

New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2010 Vol.52 No.7

7

論 説

- スルフォラファンのメラニン産生抑制機構
- 一地域の食資源から抗酸化作用と生理機能の探索ー
ガマズミ果実の抗酸化作用と糖尿病予防効果
- チュニジア産オリーブ葉抽出物のヒト白血病細胞分化誘導作用
- ムラサキ芋抽出物による神経細胞保護作用
- 食用藍藻：スイゼンジノリ、イシクラゲ、および髪菜の生理機能
- 乳酸菌SB88によるアルコール性肝障害抑制作用
- 米澱粉系新規高機能性食品素材および添加剤の開発
- 抗炎症作用を有する未利用資源穀類外皮由来の難消化性多糖類
- 重金属の野菜中への蓄積量の予測手法 ー安心・安全な野菜とはー

連 載

- 築地市場魚貝辞典 (スズキ)
- 薬膳の知恵 (48)

ご案内 第37回食品の物性に関するシンポジウム



論 説

- ☐ スルフォラファンのメラニン産生抑制機構
..... 白杉 一郎, 鎌田美友貴, 松井 隆史, 榎原 陽一, 水光 正仁 1

- ☐ -地域の食資源から抗酸化作用と生理機能の探索-
ガマズミ果実の抗酸化作用と糖尿病予防効果
..... 岩井 邦久 8

- ☐ チュニジア産オリーブ葉抽出物のヒト白血病細胞分化誘導作用
..... 中崎 瑛里, 韓 峻奎, 礪田 博子 15

- ☐ ムラサキ芋抽出物による神経細胞保護作用
..... 佐々木 一憲, 韓 峻奎, 礪田 博子, 田丸 保夫, 脇之菌 勝 21

- ☐ 食用藍藻：
スイゼンジノリ, イシクラゲ, および髪菜の生理機能
..... 竹中 裕行, 山口 裕司 28

- ☐ 乳酸菌 SB88 によるアルコール性肝障害抑制作用
..... 瀬川 修一 35

- 《ご案内》第 37 回食品の物性に関するシンポジウム
..... 40

Contents

2010 年 7 月号

論 説

- ☐ 米澱粉系新規高機能性食品素材および添加剤の開発
..... 藤田 直子, 阿久澤さゆり 41
- ☐ 抗炎症作用を有する未利用資源穀類外皮由来の難消化性多糖類
..... 江頭 祐嘉合 49
- ☐ 重金属の野菜中への蓄積量の予測手法—安心・安全な野菜とは—
..... 庄司 良, 長田 拓哉, 田中 優也 54

連 載

- ☐ 築地市場魚貝辞典 (スズキ)
..... 山田 和彦 61
- ☐ 薬膳の知恵 (48)
..... 荒 勝俊 66

おいしさと健康に真剣です。

酵母エキス系調味料
コクベース

new発酵調味料
D&M
ディアンドエム

ゼラチン&小麦グルテン
酵素分解調味料
エンザップ

新発売! 乳製品にベストマッチな調味料
コクベース
ラクティックイーストエキス
乳加工品・製パン・製菓・チーズ・バターへの
コクづけ、味や風味の底上げなど、ユニークな
特長がある乳酵母エキスです。

DM **大日本明治製糖株式会社**
食品事業部

〒103-0027 東京都中央区日本橋1-5-3 日本橋西川ビル7F TEL (03) 3271-0755

スルフォラファンのメラニン産生抑制機構

白杉 一郎^{*1} 鎌田美友貴^{*2} 松井 隆史^{*3} 榊原 陽一^{*4} 水光 正仁^{*5}

^{*1}SHIRASUGI Ichiro^{1,3)}, ^{*2}KAMADA Miyuki³⁾, ^{*3}MATSUI Takashi²⁾, ^{*4}SAKAKIBARA Yoichi^{1,3)},

^{*5}SUIKO Msahito^{1,3)}

¹⁾ (宮崎大学農学工学総合研究科) ²⁾ (株式会社くらこん) ³⁾ (宮崎大学農学部)

KeyWords：スルフォラファン・メラニン・チロシナーゼ・MAP キナーゼファミリー

はじめに

メラニンは紫外線やそれによって発生する活性酸素種から皮膚や髪を保護する重要な役割を果たしている。しかし、老化や酸化ストレスによってメラニンの過剰な合成や蓄積が起こると、皮膚の老化現象であるしみやそばかすが生じる。近年、このような皮膚のトラブルに悩む女性の間で白く美しい肌（美白）への関心が高まっており、化粧品産業だけでなく医薬品産業や食品産業においてもしみやそばかすの改善効果もしくは予防効果を有した製品の開発に力が入れている。我々は、メラニン産生抑制作用すなわち美白作用をもつ新規の化合物の探索を行い、その作用機構の解明を目的とした研究を実施した。

化合物の探索の結果、イソチオシアネート類の一種でブロッコリーに含まれるスルフォラファンがメラニンの産生量を減少させることを見出した。このメラニン産生抑制効果は、ポジティブコントロールとして用いたアルブチンと比較して約 20 倍であった。したがって、スルフォラファンは極めて強い美白効果を有することが示唆された。そこで本稿では、スルフォラファンのメラニン産生抑制効果とその作用メカニズムについて紹介する¹⁾。

1. メラニン合成経路と美白剤

私たちは、日頃から紫外線にさらされた生活を送っている。紫外線やそれによって発生する活性酸素種は核内の DNA を損傷し、細胞に種々の影響を及ぼし老化やがんの原因となる。そのため、私たちの肌では紫外線から皮膚細胞を保護するためにメラニンが合成される。しかし、メラニンの過剰産生や蓄積によりしみやそばかすなどの皮膚の老化現象が起こる。皮膚に紫外線があたると、表皮細胞からメラニン刺激性ホルモン (α -MSH) などの情報伝達物質が分泌される²⁾。これらの情報伝達物質が基底層に分布するメラノサイトを刺激し、メラニン色素が合成される。合成されたメラニン色素はメラノソームに貯蔵され、ケラチノサイトや毛母細胞に輸送される。メラニンは黒色のユーメラニン（真性メラニン）と黄色のフェオメラニン（黄色メラニン）とに大別され、その比率によって皮膚や毛髪の色に違いがでる³⁾。メラニン色素の合成は、メラニン合成酵素であるチロシナーゼ、チロシナーゼ関連タンパク (TRP-1, TRP-2) により制御される。この中で最も重大な役割をもつのはメラニン合成における初期

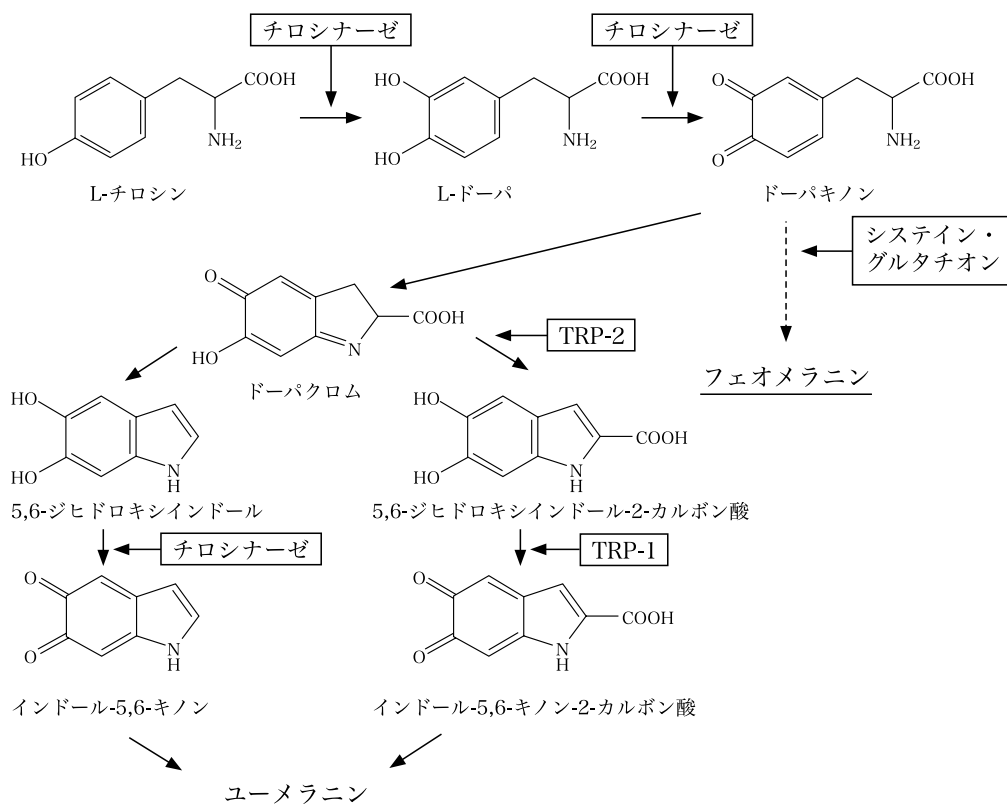


図1 メラニン合成経路

律速反応を触媒するチロシナーゼである。チロシナーゼはL-チロシンからL-ドーパへのヒドロキシル化、L-ドーパからドーパキノンへの酸化、また5,6-ジヒドロキシインドールからインドール-5,6-キノンへの酸化を触媒する。TRP-1 および TRP-2 はドーパキノンより下流の反応に関与しており、この反応によって黒色のユーメラニンが合成される。またシステインやグルタチオンのようなチオール化合物が存在すると、そのチオール基がドーパキノンを求核的に攻撃し黄色のフェオメラニンが合成される^{3~5)} (図1)。

現在市販されている美白剤には、主にメラニン合成の鍵酵素であるチロシナーゼの抑制剤が使用されている。例えば、西洋ナシやコケモモなどの植物に含まれているアルブチンはチロシナーゼに直接作用し、メラニンの合成を阻害す

ることから、広く化粧品に用いられている⁶⁾。また、チロシナーゼとL-ドーパの反応を拮抗阻害し、メラニンの合成を阻害するコウジ酸も化粧品によく用いられている⁷⁾。コウジ酸は麹菌がグルコースなどの糖を発酵させることによって生成される化合物である。

さらに、アルブチンやコウジ酸より美白効果が強い化合物としてハイドロキノンがある。ハイドロキノンは肌の漂白剤と言われ、非常に強力な美白作用を有する化合物である⁸⁾。ハイドロキノンは通常2~4%の濃度で軟膏やクリームなどに配合されており、医薬部外品として販売されている。

この他にも、美白作用を持つ化合物には天然のものから合成物まで多く報告がなされているが、さらに未知の化合物が美白作用を持っているのではないかと期待されている。

2. スルフォラファン

スルフォラファンはイソチオシアネートの一種でアブラナ科のブロッコリーに多く含まれる化合物である。植物中では通常、グルコシノレートの形で貯蔵されているが、咀嚼されたりするとミロシナーゼという酵素が活性化され、加水分解を受けることでスルフォラファンが生成される⁹⁾。これまでにスルフォラファンの生理作用としては解毒酵素や抗酸化酵素の誘導作用、さらには抗がん作用などが多数報告されている^{10~12)}。

3. 実験方法

(1) メラニン産生試験

本研究で用いたマウス由来メラノーマ細胞である B16 細胞は、DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium, 10% ウシ胎仔血清, 100 UI/mL ペニシリン, 100 µg/mL ストレプトマイシンを含む) を用いて 37℃, 5% CO₂ 条件下で培養した。60 mm のディッシュに 2.5×10^5 cells 播種し、播種してから 24 時間後と 72 時間後にスルフォラファンとポジティブコントロールであるアルブチン処理した。なお、コントロールは DMEM に 0.1% となるように DMSO を添加したものを処理した。96 時間後に培地を除き、リン酸緩衝食塩液 (PBS) で洗浄した。トリプシンを加え、1 分後にトリプシンインヒビター、PBS を加え細胞を剥がし回収した。回収した細胞を遠心分離し、細胞の沈殿を得た。細胞の沈殿に PBS を 1 mL 加えよく懸濁し、100 µL はトリパンプルーを用いた細胞毒性評価を行うために、残りは再度遠心分離した。得られた沈殿に 1 M 水酸化ナトリウムを加え可溶化し、475 nm の吸光度からメラニン産生量を測定した。得られたメラニン産生量を生細胞数で割り、コ

ントロールの値を 100% とすることで相対的な評価を行った。

(2) チロシナーゼ活性測定

メラニン産生試験と同様の方法で B16 メラノーマ細胞にスルフォラファンを処理し、96 時間後に培地を除き、PBS で洗浄した。リン酸カリウム緩衝液 (pH6.8) に 1% となるように TritonX-100 を加えて細胞を可溶化し、-80℃ で 30 分間凍結した。解凍後、遠心分離し、上清を粗酵素液として用いた。なお、粗酵素液のタンパク質濃度は Lowry 法を用いて測定した。粗酵素液に L-ドーパを終濃度が 2 mM となるように加え 37℃ で 5 時間反応させ、490 nm の吸光度からドーパキノン産生量を測定した。In vitro のチロシナーゼ活性の測定については、未処理の B16 細胞抽出液に L-ドーパを終濃度が 2 mM となるように加え、さらにスルフォランを添加し、37℃ で 5 時間反応させ同様に 490 nm の吸光度で測定した。ポジティブコントロールには L-ドーパと拮抗してチロシナーゼ活性を阻害するコウジ酸を用いた。

(3) チロシナーゼの発現量測定

チロシナーゼ活性の測定で用いた粗酵素液でウェスタンブロッティング法にてチロシナーゼの発現量を測定した。一次抗体として、抗チロシナーゼ抗体 (1,000 倍希釈)、抗 β -アクチン抗体 (3,000 倍希釈) を用いた。二次抗体は HRP 標識した抗ヤギ抗体および、抗マウス抗体を 5,000 倍希釈したものを用いた。検出試薬は ECL plus を用い、ChemiDoc XRS (Bio-Rad) で発現量の解析を行った。

(4) MAP (Mitogen-activated protein) キナーゼファミリーのリン酸化

B16 細胞を 60 mm のディッシュに 5×10^5 cells 播種し、播種してから 24 時間後にウシ胎仔血清 (FBS) を含まない DMEM に培地を置き換え、さらに 48 時間後にスルフォラファンを処理した。処理してから 0 分から 360 分後

にそれぞれ細胞を回収し、ウエスタンブロッティング法にて p38 と ERK (Extracellular signal-regulated kinase) の検出を行った。一次抗体については、抗 phospho-p38 抗体、抗 p38 抗体ともに 1,000 倍希釈したものを 1 時間、ERK に関しては、抗 phospho-ERK 抗体、抗 ERK 抗体ともに 1,000 倍希釈したものを用いた。二次抗体は全て HRP 標識した抗ウサギ抗体を 1,000 倍希釈したものを用いた。検出試薬は ECL plus を使い、ChemiDoc XRS (Bio-Rad) で解析を行った。

(5) 統計解析

結果の全てを平均値±標準偏差で示した。統計解析には Dunnett's test を用いた。統計的な有意差は $p < 0.05$ に設定した。

4. 結果

(1) スルフォラファンのメラニン産生抑制効果

スルフォラファンを 0.1 μM から 5 μM までの濃度を処理したとき、メラニン産生量はコントロールと比較して濃度依存的に減少した (図 2)。0.5 μM 以上の濃度で有意な減少が見られ、ポジティブコントロールとして用いた 100 μM アルブチンと 5 μM スルフォラファンのメラニン産生抑制効果はほぼ同じであった。このことからスルフォラファンは強い美白効果を有することが示唆された。なおここではデータを示していないが、スルフォラファンに関しては 0.1 μM から 5 μM までの濃度では細胞毒性は見られなかった。

(2) スルフォラファンのチロシナーゼ活性阻害作用

スルフォラファンを 0.1 μM から 5 μM までの濃度で B16 細胞に処理したとき、細胞抽出物に含まれるチロシナーゼ活性は 0.1 μM 以上の濃度で有意に減少した (図 3)。しかし、チロシナーゼを含む未処理の B16 細胞抽出液に L-ドーパとスルフォラファンを加えて反応させたときにはチロシナーゼ活性の阻害は見られ

なかった (図 4)。したがって、スルフォラファンはチロシナーゼ活性を直接阻害する作用は有していないことが判明した。

(3) スルフォラファンの B16 細胞におけるチロシナーゼの発現量の抑制作用

スルフォラファンを 0.1 μM から 5 μM までの濃度で処理したとき、チロシナーゼの発現量は濃度依存的に減少し、1 μM 以上の濃度でそ

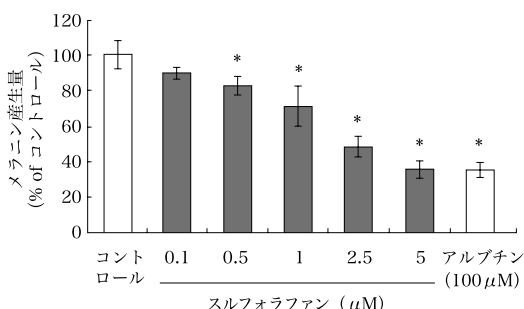


図 2 スルフォラファンの B16 細胞におけるメラニン産生への影響

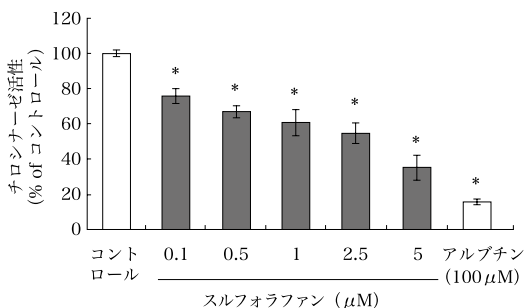


図 3 スルフォラファンの B16 細胞におけるチロシナーゼ活性への影響

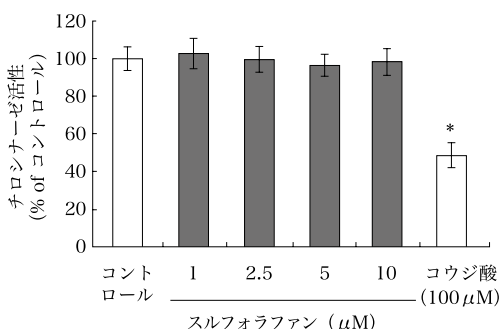


図 4 スルフォラファンの *in vitro* におけるチロシナーゼ活性への影響

の抑制作用は顕著であった (図 5)。これらの結果より、スルフォラファンのメラニン産生抑制作用はチロシナーゼの発現量の減少によって引き起こされていることが判明した。

(4) スルフォラファンの MAP ファミリーのリン酸化への影響

メラニンの産生に関わるチロシナーゼの発現には MAP キナーゼのリン酸化が関与することが知られている¹³⁻¹⁵⁾。p38 のリン酸化は転写因子である MITF (microphthalmia-associated transcription factor) の発現を誘導し、その結果チロシナーゼの発現量および、メラニンの産生量を増加させる。一方、ERK のリン酸化は MITF のユビキチン化を誘導し、MITF を分解させ、その結果チロシナーゼの発現量および、メラニンの産生量を減少させる。

p38 のリン酸化に関しては、1 分から 10 分の間で定常状態よりも強いリン酸化が誘導された。しかし、360 分以降は逆に定常状態よりもリン酸化は抑制された (図 6)。ERK のリン酸化に関しては、60 分後以降で定常状態よりも強いリン酸化が誘導された。

5. 考 察

スルフォラファンはイソチオシアネート類の一種でアブラナ科の野菜、特にブロッコリーとそのスプラウトに多く含まれている。ブロッコリースプラウトのスルフォラファン濃度は 1,153 mg/100 g 乾燥重量で、成熟したブロッコリーのおよそ 10 倍含まれていると言われている¹⁶⁾。含硫化合物であるイソチオシアネート類はスルフォラファンのほかにアリールイソチオシアネートやベンジルイソチオシアネート、フェニルエチルイソチオシアネート、イソプロピルイソチオシアネート、メチルイソチオシアネートなどがある¹⁷⁾。これらの化合物もブロッコリーやカリフラワー、クレソン、キャベツなどのアブラナ科の野菜に含まれている¹⁸⁾。

これらの化合物の生理活性は数多く報告されており、例を挙げると、ベンジルイソチオシアネートのアポトーシス誘導効果やフェニルエチルイソチオシアネートのがん予防効果などがある^{19, 20)}。メチルイソチオシアネート

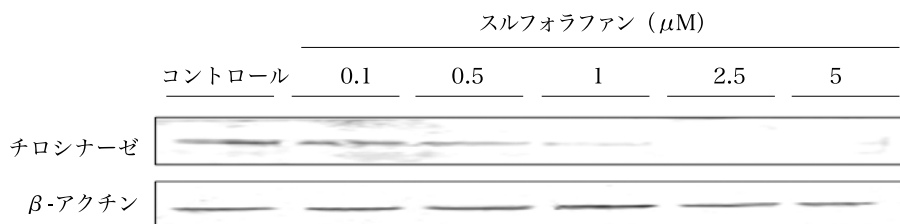


図 5 B16 細胞におけるスルフォラファンのチロシナーゼの発現量への影響

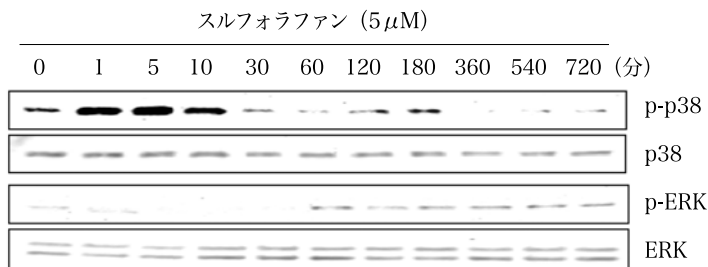


図 6 B16 細胞における MAP キナーゼファミリーのリン酸化への影響

類に属するスルフォラファンに関してはこれまでに、アルドケトレダクターゼ IC1 (AKR1C1) のような第二相の解毒酵素を活性化させることが知られている²¹⁾。さらにがん細胞のアポトーシスの誘導作用も報告されている¹²⁾。

本研究では、スルフォラファンが濃度依存的にメラニンの産生量とチロシナーゼ活性を減少させることを見出した。さらに私たちは 5 μM のスルフォラファンと 100 μM のアルブチンのメラニンの産生抑制作用がほぼ同じであることも見出した。チロシナーゼ活性の阻害実験においては、スルフォラファンは直接活性を阻害しなかった。

この結果からスルフォラファンはチロシナーゼの発現に影響を与えているのではないかと想定し、ウエスタンブロッティング法を用いたチロシナーゼの発現量を解析したところ、濃度依存的に発現量が減少していた。

さらに、最近ではメラニンの合成の分子メカニズムには MAP キナーゼファミリーの経路が調節しているという報告がある^{13~15)}。リン酸化された p38 は転写因子の MITF を活性化させ、メラニンの合成に関与しているチロシナーゼや TRP-1, TRP-2 の発現を促進させるというものである。メラニン刺激性ホルモンである α -MSH は p38 のリン酸化を介してメラニンの合成を促進させると考えられている¹³⁾。この経路に関して図 7 を用いて説明する。紫外線や活性酸素の影響によって表皮細胞から分泌された α -MSH はメラノコルチン-1 受容体に結合する。その結果、cyclic AMP (cAMP) の濃度が上昇し、protein kinase A (PKA) や p38 のリン酸化が誘導される。リン酸化された PKA や p38 は cAMP-response element binding protein

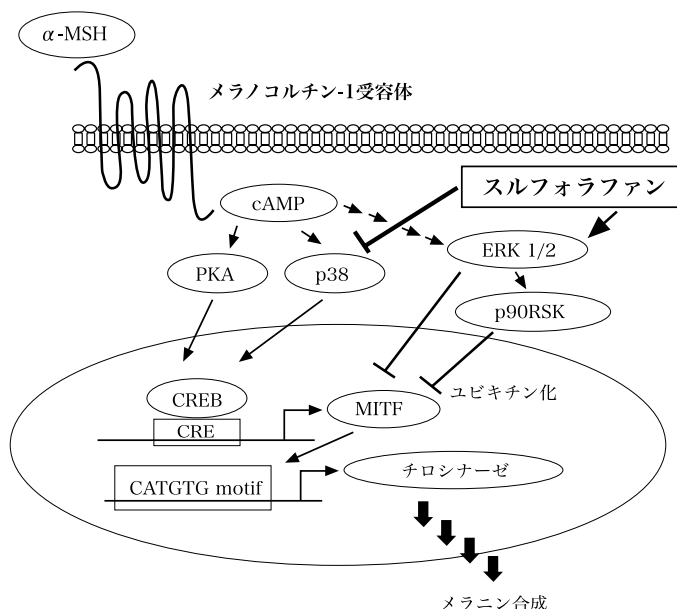


図 7 スルフォラファンのメラニン合成阻害作用のメカニズム

(CREB) をリン酸化し、MITF の DNA 結合活性を上昇させ、最終的にチロシナーゼの発現およびメラニンの産生量を上昇させる^{13, 14)}。一方、ERK のリン酸化は MITF のユビキチン化を誘導し、MITF を分解させることによってチロシナーゼの発現量およびメラニンの産生量を減少させることが報告されている。B16 細胞において、2-イミノ-1,3-チアゾリン誘導体である KHG22394 が ERK および、その下流に存在する 90-kDa ribosomal S6 kinase (RSK-1) のリン酸化を誘導し、MITF とチロシナーゼの発現量を減少させることによってメラニンの産生を抑制した¹⁵⁾。

私たちの実験においても、スルフォラファンによって B16 細胞中のチロシナーゼの発現量が減少したことから MAPK ファミリーのリン酸化を検討したところ、p38, ERK とともにスルフォラファン処理による影響が見られた。まず、p38 に関してはスルフォラファンを処理してから、1 分から 10 分の間で定常状態よりも強いリン酸化が検出された。この結果からスルフォ

ラファンはメラニンの合成を促進している可能性が考えられたが、実際は逆にメラニンの合成が阻害されていた。これまでにスルフォラファンには抗酸化酵素の発現誘導と活性酸素の除去に携わって転写因子 Nrf2 の核内への蓄積の誘導を p38 のリン酸化を介して行うことが知られている²²⁾。おそらく、本研究の結果においてもスルフォラファンの抗酸化酵素の誘導作用が発揮される過程において p38 のリン酸化が誘導されたと推測した。ただし、スルフォラファンを処理してから 360 分後以降は定常状態と比較してリン酸化は抑制された。ERK に関しては、スルフォラファンを処理してから 60 分後以降に定常状態よりも強いリン酸化が検出された。

以上の結果より、スルフォラファンは ERK と p38 のリン酸化調節作用によってチロシナーゼの発現を抑制し、メラニンの合成を阻害したことが示された。

おわりに

しみやそばかすなどの予防のように長期間の継続的な塗布が想定される場合には、化合物の安全性が特に重要になる。過去、ハイドロキノンは高濃度で使用すると白斑ができるという副作用が出たため、昭和 32 年から化粧品への添加が禁じられた(現在では使用濃度が抑えられ、医薬部外品として使用されている)。コウジ酸においても発がん性の疑いがあり、一時使用が禁じられた(2005 年に安全性が確認され、使用禁止が撤回された)。こうした問題を考えた場合にスルフォラファンは長い食経験から高い安全性があると思われる。また現在、化粧品に一般的に用いられているアルブチンよりも効果はるかに強いことから、既存の美白剤からさらなる進展にも繋がるのではないかと期待される。こうした基礎研究の成果がモデル動物実験やヒト臨床試験を経て、しみやそばかすの予防や治療に貢献できれば幸いである。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Shirasugi I, Sakakibara Y, Suiko M, *et al*, *Biosci. Biotechnol.*, **74**(3), 579-582, 2010.
- 2) Hunt G, Todd C, Cresswell J, *et al*, *J. Cell Sci.*, **107**, 205-211, 1994.
- 3) 清水宏, 新しい皮膚科学. 東京, 中山書店, 9-11, 2005.
- 4) Sato K, Takahashi H, Iraha R, *et al*, *Biol. Pharm. Bull.*, **31**, 33-37, 2008.
- 5) Kima YJ and Uyamab H, *Cell. Mol. Life Sci.*, **62**, 1707-1723, 2005.
- 6) Jun SY, Park KM, Choi KW, *et al*, *Biotech. Lett.*, **30**(4), 743-748, 2008.
- 7) Cabanes J, Chazarra S and Garcia-Carmona F, *J. Pharm. Pharmacol.*, **46**(12), 982-985, 1994.
- 8) Palumbo A, d' Ischa M, Misuraca G, *et al*, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1073**(1), 85-90, 1991.
- 9) Matusheski NV and Jeffery EH, *J. Agric. Food. Chem.*, **49**, 5743-5749, 2001.
- 10) Zhu H, Jia Z, Strobl JS, *et al*, *Cardiovasc. Toxicol.*, **8**, 115-125, 2008.
- 11) Zhang Y, Talalay P, Cho CG, *et al*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **89**, 2399-2403, 1992.
- 12) Conaway CC, Jiao D and Chung FL, *Carcinogenesis*, **17**, 2423-2427, 1996.
- 13) Smalley K and Eisen T, *FEBS Lett.*, **476**, 198-202, 2000.
- 14) Hirata N, Naruto S and Ohguchi K, *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 4897-4902, 2007.
- 15) Kim DS, Jeong YM and Park IK, *Biol. Pharm. Bull.*, **30**, 180-183, 2007.
- 16) Nakagawa K, Umeda T, Higuchi O, *et al*, *J. Agric. Food. Chem.*, **54**, 2479-2483, 2006.
- 17) Vermeulen M, Boerboom AM, Blankvoort BM, *et al*, *Toxicol. in Vitro*, **23**, 617-621, 2009.
- 18) Rose P, Huang Q, Ong CN, *et al*, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **209**, 105-113, 2005.
- 19) Kalkunte S, Swamy N, Dizon DS, *et al*, *J. Exp. Ther. Oncol.*, **5**(4), 287-300, 2006.
- 20) Hu J, Straub J, Xiao D, *et al*, *Cancer Res.*, **67**(8), 3569-3573, 2007.
- 21) Bonnesen C, Eggleston IM and Hayaes JD, *Cancer Res.*, **61**, 6120-6130, 2001.
- 22) Kong AN, Owuor E and Yu R, *Drug Metab. Rev.*, **33**, 255-271, 2001.

