

# New Food Industry

食品加工および資材の新知識

<http://www.newfoodindustry.com>

2012 Vol.54 No.1

1

## 新春論説

- 痛風/高尿酸血症を予防するコーヒーの薬理学
- ナットウキナーゼの強力なエラスチン分解活性、およびエラストチナールによる阻害
- Opti MSMについて
- パプリカ色素による脂質代謝調節作用
- $\beta$  グルカンの機能-3
- 採卵廃鶏肉から調製した肉醬の品質  
-特に麴の種類による最終製品の化学成分の違いについて-
- 先人の知恵の結晶を未来へ活かす  
-独創的な文理融合研究による環境汚染改善への挑戦-
- 置き換え食を用いた減量支援プログラムの効果  
-「DHCダイエットアワード2011」報告-
- 大学における食品開発プログラムの紹介  
-地域資源利用によるフードマイスター育成-
- 超臨界二酸化炭素を利用した有用成分の抽出とその機能評価

## 連載 ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品

- 第13回 仮説「乳文化の一元二極化説」

## エッセイ

- 伝える心・伝えたいもの -夕顔棚納涼図屏風-



### 新春論説

- 痛風 / 高尿酸血症を予防するコーヒーの薬理学  
..... 鈴木 聡, 岡 希太郎 1
  
- ナットウキナーゼの強力なエラスチン分解活性,  
およびエラストチナールによる阻害  
... 須見 洋行, 内藤 佐和, 鈴木 理恵, 齋藤 丈介, チャンリャンリャン,  
矢田貝 智恵子, 大杉 忠則, 吉田 悦男, 柳澤 泰任, 丸山 眞 12
  
- Opti MSM について  
..... 瀧山 和志 17
  
- パプリカ色素による脂質代謝調節作用  
..... 前多 隼人, 斉藤 修一, 阿部 美菜子, 中村 望, 片方 陽太郎 24
  
- $\beta$  グルカンの機能 - 3  
..... 酒本 秀一, 糟谷 健二 31
  
- 採卵廃鶏肉から調製した肉醬の品質  
- 特に麴の種類による最終製品の化学成分の違いについて -  
..... 楊 正護, 川上 誠, 石下 真人, 船津 保浩 43
  
- 置き換え食を用いた減量支援プログラムの効果  
- 「DHC ダイエットアワード 2011」報告 -  
..... 蒲原 聖可 50
  
- 大豆麴乳酸菌発酵液の抗酸化能 - 続報: *in vitro* 研究  
..... 中山 雅晴, 前沢 留美子, 腰原 菜水 55

### 新春論説

- 大学における食品開発プログラムの紹介  
- 地域資源利用によるフードマイスター育成 -  
..... 永島 俊夫 67
  
- 超臨界二酸化炭素を利用した有用成分の抽出とその機能評価  
..... 齊藤 貴之, 佐々木 有 73

### 連載 ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品

- 第13回 仮説「乳文化の一元二極化説」  
..... 平田 昌弘 80

### エッセイ

- 伝える心・伝えたいもの —夕顔棚納涼図屏風—  
..... 宮尾 茂雄 87

**おいしさと健康に真剣です。**

酵母エキス系調味料

**コクベース**

セラチン&小麦グルテン

酵素分解調味料

**エンザップ**

**new**発酵調味料

*D&M*

ダイヤモンド

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。

**DM** 大日本明治製糖株式会社

食品事業部

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

# 痛風 / 高尿酸血症を予防するコーヒーの薬理学

鈴木 聡<sup>\*1</sup> 岡 希太郎<sup>\*2</sup>

<sup>\*1</sup> SUZUKI Satoshi (NPO 法人 HAB 研究機構), <sup>\*2</sup> OKA Kitaro (東京薬科大学名誉教授)

Key Words : コーヒー・痛風・高尿酸血症・クロロゲン酸・トリゴネリン

## はじめに

ある日突然、足指の付け根に激痛が走ったら痛風かも知れません。血液中の尿酸濃度が上限を超えると、関節組織に針のような結晶が析出し、周辺が化膿して神経を刺激するのです。この痛みを一度経験すると、誰もが医者言うことを聞いて、薬を飲み、食事制限に努めます。痛風の痛みは二度と経験したくありません。

アロプリノールやベンズプロマロンは高尿酸血症を治療する特効薬です<sup>1)</sup>。これを毎日飲み続けて尿酸値を下げておけば、痛風の発作を抑えられるだけでなく、やがて合併するかも知れない心血管疾患のリスクが減ると考えられているのです。ところがこの治療法に疑問が生じました。高血圧の人で尿酸値が低過ぎると逆に心血管疾患に発症しやすいという、いわばJカーブの関係が指摘されたのです<sup>2,3)</sup>。このパラドックスが更に信憑性を帯びてきた理由は、運動神経障害のパーキンソン病と尿酸値低下の関係がほぼ確実になったことです<sup>4)</sup>。尿酸値が高すぎると心血管疾患、低過ぎれば神経疾患の原因となるのです。

昔から高尿酸血症は生活習慣、特に食生活に起因すると言われてきました。痛風はメタボリックシンドロームや高血圧と合併することが

多く、動物タンパク質やビールなどプリン体を多く含む食事内容とアルコール飲料が痛風リスクを高めています<sup>5)</sup>。逆に、ビタミンC<sup>6)</sup>とコーヒー<sup>7)</sup>はリスクを下げると言われています。そこで本稿では、まず尿酸パラドックスを説明し、次いで尿酸産生と排泄のメカニズムを概説し、そのメカニズムに介入するコーヒー成分の薬理学について、最新の文献を引用しながら考察してみます。

## 1. 尿酸パラドックス

アロプリノール(ザイロリック他)は肝臓で尿酸を産生する酵素キサンチンオキシダーゼ(XO)の阻害薬、ベンズプロマロン(ユリノーム他)は腎臓で尿酸再吸収を促進するトランスポーターURAT1の阻害薬です。図1を見ながら説明します。

まず筋肉のなかで、食べたプリン体が役目を終えるとヒポキサンチンに変化して、やがて肝臓にやってきます。ヒポキサンチンは肝臓でXO酵素の作用を受けて、キサンチンを経て尿酸に代謝されます。この過程で酸素の一部が過酸化水素とスーパーオキシドに変わります。こうしてできてくる尿酸と活性酸素が心血管疾患

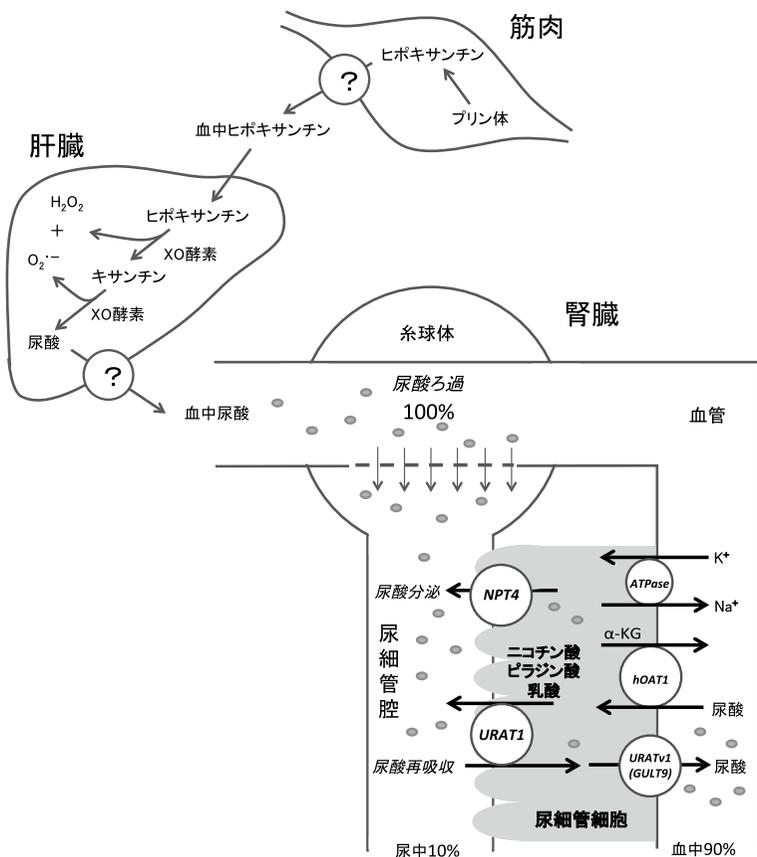


図1 尿酸産生と腎排泄過程の分子機構

アロプリノールは XO 酵素を阻害し、ベンズブロマロンは URAT1 トランスポーターを阻害して、尿酸値を下げる医薬品である。

の原因になると考えられています。従って高尿酸血症の予後は、過剰な尿酸と過剰な活性酸素のどちらか一方、または両方が原因となって発展して行くのです。

身体にとって過剰な活性酸素は種々の抗酸化物質の働きで消去されます。一方、尿酸はその3分の1が糞便に混ざり、3分の2が腎臓から尿に排泄されています。1日の排泄量は体内プール(約1.2g)の6割以上に達するので、尿酸産生か排泄のどちらかに異常が生じると、血清尿酸値に影響が出てしまいます。今世紀になって、それまで不明だったベンズブロマロンの作用標的が、尿細管トランスポーターであることが明らかになりました。図1の腎臓のなか

を見てください。

尿酸が腎臓に入りますと、糸球体ではほぼ全量がろ過されて尿細管腔に移ります。実はここで不思議なことが起こっています。ろ過された尿酸の90%以上が尿細管細胞に再吸収されて、血液に戻ってくるのです。再吸収を司る輸送体タンパク質(トランスポーター)は、尿細管細胞の管腔側にある URAT1 と血管側にある URATv1 の2種類です。これらのトランスポーターは尿酸分子だけを特異的に選んで再吸収しています<sup>8)</sup>。

尿酸パラドックスの行きつく先を一言で表現すると、図2に示すように、血清尿酸値が高くても低過ぎても心血管病変の原因になる

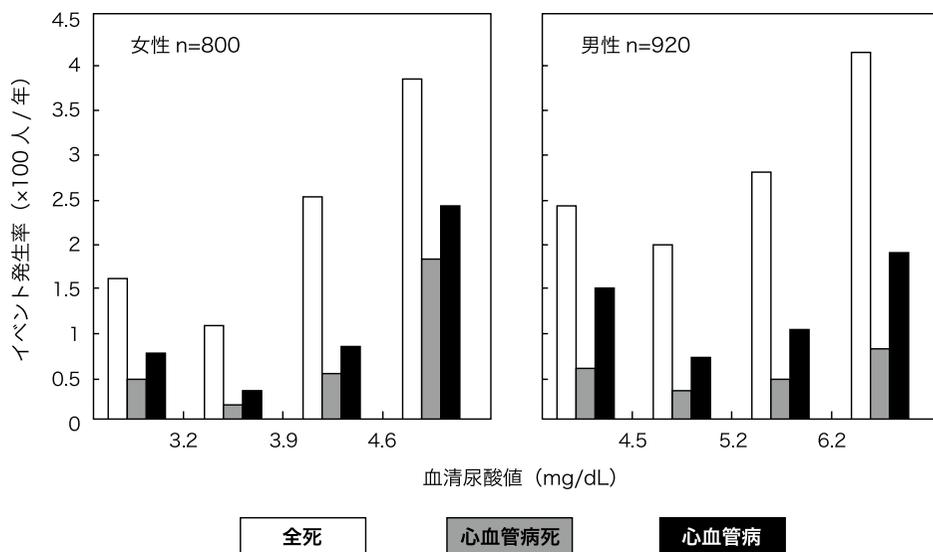


図2 血清尿酸値と心血管病リスクのJ字型の関係

ということです<sup>2,3,9,10)</sup>。もう1つ加えれば、哺乳類のなかで霊長類だけが尿酸分解酵素を退化させ、加えて再吸収トランスポーターを進化させて、比較的高い血中尿酸値を維持しているということです。一体何のための進化だったのか、説明困難なパラドックスとして残されているのです<sup>8)</sup>。

このパラドックスを解く医学的根拠は、血液中の尿酸が血液全体の抗酸化作用の半分以上を賄っているという極めて魅惑的な実験事実と、体組織内の尿酸は逆にプロオキシダントとなって心血管系組織に障害をもたらすという病理学的観察事実です<sup>9-11)</sup>。尿酸が少な過ぎると抗酸化作用が不足し、多過ぎるといわば尿酸の副作用が出てしまうということです。

## 2. コーヒーの疫学調査

コーヒーと血清尿酸値または痛風の疫学調査論文は5つありますが、研究機関としては九州大<sup>12,13)</sup>とブリティッシュコロンビア大<sup>14-16)</sup>の2か所だけで、メタ解析論文はありません。ど

の論文もコーヒーは痛風または高尿酸血症の予防因子であると述べています。その中から、レギュラーコーヒー、デカフェコーヒー、紅茶、カフェインをそれぞれ比較した論文を引用してみましょう<sup>14)</sup>。

全米健康栄養調査に参加した成人14,758名(男女比は1.0:1.1)を対象に、アンケート方式で健康状態と食事などの生活習慣を調査しました。調査時点で痛風と診断されていた人、及び高尿酸血症の薬物治療を受けていた人を除いた残り14,314名について尿酸値を測定しました。コーヒーなどのカフェイン飲料の摂取状態については、面談して詳しい聞き取りが行われました。さらに幾つかの交絡因子を補正して得られた結果を図3に示します。

コーヒーを1日4-5杯飲む群と6杯以上飲む群の血清尿酸値は、飲まない群の数値よりそれぞれ0.26mg/dLと0.43mg/dL低いものでした(図3左)。デカフェコーヒーを飲んでいただけでも似たグラフになりましたが、統計学的に有意ではありませんでした(図3中央左)。さらに、紅茶などコーヒー以外のカフェイン飲料を飲ん

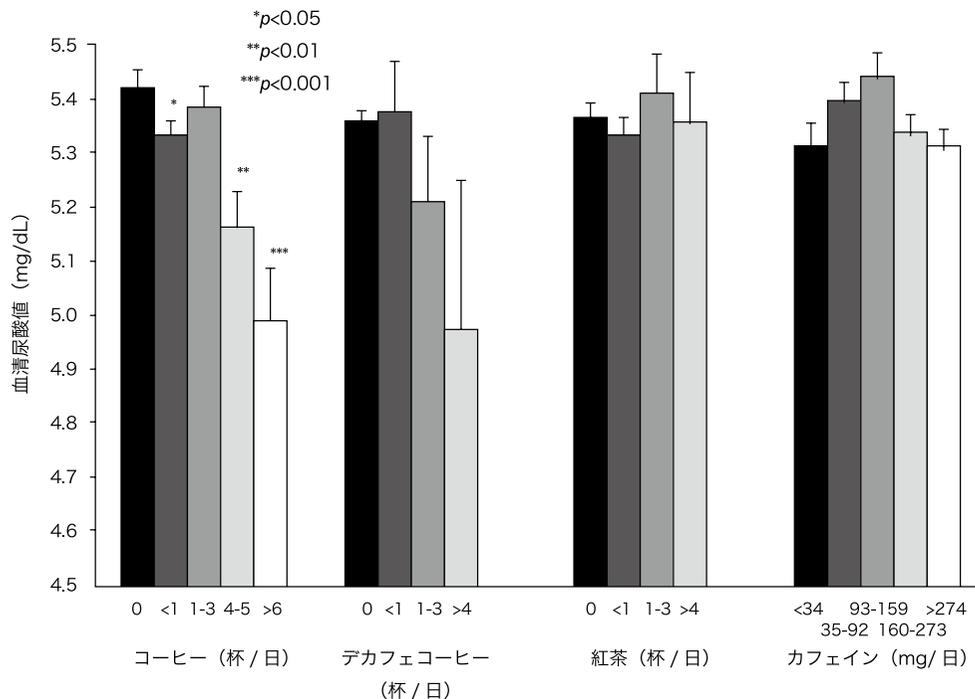


図3 コーヒーが血清尿酸値に及ぼす効果

でいた群では何の関係も見られませんでした。また、図には描いてありませんが、男女を比較してみると、コーヒーと尿酸値の関係は男性で強く見られますが、女性では弱いものでした。痛風リスクとしては、コーヒーを1日4杯飲む男性群で約40%のリスク軽減が認められました。

女性における最新データは、Choiらがボストンで行った痛風調査です<sup>16)</sup>。それによりみると、26年間の追跡で、約9万人の対象者から896人の痛風患者が発生し、1日に948mL飲む群で相対リスク0.43という有意なリスク軽減が観察されました。このコーヒーの量が具体的にどれだけのかわかりませんが、恐らく1日5杯以上だろうと推察できます。また、デカフェコーヒーの場合にも、弱いながらも有意な結果が得られています。

このように、コーヒー飲用と尿酸値の間には負の相関関係があると言えそうですが、確実に

言い切るためには更に多くの大規模調査が必要でしょうし、薬理的な根拠を示すことが何より重要だと思われます。

### 3. コーヒー成分の薬理作用

デカフェタイプ以外のすべてのコーヒーに入っている利尿性成分はカフェインです。しかしカフェインの利尿作用が血清尿酸値に影響することはありません。カフェイン以外の生豆成分に利尿作用はありませんが、尿酸代謝に影響するものとしてクロロゲン酸とその代謝物(カフェ酸とフェルラ酸)があります。また、生豆には入っていませんが焙煎することで出てくるビタミンB<sub>3</sub>のニコチン酸と香り成分ピラジンが尿酸代謝に影響を及ぼします。一方、今はまだ確かなことは言えませんが、トリゴネリンとその分解産物にも注目する必要があるようです。

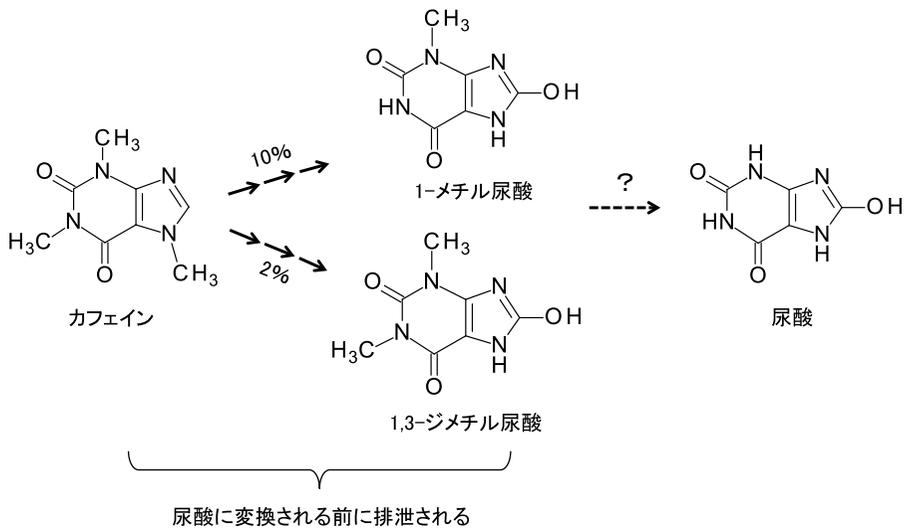


図4 ヒトにおけるカフェインの代謝

### 3-1. カフェイン

カフェインは糸球体血管を拡張して利尿作用を発現します。しかしこの作用は強いものではありません。ですからコーヒーを飲んでも、再吸収率の高い尿酸の排泄速度が更に速くなるようなことはありません。コーヒー飲用による尿酸値の変動はカフェイン以外の成分によるものです。このことは、デカフェコーヒーの疫学調査からも解ります。図3に示す結果に有意差はありませんが、他のデカフェコーヒーの調査では有意差が認められています<sup>16)</sup>。

一方、カフェイン自体がプリン体ですから、その代謝最終産物は尿酸であると思われがちです。しかし、カフェインが尿酸にまで代謝されるには長時間を要するため、その間にカフェインとその代謝産物は排泄されてしまいます(図4)<sup>17)</sup>。結果として、カフェインに由来する代謝産物は1-メチル尿酸と1,3-ジメチル尿酸までで、その代謝率はカフェインの12%程度と考えられます。しかし、1-メチル尿酸には、尿酸と似たXO酵素阻害作用がありますから無視することはできません。これについては後述することと致します。

### 3-2. 香りの分子とニコチン酸

以前から抗結核薬ピラジナミドの副作用として高尿酸血症が知られていました。最初の実験は1985年にイヌを使って行われました。ピラジナミドの主代謝産物であるピラジン酸と、それと化学構造のよく似たニコチン酸が、イヌの腎臓で尿酸再吸収を促進したのです(図5)。後にその分子メカニズムが尿細管トランスポーターの1種URAT1に基づくことが解りました(図1)<sup>18)</sup>。また、URAT1の生理学的交換基質は乳酸であることも解りました。URAT1を通過して再吸収されるのは尿酸だけですが、代わりに尿細管分泌されるのは乳酸、ニコチン酸、ピラジン酸など幅広い化学構造の酸性物質です。尿酸を再吸収するために、哺乳類は食べものの成分や体内産物として豊富にある酸性物質を利用しているのです。

コーヒーの香り成分の1つにメチルピラジンがあります。これはコーヒーを焙煎したときに、糖とアミノ酸のメイラード反応でできてきます(図5)<sup>19)</sup>。メチルピラジンにはメチル基の数と置換位置の違いによって全部で8種類がありますが、どれもみな代謝されてメチルピラ

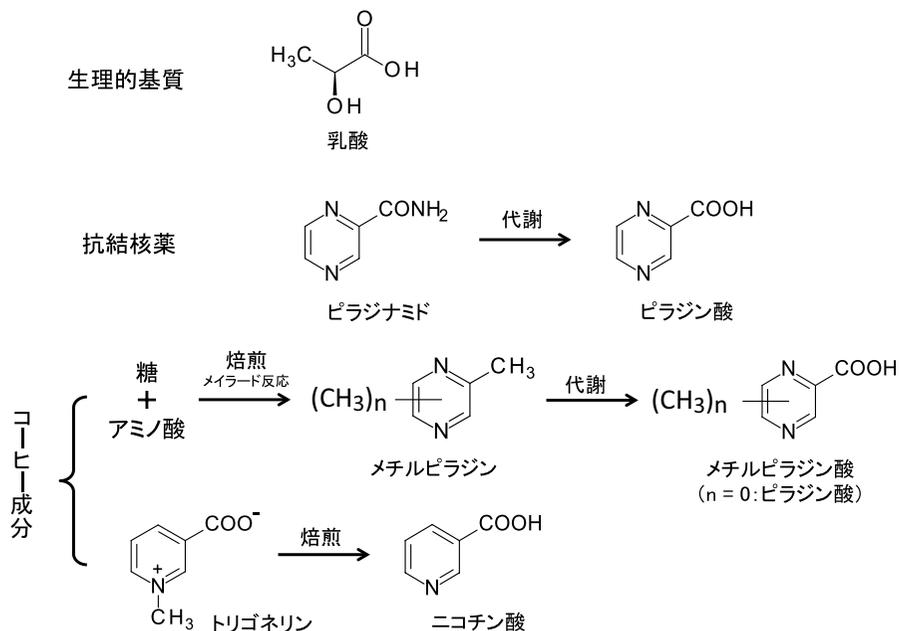


図5 URAT1の尿酸交換基質とその起源

ジン酸に変わります。そのうち尿酸再吸収が確かめられているのは、図でn=0のピラジン酸だけで、これはピラジナミド代謝産物と同じ物質です(図5)。その他のピラジン酸にも似た作用が考えられますが、今のところ実験データがありません。

一方、ニコチン酸は生豆成分のトリゴネリンからできるビタミンの1種ですが、これもURAT1の交換基質です(図5)。深く煎ったコーヒー1杯には多くて5mg程度が含まれています。ニコチン酸はコーヒー以外の食品からも取り込まれ、1日の総量は10~20mgと推定されています。一方、ニコチン酸誘導体が高脂血症薬として使われますが、副作用に高尿酸血症があります。この場合の投与量はビタミンとしての必要量の数十倍以上です。ですから日常生活のなかでニコチン酸が高尿酸血症を起こしているとは考えられません。ただし、ピラジン酸などと合わせたときの効果については、まだデータがありません。

以上をまとめますと、コーヒー飲用は痛風や高尿酸血症のリスクを軽減していますから、コーヒー成分のニコチン酸やピラジン酸が尿酸再吸収を亢進しているとしても、その影響は血中尿酸値には及んでいないと考えられます。しかしながら、深く煎ったコーヒーを大量に飲むことは、高尿酸血症のリスクを上げないとは限りません。少なくとも血中尿酸値が高めの人、深く煎ったコーヒーよりも浅く煎ったコーヒーを飲む方が安全だと思われます。念のためですが、尿酸を増やすアルコール飲料に比べれば、コーヒーに含まれているURAT1交換基質の量は問題になりません。

### 3-3. キサンチンオキシダーゼ阻害作用

図1に書かれているように、ヒポキサンチンとキサンチンはXO酵素の基質となって酸化的に代謝され、尿酸に変わります。このとき同時にスーパーオキシドと過酸化水素ができてきます。近年、健康食品分野でポリフェノールの抗酸化作用が注目されていますが、コーヒーに含

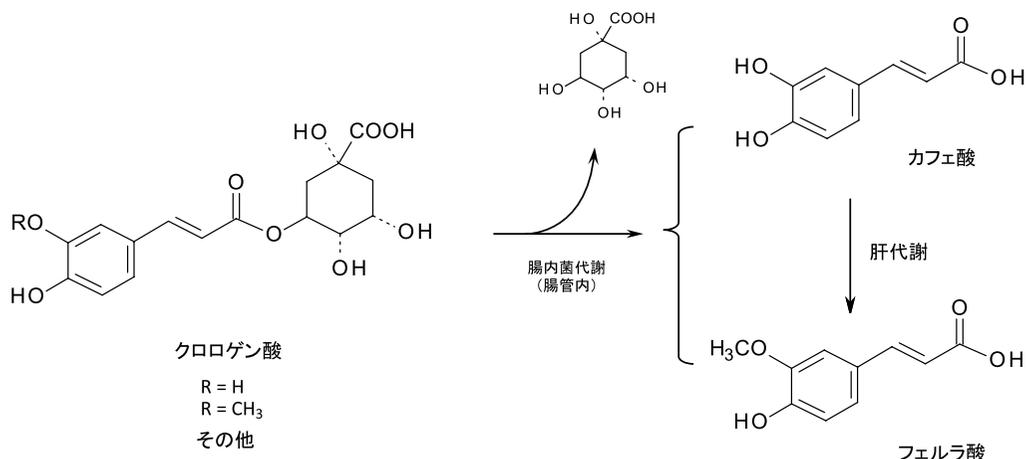


図6 クロロゲン酸の腸内菌代謝と肝代謝

まれているポリフェノールも XO 酵素を阻害して、尿酸と活性酸素の産生を抑えると報告されています。

生豆に大量に含まれているクロロゲン酸は焙煎中に分解しますが、それでも浅煎豆なら数十～100mgが含まれています。クロロゲン酸の一部は、腸内菌の作用でカフェ酸と少量のフェルラ酸になって吸収されます(図6)。カフェ酸の一部は体内でメチル化されてフェルラ酸に変わるので、結局、浅煎～中煎の焙煎コーヒーを飲めば、体内に3種類のポリフェノールが入ってくることになるのです<sup>20)</sup>。以下に、こ

れらのポリフェノールの XO 酵素阻害作用について述べますが、活性酸素を消去する作用については本誌既刊の高血圧の部を参照して下さい<sup>21)</sup>。

前世紀から、カフェ酸とフェルラ酸が XO 酵素を阻害することが知られていました。しかし、それらの論文は散発的でしたし、医薬品であるアロプリノールとの比較実験や、動物やヒトに直接投与して尿酸値を測定するというものではありませんでした。従って、コーヒーを飲んだときの尿酸値の低下がポリフェノールによるものか否かは解っていないのです。そこで筆者ら

表1 医薬品とコーヒーの XO 阻害活性の比較および尿酸の寄与

化合物群	試験化合物	XO 阻害活性 (IC <sub>50</sub> μg/mL)	血中濃度* (μg/mL)	血中濃度/IC <sub>50</sub> (比活性)	小計
医薬品	アロプリノール	0.27	～0.8	2.96	3.44
	オキシブリンノール	8.37	～4.0	0.48	
コーヒー成分	クロロゲン酸	11.5	～5.0	0.43	0.5
	カフェ酸	25.8	～0.2	0.008	
	フェルラ酸	13.8	～0.3	0.02	
	カフェイン	—	～10	—	
	1-メチル尿酸	12	～0.5	0.04	
内因性物質	尿酸	11.6	≒50	4.3	4.3

\*アロプリノールは200mg単回投与時の値、コーヒーポリフェノールは利用率が最大の文献値を引用、1-メチル尿酸はヒトにおける平均変化率から求めた値である。尿酸は成人男性の平均値を採用した。文献によってポリフェノール利用率には1000倍の差がある。

は、文献に見られるコーヒーポリフェノールの血中濃度と自験で得た IC<sub>50</sub> 値の比を化合物ごとに比較して、疫学調査に見られるコーヒーの効果との関係を探ってみました<sup>22)</sup>。

結果を表 1 に示します。コーヒーポリフェノールの XO 酵素阻害作用を IC<sub>50</sub> 値で比較しますと、医薬品アロプリノールの大略 50 ~ 100 分の 1 と弱いものでした。同時に測定した 1-メチル尿酸と尿酸の IC<sub>50</sub> 値も同様でした。またコーヒーポリフェノール<sup>23)</sup> と 1-メチル尿酸<sup>17)</sup> の血中濃度文献値を IC<sub>50</sub> で除した数値で比較してみました。ここで、血中濃度 / IC<sub>50</sub> の生物学的な意味は、XO 阻害物質の *in vivo* の比活性ということで、この数値が大きいほど体内で強い XO 阻害活性を示すということです。コーヒー成分の XO 阻害活性の総和 0.50 はアロプリノール 1 日投与量の 7 分の 1 程度に相当すると考えられます。言い換えますと、計算上はコーヒー 1 日 7 杯でアロプリノール 1 日 200mg に相当する効果が期待できるということです。

ところで表 1 の計算では、複数の論文のなかからポリフェノール血中濃度が最も大きな数値を選んであります。これに対して 1000 分

の 1 程度の血中濃度であると書いた論文もあります。もしその数値を採用すればずっと小さな血中濃度 / IC<sub>50</sub> 値となりますから、コーヒーポリフェノールはほとんど効果を示さないということになります。文献によってコーヒーポリフェノールの血中濃度が異なる理由は、飲んだコーヒーの種類が異なるからです。コーヒーポリフェノールは強く焙煎するとほとんど分解してしまうのです。コーヒーの疫学調査はコーヒーの規格とは無関係ですし、それでもすべての調査で尿酸値の低下が認められているという事実は、コーヒーのなかに更なる活性成分があるということかも知れません。

### 3-4. アルデヒドオキシダーゼとの関係

アルデヒドオキシダーゼ (AO) は XO とよく似た酵素で肝ミクロゾーム分画から見つかりました。発見当初はベンズアルデヒドのような芳香族アルデヒドが基質になると思われていましたが、やがて数多くの含窒素芳香族化合物が基質になることが解りました。その意味で AO 酵素は薬物代謝酵素の 1 種です。1-メチル尿酸や尿酸は両酵素と結合しますが、通常は AO より XO により強い親和性を示します。XO 遺伝子の点変異が AO タイプの基質選択性を強

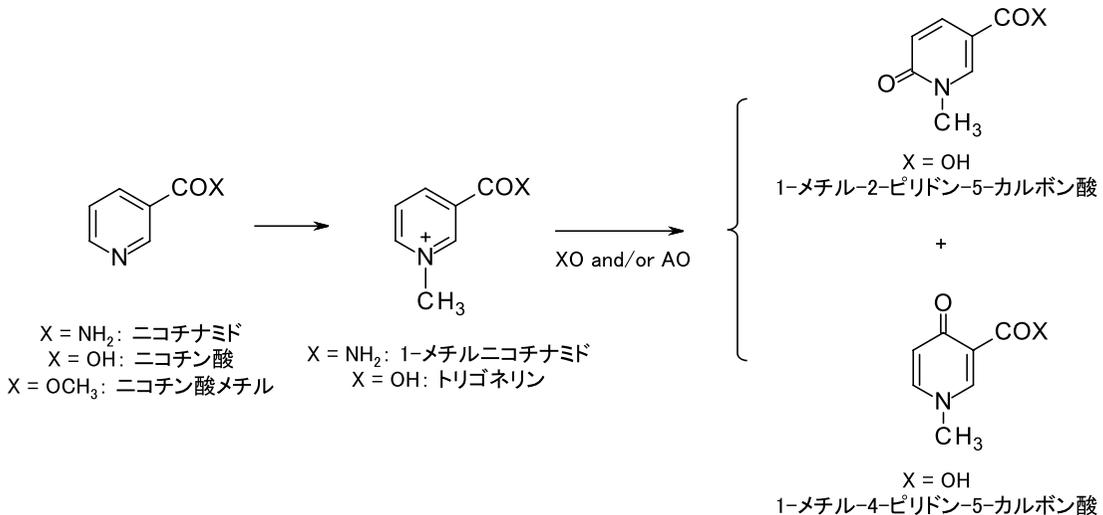


図 7 XO または AO の基質となるピリジニウム誘導体の代謝経路

めるとの指摘もあります<sup>24)</sup>。AO酵素の代表的な基質はニコチナミドです(図7)<sup>25)</sup>。情報は散発的ですが、ニコチン酸メチルの場合には、XO酵素を阻害して尿酸産生を抑制するとの報告があります<sup>26)</sup>。

ここで図7に示すように、ニコチナミドの代謝経路のなかで実際にAOの基質になるのは1-メチルニコチナミドです。これはピリジニウム4級塩基の1種ですが、3位置換基の種類によらずXO酵素に強い親和性を示します<sup>27)</sup>。このようなカテゴリーに属するコーヒー成分として、トリゴネリン(X=OH)に注目したいと思います。

コーヒーのトリゴネリンは、クロロゲン酸とカフェインに次いで含有量の多い成分ですが、焙煎すると分解します。しかしその分解速度は比較的遅いので、どんなコーヒーにも必ず入っているのです。トリゴネリンのXO酵素阻害作用の有無を予測する1つの方法として、飲んだ後の代謝物の有無が鍵になります。アロプリノールの場合もそうですが、XO酵素阻害物質は競合的に阻害活性を現わすので、阻害物質自体は代謝されるのです。トリゴネリンの場合には、代謝産物として2つのピリドン系化合物が産生するはず(図7)。

今から50年以上前に、ニコチナミドとその関連化合物の肝代謝を調べた論文があります<sup>28)</sup>。それによりますと、トリゴネリンの主代謝産物は1-メチル-2-ピリドン-5-カルボン酸であると正しく予測されています(図7)。しかし、当時の分析精度では確実なことは言えませんでした。2010年になって、コーヒーを飲んだ人の血液と尿を採取し、精密機器を駆使して精査した結果、コーヒーを飲んだときのトリゴネリンの代謝産物は1-メチル-2-ピリドン-5-カルボン酸だけであることが確認されました<sup>29)</sup>。しかし、トリゴネリンを代謝した酵素がXOなのかAOなのかは解っていません。もしXOで

あるならば、トリゴネリンがキサンチンやヒポキサンチンと競合拮抗して尿酸産生を阻害している可能性が高まります。近い将来、その答えが出るはず(図7)。

#### 4. 尿酸は諸刃の剣

第1節で述べましたように、血清尿酸値が高くても低過ぎても心血管病変が進むとの考えが専門家の間で認められつつあります<sup>11)</sup>。高尿酸血症の治療現場では、好ましい血清尿酸値は5~6mg/dLと考えるのが一般的です。これより高い場合には、その原因が尿酸産生にあるのか、または排泄にあるのかを見極めて、薬を選ぶことになるのです。もちろん食事指導も大事ですが、この場合にはアルコールを控えたりプリン体を食べないようにと指導されます。逆に、高尿酸血症を予防するような積極的な食事指導に定番はありません。

現状での問題点の1つは、高尿酸血症の治療薬が効き過ぎたときに起こります。この問題に対処するのは医師の役割ですが、患者側にも漫然と薬を飲む習慣は勧められません。少なくとも定期的な尿酸値の測定によって、薬の効き過ぎを未然に防ぐ心掛けが求められます。今はまだ医師の間でも、抗酸化物質としての尿酸の知識が行き渡っているかと言えば、残念ながらそうではありません。ですから、尿酸値は下がれば下がるほど良いとの考えで漫然と薬を処方し続ける医師もいないわけではないのです。

コーヒーは治療薬ではありませんから、一旦崩れた尿酸値の異常をコーヒーで改善することはできません。しかし、コーヒーを飲んでいれば高尿酸血症のリスクが減るだけでなく、発症後であっても悪化を防げるのではないかとの見方はあります。少なくともコーヒーを飲んで痛風が悪化するという証拠は何処にもありません。

おわりに

疫学調査によれば、コーヒーの尿酸値低下作用は1日1杯でも期待できますから、コーヒー消費量が増えるということは、生活習慣病人口が減ることを意味するはずですが、しかし現実はいくらほど甘いものではありません。尿酸値の異常に起因すると思われる腎臓病は、年々増加の一途をたどっています<sup>11)</sup>。コーヒーが尿酸値

を下げる薬理学の機序が解明されれば、より効果的なコーヒーを選べるようになり、コーヒー本来の予防効果が発揮できるようになると期待できます。痛風/高尿酸血症を予防するコーヒーの薬理学は、まだ完全には明らかになっていませんが、病気を予防するコーヒーの開発にとって、痛風/高尿酸血症の予防は、欠かせない目標の1つです。

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

- 1) Riegersperger M, Covic A, Goldsmith D. Allopurinol, uric acid, and oxidative stress in cardiorenal disease. *Int Urol Nephrol* **43**:441-449, 2011.
- 2) Verdecchia P, Schillaci G, Reboldi GP, *et al.* Relation between serum uric acid and risk of cardiovascular disease in essential hypertension. *The PIUMA Study. Hypertension* **36**:1072-1078, 2000.
- 3) Mazza A, Zamboni S, Rizzato E, *et al.* Serum uric acid shows a J-shaped trend with coronary mortality in non-insulin-dependent diabetic elderly people. The Cardiovascular Study in the ELderly (CASTEL). *Acta Diabetol* **44**:99-105, 2007.
- 4) De Vera M, Rahman MM, Rankin J, *et al.* Gout and the risk of Parkinson's disease: A cohort study. *Arthritis Rheumatism* **59**:1549-1554, 2008.
- 5) 市田公美. 高尿酸血症とメタボリックシンドローム. 日薬理誌 **136**:321-324, 2010.
- 6) Gao X, Curhan G, Forman JP, *et al.* Vitamin C intake and serum uric acid concentration in men. *J Rheumatol* **35**:1853-1858, 2008.
- 7) Choi HK. A prescription for lifestyle change in patients with hyperuricemia and gout. *Curr Opin Rheumatol* **22**:165-172, 2010.
- 8) 安西尚彦. 腎臓尿酸輸送の分子機序：新規創薬標的としての尿酸トランスポーター. 日薬理誌 **136**:316-320, 2010.
- 9) Lippi G, Montagnana M, Franchini M, *et al.* The paradoxical relationship between serum uric acid and cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta* **392**:1-7, 2008.
- 10) Sautin YY, Johnson RJ. Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **27**:608-619, 2008.
- 11) 久留一郎. 高尿酸血症と心血管障害. 日薬理誌 **136**:325-329, 2010.
- 12) Kiyohara C, Kono S, Honjo S, *et al.* Inverse association between coffee drinking and serum uric acid concentrations in middle-aged Japanese males. *Br J Nutr* **82**:125-130, 1999.
- 13) Pham NM, Yoshida D, Morita M, *et al.* The relation of coffee consumption to serum uric acid in Japanese men and women aged 49-76 years. *J Nutr Metab* 2010:Article ID 930757.
- 14) Choi HK, Curhan G. Coffee, tea, and caffeine consumption and serum uric acid level: The Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arthritis Rheumatism* **57**:816-821, 2007.
- 15) Choi HK, Willett W, Curhan G. Coffee consumption and risk of incident gout in men. *Arthritis Rheumatism* **56**:2049-2055, 2007.
- 16) Choi HK, Curhan G. Coffee consumption and risk of incident gout in women: the Nurses' Health Study. *Am J Clin Nutr* **92**:922-927, 2010.
- 17) Hakooz NMK. Caffeine metabolic ratios for the *in vivo* evaluation of CYP1A2, N-acetyltransferase 2, xanthine oxidase and CYP2A6 enzymatic activities. *Curr Drug Metab* **10**:329-338, 2009.

