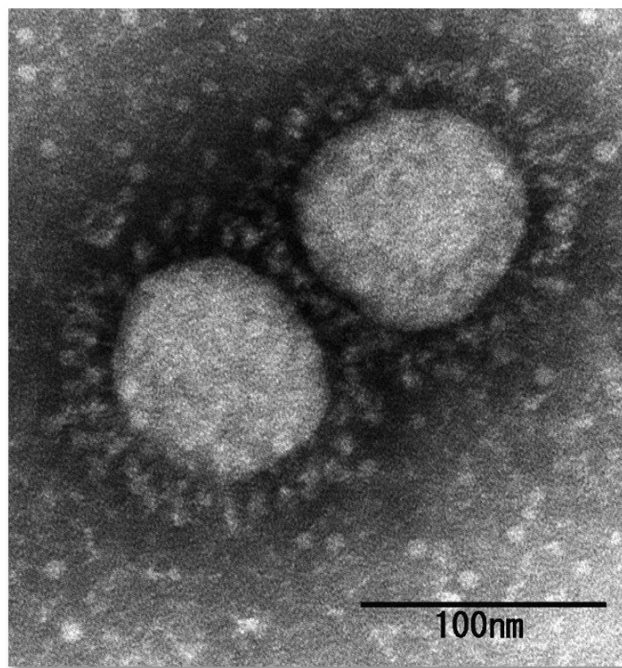


図1 新型コロナウイルス粒子(国立感染症研究所HP:感染性の増加が懸念されるSARS-CoV-2新規変異株VOC-202012/01の分離に成功(2021.1.04)より)

顕微鏡の誕生、どんなものを見ていたのか？

顕微鏡はいつ頃発明されたのだろうか。これには諸説あり、16世紀末にオランダの眼鏡職人(ハンス・ヤンセン、息子のザッハリアス・ヤンセン)による、あるいはガリレオが望遠鏡を改造した顕微鏡で、微小動物の運動器官や感覚器官を観察していたとも伝えられている。

顕微鏡の発明者としては、コルク片を顕微鏡で観察し、小さな区画を[cell](細胞)と名付けたイギリスのフック(1635~1703年)と1660年代後半に登場するオランダの毛織物商人レーウエンフック(1632~1723年)の二人が有名である。レーウエンフックは、虫眼鏡(拡大鏡)と同じレンズ一つの単式顕微鏡を使って、身の回りにあるマイクロワールドを観察し、1676年にイギリスの雑誌に「水中の非常に小さな生きもの、微生物の観察記録」という論文を発表した¹⁾。彼の顕微鏡の精度は極めて高く、倍率は270倍といわれている。レーウエンフックは人の歯垢中の「細菌」や「ビール酵母」などを顕微鏡で観察し、スケッチに残している。しかしそれがどのような役割(働き)をしているのか、関連性を見出さなかった¹⁾。顕微鏡の発明から200年、顕微鏡は人の目では直接見えない微小で不思議な世界へといざなう「魔法ののぞき目鏡」であり、富裕階級や王侯貴族、貴婦人に愛用され、華麗な模様が施されたものもあった。

「小さな生きもの、酵母」とアルコール発酵の関係に気づいたのは、19世紀後半の化学者パスツール(1843

～1910年)である²⁾。当時フランスではナポレオン戦争による海上封鎖で、ショ糖が輸入できず、甜菜(テンサイ)の栽培が奨励されていた。パスツールは1856年に甜菜糖の糖蜜を原料にアルコールを製造する研究に取りかかる。当時、彼の研究室は顕微鏡と恒温器が1台だけであった²⁾。

国産最古の顕微鏡

日本に顕微鏡が伝わったのは1750年代(宝暦年間1751～1763年)頃とされている^{3,4)}。医師であり本草家(博物学者)の後藤梨春(元禄9(1696)～明和8(1771)年)は『紅毛談』(明和2(1765)年刊)という海外事情を紹介する書物の中で、顕微鏡を初めて紹介している。「かけ目がね」、「千里(とを)目鏡」、「近目めがね」など「目がね類」の中に、「近年虫目がねに甚珍敷を持来れり。小蜘蛛のあしを見けるに、二三歳の小児のひじほどに見えたり、また人髪を入れ見けるに、ふとさ母指ほどに見せ、人髪もつねには節見えざるが、是にて見れば竹のふしのごとくこまかにふしあり(略)」とある⁵⁾。残念ながら虫目がねの挿絵はない。同じ頃、大分安岐の医師で思想家の三浦梅園(享保8(1723)～寛政元(1789)年)は長崎遊学中に、阿蘭陀譯詞(通詞)吉雄耕牛から見微鏡をみせてもらう。『帰山録草稿』(安永7(1778)年刊)には「見微鏡、むしめがね之、是にてみるに、人の毛はひらみ有り、小児の髪毛は中すく、けだものの毛まるし、とうしきみの切口は(スケッチあり、省略)かくのごとし(略)」などの記述がある^{4,6,7)}。梅園は顕微鏡に大変興味をもち、のちに木製の和製顕微鏡を長崎から送ってもらった。これは、今も国東市三浦梅園資料館に残されている。

大坂で造り酒屋を営む商人、木村兼葭堂(元文元(1736)～享和2(1802)年)は舶来品のコレクターで顕微鏡を所有していた。それをもとに親交のあった服部永錫が顕微鏡を製作し、中井履軒が構造や鏡検の結果を『顕微鏡記』(天明元(1781)年刊)にまとめたとされているが、その顕微鏡は現存していない⁴⁾。