—地域の食資源から抗酸化作用と生理機能の探索—

ガマズミ果実の抗酸化作用と糖尿病予防効果

岩井 邦久*

*IWAI Kunihisa (青森県立保健大学・健康科学部・栄養学科)

KeyWords：ガマズミ・ポリフェノール類・抗酸化作用・糖尿病・グルコシダーゼ阻害作用

はじめに

現在、高齢化の進行とともに生活習慣病の減少しないことが医療費の増大を引き起こし、社会的な問題となっている。生活習慣病には食生活の乱れ、運動不足、休養の不足や極度のストレスなど、ライフスタイルそのものが関わっている。そのため、適切な食生活による一次予防の重要性が主張されるとともに、平成 20 年 4 月から始まった特定健診制度は、治療から予防へのシフトを進め医療費圧縮を図る国の施策の一環となっている。また、食物が有する 3 つの機能の中で生体調節機能、即ち三次機能に注目が集まり、食による生活習慣病の一次予防に役立てようという研究や製品開発が盛んに行われている。

生活習慣病に関しては、活性酸素やフリーラジカルが細胞レベルでの酸化傷害を生じ、それが多くの生活習慣病の源となっていることが明らかになってきている¹⁾。糖尿病も活性酸素と密接な関係にあり、特に、腎症や網膜症などの合併症の発症と進行には活性酸素が大きく関わっている²⁻⁵⁾。平成 19 年の国民健康・栄養調査では、糖尿病が強く疑われる人が 890 万人、糖尿病の可能性が否定できない人は 1320 万人、合計 2210 万人と推定されており、平成 14 年の

調査時から 590 万人も増加している⁶⁾。これら糖尿病の症状進行抑制には血糖のコントロールが必須であり、特に食後血糖上昇の抑制は糖尿病予備群において有効な予防策といえる。そのためには、糖質の過剰摂取の制限が有効であるが、糖質の消化吸収を抑制することも効果的であり、二糖類分解酵素阻害薬などが糖尿病治療薬として用いられている⁷⁾。また、食物などにも同様の作用を有する天然成分が存在し、予防効果を究明する多くの研究報告がある。

我々も生活習慣病の予防効果を持つ食資源を探索する目的で、多数の県産食資源の抗酸化活性を評価してきた。その結果、ガマズミ果実やアピオスなどに有益な生理機能を見出してきた^{8,9)}。ここでは、抗酸化作用と糖尿病の予防に焦点を当て、ガマズミ果実の生理機能に関する我々の研究を紹介する。

1. 糖尿病モデルにおける酸化抑制効果¹⁰⁾

ガマズミ (*Viburnum dilatatum* Thunb) はスイカズラ科の落葉低木であり¹¹⁾、様々な同属種の葉や樹皮等に含まれるトリテルペン類に関する研究報告および果実の成分に関する研究報告が国内外で認められるが^{12, 13)}、ガマズミ果

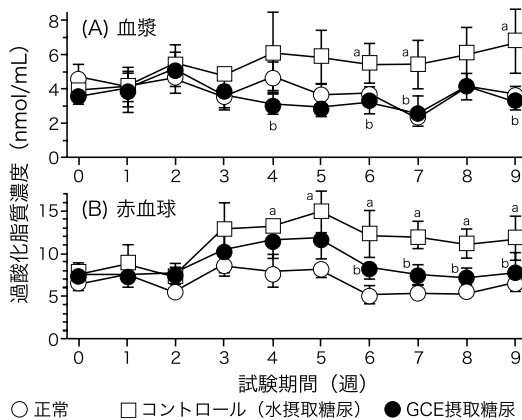


図1 STZ糖尿病ラットにGCEを摂取させた時の血漿 (A) および赤血球 (B) 中過酸化脂質濃度の推移

正常群は健康ラットに水を摂取させた；コントロール群は糖尿病ラットに水を摂取させた；GCE摂取糖尿病群は糖尿病ラットにGCEを摂取させた。過酸化脂質濃度はTBARSとして測定した。データは各群5匹の平均値±標準偏差で表した。aは正常群およびbはコントロール群に対する有意差を示す ($p < 0.05$)。

実の生理作用に関する報告は皆無に近い。1998年より我々はガマズミ果実の生理作用に関する研究を開始し、ラジカル消去活性および動物試験によるストレス性潰瘍の抑制効果や酸化傷害抑制作用などを見出した。その作用発現において、抗酸化酵素の誘導は見られず、肝臓の抗酸化能は増大したことから、ガマズミ果実の成分が抗酸化作用を発揮して、ストレスが誘発する酸化傷害を抑制していることが推察された¹⁴⁻¹⁶⁾。

そこで、この酸化傷害抑制作用がストレス負荷以外の酸化傷害に対しても見られるか否かを糖尿病モデル動物において検討した。糖尿病では活性酸素やラジカルの生成が亢進し²⁾、これによって体内の酸化的ストレスが増加した状態となり、活性酸素消去系の活性を低下させる³⁾。さらに、これらの状態が微小循環障害や細胞機能障害など糖尿病に特有の合併症を引き起こすことが知られている^{4,5)}。ここでは、ストレプトゾトシン (STZ) を投与して作出した糖尿病

ラット¹⁷⁾にガマズミ果実粗抽出物 (GCE) を与え、経時的な過酸化脂質濃度の変化を検討した。STZ投与2日後に尿糖を認めた糖尿病ラットに、市販飼料およびGCE溶液を10週間自由に摂取させた。コントロール群および健康ラットである正常群には水道水を与えた。糖尿病ラットでは、成長の抑制、摂食量および飲水量の増大、尿量の増加および尿糖などSTZ投与による糖尿病モデルに見られる一般的な症状が認められた¹⁷⁾。これらのラットから、毎週、非絶食下で尾動脈より採血し、血漿および赤血球中の過酸化脂質濃度としてチオバルビツール酸反応生成物 (TBARS) を測定した。

正常群の血漿中TBARSは、多少の増減はあったものの、飼育期間中はほぼ一定濃度で推移したが、コントロール群のTBARSは次第に増加し、正常群より有意に高い濃度を示した。GCE群は正常群とほぼ同濃度のTBARS推移を示し、コントロール群より有意に低値を示した (図1-A)。

赤血球中では、正常群のTBARSは多少の増減はあるものの、ほぼ同じレベルで推移したのに対し、糖尿病の2群は徐々にTBARSが増加し、特にコントロール群はその後も正常群より有意に高いレベルで推移した。しかし、GCE群のTBARSは低下する傾向を示し、6週目以降は、正常群より高いもののコントロール群よりは有意に低い赤血球中TBARSを示した (図1-B)。

また、10週間の試験終了時においても、コントロール群は正常群に比べて有意に高い血漿および赤血球中TBARSを示し、臓器中TBARSも高い傾向を示した。これに対して、GCE群は全ての臓器中TBARSが正常群と同レベルを示した。特に肝臓中のTBARSは正常群より低下傾向を示した (表1)。

活性酸素やフリーラジカルは、糖尿病の発症に関わっているだけでなく、病態の進行に

表1 10週間のGCE摂取後のSTZ糖尿病ラットの血漿、赤血球、肝臓、腎臓および膵臓中過酸化脂質濃度

	TBARS (nmol/mg タンパク質)		
	正常群	コントロール群	GCE群
血漿	0.051 ± 0.013	0.075 ± 0.013 ^a	0.047 ± 0.008 ^b
赤血球	0.055 ± 0.011	0.095 ± 0.013 ^a	0.055 ± 0.012 ^b
肝臓	0.331 ± 0.110	0.364 ± 0.077	0.252 ± 0.120
腎臓	0.378 ± 0.101	0.957 ± 0.475 ^a	0.451 ± 0.093
膵臓	0.039 ± 0.016	0.062 ± 0.016	0.040 ± 0.021

20時間の絶食下で採血および臓器摘出を行った。データは各群5匹の平均値±標準偏差を示した。aは正常群およびbはコントロール群に対する有意差を示す ($p<0.05$)。

伴って臓器での酸化傷害を増幅させ、種々の合併症を誘発する²⁻⁴⁾。この実験においても、STZ糖尿病ラットでは成長の悪化、血糖値の上昇とともに、血漿および赤血球中の過酸化脂質濃度が次第に増加した。一方、GCEの摂取は、糖尿病による酸化亢進に対して抑制作用を持つことが報告されているアミノグアニジン¹⁸⁾と同様に過酸化脂質の増加抑制を示した。また、糖尿病では生体内の酸化ストレスが増大し^{3, 19)}、タンパク質のグリケーションなどに起因する糖化ヘモグロビンが増加することも特徴の一つである²⁰⁾。この実験におい

ても糖化ヘモグロビンの減少が認められたが、これはGCEの抗酸化作用が酸化ストレスを抑制し、その結果として糖化ヘモグロビンの増加を抑制したと考えられた。

従って、ガマズミ果実の酸化傷害抑制効果は、ストレス負荷時だけでなく糖尿病態においても発揮されることが明らかとなった。このことは、ガマズミ果実が糖尿病の合併症予防にも有益なことを示唆している。

2. 糖尿病モデルにおける血漿中グルコース濃度¹⁰⁾

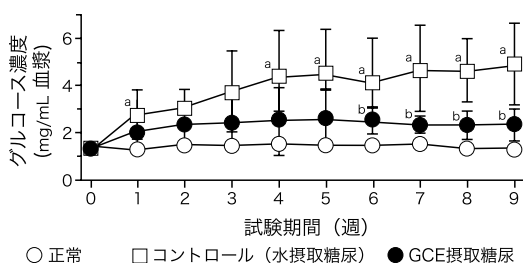


図2 STZ糖尿病ラットにGCEを摂取させた時の血漿中グルコース濃度の推移

正常群は健常ラットに水を摂取させた；コントロール群は糖尿病ラットに水を摂取させた；GCE摂取糖尿病群は糖尿病ラットにGCEを摂取させた。採血は非絶食下で行った。データは各群5匹の平均値±標準偏差で表した。aは正常群およびbはコントロール群に対する有意差を示す ($p<0.05$)。

この実験では、同時に非絶食下での血漿中グルコース濃度を測定した。正常群は試験期間中はほぼ一定の正常レベルで推移したのに対し、糖尿病群では試験開始後1週間で血漿中グルコース濃度が上昇した。コントロール群の血漿中グルコース濃度は増加を続け、正常群より有意に高い濃度を示した。GCE群の血漿中グルコース濃度も徐々に増加したが、コントロール群より低く、7週間以降では有意に低い濃度を示した(図2)。一方、これら糖尿病群の血漿中インスリン濃度は正常群に比べて有意に低下し、その傾向は試験終了まで持続した。

STZ は膵臓の β 細胞を破壊し、インスリン欠乏状態を生じるため、高血糖症状を引き起こす¹⁷⁾。それによってコントロール群の血漿中グルコース濃度が増大したのに対し、GCE 群ではその濃度増加が抑制された。インスリン分泌の低下はどちらも起こっていたことから、GCE 摂取による血漿中グルコース濃度の増大抑制は、インスリン分泌促進作用によるものではないことが示された。ポリフェノール類では、茶カテキンの血糖降下作用やアントシアニンおよびフラボノイドなどの糖代謝酵素阻害作用が知られている²¹⁾。このようなポリフェノール類の多くは、抗酸化作用を持っている。GCE 中のポリフェノール含量は没食子酸相当量で 53 mg/g (2.67 mg/g 果実) と比較的多いことから、GCE の作用はその中に含まれるポリフェノールによる糖代謝酵素の阻害作用である可能性が推察された。また、GCE の抗酸化成分が血糖降下作用に関与している可能性も予想され、ガマズミ果実の作用は糖尿病における血糖のコントロールにとっても有用であることが示唆された。

また、糖尿病による二次的な代謝異常として総コレステロールや中性脂肪が増加し、これはインスリンの投与や抗酸化剤の投与により改善される場合が報告されている²²⁾。この実験でも、糖尿病ラットの血漿中総コレステロールおよび中性脂肪濃度は次第に増加したのに対し、GCE 群では血漿中総コレステロール濃度の増加はほとんど認められず、中性脂肪濃度もコントロール群より低下傾向を示した。この結果は、ガマズミ果実の成分が脂質代謝にも何らかの作用を及ぼしていることを示唆している。

これらの結果より、ガマズミ果実は糖尿病によって生じる酸化傷害を抑制する作用を持ち、これは糖尿病の合併症の予防に有用であることが示され、さらに血糖の降下作用も有する可能性が明らかとなった。

3. 糖負荷試験²³⁾

STZ 糖尿病ラットの試験において、ガマズミ果実には酸化傷害抑制効果だけではなく血糖低下作用の可能性が認められたことから、ガマズミの血糖上昇抑制作用を詳細に検討する目的で、GCE を投与したラットにおける経口糖負荷試験を行った。

STZ 糖尿病ラットに水 (コントロール群)、GCE を低用量 (100 mg/kg) および高用量 (500 mg/kg) で 4 週間反復経口投与した。投与開始前および反復投与終了後、16 時間の絶食下でラットに経口糖負荷試験を行った。GCE 反復投与開始前には、正常群の血漿中グルコース濃度に比べて糖尿病群のグルコース濃度はすべて有意に高い濃度を示し、糖尿病ラット 3 群間に有意な差は見られなかった (図 3-A)。反復投

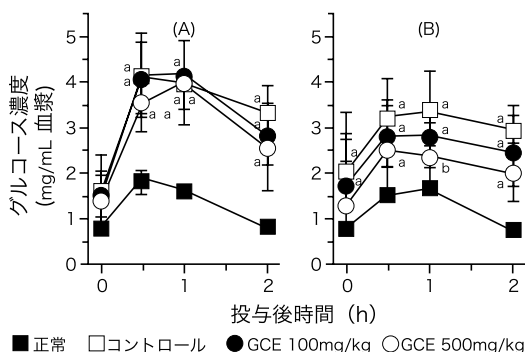


図3 GCE を摂取した STZ 糖尿病ラットに糖質を経口投与した時の血漿中グルコース濃度推移

(A) GCE 摂取前の糖負荷試験；(B) 4 週間の GCE 反復投与後の糖負荷試験。正常群は健康ラットに水を摂取させた；コントロール群は糖尿病ラットに水を摂取させた；GCE 100 mg/kg 群は糖尿病ラットに GCE を 100 mg/kg/d 反復経口投与した；GCE 500 mg/kg 群は糖尿病ラットに GCE を 500 mg/kg/d 反復経口投与した。全てのラットには 16 時間の絶食下で 2 g/kg のグルコースを単回経口投与した。データは各群 5 匹の平均値士標準偏差で表した。a は正常群および b はコントロール群に対する有意差を示す ($p < 0.05$)。

与終了時の糖負荷試験においても、コントロール群の血漿中グルコース濃度は4週間前と同じレベルの推移を示し、正常群より有意に高値を示した。しかし、GCE投与群はコントロール群よりも低い血漿中グルコース濃度推移を示し、低用量群より高用量群が低濃度の傾向を示した(図3-B)。また、いずれのSTZ糖尿病ラットにおいても糖負荷時の顕著なインスリン分泌は認められなかった。

GCE投与群の血漿中グルコース濃度は正常群よりも高値であったが、既にSTZ糖尿病ラットにGCEを自由摂取させた時に定常血糖値の上昇が抑制されることを観察しており、ガマズミ果実には血糖値の上昇を抑制する作用のあることが改めて明らかとなった。この血糖上昇抑制はGCEの摂取に基づくものであり、その作用はインスリン分泌を促進する、あるいはインスリン分泌能を回復させる作用とは異なることが推察できる。従って、この作用はGCEに含まれる成分の糖吸収抑制作用あるいは糖代謝酵素阻害作用であると予想され、ガマズミ果実成分のグルコシダーゼ阻害作用を検討した。

5. グルコシダーゼ阻害作用²³⁾

糖尿病モデル動物における実験により明らかとなったガマズミ果実の血糖上昇抑制作用を解明するため、ガマズミ・ポリフェノールの糖代謝酵素阻害作用を検討した。実験では、GCEから分離したシアニジン3-サンプビオシド(C3S)、シアニジン3-グルコシド(C3G)、5-カフェオイルキナ酸(クロロゲン酸:5-CQA)、4-メトキシ-カフェオイルキナ酸(4-メトキシクロロゲン酸:MeO-CQA)およびケルセチン(Qrt)²⁴⁻²⁶⁾の他に、対照として1-デオキシノジリマイシン(DNJ)およびシアニジン(Cy)を用いた。

ガマズミ・ポリフェノールの糖代謝酵素阻害活性を表2に示した。酵母由来の α -グルコシダーゼ、ラット小腸由来のマルターゼおよびブタ膵臓由来 α -アミラーゼに対してはガマズミ果実の主要色素であるC3Sがガマズミ・ポリフェノール5成分の中で最も強い阻害活性を示した。ラット小腸由来スクラーゼに対しては5-CQAが、ラット小腸由来イソマルターゼおよびグルコアミラーゼに対してはMeO-CQAが

表2 ガマズミ・ポリフェノールの糖代謝酵素阻害活性

	阻害活性 (IC ₅₀ , mM)					
	α -Glc ^a	Suc ^b	Mal ^b	Isomal ^b	Glcoamy ^b	α -Amy ^c
C3S	3.19	3.26	3.85	12.86	5.61	0.96
C3G	25.55	6.50	26.00	102.07	77.01	42.48
MeO-CQA	11.12	31.60	114.91	4.08	3.76	106.38
Qrt	29.41	141.51	12.67	7.89	237.26	162.20
5-CQA	82.18	1.40	24.87	23.46	5.07	37.16
DNJ	0.77	0.11	1.83	2.24	8.23	83.44
Cy	63.29	59.82	18.15	42.69	68.77	113.84

a は酵母由来, b はラット小腸由来, c はブタ膵臓由来の酵素を表す。

α -Glc, α -グルコシダーゼ; Suc, スクラーゼ; Mal, マルターゼ; Isomal, イソマルターゼ; Glcoamy, グルコアミラーゼ; α -Amy, アミラーゼ。

最も強い阻害活性を示した。その一方で、陽性対照とした DNJ は、グルコアミラーゼおよび α -アミラーゼ以外の糖代謝酵素に対してガマズミ・ポリフェノール以上の阻害活性を示した。また、アグリコンである Cy は、いずれの酵素に対しても C3S より阻害が弱い傾向を示した。C3G の阻害活性はアグリコンより強いものもあったが、C3S はほとんどの糖代謝酵素に対して C3G よりも強い阻害活性を示した。C3S 以外の二配糖体の阻害作用を検討してはいないが、これはアントシアニンのアグリコン、一配糖体および二配糖体の活性相関の可能性を示すものである。また、C3S にはキシロースが結合しており、糖の違いの関与も否定はできない。C3G はブドウやブルーベリーなど多くの果実に含まれている代表的なアントシアニン配糖体であるのに対し、C3S はガマズミを含むスイカズラ科植物など比較的分布範囲が狭い²⁷⁾。これらのことから、DNJ より活性は弱いものの、C3S に糖代謝酵素阻害活性があることは非常に興味深い結果となった。

一方、フェニルプロパノイドである 5-CQA およびその誘導体である MeO-CQA にもある種の酵素に対して阻害活性が認められた。クロロゲン酸誘導体にはインスリン分泌促進作用を有する化合物の報告もあるが²⁸⁾、5-CQA および MeO-CQA にはそのような報告はなく、また本試験において GCE の反復経口投与による血漿中インスリン濃度の増大も認められなかったことから、血糖上昇抑制効果は糖代謝酵素の阻害作用によることが強く推察された。また、一部のアシル化アントシアニン配糖体には α -グルコシダーゼ阻害作用が報告されていることから²¹⁾、我々も同様の内容を推察している。さらに、我々は 5 種類のポリフェノール類を GCE から同定し、これらはガマズミ果実中総ポリフェノール含量の半分を占めることを明らかにし

ている²⁵⁾。この中で最も多いポリフェノールは 5-CQA であり、次いで C3S であった。即ち、C3S はガマズミ果実の主要なアントシアニンであり、5-CQA は中心的なポリフェノールであり、これらの化合物はラジカル消去活性を有している²⁴⁾。この実験では、その主要なポリフェノールである C3S および 5-CQA が糖代謝酵素を阻害することに基づいて血糖上昇を抑制していることが示唆された。

これらの結果より、ガマズミ果実は酸化傷害を抑制し、また血糖上昇を抑制し得るなど生活習慣病の予防に有益な機能性を備えた果実であることが示された。

おわりに

ガマズミは、青森県で近年栽培が進められている新しい果実である。この果実は強い抗酸化活性を持ち、ストレス誘発性胃潰瘍などの生体内酸化傷害を抑制した。この酸化傷害抑制効果は、実験的糖尿病ラットにおいても過酸化脂質濃度の増加抑制という形で認められた。糖尿病における酸化ストレスの亢進は合併症の原因ともなるため、ガマズミの抗酸化作用は糖尿病合併症予防にも効果があると考えられる。

また、ガマズミを摂取した糖尿病ラットは非絶食下での血漿中グルコース濃度の増大が抑制され、糖尿病予防効果の可能性が示された。これは、糖負荷試験を行った場合にも認められ、ガマズミ・ポリフェノールには α -グルコシダーゼ阻害活性が認められた。これらの結果から、ガマズミ果実は抗酸化作用に加えて α -グルコシダーゼ阻害活性を備えた生活習慣病予防対策に有益な食素材といえる。今後は、果実加工に伴うこれら成分の安定化や効率的な抽出法などの検討が果実の実用化および有用化の課題となるが、機能性食品としての開発が期待される。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 吉川敏一, 市川寛: フリーラジカルと抗加齢医学. 日本老年医学会雑誌, **45**, 149-151, 2008.
- 2) K. Asayama: Free radicals and diabetes mellitus. *Modern Med.*, **45**, 1736-1742, 1990.
- 3) K. Dobashi: Lipid peroxide in plasma and tissues, and antioxidant enzyme status in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Jpn. Diab. Soc.*, **33**, 13-18, 1990.
- 4) Y. Nishio, A. Kashiwagi: Oxidative stress and diabetic vascular complications. *J. Clin. Exp. Med.*, **188**, 568-571, 1999.
- 5) R. Kikkawa, S. Maeda: The pathogenesis of diabetic complications and their therapeutic interventions. *Pharma Medica*, **15**, 81-86, 1997.
- 6) 厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室: 平成 19 年国民健康・栄養調査の概要, 2008.
- 7) R. Kawamori, N. Tajima, Y. Iwamoto, *et al.*: Voglibose for prevention of type2 diabetes mellitus: a randomised, double-blind trial in Japanese individuals with impaired glucose tolerance. *Lancet*, **373**, 1607-1614, 2009.
- 8) K. Iwai: Healthy benefits and bioactive phenolic compounds in the fruit of *Viburnum dilatatum* Thunb. in Recent Progress in Medicinal Plants, Vol.23, Phytopharmacology & Therapeutic Values V, V.K.Singh, J.N.Govil eds., Houston, Studium Press, LLC, p.121-140, 2008.
- 9) K. Iwai, H. Matsue: Ingestion of *Apios americana* Medikus tuber suppresses blood pressure and improves plasma lipids in spontaneously hypertensive rats. *Nutr. Res.*, **27**, 218-224, 2007.
- 10) K. Iwai, A. Onodera, H. Matsue: Inhibitory effects of *Viburnum dilatatum* Thunb. (gamazumi) on oxidation and hyperglycemia in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 1002-1007, 2004.
- 11) B. Izawa: in Illustrated Cyclopedia of Medicinal Plants of Japan; B. Izawa, eds., Tokyo, Seibundo-Shinkosha Publishing, p.136, 1980.
- 12) A. Lobstein, G. Haan-Archipoff, J. Englert, *et al.*: Chemotaxonomical investigation in the genus *Viburnum*. *Phytochemistry*, **50**, 1175-1180, 1999.
- 13) K. Machida, M. Kikuchi: Studies on the constituents of *Viburnum* species. XIX. Six new triterpenoids from *Viburnum dilatatum* THUNB. *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 692-694, 1999.
- 14) K. Iwai, A. Onodera, H. Matsue: Antioxidant activity and inhibitory effect of Gamazumi (*Viburnum dilatatum* THUNB.) on oxidative damage induced by water immersion restraint stress in rats. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **52**, 443-451, 2001.
- 15) 岩井邦久: 地域食資源を利用したヘルシー食品の開発: ガマズミ果実の機能性. *New Food Industry*, **44** (11), 33-39, 2002.
- 16) K. Iwai, A. Onodera, H. Matsue: Mechanism of preventive action of *Viburnum dilatatum* Thunb (gamazumi) crude extract on oxidative damage in rats subjected to stress. *J. Sci. Food Agric.*, **83**, 1593-1599, 2003.
- 17) E. Onishi, T. Yamada, K. Yamada, *et al.*: Comparison of experimental diabetes induced by streptozotocin and cyproheptadine. *Folia Pharmacol. Jpn.*, **87**, 105-112, 1986.
- 18) S.H. Ihm, H.J. Yoo, S.W. Park, *et al.*: Effect of aminoguanidine on lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Metab.*, **48**, 1141-1145, 1999.
- 19) J.W. Baynes: Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, **40**, 405-412, 1991.
- 20) S.K. Jain, R. McVie, J. Duett, *et al.*: Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes*, **38**, 1539-1543, 1989.
- 21) T. Matsui, S. Ebuchi, M. Kobayashi, *et al.*: Anti-hyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki can be achieved through the α -glucosidase inhibitory action. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 7244-7248, 2002.
- 22) D.H.F. Mak, S.P. Ip, P.C. Li, *et al.*: Alterations in tissue glutathione antioxidant system in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol. Cell. Biochem.*, **162**, 153-158, 1996.
- 23) K. Iwai, M.Y. Kim, A. Onodera, *et al.*: α -Glucosidase inhibitory and antihyperglycemic effects of polyphenols in the fruit of *Viburnum dilatatum* Thunb. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 4588-4592, 2006.
- 24) M.Y. Kim, K. Iwai, H. Matsue: Identification and antiradical properties of anthocyanins in fruits of *Viburnum dilatatum* Thunb. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 6173-6177, 2003.
- 25) M.Y. Kim, K. Iwai, H. Matsue: Phenolic compositions of *Viburnum dilatatum* Thunb. fruits and their antiradical properties. *J. Food Comp. Anal.*, **18**, 789-802, 2005.
- 26) K. Iwai, M.Y. Kim, A. Onodera, *et al.*: Physiological effects and active ingredients of *Viburnum dilatatum* Thunb fruits on oxidative stress. *BioFactors*, **21**, 273-275, 2004.
- 27) K. Brønnum-Hansen, S.H. Hansen: High-performance liquid chromatographic separation of anthocyanins of *Sambucus nigra* L. *J. Chromatogr.*, **262**, 385-392, 1983.
- 28) K.L. Johnston, M.N. Clifford, L.M. Morgan: Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *Am. J. Clin. Nutr.*, **78**, 728-733, 2003.

ムラサキ芋抽出物による神経細胞保護作用

佐々木 一憲^{*1} 韓 峻奎^{*2} 磯田 博子^{*3} 田丸 保夫^{*4} 脇之菌 勝^{*5}

^{*1}SASAKI Kazunori, ^{*2}HAN Junkyu, ^{*3}ISODA Hiroko (筑波大学大学院生命環境科学研究科・北アフリカ研究センター)

^{*4}TAMARU Yasuo (鹿児島県農産物加工研究指導センター), ^{*5}WAKINOSONO Masaru (株式会社トーシン)

KeyWords：カフェオイルキナ酸・ムラサキ芋・神経細胞保護作用・ATP

はじめに

種子島ムラサキ芋（品種名：ムラサキマサリ；図1）は、濃赤紫の皮色、紡錘形の形状を特徴とする品種として鹿児島地域特に種子島地域で多く栽培されている。その肉色は鮮やかな紫でアントシアニン色素の含有量が多いことがよく知られている。ムラサキ芋は青果用には適しないため、主にパウダー、ペースト、アントシアニン色素利用などの加工用に使われている。

一方、カフェオイルキナ酸（Caffeoylquinic acid, CQA）は、コーヒー豆から初めて単離された成分である。コーヒー豆の他に、サツマイモ、プロポリス等に多く含まれて成分である。CQAはコーヒー酸のカルボキシル基がキナ酸のヒドロキシル基とエステル結合した構造

を持つ化合物であり、カフェオイル基の数や位置に応じて、5-CQA（クロロゲン酸）、3,4-di-CQA、3,5-di-CQA、4,5-di-CQA、3,4,5-tri-CQA等のCQA類縁体が存在し、分類されている（図2）¹⁻³⁾。CQAの生理活性作用に関しては、抗酸化、抗腫瘍、抗高血糖、抗炎症、抗突然変異作用などが報告されている^{4,6)}。近年、筑波大学の磯田グループにより、CQAが細胞エネルギーであるATP（Adenosine triphosphate）産生を促進することにより神経細胞保護作用を誘導することを*in vivo*, *in vitro*実験にて明らかにした^{7,8)}。

本稿では、ムラサキ芋抽出成分のCQA含有量を測定し、その機能性評価として抗酸化・ATP産生促進・神経細胞保護効果の評価を行い、得られた結果を報告する。



図1 ムラサキ芋

1. ムラサキ芋のCQA含有量測定

ムラサキ芋のCQA類の抽出は、株式会社トーシンから供与された製品（表1）10gを用いた。粉末および個体試料は80%（v/v）-エタノール中でポリトロンホモジナイザーにて磨砕抽出後、ろ過し、残渣を80%-エタノールで洗浄しながら250mlに定容した。また、液体試料は、エタノール濃度80%となるようにエタノール

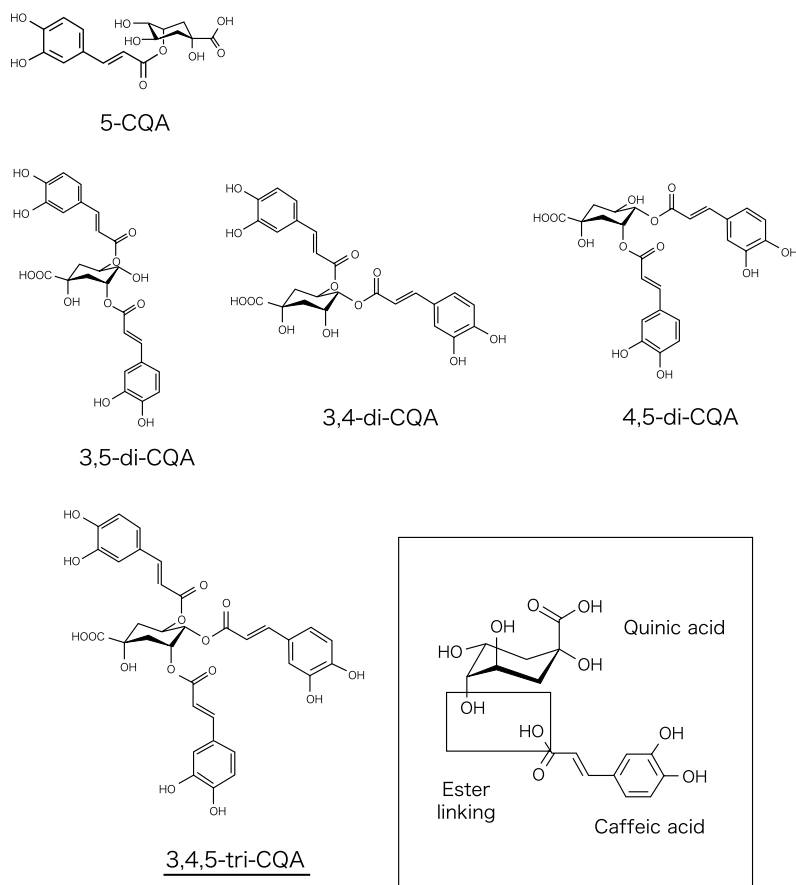


図2 カフェオイルキナ酸の構造

表1 ムラサキ芋製品

1	有機紅酢紅しぼり
2	ムラサキ芋 5 倍濃縮 (クエン酸入り) 100g
3	ムラサキ芋 5 倍濃縮 (クエン酸無し) 35g
4	アヤマラサキ残さ 1kg
5	ムラサキ芋搾汁液 180ml
6	ムラサキ芋パウダー (アヤマラサキ) 20g
7	ムラサキ芋パウダー (ムラサキマサリ) 250g
8	アヤマラサキ芋ペースト 200g
9	アヤマラサキ 全 (蒸しいも)
10	ムラサキマサリ 全 (蒸しいも)
11	紫紅源

を加えた後、ろ過定容した。得られた、抽出液を一定量取り、エタノールをロータリーエバポレーターで除去後、適宜希釈し分析に供した。測定は、Folin-Ciocalteu 法に用いて全ポリフェ