- 18) Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, *et al.* Molecular identification of a renal urate-anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature* **417**:447-452, 2002.
- 19) 鏡 圭介、岡 希太郎、コーヒーの香りの薬理学：GPR109 プロアゴニストとしての意義. *AROMA RESEARCH* **36**:332-338, 2008.
- 20) Olthof MR, Hollman PCH, Katan MB. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J Nutr* **131**:66-71, 2001.
- 21) 岡 希太郎. 高血圧を予防するコーヒーの薬理学. *New Food Industry* **53**, 27-36, 2011.
- 22) 鈴木 聡、岡 希太郎. コーヒーなどに含まれているカフェ酸とフェルラ酸の XO 阻害活性の比較. 日本薬学会第 130 年会要旨集 30P-pm173, 2010.
- 23) Farah A, Monteiro M, Donangelo CM, *et al.* Chlorogenic acid from green coffee extract are highly available in humans. *J Nutr* **138**:2309-2315, 2008.
- 24) Yamaguchi Y, Matsumura T, Ichida K, *et al.* Human xanthine oxidase changes its substrate specificity to aldehyde oxidase type upon mutation of amino acid residues in the active site: Roles of active site residues in binding and activation of purine substrate. *J Biochem* **141**:513-524, 2007.
- 25) Sugihara K, Tayama Y, Shimomiya K, *et al.* Estimation of aldehyde oxidase activity in vivo from conversion ratio of N1-methylnicotinamide to pyridines, and intraspecies variation of the enzyme activity in rats. *Drug Metab Dispos* **34**:208-212, 2006.
- 26) Falodun A, Qadir MI, Choudhary MI. Isolation and characterization of xanthine oxidase inhibitory constituents of *Pyrenacantha staudtii*. *Acta Pharm Sin* **44**:390-394, 2009.
- 27) Bunting JW, Laderoute KR, Norris DJ. Specificity of xanthine oxidase for nitrogen heteroaromatic cation substrates. *Can J Biochem* **58**:49-57, 1980.
- 28) Lindenblad GE, Kaihara M, Price JM. The occurrence of N-methyl-2-pyridone-5-carboxylic acid and its glycine conjugate in normal human urine. *J Biol Chem* **219**:893-901, 1956.
- 29) Lang R, Wahl A, Skurk T, *et al.* Development of a hydrophilic interaction chromatography-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry based stable isotope dilution analysis and pharmacokinetic studies on bioactive pyridines in human plasma and urine after coffee consumption. *Anal Chem* **82**:1486-1497, 2010.

# ナットウキナーゼの強力なエラスチン分解活性, およびエラストチナルによる阻害

須見 洋行\*1 内藤 佐和\*1 鈴木 理恵\*1 齋藤 丈介\*2 チャン リャンリャン\*2  
矢田貝 智恵子\*3 大杉 忠則\*1 吉田 悦男\*4 柳澤 泰任\*5 丸山 眞杉\*6

\*1 *SUMI Hiroyuki, NAITO Sawa, SUZUKI Rie, OHSUGI Tadanori* (倉敷芸術科学大学生命科学部 生命科学科)

\*2 *SAITO Josuke, ZHANG Liangliang* (株式会社ホンダトレーディング ヘルス&ウェルネス課)

\*3 *YATAGAI Chieko* (倉敷芸術科学大学生命科学部 健康科学科)

\*4 *YOSHIDA Etsuo* (倉敷芸術科学大学生命科学部 健康医療学科)

\*5 *YANAGISAWA Yasuhide* (千葉科学大学薬学部 薬学科)

\*6 *MARUYAMA Masugi* (宮崎大学医学部 応用生理学教室)

Key Words：ナットウキナーゼ・エラスターゼ・エラストチナル・脂質異常症・抗動脈硬化

## はじめに

エラスターゼは豚臓由来のものが最初に発見されたが、微生物由来のエラスターゼとしては、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) や *Bacillus* 属 *YaB* 株などの酵素が報告されている<sup>1)</sup>。好アルカリ性 *Bacillus* No.221 のアルカリ性プロテアーゼやズブチリシン BPN' などのプロテアーゼにもエラスターゼ活性があるとされる。また、カゼイン、フィブリンおよび変性コラーゲンも分解し、比較的基質特異性の低いプロテアーゼである。

納豆の伝承的な効能と、このエラスターゼ活性との関係についてはよく分かっていないが、これまでの研究で納豆中のエラスターゼ活性はナットウキナーゼそのものにあると考えられた<sup>2)</sup>。それは、市販納豆の水抽出液を等電点電気泳動にかけると、エラスターゼ活性およびナットウキナーゼ活性のピークは一致し、pI 約 8.7 を示すことから推測された。各々のアミノ酸配列分析の結果、N 末端 21 残基までが完全に一致すること、またこれらはすでに報告されているナットウキナーゼの N 末端配列とも一致する。

本著は、完全に純粋系でのナットウキナーゼのエラスターゼ活性、ならびに特異的阻害剤とされるエラストチナル (Elastatinal) の働きについて調べたものである。

## 1. 材料および方法

ナットウキナーゼ標品は (株) ホンダトレーディングより提供された計算分子量 27,724, pI8.7 のたんぱく質である<sup>3-5)</sup> (図 1)。これは日本の納豆菌から得たナットウキナーゼを完全に精製したもので、SDS-poly acrylamide 電気泳動で単一のタンパク帯を示した (図 2)。

Trypsin, Chymotrypsin, Elastatinal, 各合成基質は Sigma-Aldrich Corporation より購入。Lumbrokinase は Earthworm よりすでに我々が報告した方法<sup>6)</sup> で調製した。

ナットウキナーゼのアミダーゼ活性は合成基質を用い、0.17M Borate-saline buffer (pH7.8) で生じる pNA を 405 nm の吸光度で測定した<sup>7)</sup>。フィブリン分解活性はすでに報告した Fibrin plate 法<sup>8)</sup>、キニン産生は Magnus 法<sup>9)</sup>、エラスターゼ活性は Elastin-plate 法<sup>10)</sup> で調べた (Elastin,

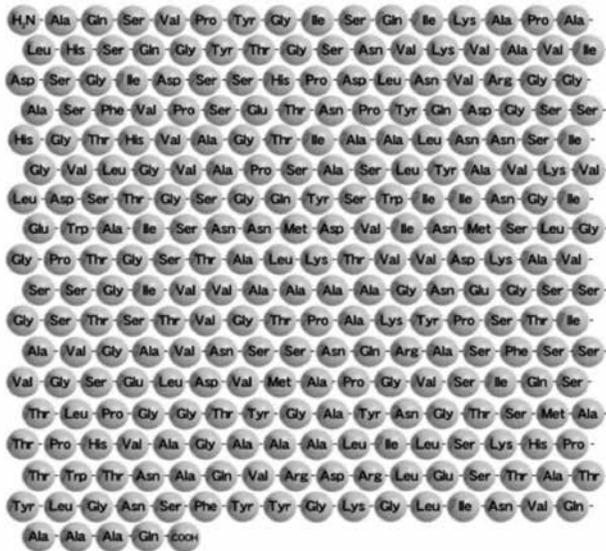


図1 ナットウキナーゼの構造

275個のアミノ酸が一本鎖でつながった構造（分子量27,724, pI8.7）を持つ。

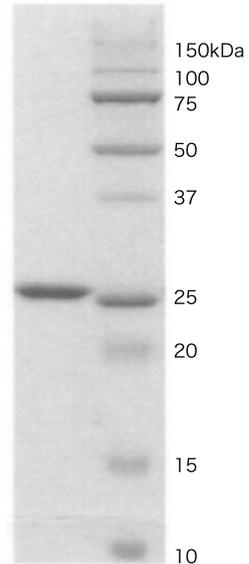


図2 ナットウキナーゼのSDS-PAGE

SDS-poly acrylamide 電気泳動では分子量27kDaの単一のバンドを示す。

bovine neck ligament, Sigma)。

抗血清は Freund's complete adjuvant を用い家兎 (New Zealand White) に皮下注射し得た。これより Kekwick に基づき  $\gamma$ -グロブリンを調製し、抗体として用いた。二重免疫拡散法 (Ouchterlony 法) は 1.5% 寒天を用い常法通りに行った。

## 2. 実験成績

ナットウキナーゼのアミダーゼ活性は合成基質分解法により測定した。12種類の合成基質の中で Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA を最もよく分解した (表1)。また、ナットウキナーゼは強いフィブリン分解活性を示すと同時に、カゼイン、ゼラチンなど種々の基質を分解した。Elastin-plate (2.5 mg/ml) でエラストラーゼ活性を検討した結果、この条件下で活性を示したのはナットウキナーゼ (2.9 mg/ml) のみであった (576 mm<sup>2</sup>/24hr) (図3)。また溶解窓の面積

表1 ナットウキナーゼの基質特異性

基質	$\mu\text{mol}/\text{min}$
Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA	3440.46
Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA	1775.72
MeO-Suc-Arg-Pro-Tyr-pNA	549.36
H-D-Ile-Pro-Arg-pNA	0.00
H-D-Val-Leu-Lys-pNA	0.00
pyro-Glu-Pro-Val-pNA	0.00
Suc-Ala-Ala-Ala-pNA	0.00
H-D-Phe-Pip-Arg-pNA	0.00
pyro-Glu-Gly-Arg-pNA	0.00
H-D-Pro-Phe-Arg-pNA	0.00
H-D-Val-Leu-Arg-pNA	0.00
Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA	0.00

基質濃度:  $5 \times 10^{-4}$  M; 0.17M BSB (pH 7.8)

は酵素濃度に応じて拡大した。この条件下では Trypsin (10 mg/ml), Chymotrypsin (10 mg/ml), Lumbrokinase (50 mg/ml) では全く Elastin-plate 上では活性は認められなかった。

Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA に対する アミダーゼ活性を精製したナットウキナーゼ, Carlsberg および BPN' で調べた (図4)。

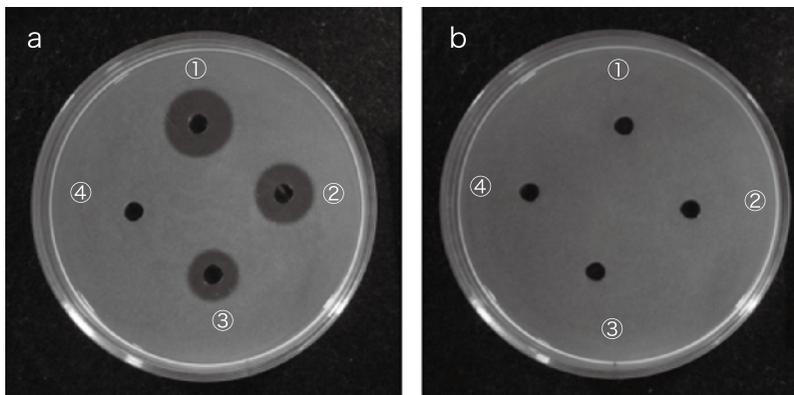


図3 エラスチン平板 (Elastin-plate 法) の分解

試料 30  $\mu$ l を BSB (pH 8.8) 中で 37 $^{\circ}$ C, 24 時間後に生じる溶解窓を測定したところ、エラスチンを分解するのはナットウキナーゼのみであった。

- a : ① Nattokinase 10 mg/ml, ② Nattokinase 5 mg/ml, ③ Nattokinase 2.5 mg/ml, ④ Control  
b : ① Trypsin 10 mg/ml, ② Chymotrypsin 10 mg/ml, ③ Lumbrokinase 50 mg/ml, ④ Control

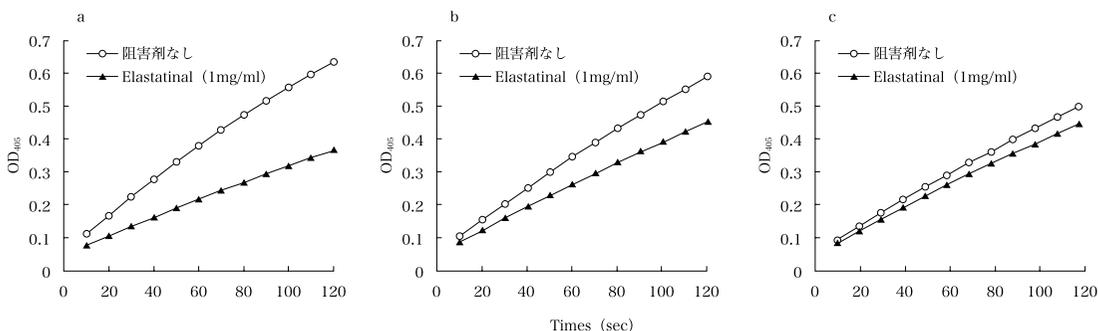


図4 エラストチナルによる各酵素の阻害

Bz-Ile-Glu-(OR)-Gly-Arg-pNA の分解能を 0.17 M BSB (pH 7.8) で測定。

- a : Nattokinase ; b : Carlsberg ; c : BPN'

次にエラスターゼ活性に対するエラストチナルの効果を検討した。特にエラストチナルはナットウキナーゼに対して非常に強く阻害することが分かった。0, 0.5, 1.0 mg/ml のエラストチナルを加えると各々 Linewerver-Burk Prot ではきれいな直線関係を示し,  $K_m=3.91 \times 10^{-3}M$ ,  $K_i=6.00 \times 10^{-6}M$  であった (図5)。

ナットウキナーゼは強いフィブリン分解活性を示し, またキニン形成能を有したが, エラストチナルはこれらの活性に対しても強く阻害した。

ナットウキナーゼに対する抗血清による抗体は二重免疫拡散法でナットウキナーゼと強く反応したが, 同一条件下で Carlsberg, BPN' とは反応しなかった (図6)。抗体によって血中のフィブリン分解活性はほぼ完全に消失し, エラスターゼ活性も同様であった。このことから, 納豆中に存在するフィブリン分解活性およびエラスターゼ活性はナットウキナーゼによるものであると推測される。

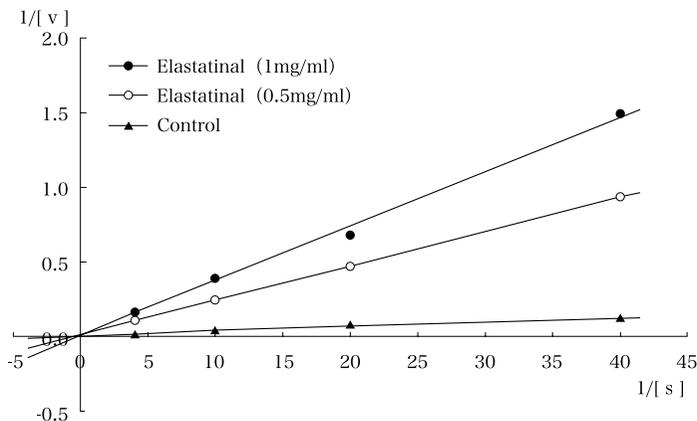


図5 エラスタチナルによるナットウキナーゼの阻害

Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA の分解能を 0.17M BSB (pH7.8) で測定。

Elastatinal は 24.4  $\mu$ M, 48.8  $\mu$ M で Lineweaver-Burk プロットした結果,  $K_m=3.91 \times 10^{-3}$ M;  $K_i=6.00 \times 10^{-6}$ M であった。

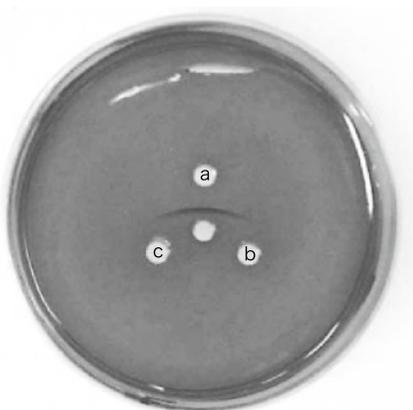


図6 二重免疫拡散法

中央にナットウキナーゼの抗血清を入れ、二重免疫拡散法を行った。

a: Nattokinase 0.25mg/ml; b: BPN<sup>7</sup> 0.25mg/ml; c: Carlsberg 0.25mg/ml

#### おわりに

完全に精製したナットウキナーゼは、アミノ酸 275 残基が一本鎖でつながったポリペプチド構造を持つ。この酵素はエラスターゼ活性を示

したが、その活性はエラスタチナルによって強く阻害されること (Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-pNA を用い,  $K_i=6.00 \times 10^{-6}$ M) を明らかにした。エラスタチナルとはエラスターゼの特異的阻害剤として知られているものである。

また、納豆中のエラスチン分解活性は抗体でほぼ全て中和されることからナットウキナーゼで説明できると思われた。エラスターゼは現在主にブタ膵臓由来のものが、臨床的に脂質異常症の改善<sup>11)</sup>、あるいは抗動脈硬化目的<sup>12)</sup>で経口投与剤として使用されている。伝承的発酵食品の効能とエラスターゼ活性<sup>13), 14)</sup>との関連についてさらに検討することにより、新たな利用価値を見出せると思う。

なお、この論文の内容は一部を ISTH2011 で報告した (H. Sumi, S. Naito, J. Saito, M. Maruyama, Elastase activity and elastatinal inhibition of nattokinase, XXIII Congress of ISTH, P-TU-269, Kyoto, 2011)。

..... 参考文献 .....

- 1) K. Muramatsu, N. Yamawake, T. Yoshimi, Y. Kanai, M. Kimura and K. Kiuchi, Purification and crystallization of a new *Bacillus subtilis* elastase, *J. Home Econ. Jpn.*, **51**, 1127-1135, 2000.
- 2) 須見洋行, 吉川美佐子, 馬場智子, 松原主典, 久保田英史, 納豆中のエラスターゼ活性とナットウキナーゼ, *農化誌*, **73**, 1187-1190, 1999
- 3) H. Sumi, N. Taya and H. Hiratani, Structure fibrinolytic properties of nattokinase, *Fibrinolysis*, **6**, 86, 1992.
- 4) 須見洋行, 納豆の機能性, 喜多村啓介編集, 大豆のすべて, 東京, サイエンスフォーラム, p.298-300, 2010.
- 5) Y. Yanagisawa, T. Chatake, K. Chiba, S. Naito, T. Ohsugi, H. Sumi, I. Yasuda and Y. Morimoto, Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction experiment of nattokinase from *Bacillus subtilis natto*, *Acta. Cryst.* **F66**, 1670-1673, 2010.
- 6) H. Sumi, N. Nakajima and H. Mihara, A very stable and potent fibrinolytic enzyme found in earthworm *Lumbricus rubellus* autolysate, *Comp. Biochem. Physiol.*, **106B**, 763-766, 1993.
- 7) 須見洋行, ナットウキナーゼ, 木内幹監修, 納豆の研究法. 東京, 恒星社厚生閣, p.158-160, 2010.
- 8) H. Sumi, H. Hamada, H. Tsushima, H. Mihara and H. Muraki, A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean in food of the Japanese diet, *Experientia*, **43**, 1110-1111, 1987.
- 9) C. R. Diniz and I. F. Carvalho, A micromethod for determination of bradykininogen under several conditions, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **104**, 77-89, 1963.
- 10) A. J. Sbarra, R. F. Gilfillan and W. A. Bardawil, A plate assay for elastase, *Nature*, **188**, 322-323, 1960.
- 11) 山本祐夫, 吉村良之介, エラスターゼの線溶系の因子に及ぼす影響について, *基礎と臨床*, **9**, 1177-1790, 1975.
- 12) K. Hayashi, K. Takamizawa, T. Nakamura, T. Kato and N. Tsushima, Effects of elastase on the stiffness and elastic properties of arterial walls in cholesterol-fed rabbits, *Atherosclerosis*, **66**, 259-67, 1987
- 13) 須見洋行, 柳沢泰任, 矢田貝智恵子, 市販納豆に含まれる血液凝固線溶関連物質, 第52回日本家政学会大会要旨集, p.64, 2000.
- 14) H. Sumi, M. Imai, S. Naito, C. Yatagai and E. Yoshida, Tempeh enhanced activity with minerals and specificity for synthetic amide substrates, *J. Tempe Soc. Jpn.*, **Vol.8**, 2011. (in press)

# Opti MSM について

瀧山 和志\*

\* TAKIYAMA Kazushi (クロレラ工業株式会社 生産本部 R/D 部 クリエイト第二室)

Key Words : MSM (メチルサルフォニルメタン)・Opti MSM・関節痛・抗炎症作用・抗酸化作用

## はじめに

MSM (メチルサルフォニルメタン) は硫黄を含有する食品素材であり、関節痛などに対する効果が注目され、MSM 単独もしくはグルコサミンやコンドロイチン等と混合した形で、世界各国で販売されている。

MSM は関節痛に対する効果を謳った商品が多いが、近年では変形性関節症、関節リウマチといった関節痛だけでなく、アレルギーの緩和作用や抗酸化作用などについても注目されている。

本稿では、MSM の一般的特徴や、機能性に関する研究の一部を紹介するとともに、Bergstrom Nutrition (バーグストロームニュートリション) 社のブランド製品である Opti MSM (オプティエムエスエム) について紹介する。

## 1. MSM について

### ① MSM と硫黄

MSM は牛乳、野菜、果物など多くの食品中に微量に含まれている成分であり<sup>1)</sup>、硫黄を約 34% 含有している。硫黄は生体内でカルシウム、リン、カリウムに次いで 4 番目に豊富なミネラルで、特に髪、爪、皮膚、軟骨等に多く含まれている。そのため、MSM はこれら

の組織への硫黄の供給源となり美容や関節保護に働くといわれている。実際、ラットを用いた試験において、摂取した MSM 中の硫黄が体内の各組織に取り込まれることが確認されている<sup>2,3)</sup>。

### ② MSM の摂取目安量

MSM は様々な食品に含まれてはいるが、その量はわずかである。また、MSM は加工や調理の過程において損失するため<sup>4)</sup>、MSM の機能性を期待するには食事による摂取に加えサプリメント等で補う必要がある。日本における機能性食品としての MSM の一日摂取目安量は多くて 3g 程であるが、米国では一日摂取目安量を 8g 程に設定している製品もある。

### ③ MSM の販売実績

MSM は米国において、1990 年代よりすでに機能性食品として使用されており、現在では年間 150 億円を越す市場規模を築いている。日本において食品としての利用が認められたのは 2001 年になるが、錠剤やドリンクといった形態で様々な製品が販売されており、現在では国内市場規模は年間約 10 億円にまで成長している。

### ④ MSM の臨床での使用実績

オレゴン州立保健科学大学のジャコブ博士は著書のなかで、20 年以上に渡り 18,000 人以上

の患者に MSM を使用してきたと述べ、その臨床での使用例の一部を記している<sup>5)</sup>。ジャコブ博士は、変形性関節症、関節リウマチ、花粉症、気管支喘息、膀胱炎、強皮症、全身性エリテマトーデス等、様々な疾患に対して MSM を用いた治療を行い、効果を得ている。MSM の使用量は、通常 1 日当たり 2～8g 程度を患者に投与していたが、場合によっては 1 日で 100g 以上投与することもあった。しかし、それほど大量に MSM を投与した場合も特筆すべき副作用はなく、安全に治療効果が得られたという。

### ⑤ MSM の製造方法

商業的に利用される MSM は、主に DMSO (ジメチルスルフォキシド) を酸化することで製造される。製造された MSM の精製方法には、主に結晶化法と蒸留法の 2 種類があるが、結晶化法は重金属等の不純物が混入しやすく、蒸留法で精製した方が不純物の少ない MSM が得られると言われている。

## 2. Opti MSM (オプティエムエスエム) について

Opti MSM は米国の Bergstrom Nutrition (バークストロームニュートリション) 社で製造される MSM のブランド製品であり、米国だけでなく、日本、英国、豪州、韓国をはじめとする世界各国で販売されている。

Opti MSM は蒸留法で精製されており、その純度は 99.8% 以上である。また、微生物、重金属等の項目にも規格値を定めてロット毎に検査が行われている。Opti MSM の規格値は表 1 に示す。Opti MSM を製造しているバークストロームニュートリション社の工場は ISO9001 を取得しており、適正な製造工程管理が行われている。また、FSSC22000 と呼ばれる、食品の安全に関わる国際的規格も認証取得している。FSSC22000 は、国際的な食品メーカーや食品流通会社の連合組織である国際食品安全イ

表 1 Opti MSM の規格

項目	規格値
MSM 含量	99.8% 以上
融点	109.5 ± 1.0℃
水分	0.1% 以下
一般細菌	10cfu/g 以下
酵母 / 真菌	10cfu/g 以下
大腸菌群	10cfu/g 以下
アルミニウム	1.0ppm 以下
ヒ素	0.010ppm 以下
カドミウム	0.005ppm 以下
水銀	0.001ppm 以下
鉛	0.010ppm 以下

ニシアチブ (GFSI) より承認を受けた食品安全規格である。

さらに、Opti MSM は製造工程の管理、安全性に関する規格、多数の安全性を示す報告より、その安全性が認められてアメリカ食品医薬品局 (FDA) の GRAS (グラス) 認証を取得している。日本においても、(財) 日本健康・栄養食品協会が認証機関となる健康食品の安全性自主点検認証を取得している。

## 3. Opti MSM の安全性

Opti MSM の安全性を示す様々な報告がある。ラットを用いた単回投与毒性試験では、体重当たり 20g/kg の投与で死亡例および毒性は見られなかった<sup>6)</sup>。また、3%MSM 水をマウスに 13 週間飲水投与した反復投与毒性試験では、1 日当たり約 8g/kg の MSM 摂取において死亡例および毒性は見られなかった<sup>7)</sup>。この摂取量は、ヒトが 1 日 3g 摂取した場合の 150 倍以上にも相当する。

発癌性の評価にも用いられる復帰突然変異試験<sup>8)</sup> および染色体異常試験<sup>9)</sup> のどちらにおいても、遺伝毒性を示さなかった。催奇形性試験では、妊娠したラットに 1 日当たり 1g/kg ずつ 2 週間投与したところ、母親と胎児のどちらに

も異常は見られなかった<sup>10)</sup>。眼および皮膚に対する刺激試験においても、どちらに対しても刺激性はなかった<sup>11)</sup>。また、ヒトに対しても、特筆すべき副作用がなく安全に使用できたとする臨床試験の報告がある<sup>12-14)</sup>。このような複数の試験結果より、Opti MSM は非常に安全に利用できるといえる。

#### 4. MSM の機能性

MSM の機能性に関する研究の一部を紹介する。

##### ① 抗炎症作用

長谷川ら<sup>15)</sup>は、各種の炎症モデルマウスを用いて MSM の抗炎症作用を調べている。紫外線による皮膚炎症モデル、アレルギーによる炎症モデル、薬剤（ヒスタミン）による炎症モデルのそれぞれで、MSM の抗炎症作用が確認されている。

紫外線による皮膚炎症モデルを用いた試験では、ヘアレスマウス（体毛のないマウス）に紫外線を定期的に照射したところ、背部皮膚に炎症を引き起こした。しかし、MSM を含有する軟膏を紫外線照射の直前に塗布したマウスでは、紫外線照射による背部皮膚の炎症が軽度に抑えられていた（図1）。また、炎症の指標となる血清シアル酸値も MSM 含有軟膏を塗布し

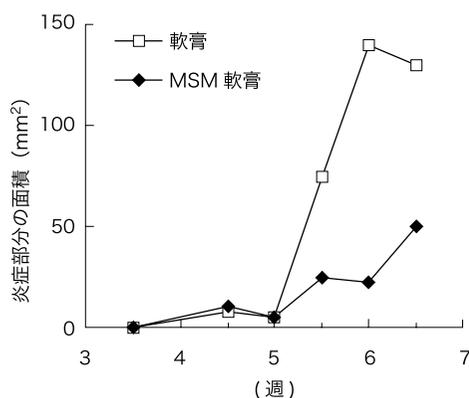


図1 紫外線による皮膚炎症への MSM の効果

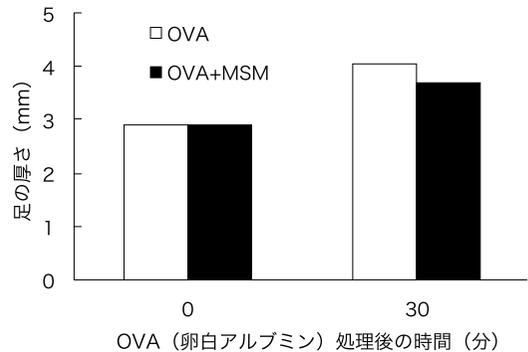


図2 アレルギーによる足の腫れへの MSM の効果

たマウスでは低くなっていた。この結果より、MSM の塗布が紫外線による皮膚の炎症を緩和することで、日焼け対策などにも役立つ可能性が考えられる。

アレルギーによる炎症モデルを用いた試験では、卵白アルブミン（OVA）に対してアレルギー反応を引き起こすよう処置したマウスの足の裏に OVA を皮内投与したところ、投与から 30 分後に足が腫れて厚さが増していた。しかし、MSM を飲水に 2.5% 添加して摂取させていたマウスでは、足の腫れが軽度に抑えられていた（図2）。この結果より、MSM がアレルギーによる炎症の症状を緩和する可能性が示唆される。

薬剤（ヒスタミン）による炎症モデルを用いた試験では、マウスにヒスタミンを皮内注射して誘発される痒みによる皮膚の引っ掻き行動が、MSM を飲水に 2.5% 添加して摂取させていたマウスでは抑制される傾向にあった（図3）。ヒスタミンはアレルギー反応が生じたときに細胞から放出される痒みの誘発物質であるが、アトピー性皮膚炎等においてはヒスタミンで誘発される痒みが我慢できなくなって皮膚を引っ掻いてしまい、皮膚のバリア機能が失われてさらに症状が悪化するという悪循環がよく問題になる。この試験では、MSM がヒスタミンで誘発される痒みを抑えることで、そのような悪循

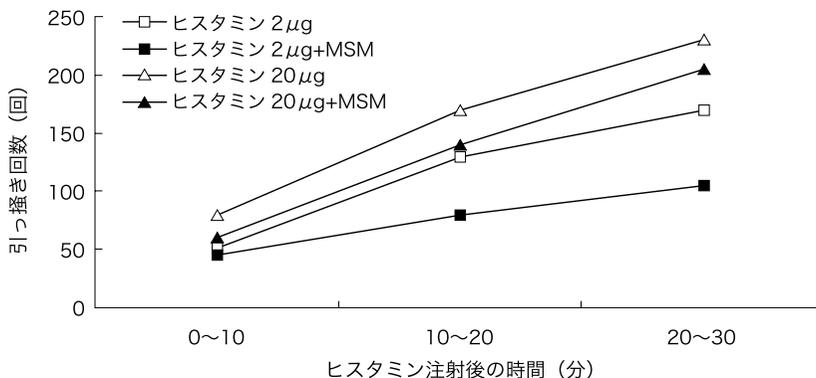


図3 ヒスタミンに誘発される痒みへのMSMの効果

環を断つ可能性が示唆された。

### ②抗酸化作用

ヒトは呼吸により酸素を取り入れてエネルギーを作り出しているが、その過程において活性酸素が発生している。活性酸素は紫外線、喫煙、ストレス、激しい運動等を引き金に過剰発生することがわかっているが、過剰な活性酸素は体内でDNA、タンパク質、脂質等を変性させて、癌、動脈硬化、アルツハイマー等をはじめとする様々な疾患の要因となると言われている。そのため、近年では食品のもつ活性酸素による傷害を緩和する作用、すなわち抗酸化作用が注目され、サプリメント等でも抗酸化作用を謳った商品が販売されている。

Maranon ら<sup>16)</sup>は、MSMの抗酸化作用に関する試験を行っている。この試験では、運動負荷を与えたウマにMSMを投与して、体内で酸化物質として働くグルタチオンや、活性酸素による傷害の指標となる脂質過酸化物を測定している。結果は、MSM投与により、運動負荷による血清グルタチオンの減少と血清脂質過酸化物の増加が緩和されていた。

同様に、Disilvestro ら<sup>17)</sup>の報告においても、MSM投与によりマウスの肝臓中グルタチオンが増加しており、四塩化炭素による肝臓の酸化傷害が緩和されている。

グルタチオンはグルタミン酸、システイン、

グリシンの三つのアミノ酸から成るペプチドであり、硫黄を構成成分として含んでいる。上記2つの試験ではMSMが硫黄の供給原となってグルタチオンの枯渇を防ぎ、グルタチオンが抗酸化作用を発揮することで、活性酸素による傷害が抑えられた可能性が考えられる。

実際、モルモットを用いた試験では、MSMに含まれる硫黄が体内でシステインの合成に利用されることが確認されている<sup>18)</sup>。

また、Kim ら<sup>12)</sup>の行った変形性膝関節症患者を対象とした臨床試験においても、MSM投与群は活性酸素による傷害の指標となる尿中マロンジアルデヒド量が減少しており、MSM摂取によって体内での酸化傷害が抑えられることが確認されている。

### ③変形性膝関節症への作用

変形性膝関節症は、加齢や肥満、激しい運動などが原因となって膝関節の軟骨が擦り減り、骨が変形して炎症を引き起こす疾患であり、発症した患者は痛みにより膝関節の動きが制限されて生活の質が低下する。厚生労働省の介護予防の推進に向けた運動器疾患対策に関する検討会の報告書(平成20年)によると、国内では自覚症状のある患者だけでも約1000万人、自覚症状はないものの既に関節の変形が生じている患者も含めれば約3000万人の変形性膝関節症患者がいると推計されている。特に高齢者に

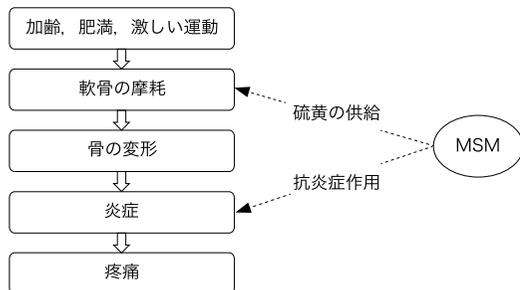


図4 変形性膝関節症の進行とMSMの作用点

発症しやすい疾患であるため、今後さらに高齢化の進む日本において、変形性膝関節症の患者はますます増え続けることが予想される。

変形性膝関節症の患者には、炎症を抑えるために非ステロイド性抗炎症剤（NSAID）が投与される場合が多いが、NSAIDは副作用として胃や腸の出血等を引き起こす場合がある。そのため、安全に利用できるMSMの抗炎症作用・鎮痛作用が注目されている。

さらに、MSMは変形性膝関節症の炎症を抑えるだけでなく、その原因となる関節軟骨の劣化に対しても有効に働くと考えられている。関節炎を発症しているウマの関節軟骨は硫黄含量が通常の1/3程度にまで減少しているという報告があり<sup>19)</sup>、硫黄の供給が関節軟骨の保護に重要な役割を果たすと考えられる。実際、ウサギをモデル動物とした試験では、MSM溶液の関節への直接注入により関節軟骨の変性と摩耗が緩和されていた<sup>20)</sup>。

Kimら<sup>12)</sup>は、変形性膝関節症患者を対象としてMSMを用いた臨床試験を行っている。被験者を無作為にMSM群と対照群に群分けして、MSM群にはMSMを、対照群にはプラセボ（偽薬）を、それぞれ1日6gずつ12週間投与して、問診により膝関節の痛みを数値化して記録した。その結果、MSM群はプラセボ群よりも膝関節の痛みが改善されていた（図5）。

Usha<sup>21)</sup>らは、変形性膝関節症患者に対して、

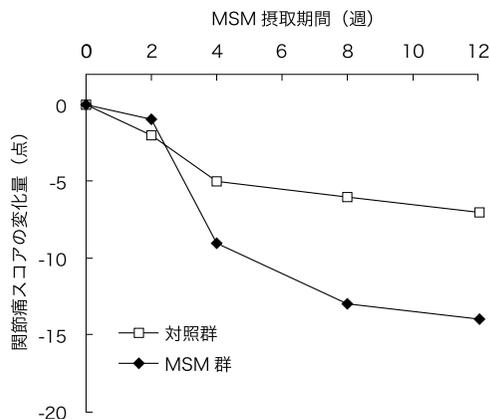


図5 関節痛へのMSMの効果

MSMとグルコサミンの単独または併用による臨床試験を行っている。無作為に群分けした被験者に、MSMを1.5g/日、グルコサミンを1.5g/日、単独または併用で12週間投与したところ、関節の痛み、腫れ、機能が改善しており、その効果はMSMとグルコサミンの併用でより強く表れていた。

#### ④関節リウマチへの作用

関節リウマチは、自己免疫疾患の一種である。主に関節内に慢性的な炎症を生じ、関節の変形・硬直を引き起こす疾患であるが、関節の症状以外にも貧血や微熱、全身倦怠感などの全身症状を合併することもある。

厚生労働省のリウマチ・アレルギー対策委員会報告書（平成17年）によると、国内患者数は約60万人と推計されており、その中で入院治療を受けている患者の割合は約20%、さらに入院患者の約20%は3ヶ月以上の長期入院を要している。

関節リウマチの治療には症状の進行具合によって非ステロイド性抗炎症剤（NSAID）、ステロイド剤、免疫抑制剤等が投与されるが、いずれも副作用を引き起こす場合がある。そのため、安全性の高いMSMの抗炎症作用・鎮痛作用が注目されている。

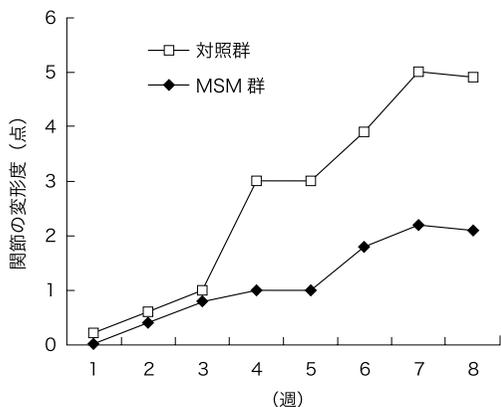


図6 リウマチによる関節の変形へのMSMの効果

長谷川ら<sup>22)</sup>は、関節リウマチの動物モデルであるコラーゲン誘発関節炎マウスを用いて、MSMの関節リウマチに対する有効性を検討している。リウマチ様関節炎を発症させたマウスは、手足の関節の変形を引き起こしたが、MSMを飲水に2.5%添加して摂取させたマウスでは、関節炎による手足の関節の変形が抑えられていた(図6)。

#### ⑤花粉症への作用

花粉症は全国平均で20%程も患者がいると言われている日本の国民病である。その症状は、くしゃみ、鼻水、鼻詰まり、目のかゆみといった良く知られた症状のみでなく、頭痛、微熱、倦怠感なども生じるやっかいな病気である。これらの症状は、鼻や目の粘膜に接触した花粉に対する免疫反応で引き起こされる炎症が原因であるので、MSMのような抗炎症作用をもつ食品は花粉症の症状の緩和に役立つと考えられる。

Barrager<sup>13)</sup>らは、花粉症患者50名にMSMを1日2.6gずつ4週間投与して、1週間毎に患者の全身のアレルギー症状を数値化して記録した。MSMを摂取した患者は、摂取開始から1週間後には全身のアレルギー症状が緩和されており、その後もアレルギー症状は次第に緩和されていった(図7)。

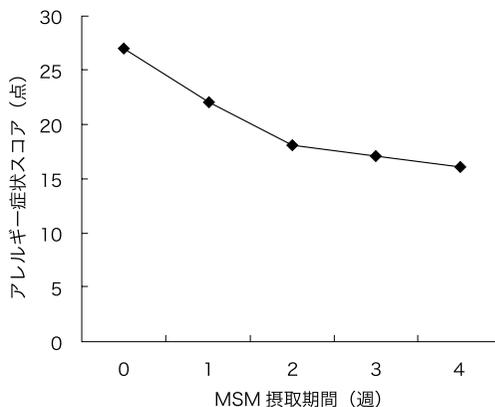


図7 花粉症へのMSMの効果

#### おわりに

MSMは関節痛やアレルギーに対する効能が注目され、近年普及してきている機能性食品である。

今回、MSMの抗炎症作用、抗酸化作用、そして変形性膝関節症、関節リウマチ、花粉症に対する緩和作用の研究を紹介した。しかし、これらはMSMの機能性の研究報告の一部であり、現在もMSMに関する新規の研究は次々と報告されている。

MSMの変形性関節症、リウマチ等に対する効能は主に抗炎症作用によるものと考えられる。通常、炎症を抑えるためにはNSAIDやステロイド剤等が患者に投与されるが、これらの抗炎症剤の服用は副作用の心配もある。それに対して、MSMはジャコブ博士の臨床での使用実績においても、各種臨床試験においても特筆すべき副作用なく、安全に使用されている。また、実験動物や培養細胞等を用いた各種毒性試験の結果からも、MSMの安全性は高いものと考えられる。

このように、硫黄成分の補給や抗炎症作用、抗酸化作用等が期待できるだけでなく、きわめて安全に利用できるという点からも、MSMの研究のさらなる進展が期待される。

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

- 1) Pearson TW, Dawson HJ, Lackey HB: Natural occurring levels of dimethyl sulfoxide in selected fruits, vegetables, grains, and beverages. *J Agric Food Chem*, **29**(5): 1089-1091, 1981.
- 2) Otsuki S, Qian W, Ishihara A, *et al*: Elucidation of dimethylsulfone metabolism in rat using a <sup>35</sup>S radioisotope tracer method. *Nutrition Research*, **22**(3), 313-322, 2002.
- 3) Magnuson BA, Appleton J, Ames GB: Pharmacokinetics and distribution of [<sup>35</sup>S] methylsulfonylmethane following oral administration to rats. *J Agric Food Chem*, **55**(3), 1033-1038, 2007.
- 4) Steely JS: Chemiluminescence of sulfur compounds in cooked milk. Sulfur Compounds in Foods, Mussinan JC, Keelan ME. *American Chemical Society*, 22-35, 1994.
- 5) Jacob SW, Appleton J: MSM The Definitive Guide. Freedom Press, 2002.
- 6) Acute intragastric toxicity (LD-50) dimethyl sulfone (methylsulfonylmethane, MSM). Laboratory of Vitamin Technology, Inc., Chicago, Illinois, August 21, 1958.
- 7) 瀧山和志, 小西史子, 中嶋裕也, 他: マウスへの Methylsulfonylmethane(MSM) の単回及び 13 週間反復経口投与による毒性試験. 応用薬理, **79**(1/2): 23-30, 2010.
- 8) MSM パウダーの微生物を用いる変異原性試験, 試験コード番号: P01-4562, 財団法人 化学物質評価研究機構 日田事業所.
- 9) MSM パウダーのは乳類培養細胞を用いる簡易染色体異常試験, 試験コード番号: P06-1323, 財団法人 化学物質評価研究機構 日田事業所.
- 10) Magnuson BA, Appleton J, Ryan B, *et al*: Oral developmental toxicity study of methylsulfonylmethane in rats. *Food and Chemical Toxicology*, **45**: 977-984, 2007.
- 11) Ocular and dermal irritation assay for Opti MSMTM brand of methylsulfonylmethane. Flora Research Laboratories, 32158 Camino Capistrano, Suite A435, San Juan Capistrano, CA 92675.
- 12) Kim LS, Axelrod LJ, Howard P, *et al*: Efficacy of methylsulfonylmethane (MSM) in osteoarthritis pain of the knee: a pilot clinical trial. *OsteoArthritis and Cartilage*, **14**: 286-294, 2006.
- 13) Barrager E, Veltmann JR, Schauss AG, *et al*: A multicentered, open-label trial on the safety and efficacy of methylsulfonylmethane in the treatment of seasonal allergic rhinitis. *J Altern Complement Med*, **8**(2), 167-173, 2002.
- 14) 犬塚守人, 細野伸子, 二宮智恵, 他: 関節痛を有する成人患者を対象とした MSM 錠反復経口摂取による安全性並びに有効性の検討. 薬理と臨床, **14**(5): 619-625, 2004.
- 15) 長谷川節, 上野すぎ, 隈本正一郎: メチルスルフォニルメタン (MSM) の抗炎症作用に関する研究. 薬理と治療, **33**(12): 1217-1223, 2005.
- 16) Maranon G, Escassi BM, Manley W, *et al*: The effect of methyl sulphonyl methane supplementation on biomarkers of oxidative stress in sport horses following jumping exercise. *Acta Vet Scand*, **50**(1), 45, 2008.
- 17) DiSilvestro RA, DiSilvestro David J, DiSilvestro Daniel J: Methylsulfonylmethane (MSM) intake in mice produces elevated liver glutathione and partially protects against carbon tetrachloride-induced liver injury. *FASEB J*, **22**, April 5, 445.8, 2008.
- 18) Richmond VL: Incorporation of methylsulfonylmethane sulfur into guinea pig serum proteins. *Life Sciences*, **39**(3): 263-268, 1986.
- 19) Rizzo R, Grandolfo M, Godeas C, *et al*: Calcium, sulfur, and zinc distribution in normal and arthritic articular equine cartilage: a synchrotron radiation-induced X-ray emission (SRIXE) study. *J Exp Zool*, **273**(1), 82-86, 1995.
- 20) Amiel D, Healey RM, Oshima Y: Assessment of methylsulfonylmethane (MSM) on the development of osteoarthritis (OA): An animal study. *FASEB J*, **22**, April 5, 1094.3, 2008.
- 21) Usha PR, Naidu MU: Randomised, double-blind, parallel, placebo-controlled study of oral glucosamine, methylsulfonylmethane and their combination in osteoarthritis. *Clin Drug Investig*, **24**(6), 353-363, 2004.
- 22) 長谷川節, 上野すぎ, 隈本正一郎, 他: マウス II 型コラーゲン誘発関節炎モデルにおける Methylsulfonylmethane(MSM) の関節炎軽減作用, 薬理と治療, **32**(7), 421-427, 2004.

