

New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2011 Vol.53 No.10

10

論 説

- 緑藻シフォナキサンチンの新しい機能性
- 植物乳酸菌のヘルスサイエンス
- パン酵母 β -グルカンとブドウ種子抽出物のヒラメ腹面黒化症抑制効果
- イチジクの揮発性画分より単離されたベンズアルデヒド
— その抗腫瘍活性と誘導体の開発 —
- ポリフェノールはなぜ効くのか
Why polyphenols are almighty?
- きこの発酵能を利用した機能性食品の開発
- ウンシュウミカン果実における
 β -クリプトキサンチンの蓄積・調節メカニズム

連載 ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品

- 第9回 アジア大陸中央部高地地帯
— インド北部でのチベット系移牧民ラダークの事例

連載

- 業界を変えた 驚くべきヒット食品 — 「じゃがりこ」カルビー株式会社 —
- 薬膳の知恵 (61)
- 築地市場魚貝辞典 (アワビ)



論 説

- 緑藻シフオナキサンチンの新しい機能性
..... 菅原 達也 1

- 植物乳酸菌のヘルスサイエンス
..... 杉山 政則, 野田 正文 7

- パン酵母 β -グルカンとブドウ種子抽出物の
ヒラメ腹面黒化症抑制効果
..... 酒本 秀一, 山本 眞司, 糟谷 健二, 村田 修 15

- イチジクの揮発性画分より単離されたベンズアルデヒド
-その抗腫瘍活性と誘導体の開発-
..... 坂上 宏, 石原 真理子, 斎藤 潤, 東風 幹子, 東風 睦之 27

- ポリフェノールはなぜ効くのか
Why polyphenols are almighty?
..... 矢澤 幸平, 坂上 宏 44

- きこの発酵能を利用した機能性食品の開発
..... 松井 徳光, 田畑 麻里子 49

- ウンシュウミカン果実における
 β -クリプトキサンチンの蓄積・調節メカニズム
..... 加藤 雅也 58

連載 ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品

- 第10回 アジア大陸中央部高地地帯
— インド北部でのチベット系移牧民ラダークの事例
..... 平田 昌弘 65

連載

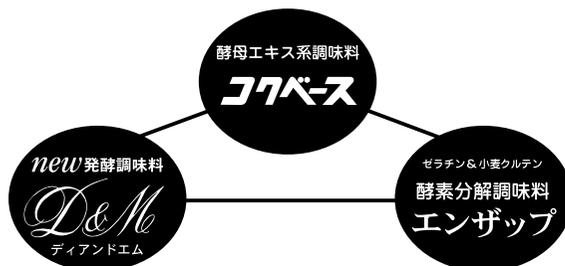
- 業界を変えた 驚くべきヒット食品
— 「じゃがりこ」カルビー株式会社 —
..... 田形 暎作 75

- 薬膳の知恵 (61)
..... 荒 勝俊 82

- 築地市場魚貝辞典 (アワビ)
..... 山田 和彦 88

おいしさと健康に真剣です。

酵素分解調味料なら
大日本明治製糖へ



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。



大日本明治製糖株式会社

食品事業部

緑藻シフォナキサンチンの新しい機能性

菅原 達也*

* SUGAWARA Tatsuya (京都大学大学院 農学研究科)

Key Words：シフォナキサンチン・海藻・カロテノイド・血管新生阻害・抗老化・抗肥満

はじめに

黄色から赤色を呈する脂溶性色素であるカロテノイドは、動物、植物、微生物など自然界に幅広く分布している。カロテノイドを生合成できる生物は、光合成を行う独立栄養生物のみであり、一般に動物では生合成できない。植物や光合成細菌などの独立栄養生物によって作られたカロテノイドは食物連鎖によって動物にも供給され、そのまま、あるいは代謝的に変換されて体内に蓄積する。これらを含めて、自然界から750種類以上もの多種多様なカロテノイドが同定されている¹⁾。なかでも海洋生物は、陸上生物とは異なる特徴的なカロテノイドを有しており、その機能性に関する研究も進められてきている^{2,3)}。代表的なものとしては、サケやカニの主要な色素成分であるアスタキサンチン、海藻類に含まれているフコキサンチン、原索動物に含まれるハロシンチアキサンチン、アロキサンチン、渦鞭毛藻に特徴的なペリジニンなどが挙げられる。アスタキサンチンの抗酸化活性は他のカロテノイドと比べ際立って強く、抗酸化活性に由来すると考えられる抗がん作用、免疫増強作用、筋肉損傷の緩和作用などが示されている⁴⁾。また、日本人が好んで食しているワカメ、コンブ、ヒジキ、モズクなどの褐藻類に

含まれているフコキサンチンは、抗肥満作用を有することが報告されており、機能性食品素材として大変注目されている^{5,6)}。筆者らもまた、フコキサンチンをはじめとする海洋生物のカロテノイドに着目して、血管新生抑制作用、アポトーシス誘導作用、抗炎症作用など、様々な機能性について解析を進めている⁷⁻¹¹⁾。その過程で、これまで全く注目されていなかった緑藻に特有のカロテノイドであるシフォナキサンチンに様々な機能性が見出されてきている。そこで本稿ではその一部を紹介する。

1. シフォナキサンチンについて

海藻は一般的に、紅藻、褐藻、緑藻に大別される。一般に食されているワカメやコンブ、ヒジキ、アラメなどは褐藻類であり、海苔の原料となるスサビノリは紅藻類である。一方、緑藻類の流通は他の2種に比べると多くはないが、アオサやアオノリ、クビレズタ（海ブドウ）などが食されている。シフォナキサンチンは緑藻類の中でも比較的深いところに生息する深所性のもの（クビレズタやミルなど）に特有のカロテノイドであり、C19位に水酸基を有する独特の化学構造を有している（図1）。他のカロテ

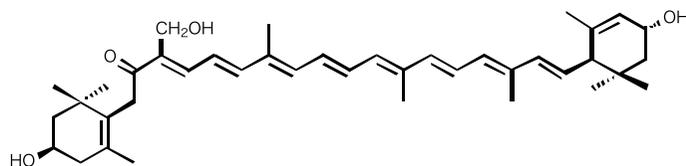


図1 シフォナキサンチン

ノイドと同様に、光合成に関与しており、海面から比較的深いところまで届くことの出来る青から緑の波長を補足する。シフォナキサンチン含有量の比較的高いミル (*Codium fragile*) は、伝統的に食されている海藻であり、日本では飛鳥時代よりも前から食用とされている。しかしながら、現代の日本では自生したものがわずかに採取されているのみでほとんど流通されていない。

2. シフォナキサンチンのアポトーシス誘導作用

欧米ではガンによる死亡率の第二位で、日本でも増加傾向にある前立腺ガンの発症と野菜や果物の摂取量には逆相関関係があると言われている。とくに血漿リコペン濃度が高いほど前立腺ガンのリスクが低下することから、カロテノイド摂取が前立腺ガンに抑制的に働くことが期待されている。これまでに数多くの研究がなされており、様々なカロテノイドがガン細胞に対してアポトーシスを誘導することも報告されている。このような背景のもと、筆者らは白血病由来 HL-60 細胞を用いて、海洋生物由来カロテノイドによる細胞致死活性を網羅的に評価した。その結果、シフォナキサンチンはこれまでにアポトーシス誘導作用が報告されているフコキサンチン^{12,13)}、ペリジニン⁸⁾、ハロシンチアキサンチン¹⁴⁾ などと同等以上の極めて強いアポトーシス誘導作用を有することを初めて見出した (図2)¹⁵⁾。フコキサンチンと比較した評価を進めた結果、シフォナキサンチンはフコキサンチンよりも速やかにアポトーシスを誘導す

ることがわかった (図3)。また、細胞内への取り込みも早く、同一条件ではフコキサンチンの約2倍であった。さらに興味深いことに、シフォナキサンチンはサイトカインの一種である TRAIL (Tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand) のレセプター (DR5) の発現を亢進した。TRAIL はガン細胞特異的にアポトーシスを誘導するため、副作用のないガン治療に向けて注目されており、シフォナキサンチンはその感受性を高める可能性も期待される。一方、シフォナキサンチンの C19 位脂肪酸エステル体であるシフォネインには、シフォナキサンチンのような活性は認められなかった。シフォナキサンチンは、フコキサンチンやペリジニンのようなアレノ構造やハロシンチアキサンチンのようなプロピレン構造を有しておらず、C19 位の水酸基がその活性に重要と推測される。

3. シフォナキサンチンの血管新生抑制作用

血管新生とは、文字通り血管が新しく形成される現象のことであり、悪性腫瘍や糖尿病性網膜症、リウマチ、肥満など様々な病態に深く関わっていることから、その抑制物質の探索が精力的に行われている¹⁶⁾。血管新生のプロセスとしては、まず血管内皮細胞が産生するプロテアーゼによって基底膜が消化され、次いで血管内皮細胞が遊走・増殖する。最終的に血管壁細胞ペリサイトに取り囲まれて管腔構造を構築することで、既存の血管から新たな血管が形成される。筆者らは以前、ヒト臍帯内皮由来細胞

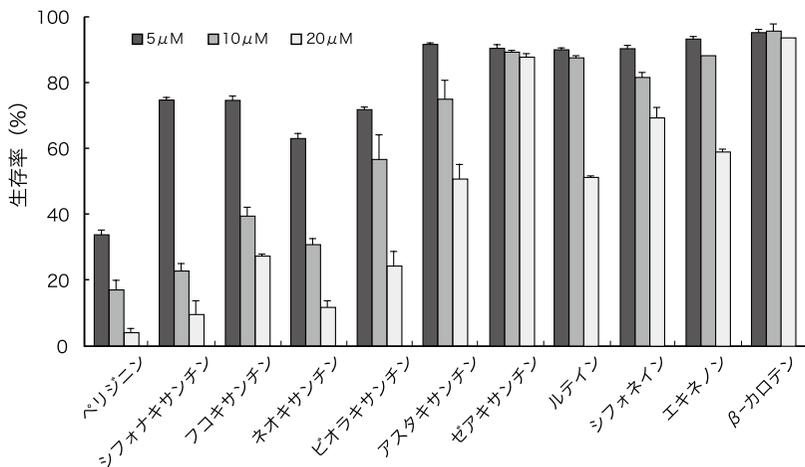


図2 HL-60細胞に対するカロテノイドの細胞致死活性

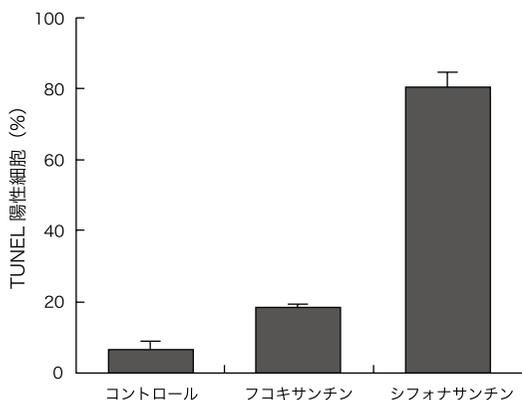


図3 フコキササンチンとシフォナキササンチンのアポトーシス誘導の比較 (添加8時間後)

(HUVEC) の管腔形成試験やラット動脈片を用いた *ex vivo* 試験を用いて、フコキササンチンとその脱アセチル化物であるフコキササンチノールが強力な血管新生抑制作用を有することを報告している⁹⁾。緑藻由来シフォナキササンチンについて同様の評価を行ったところ、フコキササンチンよりも低濃度で血管新生抑制作用を示すことが明らかとなった (図4)¹⁷⁾。現在、その作用メカニズムの詳細な解析を進めており、内皮細胞における繊維芽細胞増殖因子 (bFGF) を介したシグナル伝達に対して抑制的に働くことが明らかになってきている (投稿準備中)。また、

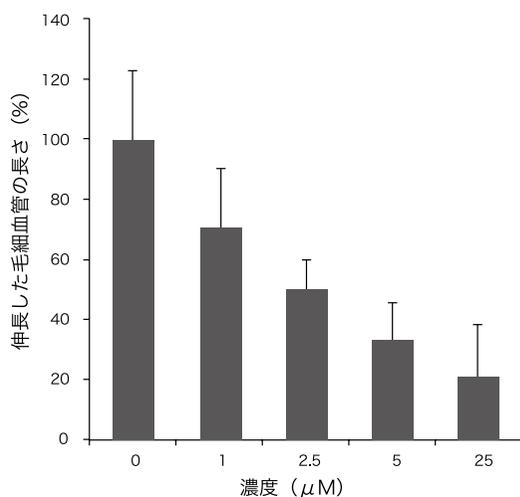


図4 ラット動脈片を用いた血管新生に対するシフォナキササンチンの抑制効果

これまでに筆者らは、フコキササンチンを含む一部のカロテノイドが細胞膜マイクロドメインである脂質ラフトを介したシグナル伝達を制御することで、肥満細胞の脱顆粒反応を抑制することを見出している¹⁰⁾。bFGFを介したシグナル伝達にも脂質ラフトが関わるということが報告されており¹⁸⁾、シフォナキササンチンの血管新生抑制作用メカニズムにおける脂質ラフトの関わりにも興味をもたれる。

4. シフォナキサンチンの光老化抑制作用

従来、皮膚の老化は加齢（自然老化）によって進むものと考えられてきたが、現在ではUVAやUVBなどの紫外線に暴露されることによって引き起こされる皮膚の光老化現象がシワ形成の主要因として注目されている¹⁹⁾。その主な現象としては、深いシワ、タルミ、表皮肥厚化、グルコサミノグリカンの増加、コラーゲンの減少、肥満細胞の浸潤、浮腫、肝斑、紅斑色素沈着、毛細血管拡張症、光線性角化症、黒色腫、有棘細胞癌などが挙げられる。光老化のメカニズムについては、その原因の一つとして皮膚組織におけるフリーラジカルの生成が挙げられている。その一方で、光老化現象には血管新生が深く関わることを示されてきている。表皮角化細胞（ケラチノサイト）が紫外線に暴露されると、血管新生を促進する因子であるVEGF（vascular endothelial growth factor）の発現が亢進し、血管新生を抑制する因子であるTSP-1（thrombospondin-1）の発現が抑制される。その結果、血管新生の亢進状態が引き起こされ、光老化が促進することが示唆されている^{20,21)}。

これまでに筆者らは、ヘアレスマウスを用い、紫外線暴露により惹起される皮膚の光老化に及ぼすカロテノイド塗布の影響を評価しており、

フコキサンチン塗布によって光老化が抑制されることを報告している²²⁾。同様の試験にて、シフォナキサンチンも光老化抑制作用を示すことが確認されており、詳細な解析を進めている（図5）。

5. シフォナキサンチンの脂肪細胞分化抑制作用

フコキサンチンは抗肥満作用を示すことで注目されており、前駆脂肪細胞の分化を抑制することも報告されている²³⁾。筆者らは、シフォナキサンチンがフコキサンチンよりも強力に前駆脂肪細胞の分化を抑制することを見出した（図6）²⁴⁾。詳細な作用機序の解明と生体レベルでの効果について、現在検証を進めている。

6. シフォナキサンチンの消化管吸収

カロテノイドを食品機能性成分として利用するためには、経口的に摂取された際の消化管吸収に関する知見が必須である。筆者らは、これまでにカロテノイドの消化管吸収についても評価を行ってきている²⁵⁻²⁷⁾。シフォナキサンチンについてもマウスを用いた検討を行っており、経口摂取されたシフォナキサンチンが血中から検出されることを確認している（図7）。また、

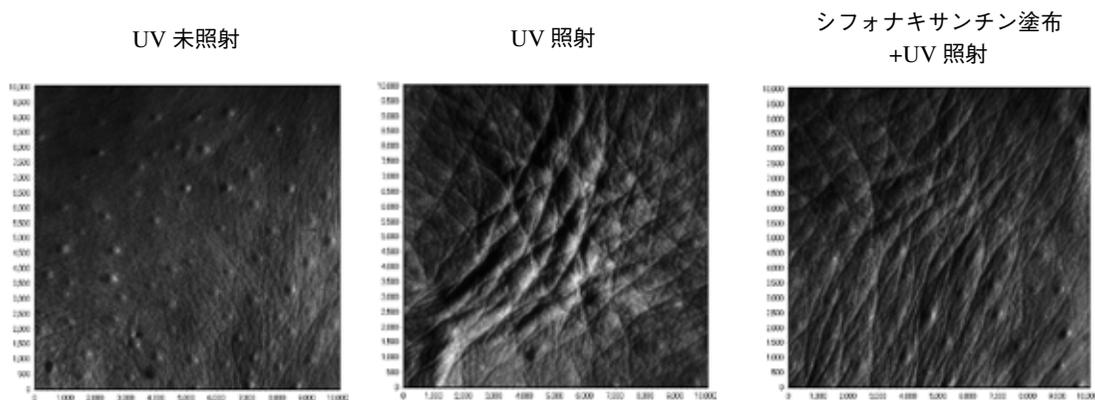


図5 UV照射による光老化モデルヘアレスマウスの皮膚レプリカ

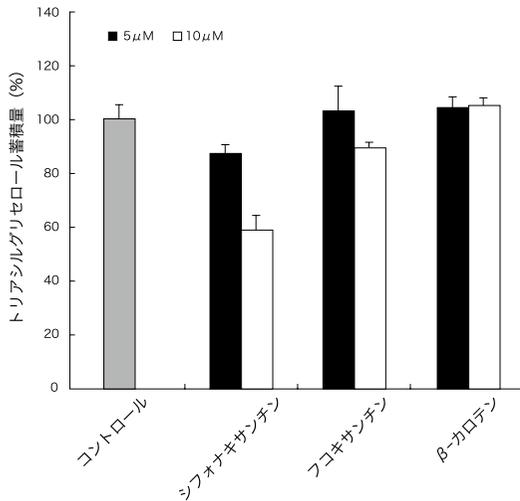


図6 脂肪細胞のトリアシルグリセロール蓄積に与えるカロテノイドの影響

シフォナキサンチンのC19位脂肪酸エステル体であるシフォネインを投与した場合、シフォネインとシフォナキサンチンが血中から検出されるものの、その吸収率はシフォナキサンチンに比べて極めて低い。したがって、シフォネインは酵素的もしくは化学的にシフォナキサンチンに分解した後に摂取したほうが、より効果が期待できるものと思われる。

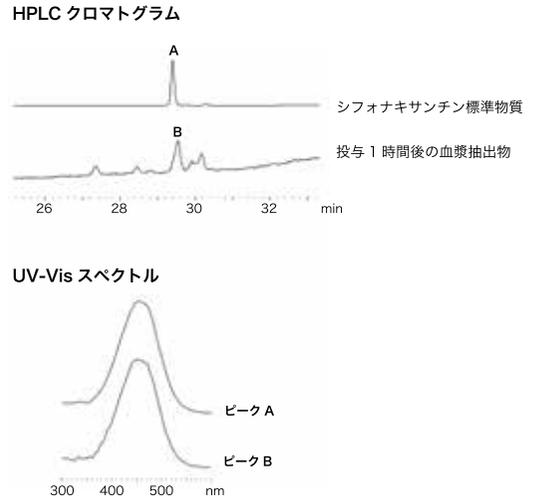


図7 シフォナキサンチン投与後のラット血漿抽出物のHPLC-PDA解析例

おわりに

緑藻に特有のカロテノイドであるシフォナキサンチンについては、これまでその機能性はほとんど知られていなかった。本稿で紹介したように、筆者らの研究により、新しい機能性が少しずつ明らかになってきている。その活性は、現在注目されている褐藻由来フコキサンチンに比べて同等以上であることから、新しい機能性素材として有望と考えられ、今後のさらなる研究が求められる。

..... 参考文献

- 1) カロテノイドーその多様性と生理活性ー, 高市真一編, 東京, 裳華房, 2006.
- 2) 海洋生物のカロテノイドー代謝と生物活性, 幹渉編, 東京, 恒星社厚生閣, 1993.
- 3) 平田 孝, 水産物の色, 21世紀の農学第5巻, 食品の創造, 安達修二編, 京都大学学術出版会, 2008.
- 4) 水産食品栄養学ー基礎からヒトへー, 鈴木平光, 和田 俊, 三浦理代編, 東京, 技報堂出版, 2004.
- 5) Maeda H, Hosokawa M, Sashima T, *et al.*: Fucoxanthin from edible seaweed, *Undariapinnatifida*, shows antiobesity effect through UCPI expression in white adipose tissues. *Biochem Biophys Res Commun* **332**: 392-397, 2005.
- 6) Miyashita K, Nishikawa S, Beppu F, *et al.*: The allenic carotenoid fucoxanthin, a novel marine nutraceutical from brown seaweeds. *J Sci Food Agric* **91**: 1166-1174, 2011.
- 7) 菅原達也, 平田 孝: 海洋生物カロテノイドの生理機能, *New Food Industry* **51**: 19-26, 2009.
- 8) Sugawara T, Yamashita K, Sakai S, *et al.*: Induction of apoptosis in DLD-1 human colon cancer cells by peridinin isolated from the dinoflagellate, *Heterocapsatriquetra*. *Biosci Biotechnol Biochem* **71**: 1069-1072, 2007.

- 9) Sugawara T, Matsubara K, Akagi R, *et al.*: Antiangiogenic activity of brown algae fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol. *J Agric Food Chem* **54**: 9805-9810, 2006.
- 10) Sakai S, Sugawara T, Matsubara K, *et al.*: Inhibitory effect of carotenoids on the degranulation of mast cells via suppression of antigen-induced aggregation of high affinity IgE receptor. *J Biol Chem* **284**: 28172-28179, 2009.
- 11) Sakai S, Sugawara T, Hirata T: Inhibitory effect of dietary carotenoids on dinitrofluorobenzene-induced contact hypersensitivity in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* **75**: 1013-1015, 2011.
- 12) Kotake-Nara E, Kushiro M., Zhang H, *et al.*: Carotenoids affect proliferation of human prostate cancer cells. *J Nutr* **131**: 3303-3306, 2001.
- 13) Kotake-Nara E, Sugawara T Nagao A: Antiproliferative effect of neoxanthin and fucoxanthin on cultured cells. *Fish Sci* **71**: 459-461, 2005.
- 14) Konishi I, Hosokawa M, Sashima T, *et al.*: Halocynthiaxanthin and fucoxanthinol isolated from *Halocynthia roretzi* induce apoptosis in human leukemia, breast and colon cancer cells. *Comp Biochem Physiol C* **142**: 53-59, 2006
- 15) Ganesan P, Noda K, Ohkubo T. *et al.*: Siponaxanthin, a carotenoid from marine algae effectively induces apoptosis in human leukemia (HL-60) cells. *Biochim Biophys Acta* **1810**: 497-503, 2011.
- 16) 松原主典：カロテノイドと血管新生抑制。水産物の色素－嗜好性と機能性，平田 孝，菅原達也編，東京，恒星社厚生閣，92-102, 2008.
- 17) Ganesan P, Matsubara K, Ohkubo T, *et al.*: Anti-angiogenic effect of siphonaxanthin from green algae, *Codium fragile*. *Phytomedicine* **17**, 1140-1144, 2010.
- 18) Ridyard MS, Robbins SM: Fibroblast growth factor-2-induced signaling through lipid raft-associated fibroblast growth factor receptor substrate 2 (FRS2). *J Biol Chem* **278**: 13803-13809, 2003.
- 19) Bologna JL: Aging Skin. *Am J Med* **98**: 99S-103S, 1995.
- 20) Hirakawa S, Fujii S, Kajiya K, *et al.*: Vascular endothelial growth factor promotes sensitivity to ultraviolet B-induced cutaneous photodamage. *Blood* **105**: 2392-2399, 2005.
- 21) Yano K, Kajiya K, Ishiwata M, *et al.*: Ultraviolet B-induced skin angiogenesis is associated with a switch in the balance of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 expression. *J Invest Dermatol* **122**: 201-208, 2004.
- 22) Urikura I, Sugawara T, Hirata T: Protective Effect of fucoxanthin against UVB-induced skin photoaging in hairless mice. *Biosci Biotechnol Biochem* **75**: 757-760, 2011.
- 23) Maeda H, Hosokawa M, Sashima T, *et al.*: Fucoxanthin and its metabolite, fucoxanthinol, suppress adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Int J Mol Med* **18**: 147-52, 2006.
- 24) 菅原達也，平田 孝，野田賢二：脂肪前駆細胞分化抑制剤，特願 2010-141000
- 25) Sugawara T, Kushiro M, Zhang H, *et al.*: Lysophosphatidylcholine enhances carotenoid uptake from mixed micelles by Caco-2 human intestinal cells. *J Nutr* **131**: 2921-2927, 2001.
- 26) Sugawara T, Baskaran V, Tsuzuki W, *et al.*: Brown algae fucoxanthin is hydrolyzed to fucoxanthinol during absorption by Caco-2 human intestinal cells and mice. *J Nutr* **132**: 946-951, 2002.
- 27) Sugawara T, Yamashita K, Asai A, *et al.*: Esterification of xanthophylls by human intestinal Caco-2 cells. *Arch Biochem Biophys* **483**: 205-212, 2009.

植物乳酸菌のヘルスサイエンス

杉山 政則^{*1} 野田 正文^{*2}

^{*1} SUGIYAMA Masanori, ^{*2} NODA Masafumi (広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 遺伝子制御科学研究室/広島大学 臨床評価・予防医学プロジェクト研究センター)

Key Words : 植物乳酸菌・予防医学・未病医療・免疫賦活化活性・保健機能性・自己耐性機構

はじめに

結核に有効な抗生物質ストレプトマイシンの発見により、ノーベル医学生理学賞を受賞した米国のワックスマン (S.A. Waksman) は、「微生物がつくり、微生物の増殖を阻害する物質」を抗生物質 (antibiotic) と呼ぶことを提唱した。抗生物質は微生物に対する毒物として機能するが、それをつくる微生物は自らつくる抗生物質で自滅することはない。この生体防御の機構を自己耐性 (self-resistance) 機構と呼ぶ。現在、当研究室では、結核に有効で、統合失調症の治療薬としても期待されている D-サイクロセリン (DCS) を生産する *Streptomyces* 属放線菌の自己耐性機構解明を進めている。これまでの成果として、DCS 生合成遺伝子クラスターのクロニングに成功し、その生合成遺伝子クラスターの近傍に自己耐性遺伝子が存在することを見出している¹⁾。一般的に、抗生物質は菌の生育に連動して生合成されるものではなく、菌の対数増殖期後期から定常期にかけて抗生物質合成のスイッチが入ることから、抗生物質生産の制御機構の解明は研究課題として興味深い。

地球には、放線菌以外にも抗菌物質をつくる微生物がいる。バクテリオシン (bacteriocin) と総称される「抗菌性ポリペプチド」をつくる乳

酸菌も、その一例である。当然ながら、バクテリオシンを生産する乳酸菌にも自己耐性機構が備わっている。このような経緯から、近年、乳酸菌も研究材料の1つに加え、バクテリオシン生合成の制御機構の解明に力を注いでいる。

ところで、第2次小泉内閣の時代、中央教育審議会が答申した、「我が国の高等教育の将来像」には大学の新しい使命が書かれている。大学は地域ニーズを積極的に捉えて地域と連携し、その成果を大学自身の活性化と教育研究活動に活かそうとする考えを持たない限り、社会から遊離してしまう危機感があったからである。審議会の答申は、「教育と研究」に加えて、「社会貢献」を第三の使命とすべきとした。文部科学省は、それに関連する施策として「知的クラスター創成事業」を立ち上げ、産学官連携で地域産業を活性化するためのプロジェクト研究を公募した。広島県が提案した「広島バイオクラスター」計画は平成14年に採択され、植物乳酸菌の基礎研究とその有効利用技術開発を研究目標とする「杉山プロジェクト」は1年遅れの平成15年度から開始、平成18年度まで実施された。続いて、平成19-20年度は経済産業省の地域資源活用型研究開発事業、平成20-22年度は文部科学省・都市エリア産学官連携促進事業・

杉山プロジェクトとして、一貫して新規植物乳酸菌の分離、及び保健機能性分子探索とその有効利用技術開発を推進してきた²⁾。

これまで、わが国の乳酸菌の実用的研究は大手乳業会社がりードし、ヒトにはヒトの乳酸菌、すなわち、腸管内に棲む乳酸菌を中心とした研究が盛んに進められてきた。一方、農学部系の研究室では、漬物やみそ等の醗酵食品から分離した乳酸菌を「植物性乳酸菌」と称し、その機能性研究を進めているところもある。著者は、果物、野菜、花及び薬用植物等から乳酸菌が分離できれば、味噌や漬物のような高塩濃度下で分離されるものとは違った機能を持つ乳酸菌が取得できると考え、植物を分離源として、自然環境からの乳酸菌の探索・分離を進めている。すでに、菌種を同定した乳酸菌は600株を超える。最近では、ある乳業企業から、「植物乳酸菌ライブラリー中には桜から分離した乳酸菌がありますか」との問い合わせもある。ちなみに、乳酸菌は、あくまで細菌であり、植物の性質や動物の性質を持っているわけではない。したがって、一部の企業や研究者が使用している『植物性乳酸菌』という呼び方は、科学的には間違っている。それゆえ、著者らの研究グループでは、植物から分離した乳酸菌を『植物由来乳酸菌』、もしくはそれを短縮した形で『植物乳酸菌』と呼んでいる。本総説では、それと対比する呼び方として、腸管内や口腔内から分離される乳酸菌を『動物乳酸菌』と呼ぶことにする。

乳酸菌には、『爽やか』、『安全』、『健康的』など、ポジティブなイメージがあり、「火落ち菌」と呼ばれる乳酸菌の混入により、ときどき酒の風味を損なわせる乳酸菌は知られているものの、乳酸菌の摂取が原因で健康に悪影響を及ぼすことはない。著者らの植物乳酸菌に関する一連の研究を通じて、植物乳酸菌が動物乳酸菌に比べ勝るとも劣らない保健機能性を有することを証明してきた。現在、必要に応じて、植物乳酸菌

ライブラリーから新規機能性分子を産生する乳酸菌をスクリーニングするとともに、乳酸菌体及びその生産物の毒性試験や変異原性試験を通じて安全性を検証している。そして、安全性が確認された植物乳酸菌の活用関連特許やノウハウ技術を地域企業へ移転し、産学連携で幾つかの植物乳酸菌関連製品を創出している³⁾。

本総説では、植物乳酸菌の基礎研究の現状と、予防・未病医療への植物乳酸菌の活用戦略について述べる。

1. 植物乳酸菌は胃液と胆汁酸での生存率が高い

乳や腸管等の栄養リッチな環境で生育している動物乳酸菌と違って、植物表面に生息する乳酸菌は、植物の創傷口等の浸出液から栄養を摂取しているものと考えられている。植物乳酸菌は、植物表面にいる他の細菌、カビ、酵母等との生存競争に勝たなければならず、しかも、植物アルカロイドやタンニン等の抗菌性物質に触れる機会も多いことから、動物乳酸菌に比べ、過酷な環境に強いと言えるかも知れない。当研究室では、人工胃液及び人工胆汁液の各液に各種乳酸菌を接種して、所定時間インキュベート後、生存率を測定した。その結果、図1に示すように、植物乳酸菌は、pH2.5に調整した人工胃液中に5時間以上置いても生存率はきわめて高いが、動物乳酸菌はその条件では生存できない。ちなみに、胃内消化物は2時間程度で十二指腸へ移送されると言われている。また、図2に示すように、*Lactobacillus (Lb.) plantarum* は0.3%胆汁末を含む溶液中で80%程度の生存率であるが、動物乳酸菌3株はともに、同条件で20%以下の生存率であった。同じ植物乳酸菌でも*Lb. plantarum*の方が*Lb. brevis*よりも人工胃酸や胆汁に対する耐性は高いこともわかった。このように植物乳酸菌は、動物乳酸菌に比

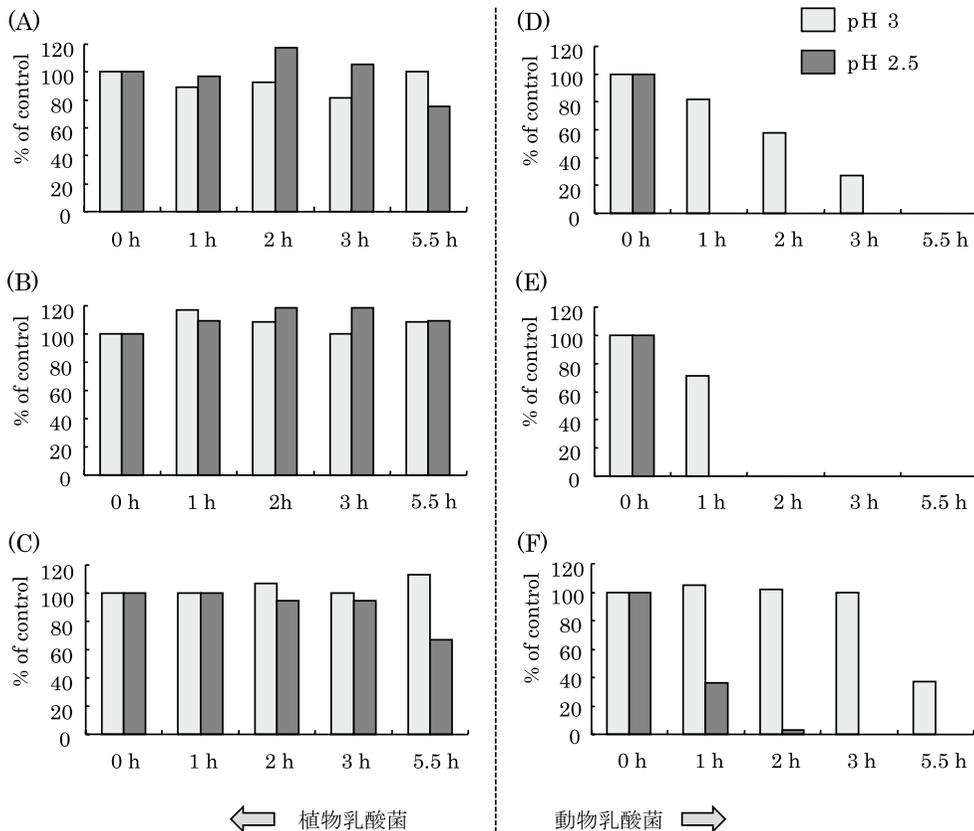


図1 各種乳酸菌株の人工胃液に対する耐性

0.04 (w/v) % ペプシンを添加した MRS 培地 (pH3, 2.5) に各乳酸菌を接種し、37℃にて嫌気培養後、1, 2, 3, 5.5 時間時点での colony-forming unit (CFU) /ml を算出し、開始時点での CFU 値に対する割合から生存率を算出した。(A), *Lb. plantarum* SN13T; (B), *Lb. plantarum* SN35N; (C), *Lb. brevis* 925A; (D), *Lc. lactis* subsp. *lactis* 527; (E), *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* B-5b; (F), *Lb. acidophilus* L-54.

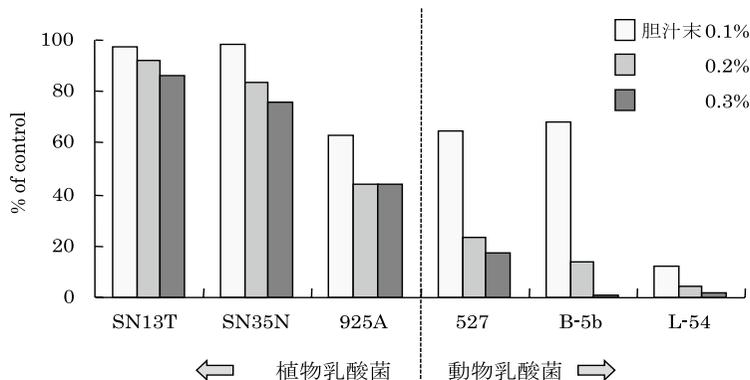


図2 各種乳酸菌株の人工胆汁液に対する耐性

0.1, 0.2, 0.3 (w/v) % になるよう胆汁末を添加した MRS 培地に各乳酸菌を接種し、37℃にて 18 時間嫌気培養後の吸光度 (A_{600}) を測定した。一方、胆汁末を含まない MRS 培地で各乳酸菌を培養し、18 時間培養時点での A_{600} 値に対する割合から生存率を算出した (SN13T, *Lb. plantarum* SN13T; SN35N, *Lb. plantarum* SN35N; 925A, *Lb. brevis* 925A; 527, *Lc. lactis* subsp. *lactis* 527; B-5b, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* B-5b; L-54, *Lb. acidophilus* L-54).

べ、これらの環境下の生存率が明らかに高いことから、植物乳酸菌は生きてまま腸へ到達しやすいものと示唆される。

2. 植物乳酸菌は免疫賦活化活性が高い

腸管内には免疫を担当する末梢リンパ球やパイエル板がある。パイエル板は、腸管内に見られる数十から数百のリンパ球の塊で、T細胞とB細胞やIgAを産生する形質細胞を含み、口腔領域にある「扁桃」などととも、リンパ組織である。細菌やウイルスなどの病原体の感染は標的細胞(上皮細胞)の表面に接着することから始まるが、パイエル板で産生されるIgAは病原菌の感染予防に大いに貢献している。IgAには血清IgAと分泌型IgAがあり、特に、分泌型IgAは、呼吸器官、消化器官、泌尿器などの粘膜組織で分泌され、病原体と特異的に結合

することにより、病原体が上皮細胞に接着するのを阻止する役目を担う。さらに、分泌型IgAは病原性細菌が産生する毒素に対しても中和活性を示し、食物中に含まれるアレルゲンと結合して食餌性抗原の体内への吸収も阻止する。このように、分泌型IgAは、腸管及びその他の粘膜組織に侵入したウイルス、細菌、細菌毒素、アレルゲンなどと免疫結合体をつくり、これらを排除するのに役立っている⁴⁻⁶⁾。

腸管免疫システムを刺激して、宿主の免疫を賦活化する乳酸菌株が報告されている。2010年、著者らは、腸管免疫を活性化するのに優れた乳酸菌をスクリーニングすることを目的として、乳酸菌との共培養により分泌されるマウスのパイエル板のIgA量を測定する、簡易な*in vitro*アッセイ系を確立した⁷⁾。本アッセイ系を用いて、植物乳酸菌5株及び動物乳酸菌3株について、免疫賦活化活性を測定したところ、動

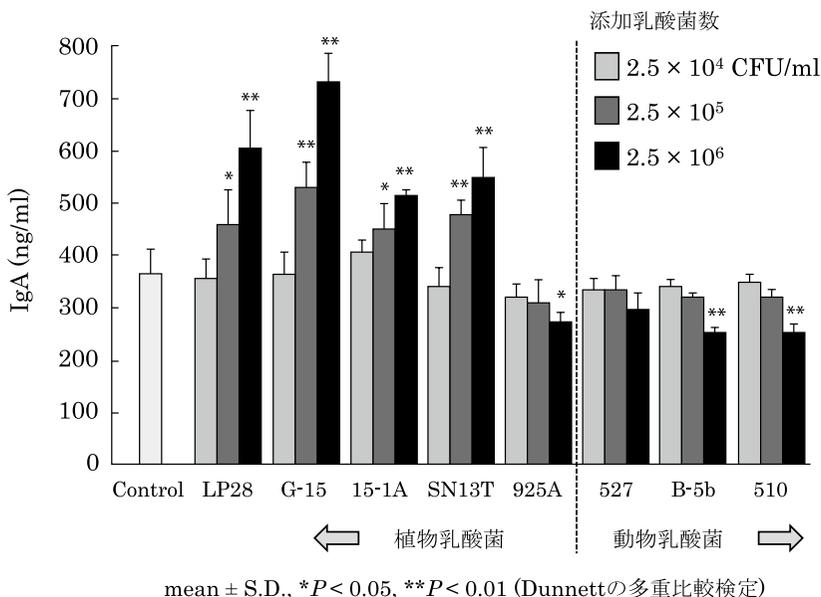


図3 各種乳酸菌との共培養により分泌されたパイエル板由来のIgA量(参考文献7の図を一部改変)
パイエル板細胞(2.5 × 10⁷ cells/ml)に所定濃度の乳酸菌液(図中に表示)を加えて37℃, 16時間インキュベートした後、上清中に分泌されるIgA濃度を測定した(LP28, *P. pentosaceus* LP28; G-15, *E. avium* G-15; 15-1A, *E. mundtii* 15-1A; SN13T, *Lb. plantarum* SN13T; 925A, *Lb. brevis* 925A; 527, *Lc. lactis* subsp. *lactis* 527; B-5b, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* B-5b; L-54, *Lb. acidophilus* L-54).