ノール量 (フェノール試薬陽性物質) の測定および HPLC により CQA 類の定量を行った。

その結果、ムラサキ芋を原料とした製品中のカフェオイルキナ酸の含有量は CQA 量には製品間で大きな差がみられ、生芋を搾汁して製造された製品で含量が低く、蒸しいも、ペースト、それを乾燥したパウダーおよび製造工程でクエン酸を添加後、濃縮された液状製品の含量が高かった。また、同じ製品でもムラサキサツマイモの品種によって含量が異なり、‘ムラサキマサリ’で高く、‘アヤマラサキ’で低かった (図3)。

さらに、製造工程の違い等により含量に差が見られることから、芋に含まれるポリフェノールオキシダーゼが加工工程で働き含量を低下さ

せているものと推定し、加熱調理がCQA等の含量に及ぼす影響を調べた。その結果、加熱調理を行うと、生からの抽出よりも約5倍のポリフェノール含量となった(図4)。ここで示したポリフェノール量は、ムラサキサツマイモに含まれるアントシアニン類も同時に測定しているため、カフェオイルキナ酸類をHPLCで測定した結果を図5に示した。CQA類の総量は、ポリフェノール含量と同様に加熱調理したもので高かった。

一方、CQA類の個々の含量についてみると加熱調理後のムラサキサツマイモには3種類のジカフェオイルキナ酸がほぼ同量含まれたのに対して、生では3,5-di-CQAが多く、他の2成

分は含量が低かった。

加熱調理により、ポリフェノールおよびCQA類の抽出量が増加したことから、ムラサキサツマイモ加工製品中のCQA含有量の差異には、ポリフェノールオキシダーゼが関与していることが示唆された。

以上のことからムラサキサツマイモから効率的にカフェオイルキナ酸類を抽出するには、加熱処理等ポリフェノールオキシダーゼを失活させる処理もしくは活性を抑制するような処理が必要と考えられた。

生理活性機能評価において、CQAの含有量が一番高い「ムラサキ芋5倍濃縮」を選び実験を行った。クエン酸入りの「ムラサキ芋5倍濃

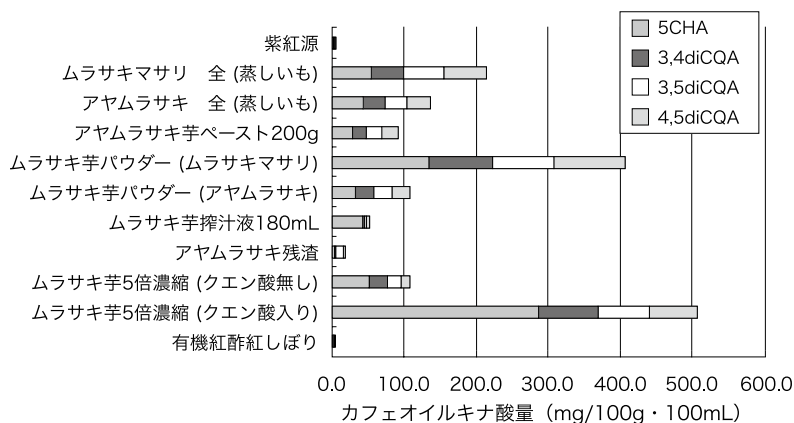


図3 製品中のカフェオイルキナ酸含量

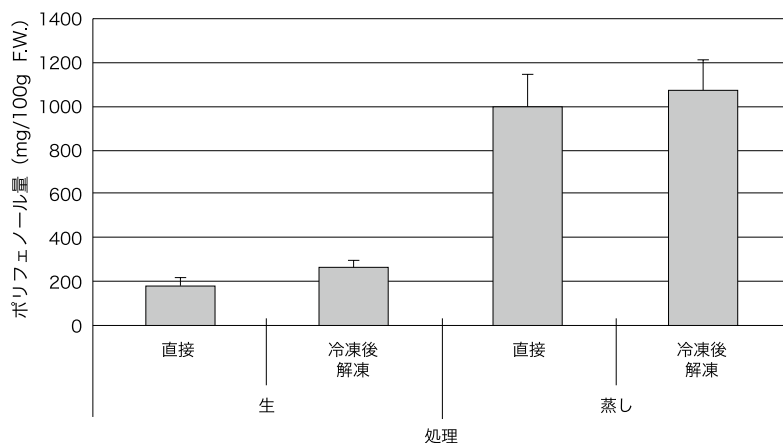


図4 加熱処理等がポリフェノール含量に与える影響

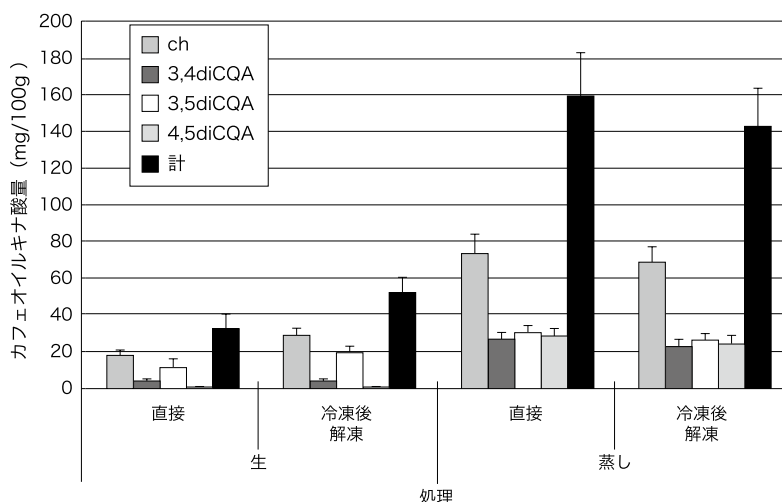


図5 加熱処理等がカフェオイルキナ酸類に含量に与える影響

縮」はクエン酸による ATP 産生促進効果が予想されるため、クエン酸無しの「ムラサキ芋 5 倍濃縮」を使用した。

本研究において用いた「ムラサキ芋 5 倍濃縮」はムラサキ芋搾汁液を珪藻土濾過機にて濾過し、煮詰めて 5 倍に濃縮したものである。

2.

ムラサキ芋抽出物の神経細胞内 ATP 産生促進効果

ムラサキ芋抽出物（ムラサキ芋 5 倍濃縮液）による神経細胞内 ATP 産生促進効果を評価するため、ヒト神経芽種細胞株である SH-SY5Y 細胞を用いた（図 6）。SH-SY5Y 細胞（ATCC, CRL-2266）は、1970 年にヒトの骨転移がんか

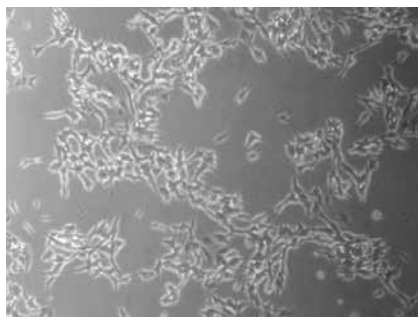


図6 SH-SY5Y 細胞

ら確立された神経芽種細胞株 SK-N-SH (ATCC, HTB-11) の亜系を三度 (SK-N-SH → SH-SY → SH-SY5 → SH-SY5Y) クローニングし、得られた細胞である。細胞の ATP 測定試薬を用いて ATP 産生量を測定した。細胞内の ATP 測定は、ルシフェラーゼによるルシフェリンの酸化反応を利用するホタル・ルシフェラーゼ発光法を用いて行った。その結果、ムラサキ芋抽出物処理により、SH-SY5Y 細胞の ATP 産生が増加した（図 7）。

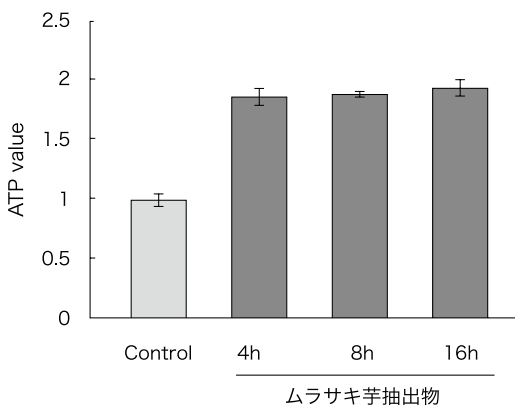


図7 ムラサキ芋処理による SH-SY5Y 細胞内 ATP 産生促進効果

3. ムラサキ芋抽出物の神経細胞増殖促進効果

ATPは生体のエネルギー代謝、恒常性の維持など細胞内の重要な反応に欠かせない物質として知られている。ATPは細胞増殖を誘導することから、本実験ではMTT法を用いて、ムラサキ芋5倍濃縮液における神経細胞増殖促進作用評価をSH-SY5Y細胞を用いた。MTT法とは生細胞内のフタル酸脱水素酵素によってホルマザンに還元されるMTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]を培養細胞に添加し、そのホルマザン産生量を570 nmの波長における吸光度にて換算する方法である。

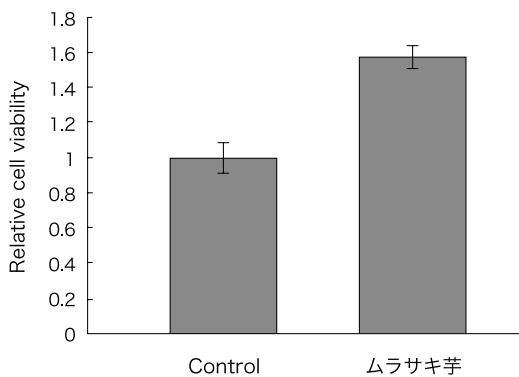


図8 ムラサキ芋5倍濃縮液の神経細胞増殖促進効果

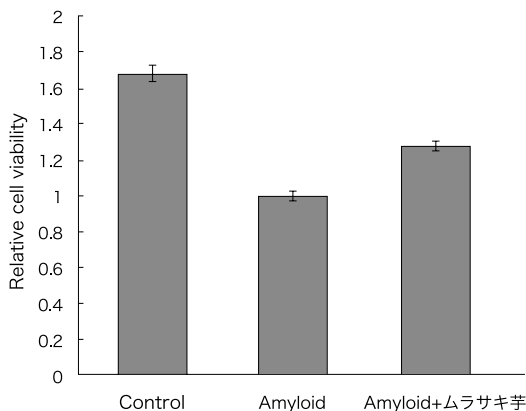


図9 ムラサキ芋5倍濃縮液の神経細胞保護効果

ムラサキ芋抽出物でSH-SY5Y細胞を処理した結果、コントロール（非処理細胞）と比べてムラサキ芋抽出物により処理した細胞の増殖率が促進された（図8）。

4. ムラサキ芋抽出物の神経細胞保護作用

アミロイドタンパク質（Amyloid β ；A β ）は、それ自身が産生する酸化ストレスによって、細胞膜脂質、タンパク質等を酸化させるタンパク質であり、アルツハイマー症の主な原因の一つとして知られている。さらに、細胞のミトコンドリア膜を酸化させ、ATP産生の減少を誘導し、神経細胞死を引き起こすことが報告されている⁹⁾。A β は、カルボキシル基末端側のアミノ酸残基数の違いによりA β_{25-35} 、A β_{1-40} 、A β_{1-42} 等に分類されているが、その中でA β_{1-42} が神経細胞に対する毒性が最も高いことが報告されていることから、本研究においてはA β_{1-42} を用いた¹⁰⁾。

本研究では、A β の酸化ストレスが引き起こす神経細胞死におけるムラサキ芋抽出物の抑制効果・神経細胞保護効果について調べた。A β 処理する前にムラサキ芋抽出物で処理した結果、ムラサキ芋処理により神経細胞保護効果が確認された（図9）。

5. ムラサキ芋抽出物の抗酸化活性

A β は細胞内に活性酸素種（Reactive oxygen species；ROS）を発生させ、酸化ストレスにより細胞にダメージを与える。ムラサキ芋抽出物が細胞内ATP産生促進と共にフリーラジカル消去作用による酸化ストレス抑制効果が期待できるため、本実験において抗酸化効果を調べた。ムラサキ芋抽出物の抗酸化性を評価するため、DPPH（1,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl）ラジカル消去法を用いた。DPPHラジカルは常温で安定

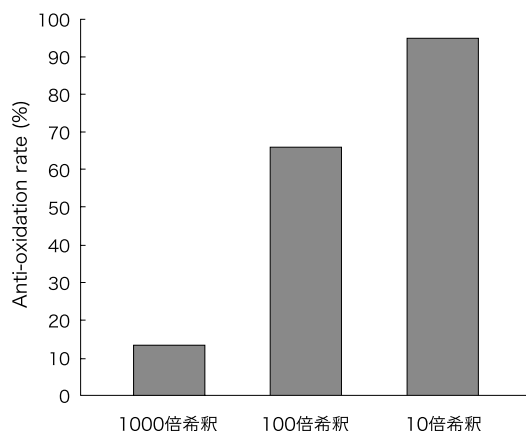


図 10 ムラサキ芋抽出物の抗酸化効果

的なラジカルで、還元物質の存在でラジカルが消去されることから、一般的に様々な化合物の抗酸化力の指標に用いられる方法である。

1000 倍、100 倍、10 倍希釈のムラサキ芋抽出物の DPPH フリーラジカル消去能を調べた結果、1000 倍希釈では 15%、100 倍希釈では 67%、10 倍希釈では 95% の非常に強いフリーラジカル消去能を示した (図 10)。

おわりに

ムラサキ芋抽出物によるヒト由来 SH-SY5Y 細胞における神経細胞保護作用は CQA による ATP 産生促進作用と酸化ストレス抑制効果によると考えられる。しかし、ムラサキ芋の特徴であるアントシアニン色素による神経細胞保護効果及び抗酸化効果が報告されたことから、CQA とアントシアニンの両成分により神経細胞保護効果が誘導される可能性は高い。

また、CQA が本稿で紹介した生理活性以外にも様々な生理活性を有することが我々研究グループの先行研究によって明らかになっている。中でも老化促進モデルマウスを用いた学習記憶改善作用に関して有用な知見が得られている。現在ムラサキ芋抽出物における学習記憶改善作用について研究中であり、結果は別途報告する予定である。今後もムラサキ芋の機能性及び有用性を明らかにするため研究を継続し、ムラサキ芋が神経疾患予防の機能性食品の素材となることを期待したい。

・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・

- 1) Hung T M, Na M, Thuong P T *et al*: Antioxidant activity of caffeoyl quinic acid derivatives from the roots of *Dipsacus asper* Wall. *J Ethnopharmacol* **108**: 188-192, 2006
- 2) Yoshimi N, Masamitsu S, Satoshi M *et al*: Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions. *Life Sciences* **80**: 370-377, 2007
- 3) Dos S M D, Gobbo-N L, Albarella L *et al*: Analgesic activity of di-caffeoylquinic acids from roots of *Lychnophora ericoides* (*Arnica da serra*). *J Ethnopharmacol* **96**: 545-9, 2005
- 4) Rie K, Masaru A, Osamu Y *et al*: Growth Suppression of Human Cancer Cells by Polyphenolics from Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) Leaves. *J. Agric. Food Chem.* **55**: 185-190, 2007
- 5) Yoshimoto M, Yahara S, Okuno S *et al*: Antimutagenicity of mono, di, and tri caffeoylquinic acid derivatives isolated from sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaf. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **66**: 2336-2441, 2002
- 6) Matsui T, Ebuchi S, Fujise T *et al*: Strong anti hyperglycemic effects of water-soluble fraction of Brazilian propolis and its bioactive constituent, 3,4,5-tri-O-caffeoylquinic acid. *Biol. Pharm. Bull.* **27**: 1797-1803, 2004
- 7) Isoda H, Han J, Shigemori H. Protective effect of di-O-caffeoylquinic acid on human-derived neurotypic SH-SY5Y cells against Alzheimer's disease amyloid-beta-induced toxicity. *Animal Cell Technology*, in press 2008.
- 8) Han J, Miyamae Y, Isoda H *et al*: NEUROPROTECTIVE EFFECT OF 3,5-DI-O-CAFFELOYLQUINIC ACID ON SH-SY5Y CELLS AND SAMP8 MICE THROUGH THE UP-REGULATION OF PGK1. (投稿中)
- 9) Miranda S, Opazo C, Larrondo L F *et al*: The role of oxidative stress in the toxicity induced by amyloid beta-peptide in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* **6**: 633-648, 2006
- 10) Li Y P, Bushnell A F, Lee C M *et al*: Beta-amyloid induces apoptosis in human-derived neurotypic SH-SY5Y cells. *Brain Res.* **738**: 196-204, 1996

チュニジア産オリーブ葉抽出物の ヒト白血病細胞分化誘導作用

中崎 瑛里^{*1} 韓 峻奎^{*2} 磯田 博子^{*3}

^{*1}NAKAZAKI Eri, ^{*2}HAN Junkyu, ^{*3}ISODA Hiroko (筑波大学大学院生命環境科学研究科・北アフリカ研究センター)

KeyWords：HL-60・細胞分化・オリーブ葉・Apigenin・Oleuropein

はじめに

オリーブ (*Olea europaea*) は、モクセイ科の常緑樹であり、その野生種は地中海沿岸からアフリカ北岸一帯に自生している。古くから、オリーブの実やその油、さらに葉は、栄養学的、薬学的、儀式的に幅広く利用されてきた¹⁾。さらに、オリーブは地中海地域において重要な産業作物であり、その地域だけで、全世界の約98%もの生産量を誇っており²⁾、経済的、栄養学的にその地域の人々に与える影響は大きい³⁾。その地域での伝統的な地中海式食事法は、野菜や果物、それに穀物など植物性食品の豊富な摂取、オリーブオイルやオリーブ製品の日常的な使用が特徴として挙げられる。その食事法によって、健康増進だけでなく、地中海地域での循環器疾患や大腸がん、乳がん、皮膚がんの発症率が他の地域に比べて低いことが疫学的に証明され、その主な要因として、オリーブオイル独特な味や香り物質であるいくつかの微量成分やオレイン酸などの不飽和脂肪酸が影響していると考えられている⁴⁾。また近年では、様々なハーブ茶の健康効果が期待されており、その中でもオリーブ葉は、地中海地域では伝統的なハーブ茶として一般的に飲用されていることから、オリーブ葉は様々な方面からそ

の健康増進への可能性が期待されている。

チュニジア共和国は、北アフリカのマグレブに位置しており、国土の北部は地中海に面し、南部はサハラ砂漠に接して広がっている。しかし、その面積は日本国土の5分の2程しかなく、そのため地中海からサハラ砂漠にかけての急激な気候の変化を有している。チュニジア共和国は、オリーブの栽培面積において世界第2位、オリーブの生産量において世界第5位を誇るオリーブ生産国である。急激な気候の変化とともに様々な植生をもつ、そのユニークな環境がバラエティーに富んだオリーブの生産を可能にし、また、土壌、水、気温、品種などによってその成分に多くの違いをもたらしている。

今回使用した細胞は、Human promyelocytic leukemia (HL-60) 細胞というヒト骨髓性白血病細胞で、白血病のモデルとして *in vitro* で汎用されている⁵⁾。HL-60細胞は二方向への分化能をもち、特に1,25-dihydroxyvitamin D₃によって単球様細胞に分化し⁶⁾、レチノイン酸 (all-trans-retinoic acid, ATRA) によって顆粒球様細胞に分化する⁷⁾。特に、ATRAによるHL-60細胞の分化誘導に関しては、急性前骨髓性白血病患者 (APL) の白血病細胞が *in vivo*, *in vitro* において終結分化することにより、治療薬とし

て用いられている^{8,9)}。ATRAは有効な細胞分化誘導治療薬であるが、その反面、薬物耐性や、副作用をもつことも報告されている^{10,11)}。しかし、細胞分化誘導療法はがん細胞にのみ作用して、がん細胞を正常様細胞に分化誘導するため、がん細胞ターゲッティング療法の1つとして考えられる。そのため、天然食資源から無害の分化誘導剤を探索することは、単に化学治療薬としてではなく、予防の観点からしても重要である。

本稿では、数種類のチュニジア産オリーブ品種を用いて、その分化誘導活性を論文にまとめたので紹介する。当研究結果はすでに日本農芸化学会英文誌(BBB)で発表している。

1. チュニジア産オリーブ葉からの抽出

本研究では、主要なチュニジア産品種である Chemchali (C1), Chemlali (C2), Chetoui (C3), Gerboui (G), Sayali (S), Zalmati (Z1), Zarrazi (Z2) という7種のオリーブ葉を使用し

た。これらの品種はそれぞれチュニジアの異なる地域で生育している。10 gの乾燥オリーブ葉を破碎処理し、その粉末を100 mlの70%エタノールに1週間つけた。その後0.45 µm フィルターでろ過し、サンプルとした。

2. オリーブ葉抽出物のヒト白血病細胞における増殖抑制効果

まず、それぞれのチュニジア産オリーブ葉抽出物のヒト骨髓性白血病細胞(HL-60)に対する増殖抑制効果について検討した。オリーブ葉抽出物の100, 500, 1000, 10000倍希釈液をHL-60細胞に添加し、37℃, 5% CO₂ インキュベーターにて、48時間インキュベートした結果、非処理細胞(コントロール)と比べて、すべてのオリーブ葉抽出物100倍希釈液が、HL-60細胞増殖抑制活性を示した(図1)。特にサンプルC2は最も高い活性を示し、その抑制率は60%以下であった。続いてZ1, Z2という順に活性を示した。また、オリーブ葉抽出

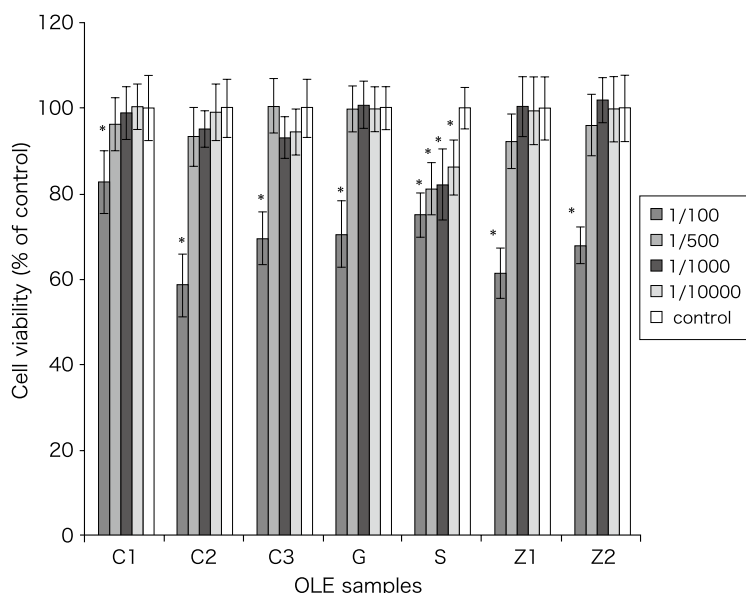


図1 オリーブ葉抽出物によるHL-60細胞増殖抑制活性

Chemchali (C1), Chemlali (C2), Chetoui (C3), Gerboui (G), Sayali (S), Zalmati (Z1), Zarrazi (Z2)

物で処理した HL-60 細胞を顕微鏡観察したところ、形態的变化が確認された。細胞増殖抑制の作用メカニズムのひとつとして分化誘導があげられることから¹²⁾、オリーブ葉抽出物には分化誘導効果があると考えられる。すべてのオリーブ葉抽出物で増殖抑制活性を示したのが 100 倍希釈液だったことから、以下の実験ではこの希釈率を使用した。

3. オリーブ葉抽出物のヒト白血病細胞における分化誘導作用

オリーブ葉抽出物が HL-60 細胞増殖抑制効果を有することが明らかになったことから、続いて分化誘導作用について検討した。実験は、ニトロブルーテトラゾリウム (NBT) 法とエステラーゼ二重染色を行った。まず、オリーブ葉抽出物の 100 倍希釈液を HL-60 細胞に添加し、37 °C、5%CO₂ インキュベーターにて、24 時間インキュベートした結果、すべてのオリーブ葉抽出物において分化マーカーであるニトロブルーテトラゾリウム (NBT) 還元効果が確認された (図 2)。したがって、すべてのオリーブ葉抽出物に HL-60 細胞分化誘導活性があることが明らかになった。特に、サンプル G 処理によって分化誘導された細胞割合は 90% 以上で、全オリーブ葉抽出物中、最も高かった。しかし、品種によっては分化誘導率に約 2 倍もの差があった。このことから、オリーブの品種や生育環境条件によってはその活性および含有成分が異なる可能性が示唆された。

続いて、HL-60 細胞が単球、顆粒球どちらの細胞に分化しているのかを判別するために、エステラーゼ二重染色を行った。 α -ナフ

チルアセテートは単球特異的のマーカーであり、HL-60 が単球へ分化されていると細胞内に黒い顆粒が確認される。一方、ナフトール As-D クロロアセテートは顆粒球特異的のマーカーであり、HL-60 が顆粒球へ分化されていると細胞内に赤い顆粒が確認される。そこで、オリーブ葉抽出物を HL-60 細胞に添加し、37 °C、5% CO₂ インキュベーターにて、24 時間インキュベートした結果、顕微鏡下で赤い顆粒が観察された (図 3)。以上の結果から、全オリーブ葉抽出物は HL-60 細胞の顆粒球への分化誘導作用を有することが明らかになった。また、オリーブ葉抽出物の HL-60 細胞増殖抑制効果は細胞分化誘導作用に関連していることが示唆された。

4. オリーブ含有ポリフェノールの分析

オリーブ葉抽出物が、HL-60 細胞分化誘導活性を有することから、その活性成分であると思われるフェノール成分について高速液体クロマトグラフ (HPLC) 分析によって測定、定量した。その結果、数種類のフラボノイド

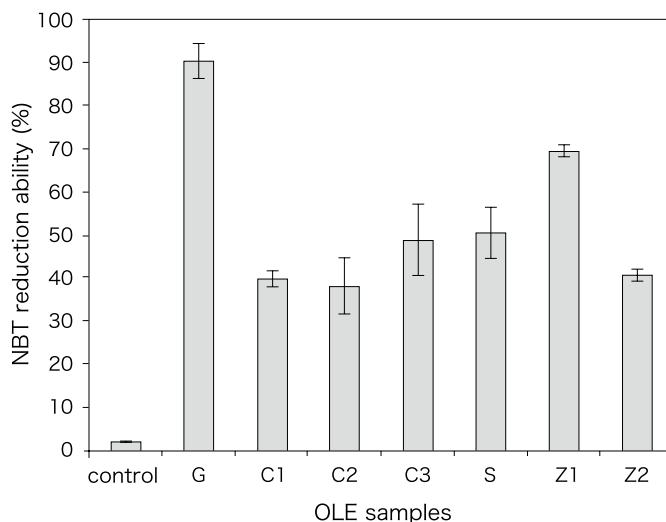


図 2 NBT 法によるオリーブ葉抽出物の HL-60 細胞分化誘導率
Chemchali (C1), Chemlali (C2), Chetoui (C3), Gerbouï (G), Sayali (S), Zalmati (Z1), Zarrazi (Z2)

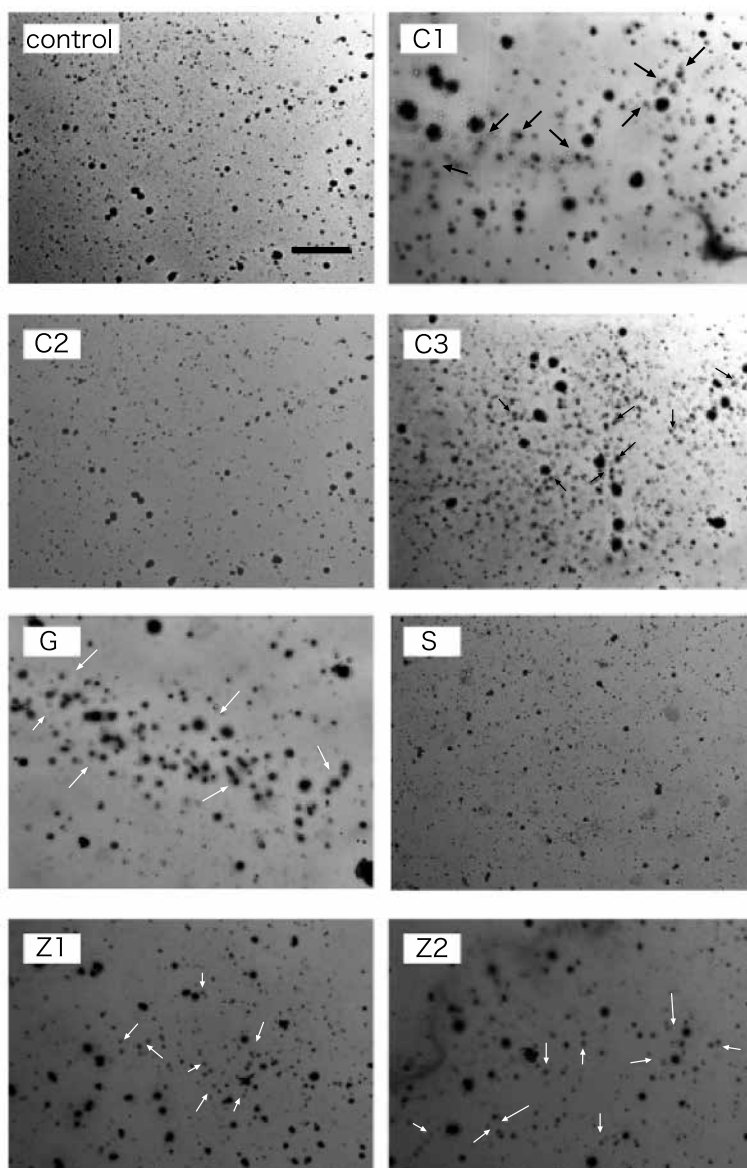


図3 エステラーゼ二重染色によるオリーブ葉抽出物の HL-60 細胞分化誘導活性

Chemchali (C1), Chemlali (C2), Chetoui (C3), Gerbouli (G), Sayali (S),
Zalmati (Z1), Zarrazi (Z2)

がいくつかのオリーブ葉抽出物中にごく少量含まれていたのに対し、すべてのオリーブ葉抽出物中に比較的高濃度で存在していたのは、Apigenin 7-glucoside と Oleuropein という2つの化合物であることが判明した。また、その2種類の化合物の含有量は、品種によって異なっていた (表1)。今回使用したオリーブは、品

種によって異なる気候や土地で生育していることから、オリーブ含有ポリフェノールは品種だけではなく、気候や水、土壌によっても影響を受けることが考えられる。

Apigenin 7-glucoside は、フラボンの一種である Apigenin に glucose が結合したフラボノイド配糖体である。そのアグリコンである

表1 Apigenin 7-glucoside と Oleuropein の各品種オリーブ葉含有量

Cultivar	Apigenin 7-glucoside		Oleuropein	
	Dry weight in leaves (g/kg)	Conc. in extract at 100-fold dilution (μM)	Dry weight in leaves (g/kg)	Conc. in extract at 100-fold dilution (μM)
C1	2.62	6.06	2.81	5.19
C2	1.93	4.46	1.31	2.41
C3	2.36	5.45	2.45	4.53
G	2.34	5.42	1.28	2.38
S	1.31	3.04	0.91	1.68
Z1	2.68	6.18	2.54	4.7
Z2	2.08	4.82	2.20	4.06