# パプリカ色素による脂質代謝調節作用

前多 隼人\*1 斉藤 修一\*2 阿部 美菜子\*3 中村 望\*4 片方 陽太郎\*5

\*1 MAEDA Hayato, \*2 SAITHO Shuichi, \*3 ABE Minako, \*4 NAKAMURA Nozomi, \*5 KATAGATA Yohtarō  
(弘前大学農学生命科学部)

Key Words：カロテノイド・メタボリックシンドローム・脂肪細胞・パプリカ・アディポサイトカイン

## はじめに

パプリカ (*Capsicum annuum*) はナス科トウガラシ属であり、ピーマンやトウガラシの一品種に分類されている。日本国内では料理に彩りを与える野菜として、炒め物やサラダなどによく使われている。また、パプリカから抽出したパプリカ色素は赤色の食用天然色素として食品添加物に利用されている。パプリカ色素の特徴としては耐熱性が高く、加熱殺菌や食品の加工過程でも退色しにくい利点がある。食品の色は、見た目による美しさや鮮度の高さなど、視覚的なおいしさを提供する要素である。また、特に近年ではアントシアニンやカロテノイドなどの天然の色素成分による、ヒトの健康に

対する機能性が解明されてきており、これらの付加的機能が注目されている。本研究ではパプリカに含まれる色素による、肥満に関する疾患の予防、改善作用について検討をおこなった。

## 1. パプリカ色素とカロテノイドの機能

パプリカの色素成分にはカロテノイドが豊富に含まれている。主な色素としてはカプサンチン、カプソルビン、 $\beta$ -カロテンなどが挙げられる。特に多いカロテノイドはカプサンチン ( $C_{40}H_{56}O_3$ ) であり、カロテノイドの中でも分子中に酸素分子をもつキサントフィルに分類される (図1)。カプサンチンはパプリカの他、

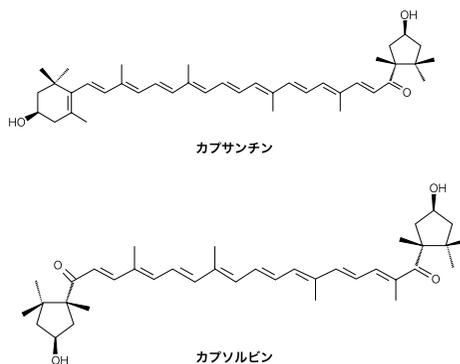
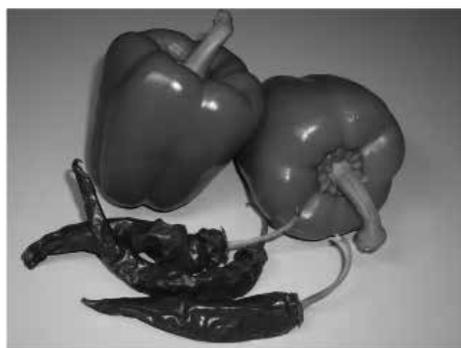


図1 (左) パプリカとトウガラシ (弘前在来とうがらし 清水森ナンバ)  
(右) パプリカやトウガラシに含まれるカプサンチンとカプソルビン

トウガラシにも含まれる。カプサンチンの生理作用としては他のカロテノイド類と同様に、抗酸化作用が挙げられ、魚介類に含まれるアスタキサンチンやトマトなどに含まれるリコペンよりも強い一重項酸素消去活性が報告されている<sup>1)</sup>。また、細胞実験や動物実験によって発がんプロモーションの抑制活性や、大腸がんの抑制が明らかとなっている<sup>2,3)</sup>。

更に最近では肥満に関係する生活習慣病に関する予防改善作用についても、動物実験及び臨床試験によって明らかになりつつある。Aizawaらはカプサンチンを投与したWister系ラットの実験で、血漿中の総コレステロールや中性脂質濃度に顕著な影響を与えることなく、HDLコレステロール濃度のみを上昇させることを報告している<sup>4)</sup>。この作用メカニズムとしては、肝臓中のアポリポタンパク質 (apoA5)、レシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT) の発現増加によることが明らかにされている。LCATはHDLコレステロールに結合しておりコレステロールの代謝をおこなう。また、臨床試験としてはカプサンチンを含む赤ピーマンジュースを2週間摂取したところ、血液中のHDLコレステロールが上昇することが報告されている<sup>5)</sup>。

## 2. 脂肪細胞でのアディポサイトカイン分泌調節作用

我々はこれまでの研究で、食品中に含まれるカロテノイドによる脂肪細胞に対する作用の研究を進めてきた。一例として、ワカメなどの褐藻類に含まれるカロテノイドの一種であるフコキサンチンが挙げられる。フコキサンチンを含むワカメ脂質を肥満糖尿病モデルマウスであるKK-*A*<sup>y</sup>マウスに投与すると、白色脂肪組織の重量が有意に低下する。また、脂肪細胞から分泌されるホルモン様物質で、糖尿病の原因となる

アディポサイトカインの分泌を調節し、高血糖値が改善される<sup>6,7)</sup>。この作用は肥満糖尿病モデルマウスだけでなく、高脂肪食により誘引された食事性肥満マウスにおいても同様の効果が示された<sup>8)</sup>。近年では臨床試験による内臓脂肪の減少効果についても明らかとなった<sup>5)</sup>。このような作用を示すフコキサンチンはキサントフィルに分類される。また、ルテインやアスタキサンチン、 $\beta$ -クリプトキサンチンなどのキサントフィルは、肥満や視覚機能に対する疾病の予防、改善など、抗酸化作用以外の新規の機能を示すことが相次いで報告されている。

肥満を発端として糖尿病、高血圧、高脂血症を合併し発症するメタボリックシンドロームは、死に直接かかわる動脈硬化疾患の原因となる (図2 (A))。このような疾患を防ぐためには、日々の生活習慣から肥満を予防することが極めて重要である。また、これらの疾患の中でも日本人に多い糖尿病は脂肪細胞の質的な変化が原因となることが明らかとなっている<sup>9)</sup>。肥満により肥大化した脂肪細胞からはレジスチンやTNF- $\alpha$ などの、体内のインスリン抵抗性を惹起するアディポサイトカインが分泌され、糖尿病を発症させる。一方でアディポネクチンは逆にインスリン抵抗性や高脂血症を改善する作用を示す (図2 (B))。カロテノイドは脂溶性

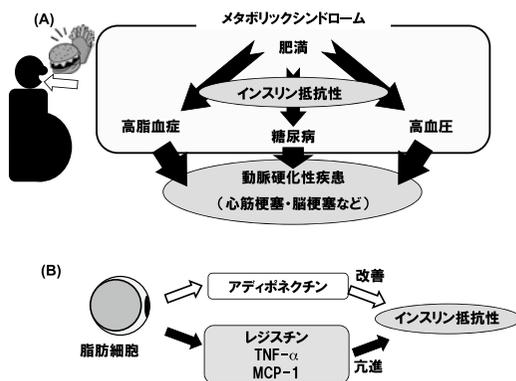


図2 (A) メタボリックシンドロームの概念  
(B) アディポサイトカインとインスリン抵抗性

成分であり、その種類によっては体内に吸収された後に、脂肪組織に蓄積しやすい性質を持つ。このことから、メタボリックシンドロームに関係する疾患の原因となる脂肪細胞で、強い作用を示す可能性が高い。本研究ではキサントフィルであるカプサンチンやカプソルビンなどを含むパプリカ色素成分に注目し、脂肪細胞への機能について注目した研究をおこなった。

まず初めに動物実験によりパプリカ色素の血漿成分、及びアディポサイトカインの分泌に与える効果について検討した。4週齢のオスのA/Jマウスに対して、AIN-93Gを基本組成とし、脂質を14%含む飼料を投与し3週間実験飼育をおこなった。実験群はコントロール群（大豆油14%）、パプリカ色素0.5%投与群（パプリカ色素0.5%+大豆油13.5%）、パプリカ色素2%投与群（パプリカ色素2.0%+大豆油12.0%）の3群で実験をおこなった。パプリカ色素は市販のパプリカ色素を用いた。実験飼育

終了後、解剖をおこない、血漿成分、臓器重量の測定、及び脂肪細胞でのアディポサイトカインのmRNAの発現量を定量RT-PCR法にて測定した。

その結果、これまでの他の報告と同様に血漿のHDLコレステロール濃度がコントロール群（ $81 \pm 4$  mg/dL）と比較し、パプリカ色素0.5%投与群（ $100 \pm 4$  mg/dL）、パプリカ色素2.0%投与群（ $104 \pm 6$  mg/dL）で有意な増加（ $p < 0.05$ ）が認められた。また、アディポサイトカイン濃度についてELISA法にて測定したところ、インスリン抵抗性改善作用を示すアディポネクチンの血漿濃度上昇が確認された。逆にインスリン抵抗性の亢進に関するレジスチン濃度が低下した（図3（A））。更に白色脂肪組織でのmRNAの発現量も、血漿濃度と同様にアディポネクチンの発現上昇とレジスチンの発現低下が認められた（図3（B））。実験飼育期間中において、各群の摂食量や飲水量に有意な変化は

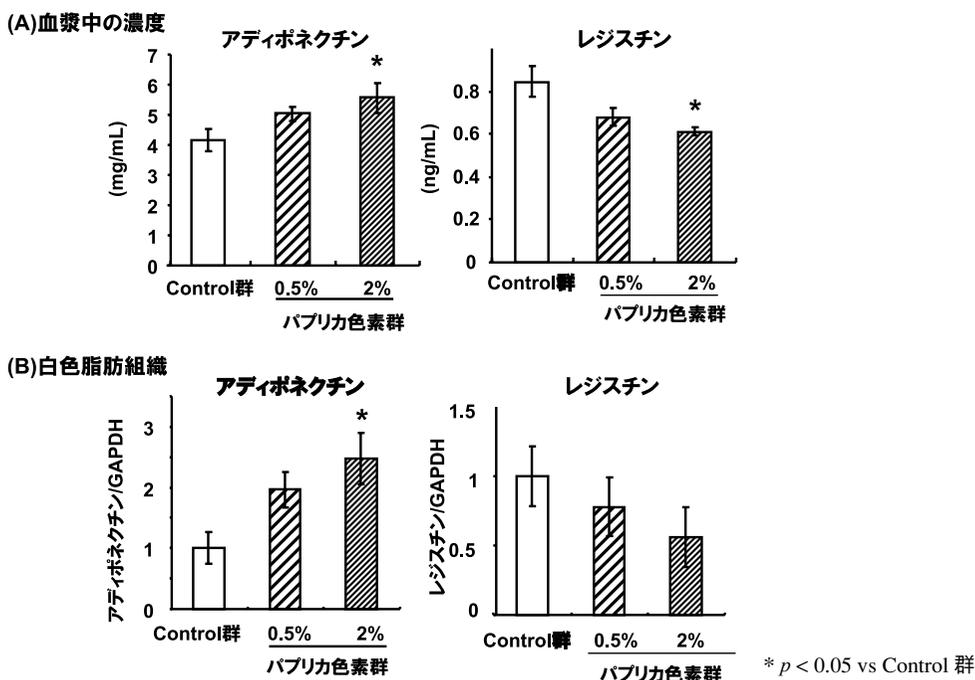


図3 パプリカ色素を投与したマウスの (A) 血漿中のアディポサイトカイン濃度と (B) 白色脂肪組織での遺伝子の発現量

認められなかった。また、白色脂肪組織、褐色脂肪組織、肝臓をはじめとした各臓器の重量にも変化が認められなかった。これらのことから、パプリカ色素は、肝臓での脂質代謝調節作用だけでなく、脂肪組織に働きかけアディポサイトカインの調節をおこない、血漿成分の改善作用を示すことが示唆された。

### 3. パプリカ色素による脂肪細胞の質的变化

動物実験にてアディポネクチンの増加、レジスチンの低下が認められたことから、次に *in vitro* の実験によって、詳細な脂肪細胞に対する機能についての検討をおこなった。肥満に伴う糖代謝、脂質代謝異常を調節する機構として、核内転写因子が注目されている。脂肪細胞の核内には、核内受容体として PPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ) が存在する。PPAR $\gamma$  のリガンド物質は脂質代謝、糖代謝に関係する遺伝子の発現調節に大きく関与することが明らかにされている。いくつかの食品由来

の成分は、PPAR $\gamma$  を介した疾病の改善作用を示すことが報告されている<sup>10)</sup>。チアゾリジン誘導体化合物をはじめとした糖尿病の治療薬に使われている薬剤は、PPAR $\gamma$  のリガンド物質として作用し、脂肪細胞への分化を促進させる。分化の促進により出現した小型の脂肪細胞からは、アディポネクチンなどの脂質代謝を改善するアディポサイトカインが分泌され、肥満によるインスリン抵抗性の改善を促す<sup>9)</sup>。これらのことから脂肪細胞の分化を促進させる物質は、肥満による疾患改善に役立つ成分となることが考えられる。

マウス由来 3T3-L1 前駆脂肪細胞を、分化誘導培地 (インスリンなどを含む) で 5 日間培養した。その過程において、パプリカ色素を 15, 30, 60  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度で添加し培養した。また、ポジティブコントロールとしてチアゾリジン誘導体化合物であるトログリタゾン (TR) を 10  $\mu\text{M}$  添加した。パプリカ色素はけん化処理した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製をおこない、 $\beta$ -カロテンなどのカロテン

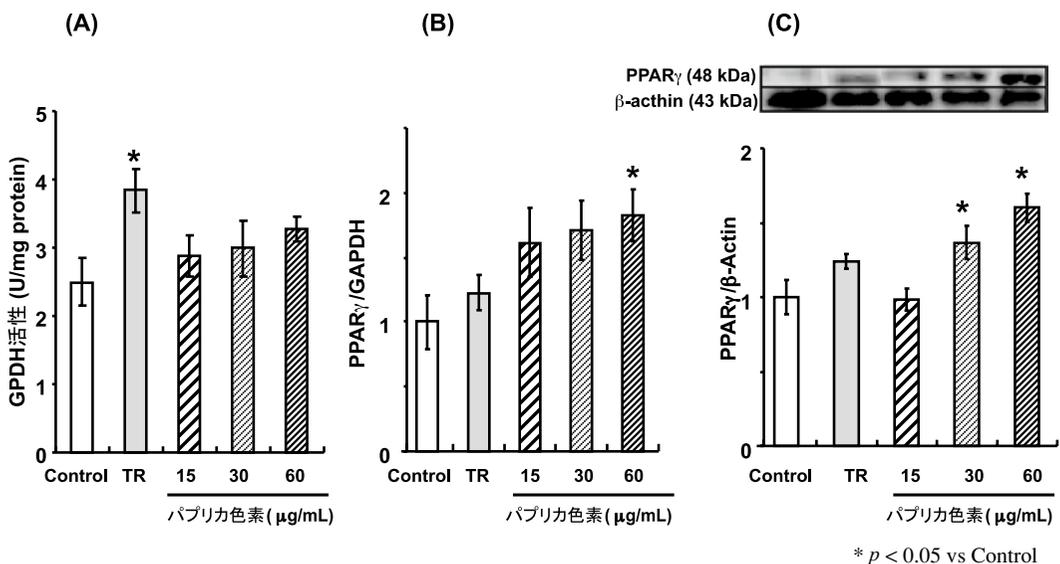


図4 3T3-L1 前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化に対するパプリカ色素の作用 (A) 脂肪細胞への分化の度合いの指標である GPDH 活性, (B) PPAR $\gamma$  の mRNA の発現量, (C) PPAR $\gamma$  のタンパク質の発現量

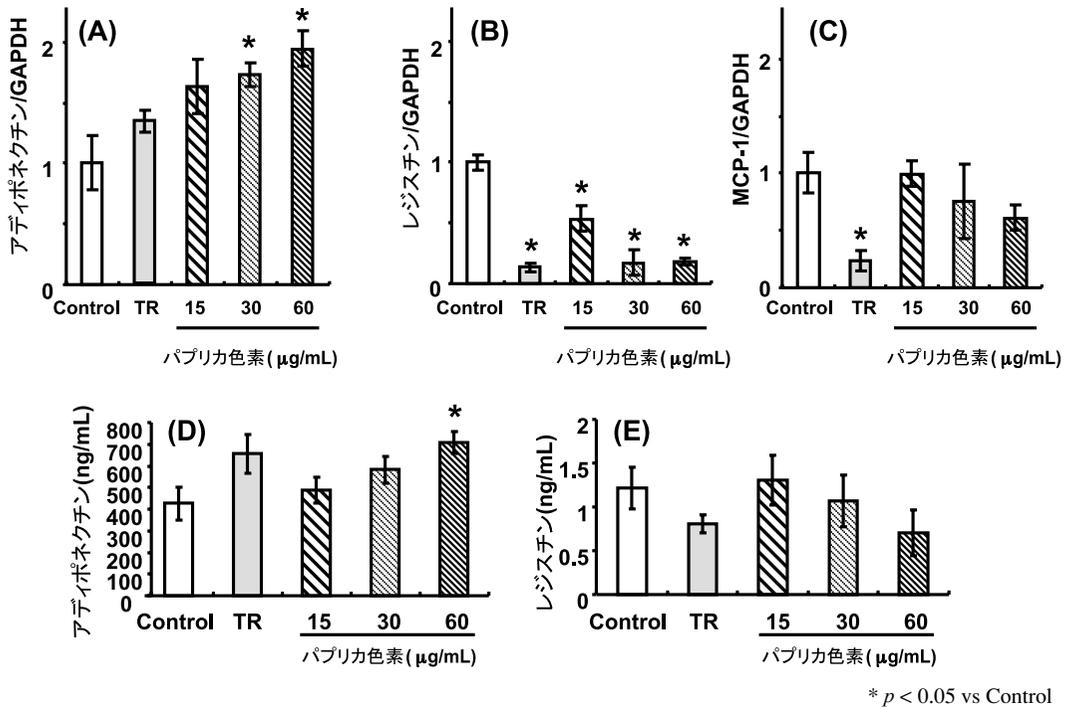


図5 パプリカ色素による3T3-L1脂肪細胞でのアディポサイトカインの調節作用 (A) アディポネクチンの mRNA 発現量, (B) レジスチンの mRNA 発現量, (C) MCP-1 の mRNA 発現量, (D) 培地中のアディポネクチン濃度, (E) 培地中のレジスチン濃度

類を除去した画分を使用した。カロテノイド含量を高速液体クロマトグラフィーで測定したところ、主要なカロテノイドはカプサンチンであり、44%含まれていた。図4 (A) は脂肪細胞への分化の指標となる GPDH (glycerol-3-phosphatedehydrogenase) の酵素活性を測定した結果である。パプリカ色素添加細胞では、TR を添加した細胞と同様に GPDH 活性が上昇傾向を示し、分化が促進されることが明らかとなった。また、分化脂肪細胞では PPAR $\gamma$  の発現量が増加する。パプリカ色素を添加した細胞の PPAR $\gamma$  の mRNA の発現量を定量 RT-PCR 法にて測定したところ、発現量の増加が認められた (図4 (B))。更に PPAR $\gamma$  のタンパク質の発現を western blot 法にて測定したところ、mRNA 発現量と同様に添加濃度に依存して発現量が増加していた (図4 (C))。これらのことからパプリカ色素は前駆脂肪細胞から分化脂肪細胞へ

の分化を促進する作用があることが示された。

次にアディポサイトカインの発現量と、培地中のタンパク質濃度について測定をおこなった。パプリカ色素添加細胞ではアディポネクチンの mRNA の発現量の増加が認められた (図5 (A))。一方、インスリン抵抗性の惹起に関わるレジスチンや MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) の発現量の低下、及び低下傾向が認められた (図5 (B,C))。また、アディポネクチンとレジスチンに関しては mRNA の発現量と同様に、培地中のアディポネクチン濃度が上昇し、レジスチン濃度の低下傾向を示した (図5 (D,E))。これらのことから、パプリカ色素は脂肪細胞でアディポサイトカインの分泌を調節し、インスリン抵抗性の改善することが示唆された。

肥満状態の脂肪細胞からは MCP-1 などのアディポサイトカインが分泌され、脂肪細胞へマ

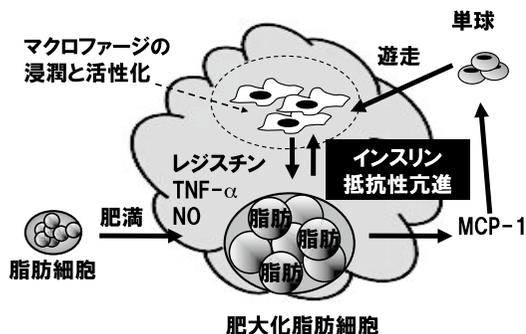


図6 肥満による脂肪細胞での慢性炎症状態とインスリン抵抗性亢進のメカニズム

マクロファージ細胞の遊走がおこる。脂肪細胞へ進入したマクロファージ細胞からは炎症性のサイトカインである TNF- $\alpha$  や IL-6, 一酸化窒素 (NO) が分泌される。これにより, 脂肪細胞からのインスリン抵抗性に関するアディポサイトカインの分泌も促される。その結果, 肥満の脂肪組織内は一種の慢性炎症状態となる (図6)。慢性炎症状態は体内の各種臓器のインスリン抵抗性の悪化を招くとされる<sup>9)</sup>。このような肥満による慢性炎症状態を再現した, 脂肪細胞とマクロファージ様細胞の共培養実験を用い, パプリカ色素の作用を評価した。

3T3-L1 前駆脂肪細胞を分化誘導培地にて 10 日間培養し, 十分, 脂肪を蓄積した分化脂肪細胞へと分化させた。次にマウス由来マクロファージ様細胞である RAW264.7 細胞を加えた。これにより, それぞれの細胞を単独培養し

た状態と比較し, 炎症性サイトカインの分泌が高まる。この状態の細胞をパプリカ色素添加培地で 24 時間培養した後, 細胞内の炎症性サイトカインの mRNA 発現量を測定した。表 1 は無添加の Control の細胞の遺伝子の発現量を 1 とした場合の, それぞれの炎症性サイトカインの mRNA 発現量を示している。ポジティブコントロールの TR (10  $\mu$ M) 添加細胞では, IL-6, MCP-1, レジスチン, TNF- $\alpha$  いずれの炎症性サイトカインも低下及び低下傾向が認められた。パプリカ色素添加細胞でも TR と同様に, IL-6, MCP-1, TNF- $\alpha$ , レジスチンが低下した。また, 炎症状態の細胞から分泌される一酸化窒素 NO の代謝物である NO<sub>2</sub><sup>-</sup> の培地中の値を測定した (表 1 下)。その結果, パプリカ色素添加細胞では, 添加濃度に依存した NO<sub>2</sub><sup>-</sup> の濃度低下が認められた。これらのことから, パプリカ色素添加細胞では, 肥満によっておこる脂肪細胞とマクロファージの相互作用による慢性炎症状態が緩和されることが示唆された。

#### おわりに

本実験によりパプリカ色素に含まれるカロテノイドは, 脂肪細胞に働きかけインスリン抵抗性に関するアディポサイトカインの分泌を抑えることが明らかとなった。また, アディポネクチンの分泌を促進し, 肥満により低下している脂質代謝や糖代謝の働きを改善することが示唆さ

表 1 肥満による慢性炎症状態のモデル細胞における炎症性サイトカインの mRNA 発現量の変化と培地中の NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 濃度

	Control	TR	パプリカ色素 ( $\mu$ g/mL)		
			15	30	60
IL-6/GAPDH	1.00 $\pm$ 0.24	0.78 $\pm$ 0.05	0.41 $\pm$ 0.02*	0.38 $\pm$ 0.08*	0.24 $\pm$ 0.02*
MCP-1/GAPDH	1.00 $\pm$ 0.17	0.43 $\pm$ 0.14*	1.06 $\pm$ 0.29	0.72 $\pm$ 0.07*	0.51 $\pm$ 0.03*
レジスチン /GAPDH	1.00 $\pm$ 0.66	0.21 $\pm$ 0.16*	0.25 $\pm$ 0.18*	0.14 $\pm$ 0.11*	0.08 $\pm$ 0.03*
TNF- $\alpha$ /GAPDH	1.00 $\pm$ 0.09	0.56 $\pm$ 0.08*	0.86 $\pm$ 0.07	0.75 $\pm$ 0.05	0.65 $\pm$ 0.05*
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ( $\mu$ M)	13.3 $\pm$ 1.6	8.0 $\pm$ 0.5*	10.3 $\pm$ 0.7*	9.6 $\pm$ 0.9*	8.9 $\pm$ 1.0*

\*  $p < 0.05$  vs Control

れた。このような作用はパプリカ色素に含まれるキサントフィル類のカプサンチンなどによる作用が考えられ、現在詳細な検討を進めている。近年、食品に含まれる様々な機能性成分の作用機序の解明と、特定保健用食品などの機能性食品としての利用が進められている。食品機能性成分の食品への応用を考える場合、摂取した際の消化吸収過程における分解や、吸収された後の動態について考える必要がある。食品成分は生物種によって吸収の度合いが異なる場合もあり、その効果にも差が生じる可能性が考えられる。カロテノイドに関しても、生物種によって消化吸収の量に違いがあることが報告されており、ヒトに対する機能性食品素材としての利用を考える場合は検討が必要である。ヒトの血中カロテノイドとしてはルテイン、 $\beta$ -クリプトキササンチン、リコペン、 $\beta$ -カロテンが多く検

出される<sup>11)</sup>。一方で、摂取した食品の違いが、血中のカロテノイド濃度とその種類に、大きく反映されることが報告されている。このことから、日常的に機能性の高いカロテノイドを含む食品を摂取することで、カロテノイドやその代謝物がターゲットとなる組織へも移行し、その作用が発揮される可能性が考えられる。

パプリカ色素は色素としての安定性の高さから、古くから様々な加工食品で使用されている。今後は食品の見た目のおいしさに加え、含有するカロテノイドの機能を生かした機能性食品素材としての利用が期待される。

#### 謝辞

本研究の一部は、本研究は若手研究 (B) (21780119) の助成を受けておこなわれた。

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

- 1) Hirayama O., Nakamura K., Hamada S. *et al* : Singlet oxygen quenching ability of naturally occurring carotenoids., *Lipids*, **2**:149-50, 1994.
- 2) Maoka T., Mochida K., Kozuka M. *et al* : Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annuum* L., *Cancer Lett.*, **172**(2):103-9, 2001.
- 3) Narisawa T., Fukaura Y., Hasebe M. *et al* : Prevention of N-methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in rats by oxygenated carotenoid capsanthin and capsanthin-rich paprika juice., *Proc Soc Exp Biol Med.*, **224**(2):116-22, 2000.
- 4) Aizawa K, Inakuma T.: Dietary capsanthin, the main carotenoid in paprika (*Capsicum annuum*), alters plasma high-density lipoprotein-cholesterol levels and hepatic gene expression in rats., *Br J Nutr.*, **102**(12):1760-6, 2009.
- 5) 宮下和夫.: カロテノイドの科学と最新応用技術, シーエムシー出版, 2009.
- 6) Maeda H., Hosokawa M., Sashima T. *et al* : Fucoxanthin from edible seaweed, *Undaria pinnatifida*, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues., *Biochem Biophys Res Commun.*, **332** : 392-397, 2005.
- 7) Maeda H., Hosokawa M., Sashima T. *et al* : Dietary combination of fucoxanthin and fish oil attenuates the weight gain of white adipose tissue and decreases blood glucose in obese/diabetic KK-Ay mice., *J Agric Food Chem.*, **55** : 7701-7706, 2007.
- 8) Maeda H., Hosokawa M., Sashima T.: Anti-obesity and anti-diabetic effects of fucoxanthin on diet-induced obesity conditions in a murine model., *Molecular Medicine Reports*, **2** : 897-902, 2009.
- 9) 河田照雄, 斉藤昌之, 小川正.: 肥満と脂肪エネルギー代謝—メタボリックシンドロームへの戦略—, 建帛社, 2008.
- 10) Goto T., Takahashi N., Hirai S. *et al* : Various Terpenoids Derived from Herbal and Dietary Plants Function as PPAR Modulators and Regulate Carbohydrate and Lipid Metabolism., *PPAR Res.*, **2010**:483958, 2010.
- 11) 西川研次郎. 他: 食品機能性の科学, 産業技術サービスセンター, 2008.

# β グルカンの機能— 3

酒本 秀一<sup>\*1</sup> 糟谷 健二<sup>\*2</sup>

<sup>\*1</sup> SAKAMOTO Shuichi, <sup>\*2</sup> 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)

Key Words : β グルカン・抗アレルギー・抗腫瘍・抗放射線障害

前報に引き続きβグルカンの機能と、機能が現れるメカニズムを文献類と当社パン酵母βグルカンの試験結果を中心に要約する。今回はアレルギー(季節性アレルギー性鼻炎=花粉症, 通年性アレルギー性鼻炎, アトピー性皮膚炎), 腫瘍, 放射線障害などに及ぼすβグルカンの作用を説明する。

## アレルギー

アレルギーとは、ある特定の物質を抗原として起こる過剰な抗原抗体反応である。抗体を作る原因となる抗原が体内に入ってきた時、抗体あるいはリンパ球がこれを排除しようとするが、過剰な反応によって体に不利な病的状態を起こしてしまうことをアレルギーあるいはアレルギー反応と言う。アレルギーは、その発生のメカニズムからI型からIV型に大きく分類されている<sup>1)</sup>。

I型: 抗原が粘膜等から体内に入るとIgE抗体が作られる。この抗体が肥満細胞が持っているレセプターと結合する。この抗体に侵入抗原が結合すると、抗体からの信号で肥満細胞がヒスタミン等の化合物を放出する。これらの化合物が炎症を引き起こすのがI型アレルギーであ

る。この型に属するのが、季節性アレルギー性鼻炎(花粉症), 通年性アレルギー性鼻炎, アトピー性皮膚炎, 蕁麻疹, 喘息, 食物アレルギー, アナフィラキシーなどで、最も一般的に知られているアレルギーである。この反応は抗原が体内に入ると直ぐに起こるので、即時型アレルギーとも云われる。

II型: 自分自身の細胞に結合したIgG抗体が、補体系を活性化することによって生体に傷害を与える型のアレルギーで、B型肝炎やC型肝炎などのウィルス性肝炎, 自己免疫性溶血性貧血, 悪性貧血, ペニシリンアレルギーなどがこの型に入る。

III型: 抗原・抗体複合体が血流に乗って流れた先の細胞に沈着し、補体系を活性化させて周囲の組織を傷害する型のアレルギーである。免疫複合体の傷害する部位が限定的な部位に留まる反応をアルサス型反応, 全身に渡るものを血清病と呼ぶ。全身性エリテマトーデス, 血清病, 関節リュウマチ, 食品アレルギーの一部などがこの型に入る。この種のアレルギーは2~8時間で発赤や浮腫となって現れる。

IV型: 抗原と特異的に反応する感作T細胞によって起こり、抗原と反応した感作T細胞からマクロファージを活性化する因子などの様々

な生理活性物質が遊離し、周囲の組織に傷害を起こす型のアレルギーである。薬物アレルギー、金属アレルギー、ツベルクリン反応、接触性皮膚炎などがこの型に入る。

一般的にアレルギーと云われるのはI型アレルギーで、抗体が関与するアレルギーである。抗体が関与するアレルギーは即時型と言われ、短時間で発症する。これに対して細胞が関与するアレルギーは少し時間をおいて発症するので、遅延型アレルギーと言われる。I型以外がこれに入る。

我々はオリエンタル酵母工業(株)パン酵母由来食品用βグルカン(BBG)の経口投与がI型アレルギーの花粉症(季節性アレルギー性鼻炎)、通年性アレルギー性鼻炎およびアトピー性皮膚炎の症状を軽減する効果を持つことを明らかにしたので、概要を説明する。

### 1. 花粉症抑制効果

花粉が原因で起こるアレルギー疾患を花粉症と云い、代表的な季節性アレルギー性鼻炎である。花粉症の発症機構は次のように説明されている<sup>2)</sup>。

花粉が鼻腔から侵入してくると、鼻腔上皮細胞にある繊毛が花粉を外へ押し出すが、押し出されずに残った花粉は鼻粘膜表面に付着し、

抗原成分のタンパク質成分が粘膜に浸透する。鼻粘膜内に浸透した花粉の抗原成分は異物を認識するマクロファージと会合する。マクロファージは花粉抗原の情報をT細胞へと伝える。さらにT細胞はB細胞へと情報を送り、ここで花粉に合致する抗体(特異的IgE)が産生される。これがアレルギー反応の最初の段階である感作である。

花粉症患者ではIgE抗体が既に肥満細胞の周囲に結合している。このIgE抗体が花粉の抗原成分を捉えて結合すると肥満細胞が活性化され、ヒスタミンやロイコトリエンなどの化学伝達物質が放出される。これらの物質が知覚神経や血管を刺激し、くしゃみや鼻水、鼻詰まりなどの症状を引き起こす。一方、花粉が結膜に付着すると結膜表面を被う涙液により抗原が溶け出し、鼻と同じ機構でアレルギー反応が起こり、目のかゆみ、涙目、結膜の充血などが起こる。纏めると図1のようになる。

花粉症対策の場合、花粉(抗原)の吸入・接触を避けることが最重要課題であるが、生活環境を改善したり、体質を改善したり、ストレスを発散・解消したりして免疫バランスを改善するのも有効である。また治療法には減感作治療・特異的減感作療法、対症療法、手術療法などがある。

我々はこれまでの研究でBBGの経口投与が免疫力の強化に有効であることを確認している。よって、BBGの経口投与が花粉症症状の改善に有効ではないかと考え、ヒト<sup>3)</sup>と犬<sup>4)</sup>で試験を行った。

#### 1-1. ヒト試験

花粉症症状を示す社内ボランティア17～43名の5年間に渡る5回の試験で、37～91日間連続的にBBGを1日に100mgあるいは500mg摂取してもらい、BBG

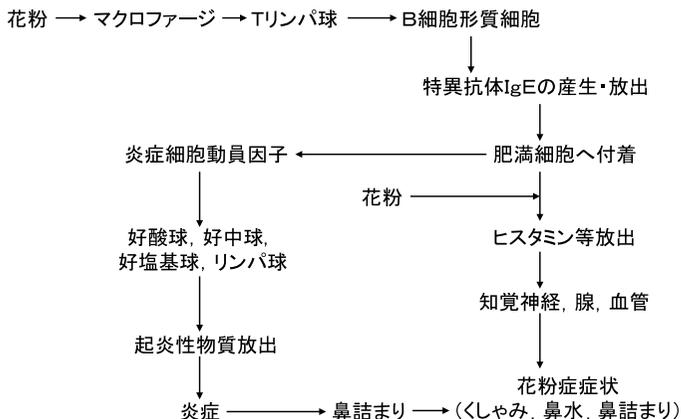


図1 花粉症の発症機構

表1 5年間の花粉症試験の詳細

試験 No.	参加人数	BBG 投与形態	摂取量 (mg/日)	期間 (日)	有効者率 (%)	併用物質
1	43	粉末 (カプセル)	500 (4 カプセル)	37	49	
2	22	キャンディー	100 (4 粒)	60	37	
3	23	顆粒	500 (1 スティック)	73	75	甜茶
4	17	キャンディー	100 (5 粒)	91	57	ブドウ果汁
5	20	グミ	100 (3 粒)	91	87	ブドウ果汁, ビタミン E

が花粉症症状の軽減に効果が有るか否かをアンケート形式で調べた。BBG の投与は粉末 (カプセル封入), 顆粒, キャンディー, グミなど年度毎に形状が異なっていた。

5 回の試験結果を平均すると 61% のヒトが効果有り と回答したので, BBG は花粉症症状の軽減効果が有ると云える。

5 回の試験の詳細を表 1 に示すが, これを見ると効果有り と回答したヒトの割合が年度によって 37% から 87% と可也バラツキが有ることが分かる。年度毎の花粉の飛散量の違いの問題もあろうが, 数値が高い年の供試物の組成を見ると BBG に甜茶, ブドウ果汁 (当然ブドウポリフェノールを含む), ビタミン E などが併用されている。甜茶, ブドウポリフェノール, ビタミン E などは強い生体内抗酸化作用を有しており, 脱顆粒抑制作用や抗炎症作用を示すことが既に明らかにされている<sup>5)</sup>。BBG の効果が併用する物によって影響を受けている可能性がある。この結果は BBG を効率良く使用するには, 色々な素材, 特に生体内抗酸化作用を持つ素材と併用するのが好ましいことを示唆している。

米国では約 3,600 万人がブタクサ花粉の影響を受けている。パン酵母  $\beta$  グルカンがブタクサ花粉症の症状を軽減するのに有効であることが示されている<sup>6)</sup>。

この様に粒子状のパン酵母  $\beta$  グルカンは季節性アレルギー性鼻炎である花粉症の症状軽減作用を有していることが分かる。

パン酵母  $\beta$  グルカン以外ではシイタケ由来のレンチナン ( $\beta$ -1,3-グルカン) に同様な花粉症症状の抑制効果が有ることが報告されている<sup>7)</sup>。

#### 1-2. 犬試験

スギ花粉に免疫された 46 ~ 56 ヶ月令の雌ビーグル犬 3 頭を用いた。BBG を 0.05% 添加した飼料で飼育し, 一定期間毎に Cedar pollen Extract-Cj を皮下注射して皮内反応を調べた。なお, 試験開始前に各犬のスギ花粉に対する IgE 量が高値であることを確認してある。皮内反応の測定は, 試験飼料投与後 1, 29, 57, 112 および 168 日目に Frick 等の方法<sup>8)</sup> を参考にして行った。動物に 5mg/mL のエバンスブルーを静脈内投与した後, 各濃度の Cedar pollen Extract-Cj 溶液 (10, 1, 0.1 および 0.01 $\mu$ g/mL) を腹面皮内に投与 (100 $\mu$ L/site) し, 30 分後に皮内投与部位の反応の有無を観察した。反応が出た場合には, その長径と短径を測定して平均値を求め, 投与前からの変化を計算した。算出した各抗原濃度の変化率を個体毎に合計し, 個体当たりの抗原に対する反応面積とした。また, 皮内反応の測定日とは多少のズレが有るが, 血清の Total IgE 含量も測定した。

投与 1 日の反応面積と比較して, 投与 28, 56, 112 および 168 日と, 投与日数が経過するとともに皮内反応の反応面積が減少し, 投与 56 および 168 日で投与 1 日と比較して有意差が認められた。また, 血清 Total IgE 値は有意差は認められなかったものの, 投与 1 日の反応強度 (40.3) と比較して, 投与 28, 56, 112 お