物乳酸菌より、植物乳酸菌と共存させた方が、パイエル板のIgA量は明らかに高かった(図3)。さらに言えば、植物乳酸菌株 *Enterococcus (E.) avium* G-15 及び、*Lb. plantarum* SN13T では、加熱殺菌した菌体や培養上清をパイエル板とインキュベートしても、生菌と同程度のIgAレベルを示した。

3. 植物乳酸菌は保健機能性に優れている ～ヒト臨床試験による評価～

通常、植物乳酸菌は乳中での増殖が困難なことから、ハード(固形)タイプヨーグルトの製造には適さないというのが常識であった。杉山プロジェクトの研究成果の1つとして、乳に酒粕を少量添加すると、植物乳酸菌が乳中で爆発的に増殖することを見出した。この結果、植物乳酸菌によるハードタイプヨーグルトの製造が可能となり、平成16年に地元企業との産学連携製品として、『植物乳酸菌から生まれたヨーグルト』を商品化した。この技術が評価されて、著者の一人(杉山)に平成20年度の文部科学大臣表彰・科学技術賞(技術部門)が授与された。

乳酸菌やビフィズス菌の摂取により整腸作用が認められることは数多くの研究報告からも明らかである⁸⁾。実際、わが国では、乳酸菌やビフィズス菌の製剤が医薬品として薬価収載され、また、ヒト臨床試験により科学的エビデンスを得て、特定保健用食品として認定されたヨーグルトが上市されている⁹⁾。先に述べたように、植物乳酸菌は、動物乳酸菌と

比べ、胃酸及び胆汁に対する高い耐性を示すことから、生菌状態での高い腸内到達率と、優れた整腸作用が期待される。そこで、植物乳酸菌ヨーグルトの整腸作用を評価すべく、広島大学疫学研究倫理審査委員会の承認を得て、ボランティアを募り、広島大学病院にてヒト臨床試験を実施した。この試験では、A, B, Cと命名した3種類のヨーグルト(表1)を用意し、二重盲検法による無作為化対照比較試験として実施した。被験者68名の健康診断と2週間の前観察期間を経て、各グループに該当するヨーグルトを、1日100gずつ、摂取時間は定めずに6週間摂取してもらい、血液の生化学パラメー

表1 臨床試験で摂取したヨーグルトの構成菌株及び摂取した被験者数

種類	構成菌株(比率)	被験者数(n)
ヨーグルトA	<i>Lb. plantarum</i> SN35N (95)	24
	<i>Lb. plantarum</i> SN13T (5)	
ヨーグルトB	<i>Lb. plantarum</i> SN13T (98)	22
	<i>Lb. plantarum</i> SN35N (2)	
ヨーグルトC	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 527 (86.1)	22
	<i>St. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> 510 (13.8)	
	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> B-5b (0.1)	

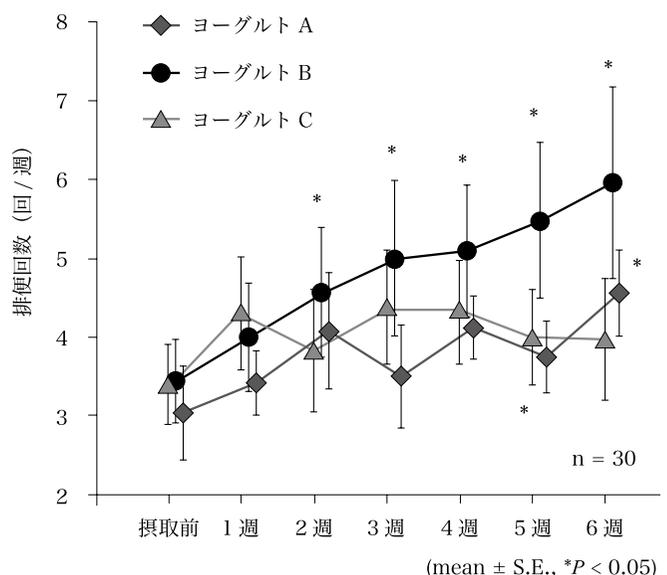


図4 各種ヨーグルトの摂取による排便回数の経時的変化

タ及び排便回数について評価試験を実施した。その結果、ヨーグルト摂取開始前には、一週間あたりの排便回数が5回以下であった被験者30名を抽出し、各種ヨーグルトの摂取効果を検証したところ、植物乳酸菌ヨーグルトA及びBを摂取した群では、それぞれ、排便回数が1.5倍及び1.8倍に増加していた。一方、動物乳酸菌ヨーグルトCの摂取群ではほぼ横ばいの状態であった(図4)。同様に、肝機能を示す数値がやや高い被験者(18名)を抽出し、彼らの血液の生化学的パラメータを解析したところ、ヨーグルトBの摂取群においては、試験開始直前と比べ γ -GTPの値が約25%低下していた(図5)。

2010年、米国の国際学術雑誌Nutritionにて発表したこの臨床試験結果¹⁰⁾は、特定乳酸菌で製造されたヨーグルトの摂取により、肝機能数値の改善効果が認められることを明らかにした初めての報告であり、国際論文賞を受賞することとなった(授賞式:2011年9月)。ちなみに、食品の保健機能性を評価するヒト臨床試験は、広島大学大学院・医歯薬学総合研究科に寄附講座として設立された「臨床評価・分子栄養科学講座」で行ってきた。当講座は、文部科学省・知的クラスター創成事業における成果として、産学連携で多くの保健機能性食品を開発した成果を受け、機能性食品の有効性を科学的に検証するシステムを広島大学に構築しようと設置されたものである。その設置に当たっては、機能性食品の開発から評価までを一貫して地域で行うとの構想のもと、食品や医薬品関連企業、そして有志の方々に協力いただいた。3年間の期限付き寄附講座が終了するに伴い、現在は、同研究科・創生医学専攻・

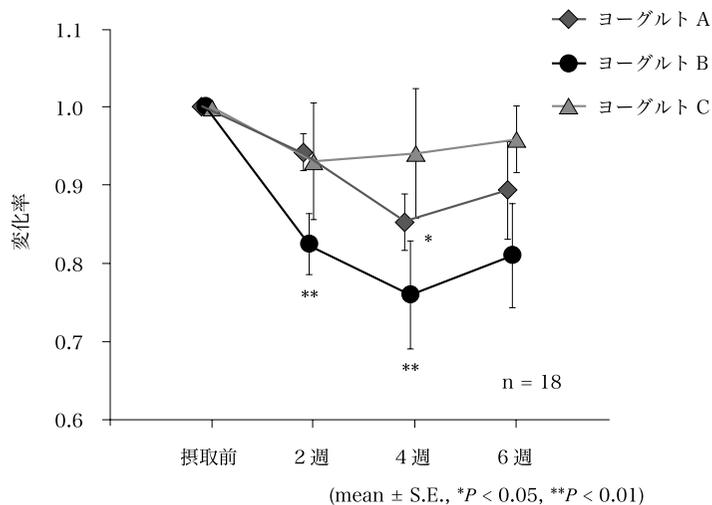


図5 各種ヨーグルトの摂取による血清 γ -GTPの経時的変化

遺伝子制御科学研究室(杉山政則教授)が基幹講座となって、新たに臨床評価・予防医学プロジェクト研究センターを設置し、食品分野やコスメトロジー分野のヒト臨床試験を受託する体制を整備している³⁾。

4. 抗菌性ポリペプチドをつくる植物乳酸菌

微生物により産生される「抗菌性ポリペプチド」はバクテリオシンと総称され、酵素タンパク質と同様、リボソーム上で合成される。乳酸菌でもバクテリオシンをつくる株が存在し、おもに、そのバクテリオシン生産菌と近縁関係にある細菌に対して抗菌作用を示すが、病原性細菌に対して強い抗菌活性を示すものも発見されている。バクテリオシンは、そのアミノ酸配列、分子量、抗菌スペクトル等に基づき、幾つかの分類法が提唱されているが、現在、研究者に最も受け入れられている分類基準は、Cotterらにより提案されたものである¹¹⁾。その分類基準では、バクテリオシンはClass IとClass IIに大別され、異常アミノ酸を含むバクテリオシンはClass Iに属する。その代表例はナイシンA(nisin A)であり、現在、50か国以上で食品用

保存剤として使用されている。最近、日本でもナイシン A の使用がようやく認可された。一方、Class II には異常アミノ酸を含まないバクテリオシンが該当し、さらに Class II は 4 種類 (IIa, IIb, IIc & IId) のサブクラスに分けられている。どのサブクラスに属するかは、バクテリオシンのアミノ酸配列が、直鎖状か環状なのか、それがリステリア菌に対して抗菌活性を示すものなのか示さないのか等で決まる。

私たちが分離した植物乳酸菌のなかにも、バクテリオシン生産株が幾つか見出されている。例えば、キムチより分離された *Lb. brevis* 925A が産生する brevicin 925A は、Class IIb のバクテリオシンであり、腐敗細菌 *Bacillus coagulans*, リステリア感染症や食中毒の原因菌 *Listeria (L.) monocytogenes*, 齧蝕 (虫歯のこと) の原因菌 *Streptococcus (S.) mutans* のそれぞれに対して抗菌活性を示す。本バクテリオシン生合成遺伝子クラスターは 925A 株の保有する 64 kb のプラスミド上にある。興味深いことに、この生合成遺伝子クラスターは、伊予柑より分離した *Lb. brevis* 174A が保有するプラスミド上にも存在するものと塩基配列が 100% 一致する。このように、自然界ではプラスミドを介してバクテリオシン生合成遺伝子が伝播される可能性がある。他方、花の一種、ケイトウから分離された *E. mundtii* SE17-1 や、籾殻から分離された *E. mundtii* MG3 が、*L. monocytogenes* や齧蝕の発生に関与する *S. sobrinus* に対して活性を示すことが確認されている (論文準備中)。

著者らは以前、壬生菜 (みぶな) からバクテリオシン生産性乳酸菌 15-1A を分離し、*E. mundtii* と同定した。本菌株がつくるバクテリオシン (mundticin 15-1A と命名) の生合成遺伝子をクローニングするとともに、本菌の自己耐性因子として、Mun-im と命名した「免疫タンパク質 (immunity protein)」の X 線結晶構造を決定した¹²⁾。

バクテリオシン生産性乳酸菌の自己耐性に関

しての詳細な分子機構は不明であるが、細胞膜上に存在するマンノースホスホトランスフェラーゼがバクテリオシンの標的分子であり、免疫タンパク質がその標的分子上でバクテリオシンの致死的作用を阻止しているとの報告がある¹³⁾。今後、著者らの研究も含めて、バクテリオシンの作用機序や自己耐性機構が詳細に解明されることを期待している。

著者らは医療分野へのバクテリオシンの活用に興味を抱いている。なぜなら、長い間の抗生物質の乱用により、MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌) や VRE (バンコマイシン耐性腸球菌), NDM-1 (ニューデリー・メタロ-β-ラクタマーゼ) を産生する多剤耐性細菌等が出現するに至り、今や抗生物質に依存する感染症治療は行き詰まっているからである。ただし、安易にバクテリオシンを使用すると、これまで抗生物質が歩んできた、「新抗生物質が開発されても、直ちに薬剤耐性菌が出現し、さらなる新薬の開発が必要となる」といった歴史を繰り返すことになる。医療現場で使用する場合、バクテリオシンの乱用を避けることは当然ながら、抗生物質と併用することで耐性菌出現リスクを抑えることも必要となろう。

おわりに

著者らの研究グループは、文部科学省や経済産業省の大型研究費を得て、培地 1L 当たり 133 g の GABA (γ-アミノ酪酸) を産生する植物乳酸菌¹⁴⁾のほか、抗ペプシン活性を示す多糖類を産生する植物乳酸菌、抗ピロリ活性物質を産生する植物乳酸菌、脂肪肝の改善や体内脂肪の蓄積抑制が期待される植物乳酸菌等、保健機能性に優れた乳酸菌を、植物から多数分離している。いずれにしても、植物乳酸菌は、動物乳酸菌に勝るとも劣らない、予防医学や未病医療にとって大いに期待できる細菌であることに間違いはない。

..... 参考文献

- 1) Kumagai, T. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**: 1132-1139 (2010)
- 2) 杉山政則著, 基礎と応用 現代微生物学. 共立出版 (2010)
- 3) 杉山政則, 生物工学会誌. **85**: 502-503 (2007)
- 4) Meydani, S.N. *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.* **71**: 861-872 (2000)
- 5) Wolf, J.L. *et al.*, *Ann. Rev. Med.* **35**: 95-112 (1985)
- 6) Hase, K. *et al.*, *Nature.* **462**: 226-230 (2009)
- 7) Jin, H. *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.* **33**: 289-293 (2010)
- 8) Adolfson, O. *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.* **80**: 245-256 (2004)
- 9) 清水俊雄著, 日経バイオビジネス編, 特定保健用食品の開発戦略 (追補版). 日経 BP 社 (2004)
- 10) Higashikawa, F. *et al.*, *Nutrition.* **26**: 367-374 (2010)
- 11) Cotter, P.D. *et al.*, *Nat. Rev. Microbiol.* **3**: 777-788 (2005)
- 12) Jeon, H.-J. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **378**: 574-578 (2009)
- 13) Diep, D.B. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**: 2384-2389 (2007)
- 14) Tamura, T. *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.* **33**: 1673-1379 (2010)

パン酵母 β -グルカンとブドウ種子抽出物の ヒラメ腹面黒化症抑制効果

酒本 秀一^{*1} 山本 眞司^{*2} 糟谷 健二^{*3} 村田 修^{*4}

^{*1} SAKAMOTO Shuichi, ^{*3} KASUYA Kenji (オリエンタル酵母工業株式会社 研究統括部 酵母機能開発室)

^{*2} YAMAMOTO Shinji, ^{*4} MURATA Osamu (近畿大学水産研究所白浜実験場)

Key Words : パン酵母 β -グルカン・ブドウ種子抽出物・ヒラメ腹面黒化症・生物餌料・メラニン

放流用や養殖用として需要の高いヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) 人工種苗の生産技術は確立されているものの、質的には体型異常や体色異常など、まだ多くの問題を残している。体型異常については別途報告するとして、本稿ではパン酵母 β -グルカン (β -1.3/1.6-グルカン、以下グルカンと略記) とブドウ種子抽出物 (GSE) による生物餌料の強化とヒラメ体色異常抑制の因果関係を中心に報告する。

体色異常は、正常な個体なら褐色～黒色に着色しているべき背中側の色素が抜けて白くなっ

た背面白化 (白化) と、半透明～白色であるべき腹面が褐色～黒色に着色している腹面黒化 (黒化) がある (写真 1)。その程度 (体色異常部分の占める面積比率と色の濃さ) も様々であり、種苗生産の段階で既に発症している場合が多い。

これらの体色異常魚は食味などに正常魚と違いは無いが、外見が異質であることから商品価値は低い。現在は解決策として、種苗生産段階で体色異常を呈した個体を選別し、廃棄している。選別に多くの人手と時間を要することに加



左上：正常魚 (背側), 左下：白化魚 (背側)

右上：正常魚 (腹側), 右下：黒化魚 (腹側)

図 1 ヒラメの体色異常

え、体色異常魚の出現率がかなり高いので、種苗生産事業上大きな問題になっている。

体色異常のうち白化に関しては現在までに色々な試験が行われてきた。その結果として、飼育方法や餌飼料の栄養面での改善が行われ、近年ではあまり大きな問題にならなくなってきた。一方、黒化に関しては紫外線やレチノイン酸等に関する研究が進められ、改善が図られているが、まだ根本的な解決には至っていない。

我々は黒化の発症を抑制する手段を開発するため、ヒラメの種苗生産法を加味しつつ過去の知見を調べて原因を推定し、問題を解決するための実証試験を行った。その結果、ある程度有効と思える方法が開発できた。

これまでの研究

1. 黒化

ヒラメの黒化に関するこれまでの研究によって、以下のことが明らかにされている。

- ・腹面の着色は変態完了後（全長 20mm 前後）に発現し、飼育期間が長くて配合飼料の使用割合が高いほど出現率が高い傾向がある¹⁾。
- ・腹面側への光照射、特に紫外線（UV-B）が大きく影響している。表皮内への黒色素顆粒の出現は、強い反射光に対する生体防御反応の一つであると考えられる^{1,2)}。
- ・正常体色部位では黒色素顆粒が貪食細胞の一種であるメラノファージによって貪食されるのに対し、黒化部位では色素顆粒の自己崩壊やメラノファージの機能不全による色素顆粒の貪食異常によって、黒色素でのメラニン産生と分化の調整に異常が生じているものと思われる³⁾。
- ・腹面側の体色異常は背面側の体色異常と連動性がある。腹面黒化魚の出現率が高いグループは背面白化魚が少ない傾向がある⁴⁾。
- ・脂溶性ビタミンの多量添加が体色異常を引き

起こしている可能性がある^{1,5)}。

- ・黒化部分は偽櫛鱗の形成や粘液細胞の増加などを伴うので、変態期の皮膚における形態形成不全の一つと考えられる⁶⁾。

2. 魚類のメラニン生合成経路

メラニン（Melanin）の生合成経路については哺乳類、特にヒトで詳しく調べられている⁷⁾。魚類のメラニンの生合成経路も哺乳類の例を参考にして推定されている。哺乳類ではユウメラニン（Eumelanin）とフェオメラニン（Pheomelanin）の2種類のメラニンの存在が確認されているが、魚類ではフェオメラニンやトリコクローム（フェオメラニンの誘導体）の存在は知られていない⁸⁾。また、アミノ酸のチロシン（Tyrosine）からドーパキノン（Dopaquinone）までは酵素チロシナーゼ（Tyrosinase）の働きで、ドーパキノンからメラニンまでは自動酸化で反応が進むと考えられている。従って、魚類におけるメラニンの生合成経路は図1に示すルートであろうと推定される。

魚類は本来酸素ラジカルに対する防御機構が不十分で、酸素ラジカルはドーパキノンの自動酸化を促進するとされている⁹⁾。また、ビタミンAとビタミンB₂の大量投与でヒラメの白化は防除出来るが、これは両者が酸化促進的に働き、メラニンの形成を促進した可能性もある⁹⁾。

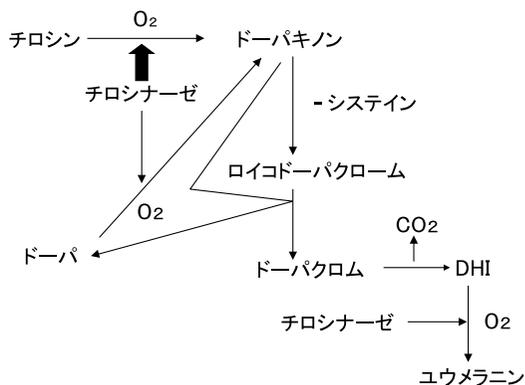


図1 魚類のメラニン生合成過程（推定）

3. 海産魚の種苗生産法

海産魚はn3系高度不飽和脂肪酸(n3HUFA)、特にEPAやDHAが必須脂肪酸であるため、シオミズツボワムシ(ワムシ)やアルテミアなどの生物餌料^{10,11)}のみならず配合飼料にも強化されている。生物餌料への強化法や強化剤については色々な報告がある。また、これらの強化処理によって魚の生残率、成長および活力などが著しく改善されることが明らかにされている。

これまでの研究から推定出来る黒化抑制策

1. 黒化

上述のこれまでの研究から以下のことが推定出来る。

- ・黒化部分の色素はメラニンで、黒化の主因はメラニンの過剰産生あるいは分解異常の可能性がある。対応策としてメラニンの合成量を減らす、あるいは分解を正常に進めることが考えられる。
- ・メラニンの過剰産生は光に対する防御反応である。水槽の構造改善、底に砂を敷く、遮光を行うなどの飼育方法の改善を行うことによって水槽の側面や底面から光が入らないようにする。
- ・餌飼料が関与している可能性が高い。特に脂質あるいは脂溶性物質が多い餌飼料が黒化を促進している可能性が高い。餌飼料の栄養成分、特に脂質と黒化の関連性を明らかにする必要が有る。
- ・貪食細胞の一種であるメラノファージが不活性化し、黒色素顆粒の除去が進まないことも原因の一つである可能性がある。貪食細胞を活性化させる手段を講じる。
- ・黒色素胞にアポトーシスを生じさせる遺伝子に障害が生じている可能性がある。遺伝子障害について調べる必要がある。

2. 魚類のメラニン生合成経路

魚類のメラニン生合成経路に関する報告から、黒化を抑制する(=メラニンの生合成量を減らす)ためには、チロシナーゼ酵素の活性を阻害する、酸素ラジカルの産生量を減らす、ビタミンAやB₂の添加を適切な量とする、などの方法が考えられる。

3. 海産魚の種苗生産法

海産魚の種苗生産法、特にn3HUFAの餌飼料への強化という点から考えると、次の点で問題がある。種苗生産は人工的な高密度飼育下で行われるのが一般的で、魚が受けるストレスは大きい。そこへn3HUFAを餌飼料に強化して与えれば、当然、魚体の不飽和脂肪酸含量も増え、活性酸素種や脂質酸化生成物の量も増える。さらにストレスが大きくなり、体が酸化ストレス状態になる。活性酸素種や脂質酸化生成物が増えるとドーパキノンの酸化を促進し、メラニンの合成量が増える。また、DNA(=遺伝子)にも障害を及ぼす可能性がある。これらが総合されて黒化が生じていると推定出来る。

4. 黒化予防策

メラニンの合成量を減らすために遮光や飼育水槽の構造改善などの物理的処置以外で考えられるのは、チロシナーゼ活性を阻害する、餌飼料のHUFA量を減らして体内の活性酸素種や脂質酸化生成物の産生量を減らす、マクロファージ(メラノファージ)を活性化させる、などである。

我々がこれまでに試験して機能性と安全性が確認出来ている原料で、チロシナーゼ活性を強く阻害するものはGSEである。このGSEはチロシナーゼ活性を阻害し、メラニンの生成を防ぐだけでなく、メラニン細胞の過剰な増殖を抑制することも知られている^{12,13)}。これはGSE中のプロアントシアニジンやレスベラトロールの強い抗酸化作用や活性酸素消去作用が関与しているものと考えられている。前報¹⁴⁾で示し

たようにビタミンCやEもこれらの作用を有しており、効果が期待出来る。また、カロチノイドの一種であるアスタキサンチンも強いチロシナーゼ活性阻害作用と一重項酸素消去活性を有することから、同様の効果を持つと思われる¹⁵⁾。

グルカンが強いマクロファージ活性化作用を持つことは、既報¹⁴⁾で明らかにした。また、グルカンもフリーラジカルの消去活性を有することが報告されている¹⁶⁾。

以上のことから、ヒラメの腹面黒化予防策として、餌飼料のHUFA量を減らす(=強化剤の添加量を減らす)、生体内抗酸化剤を強化する(=GSE, ビタミンC, ビタミンE, アスタキサンチンなどを添加する)、マクロファージを活性化する(=グルカンを添加する)などが考えられる。

ヒラメ腹面黒化症抑制試験

ヒラメの種苗生産時にワムシやアルテミアなどの生物餌料にグルカンやGSEなどを取り込ませて与えたり、マリングロス(n3HUFAの強化剤)の投与量を減らすことによって、

腹面黒化の発生率を抑制することが可能か否かを調べる。

1. 材料と方法

1-1. グルカンとGSEの混合物

グルカンはBioriginのMacroGard(Acuicareira Quata S.A.社製造), GSEはBRENN-O-KEM社のGSEを使用した。グルカンとGSEを10:1の重量比で混合し、微粉碎した物を供試混合物(混合物)として用いた。詳細は前報¹⁴⁾を参照。

1-2. 試験区

A~Dの4試験区を設定した。A区はワムシ、アルテミアをマリングロスで栄養強化した区。マリングロスの添加量はメーカーの推奨量(2L/KL強化水槽)である。B区はA区に混合物(2.5g/Kg生物餌料湿重量)を添加した区。C区はA区の半量のマリングロスで栄養強化した区。D区はC区に混合物を添加した区。A区とC区およびB区とD区の比較により、生物餌料の脂質、特にn3HUFA量が黒化に及ぼす影響を、A区とB区およびC区とD区の比較により混合物の黒化抑制効果の有無が精査出来るように設定した。

表1 ワムシとアルテミアの培養法と強化法

ワムシ	
10:00	クロレラで培養開始(1,000個体/mL)
17:00	マリングロス2L(A区, C区), 1L(B区, D区)/KL培養水および混合物2.5g(B区, D区)/Kgワムシ湿重量添加
6:00	マリングロス1L(A区, C区), 0.5L(B区, D区)/KL培養水添加
8:30	回収し、午前中の給餌に使用
13:00	回収し、午後の給餌に使用
アルテミア	
16:00	孵化幼生を分離し、強化水槽に収容(100-150個体/mL)
17:00	マリングロス2L(A区, C区), 1L(B区, D区)/KL培養水および混合物2.5g(B区, D区)/Kgアルテミア湿重量添加
6:00	マリングロス1L(A区, C区), 0.5L(B区, D区)/KL培養水添加
8:30	回収し、午前中の給餌に使用
13:00	回収し、午後の給餌に使用

1-3. マリングロス, グルカン, GSE の強化法
ワムシはクロレラで培養した後, マリングロス単独あるいはマリングロスに混合物を併用して強化した。アルテミアは孵化幼生をマリングロス単独あるいはマリングロスに混合物を併用して強化した。具体的な方法は表 1 に示す。

1-4. 飼育方法

1 試験区につき 500L の FRP 水槽を 2 基用いた。各水槽に 7,500 粒の受精卵を収容し, 孵化させた。孵化後 3 日目から 30 日令までワムシを投与した。投与量は魚の成長に伴って 250 ~ 1,200 万個体/水槽/日まで増やした。18 日令からアルテミアを与え始め, 56 日令で終了した。投与量は成長に伴って 30 ~ 600 万個体/水槽/日まで増やした。41 日令から 58 日令(飼育試験終了時)まで, 各区とも同じメーカーのヒラメ用初期飼料を等量与えた。飼育水温は期間中に 18 ~ 25℃まで上昇した。なお, 魚の成長によって過密飼育状態になって噛み合いを始めたので, 38 日令で各水槽とも 2,500 尾に数を減らした。

1-5. 成長

飼育期間中ほぼ 6 日毎に各水槽から魚を 20 尾ずつサンプリングし, 実体顕微鏡に搭載したデジタルカメラに画像を取り込んだ。画像解析ソフト ImageJ を用いて全長を測定し, 魚の成長を調べた。

1-6. 体色異常魚の調査

飼育試験終了時に各水槽から 100 尾をサンプリングした。魚を OHP シート上に並べてデジタルカメラで背面の写真を撮影し, パーソナルコンピューター (パソコン) に取り込む。次にスキャナーを用いて腹面の画像をパソコンに取り込む。画像から背面と腹面の色の状態を肉眼で判断した。さらに腹面黒化の程度を調べる為, パソコンに取り込んだ写真を画像解析ソフト ImageJ を用いて体色が正常な部分の面積と異常な部分の面積の比率を個体ごとに測定し,

黒化面積率を求めた。

2. 結果

2-1. ワムシとアルテミアの分析値

ヒラメに投与する前のワムシとアルテミアの分析値を表 2 と表 3 に示す。マリングロスの使用量を推奨量の半量にすると, 脂質含量, n3HUFA 量ともにやや減少するが, それほど顕著な減少ではなかった。この結果から, 従来は過剰量の強化剤を使用していたのではないかと推定出来る。

2-2. 成長

各区の成長は二水槽の平均値を反映させた。各区間で成長に有意差は認められなかった。マダイとゼブラフィッシュの試験¹⁴⁾では, 有意差は無いもののグルカンと GSE を強化したワムシを投与した場合に成長が良い傾向が認められた。そこで, 本試験でワムシのみを投与している期間の成長を比較したが, 各区間に違いは認められなかった。マダイやゼブラフィッシュとヒラメの結果の違いが何に起因するかは不明であるが, それぞれの魚種の不飽和脂肪酸に対する要求量の違いや, ワムシに対する依存度の違いなどに由来する可能性も考えられる。

2-3. 生残率

飼育試験終了時までの魚の生残率は A 区が 62.9%, B 区が 64.9%, C 区が 60.7%, D 区が 58.1%と D 区が他区よりやや低い。これは最も道路側に設置されていた D 区の 1 水槽の生残率が著しく低かったことによる。マリングロスの使用量が少ないことやグルカンと GSE を強化したことなどが原因ではなく, 車やヒトの通行による振動などの刺激が原因であろう。

2-4. 体色異常

肉眼で判断した黒化魚の出現率を図 2 に, 白化魚の出現率を図 3 に示す。同一個体の腹面あるいは背面中の体色異常部分がどの程度の割合を占めているかで黒化あるいは白化の程度を分

表2 ワムシとアルテミアの脂質含量

	ワムシ				アルテミア			
	A区	B区	C区	D区	A区	B区	C区	D区
水分 (%)	87.5	87.5	86.9	87.0	93.1	93.3	92.8	93.0
脂質 (%)	1.5	1.4	1.6	1.4	1.8	1.5	1.6	1.6
脂質 (% 乾物)	12.0	11.2	12.2	10.8	26.1	22.4	22.2	22.9

表3 ワムシとアルテミアの脂肪酸組成

脂肪酸 (%)	ワムシ				アルテミア			
	A区	B区	C区	D区	A区	B区	C区	D区
12:0			0.2					
14:0	2.4	2	2.4	2	1.8	1.9	1.9	1.7
15:0	0.4	0.5	0.5	0.5	0.1	0.1	0.2	0.1
16:0	18.7	17.5	17.8	16.6	12.1	13.9	13	13.4
16:1	1.4	1.5	3.6	3.7	1.7	1.8	1.8	2
16:2	4.4	4.8	4.6	4.8	1	1	0.9	1
16:4						0.1		0.1
17:0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.5	0.4	0.5
17:1	0.5	0.5	0.6	0.6	0.3	0.3	0.3	0.3
18:0	4.2	4.5	4.2	4.6	4.8	5.7	4.9	6.1
18:1	4.6	4.8	5.8	6.5	14.4	16.5	14.6	17.6
18:2n6	27.4	30.5	25.8	30.1	3.8	4	3.7	4
18:3n6	0.2	0.2	0.2	0.2	0.6	0.6	0.6	0.6
18:3n3	3.7	4.2	3.6	4.1	19.5	21.7	19.9	23.1
18:4n3					3.4	3.6	3.5	3.9
20:0	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
20:1	2.1	2.3	1.9	2.3	0.7	0.7	0.7	0.8
20:2n6	1.7	2	1.6	1.9	0.2	0.3	0.2	0.3
20:3n6	2.1	2.4	2	2.4	0.3	0.3	0.3	0.3
20:3n3	0.2	0.3	0.3	0.3	1.2	1.3	1.2	1.4
20:4n6	2.1	2	2	1.9	2.2	2	2.2	2
20:4n3	1.1	1.2	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1
20:5n3	2.2	1.8	2.3	1.6	4.9	4.7	5	4.7
21:5n3					0.2		0.1	
22:0	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2
22:1	0.5	0.5	0.4	0.6				
22:4n6	0.2		0.2	0.2				
22:5n6	4.2	3.1	3.6	2	6.5	4.2	5.9	3.3
22:5n3	0.4	0.3	0.4	0.2	0.4	0.3	0.3	0.2
22:6n3	9.8	7.3	8.7	5	14.4	9.3	13.3	7.5
24:0	0.2	0.2	0.1	0.2				
24:1	0.2	0.2	0.2	0.2				
未同定	4.2	4.5	5	5.4	3.6	3.7	3.6	3.6
Σ n3	17.4	15.1	16.4	12.3	45.1	42	44.4	41.9
Σ n6	37.9	40.2	35.4	38.7	13.6	11.4	12.9	10.5
Σ n3/Σ n6	0.46	0.38	0.46	0.32	3.32	3.68	3.44	3.99
EPA	2.2	1.8	2.3	1.6	4.9	4.7	5	4.7
DHA	9.8	7.3	8.7	5	14.4	9.3	13.3	7.5
22:5n6	4.2	3.1	3.6	2	6.5	4.2	5.9	3.3
DHA/22:5n6	2.33	2.35	2.42	2.5	2.22	2.21	2.25	2.27

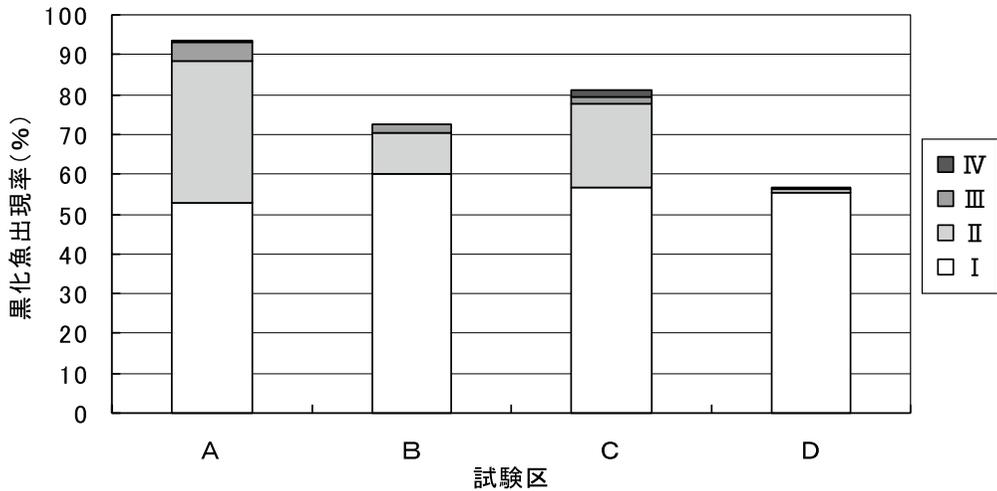


図2 腹面黒化魚の出現率と黒化の程度

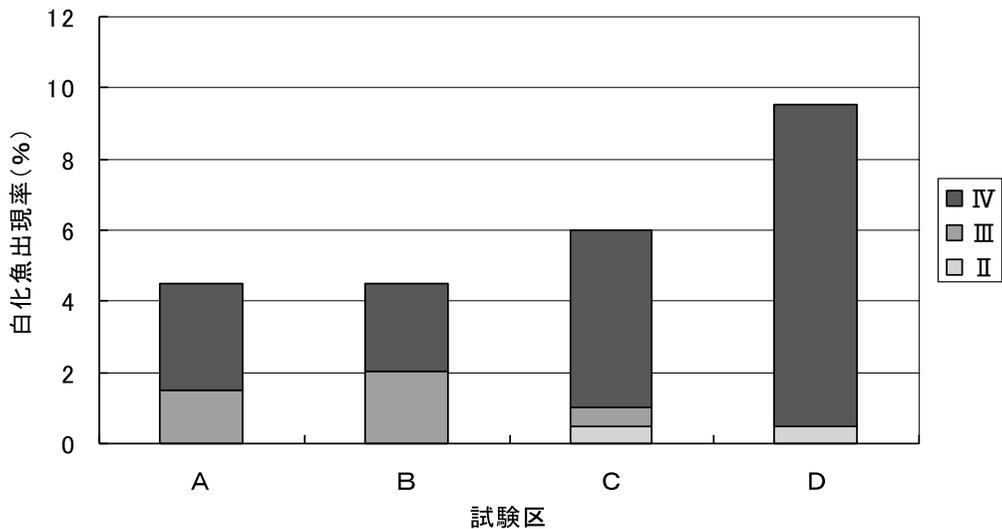


図3 背面白化魚出現率と白化の程度

けて示してある。Iは0～10%が異常、IIは10～40%が異常、IIIは40～70%が異常、IVは70～100%が異常である。

マリングロスの添加量を減らした区(B区、D区)の方が黒化魚の出現率が明らかに低く、黒化の程度も軽い。グルカンとGSEを強化するとその傾向がより顕著になり、マリングロスを半量にしてグルカンとGSEを強化したD区では他区より著しく黒化魚の出現率が低く、そ

の程度も軽い。逆に白化魚出現率はD区が高く、その程度も重い。

腹面黒化魚出現率と背面白化魚出現率の間には図4に示すように負の相関が認められ、青海⁴⁾の報告と一致している。

腹面の黒化面積率と黒化魚出現率の間には図5に示すように非常に強い正の相関が認められる。面積率を求めるのは煩雑な作業を必要とし、時間もかかる。一方、黒化魚は肉眼で瞬間