Chemchali (C1), Chemlali (C2), Chetoui (C3), Gerbouli (G), Sayali (S), Zalmati (Z1), Zarrazi (Z2)

Apigenin は植物色素の一種で、紫外線などから植物体を保護する働きをし、その主な生理活性としては、抗炎症、抗腫瘍などの効果が報告されている^{13,14)}。さらに、HL-60 細胞においてはアポトーシス誘導活性¹⁵⁾なども報告されている。また、Apigenin を含むフラボノイドは植物体中で、そのほとんどが配糖体の形で存在している。

Oleuropein は、1908 年に Bourquelot, Vintilescu によって発見されたオリーブの実や葉に多量に含まれる苦味成分である¹⁶⁾。その主な生理活性としては、抗酸化¹⁶⁾、抗菌^{1,17)}、抗炎症¹⁸⁾、

抗腫瘍^{19,20)}などの効果が報告されている。

この2種類の化合物が、すべてのオリーブ葉抽出物に比較的高濃度で含まれていたことから、これらの化合物が HL-60 細胞分化誘導作用に影響を与えていると推測された。

5. オリーブ含有ポリフェノールのヒト白血病細胞に対する分化誘導作用

HPLC 分析によって、オリーブ葉抽出物に含まれる化合物が明らかになったことから、Apigenin 7-glucoside と Oleuropein の HL-60 細

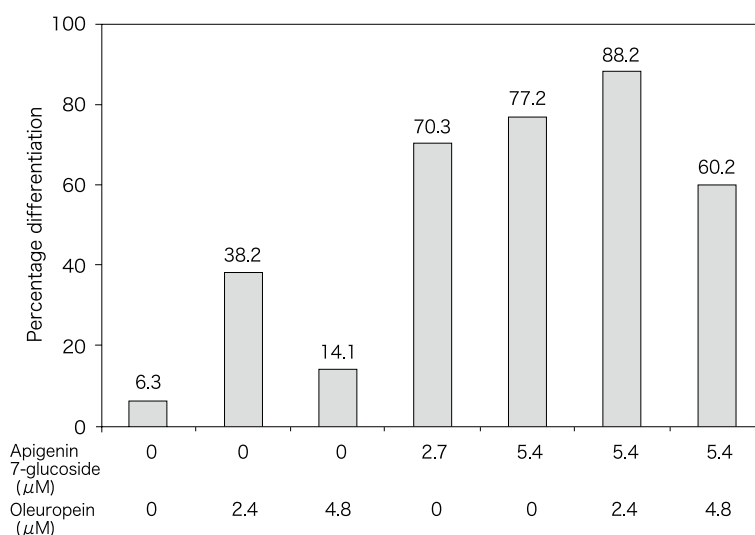


図4 エステラーゼ二重染色による Apigenin 7-glucoside と Oleuropein の HL-60 細胞分化誘導率

胞分化誘導作用について、これらの化合物を用いて検討した。サンプル G 処理によって、最も高い分化誘導作用を示したことから (図 2)、化合物の処理濃度はその HPLC 分析 (表 1) に準じて設定した。また、2つの化合物の相乗効果について検討するため、Apigenin 7-glucoside と Oleuropein の混合処理系の実験も行った。各濃度の Apigenin 7-glucoside と Oleuropein を HL-60 細胞に添加し、37 °C、5% CO₂ インキュベーターにて、24 時間インキュベートした結果、サンプル G 含有量と同濃度で処理した細胞の分化率が最も高く 88.2% であった (図 4)。また、Oleuropein は 2.4 µM 処理で HL-60 細胞分化誘導率は 38.2% という値だったが、その 2 倍の濃度 5.4 µM 処理ではその活性は下がり 14.1% だった。これは、HL-60 細胞に対する Oleuropein の至適濃度がより薄い濃度であることが考えられる。Apigenin 7-glucoside は 2.7 µM 処理より 5.4 µM 処理で分化誘導率が高く、その値は 77.2% であった。Apigenin も含まれるフラボノイドの中には HL-60 細胞分化誘導作用を有するものも多数報告されている^{21, 22)}。以上の結果から、HL-60 細胞分化誘導を引き

起こした活性成分は Apigenin 7-glucoside であり、Oleuropein はその活性を増減させることが明らかとなった。さらに、サンプル G が他のオリーブ葉抽出物に比べて、非常に高い分化誘導作用を有することについて、サンプル G に含まれる Apigenin 7-glucoside と Oleuropein の濃度の割合が最も至適濃度に近かったためと推測された。以上のことから、オリーブの品種や土壌、水などの生育環境条件がもたらした含有成分の違いが、その活性にも影響を与えることが示唆され、本研究の HL-60 細胞分化誘導作用において重要な要素であると考えられた。

おわりに

以上、チュニジア産オリーブ葉抽出物がヒト白血病細胞に与える分化誘導活性についてまとめた。本研究によって、食資源からのヒト骨髄性白血病細胞分化誘導物質の探索が非常に重要な可能性を有すると考えられる。今後は、分析されたオリーブ葉由来化合物による、白血病細胞分化誘導活性のさらなるメカニズム解明に努力していきたい。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Soni, MG., Burdock, GA., Christian, MS. *et al*: Safety assessment of aqueous olive pulp extract as an antioxidant or antimicrobial agent in foods. *Food Chem Toxicol.* **44**: 903-915, 2006
- 2) UN Food and Agriculture Organization. *FAO Yearbook Production.* **48**: 119-119, 1995
- 3) Japon-Lujan, R., Luque-Rodriguez, JM., Luque, de *et al*: Dynamic ultrasound- assisted extraction of oleuropein and related polyphenols from olive leaves. *J Chromatogr A.* **1108**: 76-82, 2006
- 4) Visioli, F., Galli, C.: Natural antioxidants and prevention of coronary heart disease: the potential role of olive oil and its minor constituents. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, **5**: 306-314, 1995
- 5) Kang, S. N., Chung, S. W., Kim, T. S.: Capsaicin potentiates 1,25-dihydroxyvitamin D3 and all-trans-retinoic acid-induced differentiation of human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *Eur. J. Pharmacol.*, **420**: 83-90, 2001
- 6) Tanaka, H., Abe, E., Miyaura, C.: 1 α ,25-dihydroxyvitaminD3 induces differentiation of human promyelocytic leukemia cells (HL-60) into monocytic macrophages, but not into granulocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **117**: 86-92, 1983
- 7) Breitman, T. R., Selonick, S. E., Collins, S. J.: Induction of differentiation of the human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) by retinoic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**: 2936-2940, 1980
- 8) Breitman, T. R., Collins, S. J., Keene, B. R.: Terminal differentiation of human promyelocytic leukaemia cells in

- primary culture in response to retinoic acid. *Blood*. **57**: 1000-1004, 1981
- 9) Huang, M. E., Ye, Y. C., Chen, S. *et al*: Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* **72**: 567-572, 1988
 - 10) Warrell Jr., R. P., Frankel, S. R., Miller Jr, W. H. *et al*: Differentiation therapy of acute promyelocytic leukemia with tretinoin (all-trans-retinoic acid). *N. Engl. J. Med.* **324**: 1385-1393, 1991
 - 11) Frankel, S. R., Eardley, A., Lauwers, G. *et al*: The "retinoic acid syndrome" in acute promyelocytic leukemia. *Ann. Intern. Med.* **117**: 292-296, 1992
 - 12) Mishima, S., Narita, Y., Chikamatsu, S. *et al*: Effects of propolis on cell growth and gene expression in HL-60 cells. *J. Ethnopharmacol.* **99**: 5-11, 2005
 - 13) Soares, R., Azevedo, I.: Apigenin: is it a pro- or anti-inflammatory agent? *Am. J. Pathol.*, **168**, 1762-1763, 2006
 - 14) Choi, E. J., Kim, G. H.: Apigenin causes G2/M arrest associated with the modulation of p21Cip1 and Cdc2 and activates p53-dependent apoptosis pathway in human breast cancer SK-BR-3 cells. *J. Nutr. Biochem.* **20**: 285-290, 2009
 - 15) Melissa, A., Vargo., Oliver, H., Vose., Frantisek, Poustka. *et al*: Apigenin-induced-apoptosis is mediated by the activation of PKC δ and caspases in leukemia cells. *Biochemical Pharmacology* **72**: 681-692, 2006
 - 16) Benavente-Garcia, J., Castillo, J., Lorente, A., *et al*: Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem.* **68**: 457-462, 2000
 - 17) Pereira, A. P., Ferreira, I. C. F. R., Marcelino, F. *et al*: Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules* **12**: 1153-1162, 2007
 - 18) Visioli, F., Poli, A., Galli, C.: Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med. Res. Rev.* **22**: 65-75, 2002
 - 19) Hamdi, H. K., Castellon, R.: Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. *Biochem. Biophys Res. Commun.* **333**: 769-778, 2005
 - 20) Somava, L. I., Shode, F. O., Ramnanan, P. *et al*: Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves. *J. Ethnopharmacol.* **84**: 299-305, 2003
 - 21) Tohru, Takahashi., Masuko, Kobori., Hiroshi, Shinmoto., *et al*: Structure-activity relationships of flavonoids and induction of granulocytic-or monocytic-differentiation in HL-60 human myeloid leukemia cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**: 2199-2204, 1998
 - 22) Sánchez, Y., Amrán, D., de, Blas, E. *et al*: Regulation of genistein-induced differentiation in human acute myeloid leukaemia cells (HL60, NB4) Protein kinase modulation and reactive oxygen species generation. *Biochem. Pharmacol.* **77**: 384-396, 2009

食用藍藻：スイゼンジノリ，イシクラゲ， および髮菜の生理機能

竹中 裕行^{*1} 山口 裕司^{*2}

^{*1} TAKENAKA Hiroyuki, ^{*2} YAMAGUCHI Yuji (マイクロアルジェコーポレーション株式会社 MAC 総合研究所)

KeyWords：イシクラゲ・食用藍藻・スイゼンジノリ・生理機能・髮菜

はじめに

大伴家持が詠んだ「雄神川 紅匂ふ娘子らし
葦附とると 瀬に立たすらし」(万葉集 巻
17.4021)。葦附は藍藻のアシツキノリ (*Nostoc
verrucosum*) で，万葉の時代から藍藻は食べら
れていたようだ。

現在，日本国内で入手することができる
食用藍藻は，スイゼンジノリ (*Aphanothece
sacrum*)，イシクラゲ (*Nostoc commune*)，そ
して髮菜 (*Nostoc flagelliforme*) の3種がある。
イシクラゲと髮菜は，アシツキノリと同じネン
ジュモ科 (*Nostocaceae*) ネンジュモ属 (*Nostoc*
属) である。これら食用藍藻は古くから食べら
れてきた。食用藍藻として最も有名なのはスピ
ルリナ (*Spirulina platensis*, *S. maxima*) であろ
うが，スピルリナはサプリメントや食品添加物
として利用されているものの食材
としての利用は今のところない。

スイゼンジノリは淡水産藍藻で
清浄な水中で生育する。一方，イ
シクラゲと髮菜は陸生藍藻で土や
石の表面に生育する。いずれも単
細胞藻であるが，細胞外に粘性の
多糖類を産生して群体を形成する。
各食用藍藻の成分分析値を表1に

示した¹⁻³⁾。3種ともタンパク質が20% 前後で
脂質が0.5% 以下である。特筆は糖質が50% を
超えていることである。繊維は1.1% (スイゼ
ンジノリ)，3.0% (イシクラゲ)，1.9% (髮菜)
と少ない。ところが，スイゼンジノリおよびイ
シクラゲにおいては，それらに含まれる難消化
性多糖類が食物繊維として働くことが報告され
ている^{4,5)}。イシクラゲに含まれる難消化性多
糖類は33% にもなる。髮菜にも多糖類が多く
含まれており，これも食物繊維として作用する
ことが期待される。

近年，3種の食用藍藻について種々生理機能
が明らかになってきた。本稿では，それぞれの
生理機能について，著者らの研究成果を含めて
概説する。

表1 スイゼンジノリ，イシクラゲおよび髮菜の成分分析値¹⁻³⁾

栄養成分	含有率 (%)		
	スイゼンジノリ ¹⁾	イシクラゲ ²⁾	髮菜 ³⁾
水分	11.5	16.6	15.0
たんぱく質	21.8	19.6	21.4
脂質	0.1	0.1	0.5
糖質	52.4	55.2	56.8
繊維	1.1	3.0	1.9
灰分	13.1	5.5	4.4

1. スイゼンジノリ (*Aphanothece sacrum*)

スイゼンジノリは江戸時代から熊本(細川藩)と福岡(秋月藩)で、幕府への献上品として大切に保護・育成され、高級郷土料理食材として珍重されてきた。スイゼンジノリは、その特異な生理生態と分布により、1924年に熊本市出水神社境内が国指定天然記念物に指定されている。現在、食用スイゼンジノリは福岡県朝倉市の黄金川で養殖、販売されている。

スイゼンジノリの生理機能については、

- 1) コレステロール上昇抑制作用(脂質代謝),
- 2) 抗酸化作用,
- 3) ヒアルロニダーゼ阻害作用,
- 4) 細菌感染防御作用,
- 5) 抗ウイルス作用が報告されている。

1) コレステロール上昇抑制作用(脂質代謝)⁴⁾

スイゼンジノリに含まれる難消化性多糖類が食物繊維として作用し、脂質代謝に影響を及ぼすことが期待される。スイゼンジノリ抽出難消化性多糖類1.5%(スイゼンジノリ乾燥品5%に相当)を高コレステロール餌料に添加してラットに21日間投与した。スイゼンジノリ抽出難消化性多糖類の投与により、血清および肝臓総コレステロールの上昇が有意に抑制された。一方、糞中への排泄胆汁酸および中性ステロール量は有意に増加した。スイゼンジノリの難消化性多糖類が、脂質代謝に影響を及ぼすことが明らかとなった。

2) 抗酸化作用⁶⁾

ロダン鉄法によってスイゼンジノリの抗酸化作用が評価されている。スイゼンジノリメタノール抽出物の最終試料濃度0.02%で、抗酸化剤の α -トコフェロールやBHA(ブチルヒドロキシアニソール)よりも強い抗酸化活性を示した。ロダン鉄法は脂質過酸化の抑制を評価するもの

で、スイゼンジノリが脂質の過酸化を抑制することが示唆された。

3) ヒアルロニダーゼ阻害作用⁶⁾

ヒアルロニダーゼはI型アレルギーに深くかかわっており、アレルギー反応と炎症作用を引き起こすと考えられている。スイゼンジノリのメタノール抽出物について、最終濃度0.05%で強いヒアルロニダーゼ阻害活性が認められたと報告されている。ポジティブコントロールとして市販の抗アレルギー剤「トラニラスト」を用いているが、それよりも弱い活性であった。IC₅₀(50%阻害濃度)が算出されていないため、残念ながらどの程度のヒアルロニダーゼ阻害活性であるのかは明らかではない。

4) 細菌感染防御作用⁷⁾

著者らは、スイゼンジノリの細菌感染防御作用について評価した。スイゼンジノリ熱水抽出物を最大溶解濃度(1.0%)で精製水に溶解して試料とした。試料0.2mLを雄性ddYマウスに1日1回、7日間強制経口投与した。その後、リステリア菌(*Listeria monocytogenes*)を腹腔内接種(1.7×10^6 個)して3日後に脾臓中のリステリア菌数を測定した。スイゼンジノリ熱水抽出物投与群の脾臓中リステリア菌数は、対照群(精製水投与)のそれよりも低値を示した(表2)。スイゼンジノリ熱水抽出物の投与によってマクロファージやT細胞が活性化されてリステリア菌増殖抑制効果が得られたのではないかと考察している。

表2 スイゼンジノリ、イシクラゲおよび髪菜熱水抽出物のリステリア菌感染防御作用⁷⁾

	colonies/g of spleen ($\times 10^6$)*		
対照群	361	±	462
スイゼンジノリ投与群	78	±	104
イシクラゲ投与群	47	±	68
髪菜投与群	111	±	144

* 平均値 ± S.D. (1群10匹)

表3 スイゼンジノリ熱水抽出物の抗ウイルス活性⁸⁾

ウイルス	細胞毒性 (CC ₅₀ , µg/mL)	抗ウイルス活性 (IC ₅₀ , µg/mL)		選択指数 (CC ₅₀ /IC ₅₀)	
		A	B	A	B
HSV-2	2100	15	45	140	47
	6281*	<0.32*	1.23*	>20000*	5100*
IFV	1900	17	17	110	110

A：ウイルス接種時に試料を添加し 24 時間インキュベート

B：ウイルス接種後ただちに試料を添加

HSV-2：単純ヘルペスウイルス 2 型

IFV：A 型インフルエンザウイルス

* スイゼンジノリ熱水抽出物高分子画分

5) 抗ウイルス作用⁸⁾

スイゼンジノリ熱水抽出物について抗ウイルス活性試験が行われており、単純ヘルペスウイルス 2 型とインフルエンザウイルスに対して抗ウイルス作用が認められている。スイゼンジノリ熱水抽出物をさらに分画して得られた高分子画分には極めて強い抗ウイルス活性が認められている (表 3)。

2. イシクラゲ (*Nostoc commune*)

イシクラゲは、全国各地に生育しており、古くから食べられてきた。たとえば、沖縄県では「モーアサー」と呼ばれて祝い事などに利用されてきた。また、滋賀県では「アネガワクラゲ」と呼ばれて保存食として利用されてきた。沖縄県宮古島市では、早朝に小学校の校庭などで採取されたイシクラゲが市場で売られている。

2010 年 4 月 4 日にテレビ東京系列で放映された「日曜ビッグバラエティ：世界七大ミステリー人間の奇跡 SP」では、和歌山県でもイシクラゲが古くから食べられていて、和歌山県輩出の世界的な博物学者・南方熊楠博士 (1867-1941) がイシクラゲの食用について研究していたと伝えていた。

イシクラゲの生理機能については、

1) コレステロール上昇抑制作用 (脂質代謝)、

2) 細菌感染防御作用、

3) 抗菌作用、

4) 抗酸化作用が報告されている。

1) コレステロール上昇抑制作用 (脂質代謝)^{4,5)}

イシクラゲ乾燥粉末 5% あるいはイシクラゲ抽出難消化性多糖類 1.65% (イシクラゲ乾燥粉末 5% に相当) を高コレステロール餌料に添加してラットに 21 日間投与した。イシクラゲあるいはイシクラゲ抽出難消化性多糖類の投与により、血清および肝臓総コレステロールの上昇が有意に抑制された。一方、糞中への排泄胆汁酸および中性ステロール量は有意に増加した。イシクラゲ粉末およびイシクラゲ由来多糖類が食物繊維として作用した結果であると考察されている。

2) 細菌感染防御作用⁷⁾

著者らは、イシクラゲについても細菌感染防御作用を認めた。イシクラゲ熱水抽出物の最大溶解濃度 (2.5%) 水溶液を雄性 ddY マウスに 7 日間強制経口投与し、リステリア菌を腹腔内接種した 3 日後に脾臓中のリステリア菌数を測定した。イシクラゲ熱水抽出物投与群の脾臓中リステリア菌数は、対照群 (精製水投与) のそれよりも低値を示した (表 2)。イシクラゲの投与量とスイゼンジノリの投与量が異なるため、両藻での細菌感染防御活性の比較はできていない。

3) 抗菌作用^{9,10)}

イシクラゲの70%メタノール抽出物から、表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) とセレウス菌 (*Bacillus cereus*) に対して抗菌活性のある3化合物が単離されている⁹⁾。また、研究室でのイシクラゲ液体培養においては、培養液中から抗菌活性のある5化合物が単離されている¹⁰⁾。

4) 抗酸化作用^{11,12)}

イシクラゲは紫外線防御物質のMAAs (マイコスポリン様アミノ酸) とスキトネミンを含有しているが、MAAsには抗酸化活性が認められている¹¹⁾。また、イシクラゲは抗酸化能をもつβ-カロテンをはじめとするカロテノイドを含有している。特有のノストキサンチンも含有している¹²⁾。

3. 髪菜 (*Nostoc flagelliforme*)

髪菜は、中国で不老長寿の高級食材として、また「発財」と同じ発音から縁起のよい食材として利用されている。残念ながら日本国内では採取できないが、高級中華食材として販売されており購入することができる。2010年3月27日に日本テレビ系列で放映された「ぶらり途中下車の旅」で男性タレントが髪菜料理を紹介した。

髪菜は、その培養法が確立されて大量栽培が始まったので、近い将来栽培品の購入が可能になるものと思われる。

髪菜の生理機能については、

- 1) コレステロール上昇抑制作用 (脂質代謝),
 - 2) 細菌感染防御作用,
 - 3) 抗ウイルス作用,
 - 4) 免疫能増強作用が報告されている。
- 1) コレステロール上昇抑制作用 (脂質代謝)¹³⁾

表4 髪菜の血清脂質に及ぼす影響¹³⁾

	基本食群	対照食群	髪菜食群
コレステロール	43 ± 4	166 ± 11	124 ± 10*
HDL- コレステロール	43 ± 3	31 ± 4	28 ± 2
遊離コレステロール	25 ± 2	42 ± 3	34 ± 3*
トリアシルグリセロール	51 ± 3	81 ± 4	75 ± 3**
リン脂質	68 ± 5	98 ± 5	83 ± 6

* 対照食群に対して有意差あり, $p < 0.01$

** 対照食群に対して有意差あり, $p < 0.05$

著者らは、3%の髪菜粉末を含む高コレステロール飼料をラットに30日間投与して脂質代謝に及ぼす影響について検討した。髪菜の摂取により、血清および肝臓の総コレステロールとトリアシルグリセロールが有意に減少し (表4)、糞中胆汁酸およびコレステロールが有意に増加した。髪菜に含まれる多糖類が、イシクラゲやスイゼンジノリの難消化性多糖類と同様に食物繊維として作用したものと推察される。

2) 細菌感染防御作用⁷⁾

髪菜の熱水抽出物0.25%水溶液をマウスに7日間強制経口投与し、リステリア菌を腹腔内接種した3日後に脾臓中のリステリア菌数を測定した。髪菜熱水抽出物投与群の脾臓中リステリア菌数は、対照群 (精製水投与) のそれよりも低値を示した (表2)。この細菌感染防御作用は、スイゼンジノリやイシクラゲの投与量よりも少ないので、両藻よりも強いものであろうと推察される。今後、投与量を変えて検討する必要がある。

3) 抗ウイルス作用^{14,15)}

髪菜から新規の抗ウイルス活性多糖ノストフランが単離されている¹⁴⁾。ノストフランの抗ウイルス作用は、主としてウイルスの宿主細胞への吸着段階を選択的に阻害することが分かっている。ノストフランの抗ウイルス活性は、エンベロープを有するウイルス (インフルエンザウイルス, 単純ヘルペスウイルス1型, 2型, ヒトサイトメガロウイルス) に対して認められ

表5 ノストフランの抗ウイルス活性¹⁴⁾

ウイルス	細胞毒性 (CC ₅₀ , µg/mL)	抗ウイルス活性 (IC ₅₀ , µg/mL)		選択指数 (CC ₅₀ /IC ₅₀)	
		A	B	A	B
HSV-1	4900	0.37	>100	13000	<49
HSV-2	7800	2.9	7.7	2700	1000
HCMV	>10000	0.47	14	>21000	>710
IFV	8100	78	96	104	84

A：ウイルス接種時に試料を添加し 24 時間インキュベート

B：ウイルス接種後ただちに試料を添加

HSV-1：単純ヘルペスウイルス 1 型

HSV-2：単純ヘルペスウイルス 2 型

HCMV：ヒトサイトメガロウイルス

IFV：A 型インフルエンザウイルス

ている（表5）。

マウスを用いたインフルエンザウイルス感染モデルにおいて、髪菜熱水抽出物投与により感染マウスの体重減少や死亡率、ウイルス産生が抑制された。また、中和抗体を有意に増やしていた。さらに、オセルタミフルの単独投与では無効であった投与量でも、オセルタミフルと髪菜熱水抽出物の投与によってウイルス増殖阻害効果が認められた¹⁵⁾。

4) 免疫能増強作用¹⁶⁻¹⁸⁾

担腫瘍マウスに髪菜熱水抽出物を投与して腹腔内マクロファージ数を測定したところ、髪菜熱水抽出物の投与によりマクロファージ活性が有意に増加していた（図1）¹⁶⁾。髪菜がマクロ

ファージ活性に作用することが示唆された。マウスのインフルエンザ感染モデルにおいて、髪菜熱水抽出物の投与により糞便中のIgA（免疫グロブリンA）が増加した¹⁷⁾。糞便中IgAは腸管免疫（粘膜免疫）を反映しており、髪菜が腸管免疫（粘膜免疫）能を増強することが明らかとなった。

そこで、著者らは、髪菜熱水抽出物を成人女性5例（28～40歳）に投与して唾液中の分泌型IgA（s-IgA）を測定した¹⁸⁾。唾液s-IgA濃度は個体差が大きく、また心理的ストレスや運動などの要因により変動することが報告されている。そこで、個体差の影響を最小限にするために、髪菜熱水抽出物または水を摂取後5分お

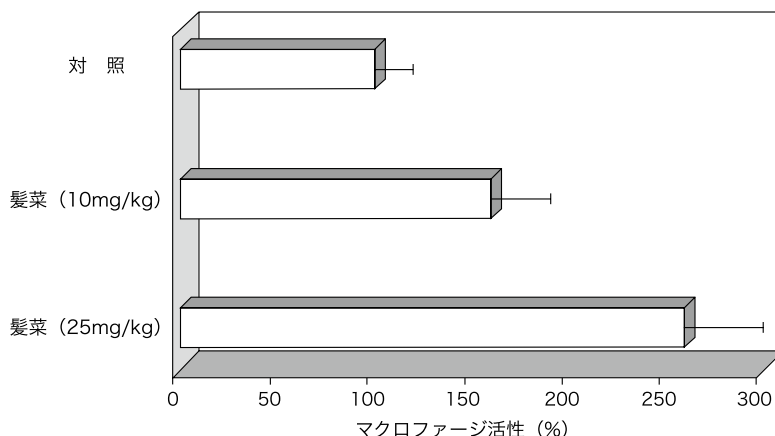


図1 髪菜熱水抽出物のマクロファージ活性におよぼす影響¹⁶⁾

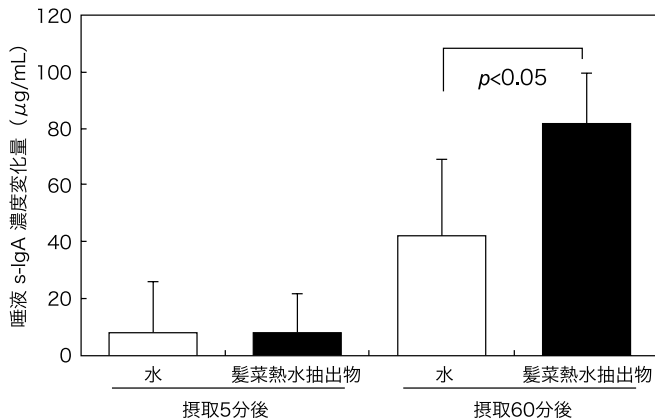


図2 髪菜熱水抽出物摂取前後の唾液 s-IgA 濃度の変化²⁰⁾
(摂取後 s-IgA 値 - 摂取前 s-IgA 値) の平均値 ± SD

び60分における、摂取前からの s-IgA 濃度の増減を比較した。

髪菜熱水抽出物あるいは水摂取後の増減した s-IgA 濃度を図2に示した。60分後において、髪菜熱水抽出物摂取での s-IgA 濃度は水摂取での s-IgA 濃度に比べ有意に増加していた。

髪菜が自然免疫（マクロファージ）および獲得免疫（中和抗体や IgA）を増強することが示唆された。

おわりに

本稿で紹介した3種の食用藍藻は長い食経験があり、食用として安全であると考えられる。さらに、髪菜については医薬品毒性試験法ガイドラインに準じた急性毒性試験および亜急性毒性試験が実施されている¹⁹⁾。ところが、藍藻には有毒のものも多い。これらの多くは藍藻毒（シアノトキシン）と称する毒素によるものである。

代表的な藍藻毒は、肝臓毒である環状ペプチドのミクロシスチンである。アオコ原因藻の一つミクロキスチス (*Microcystis aeruginosa*) から発見されたのが最初であるが、その後多くの藍藻から様々な誘導体が見つかった。イシクラゲや髪菜と同じネンジュモ属からも検出さ

れている。一方、近年では神経毒の BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) が種々藍藻に含まれていることも報告されている。

著者らは、食用藍藻中のミクロシスチンおよび BMAA の有無を分析した。その結果、いずれの食用藍藻にも BMAA は検出されなかった²⁰⁾。ミクロシスチンについては、髪菜では含有していないことを報告しており²¹⁾、またスイゼンジノリとイシクラゲについても検出されていない（論文投稿中）。

以上、食用藍藻のスイゼンジノリ、イシクラゲおよび髪菜の生理機能について概説した。

1996年にWHO（世界保健機関）は、「新たに発生した感染症（エボラ出血熱、新型インフルエンザなど）や、すでに克服されたと思われる感染症の再興（コレラ、結核など）が、世界的規模で大きな問題となっていることから、これらを『新興・再興感染症』の問題として総合的・重点的に対策を講じる」ために新たな部局を設けた。世界的常時監視網の構築、集団発生時に迅速かつ適切に対応するための体制確保、科学的で正しい知識や対策の普及に努めている。

WHOが2009年4月24日にブタインフルエンザ A/H1N1 (swine influenza A/H1N1) に関する Disease Outbreak News²²⁾ を発表し、6月11日に警戒レベルをフェーズ6に上げた「新型インフルエンザパンデミック」は記憶に新しいところである。我々人類は、今後も「感染症」の脅威にさらされるものと推察される。