よび 168 日と投与日数が経過するとともに反応強度が減少し、投与 168 日の反応強度は 35.7 であった。

供試動物数が 3 頭とあまりに少ないので断言は出来ないが、BBG の経口投与は犬でも花粉症症状を軽減する作用を有していることを示す結果ではないかと思われる。

### 1-3. BBG が花粉症症状を軽減する機構（推定）

現在は BBG の経口投与が花粉症の症状を軽減する機構を図 2 のように推定している。

繰り返し侵入した花粉がマクロファージに会合し、T 細胞に情報を伝達してナイーブヘルパー T 細胞 (Th0) をヘルパー T 細胞-2 (Th2) に分化させる。Th2 細胞は IL-4 を産生・放出する。IL-4 は B 細胞に作用し、IgE を産生・放出する。放出された IgE は肥満細胞などの表面に付着する。

この IgE 抗体に花粉が付くと肥満細胞からヒスタミン等が放出され、花粉症を引き起こす。BBG はマクロファージに作用し、Th0 のヘルパー T 細胞-1 (Th1) への分化を促進させ、Th2 への分化を抑制する。Th1 は IL-2 や IFN- $\gamma$  を産生・放出する。IL-2 は B 細胞に作用し、IgG を産生・放出する。つまり、BBG は IgE の産生を抑制することによって肥満細胞に結合する IgE の量を少なくする。結合している IgE の量が少ないので、花粉 (抗原) が肥満細胞上の IgE に結合して起こす脱顆粒反応も弱くなり、放出されるヒスタミン、ロイコトリエン、プロスタグランジンなどの炎症物質の量も少なくなる。結果として花粉症症状が軽減される。また、甜茶などの生体内抗酸化作用を有する物は脱顆粒抑制作用や抗ヒスタミン作用を持つ<sup>9)</sup>。これが BBG に甜茶、ブドウポリフェノール、ビタミン E などの抗酸化物質を併用する

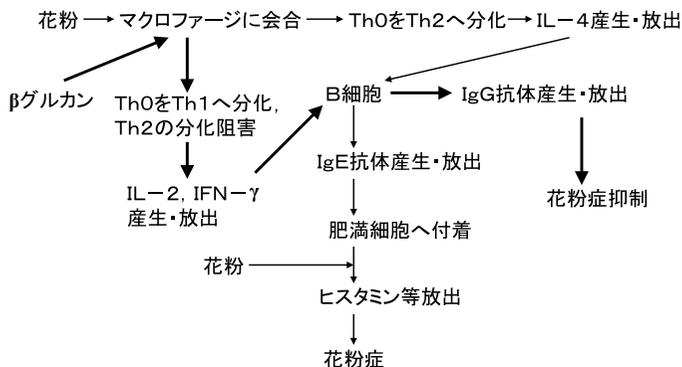


図 2 BBG が花粉症症状を軽減する機構（推定）

と、より花粉症症状が軽減されるメカニズムであろう。

## 2. 通年性アレルギー性鼻炎抑制効果

最近ではアレルギー性鼻炎の抗原として花粉が増えているが、一年中通して症状が出る通年性アレルギー性鼻炎の原因として一番多いのはハウスダストである。ハウスダストには、寝具、敷物、衣類などの塵や埃、ヒトやペットのふけや垢、羽毛、ダニ、かび、細菌など様々な物が含まれている。この中で最も重要な抗原はダニであると言われている。

通年性アレルギー性鼻炎が発症する機構は基本的に季節性アレルギー性鼻炎 (花粉症) と同じであると考えられるので、花粉症症状の抑制に効果が有る BBG によって通年性アレルギー性鼻炎の症状が軽減出来るか否かをヒトで調べた<sup>9)</sup>。

日本赤十字社和歌山医療センター並びに関連 5 施設において、16 ~ 65 歳の男女でアレルギー性鼻炎が中等度以上で、かつ 3 項目のアレルギー診断 (1. 皮膚炎反応または特異的 IgE 抗体, 2. 鼻汁中好酸球検査, 3. 鼻誘発反応検査) のうち 2 項目以上陽性の 42 名で試験を行った。42 名を 3 群に分け、BBG の経口摂取量が 1 日当たり 0mg (プラセボ区), 100mg (低用量群), 500mg (高用量群) でダブルブラインド・パラ

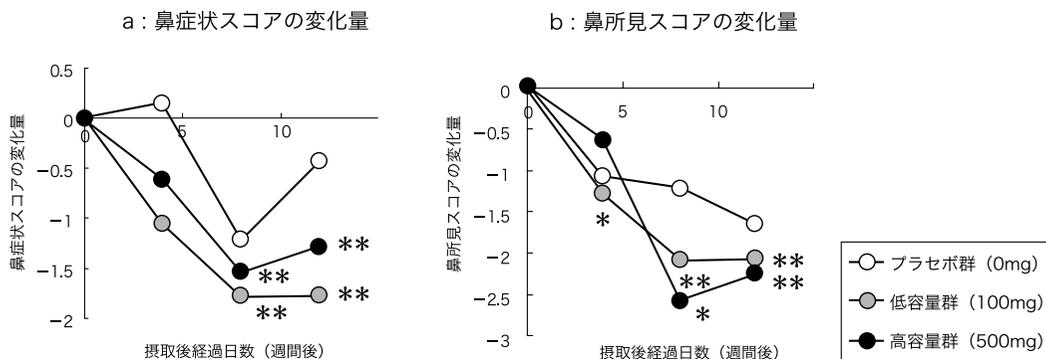


図3 ヒト通年性アレルギー性鼻炎の症状改善（左：鼻症状，右：鼻所見）

レル試験を行った。BBGの摂取期間は12週間、評価は摂取前および摂取後4週間毎の計4点(0, 4, 8, 12週間目)で行った。

鼻症状では、BBG摂取（低および高用量群）によりスコアが8週目まで減少し、8週目以降開始時の値と比べて有意に低い値を示した（図3a）。また、鼻汁やくしゃみ発作の改善および重症度でも改善効果が認められた。

鼻所見スコアでも同様に、BBGによる改善効果が認められた（図3b）。また、鼻汁の分泌量や性状でも改善効果が認められた。

血液検査や血液生化学的検査および尿検査などの臨床検査値は各群とも異常は無く、群間差も認められなかった。

以上の結果から、BBGを1日当たり100～500mg摂取すると通年性アレルギー性鼻炎の症状を軽減出来ることが分かった。

BBGが通年性アレルギー性鼻炎症状を軽減する機構は、抗原が花粉からハウスダストに代わっただけで、花粉症の場合と同じと考えられる。

### 3. BBGの効果に個人差が現れる理由

ヒトで行った花粉症や通年性アレルギー性鼻炎の試験では、可也の割合のヒトにBBGの投与効果が認められたが、残りのヒトには全く効果が認められないか、効果が有るのか無

いのか曖昧な状態であった。何故このような個人差が出てくるのかを調べるため、東京薬科大学と共同で多人数のBBGに対する応答性の違いを調べた<sup>10,11)</sup>。

18歳から59歳の健常な男女45人を対象に試験を行った。各人の血液から末梢血単核球(PBMC)を単離した。血漿を入れたポリプロピレン製試験管にPBMCを移し、BBGを100  $\mu$ g/mL (BBG区)あるいは陽性対照としてリポ多糖(LPS)を1ng/mL (LPS区)を加えて刺激した。また、陰性対照区として刺激剤無添加区も設定した。37°Cで24時間培養後に上清を回収し、上清中のサイトカイン量(TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-12およびIL-17)をELISA法で測定した。

結果は図4aに示すようにBBG区のTNF- $\alpha$ 量はLPS区と比較して2倍以上のバラツキがある。また、無作為に抽出した5人のPBMCに無添加(対照)、BBG添加、LPS添加の処理を行った場合のTNF- $\alpha$ 量を調べた結果を図4bに示すが、TNF- $\alpha$ の分泌量はヒトによって、あるいは刺激剤によって著しく違っている。IL-8の分泌量でも同様の傾向が認められた。一方、IL-12とIL-17は全てのヒトで定量限界値以下で、個人差を確認することは出来なかった。

以上の結果から、BBG刺激に対する反応は個人差が大きいことが細胞レベルでも確認出

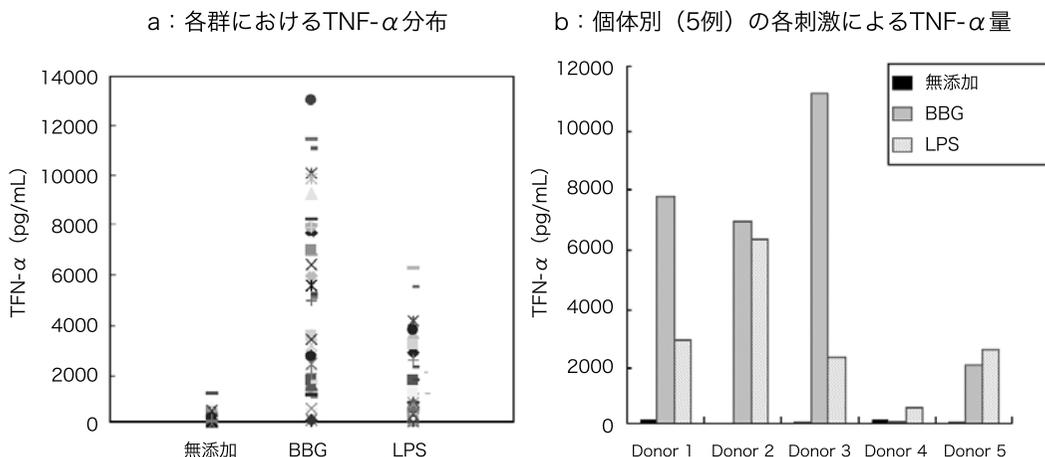


図4 ヒト多検体間における反応性 (TNF-α 分泌量) の比較

来た。

何故このような個人差が出てくるのであろうか。β グルカンは食物、常在菌、環境生物、皮膚や深在性感染生物にも含まれており、ヒトはこれらの物から常に感作されており、持続的に抗体を産生している。各個人の免疫機能の状況によって免疫細胞上へのβ グルカンレセプターの発現状況が制御されている。その結果としてBBGの感受性に個人差が生じ、花粉症や通年性アレルギー性鼻炎に対するBBGの効果に個人差が大きく現れることになる。生活環境を改善したり、体質を改善したり、ストレスを発散・解消したりして免疫力を強めたり免疫バランスを改善することが有効な理由は此処にある。

#### 4. アトピー性皮膚炎

アトピー性皮膚炎は次のように定義されている<sup>12)</sup>。「増悪・寛解を繰り返す、掻痒のある湿疹を主病変とする疾患で、患者の多くはアトピー素因をもつ。アトピー素因とは、気管支喘息、アレルギー性鼻炎・結膜炎、アトピー性皮膚炎のうちのいずれか、あるいは複数の疾患の家族歴・既往歴をもつか、またはIgE抗体を産生し易い素因である。」

アトピー性皮膚炎における主な皮膚機能の異

常は、水分保持機能・バリア機能の低下、痒みの閾値の低下、易感染性などである。アトピー性皮膚炎の皮膚では角層の天然保湿因子の減少、細胞間脂質の主な成分であるセラミドの低下が見られる。このため、角層の水分保持機能、皮膚バリア機能の低下が見られ、抗原の侵入が容易な状態にある。アトピー性皮膚炎では知覚神経の表皮内への侵入・伸長が見られ、軽微な刺激でも痒みが生じやすく、痒みの閾値が低下している。また、伝染性膿痂疹、単純ヘルペス、伝染性軟属腫などの皮膚の感染症に罹患し易く、易感染性になっている。

皮膚に痒みが生じるには、アレルギー的要因(アレルギー性炎症: 抗原とその蓄積、ランゲルハンス細胞, Th1/Th2, マスト細胞, サイトカイン)と非アレルギー的要因(皮膚バリア機能の障害: ドライスキン, 発汗, 細菌の過増殖, マラセチアの過増殖)が関係している。これらの要因が絡み合って痒みを生じるので掻いて掻破し、炎症を引き起こすことになる。その結果、痒み→掻破→炎症→痒み→掻破の悪循環に陥ることになる。アトピー性皮膚炎は、この悪循環が生じる代表的な疾患である。

皮膚の脂質(セラミド)が減少すると水分保持機能が低下し、ドライスキンとなって荒れ、

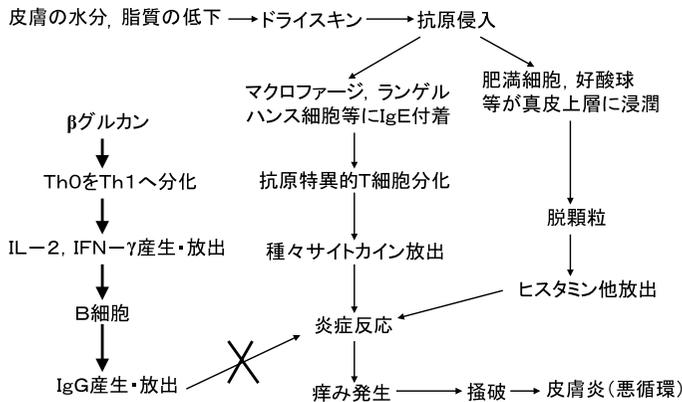


図5 アトピー性皮膚炎の発症機構

皮膚のバリア機能が低下し、抗原の経皮的侵入が容易になる。抗原が侵入して皮膚に炎症を起こし、痒みを生じる機構を纏めると図5のようになる。

抗原が侵入して来ると特異的IgEが産生され、マクロファージやランゲルハンス細胞のような抗原提示細胞と結合する。この刺激で抗原特異的T細胞が産生され、活性化されて種々のサイトカインを放出する。これによって炎症反応が起こり、痒みが発生する。この刺激でIgEが付着した肥満細胞や好酸球が真皮層に浸潤して来る。これに抗原が作用すると脱顆粒反応を起こし、ヒスタミン・サイトカイン・ロイコトリエン・プロスタグランディンなどの炎症性物質を放出する。この様にして、更に炎症と痒みが増悪する<sup>13)</sup>。

アトピー性皮膚炎では痒みが第一の増悪因子であるので、痒みのコントロールが症状改善の最重要点である。痒みのコントロールには抗原の回避、栄養状態の改善、スキンケア、投薬、精神的対応等が必要で、薬物療法、免疫療法(減感作療法)、食事療法、外用療法等が行われている<sup>14)</sup>。

上記の様に、アトピー性皮膚炎も花粉症や通年性アレルギー性鼻炎と同様にIgEが関与する抗原抗体反応によって生じる疾患であるので、花粉症や通年性アレルギー性鼻炎の症状緩和に効果が認められたBBGがアトピー性皮膚炎にも有効ではないかと考え、マウスで試験した。

アトピー性皮膚炎を自然発症することで知られているNC/Ngaマウス<sup>15-17)</sup>を用い、塩化ピクリル

(PiCl)を頻回塗布することによって皮膚炎を誘発する方法で、BBGの皮膚炎抑制に対する効果を調べた。飼料はAIN-93G粉末飼料を対照飼料とし、それに1%量になるようにBBGを添加した飼料を試験飼料とした。60日間の飼育期間中BBG群の体重は対照区と略同じ推移を示した。BBG群の皮膚炎スコアは対照群と比較して低値で推移し、図6に示すように投与32, 46, 53および60日で有意差が認められた。一方、血漿中の総IgE値は両群で違いは認められなかった。

以上の結果から、BBGを1%添加した飼料の投与はアトピー性皮膚炎の悪化を抑制する可能性が示された。血漿中のIgE量に違いが認め

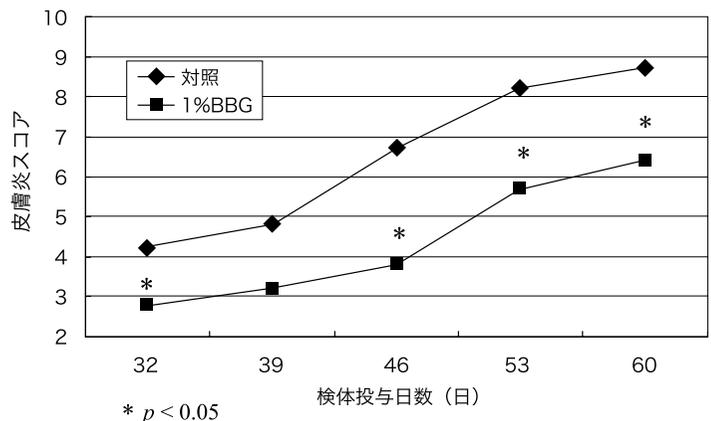


図6 BBGのNCマウスに対する皮膚炎抑制効果

られなかったのは、試験期間が60日とやや短かったこと、BBGの添加量がNC/Ngaマウスのような特殊な動物にとってはやや少なかった可能性がある(5%添加試験<sup>4)</sup>では60日でIgE量に有意差が認められた)ことなどが関係しているのかも知れない。今後アトピー性皮膚炎の症状を抑制するのに最適なBBGの飼料添加濃度を明らかにする必要がある。そうすれば、より明確な結果が得られるのではないかと思われる。また、この量はヒトや普通の動物にとっては明らかに多すぎと思われるので、ヒトや普通の動物にとって最適なBBGの添加量も求めておく必要がある。

パン酵母βグルカン以外では、シイタケ由来のレンチナンにヒトのアトピー性皮膚炎抑制作用が認められている<sup>18)</sup>。本研究では被験食摂取3ヶ月で、血清の非特異的IgEと特異的IgE共に有意な低下を認めている。

パン酵母やシイタケのβグルカンがアトピー性皮膚炎の症状を軽減するのは、花粉症や通年性アレルギー性鼻炎の場合と同様に、グルカンがIgEの産生を減少させることによるものと思われる。

## 5. 考察

これまで述べてきたように、I型アレルギーは抗原が繰り返し侵入することによってTh1とTh2のバランスが崩れ、IgEの産生量が増加することが引き金になっている。βグルカンは、このバランスの崩れを軽減し、IgEの産生量を抑制することによってアレルギー症状を抑制していると考えられる。この様にβグルカンは前報<sup>19)</sup>で説明した免疫賦活作用と共に免疫調整作用を有していることが分かる。アレルギーの発症を防ぐには抗原との接触を絶つことが第一であるが、免疫バランスを好適な状態に保つことも重要である。この免疫調整作用を効率良く行わせるには、生活環境を改善したり、体質を

改善したり、ストレスを発散・解消したり、肌の保湿力を高めたりするのが有効なことは言うまでもない。

## 腫瘍

当社は腫瘍に対するβグルカンの効果を全く調べていないので、文献から推定出来るβグルカンの腫瘍抑制効果について説明する。

腫瘍とは自立的な増殖をするようになった細胞の集団を意味し、その性質から良性腫瘍と悪性腫瘍に分けられる。良性腫瘍は一般に増殖が穏やかで、宿主に悪影響を起ささないものである。悪性腫瘍は近傍の組織に侵入し、遠隔転移し、宿主の体を破壊しながら宿主が死ぬまで増え続けていくものである。

悪性腫瘍は細胞のDNAの特定部位に幾重もの突然変異が積み重なって発生する。体が健常で免疫力も強い状態であればマクロファージ、NK細胞、キラーT細胞、抗体、インターフェロン、腫瘍壊死因子、補体などの作用によって悪性腫瘍細胞は殺され、ガンが発生することはない。何らかの原因で体の免疫力が低下している場合に悪性腫瘍細胞が殺されず、異常増殖を行ってガンに進展する。

酵母のβグルカンに関しては、1941年にLouis Pillemerが*Saccharomyces cerevisiae*の細胞壁から抽出した物質にザイモサン(Zyosan)と名付けて以来多くの研究が行われており、ガンに対する効果も調べられている。多くの研究で酵母βグルカンのガン抑制作用が報告されているにも係わらず、未だ酵母のβグルカンを医薬品として採用している国は無いようである。いずれの国においても、酵母のβグルカンは食品、所謂健康食品としてとらえられているものと思われる。言い方を変えれば、その程度の効果しか認めていないのかも知れない。

一方、キノコでは1985年に日本でシイタケ

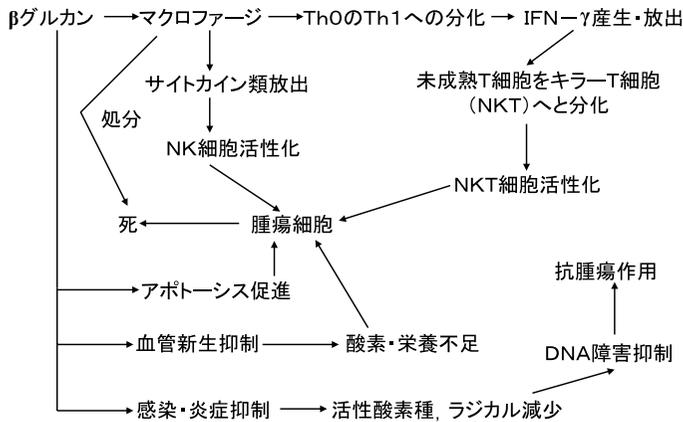


図7 β グルカンの抗腫瘍作用

由来のレンチナンが天然物由来の抗ガン剤として認可を受けて以来、カワラタケ由来のクレスチン、スエヒロタケ由来のソニフィランも認可を受けるに至っている。

医薬品として認可を受けている上記3種のβグルカンのガンに対する効果は、肝臓ガン、膵臓ガン、胃ガン、大腸ガン、乳ガン等色々なガンで報告されている。これらの報告は文献検索を行えば直ぐに読み切れないほど出てくるので、各自調べて欲しい。

βグルカンを経口投与した場合に認められる抗腫瘍作用のメカニズムを色々な文献から推定すると、図7のようになる。

腸管に達したβグルカンはパイエル版のM細胞から取り込まれる。その近傍に存在しているマクロファージやNK細胞にはβ-1,3-グルカンのレセプターが有るので、βグルカンと反応する。活性化されたマクロファージはTh0からTh1への分化を促進する。Th1はIL-2やIFN-γの産生・放出を促進する。IFN-γは未成熟T細胞をキラーT細胞(NKT)へと分化させる。このNKT細胞が活性化されたマクロファージから放出されるサイトカイン類によって刺激を受け、腫瘍細胞を攻撃し、死に至らしめる。また、βグルカンは腫瘍細胞のアポトーシスを促進すると共に、血管新生を抑制して腫

瘍細胞のまわりの局所において酸素や栄養素の不足を引き起こし、腫瘍細胞の増殖を抑制する。更に、βグルカンは感染や炎症によって生じる活性酸素やラジカルを消去する作用も行っており、これによってDNAの障害を軽減し、結果としてガンの発生を抑制する。

この様にβグルカン(β-1,3-グルカン)は免疫調整作用、免疫賦活作用、抗腫瘍作用、抗酸化作用、抗菌作用など色々な作用を総

動員して発ガンを抑制しているものと思われる。但し、酵母βグルカンの抗酸化作用は、βグルカンその物に有るのではなく、酵母の細胞壁に由来する共雑物によるとする説が有力になって来ている。

## 放射線障害

放射線は生体内の水と反応し、スーパーオキシド、過酸化水素、一重項酸素などの活性酸素種を発生する。この活性酸素種が造血組織、特に造血幹細胞を傷害し、白血球の産生・分化を阻害する。その結果、放射線を浴びた動物は感染症に対する耐性が低下し、敗血症を引き起こして死に至る。

βグルカンの放射線障害抑制作用は当社では調べていないので、この項も文献からの推定である。

酵母βグルカン<sup>20)</sup>やキノコβグルカン<sup>21-23)</sup>の放射線障害抑制作用は実験動物に腹腔内注射することによって調べられている。

βグルカン(共雑物?)は活性酸素種の消去活性を持つ。これによって造血幹細胞の障害程度が軽減され、正常な白血球数の維持が図られ、感染症に対する耐性が維持される。また、βグルカンはマクロファージなどの貪食細胞を活

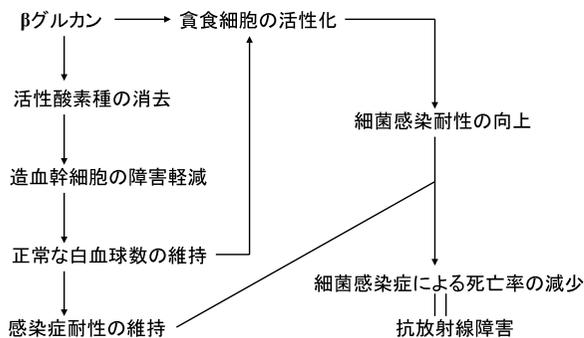


図8 β グルカンによる抗放射線障害作用

性化して貪食能を上昇させるので、細菌感染に対する耐性を向上させる。これらが相互に作用して放射線障害に起因する細菌感染を抑制し、敗血症による死亡を減少させる。纏めると図8の様になる。β グルカンの放射線障害抑制作用では主として細胞性免疫賦活作用と抗酸化作用が働いているようである。

### 総合考察

パン酵母β グルカン (β-1,3/1,6- グルカン) については以下の事が明らかにされている。β グルカンの経口投与によって、食物繊維としての作用以外に血中リゾチウム活性が上昇、補体による溶血作用の上昇、オプソニン補体タンパク質 C3 レベルの増加、貪食細胞の走化性(遊走能)の上昇、貪食細胞の貪食能と殺菌能の上昇などが起こる。

効果を発揮するにはβ-1,3- 結合したグルコースが2分子以上存在することが必須で、β-1,6- 結合には効果が認められない。つまり、β-1,3- 結合の主鎖にβ-1,6- 結合で側鎖が多く出ている方が良いことになる。側鎖のグルコースの繋がりもβ-1,3- 結合であることが必要である。

貪食細胞やNK細胞はβ-1,3- グルカンに対するレセプターを持っており、このレセプターは2分子以上のグルコースを含むβ-1,3- 結合

グルカン鎖の非還元末端を識別して結合する。β-1,3- グルカンが結合した貪食細胞などはサイトカイン、ケモカイン、ロイコトリエン、プロスタグランジン等の細胞間伝達物質や、補体タンパク質、NO、活性酸素種等を放出する。

細胞間伝達物質はT細胞、NK細胞、B細胞、単核球や組織のマクロファージ、Fibroblasts, Endothelial cellなどを刺激する。この後引き続いて色々な反応を引き起こし、生体防御機構を強化する方向に進む。

上記の様なβ-1,3- グルカンの反応によって引き起こされる生物学的効果には、ウイルス、細菌、カビ、寄生虫などの感染に対する防御効果、ワクチンの効果の増強(アジュバント効果)、ガンの発症抑制、Endotoxin (LPS) 反応の軽減化、創傷治療効果の促進などが有る。

β グルカンの物理的な性状が重要であることは云うを待たないが、これらの性状の違い、特に粒径の違いによって体内取込の効率が違うことは十分考えられる。また、β グルカンが水溶性であるか非水溶性(粒子状)であるかの違いによって免疫系にどのような影響を及ぼすかについては、あまり問題にされて来なかった。ところが最近粒子状のβ グルカンと水溶性β グルカンでは貪食細胞に対する反応が違うことが報告されている。粒子状β グルカンはDectin-1に結合してその後の反応を引き起こす<sup>24)</sup>が、水溶性β グルカンはDectin-1とは無関係に補体系を活性化することによって生体防御系を強化するとのことである。

また、パン酵母由来水溶性β グルカンをもとに経口投与すると、投与濃度依存的に唾液中のIgA濃度が上昇する<sup>26)</sup>ことや、粒子状パン酵母β グルカン(MacroGard)を犬に経口投与すると、一過性ではあるものの血清中のIgM濃度が有意に上昇する<sup>27)</sup>こと等が報告されている。

表 2 β グルカンの機能

作用	効果	機能
食物繊維	難消化性	整腸作用
	保水力	肌の老化抑制
	乳酸菌の餌	腸管の保護・強化
	栄養素の消化・吸収の遅延・抑制	生活習慣病の治癒・改善
ストレス抑制	低酸素や温度変化に対する耐性上昇	疲労感の改善, 活力増強
コラーゲン代謝	コラーゲン合成促進, 変性抑制	床ずれ, 糖尿病, 火傷等の創傷治癒促進 骨関節炎症状改善
	免疫賦活	補体系活性化, リゾチーム活性上昇, 貪食細胞活性化, NK細胞活性化
免疫調整	特異抗体 IgE の放出抑制	アレルギー症状改善 ・花粉症 ・周年性アレルギー性鼻炎 ・アトピー性皮膚炎
腫瘍	DNA 障害軽減 腫瘍細胞の殺作用 アポトーシス促進	ガンの発症抑制
放射線	DNA 障害軽減 細菌感染の抑制	放射線障害の抑制

この様にパン酵母 β グルカンは単純な細胞性免疫の賦活活性のみでなく、獲得性免疫の賦活活性も有していることが分かる。

第1報から第3報までの結果を纏め、β グルカンの持つ機能を整理したのが表2である。何かのお役にたてれば幸いである。

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

- 1) 小池隆夫, 橋本陶子: 免疫系における過剰反応. エッセンシャル免疫学 (The Immune System 2nd ed.), 笹月健彦監訳 (Peter Parham), メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, 311-340 (2007)
- 2) 大久保公裕 (監修): 花粉症の正しい知識と治療・セルフケア (平成 17・18 年度厚生労働省免疫アレルギー疾患予防・治療研究推進事業), 厚生労働科学研究, 1-13 (2007)
- 3) 酒本秀一, 伊藤千夏, 糟谷健二, 神前健: パン酵母 β-1,3/1,6- グルカンのヒトでの機能性評価. 大野尚仁監修, β グルカンの基礎と応用 - 感染, 抗がん, ならびに機能性食品への β グルカンの関与 -, シーエムシー出版, 東京, 145-151, (2010)
- 4) 平澤康史, 川崎由紀子, 豊吉亨, 久木浩平, 渡辺洋, 岡治, 鈴木康夫, 藤田剛: パン酵母由来 β-1,3/1,6- グルカンのアレルギー反応に対する作用. 応用薬理, **69**(3/4), 57-64 (2005)
- 5) 鳥居新平, 鳥居明子: アレルギー疾患の根本的治療法とは. *FOOD STYLE 21*, **9**(4), 28-29 (2005)
- 6) S. M. Talbott, J. A. Talbott, T. L. Talbott and E. Dingler: Baker's yeast beta-glucan supplement reduces allergy symptoms and improves quality of life in ragweed sufferers. Published on 14 April 2011 by Wellmune in Clinical Research, Research (2011)
- 7) J. Yamada, J. Hamuro, H. Hatanaka, K. Hamabata and S. Kinoshita: Alleviation of seasonal allergic symptoms

- with superfine  $\beta$ -1,3-glucan : A randomized study. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **119**, 1119-1126 (2007)
- 8) O. L. Frick and D. L. Brooks : Immunoglobulin E antibodies to pollens augmented in dogs by virus vaccines. *Am. J. Vet. Res. Mar.*, **44**(3), 440-445 (1983)
- 9) 酒本秀一, 糟谷健二, 伊藤千夏, 神前健 : パン酵母  $\beta$ -1,3/1,6- グルカンのもつ機能性. *New Food Industry*, **52**(4), 21-31 (2010)
- 10) 石橋健一, 大野尚仁 :  $\beta$ - グルカンの構造と免疫賦活機構の解析. 食品と開発, **44**(11), 4-7 (2009)
- 11) 大野尚仁 :  $\beta$  グルカンの構造と免疫賦活機構の解析.  $\beta$  グルカンの基礎と応用 - 感染, 抗がん, ならびに機能性食品への  $\beta$  グルカンの関与 -. 大野尚仁監修, シーエムシー出版, 東京, 3-12 (2010)
- 12) 河野陽一, 山本昇壮 (監修) : アトピー性皮膚炎治療ガイドライン 2008. 平成 8 年度厚生省長期慢性疾患総合研究事業アレルギー総合研究および平成 9-20 年度厚生労働科学研究. 1-14, (2008)
- 13) 岩崎利郎, 関口麻衣子 : 痒みを伴う皮膚疾患. 獣医臨床皮膚科, **11**(4), 213-215 (2005)
- 14) 岩崎利郎, 関口麻衣子 : 痒みを伴う皮膚疾患における止痒対策. 獣医臨床皮膚科, **12**(1), 47-50 (2006)
- 15) 松田浩珍, 板倉敦子 : アトピー性皮膚炎モデルマウス. アレルギー科, **21**(1), 95-100 (1996)
- 16) 小原夕紀, 米川博通, 松田浩珍 : 自然発症疾患モデル動物②アトピー性皮膚炎モデルマウス, *Molecular Medicine*, **34**(12), 1554-1557 (1997)
- 17) 永井博式 : アレルギー疾患の動物モデル. ファルマシア, **36**(3), 211-215 (2000)
- 18) 佐山浩二, 藤山幹子, 白方祐司, 橋本公二, 町野博, 和田民子, 飯尾智恵 : 超微粒子  $\beta$ - グルカン (Lentinan) を用いたアトピー性皮膚炎に対する多施設共同研究. 西日皮膚, **70**(3), 313-317 (2008)
- 19) 酒本秀一, 糟谷健二 :  $\beta$  グルカンの機能 -2. *New Food Industry*, **53**(12), 1-12 (2011)
- 20) M. L. Patchen, M. M. D' Alesandro, I. Brook, W. F. Blakely and T. J. MacVittie: Glucan : Mechanisms involved in its "Radioprotective" effect. *J. Leukocyte Biology*, **42**, 95-105 (1987)
- 21) 具然和 : 放射線影響に対するプロポリスとアガリクスの防護効果. *New Food Industry*, **48**(8), 43-52 (2006)
- 22) 具然和 : 放射線の胎児影響に対するハタケシメジの放射線防護効果検討. *New Food Industry*, **48**(11), 23-30 (2006)
- 23) 具然和 : *Propolis* と *Agaricus blazei Murrill* の単独並びに併用投与による抗がん作用と放射線防護効果の研究. *New Food Industry*, **52**(3), 13-20 (2006)
- 24) H. S. Goodrige, C. N. Reyes, C. A. Becker, T. R. Katsumoto, J. Ma, A. J. Wolf, N. Bose, A. S. H. Chan, A. S. Magee, M. E. Danielson, A. Weiss, J. P. Vasilakos and D. M. Underhill : Activation of the innate immune receptor dectin-1 upon formation of a 'Phagocytic Synapse'. *Nature*, **472**, 471-475 (2011)
- 25) C. Qi, Y. Cai, C. Ding, B. Li, G. Kloecker, K. Qian, J. Vasilakos, S. Saijo, Y. Iwakura, J. R. Yannelli and J. Yan : Differential pathways regulating innate adaptive anti-tumor immune responses by particulate and soluble yeast-derived  $\beta$ -glucans. *Blood*, **117**, 6825-6836 (2011)
- 26) G. Lehne, B. Haneberg, P. Gaustad, P. W. Johansen, H. Preus and T. G. Abrahamsen : Oral administration of a new soluble branched  $\beta$ -1,3-D-glucan is well tolerated and can lead to increased salivary concentrations of immunoglobulin A in healthy volunteers. *Clin. Exp. Immunol.*, **143**(1), 65-69 (2006)
- 27) E. Stuyven, F. Verdonck, I. V. Hoek, S. Daminet, L. Duchateau, J. P. Remon, B. M. Goddeeris and E. Cox : Oral administration of  $\beta$ -1,3/1,6-glucan to dogs temporally changes total and antigen-specific IgA and IgM. *Clin. Vaccine Immunol.*, **17**(2), 281-285 (2010)

# 採卵廃鶏肉から調製した肉醬の品質

## —特に麩の種類による最終製品の化学成分の違いについて—

楊 正護<sup>\*1</sup> 川上 誠<sup>\*2</sup> 石下 真人<sup>\*3</sup> 船津 保浩<sup>\*3</sup>

<sup>\*1</sup> YANG Jeng-Huh (台湾嘉義大学動物科学系), <sup>\*2</sup> KAWAKAMI Makoto (地方独立行政法人北海道総合研究機構食品加工研究センター), <sup>\*3</sup> ISHIOBOROSHI Makoto, FUNATSU Yasuhiro (酪農学園大学農食環境学群食と健康学類)

Key Words : 採卵廃鶏・鶏肉・肉醬・麩・発酵

日本では、1億3653万羽(平成16年)の採卵鶏が飼養されている<sup>1)</sup>。採卵鶏は鶏舎単位で全群更新される方法(オールイン, オールアウト方式)が一般的に採用されており, そのため, 産卵率の低下した20ヶ月齢の成鶏が一度に数万羽単位で採卵廃鶏となる<sup>2)</sup>。以前は廃鶏も肉用として多く利用されていたが, ブロイラー産業が発達し, 食鳥処理量(2003年現在)で, ブロイラーが大半(184万トン)を占め, 廃鶏は16万トン程度に留まっている<sup>3)</sup>。その理由としては, 廃鶏は比較的食感が劣り, その価値が大きく低下したためと考えられ, 廃鶏肉の一部がレトルト食品の具材や濃縮スープ製造などに用いられているのが現状であり, より付加価値の高い利用方法が求められている<sup>4)</sup>。最近, 宮口ら<sup>4)</sup>は採卵廃鶏間肉より筋漿タンパク質を抽出・添加することでモデルソーセージの物性が改善されると報じている。

台湾でも廃鶏は飼育期間が長く, 肉部が少なく, 肉質も硬く, 食感が悪いため, 経済的な付加価値を提供する目的で, 廃鶏のムネ肉は鶏肉ソーセージ, ハム, フランクフルト, ミートローフ, ミートボール, ジャーキー, すり身および蒲鉾等に利用されている。しかし, モモ肉の結締組織の含量が多いため, 加工する際に酵

素処理, 機械による採肉および酸-アルカリ処理が行われている<sup>5,6)</sup>。また, 内臓部分も利用が少ないため消費拡大が求められている現状である。

日本の代表的な発酵調味料である穀物醤油は, 大豆や麦などの穀物を主な原料として製造されている。穀物醤油以外にも魚貝類やその内臓を塩漬けして発酵させた魚醬が一部地域で製造され, 秋田県のしょつつるや石川県のイシルなどがよく知られている<sup>7)</sup>。魚醬の風味の改良方法として, 醤油麩の使用, 仕込み時に麩と乳酸菌や酵母の併用およびタンパク質分解酵素などを用いる方法が報告されている<sup>8)</sup>。

一方, 食肉を原料とした「肉醬(ししびしお)」の存在が伝えられているが, 仏教の伝来とともに肉食が敬遠されるようになって以来ほとんど製造されなくなった。日本では現在, 年間約500万トンの食肉が消費されているが, ほとんどが生肉等であるため食肉製品は1割程度に過ぎない。近年, BSEあるいは鶏インフルエンザなどの発生で, 食肉の生産や消費をめぐる環境は急激に変化している。また, 付加価値の低い食肉を有効活用することは, 今後重要と考えられる<sup>7)</sup>。このような背景の中で, 日本の伝統的な発酵技術を用いた食肉の調味料を製造する



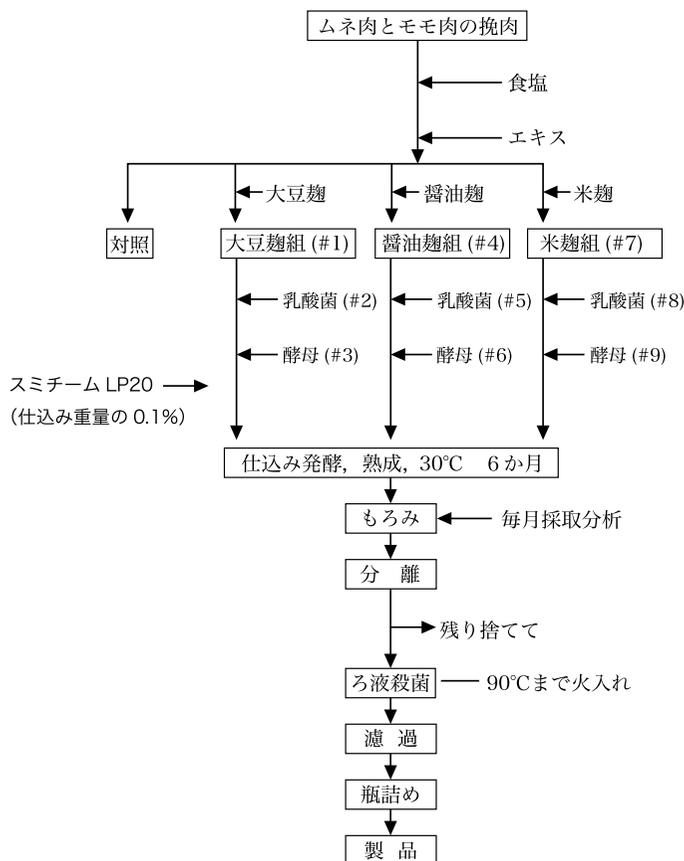


図1 鶏醬の製造法

### 1-3. pH の測定

試料 15mL を小試験管の採り、ガラス電極式 pH メーター (TOA HM-5S, 東亜電波工業 (株)) を用いて測定した。

### 1-4. 食塩分

食塩分はモル法によった。なお、補正係数は 0.98 (濃口) とした。

### 1-5. 無塩可溶性固形分

Brix は糖用屈折計 (Brix 手持屈折計 N-50E, (株) アタゴ, 東京) を用いて測定した。無塩可溶性固形分は Brix から食塩分を差し引いた数値 (%) で表示した。

### 1-6. 全窒素分およびアミノ態窒素

全窒素分およびアミノ態窒素はしょうゆ試験法<sup>16)</sup>により決定した。

### 1-7. アルコール量

試料中のアルコール量は微量 (2.5% 以下) のアルコールを定量するのに適する酸化法<sup>16)</sup>を用いて測定した。

### 1-8. 滴定酸度

試料中の酸味を測定するため酸度 I と酸度 II をしょうゆ試験法<sup>16)</sup>に従い測定し、その合計量を滴定酸度とした。

### 1-9. グルタミン酸量

試料を 5%TCA で等倍に希釈し、除タンパクしたものを 0.02N HCl で 40 倍希釈後、セルロースアセテートフィルター (0.45 $\mu$ m) でろ過し、ろ液 (20 $\mu$ L) をアミノ酸分析計 (日立 L-8800 型) に供した。