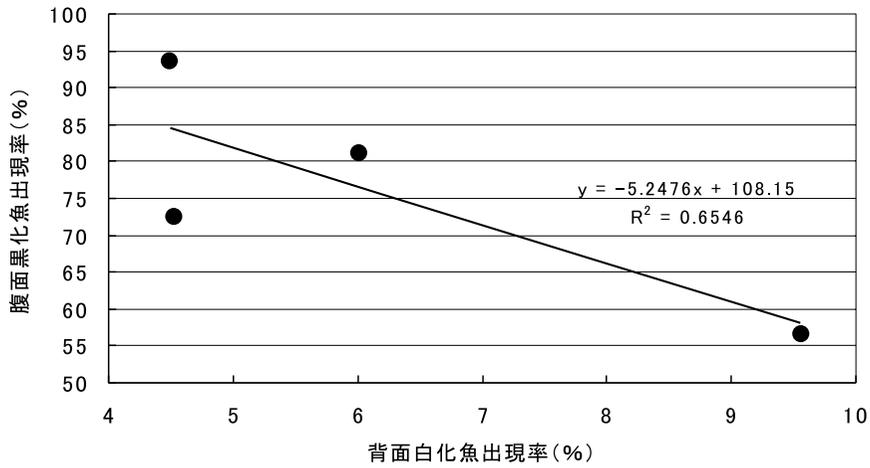


図4 腹面黒化魚出現率と背面白化魚出現率の関係

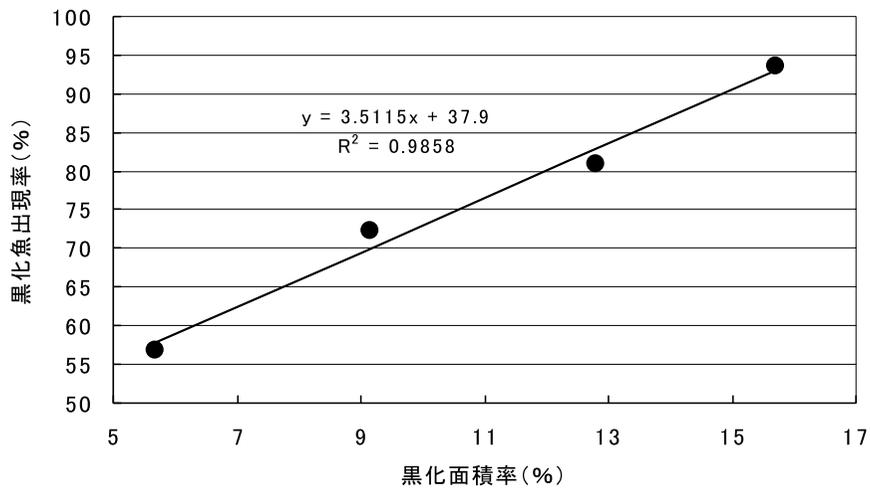


図5 黒化面積率と黒化魚出現率の関係

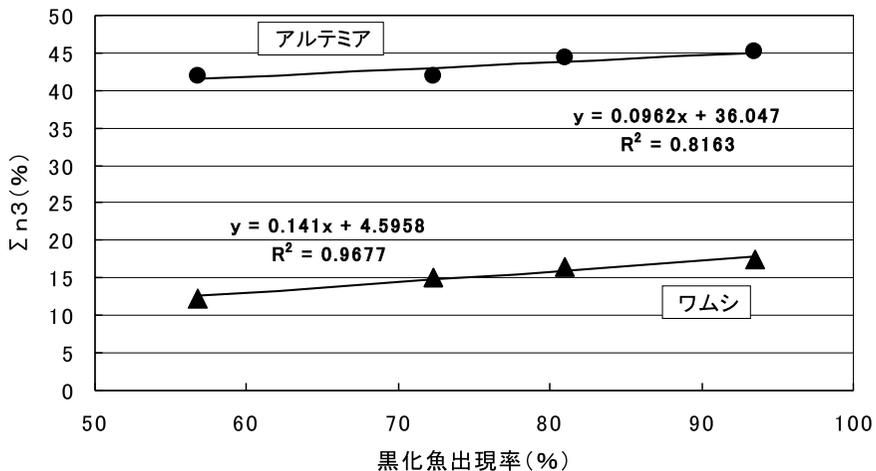


図6 ワムシ、アルテミアのn3系脂肪酸組成比と腹面黒化魚出現率

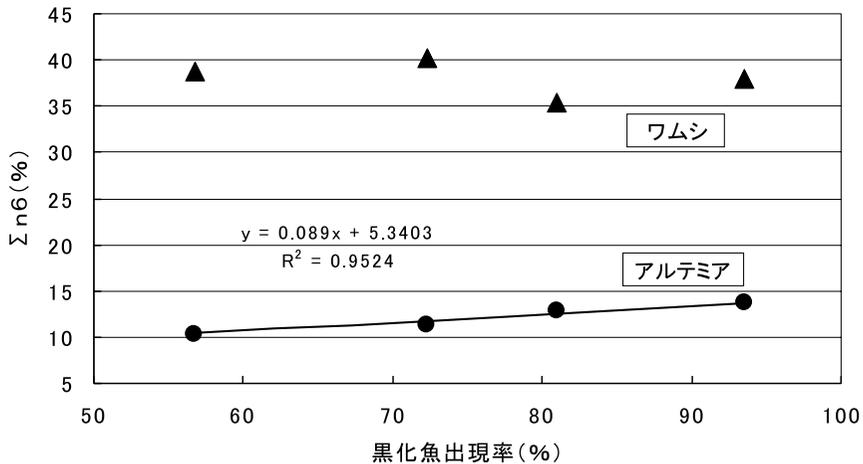


図7 ワムシ、アルテミアのn6系脂肪酸組成比と腹面黒化魚出現率

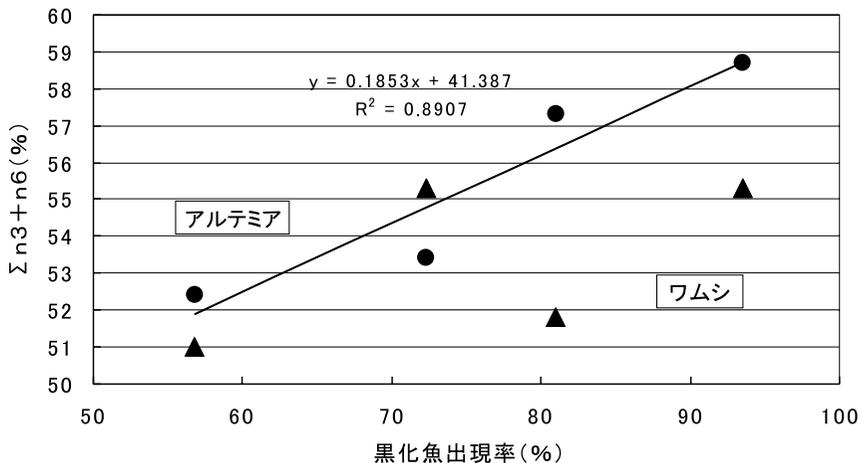


図8 ワムシ、アルテミアのn3+n6系脂肪酸組成比と腹面黒化魚出現率

的に判断出来る。両者に非常に強い相関があるということは、厳密な測定を必要とする目的以外は肉眼観察で十分であることを示している。

2-5. ワムシ、アルテミアの脂肪酸組成と黒化魚出現率

ワムシとアルテミアのn3系脂肪酸組成と黒化魚出現率の関係を図6に、n6系脂肪酸組成との関係を図7に示す。

ワムシはn3系脂肪酸組成と黒化魚出現率の間に強い正の相関が認められたが、n6系脂肪酸組成との間に相関は認められなかった。一方、

アルテミアではn3系にもn6系にも強い正の相関が認められた。

ワムシとアルテミアのn3系+n6系脂肪酸組成と黒化魚出現率の関係を図8に示す。アルテミアのみに強い正の相関が認められた。

3. 考察

ヒラメが腹面黒化を起こすか否かは種苗生産の生物餌料投与期にある程度決められている。飼育環境によって引き起こされる黒化とは別に、餌飼料の栄養成分によって起こる黒化もあ

ることが確認出来た。

ワムシやアルテミアなどの生物餌料の HUFA 量が黒化に関係していることが今回の試験で証明出来た。生物餌料中の HUFA の量を減らすのが有効と思われるが、脂質はエネルギー源として重要であること、n3HUFA は海産魚の成長、生残率、活力を高く維持するのに必須であることなどと相容れない。また、ワムシにおいては増殖ステージや活力の違いによって強化剤の取り込み効率が著しく違うこと、アルテミアにおいては耐久卵の産地や孵化後経過時間の違いなども取り込みに影響することなどが知られている。今後、生物餌料用 n3HUFA 強化剤の適切な使用法と黒化抑制に最も適した生物餌料の n3HUFA 量とを明らかにし、ヒラメの成長、生残、活力などを損なうことなく黒化を抑制する濃度を求めなくてはならない。

HUFA が過剰な生物餌料を与えられた魚では、生体内の活性酸素種や過酸化脂質が増え、メラニンの生合成が促進されることによって黒化が起こっていると考えられる。

メラニンの生合成量を減らすにはチロシナーゼ活性を抑制するのが最も効果が有ると考えられるが、酸素ラジカルの産生量を減らしてドーパキノンからメラニンへの自動酸化を抑制するのも有効であろう。それには GSE, ビタミン C, ビタミン E, アスタキサンチンなどの抗酸化剤を利用すれば良い。今回の試験で推定通りの結果が得られた。ただし、GSE とその他との併用効果はニジマス¹⁷⁾ とアユ¹⁸⁾ の抗病性試験で調べただけであり、ヒラメの黒化抑制効果については改めて調べておく必要がある。

ワムシとアルテミアの Σ n3 系脂肪酸, Σ n6 系脂肪酸および Σ n3 系 + n6 系脂肪酸量と黒化魚出現率の関係から、種苗生産最初期のワムシ投与期には n3HUFA が、魚がやや成長してからのアルテミア投与期には n3 と n6HUFA の両方が黒化に影響していると考えられ、その影

響はアルテミアの方がより多大であると推定出来る。最初は n3 系脂肪酸のみの影響であるが、途中から n6 系脂肪酸も加わってくる理由は不明であり、大変興味深い現象である。

黒化と白化に負の相関があることから、白化もメラニンの合成異常である可能性が高い。恐らくメラニンの産生量がやや不足しているのであろう。白化は黒化と違って魚が小さいうちに一目で判別出来るため、選別作業が楽である。白化魚がわずかに認められる程度の種苗生産法を目指すのが、現場では最も実用的な方法であろう。

黒化と白化の間に負の相関が有ることと、黒化部分は櫛鱗で白化部分は円鱗であることから、アポトーシスの異常や貪食細胞の不活性化が主因ではなく、単なるメラニンの産生量の異常と背面上皮あるいは腹面上皮への分化の異常が組み合わさって体色異常が生じていると考えるのが妥当であろう。

分化の異常は酸素ラジカルの過剰による遺伝子の障害が関与しているのかも知れない。今回の試験ではグルカンと GSE の混合物としての効果しか検証していないので、いずれにより強い黒化抑制効果があったのかは不明であるが、グルカンに貪食細胞の活性化作用と活性酸素の消去作用は認められているものの、チロシナーゼ活性の抑制効果は認められていない。よって混合物の黒化抑制効果の主体は GSE にあるのではないかと考えられる。

要約

ヒラメ腹面黒化抑制法の実証試験から以下の結果が得られた。

- ・黒化はメラニンの過剰な生産と蓄積による。
- ・生物餌料用の n3HUFA 強化剤の過剰な使用が黒化原因の一つである。
- ・脂質はエネルギー源として重要であり、

n3HUFAは海産魚の必須脂肪酸である。必須脂肪酸の不足による悪影響を招かず、黒化を抑制できる生物餌料中のn3HUFA量を求める必要がある。

- ・ 種苗生産最初期にはワムシのn3HUFA量、アルテミアを食べるようになってからはアルテミアのn3とn6の両方のHUFA量が黒化に影響している。
- ・ 生物餌料中のHUFAが増えることによって魚体中のHUFAも増え、活性酸素種も増える。これによってドーパキソンの自動酸化が促進され、メラニンの生産量が増えることによって黒化が促進されると考えられる。黒化魚の出現率を減らすには、生物餌料用n3HUFA強化剤の使用量を減らせば良い。
- ・ 黒化を抑制するのに最も良いと思われるのは、強いチロシナーゼ活性抑制作用と活性酸素種の消去活性を有するGSE、ビタミンC、ビタミンE、アスタキサンチンなどの強化を行な

うことである。

- ・ 黒化と白化の間に負の相関があることから、白化もメラニンの生合成の異常である可能性がある。恐らく、メラニンの生産量がやや不足しているのであろう。
- ・ 白化魚は黒化魚より早期に肉眼レベルで簡単に判別出来、選別が容易である。実用的には白化魚を指標とし、わずかに白化魚が出現する程度の生産法をとるのがよい。
- ・ 黒化はメラニンの生産量過剰と腹面上皮への分化異常の合併症と考えられる。
- ・ グルカンとGSEの混合物の黒化抑制効果の主体はGSEにあると思われる。

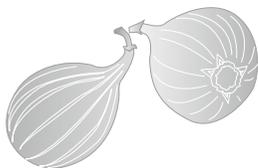
謝辞

本原稿を纏めるにあたり、広島大学大学院生物圏科学研究科水産増殖学研究室の海野徹也准教授に適切なアドバイスを頂いた。記して謝意を表する。

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

- 1) 高橋庸一：ヒラメの種苗生産における体色異常個体の出現と防除－体色異常防除試験報告書－. 日本栽培漁業協会特別報告, (3), 1-50 (1992)
- 2) 藤井良三：色素細胞. UP バイオロジーシリーズ 10, 東京大学出版会, 東京, 135pp (1976)
- 3) 鈴木伸洋：養殖ヒラメ無眼側皮膚の微細構造とその体色異常性の組織学的検討. 南西水研研報, **27**, 113-128 (1994)
- 4) 青海忠久：異体類人工種苗の体色異常の発現機構に関する研究. 平成元年度健苗育成技術開発委託事業報告, 日本栽培漁業協会, 1-12 (1989)
- 5) 三木教立, 谷口朝宏, 浜川秀夫, 山田幸夫, 桜井則広：ビタミンA投与ワムシ給餌によるヒラメ白化防除. 水産増殖, **38**(2), 147-155 (1990)
- 6) S. Kikuchi and N. Makino : Characteristics of the progression of squamation and the formation of ctenii in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Exp. Zool.*, **254**, 177-185 (1990)
- 7) S. Ito : A chemist's view of melanogenesis. *Pigment Cell Research*, **16**, 230-236 (2003)
- 8) 藤井良三：魚類皮膚の色彩発現のメカニズム. 海洋と生物, **20**(6), 457-465 (1998)
- 9) 中村弘二：水産におけるフリーラジカルの研究. 水産の研究, **14**(1), 73-81 (1995)
- 10) 渡辺 武, 北島 力, 荒川敏久, 福所邦彦, 藤田矢郎：脂肪酸組成からみたシオミズツボワムシの栄養価. 日本水産学会誌, **44**(10), 1109-1114 (1978)
- 11) 竹内俊郎：海産魚介類種苗の健全性向上に関する栄養学的研究. 日本水産学会誌, **75**(4), 623-635 (2009)
- 12) 山越 純, 徳武昌一：ブドウ種子ポリフェノール(プロアントシアニジン)の抗酸化作用としみ改善効果. *Food Style* **21**, **6**(12), 41-44 (2002)

- 13) Y. Mi Kim, J. Yun, C.-Kil Lee, H. Lee, K. R. Min : Oxyresveratrol and hydroxystilbene compounds-Inhibitory effect on tyrosinase and mechanism of action. *J. Biol. Chem.*, **277**(18), 16340-16344 (2002)
- 14) 酒本秀一, 糟谷健二, 山本眞司, 村田 修, 海野徹也 : パン酵母 β -グルカンとブドウ種子抽出物を生物餌料経由でマダイおよびゼブラフィッシュ仔魚に与えた効果. *New Food Industry*, **53**(9), 15-26 (2011)
- 15) 幹 渉 : アスタキサンチンの機能性と応用. *Food Style 21*, **8**(4), 46-49 (2004)
- 16) M. L. Patchen, M. M. D' Alesandro, I. Brook, W. F. Blakely and T. J. MacVittie : Glucan-Mechanismus involved in its "Radioprotective" effect. *J. Leucocyte Biology*, **42**, 95-105 (1987)
- 17) 酒本秀一, 糟谷健二 : 魚類の細菌感染症に対するブドウ種子抽出物と β -1,3/1,6-グルカンの予防効果. *New Food Industry*, **53**(7), 26-40 (2011)
- 18) 酒本秀一, 糟谷健二, 海野徹也, 古澤修一 : パン酵母 β -グルカン, ブドウ皮粉砕物, ビタミン C およびビタミン E の投与で魚の抗病性が向上する理由. *New Food Industry*, **53**(8), 1-11 (2011)



イチジクの揮発性画分より単離された ベンズアルデヒド – その抗腫瘍活性と誘導体の開発 –

Benzaldehyde, isolated from a volatile fraction of figs
– antitumor potential and development of derivatives –

坂上 宏^{*1}, 石原 真理子^{*2}, 斎藤 潤^{*3}, 東風 幹子^{*4}, 東風 睦之^{*5}

^{*1}SAKAGAMI Hiroshi, ^{*2}ISHIHARA Mariko (明海大学歯学部)

^{*3}SAITOH Jun, ^{*4}KOCHI Atsuko, ^{*5}KOCHI Mutsuyuki (一条会病院)

Key Words: ベンズアルデヒド・SBA・抗腫瘍活性

SUMMARY

Antitumor entity of volatile fraction of figs has been identified as benzaldehyde. Several water-soluble derivatives such as β -cyclodextrin benzaldehyde inclusion compound (CDBA), 5,6-benzylidene-L-ascorbate (SBA), 4, 6-*O*-benzylidene-D-glucopyranose (BG) have been manufactured. Treatment of CDBA or SBA showed dramatic anti-tumor activity against inoperable cancer patients. Intravenous administration of SBA induced anti-tumor activity accompanied by necrotic degeneration in chemically-induced rat tumors. These derivatives showed slightly higher cytotoxicity against tumor cell lines as compared with normal cells, by inducing non-apoptotic cell death (possibly autophagy and necrosis). SBA was found to be labile: the acetal bond is cleaved to produce benzaldehyde and ascorbic acid under extremely acidic condition, whereas the lactone ring is cleaved under neutral and alkaline conditions. Benzaldehyde showed much higher tumor-specificity than SBA and ascorbic acid. Both SBA and ascorbic acid act as oxidants (that increase the oxidation potential, oxidize methionine into methionine sulfoxide and produce hydrogen peroxide), and their cytotoxicity was augmented by copper ion. However, the cytotoxicity of ascorbate, but not that of SBA, was markedly reduced by iron, cysteine analogs or catalase, indicating that the action point of SBA is not the same with that of ascorbic acid. These data suggest the possible role of benzaldehyde as the antitumor principle of SBA.

はじめに

ベンズアルデヒド (benzaldehyde) (C_6H_5CHO , MW 106.12, benzenecarbaldehyde) (図1) は、芳香族アルデヒドに分類される有機化合物の一つである。ベンゼンの水素原子一つが、アルデ

ヒド基で置換された構造を持つ。融点 -56.5 $^{\circ}C$, 沸点 179 $^{\circ}C$ の無色の液体である。苦扁桃油 (アーモンドの一種から取った薬用油) 様の香気を持ち、揮発しやすい。芳香族アルデヒドは特異な臭いを有するものが多いが、ベンズア

連絡先:

明海大学歯学部薬理学分野 〒350-0283 埼玉県坂戸市けやき台 1-1

Tel: 049-279-2758, 2759; Fax: 049-285-5171 e-mail: sakagami@dent.meikai.ac.jp

一条会病院 〒272-0836 千葉県市川市北国分 4-26-1

Tel: 047-372-5111, Fax: 047-372-5116

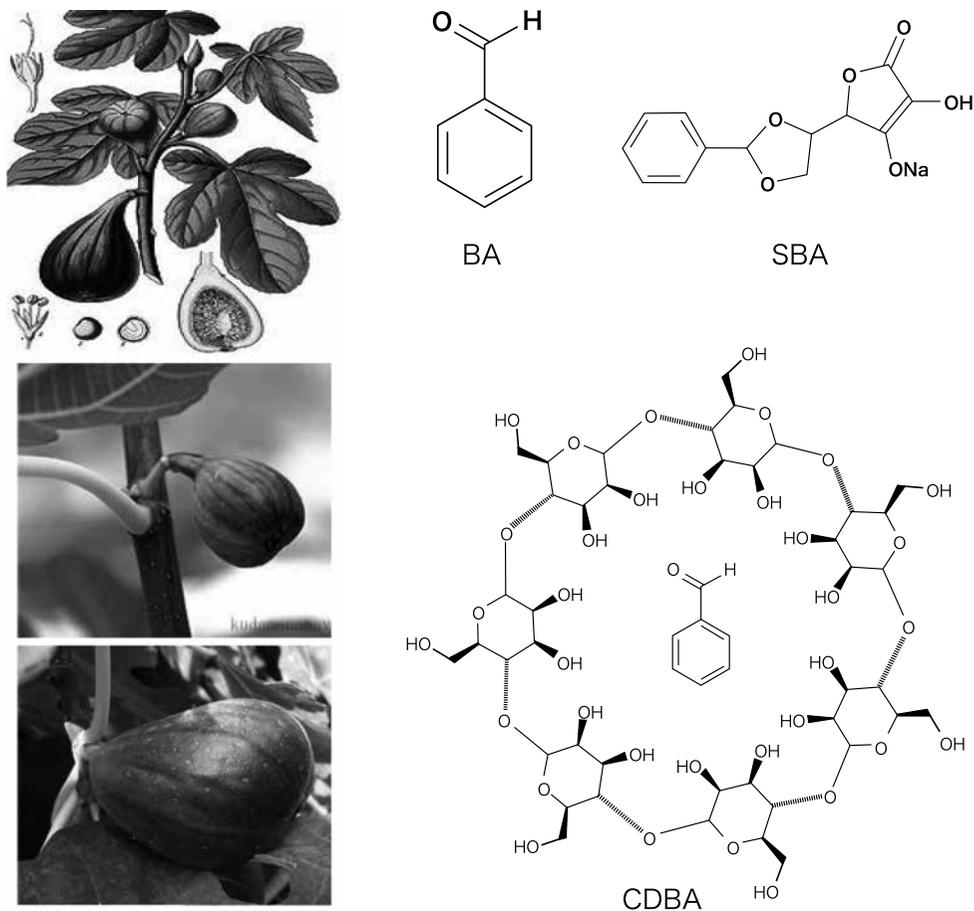


図1 イチジクの写真と、ベンズアルデヒド (BA), SBA, CDDBA の化学構造

ルデヒドはアーモンド、杏仁（アンズの種）の香り成分である。安価であり石鹸などの香料として用いられるほか、抗炎症作用が認められている。酸化されやすく、酸化されると安息香酸になり、表面に膜状物質として浮かぶ。

東風は、旧約聖書に記述されているイチジクの癌に対する効能に着目し、イチジクの揮発性画分より抗腫瘍成分のベンズアルデヒド（構造式を図1に示す）を単離した¹⁾。ベンズアルデヒドおよびその誘導体は、マウスに移植したエールリヒ腹水肝癌、腺癌や大腸癌に有効であったが、他の腫瘍には無効であった²⁾。ベンズアルデヒドは脂溶性であり、臨床応用を目指して、 β -cyclodextrin benzaldehyde inclusion

compound (CDDBA), 5,6-benzylidene-L-ascorbate (SBA), 4,6-O-benzylidene-D-glucopyranose (BG) などの水溶性誘導体が開発された。動物実験の結果とは対照的に、これら誘導体の投与は、治療不治の癌患者に著明な効果を示した³⁻⁷⁾。

著者の1人 (HS) の父親 (SS) は、ヘビースモーカーであった。肺での呼吸が苦しくなり、某病院呼吸器科で検診を受けたところ、拳大の肺がんが見つかり、余命2ヶ月との宣告を受けた。SSは、もし、自分が癌になったら、イチジクから抽出された、あの甘い香りのするベンズアルデヒドの錠剤を飲むとかねがね漏らしていた。とうとう、その時が訪れてしまった。一条会病院（千葉県市川市）で、SBAの驚異的な

抗腫瘍活性を目的にしたりした。このことが契機となり、SBA⁸⁻³⁹⁾、CDBA⁴⁰⁾、ベンズアルデヒド⁴¹⁾及びアスコルビン酸ナトリウム塩(ビタミンC)⁴²⁻⁵⁵⁾、そして腫瘍選択性・誘導される細胞死のタイプ⁵⁶⁻⁵⁸⁾に関する一連の研究が開始されることになった。

1. SBAの抗腫瘍活性

1-1. 臨床効果の確認

SBAの点滴は、治療不応の肺癌患者SSに対して顕著な抗腫瘍効果を示した⁸⁾。1日2回、SBAが単独点滴静脈内投与された。断層撮影像を見せてもらったが、驚くべきことに、週毎に腫瘍がどんどん退縮し(図2)、肺に血管が行き渡るようになり、片肺呼吸から両肺呼吸が可能になった。SSによると、SBAの投与後、30分から2時間にかけて、顔の火照りを感じたそうである。この火照りが抗腫瘍活性と関連しているようである。血色も良く、脱毛な

どの副作用もなく、まさに夢の抗がん剤と思えた。退院して、職場復帰を果たしたものの、投薬を止める時期を逸してしまったためか、肺の線維化を起こしてしまい、これが死因となった。SBAの抗腫瘍効果を最大限発揮させるためには、いつ投薬を止めるかの判断が非常に大切であると思われる。

1-2. ラット化学誘発肝癌、大腸癌、ヌードマウス移植癌に対する作用

ラットに数ヶ月間発癌剤の3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzeneを含む食餌を与えて肝臓癌を作成した。その後、ラットの尾静脈からSBAを40~80mg/kg連日投与したところ、血清タンパク質(glutamic oxaloacetic transaminase, γ -glutamyl transpeptidase および総タンパク質)の量には影響を与えずに、また、体重減少などの副作用を示さずに、約半数のラットにおいて腫瘍が消失した。残りのラットの癌組織において空胞変性、好酸球変性、核の破壊を認めた⁸⁾。

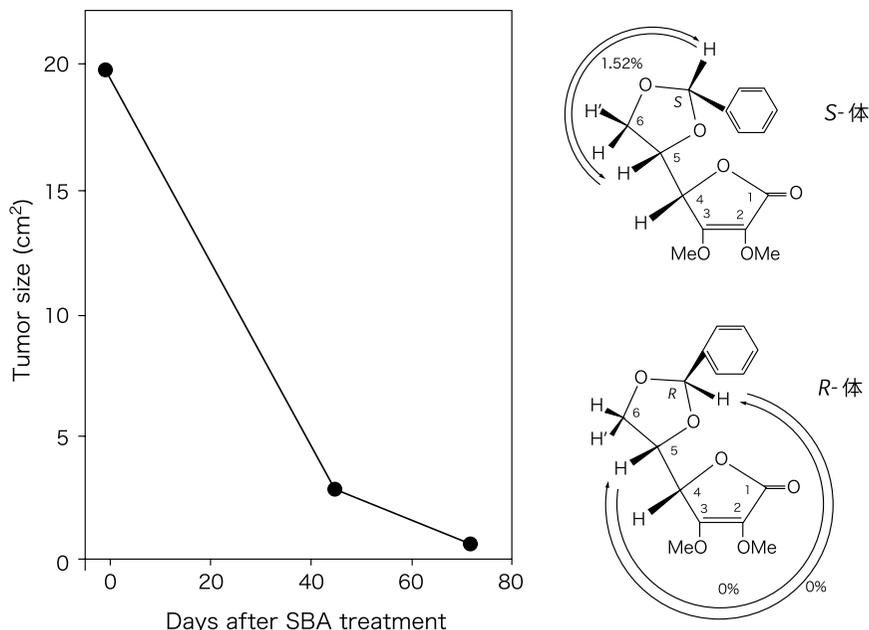


図2 断層撮影で判った驚異的な抗腫瘍活性(SBA静脈内点滴)⁸⁾
SBAは、S-体とR-体のジアステレオマーを3:7の割合で含む。

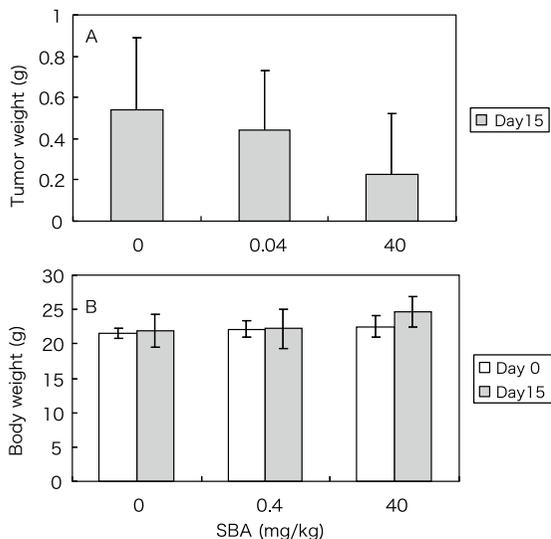


図3 SBAの抗腫瘍効果

雄性ヌードマウス (BALB/cAnNC) にヒト線維肉腫細胞 HT-1080 を移植した翌日から、SBA 0, 0.04, 40 mg/kg を腹腔内に、1日1回、2週間投与し、腫瘍重量 (A)、体重 (B) を測定した。各群8匹、mean ± S.D.

SBAの静脈内投与により癌組織に過酸化水素が産生された²⁷⁾。SBAは、培養単球によるTNFの産生、T細胞のIL-2産生、好中球のヨード化促進、ヒト白血病細胞の単球への分化誘導には影響しないので、SBAは免疫系を介さずに、直接癌細胞を傷害するものと思われた⁸⁾。

同様に、ラット皮下に dimethylhydrazine を連続投与して大腸癌を誘発後、ラットの尾静脈から SBA (40 mg/kg) を投与したところ、大腸癌の成長を有意に抑制した (倍化時間は、対照が 18.7 ± 3.7 days, SBA 投与群が 26.5 ± 4.9 days)⁹⁾。ヌードマウス移植腫瘍に対しては、統計的には有意ではないが、用量依存的に癌増殖抑制効果を示した。40 mg/kgの方が、0.04 mg/kgと比較し、抗腫瘍効果も高く、癌の成長に伴う体重増加の停止を改善した (図3) (未発表データ)。

表1 ベンズアルデヒド関連化合物のヒト正常および癌細胞に対する細胞傷害活性⁴¹⁾

	CC ₅₀ (mM)			
	SBA (48 h)	CDBA (48 h)	BA (48 h)	BA (24 h)
Human normal oral cells				
HGF	3.9 ± 1.4 (n=4)	2.3 ± 0.91 (n=5)	18.8 ± 0.1 (n=3)	28.4 ± 0.7 (n=4)
HPC	4.6 ± 1.5 (n=5)	2.5 ± 0.60 (n=5)	16.5 ± 2.6 (n=3)	19.3 ± 2.2 (n=4)
HPLF	5.9 ± 2.4 (n=5)	1.6 ± 0.52 (n=5)	20.3 ± 5.9 (n=3)	19.7 ± 5.6 (n=3)
	Mean= 4.8	Mean=2.1	Mean= 19	Mean= 23
Human oral squamous cell carcinoma				
HSC-2	2.1 ± 0.8 (n=5)	0.67 ± 0.35 (n=5)	0.5 ± 0.2 (n=3)	1.8 ± 0.6 (n=4)
HSC-3	3.1 ± 2.1 (n=4)	1.10 ± 0.41 (n=4)	4.5 ± 3.8 (n=3)	0.9 ± 0.2 (n=3)
HSC-4	1.8 ± 1.8 (n=5)	0.83 ± 0.35 (n=5)	1.2 ± 0.7 (n=3)	7.6 ± 2.4 (n=4)
	Mean= 2.3	Mean=0.87	Mean =2.1	Mean=3.4
Human glioblastoma				
T98G	5.5 ± 2.1 (n=3)	1.1 ± 0.38 (n=3)	1.4 ± 1.4 (n=3)	2.1 ± 1.3 (n=3)
U87MG	3.0 ± 2.8 (n=3)	2.0 ± 0.91 (n=3)	11.3 ± 11.3 (n=3)	13.5 ± 4.3 (n=3)
	Mean= 4.3	Mean=1.6	Mean=6.4	Mean= 7.8
Human myelogenous leukemia				
HL-60	2.0 ± 1.0 (n=5)	1.00 ± 0.35 (n=5)	0.53 ± 0.13 (n=3)	7.9 ± 1.8 (n=3)
ML-1	1.1 ± 0.4 (n=3)	0.52 ± 0.17 (n=3)	0.39 ± 0.17 (n=3)	11.5 ± 0.2 (n=3)
KG-1	1.0 ± 1.2 (n=3)	0.44 ± 0.24 (n=3)	0.52 ± 0.14 (n=3)	5.8 ± 0.3 (n=3)
	Mean= 1.4	Mean=0.65	Mean=0.43	Mean=8.4
TS (Oral)	2.1	2.4	8.8	6.6
TS (Total)	1.9	2.2	7.4	3.5

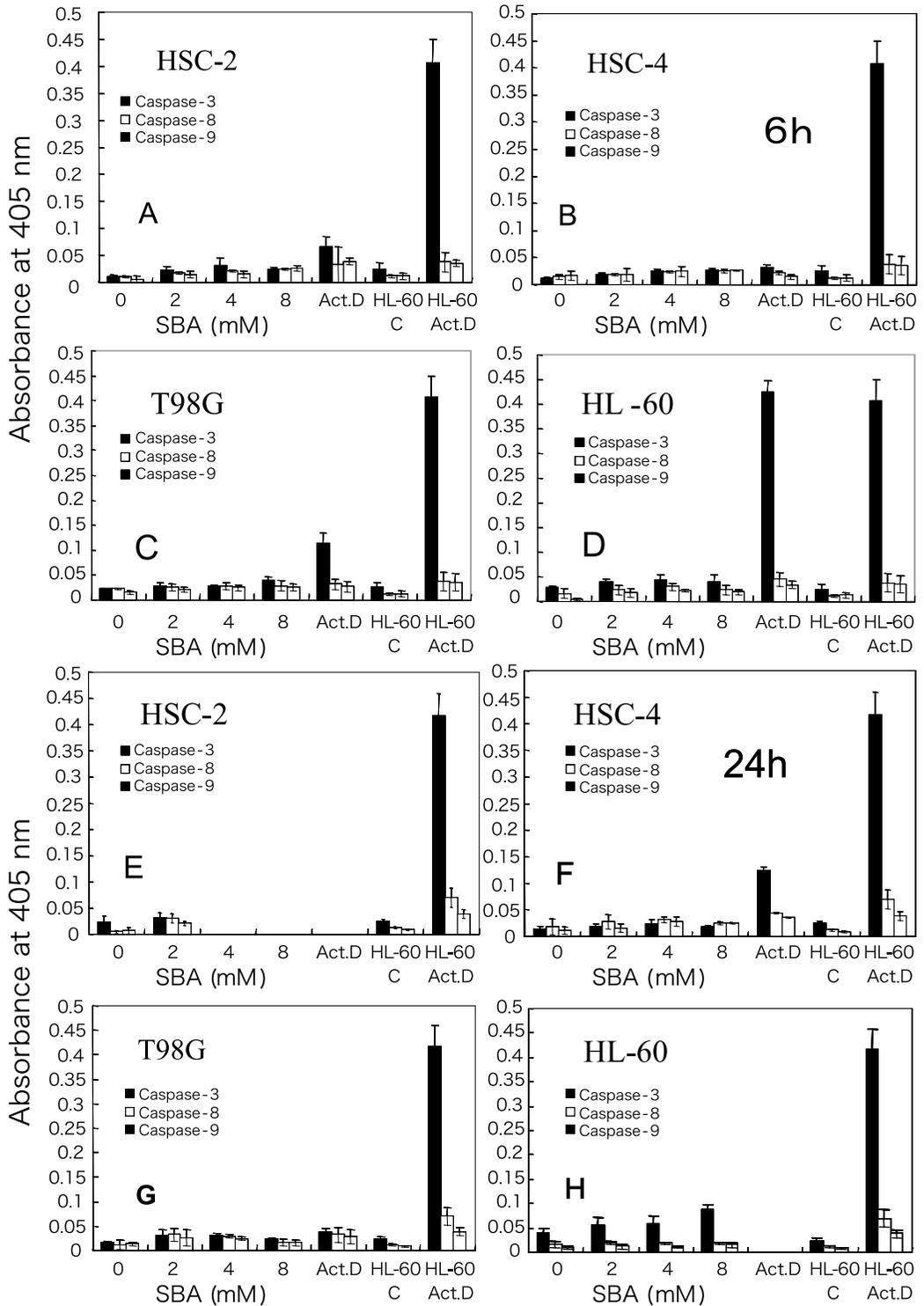


図4 SBA はカスパーゼ活性化能が低い。HSC-2, HSC-4, T98G, HL-60 細胞を種々の濃度の SBA と6あるいは24時間処理し、カスパーゼ-3, -8, -9の活性(それぞれの基質の分解産物の405 nmの吸光度)を測定した³⁶⁾。 mean ± S.D. (n=3)

1-3. 腫瘍選択性

ヒト口腔扁平上皮癌細胞 (HSC-2, HSC-3, HSC-4, Ca9-22, NA) とヒト口腔正常組織細胞 (歯肉線維芽細胞 HGF, 歯髓細胞 HPC, 歯根膜線維芽細胞 HPLF) に対する SBA の細胞傷害活性を測定した。明海大学歯学部倫理委員会の規定に従い, 12 歳女児の抜歯した左下第二大臼歯に付着している歯根膜細胞, 歯肉細胞, 歯肉細胞を採取した。これらの細胞が confluent の状態になったものを初代培養とした。毎週, 1:4 希釈により経代培養を行い, 各種薬剤感受性試験を行った。濃度依存性曲線より, 細胞数を 50% 減少させる濃度 (CC₅₀) を計算した。腫瘍選択係数 (TS) は, 正常細胞に対す

る CC₅₀ 値の平均値を, 癌細胞に対する CC₅₀ 値の平均値で割って求めた。その結果, SBA は, 癌細胞に対して若干の腫瘍選択性を示すことが判明した。TS 値は, 2.1 であった³⁶⁾ (表 1)。

SBA の腫瘍選択性は, 化学療法剤と比べると決して高いものではないが⁵⁶⁾, SBA と 5-FU を併用することにより, 癌細胞に対する傷害性が相乗的に増大した³⁸⁾。他の抗癌剤との併用効果は現在検討中である³⁹⁾。

1-4. 誘導される細胞死のタイプ

細胞死は, 形態学的に, アポトーシス, オートファジー, ネクロシスの 3 つに分類される。アポトーシスは, 細胞縮小, 細胞骨格の破壊,

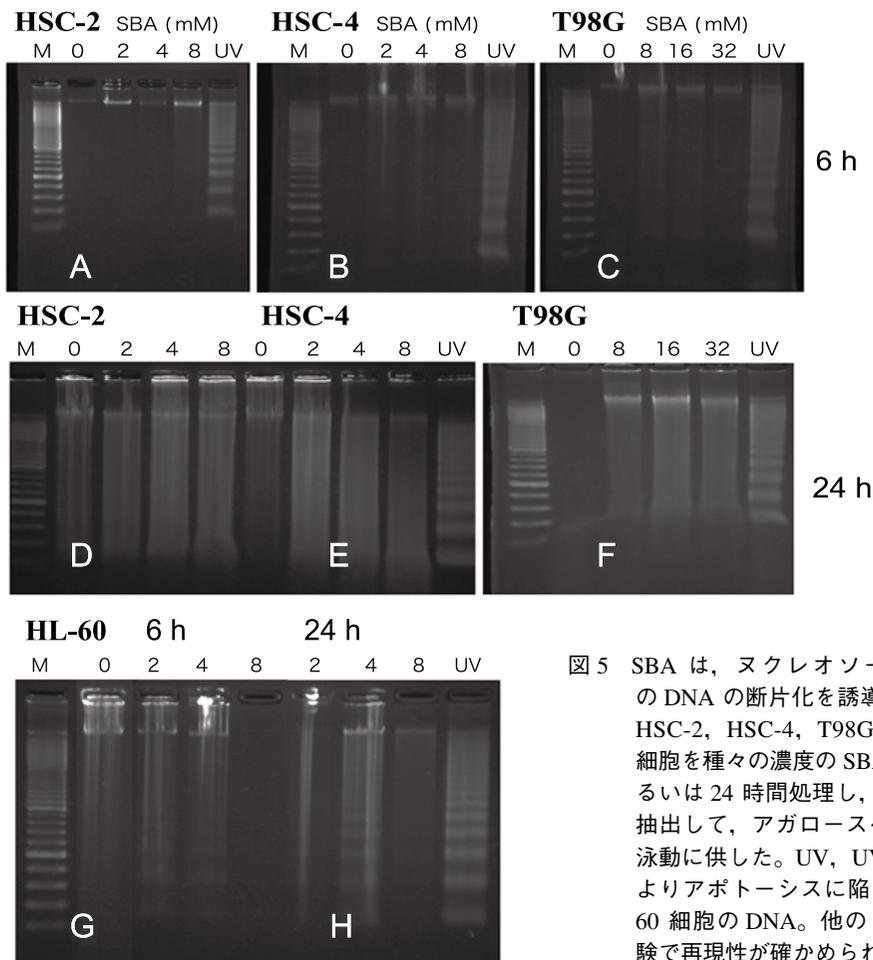


図 5 SBA は, ヌクレオソーム単位の DNA の断片化を誘導しない。HSC-2, HSC-4, T98G, HL-60 細胞を種々の濃度の SBA で 6 あるいは 24 時間処理し, DNA を抽出して, アガロースゲル電気泳動に供した。UV, UV 照射によりアポトーシスに陥った HL-60 細胞の DNA。他の 2 回の実験で再現性が確かめられた³⁶⁾。

核膜の分散，クロマチンの凝縮と断片化，アポトーシス小体の形成，微絨毛の消失を特徴とする。細胞やアポトーシス小体の表面が化学的に変化し，内容物が漏れ出る前に隣り合うマクロファージにすばやく飲み込まれるため，炎症反応を起こさない。ヌクレオソーム単位の DNA の断片化やカスパーゼの活性化により検出される。

オートファジーは，細胞内小器官やタンパク

質などの自己の構成成分をリソソームによって貪食して再利用する機構であり，オートファゴソームの形成を特徴とする。また，飢餓状態からの脱出，生存や，抗菌活性発現にも必要である。