医薬品のような即効性は期待できないが、細菌感染防御作用や抗ウイルス作用、さらには腸管免疫増強作用等を有する、本稿で紹介した食用藍藻を食生活に取り入れることが健康増進の一助になるものと確信している。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 桃田聖孝, 金子達雄: 新発見「サクラン」と伝統のスイゼンジノリ. 東京, ハート出版, 44, 2009
- 2) 湯本淑子, 大辻房枝, 東野道子: イシクラゲについての研究 (I) -生態的特性及び調理による表面色の変化について-. 岐阜女子大学紀要 **18**: 63 - 67, 1988
- 3) 竹中裕行, 陳学潜: 陸生藻髮菜 *Nostoc flagelliforme* (藍藻) の生育観察と食用としての機能性. 藻類, **46**: 37-40, 1998
- 4) 石橋源治, 石松茂子, 沖田卓雄, 他: ラット血清コレステロール濃度の上昇抑制作用に及ぼす藍藻類 (イシクラゲ, 水前寺ノリ) の影響. 日本家政学会誌 **45**: 579-584, 1994
- 5) Hori K, Ueno-Mohri T, Okita T, *et al.*: Chemical composition, *in vitro* protein digestibility and *in vitro* available iron of blue green alga, *Nostoc commune*. *Plant Foods Hum. Nutr.* **40**: 223-229, 1990
- 6) 桃田聖孝, 岡本智伸, 笹田直繁, 他: 日本固有種ラン藻・スイゼンジノリ (*Aphanothece sacrum* (Sur.) Okada) の培養および構成単糖と機能性の検索. 九州東海大学農学部紀要 **24**: 37-43, 2005
- 7) 山口裕司, 内藤正之, 西尾恵里子, 他: 食用藍藻: 髮菜 *Nostoc flagelliforme*, イシクラゲ *Nostoc commune*, およびスイゼンジノリ *Aphanothece sacrum* のマウスにおける細菌感染防御作用の検討. *Algal Resources* **1**: 61-62, 2009
- 8) 抗ウイルス組成物と, これを含有する抗ウイルス医薬製剤, 飲食物, 食品添加物及び飼餌料. 特許公開 2008-162947, 2008
- 9) Jaki B, Heilmann J, Sticher O: New Antibacterial Metabolites from the Cyanobacterium *Nostoc commune* (EAWAG 122b). *J. Natural Products* **63**: 1283-1285, 2000
- 10) Jaki B, Orjala J, Heilmann J, *et al.*: Novel Extracellular Diterpenoids with Biological Activity from the Cyanobacterium *Nostoc commune*. *J. Natural Products* **63**: 339-343, 2000
- 11) 坂本敏夫, 私信
- 12) Takaichi S, Maoka T, Mochimaru M: Unique Carotenoids in the Terrestrial Cyanobacterium *Nostoc commune* NIES-24: 2-Hydroxymyxol 2' -Fucoside, Nostoxanthin and Canthaxanthin. *Curr. Microbiol.* **59**: 413-419, 2009
- 13) 竹中裕行, 石橋源治: 食用藍藻・髮菜 (*Nostoc flagelliforme*) のラット脂質代謝に及ぼす影響. 医学と生物学 **153**: 281-285, 2009
- 14) Kanekiyo K, Lee JB, Hayashi K, *et al.*: Isolation of an Antiviral Polysaccharide, Nostoflan, from a Terrestrial Cyanobacterium, *Nostoc flagelliforme*. *J. Natural Products* **68**: 1037-1041, 2005
- 15) 兼清健志, 林京子, 李貞範, 他: 食用藍藻髮菜由来産生多糖分子の構造と抗ウイルス活性. 薬学雑誌 **128**: 725-731, 2008
- 16) 竹中裕行, 隅谷利光, 伊藤均: 髮菜 (*Nostoc flagelliforme*) 熱水抽出物の担腫瘍マウスのマクロファージ活性. 医学と生物学 **135**: 231-234, 1997
- 17) 竹中裕行, 林京子, 林利光: 鳥型インフルエンザウイルスの経口接種時の腸管免疫機能に及ぼす髮菜熱水抽出物の効果. 日本薬学会第 129 年会講演ハイライト集 **33**, 2009
- 18) 竹中裕行, 榊節子, 山口裕司, 他: 食用藍藻・髮菜 (*Nostoc flagelliforme*) 熱水抽出物の粘膜免疫 (唾液分泌型 IgA) に及ぼす影響. 医学と生物学 **154**: 258-261, 2010
- 19) Takenaka H, Yamaguchi Y, Sakaki S, *et al.*: Safety Evaluation of *Nostoc flagelliforme* (nostocales, Cyanophyceae) as a Potential Food. *Food Chem. Toxicol.* **36**: 1073-1077, 1998
- 20) 竹中裕行, 久保拓也: 食用藍藻: 髮菜 (*Nostoc flagelliforme*), イシクラゲ (*Nostoc commune*), およびスイゼンジノリ (*Aphanothece sacrum*) の神経毒 BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) の分析. 医学と生物学 **153**: 176-179, 2009
- 21) 竹中裕行: 髮菜 (*Nostoc flagelliforme*) のミクロシスチン分析. 医学と生物学 **141**: 155-157, 2000
- 22) Influenza-like illness in the United States and Mexico, http://www.who.int/csr/don/2009_04_24/en/index.html

乳酸菌 SB88 によるアルコール性肝障害抑制作用

瀬川 修一*

*¹SEGAWA Shuichi (サッポロビール株式会社)

KeyWords：乳酸菌 SB88・アルコール性肝障害

はじめに

今から約 5000 年前に、古代メソポタミアでビールの原型になるものが作られたという記録があるように、酒は人類誕生以来人間と深い関わりを保ってきた。酒は各種の農産物から酵母によるアルコール発酵により作られるため、それぞれの地域の気候・風土に応じたさまざまなアルコール飲料が長い人類の歴史の中で開発されてきた。さらに、酒は「酔い」という神秘的な力を持っているため、宗教、祭事などと密接なかかわりを持ち、社会生活にあっては人生儀礼、社会儀礼として切り離せない媒体として用いられ、独特な飲酒文化が創出されてきた。

しかしながら、現代のような日常飲酒の時代では、酒はいつでも安価に手に入ることができるようになった。その結果として飲酒量の増大に伴うアルコール中毒、肝機能障害などの健康上の弊害といった問題が浮上してきている。

酒を適度に飲むことは飲み過ぎや、まったく飲まないよりも、死亡率が低くなるという J カーブ効果が報告されている。また、現代のストレス社会において、酒は人々の心の悩みを軽く癒してくれる作用を持つ。このような酒の効

用を享受するためには、適正飲酒を心がけることが何よりも重要である。このため弊社では、酒のもつ特性を理解していただいた上で商品を楽しんでもらえるよう、「適正飲酒」へ向けた取り組みを進めている¹⁾。さらに適正飲酒へ向けた取り組み以外にもアルコールと健康の関係についての研究およびアルコールが生体に及ぼすネガティブな作用を緩和する食品開発へ向けた取り組みは社会的意義があるものと考え、これまで研究開発を進めてきた。これまでの研究開発の取り組みから、弊社が保有する乳酸菌 SB88 (*Lactobacillus brevis* SBC8803) にアルコール性肝障害を抑制する効果が認められたので、本稿において紹介したい²⁾。

1. 乳酸菌 SB88 のアルコール性肝障害抑制効果

乳酸菌 SB88 のアルコール性肝障害に対する効果を検証する手段としてマウスにアルコールを投与する手法を用いた。雄性の C57BL/6 マウスに Lieber-Decarli の液体飼料を 4～5 週間摂取させることでアルコール性肝障害を発症させた。液体飼料は群間で摂餌量が同じとなるようにベアフィーディングを行った。乳酸菌 SB88 は凍結乾燥菌体を蒸留水に懸濁し、胃

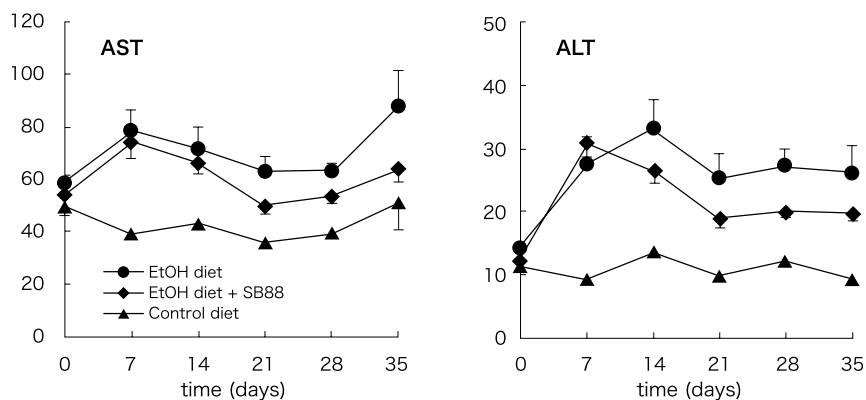


図1 エタノール投与マウスの血清 AST, ALT レベルの推移

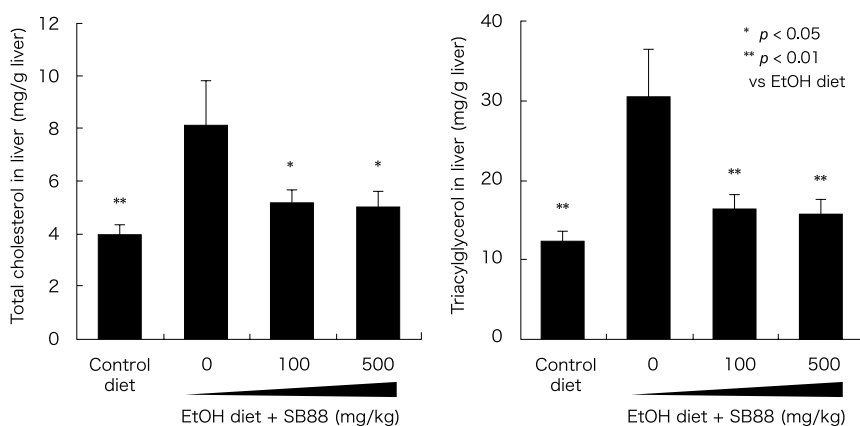


図2 エタノール投与マウス肝臓中の総コレステロールおよびトリグリセリド量

ゾンデを用いて毎日所定量をマウスに投与した。肝機能障害の指標として広く知られている血清トランスアミナーゼ (AST, ALT) はアルコール投与開始から急速に上昇するが、乳酸菌 SB88 を投与したマウスの血清トランスアミナーゼの上昇は対照群と比較して小さかった (図 1)。さらに Lieber-Decarli 飼料の長期投与は肝臓における脂肪肝の発症が報告されているが、本実験においても肝臓中総コレステロール、トリグリセリド蓄積量がコントロール飼料摂取マウスよりも有意に上昇した (図 2)。アルコール摂取マウスへの乳酸菌 SB88 の投与は肝臓総コレステロールおよびトリグリセリド蓄積量を有意に抑制した (図 2)。

2. 乳酸菌 SB88 によるアルコール性肝障害抑制のメカニズム

アルコール性肝障害の発症において腸管バリア機能の低下に伴う腸管からのグラム陰性菌由来のエンドトキシンの門脈を介した肝臓への移行が一つの原因であると考えられている³⁾。エンドトキシンの肝臓への移行は肝臓に存在するマクロファージであるクッパー細胞を活性化し、肝臓における TNF- α , IL-1, IL-6 などの炎症性サイトカインの発現が亢進する。今回の実験においてもアルコール飼料の投与により対照群の肝臓における TNF- α mRNA 発現は亢進した。一方、乳酸菌 SB88 の投与はアルコール摂

取による TNF- α の発現を抑制した (図 3)。

エタノールは腸管のバリア機能を低下させ、エンドトキシンの肝臓への移行を増加させることが報告されている⁴⁾。このことから、乳酸菌 SB88 によるアルコール性肝障害の抑制作用は腸管から肝臓へのエンドトキシンの移行を抑制

するためであると推察している。乳酸菌 SB88 によるエンドトキシンの肝臓への移行阻害のメカニズムとしては、腸管バリア機能の向上および腸内のグラム陰性菌数の減少といったことが考えられる。我々は既に乳酸菌 SB88 が酸化ストレスによる腸管バリア機能の低下を抑制する

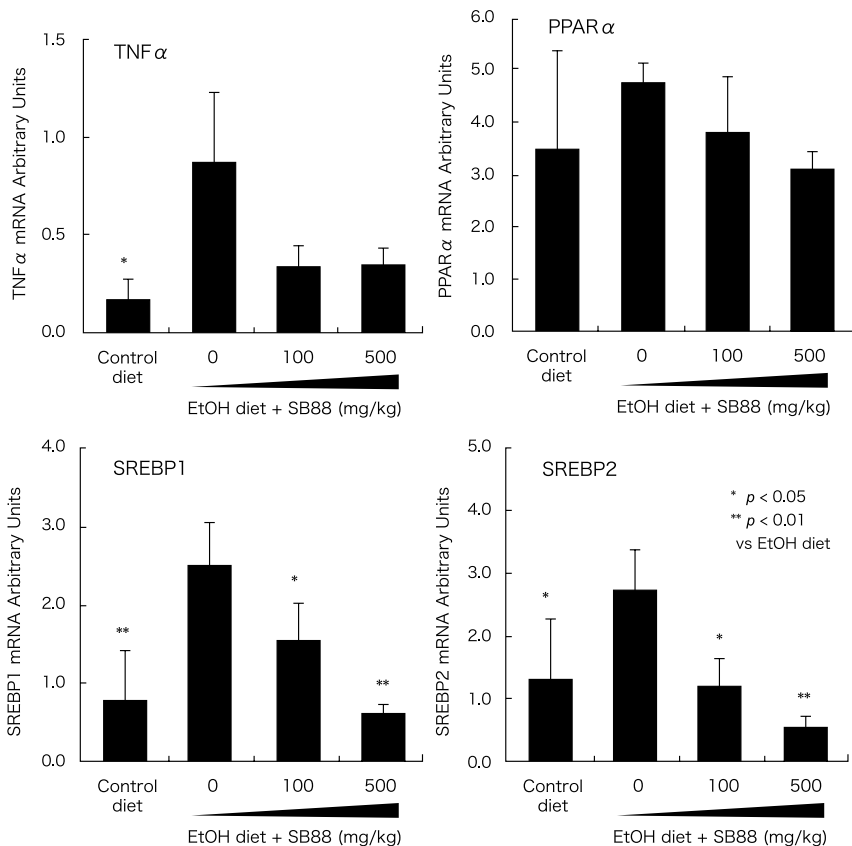


図 3 エタノール投与マウスの肝臓における TNF- α および脂質代謝関連遺伝子発現量

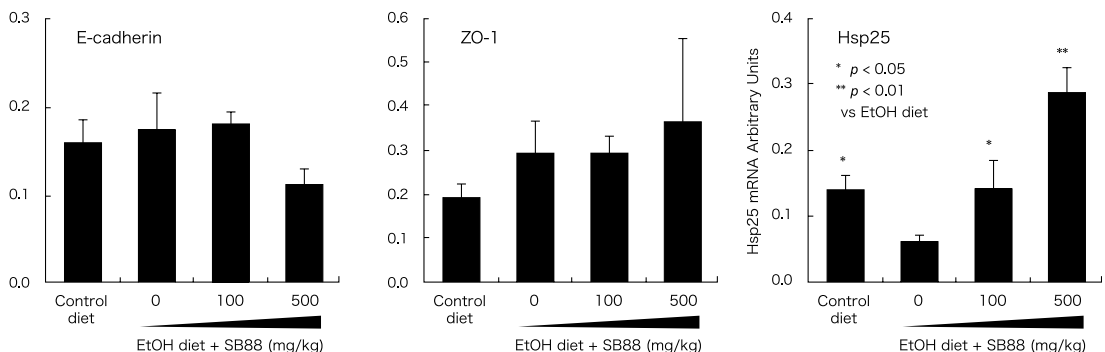


図 4 エタノール投与マウスの小腸におけるタイトジャンクション関連 (E-cadherin, ZO-1) および Hsp25 遺伝子発現量

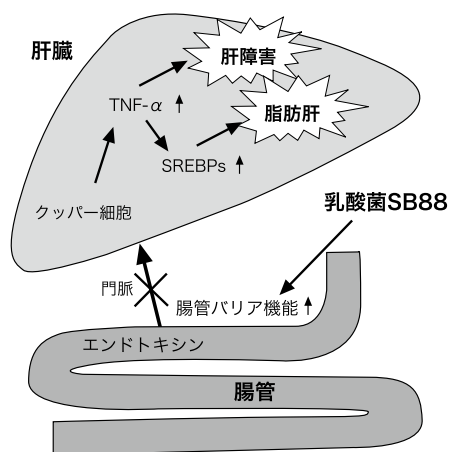


図5 乳酸菌 SB88 によるアルコール性肝障害抑制メカニズム

ことをマウス小腸を用いた *ex vivo* 実験により確認している。

誘導性熱ショックタンパク質は酸化ストレスや炎症ストレスなどに対して細胞保護作用を示し、腸管のバリア機能を増強させることが知られている⁵⁾。本実験において、小腸における誘導性熱ショックタンパク質 Hsp25 mRNA は乳酸菌 SB88 の投与により増加が認められた (図4)。しかしながらタイトジャンクションを構成する E-カドヘリンおよび ZO-1 mRNA 発現には変化が認められていない。このことから乳酸菌 SB88 は腸管のバリア機能を強化することで肝臓へのエンドトキシンの移行を阻害しているのではないかと推察している (図5)。

転写因子の SREBP-1 および SREBP-2 はそれぞれトリグリセリドおよびコレステロール合

成を促進する⁶⁾。本実験において肝臓におけるこれらの転写因子 SREBPs の発現はアルコールの摂取により亢進したが、乳酸菌 SB88 の投与はこれらの発現を抑制した。一方、転写因子 PPARα は脂肪酸酸化を促進させるが、乳酸菌 SB88 の投与は PPARα の発現を亢進しなかった (図4)。これら結果から、乳酸菌 SB88 による肝臓における脂肪蓄積の抑制は肝臓におけるβ酸化による脂肪酸分解促進によるものではなく、肝臓における脂肪酸の *de novo* 合成を抑制することに起因すると推察される。

おわりに

これまで乳酸菌はプロバイオティクスとして便通改善効果、免疫調節作用、腸内フローラのバランス改善などさまざまな健康効果が報告されてきたが、これらの効果はそのほとんどが消化管に作用するものである。本稿において乳酸菌 SB88 のアルコール性肝障害抑制作用を報告したように、乳酸菌は腸管バリア機能の向上といった作用を通して消化管以外の臓器にも健康効果を発揮している。このことから、適切な腸内環境を維持することはヒトの健康維持にとって極めて重要なことであると思われる。アルコール性肝障害はアルコール性脂肪肝→アルコール性肝炎→アルコール性肝硬変へと進展していく。ヒトのアルコール性肝障害は長期間にわたる適正水準を超えた過剰な飲酒に起因するため、日常の食生活の中でその発症を緩和するような食品の摂取は望ましいのではないかと考えている。

. 参考文献

- 1) サッポロビール株式会社ホームページ <http://www.sapporobeer.jp/tekisei/torikumi/index.html>
- 2) Segawa S, Wakita Y., *et al.*: Oral administration of heat-killed *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates alcoholic liver disease in ethanol-containing diet-fed C57BL/6N mice. *Int. J. Food Microbiol.* **128**: 371-377, 2008
- 3) Nanji A. A.: Role of Kupffer cells in alcoholic hepatitis. *Alcohol*, **27**: 13-15, 2002
- 4) Ferrier L., Bérard F., Debrauwer L., *et al.*: Impairment of the intestinal barrier by ethanol involves enteric microflora and mast cell activation in rodents. *Am. J. Pathol.* **168**: 1148-1154, 2006.
- 5) Malago J. J., Koninkx J. F., van Dijk J. E.: The heat shock response and cytoprotection of the intestinal epithelium. *Cell Stress Chaperones* **7**: 191-199, 2002
- 6) You M., Crabb D. W.: Molecular mechanisms of alcoholic fatty liver: role of sterol regulatory element-binding proteins. *Alcohol* **34**: 39-43, 2004

第 37 回食品の物性に関するシンポジウム

日 時：2010 年 9 月 4 日（土）および 5 日（日）

場 所：お茶の水女子大学（東京都文京区大塚 2-1-1）

主 催：食品の物性に関するシンポジウム運営委員会

参加費：6000 円（当日徴収）

参加申し込み：不要

プログラム 9 月 4 日

- 10:40～11:20 おいしさと物性（仮）……………畑江敬子（和洋女子大学）
- 11:20～12:00 食パン焼成過程におけるクラストの形成と熱及び物質移動…山田盛二（敷島製パン株式会社）
- 12:00～13:00 昼食休憩
- 13:00～13:40 嚥下障害者用介護食の物性について……………熊谷 仁（共立女子大学）
- 13:40～14:20 固体分散ペーストの力学特性と咀嚼嚥下評価……………佐川敦子（昭和女子大学大学院）
- 14:20～15:00 高齢者の口腔内状態の評価と適切な食品の調理……………戸田貞子（高崎健康福祉大学）
- 15:00～15:10 休憩
- 15:10～15:50 音響振動法による農産物の食感計測……………谷脇 満（京都大学大学院 農学研究科）
- 15:50～16:30 ファットスプレッドにおける粗大結晶発現機構と微細構造解析…田中礼央（雪印乳業株式会社）
- 16:30～17:10 糖類アモルファスマトリクスにおける分子間相互作用の解析…：今村維克（岡山大学工学部）
- 講演終了後 懇親会

プログラム 9 月 5 日

- 10:00～10:40 異なった殺菌条件で調製した脱脂粉乳のコロイド特性とカード形成に関する研究
……………宮本有香（武庫川女子大学短期大学部）
- 10:40～11:20 食品多糖の形成する weak gel 及び true gel の微細構造……………池田新矢（香川大学農学部）
- 11:20～12:00 マイクロ波加熱における加熱むらと食品の誘電物性……………酒井 昇（東京海洋大学）
- 12:00～13:00 昼食休憩
- 13:00～13:40 小麦粉の乾熱処理がパンケーキの性状に及ぼす影響……………小澤美貴（神戸女子短期大学）
- 13:40～14:20 イメージングによるパン生地およびパンの構造観察と物性への展開
……………杉山 純一（食品総合研究所）

【問い合わせ先】

香川大農 合谷祥一 Tel.&Fax. 087-891-3103, E-mail: gohtahni@ag.kagawa-u.ac.jp

京大院農 松村康生 Tel. 0774-38-3745, Fax. 0774-38-3746, E-mail: matsumur@kais.kyoto-u.ac.jp

ホームページ：<http://www.ag.kagawa-u.ac.jp/foodphysics/symposium.html>

米澱粉系新規高機能性食品素材 および添加剤の開発

藤田 直子^{*1} 阿久澤さゆり^{*2}

^{*1}FUJITA Naoko (秋田県立大学 生物資源科学部), ^{*2}AKUZAWA Sayuri (東京農業大学 応用生物科学部)

KeyWords：澱粉生成・米澱粉・アミロペクチン

1. 植物が生産する澱粉

澱粉は、植物があらゆる組織に蓄える炭水化物であり、地球上の全ての生物の生存の基盤となる物質である。植物の澱粉は、葉などのソース組織に蓄積する同化澱粉と、貯蔵組織に蓄積する貯蔵澱粉に大別されるが、我々が食品、加工品、工業品等として利用しているのは、胚乳、塊茎、根茎、子葉等に大量に蓄積する貯蔵澱粉である。エネルギー不足、炭酸ガスによる地球温暖化などの環境問題、我が国における食糧自給率の低下、食の安全性、人口増加にともなう地球レベルの食料不足などの食糧問題等の解決が急務である現在、植物が生産するこの有用な物質を、より有効に使っていくことが益々望まれている。

澱粉は、構成成分がグルコース（ブドウ糖）のみからなる重合体であり、 α 1,4 グルコシド結合を介した直鎖状のアミロースと α 1,4 グルコシド結合および α 1,6 グルコシド結合による分岐鎖を含むアミロペクチンから構成される。通常の作物の澱粉は、アミロペクチンが 6 割～8 割を占める主成分であり、アミロースは残りを占める。一方、いわゆる‘モチ’性を示す米

やトウモロコシは、アミロペクチン 100% であり、アミロースを含まない。また、アミロース 100% の澱粉は存在しない。ただし、トウモロコシの特定の酵素の変異体では、アミロース含量が 90% のものがある¹⁾。植物の祖先である多くのシアノバクテリアではグリコーゲンを蓄積し、これらも分岐分子であることから、分岐分子としてのグリコーゲンやアミロペクチンが古くから貯蔵多糖の主成分であることは間違いがなさそうである。

グリコーゲンとアミロペクチンは、構成成分は同一であるが、前者は水可溶性であるのに対し、後者は不溶性と、分子全体の大きさや分岐位置、鎖長が全く異なる。アミロペクチンは、その分岐位置が局所に集中した領域（アモルフラスラメラ）と、枝分かれがほとんどない、直鎖分子が直列に並んで、互いに二重らせんを形成して結晶性が高くなった領域（クリスタルラメラ）の繰り返しからなっている（図 1）。これらは、クラスター構造と呼ばれており、分岐位置がランダムで分岐頻度が高いグリコーゲンは明らかに異なる。

澱粉は、類い希な高分子（アミロペクチンの平均分子量が 10^{8-9} 、アミロースの平均分子量が 10^{3-4} ）であり、各分子の分子量も一定では

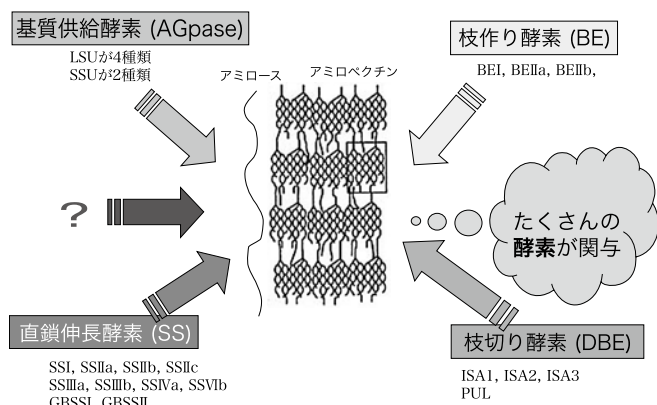


図1 イネの澱粉生成に関わる酵素（アイソザイム）

なく、いろいろな分子量、構造のものが混合しており、植物種、遺伝的背景、栽培環境によってもそれらは異なる。また、澱粉は粒を形成しており、澱粉粒の大きさも、植物種等によってさまざまである。一方、クラスターの周期は、いかなる植物種の澱粉でも9 nmと、一定であるという報告がある²⁾。さらに、水を含ませて熱をかけると糊化し、糊化した澱粉を放置すると老化という、他の高分子にはない独特の性質を示す。植物種等によってこれらの特性(物性)は異なる³⁾ため、人類は古くからの経験を生かし、用途に応じてその利用方法も変えてきた。

2. 澱粉生成に関連する酵素

澱粉の生合成には、 $\alpha 1, 4$ グルコシド結合の直鎖を伸長する酵素 (starch synthase, SS)、SSの基質であるADPグルコースを生成する基質供給酵素 (ADP-glucose pyrophosphorylase, AGPase)、 $\alpha 1, 6$ グルコシド結合を形成する枝作り酵素 (branching enzyme, BE) が関与することが古くから知られていた (図1)。一方、アミロペクチンの代わりに、分岐頻度が高く、可溶性のフィトグリコーゲンを胚乳に蓄積するトウモロコシ⁴⁾ やイネ⁵⁾ の *sugary-1* 変異体の研究から、余計な枝をトリミングしないと、正

常なアミロペクチンが形成されないことが分かってきた。この変異体の原因酵素が $\alpha 1, 6$ 結合を切断する枝切り酵素 (イソアミラーゼ, ISA) であったことから、澱粉生合成関連酵素の第4の酵素として枝切り酵素 (debranching enzyme, DBE) の関与が認知され始めた⁶⁾。これら以外にもホスホリラーゼ (phosphorylase) や不均化酵素 (disproportionating enzyme) など、澱粉生合成に関与する可能性がある酵素があり、これらは現在も

研究が進行中である (図1)。

高等植物は、その進化の過程で、これらの酵素を多様化させて多種類の酵素(アイソザイム)を獲得し、多くのバクテリアや原始的な藻類などが生産するグリコーゲンよりも複雑なクラスター構造を持つアミロペクチンの生産能力を獲得した。イネには、AGPaseの大サブユニットが4種類、小サブユニットが2種類、SSアイソザイムが10種類、BEアイソザイムが3種類、DBEアイソザイムが4種類 (ISAが3種類と基質特異性が異なるプルラーゼ (PUL) が1種類) の遺伝子が存在することが知られており、これらがイネのあらゆる組織、成熟ステージの澱粉の生合成に機能分担しながら関与していることになる (図1)。

澱粉生合成メカニズムの解明には、それらに関与する多数のアイソザイムの機能を明確にすることが必要である。これらに対して、我々は、これらアイソザイムをコードする遺伝子が欠損した変異体を単離し、それらの解析を行うことで、欠損したアイソザイムの機能を解明してきた。同時に変異体の胚乳に蓄積する澱粉が非常にユニークであることを見出した。これらは、正常なイネの澱粉とは成分や構造が異なり、澱粉を利用する上で重要となってくる物性にも多大な影響を与えることが明らかになった。

3. 澱粉合成関連酵素の変異体イネの解析

既に単離し、機能解明され、報告済みの変異体（一部組換え体を含む）イネは、SSI⁷⁾、SSIIa^{8, 9)}、SSIIIa¹⁰⁾、GBSSI¹¹⁾、BEI¹²⁾、BEIIb¹³⁾、ISA1⁵⁾、ISA2¹⁴⁾、PUL¹⁵⁾がある。単離した変異体のアミロペクチン構造への影響を調べる時、我々

が常套手段として用いる実験手法は、キャピラリー電気泳動法によるアミロペクチンの鎖長分布解析である（図2）。これは、澱粉の主成分であるアミロペクチンの $\alpha 1, 6$ 結合をシュードモナス由来のISAで分解して直鎖のみにし、蛍光色素で還元末端を標識し、それらをグルコースの重合度（DP）によって明確に分離し、各鎖長の割合を求める方法である。この手法を

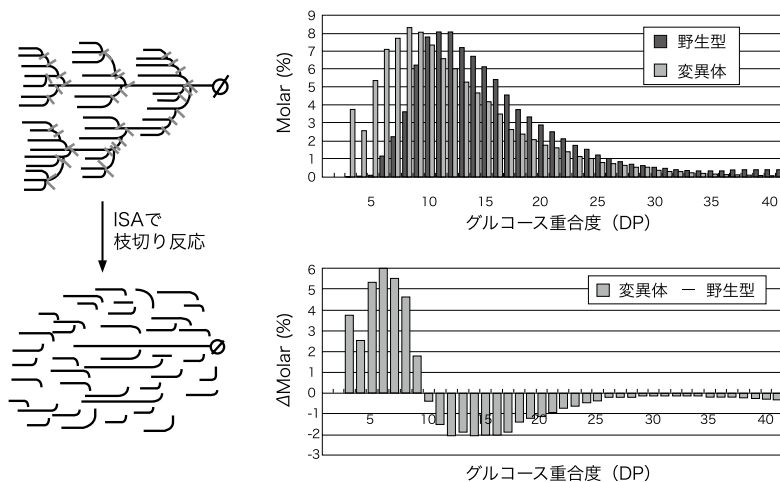


図2 アミロペクチンの鎖長分布解析

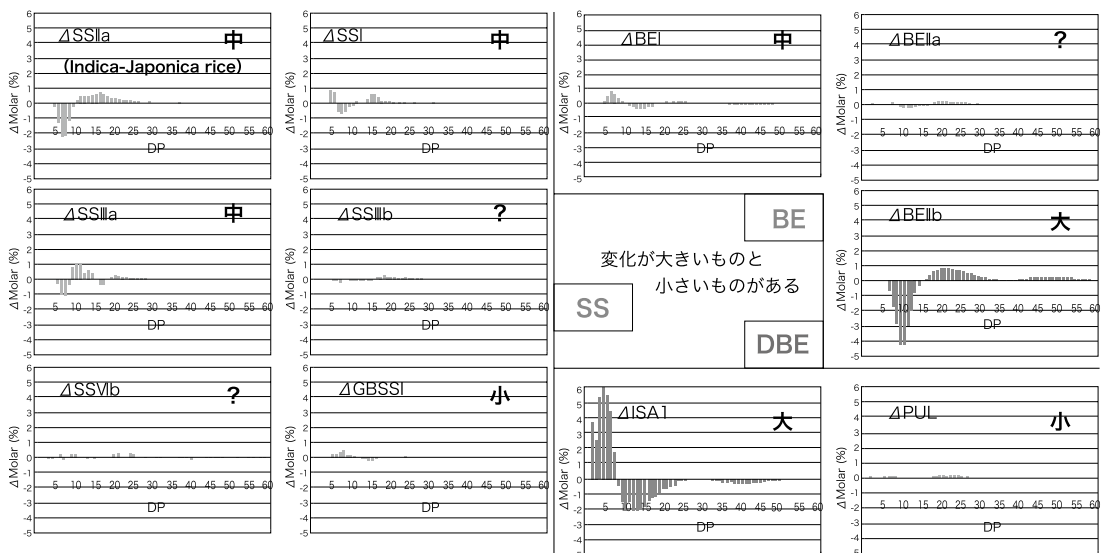


図3 既に単離されているSS, BE, DBEの各アイソザイムの胚乳アミロペクチンの鎖長分布パターン

Δ SSIa以外は変異体から野生型 (Japonica rice) を引いたパターンを示す (Japonica riceはIndica riceに対してSSIIaの変異体であるため)。縦軸は、すべて統一してあるために、野生型に対する変化が大きいものと小さいものが存在することが分かる。