### 1-10. 嗜好性試験

北海道大学の台湾留学生の 15 名で構成されたパネルで受容性について -3 ~ +3 点 (-3, -2, -1, 0, +1, +2, +3) の 7 段階で市販醤油 (三笠鶏醬) を対照 (評点 0) として評価した。評価方法は SD 法<sup>22)</sup>を用いた。

## 2. 結果

### 2-1. 鶏醬の化学成分の特徴

鶏醬の収量はいずれの試料も増加し、76.3 ~ 82.8% となった。三上ら<sup>7)</sup>は豚挽き肉の肉醬で、発酵 6 ヶ月後には収量が 78.5% であり、本試験の結果と比較してもほぼ同じ収量であることが分かった。

鶏醬の pH をみると、対照が 5.7 であるのに対し、試料間にはばらつきがあり、4.7 ~ 6.0 の範囲であった。この値は三笠の鶏醬の値 (4.5) よりもやや高かった。安部と大西<sup>14)</sup>は烏骨鶏

醤油の pH が 4.7 で、三上ら<sup>7)</sup> は豚肉発酵調味料の pH が 4.8 ~ 4.9 の範囲にあると報じている。したがって、本研究での発酵は麴によって異なり pH の低下度合いは大豆麴が醤油麴や米麴よりもやや小さめであった。

鶏醬の Brix の値は 33.08 ~ 34.58 で、大麦麴を用いた魚醤油のそれ (39.3)<sup>17)</sup> や大豆濃口醤油のそれよりも低く、三笠の鶏醬 (33.64) とほぼ類似していた (結果は図示せず)。

鶏醬の全窒素分は、1.7 ~ 2.1g/100mL であった。これまでに、豚肉発酵肉醬の全窒素分は 1.7 ~ 2.0g/100mL<sup>7)</sup> で、烏骨鶏発酵肉醬のそれは 1.8g/100mL<sup>14)</sup> であり本研究の麴添加区値とほぼ類似していた。これらの値は JAS 規格の大豆濃口醤油の特級クラス値 (1.5g/100mL) よりも高かった。

鶏醬のアミノ態窒素は、0.97 ~ 1.57% であり、大豆麴添加区で高い傾向がみられた。これまでに大豆濃口醤油のアミノ態窒素量は 1.15% で、マルソウダ魚醤油のそれの 1.45%<sup>18)</sup> と本研究の値と類似していた。アミノ態窒素に対する全窒素分の比率は製品の品質に関与することが知られている。鶏醬のそれは 0.55 ~ 0.75 の範囲であり、大豆麴添加区で高い傾向で、大豆濃口醤油が 0.60、三笠の鶏醬が 0.56 であった。無塩可溶性固形分量をみると、14 ~ 16% の範囲の値であり、No.7 以外は JAS 規格の大豆濃口醤油の特級クラスよりやや低い値であった。しかし、三笠の鶏醬は大豆濃口醤油とほぼ同じレベルであった (19% と 20%)。

次に鶏醬の食塩分は、18.46 ~ 18.80% の範囲であったが、大豆麴添加のみでは 19.5% で対照は 30.4% であった。これは仕込み時に対照は食塩を 25% 添加し、これ以外の試料は 15% 添加したことによるものである。市販醤油の食塩分を調べると、16.3%<sup>19)</sup>、16.7%<sup>8, 18)</sup>、17.3%<sup>17)</sup> で、濃口醤油は 15.1%<sup>20)</sup>、16.38%<sup>14)</sup>、17.33%<sup>10)</sup>、薄口醤油は 17.07%<sup>14)</sup>、19.82%<sup>9)</sup> であると報じら

れている。Stute *et al.*<sup>21)</sup> は 23 種類醤油 (米国で輸入した醤油) を分析し、食塩分の範囲は 10.4 ~ 21.7% の範囲であると報じた。三上ら<sup>7)</sup> の豚肉発酵調味料の研究では仕込み時の食塩分を 15% に調整したが、6 ヶ月間発酵後のそれは 20.5 ~ 20.8% に増加すると報じている。安部と大西<sup>14)</sup> の調製した烏骨鶏醤油は食塩分が 16.25% であり、仕込み時の食塩分は 12.75% に調整されているため発酵時のサンプリングにより生じたアーティファクトと推定される。

鶏醬のアルコール量をみると、対照は検出されておらず、大豆麴添加区でも極めて少なかった (0.01% 以下)。一方、醤油麴添加区と米麴添加区はアルコール量がそれぞれ 1.24 ~ 1.38g/100mL と 2.04 ~ 2.50g/100mL であった。両者の麴の基質には小麦あるいは米が用いられるため、それらに含まれるでん粉が酵母のアルコール生成に利用されたと推測される。安部と大西<sup>14)</sup> によれば、烏骨鶏醤油のアルコール量は 1.44% である。また、矢野ら<sup>11)</sup> は豚肝臓の麴による分解液を調製して、固定化酵母 (*Zygosacch. rouxii*) を用いたバイオリクターにより 21 日発酵させた液のアルコール生成量は 0.9 ~ 2.5% と報じている。さらに、矢野ら<sup>10)</sup> はビーフ・ディファティド・ティッシュ (beef defatted tissue) および豚赤血球を主要原料とし、濃口醤油の製造方法に準じて 25℃ で 4 ヶ月間発酵させ、発酵調味料を調製したところ、得られた製品のアルコール量はそれぞれ 0.32 と 0.27% であった。一方、濃口醤油のアルコール量はそれぞれ 1.65%<sup>14)</sup> ~ 1.90g/100mL<sup>10)</sup>、薄口醤油は 1.26%<sup>14)</sup> ~ 1.22g/100mL<sup>9)</sup> であると報じられている。

鶏醬の滴定酸度を分析した結果を表 4 に示す。米麴添加区が平均的でその他の試料に比べて高値であり、次いで醤油麴添加区、大豆麴添加区の順であった。麴添加区のうち、乳酸菌と酵母の添加区では滴定酸度も高い傾向がみら

表2 鶏醬の滴定酸度 (mL)

	対照区	大豆麴添加区			醤油麴添加区			米麴添加区		
	対照	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8	No.9
酸度 I	2.65	3.67	7.83	9.52	9.66	11.80	11.00	9.80	13.04	14.00
酸度 II	3.59	10.23	11.25	12.12	11.25	11.40	10.84	12.05	11.64	13.14
酸度 I+II	6.24	13.80	19.08	21.64	20.91	23.20	21.84	21.85	24.68	27.14

表3 鶏肉醬の化学成分

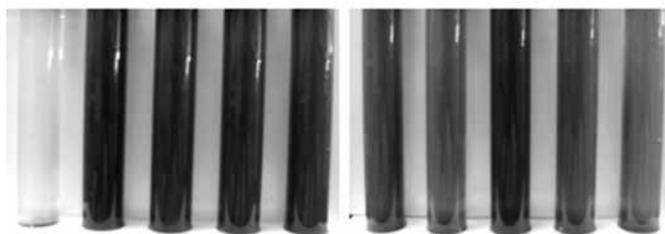
	pH	無塩可溶性固形分			アミノ態窒素			食塩分 (%)	滴定酸度 (mL)	グルタミン酸 (mg/100mL)
		固形分 (%)	収量 (%)	全窒素分 (g/100mL)	窒素 (g/100mL)	アルコール [% (w/v)]				
対照	5.7	1	48.71	0.46	0.13	ND	30.91	6.24	46	
No.1	6.0	14	76.85	2.12	1.59	ND	19.61	13.90	1434	
No.2	5.4	15	78.41	2.10	1.32	0.01	18.92	19.08	1315	
No.3	5.3	15	76.31	2.06	1.45	ND	18.95	21.64	1358	
No.4	5.1	15	81.65	1.73	0.95	1.24	18.57	20.91	1114	
No.5	4.8	15	82.82	1.82	1.00	1.38	18.75	23.20	1059	
No.6	4.8	14	80.61	1.65	1.02	1.38	18.72	21.84	1081	
No.7	5.2	16	81.81	1.78	1.15	2.21	18.95	21.85	1010	
No.8	4.7	15	81.55	1.78	0.97	2.04	18.77	24.68	992	
No.9	4.7	15	78.85	1.78	1.08	2.50	18.66	27.14	1011	
大豆濃口	4.8	19	—	1.67	1.01	2.05	16.23	20.50	1234	
三笠の鶏醬	4.5	20	—	2.09	1.18	1.97	14.08	27.65	804	

無塩可溶性固形分 = Brix- 食塩分. ND: 検出せず. —: 測定せず.

れた。米麴添加区の滴定酸度はやや高く、口に含んだ際に感じる酸味（押味とゴク味）がやや強いと思われた<sup>16)</sup>。濃口醤油の酸度 I は 10.5mL<sup>10)</sup>、13.88mL<sup>8)</sup> で、酸度 II は 8.8mL<sup>10)</sup>、11.76mL<sup>8)</sup> であると報じられている。薄口醤油の酸度 I と II もそれぞれ 8.00mL と 6.83mL であると報じられている<sup>9)</sup>。矢野ら<sup>11)</sup> は豚肝臓の麴による分解液を調製して、固定化酵母 (*Zygosacch. rouxii*) を用いたバイオリクターにより 21 日発酵させた液の酸度 I と II は共にほぼ 9.10mL であると報じている。

鶏醬のグルタミン酸量を見ると、992 ~ 1434mg/100mL の範囲であり、このアミノ酸が多い点では魚醬と共通していた<sup>7)</sup>。大豆麴添加区のグルタミン酸量は醤油麴

添加区と米麴添加区よりもかなり高い値であり、大豆濃口醤油のそれ (1234mg/100mL) と三笠の鶏醬のそれ (804mg/100mL) よりも高かった。したがって、仕込みや発酵条件により鶏醬の pH、無塩可溶性固形分、全窒素分、アミノ態窒素量およびアルコール量および滴定酸度に違いがあることが分かった (表 2 と 3)。鶏醬の色をみると、対照に比べていずれも茶褐色であるが、No.5, 6, 8 および 9 は他の試料に



対照 No.1 No.2 No.3 No.4 No.5 No.6 No.7 No.8 No.9

図2 鶏醬の色調

表4 台湾産大豆醬油の成分分析

	pH	無塩 可溶性 固形分 (%)	全窒素分 (g/100mL)	アミノ態 窒素 (g/100mL)	アルコール [% (w/v)]	食塩分 (%)	滴定酸度 (mL)	グルタミン酸 (mg/100mL)
萬家香	4.7	10	1.56	0.72	3.68	14.30	25.15	1977
金味王	5.1	13	1.57	1.00	2.91	14.08	17.28	2601
金味王婦友	5.1	21	1.43	0.97	3.44	14.49	17.02	2028
亀甲萬甘醇	4.8	14	1.43	1.10	2.92	13.96	22.16	1236
金蘭特級	4.9	10	1.54	0.99	0.62	14.13	21.38	2122
統一四季	4.9	11	1.46	0.98	1.50	14.30	19.34	1222
統一甲等	5.1	7	1.47	1.06	1.61	13.39	16.66	1384
味全甲等	5.0	7	1.51	0.96	0.60	14.47	19.64	1886

- 台湾三種類醬油：1. 無添加防腐剤：萬家香，金味王，金味王婦友  
 2. 添加アルコール，調味料：亀甲萬甘醇，味全醬油露  
 3. 添加防腐剤：金蘭特級，統一四季，統一甲等，味全甲等

比べて薄い色であった（図2）。麴のみで製造された試料はその他に試料に比べて色が濃く、茶褐色であった。また、結果は図示しないが、幅4mmの小型セルを用いた透過法による色調の測定では鶏醬のL\*とa\*値範囲はそれぞれ84.39～94.75と-1.68～-6.96の範囲であり、b\*の範囲は25.99～60.64の範囲であった。

鶏醬の嗜好性試験を行ったところ、大豆麴添加区は生臭いにおいがするため、台湾人留学生15名パネルのうち5名だけの評価となった。その結果、受容性は米麴添加区のNo.7の試料が最も良く（0.47）、次いで醬油麴添加区（No.5, 6, 7）の試料（0.26）が好まれた。

### 2-2. 鶏醬と台湾産大豆醬油との化学成分の比較

市販されている台湾産大豆醬油の化学成分を表4に示す。pHは4.7～5.1と鶏醬に比べると大豆麴添加区以外の製品と類似していた。台湾産大豆醬油の無塩可溶性固形分は7～27%と製品間に大きな違いが見られた。これは糖類の添加等の違いが一因と考えられる。全窒素分はいずれの試料も1.5g/100mLのレベルで鶏醬よりもやや低い値であった。アミノ態窒素のレベルは大豆麴添加区以外の鶏醬のそれとほぼ同じ

レベルであった。アルコール量は0.6～4.5%で製品間のばらつきが大きく、食塩分はいずれの試料も14%で鶏醬よりもやや低い値で三笠の鶏醬と同レベルであった。アミノ態窒素/全窒素分は0.46～0.77の範囲であり、鶏醬と類似していた。滴定酸度も13～25の範囲であり、鶏醬油のそれ（14～27）と類似していた。グルタミン酸量は1221～2601mg/100mLであり、鶏醬のそれ（992～1434mg/100mL）より高めであった。したがって、台湾の大豆醬油は鶏醬に比べて無塩可溶性固形分のばらつきが多く、グルタミン酸のレベルが高い点が異なることが分かった。

### 3. まとめと今後の課題

本稿では紹介していないが、鶏醬のpH, Brix, 全窒素およびアミノ態窒素の経時変化のプロファイルをみると発酵期間は約4ヶ月に短縮できる可能性と考えられる。また、味覚分析の結果からも、台湾の留学生は塩味、こくおよびうま味を強く感じない製品を好む傾向にあることが分かった。今後は発酵中の微生物相の変化、とくに製品の風味に影響する乳酸菌と酵母の消

長について詳しく調査したいと考えている。現在、台湾には大豆醤油は普及しているが、台湾式ソーセージは砂糖の添加量が多い<sup>23)</sup>ことから米麴を利用した鶏醬を開発して行きたいと思っている。

本研究は2008年度酪農学園大学外国人招聘

研究者研究費の一部を用いて実施されたものである。

本研究を遂行するにあたり嗜好性試験にご協力いただいた北海道大学教育学院教授 陳省仁博士、並びに台湾留学生諸氏に厚く感謝します。

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

- 1) 平野 進:日本の畜産, 幸書房, 東京, pp.176-177. (2005).
- 2) 駒井 亨:食料白書, 畜産物の需給動向と畜産業の課題, (食料, 農業政策研究センター編), pp.111-127. (2001).
- 3) 農畜産業振興機構:調査情報部, [畜産一国内編(2004年度)], p.26 (2004).
- 4) 宮口右二, 坂本太郎, 林 佑樹, 永山精美:採卵産鶏の有効利用:鶏筋漿タンパク質画分によるモデルソーセージの物性改善効果, 食科工, **52** (12), 572-577. (2009).
- 5) K-J. Lin, T-F. Tseng, J-H. Yang and Y-L. Lee. Studies on the improvement of chicken cooked ham processing III. Effect of organic acids and salts treatments on qualities of spent hen thigh muscle. *Food Science (Taiwan)* **19** (2), 138-148. (1992).
- 6) K-J. Lin, T-F. Tseng, J-H. Yang and Y-L. Lee. Studies on the improvement of chicken cooked ham processing IV. Effects of mechanical tenderization and added extender and binder on the quality of cooked ham manufactured from spent hen thigh muscle treated with organic acids and salts. *Food Science (Taiwan)* **19** (2), 149-160. (1992).
- 7) 三上正幸, Nguyen Hien Trang, 島田謙一郎, 関川三男, 福島道弘, 小野伴忠:豚肉発酵調味料”肉醬”の性質, 食科工, **54** (4), 152-159. (2005).
- 8) 船津保浩:醤油麴を用いて製造した魚醤油の風味. 食科工, **49** (1), 1-11. (2000).
- 9) 中村豊郎, 矢野幸男, 羽田輝美:食肉および食肉副産物の発酵調味料化に関する研究. 日畜会報, **56**, 851-859. (1985).
- 10) 矢野幸男, 羽田輝美, 中村豊郎:食肉副産物発酵調味料の速醸化と香味改良に関する研究. 日畜会報, **58**: 639-647. (1987).
- 11) 矢野幸男, 羽田輝美, 渋谷泰子, 中村豊郎:バイオリアクターによる食肉副産物の発酵調味料化. 日畜会報, **60**, 13-21. (1989).
- 12) 栗木隆吉:食肉を利用した発酵調味料の開発とその特性. 酪農科学・食品の研究, **43**, A109-114. (1994).
- 13) 柳田藤治:古く手新しい調味料”魚醬”, 食品工業, **5** (30), 26-23. (1996).
- 14) 安部正雄, 大西茂彦:烏骨鶏を用いた醤油風発酵調味料の開発(短報). 香川畜試研究報告, **40**, 28-29. (2005).
- 15) 三笠の鶏醬. <http://www.rakuten.com.jp/kei-sho/>
- 16) 広瀬義成:しょうゆ分析法, 「しょうゆ試験法」(しょうゆ試験法編集委員会編)(財)日本醤油研究所, 東京, pp.1-22. (1985).
- 17) 吉川修司, 田中 彰, 錦織孝史, 太田智樹:大麦麴耐塩性微生物を用いて調製したシロサケ魚醤油の開発. 食科工, **53** (5), 281-286. (2006).
- 18) 船津保浩, 砂子良治, 小長谷史郎, 今井徹, 川崎賢一, 竹島文雄:醤油麴を用いて製造したマルソウダ魚醤油および大豆こいくち醤油との呈味成分の比較. 日水誌, **66** (6), 1036-1045. (2000).
- 19) W. Taira, Y. Funatsu, M. Satomi, T. Takno and H. Abe. Changes in extractive components and microbial proliferation during fermentation of fish sauce from underutilized fish species and quality of final products. *Fish. Sci.*, **73**, 913-923. (2007).
- 20) H. Lioe, N.K. Wada, T. Aoki and M. Yasuda. Chemical and sensory characteristics of low molecular weight fractions obtained from three types of Japanese soy sauce (Shoyu) -Koikuchi, Tamari and Shiro Shoyu. *Food Chem.*, **100**, 1669-1677. (2007).
- 21) R. Sute, K. Petridis, H. Steinhart and G. Biermoth. Biogenic amines in fish and sauce. *Eur. Food Res. Technol.*, **215**, 101-107. (2002).
- 22) 野中敏雄, 山口静子:SD法, 「調理科学実験ハンドブック」(福場博保, 宮川金二郎編), 建帛社, 東京, pp.387-393. (1986).
- 23) 楊 正護:台湾の畜産と食肉製品. 食肉の科学, **50** (1), 81-86. (2009).

# 置き換え食を用いた減量支援プログラムの効果

## －「DHC ダイエットアワード 2011」報告－

蒲原 聖可\*

\*KAMOHARA Seika (健康科学大学教授 DHC 研究顧問)

Key Words：肥満・代替食・食事療法・ダイエット・実験・DHC プロテインダイエット

### はじめに

減量を目的とした食事療法では、置き換え食(フォーミュラ食, 代替食)の利用による一定の減量効果が示されてきた<sup>1,3)</sup>。また、肥満関連遺伝子変異の検索により、個人の体質に応じた肥満治療の可能性が報告されている<sup>1,2,4)</sup>。さらに、機能性食品素材・サプリメントを補完的に用いた減量効果の可能性も注目されるようになった。近年では、インターネットを活用した非対面式介入法による減量サポートの効果が散見される<sup>5)</sup>。今回、フォーミュラ食を置き換え食として用いた食事療法を中心に、肥満関連遺伝子変異検査および低エネルギー食品を併用し、インターネットを活用したダイエット支援プログラムを開発し、その効果を検証した。

### 1. 目的

減量希望者に対して、置き換え食(フォーミュラ食, 代替食)である DHC プロテインダイエット(ディーエイチシー)を中心に、低エネルギーのダイエットサポート食や機能性食品・サプリメントを補完的に用いるダイエット支援プログラムを開発し、3ヶ月間にわたる介入が体重や体組成に及ぼす影響を検討した。

### 2. 対象

フォーミュラ食を中心とした3ヶ月間のダイエット支援プログラムによる減量を希望する263名(男性32名, 女性231名)。

### 3. 方法

置き換え食・代替食としてのフォーミュラ食(「DHC プロテインダイエット」各種)、低エネルギー食品(「ダイエットサポートおやつ」等)、肥満関連遺伝子変異の検査に基づくライフスタイルの提案、管理栄養士による電話や電子メールでの相談とフォローアップ、インターネットの個人専用サイト「マイページ」を用いたフォローアップから構成されるダイエット支援プログラムを、2010年11月から2011年2月の3か月間、実施した。また、参加者に対するインセンティブとして、「DHC ダイエットアワード 2011」を設定した。

今回のダイエット支援プログラムの具体的な内容は、次の通りである。

#### ①食事療法

タンパク質含有低エネルギーのフォーミュラ食である「DHC プロテインダイエット」製品

を用いて、1日あたり1食あるいは2食を置き換え。また、低エネルギー食品であるDHCダイエットサポート食品を補助的に利用。

例えば、「DHC プロテインダイエット」ドリンク製品は、1袋50グラムあたりのエネルギー量が175～178kcalであり、タンパク質20.2～20.9グラム、食物繊維7.0～8.2グラムを含有する。なお、栄養素の含有量の差は、いちごミルク味、ココア味、バナナ味、ベリーミックス味等の商品の相違による。これらに加えて、22種類のビタミン類とミネラル類、コエンザイムQ10(35mg)、L-オルニチン塩酸塩(120mg)も含む。例えば、ココア味の製品はエネルギー量177kcal、タンパク質含有量20.9グラム、食物繊維含有量8.2グラムである。

## ②肥満関連遺伝子変異検査

セルフケア用の市販製品である「DHCの遺伝子検査・ダイエット対策キット～肥満関連遺伝子検査～」を用いた。本遺伝子検査では、採取された口腔粘膜細胞から、(1)ベータ3アドレナリン受容体( $\beta$ 3AR)遺伝子変異(Trp64Arg)、(2)脱共役タンパク質1(UCP1)遺伝子変異(3826A/G)、(3)ベータ2アドレナリン受容体( $\beta$ 2AR)遺伝子変異(Arg16Gly)の3種類が検出される。

また、利用者は、検査申し込み時に、体組成、生活習慣病の既往歴・家族歴、生活習慣など46項目のデータを記入することで、対象者の体質に基づいた個別のライフスタイルを提示することが可能となる。

なお、本検査における個人遺伝情報は、「経済産業分野のうち個人遺伝情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドライン(2004年12月17日策定)」に基づき取り扱った。

## ③運動療法およびライフスタイル全般の啓蒙

減量を目的とした運動療法に関する啓蒙書

を配布。減量のための啓蒙・解説書の提供。エクササイズ法や呼吸法、リラクゼーション法を紹介。

## ④管理栄養士による非対面型支援

電話あるいは電子メールを介した個別のフォローアップを実施。

## ⑤インターネット専用サイト構築による非対面型支援

専用ホームページを構築し、ダイエットに有用な情報の発信、参加者各自に「マイページ」の提供を実施。専用サイトの「マイページ」では、参加者が体重や体脂肪率を記録し、推移を把握できるように設定した。

## ⑥「DHCダイエットアワード2011」による対面型の動機付け

ダイエット支援プログラムでは、開始から1ヵ月毎、合計3回のレポート提出を依頼し、レポート提出者全員にフォローアップを実施した。さらに、今回のダイエット支援プログラムでは、参加者への動機付けとして、3か月の終了時点で「DHCダイエットアワード2011」を開催し、対面方法による減量の効果測定を行った。

## 4. 結果

ダイエット支援プログラム開始1ヵ月後の時点における第1回レポート提出者は195名(継続率74.1%)であり、そのうち、181名(92.8%; 男性24名、女性157名)が体重減少、17名(7.2%)が体重増加を示した。2ヵ月後の時点における第2回レポート提出者は、175名(継続率66.5%)であり、そのうち、163名(93.1%; 男性23名、女性140名)が体重減少、12名(6.9%)が体重増加を示した。3ヵ月後の時点における

第3回レポート提出者は、138名（継続率52.5%）であり、そのうち、134名（97.1%；男性21名、女性113名）が体重減少、4名（2.9%）が体重増加を示した。

ダイエット支援プログラムによる3か月間の介入終了時に、対面による減量の効果判定「DHCダイエットアワード2011」地区審査会を実施した。136名が参加し、133名（97.8%；男性21名、女性112名）において体重減少が認められた。体重減少者133名の体重減少幅を男女別に図1示す。

3ヶ月間で20キログラム以上の減量を達成した参加者は女性1名、15kg以上20kg未満の減量を示した参加者は男性3名であった。減量幅の層別で最も人数が多かったのは、男性21名では「10kg以上15kg未満」の7名（33.3%）、女性112名では「5kg以上8kg未満」の36名（32.1%）であった。また、男性10名（47.6%）、女性18名（16.1%）では、10kg以上の減量幅が認められた。

フォーミュラ食の利用状況を調べた結果、3ヶ月間のダイエット支援プログラム完了者全員が、DHCプロテインダイエットシリーズ製品を継続して利用していた。毎日確実に継続して、1日1食あるいは2食をフォーミュラ食で置き換えた参加者は、対面の地区審査会参加者136名中86名（63.2%）であった。

フォーミュラ食の利用頻度の内訳では、1日1回～2回（1食～2食）を置き換えたとする参加者が最多であった（図2）。また、フォーミュラ食に加えて、低エネルギー食品（DHCダイエットサポートミール&スープやDHC米コンニャク等）、サプリメント/健康食品（ダイエットパワーやビタミンBミックス等）を併用し

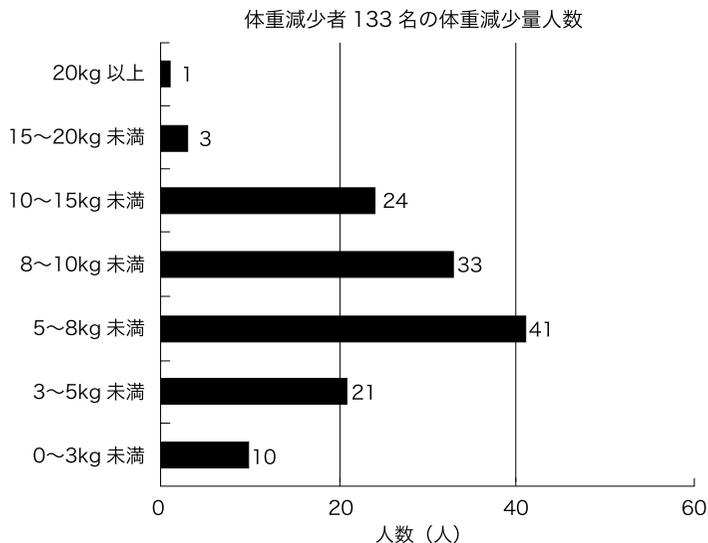


図1 体重減少者の内訳

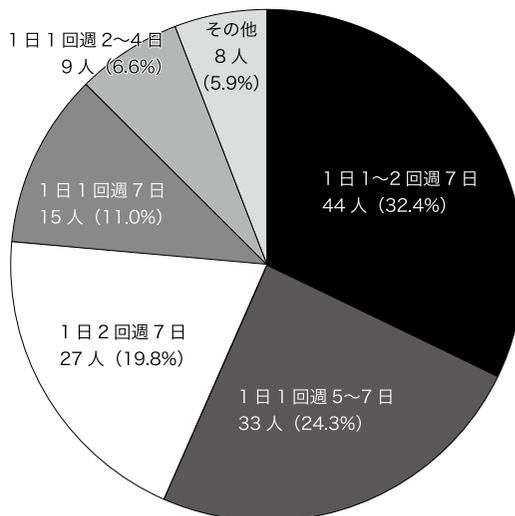


図2 DHCプロテインダイエットの利用状況

た参加者も多く認められた。サプリメントの併用率は、77.2%であった。

136名の運動習慣に関して、1週間の運動日数を調べた結果、週5～7日と回答した参加者が74名（54.4%）と最多であり、続いて、週3～4日の26名（19.1%）、週1～2日の20名（14.7%）であった。16名（11.8%）は運動習慣なしと回答した。男女別では、男性よりも女性

のほうが、運動への意識が高く、ウォーキングやジョギングを毎日行った参加者が認められた。

減量達成者の割合に関して、その算出方法を3か月間の介入完了者のうちの体重減少者とした場合、減量達成者の割合は97.79%と算出された。男女別では、男性が95.45%であったのに対して、女性では98.25%であり、女性において減量達成率が高いことが示唆された。

## 5. 考察

今回実施した3ヶ月間のダイエット支援プログラムの継続率は52.5%（263名中138名が完了）であった。男女別の割合は、男性が32名中21名、女性が231名中113名であり、参加者数は少数であるが男性における継続率が高い傾向を認めた。減量達成者の割合は、97.79%と高値であった。男女別では、男性が95.45%であったのに対して、女性では98.25%であり、減量達成率は女性のほうが男性よりも高値であった。

今回のダイエット支援プログラム完了者における減量達成率は、非常に高率であった。この理由として、フォーミュラ食による食事療法に加えて、プログラム専任の管理栄養士によるサポートやインターネットの専用ホームページを介したフォローアップによって、一定の行動変容が得られたことが考えられる。

一方、今回のプログラムでは、3ヶ月間の実施期間中に半数が脱落した。これは、実施の主体が、医療機関の肥満外来等によるものではなく、フォーミュラ食の製造販売企業であったこと、また、自由意思による任意の参加であったことなどが影響したと推察される。

近年、非対面式の減量プログラムでは、インターネットを用いた方法が検証されており、例えば、プライマリケアにおける肥満と高血圧の患者を対象にしたランダム化比較試験では、対照群に比べて、ウェブ版プログラムによる介入群において、有意な体重減少効果が示されている<sup>5)</sup>。また、費用対効果に関する検討では、インターネットを介した非対面式の減量維持プログラムは、従来型/アナログ型のものよりも優れていることも報告されている<sup>6-9)</sup>。

一般に、医療機関における肥満外来では、平日の昼間に定期的な通院が必要となるなど、肥満者にとっての時間的経済的な負担が大きく、脱落率は高率となる。今回のプログラムは、外来通院が現実的に困難な肥満者にとって、非対面型のサポート体制を整備したことから、全般的に費用対効果の高い方法であると考えられた。また、利用したフォーミュラ食製品群も、従来の類似製品と比べて、使用者にとって費用対効果の高い製品であった。

### おわりに

今回のダイエット支援プログラム「DHC ダイエットアワード2011」の結果、フォーミュラ食による食事療法を主体として、インターネットの専用ホームページや無料電話相談によるフォローアップを併用する場合、管理栄養士による非対面型の介入によって、肥満解消に対する一定の有用性が示唆された。

### 〔謝辞〕

今回のダイエット支援プログラム実施に際してご尽力いただきました株式会社ディーエイチシーの販売促進部、医薬食品相談部、その他の関係者の皆様に深謝いたします。

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

- 1) 蒲原聖可 / 砂山聡. 肥満症診療ハンドブック. 医学出版社. 2001.
- 2) 蒲原聖可. ダイエットを医学する. 中央公論新社. 2001.
- 3) Delbridge E, *et al.* State of the science: VLED (Very Low Energy Diet) for obesity. *Asia Pac J Clin Nutr.* **15**:Suppl:49-54, 2006.
- 4) Hotta K, *et al.* Variations in the FTO gene are associated with severe obesity in the Japanese. *J Hum Genet.* **53**:546-53, 2008.
- 5) Bennett GG, *et al.* Web-based Weight Loss in Primary Care: A Randomized Controlled Trial. *Obesity.*, **18**:308-13, 2010.
- 6) Meenan RT, *et al.* Development and implementation cost analysis of telephone- and Internet-based interventions for the maintenance of weight loss. *Int J Technol Assess Health Care.* **25**:400-410, 2009.
- 7) van Wier MF, *et al.* Effectiveness of Phone and E-Mail Lifestyle Counseling for Long Term Weight Control Among Overweight Employees. *J Occup Environ Med.* **53**:680-686, 2011.
- 8) Nguyen B, *et al.* A review of electronic interventions for prevention and treatment of overweight and obesity in young people. *Obes Rev.* **12**:e298-314, 2011.
- 9) Kodama S, *et al.* Effect of web-based lifestyle modification on weight control: a meta-analysis. *Int J Obes.* 2011 Jun 21. doi: 10.1038/ijo.2011.121.

# 大豆麴乳酸菌発酵液の抗酸化能

## —続報：in vitro 研究

中山雅晴<sup>\*1</sup> 前沢留美子<sup>\*2</sup> 腰原菜水<sup>\*3</sup>

<sup>\*1</sup> NAKAYAMA Masaharu, <sup>\*2</sup> MAEZAWA Rumiko, <sup>\*3</sup> KOSHIHARA Nami (喜源バイオジェニクス研究所)

Key Words：大豆麴乳酸菌発酵液・活性酸素・抗酸化・液体大豆麴

### はじめに

ガンや糖尿病等の生活習慣病の発生原因、或いは増悪因子としての体内活性酸素の影響に関しては、既に多くの知識が蓄積されている<sup>1-3)</sup>。一方で、活性酸素に対抗する手段として、日々の食物に由来する抗酸化物質の役割が従来にも増して強調されつつある<sup>4-6)</sup>。

我々は、大豆麴乳酸菌発酵液の抗酸化能に関して、水相に於ける *in vitro* 実験を以前に行い、その結果を本誌上にて報告した<sup>7)</sup>。大豆麴乳酸菌発酵液は、液体大豆麴、黒糖、米糠エキス、炭酸カルシウムよりなる培地に6種類の乳酸菌と1種類の酵母を接種して得られる培養液であり、その製法に関しても、以前に本誌上にて詳細に述べた<sup>8)</sup>。便宜上、ここで改めて簡単に紹介する。即ち、高圧加熱滅菌した10%大豆粉水溶液に麴菌を無菌的に接種し、30℃にて18日間振蕩培養して液体大豆麴を作る。これに10%に黒糖、2.5%に米糠エキス、1%に炭酸カルシウムを加えて再度加熱滅菌し、大豆麴培地を得る。これを6分割し、*Lactococcus lactis* KN1、*Leuconostoc mesenteroides* KN34、*Lactobacillus curvatus* KN40、*Lactobacillus plantarum* KK1131、*Lactobacillus plantarum* KK1532、*Lactobacillus plantarum* KK2503 をそれぞれに接種する。これに加えて酵母菌である *Saccharomyces cerevisiae*

AHU3035 を各々に接種し、30℃で4日間共生培養する。6種の培養液を一つに混じ、加熱滅菌後、最終的に大豆麴乳酸菌発酵液を得る。

今回は、リノール酸自動酸化系を用いた油相の実験、ウサギ赤血球膜酸化抑制試験、P-815細胞を用いた酸化傷害抑制試験、蛍光色素を用いた細胞内酸化抑制試験を行い、その結果、前回の結果をさらに補強するデータが得られたので、ここに報告する。

### 1. 材料と方法

#### 1) 試料

リノール酸自動酸化試験で用いた試料は、大部分が前回の実験で使用したものをそのまま引き継いだ。手短かに述べると、大豆麴乳酸菌発酵液に対してヘキサシンによる脱脂、アセトンによる除タンパクを施した後、一旦凍結乾燥し、これにイオン交換水、メタノール、エタノール、或いは酢酸エチルを加えて三回抽出後、初期量に濃縮、定容した。生細胞を用いる実験に於いては、上記メタノール抽出分画からメタノールを除去し、これに phosphate buffered saline (PBS) を加えた後に pH を 7.2 ~ 7.4 に調整し、その後初期量に PBS で定容後、0.2 $\mu$ m のフィルターで濾過したものを用意した (以下、細胞用試料

と略す)。尚、文中に於いて試料のメーカー名無表記のものは、全て和光純薬工業株式会社製(大阪, 日本)のものである。

## 2) リノール酸自動酸化試験

試験は、成書或いは文献記載の方法を適宜に改変して行った<sup>9-11)</sup>。酸化反応に於いては、3.5 × 8cm のガラス製サンプル瓶を利用し、これに各種抽出分画試料を 40 $\mu$ L, linoleic acid 99% (ACROS, New Jersey, USA) を 100 $\mu$ L, 100mM リン酸緩衝液を 0.88mL, Tween 20 を 10 $\mu$ L 加え、蓋を閉めた後、振荡培養装置 MR-200 (株式会社プリス, 東京, 日本) を用いて、40 $^{\circ}$ C, 120rpm, 24 時間反応させた。対照には、酸化抑制対照として 2mM の BHT (2,6-di-*t*-butyl-4-methylphenol) を、非抑制対照として試料の代わりにメタノールを加えたもの(メタノール溶媒区)を用意した。

酸化反応に於いて生じた malondialdehyde (或いは thiobarbituric acid reactive substances = TBA 反応物) の検出に於いては、15mL プラスチック試験管に 100mM リン酸緩衝液を 700 $\mu$ L, 20mM TBA (2-thiobarbituric acid, SIGMA-ALDRICH, St.Louis, USA) を 1mL, 0.2% BHT を 100 $\mu$ L, 酸化反応後の linoleic acid/ 試料溶液を 200 $\mu$ L 加え、蓋を閉めた後、60 $^{\circ}$ C の恒温槽で 1 時間反応させた。BHT 並びに TBA はメタノールにて溶解した。1 回の試験に付き、試料は各々 3 個ずつ用意した。測定に於いては、プラスチック 96well プレートを用いて、各 well に TBA 反応終了試料溶液を 200 $\mu$ L ずつ入れ、ELISA リーダー Multiskan MS (Labsystems, Helsinki, Finland) を用いて 520nm で測定した。測定は、各試料に付き triplicate で行った。結果は、各試験区のメタノール溶媒区に対する TBA 反応物生成阻害率で表した。測定時には 200 $\mu$ L にメタノールを加えた well を設け、ブランクとした。

阻害率 (%) = (1 - (試験区吸光度 - ブランク)

/ (メタノール溶媒区吸光度 - ブランク)) × 100

上記一連の試験を独立して 3 回行い、結果は平均値 ± 標準偏差で表した。

## 3) ウサギ赤血球膜酸化抑制試験

大澤等の方法に準じた<sup>12)</sup>。具体的には、新鮮ウサギ脱繊維血液(日本バイオテスト研究所, 東京, 日本)を冷却遠心機により PBS で 3 回洗浄後(2000rpm, 5 分間)、過剰量のイオン交換水に懸濁し、十分に攪拌して溶血した。その後、1.5mL のエッペンチューブに 1mL ずつ分注し、冷却小型高速遠心機 (eppendorf 5417R, Hamburg, Germany) を用いて 4 $^{\circ}$ C にて 16400rpm, 10 分間遠心。上清を棄却後、等量のイオン交換水を再度加え、攪拌して沈査を再懸濁後、再び遠心した。これを血色素が殆ど排除されるまで繰り返し、得られた沈査をウサギ赤血球膜分画とした。赤血球膜タンパクは、市販のキットを用いて変法ローリー法にて測定した (Modified Lowry Protein Assay Kit, Thermo SCIENTIFIC, Lockford, USA)。酸化反応に於いては、2.4mg アルブミン相当量の赤血球膜分画に 1mL の PBS を加えて懸濁したものを 1.5mL 容量のエッペンチューブに加え、次に大豆麴乳酸菌発酵液メタノール抽出分画試料(以下、メタノール抽出試料)を 50 $\mu$ L, 酸化剤として 10mM の *t*-butyl hydroperoxide/PBS を 50 $\mu$ L 加え、37 $^{\circ}$ C, 18rpm, 30 分間反応させた。メタノール抽出試料は、PBS を用いて終濃度 5%, 2.5%, 1.25% に希釈した。対照区には、等量の PBS を加えた (PBS 対照区)。その後、蓋付きガラス試験管に反応終了試料溶液を 1mL, 0.2% BHT を 10 $\mu$ L, 20% TCA (trichloroacetic acid) を 0.5mL, 20mM TBA 1mL を加え、蓋を閉めた後、30 分間煮沸して TBA 反応物を生成させた。溶解ガスを十分に放出させた後、1mL をエッペンチューブに加えて 16400rpm で 5 分間遠心し、上清を採取した。これを、プラスチック 96well プレートを用いて 200 $\mu$ L/well に加え

(triplicate), ELISA リーダーで 520nm の吸光度を測定した。結果は、PBS 対照区に対する各試料濃度の TBA 反応物生成阻害率で表した。測定時には 200 $\mu$ L に PBS を加えた well を設け、ブランクとした。

阻害率 (%) = (1 - (試験区吸光度 - ブランク) / (PBS 対照区吸光度 - ブランク))  $\times$  100

上記一連の試験を独立して 3 回行い、結果は平均値 $\pm$ 標準偏差で表した。

#### 4) P-815 細胞酸化傷害抑制試験

細胞をメタノール抽出試料で前処理する事によって、その後の酸化傷害を防御する事が出来るかどうか調べた。細胞には、浮遊細胞の P-815 細胞 (mouse mastocytoma, 理研バイオリソースセンター, つくば市, 日本) を用い、酸化剤には *t*-butyl hydroperoxide を用いた。メタノール抽出試料としては先に述べた細胞用試料を用い、これを 10%FBS 加 RPMI1640 (Invitrogen/GIBCO, Carlsbad, USA) に終濃度 5%, 2.5%, 1.25%, 0% に希釈したもの (0% は試料無添加) を用意した。-80 $^{\circ}$ C 保存の P-815 細胞ストックを解凍し、PBS で 2 回洗浄後、10%FBS 加 RPMI1640 に懸濁し、5% CO<sub>2</sub> インキュベーターにて培養した。対数増殖期の細胞を収穫し、PBS で 2 回洗浄後、上記に希釈した各試料溶液中に、1.0  $\times$  10<sup>6</sup>/mL に懸濁した。これらをプラスチック 12well プレートの well に 2mL ずつ加えた。その後、5% CO<sub>2</sub> インキュベーター内で 1 時間培養し、細胞用試料による P-815 細胞の前処理を行った。