ネクローシスは，オルガネラの膨張，細胞膜の破壊により，内容物を周辺に撒き散らし，炎症反応を起こす。スメア状の DNA の断片化により検出される。

SBA は，カスパーゼ活性化能が低い (図 4)³⁶⁾。

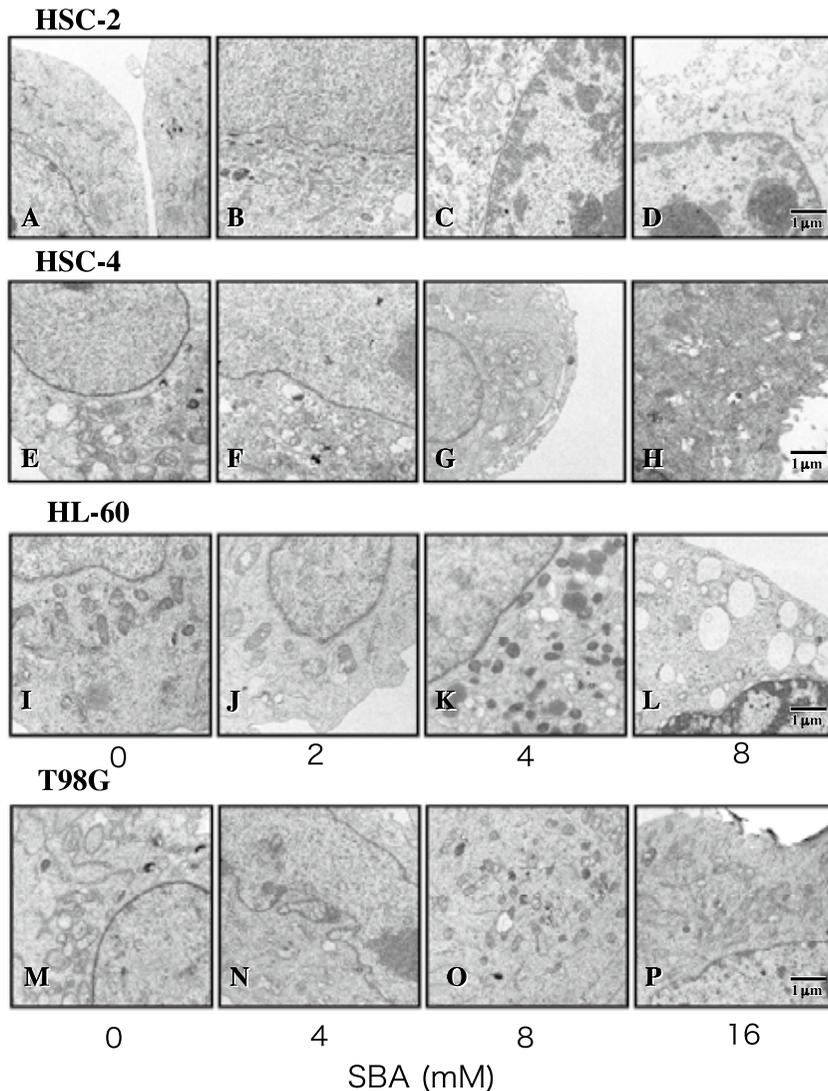


図 6 SBA の細胞微細構造に及ぼす効果³⁶⁾

HSC-2 (A-D), HSC-4 (E-H), HL-60(I-L), T98G (M-P) 細胞を 6 時間，0 (A, E, I, M) (control) 2 (B, F, J), 4 (C, G, K, N), 8(D, H, L, O) あるいは 16 (P) mM SBA の存在下で培養し，細胞微細構造を透過型電子顕微鏡で観察した。

表2 アポトーシス誘導とプトレシン濃度の低下との相関⁵⁷⁾

Inducers	Target cells	Type of cell death	Changes in intracellular level of			Incubation time (hours)
			Putrescine	Spermidine	Spermine	
Sodium ascorbate	HL-60	Apoptosis	↓↓↓	-	-	2
Benzylidene ascorbate	HL-60	Apoptosis	↓↓↓	-	-	2
EGCG	HL-60	Apoptosis	↓↓↓	↓	↓	0.2
Gallic acid	HL-60	Apoptosis	↓↓	↓	-	0.6
Etoposide	HL-60	Apoptosis	↓↓	↓	↓	3
UV	HL-60	Apoptosis	↓↓	↓	↓	3
Doxorubicin	HL-60	Non-apoptosis	-	-	-	3
Cisplatin + 5-FU	HSC-2	Apoptosis	↓	-	-	72
Trihaloacetylazulene	HSC-4	Non-apoptosis	-	-	-	4
Water pressure	HGF	Non-apoptosis	-	-	-	3

The extent of decrease: ↓↓↓ potently ↓↓ modestly ↓ weakly

SBA は、6 h では僅かにしかスクレオソーム単位の DNA の断片化を誘導しない (図 5A-C, G)。しかし、処理が長引くと (24 h)、ヒト前骨髄性白血病細胞 HL-60 では僅かなスクレオソーム単位の DNA の断片化が (図 5H)、ヒト口腔扁平上皮癌細胞 (HSC-2, HSC-4)、ヒト神経膠芽腫細胞 T98G ではスメア状の DNA の断片化 (ネクローシス) が誘導された (図 5D-F)³⁶⁾。

透過型電子顕微鏡観察により (図 6)、SBA は HSC-2 細胞にミトコンドリアの膨潤、小胞体の拡大、(C)、細胞膜の破壊 (D) を誘導した。低濃度では、概してオートファジー様細胞死が誘導され、高濃度では、ネクローシスが誘導された。HSC-4 細胞では、SBA の濃度の上昇とともに、ミトコンドリアの傷害が増大した (F, G, H)。HL-60 細胞では、ミトコンドリアの膨潤、小胞体の拡大と空胞化、核膜の伸張、ヘテロクロマチンの凝集が観察された (J, K, L)。T-98 細胞では、形態的な変化は顕著ではなかった (N-P)³⁶⁾。

SBA により誘導される細胞死のタイプは細胞によりかなり異なる。SBA は、HL-60 細胞には、細胞内プトレシン濃度の低下を伴うアポトーシスを誘導した^{31, 57)} (表 2)。HIV 感染細胞にはアポトーシスを誘導した¹³⁾。低濃度

の SBA は、大腸癌細胞にはオートファジーを誘導した³⁷⁾。口腔扁平上皮癌細胞には、オートファジー阻害剤により、その細胞傷害活性が低下しないので、オートファジーの誘導が細胞死の原因である可能性は低い³⁶⁾。LDH の放出が観察されることから、ネクローシスを誘導した可能性がある³⁸⁾。ヒト神経膠芽腫細胞には、アポトーシスとネクローシスを誘導した³⁴⁾。SBA は、核内構造 (ヘテロクロマチンとユークロマチンの比率、核膜の厚さ) には影響を与えずに、ミトコンドリアの変性 (クリステの崩壊、低濃度では電子密度の減少、高濃度では膨潤と空胞化) を誘導するので³⁵⁾。ミトコンドリアが標的であると思われる。

1-5. 酸化作用

Peroxyoxalate 化学発光法を用いた実験により、SBA は、細胞死を誘導するのに必要な量の過酸化水素を産生することが判明した^{22, 26)}。SBA は、ラジカルを産生すること、酸化電位を上昇させること、培養液中のメチオニンをメチオニンスルホキシドに酸化することから¹⁹⁾、SBA の細胞傷害活性の発現には酸化作用が関与していると思われる (表 3)。過酸化水素を生成し、細胞内カルシウム濃度を上昇させ、細

表3 SBA と ascorbate の生物活性の比較^{19,50)}

	SBA	Ascorbate
<i>In vivo:</i>		
抗腫瘍活性	有	無
<i>In vitro:</i>		
ラジカル生成	有	有
酸化電位の上昇	有	有
メチオニンのメチオニンスルホキシドへの酸化	有	有
細胞内カルシウム濃度の上昇	有	有
細胞傷害活性	有	有
+ Cu	増強	増強
+ Iron	変化なし	減弱
+ Cysteine analog	変化なし	減弱
+ Catalase	変化なし	減弱

C) を生成する¹⁴⁾。SBA の抗腫瘍活性が、そのものの効果なのか、SBA から生成されたベンズアルデヒドやビタミンCによりもたらされるのかは不明である。ビタミンCラジカルを生成する誘導体 (sodium L-ascorbate, L-ascorbic acid, D-isoascorbic acid, sodium 6-β-O-galactosyl-L-ascorbate, SBA) はヌクレオソーム単位の DNA の断片化や細胞

胞死を誘導するものと思われる¹⁵⁾。

SBA の高速液体クロマトグラフィーを用いた定量法を確立した¹¹⁾。70% アセトニトリルで除タンパクし、そのまま希釈して HLPC で分離・定量可能である。SBA は不安定で、酸性の条件下 (pH ≤ 3) ではアセタール結合が開裂して、ベンズアルデヒドとアスコルビン酸 (ビタミン

内カルシウム濃度の上昇を伴う細胞死を誘導するが、ビタミンCラジカルを生成しない誘導体 (L-ascorbic acid 2-sulfate, L-ascorbic acid 2-phosphate magnesium, dehydroascorbic acid) は細胞死を誘導しなかった (図7)^{16,50)}。この結果は、SBA による細胞死誘導は、ビタミンCラジカル生成と関連していることを示唆する。

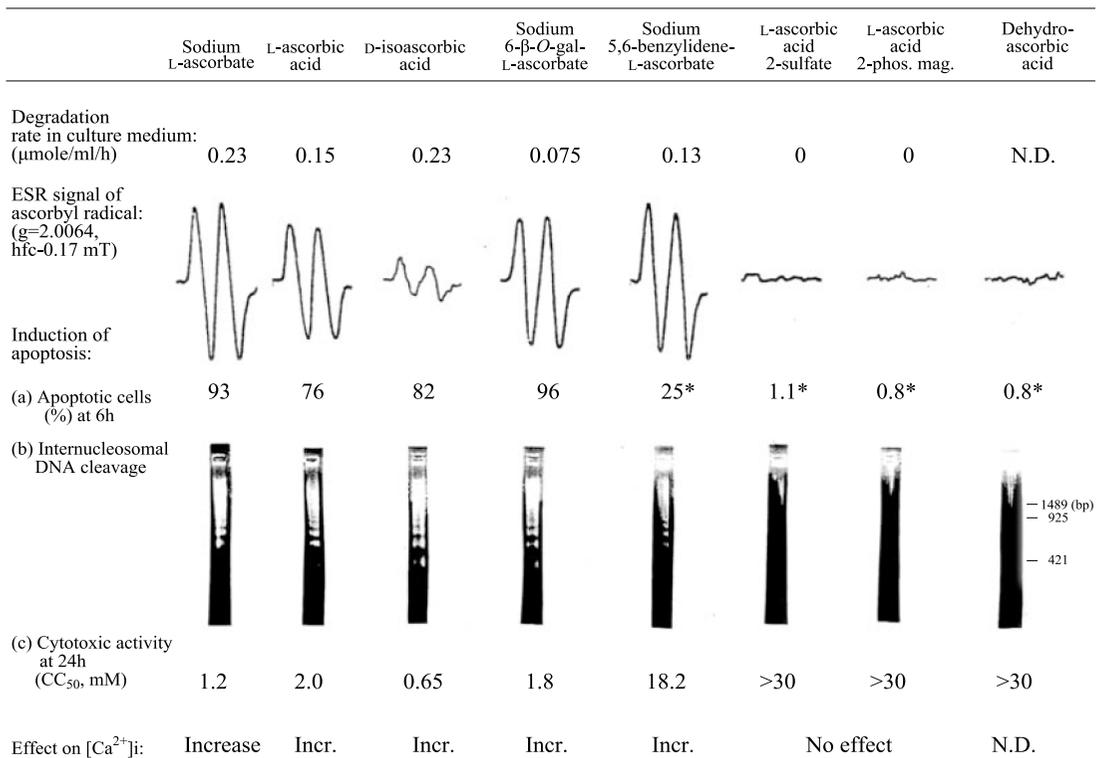


図7 ラジカルを産生するアスコルビン酸誘導体は、HL-60 細胞にアポトーシス誘導を誘導した⁵⁰⁾

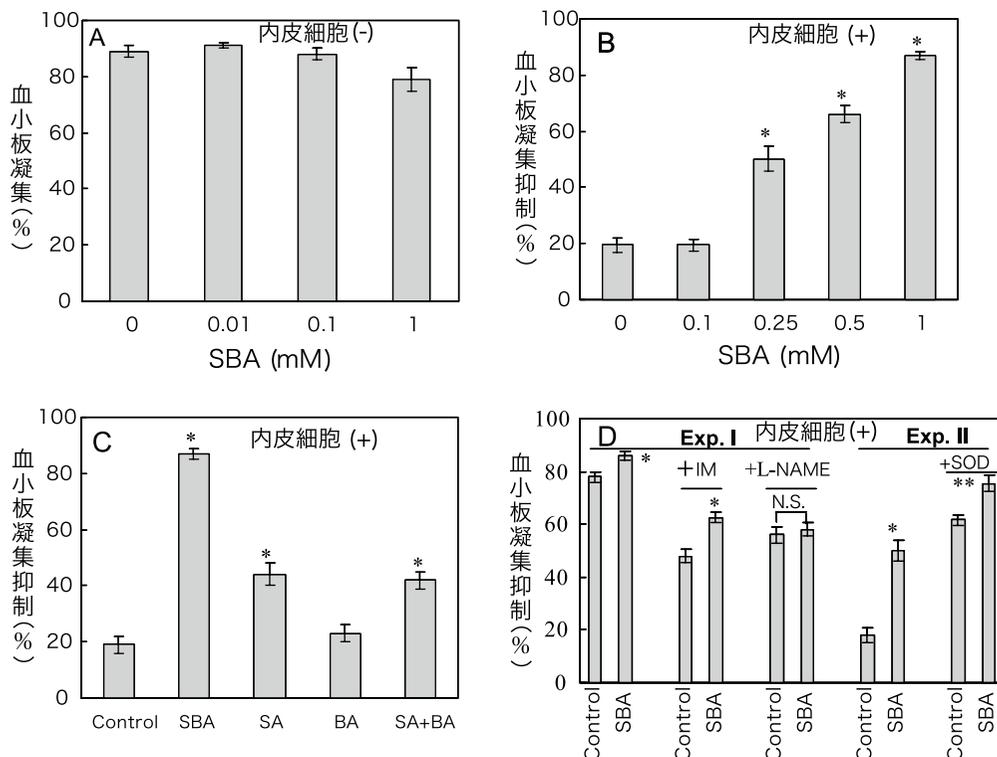


図8 SBAは、血管内皮細胞によるNOの産生を促進する

SBAの濃度：1mM(C), 0.5 mM (Exp. I), 0.25 mM (Exp. II) (D). * $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ mean \pm S.D. (n=3)

SBAとビタミンCは、酸化電位を上昇させる点⁴³⁾、その細胞傷害活性は、銅イオン (Cu^+ , Cu^{2+})の存在下では増強されるが^{44, 46, 49)}、重金属拮抗薬である diethylenetriaminepentaacetic acid 存在下では抑制される点では^{17, 19)}、共通の性質を示す。しかし、SBAの細胞傷害活性は、鉄イオン、cysteine analogs (L-cysteine, glutathione, N-acetyl-L-cysteine), catalase でごく僅かしか影響を受けないが、ビタミンCの細胞傷害活性は、これらの処理でかなり低下してしまう⁴⁷⁾。これらの性質は、SBAとビタミンCは、異なるメカニズムで細胞傷害活性を誘導することを示唆する。

1-6. SBAは一酸化窒素 (NO) の作用を増強する

NOは、血管拡張作用を有する物質として単

離同定された。NOは、血小板凝集抑制作用を示すことが知られている。そこで、SBAがNOの作用に影響を与えるか否かを、血小板凝集抑制活性を指標に検討した。SBA単独では、血小板の凝集に殆ど影響しないが(図8A)、内皮細胞が存在すると、血小板の凝集を濃度依存的に抑制した(図8B)。抑制効果は、SBA濃度が0.25 mM以上で観察された。したがって、SBAの血小板凝集抑制を増強する作用(NOの作用増強作用)は、内皮細胞を介した作用であることが示唆された。Sodium ascorbate (SA)にも中程度の血小板凝集抑制を増強する作用が認められるが、ベンズアルデヒド (BA)には全く増強作用はなく、SAとBAの併用でもSA単独以上の作用は認められなかった(図8C)。

インドメタシン添加により、プロスタサイクリン (プロスタグランジン₁₂)の産生を抑制

しても、SBAの血小板凝集抑制増強効果は残存したが、L-NAME (NO合成酵素阻害剤)の添加でNOの産生を抑制すると、SBAの血小板凝集抑制効果は消失した(図8D Exp-I)。この結果は、SBAの血小板凝集抑制作用は、内皮細胞が産生するNOに依存することを示唆する。NOはO₂により代謝されるので、O₂を消去するsuperoxide dismutase (SOD)の効果を次に検討した。その結果、SODを添加してO₂を消去しても、SBAの血小板凝集抑制増強作用には、殆ど影響を与えなかった(図8D Exp-II)。この結果は、SBAは、内皮細胞が産生するNOの作用を増強する可能性を示唆する(田島ら、未発表データ)。SBA投与初期に見られた火照りは、もしかしたら、内皮細胞により産生されたNOの活性を増強して、血管を拡張させたためかもしれない。

2. CDBAの抗腫瘍活性

CDBAは、SBAと同様に比較的低い腫瘍選択係数を与えた(TS=2.2)⁴⁰⁾。CDBAに対する感受性は、ヒト骨髄性白血病細胞(HL-60, ML-1, KG-1)が最も高く、ヒト口腔扁平上皮癌細胞(HSC-2, HSC-3, HSC-4)、ヒト神経膠芽腫細胞(T98G, U87MG)、ヒト口腔正常細胞(HGF, HPC, HPLF)の順に低下した。SBAは、HL-60細胞には、若干のヌクレオソーム単位のDNAの断片化やカスパーゼ-3の活性化を誘導したが、他の癌細胞には誘導しなかった。透過型電子顕微鏡観察により、ミトコンドリア構造の破壊、オルガネラを消化している二次リソソームの出現が確認された。また、アクリジンオレンジで染色される酸性オルガネラの数が増加した。この結果は、CDBAは、オートファジーを誘導する可能性を示唆する⁴⁰⁾。

3. ベンズアルデヒドの抗腫瘍性

ベンズアルデヒドは、SBAやCDBAよりも高い腫瘍選択性を示した(TS=7.4~8.8)⁴¹⁾。ベンズアルデヒドは、他の腫瘍細胞(TS=3.5 [24 hours], 7.4 [48 hours])よりも、口腔扁平上皮細胞(TS=6.6 [24 hours], 8.8 [48 hours])に対して高い選択毒性を示した(表1)。この原因として、正常細胞に対するベンズアルデヒドの傷害性が低いことが明らかになった。ベンズアルデヒドは、オクタノール・水分配係数(log P)が1.452であり、比較的膜を通りやすい。ベンズアルデヒドの細胞膜透過能が、正常細胞と癌細胞で異なる可能性が考えられる。ベンズアルデヒドに対する感受性は、骨髄性白血病細胞(HL-60, ML-1, KG-1)が最も高く(mean CC₅₀=0.43 mM)、口腔扁平上皮癌細胞(HSC-2, HSC-3, HSC-4)(CC₅₀=2.1 mM)、神経膠芽腫細胞(T98G, U87MG)(CC₅₀=6.4 mM)、そして正常口腔細胞(歯肉線維芽細胞 HGF, 歯髓細胞 HPC, 歯根膜線維芽細胞 HPLF)(CC₅₀=19 mM)の順に感受性が低下した⁴¹⁾。

ベンズアルデヒドは、アポトーシス(DNAのヌクレオソーム単位の断片化、カスパーゼの活性化)を誘導しなかったが(図9)、オートファジー(オートファゴソームの形成、ミトコンドリアの空胞および二次リソソームの形成)を誘導した(図10A)。Western blot解析でオートファジーマーカーの変動を調べた。オートファジーが進行すると、Band I LC3が生成され、次に、Band IIにシフトし、リソソームで分解する現象が見られる。オートファジー阻害剤のBafilomycin A1(プロトンポンプ阻害剤)は、リソソームの酸性化を抑制し、Band II LC3のリソソームでの分解を抑制して蓄積させる。3-methyladenine(オートファゴソームの形成を阻害)は、Band I LC3を増加させた。ベンズア

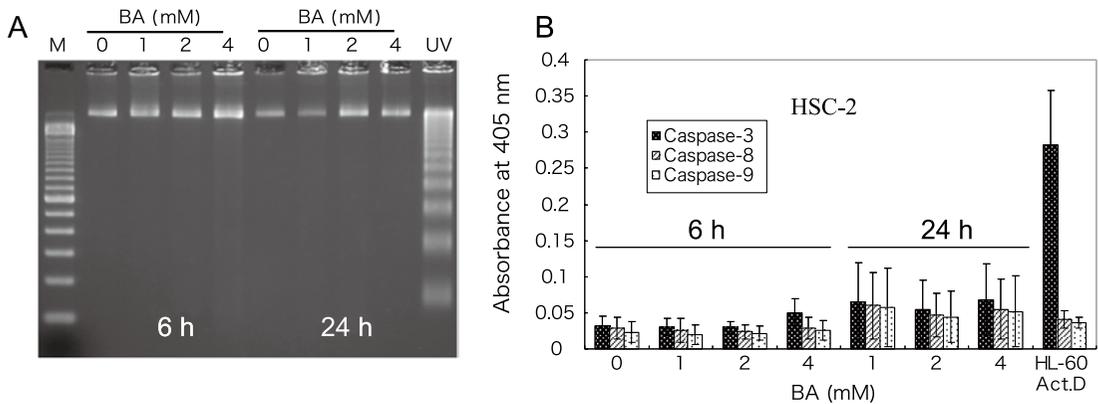


図9 ベンズアルデヒドは、HSC-2 細胞にアポトーシスを誘導しない⁴¹⁾

(A) アガロース電気泳動：M: DNA marker, UV, UV 照射によりアポトーシスに陥った HL-60 細胞の DNA, (B) カスペーゼの活性化, mean ± S.D. (n=3), 陽性対照: actinomycin D (Act. D) によりアポトーシスに陥った HL-60 細胞。

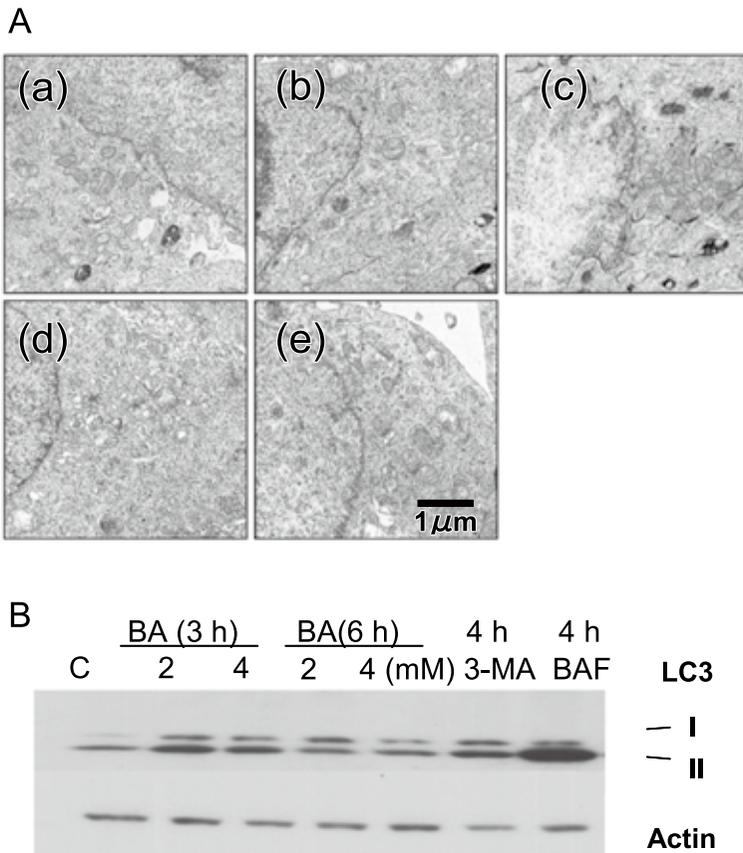


図10 ベンズアルデヒドは、HSC-2 細胞にオートファジーを誘導する

(A) 2次リソソームの誘導 (透過型電子顕微鏡観察), 2 mMベンズアルデヒドと0 (a), 3 (b), 6 (c), 9 (d), 24 (e) 時間培養した。(B) ベンズアルデヒドによる LC3-I と II の生成。HSC-2 細胞を、ベンズアルデヒドと3, 6 時間培養し、LC3-I と -II を Western blot により検出した。一部の細胞は、3-methyladenine (3-MA, 10 mM) あるいは bafilomycin A₁ (BAF, 1 μM) と4 時間培養した⁴¹⁾。

ルデヒド (2, 4 mM) で3時間処理すると, Band I と II の形成が促進され, オートファジーが誘導された可能性が示唆された (図 10B)⁴¹⁾。しかし, ここで観察されたオートファジーがネクロシスに移行する前の一過的な現象であるのかは不明である。

我々は, α, β -不飽和ケトン類(1-trichloroacetyl-3-bromo-2-methoxyazulene, 1-trichloroacetyl-3-chloro-2-ethoxyazulene, 4,4-dimethyl-2-cyclopenten-1-one, α -methylene- γ -butyrolactone, 5,6-dihydro-2H-pyran-2-one, 3,3,3-trifluoro-2-hydroxy-1-phenyl-1-propanone, codeinone, morphinone) が, オートファジーを誘導しやすいことを報告した⁵⁸⁾。その原因として α, β -不飽和ケトン構造の一部にベンズアルデヒドが含まれることが考えられる。

4. ビタミン C の抗腫瘍性

ビタミン C は, ベンズアルデヒドよりも細胞傷害活性が強い。ビタミン C は, 代表的な酸化剤であるが, 酸素があると過酸化水素を生成し, その酸化作用により細胞傷害性を示す⁵²⁾。ビタミン C の細胞傷害活性は, カタラーゼの添加で消失する⁴²⁾。ビタミン C, 過酸化水素の細胞傷害活性と細胞内カルシウム濃度の上昇は共役している⁴²⁾。人間は, 酸素がないと生存できないので, ビタミン C を摂取すると必然的に過酸化水素が生成する。生体中の過酸化水素は, 肝臓で合成されるカタラーゼにより分解される。しかしながら, カタラーゼの量が不足していると過酸化水素の分解が追いつかないので生存できなくなる。ビタミン C の種々の生物活性 (ラジカル生成, ラジカル消去能, UV カット効果, 細胞傷害活性) は, リグニン配糖体の存在により増強される^{50, 52 - 55)}。しかしながら, ビタミン C の腫瘍選択性は低く, SBA の *in vivo* における抗腫瘍活性は, ベンズアルデヒドの結合によるものと思われる。

5. 今後の方向性

ベンズアルデヒドは, 比較的腫瘍選択性が高いことが判明した。ベンズアルデヒドは, 水には溶けにくい⁵⁾, 血清タンパク質と乳化するので, 患者の血清と混合し, 乳化させてから患者にもどすことが可能であると考えられる。

ベンズアルデヒドとビタミン C がアセタール結合した SBA は, 不安定な物質である。酸性では, アセタール結合が開裂して, ベンズア

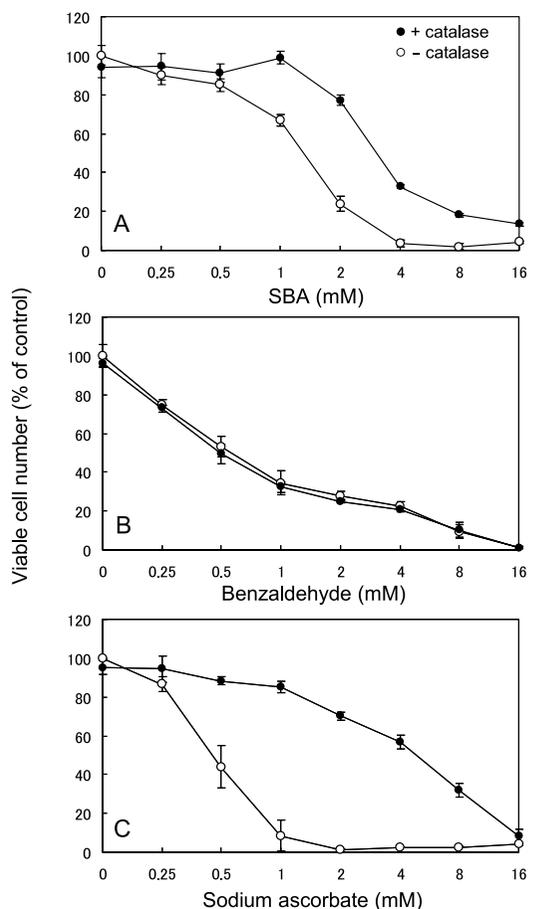


図 11 SBA (A), ベンズアルデヒド (B), ビタミン C (C) の細胞傷害活性に及ぼすカタラーゼの効果

HSC-2 細胞に, カタラーゼ (3000 unit/ml) 存在 (●) あるいは非存在下 (○) で, 種々の濃度のサンプルを添加し, 48 時間培養し, MTT 法により生細胞数を測定した。mean \pm S.D. (n=3)

ルデヒドとビタミンCが生成する。ビタミンCは、中性からアルカリ性に向け、ラクトン環の開裂、そして、それに伴うラジカルの生成により、細胞を傷害する。また、SBAの細胞傷害活性がカタラーゼで減少することから(図11A)、過酸化水素の生成が関与しているものと思われる。SBAの静脈内投与により肝臓において過酸化水素の生成を確認している。しかしながら、SBAのもう一つの分解産物であるベンズアルデヒドの細胞傷害活性は、カタラーゼを添加しても全く影響を受けないので(図11B)、ベンズアルデヒドから過酸化水素は生成されないと思われる。SBAから生成される過酸化水素は、アセタール部分の開裂により生じたビタミンCより生成されるものと思わ

れる(図11C)。SBAの抗腫瘍活性とその不安定性とは密接な相関がある。従って、SBAを投与後、定期的に、HPLCを用いて血中濃度をモニターして適正なSBAの血中濃度を維持することが必要である。

SBAにより誘導される細胞死は、ラット誘発肝癌の場合は、変性壊死であり、培養細胞でも濃度が高くなるとネクロシスが誘導される。しかし、濃度が低い場合は、アポトーシスあるいはオートファジーが一過的に誘導される可能性も考えられる。しかし、動物実験で抗癌作用が確認できるのは、いずれも高濃度の場合であるので(40 mg/kg)、ネクロシスの関与が強いと思われる。

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

ベンズアルデヒドおよびSBA研究の歴史的背景

- 1) Kochi M: Manufacturing Process of Anticancer Substance. Japanese Patent, No. 560349, 1969.
- 2) Takeuchi S, Kochi M, Sakaguchi K, Nakagawa K and Mizutani T: Benzaldehyde as a carcinostatic principle in figs. *Agric Biol Chem* **12**: 1449-1451, 1978.
- 3) Kochi M, Takeuchi S, Mizutani T, Mochizuki K, Matsumoto Y and Saito Y: Antitumor activity of benzaldehyde. *Cancer Treat Rep* **64**: 21-23, 1980.
- 4) Kochi M, Isono N and Niwayama M: Antitumor activity of benzaldehyde derivatives. The 13th International Cancer Congress, Seattle, 1982.
- 5) Kochi M and Kobayashi K: Antitumor activity of benzaldehyde derivatives. Particularly with regards to 5,6-O-benzylidene-L-ascorbic acid sodium salt. The 14th International Cancer Congress, Budapest, 1986.
- 6) Kochi M, Ueda S T and Hagiwara T: Antitumor activity of sodium benzylidene ascorbate. *Progress in Cancer Research and Therapy*. Vol 35: Hormones and Cancer 3. In: Bresciani F, King RJB, Lippman ME and Raynaud JP (eds.). Raven Press, Ltd. New York, pp. 338-343, 1988.
- 7) Tatsumura T, Tsujimoto M, Koyama S, Furuno T, Komori Y, Sato H, Yamamoto K, Kitagawa M and Kagamimori S: 4, 6-O-benzylidene-D-glucopyranose (BG) in the treatment of solid malignant tumors, an extended phase I study. *Br J Cancer* **62**: 436-439, 1990.

SBAに関する研究

- 8) Sakagami H, Asano K, Fukuchi K, Gomi K, Ota H, Kazama K, Tanuma S and Kochi M: Induction of tumor degeneration by sodium benzylideneascorbate. *Anticancer Res* **11**: 1533-1538, 1991.
- 9) Sakagami H, Takeda M, Utsumi A, Fujinaga S, Tsunoda A, Yasuda N, Shibusawa M, Koike T, Ota H, Kazama K, Shiokawa D, Tanuma S and Kochi M: Effect of sodium benzylideneascorbate on chemically-induced tumors in rats. *Anticancer Res* **13**: 65-72, 1993.
- 10) Tanuma S, Shiokawa D, Tanimoto Y, Igarashi A, Ikekita M, Sakagami H, Takeda M, Fukuda S and Kochi M: Benzylideneascorbate induces apoptosis in L929 tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun* **194**: 29-35, 1993.

- 11) Sakagami H, Sakagami T, Takeda M, Iwaki K and Takeda M: Determination of sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate and related compounds by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* **653**: 37-43, 1993.
- 12) Kuribayashi N, Sakagami H, Sakagami T, Niimi E, Shiokawa D, Ikekita M, Takeda M and Tanuma S: Induction of DNA fragmentation in human myelogenous leukemic cell lines by sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate and its related compounds. *Anticancer Res* **14**: 969-976, 1994.
- 13) Aoki K, Nakashima H, Hattori T, Shiokawa D, Niimi E, Tanimoto Y, Maruta H, Uchimi F, Kochi M and Yamamoto N: Sodium benzylideneascorbate induces apoptosis in HIV-replicating U1 cells. *FEBS lett* **351**: 105-108, 1994.
- 14) Sakagami H, Sakagami T, Yamamura M, Takahashi H, Shibuya I and Takeda M: Stability of sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate. *Anticancer Res* **15**: 1269-1274, 1995.
- 15) Takahashi H, Sakagami H, Ohata H, Iida M, Momose K, Yamamura M and Takeda M: Ca^{2+} mobilization during cell death induction by sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate. *Anticancer Res* **16**: 2629-2634, 1996.
- 16) Sakagami H, Satoh K, Ohata H, Takahashi H, Yoshida H, Iida M, Kuribayashi N, Sakagami T, Momose K and Takeda M: Relationship between ascorbyl radical intensity and apoptosis-inducing activity. *Anticancer Res* **16**: 2635-2644, 1996.
- 17) Satoh K, Ida Y, Kochi M, Tajima M, Kashimata M and Sakagami H: Effects of metals and antagonists on the radical intensity and cytotoxicity of ascorbates. *Anticancer Res* **17**: 3355-3360, 1997.
- 18) Satoh K, Ida Y, Kimura S, Taguchi K, Numaguchi M, Gomi K, Kochi M and Sakagami H: Chelating effect of human serum proteins on metal-catalyzed ascorbate radical generation. *Anticancer Res* **17**: 4377-4380, 1997.
- 19) Sakagami H, Satoh K and Kochi M: Comparative study of the antitumor action between sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate and sodium ascorbate (Minireview). *Anticancer Res* **17**: 4451-4452, 1997.
- 20) Satoh K, Ida Y, Asano K, Hisamitsu T, Inagaki M, Sho S, Kochi M, Tanaka T and Sakagami H: Effect of physiological fluids on radical intensity of sodium ascorbate and sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate. *Anticancer Res* **17**: 4457-4462, 1997.
- 21) Satoh K, Sakagami H, Yokoe I, Kochi M and Fuijsawa S: Interaction between eugenol-related compounds and radicals. *Anticancer Res* **18**: 425-428, 1998.
- 22) Tajima M, Toguchi M, Kanda S, Kunii S, Hosaka M, Arakawa H, Maeda M, Satoh K, Asano K, Kochi M and Sakagami H: Role of hydrogen peroxide for cell death induction by sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate. *Anticancer Res* **18**: 1697-1702, 1998.
- 23) Sakagami H, Hosaka M, Arakawa H, Maeda M, Satoh K, Ida Y, Asano K, Hisamitsu T, Takimoto M, Ota H, Inagaki M, Sasuga K, Sho S, Tanaka T, Utsumi N, Oi T and Kochi M: Role of hydrogen peroxide in antitumor activity induction by sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate. *Anticancer Res* **18**: 2519-2524, 1998.
- 24) Satoh K, Ida Y, Kochi M and Sakagami H: Interaction between sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate and dopamine. *Anticancer Res* **18**: 3565-3569, 1998.
- 25) Sakagami H, Satoh M, Yokote Y, Takano H, Takahama M, Kochi M and Akahane K: Amino acid utilization during cell growth and apoptosis. *Anticancer Res* **18**: 4303-4306, 1998.
- 26) Iwasaka K, Koyama N, Nogaki A, Maruyama S, Tamura A, Takano H, Takahama M, Kochi M, Satoh K and Sakagami H: Role of hydrogen peroxide in cytotoxicity induction by ascorbates and other redox compounds. *Anticancer Res* **18**: 4333-4337, 1998.
- 27) Asano K, Satoh K, Hosaka M, Arakawa H, Inagaki M, Hisamitsu T, Maeda M, Kochi M and Sakagami H: Production of hydrogen peroxide in cancerous tissue by intravenous administration of sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate. *Anticancer Res* **19**: 229-236, 1999.
- 28) Sakagami H, Yokote Y, Kochi M, Hara E and Akahane K: Amino acid utilization during apoptosis in HL-60 cells. *Anticancer Res* **19**: 329-332, 1999.
- 29) Koyama N, Satoh K, Ida Y, Hiroi M, Oi T, Kochi M, Yamamoto Y and Sakagami H: Interaction between sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate and gallic acid. *Anticancer Res* **19**: 1159-1164, 1999.
- 30) Sakagami H, Kusama K, Toguchi M and Kochi M: Induction of non-apoptotic cell death by sodium

- 5,6-benzylidene-L-ascorbate in a human salivary gland tumor cell line. *Anticancer Res* **19**: 4045-4048, 1999.
- 31) Sakagami H, Fujiwara E, Yokote Y, Akahane K, Asano K, Kochi M, Hara E and Shirahata A: Changes in intracellular concentration of amino acids and polyamine during apoptosis of HL-60 cells. *Anticancer Res* **20**: 265-270, 2000.
- 32) Sakagami T, Satoh K, Ishihara M, Sakagami H, Takeda F, Kochi M and Takeda M: Effect of cobalt ion on radical intensity and cytotoxic activity of antioxidants. *Anticancer Res* **20**: 3143-3150, 2000.
- 33) Asano K, Satoh K, Kochi M, Kusama K and Sakagami H: Tumor-specific action of sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate in *N*-nitrosodiethylamine-administered mouse model. *Anticancer Res* **21**: 281-284, 2001.
- 34) Tashiro F, Sugiyama A, Urano Y and Kochi M: Sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate induces *in vitro* neuronal cell differentiation accompanying apoptosis and necrosis. *Anticancer Res* **22**: 1423-1432, 2002.
- 35) Fujii H, Amano O, Kochi M and Sakagami H: Mitochondrial control of cell death induction by sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate. *Anticancer Res* **23**: 1353-1356, 2003.
- 36) Kishino K, Hashimoto K, Amano O, Kochi M and Sakagami H: Tumor-specific cytotoxicity and type of cell death induced by sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate. *Anticancer Res* **28**: 2577-2584, 2008.
- 37) Cheung FWK, Che CT, Sakagami H, Kochi M and Liu WK: Sodium 5,6-benzylidene-L-ascorbate induces oxidative stress, autophagy and growth arrest in human colon cancer HT-29 cells. *J Cell Biochem* **111**: 412-424, 2010.
- 38) 坂上 宏, 有吉香織, 橋本 研, 天野 修, 齋藤 潤, 東風陸之: ヒト口腔扁平上皮癌細胞の増殖に及ぼす benzylidene ascorbate と化学療法薬の併用効果, 第 84 回日本薬理学会年会, 横浜, 2011 年 3 月
- 39) Hirano K, Tamura N, Shimada J, Saitoh J and Sakagami H: Synergistic cytotoxicity of SN-38 and gefitinib against OSCC cell line, 45th Meeting of the Continental European Division (CED) of IADR, Budapest, August-September, 2011

CDBA に関する研究

- 40) Liu Y, Sakagami H, Hashimoto K, Kikuchi H, Amano O, Ishihara M, Kanda Y, Kunii S, Kochi M, Zhang W and Yu G: Tumor-specific cytotoxicity and type of cell death induced by β -cyclodextrin benzaldehyde inclusion compound. *Anticancer Res* **28**: 229-236, 2008.