用いれば、米1粒から DP6 ~ 80 程度までの長さの鎖長分布が明確になる。

変異体の各鎖長の割合から野生型のそれを引き算することで、各変異体の特徴を持ったパターンとして識別することができる(図2, 3)。欠失するアイソザイムによって、そのパターンが全く異なることから、各アイソザイムがアミロペクチンを構築する過程で機能分担が明確であることが分かる。これらの変化は、特定のアイソザイムが欠失した影響に加えて、他のアイソザイムの相補や、他面発現の影響も含んでいる。変異体によって、アミロペクチンの鎖長分布に多大な影響を与えるもの(大)と、中くらいのもの(中)、小さいもの(小)、また、野生型とほとんど差がないため、アミロペクチン構造へ与える影響が不明あるいは無いもの(?)と、さまざまである(図3)。図3中の?以外は、それらの変化が非常にコンシステントであり、同一環境で育成された変異体と野生型を用いれば、データはほぼ常に再現される。変化の大きい変異体は、欠失したアイソザイムのアミロペクチン鎖長分布への影響が多大であると同時に、他のアイソザイムではその機能を相補しきれなかったとも言える(図3)。

変化が大きかった *BEIIb* 変異体 ($\Delta BEIIb$) および $\Delta ISA1$ を例に取り上げて解説しよう。 $\Delta BEIIb$ (図4) は、古くからトウモロコシなどでも *amylose-extender* (*ae*) 変異体と呼ばれており、名前の通り、みかけのアミロース含量が増加する特徴をもつ澱粉変異体として単離された。一方、イネの変異体の詳細な分析から、アミロペクチンの構造が野生型に比べて大きく変化しており、即ち、DP12 以下の短鎖が激減し、DP13 以上の長鎖が激増していることがわかってきた¹³⁾。この構造の変化は、澱粉を超難糊化にし、通常は A 形である結晶性を B 形に変化させる。 $\Delta BEIIb$ に改めてイネの *BEIIb* 遺伝子を形質転換し、その発現量が様々に変化した

組換え体の分析から、このアイソザイムの発現が強いと、短鎖が増加し、結晶性も A 形になり、糊化温度が低下するが、弱いと短鎖が減少し、結晶性が B 形になり、糊化温度が上昇することが明確になった¹⁶⁾。これら *in vivo* の研究に

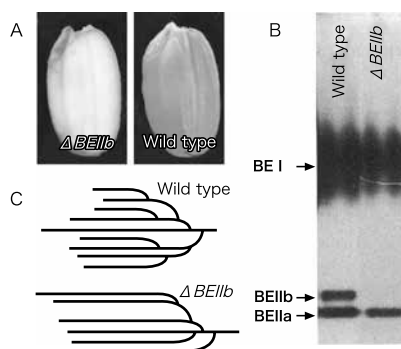


図4 $\Delta BEIIb$ (*ae*) イネの性質

- 玄米の形態。 $\Delta BEIIb$ の種子は、白濁している。
- 登熟種子からの抽出液の Native-PAGE/BE 活性染色。 $\Delta BEIIb$ は *BEIIb* バンドが欠失している¹³⁾。
- アミロペクチンの一部の予想構造。 $\Delta BEIIb$ は、野生型短い枝(結晶領域の枝)が少なく、平均鎖長が長い。

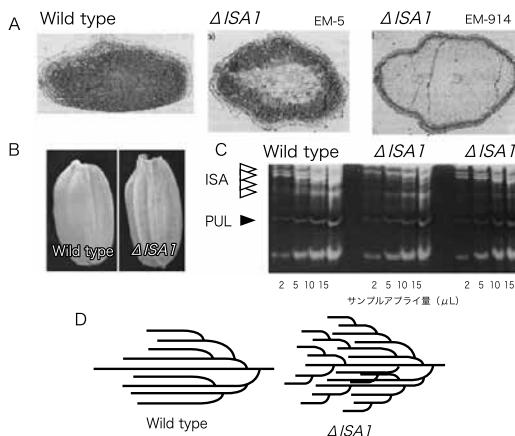


図5 $\Delta ISA1$ (*sug-1*) イネの性質

- 種子断片のヨウ素染色。 $\Delta ISA1$ には、ヨウ素では染色されない領域が存在する⁵⁾。
- 玄米の形態。 $\Delta ISA1$ の種子は、しわがよっている。
- 登熟種子からの抽出液の Native-PAGE/DBE 活性染色。 $\Delta ISA1$ は青い *ISA* バンドが欠失している。
- アミロペクチンの一部の予想構造。 $\Delta ISA1$ は、野生型より分岐頻度が高く、分散しており、鎖長が短い鎖が多い。

加えて、単離酵素による *in vitro* の研究結果^{17, 18)} も併せて、BEIIb は、アミロペクチンのクラスター内の短い枝を付加する機能を持っていることが明らかとなり、他のアイソザイム、即ち、BEI や BEIIa では、胚乳澱粉生合成時にその欠損を十分には相補できないために、多大な変化が現れたと考えられる。

$\Delta ISA1$ (図 5) も、古くからトウモロコシやイネで *sugary-1* 変異体として、胚乳に澱粉の代わりにフィトグリコーゲンと呼ばれる水溶性のグリコーゲン様の α グルカンが蓄積する変異体として知られていた。この変異体の原因酵素が、枝切り酵素の一つである ISA1 であることが分かってから⁴⁾、アミロペクチンの構築に枝切り酵素が必須であると考えられるようになった。 $\Delta ISA1$ の胚乳 α グルカンは、ある意味、 $\Delta BEIIb$ の澱粉とは真逆の性質を示す。即ち、野生型に比べて、DP9 以下の短鎖が激増し、DP10 以上の長鎖が激減する (図 3, 5)。また、正常澱粉の特徴であるクラスターとクラスターをつなぐ DP40 付近の鎖のピークがほとんど存在しないことから、アミロペクチンの特徴であるクラスター構造が崩壊していると考えられる。短鎖の増加は、糊化温度を低下させ、澱粉の結晶性も低下させる。水可溶性となり、糊化粘度も非常に低い¹⁹⁾。

以上のように、 α グルカンの分子構造によって、粘度、糊化温度等の澱粉物性に多大な影響を与えることがわかってきた。我々は、このような大きな鎖長分布の変化を示す変異体以外にも、変化の大きさはそれほどでもないが、コンシステントな変化を示す変異体を単離し分析してきた。澱粉生合成関連酵素の中の $\alpha 1,4$ グルカンを伸長する SS は、他の酵素にも増して最も多数のアイソザイムをもつ。イネでは 10 個の SS アイソザイム遺伝子をもつが、このうち、登熟種子の可溶性 SS 活性の 6 割を占める SSI と 3 割を占める

SSIIIa は、ジャポニカ米ではアミロペクチンの生合成に重要な 2 大アイソザイムであり、両者の変異体が単離され、その機能が明確になりつつある。

ΔSSI は、当初、いかなる植物でも単離されていなかったが、トウモロコシやイネでは、生化学的研究から、最も主要な酵素であることが知られていた。そのため、欠損すると致死になるのではないかとさえ考えられていた²⁰⁾。しかし我々は、レトロトランスポゾン *Tos17* が挿入された日本晴イネのミュータントパネルを用いて逆遺伝学的手法で 4 つの残存活性が異なる ΔSSI の単離に成功した⁷⁾。驚くことに、この変異体では、種子の形態や澱粉含量、澱粉粒の形態や澱粉の結晶性は、野生型と何ら変化がないことが示された。

一方、アミロペクチンの鎖長分布には、大きな変化ではないが、コンシステントな変化があり (図 3)、その変化は、残存活性が少ないほど激しかった。SSI は、胚乳以外にも葉身等の他の組織でもユニバーサルに発現している重要な酵素であるにもかかわらず、生育もそれほど野生型と変わりはない。これに対して、同様に *Tos17* の系で単離した $\Delta SSI IIIa$ イネは、種子重量や澱粉含量こそ野生型と変化が無かったが、独特の澱粉性質を示した。即ち、種子形態は、中央が濁る心白を示し、丸みを帯びた澱粉粒が存在した。また、アミロペクチンの鎖長分布においては、短鎖領域の変化のみならず、DP40 付近のクラスターを連結する長さの鎖が野生型の約 6 割に減少していた。さらに、アミロース合成を行う *GBSSI* 遺伝子の発現が増加したことで、アミロース含量が野生型の約 1.5 倍程度に増加していた。これらの澱粉構造の劇的な変化は、澱粉物性にも影響を与え、特に、熱糊化粘度が野生型に比べて非常に低くなるという特徴があった¹⁰⁾。

4. 応用研究への試み

以上、述べてきたように、澱粉生合成に関与するアイソザイムの変異体の単離によって、各々のアイソザイムの機能が明確になると同時に、それぞれ澱粉構造や物性が独特であることが明確になってきた。「遺伝子（アイソザイム）」、「澱粉構造」、「澱粉物性」およびそれらを利用する際の「利用特性」間の関係が明確になれば、将来、目的に合った性質を持ち合わせた澱粉を遺伝子改変あるいは欠損させることで、植物の生合成メカニズムを利用して澱粉をテラーメイド的に改変し、イネ等の植物の貯蔵組織に生産させられるであろう。また、澱粉は、食品・工業用などを含め、調理・加工食品のテクスチャーの改良、油脂の代替品、澱粉系増粘剤として約 3000 種類もの用途に利用されているが、このような例は他の生体物質では見あたらない。これまでは、主として正常な植物（野生型）の貯蔵澱粉が用いられてきたが、我々は、さらに優れた機能性、物性等を付加させるため、変異体等の澱粉を利用することを目指している。既に単離している変異体の中で、澱粉の性質に特徴のあった $\Delta SSIIIa$ を用いて、これを産業利用することを目的に、予備的な実験を行っている。

既に示したように、 $\Delta SSIIIa$ の胚乳澱粉は、



図6 変異体イネの大規模栽培
(秋田県井川町水田にて)

野生型イネより高アミロース（見かけのアミロース含量が約 30% で、野生型の約 1.5 倍）であり、熱糊化粘度が低い^{10, 21)}。また、種子重量や稔性等も野生型と比べて、著しく低下するわけではなく、既に農家さんの水田を借りて、大規模栽培にも成功している（変異体は、遺伝子組換え体ではないため、野外で栽培することへの規制は全くない、図 6）。また、これらは既に固定系統であり、心白という玄米の外見から変異体であることを見分けられるというメリットがあるため、仮に野生型が混入した場合でも、それらを排除することができる。

1) 咀嚼・嚥下機能低下者向け流動食への利用

我々は以上のような $\Delta SSIIIa$ のユニークな性質を利用して、一つは、高齢者を含む咀嚼・嚥下機能低下者向け流動食の開発を目指している。高齢者が流動食を飲み込む際、粘度が高いとのどを詰まらせたり、気管に取り込まれたことにより肺炎を引き起こすことが多い。また、現在、流動食の添加剤として多用されている増粘多糖類は粘度が高く、摂取するときに菌に付着するため、口腔中内の衛生状態の維持や虫歯予防のケアに配慮を要する。これらのことを軽減または回避するために粘性の低い流動食が求められている。さらに、炊飯米あるいはかゆとして摂取できる食品以外にも、米は無味に近いため、米粉としてさまざまな流動食の添加剤としても用いることもできる。一方、成人の死亡原因の上位を占める大腸癌の予防食品として、食物繊維の摂取が推奨されているが、いわゆる野菜や果物等に含まれている食物繊維とは異なる難消化性澱粉（レジスタントスターチ（RS））が注目されている。澱粉中のアミロース等の長鎖が加熱、冷却されることにより老化すると、RS となって大腸に到達し、ダイエット効果や大腸環境改善、血糖値上昇抑制効果が期待できる。一般に、RS としては、高アミロース澱粉でその含量が多いとされており、高アミロース

トウモロコシ由来の RS は既に市販されているが、米由来の RS は未だ存在しない。Δ *SSIIIa* 米の胚乳澱粉の RS 量は、親系統である日本晴の 1.1 ～ 1.8 倍の値を示し、RS 米として期待できる。流動食として食物繊維を摂取する場合、水溶性多糖類を用いているが、これは、添加すると粘度が増すために大量には加えることができない。また、大量の水分を含むことで体積が増大し、満腹感を感じる割にはエネルギーを摂取することが困難であるが、米として RS が摂取できるのであれば、食物繊維の摂取を補助する食材としての使用法が考えられる。理想とされる食物繊維の摂取量は一日あたり 20 ～ 25g とされているが、RS 含量が 2% であれば、一日 1 合（約 250g）の炊飯米を摂取することで一日に必要な食物繊維の 20% を RS として摂取することができる。

2) レトルト食品やピラフ、ドライカレー等加工米飯としての利用

Δ*SSIIIa* 米は、生米は日本晴と形が変わらないにもかかわらず、炊飯すると、日本晴より長細く、表面のべたつきの少ない米飯となる²¹⁾。また、炊飯米の破断（硬さの測定）特性を検討したところ、Δ *SSIIIa* 米は、タイ米のようにやや硬くてもろく、炊飯米として利用した場合も粘らない特性を持っていた²¹⁾。そのため、ピラフやドライカレーなどに加工しやすい特性として、炊飯米が分散しやすく、米飯の表面全体

に均一に味が付くなどの食味の向上が期待できるとともに、調理過程や調理後の米飯が口腔中内でもべたつかないなどの利点が期待できる。

5. 今後の展望

以上のように、澱粉生合成関連酵素のうち、特定のアイソザイムを欠損した変異体には、野生型にはないさまざまな特徴があり、食品、工業品に有効利用できる可能性を秘めている。我々は、これまで既に単離してきた変異体同士を組み合わせた二重変異体の作出も試みており、さらにユニークな変異体米の創出と、その産業利用を目指していくつもりである。

謝辞

本研究は、平成 20 年度 JST 地域イノベーション創出事業「シーズ発掘試験」、科学研究費基盤研究 B19380007 の支援で行われた。また、本研究の変異体選抜の際に（独）農業生物資源研究所の広近洋彦博士、宮尾安藝雄博士、Δ*BEIIb*、Δ*ISAI* 等をご提供いただいた九州大学・農学部の佐藤光教授、研究の遂行の際にご協力頂いた上越スターチ（株）小笠原貴哲氏、江川技術技術士事務所の江川和徳氏および共同研究者として秋田県立大学・生物資源科学部の中村保典教授の多大なご協力に感謝申し上げます。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Li L, Jiang H, Campbell M, Blanco M, Jane J-L., Characterization of maize *amylase-extender (ae)* mutant starches. Part I: Relationship between resistant starch contents and molecular structures. *Carbohydr. Pol.* **74**: 396-404.(2008)
- 2) Jenkins PJ, Cameron RE, Donald AM., A universal feature in the structure of starch granules from different botanical sources. *Starch* **45**: 417-420. (1993)
- 3) Akuzawa S. and Kawabata A., Relationship among starches from different origins classified according to their physicochemical properties. *J. Appl. Glycosci.* **50**: 121-126. (2003)
- 4) James MG, Robertson DS, Myers AM., Characterization of the maize gene *sugary1*, a determinant of starch composition in kernels. *The Plant Cell* **7**: 417-429. (1995)

- 5) Nakamura Y, Kubo A, Shimamune T, Matsuda T, Harada K, Satoh H., Correlation between activities of starch debranching enzyme and α -polyglucan structure in endosperms of *sugary-1* mutants of rice. *The Plant Journal* **12**, 143-153.(1997)
- 6) Nakamura Y., Towards a better understanding of the metabolic system for amylopectin biosynthesis in plants: rice endosperm as a model tissue. *Plant Cell Physiol.* **43**: 718-725. (2002)
- 7) Fujita N, Yoshida M, Asakura N, Ohdan T, Miyao A, Hirochika H, Nakamura Y., Function and characterization of starch synthase I using mutants in rice. *Plant Physiol.* **140**: 1070-1084. (2006)
- 8) Nakamura Y, Francisco PB Jr., Hosaka Y, Satoh A, Sawada T, Kubo A, Fujita N., Essential amino acids of starch synthase IIa differentiate amylopectin structure and starch quality between japonica and indica rice varieties. *Plant Mol. Biol.* **58**: 213-227 (2005)
- 9) Umemoto T, Yano M, Satoh H, Shomura A, Nakamura Y., Mapping of a gene responsible for the difference in amylopectin structure between japonica-type and indica-type rice varieties. *Theor. Appl. Genet.* **104**: 1-8 (2002)
- 10) Fujita N, Yoshida M, Kondo T, Saito K, Utsumi U, Tokunaga T, Nishi A, Satoh H, Park J-H, Jane J-L, Miyao A, Hirochika H, Nakamura Y., Characterization of SSIIIa-deficient mutants of rice: the function of SSIIIa and pleiotropic effects by SSIIIa deficiency in the rice endosperm. *Plant Physiol.* **144**: 2009-2023. (2007)
- 11) Sano Y., Differential regulation of *waxy* gene expression in rice endosperm. *Theor. Appl. Genet.* **68**: 467-473. (1984)
- 12) Satoh H, Nishi A, Yamashita K, Takemoto Y, Tanaka Y, Hosaka Y, Sakurai A, Fujita N, Nakamura Y., Starch-branching enzyme I-deficient mutation specifically affects the structure and properties of starch in rice endosperm. *Plant Physiol.* **133**: 1111-1121. (2003)
- 13) Nishi A, Nakamura Y, Tanaka N, Satoh H., Biochemical and genetic analysis of the effects of *amylose-extender* mutation in rice endosperm. *Plant Physiol.* **127**: 459-472 (2001)
- 14) Utsumi Y *et al.* 投稿中
- 15) Fujita N, Toyosawa Y, Utsumi Y, Higuchi T, Hanashiro I, Ikegami A, Akuzawa S, Yoshida M, Mori A, Inomata K, Itoh R, Miyao A, Hirochika H, Satoh H, Nakamura Y., Characterization of PUL-deficient mutants of rice (*Oryza sativa* L.) and the function of PUL on the starch biosynthesis in the rice endosperm. *J. Exp. Bot.* **60** : 1009-1023 (2009)
- 16) Tanaka N, Fujita N, Nishi A, Satoh H, Hosaka Y, Ugaki M, Kasawaki S, Nakamura Y., The structure of starch can be manipulated by changing the expression levels of starch branching enzyme IIb in rice endosperm. *Plant Biotechnology J.* **2**: 507-516. (2004)
- 17) Sawada T, Francisco PB Jr., Aihara S, Utsumi Y, Yoshida M, Oyama Y, Tsuzuki M, Satoh H, Nakamura Y., Chlorella starch branching enzyme II (BEII) can complement the function of BEIIb in rice endosperm. *Plant Cell Physiol.* **50**: 1062-1074. (2009)
- 18) Nakamura Y, Utsumi Y, Sawada T, Aihara S, Utsumi C, Yoshida M, Kitamura S., Characterization of the reactions of starch branching enzymes from rice endosperm. *Plant Cell Physiol.* (In press) (2010)
- 19) Wong K-S, Kubo A, Jane J-L, Harada K, Satoh H, Nakamura Y., Structure and properties of amylopectin and phytoglycogen in the endosperm of *sugary-1* mutants of rice. *J Cereal Sci.* **37**: 139-149. (2003)
- 20) Commuri PD, Keeling PL., Chain-length specificities of maize starch synthase I enzyme: studies of glucan affinity and catalytic properties. *Plant J* **25**: 475-486. (2001)
- 21) Akuzawa S. *et al.* 投稿準備中

抗炎症作用を有する未利用資源

穀類外皮由来の難消化性多糖類

江頭 祐嘉合 ^{*1}

^{*1}EGASHIRA Yukari (千葉大学大学院 園芸学研究科)

KeyWords：抗炎症作用・穀類・ヘミセルロース・肝機能障害

はじめに

食品素材を開発した場合、何らか機能性評価を行う。その中の1つに抗炎症に関する評価がある。炎症は、ガン、生活習慣病、肝炎など様々な疾病に関与している。当研究室では、マウス RAW264.7 マクロファージ様細胞や動物（マウス、ラット）に薬剤で炎症を誘発し、これを用いて食品成分の抗炎症作用を評価してきた（図1）。動物を用いた急性肝炎モデルの評価系もこれに含まれる。そこで本稿では、筆者らが手掛けている、通常廃棄される穀類外皮（未利用資源）から機能性が期待できる水溶性の難消化性多糖類の調製とその食品素材としての機能性（抗炎症作用）に関して概説する。

- ・ D- ガラクトサミン肝障害ラット
- ・ D- ガラクトサミン /LPS 肝障害マウス・ラット
- ・ 四塩化炭素肝障害マウス・ラット（急性・慢性）
- ・ アセトアミノフェン肝障害ラット
- ・ α - ナフチルイソチオシアネート肝障害ラット
- ・ エチルアルコール肝障害ラット
- ・ マクロファージ様細胞による評価

図1 食品の抗肝炎評価
(当研究室で作成した疾病モデル動物 / 培養細胞実験)

1. 抗炎症作用を調べる動物モデル

実験動物における肝炎モデルにはいくつか知られている。D- ガラクトサミン、D- ガラクトサミン+エンドトキシン（LPS）による急性肝障害モデル、エタノール、解熱剤アセトアミノフェン、四塩化炭素、 α ナフチルイソチオシアネートなども肝障害の研究に用いられる。その中でも良く用いられているのがガラクトサミンによる急性肝障害モデルである^{1,2)}。D- ガラクトサミンをラットに注射するとヒトの急性肝炎であるB型肝炎に生化学的、組織学的所見が類似した実験モデルを作成することが出来る。このモデルはD- ガラクトサミン投与後、血清トランスアミナーゼ活性の急激な上昇が観察され、注射後20～24時間目をピークとする。そのメカニズムに関しては完全には明らかにされていないが、現在次のように考えられている。D- ガラクトサミンが直接肝臓に障害を起こしているのではなく、これが代謝されていく過程で、急速に細胞内のUTP（uridine triphosphate）がトラップされるため肝臓のUTPが欠乏しRNAやタンパク質の合成障害が起こり、そのため肝臓の障害が引き起こされると考えられて

いる^{3,4)}。またD-ガラクトサミンを注射すると小腸粘膜の透過性が亢進して、消化管内の細菌やエンドトキシンが血中やリンパ液中に出現、浸潤し、これが肝障害の発症に関与するとも考えられている。実際に我々は抗生物質をラットに投与し、腸内細菌を死滅させ、D-ガラクトサミンを注射すると肝障害になりにくいことを確認した。エンドトキシンは肝臓のクッパー細胞を刺激し、炎症性サイトカインTNF- α などを介して肝細胞の破壊をする。またそれに伴う好中球などの浸潤や活性酸素種の生成と放出がおこり、さらに肝細胞の壊死をひき起すことも報告されている⁵⁾。

2.

未利用資源穀類外皮からの難消化性多糖類の調製

米、小麦、トウモロコシなどの穀類は、通常は種子の胚乳部分を食用として用いるため、ぬかやフスマなどは精米や製粉の段階で除去され大部分は廃棄される。一方、このぬかやフスマの部分には食物繊維、ミネラル、ポリフェノール等の食品としての機能性成分が豊富に含まれている。しかし、そのままの形態で摂取しても生体には利用されにくく、便通改善以外の生理機能は発現しにくい。そこで我々は、穀類外皮から腸内細菌に利用され易いと考えられる水溶性の食物繊維ヘミセルロースBを主成分とする画分を抽出し、抗肝炎作用について検討した。

ヘミセルロースとは、植物細胞壁の構成成分で、マトリックス多糖類のうち、ペクチン質の抽出後、アルカリ溶液などで抽出される多糖類の総称である。ヘミセルロースは、細胞壁中ではミクロフィブリル同士の間壁を埋めて、細胞壁の構造を維持するのに役立っている。ヘミセルロースB画分は水溶性で枝分かれ構造をとっている。

ヘミセルロースB画分の抽出は、実験室レ

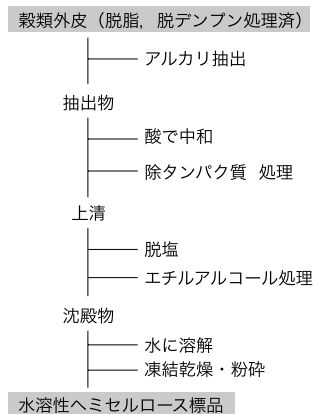


図2 穀類外皮からの水溶性ヘミセルロース標品の調製

ベルで行った。穀類外皮を洗浄後、脱脂、脱デンプンし、アルカリ性の溶液で抽出した後、中和、除タンパク、脱塩を行い、エタノールで水溶性多糖類を沈殿させ、乾燥後粉化し、これをヘミセルロース標品とした(図2)。筆者らはこの抽出法で、穀類の小麦フスマ、トウモロコシ外皮、米ぬか、豆類の大豆外皮などからヘミセルロース標品を調製した。

4. ヘミセルロース標品の抗炎症作用

イネ科の穀類トウモロコシ外皮は、他の穀類外皮と比べ、食物繊維含量が高い。そこでトウモロコシ外皮から図2の方法でヘミセルロース標品を調製した。これはアラビノキシラン(アラビノースとキシロースの比が約0.5:1)を主成分とする。この実験室レベルで調製したトウモロコシ外皮ヘミセルロース標品がラットのガラクトサミン肝障害に及ぼす影響を調べた。これを2%含む普通食をラットに9日間与えた(自由摂取)後、D-ガラクトサミン水溶液を注射した。そして、肝機能障害の指標である血中トランスアミナーゼ活性値がピークを示すD-ガラクトサミン投与の20時間後に、血中のトランスアミナーゼ活性(Aspartate aminotransferase (AST),

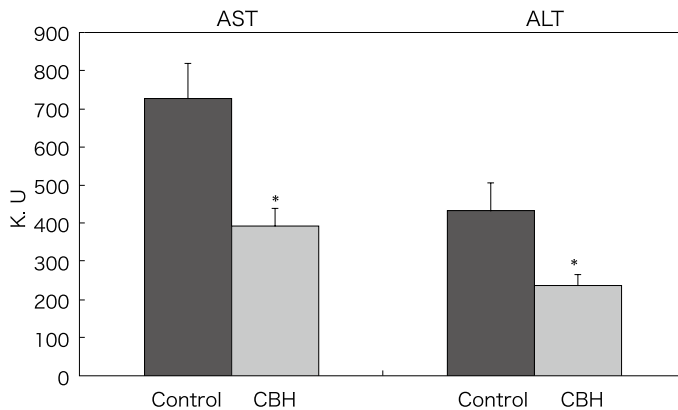


図3 トウモロコシ外皮ヘミセルロース標品がラットのD-ガラクトサミン肝障害の発症に及ぼす影響

トウモロコシ外皮ヘミセルロース標品（実験室レベルで調製）2%をラットに9日間自由摂取させた。その後、ガラクトサミンを注射し、20時間後の血清トランスアミナーゼ（AST、ALT）活性値を測定した。

Control; 対照群, CBH; トウモロコシ外皮ヘミセルロース群

AST; Aspartate aminotransferase

ALT; Alanine aminotransferase

*: 対照群と有意差有り ($p < 0.05$)。

Alanine aminotransferase (ALT)) を測定したところ、トウモロコシ外皮ヘミセルロース摂取群の値は、対照群に比べ有意に減少した（図3）。

日本食品化工(株)のトウモロコシ外皮ヘミセルロースであるセルエースを飼料中5%添加し、同様の実験を行ったところ、血中のトランスアミナーゼ活性は有意に抑制された⁶⁾。しかし1日だけの摂取などの短期間の投与では効果は現れなかった。このヘミセルロース製品の糖組成は、およそアラビノース31.5%、キシロース45.7%、ウロン酸13.5%、ガラクトース6.7%、グルコース2.6%であった。我々はさらにトウモロコシ外皮ヘミセルロースを酸や酵素でさらに加水分解し低分子化した。これはD-ガラクトサミン誘発肝炎の発症を未処理のものより強く抑制し、分子量が2万以上の高分子量の画分には効果が見られなかった⁷⁾。低分子画分を摂取させた時、血中のエンドトキシンと炎症性サイトカインTNF α の上昇が有意に抑制された⁸⁾。トウモロコシ外皮ヘミセルロースは腸内細

菌に資化されやすいと考えられ、そのことにより腸内環境が変化し、腸管のバリア機能が增強され、エンドトキシンの腸管から血中への流入が抑制され、肝障害の発症を緩和したものと思われる。

そこで著者らは他の未利用資源（小麦フスマ、大豆外皮）からはほぼ同様の方法でヘミセルロースを抽出し、抗肝炎作用を検討した。小麦フスマ由来のヘミセルロースもアラビノキシランを主成分とする難消化性多糖類である。しかし、小麦フスマ由来のヘミセルロース標品、あるいはこれを酸等で加水分解した標品5%を10日間自由摂取させ、ガラクトサミン/LPSを注射したところ、肝障害抑制作用

は認められなかった。これはアラビノキシランが主成分ではあるが構成糖の結合の仕方や他の含有成分がトウモロコシ外皮ヘミセルロース標品と異なるため効果が認められなかったものと思われる。大豆外皮から調製したヘミセルロース標品はアラビノガラクトタンを主成分とする水溶性食物繊維である。ガラクトースを含有するある種のオリゴ糖はガラクトサミン肝障害の発症を抑制する。そこで、これを試料中5%含む食餌を10日間自由摂取させ、ガラクトサミン/LPSを注射したところ、強い肝障害抑制作用は認められなかった。抽出する素材が異なると構成する糖の成分、結合様式、分子量が異なるため、腸内細菌の資化性などが異なるためかもしれない。

5. 酵素処理米ぬかヘミセルロースの抗炎症作用

米ぬかヘミセルロースの構成糖の組成はグルコース2~4%、キシロース27~32%、アラビ

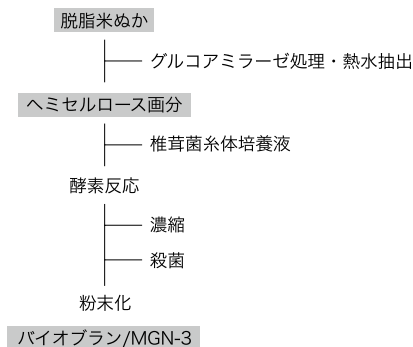


図4 酵素処理米ぬかヘミセルロース誘導体（バイオブラン/MGN3）の製造概要
(資料提供：大和薬品株式会社)