国産最古といわれる顕微鏡は、天明元年に大坂の小林規右衛門が製作した木製顕微鏡で、京都の島津製作所創業記念資料館(写真1)に保管されている(写真2)。パネル解説には、顕微鏡の裏に「小林」と名前が入っているそう(写真3)。顕微鏡見様(使用説明書)によると(写真4)、物体と接眼レンズの距離を調整(上下)してピントを合わせる。対物レンズ(に相当するもの)は3種類(写真5)、対物レンズを交換して、芥子粒、胡麻粒、木綿、絹、毛髪などを見ていた。水、酢や酒などの液体を見るための容器もある。鏡筒には装飾があり、なかなかオシャレなデザインだ。18世紀にイギリスのカルペパー(1670?～1738年)が考案した「カルペパー型顕微鏡」をまねて製作されたものだが、もととなったイギリス製カルペパー型顕微鏡についての詳細は分からない。資料館の顕微鏡は、国東市三浦梅園資料館の顕微鏡、森島中良著『紅毛雑話』(天明7(1787)年刊)の顕微鏡「ニコラスコーピュン」に類似しているというより、ほぼ同じ型式と思われる(図2)。『紅毛雑話』の顕微鏡の銅版画を描いたのは司馬江漢である。



写真1 島津製作所創業記念資料館の外観



写真2 国産最古の木製顕微鏡
(島津製作所創業記念資料館所蔵)



写真3 同顕微鏡のキャプション (同上)



写真4 同顕微鏡の取扱説明書 (同上)



写真5 交換用のレンズなど付属品 (同上)

司馬江漢と「ミコラスコーピュン」

司馬江漢(延享4(1747)～文政元(1818)年)は、江戸時代の絵師、日本で最初の銅版画家、蘭学者である(図3)。翻訳された洋書を読み、たくさんの科学知識を得ていた。江漢が著した科学書の一つ、『和蘭天説』(寛政8(1796)年刊)の中には、「西洋(ヲランタ)ノ人(ヒト)、眼(マナコ)ヲ解(トキ)キ、其天巧ヲ法(ノット)リ、眼鏡(メガネ)或ハ望遠鏡(トウメカネ)顕微鏡(ムシメカネ)ノ類(ルイ)を製ス」⁸⁾とあり、ヨーロッパの望遠鏡や顕微鏡を知っていたことが分かる。

顕微鏡による観察図も残されている。『天球図・天



図2 「紅毛雑話巻三」『ミコラスコーピユン之図』, 森島中良:紅毛雑話5巻, 出版者 河内屋仁助他, 国立国会図書館デジタルコレクション, インターネット公開



図3 司馬江漢 70 歳頃の自画像, 司馬江漢著:刻白爾天文図解(上), 文化5 (1808) 年刊, [出版者不明], 国立公文書館デジタルアーカイブ, インターネット公開



図4 「小虫ノ二図」の説明文 (一部): A 蟻 (アリ), B ハハハ (ブヨ), C ハ茶タテ虫, D ハ車前子 (シャセンシ) ノ実, E ハ胡麻 (ゴマ), I ハ粟 (アワ), 2 ハ芥子 (ケシ), 3 ハ紫蘇 (シソ) ノ実 (7), 中井宗太郎:司馬江漢, アトリエ社 (昭和 17 年), 国立国会図書館デジタルコレクション, インターネット公開

球全図』(寛政 8 (1796) 年刊) には「天球図表裏」や「以顕微鏡観雪花図」などにまじって銅版筆彩の「小虫ノ二図」が掲載されている (図 4)。

「顕微鏡 (ムシメカネ) フ以チ小虫ヲ観ルニ図ノ如シ, 耳目 (ジモク) ノ心ト通ジ, 筋骨 (キンコツ) フ動シ, 或ハ楽 (タノシ) ミ或ハ懼 (ヲソル) ルノ情 (シャウ), 真ニ人ニ異 (コトナ) ルコトナシ, 感ズベシ」とある⁸⁾。

「胡麻, 粟, 芥子」の図案を江漢は気に入っていたのか, 天明 7 (1787) 年の大小絵暦の中に, 「虫眼鏡拡大図」として米, 水引の花などとともに描いている (図 5)。こちらは彩



図5 虫眼鏡拡大図 (大小絵暦より): 北尾紅翠斎著, 絵師歌川豊春, 司馬江漢など, 『恵余見』(大小絵暦), [出版者不明], [江戸中期 - 後期], 国立国会図書館デジタルコレクション, インターネット公開

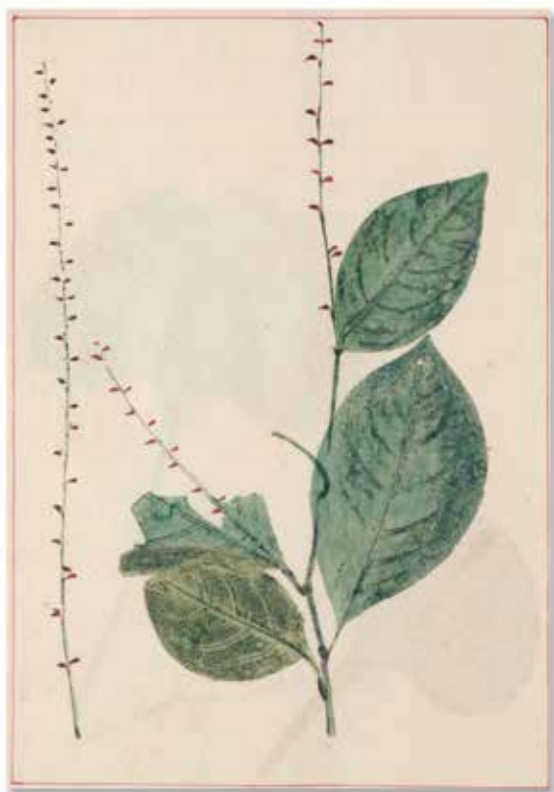


図6 水引草:宇田川榕庵著写生図(写),[出版年月日不明],国立国会図書館デジタルコレクション,インターネット公開

色絵本木版で「米, 粟, 胡麻, 芥子, 水引の花を配す。至て小なる物を虫目かね二て大きく見たる図なり」とある⁹⁾。水引草は夏から秋の庭を彩る植物である(図6)。花は1~2mm足らずで, 今までじっくり眺めたことはない。江漢のスケッチにあるような花か, この秋には虫眼鏡でじっくり確かめたいと思う。