ベンズアルデヒドに関する研究

- 41) Ariyoshi-Kishino K, Hashimoto, K, Amano O, Kochi M and Sakagami H: Tumor-specific cytotoxicity and type of cell death induced by benzaldehyde. *Anticancer Res* **30**: 5069-5076, 2010.

ビタミン C に関する研究

- 42) Sakagami H, Kuribayashi N, Iida M, Hagiwara T, Takahashi H, Yoshida H, Shiota F, Ohata H, Momose K and Takeda M: The requirement for and mobilization of calcium during induction by sodium ascorbate and by hydrogen peroxide of cell death. *Life Sciences* **58**: 1131-1138, 1996.
- 43) Sakagami H and Satoh K: Prooxidant action of two antioxidants: Ascorbic acid and gallic acid. *Anticancer Res* **17**: 221-224, 1997.
- 44) Satoh K and Sakagami H: Effect of metal ions on radical intensity and cytotoxic activity of ascorbate. *Anticancer Res* **17**: 1125-1130, 1997.
- 45) Sakagami H, Satoh K, Fukuchi K, Gomi K and Takeda M: Effect of an iron-chelator on ascorbate-induced cytotoxicity. *Free Radic Biol Med* **23**: 260-270, 1997.
- 46) Satoh K and Sakagami H: Effect of copper and iron ions on cytotoxicity induced by ascorbate, gallate and caffeate. *Anticancer Res* **17**: 2181-2184, 1997.
- 47) Satoh K and Sakagami H: Effect of cysteine, *N*-acetyl-L-cysteine and glutathione on cytotoxic activity of antioxidants. *Anticancer Res* **17**: 2175-2180, 1997.
- 48) Sakagami H, Satoh K, Kadofuku T and Takeda M: Methionine oxidation and apoptosis induction by ascorbate, gallate and hydrogen peroxide. *Anticancer Res* **17**: 2565-2570, 1997.

- 49) Satoh K, Kadofuku T and Sakagami H: Copper, but not iron, enhances apoptosis-inducing activity of antioxidants. *Anticancer Res* **17**: 2487-2490, 1997.
- 50) Sakagami H and Satoh K: Modulation factors of radical intensity and cytotoxic activity of ascorbate (Review). *Anticancer Res* **17**: 3513-3520, 1997.
- 51) Sakagami H, Satoh K, Ida Y, Hosaka M, Arakawa H and Maeda M: Interaction between sodium ascorbate and dopamine. *Free Radic Biol Med* **25**: 1013-1020, 1998.
- 52) Satoh K, Ida Y, Ishihara M and Sakagami H: Interaction between sodium ascorbate and polyphenols. *Anticancer Res* **19**: 4177-4186, 1999.
- 53) Sakagami H, Satoh K, Hakeda Y and Kumegawa M: Apoptosis-inducing activity of vitamin C and vitamin K. *Cell Mol Biol* **46**: 129-143, 2000.
- 54) Sakagami H, Hashimoto K, Suzuki S, Ogiwara T, Satoh K, Ito H, Hatano T, Yoshida T and Fujisawa S: Molecular requirement of lignin for expression of unique biological activity. *Phytochemistry* **66** (17): 2107-2119, 2005.
- 55) Sakagami H, Kushida T, Oizumi T, Nakashima H and Makino T: Distribution of lignin carbohydrate complex in plant kingdom and its functionality as alternative medicine. *Pharmacol Therap* **128**: 91-105, 2010.

腫瘍選択性・誘導される細胞死のタイプに関する研究

- 56) Sakagami H: Apoptosis-inducing activity and tumor-specificity of antitumor agents against oral squamous cell carcinoma. *Jpn Dent Sci Rev* **46**: 173-187, 2010
- 57) Kobayashi M, Sakagami H, Kawase M and Motohashi N: Changes in polyamine levels during cell death induced by heterocycles. *Topics in Heterocyclic Chemistry* (ed., Noboru Motohash) **15**: 161-171, Springer of Germany 2008.
- 58) Sakagami H, Kawase M, Wakabayashi H and Kurihara T: Factors that affect the type of cell death induced by chemicals. *Autophagy* **3**: 493-495, 2007

ポリフェノールはなぜ効くのか

Why polyphenols are almighty?

矢澤 幸平^{*1}, 坂上 宏^{*2}

^{*} YAZAWA Kouhei (バイエル薬品株式会社 経営企画本部), ^{*2} SAKAGAMI Hiroshi (明海大学歯学部)

Key Words : ポリフェノール・活性酸素・受容体・鉄イオン・抱合反応

SUMMARY

Polyphenols are defined as molecules that contain several phenolic hydroxyl groups attached to aromatic rings such as benzene and naphthalene. They have been reported to reduce the blood sugar level, inhibit the thrombosis, and prevent the eye aging, Alzheimer's disease, viral infection and health risk evoked by radiation exposure. We present here our challenging hypothesis about why polyphenols produce such favorable effects.

Key Words : Polyphenol, reactive oxygen species, receptor, iron ion, conjugate reaction

はじめに

ポリフェノール (polyphenol) とは 1 分子内に複数のフェノール性ヒドロキシ基 (ベンゼン環, ナフタレン環などの芳香環に結合したヒドロキシ基) を持つ植物成分の総称である。ポリフェノールの効用として, 食後の血糖値の上昇を抑制し, 血栓ができにくい血液と血管の状態を保持し, 目の老化を予防し, さらにアルツハイマー病を予防し, ウイルス感染を予防し, 放射能被曝による障害を予防するなど, 万病薬のごとき新聞記事, 学会発表, 総説があふれている。

この機会に, このような効果がどの生体内分子種に作用した結果として発揮されるのかを, 多少強引とは思いますが, 医薬品になっている化合

物, あるいは臨床開発試験に供された化合物と関連する機序を引用して, 総合的に考察してみたい。

1. ポリフェノールの作用対象分子種

ポリフェノールは次の分子種に作用すると考えられる。いずれのポリフェノール化合物も作用の強弱はあるが, 以下に述べる複数の作用を併せ持つと思われる。ただし, 治療用医薬品として開発するには活性が弱いように著者は感じている。

①活性酸素に対する消去作用

フラボノイド類を中心にポリフェノールの持

連絡先:

バイエル薬品株式会社 経営企画本部 〒100-8265 東京都千代田区丸の内 1-6-5 丸の内北口ビル

Tel: 03-6266-7797; FAX: 03-3282-6713 e-mail: kouhei.yazawa@bayer.com

明海大学歯学部薬理学分野 〒350-0283 埼玉県坂戸市けやき台 1-1

Tel: 049-279-2758, 2759; Fax: 049-285-5171 e-mail: sakagami@dent.meikai.ac.jp

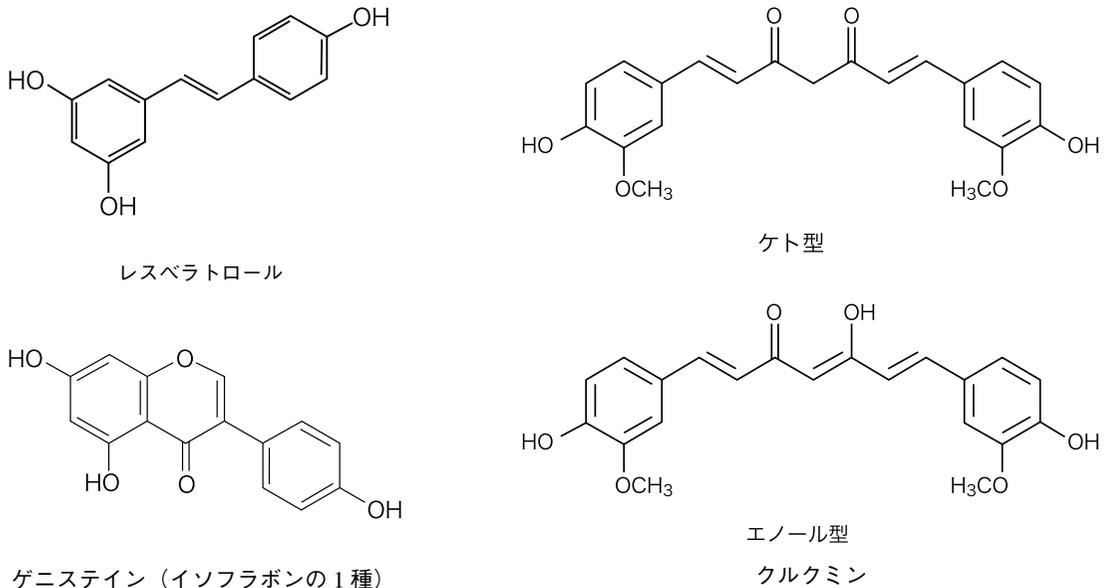


図1 代表的ポリフェノールの化学構造

つ抗酸化活性は良く知られ、薬理効果の大半を説明できるような錯覚にとらわれてしまいがちである。確かに、*in vitro* の条件下で遺伝子を傷害する活性酸素を消去し、細胞死やがん細胞発生を抑制できる。さらに、放射能による傷害は活性酸素が関与することから、放射線障害の予防効果が期待されている。一方、過剰作用の結果としては、血小板凝集、血管収縮作用のあるトロンボキサン A₂ の合成阻害による出血などが考えられる。また、体内に侵入した細菌などを好中球が食べて殺す際にもプロテアーゼとともに活性酸素が使われていることから、活性酸素の消去作用は免疫を弱める可能性がある。赤ワインに含まれるレスベラトロールなどのフラボノイドは、強い抗酸化作用があると言われているが、効果が現れるレスベラトロール量を摂取するにはかなりの赤ワインを飲まねばならないらしい。有効な摂取量が定かではないが(ある情報では 6 mg/day のレスベラトロール)、赤ワインにすると毎日 1 リットル以上の飲酒になるといわれている。

ポリフェノールおよびビタミン E と構造的

に類似する合成医薬プロブコールは、強力な抗酸化活性を持ち、高脂血症に対する適用がある。適切な用量(通常食後に、1回 250 mg、1日 2回)であれば、血液中の LDL の酸化を抑制し、動脈硬化の進行を遅くし、血液の流動性を高めることが知られている。医薬品の場合、用量が非常に多くないと明瞭な(有意差を以って)効果が認められない。

②細胞表面タンパクに対する非特異的結合による抗菌、抗ウイルス、および消化吸収抑制作用の発現

クレゾールをイメージすると理解し易いが、ポリフェノールはタンパク質に非特異的に吸着しやすく、その結果、タンパク質の機能が変わるようである。

茶カテキン (epigallocatechin gallate が約 50%) を 10% の濃度で含む抽出物が、ヒトパピローマウイルスによって起こる尖圭コンジロームの治療用塗り薬“ポリフェノン E”として米国やドイツで販売されている。発明者は三井農林。

レスベラトロールは、核内受容体 PPAR- α 及

び γ に作用して、脂肪酸の代謝を活性化し、血糖値、中性脂肪値を降下させると報告されているが、加えて、食物中のポリフェノールは腸管内皮に結合して糖や脂肪の吸収を抑制して（緩やかにして）いると推察される。この活性が強いと渋みが増すので、食品として過大な摂取がおこらない仕組みになっている。

GlaxoSmithKline 社の一部門である Sirtris 社は、レスベラトロールを 2 型糖尿病患者に投与する臨床試験をインドで実施し、有意な血糖降下作用が認められたことを 2008 年に報告した。用法用量は、1 回 1,250 mg または 2,500 mg、1 日 2 回の服用であった。

③エストロゲン受容体に対する作用（女性ホルモンと同様の作用）

大豆イソフラボンで代表されるように、フェノール基を含む化合物の多くは、エストロゲン活性を持っている。合成洗剤の分解物である p-octylphenol のようなシンプルなフェノールにも、合成エストロゲン diethylstilbestrol の 0.15% 程度の受容体親和性¹⁾がある。したがって、多くのポリフェノールまたはその代謝物にはエストロゲン作用があり、これまで抗酸化作用として解釈されていたうちの多くの効果は、その機序の再検討が必要と思われる。

閉経前の女性で動脈硬化が進行しないのはエストラジオールの働きであることが判明している。イソフラボンは食品から摂取できる安全なエストロゲンである。一方、環境ホルモンとして悪名をはせたビスフェノール A も弱いエストロゲンであり、オスのラットに反復投与すると血栓を作りにくくする効果を持つ（矢澤らの未発表試験結果）。

エストロゲンは細胞内にある核内受容体 ER α および β に結合し、核内に運ばれ、遺伝子発現を制御する。また近年、細胞膜に G protein-coupled estrogen receptor 30 (GPR30) の存在が明

らかにされた²⁾。GPR30 は、カルシウムの小胞体からの放出を通じて、エストロゲン作用の一翼を担っていることが明らかになった。

しかしながら、研究手技の習得が難しいためと思われるが、未だに各受容体に対する選択性（作用スペクトル）、アゴニスト・アンタゴニスト作用の別などについて、十分な研究がなされていない。

エストロゲンは前立腺肥大症、前立腺がんの予防効果が期待できる半面、男性の性機能に与える影響も考慮する必要がある。また、動脈硬化予防、骨密度低下予防効果がある大豆イソフラボンであるが、乳がんの履歴のある女性に推奨することができるか否かについて、未だ結論が得られていない。

④細胞増殖を制御する核内受容体 NF κ B に対する作用

Jang らは 1997 年、科学雑誌サイエンスに、レスベラトロールにがん増殖を抑制する効果があることを報告した³⁾。この作用は細胞増殖を制御する核内受容体 NF κ B の阻害であることが判明している⁴⁾。GlaxoSmithKline 社は英国などで大腸がん多発性骨髄腫を対象として、臨床第二相試験を 2009 年 6 月に開始した。造血器腫瘍である多発性骨髄腫（試験番号 NCT00920556）に関して、レスベラトロール単剤（1 日 5g）またはプロテアソーム阻害剤 bortezomib との併用で実施したが、2010 年に副作用の理由により途中で試験を中止した⁵⁾。おそらく、レスベラトロールの持つ多彩な（特異性が低い）作用のために、患者が高用量に耐えられなかったと思われる。大腸がんを対象にした臨床第二相試験（1 日 5g、14 日間服用）も中止した模様である。現時点においては、レスベラトロールに関して医薬品として臨床開発を実施している企業があるとの情報はない。

⑤鉄イオンに対するマスク作用

鉄に性質が類似する放射性ガリウム ($^{67}\text{Ga-citrate}$) を静脈内投与するとがん細胞の画像診断ができることから分かるように、鉄は増殖する細胞にとって必須の元素である。フェノール基は鉄イオンと結合する。それがかつては、貧血患者が鉄剤をお茶と一緒に飲むと吸収が妨げられると言われていたが、現在、お茶はそれほど鉄吸収を阻害しないといわれている。鉄の吸収は、むしろ生体側の鉄需要によって制御されることが判明している。

ただし、ウコンの主成分であるクルクミンを動物に大量に投与すると鉄欠乏になると報告されている。坂上の経験で、クルクミンは、動物を用いた実験において抗癌活性を示すが、その至適用量範囲が狭く、至適用量の僅か2倍投与しただけで毒性が現れてしまう。また *in vitro* で腫瘍選択性が低く、癌細胞と正常細胞をほぼ同濃度で殺してしまう。高濃度のクルクミンの取扱いは慎重にした方がよさそうだ。

もし服用されるポリフェノールが高分子であれば、鉄イオンを結合して腸内に留まり、母乳中に含まれるラクトフェリンのように、腸内を遊離状態の鉄イオン欠乏状態にして有害な細菌の増殖を抑制することができると思われる。

2. 肝臓の抱合能力を超える — 重大な副作用

in vivo では、第一の関門である肝臓の抱合能力こそがポリフェノールの副作用を防ぐ重要な因子であると思われる。腸から吸収されたポリフェノールは肝臓でグルクロン酸抱合と硫酸抱合を受け、そのままの構造では体循環にほとんど入らない。しかし、個人差はあるが、グラムオーダーの量になるとグルクロン酸抱合、硫酸抱合の能力を超え、非抱合体の血中濃度が急上昇し、上述した種々の作用によって副作用をも

たらすと考えられる。

さらに、肝臓ではフェノールが酸化代謝を受けキノンに変わる。キノンはグルタチオン抱合を受け、さらに代謝を受けメルカプトール酸抱合体になるが、キノンが多く産生された時には肝細胞中のグルタチオンが枯渇してしまい、肝機能障害の症状が現れると推察する。筆者は、ポリフェノール経口剤の臨床開発が進まない原因がこの抱合能力の限界を超えた投与量にあるのではないかと疑っている。

おわりに 今後の課題

ポリフェノールについて、残念なことではあるが、作用すべき場所に活性を持つ分子構造で必要な濃度で存在する、という証拠が十分得られているとはいいがたい。低分子量ポリフェノールを摂取すると、かなりの部分は吸収されるが、直ちに肝臓で硫酸抱合、グルクロン酸抱合を受けたあと、血液に出、また胆汁中や尿中に排泄される。血液中のポリフェノールは大部分が抱合体であって、非抱合ポリフェノールはわずかな濃度しか存在せず、その上、そのほとんどがアルブミンなどの血漿タンパクに非特異的に結合しているので、*in vitro* 試験で有効性を示した非結合薬物の濃度には *in vivo* では到達しない。一方、抱合体が活性の本態であると考えられる研究者もいるが、抱合体自体の活性は十分高いとはいえない。

では、どうして薬理的な効果が出るのか、それを解決しない限り、ポリフェノールの効果は科学的に証明されたことにはならないと思われる。ここが解明されてはじめて、どのくらいのポリフェノールの摂取量が適切であるかが科学的に明らかになると思われる。

これを解き明かす鍵は脱抱合酵素 (β -glucuronidase, aryl-sulfatase) にあると思われる。腸内には、約 10^{14} 個もの腸内細菌がおり、その脱抱合酵素により生じたポリフェノールは

再吸収される。また、それ以外に、炎症部位には脱抱合酵素を保有するマクロファージが集まってきて、脱抱合を行い、その結果、局所でポリフェノールが高濃度になり、抗炎症作用を

はじめとして種々の作用を発揮すると想定している。残念ながら、炎症部位での非抱合ポリフェノール濃度を測定したという研究報告を見たことは無いので、このような研究が進展することを期待する。

..... 文 献

- 1) 佐藤かな子, 長井二三子: アルキルフェノール類のホルモン受容体結合作用. 東京衛研年報 53, 265-267.2002.
- 2) Caroline Sanden, et al., G protein-coupled estrogen receptor 1/G protein-coupled receptor 30 localizes in the plasma membrane and traffics intracellularly on cytokeatin intermediate filaments. Mol Pharmacol, 79, 400-410.2011.
- 3) Jang M, et al., Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. Science 275, 218-220. 1997.
- 4) Boissy P, et al., Resveratrol inhibits myeloma cell growth, prevents osteoclast formation, and promotes osteoblast differentiation. Cancer Res., 65(21), 9943-52. 2005.
- 5) <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00920556?term=resveratrol&rank=16>

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

きのこの発酵能を利用した機能性食品の開発

松井 徳光^{*1} 田畑 麻里子^{*2}

^{*1} MATSUI Tokumitsu, ^{*2} TABATA Mariko (武庫川女子大学生生活環境学部食物栄養学科)

Key Words : 機能性食品・きのこ・ β -D-グルカン・発酵食品・抗酸化活性

はじめに

近年、食の欧米化や高齢化社会を迎える中で、心筋梗塞や脳血栓などの血栓症およびガンが増加し、社会的に重大な問題となっている。これらの疾病は、現在の医学では完治させることが難しく、患部の切除などで応急的に処置しているのが現状であり、そのため、発症してから治療するのではなく、医食同源・予防医学の観点に立ち、毎日の食生活から予防することが大切である。特に現在、日本や欧米諸国の主な死因となっている血栓症やガンに注目し、これらの疾病に対して予防効果を示す生理活性物質について検討した。植物や細菌、酵母、カビ、放線菌、そしてきのこ（担子菌）について調べたところ、血栓症に予防効果を示す抗トロンビン活性物質および線溶活性物質の存在が多種のきのこ類に見出された¹⁾。また、きのこには免疫力を高め、ガンを予防する β -D-グルカンが含まれていることも報告されている²⁾。さらに、きのこには細菌やカビのような微生物とは異なり、非常に親しみやすいイメージがある。そこで、“きのこ”という食品素材に注目し、本研究室の主テーマである機能性食品の開発を手がけることにした。

さて、今日、私たちの食生活の中で、当たり

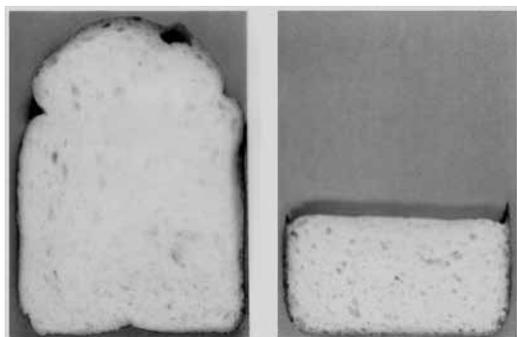
前のように存在している清酒やビール、ワイン、食酢、味噌、醤油、ヨーグルト、チーズ、納豆などの発酵食品は、長い歴史の中で様々な偶然が重なり誕生した人類の宝物である。古来から現在に至るまで、清酒、ビール、ワインなどのアルコール飲料は、酵母のアルコール発酵によってつくられている³⁾。酵母が使用されてきた理由は、酵母がエチルアルコールをつくりだすアルコール脱水素酵素を持っているからである。しかしながら、最近、私たちの研究室では、きのこがアルコール脱水素酵素を持っていることを見出した⁴⁻¹⁴⁾。また、きのこはビタミンやミネラル、食物繊維が豊富で、抗ガン作用や抗血栓症作用などがあり、機能性食品素材としても注目されている。さらに、発酵中に新たにビタミンを生産すること¹⁵⁾や、桃の香り成分を分泌すること¹⁶⁾など、種々の有用な発酵産物が生産されることが報告されている。そこで、酵母の代わりにきのこを用いて、アルコール発酵を行い、機能性を有するワイン、ビール、清酒の生産を試みた。さらに、きのこに乳酸脱水素酵素、凝乳酵素、プロテアーゼなどの存在を見出し、従来の発酵で用いられている乳酸菌、納豆菌、麹カビの代わりにきのこを用いて発酵を行い、新たな機能性を有するチーズ、納豆様

大豆発酵食品、味噌などの生産を試みた。

1. アルコール発酵能を見出したパンの実験

約150種類のきのこについて、抗トロンピン活性や線溶活性などの血液関連生理活性物質について調べたところ、多くのきのこに上記の活性が認められた。そこで、「より親しまれ、より日常の食生活できのこを手軽に食べてもらうためには、どのような食品にすればよいのか?」について思案したところ、「パンにきのこを入れるのがよいだろう!」ということになった。ミキサーで粉碎したきのこ(10%)をパン生地混ぜ、全自動ホームベーカリーでパンを調製した。その結果、きのこを入れていない標準パンはふっくらと膨らんだが、きのこを入れたパンはへっこんだ状態になった(写真1)。「どうして、きのこを入れるとへっこんでしまうのだろうか?」と疑問に思い、「きのこが酵母の生育を抑えているのかもしれない!」と考え、抗菌力試験を行ったが、きのこは酵母に対して抗菌力を示さなかった。

そこで、パン生地の発酵過程を観察するために、ビーカーの中でパン生地を発酵させてみた



標準パン

マイタケを添加したパン

写真1 標準パンとマイタケを添加したパン
マイタケはパン生地に対して10%(W/W)添加した。きのこをパン生地に入れることによって、へっこんだ状態になった。

ところ、きのこを添加することによって発酵が促進され、急激に膨らみ、やがてパン生地表面に穴が開き、ガスが抜け、へっこんでしまうという現象を観察した^{17,18)}。つまり、きのこを入れることによって、発酵が促進されていたのである。

次に、「なぜ、きのこを入れるとパンの発酵が促進されるのか?」という疑問を解くために実験を行った。最終的には、きのこの中に含まれる糖が酵母のアルコール発酵を促進させているという結論を見出したのであるが、その途中段階で「きのこをパン生地に添加するとアルコール発酵が促進されたのだから、きのこがアルコール発酵するのかもしれない!」と考え、ポリアクリルアミドゲル電気泳動でアルコール脱水素酵素の定性実験を行った。その結果、ヒラタケに顕著なアルコール脱水素酵素の活性染色バンドが検出されたことから、きのこの中にアルコール脱水素酵素が存在する可能性が示唆された(写真2)。さらに、アルコール脱水素酵素の活性測定ならびに分子量測定を行ったと



写真2 きのこのアルコール脱水素酵素における活性染色バンド
矢印はアルコール脱水素酵素の活性染色バンドを示す。

ころ、それぞれのきのこで活性や分子量が測定され、きのこ中にアルコール脱水素酵素が存在することを確信した^{4,6,11-14}。

2. きのこの選択

自然界から採集ならびに市販品として購入した、およそ 120 種類のきのこについて、アルコール脱水素酵素活性を測定したところ、全くアルコール脱水素酵素活性を示さないものもあれば、顕著な活性を示すものもあった。そこで、アルコール飲料製造には、アルコール脱水素酵素活性の強いヒラタケなどを用いた。また、アルコール飲料の発酵生産には、あらかじめ子実体から純粋分離した、きのこの菌糸体を用いた。

3. アルコール飲料の生産

きのこのアルコール発酵能を用いて代表的な醸造酒であるワイン^{6,8,14}、ビール^{5,7}、清酒^{4,9}の生産を試みた¹¹⁻¹⁴。なお、いずれにおいても、きのこは酵母の代わりにアルコール発酵する種菌として用い、清酒の場合では、麴カビと酵母の2種類の微生物の代わりに糖化およびアルコール発酵する種菌として用いた。きのこで発酵させて生産したアルコール飲料のアルコール濃度は、ワインではヒラタケが12.2%で最も高く⁶、ビールではマツタケが4.6%で⁵、清酒ではエノキタケとマツタケのアルコール濃度が同じくらいで、およそ3.0%であった⁴。なお、清酒の場合、米のデンプンを糖化しなければならないのであるが、これらのきのこにはアミラーゼ活性があり、きのこ麴の生育段階で糖化が行われることも明らかにした。

4. きのご酒の味と香り

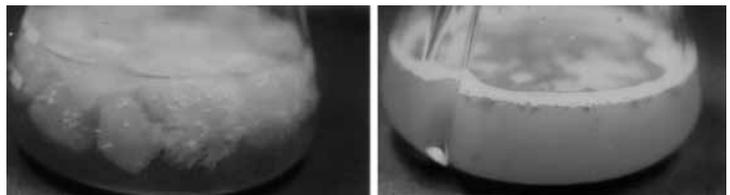
きのこで発酵させて生産したアルコール飲料は、きのこの種類によって様々な味と香りを示した。たとえば、ヒラタケで発酵させたワインは、ヒラタケのほのかな味と香りを示すものの、全体的には通常の酵母で発酵させたワインのような甘い味と香りであった。一方、マツタケで発酵させた清酒は、マツタケ特有の強い香りがあり、マツタケの子実体を漬け込んだリキュールと同じような味と香りであった。このように、従来のワインや清酒と同じような味と香りを示すものや、使用したきのこ特有の味と香りを示すものがあり、きのこの種類によって様々な味と香りを示すアルコール飲料を生産することが可能である。

5. きのこにおけるアルコール発酵の特徴

きのこでアルコール発酵させた場合の発酵状態の特徴を以下に示す。

(1) 外観上の違い

酵母で発酵させた場合では、軽く混ぜると底に沈んだ酵母が浮遊し、濁った状態になるが、きのこの場合は、きのこ菌糸体の塊として存在し、澄んだ液体の状態を保っていた(写真3)。また、アルコール発酵の結果、発生する二酸化炭素(CO₂)も、酵母の場合は非常に小さい粒状の気泡が次から次へと発生するが、きのこの場合は菌糸体のところどころから徐々にCO₂



きのこ

酵母

写真3 きのこによるアルコール発酵の状態

が発生し、比較的大きな気泡が菌糸体にくっついている状態であった。

(2) 発酵メカニズムの違い

きのこのアルコール発酵のメカニズムについても興味ある現象が観察された。きのこでワインを生産した場合には、嫌気条件（静置培養）と好気条件（回転振とう培養）の両方においてアルコールを生産した。通常、酵母のアルコール発酵は嫌気条件下で起こり、好気条件下で起こることはほとんどないことが知られている。一方、きのこの場合は、嫌気条件下でも好気条件下でもアルコール発酵することから、*Zymomonas mobilis* に存在するような好気条件下でアルコール発酵するエントナー・ドウドロフ経路を持っている可能性が示唆された^{6,11)}。

(3) 糖化とアルコール発酵を一種類のきのこで行う

清酒は通常、麴カビ *Aspergillus oryzae* と酵母 *Saccharomyces sake* が種菌として用いられ、それぞれが行う米の糖化とアルコール発酵による、いわゆる並行複発酵によってつくられている。しかしながら、きのこにはアミラーゼ活性があり、さらにアルコール脱水素酵素活性も有することから、従来2種類の微生物を用いて製造されていた清酒が、たった一株のきのこだけで製造することが可能であった。つまり、ただ、蒸米にきのこの菌糸体を移植するだけで、清酒が製造できるのである。これは、清酒製造における操作の簡便さの点において、注目すべきことかもしれない⁴⁾。

6. チーズ

通常、チーズの製造には、乳酸発酵する乳酸菌および仔牛の第四胃にあるレンニンあるいはカビ由来のムコールレンニンなどの凝乳酵素が使用されている。そこで、「もしもきのこが乳酸脱水素酵素と凝乳酵素を持っていれば、

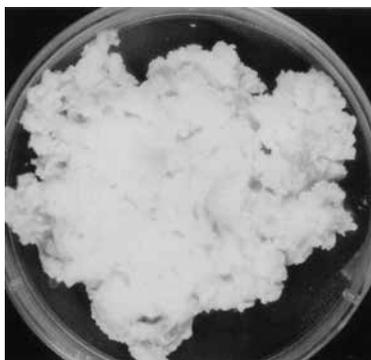


写真4 スエヒロタケで発酵させたフレッシュタイプのチーズ

チーズをたった1種類のきのこで製造することができるかもしれない?」と考え、両方の酵素活性を有するきのこを見出した。きのこ菌糸体を牛乳に加え、発酵させたところフレッシュタイプのチーズを製造することが可能であった(写真4)。製造されたチーズには、きのこ由来あるいは発酵過程でつくられた抗トロンピン活性、線溶活性があり、 β -D-グルカンも含まれていた^{19,20)}。

7. 納豆様大豆発酵食品

納豆は、蒸した大豆に納豆菌 *Bacillus natto* を培養してつくられる大豆発酵食品である。大豆タンパク質の一部は、納豆菌の産生する菌体

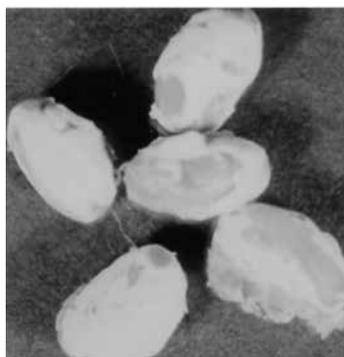


写真5 ホウネンタケで発酵させた納豆様発酵大豆食品

外酵素プロテアーゼによりペプチドの形態まで分解される。納豆菌は、このほかにもアミラーゼなどの各種の酵素を産生するため、本来消化されにくい大豆が非常に消化の良いものになる。そこで、特にプロテアーゼ活性が高いきのこを用いて納豆様大豆発酵食品の製造を試みた。発酵産物は、インドネシアの大豆発酵食品であるテンペに似た外観で、独特の風味を示し、1年半以上の室温保存にも耐え、きのこ由来あるいは発酵過程でつくられた生理活性物質を含んでいた(写真5)²¹⁻²³⁾。

8. 味噌

一般に、味噌は、蒸米に麴カビを移植し米麴をつくった後、蒸煮した大豆を加えて、麴カビが有するアミラーゼ、プロテアーゼ、後で混入する耐塩性の乳酸菌と酵母で乳酸発酵(乳酸脱水素酵素)とアルコール発酵(アルコール脱水素酵素)が行われることによって造られる。そこで、上記4種類の酵素を有するきのこを見出し、味噌の製造を行ったところ、納豆様大豆発酵食品と同様に、製造された味噌は独特の風味を持ち、きのこ由来あるいは発酵過程でつくられた生理活性物質を含んでいた(写真6)^{24, 25)}。



写真6 きので発酵させた味噌

9. その他の発酵食品

梅干しは発酵処理のない塩漬けの漬物であるが、全く食塩を用いない場合であっても、きのこで発酵させることによって、保存性を高め、線溶活性や抗トロンビン活性、抗酸化活性を新たに付加させることができた(写真7)²⁶⁾。また、豆乳をきのこで発酵させることによって、きのこ中の β -グルコシダーゼが作用し、体内吸収がよく、活性の高いアグリコン型イソフラボンを効率よく生産させることもできた^{27, 28)}(図1)。さらに、豚肉をきのこで発酵させるこ



写真7 きので発酵させた発酵梅

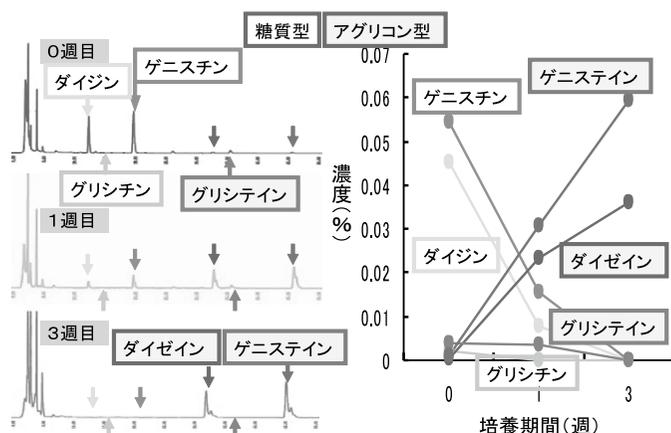


図1 発酵豆乳におけるイソフラボンの変化

豆乳(大豆)の中のイソフラボンは、ほとんどが糖質型(ダイジン, ゲニスチン, グリシチン)である。糖質型は、体内吸収が悪く、活性も低い。豆乳をきのこで発酵することによって、体内吸収が良く、活性も高いアグリコン型イソフラボン(ダイゼイン, ゲニステイン, グリシチン)を効率良く生成させることができる。

とによって、遊離アミノ酸が増加するだけではなく、豚肉中のコレステロールが分解されたヘルシーな肉となることも判明した^{29, 30)}。

10.