ノース 22～34%，ガラクトース 5～10%，ウロン酸 9～12%，ラムノース 1.7～2.6% 等と報告されている⁹⁾。トウモロコシ外皮ヘミセルロースと同様アラビノキシランを主成分とする。ただし、トウモロコシ外皮ヘミセルロースはアラビノースとキシロースの比が約 0.5：1 なのに対し、米ぬか由来のものは、アラビノースとキシロースの比は、約 1：1 である。大和薬品(株)が開発したバイオブラン/MGN-3 は、米

ぬかからヘミセルロースを抽出しこれをさらに酵素処理したものである。脱脂した米ぬかをグルコアミラーゼ処理し、その後熱水等でヘミセルロース画分を抽出し、これにシイタケ菌 (*Lentinus edodes*) の菌糸体由来の炭水化物分解酵素 (α -グルコシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、ガラクトシダーゼ等) を用いて、部分加水分解し、濃縮、殺菌、粉末化したものである (図4)。このバイオブラン/MGN-3 は、NK 細胞活性化等の免疫調節作用を有することが報告されている¹⁰⁾。この構成成分はアラビノキシラン、アラビノガラクトタン、グルカン、アラビナン等の複雑な多糖を含んでいるものと推定されている。

筆者らは、酵素処理米ぬかアラビノキシランであるバイオブラン/MGN-3 を用いて、D-ガラクトサミン肝障害の発症に及ぼす影響を調べた¹¹⁾。その結果、D-ガラクトサミン投与の1時間前にバイオブラン/MGN-3 を単回経口投与、あるいは腹腔内に投与 (注射) したところガラクトサミン肝障害の発症を抑制した (図5)。バイオブラン/MGN-3 をさらに加水分解し、

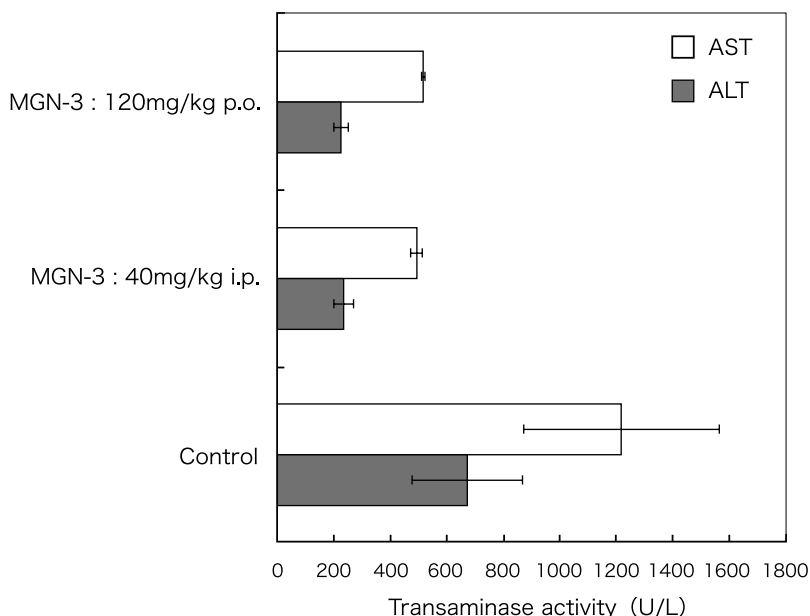


図5 ラットの D-ガラクトサミン肝障害に及ぼす MGN-3 の影響

分画したところ、低分子画分に抗肝炎成分があることを見出した（投稿準備中）。

バイオブラン/MGN-3は、抗腫瘍活性など免疫賦活作用がある一方、抗炎症作用を有する成分も含有しており、興味深い。今後それぞれの成分の同定が重要となってくるであろう。

おわりに

水溶性ヘミセルロースにおいては脂質代謝改善、腸内細菌改善作用等共通する性質も多い。しかし抗肝炎作用は素材によって異なる結果となった。著者らの経験から察すると、抽出する素材が異なると構成する糖の種類、結合様式、分子量、腸内細菌の資化性などが異なり、またその素材に特有の性質を示すものが存在することに起因しているのかもしれない。

セルロースに代表される不溶性難消化性多糖類の生理機能は、便秘改善効果、腸疾患への有効性、腸内細菌叢の改善などが知られている。一方、水溶性難消化性多糖類や難消化性オリゴ糖は、糖代謝、脂質代謝改善など代謝系への作用、免疫賦活作用、腸内細菌叢の改善作用などが知られている。特に腸内環境の変化を介した免疫系への作用は大変興味深い。今後、どのような構造のものが抗肝炎作用を有するのか明らかにしていきたい。

謝辞

本原稿をまとめるにあたりご指導いただいた千葉大学名誉教授真田宏夫博士、穀類外皮等をご提供下さった企業、本研究に関与された方々に深謝申し上げます。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 文 献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 真田宏夫・江頭祐嘉合：肝障害とルミナコイド・食物繊維 日本食物繊維学会誌 **13** (1) :1-10 (2009)
- 2) 江頭祐嘉合・笹原省吾・真田宏夫：ラットの四塩化炭素肝障害およびガラクトサミン肝障害に及ぼす各種健康食品素材の影響 日本食品化学学会誌 **9** (3) :125-130 (2002)
- 3) Keppler D, Lesch R, Reutter W, *et al.* : Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Exp Mol Pathol* **9**: 279-290 (1968)
- 4) Keppler D, Rudigier JFM, Bischoff E, *et al.* : The trapping of uridine phosphates by D-galactosamine, D-glucosamine and 2-deoxy-D-galactose. *Eur J. Biochem* **17**: 246-253 (1970)
- 5) Stachlewitz RF, Ceabra V, Bradford B, *et al.* : Glycin and uridine prevent D-galactosamine hepatotoxicity in the rat: role of Kupffer cells. *Hepatology* **29**: 737-745 (1999)
- 6) Daizo A, Egashira Y, Sanada H. : Suppressive effect of corn bran hemicellulose on liver injury induced by D-galactosamine in rats. *Nutrition* **21**: 1044-1051(2005)
- 7) Geng X, Wang X, Egashira Y, *et al.* : Effect of different molecular weight fragments from corn bran hemicelluloses on D- galactosamine-induced hepatitis in rats in relation to intestinal degradation. *Biotechnology* **4**(3):173-181 (2005)
- 8) Geng X, Wang X, Egashira Y, *et al.* : Study on the preventive mechanism of oligosaccharide fragments from corn bran hemicellulose against D-galactosamine-induced hepatitis in rats. *J Jpn Assoc Dietary Fiber Res* **9**: 47-57 (2005)
- 9) Mod RR, Conkerton EJ, Ory RL, Normand FL.: Hemicellulose composition of dietary fiber of milled rice and rice bran. *J Agric Food Chem* **26**:1031-1035 (1978)
- 10) Ghoneum M, Abedi S: Enhancement of natural killer cell activity of aged mice by modified arabinoxylan rice bran (MGN-3/Biobran). *J Pharm Pharmacol* **56**:1581-1588 (2004)
- 11) Yamada T, Daizo A, Boindoglu K, *et al.* : Effect of modified arabinoxylan from rice bran (BioBran/MGN-3) on experimental liver dysfunction in rats. In: BioBran/MGN-3(Rice bran arabinoxylan derivative) Basic and clinical application to integrative medicine (Kenji Tazawa ed) p.131-138. Iyakushuppan Co. Japan (2006)

重金属の野菜中への蓄積量の予測手法

—安心・安全な野菜とは—

庄司 良^{*1} 長田 拓哉^{*2} 田中 優也^{*2}

^{*1}SHOJI Ryo, ^{*2}OSADA Takuya, ^{*3}TANAKA Yuya (国立東京工業高等専門学校)

KeyWords：重金属汚染土壌・WHO 基準

1. 序 論

1-1. 重金属汚染土壌の実態 - 種類と濃度

アフリカ各国では、外貨獲得手段として鉱業が盛んである。主に、プラチナ、コバルト、ダイヤモンド、クロム、マンガン、金、ウラン、ボーキサイト、ニッケル、銅鉄鋼、亜鉛、スズ、鉛などが採鉱される¹⁾。2005 年度にアフリカで採鉱された鉱量を表 1 に示した。アフリカ地域では、マンガン、クロム、銅の採鉱によって生じた排水を適切な処理なく放置もしくは河川へ放流することにより河川が汚染される。河川が汚染されると河川流域の土壌が重金属を吸収するため、アフリカのように鉱業が盛んな地域では土壌中の重金属が高濃度で蓄積する。

河川流域における重金属の土壌汚染問題は過去に日本でも起きた。足尾銅山鉱毒事件は銅採鉱によって生じた排水を適切な処理を行わなかったため、銅が河川に流出し、河川流域の土壌に重金属が吸収されたので、土壌周辺の生物が死滅し、100 年以上たった現在で

さえ足尾銅山付近の土壌中に銅が多量に蓄積している。足尾銅山鉱毒事件のように重金属による土壌汚染は近隣の環境に大きな影響を与えている²⁾。土壌汚染対策法によると土壌における銅の汚染濃度は 125 mg/kg 以下と定められている²⁾。表 2 に足尾銅山付近の銅濃度を示した。渡良瀬川を中心に 100 年以上たった現在でさえ足尾銅山付近の土壌中に銅が多量に含まれていることがわかる²⁾。よって、銅汚染土壌におけ

表 1 サブサハラ・アフリカの主要鉱産物生産量¹⁾

金属	単位	世界	サブサハラ	
			生産量	%/ 世界
プラチナ類	kg	548000	321000	58.7
コバルト	T	54000	28300	52.5
ダイヤモンド	ct	17400000	9030000	52.1
クロム	T	18900000	8280000	43.8
マンガン	T	28400000	9240000	29.5
金	kg	2430000	508000	20.9
ウラン	T	41900	6850	16.3
ボーキサイト	T	176000000	19900000	11.3
ニッケル	T	145000	78500	5.4
銅	T	15000000	681000	4.5
鉄鋼	T	1540000000	50500000	3.3
亜鉛	T	10100000	278000	2.8
錫	T	337000	9000	2.7
鉛	T	3300000	56500	1.7

表2 足尾銅山付近の土壌中の銅濃度²⁾

場所	地目	全銅濃度 [mg/kg Dry weight]
栃木県足利郡吾妻村	水田	900
	水田	350
	畑地	2280
	畑地	1840
	畑地	2240
栃木県足利郡毛野村	水田	400
栃木県梁田郡梁田村	畑地	1290
	畑地	640
栃木県阿蘇郡植野村	畑地	690
栃木県阿蘇郡界村	畑地	890
群馬県山田郡桐生村	水田	590
	水田	2190
群馬県山田郡境野村	水田	1790
群馬県山田郡毛里田村	水田	1540

る野菜の銅の過剰蓄積が考えられる。しかし、重金属による汚染かこのような急激な汚染だけにはとどまらない。重金属は細菌に対して強い毒性を発現する。重金属である銅を用いた農業ボルドー液は最も古い農薬と言われ、カビや糸状細菌に対する有効な農薬として長い間使用されてきた。しかし、長い間ボルドー液を使用した土壌では、土壌中の銅濃度が高濃度になるなど報告されている。ボルドー液が発明されたフランスでは年に1haあたり5kgの銅が散布され、土壌中の銅濃度が3000 mg/kgもの高濃度に達している³⁾。重金属による土壌汚染は現在でも急速に進行するとともに農地や河川流域で蓄積が起こりやすいのが現状である。

1-2. 銅毒性と人への暴露量

銅は急性毒性と慢性毒性があり、急性毒性では嘔吐、上腹部の痛み、下痢を伴う胃腸障害のほか、肝障害、黄たん、溶血などが見られる。慢性毒性は産業現場において作業員が銅ダストやヒューズに暴露され、肺がんになる疾患が増加した。また、ボルドー液を吸引したぶどう畑労働員が肺内銅沈着ならびに珪肺と似た組織学

表3 トウモロコシによる人への銅暴露量の算出に用いた値

W_{fruit} [kg/本]	E_{human} [kJ/day] ⁵⁾	Q_{fruit} [mg/kg]	E_{corn} [kJ/本]
0.0506	603	16.0	48.2

変化が観察された⁴⁾。

土壌汚染対策法による土壌中の銅の上限濃度以下である110 mg/kgと規定し、トウモロコシによる人への銅暴露量 mg/day を算出した。銅暴露量の算出を(1)式を用いて示した。 Q_{fruit} は可食部に蓄積した銅の量 mg/kg, DI は銅暴露量 mg/day, W_{fruit} は可食部の乾燥重量 kg/本, E_{corn} はトウモロコシ1本のエネルギー kJ/本, E_{human} は成人男性の1日に必要なエネルギー kJ/day である。トウモロコシによる人への銅暴露量の算出に用いた値を表3に示した。

$$DI = \frac{E_{\text{human}} \times W_{\text{fruit}} \times Q_{\text{fruit}}}{E_{\text{corn}}} \quad (1)$$

(1)式に表3の値を代入したところ銅暴露量 DI は10.1 mg/dayと算出された。

WHOに定められている銅暴露上限量10 mg/dayとしており⁶⁾, WHOで定められている銅摂取上限量以上摂取すると人体に対し肝不全やアレルギー反応の誘発が挙げられる⁷⁾。土壌汚染対策法による土壌中の銅の上限濃度以下である110 mg/kgと規定し、トウモロコシによる人への銅暴露量 mg/day を算出した結果、銅暴露量 DI は10.1 mg/dayと算出された。故に、銅を蓄積した野菜を食することによる人体への影響が懸念される。よって、野菜の銅蓄積濃度を簡易的に予測することが必要である。

1-3. はじめに

本稿では、重金属の野菜への蓄積量の簡便な予測のため、代表的な土壌汚染物質である重金属のうち銅に着目し、実際の圃場における土耕栽培による蓄積量を、発芽から幼苗までの初期の生育ステージに着目した水耕栽培による蓄積量で整理し、それらの関係性について考察する

と共に、野菜中への蓄積量を予測する手法について検討を行ったので報告する。

2. 土耕栽培と水耕栽培の銅蓄積の比較

2-1. 実験方法

2-1-1. 土耕栽培における野菜の生育条件

試験範囲 50m² (2 m × 25 m) におけるキャベツ (*Brassica oleracea* var.), ダイコン (*Raphanus sativus* var.), トウモロコシ (*Zea mays*) 栽培方法としては株間 30 cm, 条間 50 cm, ベット幅 100 cm, 2 条植え, 2 畝を用いて行った。2008 年 9 月 1 日に 1 畝に 200 粒のダイコンを播種し

た。キャベツは 2008 年 8 月 16 日に農業用 200 穴ポット (10 × 20) に播種, 生育させたものを 2008 年 9 月 1 日に圃場へ植え付けた。トウモロコシは 2009 年 5 月 16 日に紙ポット (1 × 1 × 3cm) 100 穴にトウモロコシを 100 粒播種し, 2 週間紙ポット内で生育したものを 2009 年 5 月 30 日に圃場へ植え付けた。ダイコンは 76 日間生育し, キャベツは 112 日間, トウモロコシは 77 日間生育した。ボルドー液の散布は 3 回 (2008 年 6 月 20 日, 7 月 4 日, 7 月 18 日) 行った。一濃度区の散布にあたり 1.8L の調製液を 5m² に使用した。ダイコン, キャベツにおいて 10 の濃度区を作成した。トウモロコシでは 7 の濃

表 4 土耕栽培で散布したボルドー液組成と土壌の銅濃度

植物試料	土壌に添加した溶液の濃度 [mol/L]		
	銅	カルシウム	土壌の銅濃度 [mg/kg]
ダイコン 1	0.00	0.00	73.9
ダイコン 2	8.03×10^{-3}	2.70×10^{-2}	90.1
ダイコン 3	8.03×10^{-3}	5.40×10^{-2}	84.9
ダイコン 4	8.03×10^{-3}	1.08×10^{-1}	83.2
ダイコン 5	1.61×10^{-2}	2.70×10^{-2}	93.5
ダイコン 6	1.61×10^{-2}	5.40×10^{-2}	82.7
ダイコン 7	1.61×10^{-2}	1.08×10^{-1}	98.0
ダイコン 8	3.21×10^{-2}	2.70×10^{-2}	98.9
ダイコン 9	3.21×10^{-2}	5.40×10^{-2}	102
ダイコン 10	3.21×10^{-2}	1.08×10^{-1}	124
キャベツ 1	0.00	0.00	158
キャベツ 2	8.03×10^{-3}	2.70×10^{-2}	108
キャベツ 3	8.03×10^{-3}	5.40×10^{-2}	102
キャベツ 4	8.03×10^{-3}	1.08×10^{-1}	126
キャベツ 5	1.61×10^{-2}	2.70×10^{-2}	122
キャベツ 6	1.61×10^{-2}	5.40×10^{-2}	150
キャベツ 7	1.61×10^{-2}	1.08×10^{-1}	127
キャベツ 8	3.21×10^{-2}	2.70×10^{-2}	150
キャベツ 9	3.21×10^{-2}	5.40×10^{-2}	272
キャベツ 10	3.21×10^{-2}	1.08×10^{-1}	223
トウモロコシ 1	0.00	0.00	79.9
トウモロコシ 2	8.03×10^{-3}	2.70×10^{-2}	94.7
トウモロコシ 3	1.61×10^{-2}	2.70×10^{-2}	91.0
トウモロコシ 4	2.41×10^{-2}	2.70×10^{-2}	130
トウモロコシ 5	3.21×10^{-2}	2.70×10^{-2}	112
トウモロコシ 6	4.02×10^{-2}	2.70×10^{-2}	131
トウモロコシ 7	4.82×10^{-2}	2.70×10^{-2}	128

表5 水耕栽培で暴露した銅とカルシウム濃度

植物試料	暴露した溶液の濃度 [mol/L]	
	銅	カルシウム
ダイコン 1	0.00	0.00
ダイコン 2	8.03×10^{-5}	2.70×10^{-4}
ダイコン 3	8.03×10^{-5}	5.40×10^{-4}
ダイコン 4	8.03×10^{-5}	1.08×10^{-3}
ダイコン 5	1.61×10^{-4}	2.70×10^{-4}
ダイコン 6	1.61×10^{-4}	5.40×10^{-4}
ダイコン 7	1.61×10^{-4}	1.08×10^{-3}
ダイコン 8	3.21×10^{-4}	2.70×10^{-4}
ダイコン 9	3.21×10^{-4}	5.40×10^{-4}
ダイコン 10	3.21×10^{-4}	1.08×10^{-3}
キャベツ 1	0.00	0.00
キャベツ 2	8.03×10^{-5}	2.70×10^{-4}
キャベツ 3	8.03×10^{-5}	5.40×10^{-4}
キャベツ 4	8.03×10^{-5}	1.08×10^{-3}
キャベツ 5	1.61×10^{-4}	2.70×10^{-4}
キャベツ 6	1.61×10^{-4}	5.40×10^{-4}
キャベツ 7	1.61×10^{-4}	1.08×10^{-3}
キャベツ 8	3.21×10^{-4}	2.70×10^{-4}
キャベツ 9	3.21×10^{-4}	5.40×10^{-4}
キャベツ 10	3.21×10^{-4}	1.08×10^{-3}
トウモロコシ 1	0.00	0.00
トウモロコシ 2	1.00×10^{-4}	0.00
トウモロコシ 3	1.00×10^{-4}	1.00×10^{-5}
トウモロコシ 4	1.00×10^{-4}	1.00×10^{-4}
トウモロコシ 5	1.00×10^{-4}	1.00×10^{-3}
トウモロコシ 6	1.00×10^{-3}	0.00
トウモロコシ 7	1.00×10^{-3}	1.00×10^{-5}
トウモロコシ 8	1.00×10^{-3}	1.00×10^{-4}
トウモロコシ 9	1.00×10^{-3}	1.00×10^{-3}
トウモロコシ 10	1.00×10^{-2}	0.00

度区を作成した。圃場に散布した銅、カルシウム濃度、最終土壌銅濃度は表4に示した。

2-1-2. 水耕栽培における野菜の生育条件

滅菌シャーレ（φ 90 × 15mm・EOG 滅菌済）に濾紙（Whatman No.2）を敷き、銅濃度及びカルシウム濃度を調製した溶液を 4 mL 暴露した。暴露後のシャーレにキャベツ（*Brassica oleracea* var.）とダイコン（*Raphanus sativus* var.）トウモロコシ（*Zea mays*）の種を 10 粒ずつ播種し、暗所において 20℃一定として 5 日間静置した。5

日後、発芽率および根長を測定した。銅及びカルシウム濃度調製溶液の pH を暴露前に測定した。（pH = 5.1 ± 0.9）水耕栽培で暴露した銅、カルシウム濃度を表5に示した。

2-1-3. 銅、カルシウム蓄積量測定

キャベツ、ダイコンを根、茎、葉に切り分け分け 60℃で 6 時間乾燥し、乾燥重量を測定した。各部位の試料を 30 mL ビーカー内で濃硝酸（質量濃度 65 wt%）4 mL を用いて 70℃前後で加熱し分解した。硝酸分解後の試料をメスフラスコで 5 mL に定容した。溶液を ICP-AES (SII SPS7800) で分析、植物試料の乾燥重量より銅、カルシウムの蓄積量を算出した。

2-2. 結果および考察

2-2-1. 土耕栽培と水耕栽培の銅蓄積の相関性評価

水耕栽培を用いて発芽から幼苗までの初期生育ステージに着目することで、迅速な重金属の蓄積量測定が可能になる。水耕栽培と土耕栽培の野菜中銅濃度に相関性を得ることで、幼苗時の重金属蓄積量から収穫時の銅蓄積量予測が可能である。土耕栽培は種々の環境条件の制御が困難である。一方、水耕栽培による幼苗の生育によって野菜に暴露する重金属の濃度など環境条件を一定とした状態で、野菜間の銅蓄積量の比較が可能になる。土耕栽培における成長率と水耕栽培における成長率の比較を図1に示す。土耕栽培、水耕栽培では暴露する銅濃度を統一することが困難なため、暴露した銅、カルシウム濃度比が同じとなる野菜で成長率の比較を行った。土耕栽培と水耕栽培での相関性を比較するにあたり、成長率と銅蓄積量を確認した。図1より土耕栽培と水耕栽培では成長率変化に対して直線的な相関性が得られた。幼苗時には毒性が根に最も大きく発現する。必要な栄養塩や水分の吸収を行う根に対する毒性が、収穫時の野菜の成長率を低下させる要因となる。

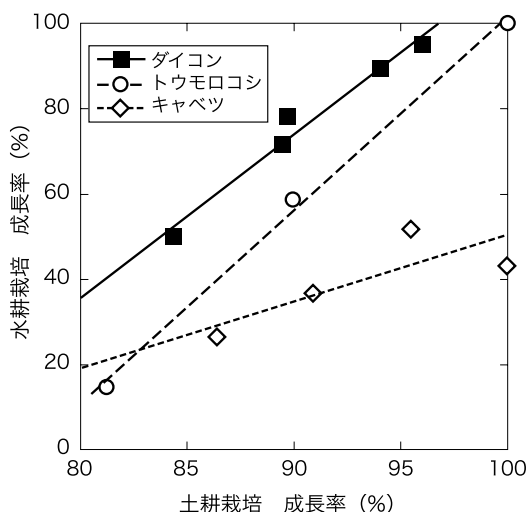


図1 銅、カルシウムの暴露比を固定した土耕栽培と水耕栽培での成長率比較

野菜の成長率に関して、幼苗と収穫時の野菜での相関性が得られたことから、銅の蓄積にも相関性がある見込みが得られた。そこで水耕栽培と土耕栽培での銅蓄積量の相関性を図2に示す。図2より水耕栽培、土耕栽培での銅蓄積量の直線的相関性が見られる。成長率、銅蓄積量共に相関性が見られることから水耕栽培で生育した幼苗と土耕栽培で生育した収穫時の野菜の間に相関性があると考えられる。

問題となるのは野菜による銅蓄積量の違いである。図1では、ダイコン、トウモロコシに大きな成長率の違いは見受けられないが、キャベツにおいては成長率がダイコン、トウモロコシより低い。理由としてはキャベツに銅が強く毒性を発現したため成長率がダイコン、トウモロコシより低い値となったと考えられる。しかし、図2では、ダイコン、キャベツ間では銅蓄積量に大きな違いが見られず、トウモロコシとの間で大きな違いが見られた。土耕栽培ではトウモロコシの銅蓄積量がダイコン、キャベツの銅蓄積量よりも大きかったため違いが表れたと考えられる。銅は野菜の必須元素であり葉緑体内で使用されるため、光合成の活性が高いトウ

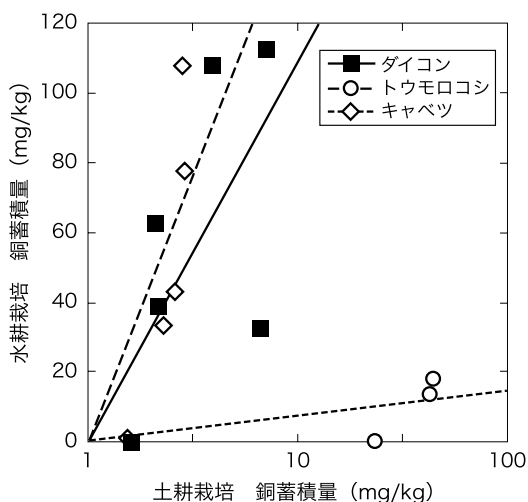


図2 銅、カルシウムの暴露比を固定した土耕栽培と水耕栽培での銅蓄積量比較

モロコシでは、銅蓄積量が高くなったと考えられる⁸⁾。また、ダイコンとキャベツ間で成長率の違いが見られるが、銅蓄積量には違いが見られない。これは、ダイコン、キャベツでは共に同じアブラナ科の野菜であり、銅蓄積量に違いがないと考えられるが、キャベツの方が銅毒性に耐性がなかったため成長率に違いが現れたと考えられる。

図1、図2共に水耕栽培の方が銅毒性と銅蓄積量が大きい。水耕栽培と土耕栽培では生育環境が水と土であり、銅の暴露状況に違いがあると考えられる。

植物の栄養塩の吸収は水分を通して行われる。水耕栽培では根が大量の水と直接接触しているのに対して、土耕栽培では根の周辺土壤に存在する少量の水分を介するため、実際に土耕栽培の野菜根に暴露される銅の量が水耕栽培に比べて小さくなったと考えられる。現在あるデータでは水耕栽培と土耕栽培の相関性を述べることはできないが、水耕栽培と土耕栽培との間の相関性を証明できたことは大きな成果である。

3. 水耕栽培における各野菜の銅蓄積量予測

3-1. 解析方法

3-1-1. ミカエリスメンテン式による銅蓄積量の解析

実験結果より銅蓄積量はミカエリスメンテン式 (2) を用いて各野菜の銅蓄積量に回帰した。 $[Cu]$ は暴露した銅の濃度 M , $C_{\max}$ は各野菜の最大銅蓄積量 mg/kg , C は各野菜の銅蓄積量 mg/kg , K_m はミカエリス定数 M である。

$$C = \frac{C_{\max} \times [Cu]}{k_m + [Cu]} \quad (2)$$

3-2. 結果および考察

3-2-1. 水耕栽培における各野菜の銅蓄積量予測

暴露した銅濃度変化に伴う各野菜の銅蓄積量変化を図3に示し、暴露した銅濃度に対する銅蓄積量をミカエリスメンテン式に回帰した際の相関係数 $R^2[-]$ を表6に示した。水耕栽培における暴露した銅濃度に対してダイコン、キャベツ、トウモロコシの銅蓄積量をミカエリスメンテン式に回帰することで、高い相関係数を得ることができた。よって、銅濃度に対して銅蓄積量をミカエリスメンテン式に回帰することで、

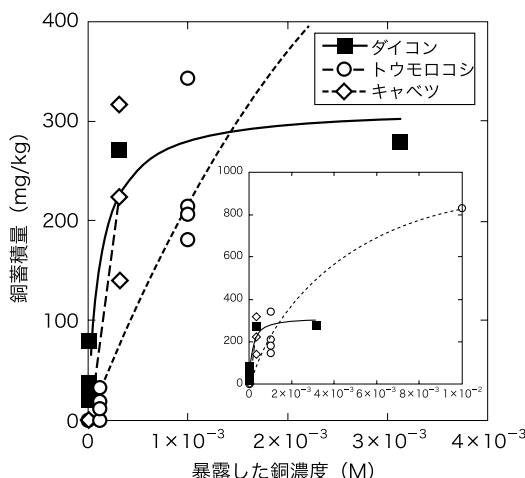


図3 暴露した銅濃度変化に伴う各野菜の銅蓄積量変化

表6 暴露した銅濃度に対する銅蓄積量をミカエリスメンテン式に回帰した際の相関係数 $R^2[-]$

	$R^2[-]$
ダイコン	0.91
キャベツ	0.81
トウモロコシ	0.96

暴露した銅濃度から各野菜中の銅蓄積量を予測することが可能である。

Epstein らは暴露したカリウムイオン濃度から野菜に蓄積したカリウムイオン量を酵素工学的解析法であるミカエリスメンテン式に回帰することで高い相関性を得ることを明らかにした⁹⁾。また、微量必須元素¹⁰⁾であるルビジウム、鉄を暴露し、野菜に蓄積した微量必須元素をミカエリスメンテン式に回帰することで高い相関性を得ることができた⁹⁾。加えて、必須元素に含まれていないカドミウムもミカエリスメンテン式に適合することで高い相関性を得ることが明らかとなっている¹¹⁾。銅はルビジウム、鉄と同様に微量必須元素である¹⁰⁾。よって、ルビジウム、鉄と同様に暴露した銅濃度から野菜に蓄積した銅の量をミカエリスメンテン式に回帰することで高い相関性を得ることができたと考えられる。

おわりに

本稿では、重金属の野菜中への蓄積量の簡便な予測のため、代表的な土壤汚染物質である重金属のうち銅に着目し、実際の圃場における土耕栽培による蓄積量を、発芽から幼苗までの初期ステージに着目した水耕栽培による蓄積量で整理した。その結果、水耕栽培における銅蓄積量と土耕栽培における銅の蓄積量は相関したため、播種から収穫までの全生育ステージにわたる長期間暴露実験を行うことなく、野菜中への銅の蓄積量を予測することが可能になった。以上より、短期間で生育できる水耕栽培の結果から、土耕栽培で生育した野菜中への蓄積量を予測できる見込みを得た。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) British Geological Survey Africa Mineral Production 2001-2005, <http://www.bgs.ac.uk/downloads/start.cfm?id=1390>
- 2) 古在由直：足尾銅山鉍毒ノ研究．日本土壤の有害金属汚染．浅見輝男．アグネ技術センター，79, 2001
- 3) Michael Komárek, Jiřina Száková, Marcela Rohošková, *et al.* : Copper contamination of vineyard soils from small wine producers: A case study from the Czech Republic. *Geoderma* **147** : 16-22, 2008
- 4) Pimentel JC, Marques F : "Vineyard sprayer's lung": a new occupational disease. *Toxicology Today*. 佐藤洋．金芳堂，64, 1994
- 5) 二国二郎：栄養学概論．食品の栄養と衛生．田中正志，99，1968
- 6) Paula Trumbo, Allison A, Yates, *et al.* : Dietary Reference Intakes: Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. *JOURNAL of THE AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION* **101** (3) : 294-301, 2001
- 7) Environmental Health Criteria 200 : copper. 環境保健クライテリア No.200 銅 1998
- 8) 戸澤英夫：トウモロコシの栽培技術．トウモロコシ．農山漁村文化協会，101, 2005
- 9) Emanuel Epstein, Arnold J. Bloom : Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives, Second Edition. 植物の生化学・分子生物学．Bob B. Buchanan. 学会出版センター，1101, 2005
- 10) M・Ja・シュコーリンク：微量元素と土壌コロイド．植物の生命と微量元素．農山漁村文化協会，22, 1983
- 11) Weiping Chen, Lianqing Li, Andrew C. Chang, *et al.*, : Modeling uptake kinetics of cadmium by field-grown lettuce. *Environmental Pollution* **152** : 147-152, 2008