桂川甫周と森島中良兄弟の顕微鏡

江戸時代, ヨーロッパでただ一国, 日本との通商をゆるされていたオランダは, 長崎港の出島に商館をおいていた。オランダ商館長(カピタン)と医官や通訳を含む一行は, 年1回(寛政2(1790)年からは4年に1回)将軍への拝謁, 拝礼と献上品贈答などのために長崎と江戸を往復した。オランダ商館長は長崎屋(日本橋本石町3丁目, 現在の日本橋室町4丁目4-10)を江戸の定宿としていた。

享保元(1716)年, 徳川吉宗(貞享元年(1684)~寛延4(1751)年)が江戸幕府8代将軍になると, 海外の事情や蘭学への関心も高まる。享保9(1724)年には, 御典医を勤める蘭方医(オランダ流外科医)桂川甫筑^{ほちく}の働きかけなどにより, 「長崎屋」に出向いて, オランダ人と対談することが許されるようになった¹⁰⁾。

森島中良^{ちゅうりょう}(宝暦4(1754)~文化7(1810)年)は, 医師で戯作者, 兄は御典医を勤める蘭方医桂川甫周^{ほしゅうくにあきら}国瑞(桂川家4代, 宝暦元(1751)~文化6(1809)年)である。中良と甫周は平賀源内(享保13(1728)~安永8年(1779)年)とも親交があり, 今に伝えられている平賀源内の肖像画(図7)は甫周あるいは, 森島中良が描いたものと伝えられている。当時の長崎屋にはオランダ人から医学や科学の最新知識や海外事情を学ぶため, 多くの蘭学者や医師などが訪れていた(図8)。『紅毛雑話』は, オランダの歴史や風土, 海路や顕微鏡の話などオランダ人との聞き書きを中心に, 中良がまとめたものだ。以下のような記述がある。

「近頃舶来(もちわたる)「ミコラスコーピウム」といふ顕微鏡(むしめがね)あり(図2)。形チ図ノ如し。種々のものをうつし見るに, その微細なる事凡慮(ぼんりょ)の外なし。(略)予伯氏(森島中良の実兄, 桂川甫周)と俱見たる中に, 虱(しらみ)の古く成りたるが, 脇腹(そばはら)やぶれて鰭(うろ)の骨の如き肋(あばら)骨あらはれ, 腐爛れ(くされただれ)たる腸(はらわた)に, 茶たて虫の如き蛆(うじ)たかりたる。



図7 平賀源内肖像:徳齋原義正道:先哲像傳(全7冊)うち第4冊(写本),[出版者不明],[出版年月日不明]。国立国会図書館デジタルコレクション,インターネット公開



図8 阿蘭陀人定宿日本橋「長崎屋」:狂歌東遊, 画工北斎, 葛屋重三郎刊, 寛政11(1799)年, 国立国会図書館デジタルコレクション, インターネット公開。町民も興味津々で内の様子をのぞいている。

目鏡をはづして見ればいささか色のかはりたるように見ゆれども肋ばねも蛆も見えず。誠に希代(きだい)の珍器なり。(略) 司馬江漢「ミコラスコーピユン」にて見たる所のものを, 尽く画(えがき)て家に蔵む。其一二図をもとめて左に出す, 説(とく)所の荒唐(いつはり)ならざるは, 此器を見たる人知るべし」¹⁰⁾。

兄の甫周と顕微鏡を覗いていた中良は, 顕微鏡が教えるミクロの世界について, 顕微鏡を覗いたことのない人には, 描かれた絵図をみただけでは, とても信じられないだろうと述べている(図9, 10)。

ただしこの「昆虫図」のすべてを江漢が描いたのではない。オランダの生物学者, 比較解剖学者ヤン・スワンメルダム(1637～1680年)の『Biblia naturae, sive Historia Insectorum, Utrecht(1669年刊)』(『自然の聖書』の中の『昆虫の自然誌』)からの模写が含まれている。

同書は平賀源内が明和4(1767)年に購入し, 『紅毛虫譜』と呼んでいたもので, 友人の江漢も目にしていただろう⁸⁾。一例として『紅毛雑話』の蚊の図(図11)は, 『紅毛虫譜』の挿絵とよく似ているようだ。つまり, かなり精巧な図の転写(銅版)であり, 江漢の技量の確かさが分かる。当時は, 今のコピー機のような