きのこの発酵能で製造した発酵食品の生理活性

(1) 線溶活性

写真8に、きのこで発酵させた大豆発酵食品における線溶活性を示した。エノキタケ、ヒラタケのワイン⁶⁾、マツタケのビール⁵⁾をはじめ、ホウネンタケの納豆様大豆発酵食品²¹⁾やスエヒロタケのチーズ¹⁹⁾、エリンギで発酵させた味噌²⁴⁾などにおいても顕著な線溶活性が認められたことから、これらの活性を有する発酵食品を摂取することによって血栓症が予防できる可能性が示唆される。

(2) 抗トロンビン活性

いずれのアルコール飲料においてもトロンビン時間がコントロール（きのこで発酵させていないもの）よりも延長し抗トロンビン活性を示した。また、スエヒロタケの発酵で製造したチーズ¹⁹⁾やエノキタケで発酵させた納豆様発酵大豆食品²¹⁾、エリンギで発酵させた味噌²⁴⁾においても著しい抗トロンビン活性を示したことが

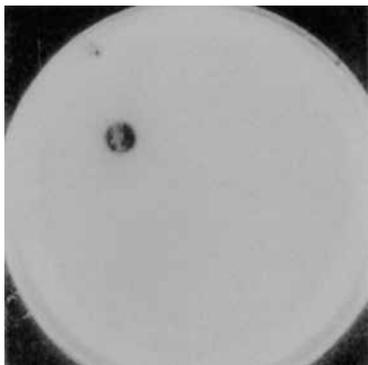


写真8 きのこで発酵させたビールにおける線溶活性
きのこで発酵させたビールは血栓の主成分であるフィブリンを溶かしている。

ら、線溶活性と同様に血栓症予防効果が期待される。

(3) 抗酸化活性

特に梅²⁶⁾や豆乳²⁷⁾をきのこで発酵させることによって、抗酸化活性が顕著に高まったことから、活性酸素が原因で起こる成人病などの予防効果が期待される。

以上、きのこを用いて発酵させ製造した食品には、きのこ由来の活性物質が含まれることが明らかとなった。そして、それらの発酵食品には、血栓症や活性酸素が原因で起こる成人病などの予防効果が期待される。

11. まとめ

一般に、ワイン、ビール、清酒などのアルコール飲料の生産には、酵母が用いられているが、きのこを用いた場合でも、アルコール飲料を生産することが可能であった。同様に、チーズや納豆様発酵大豆、味噌も製造することが可能であった。そして、きのこで生産したアルコール飲料、チーズ、納豆様発酵大豆、味噌は、 β -D-グルカンを含むと共に、線溶活性や抗トロンビン活性があり、免疫力を高め、ガンや心筋梗塞、脳血栓などの血栓症の予防にもつながる可能性が示唆された。現在の医学ではガンや血栓症の患者に対しては、根本的な治療は困難であり、患部の切除やバイパス手術などで応急的に処置しているのが現状である。したがって、医食同源・予防医学の観点に立ち、日常の食生活から、これらの疾病を予防することが大切であり、今後も機能性食品の開発についての研究が必要である。

おわりに

きのこでアルコール飲料を製造したことが、テレビやラジオをはじめ、新聞や一般雑誌などのマスコミ等で広く報じられた。その間、きの

ここでアルコール発酵したものを清酒やビール、ワインと呼ぶことについて、試験醸造免許書の許可範囲として議論となった。「酵母を用いなければ“ワイン”とはいえない」や「麹カビを用いなければ“清酒”とはいえない」などの意見が出された。「同じアルコール発酵や糖化をするのであれば、酵母や麹カビに限定しなくても“ワイン”あるいは“清酒”といえるのではないのでしょうか?」と意見を述べ、結局、“とりあえず”ということで、アルコール飲料全ての試験醸造免許書を許可していただいた。

また、きのこでチーズを製造した学術論文が掲載された時、アイルランドのチーズ研究所の方から学術雑誌発行学会の会長のところへ問合せがあり、私の手元にその知らせが届いた。「チーズは乳酸菌で乳酸発酵させ、凝乳酵素を加えてつくるもので、きのこで発酵させてつくったものはチーズとは呼ばない」という内容であった。結局、論文のタイトルで“cheese-like food”を用いていたことを幸いに、“チーズ様食品”ということで納得していただいた。当然のことであるが、チーズは乳酸菌で発酵させるという既成概念がある。

さらに、納豆についても少し考えてみよう。納豆の起源には「八幡太郎義家伝説」をはじめ、様々な諸説があるものの、諸説のすべては、わらで蒸煮した大豆を包むことで、大豆から納豆が誕生している。もしも、日本がインドネシアのようにバナナの葉がたくさんある環境であれば、わらの代わりにバナナの葉で蒸煮した大豆を包み、納豆の代わりにテンペが日本で誕生していたのかもしれない。

以上のように考えれば、伝統的な発酵食品は、その風土にあった条件下で偶然に発見された産

物であったと断定できる。しかし、現在では、発酵食品に関与する微生物や発酵メカニズムも明らかとなってきた。

大学時代の“微生物学”や“応用微生物学”の講義の中で、「納豆は納豆菌でつくる」、「アルコール飲料は酵母のアルコール発酵を利用してつくる」ということを学んだ。しかしながら、『別に、同じ発酵をする力があれば、違う微生物を使ってもいいのではないか?』と思っていたことを覚えている。

そして、最近、パンの実験を通して、偶然にも酵母ではなく、きのこにもアルコール脱水素酵素が存在することを明らかにし、その応用として、きのこを用いてアルコール発酵をさせ、ワインやビール、清酒などのアルコール飲料を製造した。その延長として、きのこの発酵能を用いてチーズや納豆様大豆発酵食品、味噌などを製造した。

今回の研究を通じてきのこには、まだまだ、知られていない未知なる可能性があることを再認識した。現代に生きている私たちは、これまでの発酵食品製造等における伝統的な経験を踏まえ、新しい発想のもとで研究を行い、よりきのこを知り、よりきのこの素晴らしい発酵能や機能性などの特徴を活かして、未知なる可能性を秘めた機能性食品をつくることのできるのではないかと夢を膨らませている。

人類の健康と幸せのために、もっときのこをはじめ、様々な微生物を理解し活用していくことが必要であり、そのことは産業界の活性化にもつながるであろう。さらに、新しい視点でのきのこを含む微生物利用は、将来、訪れるであろう世界の食糧危機問題に対する解決法の一つとして発展させられるかもしれない。

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

- 1) T. Okamura, N. Horie, Y. Miyazaki and M. Ohsugi: Fumaric acid, anti-thrombin substance from *Rhizopus javanicus*, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **43**, 241-247 (1997)
- 2) 水野卓, 川合正允編著: キノコの化学・生化学, 学会出版センター, 223-228 (1992)
- 3) J. C. Ayres, J. O. Mundt and W. E. Sandine: Alcoholic yeast fermentations, *Microbiology of foods*, W. H. Freeman, San Francisco, 147-176 (1980)
- 4) T. Okamura, T. Ogata, M. Toyoda, M. Tanaka, N. Minamimoto, T. Takeno, H. Noda, S. Fukuda and M. Ohsugi: Production of sake by mushroom fermentation, *Mushroom Sci. and Biotech.*, **8**, 109-114 (2000)
- 5) T. Okamura, T. Ogata, N. Minamimoto, T. Takeno, H. Noda, S. Fukuda and M. Ohsugi: Characteristics of beer-like drink produced by mushroom fermentation, *Food Sci. Technol. Res.*, **7**, 88-90 (2001)
- 6) T. Okamura, T. Ogata, N. Minamimoto, T. Takeno, H. Noda, S. Fukuda and M. Ohsugi: Characteristics of wine produced by mushroom-fermentation, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 1596-1600 (2001)
- 7) 大杉匡弘, 岡村徳光: ビールの製法およびそれにより得られたビール, 特許第 3362312 号 (2003)
- 8) 大杉匡弘, 岡村徳光: ワインの製法およびそれにより得られたワイン, 特許第 3362311 号 (2003)
- 9) 大杉匡弘, 岡村徳光: 清酒の製法およびそれにより得られた清酒, 特許第 3362313 号 (2003)
- 10) 大杉匡弘, 岡村徳光: アルコール飲料の製法およびそれにより得られたアルコール飲料, 特許第 3362310 号 (2003)
- 11) T. O-Matsui, T. Tomoda, Fukuda and M. Ohsugi: Discovery of alcohol dehydrogenase from mushrooms and application to alcoholic beverages, *J. Mol. Catal. B: Enzymol.*, **23**, 133-144 (2003)
- 12) 松井(岡村)徳光, 大杉匡弘: きのこの機能性を生かした新しい食品の開発, 農林水産技術研究ジャーナル, **25**, 29-33 (2002)
- 13) 松井(岡村)徳光, 大杉匡弘: きのこを用いた酒類の製造, 日本醸造協会誌, **97**, 766-773 (2002)
- 14) T. Matsui, T. Kagemori, S. Fukuda and M. Ohsugi: Characteristics of wine produced by mushroom fermentation using *Schizophyllum commune* NBRC4929, *Mushroom Sci. and Biotech.*, **17**(3), 107-111(2009)
- 15) T. Tomoda, S. Fukuda, H. Noda, N. Siwarungson, T. Matsui and M. Ohsugi: Biotin-vitamar contents in mushrooms and biotin production in alcohol fermentation by mushroom mycelia, *Mushroom Sci. Biotech.*, **13**, 77-81 (2005)
- 16) 福田祥子, 藤本眞一, 井上八壽子, 松井徳光: マスタケ培養菌糸体の生産する香り成分の分析, 日本きのこ学会誌, **14**, 29-34 (2006)
- 17) T. Okamura, Y. Nishikawa, N. Okuda and M. Ohsugi: Effects of adding mushrooms to dough on gas production and loaf volume, *J. Cookery Sci. Jpn.*, **31**, 30-36 (1998)
- 18) T. Okamura, Y. Nishikawa, N. Okuda and M. Ohsugi: Effects of adding mushrooms to dough on gas production during bread making, *J. Home Eco. Jpn.*, **49**, 865-871 (1998)
- 19) T. O-Matsui, K. Takemura, M. Sera, T. Takeno, H. Noda, S. Fukuda and M. Ohsugi: Characteristics of a cheese-like food produced by mushroom fermentation of the mushroom *Schizophyllum commune*, *J. Biosci. Bioeng.*, **92**, 30-32 (2001)
- 20) 田畑麻里子, 林多津子, 松井徳光: 担子菌由来凝乳酵素の活性測定へのコアグロメーターの適用, 日本きのこ学会誌, **17**, 151-154 (2009)
- 21) T. O.-Matsui, H. Izuta, T. Tomoda, H. Noda, S. Fukuda and M. Ohsugi: Fermented soybean with thrombosis preventing activity using mushroom mycelia as microbial source, *Food Sci. Technol. Res.*, **9**, 227-230 (2003)
- 22) 松井徳光: 担子菌の発酵能による健康・機能性大豆発酵食品の開発, タカノ農芸化学研究助成財団報告書, **11**, 35-42 (2005)
- 23) 松井徳光: 発酵大豆およびその製法, 特許第 3809477 号 (2005)
- 24) T. O.-Matsui, H. Izuta, T. Takeno, H. Noda, S. Fukuda and M. Ohsugi: Characteristics of miso-like food produced by mushroom fermentation, *Mushroom Sci. and Biotech.*, **9**, 117-120 (2001)
- 25) 松井徳光, 田畑麻里子: きのこの発酵能を利用した新しい機能性調味食品の開発, 調理食品と技術, **13**, 26-31(2007)

- 26) 松井徳光：発酵梅の製法およびそれにより得られた発酵梅，特許第 4565241 号（2010）
- 27) 田畑麻里子，福田祥子，大杉匡弘，佐藤美次，山川友宏，波多野健二，野池利彰，松井徳光：スエヒロタケ (*Shizophyllum commune*) の発酵による豆乳の成分および機能性の変化について，日本きのこ学会誌，**16**(4), 159-163(2008)
- 28) 松井徳光：発酵豆乳およびその製法，特許第 4735981 号（2011）
- 29) 松井徳光：きのこ発酵能を利用した健康・機能性食肉の開発，食肉に関する助成研究調査成果報告書，**22**, 216-220 (2003)
- 30) 松井徳光：きのこの発酵能を利用した健康・機能性食肉の開発，食肉に関する助成研究調査成果報告書，**23**, 238-242 (2004)

ウンシュウミカン果実における

β-クリプトキサンチンの蓄積・調節メカニズム

加藤 雅也*

* KATO Masaya (静岡大学農学部)

Key Words : ウンシュウミカン・β-クリプトキサンチン・カロテノイド・培養砂じょう

はじめに

ウンシュウミカンの砂じょう（果肉部分）には、多量のβ-クリプトキサンチンが含まれる。β-クリプトキサンチンは、カロテノイドの一種であり、オレンジ色を呈する。このβ-クリプトキサンチンは、ビタミンAの前駆体として働くこと、また、近年、抗酸化成分として発ガン抑制作用^{1,2)}や骨粗しょう症などの生活習慣病の予防³⁾に役立つことが明らかとなってきている。

カロテノイドは、自然界に700種類以上も存在する色素群の総称である。私達の食生活の中では、ニンジンやカボチャに含まれるオレンジ色のβ-カロテン、トマトやスイカに含まれる赤色のリコペン、そして、ウンシュウミカンに含まれるβ-クリプトキサンチンなど様々なカロテノイドが存在している。カロテノイドは、炭化水素骨格からなるカロテンと含酸素カロテノイドであるキサントフィルの2つのグループに大きく分けることができる。

カンキツ果実は、キサントフィルを豊富に含有する上に、カンキツ属の種間で、カロテノイド、特に、キサントフィル含量・組成において非常に多様である。中でも、大きくカロテノイド含量・組成において差が認められるウンシュウミカン（β-クリプトキサンチンを蓄積する種）、バレンシアオレンジ（ビオラキサンチンを蓄積する種）およびリスボンレモン（カロテノイド含量が少ない種）を研究材料として（図1）、カロテノイド生合成・分解に関わる遺伝子の発現を比較することにより、カロテノイド、特に、β-クリプトキサンチンの蓄積メカニズムを解明す

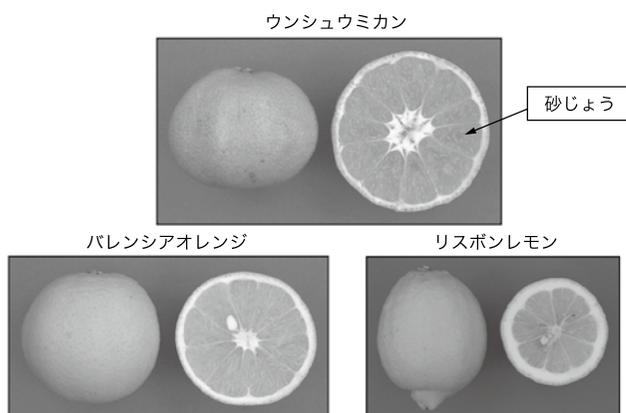


図1 カロテノイド含量・組成が異なるウンシュウミカン、バレンシアオレンジおよびリスボンレモン

砂じょう（果肉部分）に、ウンシュウミカンはβ-クリプトキサンチンを、バレンシアオレンジはビオラキサンチンを、リスボンレモンは低レベルのカロテノイドを、それぞれ集積する。

る研究に取り組んできた^{4,5)}。また、現在、上記カンキツ3種の砂じょうを培養し、 β -クリプトキサンチンの含量を調節する種々の要因について研究を進めている。

1. 植物におけるカロテノイドの生合成と代謝分解

植物におけるカロテノイド生合成経路を図2に示す^{6,7)}。カロテノイド生合成経路における最初のステップは、フィトエンシンターゼ(PSY)により2分子のゲラニルゲラニルピロリン酸から無色のカロテノイドであるフィトエンが生成されることから始まる。フィトエン

はフィトエンデサチュラーゼ(PDS)により、2重結合が2か所導入され、 ζ -カロテンに転換される。 ζ -カロテンは ζ -カロテンデサチュラーゼ(ZDS)により、さらに、2重結合が2か所導入され、リコペンに転換される。リコペンから、カロテノイド生合成経路は、2つに分岐する。一方の経路では、リコペンは、リコペン ϵ -シクラーゼ(LCYe)により δ -カロテンに転換され、さらに、 δ -カロテンはリコペン β -シクラーゼ(LCYb)により α -カロテンに転換される。その後、 α -カロテンには、 ϵ -リングヒドロキシラーゼと β -リングヒドロキシラーゼ(HYb)により、2個の水酸基が導入され、ルテインに転換される。もう一方の経路では、リ

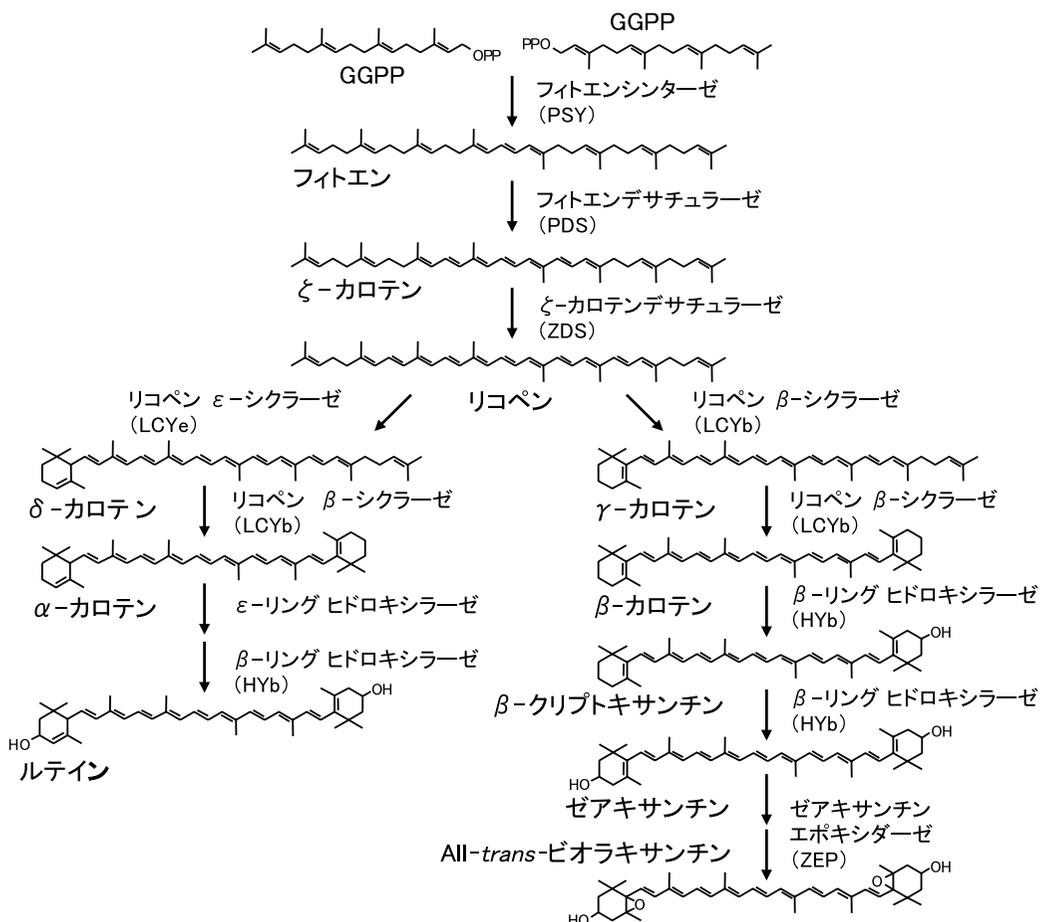


図2 植物におけるカロテノイド生合成経路および関与する酵素

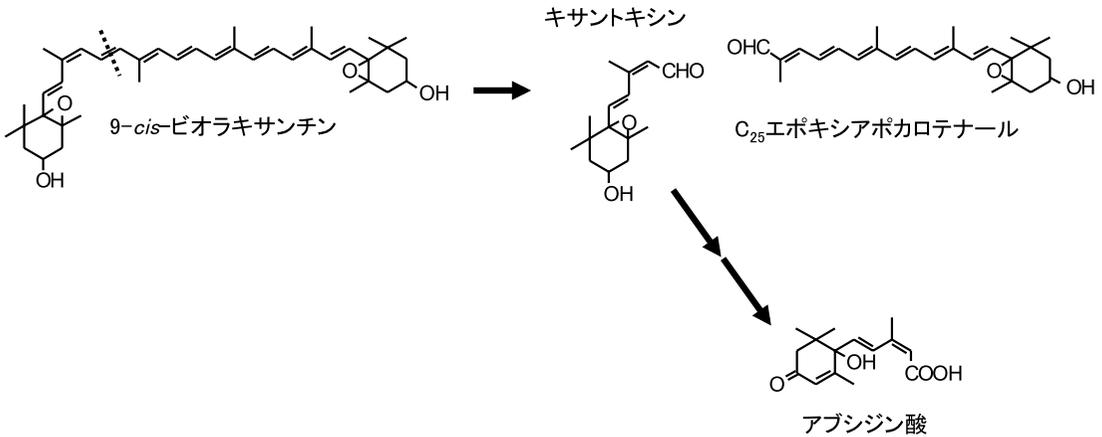


図3 9-*cis*-β-オラキササンチンからのカロテノイド代謝分解経路
NCEDにより生成されるキサントキシンは、アブシジン酸（ABA）の前駆物質である。

コペンは、LCYbによりγ-カロテンを経由してβ-カロテンに転換される。さらに、β-カロテンは、HYbにより、1個の水酸基が導入され、ウンシュウミカンに豊富に含まれるβ-クリプトキササンチンに転換される。β-クリプトキササンチンには、再度、HYbが作用することにより、2個目の水酸基が導入され、ゼアキササンチンに転換される。その後、ゼアキササンチンは、2段階反応でゼアキササンチンエポキシダーゼ（ZEP）により、β-オラキササンチンに転換される。

カンキツ果実では、*all-trans*-β-オラキササンチンと9-*cis*-β-オラキササンチンの2種類の異性体が認められ、バレンシアオレンジの砂じょうでは主に9-*cis*-β-オラキササンチンが多く認められる。9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase（NCED）は、9-*cis*-β-オラキササンチンや9'-*cis*-ネオキササンチンを、植物ホルモンのアブシジン酸（ABA）の前駆体であるキサントキシンとC₂₅エポキシアポカロテナルに代謝分解する反応を触媒する（図3）。このNCEDによる反応は、ABA生合成の律速段階であると考えられている⁸⁾。他にもカロテノイドの代謝分解に関わる酵素として、carotenoid cleavage dioxygenase 1（CCD1）などがある⁹⁾。CCD1は、キンモクセイの花の芳香成分の1つであるβ-イオノンの生成に関

与することが報告されている¹⁰⁾。

2. ウンシュウミカン果実におけるβ-クリプトキササンチンの集積メカニズム

カンキツ果実の果皮（フラベド）が緑色の時期（ウンシュウミカン：8～10月、バレンシアオレンジおよびリスボンレモン：8～10月）では、カンキツ3種のいずれの砂じょうにおいてもカロテノイド含量は低く推移していた⁴⁾。その後、果皮がオレンジ色になるにつれて、ウンシュウミカンとバレンシアオレンジの砂じょう（果肉部分）では、急速なβ,β-キサントフィル（β-クリプトキササンチン、ゼアキササンチン、*all-trans*-β-オラキササンチンおよび9-*cis*-β-オラキササンチン）生成が認められた⁴⁾。ウンシュウミカンの砂じょうでは、β-クリプトキササンチンが主なカロテノイドとして認められた。このβ-クリプトキササンチンは、カロテノイド組成として、59.6%を占めていた。一方、バレンシアオレンジの砂じょうでは、β-オラキササンチンが主なカロテノイドとして認められた。このβ-オラキササンチンは、カロテノイド組成として、65.4%を占めていた。これらのカンキツの砂じょうでは、β,β-キサントフィル生成に必要な

な遺伝子のセット (*CitPSY*, *CitPDS*, *CitZDS*, *CitLCYb*, *CitHYb* および *CitZEP*) の発現が、顕著な一斉上昇を示した。一方、リスボンレモンの砂じょうでは、低レベルの β -クリプトキサンチンが蓄積しており、上記遺伝子セットの上昇も他の2種と比較すると非常に低いレベルであった。

カンキツ果実の砂じょうにおいて、急速な β - β -キサンチン生成が認められた期間 (ウンシュウミカン: 10~11月, バレンシアオレンジ: 11~12月) におけるカロテノイド生合成遺伝子の発現レベルを比較した (図4)。その結果, カロテン生成に関わる遺伝子 (*CitPSY*, *CitPDS*, *CitZDS* および *CitLCYb*) の発現では, ウンシュウミカンの方がバレンシアオレンジより高い値を示した。一方, キサンチン生成に関わる遺伝子 (*CitHYb* および *CitZEP*) の発現では, 逆転していて, バレンシアオレンジの方がウンシュウミカンよりも高い値を示した。従って, ウンシュウミカンとバレンシアオレンジの砂じょうにおけるキサンチン組成の著しい差 (ウンシュウミカンでは β -クリプトキ

サンチンを蓄積, バレンシアオレンジではビオラキサンチンを蓄積) は, カロテノイド生合成経路の上流のカロテン生成に関わる遺伝子とキサンチン生成に関わる遺伝子の発現のバランスが一因となっていることが考えられた。すなわち, ウンシュウミカンの砂じょうでは, 生合成下流の *CitHYb* の遺伝子発現が低いため, 酵素の反応を十分に進めることができずに, 中間産物である β -クリプトキサンチンを主に蓄積したと考えられた。これとは逆に, バレンシアオレンジでは, 生合成下流の *CitHYb* の発現が高いため, 中間産物の β -クリプトキサンチンを多量に蓄積することなく, 最終産物であるゼアキサンチンまで代謝を進め, さらに, *CitZEP* の発現が高かったため, ゼアキサンチンはビオラキサンチンまで容易に代謝されたと考えられた。

9-*cis*-ビオラキサンチンの代謝分解に関わる *NCED* について, ウンシュウミカン, バレンシアオレンジおよびリスボンレモンから *CitNCED2* を単離し, 発現ベクターにライゲート後, リコンビナントタンパク質を作成し, *in*

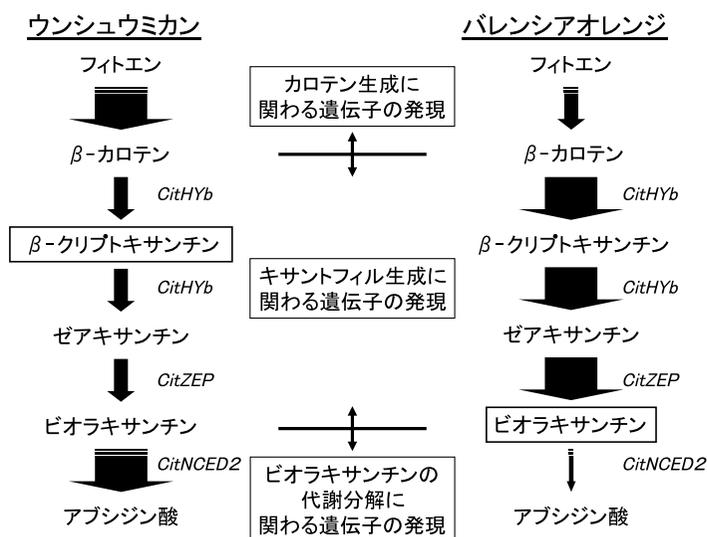


図4 ウンシュウミカンおよびバレンシアオレンジの砂じょうにおけるカロテノイド生合成・代謝分解に関わる遺伝子発現の模式図 (矢印の太さは遺伝子の発現レベルを示す)

vitro において機能解析を行った⁵⁾。その結果、カンキツ3種いずれの *CitNCED2* も、 β -クリプトキサンチン、ゼアキサンチンおよび all-*trans*-ピオラキサンチンを切断(代謝分解)せず、9-*cis*-ピオラキサンチンだけを切断し、キサントキシンと C₂₅ エポキシアポカロテナルを生成した。このように、カンキツ3種から単離した *CitNCED2* は、他の植物から単離された *NCED* と同様の機能を持ち、また、カンキツ3種間においてもその機能には大きな違いが無いことを確認した。

また、ウンシュウミカン、バレンシアオレンジおよびリスボンレモンの砂じょうの成熟過程における 9-*cis*-ピオラキサンチンの代謝分解に関わる *CitNCED2* の遺伝子発現を解析した⁵⁾。*CitNCED2* の遺伝子発現は、ウンシュウミカンとリスボンレモンの砂じょうでは、果実の成熟に伴い急速に増大した(図4)。

一方、バレンシアオレンジでは、成熟期間中、顕著な増大は認められず、低く推移した。*CitNCED2* の遺伝子発現の増大が認められたウンシュウミカンとリスボンレモンでは、顕著な ABA 含量の増大が認められ、*CitNCED2* の発現上昇とよく一致していた。また、*CitNCED2* の遺伝子発現の増大が認められないバレンシアオレンジでは、砂じょうにおいてウンシュウミカンやリスボンレモンと比較して、*NCED* の基質である 9-*cis*-ピオラキサンチンが蓄積した。このように、*CitNCED2* の遺伝子発現は、カンキツ3種において、9-*cis*-ピオラキサンチンの蓄積の種間差に大きく

関わっていることが示唆された。

3. ウンシュウミカン果実における β -クリプトキサンチンの調節メカニズム

ウンシュウミカン果実の砂じょうにおける β -クリプトキサンチン含量がどのような要因により、調節されているかを解明するために、カンキツ果実の砂じょうを培養し、研究材料として用いている。カンキツ果実の砂じょうを1か月ほど培養すると、砂じょうは肥大し、黄色を呈する(図5)。また、このカンキツ培養砂じょうは、樹上の果実と同じように糖や有機酸を集積することが分かっている。

カンキツ培養砂じょうは、樹上で成熟した果実と比較して、 β -クリプトキサンチンなどのカロテノイド合成の調節メカニズムを研究する

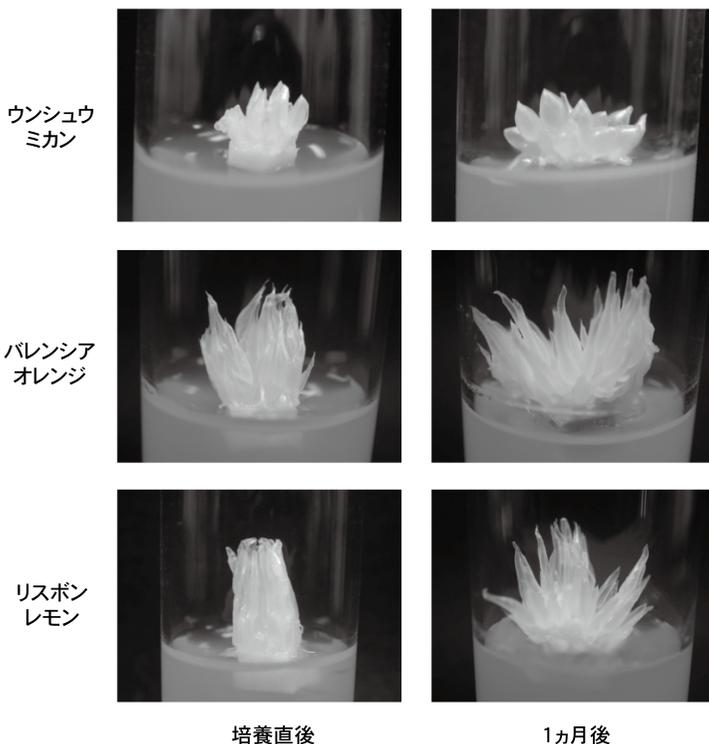


図5 ウンシュウミカン、バレンシアオレンジおよびリスボンレモンの培養直後と培養1か月後の砂じょう

上で、有利な点が幾つかある。例えば、樹上の果実は、樹になっている場所（樹の上部や下部、外側や内側など）や、また、樹ごとでも果実の栄養・機能性成分含量などの品質が異なる。

一方、培養砂じょうは、一つの果実から複数のサンプルを作成することができるため、果実品質が均一なサンプルを簡単に調製することができる。また、樹上の果実は、その年ごとでも異なる太陽の光、温度、雨といった環境条件や病虫害に品質が大きく影響される。一方、培養砂じょうでは室内で培養し、温度や光などの条件を一定に設定することができるため、その日ごとで変わるような環境条件に影響されない。また、病虫害の影響も排除することができる。つまり、カンキツ培養砂じょうは、樹上の果実では影響を受ける光の強さ、温度、湿度といった環境要因を、簡単に変更することができる。その影響について調査することができる。このように、カンキツ培養砂じょうは、樹上の果実と比較して幾つかの有利な点があり、環境要因や外的要因のカロテノイド生合成・分解に及ぼす影響を正確に把握することができる。

ウンシュウミカン、バレンシアオレンジおよびリスボンレモンのカンキツ3種の砂じょうを、10%スクロースを含むMS寒天培地で培養すると、砂じょうにおけるカロテノイド含量・組成は、樹上の果実と同様に蓄積した。ウンシュウミカンの培養砂じょうは主に β -クリプトキサンチンを蓄積した。一方、バレンシアオレンジの培養砂じょうは主に9-*cis*-ビオラキサンチンを蓄積した。リスボンレモンの培養砂じょうは低レベルのカロテノイドを蓄積した。

ウンシュウミカン、バレンシアオレンジおよびリスボンレモンのカンキツ3種の培養砂じょうから、RNAを抽出し、カロテノイド生合成・分解に関わる遺伝子の発現を、リアルタイムPCRにより調査したところ、樹上の果実と同様の発現パターンを示した。カンキツ3種

の砂じょうの培養期間中、砂じょうの肥大に伴い β 、 β -キサントフィル生成に必要な遺伝子のセット (*CitPSY*, *CitPDS*, *CitZDS*, *CitLCYb*, *CitHYb* および *CitZEP*) の発現が一斉に上昇し、カロテノイドが蓄積した。また、ウンシュウミカンの培養砂じょうでは、バレンシアオレンジと比較して、カロテン生成に関わる遺伝子 (*CitPSY*, *CitPDS*, *CitZDS* および *CitLCYb*) の発現は高い傾向を示し、一方、キサントフィル生成に関わる遺伝子 (*CitHYb* および *CitZEP*) の発現は低い傾向を示した。

カロテノイドの代謝分解に関わる酵素遺伝子の *CitNCED2* の発現パターンについても、樹上の果実と同様で、ウンシュウミカンとリスボンレモンの砂じょうでは、バレンシアオレンジと比較して、培養期間中、*CitNCED2* の遺伝子発現が高く推移し、9-*cis*-ビオラキサンチンの蓄積がほとんど認められなかった。一方、バレンシアオレンジの砂じょうでは、*CitNCED2* の遺伝子発現が低く推移し、9-*cis*-ビオラキサンチンの蓄積が認められた。

このように、遺伝子発現およびカロテノイド含量・組成が樹上の果実と同様に蓄積するカンキツ培養砂じょうを研究材料として用いることにより、ウンシュウミカン果実における β -クリプトキサンチン含量の調節メカニズムの解明に取り組んでいる。これまで、 β -クリプトキサンチン合成を調節する要因として、LEDを用いた様々な波長（色）の光照射、温度、植物ホルモン、糖および水分ストレスなどの処理を、カンキツ培養砂じょうに行い、カロテノイド含量・組成およびカロテノイド生合成・分解に関わる遺伝子の発現を、調査した。その結果、上記のような様々な環境要因や外的要因により、カンキツ培養砂じょうにおける β -クリプトキサンチン含量は、変動することが明らかとなってきている。さらに、培養砂じょうにおける β -クリプトキサンチンなどのカロテノイド含

量・組成の変動は、カロテノイド生合成・分解に関わる遺伝子発現の増大,または,減少に伴って起きることが分かっている。また,カロテノイド含量・組成は,これらの処理により,大きく変動していないのに,カロテノイド生合成・分解に関わる遺伝子の発現が,劇的に変動しているような場合も観察された。

以上のように,カンキツ培養砂じょうを用いた研究を行うことにより, β -クリプトキサンチンの含量を調節する要因が,明らかになりつつあり,カンキツ果実の成熟には様々な環境要因や植物ホルモンなどの外的要因が関わっていることが分かってきた。

おわりに

本稿では,「ウンシュウミカン果実における

β -クリプトキサンチンの調節メカニズム」の研究内容の一部を学術論文にまとめており,詳細な結果について紹介することはできなかった。しかし,上記の光照射,温度,植物ホルモンおよび水分ストレスなどの外的要因,環境要因は,カンキツ果実におけるカロテノイド合成を調節する重要な要因であり,これらの処理により, β -クリプトキサンチンを高蓄積させることが可能となるかもしれない。

また,現在,私達の研究室では, β -クリプトキサンチンの他にもカンキツ果実に含まれる栄養・機能性成分であるビタミンCやポリメトキシフラボノイドのノビレチンにも着目し,収穫後のカンキツ果実に上記のような処理を行うことにより,果実に栄養・機能性成分を高含有化させることができるかどうか研究を進めている。

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

- 1) Männistö S., Smith-Warner S.A., Spiegelman D., Albanes D., Anderson K., van den Brandt P.A., Cerhan J.R., Colditz G., Feskanich D., Freudenheim J.L., Giovannucci E., Goldbohm B.A., Graham S., Miller A.B., Rohan T.E., Virtamo J., Willett W.C. and Hunter D.: Dietary carotenoids and risk of lung cancer in a pooled analysis of seven cohort studies. *Epidemiol. Biomark. Prev.*, **13**, 40-48, 2004.
- 2) Yuan J.M., Stram D.O., Arakawa K., Lee H.P. and Yu M.C.: Dietary cryptoxanthin and reduced risk of lung cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, **12**, 890-898, 2003.
- 3) Yamaguchi M. and Uchiyama S.: β -Cryptoxanthin stimulates bone formation and inhibits bone resorption in tissue culture *in vitro*. *Mol. Cell. Biochem.*, **258**, 137-144, 2004.
- 4) Kato M., Ikoma Y., Matsumoto H., Sugiura M., Hyodo H. and Yano M.: Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiol.*, **134**, 824-837, 2004.
- 5) Kato M., Matsumoto H., Ikoma Y., Okuda H. and Yano M.: The role of carotenoid cleavage dioxygenases in the regulation of carotenoid profiles during maturation in citrus fruit. *J. Exp. Bot.*, **57**, 2153-2164, 2006.
- 6) Cunningham F.X. and Gantt E.: Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **49**, 557-583, 1998.
- 7) Ronen G., Cohen M., Zamir D. and Hirschberg J.: Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: expression of the gene for lycopene epsilon-cyclase is down-regulated during ripening and is elevated in the mutant Delta. *Plant J.*, **17**, 341-351, 1999.
- 8) Qin X. and Zeevaert J.A.D.: The 9-*cis*-epoxycarotenoid cleavage reaction is the key regulatory step of abscisic acid biosynthesis in water-stressed bean. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 15354-15361, 1999.
- 9) Schwartz, S.H, Qin, X., Zeevaert, J.A.D.: Characterization of a novel carotenoid cleavage dioxygenase from plants. *J. Biol. Chem.* **276**, 25208-25211, 2001.
- 10) Baldermann S., Kato M., Kurosawa M., Kurobayashi Y., Fujita A., Fleischmann P. and Watanabe N.: Functional characterization of a carotenoid cleavage dioxygenase 1 and its relation to the carotenoid accumulation and volatile emission during the floral development of *Osmanthus fragrans* Lour. *J. Exp. Bot.*, **61**, 2967-2977, 2010.

ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品

第10回 アジア大陸中央部高地地帯 — インド北部でのチベット系移牧民ラダークの事例

平田 昌弘*

*HIRATA Masahiro (帯広畜産大学)

Key Words：乳加工体系・ラダーク・チベット・文化の重層性・冷涼

はじめに

インド北部のジャンムー・カシミール州ラダーク管区に、チベット系の人びとが居住している。ラダークの人びとには、いつも穏やかで、笑顔が輝く(写真1)。ジュレー(こんにちは)と挨拶を交わすと、優しく受け入れてくれる。家畜管理や畑仕事が忙しい時、当然のように隣人や親戚が助け合い、労働後には飯や酒を振る舞って共食する。村の協同体としての機能が今日も脈々と生き続けている。本稿では、そんなラダークの人びとの乳加工技術とその乳製品利用について紹介したい。3000m以上の高地で、ラダークの人びとはいったいどのような乳製品

を加工しているのであろうか。なお、本稿で紹介する乳加工体系の事例は、2007年の現地調査に基づいている。

1. ラダークの人びと

インド北部のラダーク管区はアジア大陸のちょうど中央部地域に位置しており、ラダークの周辺には西アジア、中央アジア、東アジア、青藏高原、南アジアが接している。ラダークには、高峰を有するヒマラヤ山脈やカラコルム山脈が走り、標高が主に3000m以上の高山地帯が広がっている。ラダークの中心地レーでは、月別平均気温が夏の7月～8月に約20℃、冬の12月～1月には約-10℃と冷涼である(図1)。年間降水量は、わずか117mmしかなく、日本での雨の日の一日分しかない。このように、ラダークは乾燥した冷涼な生態環境にある。

ラダークには、インド・イラン語族アーリア系ダルドとチベットとの混血したバルティー、ブロクパ、ラダキーなどの人びとが長い間居住し、牧畜や農業を営んできた。バルティーはチベット語西部方言バルティー語を使用するイスラム教徒、ブロクパはイラン系ドクケ語を使用する仏教徒、ラダキーはチベット語西部方言ラ



写真1 ラダークの移牧民の人びと。包み込むような笑顔でいつも迎えてくれる。

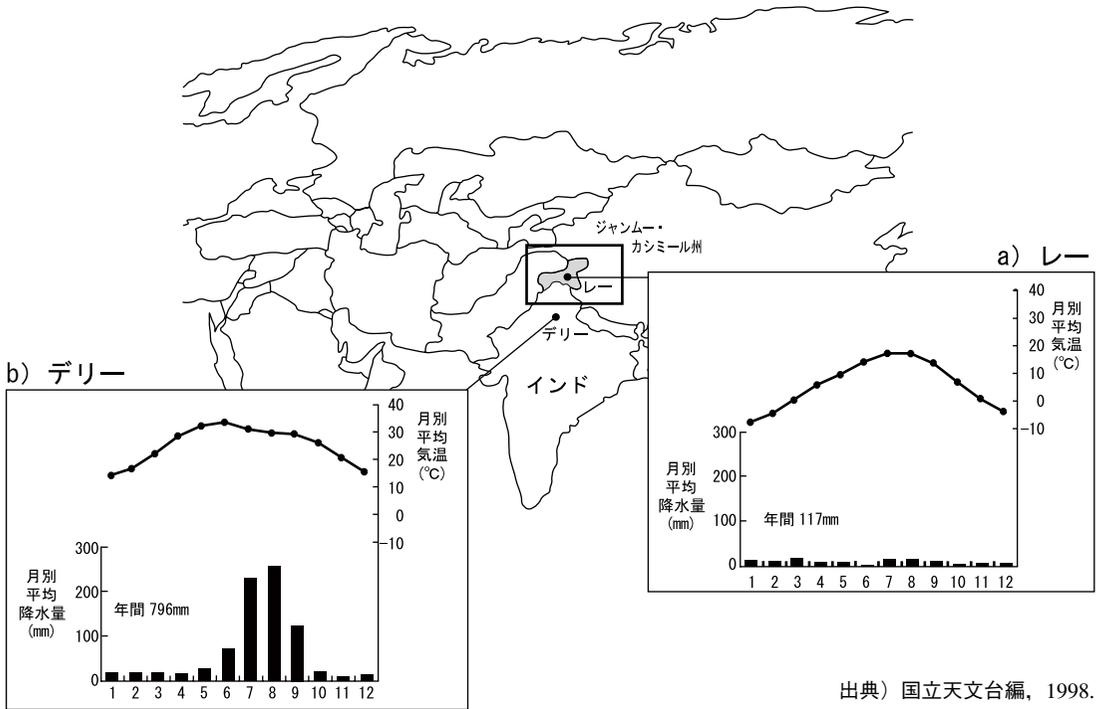


図1 インド北部のジャンムー・カシミール州ラダーク管区レー市の位置と気象環境



写真2 調査した村が位置している氷河谷の景観。狭い谷底に農耕地や居住地が展開する。谷を流れる融雪水・融氷水を利用して、灌漑農業をおこない、人間・家畜の飲用水としている。

ラダーク語を使用する仏教徒である。本稿では、ラダキーの人びとの乳加工体系を紹介する。

調査した村では、村が氷河谷沿いに展開し、人びとは季節的に上下移動して狭い谷地を最大限に利用し、谷を走る雪解け水を利用して生活

している（写真2）。移牧民の特徴は、季節的に高度差移動し、冬には必ず戻ってくる村があり、屋敷の周辺には農作物を栽培するという半農半牧を生業としていることにある。調査したラダキー移牧民の世帯では、ヤクとウシとを交雑させたゾ（牡）・ゾモ（牝）、ウシやヒツジ・ヤギを数頭飼養し、屋敷脇や耕作地でオオムギや野菜などを栽培している。

2. ラダークの乳加工体系

現在、ラダークでは搾乳をしているのは、牝ヤク、ゾモとウシからのみである。ヒツジ・ヤギからは、頭数減少と青年の村外流出などにより、搾乳を約20年ほど前から停止している。

生乳をオマ *oma* と呼ぶ。生乳は乳茶に利用され、砂糖を入れて甘くして飲まれる。甘い乳茶はインドの影響を受けて、ラダークでも利用されはじめたものである。伝統的には、ラダキー

の人びとは、チベットの人びとと同様に塩バター茶を利用してきた(写真3)。今日のラダークでは、塩味のバター茶とともに、この甘い乳茶が頻繁に利用されている。生乳は毎日の生活の中で確かに乳茶として利用されているが、生乳の大部分は乳加工に用いられている。

ラダークでおこなわれている乳加工は、発酵乳系列群の乳加工技術、および、発酵乳系列群から発達したクリーム分離系列群の乳加工技術



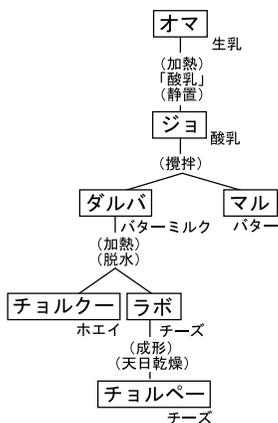
写真3 オオムギの炒り粉であるンガン・ペイと塩バター茶。ラダークの人びとの基本となる食。

を用いている(図2)。以下でみるように、ラダキーの人びとが採用している乳加工技術は極めてシンプルではあるが、しっかりと乳脂肪と乳タンパク質の分画を成し遂げている。乳製品は貴重な栄養源となっている。

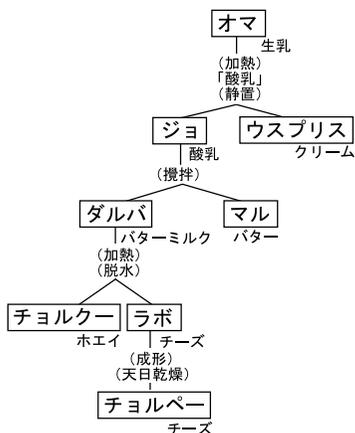
2-1. 発酵乳系列群

発酵乳系列群とは、生乳をまず酸乳にしてから乳加工が展開する技術群のことである。搾乳した生乳は、布などを通してゴミを先ず濾し取る。その後すぐに加熱殺菌する。放置し、人肌くらいまで温度が下がったならば、前日の残りの酸乳、もしくは、酸乳化したバターミルクを加える。この乳酸発酵のためのスターターをタッティ tati と呼ぶ。スターターを加えた生乳を暖かい場所で数時間静置すれば酸乳となる。一晩静置する場合もある。たいていは静置する場合、保温のために全体を布で覆っておく。ここで生成した酸乳をジョ zho と呼ぶ。酸乳は、大麦を炒ってから粉にしたンガン・ペイ(写真3)、コムギ粉でつくった薄焼きパンのチャパティ、米などと共に食し、毎日の食事に供している。ンガン・ペイは、チベットでは広くツァンパと呼ばれている大麦炒粉である。

1) 発酵乳系列群



2) クリーム分離系列群



□ : 生産物 「 」 : 添加物 () : 処理

図2 ラダーク移牧民の乳加工体系

酸乳は更に、攪拌によってバターへと加工する。攪拌は木桶と回転式攪拌棒とを用いて、柱に回転式攪拌棒を1ヶ所紐で縛り付けて固定し、その紐の直ぐ下に別の紐を回転式攪拌棒にからませて、紐を両手で互い違いに加工者に向かって引くことにより攪拌棒を回転させる(写真4-1)。木桶はゼムス dzemus, 回転式攪拌棒はジョンガ shnyongga などと呼ばれている。木桶の大きさは、高さ約40cm, 直径約35cmで、木桶は17枚ほどの板を張り合わせて



1) 木桶と回転棒



2) 壺と回転棒



3) 皮袋

写真4 ラダークにみられる3種類のバター加工用のチャージング器

円筒状に作られている。回転式攪拌棒は、長さ約70cmで、先端に幅約10cm、長さ20cmの羽根が7つほど円盤状に付いている。現在では用いられていないが、攪拌のために素焼きの壺と回転式攪拌棒とを用いていたという(写真4-2)。攪拌は当初、壺と回転式攪拌棒によりおこなわれていたのが、壺が木桶にとって代っていったことが推測される。また、チベットとブロクバの人びとでは、ヒツジやヤギの革袋を用いて酸乳を振盪してバターを加工している(写真4-3)。攪拌は午後もしくは早朝におこなわれ、2時間～3時間ほどで固形状のバター粒と液状のバターミルクとが分かれてくる。攪拌過程の後半には、冷水を注ぎ、温度を下げてバター粒の形成を促す。バターはマルmar、バターミルクはダルバdarbaと呼ばれる。バター粒が十分に形成し、攪拌が終了したならば、手でバター粒を掬い取る。バター粒を分離したら、バター粒を冷水の中で揉んで洗浄してから、円形の塊に成形する(写真5)。加塩することはない。数日間、そのまま静置して乾燥を促してから、ポプラの樹皮で包み込んだりヒツジの胃袋に詰め込んだりして、土の中に埋めて冬用に保存する。1年は保存が効くという。現在では冷蔵庫が保存用に用いられている。

バターは塩バター茶に多用され、一日に何度も飲用される。紅茶、バター、塩のお茶が旨いのかと思えるが、最初は抵抗感があるものの、飲み慣れてくると旨く感じてくるから不思議だ。標高3000mの高地地帯、酸素濃度は低地の半分ほどとなり、少し坂道を上り下りするだけで息が切れ、汗が流れ落ち、疲れてしまう。一日に何度も塩バター茶を飲むと身体に悪いのではないかと思われるが、標高3000mの高原地帯では、逆に塩分と脂肪の貴重な供給源と



写真5 酸乳を攪拌して、マルと呼ばれるバターを得る。冷涼なラダークでは、バターは水洗するだけで、ポプラの樹皮で包んだりヒツジの胃袋に入れておけば長期に保存が可能であるという。バターは、ラダークの人びとにとって貴重な栄養源となる。

なっている。塩バター茶は、家畜と共に高地地帯に生活する人びとにとって正に適した飲物なのである。塩バター茶を飲む際、たいていはンガン・ペイと共に供される。また、チャパティと一緒に供されることも多い。バターこそは、ラダークの人びとにとって極めて重要な乳製品となっている。

ブロクパとバルティーの人びとは、バターを加熱することによりバターオイルへも加工しているが、ラダキーの人びとはバターオイルへと加工することはなく、バターを乳脂肪分画の最終形態としている。

一方、バターを集めた後に残るバターミルクは、飲用すると共に、チーズづくりに利用する。攪拌終了後、直ぐに加熱沸騰する。加熱沸騰後、火から外してバターミルクの温度が冷めるまで1時間～2時間ほど放置する。そして、布に注いで、凝固した乳タンパク質を液体のホエイから分離する。この凝固物はラボlapoと呼ばれる。このチーズを、手で小さく砕いたり、細長い紐状などに成形して、天日で乾燥させる。この天日乾燥したチーズがチョルペ chhurphe である(写真6)。ツァンパなどに混ぜて日常の食事に供すると共に、革やナイロンの袋に入れて冬期



写真6 バターミルクのダルバを、加熱・凝固、脱水し、手で細長い紐状に成形して、天日で乾燥させ、チーズのチョルペを加工する。チョルペは冬期の貴重なタンパク源となる。

まで大切に保存する。食料が不足しがちな冬期には、貴重なタンパク質の供給源となる。トゥクパ thukpa と呼ばれる麺料理にチョルペを加えると、歯ごたえが肉のようであり、なかなか旨い。一方、ホエイはチュルク chhurku と呼ばれる。人が飲むことはなく、捨てるか家畜に与え、更に加工することは決してない。

2-2. クリーム分離系列群

クリーム分離系列群とは、生乳からまずクリームを分離してから乳加工が展開する技術群のことである。ゴミを濾しとって加熱殺菌した生乳に、乳酸発酵のためのスターターを添加し、酸乳とするために数時間静置する。静置する間に、比重の小さい乳脂肪はどうしても表面に浮上してしまう。ラダキーの人びとは、この表面に浮上した乳脂肪を掬い取ることがある。この乳脂肪、つまり、クリームをウスプリス uspuris と呼ぶ。クリームのウスプリスを分離しているのは、ブロクパとラダキーの人びとのみである。クリームは、ンガン・ペイと混ぜて食したり、コラック kholag と呼ばれる料理に用いたりする程度で、バターやバターオイルへと更に加工することはない。

クリームを掬い取った後に残った酸乳をジョ zho と呼ぶ。このジョからの乳加工は、発酵乳系列群と全く同じ工程を経る。つまり、酸乳を攪拌し、バターとバターミルクへとする。バターミルクは加熱・脱水してチーズを加工する。いずれの語彙も、発酵乳系列群で生成される乳製品と全く同じである。

3. ラダークでの乳加工技術の発達： 発酵乳系列群からクリーム分離系列群へ

ここで、ラダークにおける乳加工体系の変遷について考察してみたい。梅棹が提唱した体系として捉える視点(梅棹, 1955)、中尾モデルによる系列群分析(中尾, 1972)により、どこ

まで解析ができるだろうか。

ラダークの乳加工体系において、発酵乳系列群とクリーム分離系列群とが共存している。しかし、クリーム分離系列群の乳加工技術といっても、その内実は、最初にクリームを分離しているだけで、酸乳からのバターオイルやチーズへの加工、および、乳製品の語彙は発酵乳系列群の乳加工技術と全く同一である。これらの乳加工技術と語彙の共通性から、発酵乳系列群からクリーム分離系列群へと乳加工技術が発展していったことが明らかである。つまり、最初に発酵乳系列群の乳加工技術がラダークに普及する。乳酸発酵のために生乳を静置する間に、クリームが浮上する。そのクリームを分離せずに酸乳と一緒に加工しているのが発酵乳系列群であり、クリームを分離してしまったのがクリーム分離系列群の乳加工系列群となったと考えられるのである。従って、クリームを分離した後の乳製品の語彙が、発酵乳系列群の語彙と全く同一になっているのである。クリームを分離するものの、クリームから乳加工が展開していないことも、クリームを分離する技術が新しいことを物語っている。同様な発酵乳系列群からクリーム分離系列群への乳加工技術の発達は、青藏高原、コーカサス、西アジアにおいても確認されている（平田，2004a；2008a；2009a）。

発酵乳系列群からクリーム分離系列群の乳加工技術に発展していったのは、ラダークが冷涼な生態環境に位置しているからこそである。ラダークは夏でも月平均気温が約20℃と比較的低温である。酸乳をつくらうとしても、温度が低いために乳酸発酵の進行が遅く、酸乳となって全体かゲル状に固まる前にクリームが浮上・分離してしまう。デリーのような夏の月平均気温が30℃を越すような生態環境（図1）では、乳酸発酵の進行が早く、数時間でゲル状の酸乳となり、クリームの浮上・分離は起り難い。ラダークは、標高約3000mという高地に位置し、

生態環境が冷涼であったからこそ、発酵乳系列群からクリーム分離系列群の乳加工技術へと発展できたものと考えられる。

ラダークの乳加工技術は、もともとは発酵乳系列群の乳加工技術のみが普及していた。それが、ラダーク高地という冷涼性な生態環境において発酵乳系列群からクリーム分離系列群へと独自に発達していったものと考えられるのである。

4. ラダークの乳加工体系に影響を及ぼした集団

ここでラダークの乳加工体系に影響を及ぼした民族集団について検討してみよう。ただし、以下の検討では、1) 紀元前8000年頃にはヒツジ・ヤギが西アジアで家畜化され、紀元前7000年頃には乳利用の開始が西アジアにおいておこなわれていたという考古学的知見（三宅，1999；Evershed et al., 2008；マルジャン・西秋，2008）、2) チベットにおける乳加工・利用と牧畜の成立は周辺地域に比べて相対的に遅く（松原，1988）、周辺地域からの影響を受けて開始されたとする見解、3) 牧畜および乳利用開始の起原地は西アジアの一元説とし、乳利用は西アジアから周辺に伝播していった（平田，2008b）とする仮定を前提条件としている。

ラダークにおける乳加工体系の土台は、発酵乳系列群の乳加工技術であったことは既に指摘した。つまり、酸乳を攪拌/振盪してバターを加工し、バターを加熱してバターオイルにすると共に、バターミルクを加熱・脱水してチーズへと加工する乳加工技術である。この発酵乳系列群の乳加工技術は、西アジア、南アジア、青藏高原、および、中央アジアの低地地域に主に採用されている。南アジア、青藏高原、中央アジア低地地域の発酵乳系列群の乳加工技術が西アジアからの伝播であるとするならば（平田，2002；2004b；2005）、ラダークにおける発

酵乳系列群は西アジアからの影響を受けた技術であると考えられる(図3-a)。更に、酸乳の攪拌/振盪によるバター加工に関する器具については、西アジアでは革袋、南アジアでは壺と回転式攪拌棒、中央アジアでは桶と攪拌棒が用いられている。ラダークのバター加工では、木桶と回転式攪拌棒、もしくは、革袋の2つの方式が採用されている。かつては、壺と回転式攪拌棒が使われていた。つまり、ラダーク地区でのバター加工器具は、西アジアの革袋(平田, 2011a)(図3-a)、南アジアの壺と回転式攪拌棒(平田, 2011b)(図3-b)、中央アジアの木桶(平田, 2011c)(図3-c)と共通しており、これらの地域から攪拌/振盪用の器具がラダークに伝播してきたことが理解される。従って、ラダークにおける発酵乳系列群の乳加工技術は、西アジア型の発酵乳系列群の乳加工技術を土台とし

ながら、攪拌/振盪器具にみられるように南アジアや中央アジアの影響を一部に重層的に受け成り立ってきたと考えられる。

一方、ラダークには凝固剤使用系列群の乳加工技術が浸透していない。ラダークの周辺地域、つまり、西アジア、南アジア、中央アジアでは反芻動物の第四胃、酸乳、植物有機酸など何らかの凝固剤が乳加工に利用されているが、ラダークでは欠落している。凝固剤使用系列群の乳加工技術がラダークに伝播しなかった理由については十分に分析が進んでおらず、今後の課題である。

なお、ここでは紙面の都合上、西アジア、南アジア、中央アジアの乳加工体系については説明しなかったが、詳しくはこれまでに紹介した本シリーズを参照されたい。



図3 ラダック地区への乳文化の伝播

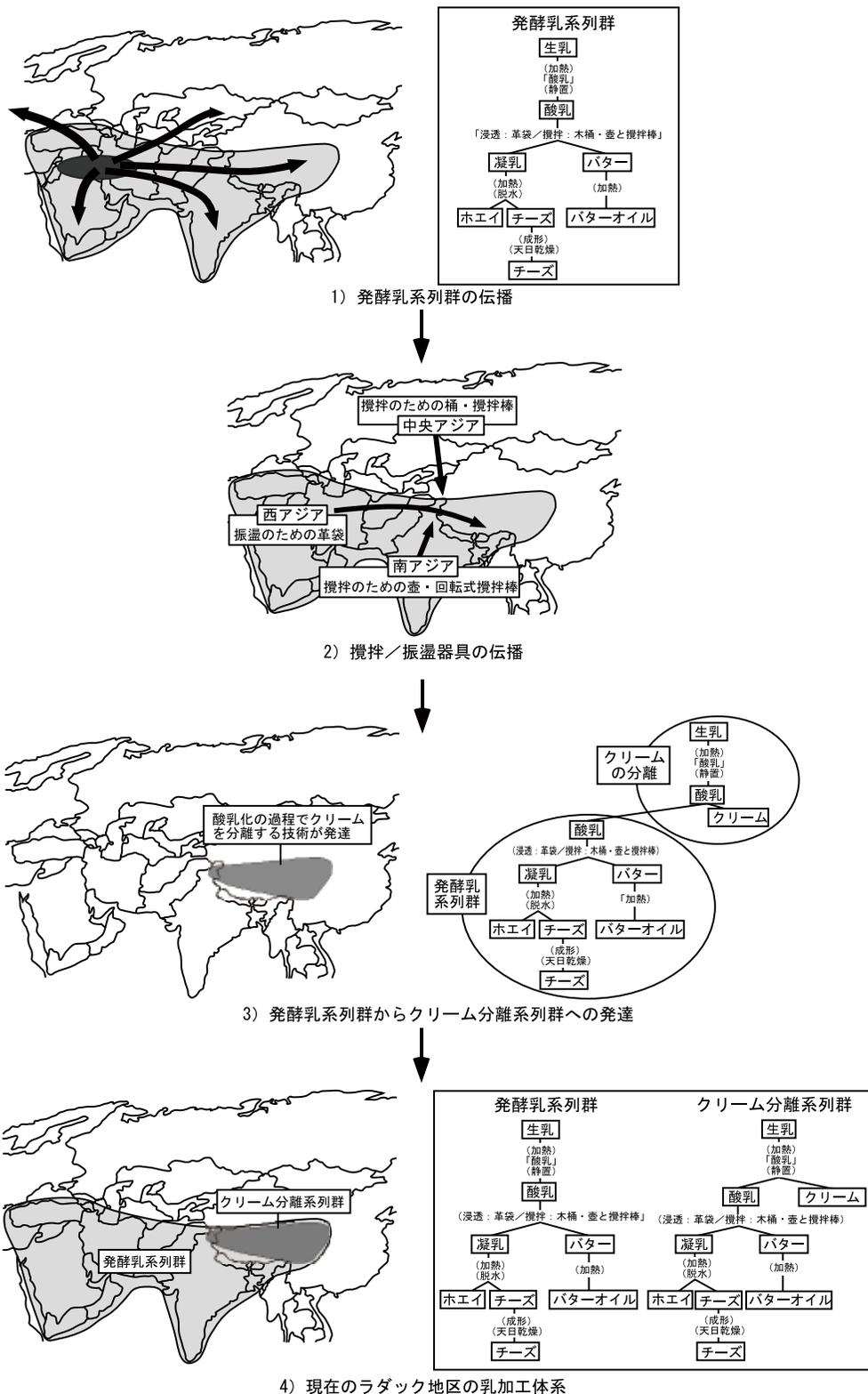


図4 ラダック地区における乳加工体系の発達過程

5. ラダーク地区の乳加工体系の発達過程

最後に、これまでの乳加工技術の変遷論と周辺からの乳文化の伝播論とを総合し、ラダークの乳加工体系の発達過程を時間軸に従って整理しておきたい。

西アジアで牧畜および乳利用が開始した可能性が高いことは既に指摘した。その西アジアで酸乳から乳脂肪と乳タンパク質の分画・保存が可能となる乳加工技術が発達し、現在みられるような西アジア型の発酵乳系列群へと成熟する。つまり、生乳の酸乳化、酸乳の振盪によるバター加工、バターの加熱によるバターオイル加工、バターミルクの加熱・脱水によるチーズ加工という一連の技術である。この西アジア型の発酵乳系列群の乳加工技術が西アジアからラ

ダークや青蔵高原へと伝播する(図4-1)。また、バター加工のための器具が、西アジアからは革袋が、南アジアからは壺・回転式攪拌棒が、北アジアからは桶(と攪拌棒)がラダークに伝わった(図4-2)。その後、ラダークや青蔵高原では高地地帯ゆえの冷涼な生態環境の下、酸乳化の過程でクリームを分離する技術が独自に発達する(図4-3)。これらの技術伝播と冷涼性ゆえの発達とにより、ラダークで現在みられるような発酵乳系列群とクリーム分離系列群が共存する乳加工技術へとなっていったとラダークの乳加工体系の発達史を再構成することができる(図4-4)。

ラダークの乳加工体系はシンプルではあるが、文化の重層性と変遷の歴史とを刻んでおり、大変に興味深い。



標高 3000m の天空の村々ラダーク。素朴な生活の中に笑顔が溢れる。

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

- 1) 梅棹忠夫, 1955. 「モンゴルの乳製品とその製造法—乳をめぐるモンゴルの生態 (III)」ユーラシア学会編『内陸アジアの研究—ヘディン博士記念号 (ユーラシア学会研究報告)』**3**: 217-296.
- 2) 国立天文台編, 1998. 『理科年表 平成 10 年版』丸善.
- 3) 中尾佐助, 1972. 『料理の起源』日本放送出版協会.
- 4) 平田昌弘, 2002. 「中央アジアの乳加工体系—カザフ系牧畜民の事例を通して—」『民族学研究』**67**(2): 158-182.
- 5) 平田昌弘, 2004a. 「青蔵高原西部におけるチベット牧畜民の乳加工体系」『言語文化学会論集』**22**: 159-176.
- 6) 平田昌弘, 2004b. 「青蔵高原東部における乳加工体系の変遷」『エコソフィア』**14**: 81-100.
- 7) 平田昌弘, 2005. 「インド西部の乳加工体系」『沙漠研究』**15**(2): 65-77.
- 8) 平田昌弘, 2008a. 「発酵乳系列群からクリーム分離系列群へ発達史論—シリアの半農半牧民の事例から—」『沙漠研究』**18**(2): 57-65.
- 9) 平田昌弘, 2008b. 「アジア大陸における乳文化圏と発酵乳加工発達史」石毛直道編著『世界の発酵乳』はる書房社, 174-197 頁.
- 10) 平田昌弘, 2009a. 「コーカサスにおける乳加工体系—グルジア・アルメニアの農牧民の事例を通して—」『Milk Science』**58**(1): 1-14.
- 11) 平田昌弘, 2009b. 「インド北部ラダック地区の乳加工体系」『ヒマラヤ学誌』**10**: 73-85.
- 12) 平田昌弘, 2011a. 「ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品 第 2 回 西アジア—シリアの牧畜民の事例」『New Food Industry』**53**(2): 59-67.
- 13) 平田昌弘, 2011b. 「ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品 第 5 回 南アジア—インドの牧畜民の事例」『New Food Industry』**53**(5): 75-81.
- 14) 平田昌弘, 2011c. 「ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品 第 9 回 中央アジア—カザフスタンの事例」『New Food Industry』**53**(9): 71-82.
- 15) 松原正毅, 1988. 『青蔵紀行—揚子江源流域をゆく』中央公論社.
- 16) マルジャン マシユクトール・ジャン＝ドニ ヴィーニュ, 西秋良宏, 2008. 「西アジアにおける動物の家畜化とその発展」西秋良宏編『遺丘と女神—メソポタミア原始農村の黎明』東京大学出版会, 80-93 頁.
- 17) 三宅裕, 1999. 「The Walking Account: 歩く預金口座—西アジアにおける家畜と乳製品の開発」常木晃編『食糧生産社会の考古学』朝倉書店, 50-71 頁.
- 18) Evershed, R.P, S. Payne, A.G. Sherratt, M.S. Copley, J. Coolidge, D. Urem-Kotsu, K. Kotsakis, M. Özdoğan, A.E., Özdoğan, O. Nieuwenhuysse, P.M.M.G. Akkermans, D. Bailey, R. Andeescu, S. Campbell, S. Farid, I. Hodder, N. Yalman, M. Özbaşaran, E. Biçakci, Y. Garfinkel, T. Levayand, and M.M. Burton, 2008. Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature*, **455**: 528-1481.

注) 本稿は, 2009 年に『ヒマラヤ学誌』に発表した「インド北部ラダック地区の乳加工体系」をもとに大幅に書き改めたものである。

業界を変えた 驚くべきヒット食品

— 「じゃがりこ」 カルビー株式会社 —

田形 暁作*

*TAGATAYoshinari (TAGATA食品企画・開発)

Key Words：じゃがりこ・ヒット商品・商品開発・ブランド化・マーケティング戦略

はじめに

1995年(平成7年)にカルビー株式会社から「じゃがりこサラダ」「じゃがりこチーズ」が発売された。ふかしたじゃがいもをフライする独自の製法で、カリカリした食感とじゃがいもの味がしっかりしたユニークな商品であ

る。また、特記すべきはカップ入りスナック菓子の草分けである。今年が発売から16年目になるが、現在のベーシックライン商品はサラダ、チーズ、じゃがバターの3品である。表1に2010年3月～2011年2月の1年間におけるスナック市場のPOSデータを示した。スナッ

表1 スナック市場 POSデータ (10年3月～11年2月)

順位	企業名	商品名	金額合計 (万円)	金額 シェア	平均 売価
● 1	カルビー	カルビー じゃがりこサラダ 60g	10,751	3.88	105
2	カルビー	カルビー ポテトチップスうすしお味 60g	8,943	3.24	87
3	カルビー	カルビー ポテトチップスコンソメパンチ 60g	6,687	2.43	86
4	カルビー	Jagabee うす塩味5パック 18g×5	6,119	2.21	252
5	カルビー	カルビー かっぱえびせん 袋 90g	5,665	2.06	93
6	ヤマザキナビスコ	ナビスコ チップスターS うすしお 50g	4,964	1.80	89
7	ハウス食品	ハウス とんがりコーンあっさり塩 75g	4,244	1.54	127
8	湖池屋	湖池屋 ポテトチップスのり塩 Mサイズ 袋 60g	3,621	1.30	84
9	湖池屋	湖池屋 ポテトチップスうすしお味 Mサイズ 70g	3,517	1.28	83
10	カルビー	カルビー 堅あげポテトうすしお味 袋 70g	3,258	1.18	128
11	ハウス食品	ハウス とんがりコーン焼とうもろこし 75g	3,184	1.15	129
12	湖池屋	湖池屋 ポテトチップスリッチコンソメ M 60g	3,158	1.14	83
13	東ハト	東ハト キャラメルコーン 袋 91g	3,114	1.13	95
14	カルビー	カルビー ビッグバッグうすしお味 170g	3,022	1.09	231
15	カルビー	カルビー ビザポテト 70g	2,902	1.05	131
16	ヤマザキナビスコ	ナビスコ チップスターL うすしお 115g	2,790	1.01	187
● 17	カルビー	カルビー じゃがりこチーズ 58g	2,588	0.94	108
18	カルビー	カルビー サッポロポテトバーベQあじ 85g	2,474	0.89	97
19	カルビー	カルビー Jagabee うす塩味 40g	2,470	0.89	112
20	カルビー	カルビー サッポロポテトつづつぶベジタブル 85g	2,467	0.89	97
計				31.10	

出所：日本食糧新聞

ク市場におけるブランドシェア1位はカルビーの「じゃがりこサラダ」であり、金額シェアは3.88%である。ちなみに、「じゃがりこチーズ」のブランドシェア順位は17位であり、シェアは0.94%である。合わせて4.82%である。カルビーのポテトチップス20位までに5品あり、2位のうすしお味シェア3.24%、3位のコンソメパンチ2.43%、10位の堅あげポテとうすしお味1.18%、14位のビッグパックうすしお味1.09%と15位のピザポテト1.05%である。合わせて8.99%である。カルビーポテトチップスは1975年に“うすしお味”を発売し、翌年の1976年に“のりしお”，78年に“コンソメパンチ”を発売し、ポテトチップスの市場を構築し、磐石のものとした。カルビー「じゃがりこ」はカルビーポテトチップスには金額シェアでは未だ追いついてはいないが、スナック菓子市場にカップ入りスナックという新たな市場を構築したことはスナック業界を変えた商品といっても過言ではない。事実、カルビー社内でもカップ入りスナックとして“Jagabee”を追加発売した。

カルビー以外の会社では明治製菓が2010年6月に“ザ・コーン バター味とカレー味”。

2011年3月に“コンソメ味”を発売した。また、株式会社おやつカンパニーが“おやつコロックのポテトコロック味とカレー味”を2011年1月に近畿，東海，北陸で2月に関東，甲信越で発売した。また，江崎グリコはカップではないが同じ発想で紙箱に入れたポテトスナック“かるじゃが”を発売した。カップ入り，紙箱入りなど容器入りのスナック菓子は今後も参入企業が増えてくると予想される。

1. スナック菓子の市場状況と消費者状況

スナック菓子市場は1964年カルビーの“かっぱびせん”が発売され，時流に乗り，爆発的に売れた。その後，各社がポテト，とうもろこし，小麦粉を原料としたスナック菓子を発売し，市場は拡大し現在に至っている。図1に家計調査年報から，スナック菓子の購入金額推移を示した。スナック菓子，ビスケットとも大きな変化は無く，安定した購入状況が継続している。一方，チョコレートは1998年頃から増加傾向にある。この原因として，チョコレートに含まれる抗酸化ポリフェノールが動脈硬化予防，コレ

ステロール低下，ガン発生予防などの健康パワーが話題になっていることが影響しているのではないかと推察している。表2には1世帯あたりの年間支出金額状況（2人以上世帯，2009年度）を示した。スナック菓子は29歳以下～49歳までの世帯が50歳以上世帯より多く食されている。30歳～49歳の世帯がメインターゲット世帯である。この家庭の子供年齢が概ね5歳～24歳であり，スナック菓子子供たち，あるいは親子で



サラダ

にんじんとパセリを練りこみ，素材そのままの美味しさが味わえるあっさりサラダ味。

チーズ

チェダー&カマンベールのつぶつぶチーズ！口あたりのよいチーズ味が広がり，じゃがいもの風味を引き立てます。
* オレンジと白のつぶつぶが見た目にも楽しいです。

じゃがバター

蒸かしたじゃがいものにバターをのせた『じゃがバター』の味を再現。じゃがいもの風味とコクのあるバターがマッチした味わい。
* 北海道バター使用

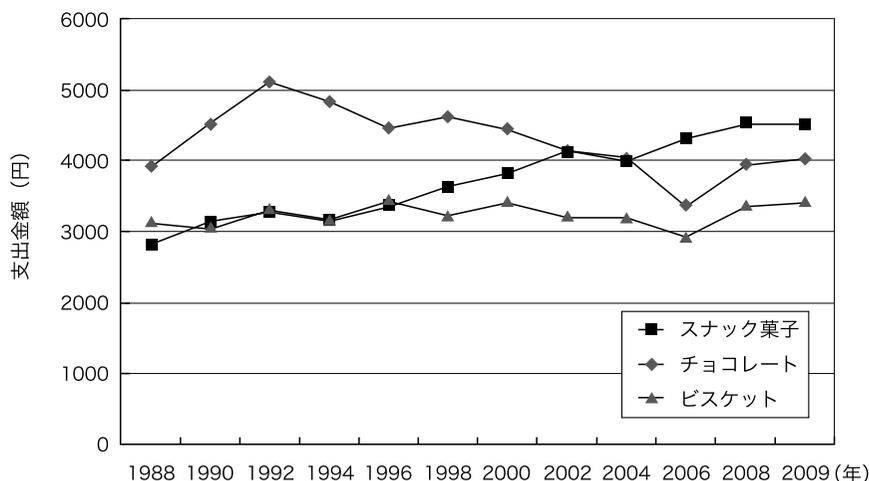


図1 スナック菓子、チョコレート、ビスケットの1世帯年間あたりの支出金額トレンド (2人以上世帯)

出所：家計調査年報 平成21年

表2 スナック菓子、チョコレート、ビスケットの1世帯あたりの年間支出金額状況 (2人以上世帯, 2009年度) (円/年)

年齢別	スナック菓子		チョコレート		ビスケット	
2人以上世帯平均	4,026	100%	4,507	100%	3,408	100%
～29歳	5,066	126%	3,870	86%	2,667	78%
30～39歳	6,741	167%	5,138	114%	3,450	101%
40～49歳	6,812	169%	6,227	138%	4,352	128%
50～59歳	3,870	96%	5,026	112%	3,636	107%
60～69歳	2,159	54%	3,549	79%	3,066	90%
70歳～	1,648	41%	3,026	67%	2,709	79%

出所：家計調査年報 平成21年度

好んで食す世帯と考えられる。一方、チョコレート、ビスケットは30歳～59歳世帯が29歳以下、60歳以上世帯より多く食されており、スナック菓子より高齢者が食する傾向がある。

2. 「じゃがりこ」の商品開発の背景

1992年、カルビーでは中期5ヶ年計画が策定された。その1本目の柱として「商品政策/事業開発」が掲げられた。カルビーは「かっぱえびせん」でスナック市場に参入し、「ポテトチップス」で事業を拡大していった。「ポテトチップス」の成功要因の1つとして、「原料馬鈴薯へのこだわり」が挙げられる。また当時、スナック菓子といえば袋タイプのものが

殆どであった。この強みでもある「原料馬鈴薯のこだわり」と「脱・袋菓子」の思いを抱き、①新技術・新製法 ②屋外消費型容器の開発をテーマに開発をスタートした。開発を行うに当たり、5名のチームが編成された。当時、5名のうち2名が31歳、のこり3名が24歳と非常に若いチーム編成でのスタートであった。ちょうど社内ではプロダクトアウトからマーケットインへの発想の転換時期であった。

3. 「じゃがりこ」の商品コンセプト作り

「スナック菓子に求めるものは何だろう？」とマーケティング部門を巻き込み、話し合い、そこから出てきたのが、次の開発コンセプトで

ある。

開発コンセプト

- 「いつでもどこでも」⇒携帯に便利な容器（箱）
- 「みんなで楽しく」⇒心地よい食感で楽しんでもらう
- 「おいしいものを」⇒生の馬鈴薯と野菜、チーズを使用
- 「手を汚さずに」⇒スティックタイプで素材を練りこんで味付け

開発コンセプトは固めたので、次のステップはターゲットを誰にするかだ。

ターゲットは誰にするか

ターゲットを誰にするかは具体的な商品づくり、広告宣伝などの企画づくりにおいて非常に重要である。従って、あえて「ターゲットは誰にするかについて」考えた。

「屋外消費型容器」開発とは、袋菓子中心では、社内競合するという社内事情があった。そこで容器は、「プリッツ」や「ポッキー」に習って、携帯に便利な箱タイプにすることにした。「誰に持ち運んでもらおうか」と考えたとき、当時、世間を賑わしていたのが女子高生であった。ルーズソックスをはじめ、彼女たちの行動はメディアでも大きくとりあげられ、全世代に影響を与える存在であった。「そんな女子高生たちに気に入ってもらい、全世代に発信してもらおう」と目論見、ターゲットは女子高生に設定した。女子高生をターゲットに開発コンセプトを目標に開発・調査を繰り返したが、そう簡単には納得いくものができなかった。試作当初は、今よりもっと堅い食感で、「堅すぎてこれでは売れない」と社内でも散々な評価であった。というのも、スナックといえば「かっぱえびせん」のように軽いサクサクとした食感であった。「日本にはせんべいの文化がある！」とあきらめずに、「堅くても心地よい食感」になるように、粘り強く開発を行った。そして、

ハードな堅さを克服し、開発から2年後、じゃがりこの前身「じゃがスティック」をコンビニエンスストアでテスト販売をした。

商品ブラッシュアップ（よりお客様に満足してもらえる改良）

「じゃがスティック」のテスト販売結果はまずまずであったが、ハガキアンケートやお客様の声をもとに、更なる改良が必要と判断し、次の改良を行った。

①箱入りからカップ入りに変更

- ・お客様が「じゃがスティック」を食べる時、外箱をむいて、中の包装を開けなければならない。この2度の手間を省く必要がある。
- ・世間ではアウトドアブームで出かける機会が多くなっている。
- ・F1 ブームで、自動車に対する関心が高いことから、車のカップホルダーに入るものがよい。

以上のことから、フタを1回開けるだけで食べられて、車のホルダーにも入るカップへ変更することにした。

②スティック形状変更：四角柱から円柱に

- ・「じゃがスティック」の中身形状は四角柱であった。この四つの角が、まだ堅くて心地よくない事がわかった。この問題を解決すべく、円柱にすることにした。

③スティック長さ変更：一口サイズに

- ・「じゃがスティック」は「じゃがりこ」の約2倍の長さであった。長いと一口では食べられず、ボロボロこぼすので、一口サイズとして、長さを短くすることにした。

以上のことから商品コンセプトは以下のようにした。

商品コンセプト

- ◎容器は女子高生がカバンに入れて持ち歩ける携帯タイプ。
- ◎商品数は店頭の棚取りから2品と決め、味の種類は①サラダ、②チーズ。

◎食感はカリカリし、味はじゃがいもの味がしっかりする。

◎中身がこわれないためにカップ入り。

商品改良をさらに行い「じゃがりこ」として新潟県でエリア発売し、たくさんのお客様の支持を得て成功事例になり、全国展開することになった。

4. 『新商品開発の5P』について

新商品を開発し、その商品がお客様の手元に届くために、筆者は図2の新商品開発5Pをチェック用に使用している。先ず第一に「Product」ありきである。「Product」には商品コンセプト、商品仕様、ネーミングなどを決定しなければならない。第二は「Package」である。包装仕様、デザインなどを決定しなければならない。第三は「Price」である。「Price」は販売、事業化に最も重要と考えている。第四は「Place」である。『Target』のお客様に届けるにはどのチャンネルが良いのか。量販店なのか、CVSなのか、専門店なのか、ドラッグなのか、それとも通販なのか。色々なチャンネルが出てきているので選択と集中が必要になる。第五は「Promotion」である。店頭プロモーション、媒

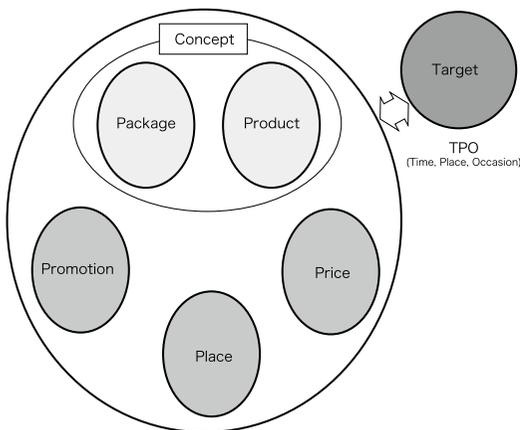


図2 商品開発5P；開発品はユーザーの手元に届く仕組みになっているか

体プロモーションなど費用がかかるので効果的なメディアミックスが重要である。

最後に5Pではないが、『Target』がある。全ての5Pは『Target』を明確にした後のことである。「Product」は『Target』が明確にならないと決まらないはずである。技術先行型の新商品は兎角『Target』を忘れて技術開発に自己満足する傾向がある。顧客あっての新商品であることは最重要である。

5. 「じゃがりこ」の新商品開発とマーケティング・販売を5Pにのっとり紹介

では「Target」から順次説明していく。

『Target』は女子高生のスナック菓子。

「Product」の商品コンセプトは次のとおりである。

◎容器は女子高生がカバンに入れて持ち歩けるカップ入り。

◎商品数は店頭の棚取りから2品と決め、味の種類は①サラダ：にんじんとパセリを練りこみ、素材そのままの美味しさが味わえるあっさりサラダ味。②チーズ：チェダー＆カマンベールのつぶつぶチーズ。口あたりの良いチーズ味が広がり、じゃがいもの風味を引き立てる味。

「Package」に今までのスナック菓子になかった“カップ入り”を採用したことは画期的である。この背景は「じゃがりこ」は“女子高生をターゲットに考え、カバンに入れ持ち歩ける。袋菓子ではないお菓子を作ろう”ということからスタート。そういった時に目にしたのがファーストフードなどでおなじみの“飲料の容器（カップ）”であった。この容器に着目し、調査や改良を重ね、じゃがりこのカップができあがった。また、ネーミングは新しくできたじゃがいものお菓子を、開発担当者の友人がおいしそうに食べている姿を見