築地市場魚貝辞典（スズキ）

東京の夏の暑さは、強烈である。沖縄よりよほど暑い。林立するビルやアスファルトの道路などによってヒートアイランド現象が起きているという。築地市場は隅田川の川面に面しているが、防波堤で遮られているためか、銀座辺りと比べても、それほど涼しくはない。そんな暑い所で生鮮魚貝類を



場内の製氷所

扱うのだから空調設備が整って、涼しい場所で売られていると思いがちである。ところが、一部のせり場や事務所を除いて、築地市場内は外気そのままである。なぜか。それは大量の水が使われているからである。場内には何箇所にも製氷所がある。そこから随時、仲卸店舗まで水が運ばれる。冬でも氷は欠かせないが、暑い時期ともなると製氷所はフル回転である。魚市場の人たちは、汗だくになって働いているが、魚の方は適温で鮮度が維持されているのである。ちなみに、同じ築地市場内であっても、青果の売り場はエアコンが効いている。野菜には氷を当てることができないためである。暑い時期には食欲も落ちがちである。しかし魚の中には、寒い時期の産卵に備えて、今のうちに餌をたくさん食べて、栄養を蓄えているものがある。夏に美味しく、またさっぱりとしたスズキを紹介する。



スズキ

—分類—

スズキを分類学的に表すと、スズキ目スズキ科スズキ属スズキとなる。スズキの名前がずらっと並んでいるが、それだけ魚を代表する典

型的な、もしくは一般的な魚と言えるのかも知れない。というのも、マダイやクロマグロ、マハゼ、タチウオなど、一般的な魚のほとんどはスズキ目に含まれるからである。一般的なものという、すでに研究し尽くされて、再考の余地はないように思うかもしれない。



スズキ (上) とヒラスズキ (下)

少し前の図鑑を開くと、スズキ科にはスズキ類のほかにアラやアカムツ、イシナギ類などが含まれていた。さらに古い本ではハタ類とともにハタ科に含まれていた。科学は時代と共に進歩する。魚の分類も外形だけの類似性から、骨格や体内の構造、生態、そして現在では遺伝子の類似性まで考慮して再検討されるようになった。結果、スズキ科には、スズキ属の3種の魚しか含まれないことになった。ただし、この考えはまだ流動的であるらしい。近い将来、また別のグループに振り分けられるかもしれない。最新情報の収集は、欠かせない。さて、先にも書いたスズキ科スズキ属に含まれる3種とは、スズキのほかにヒラスズキとタイリクスズキである。この3種についても考え方が変わってきた経緯がある。これまた古い図鑑を引っ張り出すと、スズキ類はスズキ1種類だけであった。ヒラスズキは、1957年に新種として学会に発表された。そして1990年代になって、タイリクスズキがスズキとは別種と考えられるようになった（現在も研究中）。食卓に上る一般的な魚の中であっても、さまざまな研究を通して、分類の問題の提起と検討がなされていることを示す好例かもしれない。

—形態—

スズキの特徴を書くのは、難しい。というのも、目だって変わった形はしていないし、体色や斑紋も特殊なものがない。特殊性がないということは、近縁種との区別も詳細にならざるをえない。ということで、少々細くなるがご容赦いただきたい。

全体的な体型は、やや細長く、体の断面は左右から押して平たくしたようになっている。背鰭は2つあり、前の方の背鰭は硬いトゲで支えられている。トゲの本数は12から15本ある。後の背鰭は柔軟性のあるスジ（軟条）で支えられていて、12から14本ある。腹鰭は体の前の方にあり、始まる位置は、胸鰭の始まる位置よりも目玉一つ以上後にある。臀鰭（しりびれ）は体の後ろの方にあり、トゲ3本と軟状7から9本で支えられている。尾鰭は扇状で、中央付近が少しくぼむ。

眼はやや小さく、口は大きい。側線には71から86枚の穴の開いた鱗が並んでいる。

背中側は暗い灰色で、側面から腹側にかけて銀白色。背鰭と胸鰭、尾鰭は黒っぽく、腹鰭と臀鰭は白い。小さい頃は、背中側や背鰭に瞳孔より小さな黒点のあるものがある。しかし、成長と共に黒点は消え、ほとんどの成魚では黒点はない。体長は、80cmを超える。

ヒラスズキとタイリクスズキは、スズキによく似ている。区別点をあげると、ヒラスズキは背中から腹までの幅（体高）が高く寸詰まりに見える（スズキは体高が低く細長く見える）。下あごの下側に細長く並んだ鱗の列がある（スズキの下あごには鱗がない）。後の背鰭を支える軟状は15から16本（スズキは12から14本）。タイリクスズキはさらにスズキに似ていて、鰭のスジや鱗の数などに差があるものの、重なる部分が多く確実に区別できない。もっとも異なるのはスズキでは成魚になると消える黒点が、成魚になってもはっ

きりと残ることである。また頭もやや小さく見え、スズキでは口の上から始まる傾斜が鰓蓋（えらぶた、さいがい）の上付近で終わるが、タイリクスズキはその傾斜が背鰭の辺りまで続くことが多い。



ヒラスズキ



背鰭に黒点のあるスズキ



スズキの下顎



ヒラスズキの下顎

一生態一

北海道南部から九州、朝鮮半島南部の沿岸に分布する。岩礁や内湾、港などで群れている。物陰に潜み、小魚や甲殻類などを食べる。夜間も活発に活動する。産卵期は11月から3月で、外海の岩礁に移動して産卵する。東京湾の湾口にあたる三浦半島でも、例年11月ごろになるとスズキの群れが見られるようになる。1.2mmから1.4mmの浮遊性

の卵を産む。孵化した稚魚は浮遊生活の後、沿岸のアマモ場や河口付近に移動する。河口で生活するものは、川に入ることもある。1年で20cm、2年で30cm、3年で40cm、7年で50cmから60cmに成長する。



藻場を泳ぐスズキ若魚の群れ

近年、日本各地でタイリクスズキが漁獲されている。一時期、スズキに比べて成長が良いという理由で、中国から種苗を輸入して養殖されていた。その後、養殖していたものが逃げ出すなどして、広まったものである。在来のスズキとの交雑やスズキを駆逐するなど、生態系を乱す恐れがあり、問題となっている。

―漁業―

主に定置網や刺網、旋網（まきあみ）などで漁獲される。かつての江戸前の海である羽田沖には、旋刺網（まきさしあみ）と呼ばれる漁法があって、スズキの群れを網でまいて捕っていた。小さな漁船をそのまま築地の岸壁に横付けし、水揚げする風景が何年前まで見られたが、現在も続いているだろうか。水産業の漁とは別に、レジャーとしてのルアーフィッシングの対象となっている。“シーバス”と呼ばれるスズキの引きは強く、人気が高い。築地市場には、千葉県や兵庫県、愛媛県をはじめ国内各地から、鮮魚または活魚で周年入荷している。

今から10年ほど前、築地市場にも輸入のスズキが入荷していた。中国と台湾、韓国からである。鮮魚が多く、活魚もあった。その当時はタイリクスズキが話題になり始めた頃で、台湾で養殖された“すずき”を入手して調べたところ、上記のような違いが見られた。かなりの量が入荷していたようであるが、その後、景気の低迷と共に輸入鮮魚が激減した。スズキは国内で多く漁獲されるので、コストに似合った輸入をすることができなかったのであろう。現在では、輸入のスズキ類を見ることはない。

―利用―

冬の産卵を控え、スズキは夏場に栄養を蓄えている。またさっぱりとした身なので、暑い時期であっても刺身や洗いなどにすれば、食欲も進む。刺身を氷水でメタ洗いは、夏野菜や薬味を添え、酢味噌でいただく洗いは、夏ならではの食べ方であろう。そもそも白身なので、どんな料理にも向く。塩焼きや酒蒸し、椀だねなどの和食から、ムニエルやブイヤベースなどの洋食まで料理の幅は広い。また地方の郷土

料理でも利用されていて、島根県の奉書焼は有名である。スズキを奉書で包み、さらにその周囲を塩で固めて焼き上げたものである。

ーエピソードー

スズキは、成長と共に呼び名が変わる出世魚の一つである。小さい方から順に並べるとコッパ、デキ、セイゴ、フッコ、スズキ、オオタロウとなる。このうちセイゴとフッコはよく耳にするが、それ以外はあまり聞くことがない。なおセイゴは25cmから30cm、フッコは30cmから50cmぐらいの大きさのものをさす。かつては、セイゴよりも小さなスズキも利用されていたのだろうか。

築地市場では、ヒラスズキを「のぶっこ」と呼ぶ。仲卸の方から、なぜそのように呼ぶのか聞かれたことがあったが、なかなかわからなかった。ノブの子とは何だろう？ある日、場内の生き字引のような方に聞いてみたところ、「フッコのうちでも別のもの、という意味でノブッコ。」だという。なるほどノブの子ではなかった。そもそもノブなんて魚いないし。魚の呼び名の難しさを感じた次第である。

文 献

- 1) 坂本一男：旬の魚図鑑，主婦の友社（2007）
- 2) 日本プランクトン学会・日本ベントス学会編：海の外来生物，東海大学出版会（2009）
- 3) 仲坊徹次（編）：日本産魚類検索 全種の同定 第2版，東海大学出版会（2001）

白石カルシウムの炭酸カルシウム	
	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、飲料用として沈澱を抑制したタイプ等、品揃えております。 一般の栄養強化には、「ホワイトン」 機能を求めるならば、「コロカルソ」 飲料用には、スラリー状の「カルエッセン」 詳細につきましては、弊社営業担当にお気軽にお尋ね下さい。	
 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 TEL. 03-3863-8913 本社：大阪市北区同心 2-10-5 TEL. 06-6358-1181	



“薬膳”の知恵 (48)

Key Words： 薬膳 ■ 美容 ■ 食養生 ■ 美容鍼

荒 勝俊*

中医学における美容の目的は“健康美”を達成することだと述べている。中医学は、《すべての物質は陰陽二つの気が相互作用し、表裏一体で構成されている》と考える“陰陽学説”と、《宇宙に存在する全ての事象は“木・火・土・金・水”と呼ばれる五つの基本物質から成り、その相互関係により新しい現象が起こる》と考える“五行学説”に基づいた独自の整体観から構成されている。即ち、人体も自然界の小宇宙として“陰”と“陽”が存在し、常に相互作用しバランスを保ちながら生命活動を営んでいるが、陰陽のバランスが崩れる事で体表に現れる美容上の変化は身体内部の状態を反映している。中医学では人体を一つの有機的統一体と考え、人体の構成要素である気・血・津液の状態をこれまで延べてきた診断法にて診断し、そのバランスを改善させる事でその人が本来もっている臓器の機能を回復させ、身体の内部を整え、新陳代謝を改善し、肌により多くの栄養を供給する事で、健康美を獲得できると考えている。

“薬膳”とは《中医学の基礎概念である陰陽五行学説に基づき、健康管理や病気治療のために食材の持つ様々な機能を組み合わせて作った食養生》のことである。薬膳には①食養生としての薬膳と、②治療補助的な意味の薬膳があり、健康美を目指す薬膳は“養生薬膳”に属している。



1. 美容と食養生



面皰（ニキビ）や乾燥肌、肌荒れ、シミ・ソバカスといった皮膚の症状は、中医学的観点からみると気・血・津液の巡りのバランスの悪化に行きつく。

1-1 肌・髪の中医学

肌は中医学において“肺”との関連が深いとされている。肺は身体の中の五臓の中で一番上にある臓器であり、外気を最初に受ける場所である。抵抗力を主る衛気は外部から侵入する邪気から身を守る場所であり、肺と関連が深い部位は鼻、

* ARA Katsutoshi (技術士, 国際薬膳師, 漢方アドバイザー (JACDS), 薬草ガーデンマスター (JGS), 中国茶アドバイザー, 日本茶インストラクター (NIA))

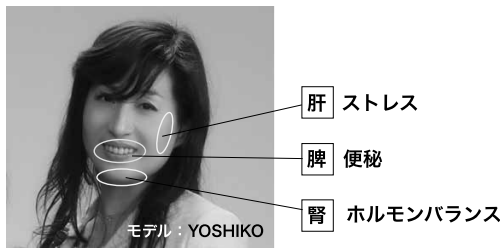


図1 ニキビと中医学

咽、肌である。気・血・津液の巡りが順調な時は健康な状態を維持し、体表面の皮膚も美しさが保たれる。しかし、邪気の侵入などで気・血・津液の巡りが乱れると、栄養供給の不足や瘀血により様々な器官に不調が生じる。例えば、秋は空気が乾燥しており、肺は潤いを好む臓器である事から、燥邪が侵入すると肌が乾燥しやすくなる。即ち、肌の乾燥を予防するには肺を潤す食物を食べれば良いという事になる。この様に、体の内部で異変が起こると、最も表層にある皮膚にトラブルの兆候があらわれる事から、“肌は内臓の鏡”と言われている。

1-1-1 気の虚実と肌の特徴

1) 気虚と肌質

【気虚の症状】

元気がない、疲れやすい、風邪を引きやすい、息切れして声に力が無くなる、食欲低下、低血圧傾向、生理が遅れ気味。

【気虚の肌の特徴】

弾力が無く、たるみ易い（中気下陷）。原因としては、脾の運化作用の低下により肌に栄養が不足する為、くすみや乾燥が現れる。

2) 気滞と肌質

【気滞の症状】

のどや胸がつまった感じや、腹部や胸脇部に張りがある。ため息が多く、ガスやゲップがよく出る。イライラや鬱など情緒不安定、生理前に不快な症状が出易い、などがある。

【気滞の肌の特徴】肌の状態が不安定で、シミや混合肌がよく見られる。

1-1-2 血の虚実と肌の特徴

1) 血虚と肌質

【血虚の症状】

立ち眩みや眩暈、眠りが浅く夢を良く見る。生理が遅れ気味で、経血量が少ない、あるいは生理期間が短い、髪の毛が細く艶が無い、爪が薄くて割れ易いなどの症状が認められる。血を蔵する肝の機能低下は、血余（けつよ）とも呼ばれる髪の毛や肝の華と呼ばれる爪に影響が現れる。

【血虚の肌の特徴】

血色が悪い、シワができやすい、乾燥肌が多いなどの症状を示す。

2) 瘀血と肌質

【瘀血の症状】

頭痛、肩凝り、唇や舌が紫色を呈する、生理痛、経血に血塊が混じる、子宮や卵巣の疾患などが現われる。

【瘀血の肌の特徴】

シミやそばかすが多く、くすみが見えやすい。気滞血瘀の場合は混合肌が多い。

1-1-3 陰の虚実と肌の特徴

1) 陰虚と肌質

【陰虚の症状】

のぼせ、火照り、寝汗、口が渇く、ドライアイ、などの症状を呈する。

【陰虚の肌の特徴】

シワができ易い、バリア機能が低下し敏感肌になりやすい、などの特徴を有する。

2) 痰湿と肌質

【痰湿の症状】

むくみやすい、頭や体が重だるい、軟便気味、湿疹ができ易い、などの症状を呈する。

【痰湿の肌の特徴】

たるみや毛穴が目立つ、むくみ易い、脂性肌が多い、などの特徴を有する。

1-2 肌・髪の新養生

寒い地域には体を温める薬草、暑い地域には

たるみ・老化	肌のくすみ	肌のしわ	乾燥肌	髪つや
 ナマコ  牛乳  胡桃	 豚肝  胡麻	 鶏肉  豚肝	 胡麻  牛乳	 黒胡麻  海苔
 林檎  バナナ	 玉葱  生姜	 羊肉  胡桃	 胡瓜  大豆	 海草
 山芋  玉葱	 唐辛子  大蒜	 百合根	 百合根	
 人参  豆腐	 牛乳  黒豆			
 唐辛子  兎肉	 白木耳  人参			

図2 肌・髪・食養生

体を冷ます薬草，乾燥する地域には潤いを与える薬草，湿気が多い地域には乾燥させる薬草，といった特徴のある薬草が生育し，先人はこうした薬草を健康維持に利用してきた。この中で肌のハリや潤い，くすみ，シミ，しわなどに有効な薬草が，肌の健康を守る食材として活用されてきた。

1-2-1 肌・髪に良い食品

過労，不眠，などによる皮膚への栄養不良が原因でおこる肌のしわ・たるみ・肌の老化に有効な食材としては，兎肉，なまこ，牛乳，冬瓜の種，胡桃，杏仁，柏子仁，胡麻，林檎，バナナ，山芋，玉葱，人参，唐辛子，白木耳，豆腐，胡瓜などがある。

くすみの改善には，気血を養う牛乳，黒米，白木耳，胡麻，豚レバーや，活血作用のある玉葱，黒豆，唐辛子，生姜，大蒜，人参，ストレスを解消させる紫蘇，薤白（ラッキョウ），枸杞子などが有効である。

シワの改善には，鶏卵，豚足，豚レバー，羊肉，木耳，百合根などが有効である。

皮膚のたるみの改善には，豆類，牛乳，胡桃，胡麻，キノコ，魚類，豚レバーなどが有効である。

乾燥肌の改善には，胡麻，牛乳，大豆，百合根，胡瓜などが有効である。

黒くてつややかな髪には黒胡麻，何首烏，桑椹を組み合わせた三黒生髪散といった中医薬が髪の毛を黒くつやつやにすると報告されている。髪の毛は血や精との関連が深く，五臓の肝と腎の陰血を補う食材が効果を有すると報告されている。

（美容によく使われる食材）

穀・豆類

- 黒米：体を潤わせ，血の巡りを良くする。
- 大麦：（味／性）甘，鹹／寒（婦経）脾，胃（効能）顔色を良くし，肌を白くする。
- 黒豆：（味／性）甘／平（婦経）脾，胃，腎（効能）腎を強くし，血の巡りを良くする。
- 緑豆：（味／性）甘／涼（婦経）心，胃（効能）肌に潤いを与え，精神を安定させる。
- 黒胡麻：（味／性）甘／平（婦経）肝，腎（効能）滋補肝腎，養血生津，益寿延年を有する。皮膚に潤いを与え，顔色を良くする。

『本草綱目』『神農本草經』『本草經流』に、
胡麻為五穀之長、服是之不老との記述。

- 豆腐：(味/性) 甘/涼 (婦經) 胃, 脾, 大腸 (効能) 滋補強壯, 益寿延年, 滋陰潤燥, 益氣養血の効果を有する食品。

野菜類

- 大根：(味/性) 辛, 甘/涼 (婦經) 肺, 胃 (効能) 肌に潤いを与え, 肌を白くする。
- 生姜：(味/性) 辛/微温 (婦經) 肺, 脾 (効能) 血行を促進し, 顔色を良くする。
- 落花生：(味/性) 辛/微温 (婦經) 脾, 肺 (効能) 肌に潤いを与え, 肌艶を良くする。
- 人参：(味/性) 甘/涼 (婦經) 脾, 胃, 肺 (効能) 養肝明目, 潤沢皮膚の効果を有する。肌に潤いを与え, 肌艶を出し, シワ取りにも有効。
- 百合根：肌に潤いを与え, シワの防止に有効。
- イモ類：肌に潤いを与える。
- 冬瓜：(味/性) 甘, 淡/涼 (婦經) 肺, 大腸, 膀胱 (効能) 熱をとり, 吹き出物やニキビに良い。
- 冬瓜子の種：(味/性) 甘/寒 (婦經) 肺, 胃, 大腸, 小腸 (効能) 益氣, 不飢の効果を有する。
- 胡瓜：(味/性) 甘/寒 (婦經) 胃, 小腸 (効能) 益寿延年の効果を有する。肌に潤いを与え, 外用では保湿やシワの防止に有効。
- 苦瓜：(味/性) 甘, 淡/寒 (婦經) 心, 脾, 胃 (効能) 吹き出物に有効。
- 白木耳：(味/性) 甘/平 (婦經) 肺, 胃, 腎 (効能) 美容健膚作用, 延緩老化の効果を有する。肌に潤いを与え (保湿作用), シミの防止にも有効。
- モヤシ：(味/性) 甘/寒 (婦經) 脾, 胃, 膀胱 (効能) 肌に潤いを与え, シミの防止に有効。
- 山芋：(味/性) 甘/平 (婦經) 肺, 脾, 腎 (効能) 健脾補肺, 固腎益精の効果を有する。

- 玉葱：(味/性) 甘, 辛/微温 (婦經) 脾, 胃, 肺 (効能) 細胞間質の形成や損傷細胞の修復の増強効果を有する。

魚・肉・乳製品類

- 兎肉：(味/性) 甘/冷 (婦經) 脾, 胃, 大腸 (効能) 強壯身体, 潤膚美顔の効果を有する。
 - 羊肉：(味/性) 甘/温 (婦經) 脾, 腎 (効能) 顔色を良くし, 肌艶を良くする。
 - 鶏肉：(味/性) 甘/温 (婦經) 脾, 胃 (効能) 顔色を良くし, 美白作用が有る。
 - 牛乳：(味/性) 甘, 平 (婦經) 心, 肺 (効能) 養心肺, 解熱毒, 潤皮膚, 沢肌悦面の効果を有する。肌に潤いを与える。
 - なまこ：(味/性) 微鹹, 温 (婦經) 心, 腎 (効能) 補益強壯, 補腎填精, 滋陰潤燥, 延年益寿の効果を有する。血を増やし, 体を潤わせ, 肌に弾力を与え, 肌艶を良くする。
 - うなぎ：(味/性) 甘/平 (婦經) 肝, 脾, 腎 (効能) 肌に潤いを与え, シワ防止, 肌艶改善に有効。
 - 豚足：(味/性) 甘/鹹 (婦經) 胃 (効能) 肌に潤いを与え, 肌の弾力を守る。
 - うに (海胆)：(味/性) 鹹/平 (効能) 肌に潤いを与え, 肌艶を出す。
 - エビ：(味/性) 甘/温 (婦經) 肝, 腎 (効能) 体を温め, 肌艶を出す。
- ## 果物
- もも：(味/性) 甘, 酸/平 (婦經) 肝, 大腸 (効能) 顔色を良くする。
 - さくらんぼ：顔色を良くする。
 - 林檎：(味/性) 酸, 甘/涼 (効能) 皮膚に潤いをもたらす。
 - レモン：(味/性) 酸/平 (婦經) 肺, 胃 (効能) 美白作用があり, 肌に潤いを与える。
 - ざくろ：(味/性) 甘, 酸/温 (婦經) 胃, 大腸 (効能) 肌に潤いを与え, 肌艶を良くする。シワ防止にも有効。

- バナナ：(味/性) 甘/寒 (婦経) 脾, 胃
(効能) 抗癌, 抗衰老, 潤膚美容の効果を有する食品。

その他

- 胡桃：(味/性) 甘/温 (婦経) 腎, 肺, 大腸 (効能) 補腎納気, 滋陰潤燥, 補欠益髓の効果を有する食品。『本草綱目』には, 通経絡, 潤血脈, 黒須髪との記述。
- 杏仁：(味/性) 苦/温 (婦経) 肺, 大腸 (効能) 潤沢肌膚, 通利血絡, 美容効果を有する食品。
- 柏子仁：(味/性) 甘/平 (婦経) 心, 肝, 腎 (効能) 滋補陰液, 潤五臓, 潤肌膚, 強身体の効果を有する食品。
- 唐辛子：(味/性) 辛/温 (婦経) 心, 脾 (効能) 健胃消食, 促進局部血液循環, 改善皮膚營養, 潤沢皮膚, 延年益寿の効果を有する食品。『本草綱目』には, 辣椒性温, 味辣, 能除風邪, 温中寒痺, 堅髮齒, 明目, 久服輕身体好顔色, 体老増年の記載。

*****◀

1-2-2 肌に良い生薬

- ①肌のしわ・たるみ・肌の老化に有効な生薬
地黄, 枸杞子, 五加皮, 紫河車 (プラセンタ), などが報告されている。
- ②肌のシミやくすみを薄くするのに有効な生薬
苦参, 紫蘇葉, 川芎, 丹参, 莪朮, 紅花, 桃仁, などが報告されている。
- ③肌のきめ・抵抗力をあげるのに有効な生薬
薏苡仁, 甘草, 当帰, 人参, 黄耆, 防風, 肉苁蓉, などが報告されている。
- ④肌の炎症や皮脂の分泌を整えるのに有効な生薬
金銀花, 馬齒莧, 黄芩, 黄連, 茶葉, などが報告されている。
- ⑤美顔に有効な生薬
珍珠, 朝鮮人参, 沙苑子, 桃花, 枸杞子, 黄

精, 香白芷, 天門冬, などが報告されている。

- 珍珠：(味/性) 甘, 鹹/寒 (婦経) 心, 肝 (効能) 皮膚のきめが細かく, 潤い, 白くする。
- 朝鮮人参：(味/性) 甘, 微 (婦経) 脾, 肺 (効能) 補気固脱, 生津安神の作用。
- 沙苑子：(味/性) 甘/温 (婦経) 腎, 肝 (効能) 補益肝腎の作用。『本草從新』に補腎益精, 明目悦顔の作用が記載。
- 桃花：(味/性) 苦/平 (婦経), (効能) 活血, 利水, 通便。脈絡を通じさせ, 抹消血管を拡張し, 血液循環を改善し, 皮膚に栄養を供給する。
- 枸杞子：(味/性) 甘/平 (婦経) 肝, 腎 (効能) 補肝腎, 生精益氣, 平補の作用。
- 黄精：(味/性) 甘/平 (婦経) 脾, 肺, 腎 (効能) 滋補強壯, 強身延年, 滋陰養血, 補中益氣の作用。
- 香白芷：(味/性) 辛, 苦/微温 (婦経) 肺, 胃 (効能) 行気止痛, 活血散瘀の作用。
- 天門冬：(味/性) 甘, 苦/寒 (婦経) 肺, 腎 (婦経) 益氣延年の作用。皮膚を養い, 氣を増し, 皮膚に良い作用を示す。

*****◀



2. 美容鍼



“美容鍼”は健康美を目指した鍼灸の治療法である。美容鍼の歴史はとても古く, 明・清時代までさかのぼる。皇帝の妃をはじめ, 宮廷で暮らしていた女官たちを美しく輝かせるために研究された「宮廷美容術」の一つで, 古代中国では容姿の美しさは「健康」や「長寿」と密接な関係があると認識されてきた。そのため, 美容鍼灸の目的は, 形態的な容姿を改善することだけでなく, 心身ともに健康状態を維持するこ

とによって、各種の疾患を予防して美しく長生きする事を目的にした治療法なのである。

2-1 美容鍼による健康管理

美容鍼治療は、健康美を目指すだけでなく、ストレス、便秘や月経時の不快感など、女性に多い悩みを改善する治療にも用いられている。

①便秘と美容

便秘に悩んでいる人の多くが肌のトラブルも持っている。便秘になると肌荒れが起こり易い事は良く知られているが、鍼治療により排便の機能を調整する事で大腸の正常な働きを回復させる事ができる。

②ストレスと美容

ストレスによる内臓への影響は大きく、胃腸の機能低下により便秘などが発生し、皮膚の悪化（肌荒れ）をもたらす。鍼刺激はストレスによって変化した神経伝達物質を正常化させる作用が有る事が報告されており、ストレス緩和が期待できる。

《古典落語の中の漢方医者》

泳ぎの医者（およぎのいしゃ）は、古典落語の演目の一つ。『藪医者』を徹底的にこき下ろした話で、原話は中国の明代に書かれた笑話本、『笑府』。演者は多く、2代目三遊亭圓生や初代三遊亭圓朝、近代では6代目三遊亭圓窓が演じている。

江戸近郊に住む豪農、作右衛門が留守の間に娘が急病にかかりまして、山井養仙というお医者さんと呼んできました。

養仙先生、おもむろに娘の脈をとりまして、重々しくうなづくと

「薬をあげるから後で取りに来なさい」

と作右衛門に言いつけました。

ところが、その薬を飲み始めて二日後に娘は容態が急変して死んでしまったのです。

「まあまあ、人の寿命のことだからそういうこともある…」

作右衛門と家族はあきらめて泣く泣く娘の弔いを出したのですが、それ以降もあちこちで「養仙の薬を飲んだ患者が亡くなった」という話を耳にする。

「あのヤブ医者め！」

と腹を立てておりますと、道でばったり養仙に出会いました。

「おのれ！娘の仇！！」

血相を変えて追いかけてくる作右衛門を振り払い、養仙はあわてて駆け出しましたが、やがて逃げ道を失ってやむをえず川に飛び込んだ。

幸い養仙は泳ぎの心得があったので何とか家に辿り着いた養仙だったが、こうなってはもうこの村に居られません。家財道具をまとめてどこかへ逃げようと覚悟を決めて荷造りをしておりますと、二階からひょっこり息子が顔を出しました。

「逃げるぞ、家財道具をまとめる！」

降りて来た息子にそう言い、ふと見ると何だか難しそうな本を持っている。

「何だ、それは？」

「傷寒論と言う医学書です」

「医学書？医者勉強なら、まず先に泳ぎを覚えておけ」

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 中医学の基礎 平馬直樹・兵頭明・路京華・劉公望監訳 東洋学術出版社
- 2) やさしい中医学入門 関口善太著 東洋学術出版社
- 3) 中医臨床のための中薬学 神戸中医学研究会編著 医歯薬出版
- 4) [詳解] 中医基礎理論 劉燕池・宋天彬・張瑞馥・董連榮著／浅川要監訳 東洋学術出版社
- 5) 東洋医学のしくみ 兵頭明監修 新星出版社
- 6) 中医食療方 瀬尾港二, 宗形明子, 稲田恵子著 東洋学術出版社
- 7) 全訳中医基礎理論 浅野周訳 たにぐち書店
- 8) 漢方アドバイザー養成講座テキスト 漢方に関する基礎知識編 第二巻 JACDS
- 9) 薬膳と中医学 徳井教孝・三成由美・張再良・郭忻共著 建帛社
- 10) 医学生のための漢方・中医学講座 入江祥史編著 医歯薬出版
- 11) 全訳中医診断学 王憶勤主編 たにぐち書店
- 12) 中医診断学ノート 内山恵子著 東洋学術出版社
- 13) 漢方アドバイザー養成講座テキスト 漢方に関する基礎知識編 第三巻 JACDS
- 14) 漢方アドバイザー養成講座テキスト 漢方に関する基礎知識編 第四巻 JACDS

<http://www.newfoodindustry.com/>

ニューフードインダストリー 第52巻 第7号

印刷 平成 22 年 6月 25 日
発行 平成 22 年 7月 1 日
発行人 宇田 守孝
編集人 村松 右一
発行所 株式会社食品資材研究会
〒101-0038 東京都千代田区神田美倉町10 (共同ビル新神田)
TEL : 03-3254-9191 (代表)
FAX : 03-3256-9559
振込先 : 三菱東京UFJ銀行 京橋支店 (普通) 0070318
三井住友銀行 日本橋支店 (当座) 6551432
郵便振替口座 00110-6-62663
印刷所 株式会社アイエムアート
定価 2,100円 (本体2,000円+税) (送料100円)

email : info@newfoodindustry.com