図9 米, 胡麻, 粟など。「紅毛雑話巻三」より(図2と同) 国立国会図書館デジタルコレクション, インターネット公開

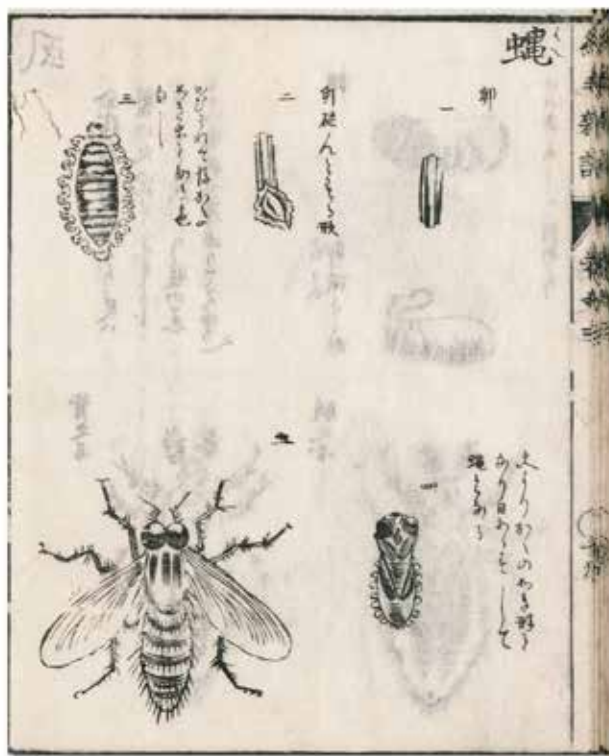


図10 蚊, 卵, 卵から羽化する様子が段階的に描かれている。「紅毛雑話巻三」より(図2と同) 国立国会図書館デジタルコレクション, インターネット公開

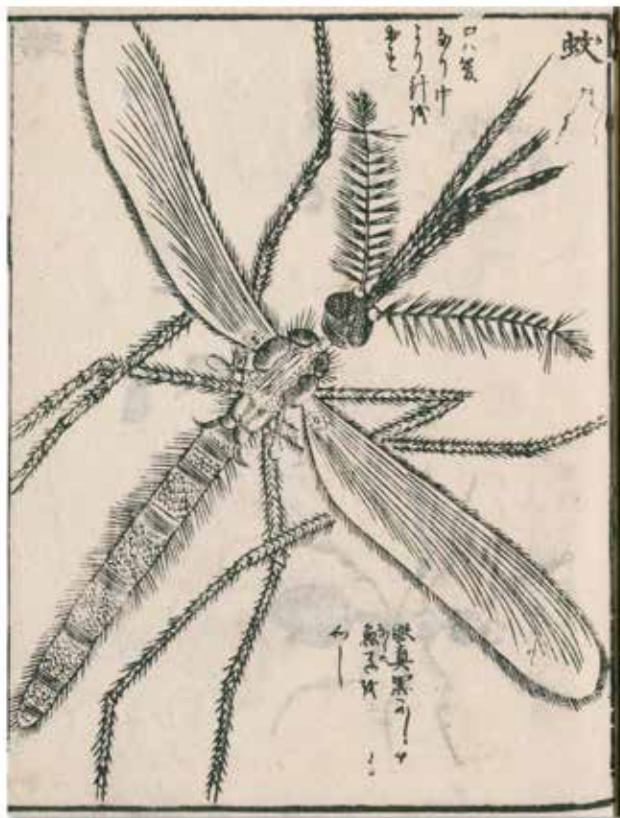


図 11 蚊の図。「紅毛雑話巻三」より（図 2 と同）国立国会図書館デジタルコレクション、インターネット公開

便利なものはない。貴重な書物などは挿絵ごとと忠実に写本（転写）する必要があった。

「ミコラスコーピュン」（顕微鏡）は甫周の所有といわれている^{11,12)}。これは、オランダ人を通して入手した舶来品（イギリス製）なのか、小林規右衛門などの製作した国産品の、どちらなのだろうか。

甫周、将軍に顕微鏡の講義をする

甫周は顕微鏡を医学に用い、享保 2（1802）年、徳川家斉（第 11 代将軍、安永 2（1773）～天保 2（1841）年）に顕微鏡用法を言上し、命により使用マニュアル「顕微鏡用法（1802 年刊）」を著したといわれている^{3, 11, 12, 13)}。しかし残念ながらこの書物は現存していない。当時、蘭方医たちが医療にも顕微鏡を用いていたのかは不明である¹⁴⁾。顕微鏡はオランダ語を訳した「ミコラスコーピュン」（ラテン語 *microscopium* に由来）、「阿蘭陀眼鏡」、「虫眼鏡」などと呼ばれたが、甫周の使いだした「顕微鏡」という名称が定着したとされている¹¹⁾。なお「顕微鏡」の造語は中国翁山屈大均の『廣東新語』（1700 年）に初出という¹⁵⁾。



図 12 顕微鏡「ミテレスコップ顕微鏡（むしめがね）諸厄利亜（イギリス、江戸時代エゲレス、アンゲリアなどと呼ぶ）の製なり」との説明文あり。「北槎聞略」彩色写生図より：国立公文書館デジタルアーカイブズ。（原図、国立公文書館所蔵）。

大黒屋光大夫とイギリス製顕微鏡

天明2年(1782)、伊勢国の船頭大黒屋光大夫(宝暦元(1751)～文政11(1828)年)、は31歳の時、江戸に向かって出帆したのち、駿河沖で遭難し、漂流の後、ロシアに渡り、サンクトペテルブルクを訪れてロシアの女帝エカテリーナ2世にも謁見した。その後、寛政4年(1792)に帰国(北海道根室に到着)した。翌年江戸に戻り、幕府の厳しい取り調べを受けた。幕府の命を受けた桂川甫周は、ロシアでの体験を聴取し、ロシア・シベリアの地誌・見聞録として書12巻と彩色写生図2巻の『北槎聞略』(寛政6(1794)年)にまとめた¹³⁾。