培養終了後、各 well から 1mL ずつ細胞培養液を 2 個のエッペンチューブに回収し、これを PBS で 2 回洗浄した後、上清を廃棄した。それぞれの 2 個のチューブのうち、1 個には試験区として終濃度 0.5mM の *t*-butyl hydroperoxide/PBS を沈査に 1mL 加え、残りのチューブには PBS を 1mL 加えた (対応ブランク)。再懸濁後、37 $^{\circ}$ C, 18rpm で 45 分間反応させた。

反応終了後、再び PBS で 2 回洗浄し、等量の 10%FBS 加 RPMI1640 に再懸濁した。これを、96well プラスチックプレートを用いて各 well に 100 $\mu$ L ずつ加えた (triplicate)。細胞傷害性測定は、CellTiter 96<sup>TM</sup> AQueous 細胞増殖試験 (プロメガ株式会社, 東京, 日本) による MTS (3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -5- (3-carboxymethoxyphenyl) -2- (4-sulfophenyl) -2H-tetrazolium, inner salt) 法を用い、細胞の生残性として評価した。方法は、キット添付の解説書に従った。簡単に述べると、MTS/PMS (phenazine methosulfate, SIGMA-ALDRICH) / PBS 溶液を各細胞培養液 well に 20 $\mu$ L ずつ加えた後、5% CO<sub>2</sub> インキュベーターにて 37 $^{\circ}$ C で 4 時間培養した。培養終了後、ELISA リーダーで 490nm の吸光度を測定した。結果は、まず初めに生残率 (各濃度試験区の吸光度の、試料並びに酸化剤無添加対照区の吸光度に対する割合) を求めた。さらに、試料による細胞への直接的な影響を考慮し、対応ブランクに対しても同じ様に生残率を求め、前者の値から後者を引いて補正した。

生残率 (%) = (試験区吸光度) / (試料並びに酸化剤無添加対照区吸光度)  $\times$  100

補正後生残率 (%) = 各試験区生残率 - 対応ブランク生残率

上記一連の試験を独立して 3 回行い、結果は平均値 $\pm$ 標準偏差で表した。

#### 5) 蛍光色素を用いた細胞内酸化抑制試験

メタノール抽出試料中の効果成分が細胞膜を通過し、細胞質内の酸化を抑制出来るか調べた。試験は、生細胞によって取り込まれた後に細胞質内で酸化される事によって蛍光を発する物質である CDCFH (6-carboxy-2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, di(acetoxymethyl ester), Invitrogen) を用いて行った<sup>13-15)</sup>。メカニズムを簡単に述べると、CDCFH は細胞膜通過後に細胞質内で拡散し、細胞質の

エステラーゼによって分子内の酢酸エステルが分解される。その後、細胞内の酸化物質によって dichlorofluorescein に転換され、蛍光を発する。この時、細胞外から添加された酸化剤が細胞内に存在すれば、それに対応して蛍光が強くなる。従って、細胞を酸化抑制物質で処理する事によって CDCFH による蛍光が減弱すれば、当該酸化抑制物質は細胞膜を通過し、細胞質内に拡散する能力を有する事の間接的な証明となる。

細胞には付着性の細胞である L929 (mouse fibrosarcoma, 理研バイオリソースセンター) を用いた。試験法は、CDCFH 添付の説明書に従った。CDCFH は水分不含 DMSO で溶解し、少量をプラスチックバイアルに分注後、窒素ガスを封入して蓋を閉め、 $-80^{\circ}\text{C}$  で保存した。使用時は、これに 0.01%  $\text{CaCl}_2/\text{MgCl}_2$  加 PBS (以下 PBS (+)) を加えて希釈した。 $-80^{\circ}\text{C}$  保存の L929 細胞ストックを解凍し、PBS で 2 回洗浄後、10%FBS 加フェノールレッド不含 MEM (日本製薬株式会社, 東京, 日本) に懸濁し、プラスチック平底フラスコを用いて 5%  $\text{CO}_2$  インキュベーターにて培養した。コンフルエントに達した細胞を 0.25% trypsin+0.02% EDTA/PBS 溶液にて剥がし、PBS で 2 回洗浄後、10%FBS 加フェノールレッド不含 MEM を加えて  $5.0 \times 10^4/\text{mL}$  に懸濁した。プラスチック 12well プレート各 well 底に 13mm 径の滅菌カルチャーカバーグラス (松浪硝子工業株式会社, 大阪, 日本) を 1 枚ずつ設置後、各 well に細胞懸濁液を 2ml ずつ加えた。5%  $\text{CO}_2$  インキュベーターにて  $37^{\circ}\text{C}$ , 24 時間培養後、試験区の培養上清を 100 $\mu\text{L}$  除去し、代わりに細胞用試料を等量加え (終濃度 5%), さらに 18 時間培養した。対照区には細胞用試料の代わりに PBS を等量加えた。培養終了後、 $37^{\circ}\text{C}$  に加温した PBS (+) を用いて細胞 well をピペッティングによって 4 回洗浄し、同 PBS (+) にて初期量である 2mL/well に置換した。その後、各 well に、*t*-butyl

hydroperoxide/PBS (+) を終濃度 100 $\mu\text{M}$  に、CDCFH/PBS (+) を同 10 $\mu\text{M}$  に加えた。酸化剤の代わりに PBS (+) を加えた対照区を設けた。さらに、酸化剤と同時に終濃度 5% に細胞用試料を加えた試験区を用意した。プレートを 5%  $\text{CO}_2$  インキュベーターにて  $37^{\circ}\text{C}$ , 20 分間培養して CDCFH 並びに *t*-butyl hydroperoxide を細胞内に浸透～拡散させた後、再び well を  $37^{\circ}\text{C}$  加温の PBS (+) で 4 回洗浄した。その後、各 well に 10%FBS 加フェノールレッド不含 MEM を 2mL に加え、再び 30 分間培養して、細胞内エステラーゼを働かせた。この時、培養液中に終濃度 5% に細胞用試料を加えた試験区を用意した。培養終了後、終濃度 10% にホルマリン/PBS 溶液を加え、遮光し、室温で 20 分間固定した。固定終了後、各 well 底のカルチャーカバーグラスをイオン交換水で洗浄し、グリセリンを用いてガラススライドに接着後、蛍光顕微鏡 DM LB2 (LEICA, Wetzlar, Germany) を用いて、L5 フィルターブロックを通して 400 倍で観察した (励起 480/50nm, 吸収 527/30nm)。観察像は CCD カメラ DC480 (LEICA, 露出 1.0 秒, ゲイン 7.0  $\times$ ) で撮影し、画像ソフト Image manager IM50 (LEICA) を用いてパソコン上に取り込んだ。試験は三回繰り返し、結果を確認した。

#### 6) 液体クロマトグラフィーによるイソフラボン量の測定

前回報告した 12 種類のイソフラボンの他に、新たに (R, S) equol (LC Laboratories, MA, USA), dihydrodaidzein (Toronto Research Chemicals Inc., North York, Canada), 3', 4', 7-trihydroxyisoflavone (同) を用意して、液体大豆麹 0 日～18 日の培養液中の濃度の推移を液体クロマトグラフィーにより調べた。同時に、これらの化合物の抗酸化能を、MPEC 法とリノール酸自動酸化系を用いて調べた。液体クロマトグラフィーの測定条件と MPEC 法に関しては、前回報告した。

## 7) 統計処理

全ての結果は平均値±標準偏差として表した。必要があるものに関しては統計学的処理(分散分析, ANOVA)を施し, その後必要に応じて検定処理(Tukey's HSD test)を行った。両側5%以下を有意差と見なした。

## 2. 結果

### 1) リノール酸自動酸化試験結果

大豆麴乳酸菌発酵液上清, イオン交換水抽出分画, メタノール抽出分画, エタノール抽出分画, 酢酸エチル抽出分画のリノール酸自動酸化阻害率を比較した結果, 図1に示す様に, メタノール抽出分画の阻害率が最も高かった。イオン交換水, メタノール, エタノール, 酢酸エチルのいずれの溶媒にも酸化抑制効果は殆ど無かった(data not shown)。また, 大豆麴乳酸菌発酵液上清並びにイオン交換水抽出分画は, 非常に強い抑制を示す場合と全く示さない場合の

バラツキが極めて大きく, 結果として図に示すようなグラフ形状となった。その為, 結果は統計学的には有意では無かったが, メタノール抽出分画の阻害率の強さは明らかであったので, 以降の試験は全てメタノール抽出試料を用いて行われた。

大豆麴乳酸菌発酵液, 並びに大豆麴培地を構成する各種分画のメタノール抽出試料の抗酸化能は, 図2に示す様に, 培養液(大豆麴乳酸菌発酵液), 培地(大豆麴培地), 液体大豆麴の三者の阻害率に殆ど差が見られなかった事から, メタノール抽出試料の抗酸化能は液体大豆麴由来であると考えられた。この結果を受けて, 液体大豆麴の培養日数に伴う抗酸化能の変化を調べた(図3)。その結果, 培養に伴って阻害率が上昇する事が明らかとなった。培養開始後16日目に阻害率はピークに達したが, 18日目に於いても殆ど変わらず高い値を維持した。

18日目の液体大豆麴を用いて作製した大豆

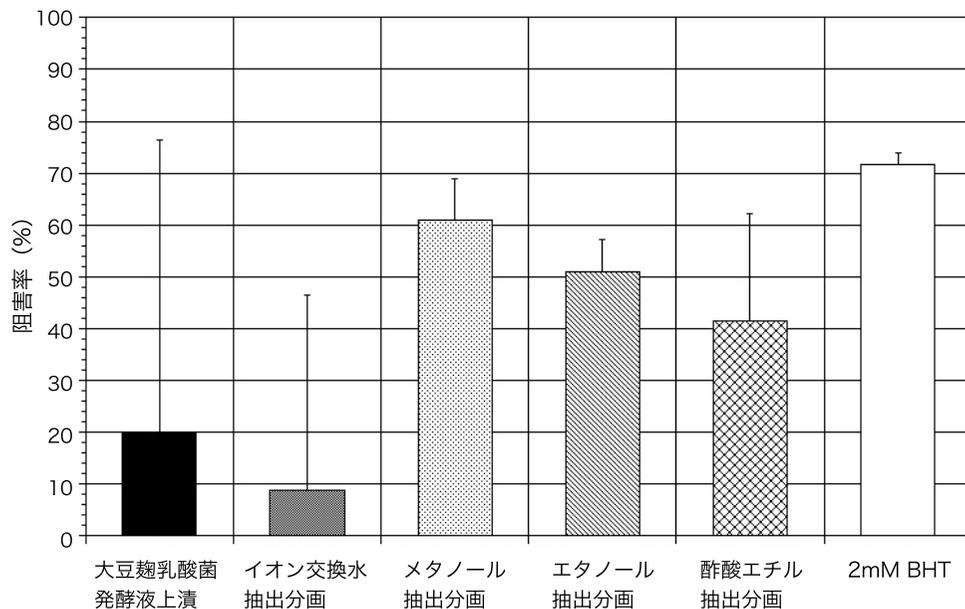


図1 リノール酸自動酸化系に於ける大豆麴乳酸菌発酵液上清並びに各抽出分画の, TBA 反応物生成阻害率の比較

独立した三回の試験の平均値±標準偏差

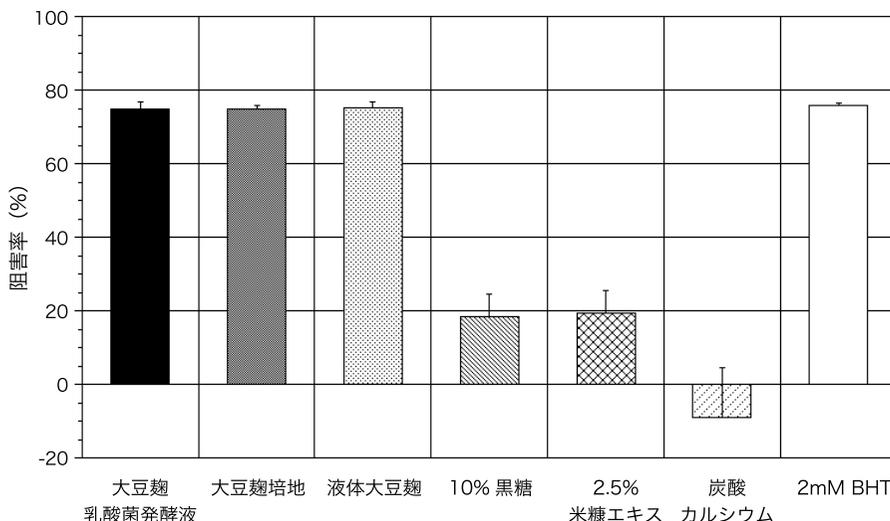


図2 リノール酸自動酸化系に於ける大豆麹乳酸菌発酵液、大豆麹培地並びに大豆麹培地を構成する各分画のメタノール抽出試料の、TBA 反応物生成阻害率の比較  
独立した三回の試験の平均値±標準偏差  $p<0.0001$  (by ANOVA)

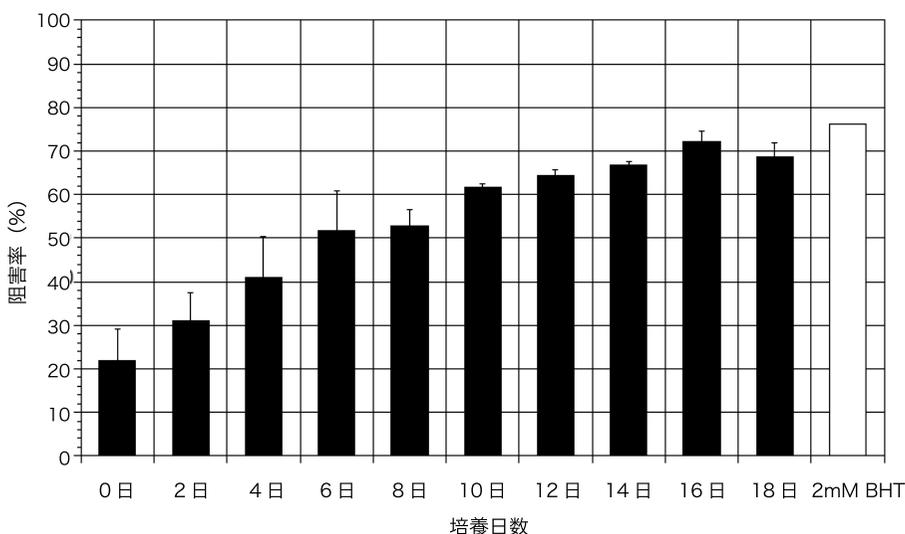


図3 リノール酸自動酸化系に於ける液体大豆麹メタノール抽出試料の、培養日数に伴う阻害率の変化  
独立した三回の試験の平均値±標準偏差  $p<0.0001$  (by ANOVA)

麹培地に、大豆麹乳酸菌発酵液で用いる6種の乳酸菌それぞれと1種の酵母を接種、培養して6種類の培養液を作り、それぞれのメタノール抽出試料の抗酸化能を同様に測定した所、差は殆ど見られなかった (data not shown)。

市販の愛知県産豆味噌、長野県産米味噌、ナ

チュラルヨーグルトそれぞれのメタノール抽出物を作製し、大豆麹乳酸菌発酵液のメタノール抽出試料と比較した。試料は、前回用いたものと同じである。その結果、図4に示す様に、大豆麹乳酸菌発酵液の阻害率が最も高く、ヨーグルトに対して有意差を示した ( $p<0.05$ )。

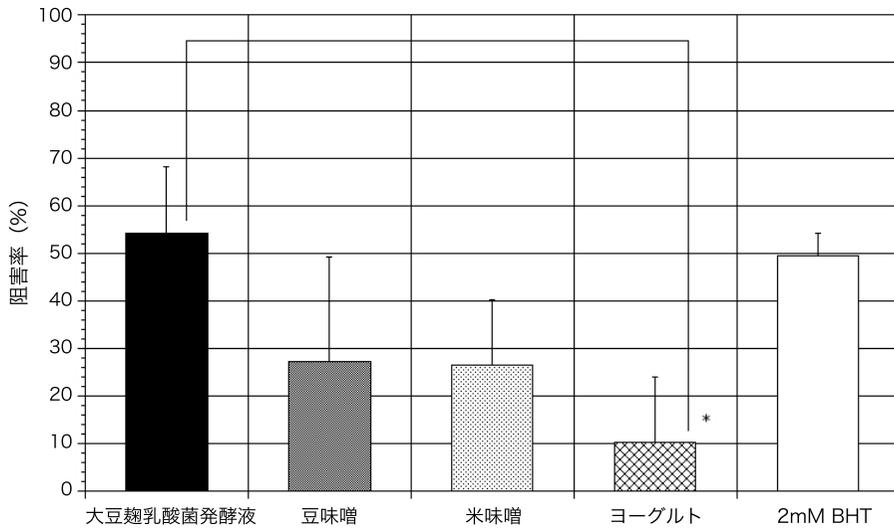


図4 リノール酸自動酸化系に於ける大豆麹乳酸菌発酵液並びに他の発酵食物のメタノール抽出試料の阻害率の比較  
独立した三回の試験の平均値±標準偏差  $p < 0.05$  (by Tukey's HSD test following ANOVA)

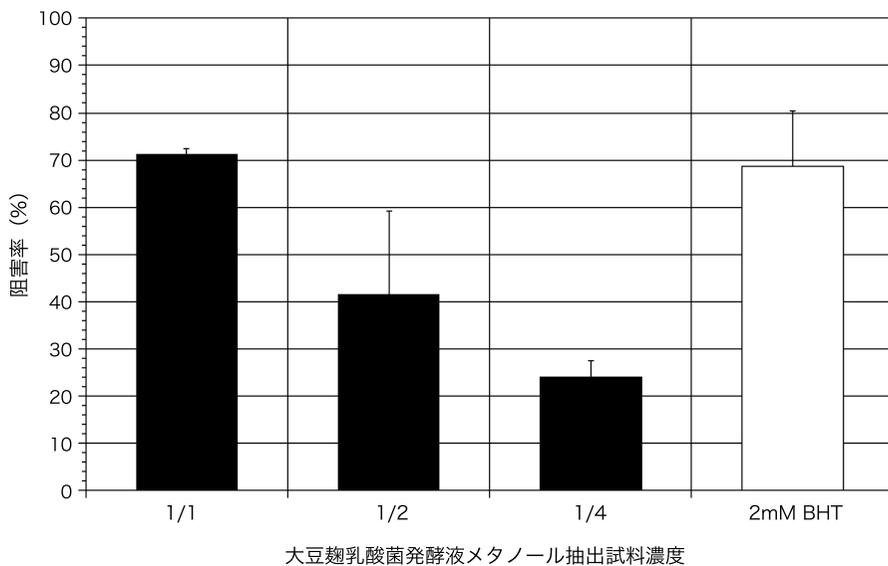


図5 大豆麹乳酸菌発酵液メタノール抽出試料の、濃度依存的TBA反応物生成阻害結果  
独立した三回の試験の平均値±標準偏差  $p < 0.01$  (by ANOVA)

以上の様なメタノール抽出試料のリノール酸自動酸化試験に於ける抗酸化能は、図5で示す様に、濃度依存的であった。また、メタノール抽出試料自体にはリノール酸酸化作用は認められなかった (data not shown)。

## 2) ウサギ赤血球膜酸化抑制試験

図6に示す様に、メタノール抽出試料は、10mMの *t*-butyl hydroperoxide/PBS によるウサギ赤血球膜の酸化を、有意かつ濃度依存的に抑制した ( $p < 0.05$ )。

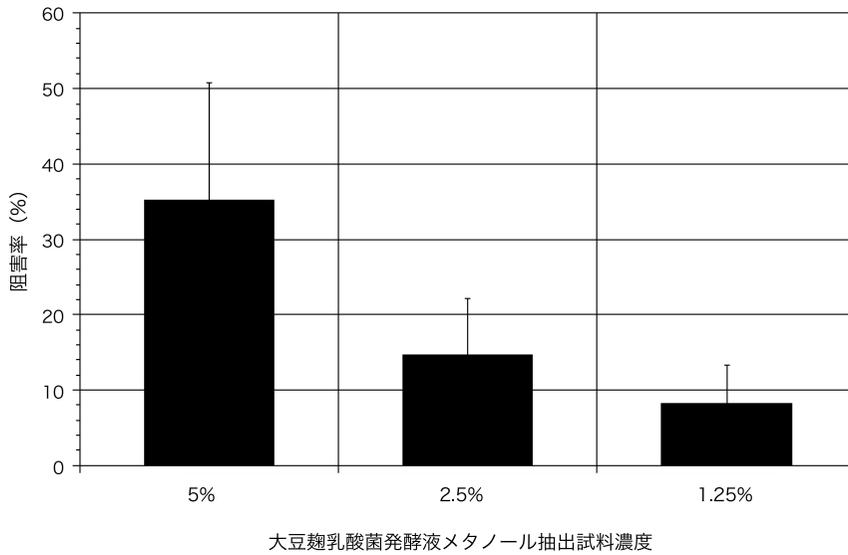
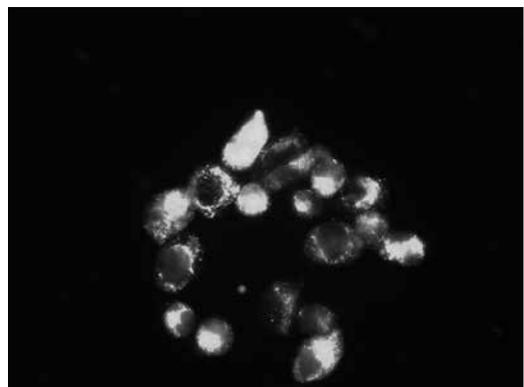


図6 ウサギ赤血球膜酸化抑制試験に於ける大豆麴乳酸菌発酵液メタノール抽出試料の濃度依存的TBA反応物生成阻害結果  
独立した三回の試験の平均値±標準偏差  $p < 0.05$  (by ANOVA)



A : CDCFH + 細胞用試料前処理 + 酸化剤添加



B : CDCFH + 細胞用試料無添加 + 酸化剤添加



C : CDCFH + 細胞用試料無添加 + 酸化剤無添加



D : CDCFH + 細胞用試料前処理 + 酸化剤無添加

写真 蛍光色素を用いた細胞内酸化抑制試験

### 3) P-815 細胞酸化傷害抑制試験

メタノール抽出試料から得られた細胞用試料による P-815 細胞の前処理は、0.5mM の *t*-butyl hydroperoxide/PBS による同細胞に対する傷害性を濃度依存的に抑制した。各試料濃度に対応する生残率は、5% で  $72.3 \pm 4.7\%$ 、2.5% で  $66.0 \pm 3.0\%$ 、1.25% で  $64.7 \pm 3.2\%$ 、0% (試料無添加) で  $62.0 \pm 3.5\%$  であった。5% 濃度区が生残率は、0% 区に対して統計学的に有意であった ( $p < 0.05$ )。

### 4) 蛍光色素を用いた細胞内酸化抑制試験

細胞用試料による L929 細胞の前処理により、CDCFH の *t*-butyl hydroperoxide 刺激による細胞内の蛍光は、*t*-butyl hydroperoxide 無添加対象区とほぼ同程度に抑制された (写真 A, B, C)。細胞用試料そのものには CDCFH の蛍光増強作用は無かった (写真 D)。CDCFH 取り込み後に細胞用試料を投与した場合も、細胞内蛍光は抑制された。一方で、細胞用試料、*t*-butyl hydroperoxide、CDCFH の三者を同時に投与した場合には、蛍光が抑制される事例と細胞傷害像が観察される事例とが混在した (data not shown)。

### 5) 液体クロマトグラフィーによるイソフラボン量の測定

液体大豆麹 0 日 ~ 18 日の培養液中に於ける equol, dihydrodaidzein, 3',4',7-trihydroxyisoflavone の濃度の推移を液体クロマトグラフィーにより調べ、液体大豆麹の培養に伴う抗酸化能のパターン変化との関連を比較した結果、これらのイソフラボン化合物と抗酸化能との間には相関は全く認められなかった (data not shown)。

## 3. 考察

前回の水相での報告に引き続き、大豆麹乳酸菌発酵液のメタノール抽出試料は、リノール酸自動酸化系を用いた油相に於いても強い抗酸化

能を示した。一方で、大豆麹乳酸菌発酵液上清、並びにイオン交換水抽出分画の阻害率平均値は低く、加えてバラツキが極めて大きかった。対照として用いた 2mM BHT は TBA 反応物の生成を極めて良く抑制した一方で、10mM アスコルビン酸は全く抑制しなかった事から (data not shown)、イオン交換水抽出物の抑制効果の低さは試料中の効果成分の極性度が主要因であると考えられる一方で、大豆麹乳酸菌発酵液上清にはメタノール溶解物も存在する事を考えると極性だけでは説明出来ず、結果のバラツキが極めて大きいことを考慮に入れると、大豆麹乳酸菌発酵液には、メタノール不溶の抑制阻害物質が存在する可能性が強く示唆された。

培養液を各種分画に分けて調べたところ、これも水相同様に、液体大豆麹分画に強い効果が認められ、培養に伴う増加が顕著であった。油相での液体大豆麹の阻害率パターンは培養に伴ってほぼ一直線に増加し、水相に於いて示された様な、培養 12 日目にピークを示した後に減少に転じるパターンとは異なった。両試験共に全く同じ試料を用いているので、培養に伴う誤差の可能性は低いと思われる。従って、油相の効果成分が水相のそれとは異なる可能性も考えられる。各種発酵食品との比較に於いては、前回同様、大豆麹乳酸菌発酵液の抗酸化能が最も強かった。

以上の結果を得た後、大豆麹乳酸菌発酵液のメタノール抽出試料が実際に細胞レベルで効果を示すか、一連の実験を行った。初めに、ウサギ赤血球膜への *t*-butyl hydroperoxide による酸化系を用い、細胞膜に対する酸化抑制の可能性を調べた。その結果、メタノール抽出試料は、これを濃度依存的かつ有意に抑制した為、効果成分が細胞膜局所に於いても抗酸化的に働く可能性が示唆された。引き続き、P-815 細胞に対する *t*-butyl hydroperoxide による酸化傷害を抑制するか調べた結果、細胞用試料を加えた培地

でP-815細胞を前処理する事により、P-815細胞の生残率は濃度依存的かつ有意に上昇した。以上の結果から、メタノール抽出試料中の効果成分は、細胞膜酸化を抑制すると同時に、細胞質内に取り込まれる事によって、細胞を酸化傷害から防御する可能性が示唆された。

一方で、予備実験の結果、細胞用試料を細胞培養液に対して5%以上添加すると、明らかな細胞傷害性が示された (data not shown)。また、5%以内の添加であっても、酸化剤と同時に加えると、しばしば酸化剤による細胞障害が増悪される結果が得られた (data not shown)。大豆由来イソフラボン化合物、或いは大豆抽出液の *in vitro* に於けるガン細胞増殖抑制～傷害性に関しては、既にいくつかの報告がある<sup>16-18)</sup>。従って、細胞用試料中のイソフラボン化合物がP-815細胞への傷害性に関与したのかも知れない。また、細胞用試料は大豆麹乳酸菌発酵液の抽出物であるので、乳酸菌菌体由来物質も多く溶解していると考えられる。乳酸菌菌体由来の多糖類によるガン細胞に対するアポトーシス効果もいくつか報告されているので<sup>19, 20)</sup>、これらが働いているのかも知れない。いずれにせよ、マウスガン細胞系列に対する傷害性が、試料中の抗酸化成分そのものによって引き起こされたかどうかは、現時点では不明である。

次に、抽出物中の効果成分が実際に細胞膜を通過し、細胞質に於いて、外部由来の酸化剤による酸化を抑制する事が出来るか調べた。細胞用試料を用いて終濃度5%にL929細胞を前処理後、細胞内に取り込まれた後に酸化されて蛍光を発する化合物である CDCFH と膜通過性の酸化剤である *t*-butyl hydroperoxide を同時に投与し、酸化による CDCFH 由来物質の細胞内発色を蛍光顕微鏡により観察した結果、CDCFH と酸化剤のみを加えた対照区に於いては蛍光色素の発色が顕著であった一方で、細胞用試料の

前処理を施した試験区に於ける細胞内蛍光は非常に弱く、その程度は酸化剤を加えない対照区と殆ど同等であった。また、細胞用試料前処理細胞に CDCFH を添加し、酸化剤を加えない区に於いても細胞内蛍光は非常に弱かった事から、試料自体には酸化作用は無い事が示された。さらに、CDCFH と *t*-butyl hydroperoxide の細胞内取り込み後、一旦細胞を洗浄し、その後培地を再び加えて30分間培養するが、その時点で細胞用試料を加えても細胞内蛍光は顕著に抑制される事から、試料内効果成分は速やかに細胞膜を通過し、細胞質内に拡散する事が示唆された。

一方で、細胞用試料が細胞内エステラーゼ活性を阻害し、その結果蛍光抑制を導いた可能性も否定出来ないが、CDCFH の添加量を増やした場合は細胞用試料を加えても強い蛍光が観察される事から、試料のエステラーゼ阻害の可能性は低いと思われる。また、細胞用試料と *t*-butyl hydroperoxide を同時に投与した場合も多くは蛍光が抑制されたが、一方では細胞障害の像が観察される例もあった。従って、P-815細胞の場合と同様に、試料中の細胞傷害性物質と酸化剤が共役的に細胞障害に向けて働く可能性が、ここでも指摘された。

今回新たに、液体大豆麹中に於ける equol, dihydrodaidzein, 3', 4', 7-trihydroxyisoflavone を液体クロマトグラフィーによって測定した結果、いずれも図3で示される抗酸化能のパターンとは大きく異なっていた。また、MPEC法とリノール酸自動酸化系を用いてこれらの化合物の抗酸化能を測定した所、3', 4', 7-trihydroxyisoflavone は比較的高い抑制を示したが、他の二種は両試験共に殆ど抑制を示さなかった (data not shown)。以上の結果から、これら3種類のイソフラボン化合物がメタノール抽出試料中の抗酸化物質の主体である可能性は低いと考えられた。

### おわりに

大豆麴乳酸菌発酵液のメタノール抽出試料はリノール酸の自動酸化を濃度依存的に抑制し、*t*-butyl hydroperoxide によるウサギ赤血球膜酸化と P-815 細胞障害を濃度依存的に抑制した。CDCFH による実験から、効果成分は L929 細胞膜を速やかに通過し、細胞内に於いても酸化抑制効果を示す事が明らかとなった。効果成分は液体大豆麴由来であると考えられ、液体大豆麴の培養日数に伴って抗酸化能も増加する事から、大豆中の成分が麴菌によって代謝を受け、抗酸化能増加に繋がったと考えられた。また、抽出試料中には、マウスガン細胞系列に対する

傷害性を有する成分が含まれる事も示された。さらに、前回に加えて新たに 3 種類のイソフラボン標品を揃えて効果成分の同定を試みたが、候補として合致するものは無かった。以上の結果から、大豆麴乳酸菌発酵液中の抗酸化成分並びにガン細胞傷害性成分の特定と作用機序の解明が、今後の重要な研究課題として残った。

最後に、大豆イソフラボン化合物の代謝に関して貴重なご助言を賜りました独立行政法人食品総合研究所機能生理評価ユニットの田村基博博士に、この場を借りまして改めて感謝申し上げます。

### ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 文 献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) Nathan F. M., Singh V. A., Dhanoa A. and Palanisamy U. D.: Oxidative stress and antioxidant status in primary bone and soft tissue sarcoma, *BMC Cancer*, **11**:382, (2011)
- 2) Huang S. X., Jaurand M. C., Kamp D. W., Whysner J. and Hei T. K.: Role of mutagenicity in asbestos fiber-induced carcinogenicity and other diseases, *J. Toxicol. Environ. Health B*, **14**, 179-245 (2011)
- 3) Teixeira-Lemos E., Nunes S., Teixeira F. and Reis F.: Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties, *Cardiovasc. Diabetol.* **10**:12, (2011)
- 4) Fu Z., Zhang W., Zhen W., Lum H., Nadler J., Bassaganya-Riera J., Jia Z., Wang Y., Misra H. and Liu D.: Genistein induces pancreatic  $\beta$ -cell proliferation through activation of multiple signaling pathways and prevents insulin-deficient diabetes in mice, *Endocrinology*, **151**, 3026-3037 (2010)
- 5) Iovine B., Iannella M. L., Gasparri F., Monfrecola G. and Bevilacqua M. A.: Synergic effect of genistein and daidzein on UVB-induced DNA damage: an effective photoprotective combination, *J. Biomed. Biotechnol.* **2011**: 692846, (2011)
- 6) Hillman G. G., Singh-Gupta V., Al-Bashir A. K., Yunker C. K., Joiner M. C., Sarkar F. H., Abrams J. and Haacke E. M.: Monitoring sunitinib-induced vascular effects to optimize radiotherapy combined with soy isoflavones in murine xenograft tumor, *Transl. Oncol.*, **4**, 110-121 (2011)
- 7) 中山雅晴, 前沢留美子, 腰原菜水: 大豆麴乳酸菌発酵液の抗酸化能: *in vitro* 研究, *New Food Industry*, **53**, 20-32 (2011)
- 8) 中山雅晴, 前沢留美子, 腰原菜水, 中村泰輝: 新規植物性乳酸菌健康食品基材の開発, *New Food Industry*, **51**, 28-44 (2009)
- 9) 川岸舜朗編著: 食品中の生体機能調整物質研究法, 生物化学実験法 38, 学会出版センター (1995)
- 10) 名武昌人, 団野源一: リノール酸の自動酸化に対するシステインの酸化促進作用について, *栄養と食糧*, **26**, 251-256 (1973)
- 11) 竹内若子, 大橋千浩, 木学量子, 角野史佳, 平井菜穂子: ナスポリフェノール量がラジカル捕捉活性および抗酸化活性に及ぼす影響, *名古屋女子大学紀要*, **50**, 53-58 (2004)
- 12) Osawa T., Ide A., Su J. D. and Namiki M.: Inhibition of lipid peroxidation by ellagic acid, *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 808-812 (1987)
- 13) Kurose I., Miura S., Fukumura D., Yonei Y., Saito H., Tada S., Suematsu M. and Tsuchiya M.: Nitric oxide mediates kupffer cell-induced reduction of mitochondrial energization in hepatoma cells: a comparison with

- oxidative burst, *Cancer Res.*, **53**, 2676-2682 (1993)
- 14) Yasunari K., Kohno M., Kano H., Minami M. and Yoshikawa J.: Aldose reductase inhibitor improves insulin-mediated glucose uptake and prevents migration of human coronary artery smooth muscle cells induced by high glucose, *Hypertension*, **35**, 1092-1098 (2000)
  - 15) Yasunari K., Maeda K., Watanabe T., Nakamura M., Yoshikawa J. and Asada A.: Comparative effects of valsartan versus amlodipine on left ventricular mass and reactive oxygen species formation by monocytes in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy, *J. Am. Coll. Cardiol.* **43**, 2116-2123 (2004)
  - 16) Park K., Choi K., Kim H., Kim K., Lee M. H., Lee J. H. and Kim Rim J. C.: Isoflavone -deprived soy peptide suppresses mammary tumorigenesis by inducing apoptosis, *Exp. Mol. Med.*, **41**, 371-381 (2009)
  - 17) Hsu A., Bray T. M., Helferich W. G., Doerge D. R. and Ho E.: Differential effects of whole soy extract and soy isoflavones on apoptosis in prostate cancer cells, *Exp. Biol. Med.*, **235**, 90-97 (2010)
  - 18) Lee D. E., Lee K. W., Song N. R., Seo S. K., Heo Y. S., Kang N. J., Bode A. M., Lee H. J. and Dong Z.: 7,3',4'-trihydroxyisoflavone inhibits epidermal growth factor-induced proliferation and transformation of JB6P+ mouse epidermal cells by suppressing cyclin-dependent kinase and phosphatidylinositol 3-kinase, *J. Biol. Chem.*, **285**, 21458-21466 (2010)
  - 19) Choi S. S., Kim Y., Han K. S., You S., Oh S. and Kim S. H.: Effects of lactobacillus strains on cancer cell proliferation and oxidative stress *in vitro*, *Lett. Appl. Microbiol.*, **42**, 452-458 (2006)
  - 20) Kim Y., Oh S., Yun H. S., Oh S. and Kim S. H.: Cell-bound exopolysaccharide from probiotic bacteria induces autophagic cell death of tumour cells, *Lett. Appl. Microbiol.*, **51**, 123-130 (2010)

# 大学における食品開発プログラムの紹介

## — 地域資源利用によるフードマイスター育成 —

永島 俊夫\*

\*NAGASHIMA Toshio (東京農業大学生物産業学部 食品香粧学科)

Key Words：商品開発・地域ブランド・特産品・フードマイスター・教育・オホーツク・網走市

### はじめに

北海道網走市に立地する東京農業大学生物産業学部（オホーツクキャンパス）では、文部科学省が行っている大学教育の質保証のための主体的な取組への支援「大学教育・学生支援推進事業」大学教育推進プログラム【テーマA】（特色GPと現代GPが発展的に統合）に『地域資源利用によるフードマイスター育成』が採択された。取組期間は平成21年度から23年度の3年間である。今回採択を受けたテーマは、農林水産資源が豊富に存在するオホーツクの地域資源を最大限に利用して、食品加工および起業化の手法を学ぶこと、技術力と創造力を養い高品質な地域の食品ブランドづくりを目指すこと、地域産業の振興に貢献できる人材を育成することなどを目的としている。現在は3年目であるが、実際のプログラムの実施は平成22年度からで、今年はその2年目が行われている。

### 1. 目的と背景

生物産業学部では、農・林・畜産物の原料素材について学ぶ生物生産学科、水産資源について学ぶアクアバイオ学科、食品の加工、品質管理、香粧品などについて学ぶ食品香粧学科（旧食品科学科）、それに販売・マーケティング戦

略や起業化などについて学ぶ産業経営学科の4学科が設置されている。そこでこれらの各学科における教育研究分野の特色を生かし、「フードシステム」としての体系を理解した上で、「オホーツク・モノづくり学」を総合的・学際的に学び、「オホーツク・フードマイスター」を育成して、食品加工の技術力と創造的思考力を向上し、学士力を高めることを目指す。

プログラムを実施する背景として、本学部ではこれまでに次のような実績がある。(1) 食品加工技術センターでは学生の食品加工実習や卒業論文研究など、教育研究の場として活用されているほか、地域との産官学連携による様々な製品開発や市民講座などにも貢献するなど、高い技術的蓄積を有していること。(2) 2004年4月に設立した学生起業「株式会社 東京農大バイオングストリー」では地域の企業と連携し、エミューの利用を中心とした生産・加工・販売・経営を実践し、「ソーセージ」や「どら焼き」などの製品開発に成功した実績を有していること。(3) 過去に2件の「現代GP」の採択を受け、これらの実践的な教育プログラムを運営する機関として、大学内に「オホーツク実学センター」を設置し、これまでも「特別講義」という授業枠を活用して、これらの教育プログラムに取り組んできた。本取組はこれらの実績を生

かし、学科横断的に生産～加工～流通～ビジネスというつながりをもって専門性を超えた広い枠組みでの実践的・融合的な教育プログラムとして実施する。

## 2. プログラムの内容

本取組は生物産業学部におけるこのような食品加工・モノづくり、起業化、実践的な教育プログラムの実績を基盤として、発展的に展開しようとするものであり、「オホーツク・フードマイスター」を育成するために、基礎的な内容から実践性、さらには応用性を帯びたプログラムへと、段階的に発展する体系的な教育課程を整備している。

まず基礎編では、食品加工や食品開発に関するプロセスとして、オホーツク地域の原材料を適正に評価し、その調達から、加工や保蔵に関する知識や技法、食品衛生や安全性、売れるブランド商品づくりやマーケティング、事業化や起業化に関するビジネスとしての基礎的な知識を学ぶ。実践編では、既に実績のある各種加工製品におけるトピックを基盤とした、実習プログラムを実施する。このように、総合的な学習経験を積み重ね、深い専門知識を得るだけでなく、技術力や創造力を磨くことにより、学生の創造的思考力の向上を期待することができる。

各年度の実施計画については、本格的な教育プログラムの実施は平成22年度からとなるため、後半期から開始される21年度は準備期間と位置付け、教育プログラムの推進体制の整備や、取組のPR、フォーラムなどを実施する。平成22年度と23年度は受講学生を募集し、教育プログラム「オホーツク・モノづくり学」を実施する。そして成果報告会と同時に加工品開発コンペなどを実施する。

## 3. 実施体制と評価

本取組の実施体制として、これまで実学教育プログラムを推進している既設のオホーツク実学センターに、「オホーツク・モノづくり学」プロジェクト委員会を新たに設置し、学科横断的に組織された学内の担当教員と、学外に委嘱する外部コンソーシアム委員によって、教育プログラムの運営・改善を行う体制を整える。特に学内の食品加工技術センターと東京農大バイオインダストリーとの、相互に連携した推進体制を整えることは、技術的蓄積と、販売ノウハウを教育プログラムに反映させやすくなり、高い教育的効果が期待できる。