て思いついたものである。その友人の名前はリカコ（利加子）さんだった。そこで・・・じゃがいもりかこ→じゃがりかこ→じゃがりこ！となったそうである。

「Package」についてパッケージの形状は袋から携帯に便利な箱型にすることは決めていた。その形状は「プリッツ」や「ポッキー」を参考にしていた。試作品ができ、コンビニエンスストアでのテスト販売後、お客様の声を解析した結果、箱型よりはカップ状がよいことが判明した。パッケージデザインについては①中身の写真から本物の具材（野菜やチーズ）がそのまま練り込まれていることがわかるものにこだわった。②野菜やチーズのイラストを添えて、使っている素材をアピールした。

「Price」についてコンビニエンスストア、スーパーマーケットにて消費者受容テストを実施して価格を決定した。

「Place」について「じゃがりこ」としてのテスト販売は新潟県エリアで、コンビニエンスストア、スーパーマーケットで実施した。この結果、お客様から支持を得たので全国展開することにした。

6. 「Promotion」について

①初期認知獲得

新潟県エリア発売の成功の要因は、CM投入による初期認知獲得と営業力による店頭フェイス獲得が挙げられる。CMの内容は、皆さんも記憶の片隅にあるであろう「じゃがりこ、じゃがりこ、じゃがりこ・・・」のCMだ。じゃがりこのベネフィットはなんといっても「心地よい食感」である。この食感をお客様に伝えることで「じゃがりこ」を認知してもらうことから生まれた非常にシンプルなCMである。他のCMに比べ、ただ無表情に食べるだけだったので、そのギャップが逆にインパクトとな

り、初期認知獲得に大きく貢献した。また、店頭フェイス獲得については、今でこそ、当たり前のように店頭活動をしている時代であるが、当時から店頭起点を掲げ、「営業力＝店頭実現力」として行ってきた。

袋菓子でない箱菓子への進出において、営業力を存分に発揮し、1店1店に新しいフェイスを獲得したことがお客様の早期購買へと繋がった。

7. お客様の声から商品の見直し

お客様相談室から取り寄せた生の声の中に、同じような不満の声が毎日寄せられることに気が付いた。それは「カップの上部が空いていて上げ底みたい」という声であった。（この声は毎月平均5件寄せられた）中身を少なくしている訳ではないが、カップにスティックをバラバラに充填していたので、お客様に届くまでの過程でスティックが振動して底に沈むことで、カップの上部に空間が生まれた。この問題を解決すべく技術革新を行った。2000年に整列充填の技術を取り入れ、カップサイズを小さくし、スティックを縦にさせる事で解決した。お客様の生の声を聴き、商品改良にこぎつけたよい事例である。

8. 成熟期におけるマーケティング

ブランドのライフサイクルにおいて成長期を終え、成熟期にさしかかる傾向が見え始めた。発売当初からじゃがりこサラダ、チーズの販売はほぼ同等であったが、2003年には、チーズはサラダの半分になった。その他のアイテムはチーズの更に半分という販売構成になった。この結果から、味の提案に限界が来ていると判断、じゃがりこブランドは成熟期に入ったことが確認でき、新たなイノベーションの必要性を感じ、

成熟期における中期商品戦略を立案する必要性が出てきた。

9. 中期商品戦略：成熟期における「価値を付加する」イノベーションの展開

- ①ブランド価値規定……改めてじゃがりこブランドの価値を規定する。
- ②製品ライン拡張……価値規定に基づき、ブランドラインナップ変更を行う。
- ③ロイヤルユーザー育成……情緒的（体験）価値訴求（モノ⇒コトへ）。

①ブランド価値規定

発売時からのメンバーも入れ替わる中で、「じゃがりこの価値って何だろう？」じゃがりことは？」など、幾度かのワークショップを重ね、改めて価値を規定することで全員で今後の方向性を共有した。ブランドとしてやっていい事と、いけない事をはっきりさせた。

②製品ラインの拡張

じゃがりこブランドは、サラダ・チーズ・じゃがバター・ジャーマンポテトの4品体制であった。2007年より4品目（ジャーマンポテト）のリポジショニングとして、季節ごとに新しい味の展開を行うことにした。シーズン品は、お客様から「いろいろな味を試したい」という要望に応えた。また、発売して10年余りがたち当初のターゲットである女子高生は20代に入ってきている。生活環境も変わり、既存では物足りないという方に、より価値のあるもので満足していただくため、じゃがりこの高付加価値品 Speciality の展開を行った。

③ロイヤルユーザーの育成

これからの時代はモノ⇒コトを訴求しないとお客様は購買行動しないといわれている。そんな中で、ロイヤルユーザー育成を目的としたコミュニケーションの柱に『楽しさ』をキーワードに展開していった。

・「キリン」キャラクターの活用

ここで「キリン」の意味について説明すると、発売以来パッケージに「キリン」を登場させ「食べだしたらキリンがない」と載せている。これはかっぱえびせんの「やめられない、とまらない」にあやかって、じゃがりこもかっぱえびせんのように多くのお客様に長く愛されるスナック菓子になりたいという思いからきている。お客様とのコミュニケーションとして、2007年シーズン品の展開から、パッケージに載っていた「キリン」にだじゃれで商品紹介をさせた。また、デザインバーコード（R）でも「キリン」を登場させ、楽しさを訴求し、2008年にはCMにも登場させた。

・Web コミュニケーション

ホームページも充実させ、新たな会員制ファンサイト「それいけ！じゃがり校」を立ち上げた。このサイトは、ユーザーからの書き込みもでき、一方的に情報発信するのではなく、双方向でコミュニケーションをとるのが目的である。また、じゃがりこをより愛してもらうためにユーザーと一緒に商品名、パッケージデザインを考え、試食を行って作りこみ、2009年には「じゃがりこカルボナーラ」を発売することができた。

おわりに

1995年に発売以来16年目になる。ブランドシェアは着実に増加し、スナック菓子市場にカップ入り市場を確立した。昨年6月に明治製菓株式会社（現株式会社明治）、今年初めに株式会社おやつカンパニーがカップ入りスナック菓子を発売し参入してきた。今後も参入企業は増えてくると予想される。その結果、市場は活発になるが、常に創業者メリットを生かし、既存品の改良と新商品の導入に注力しないといけない。また、カップ入りスナック菓子を柱とし、カップ入りの菓子の開発と位置づけた商品開発も必要になってくるのではないだろうか。



“薬膳”の知恵 (61)

Key Words : 薬膳 ■ 食養生 ■ 便秘 ■ 中国茶

荒 勝俊*

中医学において、便秘は①熱による便秘（実熱証便秘）、②気滞による便秘（気滞証便秘）、③虚証による便秘、④血虚証による便秘、⑤陽虚証による便秘、の5つに大きく分けられる。具体的には、熱による便秘は陽気が盛んで胃腸に熱が溜まる事で起こるもの、気滞による便秘はストレスや運動不足によるもの、虚証による便秘は過労や病後などの気血不足、陽虚による便秘は陽気不足による冷え（冷え証）から起こるものである。

中医学からみると、肺は大腸と表裏の関係にあり、脾胃は消化管として大腸とつながっており、更に腸管を循環している気・血・津液は腎臓に関連している事から、便秘は肺、脾胃、腎と密接に関係していると言われている。人体は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内の状態が変化し、便秘などの症状が現れる。即ち、人体を一つの有機的統一体と考え、便秘を引き起こす原因を人体の構成要素である

気・血・津液の状態を診断し、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、身体の内を整え、新陳代謝を改善する事で、健康な便の排泄が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、健康管理や病氣治療のために食材の持つ様々な機能を組み合わせで作った食養生》のことである。毎日の食生活に薬膳的思考を取り入れ、身体バランスを保つことで自然な排便を促す事が肝要と考える。



1. 便秘とは



“便秘”は、腸内の排泄物が長時間留まり、水分が過剰に吸収される事で排便困難を伴う状態を指す。通常、食事をすると食物は胃に運ばれ胃酸や消化酵素などによる消化を受け、3～4時間で消化を終了して小腸に運ばれる。小腸において6～9時間更に消化を受け大腸に運ば

* 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), アロマセラピスト)

れた後、水分などが吸収されて肛門から排泄される。

1-1. 西洋医学における便秘

現代医学において便秘の種類は急性便秘と慢性便秘に分類される。慢性便秘は常習性便秘と症候性便秘に分かれる。更に、常習性便秘（機能性便秘）は弛緩性便秘・直腸性便秘・痙攣性便秘に分類される。

①弛緩性便秘

大腸の緊張が緩んでいて蠕動運動が弱く便秘を感じなくなった状態で排便されなくなるタイプを指す。虚弱体質や無力体質の人に多く見られる。

②直腸性便秘

便が直腸に達しても便意が起きず蠕動運動が始まらないタイプを指す。忙しくてトイレに行かず我慢をしたり、痔で排便を抑えたりすると発症しやすい。

③痙攣性便秘

大腸の運動が強すぎ、痙攣を起こし便の通過を妨げて便秘になるタイプ。神経的ストレス、自律神経失調症などが原因で引き起こされる。

1-2. 中医学における便秘

中医学では便秘はその原因により①実熱証、②気滞証、③気虚証、④血虚証、⑤陽虚証の5つに分類される。

①実熱証便秘

実熱証便秘は“熱秘”と呼ばれる。身体に熱を持ち易い体質（陽盛の体質）であり、更に飲食の不節（辛いものや油っこいものの食べ過ぎ、野菜不足）や病熱の後期により腸内が内熱状態となり津液を消耗する事で腸の中の水分が不足して便秘となる。

主症状としては、大便が乾燥して硬く排便できない（便秘）、腹部膨満感、オナラが出る、排便の切れが悪い、小便短赤、面赤、口渴、口臭、舌質紅、舌苔黄、脈滑数である。

②気滞証便秘

気滞証便秘は“氣秘”と呼ばれる。ストレスや運動不足で腸内の気の運行が滞る事で、気の流れを司る肝の働きが失調して排便に時間を要する状態で便秘となる。

主症状としては、便意が有るが排便不暢、げっぷ、胸脇痞満、腹部脹満、食欲減少、舌苔薄膩、脈弦である。

③気虚証便秘

気虚証便秘は“虚秘”と呼ばれている。病後や産後に気・血が回復せず気虚によってうまく便を出せなくなった状態を指す。

主症状としては、便意が有るのに排便困難、腹部に張痛が無い、下腹部に不快感、軟便、顔色皎白、疲れ、気少、動悸、目のかすみ、舌淡嫩、苔薄、脈虚である。

④血虚証便秘

血虚証便秘も気虚証便秘と同様に“虚秘”と呼ばれている。このタイプの便秘は血の不足により腸が潤いを失って便秘が引き起こされる。主症状としては、便秘、顔色が悪い、息切れ、頭がふらふらする、目眩、心悸、唇舌淡、脈細洪である。

⑤陽虚証便秘（寒証タイプ）

陽虚証便秘は“冷秘”と呼ばれる。陽虚体質や加齢による下焦の陽気の衰えによって腸内に陰寒が凝結（陰寒内盛）し、陽気不通により便が進みにくい状態となり、便意も無い状況で起こる便秘。便は太く硬くなる。

主症状は、排便困難、小便清長、顔色皎白、冷え、喜熱、腰背痛、疲れ、舌淡、舌白、脈沈遅である。



2. 便秘と食養生



2-1. 実熱証便秘の食治

辛い物や油っこい物を食べ過ぎたために、胃

実熱証便秘の食材	気滞証便秘の食材	気虚証便秘の食材	血虚証便秘の食材	陽虚証便秘の食材
 バナナ  西瓜  メロン  柿  梨  セロリ  ホウレン草  胡瓜  レタス  茄子	 大根  紫蘇  薄荷	 イチジク  林檎  杏  落花生  ホウレン草  胡麻  栗  蜂蜜  クルミ	 椎茸  ナマコ  羊肉  クコの実	 人參  葱  ニラ  南瓜  菜の花

図1 便秘の食養生

腸に熱が生じて腸管内が乾燥して便秘する実熱証便秘は、通便作用があつて熱を冷ます効果のあるバナナ、西瓜、メロン、柿、梨、サラダ菜、ホウレン草、竹の子、胡瓜、レタス、セロリ、茄子などが用いられる。

また、方剤としては、大黃甘草湯、麻子仁丸、大承気湯、調胃承気湯、桃核承気湯、防風通聖散などがよく使われる。

2-2. 気滞証便秘の食治

憂鬱や怒りなどのストレス、精神的な緊張・不安、旅行や転勤による環境の変化などが原因で自律神経系が緊張（腸管も緊張して運動が遅延）して便秘になる気滞証便秘には、通便作用があつて気の流れが促進する効果のある大根、紫蘇、薄荷、仏手などが用いられる。

また、方剤としては、腸の緊張を緩和してスムーズに排便させる効果の高い六磨湯、大柴胡湯、柴胡加竜骨牡蛎湯、加味逍遙散、通導散などがよく使われる。

2-3. 気虚証便秘の食治

過労・病後・術後・多産・老化などによって体力が消耗し排便機能が衰える事で引き起こされた気虚証便秘には、通便作用があつて血や体液が増加し、体力がついて便のすべりを良くする作用のある杏、イチジク、林檎、ホウレン草、胡麻、クルミ、落花生、栗、蜂蜜などが用いられる。また、方剤としては、黄芩湯、補中益気湯、六君子湯などがよく使われる。

2-4. 血虚証便秘の食治

月経、お産や手術後など様々な出血が原因で血虚になり、腸管内の潤いが失われて便秘となる血虚証便秘は、補血作用があり、腸の潤いを高める効果のある椎茸、何首烏、枸杞子、桑の実、羊肉、ナマコなどが用いられる。

また、方剤としては潤腸丸、麻子仁丸などがよく使われる。

2-5. 陽虚証便秘の食治

冷たい飲料や食材の摂り過ぎや加齢といった



図2 音を奏でる

原因で胃腸が冷える事で腸の動きが低下して便秘になる陽虚便秘には、通便作用があって体を暖め腸の働きを高める様な辛・温性の人参、葱、ニラ、南瓜、菜の花、香辛料などが用いられる。また、方剤としては済川煎、八味地黄丸料などがよく使われる。

正しい便通をするためには、食物の消化、吸収、自律神経による胃腸の運動、腹筋、横隔膜、肛門括約筋などの全ての力の調和が大切である。普段の食生活の改善に加え、適度な運動や趣味を持ってストレスを溜め込まない事が肝要だと思う。

吹奏楽は多くの楽器の調和（ハーモニー）が聴いている者の心を揺さぶる。ひとりひとりの受け持つパートの技量も然ることながら、うまく協調する事で単独では醸し出せなかった音色

が作られる。

【中国・上海事情②】

中国人はいつでもお茶を飲んでいる。ペットボトルのお茶を飲むというよりも、ガラスの水筒に茶葉を入れて湯が無くなると湯を注ぎ足して飲む。タクシーの運転手さんは、座席にマイボトルが置いてある。

日本の緑茶を考えると有り得ない事かもしれない。日本茶の茶葉の中に湯を長時間入れていたら苦くて飲めないし、3回ほど湯を入れたら味が無くなる。これは日本の緑茶と中国の緑茶の作り方の違いにある。日本茶も紅茶も中国茶も同じ茶の樹（カメリア・シネンシス）から作られるが、生の葉の処理の仕方によって各種のお茶ができる。緑茶は生の葉をすぐに熱処理して発酵（この場合の発酵は酵素による酸化を指す）を止めて作る不発酵茶に属する。この熱処理の仕方が、日本の緑茶の場合は茶葉を蒸す事で発酵を止めるのに対して中国茶の多くは釜で炒り上げて作る釜炒り茶である。この様な違いで、中国茶は渋みが無く爽やかな後味に特徴があり、湯を足して何度でも飲めるといった特徴がある。

中国茶の種類は豊富で、数千種類の品種が有るとも言われており、発酵度合いで分けるだけでも前に述べた緑茶に加えて白茶（弱発酵茶）、黄茶（弱後発酵茶）、青茶（半発酵茶）、紅茶（完



図3 上海のお茶市場

全発酵茶)、黒茶(後発酵茶)と6種類に分類される。

上海の街中には上海で唯一「中国茶葉流通協会」が認めた「国家專業茶葉卸売市場」の天山茶城がある。地下鉄3号線「延安西路」駅から徒歩10分の街中にある。天山茶城の名に相応しく、中国建築の堂々たる正門を入ると、3階建ての建物に約280程の店舗がぎっしり並んでいる。ここには、福建省の青茶(武夷烏龍茶など)や茶の産地16省から集めた茶葉、茶器、茶菓子が揃う卸売市場になっている。建物も、明・清の時代の建築様式を利用しており、伝統的な中国らしさがある。好きなお茶を自由に試飲することができ、50グラムから箱詰めで少量購入することができる。上海では、お茶に限らず同じ商品でも現地客向けと観光客向けの2つの価格設定が存在している。日本人観光客向けには現地の5倍くらいの価格が設定されているので、値段交渉は必ずした方が良い。

今回は薬を題材にした落語を紹介する。

『牛の丸薬』(うしのがんやく)は古典落語の演目の1つ。上方落語の「牛の丸子(がんじ)」を八代目桂文治が東京に移したものだと言われている。

丸子(がんじ)は今でいう錠剤(丸薬)の事だが、判りにくいのでこの題名は使われていない。

大和炬燵:黒土の素焼でできた小型のアンカ。

【牛の丸薬】

薬は昔から薬九層倍(くすりくそばい)とか言われており、卸値は常識では考えられないほど安いものだった。

この話はそうした薬を皮肉ったお話。

春先のことで、大和炬燵(こたつ)の使い納め

に庭先に干していたら雨でびしょ濡れ。もう、役に立たんようになった。昔の大和炬燵は土で出来ていて、雨に濡れてブヨブヨになったら使い物にならない。そこで甚兵衛、指で触ると穴が開く。ちょっと丸めてみると、丸子、丸薬ができる。真鍮の粉をまぶすと、結構な数の丸薬が出来た。これで丸薬を作ってひとつうけてやろうと思いついた甚兵衛は、仲間の喜六と二人で田舎に売りに行く。

大きな屋敷の次郎兵衛さんとの家に行くと、裏手へ回って牛小屋を探す。たいがい、お百姓さんの大きい家は牛小屋がある。

甚兵衛は喜六に

「牛に藁でも草でも食べさせようとして、首を伸ばさせたところで胡椒の粉を詰めたキセルを牛の鼻の穴へ持って行って、フッと吹きかける。それだけしたら、また、元の所へ、分からんように、戻って来い」と伝える。

甚兵衛は

「え〜、次郎兵衛旦那でございますか。ご無沙汰をいたしております、大阪の、靱(うつぼ)の干鰯(ほしか)屋でございます。」と云って、この家に入って行く。

問答をしている最中に、相方に合図をして裏へ回らせる。かねて用意のキセルに胡椒の粉を詰め、草かなんかを手に持って牛にエサをやるふりをしてフッと牛の鼻に胡椒を吹き込まれた。「モオ〜」、とえらい声を出して苦しむ牛を見て、



図4 牛の丸薬

「旦那さん、牛が急病や」と。

甚兵衛は、牛の流行病の特効薬だと言って農民を言いくるめ、クシャミを連発する牛に「丸薬」を飲ませた上、水を浴びせて胡椒を洗い流し、治してみせる。

トリックに引掛かった農民、まんまとだまされて辺りに触れ回ったため、我も我もと殺到して、見事に売り切れる。

思惑が当たった甚兵衛と喜六、笑が止まらない。

「全部売れた。ハハハハハ」

「あんまり笑うな。バレル」

「ハハハハ」

「笑うなつてのに」

「しかし甚兵衛さん、懐が暖まったもんだね」

「当たり前だ。もとはコタツなんだから」

*****◀◀

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 引用文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 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) 中医診断学ノート 内山恵子著 東洋学術出版社
- 4) 東洋医学の基本 後藤修司監訳 日本実業出版社
- 5) 経絡リンパマッサージ 渡辺佳子著 高橋書店
- 6) ホントのツボがちゃんと押せる本 加藤雅俊著 高橋書店
- 7) The Handbook of Chinese Massage Maria Mercati Healing Arts Press
- 8) 足部反射区 范士生編 電子工業出版会
- 9) やさしい中国医学の百科 ペネラピ・オディ著 産調出版
- 10) 薬膳と中医学 徳井教孝・三成由美・張再良・郭忻共著 建帛社
- 11) 全訳中医診断学 王憶勤主編 たにぐち書店
- 12) 自我按摩治百病 北京出版社
- 13) 図解刮痧・拔罐・艾灸 薛エ国編 上海科学普及出版社
- 14) 拔推穴・取対穴按摩必学図典 肘素華編著 中国紡織出版社
- 15) 枢経推拿 経絡保健按摩手法図解 龐軍主編 北京科学技術出版社

築地市場魚貝辞典（アワビ）

真夏の築地。生鮮食料を扱う市場では、食中毒に対する注意が払われている。中でも、東京都市場衛生検査所は、場内の巡視と共に検体の検査などを行って、市場から食中毒が出ないように努めている。衛生や細菌などの専門的な目をもって巡視されることは心強いが、広い場内をくまなく調べるのは、大変なご苦勞であろう。また水産物は、ほかの市場より扱うものの種類が多いので、それを把握するだけでも大変である。中でも貝類は、魚類より識別が困難な反面、よい資料が少ないので調べるのも難しいことが少なくない。

今回は夏の貝、アワビを紹介する。アワビには、クロアワビやメガイアワビ、マダカアワビなど多くの種類があるが、ここでは断りのない限り、総称としてアワビを用いることにする。

一分類一

今ではアワビが巻貝の仲間であることを知らない人の方が少ないかもしれない。しかし、一見すると貝殻がサザエのようにトグロを巻いていない。かといってハマグリのように2枚の殻が合わさっているわけでもない。平たい貝殻が1枚しかないように見える。1枚貝というものもあることはいる。1枚貝、正式には単板類と呼ばれる貝のグループは、深海にすむ小さな貝で、その種類も数もきわめて少ない。では、なぜアワビが巻貝の仲間なのであろうか。まず、体の作りに特徴がある。巻貝の仲間は、正式には腹足類と呼ぶ。軟体動物のグループは足の特徴を名に付けられたものが多い。足が木を切る斧のような形をした斧足類（現在は二枚貝類と呼ぶことが多い）、頭に足の生えた頭足類（イカ・タコの仲間）など。巻貝がなぜ腹足類なのか。カタツムリを思い浮かべていただくと良い。梅雨の日、雨に濡れた紫陽花の葉の上をゆっくりと進むカタツムリ。体の地面側、すなわち腹側が足になっているので、腹足というわけである。アワビも同じで、殻をひっくり返すと見える大きな身の部分が足である。腹側にある足で歩き（這う、

と呼ぶべきか), 背中に貝殻を背負っている。問題の貝殻も, よく見ると巻いている。殻に開いた穴の列をたどってゆくと, ゆるく巻いているのが分かる。

アワビという種類の貝はいない。一般に, ミミガイ科の巻貝のうち, 大きくなる種類の総称として使われている。分類学的に表すと, 今のところ軟体動物門・古腹足類・ミミガイ上科・ミミガイ科となる。古い図鑑とは, 多少分類体系が変わっている。以前の形態だけに頼った分類から, 系統関係や遺伝子情報もふまえた新しい分類の研究が進められているので, 今時点でも多少流動的な形となっている。簡単に言えば, 鰓の形などから古い形質を残したままのグループの貝のうち, 皿状の殻に呼水孔の列を持つ貝の仲間, ということになる。研究者によってミミガイ科全体を一つのグループとする考え, トコブシの仲間, 北太平洋のアワビの仲間, オーストラリアのアワビの仲間など, 形態的に似通った種類を細かなグループに分ける考えがあり, まとまっていない。ミミガイ科の貝は, 世界で約70種が知られている。日本近海には9種2亜種が分布していて, このうちメガアワビ, マダカアワビ, クロアワビとその亜種のエゾアワビの3種1亜種がアワビと呼ばれる。



トコブシ



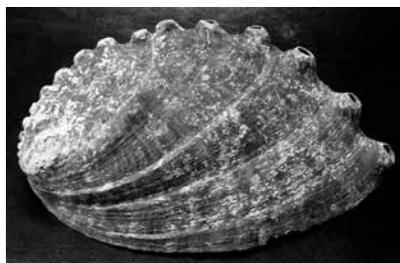
マダカアワビ



アカアワビ

一形態一

分類のところでも触れたが, おさらいしてみよう。アワビの特徴は, なんとといっても, その貝殻にある。平たく, 皿のようである。ふつうの巻貝であれば螺旋状(螺旋の螺は, もともと巻貝を表す)に巻いた貝殻が塔のように高くそびえる。ところがアワビは, 巻きがゆるいばかりではなく, 平たく巻く。結果として, 成長しても平たいままの貝になる。もう一つ大きな特徴は, 平たい殻の表面に開いた孔の列であ



クロアワビ



メガイアワビ

る。規則的に並んだ孔は呼水孔といい、ここから新鮮な海水を取り込んで呼吸している。この孔は成長に伴って、塞がれてゆく。使われている孔、すなわち開いている孔の数は、グループによって違っている。日本近海に限って言えば、アワビ類は3から4個、トコブシは7から8個なので、孔の数を見て種類を見分ける目安にはなる。ただし、海外のアワビ類、たとえばオーストラリアのアカアワビでは6から7個ある。また、日本産のアワビ3種はどれも孔の数が同じなので、孔の数だけで種類を決めることはできない。呼水孔は周囲より高まっている。この高まり方も種類を区別するポイントの一つとなる。殻の表面には、殻のカーブに沿った放射状の細かなスジ（放射肋:ほうしゃろく）と、それと交差する年輪のようなスジ（成長脈）、そのほかに波状のうねりもあって、滑らかではない。また、殻の表面は薄い角質の殻皮で覆われている。ただし、海から捕ってきたばかりのアワビの殻は、フジツボやゴカイ類の巣、海藻などがびっしりと覆っていて、上記の特徴が分かりにくいことが多い。身を取り去ったあとの殻の内側は、真珠光沢があり、虹色に輝いてたいへん美しい。

アワビの体は、開いた呼水孔のある方が、前である。そっとして観察していると、殻をやや持ち上げ、足を広げて歩き出す。足には上足触角と呼ばれる触角があり、殻の周囲から触角が出ているように見える。体の前方には頭部があり、上足触角よりりっぱな頭部触角を二本出している。ここに口もあり、歯舌（しぜつ）と呼ぶ、ざらざらした

舌で海藻などを削り取って食べている。体の大部分が筋肉で、大きく広い足で岩に張り付き、外敵から身を守る。この足をめくると三角形の、通称「つの」と呼ばれる部分がる。ここは肝臓と生殖腺で、オスはクリーム色、メスは暗緑色をしている。よく足の色で雌雄を区別し、それぞれ雄貝（おんがい）、雌貝（めんがい）などと呼ぶことがあるが、足の色の違いは雌雄ではなく、別種である。

アワビ類は互いに似ているので、区別が難しい。日本近海の種類では、マダカアワビとメガイアワビの殻の輪郭は丸みが強く、クロアワビは前後にやや細長い。マダカアワビとクロアワビは、呼水孔列の外側に、列に沿って1本の畝（うね）があるが、メガイアワビにはない。呼水孔はマダカアワビは太く長く管状に突き出るが、クロアワビやメガイアワビでは短く管状にならない。トコブシは呼水孔の数が多いほか、孔の立ち上がりがほとんどなく、殻の表面が平坦に見える。なお、呼水孔の数は殻が2cmのころから決まっているので、小さくてもアワビとトコブシは区別できる。外国産のアワビ類やトコブシ類は種類が多いが、築地市場に入荷するものは、殻の丸みが強いもの、殻の表面にヒダ状の凹凸があるもの、足の色が黒や緑など、日本近海のアワビ類とは一目で区別できる場合が多い。

殻の色は茶色で、目立つ模様はない。食べている海藻の種類によって、殻が緑色になることがある。足の色は、クロアワビでは黒緑色、メガイアワビとマダカアワビは淡い褐色。

現在では殻長が15cmもあれば大きい方であるが、かつては20cmを越えるものもあった。

—生態—

クロアワビは茨城県、日本海沿岸から九州に分布する。北海道南部から東北沿岸に分布する、やや小型で殻の凹凸がはっきりしているものをエゾアワビと呼ぶ。メガイアワビは千葉県、秋田県から九州まで。マダカアワビは千葉県、日本海西部から九州に分布する。いずれの種類も岩場の浅瀬から水深数十mまでにすむ。クロアワビ—メガイアワビ—マダカアワビの順に深い場所にすむ傾向がある。

主に潮の通りのよい、海藻の豊富な岩礁にすむ。昼間は、岩の下や割れ目などに張り付いて動かないことが多い。住みやすい場所が決まっているようで、長い間に、その場所が貝と同じ形にくぼんでいることがある。主に大型の褐色の海藻を食べる。夜になると住处から歩き出て、盛んに餌を取る。海藻に登ることもある。そんなところに出くわすと、驚いたアワビは、海藻から離れ落ちる時に、海中を滑空するように落

ちて見えなくなることがある。また、足も案外速く、岩の上などをかなりの速さで這うことができる。外敵に襲われると、足で岩などに強力に張り付く。指を挟まれると、指がちぎれるかと思うほど力強い。

産卵期は北に住むエゾアワビを除き、10月頃から1月に及ぶ。雌雄異体である。呼水孔から卵と精子を放出し、水中で受精する。卵の大きさは0.2mmほどで、受精した後は海底に沈み、10時間ほどでふ化し浮遊生活に入る。最初の幼生はトロコフォアと呼ばれ、卵とほぼ同じ大きさで、全身に生えた繊毛で泳ぎ回る。次に殻を持ったベリジャー幼生となり、10日ほどで着底して稚貝となる。1年で殻長2cm、2年で5cm、3年で10cmに成長する。寿命は20年近くになるようである。エゾアワビの産卵期は夏で、成長も遅く6年で殻長7～8cmにしかない。

一漁業一

起伏の多い岩場に張り付いているので、網などで漁獲することが難しい。そのため、現在でも昔ながらの潜水漁に頼っている。海女やダイバーが海に潜って、1つ1つ磯がねなどを使って捕っているのである。かつては素潜りだったので漁獲量も限られていた。明治時代以降、潜水危惧の発達とともに漁獲量は増加したが、乱獲状態に陥った。また、アワビのすむ沿岸海域の環境悪化が、アワビの成育に影響を及ぼしているとの研究もある。いずれにしても、漁獲の手間と資源の少なさが、アワビを高価にしている要因の一つといわれている。

資源の回復を図るために、人工的な種苗生産が行われてきた。人工的に産卵、ふ化した幼生を稚貝まで育て、アワビの成育に適した海域に放流するのである。天然貝の減少が著しい場所では、稚貝の放流によって資源が維持されているところもあるようである。また、アワビは魚類と違って、飼育に広い場所を必要としないので、内陸での飼育も行われている。また海藻を与えておけば育つので、出荷サイズまで育てる養殖も行われている。

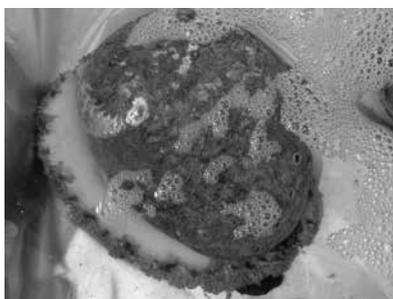
高価で数の少ない国産のアワビをまかなうため、世界各地から多くの種類のアワビが輸入されている。極域および南アメリカ、北アメリカ東岸にはアワビ類が分布しないが、それ以外のほとんどの海に面する国から輸入されている。さらに代用品として、ペルーからチリの沿岸に分布するアクキガイ科のアワビモドキ（チリアワビとかロコガイの名で入荷したこともある）が一時期大量に入荷したが、現在は少ない。

築地市場には、生きたままの入荷が多い。死ぬと味が落ちるからである。アワビを扱う仲卸店舗には水槽が置かれている。あるいは箱に

海水を張っただけの簡単店も見受ける。水槽にアワビが張り付くとなかなか取れないので、お好み焼きに使うのと同じコテが置いてある。国産のアワビで量的に多いのは、クロアワビとその北方型であるエゾアワビである。メガイアワビはやや少なく、マダカアワビは最も入荷量が少ない。日本各地から入荷するが、千葉県や静岡県、九州など太平洋側の岩場がある地域からの入荷が多い。場所によって禁漁期間があるが、その間、生簀などに蓄養していたものを出荷するので、ほぼ通年入荷する。餌の関係で殻の色が全体、または一



養殖クロアワビ



輸入アカアワビ

部が鮮やかな緑色になった養殖アワビもよく見かける。天然物に比べ数と大きさがそろっており、いくぶん安値で取引されている。また輸入のアワビも、ほぼ通年入荷する。景気の低迷で輸入の鮮魚はめっきり少なくなったが、輸入アワビは、鮮魚ほど影響を受けていないように見える。足の黒いオーストラリアのアカアワビや、足が緑で房状の突起が発達した南アフリカのミダノアワビは、よく目にする種類である。

—利用—

アワビはほかの貝類と比べて肉量が多く、ほかの貝ではできないような調理法もある。まずはシンプルに刺身。新鮮なアワビを薄く切っていただく。薄切りを酢飯で握れば、アワビ寿司となる。生のアワビといえばもう一つ、水貝がある。角切りにしたアワビを、氷を浮かべた塩水に入れていただく、いかにも夏らしい料理である。どちらもアワビのコリコリとした食感を楽しむのであるが、個人的には、火を通したアワビのふっくらした柔らかさに惹かれてしまう。焼く、煮る、蒸す。どんな料理にもあう。

岩手県三陸町（現、大船渡市）に吉浜という風光明媚な場所がある。白い砂浜があり、夏には海水浴客で賑わっていた。ある日、食品化学の講義で、中国では日本産のアワビの干物が人気だと先生が話し始めた。その中でも、特に珍重されるのが「きっぴんあわび」だという。へ～、そんな品種もあるんだなと聞いていたら、きっぴん、すなわち吉浜で

水揚げされるエゾアワビを乾燥させたものだったのである。北の冷たい海で漁獲されるアワビは、小ぶりではあるが、味がよく、高値で取引されるとのことであった。たたくとカンカンと高い音が鳴るほどカチカチに乾燥させたアワビを、時間をかけて戻し、さらにうま味を含ませるように煮ていくのは、中華料理の得意とするところである。その柔らかさは、生鮮アワビとは別格の味で、人類が味を求めてきた長い歴史を感じる。

観光名所として名高い伊勢志摩。ここに、英虞湾を眼下に眺める風光明媚なホテルがある。今ではかなり有名なホテルであるが、数十年前に家族旅行で滞在した時は、今ほど知られてはいなかった。メインダイニングでは、地元の食材を使った料理が出されていたが、松坂牛のステーキ、イセエビのクリームスープとともに、目玉の一つとしてアワビのステーキがあった。当時としても高価であったろうと思うが、食べさせてもらった。それまでアワビというと、硬くしょっぱい味しかなさ思っていたのが、その柔らかさと豊かな風味のとりこになってしまった。その後、そのホテルでアワビステーキを食べる機会はないが、アワビが手に入ると、その時の味を思い出してはアワビステーキを焼いている。

ある漁村で聞いた話である。自分が子供の頃もそうであったが、肉が高級品だった。肉といえば、ごちそうである。なので、自宅で作るカレーには、身近な素材を入れていた。その家でも肉が手に入らないので、肉の代わりにアワビを入れていたそうである。シーフードカレーというのは今でもあるが、そこにアワビが入れば、超高級カレーになってしまう。今では考えられないような話である。

アワビ類の産卵期は10月から12月である。産卵期を前にして餌をたくさん食べている夏が旬である。魚と比べ脂肪を蓄えることはないが、夏場にうま味成分が最も多くなるという研究もある。ただし、エゾアワビは産卵期が夏なので、夏の前が旬ということになる。

ーエピソードー

アワビは、どうしてアワビと呼ぶのだろうか。1470年、応仁の乱の後に書かれた書物には、片一方の貝が岩に付いているので、もう片方の身に合わない、合わぬ実が転訛したものと書かれている。その後、江戸時代にかけて同じように解釈した書物が多く書かれ、今日でもよく引き合いに出される由来の1つとなっている。ところが、平城京から出土した養老6年の年号が入る木簡には、すでに鰈という文字が使われている。西暦に直すと772年なので、アワビの由来が書かれた室

町時代の書物を遡ること 700 年ということになる。鰯という文字が使われてから 700 年も経っていれば、正確な由来が伝わっていない可能性の方が高いように思える。現在、日本中どこへ行ってもアワビはアワビで通じる。しかし、関東の沿岸部である千葉や神奈川の漁村へ行くと、アワビとは呼ばず「けい」とか「けいつけ」などと呼んでいる。「けい」は貝が転訛したもので、貝といえばアワビというほど重要な貝であったのであろう。「つけ」は殻が器として使われたので杯(つき)ではないかとする説がある。海でアワビを捕ろうとすると、強力な力で岩に張り付いて道具がないとはがせない。個人的には、張り付く貝という説に惹かれる。このように地方の呼び名にアワビはない。中央で生まれた呼び名が、税の一つである調を全国から徴収する過程で広まったのではないかと考えるのであるが、確証はない。

アワビの名前にまつわる話題をもう一つ。日本産のアワビ 3 種の学名(世界共通のラテン語化された名前)を見ると、メガイアワビは 1791 年にドイツの Gmelin, クロアワビは 1846 年にイギリスの Reeve によって付けられている。これらは幕末に日本に興味を抱いた西欧の科学者によって研究され、新種とされたのである。ところが残りの 1 種、マダカアワビの学名を見ると 1979 年に Habe によって付けられている。わずか 32 年前のことである。水産上重要種であるにもかかわらず、なぜ最近まで学術的な名前がなかったのであろうか。じつは、これ以前は別の学名が付けられていた。長崎の出島に医師として滞在し、日本を詳しく研究したシーボルトが持ち帰った標本を元にクロアワビと共に Reeve が新種としたのである。しかし、近年、シーボルトが持ち帰った標本を再調査したところ、マダカアワビと思われていたものが、じつはメガイアワビであった。このため Reeve がマダカアワビと思って付けた学名は無効となり、マダカアワビには学名がないことになってしまった。そこで、当時の貝類学の重鎮であった波部忠重博士が新種として学会に報告したのである。130 年近くにわたって学者をも惑わすほど、アワビを見分けるのは難しいことなのだから、場内で見かけたアワビの種類に悩んでも仕方がないことか、などと思ったりもした。

文 献

- 1) 大場俊雄：ベルソープックス 002 あわび文化と日本人，成山堂書店（2004）
- 2) 奥谷喬司（編・著）：日本近海産貝類図鑑，東海大学出版会（2000）
- 3) 奥谷喬司：軟体動物二十面相，東海大学出版会（2003）

月刊 ニューフードインダストリー

NEW FOOD INDUSTRY

定期購読の
ご案内

月刊「ニューフードインダストリー」は創刊53年を迎える食品業界誌です。

多くの食品メーカー、技術開発部門、研究機関、全国の大学・大学院などの教育機関、図書館などで愛読いただいております。食の安全・健康・美に関する情報発信、新しい食品のご案内など広く情報を発信しております。

1年間の定期購読は、一括前払いで、定価の10%割引でご提供させていただいております。

年間購読料：**23,760**円（送料・税込）

お申し込み・お問い合わせは下記 FAX かお電話で

電話：**03-3254-9191** 担当：村松

FAX：03-3256-9559

ニューフードインダストリー年間購読申込用紙

住所 〒

氏名

会社名・所属

電話

FAX

E-mail

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

ニューフードインダストリー 第53巻 第10号

印刷 平成23年 9月25日

発行 平成23年 10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