彩色写生図にはエカテリーナ2世の肖像を描いた掛版、鎖付の装飾性豊かな懐中時計や顕微鏡一式(イギリス製、ミテレスコップと表記、付随のレンズ、集光器、ガラスの小試験管などの小道具類、顕微鏡を納める外箱)(図12)、ロシア船等が精密に描かれている。これらの品々は、日本との交易を望んでいたロシア側からの土産であり、顕微鏡は高価なものと思われる。何故顕微鏡を持ち帰ったのか、理由は分からない。光太夫の顕微鏡はその後、どうなったのだろうか。甫周にはその価値は分かっていたと思うが、幕府に没収され、そのまま行方不明になったのだろうか。

尾張、大須の見世物「フランダ渡りのそき目鏡見する」

江戸時代の顕微鏡は、医者、本草学者などに珍重されたばかりでなく、今まで知らなかった微細な世界の魅力を人々に広めることになった。庶民向けの「顕微鏡興行」が路傍の縁日で行われ、誰でも見ることができた¹⁴⁾。江戸時代、尾張の大須^{おおす}(現在の名古屋市中区大須周辺)周辺には多数の寺社が集められ、参詣者などを相手に見世物興行が開かれていた。1800年代の見世物を記録した小寺玉晃^{こでらぎよくちやう}(寛政12(1800)～明治11(1878)年)の『見世物雑志』(文政11(1828)年刊)によると、歌舞伎、講談などとともに「珍品諸見世物」、からくり、ビイドロ細工などの興行があった。江戸時代には入場料をとって見せる芸能は、いずれも「見世物」とよんだ。興行は、「おらんだ目鏡(図13)にて諸虫をみする。のミ、虱、しゃくし、^{くも}蚊、皆々手のひら程つゝニ見え、至ておそろしき物也」とあり、入場料は1人16文だった¹⁶⁾。挿絵には「カルペパー型顕微鏡」が描かれており、科学的な好奇心というよりも、ミクロの世界を面白半分、興味半分、恐々と庶民が覗いていたものと思われる。



図13 顕微鏡興行:小寺玉晃 著「見世物雑志」(文政11(1828)年刊)より、早稲田大学図書館所蔵

シーボルトからの贈り物

オランダ使節団から幕府関係者への贈り物の中で、顕微鏡は上位を占めていた。蘭方医、本草家宇田川榕庵は、長崎商館の医師、シーボルト(1796～1866年、ドイツの医者、1823年に来日後、長崎鳴滝で西洋医学や科学を教える)から、植物学研究への協力のお礼としてオランダ製グライヘン型組立顕微鏡を贈られた⁴⁾。今まで登場した木製のカルペパー型顕微鏡に比べると、真鍮製でありスタイルも現在のものに近づいたように思う。この顕微鏡はハゼやムクなどの植物切片とともに、早稲田大学図書館に保管されている(図14)。

榕庵は日本初の西欧植物学書、『植物啓原』(天保4(1833)年)を出版している。この中には花粉の顕微鏡図なども載っている(図15)。



図 14 伝宇田川榕庵使用顕微鏡，真鍮製，早稲田大学図書館所蔵貴重資料，早稲田大学図書館提供

19世紀半ばになると対物レンズ，集光器，双眼鏡筒など顕微鏡の改良も進み，自然科学の需要に応えるものがドイツやイギリスで造られるようになった³⁾。ヨーロッパでは医学分野における顕微鏡と顕微鏡写真の利用，微生物の培養技術の進歩などにより伝染病の原因である細菌が次々に発見された。

日本でも明治時代になると，西洋文明の導入が一気に始まった。明治20（1887）年頃にはライツ，ツアイス，ライヘルトなどの高性能顕微鏡が盛んに輸入されるようになり，やがて国産の顕微鏡の製作も始まった³⁾。

麹菌を発見したヘルマン・アールブルグ

パスツールが酵母の働きとアルコール発酵について「アルコール発酵に関する報告」を発表したのは1860年である²⁾。酒造りなどに使われる種麹の正体，麹菌（*Aspergillus oryzae*）は，明治9（1876）年，ドイツ人の東京大学医学部御雇博物学教師ヘルマン・アールブルグ（1850～1878年）が顕微鏡で発見した¹⁷⁾。彼が急逝したため，明治11（1878）年に友人のオスカル・コルシェルトと東京大学医学部助教松原新之助により発表され¹⁶⁾，「ユーロテルム・オリゼー・アールブルグ *Eurotium oryzae* AHLBURG」（のちに，「アスペルギルス・オリゼー（アールブルグ）コーン *Aspergillus oryzae* (AHLBURG) COHN」と改名）と命名された。

論文によると，

「米粒に生シテ之ヲ麹トナス所ノ黴種ハ白色ニシテ厚層ヲナシ畢（コトゴト）ク其麹上ニ遍布（ショクフ）スルニ非ラス往々適宜ノ点ニ群生ス其体深ク米粒中ニ侵入シ（略）此黴種ハ米粒ニノミ生シテ他体ニ生セス（略）」¹⁸⁾

麹を作るのは水を含む米粒（飯粒）に発育する「黴種」の働きであり，これまで「種麹」とか「もやし」といつていたものは，「アスペルギルス・オリゼー」（麹黴菌）であることが分かった。「麹菌」と日本語で表記されたのは明治28（1895）年矢木久太郎著『日本酒醸造法（東京博文館）』といわれている¹⁷⁾。



図 15 花粉の顕微鏡図。ヨーロッパの植物書を模写したものと伝えられる。宇田川榕庵著植学啓原図1巻19図より。出版者 須原屋伊八，[出版年月日不明]，国立国会図書館デジタルコレクション，インターネット公開

「酒造のともしび 釀海拾玉」の誕生

今回、顕微鏡にまつわる様々な人物が登場したが、最後は関五郎松氏（後に岸五郎と改名）である。彼は現在の新潟県新発田市三日市で代々米屋を営む商家に明治元（1868）年12月に誕生した¹⁹⁾。