本取組の評価体制としては、本学の教学委員会によって、自己点検を含めた評価を行うが、この他に外部評価委員からの評価を行うことで、より高い透明性を確保する。「オホーツク・フードマイスター」を授与する評価方法は、受講の態度、出席回数、レポート内容、成果報告会における加工品開発とビジネスモデルの提案によって、それぞれ点数化した評価を行い、総計100ポイント中70ポイント以上獲得した者に対してこれを授与する。また、教育プログラムの評価体制としては、「オホーツク・モノづくり学」プロジェクト委員会において、企画・運営に対し自己点検評価、外部評価、学生による評価によりチェック体制を整え、これらを検証しながらプログラムの改善へとつなげていく。

## 4. 達成目標と期待される効果

本取組の成果としての「オホーツク・フードマイスター」は、オホーツクの豊富な生物資源の生産、そしてその加工、流通販売などの部門を相互に理解し、本学における教育研究の実績基盤を融合させることによって生み出される。

そして、本取組の実施により、オホーツクの地域資源をくまなく把握した「モノづくり」を学ぶことで、食品製造における加工工程やその技術について理解するほか、販売・マーケティングなどビジネス感覚も習得することが可能となる。本取組で、生物資源の持続的な利用を基盤とした、オホーツク地域ブランドの創造に取り組む人材を育成することは、社会的ニーズを踏まえた新たな商品開発や起業活動、新たな雇用創出や企業間連携による共同開発へと発展する可能性があり、これは経済産業省や農林水産省で進めている農商工連携の促進につながり、社会的にも高い効果があるものと考えられる。まさにこのプログラムは本学部で提唱してきた「オホーツク学」の具体的実践であり、応用の一環ということになる。

## 平成 22 年度の成果

本プログラムの募集人数は 40 名を予定していたが、応募してきた学生は 100 名を超えたため、50 名を選抜してスタートした。基礎科目から応用科目の講義、食品加工実習、食品衛生実験などを学んだあとは 6 グループに分かれ、それぞれの学生たちのアイディアで食品開発を行ってもらった。1 年間のまとめとして、プロジェクト委員や一般市民に対して最終成果報告会を行い、プレゼンテーション、製品の披露、意見交換などで成果を評価した。以下にその成果の概要を示す。

### (1) 「オホーツクの食材を用いたご飯のお友」

オホーツクの食材を用いたご飯のお友について開発した。コンセプトとしてオホーツクは豊かな資源に恵まれていることを活かし、多くの人たちに手軽に食べてもらえるもの考えた。オホーツクで採れる規格外野菜などの未利用資源を用いることによりコストを抑えことを検討

し、最初は漬物を考えたが発酵時間がかかることなどから、食べるラー油のような野菜や具の入ったご飯と一緒に食べられ、ほかの加工品と組み合わせることができる「しかまんま」という製品を考えた。これは肉と野菜を同時に摂取でき、子供の弁当にも活用できる。北海道では鹿が増えすぎて農業被害や交通事故などが問題となっており、その有効利用が検討されていることから、鹿肉を中心に規格外野菜のニンジン、ゴボウ、玉ねぎなどを用いることにした。これはその名の通りごはんのにせて食べることはもちろん、チャーハンやジャージャー麺、ポテトサラダ、ピザ、お茶漬、餃子、たこ焼き、うどん、パスタ、納豆、豆腐など、いろいろなものとの相性がよく、使い方によって新たな味付けの料理ができるものと思われる。



写真 1 「しかまんま」

### (2) 「地域野菜を利用したハマナスドレッシング」

地域に自生しているハマナスに目を向け、ハマナスドレッシングの開発を行った。最初ハマナスの甘酸っぱさを生かしたお菓子作りを目指したが、特徴あるものができなかったため、ハマナス本来の酸味を生かしたドレッシング作りに変更した。ハマナスビネガーを作るにあたり、ベースとなる酢をリンゴ酢、穀物酢、ワインビネガーから選択するとともに、使用する油も、ごま油、サラダ油、オリーブオイルの 3 種類を選んだ。ハマナスビネガーの作り方は、半解凍させたハマナスの実を半分に取り、氷砂糖とリ

ンゴ酢，穀物酢，ワインビネガーにそれぞれ1週間ずつ漬け，1週間～3週間の経過による味の変化を比べた。種々検討した結果，ドレッシングに使う酢はワインビネガーとし，2週間ハマナスを漬け込み，これに玉ねぎや香辛料を配合して完成品とした。

食べ方は，通常のサラダに使うだけでなく別の班が開発した「彩色うどん」とのコラボレーションを考えたところ，ハマナスドレッシングのさっぱりとした味と彩色うどんの大麦若葉・トマトピューレ，玉ねぎのうどんの風味との相性がよく，豊かな味わいが楽しめた。

さらにハマナスビネガーによるドレッシングは数種の味の変化をもたせてシリーズ化し，「ハマナスドレ酢シリーズ」として完成させることを目指した。そのラベルデザインは図のようにし，「ドレス」という言葉にちなんでレース生地を使って上品のものとし，ハマナスの実をモチーフにした絵をつけたデザインとした。

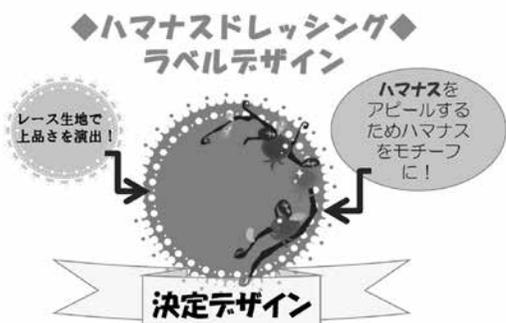


図1 ラベルデザイン

### (3) 「北海道の特産品，長芋を利用した新商品の開発」

最近流行している白いたい焼き，白いバームクーヘンというような白いお菓子作りを目指し，北海道の特産品の中から白い食材として長芋を用いることにした。長芋は蒸すとほくほくした食感が得られるため，これを有効的に利用した新規のお菓子作りに挑戦した。

スイートポテトのサツマイモを長芋に変えたレシピで試作したところ，長芋の風味はあるものの水分が多いため生地がうまくまとまらなかった。そこで水分を調節するため片栗粉を加え同じレシピで試作したところ，生地はうまくまとまり，もちもちとしたこれまでにない新たな食感が得られ，スイートポテトとは異なるがこの食感を活用した商品作りを目指すことになった。この生地には餡を加えることにし，北海道産の小豆，白花豆，かぼちゃ，ずんだ，にんじん，ブロッコリーなどを試した。まず餡を入れて焼いたところ，生地がひび割れてうまくいかなかったため，生地を焼いてから餡をはさむことにより新たな食感のお菓子が完成した。最終的に小豆，白餡，カボチャ，ずんだの4種類の餡を採用した。また，生地で餡を挟むことで色もきれいな見栄えの良い製品になった。



写真2 長いも利用商品

### (4) 「オホーツク食材を使用した彩色うどん」

道東産野菜の未利用資源の活用，北海道産小麦粉の活用を目的に味や見た目も楽しみながら食べられる「うどん」を開発した。色付けする食材は，大麦若葉，カボチャ，玉ねぎ，ニンジン，ブロッコリー，それにトマトピューレなども使ってみた。試食して検討した結果，製品として，玉ねぎ，ブロッコリー，カボチャ，トマトピューレを使用することにした。うどんを製作するにあたって粉にもこだわった。通常うどんは中力粉を用いるが，数種類の強力粉や薄力

粉を用いてうどんのコシについて食べ比べをしたところ、地域の「ホクシン」（薄力と中力の中間）が良好であり、他の粉は混合せず「ホクシン」のみで作ることにした。

うどんの食べ方について、当初は麺つゆで食べることを考えていたが、試食をしてみたところ合わない麺があることがわかった。野菜を練りこんだうどんということもあり、ドレッシング等をかけたり、ポン酢で食べるサラダうどんのようにしてもよく、これまでの「うどん」とは違う新たな食品としての広がりが見られた。



写真3 彩色うどん

#### (5) 「おじゃき～地域資源を利用したおやきの開発～」

網走を訪れた観光客の方々がおやつ感覚で手軽に食べることができること、おみやげとして購入し、簡単に持ち運びができること、そしてオホーツク地域の豊富な資源を利用することなどをコンセプトとして製品化を目指したのは「おやき」を参考にした「おじゃき」である。具には鮭やホタテ、鹿肉などオホーツクの地域資源、生地には網走管内の主要三作のひとつであるじゃがいもを使用した、「オホーツクじゃ

がいもおやき」、略して「おじゃき」と名付けた。生地はじゃがいもをゆでてつぶして、片栗粉、ホタテパウダーを加えてよく混ぜ、成型する。片栗粉、ホタテパウダーの混合割合は、食感や塩味、旨味のバランスを考えながら決定した。生地の中に入れる具として3種類を考えた。1つはオホーツクの鮭を使ったちゃんちゃん焼き風のもの、2つ目はオホーツクのホタテとほうれん草を使い、ホワイトソースで和えたものとした。3つ目として、知床をはじめとした北海道全域で増加が問題となっているエゾシカの肉、最近網走が道内初の栽培に成功した行者菜などを用いた。これらは「鮭おじゃき」、「帆立おじゃき」、「鹿おじゃき」と名付けた。

#### (6) 「We love ABA シュー オホーツク資源を利用したお菓子の開発」

商品のコンセプトとして、網走、学生、アイシュ、生地の4項目を挙げた。アイシュとはシューアイスのことで、シュークリームは賞味期限が短いため、冷凍することで保存性を高めることとし、これをアイシュと名付けた。生地にこだわるという点では、プードル・ダ・マンドという流動性のクッキー生地をシュー生地に乘せ焼き上げることにした。試作段階では何度も失敗し、試行錯誤の連続だったが、地域のお菓子屋さんの指導を受け、やっと製品らしく作ることができた。

次にパッケージについては、学生らしさ、目立つ、チラリズムという、3つのコンセプトで考えた。ABAという文字がついた牛がお尻を



写真4 おじゃき3種

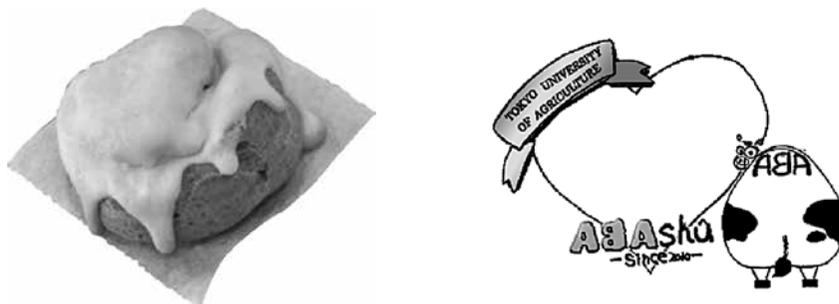


写真5 ABA シュー（左）とパッケージデザイン（右）

向けているということで”アバシリ”をイメージしている。そしてシールに透明な部分を入れて中身が少し見えるようにして購買意欲を誘うようにした。

#### おわりに

このプログラムは学生に対しこの地域を十分理解し、原料生産から加工流通まで幅広い知識をもって頂きたいという思いで始めたが、各グループがそれぞれの成果をあげたと思う。この製品が店頭に並ぶ、並ばないは別として、このようなことに取り組んだことは将来必ず役に立つはずである。

大学では専門分野の教育研究は各学科および

大学院で学ぶ機会があるが、このように食品産業全体を広く見ることはきわめて少ない。このプログラムはあえて浅くてもよいから広い知識をもってもらい、食品産業のあらゆる現場で役に立つことを意識したものである。また、学部の位置する北海道、オホーツクの素材をできるだけ利用することで、地域を意識し理解することもできる。まさにこの地域でなければできない、生きた実学教育の実践といえるだろう。そのようなことから修了生には「オホーツク・フードマイスター」の称号を与え、今後の励みとしている。将来はこのような称号が一つの資格として業界や一般社会にも認知されるようになることを願っている。

# 超臨界二酸化炭素を利用した 有用成分の抽出とその機能評価

齊藤 貴之\* 佐々木 有\*

\*SAITO Takayuki, SASAKI Yu (八戸工業高等専門学校 物質工学科)

Key Words : 超臨界二酸化炭素・抽出・コメットアッセイ・チョウジ

## はじめに

近年の健康志向の高まりにより、様々な企業から機能性食品が商品化され、発売されている。これら食品中の生理活性物質は、天然物由来が多いが、生ものから精製する際、加熱などで失活することも少なくない。したがって、生理活性物質は機能を保持したまま精製することが求められる。また、精製物質は何らかの方法で、その機能評価を行う必要がある。本研究グループでは、超臨界二酸化炭素を利用した天然物からの有用成分の抽出・精製<sup>1)</sup>を行っており、精製物質はコメットアッセイによる変異原性評価を行ってきた。

超臨界二酸化炭素とは、臨界温度・臨界圧力を超えた状態にある二酸化炭素である。二酸化炭素の臨界温度・臨界圧力は、それぞれ約 31℃・約 7.5 MPa である<sup>2)</sup>。超臨界二酸化炭素は、気体のような高い流動性・拡散性と液体のような大きな溶解力を持つ。これらの性質は温度・圧力を操作することにより容易に変化させることが可能であるため、抽出や反応の溶媒として様々な場面で利用されている。特に超臨界二酸化炭素抽出は 30℃程度での操作が可能のため、抽出物は熱変性しないという利点がある。さらに、大気圧に戻せば、超臨界二酸化炭素は容易に抽出物から脱溶媒できる。そのため、超臨界

二酸化炭素は、成分の熱変性や残留溶媒が問題となる食品の抽出に適しており、コーヒー豆からのカフェイン抽出、ホップからのホップエキス抽出など、食品に幅広く利用されている<sup>3)</sup>。

一方、コメットアッセイとは、細胞の DNA 損傷の度合いを簡便に評価する手法である<sup>4,6)</sup>。通常、遺伝毒性物質や紫外線により DNA が損傷を受け、DNA 修復が行われなければ、細胞はガン化する。そのため、細胞は損傷 DNA の除去および修復を行う。除去 DNA は、断片化 DNA として核外へ排出される。コメットアッセイでは、この断片化 DNA を電気泳動により観測し評価する方法である。DNA 損傷が激しいほど断片化 DNA は増加し、電気泳動をすると核本体に対して DNA 断片が尾をひいたように観察される。したがって、この尾の長さ(テール長)を DNA 損傷の度合いと見なせば、ある物質の DNA に対する遺伝毒性を評価することができる。すなわち、テール長が長く観測される場合は遺伝毒性が高い(コメット陽性)、テール長が観測されない場合は遺伝毒性が低い(コメット陰性)とみなす。さらに、コメットアッセイを用いることにより、遺伝毒性物質とともに遺伝毒性抑制物質を細胞に添加すると、その抑制効果を評価することも可能である<sup>7)</sup>。

本稿では、超臨界二酸化炭素を利用した天然

物からの有用成分の抽出とその機能評価の一例として、チョウジ油<sup>8-9)</sup>に関する研究を紹介する。

### チョウジ油の抽出と DNA 修復効果

#### (1) チョウジ

チョウジは、別名クローブと呼ばれ、古くからスパイスや香料として利用されてきた。その薬効は芳香性健胃・食欲増進などが知られ、胃腸を温め腎蔵を補う作用があるといわれている。また肝臓に対する作用も認められ、酵素類(GOT, GPT, LDH など)が肝細胞から漏出するのを抑制する働きがあるといわれる。現在でもチョウジは、漢方処方、家庭薬など胃腸薬中に配合されている。また、チョウジから採った油は局所麻酔作用と弱い鎮痛作用があるため、歯痛やリウマチなどにも応用されている。特に、主成分であるオイゲノールには殺菌作用があることから、口内殺菌剤として虫歯の局所麻酔と鎮痛とを兼ねて滴剤に配合されている。さらに、近年では育毛作用があることが確認され、男性用育毛剤に配合されている。

チョウジ油の抽出法に関して、超臨界二酸化炭素抽出に対するモデリングなどが行われており、超臨界二酸化炭素抽出法が適していることがわかっている<sup>10-12)</sup>。一方で、抽出チョウジ油の機能評価は行われていなかった。そこで、我々は超臨界二酸化炭素によるチョウジ油抽出、GC/MS による抽出物の成分分析およびコメントアッセイによる抽出物の遺伝毒性抑制評価を行った。

#### (2) チョウジ油の抽出

チョウジは漢方用市販品を使用した。はじめに超臨界二酸化炭素抽出と比較するため、乾燥チョウジ 10 g を粉碎し、エタノールとヘキサンを溶媒としたソックスレー抽出を行った。次

に、同じ試料 25 g を用いて超臨界二酸化炭素抽出を行った。抽出温度と圧力は、それぞれ 35 ~ 40 °C, 12.5 ~ 20.0 MPa とした。二酸化炭素流速は 0.10 Nm<sup>3</sup>・h<sup>-1</sup> とした。

ヘキサンを用いたソックスレー抽出では、チョウジ油の抽出率は約 13 % であった。一方、エタノールを用いたソックスレー抽出の抽出率は、約 10 % であった。ヘキサンとエタノールでは溶媒の極性が異なるため、抽出率の差は抽出物に違いに因る。図 1 は、抽出温度 40 °C における各圧力に対するチョウジ油の抽出曲線である。二酸化炭素の積算流量は、仕込み試料 1 g あたりで表した。抽出圧力が高くなるに従い最終抽出率は高くなり、15.0 MPa 以上では最終抽出率が約 11 % とほぼ一定となった。既報<sup>10)</sup>の約 20 % より低い抽出率となったが、超臨界二酸化炭素と溶媒特性が似ているヘキサンによる抽出率とほぼ同じ値であるため、抽出率の違いは原料に使用したチョウジの違いに起因すると示唆される。また、高压では二酸化炭素の密度が高く溶質に対する溶解力が増すため、高压ほど高い抽出率が得られた。しかしながら、今回原料に用いたチョウジでは、チョウジ油含有量は 10 % 程度と推測されることから、15.0 MPa でほぼ抽出が完了しており、20.0 MPa まで昇圧する必要はないと考えられる。

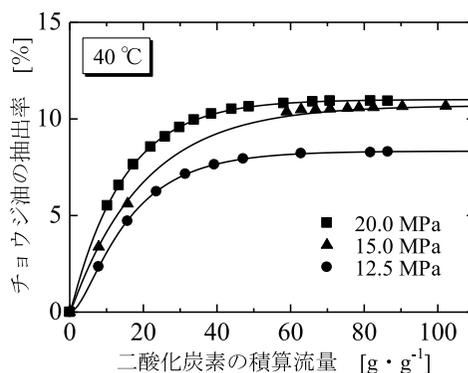


図 1 各圧力における二酸化炭素の積算流量に対するチョウジ油の抽出率

表1 各々の抽出法によるチョウジ油組成 (%)

	ソックスレー抽出		超臨界 二酸化炭素抽出	市販チョウジ油
	エタノール	ヘキサン		
オイゲノール	90.6	72.9	65.4	82.3
$\alpha$ -フムレン	-	2.6	9.3	12.5
$\beta$ -カリオフィレン	-	0.3	1.0	1.3
酢酸オイゲノール	5.6	23.3	23.9	0.1
その他テルペン類	-	0.3	0.1	0.5
オイゲノール2量体	-	-	-	0.1
テルペン類 (水付加)	-	-	-	2.0

図2は、抽出圧力 15.0 MPa における各温度に対するチョウジ油の抽出曲線である。40 °C では少ない二酸化炭素量で最大抽出率が得られたが、35 °C では積算流量が 150 g・g<sup>-1</sup> の場合でも最終抽出率は約7%と低くなった。一般的に、同じ圧力では高温の場合に超臨界二酸化炭素は低密度となる。そのため、ウコン<sup>13)</sup> やセロリの種<sup>14)</sup> からの精油抽出で報告されているように、溶質の溶解度は減少する。しかし、チョウジ油の場合は逆の傾向を示し、西洋オトギリソウやムラサキセイヨウギクからの精油抽出の場合と同様であった<sup>15)</sup>。これは、超臨界二酸化炭素の溶解度低下より流動性増加の影響が大きいことを示唆している。すなわち、これらの試料では二酸化炭素が細部まで短時間に進入できたため、溶解した成分を短時間で抽出できたと考えられる。一方で、40 °C 以上の高温条件で

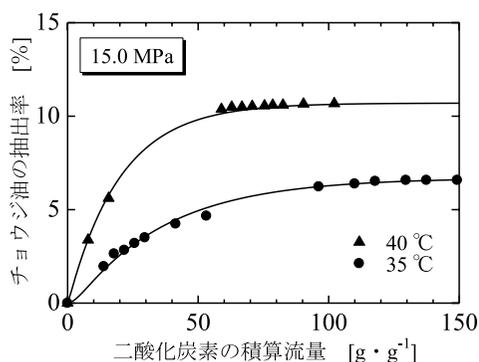


図2 各温度における二酸化炭素の積算流量に対するチョウジ油の抽出率

は抽出効率は良くなるが、成分の熱変性が起こりやすくなるため、実用的な条件ではない。以上の結果より、チョウジ油の抽出は 15.0 MPa、40 °C の条件が最適であることがわかった。

### (3) チョウジ油の分析

チョウジ油はヘキサンに溶解し、GC/MSにより成分分析を行った。カラムは、アジレント製 HP-1 を使用した。表1は、ソックスレー抽出法および超臨界二酸化炭素抽出法 (40 °C、12.5 MPa) により抽出したチョウジ油および市販チョウジ油の GC/MS 分析結果である。ソックスレー抽出では、親水性であるエタノールを溶媒とした場合、成分はフェノール類のオイゲノールと酢酸オイゲノールのみであった (図3)。フェノール類は殺菌作用を持つことが知られている。一方、親油性であるヘキサンを用いた場合、フェノール類以外に炭化水素である  $\alpha$ -フムレン、 $\beta$ -カリオフィレン等のテルペン類も抽出された (図4)。検出されたテル

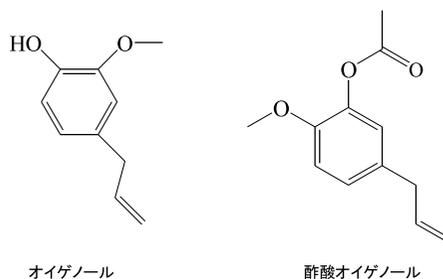


図3 オイゲノール (フェノール類) の構造

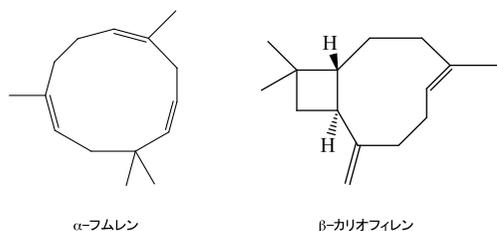


図4 テルペン類の構造

ペン類は、すべて分子量 204 のセスキテルペン ( $C_{15}H_{24}$ ) 類であった。セスキテルペン類は、香気成分となることが知られている。超臨界二酸化炭素抽出法では、二酸化炭素が無極性であるため、抽出物の組成もわずかな違いはあるものの、ヘキサンをを用いたソックスレー抽出法と同様の結果が得られた。これらの成分組成および存在比はこれまで報告されているものとほぼ一致した<sup>12)</sup>。

一方、市販チョウジ油も主要成分のオイゲノールは大量に含んでいるが、その組成はソックスレー抽出、超臨界二酸化炭素抽出どちらの場合とも異なっていた。大きな特徴は、フェノール類はオイゲノールのみであり酢酸オイゲノールがほとんど存在しないこと、加えてオイゲノール 2 量体と水が付加したテルペン類が存在することがあげられる。この組成の違いは、市販チョウジ油の抽出法である水蒸気蒸留法に起因する。すなわち、抽出の際に原料は高温の水蒸気と接するため、原料内の成分は水が関わる様々な反応を起こすことが予想される。酢酸オイゲノールが検出されなかったのはエステルの加水分解が起こったためであり、オイゲノール 2 量体は脱水による付加反応で生成される。さらに、不飽和炭化水素のテルペン類には、水の付加反応が多く起こっている。

以上の結果より、いずれの抽出方法でも主成分であるオイゲノールは十分に抽出されることがわかった。特に、超臨界二酸化炭素抽出法は、水蒸気蒸留抽出法に見られた成分の変質を起

すことなく、またソックスレー抽出法の後に必要な脱溶媒の操作も不要である点で優れた抽出方法であるといえる。

#### (4) コメットアッセイによる超臨界二酸化炭素抽出チョウジ油の DNA 修復効果

実験には、ヒトリンパ由来 TK6 細胞 ( $1 \times 10^5$  cells/mL) を使用した。RPMI1640 培養液に最終濃度が 10 % となるように牛胎児血清を加えたものを培地とし、細胞を 37 °C、CO<sub>2</sub> 5.0 %、湿度 100 % のインキュベーター内で培養した。対数増殖期の細胞に対して、波長 254 nm の紫外線を 20 J/m<sup>2</sup> の条件で 10 秒間照射した。紫外線照射直後にチョウジ油を 0, 25, 50, 100, 200  $\mu$ g/mL の濃度で添加した。つづいて添加直後、1, 2, 4, 8 時間後にそれぞれ細胞を採取した。試験試料は以下の通り 3 層のアガロースゲルを重層し作成した。はじめに、全面を氷冷したスライドグラス上に 1.0 % GP-42 アガロースゲル 75  $\mu$ L を重層し固化させた。続いて、その上に細胞の入った 1.0 % LTG アガロースゲル 75  $\mu$ L を重層し固化させた。最後に、1.0 % GP-42 アガロースゲル 75  $\mu$ L を重層し、試験試料とした。

試料を氷冷した細胞溶解液に 1 時間以上浸漬し、細胞膜と核膜を溶解させた。すなわち、細胞溶解液 (2.5 M NaCl, 10 mM Tris, 100 mM 2Na-EDTA, 10 % DMSO, 1 % Na sarcosinate, 1.0 % Triton X-100, pH 10.0) で細胞を溶解後、氷冷した泳動液 600 mL を満たした水平型電気泳動槽に標本を 20 分間静置してアンワインディング処理を行った。蒸留水中に 300 mM NaOH, 1 mM 2Na-EDTA を加え、pH を 13.0 に調整したものを泳動液とした。続いて、25 V (0.96 V/cm), 250 mA の条件で 20 分間電気泳動を行った。泳動終了後、試料を 400 mM Tris 緩衝液 (pH 7.5) で穏やかに洗浄し中和させた。その後、20  $\mu$ g/mL エチレンプロマイド水溶液を 50  $\mu$ L 滴下して染色し、カバーグラスを被せた。

最後に 515-560 nm の励起フィルターと 590 nm 以下の反射光を吸収するフィルターを装備した蛍光顕微鏡を用いて、200 倍の倍率で試料の白黒写真を撮影した。1 画 50 核の細胞をネガフィルムを用いて最終倍率が 387.5 倍になるように投影し、核本体からの DNA 断片に由来する蛍光テール長をメジャーで実測し、測定値より実寸の算出を行った。細胞 50 核を 1 つの群として一元配置片側分散分析により測定値の統計処理を行った。ダネットの多重比較で有意検定を行い、 $P$  値  $< 0.05$  (5 % 以下) で有意 (コメット陽性) とした。

さらに、DNA 修復試験を行った細胞 (紫外線照射直後、チョウジ油を添加し 8 時間経過した細胞) を寒天を含む培地中に移し、5 日間から 7 日間培養した。形成されたコロニー数を計測することにより細胞生存率を測定した。

図 5 は、紫外線照射した細胞にチョウジ油を処置した際のコメットアッセイにおけるテール長変化を表す。横軸は紫外線照射後の経過時間、縦軸はテール長を示す。すべての条件下で、紫外線照射直後 (0 h) のテール長は基準長の 20  $\mu\text{m}$  であった。すなわち、どの条件下でも照射直後はコメット陰性であった。時間経過に従い、テール長の増加が観測され、チョウジ油無添加の場合では 8 h 経過後でも基準長を上回るテール長が引き続き観測された。これは従来知られ

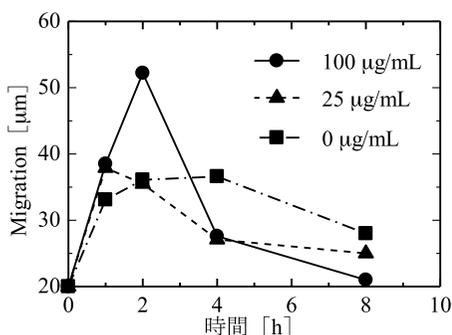


図 5 チョウジ油添加細胞の紫外線照射後のテール長変化

ている通り、紫外線が細胞に対して非常に有害で、核 DNA 損傷による DNA 断片化が起こったことを示している。

一方、チョウジ油を添加した場合には、25  $\mu\text{g/mL}$  の条件において 1 h 後にテール長は最大に達し、4 h、8 h 後には添加しない場合に比べ短くなった。この傾向は 100  $\mu\text{g/mL}$  の場合でも見られた。テール長は 2 h で最大となった後、順次短くなり、8 h 後には基準長に戻った。これはチョウジ油を添加した場合の方が、紫外線照射後 1 h、2 h は非常に高い遺伝毒性を示し DNA 損傷が一見増大したように見えるが、この理由については以下で考察する。

図 6 は、紫外線照射 8 h 後に取り出した細胞 (図 5 の実験に使用した細胞) を培養した際の細胞生存率を示す。横軸は細胞に対するチョウジ油添加量であり、縦軸はチョウジ無添加の場合を 100 とした細胞生存率 [%] である。チョウジ油を添加すると、どの条件下でも無添加の場合に比べ細胞生存率が上昇した。通常、遺伝毒性のある化合物を細胞に添加した場合、コメット陽性であるとともに細胞生存率は 100 % 以下となり細胞に対して有害であることが報告されている<sup>16)</sup>。したがって本結果から、チョウジ油を添加した場合には紫外線に対する抵抗力が高まることがわかった。これは、チョウジ油を添加した際に DNA 損傷が一見増大するという

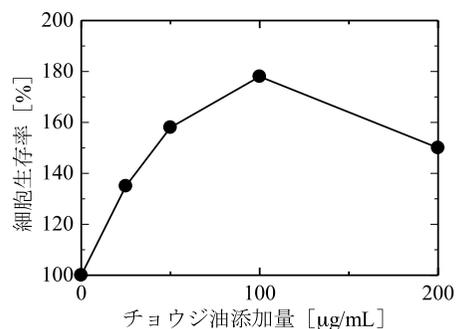


図 6 紫外線照射 8h 後の TK6 細胞を寒天培地で培養した際の細胞生存率

図5の結果と矛盾しているように思われる。

コメント陽性として観測されるテールはDNA損傷の際に生じるDNA断片を観測しているものであり、DNAが損傷を受けなければ断片は発生せずテールも観測されない<sup>7)</sup>。チョウジ油を添加した場合、はじめは最大のテール長が観測され最終的に無添加の場合よりもテール長が短くなった(図5)。また、最終的な細胞生存率も上昇した(図6)。これらの事実はチョウジ油を添加した場合には短時間に効率よくDNA修復が行われるのに対し、チョウジ油無添加の場合には紫外線照射後8h経過した後もDNA修復が完了せずDNAが依然損傷されたままであることを示唆するものである。したがって超臨界二酸化炭素抽出チョウジ油の添加は損傷DNAの修復を効率化し、DNA損傷に起因する発ガンに対して抑制効果があると期待される。

おわりに

本稿では、超臨界二酸化炭素によるチョウジ油の抽出と抽出チョウジ油の成分分析および抽出チョウジ油添加細胞の遺伝毒性抑制試験について紹介した。超臨界二酸化炭素抽出では、市販チョウジ油抽出法で見られた成分の変質を引き起こさず、ソックスレー抽出法に必須の脱溶媒が容易であることを示した。さらに、抽出チョウジ油添加細胞では紫外線照射によるDNA損傷が抑制され、細胞生存率がチョウジ油無添加細胞より上昇することがわかった。よって、超臨界二酸化炭素抽出チョウジ油はDNA損傷に起因する発ガンを抑制する効果があると期待される。本結果は、超臨界二酸化炭素によるチョウジ油抽出の優位性および抽出チョウジ油の薬効性を示唆している。以上、チョウジ油に関する研究を紹介したが、その他の天然物でも超臨界二酸化炭素抽出法により薬理作用を保持したまま成分抽出することが可能である。今後も人々の健康維持に貢献できるような有用成分の抽出とその機能評価を進めていく予定である。

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

- 1) 齊藤貴之, 超臨界二酸化炭素を用いたホタテガイ内臓からのEPAおよびDHAエチルの精製, *New Food Industry*, **52**, 9-16 (2010).
- 2) 佐古 猛 編著, 「超臨界流体」, アグネ承風社, (2001).
- 3) 化学工学会超臨界流体部会, 「超臨界流体入門」, pp.76-84, 丸善, (2008).
- 4) Tsuda, S., Kosaka, Y., Matsusaka, N., Sasaki, Y.F., Detection of pyrimethamine-induced DNA damage in mouse embryo and maternal organs by the modified alkaline single cell gel electrophoresis assay. *Mutation Res.*, **415**, 69-77 (1998).
- 5) Sasaki, Y.F., Sekihashi, K., Izumiyama, F., Nishidate, E., Saga, A., Ishida, K., Tsuda, S., The comet assay with multiple mouse organs: comparison of comet assay results and carcinogenicity with 208 chemicals selected from the IARC monographs and U.S. NTP carcinogenicity database. *Crit. Rev. Toxicol.*, **30**, 629-799 (2000).
- 6) Tsuda, S., Murakami, M., Matsusaka, N., Kano, K., Taniguchi, K., Sasaki, Y.F., Evaluation of DNA damage induced by oral administration of red food dyes to pregnant and male mice. *Toxicol. Sci.*, **61**, 92-99 (2001).
- 7) 佐々木有, 佐藤さおり, 千葉アキ, 關橋 薫, 中沢慶久, 中村隆典, 鬼塚重則, 杜仲茶の変異原性抑制作用, *フードケミカル*, **12**, 65-73 (1998).
- 8) 齊藤貴之, 斎藤博樹, 國田顕子, 下村日咲絵, Chanfong Bounhieng, 斎藤宏美, 佐々木有, 佐藤義夫, チョウジ油の超臨界二酸化炭素による抽出とDNA修復効果, *日本食品化学学会誌*, **10**, 40-45 (2003).
- 9) Saito, T., Sasaki, Yu F., Sato, Y., Supercritical Carbon Dioxide Extraction of clove bud oil and Genotoxicity evaluation of extracts, International mini-symposium on supercritical fluid extraction in Sendai, 83-88(2003).
- 10) Gopalakrishnan, N., Shanti, P.P.V., Narayanan, C.S., Composition of clove (*Syzygium aromaticum*) bud oil

extracted using carbon dioxide. *J. Sci. Food Agric.*, **50**, 111-117 (1990).

- 11) Reverchon, E., Marrone, C., Supercritical extraction of clove bud essential oil: Isolation and mathematical modeling. *Chem. Engng. Sci.*, **52**, 3421-3428 (1997).
- 12) Clifford, A.A., Basil, A., Al-Saidi, S.H.R., A comparison of the extraction of clove buds with supercritical carbon dioxide and supercritical water. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **346**, 635-637 (1999).
- 13) Gopalan, B., Goto, M., Kodama, A., Hirose, T., Supercritical carbon dioxide extraction of turmeric (*Curcuma longa*). *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 2189-2192 (2000).
- 14) Papamichail, I., Louli, V., Magoulas, K., Supercritical fluid extraction of celery seed oil. *J. Supercrit. Fluids*, **18**, 213-226 (2000).
- 15) Catchpole, O.J., Perry, N.B., da Silva, B.M.T., Grey, J.B., Smallfield, B.M., Supercritical extraction of herbs I : Saw Palmetto, St John's Wort, Kava Root, and Echinacea. *J. Supercrit. Fluids*, **22**, 129-138 (2002).
- 16) Tsuda, S., Matsusaka, N., Madarame, H., Ueno, S., Susa, N., Ishida, K., Kawamura, N., Sekihashi, K., Sasaki, Y.F., The comet assay in eight mouse organs: Results with 24 azo compounds. *Mutation Res.*, **465**, 11-26 (2000).

### 白石カルシウムの炭酸カルシウム

炭酸  
カルシウム  
とは？

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

分散性・混合性に優れたものや、飲料用として  
沈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

# ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品

## 第13回 仮説「乳文化の一元二極化説」

平田 昌弘\*

\*HIRATA Masahiro (帯広畜産大学)

Key Words：乳加工体系・西アジア・起原・伝播・搾乳・乳加工

### はじめに

本シリーズではこれまでに、アジア大陸から西アジア、南アジア、北アジア、中央アジア、チベットを、ヨーロッパ大陸からはバルカン半島を事例に、乳加工技術と乳製品、そして、その利用の仕方について紹介してきた。駆け足で述べてきたこともあり、まだまだ紹介していない事例も多いのだが、それでもユーラシア大陸をぐるっと見回したことになる。このシリーズを閉じるにあたり、最後に人類が辿ってきた乳文化史について語っておきたい。シリーズ最初のVol.53 No.1 (平田, 2011a)で「乳文化の一元二極化説」について言及したが、これまで紹介してきた事例をまとめる意味で、改めて詳しく論じてみたい。

### 1. 乳利用は西アジアで一元的に起原する

膨大な考古学的学術調査の成果により、紀元前8700年～8500年頃にはヒツジ・ヤギが西アジアで家畜化され(マルジャン・西秋, 2008)、遺跡出土土器片の有機分析の成果により、少なくとも紀元前7千年紀には乳利用が西アジアで開始されたこととする報告がなされた(Evershed *et al.*, 2008)。これらの知見は、アジア大陸にお

いて最も古い。考古学調査が北アジアなどで今後進み、これらの年代よりも古い乳利用の開始の事実が発見されるかもしれないが、現時点では西アジアがより古いことが示されている。これらの研究成果から、「搾乳・乳利用は西アジアに起原し、西アジアから中央アジアや北アジアなどの周辺地域に搾乳と乳加工技術・乳利用とが伝播した(平田, 2008)」とする仮説が提起できるのである。

「搾乳」という技術は、難度の高い技術である(谷, 1995)。母畜は元来、自らの仔畜のみに授乳を許容する。同じ家畜種であっても、実仔以外の個体には授乳を許さない。母仔関係を観察していると、母畜は仔畜の鳴き声と匂いを確かめ、自らの仔畜であることを確認してから、哺乳している(Vol.53 No.2 (平田, 2011b)の写真3参照)。まして、家畜が異種動物である人間に乳を与えるはずがない。人間が家畜から乳を横取りするためには、仔畜を最初に授乳させ、直ぐに仔畜を母畜から引き離し、母畜の顔辺りに仔畜を繋ぎ止め、人間が母畜から乳を素早く搾り取るという催乳の技法が適用されている。特にウシに認められる。仔畜の哺乳は乳房を刺激する。仔畜の吸乳刺激によって母畜の脳下垂体後葉からオキシトシンの分泌が促され

る。オキシトシンには泌乳促進作用がある（水野・横山，1978）。仔畜の哺乳は、乳房への吸乳刺激を通じて母畜の泌乳を促進させ、搾乳し易くしているのである。搾乳の間、仔畜を母畜の顔辺りに繋ぎ止めておくのも、仔畜の匂いと存在を通じて母畜を安心させ、泌乳を維持する効果があるものと考えられる。また、ヒツジ・ヤギに対しても、音声的な催乳の技法が認められるという（谷，1995）。これらの催乳の技法を用いて、多くの牧畜民は家畜から搾乳している。このように搾乳は、母仔関係の生理と習性に根ざした高度な技術であり、どこでも容易に開発される技術ではないのである。事実、現在のグローバリゼーションが始まる前、搾乳・乳利用していた地域はアフリカとアジアの主に乾燥地帯、および、ヨーロッパのみであり、新大陸では乳利用が欠落していた（石毛ら，1973）（Vol.53 No.1（平田，2011a）の図1参照）。東南アジアと東アジアには、貴族などの一部の集団を除き、大衆には乳利用がなかった。搾乳・乳利用は、もともとは世界の人びとに共有されていた技術ではなかったのである。中南米の新大陸ではリャマやアルパカからは現在も搾乳がおこなわれていない（稲村，1995）。新大陸では、ついに搾乳が発明されることもなく、また、搾乳技術がベーリング海峡を渡って旧大陸から新大陸にまで伝播されることもなかったのである。この新大陸における搾乳技術の欠落は、搾乳技術はどこでも発明されるほど簡単な技術ではないということを示しているのである。この搾乳という技術の開発の難しさこそが、搾乳が多角的に発明されたとするよりも、西アジアでまず発明され、周辺域に伝播していったとする仮説を支持している。

搾乳地域間の比較、考古学の成果、母仔関係の生理・習性の視座からは、家畜化と搾乳・乳加工技術は西アジアで誕生し、搾乳・乳加工技術は西アジアから周辺域へと伝播したとする仮

説が成り立つのである。

## 2. 仮説「ユーラシア大陸における乳文化の一元二極化説」

Vol.53 No.1（平田，2011a）でも説明したが、牧畜にとって、乳を保存するための乳加工技術は生業を成り立たせるために必須であった。それは、牧畜民の主要な家畜であるヒツジ・ヤギは季節繁殖動物であり、搾乳には端境期があるためである。交尾と出産に時期があり、出産に伴う搾乳にも季節的な偏りが存在する。ヒツジ・ヤギの泌乳期間は5ヶ月間のみで、個体により出産時期・泌乳時期が前後するため、群としては春から秋にかけての9ヶ月間ほどしか搾乳できない。乳に一年を通して依存するならば、乳が不足しがちとなる冬をのりきらなければならない。だからこそ、乳が豊富にとれる夏に乳を加工・保存するのである。乳加工の本質は保存にある。中尾（1992）は、「乳加工の体系は全て貯蔵のためという目的に収斂し、貯蔵を抜きにしては食品の加工体系の中心にある原動力がなくなる」と鋭く指摘する。本来、保存食である乳製品とは、嗜好風味をこらした食料ではあるが、季節的に大量生産される食糧を腐らせることなく、非生産時期にまでいかに備えておくことができるか、その試行錯誤の繰り返しの過程で生まれてきたものである。生乳を加工・保存できたからこそ、乳に一年を通じて依存することができる牧畜が成立し得たのである。

それでは、搾乳が始まって約9000年の長い時の中で、乳加工技術はどのように発達していったのであろうか。事実として、これまでに述べてきた乳加工技術を大観すれば、ユーラシア大陸には北方乳文化圏と南方乳文化圏が存在し、両者の技術が相互に影響しあった北方・南方乳文化重層圏が存在している（図1-d）。北方乳文化圏では、クリーム分離（クリーム分離

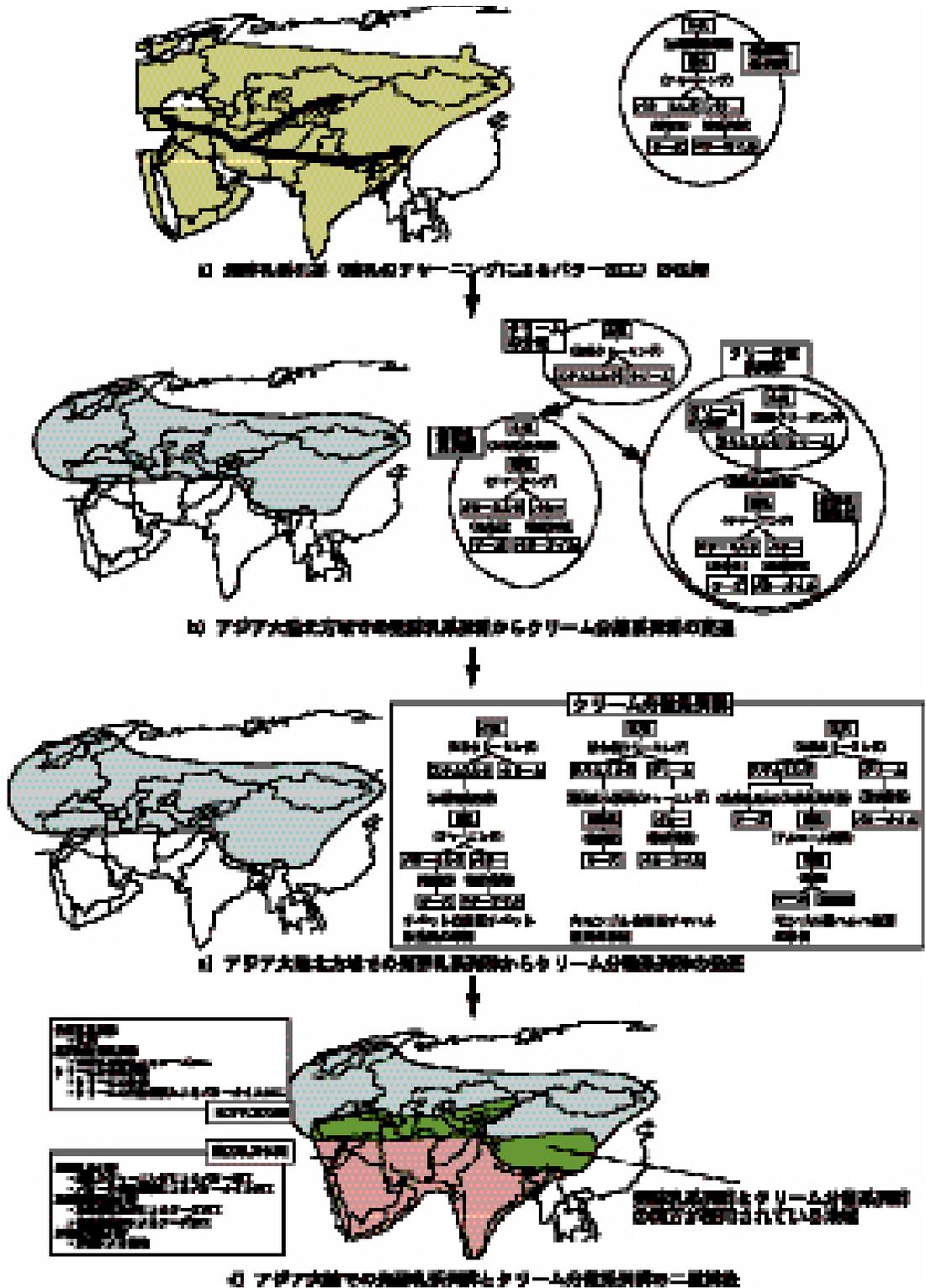


図1 北方乳文化圏と南方乳文化圏への発達過程

出典：平田，2008.