明治25（1892）年7月に蔵前にあった東京工業高等学校（現東京工業大学）応用科学科を卒業した。科学的酒醸造に興味をもっていた五郎松は勉学中、従来の酒造りから脱却した学理的な醸造法に関心がある長岡の酒造家山崎又七氏の援助を受けていた。

しかし学理的醸造法について学校では教えず、参考書もなかったために、上野図書館で『パスツールの発酵論』などを写本したと伝えられている¹⁹⁾。

明治26（1893）年夏には、農科大学助教授の古在由来を訪ねて、2週間ほど顕微鏡の使用法、酵母の純粹培養法など細菌学的な指導を受けた^{19,20)}。これが顕微鏡との最初の出会いだったかもしれない。明治26年冬には、埼玉県久喜町荒井伊兵衛酒造で実際の日本酒造りを学んだ。

明治27（1894）年、長岡の山崎酒造場での研鑽中、酒造場本蔵が長岡で発生した大火災で類焼し焼け出される。新しい研究室ができるまでの3か月間、店番をしながら『釀海拾玉酒造のともしび』²¹⁾を執筆し、明治27年9月に出版した。関五郎松氏26歳のことである。これは杜氏の勘に頼っていた酒造りを科学的見地から説いた酒造り教本で、日本酒造りに関する疑問点とその答えという問答体（今でいう「Q and A」形式）で構成されているので、分かり易くなっている。明治29年秋、灘の菊正宗酒造などを見学し、明治30年には新潟県古志郡石坂村で自分自身の酒蔵「岸五郎酒造場」を創業した。

『釀海拾玉 酒造のともしび』の種麴と顕微鏡用法

『釀海拾玉 酒造のともしび』²¹⁾の冒頭には、

「醸造は一つの活劇場なり、其千変万化必ず究極する所なかるべし（現代漢字表記に変更）。」とある。執筆にあたってパスツール、ロスコーなどの研究報告書その他各種の雑誌より学説を抜粋し、引用には人名を明記している。また友人である高野醇治、荒井伊兵衛から貴重な知識や経験などの教えをうけたとある（其実験説を寄贈）。以下本文の一部を引用する。

第38問「種麴とは何ぞや」という問いに対して、
答

「種麴（たねこうじ）」とは一種の黴菌（ばいきん）か蒸米の上に生したるものにして科学上之を「スペルギルス、ヲリジー（原文のまま）」と云う此黴菌は膠変澱粉（むしたるでんぷん）を変して糖分となすの力を有し好んで蒸米の上に発生し酸素炭素窒素及其他の食物によりて生活す若し澱粉の上に発生する時は炭素を澱粉より取るか故に澱粉は其組織を変して糖分となるなり即ち種麴は読んで字の如く麴の種となるべき者を得んか為めに此黴菌の最も好んで蕃殖（はんしょく）する蒸米の上に養育したる者なり（略）」「悪しき種菌は往々不要の黴菌を含む事あり若し此不要の黴菌多くして必要のもの少なき時或いは麴黴菌の発育不十分なれば種麴としての働きを十分に成し遂ぐる能はず故に其結果は腐敗を醸す事なしとも計られず（略）」

第43問「顕微鏡にて種麴の良否を検する法」では、

善良なる「麴黴菌」を見分けるには、顕微鏡による観察が大切であると述べている（図16）。麴黴菌の観察標本を作製

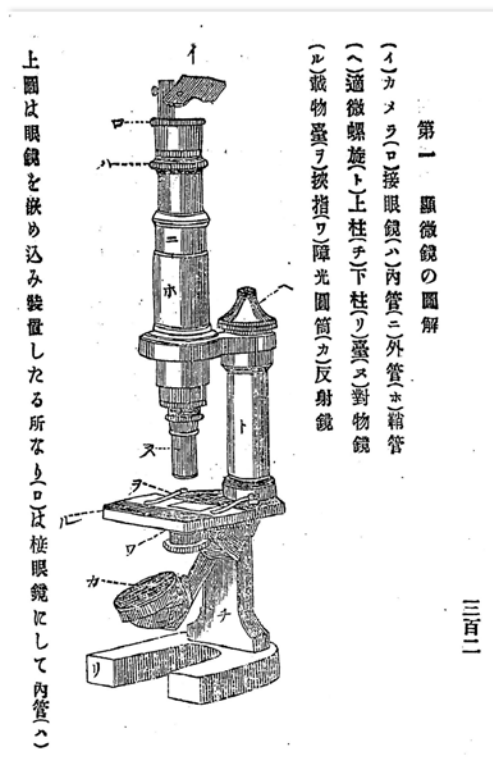


図16 顕微鏡の図解：関五郎松著「釀海拾玉酒造のともしび」（21）より、国立国会図書館デジタルコレクション、インターネット公開

するには、新しい種麴からなるべく静かに毛をとり、スライドグラスに載せ、水を垂らしてカバーグラスをそっと置き、鏡検する。第十図（図17）のように胞子の大きさが一様で円形をしているなど善良なる種麴との鑑別法が述べられている。顕微鏡の使用法、標本の図解、死菌との鑑別など実用書として十分な内容を含んでいる。

種麴、酵母（図18）など微生物の事、その他に酒造米、米洗いの方法、製麴法、醸造法など

日本酒造り各工程に渡る詳細な解説が載っている。日本酒の専門家ではないので分からないことも多いが、現場ですぐに役立つマニュアルを作成したいという関五郎松氏の意図に沿ったものだと思う。その時、顕微鏡は力強い味方であると説いている。

岸五郎氏について、お孫さんの律様の思い出話が残っている。名誉心の嫌いな清廉潔白なお人柄であり、戦中戦後の混乱の最中でも「酒の品質を落としてはいけない」と皆によくよく申し聞かせていたという¹⁸⁾。

「お福酒造（株）」には岸五郎氏が愛用した「REICHERT WIEN」と刻印された顕微鏡が保存されている（写真6）。「C.REICHERT」は1876年にカール・ライヘルトによりウィーンで設立された光学会社である。台座の「シリアル番号 No.21806」（写真7）を調べれば、製造時期なども分かるかもしれない。『酒造のともしび』



図17 「スペルギルス、フリジー」：(21)より図十、国立国会図書館デジタルコレクション、インターネット公開

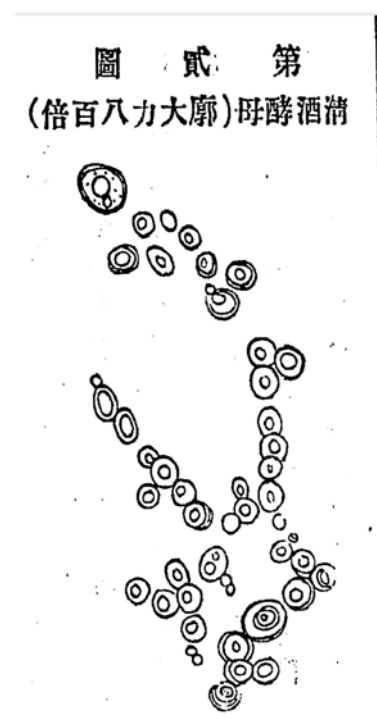


図18 「清酒酵母」：(21)より図二、国立国会図書館デジタルコレクション、インターネット公開



写真6 岸五郎氏の愛用した顕微鏡（ドイツ、ライヘルト製）（お福酒造（株）提供）



写真7 ボディに刻まれたシリアルナンバー（お福酒造（株）提供）

に描かれた顕微鏡（図 16）とは鏡筒の形状などがやや異なっており、その後購入されたものかもしれない。重厚な顕微鏡からは、新しい日本酒造りに取り組まれた岸五郎氏の熱い思いが伝わってくるような気がする。

日本にもたらされた顕微鏡とそれに関わった魅力的な人々、伝えられた顕微鏡は、長い時を超えて顕微鏡との出会いの物語を私に教えてくれた。

謝辞

冊子「岸五郎の生涯」と写真 6, 7 を提供いただいたお福酒造（株）に感謝申し上げます。写真 1～5 は島津製作所記念資料館からご提供をいただき掲載したものです。図 13, 14 は早稲田大学図書館のご使用許可をいただき掲載したものです。心から深謝申し上げます。

参考資料

1. 田中祐理子：病む、生きる、身体の歴史 近代病理学の哲学，青土社（2019）
2. 川喜多愛郎：パストゥール，岩波新書 650（1967）
3. 長野主税：光学顕微鏡の技術系統化調査，国立科学博物館技術の系統化調査報告，Vol.24（2017）
4. 和田和代史：我が国の顕微鏡の由来―和田医学史料館所蔵の顕微鏡の歴史，日本医史学雑誌 42（2）（1996）
5. 菊池俊彦解説：江戸科学古典叢書 17 紅毛談 / 蘭説弁惑，恒和出版（昭和 54 年）
6. 島田達生：顕微解剖学の歴史，三浦梅園が愛用した木製顕微鏡，第 110 回日本医史学総会一般公演，抄録（2009）
7. 三枝博音編：三浦梅園集，岩波文庫（1953）
8. 司馬江漢著・中村愿他編集：司馬江漢全集三，「和蘭天説（寛政 7 年）」，「天球図・天球全図」，八坂書房（1994）
9. 司馬江漢著・中村愿他編集：司馬江漢全集四，八坂書房（1993）
10. 森島中良著・杉本つとむ解説注：生活の古典双書 6 紅毛雑話・蘭説弁惑，八坂書房（昭和 47 年）
11. Timon Screech 著，田中優子・高山宏訳：大江戸視覚革命 一八世紀日本の西洋科学と民衆文化，作品社（1998）
12. 戸沢行夫：オランダ流御典医桂川家の世界，築地書館（1994）
13. 今泉源吉：蘭学の家桂川家の人々，篠崎書林（昭和 40 年）
14. レファレンス協同データベース，レファレンス事例詳細「江戸時代後期の蘭方医，桂川甫周が著した『顕微鏡用法』という文献は，どこかで見るができますか。」（2019 年 2 月更新）より）
15. 寺畑喜朔：日本における臨床検査器械発達略史，日本医学器械学会誌 63（7）（1993）
16. 郡司正勝・関山和夫編：見世物雑誌，三一書房（1991）
17. 村上英也：ヘルマン・アールブルグとその周辺―麹菌の発見者―，日本醸造協会雑誌，89（11）（1994）
18. 松原新之助：麹ノ説，東京医事新誌第 24 巻（明治 11 年）
19. 岸五郎の生涯：お福酒造（株）寄贈本
20. 小林成吉：酒造の思い出，日本醸造協会雑誌 43（1-4）（1948）
21. 関五郎松：醸海拾玉 酒造のともしび，高崎書籍店（明治 27.9）