とクリーム加熱によるバターオイル加工)を積極的におこない、乳酒をもつくり出している。南方乳文化圏では、酸乳の攪拌/振盪による乳脂肪の分画(バター加工とバターの加熱によるバターオイル加工)を積極的におこない、反芻家畜の第四胃で生成される凝乳酵素レンネットを利用してチーズを加工している。以下に、どのように現在のこの乳文化圏へと発達していったかを論じてみたい。

乳加工における最初の技術は、乳酸発酵による酸乳化であったろうことは間違いない(足立, 2002; 平田, 2008)。乳酸菌はあらゆる処に常在しているため、西アジアのような暑い気候環境下では生乳を静置しておくだけで、自然に乳酸発酵が進展してしまう。生乳の酸乳化は、搾乳した時点で運命づけられているのである。生乳に対する最初の加工が乳酸発酵によっていたことは疑う余地もない。一方、ユーラシア大陸の各地域で様々な乳加工技術が発達してきたが、唯一共通している技術は発酵乳系列群の乳加工のみである。Vol.53 No.1 (平田, 2011a)で既に説明したが、発酵乳系列群とは、中尾(1972)によって提起された乳加工技術の類型分類法であり、生乳を最初に発酵乳にしてから、チーズやバターなどに乳加工が展開していく系列群のことであった。中尾は、発酵乳系列群の他、生乳からまずクリームを分離してから加工が展開するクリーム分離系列群、生乳に何らかの凝固剤を添加してチーズを得る凝固剤使用系列群、生乳を加熱し濃縮することを基本とする加熱濃縮系列群の合計4つの類型を設定した。一番分布の広いものが最も古い起原であるとするならば(中尾, 1972)、発酵乳系列群の酸乳にするという乳加工形態が最も古い起原ということになる。これらのことから、乳酸発酵による発酵乳系列群の乳加工技術が西アジアで先ず始まり、その乳加工技術が北アジアや南アジアに伝播していったと考えられるのである(足立,

2002; 平田, 2008)。

乳酸発酵が西アジアで開始されたとしても、酸乳を更にどこまで加工した段階で、周辺へと伝播していったのであろうか。ここが問題である。先ほど指摘した通り、食料生産の本質は“保存”にこそある。生乳が酸乳化段階のままでは、乳加工の本質が欠落したまま、生業としての牧畜が十分に成熟する前に周辺に伝播したことになる。現在の西アジアでみられる発酵乳系列群の乳加工技術(生乳の酸乳化、酸乳のチャーニングによるバター加工、バターの脂肪精製によるバターオイル加工、および、酸乳・バターミルクの熱凝固・脱水によるチーズ加工)と北方乳文化圏でみられるクリームの分離を中心とする乳加工技術とは、あまりに乳加工技術の内容が異なりすぎている。しかし、次に考察するように、北方域の冷涼性という生態環境要因を考慮に入れ、乳加工技術の伝播・変遷という視点から分析すると、北方域と南方域の乳加工体系は実は強い関連性が示唆されるのである。これらの根拠に基づき、西アジアから周辺域に伝播したタイミングは、現在の西アジアでみられる発酵乳系列群の乳加工技術まで発達した段階で、西アジアから北方域に伝播していった可能性が高いと考えられている(図1-a)。この西アジア型の発酵乳系列群とは、乳酸発酵、チャーニング、加熱、脱水、天日乾燥の技術のみを適応した技術であるが、生乳から乳脂肪と乳タンパク質の分画・保存を成し遂げている。

それでは、西アジア型の発酵乳系列群の乳加工技術から北方乳文化圏でみられる乳加工技術へは、どのように変遷していったのであろうか。その変遷過程の分析のカギを握るのが、青蔵高原やヒマラヤ山脈で生業をおこなうチベット牧畜民でみられる乳加工技術である(Vol.53 No.10 (平田, 2011c)の図2参照)。青蔵高原やヒマラヤ山脈では、高山地帯という冷涼性ゆえに最初に生乳からクリームを分離する形態を

とる。生乳からクリームを分離し、クリームを分離した後のスキムミルクは、酸乳化、酸乳のチャーニングによるバター加工、バターミルクの熱凝固・脱水によるチーズ加工となっている。最初に生乳からクリームを分離するものの、スキムミルクからの乳加工体系はまさに西アジア型の発酵乳系列群の乳加工技術となっている。つまり、西アジア型の発酵乳系列群の乳加工技術が青藏高原やヒマラヤ山脈に伝播し、高山地帯という冷涼性ゆえに最初に生乳からクリームを分離する形態へと展開したものと考えられるのである。類型分類的には、冷涼性という生態環境のもと、発酵乳系列群からクリーム分離系列群へと変化したことになる。北方域へ西アジア型の発酵乳系列群の乳加工技術が伝播した場合も、北方域の冷涼な地域でこのチベットの事例と同様な乳加工技術の変遷が生じたものと容易に類推されえる (図 1-b)。

次に、このチベット型のクリーム分離系列群の乳加工技術が、冷涼な生態環境の基で更なる発展を遂げる。内モンゴルや中央アジアでは、今でもクリームをチャーニングしてバターを加工している (図 1-c)。しかし、モンゴル国ではクリームをチャーニングすることなく、直接加熱してバターオイルへと加工するようになる。これは、クリームを分離するようになったが故の乳加工技術の進展である。また、スキムミルクをチャーニング (攪拌) してもバター生成を期待することなく、代わってスキムミルクの攪拌が乳酒の加工へと転換していく。スキムミルクの攪拌は、空気をスキムミルク中に送り込み、酵母を増殖させ、アルコール発酵を促進させる工程へと意味が変化したのである。加工の意味内容は変化するが、酸乳/スキムミルクに対する攪拌自体は同じ作業であり、生成する内容がバターから乳酒へと変化したに過ぎない。つまり、南方域での酸乳のチャーニング (攪拌) によるバター加工と北方域でのスキムミ

ルクの攪拌による乳酒加工とは本来同一の加工処理であった可能性が高いのである。以上の乳加工技術の変遷により、北方乳文化圏に特徴的なクリームの分離や乳酒づくりの乳加工技術が生成してくるのである。

以上、南方域の西アジアでバターオイルやチーズを加工する発酵乳系列群の保存技術が発達した段階で、西アジアから北方域に伝播し、北方域では西アジア型の発酵乳系列群の乳加工技術を基にして冷涼性ゆえにクリームの分離や乳酒づくりの乳加工技術へと変遷・発達したと類推する「乳文化の一元二極化説」が提起できるのである。

### 3. 仮説検証への試み

乳加工技術が二極化している事実は、これまで本シリーズで紹介してきた通り、著者自らがユーラシア大陸を広く踏査し、約 20 年かけたフィールドワークによって積み上げた現地データに基づいている。乳文化一元二極化説の今後の課題としては、二極化していく発達史を検証していくことにある。乳加工技術の発達史を検証するには、乳製品・乳加工技術に触れた歴史的文献を検討するより他ない。しかし、歴史的文献は乳製品・乳加工技術を断片的に記載しているものが多く、乳加工技術の全体像を把握・再現することが極めて難しく、乳製品・乳加工技術の再現実験・検討があまり進んでいないのが現状である。

東アジア地域では、歴史的文献が比較的多く残されている地域である。東アジア地域においては、有賀秀子氏が『本草綱目』をテキストとして優れた再現実験をおこなっている (有賀ら, 1988)。本草綱目は、AD1596 に李時珍により編纂された医薬書である。有賀によると、生酥は加熱・静置法により得られたクリーム、醍醐は加熱濃縮クリームの静置露出法により得られ

たバターオイルとしている。つまり、本草綱目は、酸乳を攪拌してバターを得るという西アジア型発酵乳系列群の特徴ではなく、生乳から積極的にクリームを分離する北アジア型の乳加工技術の特徴を示している。前号の Vol.53 No.12 (平田, 2011d) で紹介したように、著者らも東アジアの古代乳製品の再現実験をおこない、紀元後 530 年～紀元後 550 年に賈思勰によって編纂された『齊民要術』をテキストとして再現実験した。その結果、齊民要術が記述する乳加工技術の内容は、生乳の酸乳化、酸乳のチャニングによるバター加工、バターの加熱によるバターオイルであり、まさに西アジア型発酵乳系列群の特徴を示していた。齊民要術は、西アジア型発酵乳系列群が東アジアまで伝播したことを指し示しており、乳加工技術は西アジア型発酵乳系列群にまで発達した段階で西アジアから周辺地域へと伝播したとする仮説を強力に支持している。

乳加工技術の発達史を検証するには、東アジア地域の事例だけでなく、ユーラシア大陸を広く対象にして実施していかなければならない。南アジアには、前号の Vol.53 No.12 (平田, 2011d) でも触れたように、紀元前 1200～紀元前 600 年頃に編纂された Veda 文献、紀元前 300 年頃に編纂された Pali 聖典がある。西アジアには紀元前 2000 年頃にまとめられたシュメールの粘土版がある。これらのテキストは、古代乳製品・乳加工技術を再現するには極めて重要であるが、古代サンスクリット語や楔形文字によるシュメール語によって記載されているため、テキストの精読や正しい解釈を阻んでいる。著者は、これらの専門家と共同研究を始めたところで、南アジアや西アジアで古代乳製

品・乳加工技術の再現実験を実施し始めている。これらの古文書の解析による乳製品の再現実験は、必ずしや「乳文化の一元二極化説」の正しさを証明してくれることであろう。

#### おわりに

シリアでは、乾燥した大地の中で、肉を食うよりもミルクを食って牧畜民の喜びとは生き抜いていた。ヒツジ・ヤギからミルクをより多く搾ることをただただ意識し、ミルクから如何にバターミルクとチーズとを加工・保存するかに専念していた。モンゴルでは、ヨーグルトは寝る前に多く食していた。搾りだてのそのままのミルクをあったかくして飲むのはいへんに旨かった。馬乳酒の風味は広大なモンゴル草原に溶けていくかのように清らかだった。ウエハース状のクリームも、濃厚でいて爽やかであり、素晴らしかった。インドでは、米・カレーにヨーグルトをかけて食しており、米と乳製品とが相容れる仲良い存在だった。ブルガリアでは、生活の様々な場面にヨーグルトやチーズが登場してきた。政治制度や経済構造が激変し、定住化が急速に進み、家畜への依存度が低下しつつある現在においても、生乳・乳製品は今もなお多くの人々の生活においてたいへん重要な存在であり続けている。乳加工技術こそは、約 9000 千年の時をかけて創りあげてきた人類の文化遺産なのである。

最後に、13 回のシリーズにわたって紹介してきた乳製品の加工技術と利用法とが、読者の方々の新しい乳製品の開発や利用法の少しでもヒントになればとても幸いである。更に詳しく知りたい事や不明な点は、ぜひお気軽にお問い合わせ下さい。

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

- 1) 足立達, 2002. 『乳製品の世界外史—世界とくにアジアにおける乳業技術の史的展開—』東北大学出版会.
- 2) 有賀秀子, 高橋セツ子, 倉持泰子, 浦島匡, 筒井静子, 1988. 「日本における古代乳製品の“酥”および“醍醐”の本草綱目(李著)にもとづく再現実験」『日本畜産学会報』59(3): 253-260.
- 3) 石毛直道, 吉田集而, 赤坂賢, 佐々木高明, 1973. 「伝統的食事文化の世界的分布」石毛直道編『世界の食事文化』ドメス出版, 148-177頁.
- 4) 稲村哲也, 1995. 『リヤマとアルパカ—アンデスの先住民社会と牧畜文化』花伝社.
- 5) 谷泰, 1995. 「乳利用のための搾乳はいかにして開始されたか—その背景と経緯—」『西南アジア研究』43: 21-38.
- 6) 中尾佐助, 1992. 「乳食文化の系譜」雪印乳業株式会社健康生活研究所編『乳利用の民族誌』中央法規出版株式会社, 267-293頁.
- 7) 中尾佐助, 1972. 『料理の起源』日本放送出版協会.
- 8) 平田昌弘, 2008. 「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『世界の発酵乳』はる書房社, 174-197頁.
- 9) 平田昌弘, 2011a. 「ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品 第1回 人類が出会った乳利用」『New Food Industry』53(1):89-95.
- 10) 平田昌弘, 2011b. 「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.
- 11) 平田昌弘, 2011c. 「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」『New Food Industry』53(10): 65-74.
- 12) 平田昌弘, 2011d. 「ユーラシア大陸の乳加工技術と乳製品 第12回 古代東アジア—『斉民要術』を基にした乳製品の復元」『New Food Industry』53(12): 84-97.
- 13) 平田昌弘, 2011. 「搾乳の開始時期推定と乳文化一元二極化説」『酪農乳業史研究』5: 1-12.
- 14) マルジャン マシユクール・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.
- 15) 水野秀夫, 横山昭, 1978. 「泌乳とホルモン」内藤元男監修『畜産大辞典』養賢堂, 316-325頁.
- 16) Evershed, R.P, S. Payne, A.G. Sherrat, M.S. Copley, J. Coolidge, D. Urem-Kotsu, K. Kotsakis, M. Özdoğan, A.E., Özdoğan, O. Nieuwenhuys, P.M.M.G. Akkermans, D. Bailey, R. Andeescu, S. Campbell, S. Farid, I. Hodder, N. Yalman, M. Özbaşaran, E. Biçakci, Y. Garfinkel, T. Levyand, 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, 三島海雲記念財団90周年事業・公募受賞論文である「アジア大陸における乳文化圏と発酵乳加工発達史」(平田, 2008), および, 『酪農乳業史研究』に発表した「搾乳の開始時期推定と乳文化一元二極化説」(平田, 2011)をもとに大幅に書き改めたものである。

# 伝える心・伝えられたもの

## —夕顔棚納涼図屏風—

宮尾 茂雄

(東京家政大学)

昨年は全国的に梅雨明けが早く、同時に各地で猛暑が始まった。東京電力福島第一原子力発電所の事故発生以来、電力供給量の減少に対応して節電対策が行われ、わが家でも団扇が活躍した。

東京国立博物館の照明をやや落とした広い展示室で「夕顔棚納涼図屏風」(写真1)に出会ったのは何時のことだろうか。夕顔棚の下にむしろを敷いて、親子3人が身を寄せ合うように夕涼みをする姿が淡い色彩で描かれている。丸い月が昇り始め、やっと日中の暑さが和らぎ始めた頃、語り合うわけでもなく、想いおもいのくつろぐ姿からは、ゆったりとした時の流れがこちらまで伝わってくるような気がした。この屏風絵は江戸時代初期に活躍した狩野派の絵師久隅守景によって描かれたものだ。しかし守景がいつ生まれ、どこで亡くなったのかは分かっていない<sup>1)</sup>。またこの絵がいつ頃、どこで描かれたものなのかもはっきりしていない。私は絵の中の3人の静かなたたずまいに惹かれ、夕暮れ時のおぼろげな時の流れに私もまた溶け込んでいくような思いがした。

夕顔棚には大きな実がいくつも垂れ下がっている。実の中央にくびれがあるヒョウタン(瓢箪)だ。ヒョウタン(学名 *Lagenaria siceraria* Standley var. *siceraria* 'Gourda')はウリ科の植物で、アフリカまたはアジアが原産のウリ科の一年生蔓草植物である<sup>2)</sup>。エジプト(紀元前3500~同3300年)



写真1 夕顔棚納涼図屏風(部分)<sup>14)</sup>

やペルー(紀元前3000年)などの古い遺跡からも発見され<sup>3)</sup>、また国内では縄文時代初頭の大津市粟津湖底遺跡の発掘現場から、約9600年前のひょうたんが出土しており<sup>4)</sup>、稲作伝来以前から国内で生育していた。小果がたくさんなるセンナリヒョウタン、かんびょうの原料となるユウガオ(学名 *Lagenaria siceraria* Standley var. *hispida*)などは植物学的にはヒョウタンと同一種で、自由に交配できる<sup>3)</sup>。

瓢(ひょう)はひさご、内部をくりぬいて酒を盛る器、箪は竹製のまるい飯櫃を意味してお



写真2 ヒョウタンで作られた茶漉し(中国・麗江)



写真3 夕顔棚 (東京都杉並区)

り (広辞苑, 岩波書店), 瓢箪は古くから柄杓や容器として用いられている (写真2)。棚づくりされることが多く, 心地よい日陰を演出し, 果実のさまざまな姿を楽しむこともできる (写真3)。また果実は装飾品, 玩具としても加工されている<sup>5)</sup>。中国には葫芦 (hulu: ヒョウタン) は福祿 (fulu) に通じることから, 縁起物のひょうたんに, 長寿や家族の幸せなどの願い事を朱書きして, 飾る風習がある。また大宰府天満宮では, ひょうたんの中に願い事を入れ, 自宅の神棚に飾り, 厄が晴れたらその御礼参りとして, 厄晴れひょうたんを本殿裏のひょうたん掛け所に納める習わしがある。

一方, ユウガオは地這い栽培がふつうで, 果皮をむいて天日乾燥したものが, かんぴょうである。中国では古くからユウガオの乾物が作られていたようだ<sup>3)</sup>。その製法は鎌倉時代に禅宗の伝来にもなって中国から伝えられた<sup>3)</sup>。かんぴょうの産地はもともと大阪の今宮付近の木津 (現在の大阪市浪速区) にあったが, 江戸時代には東海道五十三次の50番目の宿場町, 近江の水口 (現在の滋賀県甲賀市水口 (みなくち) 町) に移り, 滋賀, 京都, 兵庫など主に関西圏で生産されていた<sup>3)</sup>。

元禄8年 (1695年) に水口を治めていた領主加藤明英 (1652-1712年) が下野 (栃木県) の壬生 (みぶ) に移封になり, 壬生でもユウガオ栽培とかんぴょうの製造を奨励したことから, 現在もこのあたりはかんぴょうの主要産地となっている<sup>3)</sup>。また一説では正徳2年 (1712年), 加藤家と入れ替わりに水口から壬生に転封になった鳥居忠英 (とりいただてる, 1665-1716年) がユウガオの種を持ち込み領内で試作させたのが, かんぴょう名産地の始まりとされている<sup>3, 6, 7)</sup>。忠英は水口から取り寄せた種を領内の名主に与え, 中でも藤井村の篠原丈助は熱心に研究と工夫を重ね, 村人にユウガオ栽培の方法を教え, やがて近隣の村々にも広がっていった<sup>7)</sup>。

寺島良安は「和漢三才図絵」(江戸中期の百科事典, 正徳2年完成) の中で, ヒョウタン (苦瓠クウフウ, (略) 俗に瓢箪という) は苦味が強く, ユウガオ (壺盧フウロウ) は味が甘なので, 苦瓢ヒョウタンに対して甘瓢 (干瓢) という。煮て食べると味は大変に甜美とあり, 現在のかんぴょうとほぼ同じ製法が記されている<sup>8)</sup>。

### ユウガオの里を訪ねて

壬生のユウガオ栽培とかんぴょう製造の起源は, 加藤明英, 鳥居忠英どちらが正しいのだろうか。かんぴょう作りの最盛期, 8月上旬栃木県壬生町を訪れた。最初に壬生町立歴史民俗資料館に行き, 学芸係長の中野正人さんにお話を伺った。

文献的には, 元禄説にも, 正徳説にもはっきりとした根拠はない。どちらにしても, そのような言い伝えがあると考えた方が良い。室町時代の下学集 (かがくしゅう, 1444年成立の国語辞典) に初めて「干瓢」という言葉が登場しており, 江戸時代には全国的に広がっていたものと思われる。しかし壬生のかんぴょうが全国的に有名になったのは, 明治以降のことである。明治4年 (1871年)



写真4 干瓢発祥 250 周年記念碑 (壬生町)

の廃藩置県により壬生藩は廃藩、壬生県（のちに栃木県）となって、地域の財政再建策に力を入れる必要があった。1877年東京上野で開かれた第1回国内博覧会の会場で、壬生安塚の島田武七郎は持参したユウガオの実と道具を使って、かんぴょう作りを実演したところ大変な評判を呼び、壬生かんぴょうは一気に有名になったそう<sup>7)</sup>。当時開通した鉄道輸送を利用し、さらに販路が全国に広がっていったと教えてくださった。

中野さんのお話では、鳥居忠英は「ユウガオの種」と同時に「学問の種」をこの地に持ち込んだとのことだ。18世紀初め藩校の数がまだ少ないころ、下野諸藩の中でもっとも早く1713年藩校「学習館」を創設し（現在の城址公園から壬生小学校にかけての敷地）、学問の礎を築いた<sup>7)</sup>。そのおかげで壬生は幕末から明治にかけて活躍する蘭学者や多くの逸材を生み出す土地になった。町の中心

部を抜ける日光道中壬生通りは日光東照宮建築にも使われた日光街道の中でも古い道で、現在は一部を「蘭学通り」と名付け、今も町興しの中心になっている。

最後にかんぴょうのことを伺った。江戸時代のかんぴょう料理というと玉子とじやくずあんかけなどがあり、代々の藩主も好物だったそう。水戸黄門もかんぴょうが好きで、日光東照宮にかんぴょうを奉納した記録が残っているという。町の東側を流れる黒川は利根川の支流のひとつで、江戸から明治にかけて、壬生は舟運の湊町としても賑わっていた。その流域にあたり、火山灰の柔らかい土質がユウガオ栽培に適したことも重要な要因であった。しかし現在は、手間もかかり、肥料代や乾燥機の燃料代などコストもかかることから栽培農家が減っているという。鳥居元忠（1539-1600年）を祀る精忠神社境内には昭和12年のかんぴょう「頌徳碑」と1962年（昭和37年）に建てられた「干瓢発祥 250周年記念碑」（写真4）があると伺ったので訪ねた。いずれも一畳以上はある大きな石にかんぴょうの由来、奉納された方の名前などが刻まれていた。

栃木県のユウガオ栽培面積は、明治40年（1907）には989ヘクタール、かんぴょうの生産量は1041トン（乾燥重量）であった<sup>7)</sup>。昭和10～20年代をピークにその後減少し、平成16年には252ヘクタールの畑で327トンとなったが、全国生産量の9割以上が栃木県で生産されている。一方かんぴょうは平成21年には中国、インドネシアなどから加工食品用（ロールキャベツやもち巾着など）も含めると3000トン以上が輸入されており（日本食糧新聞、2010年9月10日付）、国産品の自給率は10%程度しかない。生産の中心は下野市、壬生町、上三川町、小山市であり、この4地区では2010年11月「歴史とロマンのかんぴょう街道」推進協議会を設置して、ガイドブック作成やイベント開催など、かんぴょうの普及、啓発に熱心に取り組んでいる<sup>9)</sup>。

#### ユウガオ畑との出会い

当日は雲ひとつない晴天で、夏の太陽がジリジリ照りつけてくる。蘭学通りに戻ると、目の前に氷屋さんがあり、「かき氷」ののぼりが出ていた。この辺りはとちおとめの名産地なので、とちお



写真5 ユウガオ畑とビニールシートで覆われた干し場（ハデ）



写真6 ハウスでの乾燥作業



写真7 大型ファンが回るハウス内部



写真8 竿に干されたかんぴょう

とめかき氷を頂いた。シャリシャリした氷が口の中で瞬時に溶け、冷たさとほのかないちごの甘味が、一瞬暑さを忘れさせてくれた。一休みした後、再び炎天下の通りから町役場の脇を抜け、黒川の河川敷に出た。周辺を歩きまわったがなかなかユウガオ畑に出会わなかった。午後の強い日差しの中で、ジャガイモの収穫作業をしている方に、この近辺のユウガオ畑を尋ねたところ、1軒の農家を教えていただいた。しばらく歩くと道路沿いにユウガオ畑とビニールハウスがあり（写真5）、年配の方がかんぴょうを干しているのが見えた（写真6）。中では大きなファンが回り（写真7）、一棟では、石油を焚いて熱風乾燥を行なっているようだった。まもなく作業が一段落された様子なので、お話をうかがった。

以前は天日干しをしていたが、この辺りは、雷神（らいさま：雷雨）が来るので、一日に2度3度と干しかけのかんぴょうを取り込まなければならず大変だった。今はハウスで乾燥するので、その心配はなくなった。1日半から2日で干し上げると丁度良い具合に仕上がるが、今日はこれから雨が降りそうなので（私にはカンカン照りの夏空のように見えたが）、石油を焚いて乾燥を速めている。ハウスの中に入れていただいたが、大型のファンから熱風が吹き付けられ、汗ばむような蒸し暑さだった。朝むいた幅2～3cmの生かんぴょうが幾列にも並んで竿に掛けられていた（写真8）。隣のハウスは昨日からのもので、乾燥が進み仕上がりの段階にあり、かんぴょうが緩やか



写真9 ユウガオ畑



写真10 収穫間近のフクベ



写真11 花が終わり実り始めたフクベ

なカーブを描いていた。ユウガオ畑はハウスの裏手にもあった(写真9)。円形をしたビロードのように柔らかな感触の葉と蔓の陰には直径20～30cm くらいの重そうなものから(写真10)、花の下に5cm くらいの可愛い膨らみをつけたものまで(写真11)、ユウガオの実(フクベ)が畑でかくれんぼしていた。

ふくべの収穫作業は炎天下に行く。かんびょうをきれいに干し上げるには、十分日に当て短時間で乾燥させる必要があり、朝早くむきの作業を始め、端から竿に干していく。大変な仕

事だといわれるが、子供の頃から家族みんなでやっていたので、こんなものかと思っていた。手伝うというよりも、みんなでやるものかと思っていたし、家族総出の手仕事の輪が「かんびょう場」だと思っていた。今はそういったものがなくなったと少し残念そうに話されていた。重労働が嫌われて、だんだんユウガオを作る人が少なくなり、またユウガオを作っても、工場に持ち込むだけの農家もあるという。お話を聞いているうちに、何時の間にかあたりがうす暗くなってきた。巻き上げてあったハウスのビニールをしっかりと下まで降ろし、雨対策を始められた。壬生駅までの近道を教えていただき歩き始めると、まもなく雷鳴が轟き、いきなり土砂降りの雨が降り始めた。この地方特有の雷様が来たようだ。夏の夕立が良質のかんびょう作りには必要だという農家の方の言葉を思い出しながら、傘などほとんど役に立たない激しい雨の中を駅に向かった。

### ユウガオをむく

かんびょう作りには、畑での「ユウガオ栽培」と収穫後の「かんびょうむき」がある。3月になると、堆肥を入れた苗床を作り、お彼岸頃種まきを行う。4月下旬から5月上旬、本葉が3枚出た頃に苗を畑に移植する。畑には乾燥防止と実の保護のために稲ワラを敷き、また霜の害を防ぐために苗をビニール(以前は油紙)で覆うこともある。6月頃、花が咲き始めると花合わせ(人口受粉)を行う。



写真 12 壬生町かんぴょう伝来 300 年記念前年祭（道の駅 みぶ）



写真 13 手カンナによるかんぴょうむき

花は夕方に開き、朝しぼんでしまうので、夕方雄花を摘みとって、その花粉を雌花のめしべにつける。明治以前は自然交配だけに頼っていたが、フクベが多く実るようになっていく。苗を畑に移してから約 60 日位、6 月下旬から 7 月になると果実は直径が約 30cm、6 ~ 8kg 程に大きく育ち、収穫が始まる。1 本の苗から約 12 ~ 15 個収穫できる。花が咲いてから収穫まで、初めは 3 週間位かかるが、最盛期には 10 日 ~ 2 週間で大くなる。薄く長くむいたかんぴょうは「ハデ」と呼ばれる干し場に、1 本 1 本でいねいに干す。フクベ 1 個から 150 ~ 200 g のかんぴょうができる。

かんぴょうむきは朝が早く、実際の作業をみることはなかなかできない。そこで 8 月 6 ~ 7 日、道の駅みぶで開催された「壬生町かんぴょう伝来 300 年記念前年祭」に行った（写真 12）。

かんぴょうむきには、江戸時代から明治にかけて、手カンナが使われていた。輪切り包丁で切り、内部のワタを取り除いたフクベを手前に回転させながら手カンナで内側からむいていく（写真 13）。今でも家庭用に手カンナを使っている地域があるそうだ。果肉は軟らかいが、手カンナの刃に食い込んできて面白いようにむけた（写真 14）。

現在は電動式丸むき機が主流であり、その使い方を安塚のかんぴょう農家中川雅史さんに教えていただいた。フクベに金属棒を刺して、ツルの部分を下にして丸むき機に固定し（写真 15）、フクベを回転させて、かたい表皮を皮むきした後、果実を外側から長い帯状にむいていく（写真 16, 17）。丸むき機で



写真 14 手カンナの体験コーナー



写真 15 丸むき機にフクベをセット



写真 16 丸むき機の体験コーナー



写真 17 丸むき機の体験コーナー



写真 18 紐状にむけた生かんびょう



写真 19 ハデに干す (道の駅 みぶ)

はあっという間にむけてしまう (写真 18)。

ちょうど昼休みになったので、お話をうかがった。ユウガオの収穫が始まる7月からお盆過ぎまでの40日が勝負で、「40日、40日」と自分に言い聞かせながらやっている。午前1～2時に起きて、7時頃までかんびょうをむく。家族みんなでやっているが、むくのが遅いとおやじさんからせつつかれ、ついむきになり、スピードをあげてむいてしまう。だいたい10時頃までには干し終わる。一休みして夕方には取り込み、硫黄小屋に一晩置く(漂白する場合)。フクベは90%が水分なので、雨が降らないと枯れてしまうが、逆に長雨や台風にあうと腐ってしまう。大きい方が薄くむけ、小さいとどうしても厚むきになってしまう。今日収穫しようか明日にしようかと迷って、畑に残しておく、1日で、ばかでかくなってしまうので、収穫の頃合いが難しい。一人で約300坪のユウガオ畑を管理している。安塚でもかんびょう農家は最近少なくなっている。かんびょう問屋が買い付けてくれるので、収入はある程度は保証されているが、中国産の比較的安価なものが出回り、以前よりも経営が厳しくなってきたと思う。いつもはこの時間はちょうど休憩時間だが、今日と明日はかんびょう祭りのイベントがあるので来ていると元気にお話して下さった。当日は真夏日で、かんびょうむきの体験コーナーが終わっても、中川さんの全身から汗が噴き出す暑さだった。広場には臨時にハデ(干し場)が作られ(写真 19)、むきおわたった生のかんびょうが天日干しされ、風に揺れていた(写真 20)。

道の駅から東武宇都宮線の壬生駅まで、畑の中の道を歩いた。ゴボウ、オクラ、トマト、ナスなどの夏野菜、サツマイモの畑などの間に、ユウガオ畑があり、風がぬけるビニールハウスの中では



写真 20 天日干し (道の駅 みぶ)



写真 21 天日干し (自宅の庭先)

乾燥中のかんぴょうが揺れていた。水田では勢いよく稲が育っていた。

手カンナでむいた生かんぴょうをいただき、自宅の庭の物干しで教えていただいたように時々裏返しをして2日かけて干し上げ、ほんの少しだけかんぴょうを作った。干し始めた時はウリ系特有のやや青臭い香りがしたが(写真 21)、干しあがったときは、太陽の温もりを感じる甘い香りになっていた(写真 22)。



写真 22 干しあがったかんぴょう

乾燥は、食品の保存技術のなかでも最も古いものの一つと考えられている。1万年以上前の新石器時代の人々は食材を天日干しや焚き火の煙で燻したりしていたと想像される。実際約9500年前の縄文時代早期の遺跡からは煙道つきの炉跡が発掘されている<sup>10)</sup>。また天日干しのほかに、古代エジプトでは砂漠の熱砂を使って鳥獣肉を乾燥させて乾し肉を作っていた。乾燥は水分が減少するだけでなく、糖分やうま味成分が濃縮される。さらに乾燥の途上で酵素の働きによる成分変化もみられ、食品をおいしくしてくれる方法でもある。ダシの材料となる煮干し、干し椎茸、鰹節、昆布も乾物である。漬物の世界でも、干しダイコンを使ったたくあんには、塩押ししたくあんとは異なる風味が生まれる。かんぴょうも保存性が向上するだけでなく、甘味をとまなううま味が凝縮されたものと思われた。

### かんぴょうの故郷

滋賀県甲賀市水口町でも7月下旬にはかんぴょうの天日干しの最盛期を迎えていた(2011年7月26日京都新聞)。栽培農家は13戸で、今年は猛暑のため、出荷量は例年の1トンを下回るとみているという。

水口町のかんぴょうは、桃山時代の城主、長束正家が農家に作らせたのが始まりで、江戸時代の城主加藤嘉矩(加藤明英の養子)がかんぴょうを細長く紐状にする製法を農家に教え、改良を重ね現在のようなかんぴょうになった<sup>11)</sup>。ユウガオの品種には電動丸むき機用に丸型に改良された「し

もつけしろ」,「しもつけあお」「ゆう太」などがあるが、水口ではややだるま型で、昔からこの地域に伝えられた在来種の種を毎年自家採取して栽培しているそうだ。まさに壬生かんぴょうの故郷だ。

江戸時代後期の庶民のくらしぶりを伝える守貞謄稿によると「京阪にありて、江戸なき所の市街を巡る生業(略)」に「乾物売り」があり、「椎茸・木茸・干瓢・大豆・小豆・ひじき・ぜんまい・刻み海布・昆布・かづのこ・ごまめ・干鰯等を売る者、江戸には店買あ〔り〕しのみ、京坂は店あり、また担ひ巡り売るもあり」<sup>12)</sup>。路地裏に乾物売りが来るほど、京阪の庶民はかんぴょうなどを常日頃よく食べていたのだろう。

醤油と砂糖で甘く煮つけたかんぴょうを酢飯と海苔で巻く、干瓢巻はいつ頃できたものだろうか。江戸の町に鮓屋が繁盛するようになった天明年間(1781～1789年)にはすでに海苔巻(細巻き)が作られていたようだ<sup>13)</sup>。干瓢巻は200年以上の歴史を持つ伝統食品のようだ。

かんぴょうは食物繊維に富み、Ca, K, P, Feなどのミネラルを多く含んでおり、栄養価と機能性が見直されている。夏の暑さと夕立の中で育つ、まさに夏の贈り物である。今では、さまざまな料理法も工夫されており、干し上げたばかりのかんぴょうもまた美味しいという。「夏こそかんぴょうを!」、もっと利用しても良い食材である。

### 夕顔棚納涼図

満月に近い月が地面から昇り、棚のユウガオは大きな実をつけ、枯れた葉もなく、勢いが良いことから、晩夏というよりも今の暦で8月上旬盛夏の情景だろうか。穏やかな表情の女性は寛いだ姿に描かれているのに、農夫とも画家自身の自画像<sup>1)</sup>ともいわれる男性は、何かもの想いとらわれていようにも見える。守景の生きたのはどのような時代だったのだろうか。江戸時代初期、三陸地方は慶長16年(1611年)と延宝5年(1677年)と2度の天津波に襲われている。その惨状は守景にも届いたことだろう。画家になった二人の子は、やがて父のもとを去っていった。

昨年の大地震と天津波では多くの尊い命が失われた。原子力発電所の事故からの復興には長い歳月がかかり、未来を担う子供たちに負の遺産を負わせることになってしまった。

夕顔棚の下で涼をとるゆったりした時が、今も、そしてこれからの時代にもときには是非欲しいと思う。

壬生町およびかんぴょうの歴史を興味深く教えて下さった壬生町立歴史民俗資料館学芸係長中野正人様、かんぴょう作りのお話いただいた壬生町安塚、中川雅史様に感謝申し上げます。

## 参考資料

- 1) 松嶋雅人：久隅守景，日本の美術 2，至文堂（2007）
- 2) 高嶋四郎他：有用植物，標準原色図鑑全集 13，保育社（1971）
- 3) 菅 洋：有用植物，ものと人間の文化史 119，法政大学出版局（2004）
- 4) 中川治美：「ひょうたん」－自然界の万能容器－，調査員のおすすめの逸品 第 21 回，（財）滋賀県文化財保護協会
- 5) 堀 保男：百科ヘチマ・ヒョウタン，ひかりのくに株式会社（1994）
- 6) 江原絢子他：日本の食文化史年表，吉川弘文館（2011）
- 7) 楡木 恒：下野のかんぴょう，全国の伝承 江戸時代 人づくり風土記 (9)ふるさとの人と知恵 栃木，社団法人農山漁村文化協会（1989）
- 8) 寺島良安著，島田勇雄他訳注：和漢三才図絵 18，東洋文庫 532，平凡社（1991）
- 9) 歴史とロマンのかんぴょう街道推進協議会：栃木県下都賀農業振興事務所企画振興部，電話 0282-23-3425
- 10) 廣野 卓：食の万葉集，中公新書，中央公論社（1998）
- 11) 農林水産省近畿農政局HP：滋賀の伝統野菜：水口かんぴょう
- 12) 喜田川守貞著，宇佐美英樹校訂：近世風俗志（一），岩波文庫（1996）
- 13) 小泉清三郎著，家庭「鮓のつけかた」大倉書店（明治 42 年）：復刻版，主婦の友社（1989）
- 14) 東京国立博物館蔵（TNM イメージアーカイブ許可済）

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

### ニューフードインダストリー 第54巻 第1号

印刷 平成 23 年 12 月 25 日  
発行 平成 24 年 1 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