今回訪ねた所

島津製作所創業記念資料館：京都市中京区木屋町二条南，地下鉄東西線「京都市役所前」2 番出口下車

訪れたい所

三浦梅園資料館：大分県国東市安岐町富清 2507-1

お福酒造（株）：新潟県長岡市横枕町 606

京都大学との共同研究の成果が国際的な学術誌 『npj Science of Food』に論文掲載！

株式会社サン・クロレラ（本社：京都市下京区、代表取締役社長：中山 太、以下「当社」）は、京都大学大学院農学研究科海洋生物機能学分野の佐藤健司教授らの研究グループ（以下「京都大学」）とクロレラに含まれているフェネチルアミンの有益性に関する共同研究を行っていましたが、その研究成果が2021年7月23日に Springer Nature が出版する学術誌『npj Science of Food』のオンラインで公開されました。

< 研究の背景 >

肝臓がんは、飲酒やB型肝炎、C型肝炎が原因とされてきましたが、近年では肥満や生活習慣病を起因とした脂肪肝からも発症することが分かり、日本でも食事の欧米化により発症者は増加傾向です。なかでも、飲酒を除く原因で起こる脂肪肝は「非アルコール性脂肪性肝疾患」【NAFLD（ナッフルディー）】と呼ばれ日本での患者数は全国で1,000万人以上いると考えられています。（※1）

そして、NAFLDの病態進展の一因には脂質の酸化増大が考えられています。これまでの我々の研究でクロレラ水抽出物は抗酸化能力が低下したSod1変異体ショウジョウバエの寿命を延長させ、その成分がモノアミンであるフェネチルアミンであることを報告しています。（※2）

今回、高脂肪食を与えたげっ歯類にクロレラの抽出物およびフェネチルアミンを摂取させ新たなNAFLDの病態進展機序とフェネチルアミンの機能性を解明しました。

< 研究成果の概要 >

この成果は、フェネチルアミンがグリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼ（GAPDH）タンパク質の増加によりメチルグリオキサル（MGO）を制御することで、高脂肪食誘発肝障害緩和の分子的な作用標的およびフェネチルアミンの有益性を明らかにした初めての知見です。

本研究ではげっ歯類モデルを用いて、下記2点を明らかにしました。

- (1) フェネチルアミンは高脂肪食の供与により発生する脂質の酸化と肝障害を有意に軽減するだけでなく、肝臓への脂質の蓄積を顕著に減少させた。
- (2) 高脂肪食の摂取は肝臓に脂質を蓄積させ、GAPDHを低下させ、その結果脂質の酸化を誘発するMGOを増加させる。クロレラ水抽出物（C.G.F.）とフェネチルアミンはGAPDH量を回復させ、MGOの生成を抑制することで脂質酸化と肝障害を抑制した。

< 用語説明 >

* グリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼ（GAPDH）

エネルギー産生経路の解糖系に関わる重要な酵素。近年は一酸化窒素ストレスのセンサーとして細胞死を引き起こすなど新しい機能性が報告されている。

* メチルグリオキサル（MGO）

糖尿病や尿毒症、敗血症で上昇する代謝物で、通常時でも生成される毒性の強い終末糖化産物の前駆体。

< 今後の展望 >

本共同研究により、高脂肪食誘発肝障害緩和の分子的な作用標的およびフェネチルアミンに代表される極微量モノアミンの有益性がわかりました。これは、今後食品に含まれる極微量成分の新たな価値創造だけで

なく、クロレラや日本食で利用される発酵食品の健康有益性への応用など、新たな展開に貢献できる成果と期待されます。

<クロレラとは>

クロレラは淡水に生息する緑藻類の一種で、タンパク質、ビタミン B₁₂、葉酸、鉄分などの栄養素をバランス良く含むプラントベース・ホールフード（※3）として注目されています。市場に多く流通している単一成分に特化したサプリメントに比べ、クロレラには様々な栄養素を丸ごと摂取できるという利点があります。

（※1）出典：日本消化器病学会ガイドライン <https://www.jsge.or.jp/guideline/disease/naflid.html>

（※2）出典：<https://lab-sunchlorella.jp/wp-content/uploads/2020/04/146.pdf>

（※3）プラントベース・ホールフード：加工や精製を行わずに素材を丸ごと摂取できる植物性の食べ物。

<論文に関する情報について>

※論文はオープンアクセスで自由に閲覧することが可能です。

【著者名】

Yifeng Zheng, Agustin M. Morales, Jing Wang, Masaki Fujishima, Eri Okumura, and Kenji Sato

【論文名】

Phenethylamine in chlorella alleviates high-fat diet-induced mouse liver damage by regulating generation of methylglyoxal

【雑誌名】

npj Science of Food (npj Sci Food) ISSN 2396-8370 (online)

【リンク先】

<https://doi.org/10.1038/s41538-021-00105-3>

【会社概要】

社名 : 株式会社サン・クロレラ

代表者 : 代表取締役社長 中山 太

所在地 : 〒 600-8177

京都市下京区烏丸通五条下ル大坂町 369 番地

事業内容 : 健康食品の開発・製造卸販売、輸出入等

コーポレートサイト : <https://www.sunchlorella.co.jp/>

研究サイト : <https://lab-sunchlorella.jp/>

【お問い合わせ先】

株式会社サン・クロレラ ブランドコミュニケーションズ部

担当 : 小林

TEL : 075-288-3043

FAX : 075-288-3041

E-mail: kkobayashi@sunchlorella.co.jp

現代チーズ学

編集

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

現代チーズ学

The Contemporary Cheese Science

現代チーズ学

監修 長
野藤 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



食品科学出版社

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

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（餌が牛乳に変わるまで）
11. 牛乳成分の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

www.newfoodindustry.com

ニューフードインダストリー 第63巻 第9号

印刷 令和 3 年 8 月 20 日

発行 令和 3 年 9 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

T E L : 042-312-0836 (代表)

F A X : 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, m², kg, g, mg, mol, mmol, mM, μM, 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

